

平成 21 年 4 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590348
 研究課題名（和文）
 節外性と節性濾胞性リンパ腫及びマルトリンパ腫間の網羅的分子病理学的な比較
 研究課題名（英文）
 Molecular comparison of extranodal and nodal follicular and mantle cell lymphomas.
 研究代表者
 吉野 正（YOSHINO TADASHI）
 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
 研究者番号：70183704

研究成果の概要：節外性濾胞性リンパ腫、特に十二指腸症例を検索した。その結果、十二指腸濾胞性リンパ腫例は節性と同様免疫グロブリン遺伝子にon-going mutationは認められたが後者に比べて臨床病期の低くAIDの発現が明らかに低率であることを見出した。また、VHのusageではVH4VH5に偏在していた。これにより、十二指腸濾胞性リンパ腫は節性と同様の分子発生機転を有しつつもMALTリンパ腫に近似した性格を有することを初めて発見した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：病理学

科研費の分科・細目：人体病理学・血液

キーワード：悪性リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、濾胞性リンパ腫、節外性、節性、十二指腸、濾胞樹状細胞、 体細胞突然変異

1. 研究開始当初の背景

われわれは従来悪性リンパ腫の臨床病理学的検討、分子遺伝学的研究を推進してきた。胃 MALT リンパ腫については、その発症機転に関わる機序の研究、慢性胃炎からの進展において各種がん抑制遺伝子のメチル化が起こること、NK 細胞リンパ腫に関する網羅的な分子発現を検討し、白血球系悪性腫瘍において高率広範に SHP-1 の発現低下をきたすことなどの成果をあげ、文献報告とともに方

法論や結果についての臨床応用などで特許を取得してきた。そのような臨床病理学的検討を進める途上で十二指腸下行脚に濾胞性リンパ腫が頻発することを見出し報告した (Am J Surg Pathol 2000)。濾胞性リンパ腫は、代表的な低悪性度 B 細胞性リンパ腫であり、節性ではびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 (DLBCL) に次いで多い近年増加傾向が明らかである。濾胞性リンパ腫は欧米でもわが国でもリンパ節原発 (節性) が多いが節

外性の濾胞性リンパ腫を網羅的に検討した研究は、われわれの知る限り皆無であった。

2. 研究の目的

節外性濾胞性リンパ腫特に頻発する十二指腸例についてフェノタイプ、ジェノタイプを明らかにする。その中には、CD10, BCL6、各種接着因子の発現、t(14;18)の有無、細胞増殖能と grading を含む。臨床病期、浸潤部位と前述のデータを節性の濾胞性リンパ腫のそれと比較検討する。免疫グロブリン遺伝子の再構成の有無と再構成があったものでは VH ファミリーの usage を比較し、われわれの過去の研究成果や他の施設の文献報告と比較する。

3. 研究の方法

1) 症例抽出

現在までにわれわれの診断ファイルに登録されている悪性リンパ腫症例約8000例中で濾胞性リンパ腫は約1000例程度である。節外性は70例程度ある。これらの節外性濾胞性リンパ腫とくに十二指腸症例を抽出する。また、節外性濾胞性リンパ腫例と比較対照症例としては、follicular colonizationを有するMALTリンパ腫例も併せて検索する。両者は、診断上も鑑別が問題になることが多く、同じような組織像を持ちながら異なった範疇に入る病変として、大変重要な検索と考えられる。

2) 免疫組織学的検索

通常CD20, CD79aなどのB細胞マーカー、CD3, CD5などのT細胞マーカーに加えてCD10, BCL-6, MIB-1, bc12蛋白を検索します。検索手段は、通常免疫組織学的検索で、脱パラフィン後内因性ペルオキシダーゼを阻害し、所有する自動免疫染色装置で酵素抗体法を行う。陽性陰性、陽性率に関しては複数の病理医により判定、算定する。また、解析を行った結果on-going mutationがあることを見出し

たので、突然変異と細胞選択に重要な濾胞樹状細胞をCD21, CD35をマーカーとして検索するとともに、Activation-induced (cytidine) deaminase (AID)の発現も免疫組織学的に検討した。

