

# びまん性大細胞型B細胞リンパ腫でのBIOMED2プロトコルを用いた完全型IgH再構成パターンの予後予測における意義

The Prognostic Significance of the Complete IgH Rearrangement Pattern Using the BIOMED-2 Protocol in Diffuse Large B-Cell Lymphoma

Tomohiro Yabushita, et al., Department of Hematology, Kobe City Medical Center General Hospital, Kobe, Japan



## Quick Review

CLLなどの一部のB細胞性腫瘍では、免疫グロブリン重鎖(IgH)遺伝子可変領域(V<sub>H</sub>)における体細胞高頻度突然変異(somatic hypermutation, SHM)の頻度は臨床予後と相関すると報告されている<sup>1,2)</sup>。びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)においても、V<sub>H</sub> SHMの頻度は様々だが、予後との関連を検討した研究は少ない。今回、BIOMED-2プロトコルでの完全型IgH再構成反応パターンがV<sub>H</sub> SHMの頻度と相関していることを背景にし、DLBCLにおける完全型IgH再構成反応パターンと予後との関連を後方視的に検討した。

- IgH遺伝子再構成は、はじめにD<sub>H</sub>領域とJ<sub>H</sub>領域が再構成(不完全型)し、その後V<sub>H</sub>領域とD<sub>H</sub>-J<sub>H</sub>領域が再構成する(完全型)。BIOMED-2プロトコルは、V<sub>H</sub>におけるフレームワーク領域(FR)1~3とD<sub>H</sub>領域、J<sub>H</sub>領域にそれぞれ結合するプライマーを用いてIgH再構成を検出するPCR法であり、B細胞性非ホジキンリンパ腫(NHL)において完全型再構成が約70~80%、不完全型再構成が約30~40%検出された(図1)<sup>3)</sup>。
- IgH完全型再構成の偽陰性はV<sub>H</sub> SHMの影響によるプライマーのアニーリング失敗が主な原因であることから、IgH完全型再構成パターン(3種類のプライマーを用いたPCR反応における反応陽性数)はV<sub>H</sub> SHMの頻度を反映していると考えられる。
- 解析対象と項目は図2のとおりである。
- 完全型IgH再構成におけるPCR反応陽性数は0回が27.7%、1回が18.8%、2回が27.1%、3回(all-positive群)が26.4%であった(表1)。

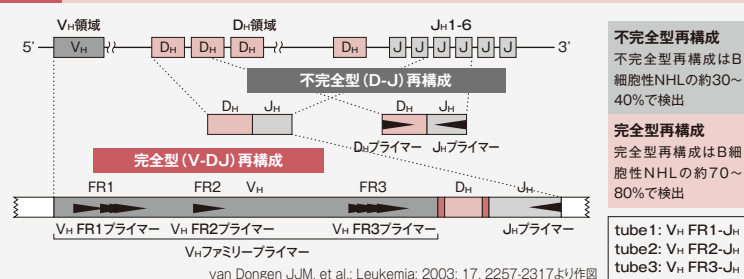
- All-positive群の5年生存(OS)は54.2%、5年無増悪生存(PFS)は34.4%で、その他の群に比べて有意に不良であり(それぞれvs.73.2%、p=0.002、vs.59.3%、p<0.001、log-rank検定)、PCR反応陽性数別のOSならびにPFSは図3の通りであった。
- OSのCox比例ハザードモデルを用いた多変量解析の結果、all-positive群は独立した予後不良因子であった[HR=1.89(95%CI:1.36-3.27)、p<0.001]。
- V<sub>H</sub>シーケンスの結果、生殖細胞系遺伝子とのV<sub>H</sub>同一性はall-positive群で91.9%と、その他の群と比べ有意に高いことが確認された(91.9% vs 83.7%、p<0.001、Mann-Whitney U検定)。
- 免疫組織化学(IHC)法でCell of Origin(COO)を検討した結果、再構成パターンとCOOに関連は認められなかった(p=0.33)。

## 結論

DLBCLにおいて、BIOMED-2プロトコル完全型IgH再構成にて3種類のプライマーのいずれでも検出される群は予後不良であり、V<sub>H</sub> SHM低頻度はDLBCLにおける治療抵抗性と関連する可能性が示唆された。BIOMED-2プロトコルは、DLBCLのクローナリティ評価のみならず、予後層別化にも有効である可能性があり、さらなる検討が必要である。

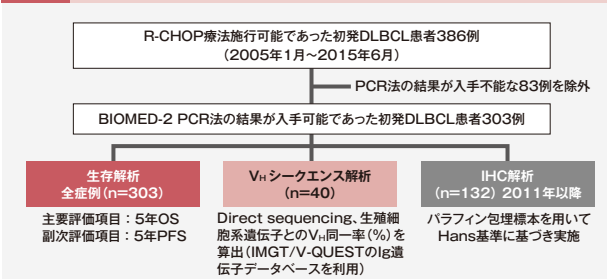
- 1) Lin KI, et al. Blood. 2009; 113: 3168-3171
- 2) Lai R, et al. Mod Pathol. 2006; 19: 1498-1505
- 3) van Dongen JJM, et al. Leukemia. 2003; 17: 2257-2317

図1 BIOMED-2プロトコル



- IgH遺伝子再構成は、はじめにD<sub>H</sub>領域とJ<sub>H</sub>領域が再構成(不完全型)し、その後V<sub>H</sub>領域とD<sub>H</sub>-J<sub>H</sub>領域が再構成する(完全型)。
- BIOMED-2プロトコルは、V<sub>H</sub>領域のFR1~3とD<sub>H</sub>領域、J<sub>H</sub>領域にそれぞれ結合するプライマーを用いてIgH再構成を検出するPCR法であり、B細胞性NHLにおいて完全型再構成が約70~80%、不完全型再構成が約30~40%検出された。

図2 解析対象と項目



- 解析対象は、2005年1月~2015年6月にR-CHOP療法施行可能であった初発DLBCL患者386例のうち、BIOMED-2 PCR法の結果が入手可能であった303例である。
- 生存解析を全症例、V<sub>H</sub>領域のシーケンス解析を40例、COOを評価するためのIHC解析を132例で実施した。

表1 IgH再構成の検出パターン

完全型IgH再構成(V <sub>H</sub> -J <sub>H</sub> )		
各PCR反応	V <sub>H</sub> FR1-J <sub>H</sub>	176 (58.1%)
	V <sub>H</sub> FR2-J <sub>H</sub>	172 (56.8%)
	V <sub>H</sub> FR3-J <sub>H</sub>	113 (37.3%)
PCR陽性反応の総数	0	84 (27.7%)
	1	57 (18.8%)
	2	82 (27.1%)
	3	80 (26.4%)
不完全型IgH再構成(D <sub>H</sub> -J <sub>H</sub> )		
D <sub>H</sub> -J <sub>H</sub>		99 (32.7%)
<b>IgH V<sub>H</sub>-J<sub>H</sub>+ IgH D<sub>H</sub>-J<sub>H</sub></b>		
<b>256 (84.5%)</b>		

- 完全型IgH再構成のプライマー毎の検出率はFR1が58.1%、FR2が56.8%、FR3が37.3%であり、PCR反応陽性数は0回が27.7%、1回が18.8%、2回が27.1%、3回が26.4%であった。

図3 BIOMED-2プロトコルによるIgH完全型再構成検出パターン別のOSとPFS

