

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 平川 (藤本) 佳子

### 論文題目

Immunoglobulin light chain gene translocations in non-Hodgkin's lymphoma as assessed by fluorescence *in situ* hybridization

(FISH法を用いた非ホジキンリンパ腫における免疫グロブリン軽鎖遺伝子転座の検出)

悪性リンパ腫の発症機構の一つとして、免疫グロブリン重鎖遺伝子 (immunoglobulin heavy chain gene: *IGH*) とがん遺伝子の染色体転座が知られており、その頻度は非ホジキンリンパ腫 (non-Hodgkin's lymphoma, NHL) の約 60% である。一方、免疫グロブリン軽鎖遺伝子 (immunoglobulin light chain gene, *IGL*) の転座については報告が少なく、*IGL* 転座の頻度や悪性リンパ腫発症機構への関与、また *IGH* 転座とは異なる臨床像を呈するのかわかりについては明らかでない。本研究では、B 細胞性 NHL と NHL 細胞株を対象に、蛍光 *in situ* 雑種法 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) と多色蛍光染色体解析法 (spectral karyotyping, SKY) を用いて *IGL* 転座と相手染色体について検索し、臨床的特徴との関連性を検討した。

2001 年から 2006 年までの期間に、京都府立医科大学附属病院と関連施設で B 細胞性 NHL と診断された症例のうち、検体を使用できた 40 例のカルノア固定細胞と NHL 細胞株 7 株 (HBL 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9) を用いて *IGL* 転座の FISH 解析を行なった。リンパ腫細胞を短期培養後に中期染色体期および分裂間期核を回収し、0.075M KCL で処理、カルノア液で固定した。*IGL* 転座を検出するために、bacterial artificial chromosome (BAC) クローンから FISH プローブを調整した。*IGλ* の FISH プローブには、*IGλ* 可変部 (variable, V) 領域を含む BAC クローン 1152K19、*IGλ* 定常部 (constant, C) 領域を含む 165G5 を用いた。*IGκ* の FISH プローブには、*IGκV* 領域を含む 316G9、*IGκC* 領域を含む 1021F11 を使用した。*IGH* 転座、t(14;18)、3q27 転座の検出には、各々、*IGH* Dual Color Breakpoint Probe (Vysis)、*IGH/BCL2* Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe、LSI *BCL6* Dual Color Break Apart Rearrangement Probe (Vysis) を使用した。FISH は以下のように型のごとく実施した。BAC クローンから調整した DNA 断片よりなるプローブをビオチンやジゴキシゲニンで標識し、スライド上に展開した中期染色体あるいは分裂間期核とともに熱変性の後に分子雑種し、アビジン-FITC や抗ジゴキシゲニン-ローダミンで処理後、蛍光顕微鏡で観察した。対比染色は

4,6'-diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride (DAPI) で行なった。1 スライドあたり 100 個の間期核を算定し  $\text{smean} + 2\text{SD}$  (5.3 + 0.8%) を *IGL* 転座陽性のカットオフ値とした。SKY には Sky Paint kit (Applied Spectral Imaging, Migdal Ha'Emek, Israel) を用いた。

対象 40 例の平均年齢は 65 歳であった。組織型はびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) が 19 例、濾胞性リンパ腫 (follicular lymphoma, FL) が 17 例、粘膜関連組織リンパ腫 (mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma, MALT lymphoma) が 2 例、マンツル細胞リンパ腫 (mantle cell lymphoma, MCL) が 2 例である。*IGL* 転座は、9 例 (18%) に認め、うち 2 例が *IGκ* 転座、7 例が *IGλ* 転座であった。相手遺伝子あるいは相手染色体は、*BCL6* が 3 例、1p13 が 1 例、6p25 が 1 例、17p11.2 が 1 例、17q21 が 1 例であった。中枢神経浸潤が 1 例に認められた。9 例中 8 例が R-CHOP 療法で完全寛解、1 例が部分寛解であった。NHL 細胞株では 7 株中 2 株 (HBL2, 6) に *IGL* 転座を認めた。本研究では *IGL* 頻度は 9/40 例 (22.5%) であり、既報の 10-18% よりやや頻度の高い傾向が認められた。一方、*IGH* の転座は、12 例 (30%) であり、既報の 40-50% よりやや低めの傾向であった。*IGL* 転座陽性の 9 例のうち 3 例 (7.5%) では *IGH* の転座も同時に認められ、相手遺伝子はいずれも *BCL2* であった。*IGH/BCL2* 転座は NHL 発症の初期変化であることから、*IGL* 転座が核型進展として生じた可能性が示唆された。*IGL* 転座相手遺伝子としては、*BCL6* が 3 例と最も多く認められ、その他に同定できた 1p13、6p25、17p11.2、17q21 は新規の相手染色体であった。*IGL* 転座陽性 9 例の組織型に偏りは認められず、治療効果は 8/9 例が完全寛解であり、既報の寛解導入率に比して同等であった。このことから、*IGL* 転座が、治療反応性や予後に関与している可能性は少ないと考えられた。9 例中 3 例で *IGH* 転座を同時に認め、*IGL* 転座との double translocation であったことから、*IGL* 転座の形成においても、免疫グロブリン遺伝子再構成の際に生じる DNA の切断と再結合が *IGH* 転座と同様に重要なメカニズムであると考えられる。本研究から、*IGL* 転座は B 細胞性 NHL の発生や進展に関与している可能性が示唆された。1p13、6p25、17p11.2、17q21 の新規相手染色体の切断部位に存在する候補遺伝子の同定については、今後の課題である。