

# びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫における SOX4 発現の臨床的意義

和田 裕 介<sup>1,3</sup> 樋口 智 紀<sup>1</sup> 藤田 貢<sup>1</sup> 頼 晋 也<sup>2</sup> 前 倉 俊 治<sup>4</sup>  
浦 瀬 文 明<sup>3</sup> 松 村 到<sup>2</sup> 義 江 修<sup>1</sup>

<sup>1</sup>近畿大学医学部細菌学教室 <sup>2</sup>近畿大学医学部血液内科  
<sup>3</sup>近畿大学堺病院血液内科 <sup>4</sup>近畿大学堺病院病理学教室

## 抄 録

びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma/DLBCL) は非ホジキンリンパ腫の中で最頻のサブタイプである。本疾患に対しては、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、およびプレドニゾロンの併用療法、いわゆる CHOP 療法が長きにわたり標準治療であった。しかし近年、CD20 を標的としたキメラ IgG1 モノクローナル抗体であるリツキシマブが DLBCL に著効することが示され、これを加えた R-CHOP が現在では実質的標準治療となっている。一方 SOX4 は SOX ファミリーに属する転写因子である。これは未熟 B/T リンパ球の分化増殖に関与することが知られ、さらに成人 T 細胞白血病リンパ腫をはじめとする複数の悪性腫瘍においては癌遺伝子として作用する。しかしながら DLBCL と SOX4 との関連については未だ不明である。そこで本研究では DLBCL における SOX4 発現と治療応答性および予後との相関について検証した。我々の集めた DLBCL 70 症例の検討から、SOX4 のタンパクおよび mRNA レベルでの発現量はともに R-CHOP 応答性と負の相関を示した。また予後解析により SOX4 発現量は DLBCL 患者の予後不良とも相関を示した。これらの結果より SOX4 が DLBCL の予後予測因子として有用である可能性が示された。

**Key words :** DLBCL, R-CHOP, SOX4, IPI, 予後予測因子

## 緒 言

びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (diffuse large B-cell lymphoma/DLBCL) は非ホジキンリンパ腫の中で最頻のサブタイプであり、全リンパ腫の30%、中等度および高悪性度リンパ腫の80%を占める<sup>1</sup>。また近年の病理遺伝子学的解析により単一の臨床病理学的腫瘍ではなく、複数の B 細胞リンパ腫の混成群であることが明らかとなった<sup>2</sup>。これまでに少なくとも 3 種類の遺伝子学的サブタイプが確認されており、それらは胚中心 B 細胞型 (GCB 型)、活性化 B 細胞型 (ABC 型)、および原発性縦隔大細胞型 (PMBCL 型) である<sup>3,4</sup>。

シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、およびプレドニゾロンの併用療法、いわゆる CHOP 療法は長きにわたって DLBCL の標準的治療法であった。しかし近年、CD20 を標的としたキ

メラ IgG1 モノクローナル抗体であるリツキシマブが DLBCL に著効することが示され<sup>5,6</sup>、これを加えた R-CHOP 療法が現在では DLBCL の標準治療となっている。

国際予後指標 (International Prognostic Index/IPI) は中等度および高悪性度リンパ腫の予後予測指標として極めて有用である<sup>7</sup>。本指標は、年齢 $\geq 61$ 、病期 Stage III-IV、血清中乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase/LDH) 高値、ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) パフォーマンスステータス (performance status/PS)  $> 2$ 、有節外病変 $\geq 2$  をそれぞれ 1 として合算し、その値 (0~5) はリンパ腫患者の予後とよく相関することが知られている。しかしながらリツキシマブ登場後はその有用性は低下している。それゆえ新たな予後予測因子の導入が求められている。

