

令和 6 年 4 月 30 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15405

研究課題名（和文）DLBCL亜型における臨床病理学的特徴を規定する遺伝子異常の解明

研究課題名（英文）Genetic Aberrations Defining Clinicopathological Features in DLBCL Subtypes

研究代表者

藤井 慶一郎 (Fujii, Keiichiro)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：50896545

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,600,000円

研究成果の概要（和文）：DLBCL亜型のIVL15例について、BCL2、BCL6、MYC転座およびPD-L1増幅をFICTION-WSI法によるFISH解析を行った。遺伝子転座を示す症例は見られなかったが、遺伝子増幅を示す症例を数例認めた。IVLの病態に関連する可能性はあるが、さらに症例数を増やした検討が必要と考えられた。研究期間は終了するが、引き続き検討を重ねていく予定である。

DLBCL患者個々の予後予測が可能な新たなモデル（ノモグラム）を開発した。さらにDLBCLの予後不良に関わる遺伝子（MYD88, CD79B）に注目し、これらの遺伝子異常とIPI因子とを融合した予後予測モデル（ノモグラム）を作製した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

DLBCL患者個々の予後予測をするための新たなモデル（ノモグラム）を開発した。さらにDLBCLの予後不良に関連する遺伝子異常をIPI因子と融合した予後予測モデル（ノモグラム）を開発した。これらのノモグラムは臨床現場において患者個々の予後評価に役立ち、治療方針やフォローアップ期間などの決定に貢献する可能性がある。また遺伝子異常を既存のIPI因子と融合させた本研究のアプローチは画期的であり、本研究はリンパ腫分野における予後予測モデル開発の基盤になる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In fifteen IVL cases, translocations of BCL2, BCL6, and MYC genes, and amplification of PD-L1 gene were analyzed using a FICTION-WSI method. None of the cases had translocations, but some showed aberrant FISH signal gains. This observation may be related to IVL lymphomagenesis, but further investigations may be necessary. We plan to continue our research even after the research period ends.

To gain a better understanding of DLBCL and to optimize individualized prognosis assessment, we developed nomograms to predict the survival of DLBCL patients. We also included MYD88 and CD79B mutations in the prognostic model.

研究分野：人体病理学

キーワード：血液腫瘍 悪性リンパ腫 びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 DLBCL亜型

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 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) には多くの亜型が存在する。血管内大細胞型 B 細胞リンパ腫 (IVL) は DLBCL の稀な一亜型で、診断目的で採取された検体に含まれる腫瘍細胞は極めて少数である。IVL 以外の DLBCL 亜型、特に中枢原発 DLBCL や縦隔原発 DLBCL においても検体に含まれる腫瘍細胞が少量であることが多い。そのため疾患関連蛋白発現や転座などの遺伝子解析は困難な場合が多く、現在においても IVL をはじめとする DLBCL 亜型の遺伝子プロファイリングや病態解明が十分に進んでいない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、IVL などの DLBCL 亜型の臨床病理学的特徴を規定する特異的な遺伝子異常を明らかにすること、DLBCL に見られる特徴的な遺伝子異常を既存の予後予測モデル (international prognostic index, IPI) に組み込み、新たな予後予測モデルを開発することにある。

