症 例

HIV 感染陰性高齢者に生じた HHV-8 関連
Primary effusion lymphoma の 1 例米田玄一郎¹⁾ 梅村しのぶ¹⁾ 伊藤 仁²⁾ 芹澤 昭彦²⁾
松井 成明²⁾ 宮嶋 葉子²⁾ 安田 政実¹⁾ 長村 義之¹⁾東海大学医学部基盤診療学系病理診断学¹⁾, 東海大学医学部付属病院病理診断科²⁾**Key words** : Primary effusion lymphoma—Cytology—Human herpes virus 8—Case report**背景** : HIV 感染陰性高齢者に発症した原発性体腔液性リンパ腫を経験したので報告する。**症例** : 82 歳, HIV 感染陰性の男性. 79 歳時に食道癌と診断され放射線照射療法を受けた. 80 歳時から心嚢液, 両側胸水が認められ精査が行われたが確定診断は得られなかった. しかし心嚢液, 胸水ともに増加し呼吸不全と心不全を生じたため入院となった. 画像所見で多量の心嚢液と胸水が認められたため心嚢および胸腔穿刺が行われた. 細胞診所見と細胞診標本での免疫染色結果から原発性体腔液性リンパ腫と診断した.**結論** : 原発性体腔液性リンパ腫は主として HIV 感染者に発症する疾患であり HIV 感染陰性者にはまれな疾患であるが, 高齢者においては鑑別にあげるべき疾患である. Papanicolaou 標本による診断だけでなく体腔液セルブロックを用いた染色を併用することにより診断を確定することが可能である.

mary effusion lymphoma の 1 例を経験したので報告する.

I. はじめに

原発性体腔液性リンパ腫 (Primary effusion lymphoma ; PEL) は明らかな腫瘍病変の形成を認めることなく体腔液のみにリンパ腫細胞が認められる疾患である. 主として HIV 感染者に生じ, その発症に Human herpes virus-8 (HHV-8) が関与していると報告されている¹⁻³⁾. 今回, HIV 感染陰性的高齢者に発症した心嚢液と胸水原発 Pri-

II. 症 例

患 者 : 82 歳, 男性.**既往歴** : 79 歳時に食道癌と診断され局所放射線照射 (総照射量 70Gy) を受けた.**現病歴** : 80 歳時から心嚢液, 両側胸水が認められるようになり胸膜生検も施行されたが確定診断は得られず経過観察されていた. しかし心嚢液, 胸水ともに増加し心タンポナーデによる症状が出現したため緊急入院となり心嚢および胸腔穿刺が行われた (Photo. 1). 入院時の血液検査で HIV 抗体は陰性であり, 全身の画像検査で明らかな腫瘍病変は認められなかった.

III. 心嚢液, 胸水細胞像および免疫染色結果

心嚢液, 胸水ともに散在性に多数の大型の腫瘍細胞が認められた. Papanicolaou 染色でこれらの腫瘍細胞は微細なクロマチンをもつ辺縁不整な類円形の核を保持し細胞質は

A case of primary effusion lymphoma associated with human herpes virus 8 in an elderly HIV-seronegative male

Ken-ichirou YONEDA¹⁾, M.D., Shinobu UMEMURA¹⁾, M.D., Hitoshi ITOH²⁾, C.T., C.M.I.A.C., Akihiko SERIZAWA²⁾, C.T., I.A.C., Naruaki MATSUI²⁾, C.T., I.A.C., Youko MIYAJIMA²⁾, C.T., I.A.C., Masanori YASUDA¹⁾, M.D., Yoshiyuki OSAMURA¹⁾, M.D., F.I.A.C.¹⁾Department of Pathology, Tokai University School of Medicine²⁾Division of Diagnostic Pathology, Tokai University Hospital

論文別刷請求先 〒 259-1193 神奈川県伊勢原市望星台 東海大学医学部基盤診療学系病理診断学 米田玄一郎

平成 17 年 1 月 13 日受付

平成 17 年 4 月 28 日受理

Table 1 Results of special stainings

CD5	(-)	bcl-2	(-)
CD10	(-)	Lambda-chain	(-)
CD30	(+)	Kappa-chain	(+)
CD45	(+)	IgM	(+)
CD79a	(+)	EBV (LMP-1)	(+ : focal)
ALK	(-)	ISH-EBV	(+)
EMA	(-)	p53	(+ : 10%)
Cyclin-D1	(-)	MIB-1 index	80~90%

ALK : Anaplastic lymphoma kinase, EMA : Endothelial membrane antigen, EBV : Epstein-Barr virus, LMP-1 : latent membrane protein-1, ISH : *In situ* hybridization, (+) : positive, (-) : negative

Table 2 Flow cytometry analysis of pericardial fluid

CD10	1.4%	CD3	1.2%
CD19	95.1%	CD4	0.8%
CD20	81.4%	CD5	1.1%
CD22	97.7%	CD7	1.6%
CD23	39.6%	CD8	0.4%
CD45	100%	CD45RO	5.2%
CD38	99.9%	Kappa-chain	0.1%
CD30	35.1%	Lambda-chain	0.0%

比較的豊富であった。1~数個の明瞭な核小体が認められ核分裂像も散見された。さらに大型で多核の腫瘍細胞も少数認められた (Photo. 2)。Giemsa 染色では核異型や細胞質の豊富さが Papanicolaou 染色と比較してより強調される傾向があった (Photo. 3)。細胞診標本を用いた免疫染色でこれらの腫瘍細胞は CD20, HHV-8 が陽性 (Photo. 4, 5), CD45RO が陰性を示した。また胸水検体から作製したセルブロックを用いた免疫染色ではこれらの異型リンパ球は CD45, CD79a, CD30, 細胞膜表面 IgM, 細胞膜表面免疫グロブリン κ 鎖が陽性像を呈し, CD5, CD10, ALK (anaplastic lymphoma kinase), EMA (epithelial membrane antigen), bcl-2, cyclin-D1, 細胞膜表面免疫グロブリン λ 鎖は陰性であった。また増殖能を反映する MIB-1 (Ki-67) は 80~90% の細胞に陽性であった。p53 蛋白の過剰発現を認める細胞も約 10% 認められた。Epstein-Barr virus 感染に関する染色結果は LMP-1 (latent membrane protein) に対する免疫染色では一部の細胞が弱陽性を示したが, EBER (Epstein-Barr virus-encoded small mRNA) に対する *in situ* hybridization 法ではほぼすべての細胞が陽性像を呈した (Table 1, Photo. 6)。

IV. 表面抗原解析

心嚢液のフローサイトメトリー法による解析では腫瘍細胞は CD19, CD20, CD22, CD45 が陽性を示した (Table 2)。

V. 組織診所見

胸水貯留後約 11 ヶ月日に胸膜生検が行われたが結合組織と内皮細胞を認めるのみで腫瘍細胞は認められなかった。

VI. 転 帰

確定診断後、高齢者であることから副腎皮質ホルモンの投与のみが行われた。しかし心嚢液と胸水の貯留は継続し確定診断後 3 ヶ月、初発時から約 2 年の経過で死亡した。

VII. 考 察

原発性体腔液性リンパ腫 (Primary effusion lymphoma; PEL) は明らかな腫瘍病変が認められず体腔液内のみ出現する B 細胞性腫瘍であり、その発症には HHV-8 が高率に関与することが報告されている。新 WHO 分類においても腫瘍細胞の HHV-8 感染陽性とその定義となっている疾患である。現在までに報告された症例の多くは HIV 感染者や AIDS 発症者に生じているが、近年の報告例では HIV 感染陰性の症例が増加している^{1,4-9)}。その好発年齢は HIV 感染者が若年者から高齢者まで広汎に発症するのに比較し、HIV 陰性者では 70~80 歳代の高齢者に多い特徴がある。またその予後はきわめて不良でほぼすべての症例が確定診断後約 1 年以内に死亡する¹⁾。

腫瘍細胞は大型で明瞭な核小体と辺縁不整の核を保持している。細胞質は比較的豊富で核周明庭を伴う細胞も認められる。未分化大細胞性リンパ腫 (Anaplastic large cell lymphoma; ALCL) に認められる高度の異型を呈する大型の多核細胞や Hodgkin リンパ腫でみられる Reed-Sternberg 様細胞が認められることもまれではない。特に Giemsa 染色では核の異型性や細胞質の豊富さなどの特徴がより強調される傾向がある。表面抗原は一般に CD19, CD20, CD79a などの B 細胞表面抗原、細胞表面もしくは細胞質内の免疫グロブリンも陰性であり、リンパ球活性化の指標となる CD30 や形質細胞への分化を示唆する CD38 が陽性であることが多い^{1,10)}。免疫グロブリン遺伝子の再構成が認められることで B 細胞性腫瘍であることが特定されているが、本症例と本邦から報告されている症例^{7,11,12)}はいずれも B 細胞表面抗原が陽性である。現在、検索し得

た本邦における PEL の報告は 65 例と少数であり、欧米の症例との間に表面抗原の相違が存在するかどうかは現時点では不明である。また Epstein-Barr virus の感染は本症例ではセルブロックでの *in situ* hybridization 法によって確認することができた。現在までに報告された HHV-8 感染陽性症例には EBV 感染陽性症例、陰性症例のいずれもが報告⁴⁾されており PEL の発症に本質的な役割は果たしていないと考えられている。

体腔液細胞診標本で異型リンパ球が多数認められた場合、本疾患や鑑別診断として進行期の Hodgkin リンパ腫や ALCL が体腔液に認められるようになった症例をあげる必要がある。前者とは大型の多核細胞の背景に認められる細胞には異型が認められない点で鑑別可能である。しかし後者とはその細胞像がきわめて類似しているため Papanicolaou 染色標本での鑑別は困難であると予想される。そのため細胞診標本で免疫染色を併用することがより正確な診断に必要であると考えられた。

本疾患は HIV 感染者に発症する疾患としてその概念が確立されてきた。しかし症例数の増加に伴い、特に高齢者における HIV 感染陰性症例の報告が従来の HIV 感染者症例に代わって増加している。また HHV-8 感染陰性症例^{11,12)}も報告され、腫瘍病変を認める HHV-8 感染陽性悪性リンパ腫というべき症例¹³⁻¹⁵⁾も報告されるなど、当初の疾患概念と一致しない症例が増加している。現在の疾患概念の基となったのは欧米の HIV 感染陽性の症例であり、これらの概念に一致しない症例との共通点、相違点を明らかにしていく必要がある。今後 PEL の病態解明と新たな疾患概念の確立のためには、Papanicolaou 標本による診断だけでなく体腔液セルブロックを用いた免疫染色を併用することが重要であると考えられた。

本論文の要旨は第 43 回日本臨床細胞学会秋期大会（2004 年 11 月、東京）にて発表した。

Abstract

Background : We report a case of human herpes virus 8-associated primary effusion lymphoma in an elderly HIV-seronegative male, diagnosed through pericardial fluid and pleural effusion analysis.

Case : An HIV-seronegative 82-year-old man was diagnosed as having esophageal cancer 3 years ago, and was treated with local radiation therapy. Pericardial effusion and pleural effusion were detected by chest X-ray images 2 years ago. However, the origin of the pericardial effusion and pleural effusion could not be detected. He was admitted to our hospital with dyspnea and heart failure. Echo-

cardiography and chest X-ray photography showed massive pericardial fluid and pleural effusion. Pericardial and pleural drainages were performed. Cytological findings of the pericardial fluid and pleural effusion showed a large number of atypical lymphocytes, which were large and possessed irregular-formed nuclei with abundant cytoplasm. Multinucleated giant atypical lymphocytes were also found. These atypical lymphocytes were positive for CD20, HHV-8 and negative for CD45RO in immunocytochemical stainings of cytology preparations. The patient was diagnosed as having primary effusion lymphoma from these features.

Conclusion : Primary effusion is predominantly found in HIV-seropositive patients and rarely in HIV-seronegative patients. Immunocytochemical stainings of cytology preparations and cell blocks are useful in the diagnosis of primary effusion lymphoma.