SOX4 は SOX ファミリーに属す high mobility

group box (HMG box) 型転写因子である<sup>8</sup>。SOX4 は幼弱なB細胞やT細胞の分化・成熟に関わることが知られている<sup>9,10</sup>。さらに乳癌、脳腫瘍、肺癌、膵臓癌、前立腺癌、膀胱癌、卵巣癌などではしばしばSOX4の過剰発現がみられ、それらの癌種での発癌遺伝子としての役割が示唆されている<sup>11</sup>。また血液系腫瘍でも、成人T細胞白血病リンパ腫 (adult T cell leukemia/lymphoma/ATL) におけるSOX4高発現がATL細胞の増殖に関わる遺伝子発現を促している<sup>12</sup>。またSOX4発現は、プロB細胞では生存期間を延長させ<sup>13</sup>、プレB細胞ではPI3K/AKT経路およびMAPK経路を活性化させることで抗アポトーシス活性を誘導する<sup>13</sup>。しかしながらB細胞由来のリンパ腫であるDLBCLでのSOX4発現やその臨床的意義についてはいまだ不明である。

そこで本研究ではDLBCLにおけるSOX4発現と治療応答性および予後との関係について検証した。我々独自のDLBCL症例群においてもIPIはR-CHOP療法への応答性と相関していた。さらにSOX4のタンパクレベルおよびmRNAレベルでの発現量はともにR-CHOP療法への応答性と負の相関を示した。また予後解析でも、SOX4のタンパクレベルおよびmRNAレベルでの発現量はDLBCL患者の予後不良と相関を示した。これらの結果より、SOX4の発現がDLBCLの治療応答性や長期予後の予測因子として有用である可能性が示された。

## 方 法

### 症例

近畿大学医学部付属病院および近畿大学医学部堺

病院の病理学教室に管理保管されていた70例の初発DLBCLの臨床検体を使用した(表1)。患者はR-CHOP療法が施行されていることを条件とした。R-CHOP 6コース終了後、1年以上寛解を維持している群を応答群(responder)とし、非寛解あるいは1年以内に再発した群を非応答群(non-responder)とした。全生存期間(overall survival/OS)は治療終了時から、原因を問わない死亡までの期間とした。また無病生存期間(progression free survival/PFS)は治療終了時から、原病の増悪、再発、死亡が認められた時点までの期間とした。同時にIPI<sup>7</sup>およびAnn-Arbor系臨床病期<sup>14</sup>も評価した。治療効果判定はCheson基準に従った<sup>15</sup>。本研究は近畿大学医学部倫理委員会によって承認された。

### 組織標本

本研究で用いた全ての組織標本は、生体組織診断の際に採取した未治療患者のリンパ節である。また、リンパ節転移が認められない5名の胃がん患者より採取したリンパ節を正常対照とした。全ての採取したリンパ節からホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを作製し<sup>16</sup>、パラフィン用滑走式マイクロトームにて連続切片を切り出した。これらの切片は脱パラフィン後、ヘマトキシリン・エオジン(hematoxylin and eosin/HE)染色による組織病理学的な評価、免疫組織化学染色によるSOX4発現の評価、およびRNA抽出による定量的PCR解析に用いた。

### 免疫組織化学染色

脱パラフィン後の組織切片(3~5 μm)を1×Target Retrieval Solution (DAKO, 京都)に浸漬し、マイクロ波発生装置を用いて100°C、5分間の加温を

表1 びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫(diffuse large B-cell lymphoma/DLBCL)症例の臨床プロフィール

Category		Total	Responder	Non-responder
Number of patients		70	28	42
Gender	Male	37	16	21
	Female	33	11	22
Age	<61	17	4	13
	≥61	53	23	30
Stage	I-II	21	9	12
	III-IV	49	13	36
PS	0-1	66	26	70
	≥2	4	1	3
LDH	Normal	9	7	2
	High	61	19	42
Extranodal site	0-1	48	22	26
	≥2	22	5	17
Treatment	R-CHOP	70	28	42

