University of Mosul

College of Medicine

Immunohistochemical Expression of PD-L1 and EBV in Hodgkin's Lymphoma

Mohammed Abdulelah Al-shahwany

M.Sc/ Thesis

By

Pathology Department

Supervised by

Dr. Mustafa Salah Fadhil

M.B.Ch.B. MSc. FIBMS (path.)

1445 A.H. **2024 A.D.**

Abstract

Background:

Hodgkin Lymphoma accounts for approximately 30% of all lymphomas and 1% of all cancers in industrial countries. Based on microscopic analysis of the morphology and immunohistochemical labelling, the WHO has classified Hodgkin Lymphoma into classical Hodgkin Lymphoma and nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma. Hodgkin lymphoma is caused by the clonal transformation of B-cell-derived cells, which leads in the pathognomonic Reed-Sternberg cells. Genetic predisposition has etiological role. Also, viruses like Epstein-Barr virus and Human immunodeficiency virus, as well as other environmental factors are linked to etiology of Hodgkin lymphoma.

Hodgkin Lymphoma cells are found to overexpress programmed death ligand 1 on their cell surfaces, which allows them to bypass the immune response by interaction with programmed death -1 on the surface of T cells to limit immune system activation and reduce T-cell proliferation.

The immune checkpoint inhibitor programmed death -ligand 1 programmed death ligand 1 axis has been shown in clinical research to be have promising therapeutic target in a variety of cancers. Recently, this path has been attracting a lot of interest. The efficacy of programmed death ligand 1 identification by immunohistochemistry as a useful marker in Hodgkin lymphoma is under scrutiny by several studies.

Aims of the study:

- To detect the frequency of IHC expression of PDL-1 in HL cases.
- To identify the percentage of IHC expression of EBV in HL cases.
- To find out the association between EBV & PDL-1 expression in HL cases.
- To investigate the association between the expression of PD-L1 & EBV in tumor cells and several clinicopathological parameters including age, gender, subtype and site of presentation.

Material and methods:

This is both a retrospective and prospective case series study which was conducted on 40 cases of Hodgkin Lymphoma, that were collected from some private laboratories in the North of Iraq area over a period of 7 months extending from November 2022 through May 2023.

programmed death ligand 1 immunohistochemical stains 22C3 pharmDx kit (Dako, SK006) immunohistochemical stains and Bio SB Epstein-Barr virus detection (latent membrane protein-1), anti-mouse monoclonal antibody ready to use IgG-1, clone CSI-4, kit was conducted for all cases on Formalin-Fixed Paraffin-Embedded tissues of the tumor, in the Al-Mofty medical laboratory (Histopathology Department)/ Erbil city/Iraq.

Results:

Forty cases were involved in the current study, their mean age ± SD was 31.4±17.46 years while the median age was 26.0 years. The most cases were in the 2nd and 3rd decades.

According to gender, male formed the predominant size of sample (60%) with M:F= 3:2. On the other hand, according to Hodgkin lymphoma histological subtype, nodular sclerosis cases formed (67.5%), whereas mixed cellularity subtype formed (32.5%) of the cases.

Regarding the age distribution of cases in comparison with histological subtype of Hodgkin lymphoma, it was found that there is statistically significant association between them (P=0.046). Positive immunohistochemical stains expression of programmed death ligand 1 was detected in (67.5%) among the studied cases and also was found to be expressed in (35%) of tumor micro-environment.

Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 is found to be expressed in 30% of Hodgkin Lymphoma cases. This Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 immunohistochemical stains expression has no significant association with age (p=0.156), in contrast with patient's gender, with predominance of expression in male patients (83%) which was statistically significant (p=0.050).

Comparison of Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 immunohistochemical stains expression in association with histological subtype, revealed that this was statistically significant (p=0.032).

Comparison of programmed death ligand 1 immunohistochemical stains expression with Epstein-Barr virus expression revealed that only 29.6% of the patients with positive expression of programmed death ligand 1 demonstrated positive Epstein-Barr virus, while 69.2% of those with negative expression of programmed death ligand 1 had negative Epstein-Barr virus; the difference was statistically not significant (p=1.000).

