

造血器腫瘍における染色体検査・FISH法の基礎と臨床的意義

◎福塚 勝弘¹⁾公益財団法人 天理よろづ相談所医学研究所¹⁾

1960年に慢性骨髄性白血病のフィラデルフィア(Ph)染色体が発見されて以来、癌や白血病発生と染色体異常との関係が明らかにされてきた。一方、FISH (fluorescence *in situ* hybridization)法が1980年代に開発され、特定の遺伝子の切断・欠失・増加を検出することが可能となった。現在では、染色体検査・FISH法は造血器腫瘍の診断、予後予測、治療効果判定に欠かすことができなくなっている。本講演では本法の基礎と臨床的意義を概説する。

【染色体検査】

染色体検査は、染色体の数的異常と転座・欠失などの構造異常を分析する検査法である。本法によって腫瘍発生に関連する遺伝子を予測することができる。染色体検査のピットホールとして、通常行われている20細胞の核型分析では統計学的に14%の確率でクロソイド性の染色体異常を見逃すこと、分裂像が得られないことがあること、小さなサイズの異常や複雑な転座はわからないことがあげられる。正常核型が得られた場合は、1)バンドの欠失や付加が小さい(1バンド以下)ために検出できない、2)染色体の品質が悪いため分析から除外された、3)腫瘍細胞が培養条件に適合しないため、M期同調不良により正常細胞の分裂のみを検出した、などの可能性に留意する。1)、2)のために、AMLの約50%の症例では正常核型しか得られないので、FLT3-ITD、NPM1変異などの遺伝子検査を追加する。多発性骨髄腫では3)のために分裂像を得難いのでFISH法を実施すべきである。

【FISH法】

FISH法の原理は、蛍光標識したDNAプローブとスライドガラス標本上の検体DNAをそれぞれ熱変性して一本鎖にした後ハイブリダイズさせ、目的の遺伝子を蛍光シグナルとして蛍光顕微鏡下で観察するものである。

プローブの選択は、BCR-ABL1、PML-RARAなどの病型特異的転座の検出にはdual fusion プローブ、IGH、MLLなどのように転座相手が特定の領域ではない場合にはbreak apart プローブ、-7/7q-、-5/5q-など欠失や、増幅の検出にはLSI/CEP、LSI/LSI プローブを用いる。

【染色体検査とFISH法の比較】

染色体検査は、分析工程が長く、煩雑である。分析には熟練を要し、精度管理も困難である。しかし、腫瘍細胞の割合が低い検体でも増殖能が高い細胞であれば異常核型が得られる場合がある。一方、FISH法は目的の遺伝子異常しか判定できないが、簡便で精度管理が容易である、100~1000個の細胞をカウントするため定量性がある、迅速(報告まで1~2日間)であるなどの利点がある。また、染色体分析結果をもとに、メタフェーズFISHやマルチカラーFISHを併用することによって転座のパートナーや遺伝子異常を確認・予想することが可能となる。

【おわりに】

WHO分類の2016年改訂では、遺伝子異常と予後によって病型がさらに細分化された。染色体検査・FISH法関連の特記すべき改訂事項として、MDSの5q-症候群では、-7/del(7q)以外であれば付加的染色体異常一つまで本症候群に含むこと、t(15;17)では、複雑核型やcryptic rearrangementを考慮し、単にキメラ遺伝子PML-RARAと記載すること、c-MYC転座とBCL2転座が共に陽性のdouble hit lymphomaの診断にはFISH法が推奨されることなどがあげられるので、当日は実際の症例を交えて解説したい。染色体検査は腫瘍細胞のゲノム変異全体を把握することに優れ、FISH法はターゲットとした遺伝子変異を高感度に捉えることに優れている。両者の利点を互いに補えば、染色体検査・FISH法全体として造血器腫瘍の診断と治療方針の決定にさらに貢献することができるであろう。近い将来、染色体検査・FISH法は次世代シーケンサーにとって代わられるのではないかと向きの向きもあるが、それを上手く活用するためには、現在行われている染色体・FISH・遺伝子検査の重要性を理解し、次世代のテクノロジーに繋げていく必要がある。

連絡先：0743-63-5611 (内線 8976)