胃 MALT リンパ腫の成因と高悪性度化の機序

吉野 正, 赤木 忠厚

岡山大学医学部第二病理

Pathogenesis and high-grade transformation of gastric MALT lymphomas

Tadashi Yoshino, Tadaatsu Akagi

Department of Pathology, Okayama University, School of Medicine

はじめに

近年, 胃などの消化管, 甲状腺, 眼窩, 乳腺, 唾液腺, 泌尿器, 呼吸器などの広範な節外性臓器に発生するリンパ腫については, 発生母地となるリンパ組織の共通する性格から mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) 由来のものが多く, MALT リンパ腫という疾患概念が広く認められてきた¹⁾。MALT リンパ腫細胞は脾臓濾胞周辺帯の B 細胞と表現型が一致することから, 新分類では marginal zone B-cell lymphoma に分類されており²⁾, 免疫グロブリン重鎖遺伝子に somatic hypermutation が認められることから芽中心後の B 細胞分化段階に属することが報告されている³⁾。この低悪性度 MALT リンパ腫はかつて reactive lymphoid hyperplasia (RLH) といわれていたものに相当するが, trisomy3 等の染色体異常を示し, また免疫グロブリン遺伝子のクローナルな再構成がみられることなど腫瘍性を示す所見が得られている¹⁾。しかしその発生とときにみられる高悪性度化の機序は未だ判然としていない。そこでわれわれは *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) の果たす役割と高悪性化に関わる因子に重点をおいて検索した。

検索対象症例と臨床病理学的特徴

手術材料により詳細に検討された胃 MALT リンパ腫53例を検索対象とした。このうち低悪性度 MALT リンパ腫は40例, 高悪性度 MALT リンパ腫は13例であった (表1)。

MALT リンパ腫の診断は Issacson らの基準¹⁾に準拠し, 図1のごとく centrocyte-like cells といわれる中等度までの異型をしめす lymphoid cells が胃腺管破壊性に増殖し, lymphoepithelial lesion (LEL) を形成するものを低悪性度 MALT リンパ腫とした。LEL の確認には keratin の免疫染色が有用であった (図2)。低悪性度 MALT リンパ腫の像を示しつつ図3のごとく, 一部でリンパ腫細胞があきらかに大型化しているものを高悪性度 MALT リンパ腫とした。両者のリンパ腫細胞では細胞増殖能を MIB1 や PCNA で免疫組織学的に検討してみると, 前者はその一部が陽性を示すにすぎないが, 後者の高悪性度の部では少なくとも半数以上が cell cycle に入っていることが観察され, その程度はリンパ節などの大細胞型リンパ腫と同様であった。

両者の臨床病理学的特徴を比較してみると, 男女比は低悪性度 MALT リンパ腫, 高悪性度 MALT リンパ腫ともに 1 : 1.2 と等しいのに対して, 年齢分布をみると図4のごとく, 手術例では低悪性度症例

表1 胃 MALT リンパ腫検索材料の臨床病理学的特徴

	症例数 (例)	男/女	平均年齢 (歳)
Low grade MALT	40	18/22	57.6
High grade MALT	13	6/7	65.5
計	53	24/29	59.5

図1 中等度の centrocyte-like cells が胃腺管破壊性にびまん性に増生しており, lymphoepithelial lesions を形成している。H-E 染色 ×480

図2 cytokeratin に対する抗体 (AE1/AE3 ペーリンガー) を用いて免疫染色を施行すると lymphoepithelial lesions が鮮明に認識される。×480

図3 高悪性度胃 MALT リンパ腫の一例。低悪性度 MALT リンパ腫の像に加えて、大型類円形の核を有するリンパ腫細胞が増生している。H-E 染色 ×480

図4 胃 MALT リンパ腫の年齢分布

は30歳台から70歳台にみられたが(平均年齢57.6歳), 高悪性度症例は50歳台以前にはみられず(平均年齢65.5歳), 後者が明らかに高い傾向を示した。この結果は低悪性度 MALT リンパ腫が高悪性度化するのにかなりの年月を要することを示唆している。病変の深達度を両者の間で比較してみると, 低悪性度 MALT リンパ腫の大半は sm までであったのに対して, 高悪性度 MALT リンパ腫は mp 以上の症例が多くその悪性度に比例していた(図5)。リンパ節転移と壁深達度の関係をみてみると sm までのものでは殆どみられないのに対して mp 以上ではあらかじめ高率に転移を示した(図6)。

