

(平成22年度研究報告書)

がん研究開発費（総括）研究報告書

21分指 - 6-③ 分子基盤に基づく難治性リンパ系腫瘍の診断及び治療法の開発に関する研究

名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 木下朝博

研究成果の要旨

Rituximab (RIT) 抵抗性の克服を目指し、CD20陰性化再発や診断時CD20発現が免疫組織学的方法とフローサイトメトリ-法で乖離を示す病態とその分子機序を解明した。Intravascular large B-cell lymphoma (IVLBCL)の予後はRIT併用化学療法により改善するものの、中枢神経再発が高率であることを明らかにし、新規臨床相試験計画を立案した。CD5+ Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)がRIT併用化学療法によっても予後不良疾患にとどまり、中枢神経再発が高率であることを明らかにした。Angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL)ではIgA高値と貧血が予後不良因子となることを解明し、新たな予後予測モデルを提唱した。ATLLにおいてDNAメチル化遺伝子数が病態進行と相関し予後不良因子となることを明らかにした。Bリンパ腫・骨髄腫細胞株の共通する染色体異常領域として18q21.1～q21.3のgainを同定した。小腸濾胞性リンパ腫が緩徐な経過を示し無治療経過観察が診療方針たり得ること、全消化管検索例での検討で新たな予後因子を解明した。ヒトリンパ腫のNOGマウスを用いた疾患モデルを確立し、モノクローナル抗体薬のin vivo治療モデルを作成した。抗CCR4抗体の基礎研究・トランスレーショナルリサーチから臨床開発を進めた。NK/T細胞リンパ腫の高頻度染色体欠失領域として6q21を同定し、FOXO3とPRDM1に増殖抑制効果があることを明らかにした。

研究者名および所属施設

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
木下 朝博	名古屋大学大学院医学系研究科・准教授	分子基盤に基づく難治性リンパ系腫瘍の診断及び治療法の開発に関する研究
飛内 賢正	国立がん研究センター中央病院・副院長	難治性リンパ系腫瘍の生物学的特性に基づく治療法の開発・推進
谷脇 雅史	京都府立医科大学・教授	分子基盤に基づく難治性リンパ系腫瘍の診断及び治療法の開発に関する研究
吉野 正	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・教授	難治性リンパ系腫瘍の分子病態に基づく病理発生機序の解明

山口 素子	三重大学医学部附属病院・講師	難治性リンパ系腫瘍の分子機序に基づく病態解明と治療法の開発
石田 高司	名古屋市立大学大学院医学研究科・講師	難治性リンパ系腫瘍の分子機序に基づく治療法の開発
加留部 謙之輔	愛知県がんセンター研究所・主任研究員	NK/T細胞リンパ腫の分類と病因に関する研究

#### 交付額

年 度	交付額 (千円)
平成22年度	11,660千円

\*班全体の交付額を記載。

#### 研究報告

##### A. 研究目的

リンパ系腫瘍では薬物療法の進歩によって治療成績が向上したが、いまだ数多くの難治群が存在する。リンパ系腫瘍は多くの疾患単位で構成される不均質な疾患群で、バイオマーカーや疾患亜型は未確立なものが多く、疾患・病態に適した治療法の開発が進んでいないため、病態解明を進めて、より有効な治療法を確立する必要がある。このためには学際的アプローチが重要で、これまで我々は血液内科医、病理医、分子生物学者、放射線診断・治療医など者による研究体制を確立して共同研究を推進し、多くの重要な成果を得てきた。この研究体制は病態研究や治療開発上極めて重要かつ機能的で独創的なものである。本研究では分子生物学的手法や臨床病理学的手法によって、難治性リンパ系腫瘍の研究、診断、治療に資する分子基盤や病態の解明を進め、分子基盤に基づく新たな診断法と疾患特異的な治療を確立して治療成績を向上することを目指す。

##### B. 研究方法

1) RIT治療抵抗例についてその機序を明らかにして克服法を開発する。2) IVLBCLに対する多施設共同臨床試験を行う。3) CD5陽性DLBCLのRIT治療の有効性を明らかにし、遺伝子発現プロファイリングによって新規治療標的に繋がる遺伝子を検索する。4) AITLにおける新たな予後因子を同定する。5) NK/T細胞リンパ腫を対象としたJCOG0211試験などの症例を対象にして臨床的・病理学的予後因子の検討を行う。6) オリゴヌクレオチドアレイ解析やFISH法などで難治性リンパ腫特異的な染色体転座を同定する。7) 各種ATLLについて、病態進展に関わるエピジェネティックな機構を解明する。8) 小腸濾胞性リンパ腫の臨床病理学的な研究を行い、至適診療方針を検討する。9) NOGマウスを用いたヒトリンパ腫マウスモデルを作成し、新規治療法を探索する。10) 節外性NK/T細胞リンパ腫についてアレイCHG法などにより、新規遺伝子異常を同定する。

