

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590398

研究課題名(和文)濾胞性リンパ腫の高悪性度化に関する分子病理学的機序と予測因子

研究課題名(英文)Molecular and pathological analysis of transformation of follicular lymphoma

研究代表者

吉野 正 (Yoshino, Tadashi)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：70183704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：濾胞性リンパ腫の高悪性度化に関して、濾胞樹状細胞に着目して解析を行った。高悪性度化をほとんど起こさない十二指腸濾胞性リンパ腫ではこれらの欠如が目立つのに対し、節性濾胞性リンパ腫では約90%で樹状細胞のmeshworkがみられた。また、十二指腸濾胞性リンパ腫ではmemoryB細胞への分化が見られ、高悪性度化に細胞起源が関与する可能性が示唆された。(Mod Pathol 2013) また、網羅的な遺伝子発現解析では、節性濾胞性リンパ腫は十二指腸のものとは異なる遺伝子学的な特徴がみられ、その中でもサイトカイン関連分子、接着分子が重要な因子と考えられた。(Cancer Sci 2014)

研究成果の概要(英文)：We focused on the follicular dendritic cell meshwork for examining the transformation of follicular lymphoma. Duodenal follicular lymphoma which is a subtype of rare transformation lacks dendritic cell meshwork, but nodal follicular lymphoma has dense meshwork. Furthermore, duodenal follicular lymphoma has memory B cell characteristics and it suggested that tumor cell origin is important for transformation (Mod Pathol 2013). From the comprehensive gene expression analysis, nodal follicular lymphoma had different characteristics from duodenal follicular lymphoma, and cytokine-related genes and adhesion molecule was important for tumorigenesis. (Cancer Sci 2014)

研究分野：病理学

科研費の分科・細目：基礎医学、人体病理

キーワード：悪性リンパ腫 濾胞性リンパ腫 高悪性度化

1. 研究開始当初の背景

濾胞性リンパ腫は代表的低悪性度リンパ腫であり、治療法の進歩に伴って患者さんの予後は改善傾向が見られるものの、高悪性度化が起こった場合、治療抵抗性で予後不良であることが最大の問題です。この高悪性度がどの程度発生するかについて網羅的な研究は少なく、本邦での検討はなされていません。欧米での文献報告は高悪性度化率は5%~60%というデータがありますが、網羅的なデータ解析はなされていないのが現状です。

2. 研究の目的

高悪性度化について、最も重要で求められている事は、どのような症例が高悪性度化するかを明らかにすることです。高悪性度化自身については、p53の過剰発現、BCL6の再構成、cMYCの再構成などが関係していることが判明しています。しかし、高悪性度化を予期するものとしては予後指標でもあるFLIPIが関係しているのではないかといったデータが散発的にあるのみです。今回の研究ではこの点を明らかにしたいと企図しています。また、本研究ではエピジェネティクスの検討をすることを企図しています。濾胞性リンパ腫に特異性の高い染色体異常としてt(14;18)(q32;q21)がありますが、健常者ではアジア系で25%程度、欧米白色人種では50%程度でごくごく微量ながら上記異常細胞が末梢血から検出されることが知られています。濾胞性リンパ腫の発生頻度(人口10万人に2-3人程度)を考慮するとこの異常は濾胞性リンパ腫発生の必要条件ではあるが、十分条件ではないことは明らかです。現時点で十分条件となるべき因子は同定されていません。従来ほとんど用いられていないエピジェネティクスの検討を行うことにより、高悪性度化の機序を解析することにあります。

3. 研究の方法

(1) 複数回生検されている材料で、高悪性度化をきたす症例をpick upし、それらの臨床病理学的特徴の解析を行います。

(2) 免疫組織化学的に、通常のCD20, CD79aなどのB細胞マーカー、CD3, CD5などのT細胞マーカーに加えてCD10, BCL-6, Ki67, BCL2蛋白を検索します。また、CD21, CD23によるFDCの腫瘍濾胞内での分布も検索します。高悪性度化に関わるBCL6発現, P53の発現、ポリコム分子のBMI1の発現を検討します。背景微小環境の検索としてT細胞NK細胞数の検索のためCD3, CD2, CD5, CD7, CD56, TIA-1, Granzyme B, CD4, CD8, CD25を検索します。マクロファージについ