以上のように低悪性度 MALT リンパ腫が高悪性度化することによって細胞の異型度が増すだけでなく, 壁深達度やリンパ節転移が増すことが判明した。

MALT リンパ腫の成因と高悪性度化の機序

胃 MALT リンパ腫はリンパ球浸潤をしめす慢性胃炎との密接な関連を示唆するデータが数多く提出されており, その慢性胃炎の発生原因としては *H. pylori* が注目されている。胃 MALT リンパ腫の大半に *H. pylori* がみられるという報告があり⁴⁾⁵⁾, われわれの症例でも低悪性度 MALT リンパ腫では検索された症例全例で種々の検索法により *H. pylori* が検出されている。また, 低悪性度 MALT リンパ腫

図5 胃 MALT リンパ腫の壁深達度

図6 胃 MALT リンパ腫の壁深達度とリンパ節転移

が *H. pylori* を除菌することにより消退する症例がみられるほか^{9)~8)}, *H. pylori* の再感染により低悪性度 MALT リンパ腫が再燃した等の報告があり⁹⁾, その発症機序に *H. pylori* がなんらかの形で深く関与していることは確実だと思われる。しかし, 一方低悪性度 MALT リンパ腫の免疫グロブリンは自己抗

原と反応するという報告があり¹⁰⁾, 単純に *H. pylori* に対する抗体産生性をしめす B 細胞の腫瘍性増殖とはいえない成績もみられる。また, 低悪性度 MALT リンパ腫の B 細胞は *H. pylori* そのものに対してというよりも, *H. pylori* に反応性の T 細胞依存性に増殖するという報告¹¹⁾, あるいは MALT リンパ腫に

図7 *H. pylori* に対するポリクローナル抗体を用いて免疫染色すると胚中心内のFDCと考えられる細胞に一致して陽性所見が認められる。×600

浸潤している反応性T細胞には、T細胞受容体遺伝子の再構成がありV β 2のcommon usageがみられたという報告もあり¹²⁾、その増殖にT細胞が関与することが考えられる。一般に腫瘍は特定細胞の自律的増殖と考えられるので、このように抗原依存性で、他の細胞により増殖が制御されるという反応性増殖とも考えられる性格を併せもつことは、他の腫瘍では通常みられない特徴である。

胃MALTリンパ腫ではこのような未解決の問題を有するわけであるが、それにアプローチするひとつの手段として、われわれは*H. pylori*のどの成分がMALTリンパ腫の成因に関与するかに焦点をあわせて検索している。まず、*H. pylori*に対するポリクローナル抗体で免疫組織学的に検索したところ、*H. pylori*の菌体とこれに近接した胃上皮、および高率にその間にみられたリンパ組織の胚中心内濾胞樹状細胞(FDC)に一致した陽性所見がえられた(図7)。FDCの陽性所見はヒトheat shock protein(HSP)60に対する単クローン抗体でも得られた。この胚中心における陽性反応は低頻度に*H. pylori*陽性胃潰瘍の局所反応性リンパ濾胞にもみられたが、MALTリンパ腫症例の郭清リンパ節や対照症例のリンパ節には観察されなかった。*H. pylori*のHSP60とヒトHSP60は共通抗原性を有することがわかっており、MALTリンパ腫リンパ組織胚中

心のFDC上には共通抗原性をしめすエピトープを有する分子が捕捉されていることが示唆された。一方、MALTリンパ腫胃病変部より分離したリンパ球の培養上清IgMはウェスタンブロッティングにより胃上皮細胞の分子量66kD位のlysateと一本のバンドを形成し、自己抗原と反応することが示唆された。この所見はリンパ腫細胞が自己抗原を認識するという他の報告と同様の成績である。また、MALT患者末梢血リンパ球をSCIDマウスに移入してhu-SCIDマウスを作製した後、*H. pylori*を経口投与し得られた脾細胞の*H. pylori*抗原に対するリンパ球幼若化反応をみたところ、全菌体成分およびウレアーゼ56K、26Kの蛋白、HSPなどの抗原に強く反応した(横田ら、論文準備中)。MALTリンパ腫患者血清は*H. pylori*陽性胃潰瘍患者血清に比し、はるかに強くHSP60と反応することも知られており(河原ら、論文準備中)、これらの知見からMALTリンパ腫の発生機序あるいは母地のなかでおそらく*H. pylori*のHSPが重要な働きをしていることが推測された。

