

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

## 科学研究費助成事業

## 研究成果報告書



令和 2 年 5 月 1 8 日現在

機関番号：3 2 6 4 4

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：1 8 K 1 5 0 9 8

研究課題名（和文）転座型DLBCLの比較検討

研究課題名（英文）Analysis of translocation DLBCL

研究代表者

宮岡 雅（MIYAOKA, Masashi）

東海大学・医学部・助教

研究者番号：1 0 7 2 4 5 8 6

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）：悪性リンパ腫のうち、MYC遺伝子再構成を伴うB細胞リンパ腫23例について統合的遺伝子解析を行った。内訳はMYC遺伝子再構成のみを示すsingle hit lymphoma（SHL）13例、MYC遺伝子、BCL2遺伝子、BCL6遺伝子のうちMYC遺伝子を含めた2つ以上の遺伝子再構成を示すDouble hit lymphoma（DHL）10例からなり、臨床的評価から現病死の13例（予後不良群）と長期生存の10例（予後良好群）に分けて解析した。予後不良群は予後良好群に比べて、1q,3q,12の増幅と1p,15qの欠失、MYCとBCL2遺伝子のmutationが高頻度、複数の遺伝子高発現が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MYC転座を有するDouble hit lymphomaとSingle hit lymphomaは予後不良とされているが、従来の化学療法で長期寛解に至る予後良好群も存在することが分かった。更に、予後良好群に比して予後不良群ではHans分類でnon-GCBが多く、コピー数変化や変異、発現に差のある遺伝子を複数認めた。

これらの予後良好群と予後不良群の間にみられた異なる所見の中に従来の化学療法に対する反応を規定する変化が存在する可能性がある。特に差異のみられた遺伝子については、発現する蛋白質を解析する事で分子標的薬の開発につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We performed integrated genetic analysis for 23 cases of Diffuse large B-cell lymphoma with MYC rearrangement. Twenty-three cases are composed of 13 cases of double hit lymphoma having MYC and BCL2/BCL6 rearrangements and 10 cases of single hit lymphoma having only MYC rearrangement.

We subdivided our cases into 10 cases with good prognosis group and 13 cases with bad prognosis group for comparative investigation. Good prognosis group showed complete response without relapse for long term by conventional chemotherapy. Bad prognosis group were dead due to lymphoma. Genetically, gain of 1q,3q and 12chr, loss of 1p and 15q were common in bad prognosis group by copy number alteration analysis. High frequency of mutation were seen in MYC and BCL2 in bad prognosis group by next generation target sequence analysis. High expression of some genes were seen in bad prognosis group by gene expression profiling analysis.

We think that these findings would lead to development of molecular target drug.

研究分野：悪性リンパ腫

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（共通）

## 1．研究開始当初の背景

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) は本邦におけるリンパ腫の 30～40%を占めており、最も発生頻度の高い病型である。近年、*MYC* と *BCL2* 又は *BCL6* 転座を併せ持つ B 細胞リンパ腫で、従来の化学療法にはほとんど反応せず極めて予後不良な経過を辿る Double hit lymphoma (DHL) が報告された。DHL への関心は世界中でも高く、2017 年に発表された第 4 版改訂版 WHO 分類では「High-grade B-cell lymphoma, with *MYC* and *BCL2* and/or *BCL6* rearrangements (HGBL-DH)」という独立した項目に分類された。HGBL-DH は DLBCL の数%で全リンパ腫の 1-2%に当たる稀なリンパ腫である。HGBL-DH についてはこれまでに多数の報告がなされており、その臨床病理学的特徴は徐々に解明されてきているが、遺伝子異常 (copy number alteration, gene mutation, gene expression profiling) を統合解析した報告はない。また、*MYC* 転座のみを有する Single hit lymphoma (SHL) においても同様の状況である。

## 2．研究の目的

- (1) *MYC* 転座を有する DLBCL (DHL、SHL) の遺伝子異常を明らかにする。  
Copy number alteration の解析  
Gene mutation の解析  
Gene expression profiling の解析
- (2) *MYC* 転座を有する DLBCL (DHL、SHL) の臨床病理学的特徴を明らかにする。  
LDH、骨髄浸潤、International Prognostic Index、臨床病期、全生存期間の解析  
腫瘍細胞の免疫形質の解析  
腫瘍関連マクロファージと予後の関連の解析

