

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08818

研究課題名(和文)びまん性大細胞型B細胞リンパ腫のゲノム変異が微小環境に及ぼす影響と新規治療開発

研究課題名(英文) Development of new treatment for DLBCL through the analysis of microenvironment in combination with genomic alteration

研究代表者

加藤 光次 (Koji, Kato)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：20571764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：初発DLBCL 170症例のRNA発現解析で、follicular helper T細胞関連遺伝子、マクロファージ関連遺伝子、ストローマ細胞関連遺伝子が強力な予後因子として抽出、これら3因子の発現レベルでスコア化したDMS (DLBCL Microenvironment Signature)スコアを作成した。同時にすすめた遺伝子変異解析では、DMSスコアが低い患者で、B細胞受容体経路活性化を及ぼす予後不良な遺伝子変異を高い頻度で伴っていた。これらの症例のシングルセル解析では、T細胞関連の遺伝子発現が低下、T細胞が機能不全に陥っていることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現状、DLBCLのリンパ腫細胞のみを標的とする治療開発には、一定の限界があると言わざるを得ない。一方、キメラ抗原受容体T細胞(CAR-T)療法や免疫チェックポイント阻害薬などに代表される免疫治療は、この限界を克服する可能性がある治療として期待されている。今後、これら免疫治療の開発において、その効果を左右する微小環境の理解は必須であり、本研究はその入口となりうる成果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common B-cell malignancy with varying prognosis. Several prognostic models have been established by focusing primarily on characteristics of lymphoma cells. However, the prognostic impact of the lymphoma microenvironment and its association with characteristics of lymphoma cells are not fully understood. The presence of normal germinal center (GC)-microenvironmental cells, including follicular T cells, macrophage/dendritic cells, and stromal cells in lymphoma tissue indicates a positive therapeutic response. Our prognostic model clearly identified patients with graded prognosis independently of existing prognostic models. We observed increased incidences of genomic alterations associated with poor prognosis in DLBCL tissues lacking GC-microenvironmental cells. These data suggest that the loss of GC-microenvironmental signature dictates clinical outcomes of DLBCL patients reflecting the accumulation of unfavorable molecular signatures.

研究分野：悪性リンパ腫

キーワード：悪性リンパ腫 ゲノム変異 微小環境

1. 研究開始当初の背景

びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (Diffuse large B-cell lymphoma: DLBCL) は、全悪性リンパ腫で最も罹患頻度が高い B 細胞リンパ腫である。B 細胞を標的とする抗 CD20 抗体 rituximab を組み入れた免疫化学療法 (R-CHOP) が標準治療とされるが、5 年生存率は 30~80% で、その生存期間は症例毎に大きく異なる。これは、DLBCL は細胞生物学的に極めて多様性に富むため、R-CHOP への反応性が異なることに起因する。したがって、症例毎に効果的な治療を行うためには、層別化システムを確立することが必要である。DLBCL の予後層別化は、相対的 RNA 量の情報に基づく cDNA microarray により、リンパ腫細胞の細胞起源 (Cell of Origin: COO) を定義することから始まった (Alizadeh, Nature 2000)。この研究により DLBCL は、胚中心 B 細胞型 (Germinal center B cell type: GCB タイプ) とそうでないもの (non-GCB タイプ) に分けられ、GCB タイプの予後が良好であることが示された。さらに、次世代シーケンサーによる網羅的ゲノム変異解析により、COO のタイプに対応する特定のゲノム変異やシグナル伝達経路の異常が報告され、これら異常を標的とする新規分子標的薬の開発も進んできた。しかし、これらの開発努力にも関わらず、治療選択のための層別化や標準治療 R-CHOP を上回る治療開発の成功までには至っておらず、ブレイクスルーが求められている。

2. 研究の目的

本研究では、リンパ腫細胞の遺伝子変化が、どのような免疫機構 (サイトカインや B-T 細胞相互作用など) を介して、DLBCL の悪性度と相関する特徴的な微小環境を形成するのか、そのメカニズムを明らかにする。さらに、リンパ腫細胞とその周囲微小環境から構成される DLBCL 病変を包括的に評価した新たな層別化スコアの作成を試み、治療標的となるようなシグナル伝達経路や分子を同定、リンパ腫細胞とその周囲微小環境の双方を標的としうる新規治療法の実現を目指す。

