

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：33920

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15104

研究課題名（和文）血管免疫芽球性T細胞リンパ腫の発生機構および臨床病理学的特徴の解明

研究課題名（英文）Clinicopathological analysis of angioimmunoblastic T-cell lymphoma

研究代表者

佐藤 啓 (Satou, Akira)

愛知医科大学・医学部・助教

研究者番号：40732699

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：血管免疫芽球性T細胞リンパ腫（AITL）は濾胞ヘルパーT細胞由来の成熟T細胞腫瘍であり、予後不良な疾患である。AITLのうち60歳以下に発生する若年性AITLでは背景にEpstein-Barr virus (EBV) 陽性細胞を有する症例の方が有意に予後良好であることを見出し、予後予測に有用であることを明らかにした。またメトトレキサート（MTX）使用中の患者に発生するAITL（MTX-AITL）では、MTX中止による自然退縮が約7割の症例で見られることを明らかにし、MTX-AITLの微小環境中に存在するplasmacytoid dendritic cellが自然退縮に関わっている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

若年性AITLにおいて微小環境中のEBV陽性細胞の多寡が予後予測に有用であることを明らかにした。これにより予後不良と予測される症例では骨髄移植を考慮に入れて治療計画を立てるといった様に、治療選択の指標となることが期待される。

MTX-AITLではMTX中止による自然退縮が約7割で認めることから、通常のAITLの様に化学療法を治療の第一選択とするのではなく、MTX中止をまず試すべきであることが分かった。このことは必要でない化学療法を避けることにつながり、患者は化学療法による副作用を回避できる。結果として、患者の肉体的、精神的苦痛の軽減に寄与すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL) is an aggressive lymphoma derived from follicular helper T cells. Epstein-Barr virus (EBV)-positive B cells have been detected in majority of patients with AITL. We evaluated the impact of EBV on the clinicopathological characteristics of AITL. We revealed that, among the younger group of AITL (<60 years old), EBV-positive status significantly improved prognosis compared to an EBV-negative status. We also performed clinicopathological study of AITL arising in patients treated with methotrexate (MTX-AITL). The study revealed that approximately 70% of patients with MTX-AITL presented with spontaneous regression (SR) after the cessation of MTX. We further compared the microenvironment features of MTX-AITL and normal AITL by using nCounter system, and found that microenvironment of MTX-AITL is rich with plasmacytoid dendritic cells. This result suggests that plasmacytoid dendritic cells might be a key factor of SR after the MTX cessation.

研究分野：人体病理学

キーワード：血管免疫芽球性T細胞リンパ腫 Epstein-Barr virus メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫 (AITL) は濾胞ヘルパー T 細胞 (T_{fh}) 由来の成熟 T 細胞腫瘍である。AITL はリンパ節腫脹に加え、肝脾腫、胸腹水、皮疹、関節痛、浮腫、発熱、自己免疫性溶血性貧血、多クローン性高グロブリン血症などの多彩な臨床症状、所見が見られる。また AITL は高皮内細静脈の増生、濾胞樹状細胞の増殖、淡明細胞の増殖、Epstein-Barr virus (EBV) 再活性化などの特徴的な病理組織像を呈している。これまで標準的な治療は確立されておらず、通常は CHOP 療法など多剤併用化学療法が行われるが、予後不良な疾患である。近年、次世代シーケンサー等を用いた解析により、AITL の遺伝子変異 (*TET2*, *RHOA*, *DNMT3A* 変異等) が明らかになり、それによる多段階発がんモデルが提唱されている。¹すなわち、造血幹細胞/前駆細胞が *TET2*, *DNMT3A* 変異を獲得することで、エピゲノム調節因子に異常が起き、前がん細胞となり、さらには G17V *RHOA* 変異が加わることにより腫瘍を発症するというモデルである。しかしながら、これらの遺伝子変異を獲得していく過程で、その臨床病理学的特徴がどの様に変遷していくかは未だ明らかにされていない。

