〈症例報告〉

超高齢男性に発症した原発性滲出液リンパ腫の1例

本多 正幸¹⁾ 森川 鉄平²⁾ 山口 泰弘¹⁾ 谷 真理子¹⁾ 山口 潔¹⁾
 飯島 勝矢¹⁾ 秋下 雅弘¹⁾ 深山 正久²⁾ 大内 尉義¹⁾

要 約 超高齢男性に発症した原発性滲出液リンパ腫の一例を経験したので、文献的考察を加え報告する。症例は糖尿病を合併する90歳男性。高度のAlzheimer型認知症のため寝たきりとなり経管栄養を受けていた。数日前から発熱が続くため近医受診したところ、胸部レントゲン写真上、片側性の大量胸水が認められたため、当科に緊急入院となった。胸水の塗抹細胞診標本にてclass Vの形質細胞様異型リンパ球が孤立散在性に認められた。しかし、胸水細胞のフローサイトメトリーでは、モノクローナルな細胞増殖が確認されず、炎症性変化としても矛盾しない所見であった。全身状態を鑑み、積極的な精査加療は施行せず、呼吸不全が進行し第45病日に死亡した。病理解剖の結果、右胸腔以外の諸臓器には腫瘍性病変は認められず、右胸水サンプルから作製したセルブロック標本の免疫染色において、CD30陽性、ヒトヘルペスウイルス8(HHV-8)関連タンパク陽性の腫瘍細胞が認められ、PCR法によるDNA解析においてもHHV-8 DNAが検出された。また、免疫グロブリン重鎖可変領域に対するPCRによる解析では、免疫グロブリン重鎖遺伝子のモノクローナルな再構成が認められたことより、B細胞系のリンパ腫であることが明らかとなった。これらの所見より、原発性滲出液リンパ腫(PEL)の診断に至った。PELは、体腔内で腫瘍塊を形成することなく増殖する、HHV-8に関連した稀な悪性リンパ腫の亜型である。本疾患は後天性免疫不全症候群などの免疫不全状態の患者に発症することが多いが、本症例のような高齢者での発症もみられる。原因不明の胸水を示す高齢者において考慮すべき疾患のひとつとして、今後さらにその重要性が増すと思われる。

Key words : 高齢者, 原発性滲出液リンパ腫, 胸水, セルブロック, ヒトヘルペスウイルス8

(日老医誌 2009; 46: 551-556)

緒 言

原発性滲出液リンパ腫(PEL)は胸腔、心膜腔、腹腔などの体腔内で、通常、腫瘍塊を形成することなく増殖する、ヒトヘルペスウイルス8(HHV-8)に関連した稀なB細胞性悪性リンパ腫の亜型である¹⁾²⁾。後天性免疫不全症候群に後発するリンパ腫として知られてきたが³⁾、近年、免疫力の低下した高齢者にも起こりうる事が報告されている。

今回、原因不明の胸水について、セルブロック標本からの免疫染色、DNA解析などによりPELと診断した超高齢男性の症例を経験したので、文献的考察を加え報告する。

症 例

90歳、男性。

【主訴】喀痰、発熱。

【現病歴】高度のAlzheimer型認知症のため寝たきりとなり、胃瘻からの経管栄養を受けていた。入院5日前、無色透明の痰が絡み、引き続いて大量に嘔吐した。その2日後、38℃台の発熱があり、近医受診。肺炎を疑われ、内服抗生剤セフカペンを投与されるも解熱しなかった。そのため、同院再診し、胸部レントゲン写真にて右大量胸水が認められた。翌日、当科紹介受診し、精査加療目的に緊急入院した。

【既往歴】73歳時：糖尿病、82歳時：Alzheimer型認知症、87歳時：膀胱瘻造設、88歳時：胃瘻造設。

【生活歴】飲酒歴なし、喫煙歴なし。

【アレルギー】特記事項なし。

【家族歴】特記事項なし。

【入院時現症】身長163cm、体重61kg、血圧104/68mmHg、脈拍数93/分、体温37.0℃、酸素飽和度(室内

1) M. Honda, Y. Yamaguchi, M. Tani, K. Yamaguchi, K. Iijima, M. Akishita, Y. Ouchi : 東京大学医学部附属病院 老年病科