てはCD68を検索します。

(3) 高悪性度化をきたすことが非常に稀である、消化管濾胞性リンパ腫についてその病理学的特徴を解析し、節性濾胞性リンパ腫と比較検討を行う

(4) 癌抑制遺伝子等におけるエピジェネティックの検討: SHP1, p15, p16, p73, hMLH1, MGMT, DAPK, HCADなど従来成人T細胞性白血病/リンパ腫例で検索した(Am J Pathol 2010)と同様の遺伝子を標的としてプロモーター領域のメチル化が見られるか、また、抗原検索ができるものについては、その発現を免疫組織学的に検索します。

(5) DNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行い、高悪性度化をきたす群と、そうでない群、高悪性度化をきたすことが非常に稀な消化管濾胞性リンパ腫、MALTリンパ腫について比較検討を行います。

4. 研究成果

(1) 節性濾胞性リンパ腫における濾胞樹状細胞の役割について: 節性の濾胞性リンパ腫において、濾胞樹状細胞のマーカーであるCD21の免疫組織化学的検討を行い、約10%にunusualなpatternをとり、これらが有意に限局期の症例になり、通常の濾胞樹状細胞が高悪性度化に重要であることを明らかにした(Pathol Int 2011)

この成果は日本病理学会、日韓リンパ網内系学会で報告している。

(2) 高悪性度化をきたすことが稀な消化管濾胞性リンパ腫について: 稀な病型であるが、多施設共同研究により、192症例を集積することができ、それらの病変分布、および予後因子について明らかにした(Cancer Sci 2011)。次に十二指腸びまん性大細胞型B細胞リンパ腫について、GCB typeが多くこれらの一部が濾胞性リンパ腫を背景にして発生する可能性があることを突き止めた(Pathol Int 2011)。さらに、この消化管濾胞性リンパ腫は節性と異なり、AIDの発現がなく、BACH2の発現を有し、memory B細胞の特徴を有する点から高悪性度化をきたしにくい可能性があることを明らかにした(Mod Pathol 2013)。また、DNAマイクロアレイによる網羅的な検索から、節性濾胞性リンパ腫に特徴的にup-regulateされている遺伝子を明らかにした(Cancer Sci 2014)。

これらの成果は、日本病理学会、日本癌学会、USCAP(アメリカ・カナダ病理学会)などで報告している。

(3) 高悪性度化に関わる遺伝子について: DNAマイクロアレイにより抽出された遺伝子に着目して、濾胞性リンパ腫において高率に発現する遺伝子が見出され、細胞株におけるknock downの検討からこの遺伝子が腫瘍維持に重要な役割を果たすことが判明した(論文作成中)

(4) エピジェネティクスについて：消化管濾胞性リンパ腫、節性濾胞性リンパ腫、反応性過形成病変において、特定の標的遺伝子に着目してメチル化を検討したところ、消化管に比較的特異的にメチル化のおこる遺伝子がみられ、タンパク発現も抑制され、腫瘍化に重要な役割を果たすことが示唆された。(論文投稿中)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 13件)

1. Takahashi Y, Takata K, Kato S, Sato Y, Asano N, Ogino T, Hashimoto K, Tashiro Y, Takeuchi S, Masunari T, Hiramatsu Y, Maeda Y, Tanimoto M, Yoshino T. Clinicopathological analysis of 17 primary cutaneous T-cell lymphoma of the $\gamma\delta$ phenotype from Japan. *Cancer Sci*. 2014 May 11, Epub ahead of print (査読あり)

doi: 10.1111/cas.12439.

