原 著 II

Hodgkin & Reed-Sternberg細胞がHelper/inducer
T細胞型の表面形質を示したホジキン病の1例

森村 豊¹⁾, 和知 栄子¹⁾, 阿部 正文¹⁾, 若狭 治毅¹⁾,
川上 恵基²⁾, 北 堅吉²⁾

1) 福島県立医科大学第一病理

2) 三重大学医学部第二内科

(平成2年6月12日受付)
(平成2年11月7日受理)

A case of Hodgkin's disease expressing helper/inducer T cell phenotype on Hodgkin and Reed-Sternberg cells

Yutaka Morimura¹⁾, Eiko Wachi¹⁾, Masafumi Abe¹⁾, Haruki Wakasa¹⁾, Keiki Kawakami²⁾,
Kenkichi Kita²⁾

1) The First Department of Pathology, Fukushima Medical College

2) The Second Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Mie University

We report a case of Hodgkin's disease showing helper/inducer T cell phenotype on Hodgkin & Reed-Sternberg cells.

A 21 years-old Japanese female was admitted for right cervical lymphadenopathy. Laboratory tests including human T lymphocyte virus-I antibody (HTLV-I antibody) were within normal. A biopsy specimen of the cervical lymph node showed Hodgkin's disease, nodular sclerosis (NS).

Immunohistologically, Hodgkin & Reed-Sternberg cells were positive for CD30 (Ki-1), CD15 (Leu-M1), CD25 (IL-2R), HLA-DR, transferrin receptor, CD2 (Leu-5b), CD3 (Leu-4), CD4 (Leu-3a), and CD5 (Leu-1), but were negative for B cell associated antigens and myeloid-monocyte associated antigens. The immunohistochemical data indicate helper/inducer T cell phenotype on Hodgkin & Reed-Sternberg cells.

Southern blot analysis revealed six rearranged bands using T cell receptor gene probe (TCR γ 1 probe), when genomic DNA of the biopsied lymph node was digested with EcoRI. Although the TCR γ gene rearrangement bands were not well evaluated, the finding of TCR γ gene rearrangement is unlikely to consider a clonal proliferation of Hodgkin & Reed-Sternberg cells with T cell phenotype. It would be speculated in this case that rearranged bands for TCR γ may originate from functional T cell clones with transcription of the CD3 molecule and unique TCR γ rearrangements.

The patient is free from the disease 2 years after the biopsy.

Key Words : Hodgkin's disease, Hodgkin and Reed-Sternberg cells, Helper/inducer T cell phenotype, Southern blot analysis

はじめに

ホジキン病の組織診断には、Reed-Sternberg (以下 RS) 細胞の同定が必須とされるがその起源は未だ明らかにされておらず、近年の種々の単クローン抗体を用いた解析によっても意見の一致をみていない。今回、我々はホジキン病で RS 細胞が, helper/inducer T 細胞型表面形質を示した 1 例を経験したので報告する。

1. 臨床的事項

症例：21歳，女性

主訴：左頸部腫瘍

家族歴，既往歴：特記事項なし

現病歴：昭和62年9月より左頸部腫瘍に気付いた。腫瘍が徐々に増大してきたため、近医受診し精査目的で63年1月，某病院に入院となった。

入院時現症：発熱，体重減少等は見られず，左頸部に鳩卵大までの弾性軟のリンパ節が数個触知された。他の部位のリンパ節腫大は認められず，肝脾腫もみられなかった。胸部X—P上，縦隔腫瘍は認められなかった。

入院時検査成績：血液学的検査で赤血球数 $460 \times 10^4/\mu\text{l}$ ，血色素13.1g/dl，血小板 $24.6 \times 10^4/\mu\text{l}$ ，白血球数 $7,900/\mu\text{l}$ ，と著変はなく，白血球分画も桿状核好中球17%，分葉核好中球36%，好酸球0%，好塩基球0%，単球2%，リンパ球44%，と特に異常はみられなかった。

生化学的には，総蛋白7.6mg/dlでアルブミン68.5%， α_1 グロブリン2.5%， α_2 グロブリン8.5%， β グロブリン9.5%， γ グロブリン11.0%，と，尋常の範囲であった。GOT：15K.U.，GPT：7K.U.，LDH：304K.U.と正常範囲内であった。HTLV—I抗体は陰性であった。

入院後経過：昭和63年1月29日左頸部リンパ節生検を施行し病理組織学的にホジキン病結節硬化(NS)型と診断された。臨床病期IA期の診断のもとにCHOP療法が施行された。診断より約26か月経過した現在，再発の徴候は認められていない。

2. 病理学的事項

肉眼的所見：摘出リンパ節は， $3 \times 5 \text{cm}$ 大の弾性軟の充実性腫瘍で表面平滑，断面では黄白色の小結節に分割されていた。

組織学的所見：リンパ節の正常構造は消失し，膠原線維からなる結合織によって数々の結節に分割され(図1)，結節内には多数の大型細胞が出現していた。これらは，単核から多核のものまで様々で，その核は水泡状，好酸性で光輝性の大きな核小体を有し，細胞質は比較的豊富で，好酸性を示した。二核で対称的に配置する鏡面像を呈する細胞もみられた(図2)。また，細胞周囲に間隙を有するいわゆるlacunar cellが数々集簇する像もみとめられた。このような異型細胞が，ホジキン病のRS細胞か，Tリンパ腫特に多形細胞型に出現する異型巨細胞かの鑑別が問題となったが，背景に密在する小リンパ球には異型性が認められないことから，本症例はホジキン病と診断された。さらに上述の如く結節性の病変で，しかも結節を分割する結合織の幅が狭く，一部では未だに膠原線維の形成が十分に起こっていない部分もあることから，NS型の細胞相(cellular phase)とみなされた。

電顕的所見：大型異型細胞は単核及び二核の巨細胞で，その核は円形又は楕円形で核縁はやや不規則，核小体は大きく核の中心に位置していた。細胞内小器官の発達は比較的悪く，粗面小胞体や，ミトコンドリアが散見された(図3)。

免疫組織学的所見：PLP固定凍結切片をPAP法にて免疫組織染色を行って検索をした。本症例のRS細胞は，CD30(Ki-1)(図4A)およびCD15(Leu-M1)(図4B)に陽性を示し，特にLeu-M1は殆どのRS細胞の細胞膜に一致して明瞭な陽性を呈した。さらにRS細胞はCD25(IL-2R)，HLA-DR，Transferrin receptorにも陽性を示した。RS細胞は，T細胞系のマーカーであるCD5(Leu-1)，CD4(Leu-3a)(図5A)，CD3(Leu-4)(図5B)，CD2(Leu-5b)に陽性を示したが，Leu-2a(CD8)，Leu-6(CD1)およびLeu-8には陰性であった。一方，B細胞系のマーカーでは，RS細胞はCD19(B4)，

図1 膠原線維によって分割された結節性病変

(H&E 染色)×66

図2 核小体明瞭なHodgkin細胞とReed-Sternberg細胞を認める。

(H&E 染色)×528

CD20 (B1), CD21 (B2), CD24 (BA-1) および表面膜免疫グロブリン, 細胞質内免疫グロブリンはいずれも陰性であった。また CD10(J5), DRC, EMA, Vimentine, Lysozyme, α_1 -アンチトリプシン, α_1 -アンチキモトリプシン, S-100蛋白に対して全て陰性であった。

T細胞受容体 β 鎖および δ 鎖(以下 TCR β および δ) に対する単クローン抗体 TCR β F1, TCR δ 1 は

RS細胞にそれぞれ陰性を示した。

免疫電顕的には, Leu-4 (CD3) が RS細胞の細胞膜に陽性を示す(図6)ことが確認された。

遺伝子解析所見: 免疫グロブリン(Ig)遺伝子は, 重鎖(JH), 軽鎖(J κ)ともに再構成を示さなかった。T細胞受容体(JCR)遺伝子では TCR β 鎖(C β_1)の再構成は認められなかったが, TCR γ (J γ 1)遺伝子では EcoRI 消化で6本のバンドがみられた(図

図3 核が鏡面像を示す Reed-Sternberg 細胞

(電頭)×160,000

図4A 大型細胞の細胞膜にCD30 (BerH2)陽性を示す。

(PAP法)×528

図4B 大型細胞の細胞膜にCD15(Leu-M1)陽性を示す。

(PAP法)×528

7)。

考 察

ホジキン病の診断にはRS細胞の同定が必須である。しかしT細胞性リンパ腫⁷⁾あるいはKi-1陽性

リンパ腫²⁾では、しばしばRS細胞類似の巨細胞が出現し、ホジキン病との鑑別が問題となる。従って、ホジキン病の確定診断には、RS細胞の同定と³⁾⁴⁾背景の小リンパ球に異型を認めない⁵⁾ということが必要条件とされている。本症例でも、Tリンパ腫との