2) T. Morikawa, M. Fukayama : 同 病理部

受付日 : 2009. 4. 13, 採用日 : 2009. 6. 23

表 1 入院時検査成績

[血算]		[生化学]			
WBC	6,100 / μ L	TP	6.1 g/dL	BUN	40.2 mg/dL
RBC	404×10^4 / μ L	Alb	2.6 g/dL	Cre	0.94 mg/dL
HGB	13.0 g/dL	AST	138 IU/L	Na	131 mEq/L
Hct	38.5 %	ALT	115 IU/L	K	4.3 mEq/L
Plt	16.9×10^4 / μ L	LDH	423 IU/L	Cl	100 mEq/L
		γ GTP	136 IU/L	CRP	5.45 mg/dL
		ALP	538 IU/L	Glucose	315 mg/dL
				BNP	572 pg/mL

図 1 入院時胸部レントゲン写真 (A), 胸部造影 CT (B)
右大量胸水と右下葉無気肺を認めた。リンパ節腫大や腫瘤影はなかった。

気下)96%。全身状態は performance status 4 であった。頭頸部に異常なし、胸部では右下肺野の呼吸音が減弱しているものの、ラ音は聴取されなかった。心血管系はやや頻拍ではあるが、心音は正常で余剰心音や心雑音は聴取されなかった。腹部は平坦、軟であり胃痙、膀胱痙を認めた。四肢に浮腫を認めず、全身に腫大したリンパ節を触知しなかった。

【入院時検査所見】血液学的検査結果を表 1 に示す。白血球増多はなく、分画正常、軽度の貧血を認めた。低タンパク血症、トランスアミナーゼ・BNP 上昇、尿素窒素上昇、CRP 上昇、高血糖を認めた。

胸部画像所見では、右大量胸水と、右下葉に受動無気肺の所見があったが、有意なリンパ節腫脹や腫瘤影は認められなかった (図 1)。

【入院後経過】入院後、アンピシリン/スルバクタムの投与および補液にて、血清肝酵素や BUN は正常化し、CRP も 1.49 mg/dl にまで低下したが、右大量胸水は持続した。胸水は、ADA の上昇を伴った滲出性胸水で、

細菌学的検査は陰性であった (表 2)。細胞診では好塩基性の細胞質を持つ、円形の異型細胞が孤立散在性に認められ、核周囲明庭をしばしば伴っていた。核は核/細胞質比が高く偏在傾向を示したため、リンパ形質細胞系の悪性腫瘍が疑われた (図 2)。胸水中にみられた細胞のフローサイトメトリーでは、T 細胞系、B 細胞系いずれへの偏在も示されず、リンパ腫細胞の起源は明らかではなかった。

全身状態などを鑑みこれ以上の精査を行わず、対症的に加療した。入院第 37 日のレントゲン写真では右胸水が増量し、次第に呼吸不全が進行し、第 45 日に死亡した。

【病理解剖所見】右優位の大量胸水と両側肺炎、右肺下葉の出血性梗塞を認めた。腹水・心嚢水は少量で、全身にリンパ節腫脹や腫瘤の形成は認められなかった。右胸水より、組織学的な検索や免疫染色に適しているセルブロックを作製した。具体的には、ホルマリン固定後に遠心した細胞を 3% アガロースに懸濁し、冷却固化し、

表2 胸水所見

白血球	4,500 / μ L
赤血球	8×10^4 / μ L
タンパク	4.8 g/dl
LDH	1,227 IU/L
Glucose	101 mg/dl
ADA	89.6 IU/L
一般細菌	no growth
抗酸菌	no growth

