

平成 30 年 7 月 2 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19093

研究課題名(和文)末梢性T細胞性リンパ腫におけるPD-L1発現の臨床病理学的意義

研究課題名(英文)Clinicopathological significance of PD-L1 expression in peripheral T-cell lymphoma

研究代表者

三好 寛明(Miyoshi, Hiroaki)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：30647780

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) はリンパ系悪性腫瘍において腫瘍細胞と腫瘍に浸潤する非腫瘍細胞の両方に発現すると報告されている。adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL)におけるPD-L1発現の意義を検討するために免疫染色を行った。腫瘍細胞にPD-L1陽性のATLLはnPD-L1陰性群と比較してoverall survival (OS)が有意に不良であった。非腫瘍細胞にPD-L1陽性のATLLはPD-L1陰性群と比較して有意にOSが良好であった。ATLLにおいては腫瘍免疫の果たす役割は極めて重要であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) is expressed on both tumor cells and tumor-infiltrating nonmalignant cells in lymphoid malignancies. The PD-1/PD-L1 pathway suppresses host antitumor responses, although little is known about the significance of PD-1/PD-L1 expression in the tumor microenvironment. To investigate the clinicopathological impact of PD-L1 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma(ATLL), we performed PD-L1 immunostaining. Neoplastic PD-L1 (nPD-L1) positive ATLL had inferior overall survival(OS) compared to nPD-L1 negative ATLL. Among nPD-L1 negative ATLL, microenvironmental PD-L1(miPD-L1) positive ATLL showed superior OS compared to PD-L1 negative ATLL. The expression of nPD-L1 and miPD-L1 maintained prognostic value for OS in multivariate analysis.

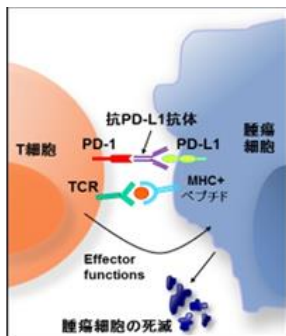
This is the significant report describing the clinicopathological features and outcomes of PD-L1 expression in ATLL.

研究分野：血液病理学

キーワード：悪性リンパ腫 PD-L1 腫瘍免疫 予後

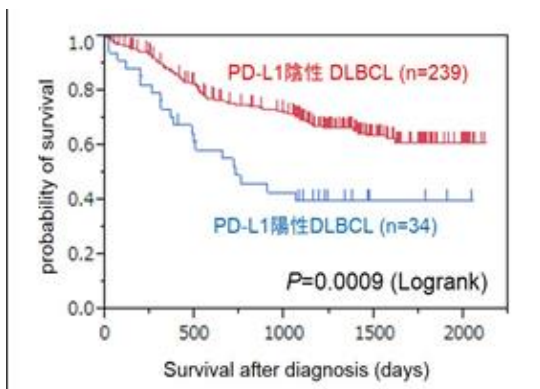
### 1. 研究開始当初の背景

Programmed cell death ligand-1 (PD-L1) は抗原提示細胞などに発現し、レセプターである活性化 T 細胞上に発現する PD-1 (programmed cell death-1) と結合する。PD-L1 が PD-1 に結合することにより免疫反応が抑制されることから、PD-L1 と PD-1 の結合は免疫監視機構の重要なチェックポイントと考えられている。



悪性腫瘍において、腫瘍細胞は PD-L1 を発現して T 細胞上の PD-1 と結合することにより自己免疫から逃れていると考えられており、この結合を阻害することが悪性腫瘍に対する有用な治療戦略につながると考えられている。固形癌においては悪性黒色腫などの難治性腫瘍で実際に抗 PD-L1 抗体療法に関する臨床試験が開始されている。