3) 免疫分子的検索

bc12遺伝子の再構成 (t(14;18)(q21;q23))、免疫グロブリン遺伝子の再構成の有無を検索する。再構成があったのではダイレクトシーケンスによりMod Pathol 2004で示した方法に準拠してVHファミリーの検索を行うとともに、on-going mutationの有無を検討する。実際の方法については、Takada S, Yoshino T et al. Mod Pathol. 2003;16:445-52. Sakugawa ST, Yoshino T et al. Mod Pathol. 2003;16:1232-41に従って行う。T(14;18)はPCR法によっても検討可能で、この方法も用いる。

4. 研究成果

十二指腸濾胞性リンパ腫例は節性のそれと比較して共通点としては B 細胞マーカーと BCL2 蛋白を有し、T 細胞マーカーが陰性であるが、CD10 はより高率に陽性であり、Grade1, 2 がほとんどできわめて均質な性格をゆうしていた。また、節性に比べて、臨床病期の低いこと、骨髄浸潤が低率であることを見出した。また、VH の usage では VH4, VH5 に偏在していることがあり、これは MALT リンパ腫例に近いことが判明した。さらに t(14;18)では節性と比べてそんな色ない転座であることがわかった。これにより、十二指腸濾胞性リンパ腫は濾胞性リンパ腫としての基本的免疫遺伝学的発生機転を有しつつも MALT リンパ腫に近似した性格を有することを見出し学術論文として発表した。さらに、新規症例を追加して検討し、免疫グロブリン遺伝子再構成が見られた症例について on-going mutation の有無について検索した。また VH

ファミリーの usage についても追加症例を加えて更に規模を拡大して検討した。その結果、on-going mutation は認められ、節性と同様の分化段階、胚中心細胞に近似した正確があることを確認した。このことから胚中心での細胞選択に重要な濾胞樹状細胞の分布を調べたところ、腫瘍性濾胞では周辺に濾胞樹状細胞が存在するが、全体としての分布はきわめて疎である予想外の結果となった。このような所見は粘膜関連リンパ組織リンパ腫でよくみる所見である。また、on-going mutation や class switch に重要である Activation-induced (cytidine) deaminase (AID) の発現を検討したところ、節性濾胞性リンパ腫と比べて明らかに低率な発現しかないことが判明した。このことは、十二指腸濾胞性リンパ腫が非常に特異な存在であることを示唆している。これらの結果は米国病理学会の公式雑誌である Modern Pathology に受理された。マントル細胞リンパ腫については、新規な知見は得られなかったが cyclin D1 強発現で共有した異常を示す多発性骨髄腫で CD79a の発現との関係で興味ある知見があり今後引き続き検索予定である。DNA マイクロアレイについては、十分量を用いての検索ができず、他の検索手段を模索したが、十分な結果を得るに至っていない。この間には同じ難治性非ホジキンリンパ腫である成人 T 細胞リンパ腫関係について検索していくつかの知見を得ており、今後発展させる予定である。このほかいくつかの悪性リンパ腫における臨床病理学的検討をし文献報告した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

①Takata K, Sato Y, Nakamura N, Kikuti YY, Ichimura K, Tanaka T, Morito T, Tamura M, Oka T, Kondo E, Okada H, Tari A and Yoshino

T. Duodenal and nodal follicular lymphomas are distinct: The former lacks activation-induced cytidine deaminase (AID) and follicular dendritic cells despite ongoing somatic hypermutations. Mod Pathol in press

②Motohiro Kato, Masashi Sanada, Itaru Kato, Yasuharu Sato, Junko Takita, Kengo Takeuchi, Akira Niwa, Yuyan Chen, Kumi Nakazaki, Junko Nomoto, Yoshitaka Asakura, Satsuki Muto, Azusa Tamura, Mitsuru Iio, Yoshiki Akatsuka, Yasuhide Hayashi, Hiraku Mori, Takashi Igarashi, Mineo Kurokawa, Shigeru Chiba, Shigeo Mori, Yuichi Ishikawa, Koji Okamoto, Kensei Tobinai, Hiroshi Nakagama, Tatsutoshi Nakahata, Tadashi Yoshino, Yukio Kobayashi, Seishi Ogawa Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas Nature in press

