



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	脾臓原発びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫の臨床病理学的検討に関する研究 [全文の要約]
Author(s)	下埜, 城嗣
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2350 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12936号
Issue Date	2017-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/68373
Type	doctoral thesis
File Information	Joji_Shimono_summary.pdf



学位論文(要約)

脾臓原発びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫の臨床病理学的検討に関する研究

(Clinicopathological studies of primary splenic diffuse large B-cell lymphoma)

2017 年 12 月

北海道大学

下埜 城嗣

学位論文(要約)

脾臓原発びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫の臨床病理学的検討に関する研究

(Clinicopathological studies of primary splenic diffuse large B-cell lymphoma)

2017 年 12 月

北海道大学

下埜 城嗣

学位論文内容の要約

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 下埜 城嗣

学位論文題名

脾臓原発びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫の臨床病理学的検討に関する研究

(Clinicopathological studies of primary splenic diffuse large B-cell lymphoma)

【背景と目的】悪性リンパ腫は血液悪性腫瘍の一つであり、成熟リンパ球から発生する悪性腫瘍である。悪性リンパ腫はホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫の 2 つに大きく分類することができる。日本において、ホジキンリンパ腫の頻度は 5-10% 程度であり非ホジキンリンパ腫の占める割合が多い。非ホジキンリンパ腫は、さらに組織学的に B 細胞性リンパ腫と T/NK 細胞性リンパ腫に分類され、頻度としては B 細胞性リンパ腫が大半を占める。日本において B 細胞性リンパ腫は悪性リンパ腫の 70% を占めるリンパ腫である。B 細胞性リンパ腫は悪性度が異なる様々な組織型が存在しており、治療法も異なっている。また B 細胞性リンパ腫は節性病変であるリンパ節病変のみならず、リンパ組織である脾臓、さらには様々な節外病変を形成することが知られている。脾臓は体内で最も大きなリンパ組織の集合体である。脾臓の 80-95% を占める白脾髄はリンパ組織として免疫に関与する。一方で脾臓の 5-20% を占める赤脾髄は血液ろ過、異常な血球や老化した血球の除去などを行っている。脾臓は悪性リンパ腫において頻度の高い浸潤臓器の一つであり、ほぼすべての組織型において浸潤を認めるとされている。しかし、脾臓病変のみを認める primary splenic lymphoma は非常にまれであるとされている。現在までに primary splenic B-cell lymphoma の組織型頻度や臨床病理学的な特徴について、十分な検討はなされてこなかった。そこで申請者は primary splenic B-cell lymphoma 160 例の組織型頻度を検討し、Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), Splenic marginal zone B-cell lymphoma (SMZL), Follicular lymphoma (FL) という特定の 3 組織型が全体の 83% を占めることがわかった。特に DLBCL は、42% をしめ、primary splenic B-cell lymphoma の中心的な組織型であることがわかった。この基盤的発見から、さらに申請者は primary splenic DLBCL に着目し、臨床病理学的観点からコントロール DLBCL (Primary splenic DLBCL 以外の DLBCL 症例) との比較検討を行った。

【材料と方法】久留米大学第二病理学講座において 2005 年から 2015 年に診断された 66 例の primary splenic DLBCL と 309 例のコントロール DLBCL を用いて検討した。DLBCL における cell of origin の検討や腫瘍細胞における免疫形質の評価に関してはホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 検体を用いた免疫染色法ならびにフローサイトメトリー解析法を使って CD5, CD10, CD20, BCL2, BCL6, MUM1 の抗体を用いて検討した。腫瘍細胞の 30% 以上に陽性であった症例を陽性と定義した。Hepatitis C virus (HCV) 陽性症例の定義は 2 次あるいは 3 次世代の immunoassay kit (Monolisa anti-HCV Plus, Sanofi Diagnostics Pasteur; and AxSYM HCV Version 3.0, Abbott Laboratories) を用いて HCV 抗体が陽性である症例を定義した。臨床病理学的な特徴の検討はカイニ乗検定あるいは Fisher の検定を行った。Overall survival (OS) と Progression-free survival (PFS) の生存曲線は Kaplan-Meier 法を用いて検討を行った。OS, PFS のエンドポイントはそれぞれ DLBCL の死亡、再発とした。生存曲線の比較に関しては log-rank test を用いて検討した。統計解析は JMP, version 10 (SAS institute, Tokyo, Japan) を使用して検討した。P-value of <0.05 を統計学的な有意差ありとして検討した。

【結果】Primary splenic DLBCL とコントロール DLBCL の比較では OS に差は認められなかったものの、PFS は primary splenic DLBCL はコントロール DLBCL に比べて良好であった ($P=0.04$)。また primary splenic DLBCL はコントロール DLBCL に比べて様々な臨床病理学的な特徴を有しており、特に HCV 抗体の陽性率が高い ($P=0.002$) ことを明らかにできた。そ