これまで、AITL の臨床病理学的特徴と分子生物学的特徴との間にどのような相関関係があるかに着目した研究は殆ど行われていない。従って、AITL の遺伝子変異と臨床像、病理像にどのような相関があるかを明らかにすることを通して、AITL の発生機構の理解が深まることが期待された。発生機構を明らかにすることは AITL の診断、病態把握、治療戦略において不可欠なものとなり、診療体系のブレークスルーをもたらすものと期待された。

2. 研究の目的

本研究では AITL の発生過程で獲得される *TET2*, *RHOA*, *DNMT3A* 変異がどの様に臨床的特徴、病理学的特徴に影響を与えるか明らかにすることを当初の目的とした。そして AITL において *TET2*, *RHOA*, *DNMT3A* 変異の有無に基づいた臨床病理学的解析を大規模症例で行い、その臨床病理学的特徴の違いを明らかにすることを明らかにしたいと考えた。

AITL は基本的に高齢者に発生する腫瘍であるが、少なからず若年者 (60 歳以下) でも見られる疾患である。しかしながら若年者の AITL の特徴はまだ明らかにされていない。上記の大規模症例を用いた臨床病理学的解析を行う過程で若年者 AITL の臨床病理学的特徴も明らかにしたい。

またメトトレキサート (MTX) 使用中に発生するリンパ増殖性疾患 (MTX-LPD) の中で AITL の組織像を呈するもの (MTX-AITL) がある。本研究では MTX-AITL の臨床病理学的解析を通常の AITL をコントロールとして行い、MTX-AITL の臨床病理学的特徴を明らかにしたい。また MTX-AITL では MTX 中止により自然退縮を認める症例があるが、そのメカニズムを明らかにすべく MTX-AITL の微小環境の特徴を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究のために集積した AITL 症例を後方視的に解析した。全部で 270 例のコホートとなった。それぞれの症例の年齢、性別、臨床病期 (Ann Arbor stage)、B 症状の有無、詳細な浸潤部位、治療法、治療反応性、予後、自己免疫疾患の有無などの臨床情報ならびに EBV 陽性細胞の数、*RHOA* 変異の有無、TCR 遺伝子再構成の有無を調べた。

集積した AITL 症例を若年群 (60 歳以下) と高齢群 (61 歳以上) に分けたうえで、若年群において病変の主座、病変の分布、EBV 陽性細胞の数、*RHOA* 変異の有無などのパラメーターが、臨床病態や治療成績、予後とどのように関連しているか統計学的に解析した。

MTX-AITL 症例も後方視的に集積し、上記で調べた臨床情報ならびに EBV 陽性細胞の数、TCR 遺伝子再構成の有無を調べた。その上で MTX-AITL の臨床病理学的特徴について詳述した。また MTX-AITL と通常の AITL について、上記で挙げたような臨床病理学的特徴について比較検討した。更に MTX-AITL でみられる特徴的な現象である、MTX 中止による自然退縮のメカニズムを明らかにするために、MTX-AITL のうち MTX 中止のみで寛解した症例について、通常の AITL 症例をコントロールとして、微小環境について解析を行った。具体的には PanCancer Immune Profiling for Human 遺伝子発現パネルを用いて免疫環境関連 mRNA の発現プロファイルをデジタルカウンティング遺伝子発現解析 (nCounter [NanoString Technologies 社]) にて比較検討した。

4. 研究成果

(1) 本研究で集積した 270 例のうち 191 例 (71%) で EBV 陽性細胞を微小環境中に認めた。症例を年齢で区切らずに、EBV 陽性群と陰性群に分け、両者に臨床病理学的特徴に違いがないか検討した。その結果、EBV 陽性群は陰性群に比べ有意に 61 歳以上の患者の割合 ($P=0.011$)、IgG 血清値 ($P=0.038$) が有意に高かった。両者の全生存期間 (OS) および無増悪生存期間 (PFS) を比べたが、有意な差は見られなかった。次に若年群 ($n=53$) を EBV 陽性群と陰性群に分け、両者に臨床病理学的特徴に違いがないか検討した。その結果、EBV 陰性群は陽性群に比べ、有意に PFS が不良であった ($P=0.0013$, 図 1A)。また若年群を EBV 陽性細胞数によって 4 群に分け PFS を比較したところ、EBV 陽性細胞数が少ない群ほど予後不良であることが分かった ($P=0.0024$, 図 1B)。さらに単変量解析の結果、若年群では EBV 陰性 ($P=0.002$) 以外にも血小板減少 ($P=0.002$)、IgA 高値 ($P=0.051$) が予後不良因子であることが明らかになり、多変量解析でもこれらは有意な予後不良因子であることが判明した。この結果をもとに、我々は AITL 若年群における予後予測モデルを構築した。若年群を Low risk 群 (予後不良因子数 0 もしくは 1) と High risk 群 (予後不良因子数

