自己免疫疾患に続発した T-cell rich B-cell lymphoma の 2 例

山内 周¹⁾, 宇多 弘次¹⁾, Sepp Robert¹⁾, 桑原 宏子¹⁾
阪本 晴彦¹⁾, 斉藤 勝弘²⁾, 柴主 敏行²⁾

1) 香川医科大学医学部第二病理学講座

2) 科研製薬株式会社安全性研究所

(平成 5 年 9 月 24 日受付)
(平成 5 年 12 月 28 日受理)

2 cases of T-cell rich B-cell lymphoma subsequent to autoimmune disease

Amane Yamauchi¹⁾, Hirotsugu Uda¹⁾, Sepp Robert¹⁾, Hiroko Kuwabara¹⁾, Haruhiko Sakamoto¹⁾, Katsuhiko Saito²⁾, Toshiyuki Shibayoshi²⁾

1) Second Department of Pathology, Kagawa medical school

2) Kaken Pharmaceutical CO. LTD. Safety Research Laboratory

We report here 2 cases of T-cell rich B-cell lymphoma (TCRBCL) subsequent to autoimmune disease. Case 1 is a 45 years old woman with rheumatoid arthritis and case 2 is a 58 years old woman with Sjögren's syndrome. Both of them developed non-Hodgkin's lymphoma. Histological examination revealed that many small T-lymphocytes and scattered large B-lymphocytoid cells, immunoblast like cells were proliferated interfollicularly with small follicles in case 1 and definitive diagnosis was not accordant with among several pathologists. Large and medium sized lymphoid cells were proliferated intermingled with small lymphocytes, macrophages and myoepithelial island in parotid in case 2 and malignant lymphoma was questioned in clinically.

As for case 1, rearrangement of T-cell receptor β gene was not detected but that of immunoglobulin JH gene using Southern blotting. DNA of case 2 were extracted from paraffin embedded material and amplified by PCR. Monoclonality of B-cell lineage was demonstrated. So we came to conclude these cases were non-Hodgkin's lymphoma of B-cell phenotype and classified TCRBCL. There is a hypothesis of "biological interaction" about mechanism of onset of TCRBCL and in these 2 cases, TCRBCL was subsequent to autoimmune disease, in which immunological imbalance may present. Immunological abnormality may be involved closely in onset of certain malignant lymphoma.

Key words: T-cell rich B-cell lymphoma (TCRBCL), Autoimmune disease, biological interaction, immunological imbalance

緒 言

T-cell rich B-cell lymphoma (TCRBCL) は、多数の反応性の小型 T 細胞と散在する少数の腫瘍性の大型 B 細胞を組織学的な特徴とし、しばしば組織診断が困難な悪性リンパ腫である。その特異な組織像から、発症機序としてある種の“biological interaction”が関与しているという仮説が提唱されている。今回我々は、自己免疫疾患に続発したもので組織診断の困難さを遺伝子診断で補った TCRBCL の 2 例を経験した。自己免疫疾患という免疫的不均衡が存在すると思われる状態に TCRBCL が続発したことは、TCRBCL の発症機序を考える上でも興味深いと思われたので報告する。

症 例 1

患 者：45歳 女性

主 訴：左頸部リンパ節腫脹

家族歴：特記すべきことなし

既往歴：36歳の時より慢性関節リウマチ

現病歴：1984年に、慢性関節リウマチと診断され一旦軽快したが、1989年9月に再燃した。1990年3月には左頸部に径約2cmのリンパ節が3個出現し、生検を受けた。病理診断は reactive lymphadenitis であったが、一病理医は悪性リンパ腫と診断した。同年8月にはリンパ節腫脹の増強が見られ、2回目の生検が行われた。さらに1991年3月にも3回目の生検が行われたが、いずれも同じ診断で意見が合わなかった。1991年11月1日リンパ節腫脹に関する確定診断の為、国立大阪南病院に入院となった。