ここで primary splenic DLBCL とそれ以外の DLBCL (初発病変部位が脾臓ではない DLBCL。以下、DLBCL without primary splenic) に分けて、それぞれ HCV 抗体陽性・陰性に分け、比較検討をおこなったところ、12 例の HCV positive primary splenic DLBCL は比較的無症候性に発見されることが多く、PS が良好な症例が多く、Cell of origin は GCB type が多いことがわかった。これに対し、HCV positive DLBCL without primary splenic 症例においては non GCB type が多く、両者の分子病態は全く異なる可能性を示すことができた。さらに、HCV positive DLBCL (HCV positive primary splenic DLBCL と HCV positive DLBCL without primary splenic) において HCV が直接的に腫瘍 B 細胞内に感染し、腫瘍形成に関わる可能性を検討するため HCV-RNA in situ hybridization (ISH), HCV RT-PCR, NS3 の免疫染色を行い、一部の症例においては、リンパ腫細胞内に HCV が存在することを証明した。

【考察】Primary splenic DLBCL はコントロール群と比べて有意に PFS が良好であった原因については、様々な要因が関わっている可能性がある。87 例の primary splenic DLBCL で検討された既報においては、脾摘された群は脾摘されなかった群に比べて PFS が良好であったと報告しており、この原因として脾摘による腫瘍量の減少が関係している可能性について指摘している。また、脾摘による免疫状態の変化に関しても、現在までに様々な報告がある。具体的には、肝硬変、慢性肝炎、肝細胞癌の患者に対する脾摘により、末梢血中の NK 細胞の活性化や CD4/CD8 比の増加、IFN γ の増加が見られるとの報告がある。肝細胞癌に対して肝切除と同時に脾摘を行うことによって PFS が延長したと報告されており、この原因として脾摘による免疫機能の賦活化も一つの要因ではないかと考察されている。このような知見を考慮に加えると、脾摘による腫瘍量の減少と免疫状態の変化が primary splenic DLBCL がコントロール DLBCL より PFS が良好であった原因の一つであった可能性がある。

B 細胞に HCV 全長を発現するトランスジェニックマウスを用いた検討では生後 600 日以内に 25% に DLBCL が発生したと報告している。これらの検体を用いた microarray 遺伝子発現解析では *c-FOS*, *A20*, *C3*, *LT β R* などの alternative 及び canonical NF κ B pathway に関与する遺伝子の発現異常を認めたとしている。NF κ B の亢進は non-GCB type の分子生物学的特徴であり、本研究で見出した HCV positive DLBCL without primary splenic には non-GCB type が多くみられるという所見に矛盾しない。しかし、一方で、HCV positive primary splenic DLBCL においては、同じく HCV 感染を有するにもかかわらず、Cell of origin は GCB-type が有意であるという事実から考えるに、HCV 感染は顕在化した腫瘍形質の維持に関わっているよりは、むしろ B-cell lymphoma の initiation に関わっているのかもしれない。腫瘍形成過程の進展に伴い、付加的な遺伝子及びエピゲノム異常が積み重なる上で、GCB-type 腫瘍と non-GCB type の腫瘍が分かれていくと考えれば、本研究で見出した知見に矛盾しない。

本検討において HCV-RNA ISH, RT-PCR, NS3 の解析から、一部の症例においては、リンパ腫細胞内に HCV が存在することが証明できたが、その一方で多くの症例では証明できなかった。この知見も HCV が B-cell lymphoma の initiation に関わっているという仮説に矛盾しない。興味深いことに、HCV は一過性の感染であっても B 細胞に遺伝子変異を引きおこし、リンパ腫形成の一因になる可能性が指摘されている。具体的には in vitro の実験系において HCV の感染が AID などがん遺伝子の変異を上昇させるとしている。実際に、HCV 関連の肝細胞癌 (HCC) においても腫瘍組織は非腫瘍組織に比べてウイルス複製やウイルス量が著明に減少しており、HCV 感染は腫瘍化の初期段階において重要ではあるが、腫瘍維持へは必ずしも貢献しているとは限らない。本研究において腫瘍細胞内に HCV の存在を確認できなかった症例においても、その一部には細胞内 HCV が lymphoma initiation に働いたものの、その後、腫瘍形質が進展する中で、なんらかの理由で細胞内から失われた可能性がある。また別の可能性として、HCV による B 細胞への直接感染ではなく、慢性的

な抗原刺激がリンパ腫の形成に関与する場合も否定はできず、今後、両方の可能性を視野に入れた検討が必要であると考えられた。

【結論】Primary splenic DLBCL はコントロール DLBCL と比較してさまざまな臨床病理学的特徴を有することが分かった。特に primary splenic DLBCL において、有意差をもって HCV の陽性率が高いことを明らかにした。さらに、Primary splenic DLBCL の少なくとも一部症例では腫瘍細胞内に HCV が感染していることを証明できた。本研究で見出された知見から、HCV は直接 B 細胞に感染し、脾臓への局在性に関連し、B-cell lymphoma の initiation に関与する可能性が示唆された。