造血器腫瘍においても、ホジキンリンパ腫や縦隔原発 B 細胞性リンパ腫、加齢性 EB ウイルス関連 B 細胞性リンパ腫の他、ウイルス・免疫不全関連リンパ腫などの T 細胞免疫応答異常のある疾患の一部で腫瘍細胞に PD-L1 が発現していると報告されており、申請者らは DLBCL において腫瘍細胞が PD-L1 陽性であることが予後不良因子となることを報告した。一方で、腫瘍細胞に PD-L1 が発現している難治性ホジキンリンパ腫の症例に対して抗 PD-L1 抗体療法が有効であったという報告もなされている。



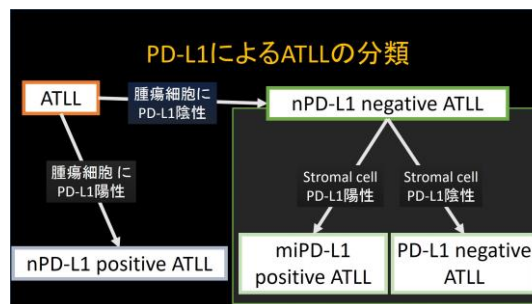
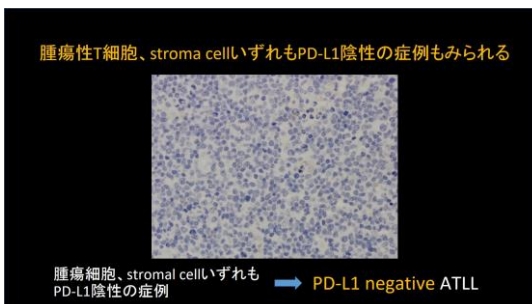
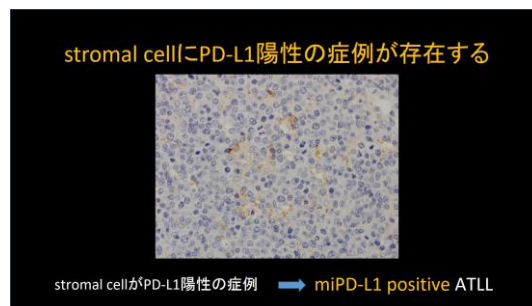
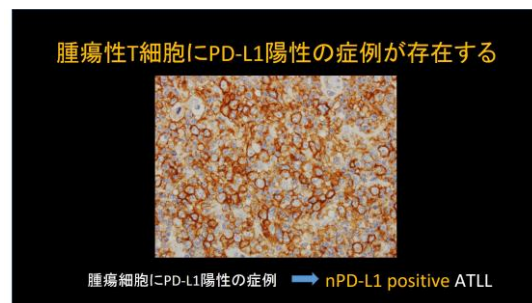
### 2. 研究の目的

PD-L1 はリンパ系悪性腫瘍において腫瘍細胞と腫瘍に浸潤する非腫瘍細胞の両方に発現すると報告されている。腫瘍周囲の微小環境における PD-1/PD-L1 発現の意義に関してはまだ不明な点も多いが PD-1/PD-L1 pathway は宿主の抗腫瘍免疫を抑制すると考えられている。今回、adult T-cell leukemia/

lymphoma (ATLL) における PD-L1 発現の意義を検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

ATLL における PD-L1 発現の意義を検討するために 135 例の生検検体に対して免疫染色を行った。腫瘍細胞に PD-L1 陽性の症例を neoplastic PD-1 (nPD-L1) 陽性 ATLL、腫瘍細胞に PD-L1 陰性の症例を nPD-L1 陰性 ATLL と定義し、nPD-L1 陰性 ATLL のうち、腫瘍周囲の非腫瘍細胞に PD-L1 陽性の症例を microenvironmental PD-L1 (miPD-L1) 陽性 ATLL、いずれも PD-L1 陰性の症例を PD-L1 陰性 ATLL とした。