検査成績：血沈 69mm/H, CRP 3.91mg/dl, RAtest <30, RAHA 80dils, ANA (－), IgG 1,267 mg/dl, IgM 150mg/dl, IgA 272mg/dl

入院後経過：1993年1月20日に4回目のリンパ節生検を行い、複数の病理学者の診断、リンパ球表面抗原の解析、リンパ球の抗原レセプターの遺伝子解析等の結果から悪性リンパ腫と診断した。

症 例 2

患 者：58歳 女性

家族歴：母、直腸癌

既往歴：1983年より Sjögren 症候群

現病歴：1981年より、両側耳下腺腫脹が生じ、腫脹と消退を繰り返していた。1983年に乾燥性角結膜炎、抗核抗体陽性、SS-A 陽性、シアログラフィーによる導管の杜絶などの所見から、Sjögren 症候群と診断された。リンデロン1.5～2.0mg/day にて治療していたが耳下腺は腫脹と消退を繰り返していた。1992年には、4～5 cm 大の凹凸不整な腫瘤が両側耳下腺に触れる様になり、その後腫脹は持続した。同年12月に偽性リンパ腫が疑われる為、両側耳下腺浅葉及び左耳下腺所属リンパ節を切除した。

検査所見：WBC 3,900(分画正常), RBC 380万, PLT 22.7万, アミラーゼ 543, リパーゼ 39, ESR 23mm/H, CRP 0.6mg/dl, RA 79IU/ml, RAHA 80dils, IgG 1,860mg/dl, IgA 336mg/dl, IgM 224 mg/dl, ANA 640dils, SS-A × 2, cryoglobulin (－), 口唇唾液腺組織像、腺全体に単核球細胞浸潤が見られ、互いに融合している。導管の拡張も見られる。Chisholm & Greenspan の分類 Grade4 Focus12, 唾液腺エコー、Ga シンチでは悪性リンパ腫を疑わせる所見は無し。

方 法

症例1, 症例2とも生検組織をホルマリン固定、パラフィン包埋後、H.E.染色、及びPAP法にてL-26(CD20), MT-1(CD43), UCHL-1(CD45RO), S-100を染色し観察した。症例1ではOPD 4^リ, 症例2では抗 κ 鎖、抗 λ 鎖抗体による染色も行った。また症例2では電顕的観察も行った。

症例1では、生検組織の一部を新鮮凍結しSRLにて、免疫グロブリンJHとTCR β の遺伝子再構成をサザンブロッティングにて調べた。

症例2では、ホルマリン固定、パラフィン包埋した組織を用い、PCR法にて免疫グロブリン heavy chain geneの再構成を調べた。方法はReedらの変法²⁾を用い、5 μ mの厚さの切片を2枚、1.5mlのエッペンドルフチューブにとり、脱パラフィン後、200 μ g/mlのProteinase K (Pharmacia, Upsale, Sweden)を含むdigestion buffer (100M NaCl, 50

図1 Case 1. リンパ節の組織像

リンパ球は萎縮し、ろ胞間にリンパ球様細胞が増殖している。
(H.E., 弱拡大)

mM TrisCl, 1mM EDTA, 0.5% Tween20) 200 μ l 中で5日間37℃でincubate後、この上清1 μ lを、TemplateとしてPCR法を行った。PCRmixtureは、200 μ MのdNTP(東洋紡), 1 μ Mの2種のプライマー, 1UのTaq DNA polymerase(Pharmacia, Upsale, Sweden), $\times 10$ PCR buffer (Pharmacia, Upsale, Sweden), 1 μ lのTemplateを含んだ、Total 50 μ lでPerkin-Elmer-Cetus Thermal Cycler (PEC, Norwalk, Connecticut)を使用し、95℃1min, 55℃1min, 72℃1min, を35cycle施行した。ただし、最後の1 cycleは95℃1min, 55℃1min, 72℃5minである。PrimerはDNA Synthesizer(Milligen/Biosearch, USA)にて合成し、Fr 3 A (5' ACACGGC (C/T) (G/C) TGTATTACT-GT 3')とVLJH (5' GTGACCAGGGTNCCTTG-GCCCCAG 3')を使用した。

