

氏 名 (本籍)	小 島 康 志 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博 士 (医学)
学位授与番号	甲第 6 4 1 号
学位授与日付	平成 18 年 2 月 15 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Fas and Fas ligand expression on germinal center type-diffuse large B cell lymphoma is associated with the clinical outcome
審 査 委 員	(主査) 教授 森 脇 久 隆 (副査) 教授 高 見 剛 教授 犬 塚 貴

## 論文内容の要旨

### 目的

悪性リンパ腫のうち最も多くを占めるびまん性大細胞型B細胞性リンパ腫 (DLBCL) は、比較的穏やかな経過を示す症例から急激な経過で死に至る症例まで様々である。リンパ腫の予後を反映する因子として、International Prognostic Index (IPI) が汎用されているが、DLBCLそのものの特性が反映されているものではない。DLBCLには病理組織学的多様性が知られており、表面マーカーや染色体異常など、臨床経過や予後との関連が多数報告されている。近年DNAマイクロアレイによる遺伝子発現パターンやCD10, Bcl-6, MUM1の発現を組み合わせ、DLBCLをgerminal center type (GC type) とnon germinal center type (NGC type) に分類し、GC typeがNGC typeに比べて予後良好であることが報告された。一方、アポトーシスは、細胞の生死に密接に関わるメカニズムであり、腫瘍細胞がアポトーシスを生じやすいか否かは、それぞれの症例の予後に直接影響を及ぼすと考えられる。アポトーシスに関わる代表的な分子がFasであり、DLBCLの約30%-70%において腫瘍細胞表面にFasが発現していることが知られているが、予後との関係は明らかになっていない。今回、私たちはDLBCLにおけるFas, Fas ligand (FasL)の発現と予後との関連をGC typeとNGC type それぞれにおいて検討した。

### 対象

1993年から2002年までにDLBCLと診断し当科及び関連施設にて加療した症例のうち、ホルマリン固定-パラフィン切片にて評価可能な69例を対象とした。男性が40例、女性が29例、年齢中央値が67歳 (20-82歳) であった。治療はCHOP療法もしくはCHOP療法に準じた治療法を施行した。また抗CD20抗体であるRituximabが投与された症例は除外した。

### 方法

リンパ節生検にてえられたホルマリン固定-パラフィンブロックを2 $\mu$ mに薄切し、脱パラフィン、脱キシレン、内因性ペルオキシダーゼ活性を抑制した後、pH 6.0のクエン酸緩衝液の中で121度10分間のオートクレーブ処理することで抗原賦活化をし、CD10, Bcl-6, MUM1, Fas, FasLの一次抗体をかけ室温で一晩留置、二次抗体をavidin-biotin-peroxidaseを用いたABC法にDAKO社のcatalyzed signal amplification systemを使用して発色した。腫瘍細胞のうち30%以上陽性となる症例をその抗体の陽性症例とした。GC typeとNGC typeについては、既報のようにCD10陽性の症例もしくはBcl-6陽性かつMUM1陰性の症例をGC typeとし、それ以外をNGC-typeとした。

統計学的検討は、2群間の比較は $\chi^2$ 検定を用い、IPIの各パラメーターと今回検討した抗原の発現が生存期間に及ぼす影響は、Kaplan-Meier法にて生存曲線を作成し、log-rank testにより評価した。観察期間は2003年10

月で終了とした。

## 結果

全対象症例の観察期間中央値は43ヶ月で、3年生存率は56%であった。今回検討した抗体をそれぞれ単独で検討すると、CD10陽性群のみが陰性群に比して予後良好であった ( $p<0.05$ )。GC typeとNGC typeにわけるとGC typeが26例 (38%)で、NGC typeが43例 (62%) であり、この2群間の予後に統計学的有意差を認めなかった ( $p=0.0723$ )。FasとFasLの発現の有無についても2群間の予後に統計学的有意差を認めなかったが ( $p=0.2884$ ,  $p=0.2409$ )、その発現の有無をGC typeの症例で検討すると、それぞれ陽性症例が予後良好であった ( $p<0.005$ ,  $p<0.05$ )。GC typeの中でFas陽性症例は、有意にLDHの値が低い症例が多く、FasL陽性症例は、LDHの値が低い症例と節外リンパ節の数が少ない症例が多かったが、多変量解析によりGC typeでは、Fas及びFasLが最も強い予後因子であった。

## 考案

DLBCLの表面に発現するFasが、FasLの刺激によりシグナルを伝達しアポトーシスを生じるのであれば、そのリンパ腫細胞は生体の中でアポトーシスを生じやすく、FasLに感受性があるリンパ腫の症例は予後が良いことが予想される。基礎的な実験でもリンパ腫細胞でFasに感受性があるものとなないものが知られており、DLBCLが様々な病態をもつ疾患群であることをあらわしている。今回の研究では、GC typeはNGC typeに比して予後が良い傾向にあったが、統計学的な有意差はえられなかった。これは、GC typeに臨床病期の進行症例が多かったことに加えて、全体の症例数が少ないこと、及び観察期間が短いことによると考えられた。GC typeとNGC typeは、CD10, Bcl-6, MUM1の組み合わせで分類されるが、それぞれのマーカーを単独で検討すると、CD10陽性例が予後良好であった( $p=0.0156$ )。CD10, Bcl-6, MUM1の発現は正常のリンパ球の成熟段階で、ある一定期間の発現時期を持っており、DLBCLをGC type とNGC typeに分類することは、それぞれのDLBCLが正常リンパ球の成熟過程のどの段階で腫瘍化したかを反映している可能性がある。B細胞の成熟過程において、Fasに感受性をもち淘汰される時期があり、DLBCLにもFasに感受性があるタイプが存在する可能性がある。従ってB細胞の成熟段階に基づいてDLBCLを分類することによりFasに感受性があるタイプを選択することができるかもしれない。これまでDLBCL全体としてはFasやFasLの発現と予後との関係に関しては否定的な報告もみられたが、GC typeに限ってはFasやFasLの発現が予後に関係することが明らかになった。ただし、今回の研究ではDLBCLの細胞が実際にFasに感受性があるか否かについては検討していない。今後、Fasが機能するかどうかに関して、Fasの変異の有無やFasシグナルのカスケードに存在するFLIPの役割なども検討する必要がある。

## 結語

DLBCLのうちGC typeでは、FasとFasLの発現が予後因子となることが示された。

## 論文審査の結果の要旨

申請者 小島康志は、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫、特にgerminal center typeにおいて、Fas, Fas ligand発現が予後に関与することを証明した。本研究は臨床血液学、臨床病理学の発展に少なからず貢献するものと認める。

---

[主論文公表誌]

Fas and Fas ligand expression on germinal center type-diffuse large B cell lymphoma is associated with the clinical outcome

Eur J. Haematol (in press).