

主 論 文

Copy Number Analysis of 9p24.1 in Classic Hodgkin Lymphoma Arising in Immune Deficiency/Dysregulation

[緒言]

免疫抑制薬を使用した関節リウマチ患者(RA)の一部に免疫異常を背景としたリンパ増殖異常症(LPD)が発症することが知られており、WHO第5版で免疫不全/調節異常に起因するリンパ増殖症とリンパ腫(IDD-LPDs)として分類されている。それらは病理組織学的特徴に基づき分類されており、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫(DLBCL-IDD)は一般的に再発せず自然治癒する。一方、免疫不全/調節異常に起因する古典的ホジキンリンパ腫(CHL-IDD)の多くは自然治癒せず化学療法を必要とし、再発もしやすいことが知られている。

現在、免疫不全/調節異常を背景としない *de novo* CHLではほぼ全例の腫瘍細胞(Hodgkin Reed-Sternberg細胞; HRS細胞)にPD-L1をコードするCD274を含む9p24.1領域の増幅や再構成を含む異常が明らかになっている。この異常に伴い、*de novo* CHLでは腫瘍細胞においてPD-L1蛋白の高発現がもたらされ、腫瘍微小環境における分子病態の基盤の一旦を形成し、免疫チェックポイント阻害剤を使用する根拠となっている。同様に、CHL-IDD患者もほぼ全例がPD-L1蛋白の高発現を示すことが報告されており、発現の高さは化学療法開始までの期間の短さと関連していることが報告されている[1]。

また *de novo* CHLにおいて9p24.1のamplificationを有する患者はcopy gainやpolysomyなどの他のゲノム異常を有する患者よりも、無増悪生存期間(PFS)が有意に短いことが報告されている[2]。

本研究では、いまだに未解明の部分の多いCHL-IDDにおける9p24.1領域のcopy number alterations (CNAs)、PD-L1蛋白発現、および遺伝子変化と臨床病理学的特徴を解析した。

[材料(対象、患者)と方法]

・ 対象

CHL-IDD患者27人を対象とした。

・ 方法

パラフィンブロックから3 μmで薄切した未染標本を作製した。未染標本からHE染色および免疫組織化学染色、FICTIONによる解析を行った。HRS細胞におけるPD-L1蛋白の陽性率は既報[1]に従い4群に分類し、発現強度は既報[2]に従いmodified H-scoreによる解析を行った(図1A-H)。FICTIONの解析では50個の腫瘍細胞(腫瘍細胞が50個未満の場合は可能な限り多く)を既報[2]に従い以下のように分類した(図2AB)。amplificationがひとつでもある症例はamplification群に、amplificationはないがcopy gainがある症例をcopy gain群に分類した。

PD-L1/PD-L2とCEP9の比が1:1であった場合 : disomy

PD-L1/PD-L2とCEP9の比が3:1であった場合 : amplification

PD-L1/PD-L2とCEP9の比が1:1であるが、CEPが3以上の場合 : polysomy

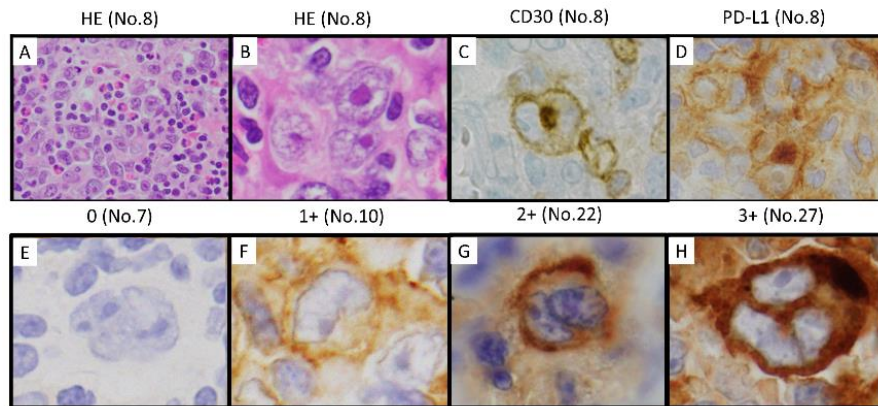


図1. (A,B) CHL-IDDにおけるHE組織像. (C,D) HRS細胞の免疫形質. (E-H) CHL-IDDにおけるPD-L1蛋白発現強度の判定例.