結 果

1. Case 1

①組織像

H.E.では、リンパ節はろ胞が萎縮し、ろ胞間にリンパ球様細胞が増殖しているのが認められる(図1)。洞は閉塞し、血管の増生とうっ血が見られる。ろ胞間に増殖する細胞は、大型で細胞質が広く、核

が類円形で好酸性の核小体を1~2個有し、免疫芽球様である。中には中型で、核小体のないものも見られる。小型の成熟細胞も多く見られ、少数の形質細胞や好酸球も散在している(図2)。まれに2~3核の巨細胞も見られる。LSG分類のびまん性混合型に似るが、成熟リンパ球が多いのが特徴的である。

免疫組織化学では、増殖している中~大型の細胞の大部分はL-26陽性であった(図3)。また、大型細胞周囲に多数見られた小型の成熟細胞の多くは、MT-1, UCHL-1に陽性であった(図4)。OPD 4では、小型成熟リンパ球の中に腸性細胞が見られたが、特に多くはなかった。S-100による染色では、残存ろ胞内及びろ胞間に多くの陽性細胞が見られた。

②遺伝子解析

サザンブロッティング法により、Immunoglobulin JH geneで, rearrangement bandが認められた。TCR β geneでは, germ line bandのみであった(図10)。

2. Case 2

①組織像

H.E.では、唾液腺はリンパ球様細胞の密な増生により、正常構造が消失しているのが認められる(図5)。ductはリンパ球様細胞の浸潤をうけ、わずかに索状となり、myoepithelial islandとして残ってい

図2 Case 1. リンパ節の組織像

リンパ節間の増殖細胞。多数の小型成熟リンパ球の中に、大型で類円形の核と明瞭な核小体を有する免疫芽球様細胞が散在している。(H.E., 強拡大)

図3 Case 1. リンパ節

大型の増殖細胞は L-26陽性を示す。(免疫染色)

る。腺房は認められない。浸潤細胞は、小型の成熟リンパ球、形質細胞、免疫芽球、中～大型のリンパ球様細胞よりなる(図6)。L-26による染色では、大型細胞、clear cell が陽性となっている(図7)。duct

に浸潤している細胞を含む小型細胞にも、陽性のものが多く見られた。MT-1, UCHL-1 による染色では、小型細胞の多くが陽性であった(図8)。S-100の染色では、増殖細胞に混じって多くの陽性細胞が

図4 Case 1. リンパ節
小型の成熟リンパ球の多くは MT-1 陽性を示す。(免疫染色)

図5 Case 2. 耳下腺の組織像
リンパ球様細胞のびまん性増殖を認める。腺房は認められず, duct は myoepithelial island として残っている。(H.E., 弱拡大)

見られた。抗 κ 鎖抗体, 抗 λ 鎖抗体による染色では, 大型細胞及び小型細胞の多くは κ 陽性であり, λ 陽性細胞は少数のみであった。しかし, はっきりとした monoclonality は証明できなかった。

電顕では, 増殖細胞の中で, 大型未熟細胞は粗面

小胞体が顕著で, B-cell 系であると思われた (図9)。

②遺伝子解析

PCR 法によって, B-cell 系の monoclonality を示す band が得られた (図11)。

図6 Case 2. 耳下腺の組織像
増殖細胞は多数の小型成熟リンパ球と中～大型のリンパ球様細胞よりなる。(H.E., 強拡大)

図7 Case 2. 耳下腺
中～大型のリンパ球様細胞は L-26陽性を示す。(免疫染色)

考 察

TCRBCL は, 1988年に Ramsay³⁾が最初の 5 例を報告して以来, 現在まで約75例の報告がなされている^{4)~6)}。まだ症例数も少なく, その臨床的, 病理学的

