

東海大学大学院令和二年度博士論文

EB ウイルス陽性皮膚粘膜病変に注目した
メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患の
臨床病理学的解析

指導 安藤 潔 教授

東海大学大学院医学研究科
先端医科学専攻

氏名：白岩 佐和子

この学位申請論文は、Journal of Clinical and Experimental Hematopathology に掲載された主要公刊論文を基に作成された。

- Journal of Clinical and Experimental Hematopathology に掲載された主要公刊論文の一部を学位申請論文に用いることに加えて、学位申請論文を機関リポジトリ [電子書庫システム] で公開することの承諾を得ている。

【総括】

関節リウマチ (Rheumatoid arthritis, RA) にてメトトレキサート (Methotrexate, MTX) による治療を受ける患者でしばしばリンパ増殖性疾患 (lymphoproliferative disorder, LPD) を発症することがある。MTX 関連リンパ増殖性疾患 (MTX-LPD) と総称され、約半数の症例で MTX 投与中止後、化学療法の施行なく、腫瘍の自然消退が得られることが特徴である。しかし、腫瘍が自然消退するメカニズムは現在のところ明らかとされていない。

そこで我々は 2007 年から 2017 年までに東海大学病院病理診断科にて MTX-LPD と診断された 63 人の患者に対してエプスタイン・バーウイルス陽性皮膚粘膜病変 (Epstein-Barr virus-positive mucocutaneous lesion, EBVMCL) を有する患者に注目し、臨床病理学的解析を行った。EBVMCL の診断には、2017 年世界保健機関 (WHO) 分類により診断された EBV 陽性粘膜皮膚潰瘍 (Epstein-Barr virus-positive mucocutaneous ulcer, EBVMCU) と、びまん性歯肉腫脹病変を有する EBV 陽性びまん性大細胞型 B

細胞リンパ腫（diffuse large cell lymphoma, DLBCL）症例とが含まれた。

MTX-LPD を EBVMCL、DLBCL、ホジキン様リンパ増殖性疾患（Hodgkin-like lesion, HLL）、古典的ホジキンリンパ腫

（classical Hodgkin lymphoma, CHL）の 4 群に分類し臨床病理学的に比較検討したところ、MTX 中止後の無治療生存期間

（treatment free survival, TFS）はそれぞれ EBVMCL

（100%）、DLBCL（57%）、HLL（60%）および CHL（29%）

であり、EBVMCL 群は他群と比較し良好な TFS であった。また多変量解析により EBV 陰性かつ LDH 高値の症例では TFS が極めて不良であった。一方 CHL 群では自然消退が得られにくい傾向にあり、一因として Hodgkin/Reed-Sternberg 細胞による PD-L1 の高発現が関与している可能性が示された。

これらの結果より、既存の EBVMCU に加えて潰瘍病変を有さない粘膜皮膚限局 EBV 陽性 DLBCL 症例を加えた EBVMCL という新たな診断基準や PD-L1 発現が MTX 中止後の化学療法の有無を予想するうえで有用である可能性が示唆された。

【研究の背景】

MTX-LPD は、1991 年に免疫抑制剤投与中の自己免疫疾患患者にリンパ腫が発症したことが報告され、その後、RA にて MTX 使用中の患者により多く発症することがわかった。現在では、2017 年 WHO 分類にて、「他の医原性免疫不全関連リンパ増殖性疾患」に分類され、免疫不全関連リンパ増殖性疾患の一部として分類されている。MTX は本邦においても、現在 RA 治療の中心的薬剤として広く使用されている。

そもそも RA 患者は、悪性リンパ腫の発症頻度が高く、背景に基礎疾患を有さない一般集団と比較し 2～4 倍程度発症しやすいといわれている。さらに MTX 内服歴のある RA 患者では、2 倍程度発症頻度が高まる。MTX 投与による免疫抑制が LPD の発症を引き起こすと考えられているが、発症機序は明らかではない。また MTX-LPD の発生率は欧米と比較し本邦でより高いとされている。

MTX-LPD には特徴的な組織型や、高い EBV 陽性率、多くの節外病変を有することが知られており、組織型ではびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）35-60%、CHL が 15-30%程度とされる。一部の MTX-LPD 患者は、MTX 中止により腫瘍の自然消退が得られることが最大の特徴である。しかし自然消退のメカニズムは不明であり、組織型により消退率が異なるという報告も散見される。

今回我々が注目したのは、2017 年に新たに提唱された、皮膚や咽頭、胃、腸管などの粘膜部位に発生する潰瘍性病変を特徴とする EBV 陽性粘膜皮膚潰瘍（EBVMCU）である。EBVMCU は、加齢に伴って発症し、EBV 陽性 DLBCL と比較し、非常に予後良好であるとして診断が分けられた疾患である。しかし EBVMCU の大多数は MTX-LPD であり、その疾患定義は曖昧な部分が多く残っている。

MTX-LPD にはしばしば歯肉のびまん性腫脹を示す潰瘍のない症例がみられる。しかしこれらの症例は、潰瘍性病変がないため、EBVMCU の診断には含まれないが、これらの患者にも EBVMCU 同様に、MTX 中止後に腫瘍の自然消退が高率に得られるため、EBVMCU の診断に含まれる可能性が示唆される。

一方腫瘍の自然消退が得られにくい組織型には CHL がある。CHL においては背景に自己免疫性疾患のない一般集団の CHL にて PD-L1 の発現が注目されており、実臨床における PD-1 阻害薬の高い有効性が示されている。しかし MTX-LPD における CHL の免疫微小環境に関しては報告がなく PD-L1 発現があるのかは明らかではない。

