True Biclonal Lymphoma の 1 例

- 1) 大阪赤十字病院内科
- 2) 同 耳鼻科
- 3) 同 病理部
- 4) 京都大学医学部第一内科

友野 尚美¹⁾, 中坊 幸晴¹⁾, 那須 芳¹⁾, 赤坂 清司¹⁾,
 岡部かよ子²⁾, 枝村 節子³⁾, 佐々木正道³⁾, 有田 裕⁴⁾,
 尼川 龍一⁴⁾, 福原 資郎⁴⁾

(1989年 1 月 6 日受付)
 (1989年 3 月 2 日受理)

A Case of True Biclonal Lymphoma

Naomi Tomono¹⁾, Yukiharu Nakabou¹⁾, Kaori Nasu¹⁾, Kiyoshi Akasaka¹⁾, Kayoko Okabe²⁾,
 Setsuko Edamura³⁾, Masamichi Sasaki³⁾, Yuu Arita⁴⁾, Ryuichi Amakawa⁴⁾, Shirou
 Fukuhara⁴⁾

- 1) Department of Internal Medicine, Osaka Red Cross Hospital, Osaka
- 2) Department of Otolaryngology, Osaka Red Cross Hospital, Osaka
- 3) Department of Cytology and Pathology, Osaka Red Cross Hospital, Osaka
- 4) The First Division of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto

By examination of both protein markers (cell-surface immunoglobulin) and DNA markers (immunoglobulin-gene rearrangements), "biclonal B-cell lymphoma" was proposed. However, the further investigation revealed that genotypic and phenotypic biclonal B cell lymphomas were derived from a single progenitor cell. We present here a case of true biclonal B-cell lymphoma, in which change in clones occurred accompanied by the morphologic transformation of follicular lymphoma to diffuse lymphoma.

A 59-year-old Japanese male was found to have right-sided cervical lymphadenopathy and tonsillar swelling. In April, 1986, a cervical lymph node biopsy was performed and was interpreted as showing malignant lymphoma, follicular mixed small cleaved cell and large cell. The lymphoma cells expressed monoclonal surface immunoglobulins and they had a karyotype of 47, XY, +12, t(3;14) (q27;q32). He was diagnosed as having the clinical stage II disease and he received treatment of irradiation. After a remission of 18 months duration, again he noticed lymph node swelling on the both-sided cervical region, and was readmitted to our hospital because of increasing difficulty in breathing. In February, 1988, he underwent an emergency tracheotomy and the second lymph node biopsy, which revealed malignant lymphoma, diffuse large cell. The lymphoma cells did not express any surface immunoglobulin. However, they were shown to be of B cell origin by the positive reaction to monoclonal antibodies of CD19(B4), CD20(B1), and CD21(B2). And the modal

karyotype was 48, XY, +21, t(2;7) (q31;q34), +der(7) t(2;7) (q31;q34). The patient was treated with a variety of combination chemotherapies, initially with VEPA followed by intermediate dose of MTX combined with other cytotoxic drugs. But the tumor was refractory to these treatments, and his condition rapidly deteriorated and he died of respiratory insufficiency in September, 1988. Southern blot analysis of immunoglobulin heavy chain gene, using the JH region probe, indicated the differently rearranged configurations before and after the histologic transformation. Therefore, this is the first case of transformed follicular lymphoma in which the tumor clone changed.

Keywords: “biclinal B-cell lymphoma”, morphologic transformation, change of karyotype [t(3;14)→t(2;7)], immunoglobulin gene rearrangement,

結 言

非 Hodgkin リンパ腫，とりわけ沱胞性リンパ腫には，経過中に組織病変の変化を示し，臨床病態の悪化を表わす症例がしばしば存在する^{1)~5)}。

Stanford 大学の一派は，この様な症例について免疫グロブリン遺伝子の DNA 解析を行ない，その成績より腫瘍クローンの変換を意味する，“Biclinal B-cell Lymphoma”の名称を与えた⁶⁾⁷⁾。しかし最近の報告によれば，その様な彼らの症例はいずれも“Single cell origin of bigenotypic and biphenotypic”であったことが証明され“Biclinal Lymphoma”の概念の論拠は消失したかにみえる⁸⁾。

今回私達は，臨床経過の途中，組織病変の変化に伴う腫瘍クローンの変換を直接証明しえた沱胞性リンパ腫の一例を経験したので，“True Biclinal Lymphoma”としてその詳細を報告する。