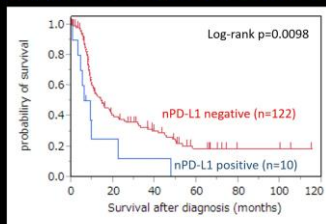


#### 4. 研究成果

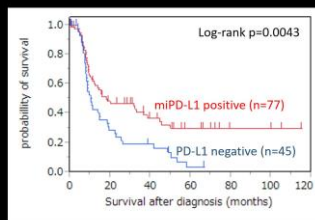
ATLL の症例のうち、7.4%が nPD-L1 陽性 ATLL、92.6% が nPD-L1 陰性 ATLL であり、nPD-L1 陰性 ATLL のうち、58.5%が miPD-L1 陽性 ATLL、34.1%が PD-L1 陰性 ATLL であった。

nPD-L1 陽性 ATLL は nPD-L1 陰性 ATLL と比較して overall survival (OS)が有意に不良であった (P = 0.0098)。nPD-L1 陰性 ATLL において miPD-L1 陽性 ATLL は PD-L1 陰性 ATLL と比較して有意に OS が良好であった (P = 0.0043)。

nPD-L1(+)はnPD-L1(-)と比較して予後不良



miPD-L1(+)はPD-L1(-)と比較して予後良好



また、多変量解析により nPD-L1 陽性と miPD-L1 陽性はそれぞれ独立した予後不良因子、予後良好因子となった (P = 0.034, P = 0.002)。

nPD-L1(+)は独立した予後因子である

Characteristic	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR [95% CI]	P	HR [95% CI]	P
nPD-L1, positive (vs nPD-L1 negative)	2.417 [1.126-4.570]	.026	2.346 [1.072-4.571]	.034
JCOG-PI, high (vs low)	1.736 [1.123-2.647]	.014		
Age, >70 (vs ≤ 70)	1.612 [1.038-2.461]	.034		
Stage, III/IV (vs I/II)	1.821 [1.013-3.620]	.045		
Elevated LDH level	0.961 [0.639-1.455]	.851		

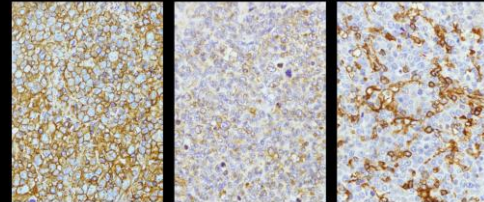
miPD-L1(+)は独立した予後因子である

Characteristic	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR [95% CI]	P	HR [95% CI]	P
miPD-L1, positive (vs PD-L1 negative)	0.539 [0.351-0.833]	.0056	0.494 [0.317-0.770]	.002
JCOG-PI, high (vs low)	1.736 [1.123-2.647]	.014		
Age, >70 (vs ≤ 70)	1.612 [1.038-2.461]	.034		
Stage, III/IV (vs I/II)	1.821 [1.013-3.620]	.045		
Elevated LDH level	0.961 [0.639-1.455]	.851		

さらに、腫瘍免疫に重要であると考えられる HLA および β2M の発現に関する追加検討を行った。

HLA の免疫を行ったところ細胞膜に陽性となる症例 (HLA<sup>m+</sup>)、細胞質に陽性となる症例 (HLA<sup>cy+</sup>)、いずれも陰性となる症例がみられた。

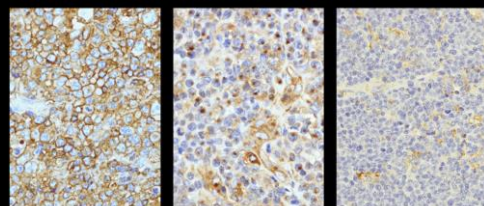
HLAは細胞膜、細胞質に陽性となる症例がある



細胞膜陽性⇒HLA<sup>m+</sup> 細胞質陽性⇒HLA<sup>cy+</sup> 陰性

また、β2M の免疫を行ったところ細胞膜に陽性となる症例 (β2M<sup>m+</sup>)、細胞質に陽性となる症例 (β2M<sup>cy+</sup>)、いずれも陰性となる症例がみられた。