2 もしくは 3)に分けて比較したところ、OS、PFS 共に High risk 群の方が有意に不良であった (図 2A および 2B)。

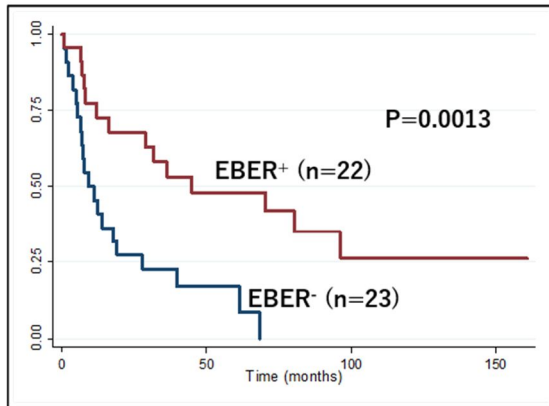


図1A 若年群におけるEBV陽性群、陰性群のPFS

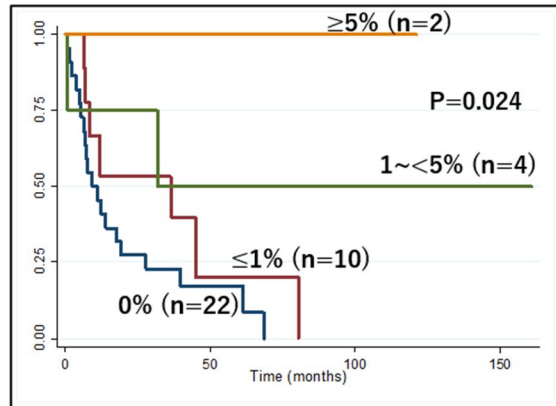


図1B 若年群におけるEBV陽性数に基づいたPFS

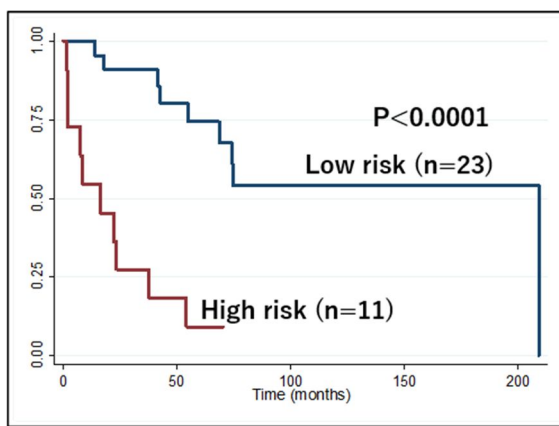


図2A 若年群における新予後予測モデルに基づいたOS

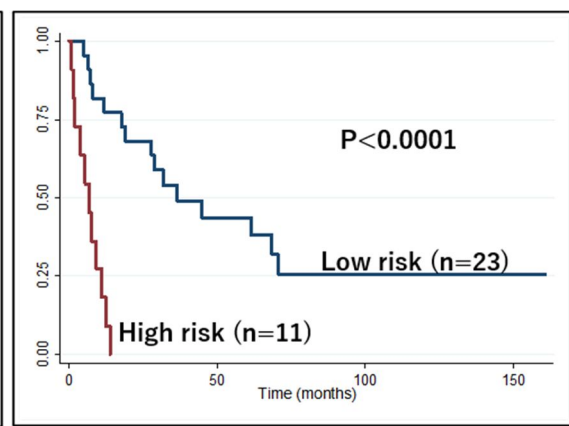


図2B 若年群における新予後予測モデルに基づいたPFS

(2)AITL の若年群において EBV 陽性群の 13 例および EBV 陰性群の 10 例において *RHOA* 変異の有無を検索した。その結果、前者では 8 例(62%)、後者では 7 例(70%) *RHOA* 変異を認め、両者の頻度に有意な差は認めなかった。また若年群全体では 65%(15/23)に *RHOA* 変異を認め、この値は一般的な AITL における *RHOA* 変異の頻度と大差がなかった。