### 3. 研究の方法

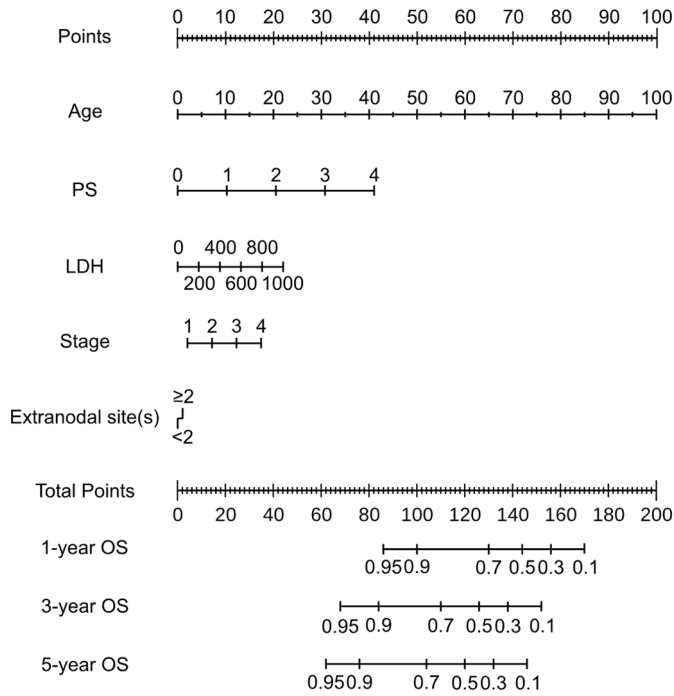
IVL の病態に関わる特異的な遺伝子異常を明らかにするために、IVL15 症例を FICTION-WSI 法により FISH 解析した。検索する転座は、DLBCL で報告頻度の高い *BCL2*, *BCL6*, *MYC* 転座や *PD-L1* 増幅を検索した。IVL 以外の DLBCL 亜型の臨床病理学的特徴を規定する特異的な遺伝子異常を明らかにするために、DLBCL 亜型 (中枢神経原発、縦隔原発、皮膚原発、EBV 陽性) 計 30 症例について次世代シーケンサ解析を予定した。

DLBCL302 症例を使用し、患者個々の予後予測が可能な新しいモデル (ノモグラム) を作製した。次に DLBCL の予後不良に関わる遺伝子 (*MYD88*, *CD79B*) を PCR アッセイにより解析し、これらの遺伝子異常と IPI 因子とを融合した予後予測モデル (ノモグラム) を作製した。

### 4. 研究成果

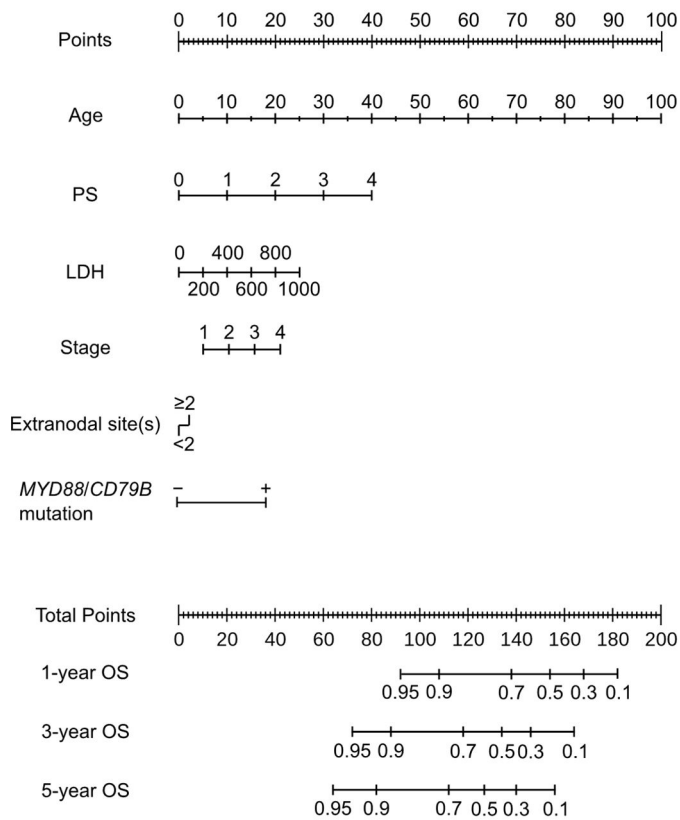
IVL15 例について FICTION-WSI 法による FISH 解析を行った。遺伝子転座を示す症例は見られなかったが、遺伝子増幅を示す症例を数例認めた。IVL の病態に関連する可能性はあるが、さらに症例数を増やした検討が必要と考えられた。研究期間は終了するが、引き続き検討を重ねていく予定である。IVL 以外の DLBCL 亜型 30 症例については次世代シーケンサを用いた解析を予定した。しかし、使用した検体はホルマリン固定パラフィン包埋検体であるため、十分な DNA の質および量を得ることができず、次世代シーケンサの解析まで至っていない。使用する検体を見直し、引き続き検討を行っていく予定である。