図5A 大型細胞及び背景小リンパ球に
CD4(Leu-3a)陽性を示す。
(PAP法)×528

図5B 大型細胞及び背景小リンパ球に
CD3(Leu-4)陽性を示す。
(PAP法)×528

図6 大型細胞の細胞膜に CD3(Leu-4)の明らかな陽性を示す。
(免疫電顕)×39,600

鑑別が問題となったが、背景の小リンパ球に異型はなく、少数ではあるが典型的な diagnostic cells の出現があり、ホジキン病と診断された。電顕的に RS

細胞には特徴的構造は認められず、細胞質内に粗面小胞体とリボゾームがわずかにみられるという従来の報告⁶⁾と一致する。

図7 T細胞受容体 β 鎖、 γ 鎖の遺伝子解析

TCR γ 遺伝子では、EcoRI消化で6本のバンド(←)が認められる。

TCR β 遺伝子の明らかな再構成は認められない。

Pt: patient Cont: control G.L.: germ line

免疫組織学的に、本症例のRS細胞は、Leu-1, -3a, -4, -5b 陽性、Leu-2a 陰性で、helper/inducer T(以下 H/IT) 細胞型の表面形質を示した。

ホジキン病のRS細胞の起源については、Tリンパ球⁷⁾、Bリンパ球⁸⁾⁹⁾、或いはそれらの活性化したもの¹⁰⁾、単球/マクロファージ¹¹⁾¹²⁾、顆粒球¹³⁾、樹枝状細胞¹⁴⁾、特徴に乏しい未知の細胞群¹⁵⁾などが提唱されている。本症例のRS細胞ではB1, B4, 免疫グロブリンはいずれも陰性で、B細胞起源に関しては否定的である。また本症例では、Lysozyme, α_1 -アンチトリプシン陰性であり単球/マクロファージを示唆する所見は認められない。さらにS-100, DRCは陰性で樹枝状細胞由来とする根拠にも乏しい。Leu-M1は活性T細胞などにも陽性を示し¹⁶⁾、必ずしも顆粒球に特異的ではなく、本症例でのLeu-M1陽性が顆粒球由来を積極的に支持するものではない。また他の顆粒球関連抗原も陰性であった。さらに本症例のRS細胞は、Ki-1, Leu-M1, HLA-DR, Transferrin receptor, IL-2R 陽性で従来の報告⁹⁾¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾と同様であったが、これらは活性化T細胞にも陽性を示す¹⁰⁾¹⁶⁾とされる。以上の免疫組織学的所見から本例のRS細胞はH/IT細胞型表面形質を示す活性化T細胞由来であることが強く示唆さ

れた。PLP固定材料を用いた例は少なく、未固定凍結材料の検索例が多いことも関与しているであろうが、RS細胞がT細胞関連抗原陽性を示すことは極めて稀で⁹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾検索したかぎりでは、Stein¹⁷⁾やKadin¹⁸⁾の数例の報告があるのみである。RS細胞の起源を考える上で、本例はT細胞lineageが示唆され興味深い例と考えられる。

本症例はIg遺伝子のJH, J κ およびTCR遺伝子のC β_1 プローブでは再構成バンドは認められなかったが、TCR遺伝子J γ で6本のバンドが認められその強さは比較的明瞭であった。この再構成バンドの強さは組織中に含まれる少数のRS細胞に由来するDNA量を反映した再構成バンドの強さとは考え難く、RS細胞の再構成バンドとは異なるものと推察される。Grisser¹⁹⁾らは、22例のホジキン病中15例にTCR γ の再構成を認めたと報告し、その中には本例同様の複数のバンドを示すものが含まれている。しかし、その意義に関してはlineageを示すものではなく、背景の小リンパ球を含むpolyclonalなT細胞のpopulationを反映するものと考えている。本例のTCR γ の6本のバンドも同様にpolyclonal populationに由来する可能性が考えられる。 γ cDNAは10のV領域と6のJ領域を有し、この組み合わせに