PS: ECOG パフォーマンスステータス (performance status), LDH: 乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase), R-CHOP: リツキシマブ, シクロホスファミド, ドキソルビシン, ビンクリスチン, プレドニゾロンの併用による化学療法

3 回繰り返し、抗原の賦活化を行った<sup>12</sup>。抗原賦活化した切片を 1×リン酸緩衝液 (8.1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>・12H<sub>2</sub>O, 136 mM NaCl, 2.68 mM KCl, 1.47 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.4) で洗浄後、0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含有メタノール溶液で内因性ペルオキシダーゼを不活化した。続いてブロッキング液 (1%ウシ血清由来アルブミン, 600 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl) で30分間浸漬し、Biotin Blocking System (DAKO) を用いて内因性ビオチンおよびアビジンを不活化した。1×リン酸緩衝液で洗浄後、4 µg/ml の抗 SOX4 IgG 抗体 (ab52043; Abcam, Cambridge, UK) あるいは陰性コントロールである正常ウサギ IgG (DAKO) で 4 °C にて一晩反応させた。1 次抗体反応後に 1×リン酸緩衝液で洗浄し、抗ウサギ IgG 抗体 (Vector Laboratories, Burlingame, CA) で 2 次抗体反応した。再び 1×リン酸緩衝液で洗浄した後、Vectastain ABC/HRP kit (Vector Laboratories) を用いてペルオキシダーゼ標識し、ジアミノベンジン溶液で酵素反応により発色させた。SOX4 に対する染色強度や陽性細胞数は Biozero BZ-8000 fluorescence microscope (Keyence, 大阪) および BZ-II Analyzer software (Keyence, 大阪) を用いて次のように測定した。まず 200 倍鏡見下で 1 検体あたり 5 視野をランダムに選択した。次に視野中の全腫瘍細胞数および SOX4 陽性細胞数を計測し、5 視野から SOX4 陽性率平均値を算出した。その際、SOX4 陽性細胞における染色強度もあわせてスコア化した (陰性: 0, 弱陽性: 1, 中等度陽性: 2, 強陽性: 3)。観察は 2-3 名で行った。

#### 定量的リアルタイム PCR

脱パラフィン後の組織切片 (10 µm) から RNeasy FFPE kit (Qiagen, 東京) を用いて全 RNA を抽出・精製した<sup>12</sup>。得られた全 RNA から SuperScript II Reverse Transcriptase system (Life Technologies, Carlsbad, CA) を用いて相補的 DNA (complementary deoxyribonucleic acid, cDNA) を合成した。40 ng の cDNA と PCR プライマーおよび TaqMan プローブを THUNDERBIRD Probe qPCR Mix (TOYOBO, 大阪) に混合し、StepOne Plus リアルタイム PCR システム (Life Technologies) を用い

て定量的リアルタイム PCR を行った。SOX4 の検出には、フォワードプライマー 5'-GGCCACAAAAACAATGTTTGG-3', リバースプライマー 5'-ATCAACAATCTGACAGGCAGTGA-3'; プロブ 5'-AAAAAAAAAGAAAAAATCATGCCAGCTAATCATGTCA-3' を用いた。 $\beta_2$ -microglobulin 遺伝子 *B<sub>2</sub>M* を内因性コントロールとし、その検出には TaqMan Gene Expression Assay (Hs00984230\_m1; Life Technologies) を用いた。全ての検体は重複して定量し、それぞれのデータ解析は 2- $\Delta$ CT 法によって行った。

#### 統計学的解析

統計学的有意差は、2 グループ間比較に対しては Mann-Whitney の U 検定で、3 グループ以上に対しては Kruskal-Wallis 検定および Holm の後検定で判定した。生存時間解析は Log-rank 検定で判定した。データ解析処理は GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA) および R Environment (R Project) を用い、 $P < 0.05$  で有意差ありと判定した。

