

令和元年5月31日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16176

研究課題名(和文) MYC陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫における免疫監視機構分子発現の意義

研究課題名(英文) Significance of immunosurveillance molecules in MYC-positive diffuse large B-cell lymphoma

研究代表者

市川 聡 (Satoshi, Ichikawa)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：80770940

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)症例102例の解析において、初診時血清可溶性interleukin-2受容体(sIL-2R)値で層別化すると、高値群では不良な予後を示し、特に胚中心B細胞(GCB)タイプでは高率に早期再発していた。sIL-2R値はDLBCLにおける層別化予後因子として有用であり、MYC遺伝子高発現と予後不良群との関連も示唆された。

リンパ腫細胞株における検討で、GCBリンパ腫由来細胞株においてNF-κBのサブユニットRELの発現で亢進が判明し、REL強制発現系におけるNF-κBの活性上昇が判明した。RELを介するNF-κBシグナルの亢進とリンパ腫増殖の関連が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床病理学的に多様なDLBCLにおいて、臨床的には特に予後不良亜群の存在が問題となっており、R-CHOP療法に代表される化学療法が標準療法として確立する一方、必ずしも均一な疾患単位ではないDLBCLに対して一様にR-CHOP療法を標準療法とすることへの問題点が指摘されている。これらの問題を解決するためには、まず症例の層別化が必要であり、今回、簡便な臨床検査による明瞭な予後層別化の可能性を示せたこと、またとりわけ予後不良と考えられるMYC遺伝子高発現との関連を示せたことは、今後の予後不良DLBCLへの治療開発を考える上での重要な情報の一つとなりうると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In analyses of 102 cases of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), high value of soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) predicted poor clinical outcome. Moreover, most cases of high sIL-2R group with germinal center B-cell (GCB) subtype experienced early relapse. sIL-2R could be a useful prognostic stratification marker of DLBCL, and poor prognosis in high sIL-2R group could be associated with upregulated expression of MYC oncogene. In analyses utilizing lymphoma cell lines, REL, a subunit of NF-κB, was overexpressed in GCB-derived cell line, and NF-κB signal was activated in REL-overexpressed cell lines. It could show the association between overgrowth of lymphoma and upregulation of NF-κB signal pathway mediated by REL.

研究分野：血液内科学

キーワード：びまん性大細胞型B細胞リンパ腫

様式 C - 19, F - 19 - 1, Z - 19, CK - 19 (共通)

## 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 (DLBCL) は最も多い悪性リンパ腫の組織型であるが、臨床的にも病理学的にも幅広く多様な疾患であり、さらなる治療成績向上のために、より明確な予後予測因子の同定が大きな課題となっている。MYC 遺伝子は、高悪性度リンパ腫である Burkitt リンパ腫 (BL) にて同定されたがん遺伝子で、7-21% の DLBCL 症例で MYC 遺伝子の染色体転座等による過剰発現が確認され (以下, MYC+DLBCL), それらは化学療法に抵抗性を示すことが多く、予後不良とされている。BL は極めて激しい腫瘍増殖活性をもって発症するものの、化学療法に対する感受性が高く良好な予後を達成するので、MYC+DLBCL の治療抵抗性、不良な予後は MYC 遺伝子過剰発現のみでは説明が困難であり、MYC 遺伝子自体とは別の機序が関わっていると想定される。最近 MYC 遺伝子が重要な免疫監視機構分子である CD47 および PD-L1 の発現を制御、腫瘍に対する免疫反応を攪乱していることが明らかとされ (Science 2016; 352: 227-31), MYC の過剰発現を伴う腫瘍において免疫監視機構の重要性を示していると考えられる。また、MYC 遺伝子転座を伴う DLBCL のほとんどは胚中心 B 細胞 (GCB) タイプであるが、GCB 由来の B 細胞リンパ腫において 2 番染色体短腕 (2p), 特に 2p15-16 領域に存在する REL などの遺伝子の増幅が高頻度に見られることが知られている (Cancer Sci. 2006; 97: 499-504), その意義、役割は明らかとなっていない。