## 3．研究の方法

- (1) *MYC* 転座を有する DLBCL (DHL、SHL) の遺伝子異常を明らかにする。  
東海大学医学部付属病院で診断された約 320 例の DLBCL から Fluorescence in situ hybridization (FISH) で DHL、SHL を検索する。  
網羅的遺伝子 copy number alteration の解析：ホルマリン固定検体から Oncoscan 法による網羅的遺伝子 copy number alteration のパターンを解析する。  
Gene mutation の解析：ホルマリン固定検体から Next generation target sequence 法を用いて高悪性度 B 細胞リンパ腫と濾胞性リンパ腫に関連する 115 遺伝子の遺伝子変異を解析する。  
Gene expression profiling の解析：ホルマリン固定検体から Nanostring を用いて RNA 発現、Gene expression profile を解析する。
- (2) *MYC* 転座を有する DLBCL (DHL、SHL) の臨床病理学的特徴を明らかにする。  
LDH、骨髄浸潤、International Prognostic Index、臨床病期、全生存期間の解析：電子カルテから検索する。  
腫瘍細胞の免疫形質の解析：免疫組織化学で Hans classifier を解析する。  
腫瘍関連マクロファージと予後の関連の解析：腫瘍細胞中の CD163 陽性マクロファージの割合と予後の関連を解析する。

## 4．研究成果

- (1) *MYC* 転座を有する DLBCL (DHL、SHL) の遺伝子異常を明らかにする。  
東海大学医学部付属病院で診断された約 320 例の DLBCL から Fluorescence in situ hybridization (FISH) で DHL、SHL を検索する：DHL13 例、SHL10 例の合計 23 例を検索し得た。  
網羅的遺伝子 copy number alteration の解析：22 例で解析し得た。全体的特徴としては 1q、3q、12chr の gain、1p、15q の loss を認めた (図 1)。  
Gene mutation の解析：18 例で解析し得た。*MYC* (13/18, 72%)、*BCL2* (10/18, 56%) での変異の頻度が高かった (図 2)。

Gene expression profiling の解析：19 例で解析し得た。複数の遺伝子で共通した高発現を認めた。

図 1

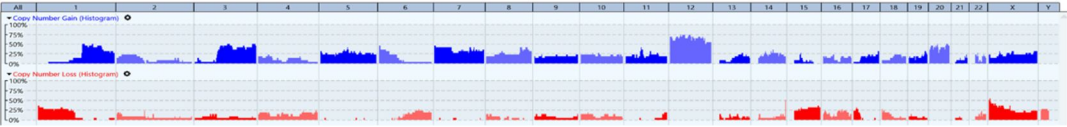


図 2

Case	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
SUBTYPE	DHLTHL	DHLTHL	DHLTHL	DHLTHL	DHLTHL	DHLTHL	DHLTHL	DHLTHL	DHLTHL	SHL	SHL	SHL	SHL	DHLTHL	DHLTHL	DHLTHL	SHL	SHL
MYC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
BCL2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0
KMT2D	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
CREBBP	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1
MEF2B	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1
PIM1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
SOC31	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
GNA13	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0

- (2) MYC 転座を有する DLBCL (DHL、SHL) の臨床病理学的特徴を明らかにする。  
 年齢、性別、LDH、骨髓浸潤、International Prognostic Index、臨床病期、全生存期間の解析：年齢中央値は 63 歳 (34-83 歳)、男女比は 9 : 14 (男 : 女) で女性に多かった。半数の症例が進行期を呈した。約 20% 程度の症例で骨髓浸潤を認めた。約 40% の症例が High or High-intermediate (International Prognostic Index) を呈した。観察期間内で全生存期間中央値 33 カ月 (1-167 カ月) であったが、化学療法に反応し Complete response (CR) を保つ予後良好群 (10 例) と化学療法に反応せず原病死する予後不良群 (13 例) に分かれた。予後良好群の全生存期間中央値は 102 カ月 (33-167 カ月)、予後不良群の全生存期間中央値は 12 カ月 (1-69 カ月) であった。  
 腫瘍細胞の免疫形質の解析：65% の症例が GCB type であった。  
 腫瘍関連マクロファージと予後の関連の解析：SHL では腫瘍細胞中に CD163 陽性マクロファージを 40% 以上含む症例は予後不良群となる傾向にあった。
- (3) 予後良好群と予後不良群の病理学的、遺伝子学的比較検討  
 腫瘍細胞の免疫形質の解析：Hans classifier は予後良好群で GCB 9 例/non-GCB 1 例、予後不良群で GCB 6 例/non-GCB 7 例であり、予後不良群で有意に non-GCB が多かった (p=0.022)。  
 Copy number alteration、Gene mutation、Gene expression profiling で複数の遺伝子に差を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮岡雅
2. 発表標題 MYC single hit lymphomaにおける病理学的・遺伝子学的予後不良因子の検討
3. 学会等名 第58回リンパ網内系学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮岡雅
2. 発表標題 MYC single and double hit lymphomaの統合的遺伝子解析
3. 学会等名 第60回リンパ網内系学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮岡雅
2. 発表標題 High-grade B-cell lymphoma with MYC/BCL2/BCL6 rearrangementの遺伝子解析
3. 学会等名 第109回病理学会総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----