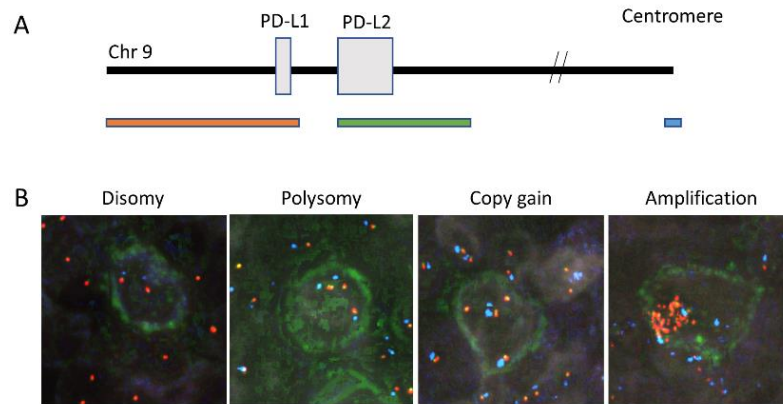


図2. (A) 9番染色体におけるPD-L1, PD-L2の遺伝子座位と本研究で用いたProbeの位置. (B) FICIONにおける代表的な画像.

[結果]

・ MTX中止後の臨床経過

CHL-IDD 発症後、1例を除く26例でMTXを中止し、16例がCRもしくはPRとなったが、その後11例はrelapseあるいはregrowthが確認された。MTX中止後にSD/PDであった10例と合わせて21例に化学療法が必要となった。

・ 免疫組織学的表現型とEpstein-Barr virus (EBV) latency

EBERは22/27例(81.5%)で陽性となり、19/21例(90.5%)がLatency II型、2/21例(9.5%)がLatency I型であった。Latency III型はみられなかった。

HRS細胞におけるPD-L1蛋白の発現では全例が陽性となった。H-scoreの結果では、低発現群(score 1、2)よりも高発現群(score 3、4)の方が化学療法施行率の高い傾向にあった($p=0.0808$)。またLatency I型であった2例は中央値よりも低い結果となった。

・ 9p24.1のコピー数異常 (CNAs)とH-scoreの関係

全例に9p24.1のCNAsがみられ、16例がamplification、11例がcopy gainに分類された。CNAsの割合は症例毎に異なっていたが、各症例に含まれるdisomyの割合はcopy gain群の方がamplification群よりも顕著に高かった($p=0.0190$) (図3A, B)。さらにdisomyの割合とH-scoreを比較すると、有意な逆相関

($p=0.0016$)が認められた(図3C)。EBER陽性および陰性例のH-scoreと9p24.1CNAsを比較したところ、陽性例では逆相関の傾向が認められた($p=0.0042$)。

・ 9p24.1 CNAsと臨床病理学的特徴との関係

copy gain群はamplification群よりもclinical stage (CS) III以上の患者が多く、節外病変が有意に多いことが分かった。5年生存率ではcopy gain群の方が悪い傾向にあった。さらにamplification群は全例がLatency II型であったのに対し、copy gain群では6/8(75%)がLatency II型で、2/8(25%)がLatency I型であった。

