



第65回日本医学検査学会・第63回日本臨床検査医学会学術集会 スイーツセミナー3

造血器腫瘍における 遺伝子変異解析の全自動化への挑戦

2016年9月3日(土) 15:15～16:00 第11会場(神戸国際展示場 2号館 2階 2A会議室)

司 会

大阪市立大学大学院 医学研究科 血液腫瘍制御学

教授

日野 雅之 先生

講演者

日本医科大学 血液内科

准教授

山口 博樹 先生

※本セミナーはチケット制ではありません。

席は先着順となりますので、お早めにお越しください。

造血器腫瘍における遺伝子変異解析の全自動化への挑戦

白血病、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫などの造血器腫瘍は、近年、分子生物学的病態および遺伝子学的病態レベルでの研究が広く行われており、多くの診断法や治療法が進歩している。とりわけ、遺伝子検査は技術の改良に伴って、様々な場面で活用されている。

慢性骨髄増殖性疾患（cMPN）は骨髄・末梢血液細胞の過形成と脾腫を示す慢性に経過する疾患である。例として、真性多血症（PV）、本態性血小板血症（ET）、原発性骨髄繊維症（PMF）、慢性骨髄性白血病（CML）などがある。

PV、ET、PMFの発症に、チロシンキナーゼ JAK2 タンパク質の exon14 の後天的な点突然変異である JAK2V617F が関与していることが 2005 年に報告された。その後、JAK2V617F 遺伝子変異のない症例を中心に、JAK2 exon12 deletion、トロンボポエチンレセプターの MPLW515L/K 変異、Calreticulin 遺伝子（CALR）変異が発見されている。2016 年の WHO 分類においてこれらの遺伝子変異は PV、ET、PMF の診断基準における大基準の一つとなった。このことは cMPN の診断において遺伝子変異検査がいかに重要であることを示している。

急性骨髄性白血病（AML）は骨髄中の造血幹細胞や自己複製能をもつ前駆細胞においていくつかの遺伝子異常が発生して腫瘍化した造血器腫瘍である。その発症は病名にあるように急激で、骨髄中の白血病細胞は爆発的に腫瘍性増殖をきたし正常造血を障害して、感染、貧血、出血などといった重篤な症状を引き起こす。急速に症状が進行するため、早期発見、早期治療が必要となる。診断には、塗抹標本検査、細胞表面マーカー検出、染色体分析、遺伝子検査がある。AML 染色体分析は病型分類、予後予測、治療法選択において必須である。さらに WHO 分類では染色体正常核型の症例においては FLT3、NPM1、CEBPA 遺伝子変異の解析を行うことが推奨されている。AML 細胞の染色体核型は生存に対する最も強い予後因子であり、WHO 分類における病型診断、さらには治療法の選択においても重要な情報となる。治療では、寛解導入療法を行う。寛解後は、残存した白血病細胞の根絶を目指して、化学療法と造血幹細胞移植を治療選択する。

AML の一種である急性前骨髄性白血病（APL）や、急性リンパ性白血病の一種であるフィラデルフィア陽性急性リンパ性白血病（PhALL）では、寛解導入療法に分子標的薬が使用できる。APL はビタミン A 誘導体である全トランス型レチノイン酸が、PhALL においては、分子標的薬のイマチニブやダサチニブ単独で寛解導入が可能である。分子標的薬は従来の化学療法より感染症や臓器障害などの合併症が少ない。一方、分子標的薬の適応については遺伝子診断で鑑別する必要がある。APL に関しては PML/RARA 転座型遺伝子変異、PhALL に関しては BCR/ABL 型転座遺伝子変異の検出が診断に必要である。しかし検査センターなどへの受託による院外検査では、結果がでるまでに 1 週間以上の時間がかかり、こうした急性白血病の寛解導入療法を層別するには時間がかかりすぎる。そこで、臨床現場での簡便・迅速な遺伝子検査が必要となる。

当院では、JAK2V617F、JAK2 exon12 deletion、CALR、MPL515L/K を QProbe 法にて解析している。QProbe は蛍光標識したシトシン残基を末端にもち、DNA 断片と結合することにより蛍光が減少し、解離すると発光する性質をもっており、いくつかのメリットを有している。ひとつには、標的核酸のグアニンがクエンチャーとなるため、クエンチャーラベルが不要であること。また、それぞれの変異型に対して別にプローブを用意する必要がないこと。さらに、QProbe の蛍光色素は複数波長に対応可能であるため、マルチプレックス PCR により、1 回の PCR で複数箇所の遺伝子変異を検出できる点である。当院では、QProbe 法を測定原理としたアークレイ社の遺伝子解析装置 i-density IS-5320 を採用している。全自動の院内検査は、臨床に迅速に検査結果を示すことができる。現在は cMPN より迅速な遺伝子検査結果を必要とする急性白血病に関して早期診断や早期治療を可能とする転座型遺伝子変異を検出するシステムを i-density IS-5320 を用いて構築している。