## 結 果

#### IPI と R-CHOP 治療応答性との相関

症例総数 70 名の内訳は、男性が 37 名、女性が 33 名、また年齢分布は 21 歳から 87 歳であり、中央値は 64 歳であった (表 1)。症例のうち 49 名 (70%) が Stage III もしくは IV の進行期であった。IPI に基づいて判定した予後分類では低危険群 (L) が 8 名 (11.4%)、低中危険群 (LI) が 20 名 (28.6%)、高中危険群 (HI) が 23 名 (32.9%)、高危険群 (H) が 19 名 (27.1%) であった (表 2)。

今回のコホートにおける IPI の有用性を評価するため、DLBCL 患者を R-CHOP 応答群、非応答群の 2 群に分け、IPI 項目数と治療応答性の関係を検討した (図 1 A)。IPI 項目数 0 群は 3 例のみであった。また IPI 基準 5 項目すべてを満たす症例はなかった。IPI 項目数 1 または 2 群では R-CHOP 応答例が多く、IPI 項目数 3 または 4 群では非応答群が多かった。そこでまず全症例を用いて IPI 数との治療応答性との相関を検証した (図 1 B)。その結果、治療

表 2 DLBCL 症例の国際予後指標 (International Prognostic Index/IPI) 分布

Classification	IPI Score	Total	Responder	Non-responder
L	0-1	8	5	3
LI	2	20	12	8
HI	3	23	4	19
H	4-5	19	5	14

L: 低中危険群 (low), LI: 低中危険群 (low-intermediate), HI: 高中危険群 (high-intermediate), H: 高危険群 (high)

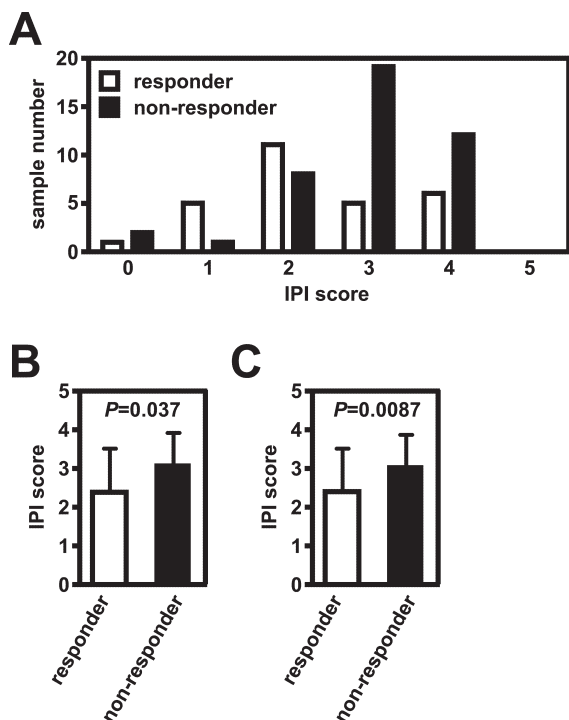


図1 IPI と R-CHOP 治療応答性との相関  
DLBCL 症例を R-CHOP 応答群 (responders) および非応答群 (non-responders) に分け、国際予後指標 (IPI) との関連を評価した。A) 治療応答群と非応答群の IPI 別分布。B) 治療応答群と非応答群での IPI スコアの比較。C) IPI スコア 0 の群を除いた応答群と非応答群での IPI スコアの比較。P 値は Mann-Whitney の U 検定に基づき算出した。

応答群は非応答群と比較してわずかであるが有意に IPI 項目数が低いことが判明した ( $P=0.037$ )。また、症例数の少ない 0 群を除いて検証した場合 (図 1 C), 有意差はさらに改善した ( $P=0.0087$ )。これらの結果より、我々独自の DLBCL 症例群においても IPI は R-CHOP 治療応答性と相関し、予後予測指標としての有用性が確認された。

