

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07396

研究課題名（和文）FISHに頼らない高悪性度B細胞リンパ腫の診断法の確立とその分子基盤

研究課題名（英文）Screening strategy of High grade B-cell lymphoma

研究代表者

百瀬 修二（Momose, Shuji）

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：70360344

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：高悪性度B細胞リンパ腫はB細胞リンパ腫の中でも最も予後の悪い疾患単位の一つである。現在のところ高悪性度B細胞リンパ腫、MYC、BCL2、BCL6の分子遺伝学的解析なしには診断が確定しえない疾患単位である。本研究はFISH（蛍光 in situ ハイブリダイゼーション）法に頼らずに高悪性度 B 細胞リンパ腫の抽出を試みるものである。既報の文献や申請者らの遺伝子発現プロファイルデータを参考に、複数因子を抽出し、予後不良群の抽出の試みを行った。その結果、3つの因子によって予後不良群が抽出され、免疫組織化学による代替法の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高悪性度B細胞リンパ腫はB細胞リンパ腫の中でも最も予後の悪い疾患単位の一つであるが、その診断法は、現在のところ分子遺伝学的に MYC、BCL2、BCL6 の再構成の検索なしには確定しえない。本研究では既報の文献や申請者らの遺伝子発現プロファイルデータを参考に、複数因子を抽出し、予後不良群の抽出の試みを行った。その結果、免疫組織化学による3つの因子の発現により予後不良群が抽出された。このことは免疫組織化学による代替法の可能性が示唆され、将来的には治療階層化の一助となることが期待された。

研究成果の概要（英文）：High-grade B-cell lymphoma (HGBL) is one of the disease entities that exert a worse prognosis among B-cell lymphomas. Currently, the diagnosis of high-grade B-cell lymphoma cannot be made without molecular genetic analysis of MYC, BCL2, and BCL6 by fluorescence in situ hybridization. This study attempts to extract high-grade B-cell lymphomas immunohistochemically without performing the FISH method. Several factors were isolated, and an attempt was made to extract the poor prognosis group by referring to the previously published literature and the gene expression profile data of the applicants. As a result, three factors were used to extract the poor prognosis group, suggesting the possibility of an alternative method using immunohistochemistry.

研究分野：診断病理

キーワード：DLBCL Burkitt lymphoma

1. 研究開始当初の背景

高悪性度 B 細胞リンパ腫 (High grade B-cell lymphoma, HGBL) は、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫や Burkitt リンパ腫の類縁疾患で、*MYC* および *BCL2* に再構成をもつ、分子遺伝学的に定義される High grade B-cell lymphoma, *MYC* and *BCL2* (HGBL, DH) と組織細胞形態像と分子遺伝学的背景を考慮し、他の特定病型を除外し診断される High grade B-cell lymphoma, NOS (HGBL, NOS) の 2 病型が知られている¹⁾。大多数の HGBL は HGBL, DH に属し、細胞形態も大型細胞からなるびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) がその主体である。現状で、*MYC* と *BCL2* の両者に再構成を有する DLBCL の形態を呈する HGBL, DH とそれ以外の DLBCL では推奨される治療法は異なる。

したがって、形態像のみからでは区別することのできない両病型の鑑別点は現状では FISH による *MYC*, *BCL2* の再構成の検索に委ねられている。一方で、遺伝子の発現レベルで *MYC*, *BCL2* の再構成を有さず、*MYC*, *BCL2* の再構成を有する症例と同等の増殖活性や悪性度を有する、遺伝子発現レベルでの HGBL が知られており、それらは double hit signature/Dark zone signature (DHITsig / DZsig) / Molecular high grade signature (MHGsig) と呼ばれている。^{2,3)}

2. 研究の目的

本研究では、HGBL, *MYC*+*BCL2* を含めた DLBCL の形態像を示す症例で、遺伝子発現レベルで高悪性度 B 細胞リンパ腫に相当する症例を抽出することにある。

3. 研究の方法

当院における DLBCL 323 例の組織マイクロアレイ (TMA) を作成し、FISH により *MYC*, *BCL2*, *BCL6* の再構成の有無を検索する。いずれも Abbott 社の Vysis LSI *MYC* Dual Color, Vysis LSI *BCL2* Dual Color を用いた。それぞれのカットオフは以前の報告同様に 17%, 17%, 15% とした。⁴⁾ さらに既存のデータベースなどを参考に、DZsig / MHGsig で高発現している分子群のうち *MYC*, 5-LO を、低発現している分子群のうち *STAT3*, *IRF4* を抽出し、その発現解析を行った。