3. 研究の方法

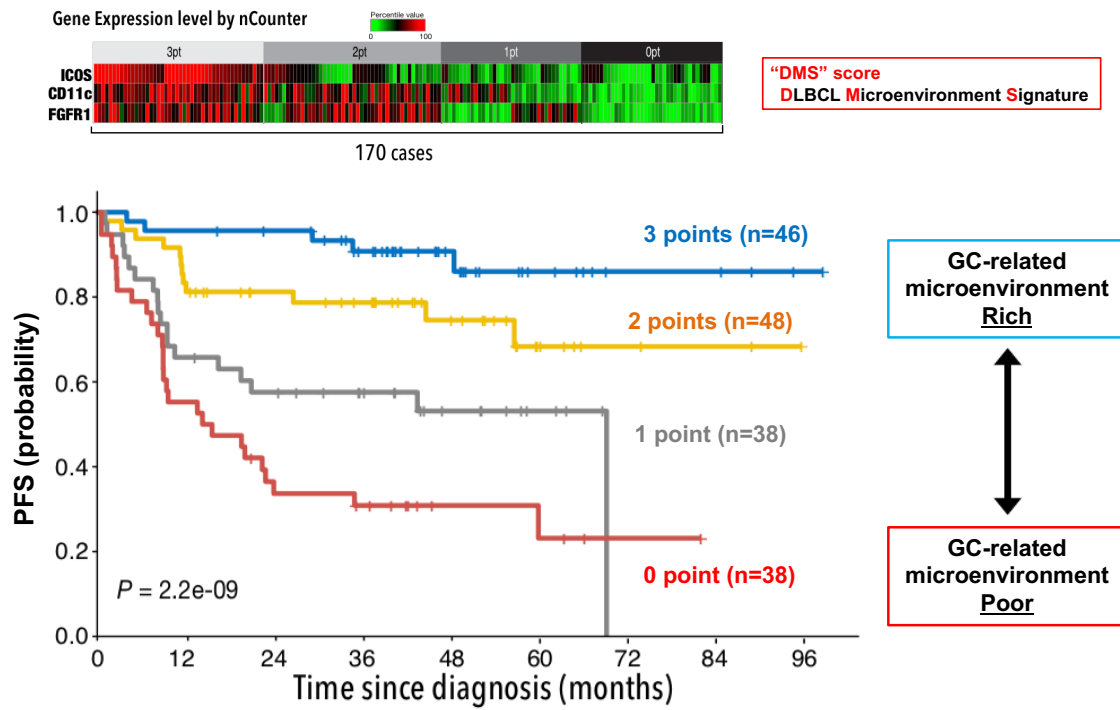
申請者らは、先行研究で RNA 絶対定量が可能な新規 RNA 解析技術 (nCounter system: NCS) を導入、微小遺伝子変化も正確な定量性にに基づき測定することで、微小なリンパ腫周囲環境が悪性リンパ腫の予後を左右することを見いだした (Blood adv. 2018)。本研究において、NCS を導入することにより、リンパ腫細胞とその周囲の微小環境から構成される DLBCL 病変の全体像を包括的に評価することが可能となる。また、リンパ腫細胞で起こっている遺伝子変化が、どのように DLBCL の悪性度と相関する特徴的な微小環境を形成するのかについても依然不明であり、本研究でそのメカニズムを明らかにすることを目標とする。

初発 DLBCL170 症例の FFPE 検体を用いて、NCS 解析と同時に遺伝子変異解析をすすめ、相関を検討の上、他の予後因子 (COO モデル、IPI 等の臨床リスク分類) も含めた、DLBCL 病変を包括的に評価しうる新たな層別化スコアの作成を試みる。シングルセル解析は、C1 システムのマイクロ流路を用いて行う。得られた RNA プロファイルの情報から、微小環境変化がいかなるメカニズムでリンパ腫病態形成に関わっていくかの糸口をつかむ。