図2 胸水細胞診（ギムザ染色）
好塩基性の細胞質をもつ円形の異型細胞を孤立散在性に認めた。核周囲明庭も認められる。

図3 セルブロック HE 染色標本 (A) と免疫染色 (B, C, D) : HE 染色標本 (A) にて、やや大型の偏在する核を有する異型細胞 (矢印) が確認された。免疫染色では、代表的な T 細胞マーカーの CD3 (B), B 細胞マーカーの CD20 (C) では陽性細胞はごくわずかであり、CD30 陽性細胞が多数認められた (D)。

図4 HHV-8 関連タンパクの免疫染色 (A) および PCR 法による HHV-8 DNA の検出 (B) : A. HHV-8 関連タンパク免疫染色で陽性細胞 (矢印) を認めた。B. ORF26, ORFK9-3 のコードする HHV-8 DNA に特異的なバンドが検出された。Negative control として、テンプレートのかわりに H_2O を使用した。

図5 PCR法によるリンパ球のclonalityの検討: 240 bpに単一のフラグメントが増幅され、免疫グロブリン重鎖(IgH)のclonalな再構成が認められた。Positive control(PC)として、免疫グロブリン重鎖遺伝子のモノクローナルな再構成のあることがすでにわかっているリンパ腫のサンプルを使用した。Negative control(NC)として、テンプレートのかわりにH₂Oを使用した。

パラフィン包埋し、標本作製した。HE染色では、やや大型の偏在する核を有する異型細胞が散在しており、これらに対し、各種免疫染色を施行した(図3)。LCA: 一部陽性、CD3: 一部陽性、CD5: 一部陽性、CD10: ごく一部陽性、CD20: ごく一部陽性、CD30: 陽性、CD79a: 陰性、CD138: 陰性、EMA: 陽性であった。また、Epstein-Barr Virus (EBER) PNA Probe/Fluorescein (DAKO)を用いたEBV encoded small RNAsに対するin situ hybridization (EBER-ISH)も陰性であった。

胸腔内に発生したリンパ腫の鑑別診断としては、原発性滲出液リンパ腫のほか、二次性に胸腔内に浸潤した全身性リンパ腫、節外性リンパ腫の一部、臍胸関連リンパ腫などが挙げられる。原発性滲出液リンパ腫では、全身のいかなる臓器にも腫瘍形成が認められないことが特徴であるが、そのほか、HHV-8感染の有無が重要な所見である。

腫瘍細胞に対し、免疫染色を施行したところ、HHV8 latent nuclear antigen-1 (LANA-1)に対する抗体(Novocastra)による免疫染色が陽性を示した。また、胸水細胞よりDNAを抽出し、open reading frame 26 (ORF26)およびORFK9-3の領域に対して、特異的なプライマーを用いてPCRを施行し、HHV8のDNA配列の存在が確認された。なお、ORF26には、ForwardプライマーAGCCGAAAGGATTCCACCAT、ReverseプライマーTCCGTGTTGTCTACGTCCAGを用い、ORFK9-3には、ForwardプライマーCCCTTTCGCGGATATACA CA、ReverseプライマーAGTGAGGGGAAAGCGTCA ATを用い⁴⁾、PCR産物のdirect sequencingにより、特

異的増幅も確認された(図4)。なお、ORF26遺伝子は、後期lytic geneのひとつでIL-6により増加する蛋白をコードしており、ORFK9-3遺伝子は、viral IFN regulatory factorsであり、IFN依存性に転写活性化を抑制する蛋白をコードしている。次に、リンパ球のclonalityをPCR法で確認した。免疫グロブリン重鎖可変領域(FR 2A-VLJH)に対するsemi-nested PCRでは240 bpに単一のフラグメントが増幅され、免疫グロブリン重鎖遺伝子のモノクローナルな再構成が認められた(図5)。なお、本PCRのプライマーとしては、FR2a領域においたForwardプライマーTGG (A/G) TCCG (A/C) CAG (C/G) C (C/T) (C/T) C (A/C/G/T) GGと、LJH領域においたReverseプライマーTGAGGAGACGGTGA CCを第一PCRに用い、VLJH領域においたReverseプライマーGTGACCAGGGT (A/C/G/T) CCTTGGC CCCAGをsemi-nested PCRに使用した。T細胞受容体(TcR)についてはモノクローナルな再構成がなかったことから、B細胞系のリンパ腫と考えられた。以上より、本症例を原発性滲出液リンパ腫(PEL)と診断した。