③Sato Y, Kojima M, Takata K, Morito T, Asaoku H, Takeuchi T, Mizobuchi K, Fujihara M, Kuraoka K, Nakai T, Ichimura K, Tanaka T, Tamura M, Nishikawa Y, Yoshino T. Systemic IgG4-related lymphadenopathy: Clinical and pathological differences from multicentric Castleman's disease Mod Pathol in press

④Morito T, Fujihara M, Asaoku H, Tari A, Sato Y, Ichimura K, Tanaka T, Katsuyoshi Takata K, Tamura M, Yoshino T. Serum soluble interleukin-2 receptor level and immunophenotype are prognostic factors for patients with diffuse large B-cell lymphoma. Cancer Sci in press

⑤Sato Y, Onishi N, Morito T, Takata K, Mizobuchi K, Nagatsuka H, Ichimura K, Tanaka T, Tamura M, Yoshino T. Patients with localized primary non-tonsillar oral diffuse large B-cell lymphoma exhibit

favorable prognosis despite a non-germinal center B-cell-like phenotype. *Cancer Sci.* 2009 Jan;100(1):42-6. Epub 2008 Oct 23

⑥ Sato Y, Takata K, Ichimura K, Tanaka T, Morito T, Tamura M, Yoshino T. IgG4-producing marginal zone B-cell lymphoma. *Int J Hematol.* 2008 Oct 8. [Epub ahead of print]

⑦ Doi H, Horiike N, Hiraoka A, Koizumi Y, Yamamoto Y, Hasebe A, Ichikawa S, Yano M, Miyamoto Y, Ninomiya T, Ishimaru Y, Miyagawa M, Takamura K, Kawasaki H, Kozuka T, Maeda T, Yoshino T. Primary hepatic marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type: case report and review of the literature. *Int J Hematol.* 2008 Sep 23. [Epub ahead of print]

⑧ Sato Y, Ohshima K, Ichimura K, Sato M, Yamadori I, Tanaka T, Takata K, Morito T, Kondo E, Yoshino T. Ocular adnexal IgG4-related disease has uniform clinicopathology. *Pathol Int.* 2008 Aug;58(8):465-70.

⑨ Kubota T, Moritani S, Yoshino T, Nagai H, Terasaki H. Ocular Adnexal Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma with Polyclonal Hypergammaglobulinemia. *Am J Ophthalmol.* 2008 Jun;145(6):1002-1006. Epub 2008 Mar 12; [Epub ahead of print]

⑩ Kondo E, Yoshino T. Expression of apoptosis regulators in germinal centers and germinal center-derived B-cell lymphomas: Insight into B-cell lymphomagenesis. *Pathol Int.* 2007 Jul;57(7):391-7.

⑪ Y Sato, K Ichimura, T Tanaka, K Takata, T Morito, H Sato, E Kondo, H Yanai, N Ohara,

T Oka and T Yoshino. Duodenal follicular lymphomas share common characteristics with mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas. *J. Clin. Pathol.* 2008;61:377-381; originally published online 29 Jun 2007;

[学会発表] (計 17 件)

① 吉野 正 「MALTリンパ腫」兵庫消化管研究会 2008年11月27日神戸

② T. Yoshino 日韓合同シンポジウム「Malignant lymphoma-new entities in Asia」第70回日本血液学会総会 2008年10月11日国立京都会館

③ T. Yoshino 発表1. Clinicopathology of the IgG4-related lymphoproliferative disorder
発表2. Clinicopathology of the duodenal follicular lymphoma 2008年9月17日~21日 The 7th German-Japanese Lymphoma Meeting - Japanese topics and case presentation Wurzburg, Germany

④ 吉野 正 The new (4th) WHO classification of malignant lymphomas Manado, Indonesia
インドネシア病理学会総会 2008年7月16日インドネシア

⑤ 吉野 正 「NK/T細胞リンパ腫の病理」Tokyo Interactive Conference of Hematopathology (TICH) 講演会 2008年7月4日東京