な特徴は十分解明されていない。TCRBCL は, 腫瘍組織中に多数の反応性の T 細胞があり, その中に少数の腫瘍性の大型 B 細胞が散在しているのを特徴とする。しばしば腫瘍リンパ組織中に高内皮小静脈の増生, 好酸球, 形質細胞などの反応性細胞の増加

図8 Case 2. 耳下腺

小型の成熟リンパ球の多くは MT-1 陽性を示す。(免疫染色)

図9 Case 2. 増殖細胞の電顕像

小型成熟リンパ球に混じって大型リンパ球様細胞(矢印)が見られる。大型リンパ球様細胞の細胞質内には粗面小胞体が顕著であり、核内には明瞭な核小体が見られる。(×3,500)

が見られ、T細胞が多いことから容易に T-cell lymphoma と誤診される。正確な診断の為に、組織化学による L-26, MT-1, UCHL-1 などの染色の他、immunoglobulin light chain の拘束による

monoclonality の証明や遺伝子診断が助けになる。

今回の2例においても、組織像では T-cell lymphoma と類似していた。免疫組織化学で、異型性のある大型細胞が L-26陽性の B 細胞である事が

図10 Case 1. サザンプロット法による遺伝子解析

TCR β geneには再構成バンドは認められないが, Immunoglobulin JH geneにはHに再構成が認められる。

(E, EcoRI; B, BamHI; H, Hind III; GL, Germline; R, rearrangement; M, MW; P, probe, probeは, TCRはC γ 1を, immunoglobulin heavy chainはJ μ を使用)

分かったが, B-cell lymphoma の確診は得られなかった。また, Case 2 においては immunoglobulin light chain による monoclonality の有無を調べたが, はっきりとした monoclonality は認められなかった。これはパラフィン切片での染色性の悪さに加えて, 多数の小型の陽性細胞の存在により大型細胞の陽性の有無が不明確となった為と思われる。今回の2例において, B-cell lymphoma と診断する決め手となったのは遺伝子診断であり, Case 1 ではサザンプロット法で, Case 2 ではPCR法でそれぞれ immunoglobulin heavy chain gene の再構成が認められた。Case 2 においては, PCR法によるパラフィン切片での施行の困難さから TCR の再構成については調べておらず, Composite B and T-cell lymphoma の可能性が残されているが非常にまれなものである⁷⁾。遺伝子診断は, TCRBCL の様な組織診断の困難な悪性リンパ腫の診断の為の有力な手段であり^{2)(8)~12)}, 特に PCR法はその手技の簡便さから, これからもますます使われていく事と思われる²⁾⁽¹⁰⁾⁽¹²⁾。今後, パラフィン切片での T-cell lymphoma の診断法の開発が望まれる。

また, 今回の例は, それぞれ RA, Sjögren 症候群に合併した悪性リンパ腫であるが, 自己免疫疾患に悪性リンパ腫が合併しやすい事は知られている^{13)~15)}。その組織型では, 非ホジキンリンパ腫の B-cell type がほとんどであり^{13)~16)}, diffuse large cell type が最も多い¹³⁾。Sjögren 症候群においては Updated Kiel 分類における immunocytoma が多いという報告もある¹⁷⁾。しかし, 自己免疫疾患に TCRBCL が合併したという報告はまだない。

TCRBCL の, 多数の反応性の T 細胞と少数散在する腫瘍性の B 細胞といった特異な組織像の出現機序としては, Boiocchi らの提唱した “biological interaction” の仮説があり¹⁸⁾, それによると, 1) ウイルス感染や染色体の転座などにより遺伝子に変異が生じ, 遺伝学的に規定されている細胞の老化が消失する。(しかし, 無制限な自己増殖能を得るまでには至っていない。) 2) 1) によって, 腫瘍細胞に新たな抗原性が生じ, それによって生体に non-cytotoxic な T-cell mediated immune response が生じる。3) 2) で生じた T-cell より出される “growth factor” により, 1) で生じた腫瘍細胞の