β2Mは細胞膜、細胞質に陽性となる症例がある



細胞膜陽性⇒β2M<sup>m+</sup> 細胞質陽性⇒β2M<sup>cy+</sup> 陰性

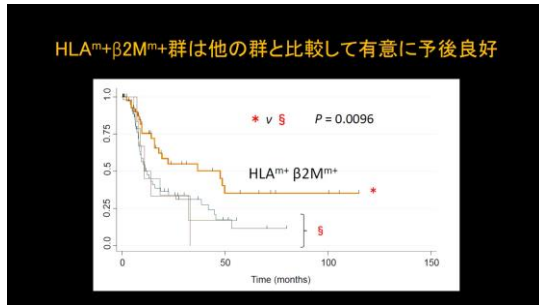
これらの症例のうち、HLA および β2M の両者がともに細胞膜に発現していることが腫瘍免疫においては最も重要であると考えられたため、HLA<sup>m+</sup>かつ β2M<sup>m+</sup>の症例 (39%) に着目して解析を進めた。

HLA<sup>m+</sup>かつ β2M<sup>m+</sup>の症例は間質の PD-L1 陽性細胞数が多い傾向がみられた。

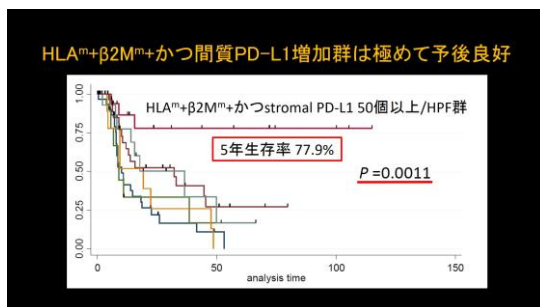
HLA<sup>m+</sup> β2M<sup>m+</sup>群はPD-L1陽性間質細胞の数が  
多い傾向がある

Characteristics	HLA <sup>m+</sup> β2M <sup>m+</sup> (n=48)		Others (n=75)		P
	No.	%	No.	%	
PD-L1(+) stromal cell (個/HPF)					0.008
10未満	12	26	33	45	
10-50	17	36	30	40	
50以上	18	38	11	15	

HLA<sup>m+</sup>かつβ2M<sup>m+</sup>の症例は他の症例と比較すると有意に予後が良好であった。



さらに、HLA<sup>m+</sup>かつβ2M<sup>m+</sup>で間質のPD-L1陽性細胞が多い症例では極めて予後良好な結果が得られ、5年生存率が77.9%であるという結果が得られた。



これらの結果により ATLL においては腫瘍免疫の果たす役割は極めて重要だと考えられ、ATLLの病態進展の解明および治療戦略の拡充を目指し今後のさらなる検討が期待される。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- 1) Kawamoto K, Miyoshi H, Suzuki T, Sasaki Y, Yamada K, Yanagida E, Muto R, Kiryu M, Sone H, Seto M, Ohshima K, Takizawa J. Frequent expression of CD30 in extranodal NK/T-cell lymphoma: Potential therapeutic target for anti-CD30 antibody-based therapy. *Hematol Oncol.* 2018;36:166-173. 査読あり
- 2) Asano N, Miyoshi H, Kato T, Shimono J, Yoshida N, Kurita D, Sasaki Y, Kawamoto K, Ohshima K, Seto M. Expression pattern of immunosurveillance-related antigen in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Histopathology.* 2018;72(6):945-954. 査読あり
- 3) Miyoshi H, Ohshima K. Epidemiology of malignant lymphoma and recent progress in research on adult T-cell leukemia/lymphoma in Japan. *Int J*