##### C. 研究成果

1) RIT治療後の再発・再燃時に約4分の1でCD20陰性化を認め、本現象が稀ではないこと、エピジェネティックな機序が関与していることを明らかにした。初発時にCD20免疫組織染色で(+), FCM(-)を示す症例の解析から、CD20 mRNA発現低下の関与を明らかにした。2) IVLBCLの予後がRIT併用化学療法により改善するものの、CNS再発が高率であることを明らかにし、IVLBCLに対する新規臨床試験計画を立案した。3) CD5陽性DLBCLの多施設共同後方視的研究によって、RIT導入により治療成績が改善するものの、依然として予後不良で高いCNS再発を示すこと、遺伝子プロファイルからactivated B-cell-like (ABC)に属し、Gene Ontology解析の結果、synapseがtop GO categoryであり、高いCNS再発率と関連性が示唆された。4) AITLに対する多施設共同後方視的研究により、IgAと貧血が有意な予後不良因子として同定され、2因子からなる新たな予後予測モデルを作成した。5) 鼻NK/T細胞リンパ腫の予後に関わるバイオマーカーを探索するため、JCOG0211試験に登録された患者の初診時腫瘍組織および骨髄組織の病理検体を用いた附随研究計画案を作成中である。6) B-NHLの網羅的ゲノム異常解析から6q23.3領域にLOHの高度集積を見出し、NFκB経路のnegative regulator であるA20遺伝子を同定。B-NHLの10%、MALTリンパ腫では22%にA20両アレル不活性化を認めB-NHL発症への関与が示唆された。7) FISH法やオリゴヌクレオチドアレイを用いてBリンパ腫細胞株と骨髄腫細胞株細胞株に共通する染色体異常として18q21.1-q21.3のgainを同定、同領域のDCCがB細胞リンパ腫株では発現が消失・高度減弱を示し、異常DCC転写産物が骨髄腫細胞株やB細胞リンパ腫臨床検体で同定された。8) ATLL患者のメチル化プロファイル解析で、病期進行とメチル化遺伝子数が相関した。CpG island methylater phenotype (CIMP)は病期進行とともに増加し、DNAメチル化遺伝子数は生存率と相関した。9) 十二指腸原発濾胞性リンパ腫が限局期で極めて緩徐な経過を示すものが大半で、無治療経過観察が許容しうる診療方針となることを明らかにした。多施設共同研究により、多くの症例で病変が小腸全体に広く分布した。①DSPに腫瘍が存在しない、②60歳以上、③血清LDH高値、④腹部症状ありの4因子がPFSにおける独立した予後因子で予後層別化が可能だった。9) 様々なリンパ腫患者腫瘍細胞を用いてNOGマウスモデルを作製した。DLBCL-NOGマウスモデルにおいて血管新生阻害剤が強い抗腫瘍効果を有することを明らかにした。10) 難治性T細胞リンパ腫に対する抗CCR4抗体のトランスレーショナルリサーチを行った。本抗体は再発ATLに対する第II相試験結果で承認申請の予定である。11) NK/T細胞性リンパ腫の高頻度欠失領域として6q21を同定、FOXO3およびPRDM1に増殖抑制効果があり病態への関与が示唆された。

#### D. 倫理面への配慮

ヘルシンキ宣言、ベルモントレポートなど、ヒトを対象とした医学研究に関する国際的倫理規準に従って研究を実施する。治療研究については、研究班による倫理面の審査・検討を十分に行った上で、参加施設の倫理審査委員会の審査・承認を得る。患者本人に対して、研究参加によって生じる個人の不利益や危険性について、開示文書を用いて十分に説明をした上で、同意を得る。ヒト腫瘍細胞を用いた研究においては、個人情報公開されないように十分に配慮し、倫理委員会の審査・承認を得た上で実施する。