4. 研究成果

DLBCL の基本的な遺伝子発現分類である Hans 分類による亜型分類 (COO 分類; GCB, non-GCB) では、GCB が 153/323 (47.4%), non-GCB が 170/323 (52.6%) であった。またそれぞれに遺伝子再構成の頻度に関しては、*MYC*-BAP で break が見られた症例は 7.7% で、COO 別では GCB type が 14.4%, non-GCB type では 1.7% と有意に GCB type に *MYC* の再構成が認められた。*BCL2* の break は全体の 17.7% にみられ、GCB type の 25.5%, non-GCB type の 2.6% とこれも GCB type で有意に多かった。一方、*BCL6*-BAP では、全症例の 17.0% に break がみられ、GCB type の 16.3%, non-GCB type の 16.7% と両 COO に有意な差はみられなかった。また *MYC* および *BCL2*/*BCL6* に break を有するいわゆる double/triple hit (DH/TH) は全体の 4.3% で、COO 別では GCB type の 8.5%, non-GCB type の 0.6% と DH/TH event が GCB type で有意なイベントであった。

さらに現行 WHO 分類第 5 版 (WHO5) に則って DH event を *MYC*, *BCL2* に再構成を有する症例に絞った場合、DLBCL 全体で 12/293 (4.1%), GCB type では 12/138 (8.8%), non-GCB type では 1/153 (0.7%) であった。既報の結果に比して、再構成を有する症例は総じてやや低い傾向にあるが、*MYC*, *BCL2* の再構成が GCB に有意に多い結果は既報と同様であった。

MYC の陽性率は GCB type で 79/153 (51.6%), non-GCB type で 96/170 (56.4%) であった。MUM1 の陽性率は GCB type で 44/162 (27%), non-GCB type で 154/169 (91.1%) で有意に GCB type で高かった。*STAT3* の陽性率は GCB type で 88/137 (64.2%), non-GCB type で 138/159 (86.8%) であった。また 5-LO の陽性率は GCB type で 43/148 (29.1%), non-GCB type で 22/160 (13.8%) であった。

次に臨床病理学的意義に関しては、上記マーカーを用いて検討を行った。DLBCL GCB type では *MYC* 陽性群で OS に対しては予後不良因子としてみられたが ($p=0.044$)、PFS に対する影響はみられなかった ($p=0.9525$)。一方で、*MYC*, 5-LO 陽性かつ MUM1 陰性症例を抽出し、検討を行った結果、OS, PFS とともに予後不良群の抽出に成功した (OS; $p=0.0267$, PFS; $p=0.0253$)。以上から、*MYC*, 5-LO, MUM1 による免疫組織化学的発現群が、FISH の代替法となる可能性が示唆された。

