

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09349

研究課題名(和文)十二指腸濾胞性リンパ腫における腫瘍形成機構の解明と腫瘍起源の探索

研究課題名(英文) Elucidation of mechanism of lymphomagenesis and identification of tumor origin in duodenal follicular lymphoma

研究代表者

宮崎 香奈 (Miyazaki, Kana)

三重大学・医学系研究科・助教

研究者番号：60571627

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：十二指腸濾胞性リンパ腫(DTFL)は消化管に局限し予後良好である。DTFL検体を用いて、節性FLで報告された臨床所見と遺伝子変異の有無を組み合わせた予後予測モデルm7-FLIPIの検討及び網羅的遺伝子変異解析を行った。94%の症例でm7-FLIPIは低リスクであった。KMT2D変異は50%、KMT2C変異が44%であった。MYC、TP53、MYD88変異はすべての症例で認めなかった。NOTCH2変異例は十二指腸下行脚のみに病変を有する例、BIRC3変異をII期以上の例に認めた。m7-FLIPIはDTFLにおいても有用であり、遺伝子変異においてMALTリンパ腫との類似性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国では消化管内視鏡検査ツールが普及しており十二指腸濾胞性リンパ腫(DTFL)患者は増加傾向にある。一方欧米において臨床検体を得るには容易ではなく、DTFLの研究がほとんど進められてこなかった。今回、DTFL患者の実際の臨床検体を用いて遺伝子変異解析を行った。節性濾胞性リンパ腫で既報の遺伝子変異予後予測モデルにおいて予後良好であった一方、MALTリンパ腫との類似性が明らかになった。DTFLの分子生物学的特徴が明らかになれば、FLの進行・形質転換への抑止への手がかりとなりえる可能性があり、学術的意義や社会的意義は大きいものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Duodenal-type follicular lymphoma (DTFL) is a rare variant of FL characterized by duodenal involvement and favorable prognosis. We analyzed the gene mutations which were related to tumor development and proliferation, including seven genes in m7-FLIPI, and examined those together with the endoscopic findings. The results of current study demonstrated that 94% of DTFL were classified in the low risk group of m7-FLIPI and DTFL had no gene alterations which were associated with progression or transformed FL such as MYC, TP53, and MYD88. NOTCH2 mutation were present only in the second part of the duodenum. BIRC3 gene mutation was found to be significantly in the II-IV stage. The pattern of gene mutation profiles in DTFL may be similar to the pattern for MALT lymphoma such as NOTCH2 and BIRC3.

研究分野：血液内科学

キーワード：悪性リンパ腫 十二指腸濾胞性リンパ腫 遺伝子変異

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

十二指腸濾胞性リンパ腫 (DTFL)は消化管に限局し、節性に広がる濾胞性リンパ腫 (FL)とは異なり非常に予後良好である。国内多施設後方視的解析の結果、DTFLは下行脚に最も多く存在することに加え、ダブルバルーン内視鏡やカプセル内視鏡といった検査ツールの発展から、小腸にも同様の浸潤があることが分かってきた。十二指腸、小腸と広範囲に浸潤しているにも関わらず、10年以上全く増悪・進展せず無治療で経過観察している例がほとんどである。内視鏡像としては白色小顆粒状隆起が多発するという特徴的な肉眼像を呈する。