考 察

今回、我々は、糖尿病を合併する超高齢男性に発症したPELの症例を経験した。胸水の細胞診にてリンパ球系の悪性腫瘍の存在が疑われたが、フローサイトメトリーでは、腫瘍細胞の由来を同定することはできなかった。しかし、胸水から得られたセルブロック標本の免疫染色および胸水細胞のDNA解析にて、HHV-8感染が証明された。また、免疫グロブリン重鎖のモノクローナルな再構成を認めたことから、B細胞系腫瘍であることが裏付けられた。本症例では、これらの腫瘍細胞の解析によりPELの診断に至った⁵⁾。

本症例の診断には、胸水から作製したセルブロックが非常に有効であった。セルブロックとは、通常、細胞診として用いられる胸水や腹水などの検体から細胞を収集し、ホルマリン固定し、パラフィン包埋ブロックを作製する方法である。塗抹標本ではおもに細胞レベルでの形態観察が主体であるが、セルブロック標本では組織構築や間質の状態まで観察でき、また、免疫染色も施行しやすい。その他、in situ hybridization法、電子顕微鏡的検索を行うことができるため、より精度の高い診断が得られる。PELのように、腫瘍組織をえることができない症例においては、特に有用であるが、そのほか、悪性胸膜中皮種など多くの悪性腫瘍において、細胞診検体からの詳細な情報の必要性が高まるなか、非常に貴重な検査法といえる⁶⁾⁷⁾。

PEL細胞はpost-germinal centerのB細胞由来である。しかし、CD19、CD20などのB細胞マーカーが陰性であることが多く、本例のようにフローサイトメトリーでは、炎症性変化しか見出せない一因となっている。CD30抗原は、TNFRスーパーファミリーのひとつで、皮膚悪性リンパ腫などAnaplastic large cell lymphomaで陽性となるが、PELでもしばしば陽性となる。治療はCHOP（cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone）が行われることが多いが、予後は6カ月と不良である⁸⁾。

興味深いことに、PELの大部分の症例でHHV-8感染が関与している。HHV-8は、1994年Yuan Changらによってカポジ肉腫組織より単離されたヘルペスウイルスγ2亜科に属する二重鎖DNAウイルスで、EBウイルスと相同性を示す発癌ウイルスである。HHV-8関連疾患としては、PELのほか、カポジ肉腫、Multicentric Castleman Diseaseが知られている。サハラ砂漠以南のアフリカや地中海沿岸に地域流行性を示すといわれる⁹⁾。一方、日本では抗体保有率が1.4%と低くその意味でも本症例はきわめて貴重である¹⁰⁾。

HHV-8は、リンパ球のB細胞に潜伏感染するのが特徴で、2本鎖環状DNA（エピゾーム）として核内に維持されている。感染細胞が活性化されると溶解感染に移行し、ウイルスを産生する¹⁰⁾。

潜伏感染したHHV-8はLANA-1、v-cyclin、v-FLIPなどのウイルス蛋白を発現している。例えばv-cyclinは宿主のcyclin D2のホモログであり、CKD6を介して細胞のS期への移行を促進させるなど、腫瘍化に関わると考えられている。そのほかにも、NF-κB系、Wnt系など、HHV-8と腫瘍化には、多くのシグナル伝達に関与していると考えられている。すなわち、PELにおいて、HHV-8の潜伏感染は、鑑別診断上重要なだけでなく、病態生理上の意義を担っているといえる。そして、正常な細胞性免疫能があれば、異常な宿主細胞の増殖は細胞障害性T細胞などによって抑制されるが、細胞性免疫の低下により、HHV-8の潜伏感染したB細胞は、自律的な増殖を続け、悪性腫瘍となることが推測されている¹¹⁾¹²⁾。