(3)MTX-AITL の臨床病理学的解析を行うために、MTX-AITL を含む MTX 関連 T 細胞性リンパ増殖性疾患(MTX T-LPD)28 例を集積した。28 例のうち、19 例が AITL、6 例が末梢性 T 細胞リンパ腫、非特異型、3 例が CD8⁺ 細胞傷害性 T 細胞リンパ腫(CD8⁺ CTL)の組織像を呈していた。28 例のうち 26 例で診断後すぐに MTX 使用が中止され、特筆すべきことにそのうち 20 例(77%)では自然消退が見られた。MTX T-LPD の中で、腫瘍細胞が EBV 陽性を示したのは CD8⁺ CTL の一例だけであった。MTX-LPD の中で、頻度の高い MTX 関連 B 細胞性 LPD(MTX B-LPD)と MTX T-LPD の比較を行ったところ、MTX T-LPD は MTX B-LPD に比べ疾患特異的生存期間(DSS)および PFS 共に不良であ

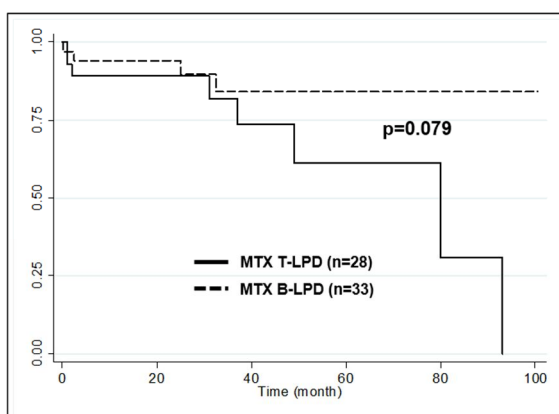


図3A MTX T-LPDはMTX B-LPDに比べDSSが不良である傾向を示した

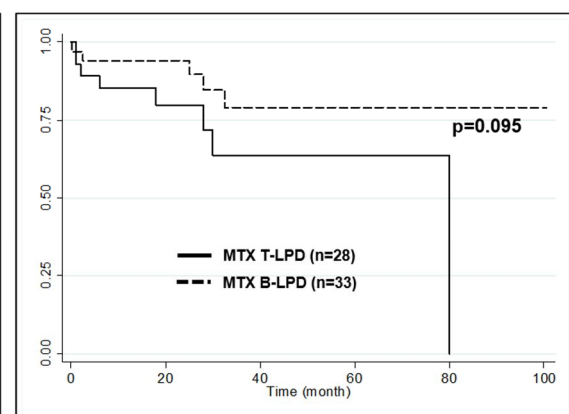


図3B MTX T-LPDはMTX B-LPDに比べPFSが不良である傾向を示した

る傾向を示した（図 3A および B）。MTX-AITL のみに着目すると、19 例のうち 17 例で診断後に MTX が中止され、そのうち 12 例で自然退縮が見られた。自然退縮を認めた 12 例のうち 3 例では再発・増悪が見られたが、9 例では再発・増悪はなく追加治療を必要としなかった。更に MTX-AITL と通常 AITL の臨床病理学的特徴を比較したところ、MTX-AITL は有意に年齢分布が高かった。両者の OS と PFS を比較したところ、有意差は認めなかったが、MTX-AITL の方が通常 AITL よりも予後良好である傾向を示した。