従っていわゆる limiting repertoire による複数の size のバンドが出現したとも考えられる²⁰⁾。

また RS 細胞がマーカー的に H/I 型の functional T 細胞の形質を示し、CD3 などの重要な抗原の発現している点から TCR β の再構成をおこしている可能性は十分に考えられる。しかし明らかなバンドが認められないのは、組織中の RS 細胞の割合が低く検出感度以下であったためと考えられる。

ホジキン病の遺伝子解析においては、Roth ら²¹⁾は TCR β の再構成は 18 例中 1 例を除いて、また Knolwel²²⁾は 15 例全例で明らかな再構成バンドはみられなかったと報告している。Greisser¹⁹⁾らも 24 例中 2 例に IgH 鎖を、4 例に TCR β の再構成を認めているにすぎない。このようにホジキン病の生検材料の遺伝子解析で、RS 細胞の lineage を明らかにする所見が得られることは少ない。Weiss ら²³⁾は T 細胞型の表面形質陽性の 2 例で Ig の遺伝子解析を行っているが、TCR に関しては検索していない。本例でも免疫組織学的には T 細胞由来が示唆されたが、RS 細胞の lineage を明らかにする所見は、遺伝子学的には得られなかった。これは RS 細胞の組織中に占める割合が少ないことが最も重要な因子であると

考えられる。これに対してホジキン病樹立株を用いた検索では、T 細胞型形質を示す HDLM, L540, Co などでは、TCR β の再構成が確認され²⁴⁾²⁵⁾リンパ球由来と考えられている。近年、生検材料から RS 細胞を選択的に得る方法も開発されており、今後は、本症例同様の例で検索が行われれば、heterogenous な起源が提唱されている RS 細胞の一部で lineage が明らかにされる可能性がある。

む す び

21 歳女性に発症したホジキン病 (NS 型) の 1 例を報告した。T 細胞リンパ腫との鑑別が問題となったが、組織学的にホジキン病と診断され、臨床的にも比較的良好な経過をたどりこれを裏付けている。本例の RS 細胞は免疫組織学的に H/I T 細胞型の形質を示し、Ki-1 等活性化リンパ球抗原陽性で、活性化 T リンパ球由来が示唆された。遺伝子解析では RS 細胞の起源を明らかにするには至らなかった。

本論文の要旨は第 29 回日本網内系学会 (岡山) において発表した。

文 献

- 1) Hanaoka M., Sasaki M., Matsumoto H., Tankawa H., Fujiwara H., Uchiyama T., Takatsuki K.: Adult T cell Leukemia Histological Classification and Characteristics. *Acta Path. Jpn.* 29(5): 723-738, 1979
- 2) Kadin M.E.: Childhood Ki-1 lymphoma presenting with skin lesions and peripheral lymphadenopathy. *Blood* 68: 1042-1049, 1986
- 3) Lukes R.J., Butler J.J.: The Pathology and Nomenclature of Hodgkin's Disease. *Cancer Res.* 26: 1063-1081, 1966
- 4) Butler J.J.: The natural history of Hodgkin's disease and its classification, in the Reticuloendothelial System (Rebuch and Berard eds.), Williams & Winkins Co. Baltimore, pp. 184, 1975
- 5) 三方淳男: ホジキン病, 新分類による悪性リンパ腫アトラス (小島, 花岡, 飯島, 須知泰山ら編) 文光堂 東京 pp. 79-84, 1981
- 6) Glick A.D., Leech J.H., Flexner J.M., Collins R.D.: Ultrastructural Study of Reed-Sternberg Cells. Comparison with Transformed Lymphocytes and Histiocytes. *Am.J. Pathol.* 85: 195-208, 1976
- 7) Kadin M.E., Newcom S.R., Gold S.B.: Origin of Hodgkin's cell. *Lancet* 20: 167-168, 1974
- 8) Stuart A.E., Volsen S.G., Zola H.: The reactivity of Reed-Sternberg cells with monoclonal antisera at thin section and ultrastructural levels. *J. Pathol.* 141: 71-82, 1983
- 9) Dorreen M.S., Habeshaw J.A., Stansfeld A.G., Wrigley P.F.M., Lister T.A.: Characteristics of Sternberg-Reed, and related cells in Hodgkin's disease; An Immunohistological study. *Br.J. Cancer* 49: 465-476, 1984
- 10) Stein H., Mason D.Y., Gerdes J., O'Connor N., Wainscoat J., Pallesen G., Gatter K., Falini B., Delsol G., Lemke H., Swarting R., Lennert K.: The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue, Evidence that Reed-Sternberg

- cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 66: 848-858, 1985
- 11) Mori N., Oka K., Sakuma H., Tsunoda R., Kojima M.: Immunoelectron microscopic study of Hodgkin's disease. *Cancer* 56: 2605-2611, 1985
 - 12) Mir R., Kahn L.B.: Immunohistochemistry of Hodgkin's disease. A study of 20 cases. *Cancer* 52: 2064-2071, 1983
 - 13) Stein H., Ziegler B.U., Gerdes J., Ziegler A., Wernet P.: Hodgkin and Sternberg-Reed cells contain antigens specific to late cells of granulopoiesis. *Int. J. Cancer* 29: 283-290, 1982
 - 14) Hsu S.M., Yang K., Jaffe E.S.: Phenotypic expression of Hodgkin's and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. *Am. J. Pathol* 118: 209-217, 1985
 - 15) Strauchen J.A., Dimitriu-Bona A.: Immunopathology of Hodgkin's disease Characterization of Reed-Sternberg Cells with Monoclonal Antibodies. *Am. J. Pathol.* 123: 293-300, 1986
 - 16) Wiczorek R., Burke J.S., Knowles D.M.: Leu-M1 antigen expression in T cell neoplasia. *Am. J. Pathol.* 121: 374-380, 1985
 - 17) Stein H.: Evidence of Sternberg Reed Cells being derived from Activated Lymphocytes, in *Modern Trends in Human Leukemia IV* (Neth, Gallo, Greaves, Janka eds.) Haematrol Blood Transfusion. Springer-Verlag Berlin-Heiderberg, pp. 44, 1985
 - 18) Kadin M.E., Muramoto L., Said J.: Expression of T cell Antigens on Reed-Sternberg Cells in a Subset of Patients with Nodular Sclerosing and Mixed Cellularity Hodgkin's disease. *Am. J. Pathol.* 130: 345-353, 1988
 - 19) Greisser H., Feller A.C., Mak T.W., Lennert K.: Clonal Rearrangement of T cell Receptor and Immunoglobulin Genes and Immunophenotypic Antigen Expression in Different Subclasses of Hodgkin's disease. *Int. J. Cancer* 40: 157-160, 1987
 - 20) Greisser H., Feller A., Lennert K., Tweedale M., Messner H.A., Zalcberg J., Minden M.D., Mak T. W.: The Structure of the T Cell Gamma Chain Gene in Lymphoproliferative Disorders and Lymphoma Cell Lines. *Blood* 68: 592-594, 1986
 - 21) Roth M.S., Schnitzer B., Bingham E.L., Harnden C.E., Hyder D.M., Ginsburg D.: Rearrangement of Immunoglobulin and T cell Receptor Genes in Hodgkin's disease. *Am. J. Pathol.* 131: 331-338, 1988
 - 22) Knowels D.M., Neri A., Pelicci P.G., Bruke J.S., Wu A., Winberg C.D., Sheibani K., Dalla-Favera R.: Immunogloblin and T cell receptor β chain gene rearrangement analysis of Hodgkin's disease Implications for lineage determination and differential diagnosis. *Proc. Nath. Acad. Sci.* 83: 7942-7946, 1986
 - 23) Weiss L.M., Strickler J.G., Hu E., Warnke R.A., Sklar J.: Immunoglobulin Gene Rearrangements in Hodgkin's Disease. *Hum. Pathol.* 17: 1009-1014, 1986
 - 24) Falk M.H., Tesch H., Stein H., Diehl V., Jones D. B., Fonatsch C., Bornkamm G.W.: Phenotype versus Immunoglobulin and T cell Receptor genotype of Hodgkin-Derived Cell Lines: Activation of Immature Lymphoid Cells in Hodgkin's Disease. *Int. J. Cancer* 40: 262-269, 1987
 - 25) Drexler, H.G., Leber, B.F., Norton, J. Yaxley, J. Tatum, E., Hoffbrand, A.V., Minowada, J.: Genotypes and immunophenotypes of Hodgkin's disease-derived cell lines. *Leukemia* 2: 371-376, 1988