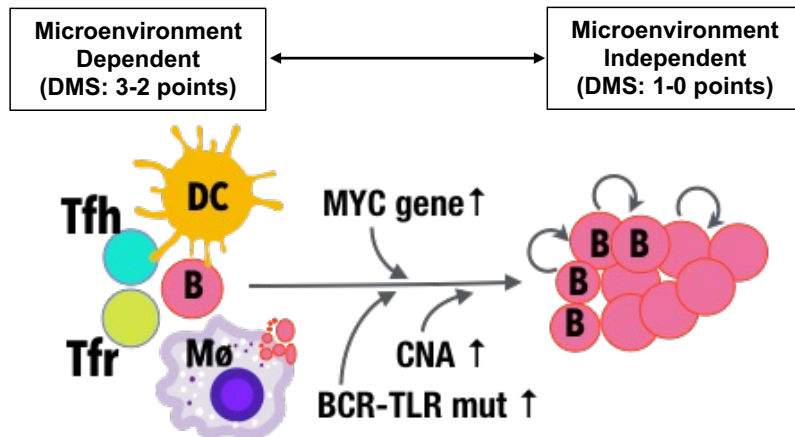
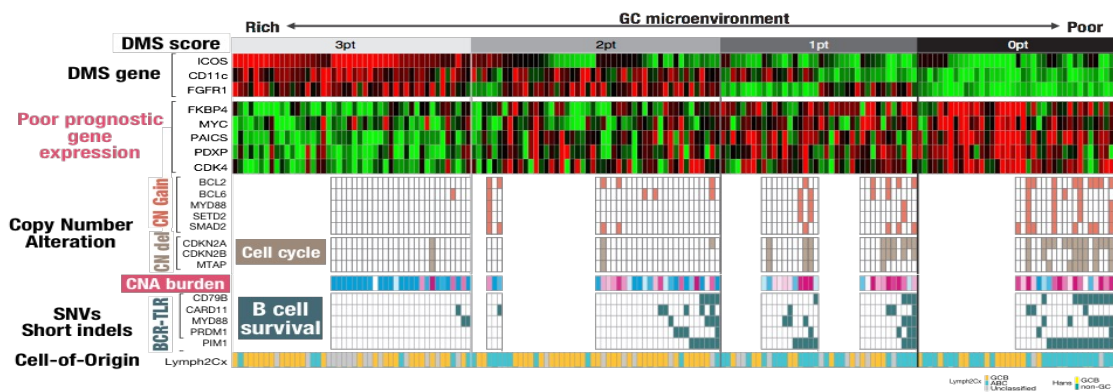
4. 研究成果

初発 DLBCL170 症例の FFPE 検体を用いた NCS 解析で、follicular helper T 細胞 (Tfh) 関連遺伝子 ICOS、マクロファージ関連遺伝子 CD11c、ストローマ細胞関連遺伝子 FGFR1 が強力な予後因子として抽出された。これらの微小周囲環境因子を細胞種別に分類して、DMS (DLBCL Microenvironment Signature) スコアを作成、これら 3 因子の発現レベルでスコア化した (図 1)。同時に遺伝子変異解析をすすめた。DMS スコアが低い患者群では、B 細胞受容体経路活性化を及ぼす CD79B・CARD11・MYD88 分子などの予後不良な遺伝子変異を高い頻度で伴っていた (図 2)。これらの症例のシングルセル解析では、T 細胞関連の遺伝子発現が低下、T 細胞が機能不全に陥っていることが明らかになった (Blood Adv. 2022; 6: 2388-2402)。

(图 1)