⑥ 吉野 正 「MALTリンパ腫を中心とする消化管リンパ腫」第9回岩手MALT lymphoma研究会 2008年4月5日岩手医大

⑦ 吉野 正 「悪性リンパ腫の疾患単位-低悪性度リンパ腫を中心として-」第15回近畿悪性リンパ腫研究会 2008年2月1日京都

⑧ 吉野 正 パネルディスカッション「縦隔リンパ節」第5回縦隔疾患研究会
2008年1月19日大阪

⑨ 吉野 正 「悪性リンパ腫の疾患単位」第9回徳島悪性リンパ腫研究会 2008年1月18日徳島市

⑩ 吉野 正 「悪性リンパ腫関連疾患」IAP日

本支部 スライドセミナー2007年12月8日
東京

⑪吉野 正「悪性リンパ腫の疾患単位」

Lymphoma Update Meeting in Saitama
2007年11月9日大宮市

⑫吉野 正「低悪性度リンパ腫の分類と臨床
病理」 第69回日本血液学会、第49回日本
臨床血液学会 2007年10月13日

横浜パシフィコ

⑬吉野 正「T-cell lymphomaの概念と病理
診断」 第69回日本血液学会、第49回日本
臨床血液学会 2007年10月10日

横浜パシフィコ

⑭吉野 正「十二指腸follicular lymphoma
の最新の話」第5回広島消化管悪性リンパ
腫研究会 2007年8月31日広島

⑮吉野 正「頭頸部（耳鼻科領域）の病理診
断：リンパ腫を含めて」第196回耳鼻咽喉科
集談会 2007年6月17日岡山衛生会館

⑯吉野 正シンポジウムT細胞リンパ腫・多
施設共同研究からみた病態・治療における諸
問題「国際共同研究における病理診断の現状
と課題」日本リンパ網内系学会総会

2007年5月淡路夢舞台国際会議場

⑰吉野 正シンポジウム眼付属器における
悪性リンパ腫の診断と治療「眼付属器におけ
る悪性リンパ腫の特性」第111回日本眼科学
会総会 2007年4月19日大阪国際会議場グラ
ンキューブ大阪

〔図書〕（計8件）

①T. Yoshino, NL. Harris, BN Nathwani, SH
Swerdlow, D de Jong, ES Jaffe, G Ott, D
Spagnolo Follicular lymphoma. WHO
classification of Tumours (4th Ed)
Ed: SH Swerdlow, E Campo, NL Harris, ES
Jaffe, SA Pileri, H Stein, J Thiele, JW
Vardiman pp. 220-226, IARC Press, Lyon,
2008

②吉野 正 消化管全般にわたる疾患 悪性
リンパ腫 消化管病理標本の読み方 改訂2
版 中村眞一編 pp167-176 日本メディカ

ルセンター 2008年

③田村麻衣子、佐藤康晴、吉野 正 各論 リ
ンパ節・脾臓

病理と臨床臨時増刊号Vol. 26 pp. 267-270

文光堂東京2008年

④吉野 正、佐藤康晴 悪性リンパ腫とは何
か-悪性リンパ腫の種類と分類

よくわかる悪性リンパ腫のすべて 飛内賢正
編集 pp. 1-14

永井書店 東京2008年

⑤吉野 正 病理画像ケーススタディー 笹
野公伸、真鍋俊明編集 DVD版

南山堂 東京 2008年

⑥吉野 正、中村栄男 リンパ節・脾・胸線
病理診断の見方と鑑別診断 第5版 赤木忠

厚監修 松原 修、真鍋俊明、吉野 正編 医
歯薬出版 2007年

⑦吉野 正（監修）インフォームドコンセン
トサポートライブラリー

悪性リンパ腫 NOVARTIS Oncology 2007年

⑧吉野 正、中村栄男、鈴木利光、深山正久、
山川光徳（監訳）カラールービン病理学 臨
床医学への基盤 全1367ページ

西村書店 2007年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉野 正 (YOSHINO TADASHI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：70183704

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし