十二指腸濾胞性リンパ腫は AID の発現を欠くが BACH2 の発現を有し memory B 細胞としての性質を有する

高田 尚良^{a*}, 佐藤 康晴^a, 中村 直哉^b, 徳中 摩美^b, 三木由香里^c, 菊池 イアーラ幸江^b, 五十嵐和彦^d, 伊藤 悦郎^e, 張 替秀雄^f, 加藤 省一^g, 林 詠子^a, 岡 剛史^a, 星井 嘉信^h, 田利 晶ⁱ, 岡田 裕之^j, ABD Alkader Lamia Mohamado^a, 前田 嘉信^k, 谷本 光音^k, 木下 朝博^l, 吉野 正^a

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 ^a病理学（腫瘍病理）, ^k血液・腫瘍・呼吸器内科学, ^b東海大学医学部 病理診断学講座, ^c香川保健医療短期大学 検査部, 東北大学大学院医学系研究科 ^d生物化学分野, ^f血液・免疫病学分野, ^e弘前大学医学部 小児科学, ^g名古屋大学病院 病理部, ^h山口大学医学部 病理学, ⁱ広島赤十字・原爆病院 消化器内科, ^j岡山大学病院 光学診療部, ^l愛知がんセンター 血液細胞療法部

キーワード: follicular lymphoma, gastrointestinal tract, BACH2, memory B cell

Duodenal follicular lymphoma lacks AID but expresses BACH2 and has memory B cell characteristics

Katsuyoshi Takata^{a*}, Yasuharu Sato^a, Naoya Nakamura^b, Mami Tokunaka^b, Yukari Miki^c, Yara Yukie Kikuti^b, Kazuhiko Igarashi^d, Etsuro Ito^e, Hideo Harigae^f, Seiichi Kato^g, Eiko Hayashi^a, Takashi Oka^a, Yoshinobu Hoshii^h, Akira Tariⁱ, Hiroyuki Okada^j, Abd Alkader Lamia Mohamad^a, Yoshinobu Maeda^k, Mitsune Tanimoto^k, Tomohiro Kinoshita^l, Tadashi Yoshino^a

Departments of ^aPathology, ^kHematology, Oncology and Respiratory Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ^bDepartment of Pathology, Tokai University School of Medicine, ^cDepartment of Medical Technology, Kagawa Prefectural University of Health Sciences, ^dDepartment of Biochemistry, ^fDivision of Hematology and Rheumatology, Tohoku University Graduate School of Medicine, ^eDepartment of Pediatrics, Hirosaki University Graduate School of Medicine, ^gDepartment of Pathology and Laboratory Medicine, Nagoya University Hospital, ^hDepartment of Pathology, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, ⁱDivision of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Hiroshima Red Cross Hospital & Atomic-Bomb Survivors Hospital, ^jDepartment of Endoscopy, Okayama University Hospital, ^lDepartment of Hematology and Cell Therapy, Aichi Cancer Center

はじめに

濾胞性リンパ腫は代表的な低悪性度B細胞性リンパ腫の一亜型であり、濾胞辺縁帯リンパ腫に次ぐ高い頻度となっている。大部分はリンパ節に発生するが、消

化管、甲状腺、唾液腺、皮膚などの節外にも発生し、とりわけ消化管に発生する濾胞性リンパ腫は節外性の中で最も頻度が高い。また、近年消化管内視鏡で偶然発見される機会が増加しており、消化管濾胞性リンパ腫の頻度自体の増加が見られる。我々はこれまでに消化管濾胞性リンパ腫は十二指腸に高率に発生し、その大部分が小腸に広範に分布していることを報告した（図1）¹⁾。また、節性の濾胞性リンパ腫と異なり、濾胞樹状細胞が特徴的なパターンを示すこと、AIDの発現を欠くこと、免疫グロブリン VH 遺伝子に特定の偏

平成25年5月受理

*〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7150 FAX：086-235-7156

E-mail: katsuyoshi.t@dion.ne.jp

プロフィール

高田 尚良

昭和53年生まれ

平成16年3月 岡山大学医学部医学科卒業

平成16年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科入学

平成16年4月 財団法人永頼会松山市民病院 総合診療科勤務

平成18年3月 財団法人永頼会松山市民病院 総合診療科退職

平成19年4月 医療法人杏仁会 松尾内科病院勤務

平成22年3月 医療法人杏仁会 松尾内科病院退職

平成22年3月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科修了

平成22年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 病理学（腫瘍病理）助教
現在に至る

図1 多施設共同研究による全消化管での濾胞性リンパ腫の分布 (stage I, II 1 症例)
 十二指腸下行脚を中心に小腸に広く分布することが判明した。(文献1より一部改変)

りがあり、十二指腸濾胞性リンパ腫が MALT リンパ腫に近い性質を有していることを報告した²⁾。消化管濾胞性リンパ腫は頻度は低いが大腸に発生することもあり、十二指腸病変を含めてその臨床病理学的特徴を検討した。

消化管濾胞性リンパ腫の内視鏡像と病理組織学的特徴

消化管濾胞性リンパ腫は、典型的には肉眼的に白色小顆粒状隆起を呈し、消化管に多発小ポリープを形成することが多い³⁾。多施設共同研究による結果では、十二指腸濾胞性リンパ腫は肉眼的に白色小顆粒状隆起を呈することが多い (図2A)。一方で、胃・大腸に発生する濾胞性リンパ腫では、その肉眼像は多彩であり、腫瘤型、潰瘍型などの肉眼像を呈していた。中にはⅡc様病変の形態像を呈するものも存在した¹⁾。

病理組織学的には、十二指腸と胃・大腸のものではその存在部位に違いがある。十二指腸濾胞性リンパ腫では、粘膜固有層主体に病変が存在するのに対し、胃・大腸では固有筋層から漿膜下層の深部にまで腫瘍細胞が及ぶものが多い。構成する腫瘍細胞は、小型から中型までのリンパ腫細胞より成り、これらが結節状構造をとって monotonous に増生する (図2B-D)。Grade は大部分の症例において1～2の low grade である。また十二指腸においては、これらの腫瘍細胞が villi 内に高率に存在することが形態的な特徴である。

免疫組織化学による特徴として、節性の濾胞性リンパ腫と同様にB細胞マーカーおよびCD10, BCL 2が

陽性となる。また、節性濾胞性リンパ腫で腫瘍細胞の増殖に必要とされ⁴⁾、通常腫瘍細胞との meshwork を形成する濾胞樹状細胞は十二指腸濾胞性リンパ腫症例ではその発現は約9割の症例で腫瘍結節辺縁に存在し、特徴的なパターンをとることを報告した²⁾。節性においては、少数例ではあるが通常の meshwork を形成しない症例が存在することがあり、十二指腸例と同様のパターンを呈するものもある。胃原発濾胞性リンパ腫、大腸原発濾胞性リンパ腫は十二指腸に比べると圧倒的に頻度は低いが存在することが知られている。胃濾胞性リンパ腫8例、十二指腸濾胞性リンパ腫17例、大腸/直腸濾胞性リンパ腫5例で濾胞樹状細胞の発現を検討した結果、十二指腸濾胞性リンパ腫は高率に腫瘍結節辺縁に存在する (duodenal pattern) をとり、胃・大腸/直腸症例では節性のものと同様のパターン (nodal, intermediate pattern) をとることが判明した⁵⁾ (図2E-G)。このように、十二指腸と胃・大腸には濾胞樹状細胞の発現パターンに明確な違いが存在し、消化管全体で考えても heterogeneity が存在し、十二指腸濾胞性リンパ腫が特異的な存在であることが示唆される。

消化管濾胞性リンパ腫における AID, BACH2 の発現の検討

AID 分子はB細胞の免疫グロブリン遺伝子の class switch および somatic hypermutation に必須とされる分子であり、正常では胚中心B細胞において高発現

図2 消化管濾胞性リンパ腫の内視鏡像，組織像

A：内視鏡像。白色小顆粒状隆起が多発する像が典型的である。B，C：胃濾胞性リンパ腫，大腸濾胞性リンパ腫の組織像。固有筋層から漿膜下層まで腫瘍細胞が存在していた。D：十二指腸濾胞性リンパ腫の組織像。典型的には粘膜固有層までに腫瘍結節が存在する。E，F，G：消化管濾胞性リンパ腫におけるCD21（濾胞樹状細胞）の発現パターン。十二指腸（E）では腫瘍辺縁にのみ陽性所見が見られるのに対し，胃（F），大腸（G）では節性と同様に腫瘍細胞に meshwork が存在する。

図3 十二指腸濾胞性リンパ腫におけるBACH2，CD27の発現

A：BACH2免疫染色像。腫瘍細胞は陽性であるが，腫瘍結節の辺縁と villi のみが陽性となっている。B，C：BACH2 *in situ* hybridization。免疫染色結果と同様に mRNA も同様の発現パターンを呈していた。D：CD27免疫染色像。十二指腸濾胞性リンパ腫ではCD27は高率に陽性像を呈した。

する⁶⁾。この AID 分子は節性濾胞性リンパ腫とは異なり、十二指腸濾胞性リンパ腫においては高率に発現低下している²⁾。一方で、この AID と同様に class switch, somatic hypermutation に関与される分子として BACH2 が知られている。節性の濾胞性リンパ腫においては、この BACH2 も高発現するが、胃、十二指腸、大腸濾胞性リンパ腫において、これらの分子の発現を検討すると、胃、大腸 / 直腸濾胞性リンパ腫においては節性と同様に AID, BACH2 は高率に発現するのに対し、十二指腸では AID の発現を欠くにも関わらず、BACH2 の発現が高率に確認された (17例中14例)。さらに、BACH2 発現の見られた14例の十二指腸濾胞性リンパ腫症例においては、そのうち半数の7例において腫瘍濾胞の辺縁と villi 内の腫瘍細胞に陽性所見があり、腫瘍濾胞内部は陰性となるあたかも濾胞樹状細胞と同様のパターンを呈する像をとることが判明した (図3A)。In situ hybridization 法による BACH2 の mRNA レベルでの発現を検討でも免疫染色と同様のパターンを呈することが確認された (図3B, C)。これまでの報告から、十二指腸濾胞性リンパ腫では節性濾胞性リンパ腫と同様、ongoing mutation が存在することが判明しており、節性濾胞性リンパ腫では AID 分子が ongoing mutation と関与しているという報告もある⁷⁾。BACH2 遺伝子は一般的に AID 遺伝子の補助的な役割を果たすと考えられているが、十二指腸濾胞性リンパ腫においては、この BACH2 が AID と相補的な役割を果たすのではないかと考えている。また、腫瘍発生については、腫瘍化した濾胞が expand して villi 内に進展したという考え方と、villi で特定の抗原刺激を受けた細胞が腫瘍化して、それらが腫瘍結節を形成するという2通りの発生パターンが考えうる。節性濾胞性リンパ腫における BACH2 の発現パターンは陽性例においては全例腫瘍結節全体が陽性となり、十二指腸濾胞性リンパ腫においての villi と腫瘍結節辺縁のみに陽性となるパターンは特徴的な所見と考え、villi, 腫瘍濾胞辺縁, 腫瘍濾胞中心部で何らかの分子生物学的な違いがある可能性が考えられる。しかし、この腫瘍発生については明確な証拠を得るには至っておらず、今後の検討が望まれるところである。

十二指腸濾胞性リンパ腫の細胞起源の検索

これまでの25例の十二指腸濾胞性リンパ腫における免疫グロブリン VH 遺伝子の検索結果から、13例 (52

%) が VH 3, 8例 (32%) が VH 4, 4例 (16%) が VH 5 と VH 4, VH 5 への偏りがあることが判明した^{2,8)}。さらに、VH 3, VH 4, VH 5 の family においても VH 3-23, VH 3-73, VH 4-34, VH 5-51 は 2 ~ 3 例で共通して検出されており、数多くの VH 遺伝子 family の中でこのように共通して検出されることは、背景に何らかの共通した抗原刺激が示唆されると考えている。一方で、節外性の MALT リンパ腫 (眼付属器, 胃, 甲状腺, 肺) においてのこれまでの VH 遺伝子の検索結果では、いずれも VH 4 への偏りが確認されている⁹⁻¹¹⁾。いずれの節外性臓器においても、MALT リンパ腫の発生母地として抗原刺激 (胃では *H. pylori* による慢性胃炎の関与, 眼付属器では *Chlamydia psittaci* による慢性炎症の関与, 甲状腺では橋本病による慢性甲状腺炎の関与など) が関わっているということが知られており、十二指腸濾胞性リンパ腫が MALT リンパ腫に類似した腫瘍発生の背景を持っていることが示唆される。

また、現行の WHO 分類において B 細胞性リンパ腫はその細胞起源について胚中心を視点の中心においてそれより分化段階が前にあるもの、胚中心由来のもの、胚中心よりも後に分化段階があるもので大きく分けられている¹²⁾。節性濾胞性リンパ腫は、一般的に胚中心 B 細胞由来と考えられており、免疫グロブリン遺伝子の ongoing mutation が存在することが知られている。正常の胚中心で教育を受け生き残った B 細胞は形質細胞あるいは memory B 細胞へと分化するが、mutation の起こった memory B 細胞は TNF レセプターファミリーの一つである CD27 分子を発現するために、CD27 は memory B 細胞のマーカーとして知られている。我々は節性濾胞性リンパ腫、消化管濾胞性リンパ腫、MALT リンパ腫についてこの CD27 の発現を検討した。節性濾胞性リンパ腫16例においては、CD27 の発現は全例で陰性であった。これに対し、消化管濾胞性リンパ腫では、特徴的な結果が得られた。すなわち、胃濾胞性リンパ腫は8例中1例が陽性、十二指腸濾胞性リンパ腫は17例中15例が陽性、大腸 / 直腸濾胞性リンパ腫は5例中1例が陽性となり、十二指腸濾胞性リンパ腫において高率に CD27 の発現あることが判明した⁵⁾。また、一方で MALT リンパ腫5例では4例に CD27 が陽性であった (図3D)。十二指腸濾胞性リンパ腫におけるこれまでの mutation の検索の結果から、節性の濾胞性リンパ腫と同様に somatic hypermutation と

ongoing mutation が存在することが分かっており、それにも関わらず MALT リンパ腫同様に memory B 細胞のマーカーを高率に発現することから、十二指腸濾胞性リンパ腫の細胞起源としては、germinal center, post germinal center の中間部分にあたるのではないかと考えている。