SOX4 タンパク発現量と R-CHOP 治療応答性との相関

ATL での先行研究に従って SOX4 の免疫染色を行った (図 2 A)<sup>12</sup>。対照のリンパ節では B リンパ球優位とされるリンパ濾胞はほぼ陰性であったが、T 細胞領域には陽性細胞が散見された<sup>9</sup>。一方、DLBCL の組織では様々なレベルで腫瘍細胞が染色された。そこで方法で述べたように、腫瘍細胞での染色強度を 4 段階に分類し (図 2 A), R-CHOP 応答群および非応答群で比較した (図 2 B)。その結果、治療非応答群は応答群と比較して有意に SOX4 染色強度の上昇がみられた ( $P<0.001$ )。さらに腫瘍細胞での SOX4 陽性細胞の割合を算出し、両群間で比較した (図 2 C)。この場合でも治療非応答群は応答群と比較して有意に SOX4 陽性細胞の割合が高かった ( $P<0.001$ )。以上の結果より、DLBCL 症例での SOX4 タンパクの発現レベルは R-CHOP 療法応答性と負に相関することが示された。

SOX4 mRNA 発現量と R-CHOP 治療応答性との相関

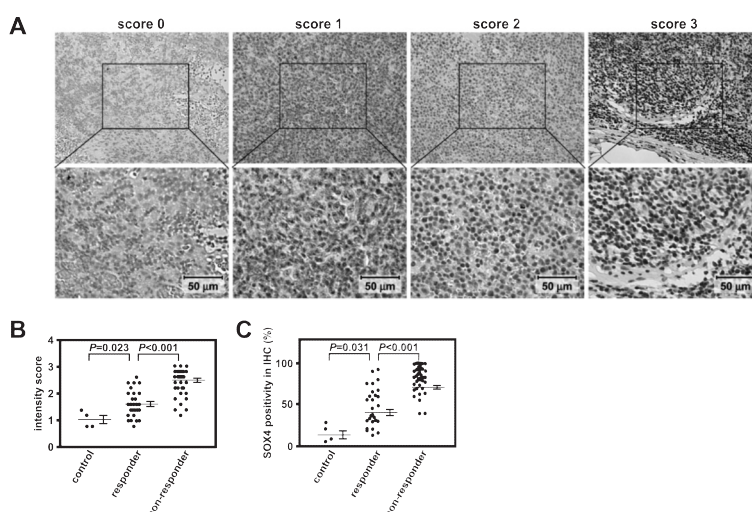


図2 SOX4 タンパク発現量と R-CHOP 治療応答性との相関

A) SOX4 染色強度のスコア化。SOX4 染色強度を陰性 0、弱陽性 1、中等度陽性 2、強陽性 3 の 4 段階にスコア化した。原図の拡大倍率  $\times 400$ 。B) 症例ごとに染色強度の 5 視野平均を算出し、正常対照、R-CHOP 応答群 (responder) および非応答群 (non-responder) に分けてプロットした。C) 症例ごとに SOX4 陽性細胞頻度の 5 視野平均を算出し、正常対照、R-CHOP 応答群 (responder) および非応答群 (non-responder) に分けてプロットした。P 値は Kruskal-Wallis 検定および Holm の後検定に基づき算出した。