図11 Case 2. PCR 法による遺伝子解析

PCR 法で遺伝子を増幅後のアガロースゲル電気泳動。Case 2 の耳下腺 (レーン 6~8) に monoclonality を示すバンドが認められる。レーン 2 (多発性骨髄腫) とレーン 3 (B-cell lymphoma) は陽性コントロール, レーン 4 (T-cell lymphoma), レーン 5 (正常リンパ節), レーン 9 (サンプルなし) は陰性コントロールとして用いた。レーン 1 とレーン 10 は分子量マーカー。

生存, 増殖が可能となるというものである。またこの仮説に関係すると思われるが, EB ウイルスの感染が関与しているのではないかという報告がある¹⁹⁾。また, この仮説とは別に, 腫瘍細胞から産生される IL-4 が特異な組織像の発生に関与しているとの報告もある²⁰⁾。

自己免疫疾患と悪性リンパ腫の合併機序としては, a) 自己免疫疾患による免疫系への慢性的な刺激と, それによる immune imbalance, b) 遺伝的要因やウイルス (EB ウイルスなど) 感染など両疾患発症に共通な病因の存在, c) 自己免疫疾患の治療薬 (免疫抑制剤など) による悪性リンパ腫の発症などが考えられている²¹⁾²²⁾。今回の 2 例では, メソトレキセートなどの免疫抑制剤は使用しておらず, c) の可能性は否定できる。a) と b) の可能性は残され

ているが, 今回の症例では発症機序解明の為の有力な手掛りは得られなかった。

TCRBCL の発症にも, 自己免疫疾患に続発する悪性リンパ腫の発症にも, 何らかの免疫的な不均衡が関与している可能性が考えられる¹⁸⁾¹⁹⁾²¹⁾。今回の 2 例の TCRBCL は, 自己免疫疾患という, 免疫的な不均衡が存在すると思われる状態に続発したものであるが, 少なくともある種の悪性リンパ腫の発症には, 生体内での免疫系の異常が密接に関与しているものと思われる。

いずれにしても, TCRBCL の発症機序の解明は, 自己免疫疾患と悪性リンパ腫の合併機序の解明と共に, さらに多くの症例の積み重ねが必要であると思われる。

文 献

- 1) Yoshino T, Mukuzono H, Aoki H, et al: A novel monoclonal antibody (OPD4) recognizing a helper/inducer T cell subset. Its application to paraffin-embedded tissues. *Am J Pathol* 134: 1339~1346, 1989
- 2) Reed TJ, Reid A, Wallberg K, O'Leary TJ, Frizzera G: Determination of B-cell clonality in Paraffin-Embedded Lymph Nodes Using the Polymerase Chain Reaction. *Diagn Mol Pathol* 2: 42-49, 1993

