

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：26301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16586

研究課題名(和文)メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患の病態解明

研究課題名(英文)Pathophysiology of methotrexate-related lymphoproliferative disorders

研究代表者

祇園 由佳(Gion, Yuka)

愛媛県立医療技術大学・保健科学部・准教授

研究者番号：50832979

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)：本研究計画は3年計画で「MTX投与前後の末梢血液中のリンパ球サブセット変動」と「MTX-LPDにおけるPD-L1発現」の二つの研究テーマに取り組んだ。
「MTX投与前後の末梢血液中のリンパ球サブセット変動」については、現在も引き続き症例収集とデータ解析を行っており、学術論文の発表には至っていないが、第61回日本リンパ網内系学会総会にて発表を行った。
「MTX-LPDにおけるPD-L1発現」については、CHL-type MTX-LPDがMTX休薬後も自然消褪しにくい原因として、腫瘍細胞のPD-L1発現が関与している可能性を明らかにし、Cancer medicineにて論文発表に至った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MTX-LPDはDLBCL-typeとCHL-type、いずれかの組織像を示す症例が大部分を占める。約3割の患者ではMTX休薬のみで自然消褪することが知られているが、CHL-typeでは自然消褪せず、増悪・再燃を来す症例が多い。その原因として、我々はCHL-type MTX-LPDの腫瘍細胞PD-L1が関与していることを報告した。PD-L1が強発現している症例では、MTX休薬後も増悪・再燃を来しやすいことが示唆され、より慎重なフォローアップが必要であることを報告した。
この報告は、CHL-type MTX-LPD診断時の一助となり得るかもしれない。

研究成果の概要(英文)：This three-year research plan addressed two research topics: "Lymphocyte subset variation in peripheral blood before and after MTX administration" and "PD-L1 expression in MTX-LPD".

The case collection and data analysis of "Lymphocyte subset changes in peripheral blood before and after MTX administration" are still ongoing, and although we have not yet published a scientific paper, we made a presentation at the 61st Annual Meeting of the Japanese Society for Lymphoreticular Tissue Research.

Regarding "PD-L1 expression in MTX-LPD", we reported in the Scientific Journal (Cancer medicine) that PD-L1 expression in tumor cells may be related to one of the reasons why CHL-type MTX-LPD does not spontaneously remit after MTX discontinuation.

研究分野：病理

キーワード：リンパ増殖性疾患 悪性リンパ腫 PD-L1

1. 研究開始当初の背景

関節リウマチ治療には様々な抗リウマチ薬が使用されている。現在では、活動性の高い関節リウマチ患者に対してだけでなく、発症3か月以内の早期治療にも免疫抑制剤による治療が積極的に行われている。その中でも、メトトレキサート (MTX) は関節リウマチの第一選択薬として世界的にも広く使用されるようになった。しかし、近年、MTX 治療中に発症する MTX 関連リンパ増殖性疾患 (MTX-LPD) が大きな問題となっている。MTX-LPD は、WHO によるリンパ系腫瘍の組織分類では、「他の医原性免疫不全症関連増殖性疾患」の1つに分類され、関節リウマチ治療におけるガイドラインにおいても MTX の重篤な副作用の1つとしてあげられている。

MTX-LPD の臨床的な最大の特徴は、病理組織学的には悪性リンパ腫類似様の像を呈するにも関わらず、MTX の内服を中止するだけで病変が自然消褪する例が存在することである。その一方で、自然消褪せず、通常の悪性リンパ腫同様の化学療法が必要な例も存在し、病変が自然消褪するか否かは、その後の治療方針に著しく影響を及ぼす。しかし、MTX 休薬に対する病変反応の予測因子は未だ詳細は不明である。さらに、MTX-LPD については、海外よりも本邦からの報告が目立っており、発症要因や予後因子の同定が急務であると考えられる。この研究により、今後、MTX-LPD の病気の経過を前もって予測できるような因子を特定し、MTX-LPD 患者に対する、より適切な治療・診断の決定に寄与できると考えた。

2. 研究の目的

関節リウマチに対して MTX 治療を行う前と治療後の末梢血液中のリンパ球のサブセット変化の解析を行う。これにより、MTX の影響による体内の免疫変化を観察することが可能であり、MTX-LPD の発症機序の解明に近づけることを期待した。

さらに、末梢血中の解析だけでなく、MTX-LPD の組織病変部の分子病理学的解析を行うことにより、より詳細な研究結果が得られると考えている。本研究により MTX-LPD の予後因子を特定することが、最終的には診断への足掛かりとなり、より多くの患者に対して、適切な診断・治療を行うための指標を確立できると考えた。

3. 研究の方法

3-(1). フローサイトメトリーを用いた末梢血液中のサブセット解析

過去に MTX 治療を受けていない関節リウマチ患者を対象として、MTX 治療前と、MTX 治療を受け関節リウマチの状態が安定したとき (治療開始後およそ2~3か月後) の通常診療のための採血時に、2回増量採血を行った。そして、それらの末梢血中のリンパ球のサブセットの分布についてフローサイトメトリーを用いて解析し、細胞の種類や細胞数の変動を解析した。