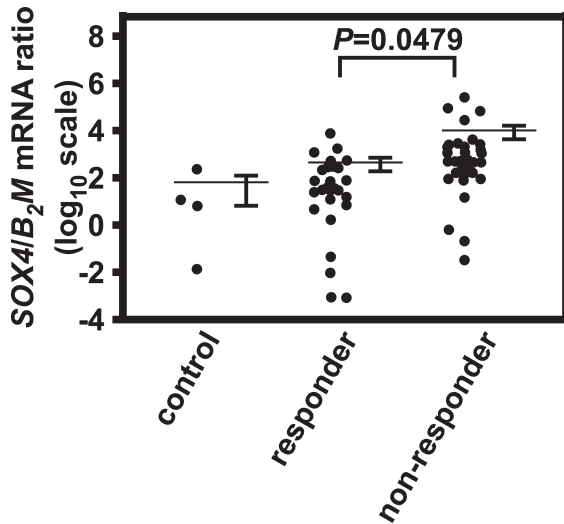


図3 SOX4 mRNA 発現量と R-CHOP 治療応答性との相関  
組織より全 RNA を抽出し定量的 PCR 法にて SOX4 mRNA を定量し、正常対照、R-CHOP 応答群 (responder) および非応答群 (non-responder) に分けてプロットした。P 値は Kruskal-Wallis 検定および Holm の後検定に基づき算出した。

上記の結果をもとに、より定量性のある mRNA レベルでの SOX4 発現量と R-CHOP 治療応答性との関連を検証した (図 3)。DLBCL 組織より全 RNA を抽出し定量的 PCR 法にて SOX4 mRNA 発現量を測定し、上記と同様に R-CHOP 応答群および非応答群とで比較した (図 3)。その結果、免疫染色の場合よりグループ間の差は小さくなったが、それでも治療応答群は非応答群と比較し有意に SOX4 mRNA 発現量が低かった ( $P=0.0479$ )。以上の結果より、DLBCL 組織中の SOX4 発現量は、タンパクレベルおよび mRNA レベルともに DLBCL 症例の R-CHOP 療法応答性と負に相関することが示された。

#### SOX4 発現量と DLBCL 症例の予後との相関

DLBCL における SOX4 発現量が R-CHOP 治療応答性と負に相関することから、続いて SOX4 発現量と R-CHOP 後の DLBCL 症例の予後との関係を検討した。図 2 および図 3 で示した SOX4 発現量をもとに、下記に示す各パラメーターの中央値を閾値として 2 群に分け、PFS と OS を評価した (図 4)。まず免疫組織染色での SOX4 染色発現強度 (中央値 1.5) と予後との関係を調べたところ、SOX4 高発現群では有意な PFS ( $P=0.000198$ ) および OS ( $P=0.00179$ ) の短縮をみた (図 4 A)。次に免疫組織染色での SOX4 陽性頻度 (中央値 60%) と予後との関係を調べたところ、高頻度群では有意な PFS ( $P=$

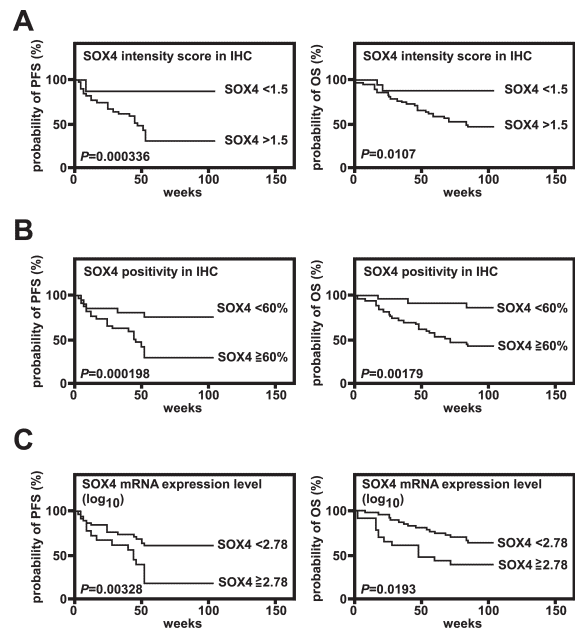


図4 SOX4 発現量と DLBCL 症例の予後との相関  
DLBCL 症例の無病生存期間 (Progression-free survival/PFS) と全生存期間 (overall survival/OS) を評価した。各項目の閾値は中央値とした。A) 免疫組織染色での SOX4 発現強度 (閾値 1.5)。B) 免疫組織染色での SOX4 陽性細胞の頻度 (閾値 60%)。C) 定量的 PCR による SOX4 mRNA 発現量 (閾値  $600 \approx 10^{2.78}$ )。P 値は Log-rank 検定に基づき算出した。