(图 2)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 19件）

1. 著者名 Miyawaki K, Kato K, Sugio T, et al.	4. 巻 6
2. 論文標題 A Germinal Center-Associated Microenvironmental Signature Reflects Malignant Phenotype and Outcome of DLBCL.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Blood Adv.	6. 最初と最後の頁 2388-2402
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/bloodadvances.2021004618.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kato K, Makita S, Goto H, et al.	4. 巻 27
2. 論文標題 Phase 2 study of axicabtagene ciloleuceel in Japanese patients with relapsed or refractory large B-cell lymphoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 213-223
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10147-021-02033-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Bishop MR, Dickinson M, Purtill D, Barba P, Santoro A, Hamad N, Kato K, et al.	4. 巻 386
2. 論文標題 Second-Line Tisagenlecleucel or Standard Care in Aggressive B-Cell Lymphoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 N Engl J Med.	6. 最初と最後の頁 629-639
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1056/NEJMoa2116596.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Fowler NH, Dickinson M, Dreyling M, (7名略), Kato K, et al.	4. 巻 28
2. 論文標題 Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory follicular lymphoma: the phase 2 ELARA trial.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nat Med.	6. 最初と最後の頁 325-332
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41591-021-01622-0.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Schuster SJ, Tam CS, Borchmann P, (18名略), Kato K, et al.	4. 巻 22
2. 論文標題 Long-term clinical outcomes of tisagenlecleucel in patients with relapsed or refractory aggressive B-cell lymphomas (JULIET): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lancet Oncol.	6. 最初と最後の頁 1403-1415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/S1470-2045(21)00375-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Harada T, Iwasaki H, Muta T, (21名略), Kato K.	4. 巻 194
2. 論文標題 Outcomes of methotrexate-associated lymphoproliferative disorders in rheumatoid arthritis patients treated with disease-modifying anti-rheumatic drugs.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Br J Haematol.	6. 最初と最後の頁 101-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bjh.17456.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshimitsu M, Fuji S, Utsunomiya A, (12名略), Kato K.	4. 巻 26
2. 論文標題 Outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for ATL with HTLV-1 antibody positive donors: Allo-HCT for ATL from HTLV-1 antibody positive donors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biol Blood Marrow Transplant.	6. 最初と最後の頁 718-722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbmt.2019.12.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato K, Takeuchi A, Akashi K, Eto M.	4. 巻 10
2. 論文標題 Cyclophosphamide-Induced Tolerance in Allogeneic Transplantation: From Basic Studies to Clinical Application.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 3138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.03138.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Jinnouchi F, Yamauchi T, Yurino A, (6名略), Kato K, Maeda T, Miyamoto T, Baba E, Akashi K, Takenaka K.	4. 巻 135
2. 論文標題 Establishment of a human SIRPA knock-in xenograft mouse model to study human hematopoietic and cancer stem cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood.	6. 最初と最後の頁 1661-1672
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood.2019002194.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kazama R, Miyoshi H, Takeuchi M, (8名略), Kato K, Takizawa J, Seto M, Akashi K, Ohshima K.	4. 巻 111
2. 論文標題 Combination of CD47 and SIRP constituting the "don't eat me signal" is a prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 2608-2619
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14437.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Goto H, Makita S, Kato K, Tokushige K, Fujita T, Akashi K, Izutsu K, Teshima T.	4. 巻 25
2. 論文標題 Efficacy and safety of tisagenlecleucel in Japanese adult patients with relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 1736-1743
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-020-01699-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki K, Asano N, Yamada T, (18名略), Kato K, , Katayama N, Yamaguchi M.	4. 巻 105
2. 論文標題 DA-EPOCH-R combined with high-dose methotrexate in patients with newly diagnosed stage II-IV CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma: a single-arm, open-label, phase 2 study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Haematologica.	6. 最初と最後の頁 2308-2315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2019.231076.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Izutsu K, Kato K, Kiyoi H, Yamamoto G, Shimada K, Akashi K.	4. 巻 112