جامعة الموصل
كلية الطب

التعبير المناعي النسيجي الكيميائي لـ PDL-1 وفايروس ابيشتاين بار في ورم هودجكن

محمد عبد الاله عبد الرحمن الشهواني

رسالة ماجستير
الطب / علم الامراض

بإشراف

م.د. مصطفى صلاح فضيل

بورد عراقي نسيج مرضي

١٤٤٥هـ ٢٠٢٤م

الخلاصة

الخلفية:

يمثل سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن حوالي ٣٠٪ من جميع الأورام اللمفاوية و١٪ من جميع أنواع السرطان في البلدان الصناعية. قامت منظمة الصحة العالمية الليمفاوية باستناد الى التحليل المجهري الشكلي والتصنيف الكيميائي المناعي بتصنيف سرطان الغدد إلى سرطان الغدد الليمفاوية الكلاسيكي وسرطان الغدد الليمفاوية العقدية السائدة. سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن ينجم عن التحول الجيني للخلايا المشتقة من الخلايا البائية والذي يؤدي إلى ظهورالخلايا المرضية المعروفة باسم ريد ستيرنبرغ.

يُعتقد بأن الاستعداد الوراثي هوالعامل المسبب لهذا المرض، بالإضافة الى الإصابة بالفايروسات مثل فيروس ابشتاين بار وفيروس العوز المناعي المكتسب، أضف الى ذلك عوامل بيئية أخرى يعتقد بانها مرتبطة بمسببات سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن.

تقوم بعض الأنواع الخلوية من سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن بإفراط في التعبير عن (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١على أسطح خلاياهم، مما يسمح لهم بتجاوز الاستجابة المناعية وذلك عن طريق التفاعل مع بروتين (PD-L1) موت الخلايا المبرمج ١على سطح الخلايا التائية T وذلك للحد من تنشيط الجهاز المناعي وتقليل تكاثر الخلايا التائيةT

أظهرت الأبحاث السريرية أن محور الموت المبرمج لمثبط نقطة التفتيش المناعية (PD-L1) له هدف علاجي واعد في مجموعة متنوعة من أنواع السرطان. في الآونة الأخيرة، جذب هذا المسار الكثير من الاهتمام. تخضع تحديد فعالية (PD-L1)رابطة الموت المبرمج ١من قبل عدة دراسات للتحليل الدقيق بواسطة تقنية الانسجة المناعية وتعد كعلامة مفيدة في سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن.

أهداف الدراسة:

- الكشف عن تردد تعبير الكيمياء المناعية ل (PD-L1) رابطة الموت المبرمج ١ في حالات سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن.
- تحديد نسبة تعبير الكيمياء المناعية لفيروس ابشتاين بار في حالات سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن.
- تحديد العلاقة بين تعبير فيروس ابشتاين بار و (PD-L1) رابطة الموت المبرمج ١ في حالات سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن.
- التحقق من العلاقة بين التعبير عن (PD-L1) رابطة الموت المبرمج ١ وفيروس ابشتاين بار في الخلايا السرطانية والعديد من العوامل المرضية السريرية بما في ذلك العمر والجنس والمرحلة والدرجة والنوع الفرعي والموقع.

طرق البحث:

هذه دراسة أجريت بأثر رجعي ومستقبلي على ٤٠ حالة من حالات سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن والتي تم جمعها من مختبرات خاصة في شمال العراق على مدى ٧ شهور تمتد من شهرتشرين الثاني (نوفمبر) ٢٠٢٢ حتى اذار(ايار)٢٠٢٣.

تم تأكيد تشخيص جميع الحالات مسبقاً بشكل كيمائي ومناعي. كما تم استرجاع البيانات السريرية من سجلات المرضى (العمر والجنس وموقع المرض). لكل حالة، تم قطع اقسام ملونة بواسطة الهيماتوكسيلين والإيوسين وتم مراجعة التشخيص مرة اخرى. تم تصنيف الأورام وفقا لنظام التصنيف الخاص بمنظمة الصحة العالمية لعام ٢٠٠٨.

تم اجراء تلوينات الاجسام المناعية ل (PD-L1) رابطة الموت المبرمج ١ وفيروس ابشتاين بار لجميع الحالات على أنسجة الورم المثبتة بالفورمالين والمحفوظة في الشمع في مختبر المفتي الطبي (قسم الأنسجة المرضية) في مدينة أربيل/العراق.

النتائج:

شملت الدراسة الحالية أربعين حالة، وكان متوسط أعمارهم ٣١.٤ ± ١٧.٤٦ سنة بينما كان متوسط العمر ٢٦ سنة وتراوح بين (٤-٦٨) سنة. وكانت معظم الحالات في العقدين الثاني والثالث.

