

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 河本 啓介  
学位 博士 (医学)  
学位記番号 新大院博 (医) 第755号  
学位授与の日付 平成29年3月23日  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
博士論文名 *MYC* translocation and/or *BCL2* protein expression are associated with poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma.  
(*MYC* 遺伝子転座と *BCL2* 蛋白発現はいずれもびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の予後不良因子となる)

論文審査委員 主査 教授 近藤 英作  
副査 准教授 今井 千速  
副査 教授 曾根 博仁

### 博士論文の要旨

#### [背景と目的]

びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (DLBCL) は R-CHOP 療法により予後の改善がみられたが、約 30% の DLBCL は予後不良な経過をたどる。予後不良症例の層別化のため *MYC*、*BCL2*、*BCL6* の遺伝子転座および蛋白発現の予後因子としての有用性が報告されている。しかしそれらの異常と予後との関連について一定の見解が得られていない。

近年、double-hit lymphoma (DHL) という概念が報告されており、*MYC* 遺伝子転座と *BCL2* 遺伝子および/もしくは *BCL6* 遺伝子の転座を有する症例を DHL と定義している。DHL は DHL でない DLBCL と比較して予後不良とされている。蛋白発現に関しても同様の概念が提唱され、*MYC* 蛋白と *BCL2* 蛋白が共発現している症例が double expresser lymphoma (DEL) とされ、DEL が DHL と同様に予後不良となる可能性が示唆されている。しかし DEL においては予後を含めた臨床症状との関連については検討が不十分といえる。

今回、DLBCL に対して Fluorescence in situ hybridization (FISH) と免疫組織化学 (IHC) による *MYC*、*BCL2*、*BCL6* の遺伝子転座、copy number gain、蛋白発現を評価し、それらと予後を含む臨床症状との関連を検討し、DEL が予後因子となり得るかどうかも検討を行った。

#### [方法]

61 例の初発 DLBCL を対象とし DHL は除外した。全例で初回治療に R-CHOP もしくは R-CHOP-like regimen が行われた。

IHC で使用した抗体は抗 *BCL2* 抗体 (clone 124)、抗 *BCL6* 抗体 (clone P1F6)、抗 c-*MYC* 抗体 (clone Y69) であり、腫瘍細胞のうちそれぞれ *MYC* 30%、*BCL2* 1%、*BCL6* 30% 以上で陽性だった場合、陽性症例と判定した。FISH probe はそれぞれ Vysis LSI *MYC*-, *BCL2*-, *BCL6*-, dual-color break-apart rearrangement probes (Vysis/Abbott Molecular Diagnostics) を使用した。腫瘍細胞に遺伝子 copy が 3 以上みられた場合に、copy number gain ありと判定した。

臨床病理学的特徴に関する統計解析はMann-Whitney U-test を使用した。また、Overall survival (OS)、Progression free survival (PFS)に関する予後曲線はKaplan-Meier 法を用いて描出し、Log-rank test で比較した。単変量解析および多変量解析はCox 比例ハザードモデルを用いた。P 値が0.05 未満の場合に統計学的有意差ありとした。

#### [結果]

*MYC* 遺伝子転座の有無、*MYC* 遺伝子 copy number gain の有無と *MYC* 蛋白発現細胞の割合に相関はなかった。BCL2、BCL6 でも同様の検討を行ったが *MYC* と同様に統計学的相関はみられなかった。

*MYC* 遺伝子転座陽性群は overall survival (OS)、progression free survival (PFS) ともに転座なしの群と比較して有意に予後不良であったが (OS;  $P=0.006$ ; PFS;  $P=0.0045$ )、*MYC* 遺伝子の copy number gain に関する解析ではいずれも有意差はみられなかった。また、BCL2、BCL6 のいずれにおいても遺伝子転座、copy number gain の有無で同様の解析を行ったが OS、PFS ともに有意差はなかった。

BCL2 蛋白発現陽性群は OS、PFS ともに有意に予後不良であった (OS;  $P=0.018$ ; PFS;  $P=0.004$ )。 *MYC*、BCL6 においては蛋白発現の有無で OS、PFS ともに有意差はなかった。

*MYC* 遺伝子転座と BCL2 蛋白発現は単変量および多変量解析において OS に関して独立した予後不良因子となり (*MYC*, hazard ratio (HR) 4.769 [95% confidence interval (CI) 1.518-14.98]; BCL2, HR 3.072 [95%CI 1.002-9.413])、PFS に関しても同様の結果が得られた (*MYC*, HR 5.645 [95%CI 1.725-18.47]; BCL2, HR 3.776 [95%CI 1.389-10.27])。