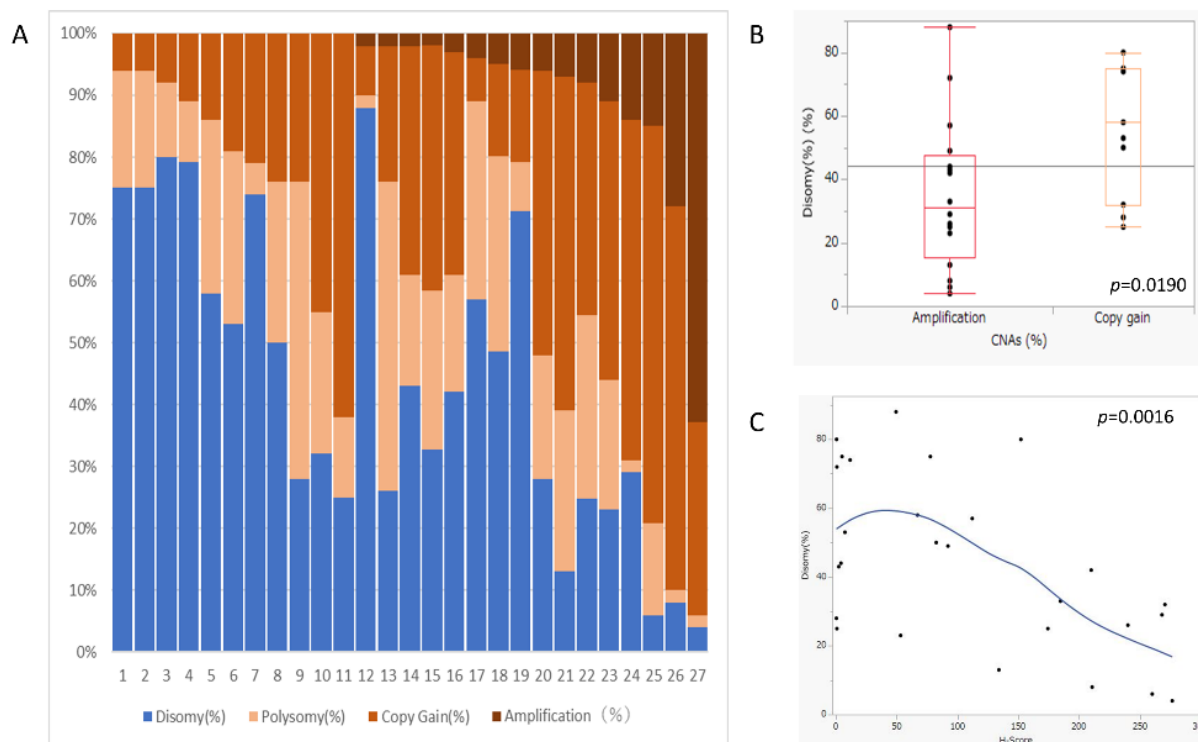


図3. CHL-IDD患者における9p24.1CNAs

(A) 各症例における9p24.1CNAsの割合. (B) 各群におけるdisomyの割合. (C) PD-L1のH-scoreと9p24.1 CNAsの関係.

[考察]

CHL-IDDと*de novo* CHLでは形態学的に区別はできず、臨床的背景によって区別されるが、両者は臨床経過、治療アプローチ、臨床転帰において異なる。CHL-IDDは全患者にCNAsが観察され、*de novo* CHLと同様にPD-L1蛋白発現のH-scoreと9p24.1 CNAsの間に有意な相関がみられた($p=0.0016$)。またCHL-IDDの腫瘍細胞も腫瘍内のPD-L1をコードする*CD274*遺伝子を含む9p24.1領域の変化に不均一性を示し、これらの結果はCHL-IDDと*de novo* CHLで同様のゲノム異常が生じたことを示している。しかしながら、MTX投与下の免疫抑制状態や基礎疾患としてのRA、さらにはその他の合併症などもCHL-IDDの臨床転帰に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

de novo CHLではamplification群にCS III/IVが多く観察されるが、CHL-IDDではcopy gain群にCS III/IVが多く観察され、節外病変が多くみられた。この特徴は、CHL-IDDが*de novo* CHLとは対照的に、PD-L1をコードする*CD274*領域を含む9p24.1の増幅とともに、9p24.1増幅以外の要因の

影響を受けている可能性が考えられた。

de novo CHLにおけるPD-L1蛋白の高発現は、腫瘍の免疫逃避に大きく寄与しており、以前のCHLに対する標準治療であるABVD療法の治療成績は、PD-1抗体療法の導入により改善された。またPD-L1の高発現がABVD療法に対する治療抵抗性と高い再発率に関連していた。しかしながら、CHL-IDDにおいて9p24.1のcopy gain群がamplification群よりも5年生存率が短縮する傾向にあることは、PD-L1/PD-1経路以外の要因が病態形成を担っている可能性が考えられた。

[結論]

本研究では、CHL-IDDにおけるPD-L1蛋白の発現と9p24.1 CNAsの存在を確認し、*de novo* CHLとの異同を明らかにした。CHL-IDDでは*de novo* CHLとは異なり、copy gain群ではamplification群で観察されなかった節外病変が約2/3の症例で認められ、これらの症例はCSが高く、CHL-IDDの中でも特徴的な一群であることが示唆された。CHL-IDDの特徴的な臨床病態を包括的に理解するためには、さらなる研究が必要と考えられた。

参考文献

- [1] Gion, Y.; Doi, M.; Nishimura, Y.; Ikeda, T.; Nishimura, M.F.; Sakamoto, M.; Egusa, Y.; Nishikori, A.; Fujita, A.; Iwaki, N.; et al. PD-L1 expression is associated with the spontaneous regression of patients with methotrexate-associated lymphoproliferative disorders. *Cancer Med.* 2022, 11, 417–432.
- [2] Roemer, M.G.; Advani, R.H.; Ligon, A.H.; Natkunam, Y.; Redd, R.A.; Homer, H.; Connelly, C.F.; Sun, H.H.; Daadi, S.E.; Freeman, G.J.; et al. PD-L1 and PD-L2 Genetic Alterations Define Classical Hodgkin Lymphoma and Predict Outcome. *J. Clin. Oncol.* 2016, 34, 2690–2697.