من حيث الجنس، كانت الذكور تشكل الحجم السائد في العينة (٦٠٪) بنسبة ذكور الى اناث ٢:٣. من ناحية أخرى، وفقًا للنوع الفرعي لليمفوما هودجكن النسيجية، شكلت حالات التصلب العقدي (٦٧.٥٪)، بينما شكلت النوع الفرعي الخلوي المختلط نسبة (٣٢ ٪) من الحالات.

فيما يتعلق بالتوزيع العمري للحالات مقارنة بالنوع الفرعي النسيجي لليمفوما هودجكن، فقد وجد أن هناك ارتباطًا إحصائيا ملحوظ بينهما بقيمة (P = 0.046).
تم اكتشاف تعبير مناعي كيميائي إيجابي لـ (PD-L1) رابطة الموت المبرمج ١ في (٦٧.٥%) من بين الحالات المدروسة وتم أيضا العثور على تعبير له بنسبة (٣٥%) في بيئة الورم.
لم يكشف (PD-L1) رابطة الموت المبرمج ١ في كل من من خلايا ريد ستيرنبرغ المرضية والبيئة الدقيقة للورم المرتبط بالعمر والجنس والنوع الفرعي النسيجي وموقع العرض عن أي دلالة إحصائية ملحوظة حيث كانت قيم p في خلايا ريد ستيرنبرغ المرضية على التوالي هي (p=0.0172,p=0.890,p=0.416,p=0.059)، بينما بالنسبة للبيئة الدقيقة للورم كانت على التوالي (P=0.525, p=0.079, p=0.480, p=312) .

تم العثور على تعبير مناعي كيميائي بنسبة (٣٠%) من حالات ليمفوما هودجكن. لم يظهر هناك ارتباطا ملحوظا مع العمرفي التعبير الكيميائي المناعي لفيروس إبشتاين بار بقيمة (p=0.156).
كشفت مقارنة التعبير الكيميائي المناعي لفيروس إبشتاين بار بالاشتراك مع النوع الفرعي النسيجي أن هذا كان ذا دلالة إحصائية بقيمة (p=0.525).

تمت دراسة شدة التعبير الكيميائي المناعي ل (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١وارتباطه مع المعلمات المرضية الأخرى. حيث أظهرت وجود ارتباط ملحوظ بين قطع ل (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ في خلايا هودجكن ريد ستيرنبرغ. ومع ذلك، لم يتم الحصول على ارتباط ملحوظ فيما يتعلق بحالة فيروس إبشتاين بار،الجنس، والنوع الفرعي لسرطان الغدد الليمفاوية هودجكن.

مقارنة التعبير المناعي النسيجي الكيميائي ل (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ مع تعبير فيروس إبشتاين بار، حيث كشفت أن ٢٩.٦% فقط من المرضى الذين لديهم تعبير إيجابي ل (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ أظهروا إيجابية فيروس إبشتاين-بار، بينما ٦٩.٢% من المرضى الذين لديهم تعبير سلبي عن (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ كان لديه فيروس إبشتاين بار سلبي؛ وكان الفرق غيرملحوظ إحصائيا (p=1.000).

الاستنتاج:

- وجد أن (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ تم التعبيرعنه كيميائيًا مناعيًا بنسبة ٦٧.٥% من حالات ليمفوما هودجكن وكذلك بنسبة ٣٥٪ للبيئة الدقيقة للورم.
- تم اكتشاف فيروس ابشتاين بار في ٣٠٪ من حالات سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن.
- لم يتم الكشف عن وجود علاقة ذات دلالة إحصائية بين تعبير (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ وتعبيرفيروس ابشتاين بار. لكن؛ فقط ٢٩.٦٪ من المرضى الذين لديهم تعبير إيجابي (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ أظهروا إيجابية فيروس إبشتاين بار.
- لم يتم اكتشاف ارتباط ملحوظ بين تعبير (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ والنوع الفرعي لسرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن، العمر والجنس.
- لم يكشف (PD-L1) رابطة الموت المبرمج١ مع البيئة الدقيقة للورم في حالات سرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن عن وجود فروق ذات دلالة إحصائية مقارنة بالأنواع الفرعية لسرطان الغدد الليمفاوية ليمفوما هودجكن وموقع العرض.
- يرتبط التعبير النسيجي الكيميائي المناعي لفيروس ابشتاين بار بشكل ملحوظ بجنس الذكر٨٣.٣٪ مقارنة بالإناث.
- لم يكشف التعبير النسيجي الكيميائي المناعي لفيروس إبشتاين بارعن وجود فروق ذات دلالة إحصائية فيما يتعلق بعمر المرضى والأنواع الفرعية النسيجية وموقع العرض.