PELのHIV感染例と非感染例で比較すると、後者は非常にまれであり、現在までで23例しか報告がない¹³⁾¹⁴⁾。ほとんどは高齢者に発症し、地中海沿岸地域での発症が多い。また、前者でEBウイルスの共感染co-infectionが多くみられるのに対し、後者ではほとんど認められない。治療については高齢であることや、performance statusが低いことから積極的な化学療法の適応になりに

くいことが多いが、CHOP療法により生存期間の延長をみとめたとする報告もある¹⁵⁾¹⁶⁾。非HIV感染例のPELは、HIV感染例と比較すると、経過がやや遅く、治療反応性がよい可能性も示唆されている。

高齢者においてはT細胞を介した細胞性免疫が低下する一方、液性免疫能は正常～亢進する傾向があることが知られており¹⁷⁾、サイトカインなどの産生に不均衡を生じている可能性がある。また、高血圧、心不全などの併存疾患が潜在的な危険因子のひとつである可能性もある²⁾¹³⁾¹⁴⁾¹⁸⁾。こういったことからHIV患者に起こりうるPELとは異なる疾患単位として考えるべきであるかもしれない。

本例ではHIV感染については生前検索しなかったが、年齢からもその可能性は極めて低いと思われる。病理所見ではEBER-ISHは陰性であり既出の報告と一致する。また糖尿病の合併が、免疫状態に影響し、PELの発症に関与した可能性も予想される。

PELは細胞性免疫の低下した高齢者の増加と共に、今後その重要性が増すことが予想される。腫瘍を形成せず、多くの細胞表面マーカーが陰性であるため診断に苦慮するが、本例では大量胸水からの作成したセルブロック標本における免疫染色、PCRが診断に有効であった。由来不明のリンパ系悪性胸水の鑑別診断として考慮する必要がある疾患のひとつとして、貴重な症例と思われた。

なお、本論文の要旨は第48回日本老年医学会関東甲信越地方会（2008年9月27日）にて発表した。

文 献

- 1) Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. (eds): WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition, IARC Press, 2008, p260-261.
- 2) Nador RG, Cesarman E, Chadburn A, Dawson DB, Ansari MQ, Said J, et al: Primary effusion lymphoma: a distinct clinicopathologic entity associated with the Kaposi's sarcoma-associated herpes virus. Blood 1996; 88: 645-656.
- 3) Knowles DM, Inghirami G, Ubriaco A, Dalla-Favera R: Molecular genetic analysis of three AIDS-associated neoplasms of uncertain lineage demonstrates their B-cell derivation and the possible pathogenetic role of the Epstein-Barr virus. Blood 1989; 73: 792-799.
- 4) Pan L, Milligan L, Michaeli J, Cesarman E, Knowles DM: Polymerase chain reaction detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-optimized protocols and their application to myeloma. J Mol Diagn 2001; 3: 32-38.
- 5) Wakely PE Jr, Menezes G, Nuovo GJ: Primary effusion lymphoma: cytopathologic diagnosis using in situ molecular genetic analysis for human herpesvirus 8. Mol Pathol 2002; 15: 944-950.