0.000336) および OS ( $P=0.0107$ ) の短縮がみられた (図 4 B)。最後に mRNA レベルでの SOX4 発現量 (中央値  $600 \approx 10^{2.78}$ ) と予後との関係について調べたところ、やはり SOX4 高発現群では有意な PFS ( $P=0.00328$ ) および OS ( $P=0.0193$ ) の短縮がみられた (図 4 C)。以上の結果より、DLBCL での SOX4 発現量は R-CHOP 治療後の予後とも有意に相関することが明らかとなった。

#### 考 察

これまでに複数の悪性腫瘍において SOX4 が癌遺伝子として機能することが報告されている<sup>11</sup>。血液系腫瘍の ATL においても SOX4 が癌遺伝子として働いており、histone deacetylase 8 (HDAC8) 等の遺伝子発現をもたらししていることが示されている<sup>12</sup>。また SOX4 は未熟 B 細胞の分化増殖に関わることも知られている<sup>10,13</sup>。これらの結果に着目し、本研究では DLBCL での SOX4 発現とその臨床的意義を検討した。全 70 例の DLBCL 症例をその臨床経過より R-CHOP 療法に対する応答群と非応答群に分け、SOX4 発現量との関係を解析したところ、タンパクレベル、mRNA レベルともに有意な差をみと

めた (図2および図3)。さらに、SOX4発現量とPFSおよびOSとの関係を調べた場合でも、SOX4発現はタンパクレベルおよびmRNAレベルともに有意に予後と負に相関していた。すなわち本研究から、DLBCLにおけるSOX4の発現はR-CHOP治療応答性および予後と有意に関わっている可能性が示された。

今回の研究では、R-CHOP後1年での病状により治療応答群と非応答群とに分類した。この条件は、予後予測指標であるIPIとも正の相関を示した (図1B)。この結果よりIPIは治療応答性とも相関すると考えられた<sup>7</sup>。しかしながら今回得られたP値は0.037と統計学的には極めて有意とは言えなかった。その観点でIPI分布を詳しく見ると、予後良好とされるIPI項目数0の群はわずか3例にすぎず、そのうち1例 (33%) のみが治療応答群であった (図1A)。これは治療応答群が優位であるIPI項目数1または2の群の傾向とは一致していない。すなわち、今回のコホートではIPI項目数0群の症例数が十分でなく、そのため治療応答性との相関が弱くなったものと考えられる。実際、項目数0の3名を除いて再度計算をすると、より強い有意差が認められた ( $P=0.0087$ ; 図1C)。今後さらなる症例の追加により、項目数0群を加えた場合でもIPIと治療応答性との相関は強くなると考えられる。

またデータには示さなかったが、IPIで低中危険群に分類された症例群においてもSOX4発現量は非応答群が応答群を有意に上回っていた。IPIは予後予測の臨床的指標であり、細胞レベルでの治療抵抗性を直接表すものではない。そのため、臨床的予後パラメーターであるIPIにさらにBCL2、Ki67などの生物学的マーカーを組み込んでいくことが今後のより正確な予後予測に必要と考えられる<sup>17</sup>。特にIPIが低い症例では、より鋭敏な生物学的予後パラメーターの導入が必要であり<sup>18</sup>、本研究で用いたSOX4もそのような生物学的マーカーのひとつとなりうると考えられる。