症 例

患者：59歳 男性

主訴：頸部リンパ節腫脹

家族歴：父親が脳出血死

個人歴：大阪市に生れ，綿製品梱包業に従事する。酒は飲まず，タバコは1日に7～8本。薬物の常用なく，動物の飼育，海外渡航の経験もない。

既往歴：50歳の時，胃癌にて胃全摘術を受く。輸血および，術後化学療法は受けていない。

現病歴：1986年3月頃より，右頸部リンパ節および右口蓋扁桃の腫脹に気づき，当院受診。4月4日，外来にて右頸部リンパ節生検を施行し，沱胞性リンパ腫と診断され，同年4月22日，精査，治療目的にて入院した。

入院時現症：154cm，51kgの小柄で体格良好な男

性。意識は清明。血圧140/100mmHg，脈拍84/分，整。皮疹，貧血，黄疸を認めない。右頸部に手術創および直径1～2cmの腫大するリンパ節4個を触知，また右口蓋扁桃が腫大する。左頸部，両腋窩，そけい部にはリンパ節を触知しない。心肺に異常を認めず。上腹部に手術創を認めるが，肝脾は触知せず。また腹部に腫瘤，腹水は認めない。四肢に異常なく，神経学的に正常である。

入院時検査所見：尿，便に異常を認めず。赤沈（1時間値）25mm。CRP 0.6↓mg/dl。一般血液検査上，白血球数 $61 \times 10^3/\text{mm}^3$ （分画：stab. 5%，seg. 70%，baso. 1%，mono. 4%，lym. 20%），赤血球数 $500 \times 10^4/\text{mm}^3$ ，血色素量11.3g/dl，MCV 77fl，MCH 22.1rr，血小板数 $66.9 \times 10^4/\text{mm}^3$ ，また骨髓穿刺所見に異常を認めない。血清学的検査ではASLO（-），RA（-），寒冷凝集反応1：20↓，ポウルブルネル反応1：20↓，トキシテスト1：16↓，またIgG 1430mg/dl，IgA 354mg/dl，IgM 120mg/dl。生化学的検査上，GOT 30 IU/dl，GPT 15 IU/dl，T. Bili. 0.5mg/dl，ALP 276 IU/l，ChE 0.88△PH，LDH 540 IU/l，総蛋白8.2g/dl，アルブミン4.4g/dl，BUN 21mg/dl，血清クレアチニン1.2mg/dl，尿酸5.5mg/dl，電解質に異常を認めない。ICG（R₁₅）7%，止血系に異常なし。CEA 2.8ng/ml，血清フェリチン7.8ng/ml，HB_s抗原（-），HB_s抗体（+），（24196 cpm/294cpm），HB_c抗体97.2%，HIV（-），HTLV-I（-）。

画像診断上，胸腹部XP，CTに異常を認めず。腹部超音波正常。Gaシンチグラム上，右頸部にGaの集積を認める。骨シンチグラム，肝シンチグラムは正常である。

臨床経過：以上より，臨床病期II Aにある沱胞性リンパ腫との診断に基づいて，Waldeyer 輪，右頸部

図1 第1回入院時経過

EB virus は既感染, Co 照射前後での細胞性免疫能は正常。

図2 第2回入院時経過

を中心に計60GyのCo照射療法を施行し、18カ月間の完全寛解を得た。Co照射前後の細胞性免疫能に異常は認めず、EB virus 抗体価は既感染正常者パターンを示した。1987年12月頃より両頸部リンパ節および左口蓋扁桃が再び急速に腫大し、1988年2月5日

呼吸困難を訴え、緊急入院の上、気管切開術を受けるに至った。同月19日、第2回リンパ節生検を施行し、びまん性リンパ腫の診断を受けた。VEPA療法を8コース施行したが良好な反応が得られず、salvage療法として中等量MTXとの交代併用療法(C

図3 沝胞性リンパ腫 (弱拡大)
沝胞構造は大小不同でやや不整形。

図4 図3の強拡大
大型細胞と中型細胞が混在している。×120

-VAMP)を3コース行っても寛解に至らなかった。同年6月より腫瘍の増悪がみられ、VP16などの抗癌剤にも反応せず、呼吸不全により同年9月28日死の転帰をとった。

腫瘍組織細胞の検索：第1回(1986年4月4日)、および第2回(1988年2月19日)の生検試料について以下の所見を得た。

1. 病理組織像(図3, 4および図5, 6)