- 6) 三宅康之: セルブロック作製法. *Medical Technology* 2004; 32: 187-195.
- 7) Maeda S, Hosone M, Katayama H, Iwase H, Kawano K, Masuda Y, et al.: Definitive diagnosis of mesothelioma by effusion cytology: Use of the cell transfer method or cell block method for immunochemical staining. *日本臨床細胞学会雑誌* 2008; 47: 103-110.
- 8) Chen YB, Rahemtullah A, Hochberg E: Primary Effusion Lymphoma. *Oncologist* 2007; 12: 569-576.
- 9) Dukers NH, Rezza G: Human herpesvirus 8 epidemiology: What we do and do not know. *AIDS* 2003; 17: 1717-1730.
- 10) 田中道子, 佐多徹太郎: HHV-8 が起こす腫瘍性病変. *医学のあゆみ* 2002; 203: 227-230.
- 11) 藤井雅寛, 樋口雅也, 福士雅也: ヒトヘルペスウイルス 8 型/カポジ肉腫関連ヘルペスウイルスと発ガン. *ウイルス* 2002; 52: 281-285.
- 12) Noguchi K, Fukazawa H, Murakami Y, Takahashi N, Yamagoe S, Uehara Y: Gamma-herpesviruses and cellular signaling in AIDS-associated malignancies. *Cancer Sci* 2007; 98: 1288-1296.
- 13) Ascoli V, Scalzo CC, Danese C, Vacca K, Pistilli A, Lo Coco F: Human herpes virus-8 associated primary effusion lymphoma of the pleural cavity in HIV-negative elderly men. *Eur Respir J* 1999; 14: 1231-1234.
- 14) Shirokov D, Kadyrova E, Anokhina M, Kondratyeva T, Gourtsevich V, Tupitsyn N: A case of HHV-8-associated HIV-negative primary effusion lymphoma in Moscow. *J Med Virol* 2007; 79: 270-277.
- 15) Youngster I, Vaisben E, Cohen H, Nassar F: An unusual cause of pleural effusion. *Age Ageing* 2006; 35: 94-96.
- 16) Klepfish A, Sarid R, Shtalrid M, Shvidel L, Berrebi A, Schattner A: Primary effusion lymphoma (PEL) in HIV-negative patients: a distinct clinical entity. *Leuk Lymphoma* 2001; 41: 439-443.
- 17) Roubenoff R, Harris TB, Abad LW, Wilson PW, Dallal GE, Dinarello CA: Monocyte cytokine production in an elderly population: effect of age and inflammation. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1998; 53: M20-26.
- 18) Geddes M, Franceschi S, Barchielli A, Falcini F, Carli S, Cocconi G, et al.: Kposi's sarcoma in Italy before and after the AIDS epidemic. *Br J Cancer* 1994; 69: 333-336.

A case of a primary effusion lymphoma in the elderly

Masayuki Honda¹⁾, Teppei Morikawa²⁾, Yasuhiro Yamaguchi¹⁾, Mariko Tani¹⁾, Kiyoshi Yamaguchi¹⁾, Katsuya Iijima¹⁾, Masahiro Akishita¹⁾, Masashi Fukayama²⁾ and Yasuyoshi Ouchi¹⁾

Abstract

We report a 90-year-old man who was given a diagnosis of pleural effusion lymphoma (PEL) based on the detailed immunochemical and DNA analyses of the pleural effusion. He was bed-ridden and on enteral nutrition due to severe Alzheimer's disease, and also had diabetes mellitus. He was transferred to our hospital with fever and massive pleural effusion. A cytological examination of the pleural effusion revealed class 5 atypical lymphocytes with a high nucleus/cytoplasm ratio. The origin of the atypical cells could not be determined by flow cytometry of the pleural effusion, which only suggested the existence of inflammatory changes. Considering his general physical status, further investigations were not performed. The respiratory failure progressed, and he died on the 45th hospital day. At autopsy, no atypical cells were identified in his organs other than in the right thoracic space. We conducted immunochemical staining after making a cell block from the effusion sample. Most of the atypical cells were CD30 positive, with human herpes virus-8 (HHV-8)-associated protein. A PCR analysis of the immunoglobulin heavy chain gene detected monoclonal rearrangement, thus indicating the atypical cells to be involved in the B-cell lineage. These findings led to a final diagnosis of PEL. PEL is a rare type of lymphoma confined to the body cavities without any prominent tumor mass, and its pathogenesis is related to HHV-8 infection. PEL develops mostly in immunocompromised patients, such as those with AIDS. However, it may also occur in elderly patients as well. We should therefore also consider the possibility of PEL in elderly patients presenting with pleural effusion of unknown origin.

Key words: *Elderly, Primary effusion lymphoma (PEL), Pleural effusion, Cell block, Human herpes virus-8 (HHV-8)*
(Nippon Ronen Igakkai Zasshi 2009; 46: 551-556)

1) Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

2) Department of Pathology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo