

「悪性リンパ腫の病理学的解析」

研究分担者 大島 孝一 久留米大学医学部 教授
研究協力者 三好 寛明 久留米大学医学部 准教授
研究協力者 竹内 真衣 久留米大学医学部 講師

研究要旨：ホジキン様成人ヒト T 細胞白血病・リンパ腫（ホジキン様 ATLL）は組織学的に古典的ホジキンリンパ腫に類似する ATLL の特殊型である。我々はデジタル空間プロファイリングを用いてホジキン様 ATLL における HRS 様細胞と CD4 陽性 T 細胞の間の相互作用を検討し、CD4 陽性 T 細胞に発現する共刺激分子の CD28 と HRS 様細胞に発現する CD80/CD86 の相互作用がホジキン様 ATLL の免疫微小環境に重要である可能性を示した。

A. 研究目的

ホジキン様成人ヒト T 細胞白血病・リンパ腫 (Hodgkin-like adult T-cell leukemia/lymphoma: 以下ホジキン様 ATLL) は成人ヒト T 細胞白血病・リンパ腫 (ATLL) の稀な特殊型である。組織学的に少数の CD30 陽性 Hodgkin-Reed-Sternberg 様細胞 (HRS 様細胞) 周囲に小型～中型のヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell lymphotropic virus type I: HTLV-1) に感染した CD4 陽性 T 細胞が多数認められ、古典的ホジキンリンパ腫に類似した形態を示す (図1)。ホジキン様 ATLL は化学療法に不応なことが多く古典的ホジキンリンパ腫と比較して予後は不良である。ホジキン様 ATLL の免疫微小環境はまだ十分に解明されておらず、有効な治療法は開発されていない。そのため我々はホジキン様 ATLL において HRS 様細胞と CD4 陽性 T 細胞の間の相互作用を検討し、分子標的治療の標的候補となりうるような分子の検索を試みた。

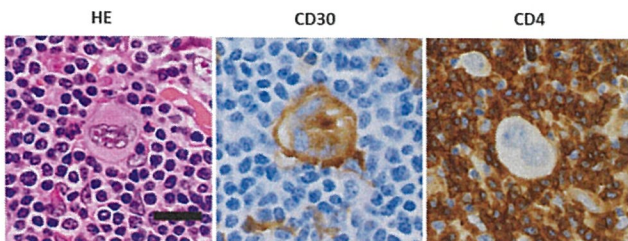


図1. ホジキン様リンパ腫の病理組織像

B. 研究方法

我々は GeoMx Digital Spatial Profiler (GeoMx DSP) (NanoString Technologies, Seattle, MA, USA) を用いてデジタル空間プロファイリングによるホジキン様 ATLL の免疫微小環境の解明を試みた。バルク検体による従来の遺伝子発現解析では細胞の位置情報が不明であることが問題だったが、GeoMx DSP はホルマリン固定パラフィン切片上で蛍光染色を行い、切片上で指定した特定の領域や細胞集団について網羅的な遺伝子発現解析を行うため、位置情報を紐づけた形で遺伝子発現解析を行うこ

とが可能である。今回は HRS 様細胞とその周囲の CD4 陽性 T 細胞の相互作用に着目し、HRS 様細胞から 20 μ m 以内の CD4 陽性 T 細胞 (surrounding CD4+ T cells) と HRS 様細胞から離れたその他の CD4 陽性 T 細胞 (Other CD4+ T cells) の遺伝子発現プロファイルをそれぞれ比較した (図2A)。4 例のホジキン様

リンパ腫患者のホルマリン固定パラフィン切片を用いて CD30、CD4、SYTO83 の多重蛍光染色 (図2B) を行い、赤で CD30 陽性 HRS 細胞、緑で CD4 陽性 T 細胞を同定した。HRS 細胞 (図2C)、surrounding CD4+ T cells (図2D)、Other CD4+ T cells (図2E) を興味領域として指定した。紫外線照射で遊離するバーコードオリゴで標識された RNA プローブ (Whole transcriptome atlas, NanoString Technologies) を切片上でハイブリダイゼーションさせ、それぞれの領域に紫外線を照射することで領域ごとのバーコードオリゴを回収し次世代シーケンサーで遺伝子発現解析を行った。抽出された遺伝子については GeoMx で解析した 4 例を含む計 11 例を対象に免疫染色でタンパクの発現を確認した。

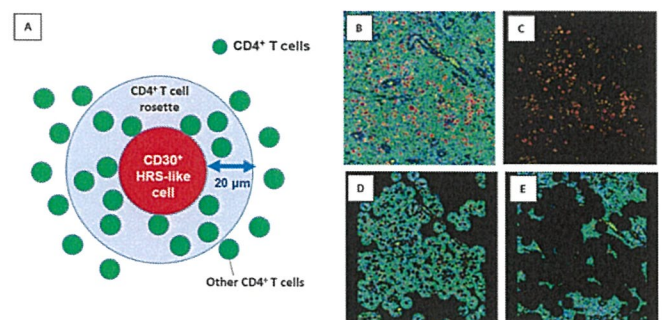


図2. GeoMx解析の研究デザイン

(倫理面への配慮)

ホルマリン固定パラフィン切片は病理診断に使用したヒト病理組織残検体を使用した。検体使用についてはヘルシンキ宣言を遵守し、久留米大学の倫理審査委員会に申請し承認を受けた。

C. 研究結果

GeoMx DSPの解析でHRS様細胞周囲のCD4陽性T細胞 (surrounding CD4+ T cells) はその他のCD4陽性T細胞 (Other CD4+ T cells) と比較して有意に共刺激分子のCD28とinducible T-cell co-stimulator (ICOS)の発現が亢進していた (図3)。

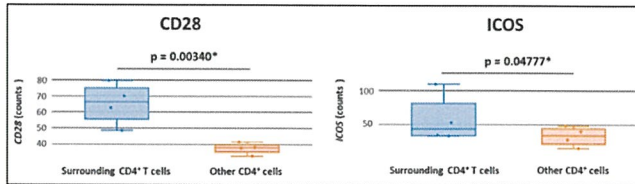


図3. GeoMxによる共刺激分子の遺伝子発現解析

GeoMxで検討された4症例を含む合計11例で免疫染色を行ったところ、HRS様細胞周囲にCD28 (11/11, 100%) とICOS (6/11, 54.5%) の発現が確認され、ロゼット構造の形成が散見された。また、CD28のリガンドであるCD80とCD86がほぼ全例でHRS様細胞に発現していることを免疫染色で確認した (図4)。

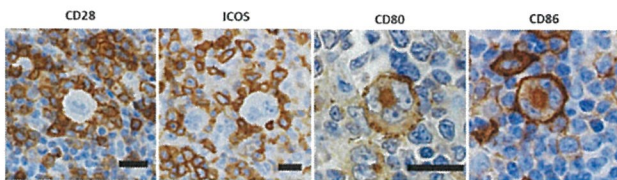


図4. 共刺激分子とリガンドの免疫染色

GeoMx解析で明らかな遺伝子発現の差がみられなかったものの、一部の症例では免疫染色において免疫チェックポイント分子のTIGIT (7/11, 63.6%)、PD-1 (3/11, 27.2%)、CTLA-4 (4/11, 36.3%) の陽性細胞がHRS様細胞周囲にロゼットを形成していた (図5)。

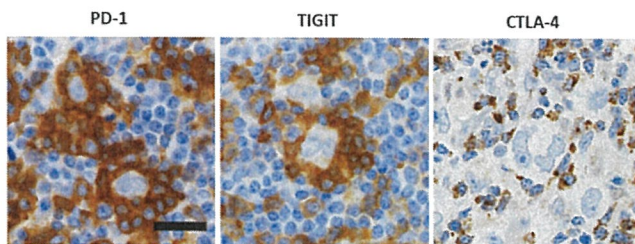


図5. 免疫チェックポイント分子の免疫染色

D. 考察

CD28-CD80/CD86の共刺激シグナルはT細胞の活性化に重要である。ATLLではCD28の活性化型遺伝子異常が約3割にみられ、くすぶり型や慢性型のATLLではCD28遺伝子異常のある症例は異常のない症

例と比較して予後が悪いことが報告されている。本研究の結果から、CD28-CD80/CD86経路による恒常的なT細胞活性化シグナルがホジキン様ATLLの病勢の進行や予後に重要である可能性が示唆される。その他、免疫チェックポイント分子のTIGIT、PD-1、CTLA-4についても一部の症例でHRS様細胞周囲にロゼット形成が認められた。これらの免疫チェックポイント分子は古典的ホジキンリンパ腫でもT細胞ロゼットに発現が認められ、HRS細胞とCD4陽性T細胞の相互作用に重要と考えられている。そのため、ホジキン様ATLLにおいてもこれらの免疫チェックポイント分子によるHRS様細胞とT細胞ロゼットの細胞間相互作用が免疫微小環境に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。免疫チェックポイント分子がGeoMx解析で有意な発現の差がみられなかった点については、GeoMx解析に選択した4症例中2症例が免疫チェックポイント分子陰性例であったためと推測される。

E. 結論

以上よりホジキン様ATLLでは共刺激分子ならび免疫チェックポイント分子を介したHRS様細胞とCD4陽性細胞の相互作用が重要であると考えられた。これらの所見はホジキンリンパ腫と類似しており、両者の免疫微小環境は部分的に類似している可能性がある。本研究はこれまで不明であったホジキン様リンパ腫の免疫微小環境について新たな知見を示すとともに、分子標的治療などの新規治療の可能性を示唆するものである。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Takeuchi M, et al. Co-stimulatory and immune checkpoint molecules are important in the tumor microenvironment of Hodgkin-like adult T-cell leukemia/lymphoma. Haematologica. 2023; 108:3496-3501.

2. 学会発表

Takeuchi M, et al. Digital spatial profiling of the tumor microenvironment in Hodgkin-like adult T-cell leukemia/lymphoma. 17th International Conference on Malignant Lymphoma, 2023, Lugano, Switzerland.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 該当なし

2. 実用新案登録 該当なし

3. その他
該当なし