- 3) Ramsay AD, Smith WJ, Isaacson PG: T-cell-Rich B-cell Lymphoma. *Am J Surg Pathol* 12: 433~443, 1988
- 4) Scarpa A, Bonetti F, Zamboni G, Menestrina F, Chilosi M: T-cell-Rich B-cell Lymphoma (Letter to the Editor) *Am J Surg Pathol* 13: 335~337, 1989
- 5) Osborne BM, Butler JJ, Pugh WC: The value of immunophenotyping on paraffin sections in the identification of T-cell Rich B-cell Large-cell Lymphomas: Lineage Confirmed by JH rearrangement. *Am J Surg Pathol* 14: 933~938, 1990
- 6) Macon WR, Williams ME, Greer JP, Stein RS, Collins RD, Cousar JB: T-cell-Rich B-cell Lymphomas: A Clinicopathologic Study of 19 Cases. *Am J Surg Pathol* 16: 351~363, 1992
- 7) York II JC, Cousar JB, Glick AD, Flexner JM, Stein R, Collins RD: Morphologic and Immunologic Evidence of Composite B-and T-cell Lymphomas: A Report of Three cases Developing in Follicular Center cell Lymphomas. *Am J Clin Pathol* 84: 35~43, 1985
- 8) Cossman J, Uppenkamp M, Sundeen J, Coupland R, Raffeld M: Molecular Genetics and the Diagnosis of Lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 112: 117~127, 1988
- 9) Chen YT, Godwin TA, Mouradian JA: Immunohistochemistry and Gene Rearrangement Studies in the Diagnosis of Malignant Lymphomas: A Comparison of 152 Cases. *Hum Pathol* 22: 1249~1257, 1991
- 10) Trainor KJ, Brisco MJ, Wan JH, Neoh S, Grist S, Morley AA: Gene Rearrangement in B-and T-Lymphoproliferative Disease Detected by the Polymerase Chain Reaction. *Blood* 78: 192~196, 1991
- 11) Inghirami G, Szabolcs MJ, Yee HT, Corradini P, Cesarman E, Knowles DM: Detection of Immunoglobulin Gene Rearrangement of B cell NonHodgkin's Lymphomas and Leukemias in Fresh, Unfixed and Formalin-Fixed, Paraffin Embedded Tissue by Polymerase Chain Reaction. *Lab Invest* 68: 746~757, 1993
- 12) Bahler DW, Berry G, Oksenberg J, Warnke RA, Levy R: Diversity of T-cell Antigen Receptor Variable Genes Used by Mycosis Fungoides Cells. *Am J Pathol* 140: 1~8, 1992
- 13) 松本卓也, 榑木信男, 金木安比古, 三比和美, 土持恒人, 桜井雅温, 服部理男, 高山昇一郎: 自己免疫疾患の経過中に発症した悪性リンパ腫. *臨床血液* 33: 829~833, 1992
- 14) Kinlen LJ: Malignancy in Autoimmune Diseases. *J Autoimmun* 5 Suppl A: 363~371, 1992
- 15) Porter D, Madhok R, Capell H: Non-Hodgkin's lymphoma in rheumatoid arthritis (editorial) *Ann Rheum Dis* 50: 275~276, 1991
- 16) Kuwabara H, Uda H: Cutaneous B cell Lymphoma Occurring in the Course of Rheumatoid Arthritis: Report of a case and review of the literature. *Clin Rheumatol* 4: 26~30, 1991
- 17) Pavlidis NA, Drosos AA, Papadimitriou C, Talal N, Moutsopoulos HM: Lymphoma in Sjögren's Syndrome. *Med Pediatr Oncol* 20: 279~283, 1992
- 18) Boiocchi M, Dolcetti R, Carbone A: PATHOGENESIS OF HUMAN REACTIVE APPEARING <NON-MONOMORPHOUS> MALIGNANT LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS: A HYPOTHESIS, *Tumori* 78: 221~227, 1992
- 19) Loke SL, Ho F, Srivastava G, Fu KH, Leung B, Liang R: Clonal Epstein-Barr Virus Genome in T-cell-Rich Lymphomas of B or Probable B Lineage. *Am J Pathol* 140: 981~989, 1992
- 20) Macon WR, Cousar JB, Waldron JA, Hsu SM: Interleukin-4 May Contribute to the Abundant T-cell Reaction and Paucity of Neoplastic B cells in T-cell-Rich B-cell Lymphomas. *Am J Pathol* 141: 1031~1036, 1992
- 21) Weir III AB, Herrod HG, Lester EP, Holbert J: Diffuse Large-cell Lymphoma of B-cell Origin and Deficient T-cell Function in a Patient With Rheumatoid Arthritis. *Arch Intern Med* 149: 1688~1690, 1989
- 22) Kingsmore SF, Hall BD, Allen NB, Rice JR, Caldwell DS: Association of Methotrexate, Rheumatoid Arthritis and Lymphoma: Report of 2 Cases and Literature Review. *J Rheumatol* 19: 1462~1465, 1992