2. Iwatani K, Takata K, Sato Y, Miyata-Takata T, Iwaki N, Cui W, Sawada-Kitamura S, Sonobe H, Tamura M, Saito K, Miyatani K, Yamasaki R, Yamadori I, Fujii N, Terasaki Y, Maeda Y, Tanimoto M, Nakamura N, Yoshino T. Low-grade B-cell lymphoma presenting primarily in the bone marrow. *Hum Pathol*. 2014 Epub ahead of Print (査読あり) doi: 10.1016/j.humpath.2014.02.010.

3. Takata K, Tanino M, Ennishi D, Tari A, Sato Y, Okada H, Maeda Y, Goto N, Araki H, Harada M, Ando M, Iwamura M, Tanimoto M, Yamamoto K, Gascoyne RD, Yoshino T. Duodenal follicular lymphoma: Comprehensive gene expression analysis with insights into pathogenesis. *Cancer Sci*. 2014 105: 608-615 (査読あり) doi: 10.1111/cas.12392.

4. Miyata-Takata T, Takata K, Yamanouchi S, Sato Y, Harada M, Oka T, Tanaka T, Maeda Y, Tanimoto M, Yoshino T. Detection of T-cell receptor γ gene rearrangement in paraffin-embedded T or natural killer/T-cell lymphoma samples using the BIOMED-2 protocol. *Leukemia Lymphoma* 2014 Epub ahead of print (査読あり)
5. Abd Al Kader L, Oka T, Takata K, Sun X, Sato H, Murakami I, Toji T, Manabe A, Kimura H, Yoshino T. In aggressive variants of non-Hodgkin lymphomas, Ezh2 is strongly expressed and polycomb repressive complex PRC1.4 dominates over PRC1.2. *Virchows Archiv* 2013 463: 697-711 (査読あり) doi: 10.1007/s00428-013-1428-y.
6. Hayashi E, Takata K, Sato Y, Tashiro Y, Tachiyama Y, Sawada-Kitamura S, Hiramatsu Y, Sugiguchi S, Nose S, Hirokawa M, Ando M, Abd Alkader L, Maeda Y, Tanimoto M, Yoshino T. Distinct morphologic, phenotypic, and clinical-course characteristics of indolent peripheral T-cell lymphoma. *Hum Pathol*. 2013 44: 1927-1936 (査読あり) doi: 10.1016/j.humpath.2013.03.002.
7. Toda H, Sato Y, Takata K, Orita Y, Asano N, Yoshino T. Clinicopathologic analysis of localized nasal/paranasal diffuse large B-cell lymphoma. *PLoS One* 2013: 8: e57677 (査読あり) doi: 10.1371/journal.pone.0057677.