#### [考察]

本研究では *MYC* 遺伝子転座が OS、PFS に関する独立した予後不良因子となったが、*BCL2* 遺伝子および *BCL6* 遺伝子転座は予後因子とはならず既報と同様の結果となった。*MYC* 遺伝子転座相手が免疫グロブリン (*Ig*) 遺伝子 [*Ig* 重鎖 (*IgH*) もしくは *Ig* 軽鎖 (*Igκ/Igλ*)] であった場合には、それ以外の遺伝子が相手であった場合と比較して予後不良という報告がある。今回、*MYC* 遺伝子転座陽性と判定された 6 例中、3 例に *MYC/IgH* 融合遺伝子が検出されたが残りの 3 例は転座相手が *Igκ* もしくは *Igλ* であった可能性は否定できない。また、少数例であるため比較検討はできなかった。今後多数例での転座相手の詳細な検索が必要と考えられる。

*MYC* 蛋白発現は腫瘍細胞に 40%以上陽性の症例は予後不良であると報告されているが、申請者らの検討では 10-80%まで 10%ごとにカットオフを定めたが予後因子とはならなかった。一方、BCL2 蛋白では腫瘍細胞の 1%以上陽性をカットオフとすると予後不良因子となった。BCL2 蛋白のカットオフ値を 1%とした理由は、より積極的な治療を必要とする症例をできる限り多く抽出するため、日常診療においてより簡便に BCL2 蛋白の発現の有無を判定することを可能にするため等が挙げられる。カットオフ値に関しては免疫染色のみならず常に議論になる問題であるが、設定の際にはその検討内容を示すことが必要だと思われる。

*MYC* 遺伝子転座陽性 DLBCL 6 例のうち BCL2 蛋白を発現する症例は 3 例であり、BCL2 蛋白陰性の 3 例と比較して有意に予後不良であった。Burkitt lymphoma は *MYC/IgH* 融合転座を有するが、BCL2 蛋白を発現しない Aggressive B-cell lymphoma であるが、DA-EPOCH-R 療法による短期集学的治療での治癒率は高い。*MYC* 遺伝子転座に加え、BCL2 蛋白発現のある DLBCL はさらに予後不良と考えられ、BCL2 蛋白発現の治療抵抗性への影響は相加的と考えられる。BCL2 選択的阻害剤などを含めた新規治療法の確立が必要と思われる。

*MYC* 蛋白と BCL2 蛋白もしくは BCL6 蛋白が共発現する症例は DEL と呼ばれ、予後不良となる可能性が示唆されているが、既報では DHL が含まれているという問題点があった。申請者らは DEL に関してそれぞれ 10-80%の 10%ごとのカットオフ値の組み合わせで検討した結果、*MYC* 蛋白 30%以上かつ BCL2 蛋白 30%以上が発現している群のみが予後不良となった。今回の検討では BCL2 蛋白の予後因子としての意義が *MYC* 蛋白

と比較して非常に強く、MYC 蛋白と BCL2 蛋白の共発現が予後に与える影響は小さいと思われた。*MYC*-driven lymphoma のマウスモデルにおいて、選択的 BCL2 阻害剤による BCL2 蛋白の機能抑制により細胞死を誘導できることが報告されている。BCL2 蛋白と MYC 蛋白を共発現するリンパ腫細胞の生存は BCL2 蛋白に依存し、DEL においては BCL2 蛋白の発現がより重要なかもしれない。

#### [結論]

FISH による *MYC* 遺伝子転座と IHC による BCL2 蛋白発現が DLBCL において独立した予後不良因子となり、これらの検索が従来の R-CHOP 療法よりも強力な治療を必要とする症例の層別化に有用である可能性がある。

#### 審査結果の要旨

びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (DLBCL) において MYC 蛋白と BCL2 蛋白が共発現している double expresser lymphoma (DEL) 症例についてのや臨床成績との関連についての検討が報告された。61 症例の DEL の治療成績を反映した予後の統計学的解析結果では、結論として Myc 発現に関係なく BCL2 蛋白発現が独立因子として腫瘍細胞の 1%以上陽性をカットオフに予後不良因子となり得るという結論に至った。Myc 発現との相関では、MYC 蛋白 30%以上かつ BCL2 蛋白 30%以上が発現している群のみが予後不良となることを見出した。BCL2 蛋白と MYC 蛋白を共発現する DEL type リンパ腫細胞の生存は BCL2 蛋白に依存していると考えた。

科学論文的価値として、これまで予後における DEL type DLBCL の解析報告でまとまったものが稀少であり、DEL における Myc, Bcl-2 どちらの分子、あるいはその両者が臨床学的に患者の予後に重要な関りを持っているかを一定の範囲で明確にした点で意義があると考えられる。