おわりに

消化管濾胞性リンパ腫、特に十二指腸濾胞性リンパ腫は、分子生物学的な観点や腫瘍細胞の起源の観点からその存在が非常に特徴的な存在であることが判明しつつある。しかし、何故、消化管に限局する症例が多く十二指腸に好発するのか、またその病因は何か、どのような病態が非常に indolent な経過を引き起こすのかについては未だに不明である。今後さらなる長期 follow-up のデータ集積や、網羅的な遺伝子発現解析による病態解明が望まれると考える。

文 献

- 1) Takata K, Okada H, Ohmiya N, Nakamura S, Kitadai Y, Tari A, Akamatsu T, Kawai H, Tanaka S, Araki H, Yoshida T, Okumura H, et al. : Primary gastrointestinal follicular lymphoma involving the duodenal second portion is a distinct entity : A multicenter, retrospective analysis in Japan. *Cancer Sci* (2011) 102, 1532-1536.
- 2) Takata K, Sato Y, Nakamura N, Kikuti YY, Ichimura K, Tanaka T, Morito T, Tamura M, Oka T, Kondo E, Okada H, Tari A, et al. : Duodenal and nodal follicular lymphomas are distinct : the former lacks activation-induced cytidine deaminase and follicular dendritic cells despite ongoing somatic hypermutations. *Mod Pathol* (2009) 22, 940-949.
- 3) Kodama M, Kitadai Y, Shishido T, Shimamoto M, Fukumoto A, Masuda H, Tanaka S, Yoshihara M, Sakai A, Nakayama H, Chayama K : Primary follicular lymphoma of the gastrointestinal tract : a retrospective case series. *Endoscopy* (2008) 40, 343-346.
- 4) Kagami Y, Jung J, Choi YS, Osumi K, Nakamura S, Morishima Y, Seto M : Establishment of a follicular lymphoma cell line (FLK-1) dependent on follicular dendritic cell line HK. *Leukemia* (2001) 15, 148-156.
- 5) Takata K, Sato Y, Nakamura N, Tokunaka M, Miki Y, Yukie Kikuti Y, Igarashi K, Ito E, Harigae H, Kato S, Hayashi E, Oka T, et al. : Duodenal follicular lymphoma lacks AID but express BACH2 and has memory B-cell characteristics. *Mod Pathol* (2013) 26, 22-31.
- 6) Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T : Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell* (2000) 102, 553-563.
- 7) Lossos IS, Levy R, Alizadeh AA : AID is expressed in germinal center B-cell like and activated B-cell like diffuse large-cell lymphomas and is not correlated with intracrine heterogeneity. *Leukemia* (2004) 18, 1775-1779.
- 8) Sato Y, Ichimura K, Tanaka T, Takata K, Morito T, Sato H, Kondo E, Yanai H, Ohara N, Oka T, Yoshino T : Duodenal follicular lymphomas share common characteristics with mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas. *J Clin Pathol* (2008) 61, 377-381.
- 9) Takada S, Yoshino T, Taniwaki M, Nakamura N, Nakamine H, Oshima K, Sadahira Y, Inagaki H, Oshima K, Tadaatsu A : Involvement of the chromosomal translocation t (11 ; 18) in some mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas and diffuse large B cell lymphomas of the ocular adnexa : evidence from multiplex reverse transcriptase -polymerase chain reaction and fluorescence in situ hybridization on using formalin-fixed, paraffin embedded specimens. *Mod Pathol* (2003) 16, 445-452.
- 10) Sakugawa ST, Yoshino T, Nakamura S, Inagaki H, Sadahira Y, Nakamine H, Okabe M, Ichimura K, Tanimoto M, Akagi T : API2-MALT1 fusion gene in colorectal lymphoma. *Mod Pathol* (2003) 16, 1232-1241.
- 11) Sato Y, Nakamura N, Nakamura S, Sakugawa S, Ichimura K, Tanaka T, Ohara N, Oka T, Kondo E, Yoshino T : Deviated VH4 immunoglobulin gene usage is found among thyroid mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas, similar to the usage at other sites, but is not found in thyroid diffuse large B-cell lymphomas. *Mod Pathol* (2006) 19, 1578-1584.
- 12) Harris NL, Swerdlow SH, Jaffe ES, Ott G, Nathwani BN, de Jong D, Yoshino T, Spagnolo D : Follicular lymphoma ; in : WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds), Lyon, IARC (2008) pp.220-226.