8. Ando M, Sato Y, Takata K, Nomoto J, Nakamura S, Ohshima K, Takeuchi T, Orita Y, Kobayashi Y, Yoshino T. A20 (TNFAIP3) deletion in Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders/lymphomas. PLoS One 2013;8: e56741 (査読あり) doi: 10.1371/journal.pone.0056741.
9. Yoshino T, Takata K. Pathological Diagnosis. Nihon Rinsho 2012 70: 193-7 (査読なし)
10. Takata K, Sato Y, Nakamura N, Tokunaka M, Miki Y, Yukie Kikuti Y, Igarashi K, Ito E, Harigae H, Kato S, Hayashi E, Oka T, Hoshii Y, Tari A, Okada H, Al-Kader LA, Maeda Y, Tanimoto M, Kinoshita T, Yoshino T. Duodenal follicular lymphoma lacks AID but expresses BACH2 and has memory B-cell characteristics. Mod Pathol. 2013; 26: 22-31 (査読あり) doi: 10.1038/modpathol.2012.127.
11. Tamura M, Takata K, Sato Y, Nakamura N, Kikuti YY, Ichimura K, Tanaka T, Tari A, Maeda Y, Tanimoto M, Okada H, Yoshino T. Germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma of the duodenum is associated with t(14;18) translocation. Pathol Int. 2011, 61: 742-8 (査読あり) doi: 10.1111/j.1440-1827.2011.02748.x.
12. Cui W, Che L, Sato Y, Huang X, Takata K, Orita Y, Goto N, Maeda Y, Tanimoto M, Yoshino T. Nodal follicular lymphoma without complete follicular dendritic cell networks is related to localized clinical stage. Pathol Int. 2011, 61: 737-741 (査読あり) doi: 10.1111/j.1440-1827.2011.02736.x.
13. Takata K, Okada H, Ohmiya N, Nakamura S, Kitadai Y, Tari A, Akamatsu T, Kawai H, Tanaka S, Araki H, Yoshida T, Okumura H, Nishisaki H, Sagawa T, Watanabe N, Arima N, Takatsu N, Nakamura M, Yanai S, Kaya H, Morito T, Sato Y, Moriwaki H, Sakamoto C, Niwa Y, Goto H, Chiba T, Matsumoto T, Ennishi D, Kinoshita T, Yoshino T. Primary gastrointestinal follicular lymphoma involving the duodenal second portion is a distinct entity: a multicenter, retrospective analysis in Japan. Cancer Sci 2011 102: 1532-6 (査読あり) doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01980.x.
- 〔学会発表〕(計 8 件)
- 高田尚良、吉野 正。消化管濾胞性リンパ腫の最新知見、2013年6月6-8日、日本病理学会ワークショップ、札幌
 - 高田尚良、高橋友香、加藤省一、谷本光音、吉野 正皮膚原発γδT細胞リンパ腫の臨床病理学的解析、2013年10月3-5日、日本癌学会、横浜
 - Oka Takashi, Kitamura Yuta, Tamura Maiko, Sato Hiaki, Washio Kana, Abd Al-Kader Lamia, Ouchida Mamoru, Utsunomiya Atae, Yoshino Tadashi Identification and profiling of aberrantly expressed microRNAs during progression of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) The 5th International Symposium for Future Technology Creating Better Human Health and Society Comprehensive Approach to Cancer and Infectious Diseases 2012年3月15-16日

4. Abd Al-Kader Lamia, Oka Takashi, Takata Katsuyoshi, Sun Xu, Sato Hiaki, Murakami Ichiro, Kimura Hiroshi Yoshino Tadashi Upregulation of Ezh2 expression Correlates with Higher Tumor Proliferation and Grade in Non Hodgkin B and T Cell Lymphoma
American Association of Cancer Research (AACR) Annual Meeting, 2012 年 3 月 31 - 4 月 4 日、アメリカ
5. 高田尚良、岡 剛史、安藤 翠、都地友紘、佐藤康晴、中村直哉、吉野 正 十二指腸濾胞性リンパ腫の発症機構とエビジェネティクス解析, 2012 年 4 月 26 - 28 日、日本病理学会、東京
6. 崔 巍、佐藤康晴、高田尚良、黄 新剛、大野京太郎、吉野 正 Nodal follicular lymphoma with incomplete follicular dendritic cell networks 2012 年 4 月 26 - 28 日、日本病理学会、東京
7. 吉野 正、高田尚良 悪性リンパ腫の病理形態と分子形態、2012 年 9 月 19 - 22 日、日本癌学会、シンポジウム、札幌
8. Okada Hiroyuki, Takata Katuyoshi, Kawahara Yoshihiro, Nasu Junichiro, Kawano Seiji, Kita Masahide, Tuzuki Takao, Matubara Minoru, Hori Keisuke, Kanzaki Hiromitsu, Kobayashi Sayo, Yoshino Tadashi, Yamamoto Kazuhide, 2012 年 5 月 19 - 22 日、米国消化器病週間 (DDW)、アメリカ

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者 吉野正 (Yoshino Tadashi)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、教授
研究者番号：70183704

(2) 研究分担者 岡剛史 (Oka Takashi)

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、助教
研究者番号：50160651

(3) 研究協力者 高田尚良 (Takata Katsuyoshi) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、助教

研究者番号：90580259