正常リンパ節のSOX4染色強度を評価した際、B細胞優位なリンパ濾胞内ではほぼ陰性であったものの、リンパ節全体では陽性細胞が散見され、平均強度1となった (図2B)。この点について、今回の正常リンパ節は胃癌手術にリンパ廓清された際に腫瘍細胞陰性であったものを使用した。よって担癌状態に伴うTリンパ球の活性化が生じ<sup>19</sup>、SOX4陽性所見として観察されたものと考えられる<sup>9</sup>。一方、DLBCL生検リンパ節では腫瘍細胞でのSOX4染色が評価の対象となり、相対的に正常細胞の寄与は小さくなる。そのためDLBCL症例が正常リンパ節

よりも染色強度低値となることもあり得る。

本研究から、SOX4発現量がR-CHOP治療応答性と負に相関することが明らかとなった。さらに今回の結果では、免疫染色によるタンパク質発現量での比較の方が定量的PCRによるmRNA発現量の比較よりも鋭敏であった (図2および図3)。本来mRNA定量は免疫染色での評価よりも客観的であると考えられるが、mRNAの場合は正常細胞由来mRNAも混入してくるため (図3)、SOX4発現量の差はその分縮まった可能性がある。この問題を解決するためには、レーザーマイクロディセクション法による腫瘍細胞のみからのRNA抽出が考えられる。しかしながら、日常的な組織診断の場合、半定量的ではあるが、手技が容易で感度も高いSOX4の免疫染色の方が有用性は高いと考えられる。さらに、mRNAの翻訳後制御によりmRNA量がタンパク量を反映していない可能性も考慮する必要がある。

本研究に関する今後の展望としては、症例数を増やして個々のDLBCLサブタイプでのSOX4発現の有無や臨床的意義の解明が必要と考えられる。またDLBCLでのSOX4発現の誘導メカニズムや化学療法抵抗性も含めたSOX4発現のDLBCLでの生物学的役割の解明も今後の課題である。

## 文 献

1. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH (2014) Diffuse large B-cell lymphoma-treatment approaches in the molecular era. *Nat Rev Clin Oncol*. 11: 12-23
2. Lossos IS (2005) Molecular pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 23: 6351-6357
3. Alizadeh AA, *et al.* (2000) Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 403: 503-511
4. Rosenwald A, *et al.* (2002) The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 346: 1937-1947
5. Coiffier B, *et al.* (2002) CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 346: 235-242
6. Feugier P, *et al.* (2005) Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol*. 23: 4117-4126
7. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project (1993) A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 329: 987-994
8. Farr CJ, *et al.* (1993) Characterization and mapping of the human SOX4 gene. *Mamm Genome*. 4: 577-584

9. Kuo CT, Leiden JM (1999) Transcriptional regulation of T lymphocyte development and function. *Annu Rev Immunol.* 17 : 149-187
10. Busslinger M (2004) Transcriptional control of early B cell development. *Annu Rev Immunol.* 22 : 55-79
11. Vervoort SJ, van Boxtel R, Coffier PJ (2013) The role of SRY-related HMG box transcription factor 4 (SOX4) in tumorigenesis and metastasis: friend or foe? *Oncogene.* 32 : 3397-409
12. Higuchi T, Nakayama T, Arao T, Nishio K, Yoshie O (2013) SOX4 is a direct target gene of FRA-2 and induces expression of HDAC8 in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood.* 121 : 3640-3649
13. Sun B, *et al.* (2013) Sox4 is required for the survival of pro-B cells. *J Immunol.* 190 : 2080-2089
14. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M (1971) Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res.* 31 : 1860-1861
15. Cheson BD, *et al.* (1999) Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol.* 17 : 1244
16. Rimsza LM, *et al.* (2008) Gene expression predicts overall survival in paraffin-embedded tissues of diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood.* 112 : 3425-3433
17. Huang X, *et al.* (2013) Activation of the STAT3 signaling pathway is associated with poor survival in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Clin Oncol.* 31 : 4520-4528
18. Perry AM, *et al.* (2012) A new biologic prognostic model based on immunohistochemistry predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 120 : 2290-2296
19. Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD (2006) Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat Rev Immunol.* 6 : 836-848