第1回生検組織診断：沝胞性リンパ腫，混合型。大小不同，不整形の沝胞様構造を形成し増殖する腫瘍組織には，不規則な切れこみのある核に小さく不明瞭な核小体をもつ中型細胞と，類円型の核の中に比較的明瞭な核小体をもつ大型細胞が混在している。(これらの腫瘍細胞はMB-1陽性，MT-1陰性である。)

第2回生検組織診断：びまん性リンパ腫，大細胞型。びまん性に増殖する腫瘍細胞は，比較的豊富な胞体をもち大型である。核は類円型で明るく，好酸性に染まる明瞭な核小体を通常1個認めるが，多核または多形性核をもつ大型細胞も少数混在する。これらの腫瘍組織は部分的に好酸球の浸潤が著明である。(腫瘍細胞はMB-1陽性，MT-1陰性である。)

2. 細胞表面形質

第1回および第2回生検組織より得られた腫瘍細胞の表面マーカーは，表1に示される如く，ともにB細胞の形質を示した。しかし初回腫瘍細胞の膜上に発現された単クローン性免疫グロブリン(k , μ)は，第2回生検時には認められなかった。

3. 染色体分析(図7, 8)

第1回生検(初発)時の腫瘍細胞は，共通して47, XY, +12, t(3;14)(q27;q32)の核型異常を示し，いわゆる14q32転座型腫瘍の範疇に属す⁹⁾。一方再発時の腫瘍に認められたクローン性核型異常は，48, XY, +21, t(2;7)(q31;q34), +der(7)t(2;7)(q31;q34)であり，初発時の腫瘍クローンは全く異なる核型構成を示した。

4. 免疫グロブリン重鎖遺伝子のDNA解析¹⁰⁾¹¹⁾

BamH I消化では，第1回，第2回生検試料にて2本のJ_H再構成バンドを認めた。Hind III消化では第1回生検試料で2本，第2回生検時には3本の再構成バンドが検出された(図9)。

これらの制限酵素処理断片にみられた再構成バンドは，それぞれ異なるサイズに位置していた。

図5 び慢性リンパ腫 (弱拡大)

図6 図5の強拡大
細胞は大型で核小体が目立つ。×120

表1 表面形質分析結果

	初発	再発
CD 2 (E-R)	11%	3%
CD16 (Fc γ R)	87	2
CD35 (C $_3$ bR)	2	
HLA-DR	92	95
SIg k	93	4
λ	6	1 ↓
γ	89?	5
μ	91	1 ↓
α	1 ↓	0
δ	8	0
CD20 (B $_1$)	88	93
CD21 (B $_2$)		78
CD19 (B $_4$)		70
CD 5 (Leu 1)	11	5
CD10 (Nu-N $_1$)	1	0
CD14 (My4)		0
CD13 (MCS2)	0	1 ↓
CD25 (Tac)	1	0
CD 3 (OKT3)	11	
CD 4 (OKT4)	6	
CD 8 (OKT8)	5	
CD 7 (WT-1)	14	2

考 案

悪性リンパ腫の分類は、腫瘍クローンの細胞形態とその増殖様式を反映した組織像に基づく。腫瘍病変が一様でない場合には、その病変を最も的確に表現する診断名が与えられる⁴⁾⁵⁾。例えば、一つの組織病変に異なる細胞成分や異なる増殖様式を認める時は composite lymphoma¹²⁾、同時に生検された複数の病変がそれぞれ異なる組織型を示す場合には discordant lymphoma¹³⁾、そして臨床経過中に組織病変の変化を示す汙胞性リンパ腫には transformed follicular lymphoma⁵⁾などの診断名が与えられる。ここに提示した症例は、初診時、汙胞性リンパ腫混合型の組織診断を受けたが、再発時にはびまん性リンパ腫大細胞型へと組織病変の変化を示した。したがって、本症例は形態学的には transformed follicular lymphoma に一致する⁵⁾。

図7 第1回生検時のクローン性核型異常

47, XY, +12, t(3;14)(q27;q32)。

図8 第2回生検時のクローン性核型異常

48, XY, +21, t(2;7)(q31;q34), +der(7)t(2;7)(q31;q34)。

図9 Ig 遺伝子 DNA 解析

Bam HI 消化では、第1回、第2回とも2本のJH再構成バンドを、Hind III 消化では、第1回2本、第2回3本の再構成バンドを認め、各々異なるサイズに位置する。

(—: germline バンド ◀: 再構成バンド)

腫瘍クローンの同定は、モノクローナル抗体による細胞表面形質の検索や免疫遺伝子のDNA解析、そして染色体分析による核型異常の検出により可能である。最近、Stanford大学一派は、B細胞性リンパ腫における免疫グロブリン(Ig)遺伝子のDNA解析を行い、組織変化を来した7例中3例(43%)の症例に異なる再構成バンドを見出し、biclonalリンパ腫の名称を与えた⁶⁾⁷⁾。その後、彼らは、この様なIg遺伝子の変化は体細胞突然変異によるものであり、機能遺伝子の解析のみではbiclonalityの証明にはならないことを報告している⁸⁾。本症例においては、初診時の濾胞性増殖を示す腫瘍細胞は3番染色体と14番染色体との転座[t(3;14)(q27;q32)]をクローン性構造異常としたが、再発時のびまん性増殖をもつ腫瘍クローンは全く異なる核型異常を示し、2番と7番染色体との転座[t(2;7)(q24;

q31)]を特徴としていた。さらに、核型異常をもつそれぞれのB細胞性腫瘍クローンは、異なる細胞表面形質と異なるIgH遺伝子の再構成バンドを示した。したがって、本症例は、組織病変の変化に伴う腫瘍クローンの変換を直接証明しえた初めての報告である。

濾胞性リンパ腫の多発する米国では、この悪性リンパ腫をもつ30%から40%の症例にtransformed follicular lymphomaがみられ³⁾⁵⁾、経時的には初診診断から5年で20%、8年で60%の危険率があるという⁴⁾。この様な組織病変の変化は、治療の有無に関わらず観察されることから濾胞性リンパ腫の自然史として認識されている⁵⁾。米国人濾胞性リンパ腫における腫瘍クローンは、14番と18番染色体長腕間の相互転座[t(14;18)(q32;q21)]を特徴とすることが多数例において証明され¹⁴⁾¹⁵⁾、transformed

表 2 本症例の要約

	第 1 回生検 (S 61.4.4)	第 2 回生検 (S 63.2.9)
部 位	右口蓋扁桃 右頸部リンパ節	左口蓋扁桃 左右頸部リンパ節
病 期	CS II A	CS II A
組 織 像	F. mixed type	D. large cell type
表 面 形 質	Fcγ ⁺ , HLA-DR ⁺ , B ₁ ⁺ SIg(k, γ and μ) ⁺	Fcγ ⁻ , HLA-DR, B ₁ ⁺ , B ₂ ⁺ , B ₄ ⁺ , SIg ⁻
染 色 体 分 析	47, XY, +12, t(3 ; 14) (q27 ; q32)	48, XY, +21, t(2 ; 7) (q31 ; q34), +der(7) t(2 ; 7) (q31 ; q34)
免疫グロブリン 遺伝子再編成	Bam HI, Hind III digest, JH probe にて異なる再編成バンドを認めた	
治 療	Co 照射60Gy	化学療法 (VEPA, cVAMP, VP16 他)
転 帰	CR (18M)	治療抵抗性, 死亡

follicular lymphoma の症例においても DNA 解析によってこの14 q 32転座様式が高率に確認されている¹⁶⁾¹⁷⁾。最近、日米両国から汙胞性リンパ腫の組織像の変化を t (14 ; 18)型腫瘍クロンの核型進化から説明する試みがなされ¹⁵⁾¹⁸⁾、邦人例では t (14 ; 18)から生じる18 q -染色体複製との関連が指摘されている¹⁸⁾。しかし、本邦における汙胞性リンパ腫は比較的希であり¹⁹⁾、t (14 ; 18)の関与する割合も米国人症例の約 3 分の 1 にすぎない²⁰⁾。本症例においても基本核型を異にする汙胞性増殖期とびまん性増殖期の腫瘍クロンに t (14 ; 18)を認めなかった。本症

例における組織変化に伴う新たな腫瘍クロン発生の機転は、放射線照射に伴う二次発癌の可能性もあるが、再発までの短い臨床経過からみると未照射部位にすでに存在していた t (2 ; 7)型細胞の“clonal expansion”によるものと考えられる。この腫瘍クロンにみられた der(7)は、t (2 ; 7)から生じた 7 q +の複製である。マーカー染色体の複製は、一般に臨床的予後不良の徴候であり、この 7 q +マーカー染色体の複製も再発時の不良な予後と関係したものであろう。

