

Liquid biopsy of cerebrospinal fluid for MYD88 L265P mutation is useful for diagnosis of central nervous system lymphoma

山 岸 夢 希

杏林大学医学部脳神経外科学教室

この度は、杏林医学会研究奨励賞という大変名誉ある賞を頂き、身に余る光栄です。選考委員の先生方ならびに表彰下さいました杏林医学会に心より感謝申し上げます。また、本研究全般をご指導下さった永根基雄教授、塩川芳昭教授をはじめ、ご支援いただいた脳神経外科学教室の皆様、順天堂大学脳疾患連携分野研究講座の皆様には厚く御礼を申し上げます。

私たちは、この研究¹⁾により、中枢神経系原発悪性リンパ腫 (primary central nervous system lymphoma: PCNSL) に対する髄液DNAを用いた液性診断法 (liquid biopsy) の診断条件を確立し、臨床応用への足掛かりを築くことができました。

PCNSLは、高齢者に好発する原発性悪性脳腫瘍の一つです。標準治療の実施には生検術による診断確定が必須ですが²⁾、脳幹など生検困難部位に発生した症例や併存疾患により手術困難な例に対しては組織診断が行えません。こういった手術困難例に対する診断や、より低侵襲な診断を達成するため、髄液を用いた液性診断の開発が進んでいます。MYD88 遺伝子L265P変異は、PCNSLで高頻度かつ特異性が高い遺伝子変異として知られており、digital PCR (dPCR) 法による液性診断の良い標的となります³⁾。しかし、過去の報告では、実験条件や変異判定のカットオフ値が不明確であるなどの問題があり、臨床応用するには課題がありました。そこで、私たちは、dPCR法による同遺伝子変異の判定条件を確立し、その条件に基づき、脳腫瘍-髄液ペア検体42例を用い、脳腫瘍と髄液DNAの遺伝子解析結果の一致率について検証を行いました。

遺伝子変異の判定条件を設定する上で、最も重要なのは陰性試験でした。非PCNSL脳腫瘍 (神経膠腫または転移性脳腫瘍) 20例を用いたdPCRの結果、陰性例でも最大で5つの変異シグナルがノイズとして検出されました。dPCR法によるMYD88 遺伝子変異検出法は、生検困難例などでは手術の代替として用いられる可能性があるため、

不適切な治療介入を行いうる偽陽性が生じないよう判定条件を定めることにしました。陰性試験で検出されたPCR反応数の最低値は2,000でした。この時に最大のノイズが生じた場合、変異アリル頻度 (variant allele frequency: VAF) = $5/2000 = 0.25\%$ となるため、この値をMYD88 遺伝子変異陽性のカットオフ値と決めました。この基準を用いて、脳腫瘍-髄液ペア検体42例の遺伝子解析結果を比較すると、感度92.2%以上、特異度100%と非常に高精度にMYD88 遺伝子変異を検出でき、また最も重要なこととして一例も偽陽性を生じませんでした。

本研究の最も重要な点は、髄液DNAを用いたdPCR法によるMYD88 遺伝子L265P変異の判定基準を、臨床応用上での要点を踏まえた上で根拠を持って示すことができたことです。私たちは、生検困難部位に発生したPCNSL疑いの症例に対し、dPCRを用いて髄液DNAからMYD88 遺伝子L265P変異を検出し治療選択の一助とした症例も経験しており、生検が困難な症例にとって大きな助けになることが期待されます。今後は、PCNSLでもう一つ高頻度かつ高特異度に見られる遺伝子変異であるCD79B 遺伝子変異の検出³⁾、網羅的遺伝子解析手法、タンパクマーカやmiRNAの検出も併用し、さらに多くの症例を液性診断による診断を達成し、脳腫瘍患者の早期診断・診断治療負担軽減によるQOL向上を目指したいと考えています。

文献

- 1) Y. Yamagishi, N. Sasaki, Y. Nakano, Y. Matsushita, T. Omura, S. Shimizu, K. Saito, K. Kobayashi, Y. Narita, A. Kondo, Y. Shiokawa, M. Nagane, K. Ichimura. Liquid biopsy of cerebrospinal fluid for MYD88 L265P mutation is useful for diagnosis of central nervous system lymphoma. *Cancer Sci.* 2021; 112: 4702-4710.
- 2) 日本脳腫瘍学会編集, 日本脳神経外科学会監修, 日本脳腫瘍診療ガイドライン (2019年版), 金原出版, 2019年
- 3) T. Nakamura, K. Tateishi, T. Niwa, Y. Matsushita, K.

Tamura, M. Kinoshita, K. Tanaka, S. Fukushima, H. Takami, H. Arita, A. Kubo, T. Shuto, M. Ohno, Y. Miyakita, S. Kocialkowski, T. Sasayama, N. Hashimoto, T. Maehara, S. Shibui, T. Ushijima, N. Kawahara, Y. Narita, K. Ichimura.

Recurrent mutation of CD79B and MYD88 are the hallmark of primary central nervous system lymphomas. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2016 ; 42 : 279-290.