

演題名 SMAP 法を用いた臨床検体からのがん関連遺伝子変異検出 (EGFR、K-ras)

氏名 ○三谷康正^{1),2)}, 清水公祐³⁾, 懸川誠一³⁾, 荒木拓也⁴⁾, 山本康次郎⁴⁾, 星加奈子⁵⁾, 高倉秀樹⁵⁾, 辰巳健志⁵⁾, 渡邊純⁵⁾, 嶋田紘⁵⁾, Lezhava Alexander¹⁾, 石田尾武文^{1),2)}, 向後泰司^{1),2)}, 林崎良英¹⁾

所属 理化学研究所オミックス基盤研究領域¹⁾, (株)ダナフォーム²⁾, 群馬大学大学院臓器病態外科学³⁾, 群馬大学医学部附属病院薬剤部⁴⁾, 横浜市立大学消化器病態腫瘍外科学⁵⁾

【目的】非小細胞肺癌の gefitinib 有効例に EGFR および K-ras の遺伝子変異が報告されている。本研究では臨床検体を用いて SMAP 法による遺伝子変異の迅速検出を行いその有用性を検討する。

【方法】群馬大学病院で切除した肺腺癌 13 例の組織から DNA を抽出し、EGFR の Exon19 (E746-A750Del): del2235-2249、2236-2250、Exon21 (L858R) および K-ras (codon12) の変異を SMAP 法により検出した。さらにその結果を EGFR については PCR-SSCP、PNA-LNA Clamp 法、K-ras についてはダイレクトシーケンスの結果と比較し精度および感度を確認した。

【結果】SMAP 法では EGFR Exon19 で 15.0% (20/133)、EGFR Exon21 で 18.0% (24/133)、K-ras で 18.8% (25/133) に変異を認め、EGFR と K-ras 遺伝子の変異は排他的であった。PCR-SSCP で変異を認めたもの全てについて SMAP 法でも変異が検出された。また、PCR-SSCP では判定できなかった検体についても SMAP 法で判定でき、その結果は PNA-LNA Clamp 法の結果と一致した。一方、ダイレクトシーケンスでは 9.8% (13/133) に K-ras の変異が認められ、これらは全て SMAP 法でも検出された。

【考察】SMAP 法で簡便、迅速に EGFR 遺伝子変異検出ができ、信頼性も高いと思われる。また、従来の報告 (肺腺癌における K-ras 変

異発現率: 5~10% 程度) よりも高頻度で K-ras に変異が検出されたことから、ダイレクトシーケンス法では検出できない微量変異を SMAP 法で検出できることが示唆された。

【結語】我々は SMAP 法を用いた EGFR 遺伝子変異検出、K-ras 遺伝子変異検出の迅速診断法を開発し、臨床検体を用いて SMAP 法による遺伝子変異の迅速検出を行い、その感度・特異性ともに有用性の高い試薬であることを明らかにした。



EGFR遺伝子変異検出試薬



K-ras遺伝子変異検出試薬