

Precise Detection of IDH1/2 and BRAF Hotspot Mutations in Clinical Glioma Tissues by a Differential Calculus Analysis of High-Resolution Melting Data

波多江, 龍亮

<https://doi.org/10.15017/1789433>

出版情報 : 九州大学, 2016, 博士 (医学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : 全文ファイル公表済

氏 名：波多江 龍亮

論 文 名：Precise Detection of *IDH1/2* and *BRAF* Hotspot Mutations in Clinical Glioma Tissues by a Differential Calculus Analysis of High-Resolution Melting Data
(高解像度融解データの微分法解析による神経膠腫組織における *IDH1/2* と *BRAF* ホットスポット変異の正確な検出方法の確立)

区 分：甲

論 文 内 容 の 要 旨

代表的な悪性脳腫瘍である神経膠腫においては、この5-10年の間に特異的な遺伝子点変異の発見が相次ぎ、診断の確定や治療感受性の判定に有用であることが示され、その解析は臨床現場においても必須となりつつある。しかし、従来の遺伝子解析法は煩雑で、臨床への導入は困難である。近年、新規の遺伝子解析法として、リアルタイム PCR のプラットフォームを用いた High Resolution Melting(HRM)法が開発された。本法は非常に迅速かつ簡便な変異解析法で、臨床への導入に適している。しかし、従来の解析アルゴリズムは、再現性が低く、明確な判定基準がないといった課題があり、臨床への導入は進んでいない。我々は、本研究で HRM の新規解析アルゴリズムの開発を試みた。HRM の解析を行う対象として、外科手術で摘出した腫瘍凍結サンプルを用いた。*IDH1R132* と *IDH2R172* の変異に対しては、192 例の神経膠腫、*BRAFV600E* 変異に対しては異なる 51 例の脳腫瘍サンプルセットで解析を行った。

従来の解析アルゴリズムでは、まず融解曲線のシグナル強度に補正を加え、次に遺伝子変異による変化を、コントロールである野生型の曲線との差分をプロット(difference plot)することで検出し、変異の判定に用いる。我々は融解曲線に対し2回の微分を加えることで変異判別の精度の向上を期した。この2回微分の結果をプロットした曲線(negative second derivative plot)では、変異による融解曲線の変化が増幅し、正常波形との比較を用いずに、明確な視覚的判定が出来るようになった。更に、判定を客観的にするために、融解曲線の変化の程度を数値化した HRM-MI という指標を開発した。この HRM-MI を用いたところ、duplicate の実験の判定結果が完全に一致し、再現性が 100%となった。また、ダイレクトシーケンス法では検出できなかった *IDH1R132* 変異を検出し得た症例が3例あった。この新規解析法は、*IDH1R132*、*IDH2R172* および *BRAFV600E* 変異の各々においても有用性が確認され、腫瘍型や遺伝子変異の差異に関わらず、普遍的に有用であることが示された。

本研究により開発された HRM の新規解析アルゴリズムは、従来法よりも再現性が向上し、定量的な判定が可能となったことから、臨床導入への端緒となり得る有用なアプローチであると考えられる。