

# 悪性リンパ腫におけるフローサイトメータを用いた微小残存腫瘍の検出とその臨床的意義

愛知県がんセンター中央病院

臨床試験部 部長/血液・細胞療法部 医長 山本一仁

愛知県がんセンター中央病院

血液・細胞療法部 医長 加藤春美

## 【背景・目的】

造血器腫瘍においては、微小残存腫瘍 (minimal residual disease, MRD) の検出が治療効果判定や予後予測に有用であることが、急性白血病や多発性骨髄腫で示されている。一方、これまでに悪性リンパ腫においては、MRD の検出については以下の2つの方法がとられている。1つは、IgH-BCL2 や IgH-BCL1(CCDN1)などの転座を利用し、染色体転座固有のプライマーを設定する方法で、もう一つは、免疫グロブリン遺伝子やT細胞受容体遺伝子の再構成を利用し症例特異的プライマーを作成する方法である。いずれも polymerase chain reaction (PCR) 法を利用することでおこなわれている。転座特異的なMRD検出方法は、同じ染色体転座でも転座切断部位により検出不可能な場合があり、すべての患者に応用可能ではない。また、患者特異的なプライマーによる検出方法は患者毎にプライマーを設定しなければならず煩雑である。

フローサイトメトリー (flow cytometry, FC) を用いたMRD検出法は、同じリンパ系腫瘍の急性リンパ性白血病や多発性骨髄腫で研究されている。この方法は、病型毎に使用する抗体を設定すれば、ほぼすべての症例に適応できる利点がある。一方で、PCR法に比較して検出感度で劣る可能性がある。多発性骨髄腫においては、6~8カラー蛍光色素を用いたマルチフローサイトメトリー (multiparameter flow cytometry, MFC) によりMRDを測定し、MRDの残存が予後因子になることが報告されている (Blood 2008;112:4017)。

我々は、これまでに、3カラー蛍光色素を用いたMFCで、 $10^{-3\sim 4}$ レベルで腫瘍細胞を検出可能であることを報告している (Kato H, Yamamoto K et al. Leukemia. 2012;26:166)。今回申請する研究課題では、悪性リンパ腫症例において、6カラー蛍光法MFCを用いて、よ

り高感度かつ、高精度の MRD 検出方法を確立するとともに、その方法により MRD を測定することで治療効果や予後予測が可能かどうかを探索的に研究し、将来的には、MRD が検出される場合に、早期介入を実施することでの予後改善を目的とした臨床試験への応用を目指している。

#### 【方法】

1. 保存検体を用いた解析の基礎となる患者データベースのうち濾胞性リンパ腫とマンツル細胞リンパ腫の患者データベースのクリーニングと成績の解析
2. 細胞株を用いて、6 カラー法 MFC による検出感度を調べる。細胞株の希釈には健常人の末梢血単核球を使用する。
3. 6 カラー法と報告した 3 カラー法 MFC 及び PCR 法との検出感度を比較する。
4. 患者残余検体を用いて 6 カラー法 MFC による検出感度を調べる。患者検体は、10% 以上リンパ腫細胞が含まれている検体を使用する。希釈には健常人の末梢血単核球を使用する。
5. 少数例の検体を用いて、治療法による MRD 検出割合の差や MRD 有無と生存割合の関連などを比較し、探索的に予後との関連性を調べる
6. 臨床研究への適応について検討する

#### 【結果】

本年度は計画されたもののうち「1. 保存検体を用いた解析の基礎となる患者データベースのうち濾胞性リンパ腫とマンツル細胞リンパ腫の患者データベースのクリーニングと成績の解析」をおこなった。このうち、濾胞性リンパ腫の治療成績を解析した。

2003 年 4 月から 2009 年 6 月までに当院で診断した初発濾胞性リンパ腫についてデータのクリーニングをおこなった。73 例（男性 35）。年齢中央値は 59 歳（40-84）、診断は Grade 1/2/3a が 29/36/8 例、進行期 44 例、骨髄浸潤 34 例、Bulky 病変 (>6cm) は 19 例。FLIPI2 (The Follicular Lymphoma International Prognostic Index-2) : Low/intermediate (Int) / High は各 18/44/11 例、GELF 基準高腫瘍量該当は 22 例であった。71 例に治療が行われ、rituximab 単剤 (n=8)、R-CHOP 療法 (n=55)、放射線単独 (n=3)、その他 (n=5)。全症例のうち 26 例で再発し 2 例が原病により死亡した。5 年 OS は 81%、PFS は 72%であった（観察期間中央値：5 年）。

FLIPI2 と GELF 基準を用いた再発に関する検討では、FLIPI2 リスク群別の 5 年 progression-free survival (PFS) は Low/Int./High で各 84%、72%、および 52%であり、GELF

基準高腫瘍量該当なし(G-)/あり(G+)では、77%および47% (p=0.013) であった。FLIPI2 と GELF 基準を組み合わせで検討したところ、G+の場合でも FLIPI2 Low リスク群では再発症例を認めなかった。G+かつ、FLIPI2 Int.または High リスク群の5年 PFS は39%であり、G 基準単独評価より、再発症例を正確に予測可能であった。G+かつ FLIPI2 で Int.または High リスク群とそのほかの群の2群での比較は前者でより不良な PFS を示した(p<0.001)。

**【展望】**

整備した患者データベースを基に MFC による MRD 検出法の検討をおこなう。

(文献)

村上五月、加藤 春美、山本 一仁、田地 浩史、齋藤統子、平野 大希、谷田部 恭、中村 栄男、木下朝博：FLIPI2 と GELF 基準を用いた濾胞性リンパ腫の予後解析 (Prognostic analysis for follicular lymphoma using FLIPI2 and GELF criteria) (口頭) 第75回日本血液学会学術集会. 札幌市. 2013年10月13日.