## 2. 研究の目的

DLBCL 症例のさらなる予後層別化因子となる要素を明らかとする。また MYC+DLBCL の病態に関連する分子学的、病理学的基盤の解析を進める。

## 3. 研究の方法

### (1) DLBCL 症例の予後層別化因子の解析

2008 年から 2017 年の 10 年間に当科で診療したびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) の症例で、R-CHOP 療法を基本とした治療を施行し、医療記録から十分な臨床情報、病理所見を入手可能であるものを抽出したところ、102 例の症例が抽出された。これらの症例の臨床病理学的特徴について解析した。

### (2) リンパ腫細胞株における 2p15-16 領域増幅

4 種類の細胞株 (SUDHL4: GCB リンパ腫由来, Daudi・Raji: BL 由来, Mol t4: リンパ芽球性リンパ腫由来) における 2p15-16 領域の遺伝子および蛋白レベルの発現を RT-PCR 法および Western blotting 法にて評価した。

## 4. 研究成果

### (1) DLBCL における有用な予後層別化因子としての血清可溶性 IL-2 受容体 (sIL-2R) 値

2008 年から 2017 年の 10 年間に当科で診療したびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) の症例のなかで、R-CHOP 療法を基本とした治療を施行し、医療記録から十分な臨床情報、病理所見を入手可能であるものを検索したところ、102 例の症例が抽出された。これらの症例の年齢中央値は 60 歳 (範囲 25-84 歳), 男女比 53:49 で、49 例が進行期、64 例が節外病変を有していた。Hans' criteria で判断すると、GCB サブタイプは 44 例、non-GCB サブタイプは 54 例であった。初診時の血清 LDH 値および sIL-2R 値が上昇していたものは、それぞれ 52 例、71 例であった。症例全体での 5 年全生存率は 87.3%, 無病生存率 (PFS) は 76.3% であった (観察期間中央値 61.5 ヶ月)。初診時血清 sIL-2R 値で層別化すると (低値群: 500 U/mL 未満, 中間群: 500 U/mL 以上 2000 U/mL 未満, 高値群: 2000 U/mL 以上), 低値群 (n=27) では極めて良好な予後を示し (5 年 PFS 96.4%), これらの殆どは IPI での low-risk 群であった。一方、高値群では不良な予後を示し (5 年 PFS 54.2%), この中には IPI low risk も少なからず含まれた。さらに、GCB サブタイプで sIL-2R 高値群に該当する 7 例のうち、4 例で早期再発し、そのうち救済化学療法が奏効したのは 1 例のみであった。以上のことから、sIL-2R 値は R-CHOP 療法を基本とした治療を施行された DLBCL 症例における層別化予後因子として有用であり、特に GCB サブタイプでの sIL-2R 高値はとくに不良な予後を予測するものと考えられ、MYC 遺伝子高発現との関連も示唆された。

### (2) GCB 由来リンパ腫における REL を介する NF- $\kappa$ B シグナルの亢進

SUDHL4 において、NF- $\kappa$ B のサブユニットである REL の発現が遺伝子及び蛋白レベルで亢進していることが判明した。また、REL の発現が低かった Daudi に REL を強制発現させた系において、NF- $\kappa$ B の活性上昇が判明したことから、REL を介する NF- $\kappa$ B シグナルの亢進が細胞増殖に強く関わっている可能性が示された。当院及び関連施設で診断されたリンパ腫のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 検体から抽出した RNA をデジタルカウント遺伝子発現解析 (nCounter) システムにて定量し、臨床情報と紐付けることで遺伝子発現シグニチャーの解析を進めているが、今後、REL 遺伝子や PD-1, CD47 を含めて MYC 陽性 DLBCL における検討も引き続き進めていく予定である。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 13 件)