今回我々は、東海大学病院で 10 年間（2007 年から 2017 年）に MTX-LPD と診断された 63 人の患者において EBVMCU と EBV 陽性粘膜皮膚病変（EBVMCL）に注目し、臨床病理学的解析を施行した。

【研究の方法】

本研究では 2007 年から 2017 年までに東海大学病院病理診断科にて MTX-LPD と診断された 63 人の患者に対して EBVMCL を有する患者に注目し、臨床病理学的解析を行った。EBVMCL の診断には、2017 年世界保健機関（WHO）分類により診断された EBVMCU と、びまん性歯肉腫脹病変を有する EBV 陽性びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（diffuse large cell lymphoma, DLBCL）症例とが含まれた。MTX-LPD を EBVMCL、DLBCL、ホジキン様リンパ増殖性疾患

（Hodgkin-like lesion, HLL）、CHL の 4 群に分類した。材料は MTX-LPD と診断され、解析可能な FFPE を有する 43 例を用いた。腫瘍細胞の形態学的評価、免疫組織化学（CD10, CD20, CD30, LMP1, EBNA2, PD-L1 など）および EB ウイルス RNA に対する in situ hybridization（EBER）を全例に行い、陽性例に対しては LMP1, EBNA2 の染色結果を使用し、感染様式を決

定した。各グループの臨床病理学的特徴は、ピアソンのカイ 2 乗検定で比較した。無治療生存期間(Treatment Free Survival :TFS)は Kaplan-Meier 法を用い、ログランク検定で比較をした。また、Cox 比例ハザードモデルに組み込み、ステップワイズ選択 ($P < 0.05$ で残留) による多変量解析を行い、腫瘍の自然消退に関わる独立した因子を抽出した。

【考察と展望】

MTX-LPD における EBVMCU の既報では、良好な臨床転帰が報告されている。MTX-LPD の発症機序は不明であるが、1 つとして、RA における免疫異常と MTX による免疫抑制効果が関与していると考えられている。RA では特定のクローンの自己反応性 T 細胞が存在し、この T 細胞の存在下でリウマトイド因子など自己抗体を産生する B 細胞が活性化されている。MTX による免疫抑制効果により EBV などのウイルスの再活性化がおきたことで、細胞のクローナルな増殖を誘発する。また EBV は通常、成人の大多数の口腔内に生涯持続感染しており、特に口腔内組織の EBV コピー数は、歯周病患者を含む免疫不全患者で有意に高い。そのため、EBV の再活性化が、局所免疫抑制療法中患者における口腔内で許容されている可能性がある。そのため、歯肉腫瘍病変を伴う EBV 陽性症例は EBVMCL に含め、同様に良好な経過を持つ疾患であることを認識することが MTX-LPD 診断後の治療方針決定に重要と考える。また口腔内だけでなく、皮膚やその他の粘膜病変に関しても潰瘍のない腫脹性病変有する可能性も考えられるが、今回私たちの施設ではそのような症例はみられなかった。

EBV 陽性の悪性腫瘍では、EBV の感染様式は I-III 型の感染様式をとり、腫瘍の種類により EBV 感染様式は異なる。I 型感染様式では宿主の免疫が保たれていると考えられ、II 型、III 型感染様式になるにつれて、標的蛋白が発現しているにもかかわらず、腫瘍化していることから宿主の免疫低下により腫瘍下していると考えられている。たとえば、移植後リンパ増殖性疾患（PTLD）では、通常 III 型感染様式をとることが多いとされている。一方、MTX-LPD のほとんどの症例では II 型感染様式をとる。我々の研究では、EBVMCL 症例の多くは II 型感染様式をとっていたが、DLBCL 症例では III 型感染様式が多かった。これは、宿主の免疫パターンだけでなく、腫瘍の増殖部位にも関連している可能性がある。

今回我々の研究では EBV 陽性例にて腫瘍の自然消退が起こりやすいことを示したが、CHL では 80%以上が EBV 陽性にもかかわらず、消退率が 20-30%程度と低値である。これに関しては少数例の結果ではあるが、HLL と比較し CHL にて PD-L1 発現は高い傾向であったことから腫瘍免疫との関係も腫瘍消退に関与していることが考えられる。PD-L1 の発現は MTX-LPD における CHL では明らかではなく、新たな発見である。MTX-LPD では MTX 中止により末梢血リンパ球が改善することにより腫瘍免疫が働き、腫瘍の自然消退と関与しているとされている。しかし CHL では PD-L1 発現により、末梢血リンパ球が回復したとしても腫瘍免疫がブロックされることにより、自然消退を妨げる可能性がある。今後より大きなコホートでの確認が必要である。

また今回 EBV 陰性と LDH 高値の両方を有する症例において、MTX 中止後の恩恵により腫瘍の自然消退が得られる可能性が低い因子として抽出された。これは、EBV 陽性、IL-2R 高値、MTX 中止後のリンパ球数の回復などこれまでに様々な自然消退率に關与する重要な因子が報告されているが、それらの結果と一致し、治療方針を決定する重要な因子となるだろう。

【結論】

結論として、EBVMCU とびまん性歯肉腫脹病変を持つ患者は MTX 中止のみで腫瘍の自然消退が得られる予後良好な疾患群であり、双方を合わせて新しく EBVMCL という診断カテゴリーを提案した。これは MTX-LPD の今後の疾患概念を深めていくことに重要であると考ええる。今後、粘膜皮膚病変における EBVMCL と EBV 陽性 DLBCL との鑑別診断を含む、EBVMCL のさらなる分析と検証が必要である。