(4) MTX 中止による自然退縮のメカニズムを明らかにするために、MTX-AITL のうち MTX 中止のみで寛解した 6 症例について、通常 AITL 6 症例をコントロールとして微小環境について解析を行った。解析は PanCancer Immune Profiling for Human 遺伝子発現パネルを用いて免疫環境関連 mRNA の発現プロファイルを nCounter [NanoString Technologies 社]にて比較検討した。MTX-AITL において発現レベルが通常 AITL と比べ有意に高かった遺伝子は下記表 1 に挙げたものである。これらの遺伝子のうち、最も発現レベルが高くなっていた *CLEC4C* および *LILRA4* は形質細胞様樹状細胞 (pDC) に発現している蛋白質をコードする遺伝子である。このことから MTX-AITL の微小環境では通常 AITL に比べ、pDC が豊富に存在し、自然退縮に関わっている可能性が示唆された。

Gene Name	Fold change
CLEC4C	5.521898
LILRA4	4.437644
CD1C	3.266196
FCER1A	2.671132
CD34	2.624273
CEACAM1	2.356955
CFD	2.326757
CCR6	2.259387
C6	2.059696
PPARG	2.038092

表 1 MTX-AITL で有意に発現レベルが上昇していた遺伝子

< 引用文献 >

1. Mamiko Sakata-Yanagimoto et al. Nat Genet. 2014 Feb;46(2):171-5

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Eladl Ahmed E., Shimada Kazuyuki, Suzuki Yuka, Takahara Taishi, Kato Seiichi, Kohno Kei, Elsayed Ahmed Ali, Wu Chun Chieh, Tokunaga Takashi, Kinoshita Tomohiro, Sakata Yanagimoto Mamiko, Nakamura Shigeo, Satou Akira	4. 巻 9
2. 論文標題 EBV status has prognostic implication among young patients with angioimmunoblastic T cell lymphoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 678 ~ 688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.2742	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Satou Akira, Tsuzuki Toyonori, Nakamura Shigeo	4. 巻 59
2. 論文標題 Other Iatrogenic Immunodeficiency-Associated Lymphoproliferative Disorders with a T- or NK-cell phenotype	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical and Experimental Hematopathology	6. 最初と最後の頁 56 ~ 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3960/jslrt.19013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Satou A, Tabata T, Miyoshi H, Kohno K, Suzuki Y, Yamashita D, Shimada K, Kawasaki T, Sato Y, Yoshino T, Ohshima K, Takahara T, Tsuzuki T, Nakamura S	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders of T-cell phenotype: clinicopathological analysis of 28 cases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Modern Pathology	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41379-019-0264-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Satou A, Banno S, Hanamura I, Takahashi E, Takahara T, Nobata H, Katsuno T, Takami A, Ito Y, Ueda R, Nakamura S, Tsuzuki T	4. 巻 69(1)
2. 論文標題 EBV-positive mucocutaneous ulcer arising in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate: Single center series of nine cases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 21-28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12745	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morichika Kazuho, Karube Kennosuke, Sakihama Shugo, Watanabe Risa, Kawaki Mamoru, Nishi Yukiko, Nakachi Sawako, Okamoto Shiki, Takahara Taishi, Satou Akira, Shimada Satoko, Shimada Kazuyuki, Tsuzuki Toyonori, Fukushima Takuya, Morishima Satoko, Masuzaki Hiroaki	4. 巻 45
2. 論文標題 The Positivity of Phosphorylated STAT3 Is a Novel Marker for Favorable Prognosis in Germinal Center B-Cell Type of Diffuse Large B-Cell Lymphoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 832 ~ 840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001691	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Satou Akira, Tabata Tetsuya, Suzuki Yuka, Sato Yasuharu, Tahara Ippei, Mochizuki Kunio, Oishi Naoki, Takahara Taishi, Yoshino Tadashi, Tsuzuki Toyonori, Nakamura Shigeo	4. 巻 478
2. 論文標題 Nodal EBV-positive polymorphic B cell lymphoproliferative disorder with plasma cell differentiation: clinicopathological analysis of five cases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 969 ~ 976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-020-02967-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Akira Satou, Tetsuya Tabata, Hiroaki Miyoshi, Kei Kohno, Yasuharu Sato, Tadashi Yoshino, Koichi Ohshima, Taishi Takahara, Toyonori Tsuzuki, Shigeo Nakamura
2. 発表標題 Methotrexate-associated lymphoproliferative disorders of T-cell phenotype: clinicopathological analysis of 28 cases.
3. 学会等名 2019 Annual meeting of USCAP (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------