

BRAF遺伝子変異検査 (犬の膀胱移行上皮癌・前立腺癌の遺伝子検査)

2016年5月より、犬の膀胱移行上皮癌あるいは前立腺癌を非腫瘍性病変と鑑別するために有用なBRAF遺伝子変異検査を開始いたしました。

どんな検査ですか

犬の膀胱移行上皮癌や前立腺癌では、BRAF遺伝子に高率に変異(ヒトBRAFの600番目のアミノ酸に相当)が起きていることが明らかにされました。この変異は他の腫瘍では頻度が低く、膀胱炎などの非腫瘍性変化では検出されません。変異が検出された場合には腫瘍性に増殖している可能性が高いと言えます。**膀胱移行上皮癌や前立腺癌の腫瘍性病変と非腫瘍性病変の鑑別の根拠となります。**

検査方法:PCR-RFLP(Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism)
PCR法によりBRAF遺伝子を増幅します。次に正常なBRAFの遺伝子配列を切断する制限酵素を用いてPCR増幅産物を切断します。本検査では変異がない場合には切断されますが、**変異がある場合には切断されません。**

エビデンス(学術論文)

複数の論文で犬の膀胱移行上皮癌と前立腺癌からBRAF変異が高率で検出されると報告されています。また、腫瘍組織からだけでなく、患者の尿沈渣からも同様に検出されています。

著者	腫瘍の種類	変異率(%)	検体数	検体
1) Decker B.	浸潤のみられる膀胱移行上皮癌	87.0	54/62	尿沈渣
	尿路系の移行上皮癌	67.0	30/45	腫瘍組織
	前立腺癌	80.0	20/25	腫瘍組織
2) Mochizuki H.	リンパ腫	0	0/50	腫瘍組織
	肥満細胞腫	0	0/50	腫瘍組織
	悪性黒色腫	6.0	3/54	腫瘍組織
	メラノサイトーマ	17.0	3/18	腫瘍組織
	尿路系の移行上皮癌	67.0	32/48	腫瘍組織
3) Mochizuki H. *1	尿路系の移行上皮癌	61.0	14/23	尿沈渣
	前立腺癌	78.0	21/27	腫瘍組織
	前立腺癌	100	3/3	尿沈渣
	非腫瘍性組織(膀胱、前立腺)	0	0/38	組織
	非腫瘍症例の尿	0	0/37	尿沈渣

*1:3)の論文では、droplet digital PCR (ddPCR)という検出感度に優れた方法を用い変異率を算出していますが、表中の検出率はPCR-RFLP法と感度が同等のDNAシーケンス(ザンガー法)で算出した検出率を掲載しています。

1) Decker B. Mol Cancer Res. 2015 Jun;13(6):993-1002.

2) Mochizuki H. PLoS One. 2015 Jun 8. doi: 10.1371/journal.pone.0129534.

3) Mochizuki H. PLoS One. 2015 Dec 9. doi: 10.1371/journal.pone.0144170.

株式会社 ケーナインラボ
検査センター

〒110-0005

東京都台東区上野3丁目5-2 S-1ビル

電話:03-5817-8130

FAX:03-5817-8135

HP: www.canine-lab.jp E-mail: kensa@canine-lab.jp



検体集荷

株式会社 モノリス

〒182-0012

東京都調布市深大寺東町8-31-6

電話:042-443-7200(代表)

042-443-6181/6183(集荷)

FAX:042-443-6182

検査について

1) 検体(いずれか1点をご用意下さい)

①米粒大の**組織・細胞**(冷蔵保存、1週間以上の場合には冷凍保存)

外科的に切除した**組織・細胞**

②1.0cc以上の**尿・米粒大の尿沈渣**(冷蔵保存、1週間以上の場合には冷凍保存)

③できるだけ沢山の**膀胱・尿道洗浄液**(冷蔵保存、1週間以上の場合には冷凍保存)

膀胱や尿道の腫瘍を尿道カテーテルを用い生理食塩水で吸引・洗浄し、腫瘍細胞を回収した溶液

④厚め(5~10 μ m)に薄切した2~3枚の**パラフィンブロックの切片**(室温保存)

⑤**組織のHE標本**2~3枚(室温保存)

* **腫瘍細胞が検体中に出現している必要があります。**

* **④⑤長時間(数週間から数ヶ月)ホルマリンに浸かった組織では、変異の検出が阻害されます。**

2) 検査費用:お問い合わせ下さい。

3) 検体集荷

検体集荷は株式会社モノリスにお願いしております。モノリスに検体と依頼表をお渡し下さい。

モノリスの集荷範囲外の病院様につきましては、お手数ですが弊社まで直接お送り下さい。

4) 結果報告

検査結果は「変異あり」または「検出されず」で報告いたします。

検体受け取り後、5~7営業日以内に郵送・メール・Faxの3種(依頼表で選択)の方法で報告いたします。

BRAFの遺伝子変異と分子標的薬の適用について

ヒトの悪性黒色腫(メラノーマ)でBRAF遺伝子に変異を有する症例では、分子標的薬のベムラフェニブが有効であることが報告されています。しかし、犬ではベムラフェニブの治療効果は明確ではありません。したがって、犬のBRAF遺伝子検査は**腫瘍性増殖であることを裏付ける検査**であって、ベムラフェニブの効果を予測する検査ではありません。

Q&A

Q: BRAFって何? 変異って何?

A: BRAFは細胞増殖のシグナル伝達にかかわる分子(セリン・トレオニンキナーゼ)です。正常なBRAFの活性は厳密に制御されていますが、変異型のBRAFは常に活性化(リン酸化)し、その異常な増殖刺激が腫瘍化の原因であると予想されています。しかし、犬ではBRAF変異と腫瘍化の直接的な関係性はまだ確認されていません。

Q: BRAF遺伝子に変異が検出されれば腫瘍性増殖と断定できますか?

A: 腫瘍性増殖の可能性が高いといえますが(表ページ参照)、断定は困難です。

Q: BRAF遺伝子に変異が検出されなければ腫瘍性増殖を否定できますか?

A: 否定できません。膀胱の移行上皮癌や前立腺癌で変異が検出される割合は60~70%です。残りの症例は変異が検出されないタイプです。

Q: 移行上皮癌と前立腺癌の鑑別に使えますか?

A: どちらの腫瘍も変異が一定の割合で検出されているため、鑑別は困難です。

Q: 膀胱の移行表皮癌や前立腺癌以外にBRAFの変異が検出される腫瘍はありますか?

A: 複数の腫瘍から変異が検出されています(表ページ参照)。しかし、変異の割合が極めて低いため、鑑別診断の根拠にはなり得ないと考えられています。

Q: 血液で検査できますか?

A: 本検査は腫瘍細胞のBRAF遺伝子における変異の有無を調べる検査であるため、血液中に腫瘍細胞が存在しない場合には全く意味のない検査になってしまいます。