文 献

1) Rappaport H, Winter WJ, Hicks EB:Follicular lymphoma: A reevaluation of its position in the scheme of malignant lymphoma, based on survey of 253 cases. Cancer 9 : 792-821 1956

- 2) DeVita VT : Human models of human diseases : Breast cancer and the lymphomas. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 5 : 1855-1867 1979
- 3) Hubbard SM, Chabner BA, DeVita VT, Simon R, Berard CW, Jones RB, Garvin AJ, Canellos GP, Osborne CK, Young RC : Histologic progression in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 59 : 258-264 1982
- 4) Acker B, Hoppe RT, Colby TV, Cox RS, Kaplan HS, Rosenberg SA : Histologic conversion in the non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1 : 11-16 1983
- 5) Horning SJ, Rosenberg SA : The natural history of initially untreated low-grade non-Hodgkin's lymphomas. *N Engl J Med* 311 : 1471-1475 1984
- 6) Sklar J, Cleary ML, Thielemans K, Gralow J, Warnke R, Levy R : Biclinal B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 311 : 20-27 1984
- 7) Siegelman MH, Cleary ML, Warnke R, Sklar J : Frequent bclonality and Ig gene alterations among B cell lymphomas that show multiple histologic forms. *J Exp Med* 161 : 850-863 1985
- 8) Cleary ML, Galili N, Trela M, Levy R, Sklar J : Single cell origin of bigenotypic and biphenotypic B cell proliferations in human follicular lymphomas. *J Exp Med* 167 : 582-597 1988
- 9) Fukuhara S, Ueshima Y, Kita K, Uchino H : 14 q+marker-positive lymphoid cancer and its subclasses. *Acta Haemat Jpn* 47 : 1579-1590 1984
- 10) Southern EM : Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 98 : 503-517 1975
- 11) Cleary ML, Chao J, Warnke R, Sklar J : Immunoglobulin gene rearrangement as a diagnostic criterion of B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 81 : 593-597 1984
- 12) Kim H, Hendrickson MR, Dorfman RF : Composite lymphoma. *Cancer* 40 : 959-976 1977
- 13) Fisher RI, Jones RB, DeVita VT, Simon RM, Garvin AJ, Berard CW, Young RC : Natural history of malignant lymphomas with divergent histologies at staging evaluation. *Cancer* 47 : 2022-2025 1981
- 14) Fukuhara S, Rowley JD, Variakojis D, Golomb HM : Chromosome abnormalities in poorly differentiated lymphocytic lymphoma. *Cancer Res* 39 : 3119-3128 1979
- 15) Yunis JJ, Frizzera G, Oken MM, McKenna J, Theologides A, Arnesen M : Multiple recurrent genomic defects in follicular lymphoma : A possible model for cancer. *N Engl J Med* 316 : 79-84 1987
- 16) Weiss LM, Warnke RA, Sklar J, Cleary ML : Molecular analysis of the t(14;18) chromosomal translocation in malignant lymphomas. *N Engl J Med* 317 : 1185-1189 1987
- 17) Lee MS, Blick MB, Pathak S, Trujillo JM, Butler JJ, Katz RL, McLaughlin P, Hagemeister FB, Velasquez WS, Goodacre A, Cork A, Gutterman JU, Cabanillas F : The gene located at chromosome 18 band q21 is rearranged in uncultured diffuse lymphomas as well as follicular lymphomas. *Blood* 70 : 90-95 1987
- 18) Fukuhara S, Ohno H, Amakawa R, Edamura S, Tomono N, Nasu K, Doi S, Yamabe H, Wakasa H, Uchino H : Significance of extra 18q-chromosome in Japanese t(14;18)positive lymphoma. *Blood* 71 : 1748-1751 1988
- 19) Kadin ME, Berard CW, Nanba K, Wakasa H : Lymphoproliferative diseases in Japan and Western countries. *Hum Pathol* 14 : 745-772 1983
- 20) Amakawa R, Fukuhara S, Ohno H, Doi S, Oguma S, Tanabe S, Yamabe H, Edamura S, Tomono N, Nasu K, Konaka Y, Shiomura T, Abe M, Wakasa H, Uchino H : Involvement of bcl-2 gene in Japanese follicular lymphoma. *Blood* 73 : 787-791 1989