

論文の内容の要旨

| | |
|------------|---|
| 論文提出者氏名 | 重藤翔平 |
| 論文審査担当者 | 主査 中沢洋三 副査 石塚修・竹下敏一 |
| 論文題目 | Rapid diagnosis of acute promyelocytic leukemia with the PML-RARA fusion gene using a combination of droplet-reverse transcription-polymerase chain reaction and instant-quality fluorescence in situ hybridization (液滴型高速 PCR と instant-quality FISH を用いた PML-RARA 融合遺伝子を伴う急性前骨髄性白血病の迅速診断) |
| (論文の内容の要旨) | <p>〔背景と目的〕 急性前骨髄性白血病 (APL) は急性骨髄性白血病の 5～8% を占める病型の一つである。APL は腫瘍細胞の著明な増加、高度の凝固障害と出血を呈する悪性度の高い白血病で、15 番染色体と 17 番染色体の相互転座 $t(15;17)(q22;q21)$ によって形成される <i>PML-RARA</i> 融合遺伝子が顆粒球系細胞の分化を妨げることがその発症機序となる。この融合遺伝子に対する分子標的薬オールトランス型レチノイン酸 (ATRA) と亜ヒ酸を用いた分化誘導療法は、<i>PML-RARA</i> 融合遺伝子を伴う APL において高い寛解導入率と治癒率をもたらす。APL においては一部の症例で ATRA 耐性を示す <i>PML</i> 以外の遺伝子による <i>RARA</i> 融合遺伝子によるものがあり、確定診断には $t(15;17)(q22;q21)$ や <i>PML-RARA</i> 融合遺伝子を迅速に検出および定量を行うことが必要となる。しかしながら、$t(15;17)$ や <i>PML-RARA</i> 融合遺伝子の検査に用いられる従来の fluorescence in situ hybridization (FISH) や reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) は、結果を得るまでに 1 日から 2 日を要す。本研究では、液滴型高速 RT-PCR による <i>PML-RARA</i> 融合遺伝子の検出と、instant-quality FISH (IQ-FISH) による腫瘍細胞定量を用いた <i>PML-RARA</i> 融合遺伝子を伴う APL の迅速診断法の検討を行った。</p> <p>〔対象と方法〕 <i>PML-RARA</i> 陽性 APL 患者 5 例および対照患者 3 例の骨髄液および末梢血より得られた RNA 試料およびカルノア固定した間期核細胞を用いた。RNA 試料では液滴型高速 PCR 装置 (セイコーエプソン株式会社) を用いて、1 ステップ RT-PCR による増幅効率および反応時間の検討を行った。カルノア固定細胞を用いた FISH 法の検討では、IQ-FISH においては IQ-FISH Fast Hybridization Buffer (アジレントテクノロジー社) を用いて FISH 法を行い、融合シグナルを持つ細胞をカウントしハイブリダイゼーション時間の検討を行った。従来法として Vysis LSI Hybridization buffer (アボットモレキュラー社) を用いて IQ-FISH と比較した。</p> <p>〔結果〕 液滴型高速 PCR 装置を用いた 1 ステップ RT-PCR は、5 例全ての APL 患者試料で 26 分以内に <i>PML-RARA</i> 融合遺伝子陽性の判定が可能であった。一方、対照患者試料では PCR の増幅は認められなかった。IQ-FISH は、ハイブリダイゼーション時間を 1 時間とした場合、検査開始から 4 時間以内で結果を得ることができ、従来法と同等の蛍光シグナルを示した。また、全ての APL 患者試料で、融合シグナルの陽性細胞率は従来法と一致した。</p> <p>〔結論〕 液滴型高速 RT-PCR と IQ-FISH を用いることにより、検体提出から 4 時間以内に APL 患者の <i>PML-RARA</i> 融合遺伝子の検出および腫瘍細胞の定量を行う検査法を確立した。血液塗抹標本による形態学的検査と、これらの遺伝子・染色体検査法を組み合わせれば、迅速かつ確実な <i>PML-RARA</i> 融合遺伝子を伴う APL の診断法となる。</p> <p>〔結語〕 本検査法は、従来 1 日から 2 日要していた APL の確定診断を検査当日に可能にし、的確な分化誘導療法の開始および選択に貢献すると考えられる。また液滴型高速 PCR と IQ-FISH は他の項目への応用が容易であり、作業時間の短縮により日常臨床検査業務の効率化に寄与する。</p> |