ときにみられる低悪性度MALTリンパ腫を背景とした部分的悪性度化、すなわち高悪性度MALTリンパ腫にみられる性状として、高悪性度の部分では低悪性度の部分に比してAgNOR、PCNAがより高率にみられることや¹³⁾、大部分の高

図8 胃 MALT リンパ腫の高悪性度化に関わる分子

悪性度 MALT リンパ腫には bcl-2 蛋白が認められないことなどが報告されている¹⁴⁾。この高悪性度化の機序については胃 MALT リンパ腫の高悪性度化にともなって p53 蛋白の発現が増し p53 遺伝子の点突然変異がみとめられるという注目すべき報告がなされている¹⁵⁾。われわれの検索でも高悪性度の部では p53 蛋白の高発現をみとめたが、それに加えて高悪性度の部分では低悪性度 MALT リンパ腫に比べて BCL-6, RAS, CD44E がより高く発現していた(図8)。これらの分子が高悪性度化の過程で関与していることを示唆しているが、とりわけ BCL-6 は濾胞性リンパ腫のほか大細胞型リンパ腫との関連が深いという成績があり¹⁶⁾興味ある所見であった。

ま と め

今回の検索結果と過去の報告とを総合して胃 MALT リンパ腫の発生と進展における仮説を述べる。MALT リンパ腫は従来いわれているごとく *H. pylori* による慢性胃炎をその発生母地とすると考えられる。その結果 *H. pylori* の HSP60 などの抗原刺激により T 細胞が活性化され、これを介して *H. pylori* の HSP60 共通抗原性を有するヒト HSP60 に対する自己反応性 B 細胞クローンの増殖がみられる。また同時に HSP60 などの抗原は FDC に trap

され、リンパ濾胞胚中心内において自己免疫性 B 細胞の増殖と選択が行なわれると思われる。腫瘍化にあたっての直接の機序は今後の検討を要する重要な問題であるが、持続的抗原刺激により遺伝子レベルの変化をきたすことが考えられる。MALT リンパ腫細胞では repair error などの genetic instability が高率にあり¹⁷⁾、また第3番染色体の trisomy なども報告されている¹⁸⁾のはこれを示唆する所見である。このようにして成立した低悪性度 MALT リンパ腫がつぎの段階で p53, bcl-6¹⁹⁾などの付加異常をともなって高悪性度化するのであろう。現在まで得られた情報に基づく仮説ではあるが、かなり大胆な仮説であり、未だブラックボックスが多く実証のためには今後さらに多くの研究がなされなければならない。いずれにしても、低悪性度 MALT リンパ腫は反応性増殖と自律性腫瘍性増殖の間に横たわる特異な病態であり、腫瘍の発生、進展の自然史を研究する上で好個の研究材料である。その成因と高悪性度化の機序の解明が待たれるところである。

本研究は岡山大学第二病理、細菌学教室の共同研究であり両教室員とりわけ小林、重西、横田によるところが大きい。また検索材料を快く提供くださった関連諸施設の先生方に深謝します。