文 献

- 1) Knowles, D.M., 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 Epstein-Barr virus. *Blood* 1989 ; 73 : 792~799.
- 2) Nador, R.G., Cesarman, E., Chadburn, A., Dawson, D.B., Ansari, M.Q., 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) Russo, J.J., Bohenzky, R.A., Chien, M.C., Chen, J., Yan, M., Madalena, D., et al. Nucleotide sequence of the Kaposi's sarcoma-associated herpes virus (HHV8). *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 14862~14867.
- 4) Boulanger, E., Hermine, O., Ferman, J.P., Radford-Weiss, I., Brousse, N., Meignin, V., et al. Human Herpesvirus 8 (HHV-8)-associated peritoneal primary effusion lymphoma (PEL) in two HIV-negative elderly patients. *Am J Hematol* 2004 ; 76 : 88~91.
- 5) Said, J.W., Tasaka, T., Takeuchi, S., Asou, H., Vos, S., Cesarman, E., et al. Primary effusion lymphoma in women : Report of two cases of Kaposi's sarcoma herpes virus-associated effusion-based lymphoma in Human immunodeficiency virus-negative women. *Blood* 1996 ; 88 : 3124~3128.
- 6) Cesarman, E., Chang, Y., Moore, P.S., Said, J.W., Knowles, D.M. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequence in AIDS-related body-cavity-based-lymphomas. *N Engl J Med* 1995 ; 332 : 1186~1191.
- 7) Okada, T., Takano, H., Tsutsumi, H., Kumakawa, T., Sawabe, M., Arai, T., et al. Body-cavity-based lymphoma in an elderly AIDS-unrelated male. *Int J Hematol* 1998 ; 67 : 417~422.
- 8) Ascoli, V., Scalzo, C.C., Danese, C., Vacca, K., Pistilli, A., Coco, F.L. Human herpes virus-8 associated primary effusion lymphoma of the pleural cavity in HIV-negative elderly men.

- Eur Respir J 1999 ; 14 : 1231~1234.
- 9) Cobo, F., Hernandez, S., Hernandez, L., Pinyol, M., Bosch, F., Esteve, J., et al. Expression of potentially oncogenic HHV-8 genes in an EBV-negative primary effusion lymphoma occurring in an HIV-seronegative patient. J Pathol 1999 ; 189 : 288~293.
- 10) Perez, C.L., Ruboy, S. Anti-CD20 monoclonal antibody treatment of human herpesvirus 8-associated, body cavity-based lymphoma with an unusual phenotype in a human immunodeficiency virus-negative patient. Clin Diagn Lab Immunol 2001 ; 8 : 993~996.
- 11) Nonami, A., Yokoyama, T., Takeshita, M., Ohshima, K., Kubota, A., Okamura, S. Human herpes virus 8-negative primary effusion lymphoma (PEL) in a patient after repeated chylous ascites and chylothorax. Internal Medicine 2004 ; 43 : 236~242.
- 12) Inoue, Y., Tsukasaki, K., Nagai, K., Soda, H., Tomonaga, M. Durable remission by sobuzoxane in an HIV-seronegative patient with human herpesvirus 8-negative primary effusion lymphoma. Int J Hematol 2004 ; 79 : 271~275.
- 13) DePond, W., Said, J.W., Tasaka, T., Vos, S., Kahn, D., Cesarman, E., et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus and human herpes virus 8 (KSHV/HHV8)-associated lymphoma of the bowel ; report of two cases in HIV-positive men with secondary effusion lymphoma. Am J Surg Pathol 1997 ; 21 : 719~724.
- 14) Katano, H., Suda, T., Morishita, Y., Yamamoto, K., Hoshino, Y., Nakamura, K., et al. Human herpes virus 8-associated solid lymphomas that occur in AIDS patients take anaplastic large cell morphology. Mod Pathol 2000 ; 13 : 77~85.
- 15) Oksenhendler, E., Boulanger, E., Galcier, L., Du, M.Q., Dupin, N., Diss, N.D., et al. High incidence of Kaposi's sarcoma-associated herpes virus-related non-Hodgkin's lymphoma in patients with HIV infection and multicentric Castleman's disease. Blood 2002 ; 99 : 2331~2336.

Photo. 1 Echocardiogram shows massive pericardial effusion.

Photo. 2 Cytological findings of the pericardial fluid. Lymphoma cells are characterized by enlarged and irregular-formed nuclei with prominent nucleoli a). Multinucleated giant lymphoma cells are seen b). (Pap. stain, $\times 100$).

Photo. 3 Cytological findings of the pericardial fluid. Lymphoma cells are characterized by enlarged and irregular-formed nuclei with an abundant cytoplasm. Mitotic figures are occasionally seen (Giemsa stain, $\times 100$).

Photo. 4 Immunocytochemical staining for anti-CD20 antibody. Positive reactions are present at the surface membrane ($\times 100$).

Photo. 5 Immunocytochemical staining for anti-HHV-8 antibody. Positive reactions are present at the nuclei ($\times 100$).

Photo. 6 *In situ* hybridization for Epstein-Barr virus encoded small mRNA (EBER). Positive reactions are present at the nuclei ($\times 100$).