

論文の内容の要旨

論文題目

「日本における腸管症関連T細胞リンパ腫のゲノムプロファイルと免疫組織化学的形質」

学位申請者 富田 さくら

キーワード： 腸管症関連T細胞リンパ腫、ゲノムプロファイル、免疫組織化学、アレイCGH、FISH

【背景と目的】腸管症関連T細胞リンパ腫 (enteropathy-associated T-cell lymphoma: EATL) は消化管に発生する稀なT細胞リンパ腫である。EATLはしばしば消化管穿孔で発症し、また小腸が好発部位であることから通常の内視鏡検査では発見しにくく、診断が遅れることが多い。さらに、EATLに対する効果的な治療法は未だ確立されておらず、予後不良である。EATLは臨床病理学的にType IとType IIに分類され、Type IIはceliac病を基盤として発生すると考えられており、北欧で頻度が高く、一方、Type IIは*de novo*に発生し、アジアを含む全世界で認められる。アジアではほとんど全てのEATLがType IIに分類されるが、その発生率の低さから病理学的機序や免疫組織学的特徴は未だ十分に解析されていない。

近年、ホルマリン固定パラフィン包埋組織 (formalin-fixed paraffin-embedded tissue: FFPE) に対する様々な抗体が開発されており、T細胞ないしT細胞腫瘍の研究の一助となっている。さらに、array comparative genomic hybridization (アレイCGH) 解析により欧米諸国のEATLに特徴的なゲノム変化が報告されている。

本研究の目的は、本邦のEATLを用いて遺伝学的および免疫学的な特徴を明らかにすることである。

【方法】材料は国内で過去 (2000年4月1日から2012年3月31日の12年間) にEATLと診断され、解析可能なFFPEの存在する 20例を用いた。腫瘍細胞の形態学的評価 (小型/中型/大型、単調/多形性)、免疫組織化学 (CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD56, TIA-1, Granzyme B, TCR- β , TCR- γ , TNFRSF14, BTLA, Ki-67) およびEBウイルスRNAに対する*in situ* hybridization (EBER) を全例 (20例) に行い、十分な検体量の得られた8例についてアレイCGHを施行した。さらにFluorescence *in situ* hybridization (FISH) を1q21, 6q16, 7p22, 9q33, 9q34の各領域について行った。

【結果】解析したEATLの組織学的特徴として腫瘍細胞の大きさは中型～大型が13例 (65%)、小型～中型が5例 (25%)、中型が2例 (10%) であった。免疫表現型はCD2⁺ (60%)、CD3⁺ (100%)、CD4⁺ (10%)、CD7⁺ (95%)、CD8⁺ (80%)、CD56⁺ (85%)、TIA-1⁺ (100%)、Granzyme B⁺ (25%)、TCR β ⁺ (10%)、TCR γ ⁺ (35%)、TCR $\gamma\delta$ ⁺ (50%) で、T細胞受容体 (T-cell receptor: TCR) がいずれも陰性であったのは6例 (30%) であった。全ての症例がEBER陰性を示した。遺伝学的特徴としては1q32.3, 4p15.1, 5q34, 7q34, 8p11.23, 9q22.31, 9q33.2, 9q34.13, 12p13.31の増幅と7p14.1の欠損を高頻度に認めた。5つの領

域1q21.3 (*CKS1B*)、6q16.3 (*HACE1*)、7p22.3 (*MAFK*)、9q33.3 (*PPP6C*)、9q34.3 (*ASS1*, *CARD9*) に対するFISHでは15例 (75%) に9q34.3の増幅を認め、アレイCGHと良く関連していた。

【考察】EATL Type IとType IIでは組織像が異なり、欧米諸国ではType II EATLは小型から中型の腫瘍細胞が特徴的とされるが、我々が検討した本邦の症例は中型から大型の腫瘍細胞の増殖を示すものが多かった。腫瘍細胞の大きさのバリエーションがアジアのEATLの特徴である可能性が考えられ、欧米のEATLとの相違点と考えられた。本邦のEATL症例はceliac病の病歴はなく、CD8+/CD56+の細胞障害性リンパ球としての表現型を有し、intraepithelial lymphocytesの増加を伴っていた。我々の症例ではceliac病の病歴を認めず、本邦のEATLには欧米例とは異なる免疫学的背景が存在する可能性がある。

【追加検討】これまでアジア諸国のEATLの多くはType IIと考えられており、Type II EATLは $\alpha\beta$ 型のTCRを発現するとされるが、我々の研究では $\gamma\delta$ 型のTCRを示す症例が多い結果であった。アジアのEATLにおいて免疫組織化学的に $\alpha\beta$ 型TCRおよび $\gamma\delta$ 型TCRのいずれも陰性を示す症例の割合は報告により様々であり、これまでTCR double negative EATLに着目して解析した報告はない。そこで、TCR double negative EATL 9例のFFPEを用いてその細胞由来およびゲノムプロファイルを追加検討した。方法は組織学的解析、免疫組織化学およびFISHである。腫瘍細胞の大きさは小型～中型が2例 (22%)、中型が1例 (11%)、中型～大型が6例 (67%) であった。リンパ腫細胞におけるマーカーの発現は以下の通りである: CD2+ (89%)、CD3 ϵ (89%)、CD4 (0%)、CD7 (89%)、CD8 (75%)、CD56 (75%)、TIA-1 (100%)、Granzyme B (22%)。症例22のみがEBER陽性を示した。FISHでは1q21.3 (*CKS1B*)、6q16.3 (*HACE1*)、7p22.3 (*MAFK*)、9q33.3 (*PPP6C*)、9q34.4 (*ASS1*) の増幅をそれぞれ8/8 (100%)、2/7 (29%)、3/7 (43%)、2/7 (29%)、5/9 (56%) の症例に認めた。7p22の欠損は2/7 (29%) であった (陽性/検討例)。TCR陽性群 (TCR β 、TCR γ 、TCR $\gamma\delta$ いずれか1つ以上陽性を示す例) との比較では、TCR double negative EATLにおいて1q21と7p22の増幅の頻度が有意に高かった。

追加検討の結果、TCRの発現に関係なく本邦のEATLは腫瘍細胞の大きさにバリエーションを有し、Type II EATLに類似の免疫形質を示し、TCR double negative EATLは $\alpha\beta$ 型TCRあるいは $\gamma\delta$ 型TCRの発現を示す症例とは異なるゲノムプロファイルを示すことが示唆された。

【結論】本研究の結果、アジア諸国におけるEATL Type IとType IIの区別は不明確であることが示唆された。EATLの腫瘍発生の誘因となる免疫学的機序は未だ不明であるが、本邦のEATLのゲノムプロファイルは多くの領域でのコピー数増減によって特徴づけられ、欧米のEATL Type IとType IIのいずれにもみられるとされる9q34の増幅が $\alpha\beta$ -T細胞由来あるいは $\gamma\delta$ -T細胞由来に関わらず、高頻度であった。