FLは低悪性度リンパ腫において最も頻度が高く、診断時にはすでに進行期であることが多く、再発を繰り返す疾患である。また全体の約30%の頻度で、臨床経過のうち、形質転換やaggressiveな疾患に進展することが知られている。その腫瘍形成・進展様式として初期段階として、BCL2転座が約80%の頻度で認められる。この転座は骨髄中の未分化B細胞の段階で形成されるが、B細胞分化システムの中で、リンパ節内の胚中心で起こるB細胞のアポトーシスが回避されることで腫瘍増殖へ導く。しかしながらBCL2転座単独のhitではリンパ腫が発生するわけではなく、BCL2転座のhitに加え更なる遺伝子異常、付加的な刺激・異常が蓄積された時点でFLが発症すると考えられている。その上、FLは発症時、再発・形質転換時の遺伝子異常の発生時期に順序があることが明らかになってきた。*KMT2D*、*CREBBP*、*EZH2*などのヒストン蛋白・クロマチンリモデリングに関わる遺伝子は発症時から高頻度に認められる。一方、形質転換時には*MYC*や*CDKN2A/B*、*TP53*といった細胞増殖に関わる遺伝群、*TNFAIP3*や*MYD88*などのNF- $\kappa$ Bシグナルに関わる遺伝子群の異常が特徴的に認められる。これら遺伝子変異に加えて腫瘍組織内の非腫瘍細胞の性状・構成である微小環境が更なるリンパ腫の進展、形質転換への誘導に関わり、複合的な背景により腫瘍が増悪していくと考えられている。また節性FLの予後予測モデルとして、7つの遺伝子変異(*EZH2*、*ARID1A*、*MEF2B*、*EP300*、*FOXO1*、*CREBBP*、*CARD11*)と臨床的予後因子と組み合わせたm7-FLIPIが提唱され、臨床応用されつつある。しかしながらDTFLは、その腫瘍形成過程、予後良好性の理由など現時点で全く解明されておらず、m7-FLIPIなどの節性FLの予後予測モデルと合致するのかが明らかでない。

### 2. 研究の目的

DTFLの腫瘍形成過程、及び予後良好性の理由及び節性FLとの相違性を明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

#### (1) DTFL 検体を用いた遺伝子変異解析

2005年4月から2016年3月までに三重大学医学部附属病院血液内科で診断されたDTFL16例を対象として解析を行った。内視鏡検査時に採取した新鮮検体または診断時の凍結組織からDNAを抽出し、得られたDNAを用いてAmpliSeq Comprehensive Cancer Panel (Life Technologies)を使用してIon Torrent Protonによるターゲットシーケンスを施行し409遺伝子の変異解析を実施した。Ion Reporter<sup>TM</sup>にてSNPを除外し検討した。*MEF2B*は既知の変異を含む領域をカバーしてプライマーを設計しPCR、Sanger法によるダイレクトシーケンスを実施した。

#### (2) DTFLの臨床病態・浸潤部位と遺伝子変異所見の比較

上下部消化管内視鏡検査に加えてカプセル内視鏡またはバルーン内視鏡を用いて全小腸検索を行い、全消化管を評価した。BCL2/IGH転座に関して診断時に施行していなかった症例においてKreatech FISH probeを用いてパラフィン包埋切片による組織FISH法を実施した。DTFL患者の内視鏡下の肉眼的所見、病期、治療前予後予測因子の程度、リンパ節などの多臓器への浸潤の有無の差を病理組織学的に検討し、得られた遺伝子変異の知見と比較した。

### 4. 研究成果

#### (1) 患者背景

年齢中央値は60歳(42-84歳)で、stage Iが11人、stage II-IVが5人であった。全例が濾胞性リンパ腫(grade1-2)、免疫組織化学検査によりCD20、CD10、BCL2が陽性であった。2例が検体不良で解析不能であったが、14例でt(14;18)転座をFISH法で検出した。肉眼的所見において全例で十二指腸下行脚に病変を認めた。他に胃(2人:13%)、十二指腸球部(2人:13%)、十二指腸3rd portion(12人:75%)、空腸(12人:75%)、回腸(6人:13%)、大腸(1人:6%)であ

った。内視鏡所見は全例で multiple lymphomatous polyposis があり、潰瘍型と隆起型を一例ずつ認めた。観察期間中央値は 5.7 年で全例生存中であり、5 年無増悪生存割合は 84% であった。

### (2) DTFL における m7-FLIPI

m7-FLIPI に関する遺伝子変異の頻度は、*EP300* (25%)、*FOXO1* (6%)、*CREBBP* (63%)、*CARD11* (50%)、*MEF2B* (0%)、*ARID1A* (31%)、*EZH2* (25%) であった。以上より 94% (15/16) の症例が m7-FLIPI は低リスクであった。(図 1)