2. 論文標題 Phase I study of duvelisib in Japanese patients with relapsed or refractory lymphoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 504-509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-020-02929-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshimitsu M, Utsunomiya A, Fuji S, (15名略), Kato K.	4. 巻 54
2. 論文標題 A retrospective analysis of haplo-identical HLA-mismatch hematopoietic transplantation without posttransplantation cyclophosphamide for GVHD prophylaxis in patients with adult T-cell leukemia-lymphoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplant.	6. 最初と最後の頁 1266-1274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41409-018-0400-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hori D, Kobayashi R, Fujita N, (2名略), Kato K, (11名略), Mitsui T.	4. 巻 66
2. 論文標題 The effectiveness of busulfan-based conditioning regimens for stem cell transplantation against lymphomas in children, adolescents, and young adults in Japan.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatr Blood Cancer	6. 最初と最後の頁 e27918
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pbc.27918.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fukano R, Mori T, Fujita N, (2名略), Kato K, (11名略), Tabuchi K.	4. 巻 110
2. 論文標題 Successful outcome with reduced-intensity condition regimen followed by allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for relapsed or refractory anaplastic large-cell lymphoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Hematol.	6. 最初と最後の頁 723-728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-019-02748-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki K, Asano N, Yamada T, (18名略), Kato K, Katayama N, Yamaguchi M.	4. 巻 -
2. 論文標題 DA-EPOCH-R combined with high-dose methotrexate in patients with newly diagnosed stage II-IV CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma: a single-arm, open-label, phase 2 study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2019.231076.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshimitsu M, Fuji S, Utsunomiya A, (12名略), Kato K.	4. 巻 26
2. 論文標題 Outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for ATL with HTLV-1 antibody positive donors: Allo-HCT for ATL from HTLV-1 antibody positive donors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biol Blood Marrow Transplant.	6. 最初と最後の頁 718-722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbmt.2019.12.004.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato K, Takeuchi A, Akashi K, Eto M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Cyclophosphamide-Induced Tolerance in Allogeneic Transplantation: From Basic Studies to Clinical Application.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.03138.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 加藤 光次
2. 発表標題 造血器腫瘍に対するCAR-T細胞療法の現状と今後
3. 学会等名 第42回日本アフェレンス学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤 光次
2. 発表標題 造血器腫瘍に対するCAR-T細胞療法への期待と課題
3. 学会等名 第28回 日本輸血・細胞治療学会 秋季シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤 光次
2. 発表標題 びまん性大細胞型B細胞リンパ腫に対する治療開発
3. 学会等名 第109回日本病理学会総会 (シンポジウム) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kato K
2. 発表標題 Treatment approach for relapse after allo-HSCT in patients with adult T-cell leukemia/lymphoma
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会(シンポジウム) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kato K
2. 発表標題 A germinal center-associated microenvironmental signature predicts clinical outcome of diffuse large B-cell lymphoma.
3. 学会等名 The 10th JSH International Symposium 2019 (シンポジウム) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤 光次
2. 発表標題 リンパ腫研究の将来：臨床研究法との関連 基礎研究をどのように臨床応用していくか、学会の果たす役割.
3. 学会等名 第59回日本リンパ網内系学会総会 (シンポジウム) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤 光次
2. 発表標題 Cell therapyの進歩と今後の展望：造血器腫瘍におけるCAR-T治療の現況と課題.
3. 学会等名 第17回日本臨床腫瘍学会総会 (シンポジウム) (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計6件

1. 著者名 加藤 光次	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 5
3. 書名 今日の治療指針 2020年版 -私はこちら治療している 血液疾患 非ホジキンリンパ腫	

1. 著者名 加藤 光次	4. 発行年 2021年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 6
3. 書名 悪性リンパ腫治療マニュアル 改訂第5版 末梢性T細胞リンパ腫	

1. 著者名 加藤 光次	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 7
3. 書名 血液専門医テキスト 改訂第3版 「分子標的薬の作用機序と副作用」	

1. 著者名 加藤 光次	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 4
3. 書名 血液疾患最新の治療 2019-2020 「造血幹細胞移植：移植にむけたブリッジング治療に伴う注意すべき合併症」	

1. 著者名 加藤 光次	4. 発行年 2019年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 8
3. 書名 ファーマナビゲーターDIC改訂版 「造血幹細胞移植に伴う合併症に対して、抗凝固療法はどの程度期待できますか」	

1. 著者名 加藤 光次	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 5
3. 書名 今日の治療指針 2020年版 「今日の治療指針 2020年版 -私はこう治療している 血液疾患 非ホジキンリンパ腫」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------