文 献

- 1) Isaacson P. G. and Norton A. J.: Extranodal lymphomas. Churchill Livingstone NY 1994
- 2) Harris N. L., Jaffe E. S., Stein H., Banks P. M., Chan J. K. C., Cleary M. L., Delsol G., De Wolf-Peeters C., Falini B., Gatter K. C., Grogan T. M., Isaacson P. G., Knowles D. M., Mason D. Y., Muller-Hermelink H.-K., Pileri S. A., Piris M. A., Ralfkiaer E. and Warnke R. A.: A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the international lymphoma study group. *Blood* 84:1361-1392 1994
- 3) Qin Y., Greiner A., Trunk M. J. F., Schmausser B., Ott M. M. and Müller-Hermelink H. K.: Somatic hypermutation in low-grade mucosa-associated lymphoid tissue - type B - cell lymphoma. *Blood* 86:3528-3534 1995
- 4) Wotherspoon A. C., Ortiz-Hidalgo C., Falzon M. R. and Isaacson P. G.: *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 338:1175-1176 1991
- 5) Greiner A., Marx A., Heesemann J., Leebmann J., Schmausser B. and Muller-Hermelink H. K.: Idiotypic identity in a MALT-type lymphoma B cells in *Helicobacter pylori* associated chronic gastritis. *Lab Invest* 70:572-578 1994
- 6) Wotherspoon A. C., Doglioni C., Diss T. C., Pan L., Moschini A., de Boni M. and Isaacson P. G.: Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 342:575-577 1993
- 7) Roggero E., Zucca E., Pinotti G., Pascarella A., Capella C., Savio A., Pedrinis E., Paterlini A., Venco A. and Cavalli F.: Eradication of *Helicobacter pylori* infection in primary low-grade gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Ann Intern Med* 122:767-769 1995
- 8) Bayerdorffer E., Neubauer A., Rudolph B., Thiede C., Lehn N., Eidt S. and Stolte M.: Regression of primary gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after cure of *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 345:1591-1594 1995
- 9) Horstmann M., Erttmann R. and Winkler K.: Relapse of MALT lymphoma associated with *Helicobacter pylori* after antibiotic treatment. *Lancet* 343:1098-1099 1994
- 10) Huseell T., Isaacson P. G., Crabtree J. E., Dogan A. and Spencer J.: Immunoglobulin specificity of low grade B cell gastrointestinal lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue (MALT) type. *Am J Pathol* 142:285-292 1993
- 11) Hussell T., Isaacson P. G., Crabtree J. E. and Spencer J.: The response of cells from low-grade B-cell gastric lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue to *Helicobacter pylori*. *Lancet* 342:571-574 1993
- 12) Yumoto N., Araki A., Sumida T., Saito T., Taniguchi M. and Mikata A.: Restricted V beta gene usage of tumor-infiltrating T lymphocytes in primary gastric malignant B-cell lymphoma. *Vichows Arch* 426:11-18 1995
- 13) Mikou P., Kanavaros P., Aninos D., Tzardi M., Karameris A., Gorgoulis B., Papadopoulos N., Lavergne A. and Galian A.: Nucleolar organizer regions (NORs) staining and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining in mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) gastric lymphomas. *Pathol Res Pract* 189:1004-1009 1993
- 14) Navratil E., Gauland P., Kanavaros P., Audouin J., Bougaran J., Martin N., Diebold J. and Mason D. Y.: Expression of the bcl-2 protein in B cell lymphomas arising from mucosa associated lymphoid tissue. *J Clin Pathol* 48:18-21 1994
- 15) Du M., Peng H., Singh N., Isaacson P. G. and Pan L.: The accumulation of p53 abnormalities is associated with progression of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Blood* 86:4597-4593 1995
- 16) Onizuka T., Moriyama M., Yamochi T., Kuroda T., Kazama A., Kanazawa N., Sato K., Kato T., Ota H. and Mori S.: BCL-6 gene product, a 92 -to 98-kD nuclear phosphoprotein, is highly expressed in germinal center B cells and their neoplastic counterparts. *Blood* 86:28-37 1995

- 17) Calvert R., Randerson J., Evans P., Cawkwell L., Lewis F., Dixon M. F., Jack A., Owen R., Shiach C. and Morgan G. J.: Genetic abnormalities during transition from *Helicobacter-pylori*-associated gastritis to low-grade MALT oma. Lancet 345:26-27 1995
- 18) Wotherspoon A. C., Finn T. M. and Isaacson P. G.: Trisomy 3 in low grade B-cell lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue. Blood 85:2000-2004 1995
- 19) Omonishi K, Yoshino T, Sakuma I, Kobayashi K, Moriyama M, Akagi T: BCL-6 protein is identified in high-grade but not low-grade mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphomas of the stomach. Mod Pathol (in press)