*Hematol.* 2018;107:420-427. 査読あり

- 4) Kawamoto K, Miyoshi H, Suzuki T, Kiyasu J, Yokoyama S, Sasaki Y, Sone H, Seto M, Takizawa J, and Ohshima K. "Expression of programmed death ligand 1 is associated with poor prognosis in myeloid sarcoma patients. *Hematol Oncol.* 2018 Mar 30. [Epub ahead of print] 査読あり
- 5) Kawamoto K, Miyoshi H, Suzuki T, Kozai Y, Kato K, Miyahara M, Yujiri T, Choi I, Fujimaki K, Muta T, Kume M, Moriguchi S, Tamura S, Kato T, Tagawa H, Makiyama J, Kanisawa Y, Sasaki Y, Kurita D, Yamada K, Shimono J, Sone H, Takizawa J, Seto M, Kimura H, Ohshima K. A distinct subtype of Epstein Barr virus positive T/NK-cell lymphoproliferative disorder: Adult patients with chronic active Epstein Barr virus infection-like features. *Haematologica.* 2017 Dec. [Epub ahead of print] 査読あり
- 6) Kawamoto K, Miyoshi H, Yanagida E, Yoshida N, Kiyasu J, Kozai Y, Morikita T, Kato T, Suzushima H, Tamura S, Muta T, Kato K, Eto T, Seki R, Nagafuji K, Sone H, Takizawa J, Seto M, Ohshima K. Comparison of clinicopathological characteristics between T-cell prolymphocytic leukemia and peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. *Eur J Haematol.* 2017;98:459-466. 査読あり
- 7) Kato T, Miyoshi H, Kobayashi S, Yoshida N, Imaizumi Y, Seto M, Uchimaru K, Miyazaki Y, Ohshima K. Clinicopathological analysis in PTCL-NOS with CADM1 expression. *Virchows Arch.* 2017;471:659-666. 査読あり
- 8) Miyoshi H, Kiyasu J, Kato T, Yoshida N, Shimono J, Yokoyama S, Taniguchi H, Sasaki Y, Kurita D, Kawamoto K, Kato K, Imaizumi, Y, Seto M, Ohshima K. PD-L1 expression on neoplastic or stromal cells is respectively a poor or good prognostic factor for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood.* 2016;128(10):1374-81. 査読あり

[学会発表] (計 5 件)

- 1) Miyoshi H. Investigation of biomarkers for neoplastic disease including malignant lymphoma. 第76回日本癌学会総会 2017.9.28 横浜.
- 2) Miyoshi H, Kiyasu J, Kato T, Yoshida N, Shimono J, Yokoyama S, Taniguchi H, Sasaki Y, Kurita D, Kawamoto K, Kato K, Imaizumi Y, Seto M, Ohshima K. PD-L1



Expression on Neoplastic or Stromal Cell is Respectively Poor or Good Prognostic Factor for Adult T-cell Leukemia/ lymphoma. 18th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. 2017.5.7 Tokyo.

- 3) Miyoshi H. Investigation of biomarkers for neoplastic disease including malignant lymphoma. 第 106 回日本病理学会総会 2017. 4. 28 東京.
- 4) Miyoshi H, Kiyasu J, Kato T, Yoshida N, Shimono J, Yokoyama S, Taniguchi H, Sasaki Y, Kurita D, Kawamoto K, Kato K, Imaizumi Y, Seto M, Ohshima K. PD-L1 Expression on Neoplastic or Stromal Cell is Respectively T-cell Leukemia/ lymphoma. 9th Annual T-Cell Lymphoma Forum 2017. 1. 27 San Francisco, CA.
- 5) 三好寛明、喜安純一、加藤丈晴、吉田稚明、下埜城嗣、横山新太郎、谷口広明、加藤光次、今泉芳孝、瀬戸加大、大島孝一. Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL)における PD-L1 発現に関する臨床病理学的検討 第 3 回日本 HTLV-1 学会 2016. 8. 24 鹿児島.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三好 寛明 (Miyoshi, Hiroaki)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：30647780