1. Munakata W, Fukuhara N, Ichikawa S, Tobinai K. (13 名中 9 番目) Phase I study of tirabrutinib (ONO-4059/GS-4059) in patients with relapsed or refractory B-cell malignancies in Japan. *Cancer Sci.* 2019 May;110(5):1686-1694. 2019 Mar 28. doi:10.1111/cas.13983. 【査読有】
2. Nakagawa R, Ichikawa S, Fukuhara N, Harigae H. (11 名中 8 番目) Preemptive therapy for cytomegalovirus reactivation after daratumumab-containing treatment in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. *Ann Hematol.* 2019 Mar 1. doi: 10.1007/s00277-019-03645-7. [Epub ahead of print] 【査読有】
3. Ochi T, Onishi Y, Ichikawa S, Harigae H. (10 名中 6 番目) Umbilical Cord Blood Transplantation Using Reduced-Intensity Conditioning without Antithymocyte Globulin in Adult Patients with Severe Aplastic Anemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019 Feb;25(2):e55-e59. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.09.039. 【査読有】
4. Ono K, Ichikawa S, Fukuhara N, Harigae H. (10 名中 7 番目) T cell clonal proliferation early after PD-1 blockade. *Ann Hematol.* 2019 Jan;98(1):219-220. doi: 10.1007/s00277-018-3406-6. Epub 2018 Jun 26. 【査読有】
5. Ohmachi K, Tobinai K, Ichikawa S, Ando K. (28 名中 6 番目) Efficacy and safety of obinutuzumab in patients with previously untreated follicular lymphoma: a subgroup analysis of patients enrolled in Japan in the randomized phase III GALLIUM trial. *Int J Hematol.* 2018 Nov;108(5):499-509. doi: 10.1007/s12185-018-2497-0. 【査読有】
6. Ichikawa S, Fukuhara N, Onishi Y, Ichinohasama R, Harigae H. Sustained Remission of T-Cell Lymphoma by Graft-Versus-Lymphoma Effect That Relapsed Early After Cord Blood Transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2018 Sep;18(9):e369-e372. doi: 10.1016/j.clml.2018.06.019. 【査読有】
7. Ono K, Ichikawa S, Fukuhara N, Harigae H. (10 名中 4 番目) Successful Treatment of Aggressive Mature B-cell Lymphoma Mimicking Immune Thrombocytopenic Purpura. *Intern Med.* 2018 Sep 1;57(17):2573-2579. doi: 10.2169/internalmedicine.0560-17. 【査読有】
8. Ichikawa S, Fukuhara N, Harigae H. (14 名中 1 番目) Successful Cord Blood Stem Cell Transplantation for Primary Cutaneous CD8-positive Aggressive Epidermotropic Cytotoxic T-cell Lymphoma Complicated with Cerebral Infiltration. *Intern Med.* 2018 Jul 15;57(14):2051-2055. doi:10.2169/internalmedicine.0568-17. 【査読有】
9. Ichikawa S, Fukuhara N, Harigae H. (12 名中 1 番目) Anaplastic multiple myeloma: possible limitations of conventional chemotherapy for long-term remission. *J Clin Exp Hematop.* 2018;58(1):39-42. doi: 10.3960/jslrt.17035. 【査読有】
10. Katsushima H, Fukuhara N, Ichikawa S, Harigae H, Ichinohasama R. (9 名中 6 番目) Does double-hit follicular lymphoma with translocations of MYC and BCL2 change the definition of transformation? *Leuk Lymphoma.* 2018 Mar;59(3):758-762. doi:10.1080/10428194.2017.1357172. 【査読有】
11. Ohashi K, Fujiwara T, Ichikawa S, Harigae H. (10 名中 5 番目) Establishment of a Screening System to Identify Novel GATA-2 Transcriptional Regulators. *Tohoku J Exp Med.* 2018 Jan;244(1):41-52. doi: 10.1620/tjem.244.41. 【査読有】
12. Fujiwara T, Ichikawa S, Harigae H. (10 名中 5 番目) A novel heterozygous ALAS2 mutation in a female with macrocytic sideroblastic anemia resembling myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts: a case report and literature review. *Ann Hematol.* 2017 Nov;96(11):1955-1957. doi: 10.1007/s00277-017-3106-7. 【査読有】
13. Saito K, Fujiwara T, Ichikawa S, Harigae H. (12 名中 5 番目) Dynamics of absorption, metabolism, and excretion of 5-aminolevulinic acid in human intestinal Caco-2 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017 Jul 13;511:105-111. doi:10.1016/j.bbrep.2017.07.006. 【査読有】