DLBCL 亜型の病態を特徴づける遺伝子異常を解明しようとする過程で、DLBCL に見られる特徴的な遺伝子異常を既存の IPI システムに組み込み、新たな予後予測モデルを作製できないかという着想を得た。そこで DLBCL302 症例を使用し、まず患者個々の予後予測が可能な新しいモデル (ノモグラム) を開発した (図 1)。次に DLBCL の予後不良に関わる遺伝子 (*MYD88*, *CD79B*) に注目し、PCR アッセイにより解析したところ、62/302 (20.5%) 患者で *MYD88* かつ・または *CD79B* 異常が認められた。この遺伝子異常と IPI 因子を融合させた予後予測モデル (ノモグラム) を開発した (図 2)。図 3 ではノモグラムの実用性を説明するための 1 例を示す。今回作成したノモグラムは臨床現場において患者個々の予後評価に役立ち、治療方針やフォローアップ期間などの決定に貢献する可能性がある。また遺伝子異常を既存の IPI 因子と融合させた本研究のアプローチは画期的であり、本研究はリンパ腫分野における予後予測モデル開発の基盤になる可能性がある。以上の新たな DLBCL 予後予測モデルは、第 113 回日本病理学会総会で口頭発表 (02-77) を行い、論文化した (PMID: 38411628)。



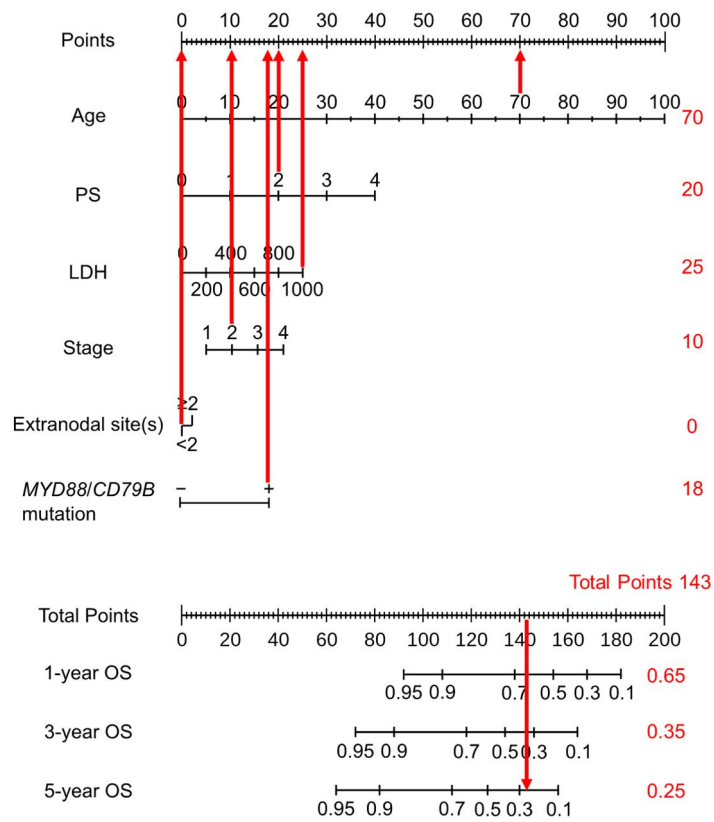
IPI の 5 因子(Age, PS, LDH, Stage, Extranodal sites)を使用して、全生存率を予測するノモグラム

図 1



IPI の 5 因子(Age, PS, LDH, Stage, Extranodal sites)と MYD88/CD79B mutation の計 6 因子を使用して、全生存率を予測するノモグラム