### (3) FL の発生・進展に関連する遺伝子変異と病変部位

*KMT2D* 変異は 50%、*KMT2D* と相補的な役割を持つ *KMT2C* 変異が 44% であった。形質転換時に認められる遺伝子変異である *MYC*、*TP53*、*MYD88* 変異はすべての症例で認めなかった。*KMT2D*、*CREBBP*、*EZH2* など lymphomagenesis に関連する遺伝子の変異の頻度が節性 FL と異なることが明らかになった。また *NOTCH2* 変異を十二指腸下行脚のみに病変を有する 3 例に認め、水平脚や小腸への進展を認めなかった。また *BIR3C* 変異を 3 例に認め、全例 stage II-IV であった。*NOTCH2* 変異と *BIR3C* 変異は MALT リンパ腫で認められる遺伝子変異であり、DTFL と MALT リンパ腫における遺伝子変異の類似性が示唆された。(図 2)

m7-FLIPI は DTFL においても有用であり、DTFL の予後良好性を示した。また病変浸潤部位ごとに遺伝子変異が異なることから DTFL の genetic heterogeneity が明らかになった。一方遺伝子変異において MALT リンパ腫との類似性が示唆された。

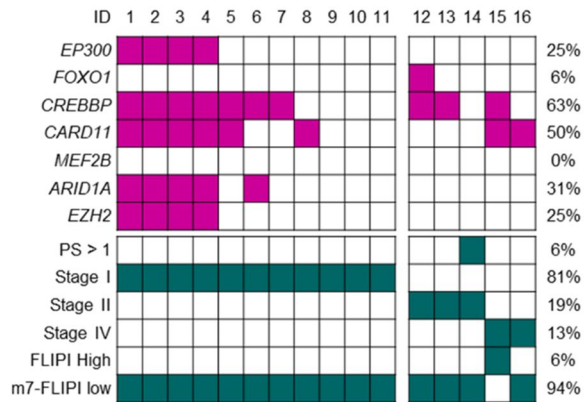


図1

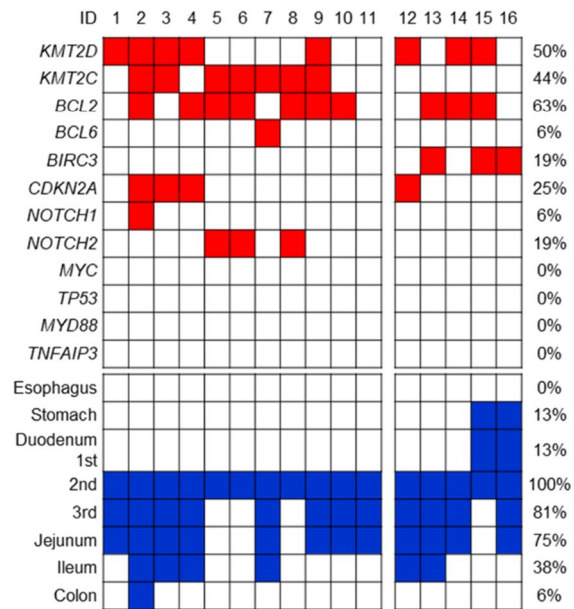


図2

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 1件）

1. 発表者名 K. Miyazaki, T. Takeuchi, M. Yamaguchi, N. Asano, A. Sawaki, H. Imai, R. Ono, T. Nosaka, K. Kobayashi, K. Tanaka, N. Katayama.
2. 発表標題 Gene mutations and sites of involvement in duodenal-type follicular lymphoma.
3. 学会等名 15-International Conference Malignant Lymphoma (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮崎香奈, 竹内俊文, 山口素子, 浅野直子, 澤木昭彦, 今井裕, 小埜良一, 野阪哲哉, 小林一彦, 田中匡介, 片山直之
2. 発表標題 十二指腸濾胞性リンパ腫における遺伝子変異と浸潤部位
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹内俊文, 宮崎香奈, 山口素子, 浅野直子, 澤木昭彦, 小林一彦, 田中匡介, 片山直之
2. 発表標題 十二指腸濾胞性リンパ腫における遺伝子変異の臨床的意義
3. 学会等名 JDDW 2019
4. 発表年 2019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	山口 素子  (Yamaguchi Motoko)  (50359767)	三重大学・医学部附属病院・講師    (14101)	