### 〔学会発表〕(計 13 件)

1. 市川 聡, 福原 規子, 張替 秀郎, 他. (8 名中 1 番目) びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫における sIL-2R 値の層別化予後因子としての意義. 第 80 回日本血液学会学術集会. 2018 年 10 月 12 日 ~ 14 日 (大阪).
2. 市川 聡, 福原 規子, 張替 秀郎, 他. (12 名中 1 番目) 臍帯血移植が奏効した aggressive NK-cell leukemia の 1 例. 第 40 回日本造血細胞移植学会総会. 2018 年 2 月 1 日 ~ 3 日 (札幌).
3. 市川 聡, 福原 規子, 張替 秀郎, 他. (12 名中 1 番目) リンパ腫レジメン及び骨髄腫レジメン双方に抵抗性を示した難治性未分化骨髄腫の 1 例. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年 10 月 20 日 ~ 22 日 (東京).
4. 市川 聡, 沖津 庸子, 福原 規子, 張替 秀郎, 他. (13 名中 1 番目) 当科にて経験した後

- 天性血友病Aの7例．第79回日本血液学会学術集会．2017年10月20日～22日（東京）．
5. 中川 諒, 大西 康, 市川 聡, 張替 秀郎, 他. (10名中8番目) 臍帯血移植前に肺真菌症に対する外科的切除が有効であった急性骨髄性白血病3例. 第41回日本造血細胞移植学会総会. 2019年3月7日～9日（大阪）.
  6. 大西 康, 市川 聡, 張替 秀郎, 他. (11名中7番目) 成人発症の慢性活動性EBV感染症に対する臍帯血移植の成績. 第41回日本造血細胞移植学会総会. 2019年3月7日～9日（大阪）.
  7. 小野寺 晃一, 市川 聡, 張替 秀郎, 他. (10名中7番目) 再生不良性貧血に対する同種造血幹細胞移植後にドナー型二次性着不全からAMLへと進展した一例. 第41回日本造血細胞移植学会総会 2019年3月7日～9日（大阪）.
  8. 大地 哲朗, 福原 規子, 市川 聡, 張替 秀郎, 他 (12名中6番目) CD56陽性皮膚T細胞リンパ腫6例の後方視的解析. 第80回日本血液学会学術集会. 第80回日本血液学会学術集会. 2018年10月12日～14日（大阪）.
  9. 佐野 沙矢香, 市川 聡, 福原 規子, 張替 秀郎, 他. (10名中8番目) 成熟T細胞性リンパ腫に対する臍帯血移植:10例の報告. 第80回日本血液学会学術集会 2018/10/12-14 大阪国際会議場 ポスター
  10. 大西 康, 市川 聡, 福原 規子, 張替 秀郎, 他 (11名中8番目). T-LGL白血病に対するシクロスポリンA治療:単施設の経験. 第80回日本血液学会学術集会 2018/10/12-14 大阪国際会議場 口演
  11. 小林 匡洋, 市川 聡, 福原 規子, 張替 秀郎 (9名中5番目). ダラツムマブ投与中にサイトメガロウイルス抗原血症陽性化を示した多発性骨髄腫の2例. 第80回日本血液学会学術集会 2018/10/12-14 大阪国際会議場 ポスター
  12. Fujiwara T, Ichikawa S, Harigae H, et al. (9名中5番目) The effect of TET2 disruption in human erythroid cells. 第9回日本血液学会国際シンポジウム. 2018年7月27日～28日（京都）
  13. 大地 哲朗, 市川 聡, 張替 秀郎, 他. (9名中6番目) 再生不良性貧血に対するFludarabine + Cyclophosphamide + TBI 4Gyを用いた臍帯血移植. 第40回日本造血細胞移植学会総会. 2018年2月1日～3日（札幌）

〔図書〕(計3件)

1. 市川 聡, 福原 規子. 【血液疾患に合併する感染症とその対策】 悪性リンパ腫治療における感染症の動向とその対策(解説/特集). 血液内科. 78巻3号, 321～326頁. (2019.03)
2. 市川 聡, 福原 規子. 【悪性リンパ腫の最新分類と新規治療】 注目の新薬 Polatuzumab Vedotin(抗CD79b抗体薬物複合体)(解説/特集). 最新医学. 73巻11号, 1492～1497頁. (2018.11)
3. 市川 聡, 福原 規子, 一迫 玲, 張替 秀郎. 【造血器・リンパ系腫瘍のWHO分類 2016 version】リンパ系腫瘍 成熟B細胞腫瘍 慢性リンパ性白血病/小リンパ球性リンパ腫, 濾胞性リンパ腫, マントル細胞リンパ腫(解説/特集). 臨床検査. 61巻7号, 836～840頁. (2017.07)

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。