#### E. 研究成果の刊行発表

## 外国語論文

1. Shimada K, Murase T, Matsue K, Okamoto M, Ichikawa N, Tsukamoto N, Niitsu N, Miwa H, Asaoku H, Kosugi H, Kikuchi A, Matsumoto M, Saburi Y, Masaki Y, Yamamoto K, Yamaguchi M, Nakamura S, Naoe T, Kinoshita T. Central nervous system involvement in intravascular large B-cell lymphoma: a retrospective analysis of 109 patients. *Cancer Sci.* 101: 1480-1486, 2010.
2. Shimada K, Kinoshita T, Naoe T, Nakamura S. Presentation and management of intravascular large B-cell lymphoma. *Lancet Oncol.* 10: 895-902, 2009.
3. Miyazaki K, Yamaguchi M, Suzuki R, Kobayashi Y, Maeshima AM, Niitsu N, Ennishi D, Tamaru J-i, Ishizawa K, Kashimura M, Kagami Y, Sunami K, Yamane H, Nishikori M, Kosugi H, Yujiri T, Hyo R, Katayama N, Kinoshita T, Nakamura S: CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma: a retrospective study in 337 patients treated by chemotherapy with or without rituximab. *Ann Oncol (in press)*
4. Yamamoto K, Utsunomiya A, Tobinai K, Tsukasaki K, Uike N, Uozumi K, Yamaguchi K, Yamada Y, Hanada S, Tamura K, Nakamura S, Inagaki H, Oshima K, Kiyoi H, Ishida T, Shitara K, Akinaga S, Ogura M, Tomonaga M, Ueda R: Phase I study of KW-0761, a defucosylated humanized anti-CCR4 antibody, in relapsed patients with adult T-cell leukemia-lymphoma and peripheral T-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2010;28:1591-8.
5. Mori M, Kobayashi Y, Miyagi-Maeshima A, Gotoda T, Oda I, Bennett S, Nomoto J, Azuma T, Yokoyama H, Maruyama D, Kim S-W, Watanabe T, Matsuno Y, Tobinai K: An indolent course and high incidence of t(14;18) in primary duodenal follicular lymphoma. *Ann Oncol* 2010;21:1500-5.
6. Sato H, Oka T, Shinnou Y, Kondo T, Washio K, Takano M, Takata K, Morito T, Huang X, Tamura M, Kitamura Y, Ohara N, Ouchida M, Ohshima K, Shimizu K, Tanimoto M, Takahashi K, Matsuoka M, Utsunomiya A, Yoshino T. Multi-step aberrant CpG island hyper-methylation is associated with the progression of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Am J Pathol.* 2010 Jan;176(1):402-15.
7. Yamaguchi M, Tobinai K, Oguchi M, Ishizuka N, Kobayashi Y, Isobe Y, Ishizawa K, Maseki N, Itoh K, Usui N, Wasada I, Kinoshita T, Ohshima K, Matsuno Y, Terauchi T, Nawano S, Ishikura S, Kagami Y, Hotta T, Oshimi K: Phase I/II study of concurrent chemoradiotherapy for localized nasal NK/T-cell lymphoma: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0211. *J Clin Oncol* 2009;27:5594-600.
8. Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Takeuchi K, Niwa A, Chen Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K, Nakagama H, Nakahata T, Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S: Frequent inactivation of A20 in B-cell

lymphomas. Nature 2009;459(7247):712-6.

9. Sato F, Ito A, Ishida T, Mori F, Takino H, Inagaki A, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Okada N, Inagaki H, Ueda R. A complement-dependent cytotoxicity-enhancing anti-CD20 antibody mediating potent antitumor activity in the humanized NOD/Shi-scid, IL-2R $\gamma$  (null) mouse lymphoma model. Cancer Immunol Immunother. 2010;59:1791-800.

#### 日本語論文

1. 島田 和之、木下 朝博：【難治性悪性リンパ腫の治療戦略】血管内リンパ腫、血液フロンティア20巻2号：71-75、2010
2. 木下 朝博、満間 綾子：びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、血液疾患最新の治療 2011-2013：195-198、2010
3. 木下 朝博：初発限局期DLBCLに対する標準的治療と最新の治療動向、臨床血液 51巻10号、75-81、2010
4. 飛内賢正：難治性リンパ腫に対する我が国における新薬の開発動向。血液フロンティア 2010;20:211-8.
5. 飛内賢正：リツキシマブ導入後のB細胞腫瘍治療：overview. 血液・腫瘍科2010;60:1-5.
6. 高田尚良、吉野 正 濾胞性リンパ腫 WHO血液腫瘍分類リンパ腫系腫瘍 中村栄男、飯田真介、大島孝一、木下朝博、吉野 正編 pp. 353-357 医薬ジャーナル社 大阪 2010年2月 ISBN978-4-7532-2426-5
7. 高田尚良、吉野 正 十二指腸濾胞性リンパ腫 新津 望編 悪性リンパ腫診療ハンドブック pp82-85 2010年10月 南江堂 東京 ISBN978-4-524-26323-3
8. 加留部 謙之輔、瀬戸加大. T/NK細胞腫瘍の分子生物学的研究の現状. 血液腫瘍科60(5) 551-556 科学評論社2010
9. 加留部 謙之輔. 悪性リンパ腫の分子異常. 病理と臨床28 714-719文光堂2010
10. 山口素子：NK/T細胞リンパ腫の新しい治療. 臨床血液 51: 1587-94, 2010.
11. 山口素子：限局期鼻NK/T細胞リンパ腫に対する放射線治療・化学療法同時併用療法. 臨床血液51: 500-7, 2010.