参考文献

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Haematolymphoid tumours [Internet]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2024. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 11).
2. Ennishi D, Jiang A, Boyle M, Collinge B, Grande BM, Ben-Neriah S, Rushton C, Tang J, Thomas N, Slack GW, Farinha P, Takata K, Miyata-Takata T, Craig J, Mottok A, Meissner B, Saberi S, Bashashati A, Villa D, Savage KJ, Sehn LH, Kridel R, Mungall AJ, Marra MA, Shah SP, Steidl C, Connors JM, Gascoyne RD, Morin RD, Scott DW. Double-Hit Gene Expression Signature Defines a Distinct Subgroup of Germinal Center B-Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2019 Jan 20;37(3):190-201.
3. Sha C, Barrans S, Cucco F, Bentley MA, Care MA, Cummin T, Kennedy H, Thompson JS, Uddin R, Worrillow L, Chalkley R, van Hoppe M, Ahmed S, Maishman T, Caddy J, Schuh A, Mamot C, Burton C, Tooze R, Davies A, Du MQ, Johnson PWM, Westhead DR. Molecular High-Grade B-Cell Lymphoma: Defining a Poor-Risk Group That Requires Different Approaches to Therapy. *J Clin Oncol*. 2019 Jan 20;37(3):202-212.
4. Takayanagi N, Momose S, Kikuchi J, Tanaka Y, Anan T, Yamashita T, Higashi M, Tokuhira M, Kizaki M, Tamaru JI., Fluorescent nanoparticle-mediated semiquantitative MYC protein expression analysis in morphologically diffuse large B-cell lymphoma. *Pathol Int*. 2021 Sep;71(9):594-603.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Morihiro Higashi, Shuji Momose, Natsuko Takayanagi, Yuka Tanaka, Tomoe Anan, Takahisa Yamashita, Jun Kikuchi, Michihide Tokuhira, Masahiro Kizaki, Jun-Ichi Tamaru	4. 巻 8
2. 論文標題 CD24 is a surrogate for 'immune-cold' phenotype in aggressive large B-cell lymphoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Pathol Clin Res.	6. 最初と最後の頁 340-354
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cjp2.266. Epub 2022 Mar 14.	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 Takayanagi N, Momose S, Kikuchi J, Tanaka Y, Anan T, Yamashita T, Higashi M, Tokuhira M, Kizaki M, Tamaru JI.	4. 巻 71
2. 論文標題 Fluorescent nanoparticle-mediated semiquantitative MYC protein expression analysis in morphologically diffuse large B-cell lymphoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathol Int	6. 最初と最後の頁 594-603.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pin.13131.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Higashi M, Kikuchi J, Murakami C, Takayanagi N, Momose S, Kizaki M, Tamaru JI.	4. 巻 61
2. 論文標題 Better method for detection of CD30: Immunohistochemistry or flow cytometry?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Exp Hematop	6. 最初と最後の頁 221-223.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3960/jslrt.21019	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 Tanaka Y, Momose S, Takayanagi N, Tabayashi T, Tokuhira M, Tamaru JI, Kizaki M.	4. 巻 9
2. 論文標題 Rapid deterioration of intravascular large B-cell lymphoma with mass formation in the trigeminal nerve and multiple organ infiltration: An autopsy case report.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Exp Hematop.	6. 最初と最後の頁 41-45
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3960/jslrt.21013.	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 Higashi M, Momose S, Takayanagi N, Tanaka Y, Anan T, Yamashita T, Kikuchi J, Tokuhira M, Kizaki M, Tamaru JI.	4. 巻 -
2. 論文標題 Share CD24 is a surrogate for 'immune-cold' phenotype in aggressive large B-cell lymphoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Pathol Clin Res.	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) 10.1002/cjp2.266.	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 Nishimura Y, Nishikori A, Sawada H, Czech T, Otsuka Y, Nishimura MF, Mizuno H, Sawa N, Momose S, Ohsawa K, Otsuka F, Sato Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Idiopathic multicentric Castleman disease with positive antiphospholipid antibody: atypical and undiagnosed autoimmune disease?	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Clin Exp Hematop.	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) 10.3960/jslrt.21038	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 Yamamoto J, Suwa T, Murase Y, Tateno S, Mizutome H, Asatsuma-Okumura T, Shimizu N, Kishi T, Momose S, Kizaki M, Ito T, Yamaguchi Y, Handa H.	4. 巻 16
2. 論文標題 ARID2 is a pomalidomide-dependent CRL4 CRBN substrate in multiple myeloma cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nat Chem Biol	6. 最初と最後の頁 1208-1217
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41589-020-0645-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashita T, Higashi M, Momose S, Adachi A, Watanabe T, Tanaka Y, Tokuhira M, Kizaki M, Tamaru JI.	4. 巻 25
2. 論文標題 Decreased MYC-associated factor X (MAX) expression is a new potential biomarker for adverse prognosis in anaplastic large cell lymphoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep.	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) 10.1038/s41598-020-67500-w	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 百瀬修二, 田中佑加, 木崎昌弘, 田丸 淳一	4. 巻 80
2. 論文標題 高悪性度B細胞リンパ腫の診断と治療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 血液内科	6. 最初と最後の頁 647-653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 百瀬修二, 田丸淳一
2. 発表標題 大細胞型B細胞リンパ腫におけるトピック
3. 学会等名 日本病理学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 百瀬修二, 田丸淳一
2. 発表標題 High grade B-cell lymphoma - WHO分類における位置付け -
3. 学会等名 臨床細胞学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中佑加, 百瀬修二, 多林孝之, 得平道英, 田丸淳一, 木崎昌弘
2. 発表標題 胚中心由来の高侵襲性B細胞リンパ腫に対するアベマシクリブの効果
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 百瀬修二, 田丸淳一
2. 発表標題 リンパ腫における細胞周期に関連したゲノム異常とその意義
3. 学会等名 日本病理学会総会
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
研究分担者	森 隆 (Mori Takashi) (60239605)	埼玉医科大学・医学部・教授 (32409)	

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
---------	---------