3-(2). MTX-LPD 病変の病理組織における PD-L1 陽性細胞の検討

MTX-LPD と診断された症例から、DLBCL-type と CHL-type のみを抽出し、PD-L1 免疫染色を施行した。標本全体を観察し、腫瘍細胞中における PD-L1 陽性細胞数の割合によって、score 1~4 の四段階に分類した。免疫染色の結果と臨床データの比較検討を行った。

4. 研究成果

4-(1). フローサイトメトリーを用いた末梢血液中のサブセット解析

約 45 例の関節リウマチ患者から同意が得られ、検体を解析できた。また健常コントロールとして、基礎疾患の無い被験者からも研究参加への同意を得て採血を実施し、比較対象とした。フローサイトメトリー解析の結果、MTX 投与前の関節リウマチ患者では、末梢血液中の Treg 細胞の割合が有意に低下していることが明らかとなった。しかし、MTX 投与前後の比較では Treg の数や活性化には変化が認められなかった。さらに詳細に解析を実施するため、現在症例数を増やし引き続き解析を行っている。

この研究内容については、第 61 回日本リンパ網内系学会総会にて報告した。

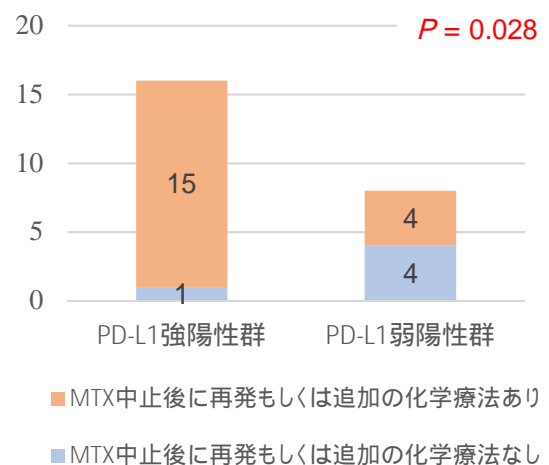
4-(2). MTX-LPD 病変の病理組織における PD-L1 陽性細胞の検討

合計 44 例の MTX-LPD 症例 (DLBCL-type 20 例、CHL-type 24 例) で PD-L1 染色を行った。その結果、DLBCL-type では PD-L1 陽性例が 1 例 (5.0%) だったのに対し、CHL-type では 66.7% の症例が腫瘍細胞の 50% 以上で PD-L1 を発現していた (表)。PD-L1 高発現の CHL-type MTX-LPD 患者の多くは、MTX 中止後の増悪または再発のため化学療法を必要とした (図)。しかし、診断時の臨床病理学的所見は、PD-L1 高発現と低発現 CHL-type MTX-LPD の間で有意差は認められなかった。

今回の解析により、PD-L1 発現レベルは CHL-type MTX-LPD 患者において DLBCL-type 患者よりも有意に高く、CHL-type MTX-LPD 患者が完全寛解を達成するには MTX 中止に加えて化学療法が必要であることが示唆された。PD-L1 発現レベルと診断時の臨床所見との間に関連性は認められないが、腫瘍細胞における PD-L1 発現が CHL-type MTX-LPD の MTX 中止後の病態に影響を及ぼすことが示唆され、PD-L1 強発現する症例ではより慎重な経過観察が必要である。

score	腫瘍細胞の PD-L1 陽性率	症例数 (%)
4	76-100 %	10 (41.7)
3	51-75 %	6 (25.0)
2	26-50 %	1 (4.2)
1	0-25 %	7 (29.1)

表：CHL-type MTX-LPD における PD-L1 陽性率



図：CHL-type MTX-LPD における PD-L1 発現率と MTX 休薬効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ikeda Tomoka, Gion Yuka, Sakamoto Misa, Tachibana Tomoyasu, Nishikori Asami, Nishimura Midori, Filiz, Yoshino Tadashi, Sato Yasuharu	4. 巻 33
2. 論文標題 Clinicopathological analysis of 34 Japanese patients with EBV-positive mucocutaneous ulcer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Pathology	6. 最初と最後の頁 2437 ~ 2448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41379-020-0599-8	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 Ikeda Tomoka, Gion Yuka, Yoshino Tadashi, Sato Yasuharu	4. 巻 59
2. 論文標題 A review of EBV-positive mucocutaneous ulcers focusing on clinical and pathological aspects	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical and Experimental Hematopathology	6. 最初と最後の頁 64 ~ 71
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3960/jslirt.18039	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 Gion Yuka, Doi Misato, Nishimura Yoshito, Ikeda Tomoka, Filiz Nishimura Midori, Sakamoto Misa, Egusa Yuria, Nishikori Asami, Fujita Azusa, Iwaki Noriko, Nakamura Naoya, Yoshino Tadashi, Sato Yasuharu	4. 巻 11
2. 論文標題 PD L1 expression is associated with the spontaneous regression of patients with methotrexate associated lymphoproliferative disorders	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 417 ~ 432
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.4462	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 祇園由佳, 吉野 正, 佐藤康晴
2. 発表標題 メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患 Classic Hodgkin lymphoma typeの臨床病理学的解析
3. 学会等名 第60回 日本リンパ網内系学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 横山あき, 内山孝由, 祇園由佳, 佐藤康晴, 小山芳伸, 青木定夫
2. 発表標題 関節リウマチ (RA) 患者における制御性T細胞の解析
3. 学会等名 第61回 日本リンパ網内系学会総会
4. 発表年 2021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