図 2



6 因子を使用した全生存率を予測するノモグラムにおいて、PS2、LDH1000IU/L、stage 2、節外病変なし、*MYD88/CD79B* 遺伝子異常を有する 70 歳の DLBCL 患者の 1 例を示す。各因子の Point を算出し、合計すると Total Points は 143 となり、1 年、3 年、5 年生存率はそれぞれ 0.65、0.35、0.25 と推定される。

図 3

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fujii Keiichiro, Inagaki Atsushi, Masaki Ayako, Sugiura Mariko, Suzuki Tomotaka, Ishida Takashi, Kusumoto Shigeru, Iida Shinsuke, Inagaki Hiroshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Nomogram for predicting survival of patients with diffuse large B-cell lymphoma	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Annals of Hematology	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） 10.1007/s00277-024-05669-0	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 Hachisuka Daisuke, Nakano Satsuki, Takase Hiroshi, Sugiyama Mio, Sugiura Mariko, Fujii Keiichiro, Masaki Ayako, Murase Takayuki, Inagaki Hiroshi	4. 巻 52
2. 論文標題 Fluorescent periodic acid Schiff like staining combined with standard cytologic staining of the same cytologic specimen may facilitate cytopathologic diagnosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Diagnostic Cytopathology	6. 最初と最後の頁 139 ~ 144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/dc.25256	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 Takase Hiroshi, Murase Takayuki, Hachisuka Daisuke, Sakamoto Yuma, Sugiura Mariko, Nakano Satsuki, Fujii Keiichiro, Masaki Ayako, Inagaki Hiroshi	4. 巻 98
2. 論文標題 7-Amino-4-methylcoumarin as a fluorescent substitute for Schiff's reagent: a new method that can be combined with hemalum and eosin staining on the same tissue section	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biotechnic & Histochemistry	6. 最初と最後の頁 54 ~ 61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/10520295.2022.2101144	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 Murase Takayuki, Ishibashi Kenichiro, Okumura Yoshihide, Ueda Kaori, Nakano Satsuki, Fujii Keiichiro, Masaki Ayako, Nagao Toru, Inagaki Hiroshi	4. 巻 120
2. 論文標題 Pleomorphic adenoma: detection of PLAG1 rearrangement-positive tumor components using whole-slide fluorescence in situ hybridization	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Human Pathology	6. 最初と最後の頁 26 ~ 34
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.humpath.2021.11.010	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 杉山 美緒、杉浦 真理子、中野 さつき、藤井 慶一郎、正木 彩子、村瀬 貴幸、稲垣 宏、山田 聡	4. 巻 41
2. 論文標題 示指に発生した血管内乳頭状内皮過形成の1例	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 診断病理	6. 最初と最後の頁 64 ~ 68
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 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 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 藤井慶一郎、稲垣淳、正木彩子、杉浦真理子、鈴木智貴、石田高司、楠本茂、飯田真介、稲垣宏
2. 発表標題 びまん性大細胞型B細胞リンパ腫患者の予後を予測するノモグラム
3. 学会等名 第113回日本病理学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 蜂須賀大輔、中野さつき、高瀬弘嗣、杉山美緒、杉浦真理子、藤井慶一郎、正木彩子、村瀬貴幸、稲垣宏
2. 発表標題 蛍光PAS染色を用いた細胞診断の有用性について
3. 学会等名 第113回日本病理学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 杉山 美緒、正木 彩子、杉浦 真理子、中野 さつき、藤井 慶一郎、津田 香那、村瀬 貴幸、稲垣 宏
2. 発表標題 乳癌センチネルリンパ節生検で発見された原発不明悪性黒色腫の2例
3. 学会等名 第112回日本病理学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 杉浦 真理子、村瀬 貴幸、杉山 美緒、中野 さつき、藤井 慶一郎、津田 香那、正木 彩子、服部 日出雄、稲垣 宏
2. 発表標題 肉芽腫を伴わず、膿瘍形成の目立った抗酸菌感染症の2例
3. 学会等名 第112回日本病理学会総会
4. 発表年 2023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

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