

術後検体のパラフィン切片より免疫グロブリン重鎖の 遺伝子再構成を確認した肺原発 MALT リンパ腫の 1 例

熊谷 洋¹・森 裕二²・中田尚志²・
大内博文²・二川原英治²・阿部庄作¹

要旨 **背景** .今回我々は,肺原発 MALT リンパ腫の 1 例を経験したので報告する. **症例** .62 歳の男性,胸部 X 線にて異常陰影を指摘され受診した.胸部 X 線および胸部 CT で左 S¹⁰ に結節影を認め,気管支鏡検査では確定診断がつかず超音波ガイド下経皮肺生検組織より MALT リンパ腫が疑われた.左下葉切除術を施行し,術後検体のパラフィン切片より PCR 法にて免疫グロブリン重鎖の遺伝子再構成を認め, MALT リンパ腫と診断した. **結論** . MALT リンパ腫の診断は術後検体のパラフィン切片を用いても可能と考えられた. (肺癌. 2003;43:17-21)

索引用語 MALT リンパ腫, パラフィン切片, 遺伝子再構成

A Case of Primary Pulmonary Mucosa-associated Lymphoid Tissue Lymphoma Confirmed on Surgical Paraffin-embedded Materials by IgH Gene Rearrangement

Hiroshi Kumagai¹; Yuji Mori²; Hisashi Nakata²;
Hiroyuki Ohuchi²; Eiji Nigawara²; Shosaku Abe¹

ABSTRACT **Background.** We report a case of primary pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. **Case.** A 62-year-old man was admitted because of an abnormal shadow on a chest X-ray film. Chest X-ray films and chest computed tomography (CT) scans revealed a mass in the left S¹⁰ of the lung. Diagnosis could not be bronchoscopically confirmed and MALT lymphoma was suggested by ultrasound-guided percutaneous lung biopsy. Left lower lobectomy was performed. Surgical paraffin-embedded materials showed a sharp monoclonal band of immunoglobulin heavy chain (IgH) gene rearrangement on electrophoresis of polymerase chain reaction (PCR) products. These findings yielded a diagnosis of MALT lymphoma. **Conclusion.** The diagnosis of MALT lymphoma was confirmed on surgical paraffin-embedded materials by use of this technique. (JLCC. 2003;43:17-21)

KEY WORDS Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, Paraffin-embedded materials, Gene rearrangement

¹ 札幌医科大学医学部第 3 内科; ² 函館五稜郭病院呼吸器内科.
別刷請求先: 熊谷 洋, 札幌医科大学医学部第 3 内科, 〒060-8543 札幌市中央区南 1 条西 16 丁目 (e-mail: kumahiro@sapmed.ac.jp).

¹Third Department of Internal Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, Japan; ²Department of Respiratory Medicine, Hakodate Goryokaku Hospital, Japan.

Reprints: Hiroshi Kumagai, Third Department of Internal Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, S1 W16, Chuo-ku, Sapporo, Hokkaido 060-8543, Japan (e-mail: kumahiro@sapmed.ac.jp)

Received July 15, 2002; accepted September 2, 2002.

© 2003 The Japan Lung Cancer Society

Table 1. Laboratory data on admission

Hematology		Serology		CYFRA	1.2 ng/ml
WBC	4,800 /mm ³	RA	0 IU/l	NSE	4.6 ng/ml
RBC	430 × 10 ⁴ /mm ³	RAPA	< 40	Blood gas analysis	
Hb	14.9 g/dl	ANA	× 40	pH	7.428
Ht	43.7 %	SS-A Ab	(-)	PaCO ₂	39.1 torr
Plt	19.6 × 10 ⁴ /mm ³	SS-B Ab	(-)	PaO ₂	81.8 torr
Biochemistry		HIV-1,2(EIA)	(-)	HCO ₃ ⁻	25.8 mEq/l
TP	6.6 g/dl	IgG	1,450 mg/dl	Pulmonary function tests	
LDH	269 IU/l	IgA	191 mg/dl	VC	3,010 ml
BUN	15 mg/dl	IgM	267 mg/dl	%VC	93.2 %
Cr	1.0 mg/dl	ESR(1hr)	5 mm	FEV _{1.0}	2,510 ml
Na	145 mEq/l	CRP	0.1 mg/dl	FEV _{1.0%}	82.8 %
K	4.4 mEq/l	IL-2 receptor	487 U/ml		
Cl	106 mEq/l	CEA	0.8 ng/ml		
		SCC	0.6 ng/ml		

はじめに

肺原発悪性リンパ腫はまれな疾患であり、頻度は本邦において肺原発悪性腫瘍の0.1%と報告されている¹。現在ではその大部分が mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) リンパ腫であることが明らかになっている。

今回著者らは術後検体のホルマリン固定パラフィン切片から遺伝子の再構成が証明され肺原発 MALT リンパ腫と診断された1例を経験したので、若干の文献の考察を加えて報告する。

症 例

患者：62歳男性。

主訴：胸部異常陰影の精査。

家族歴：特記すべきことなし。

既往歴：24歳肺結核、59歳胃潰瘍。

喫煙歴：30本/日×42年（喫煙指数1260）。

現病歴：胃潰瘍にて近医通院加療中、胸部X線にて異常陰影を指摘され当科紹介となった。胸部異常陰影の精査目的に2000年12月11日入院となった。

入院時身体所見：心雑音を聴取せず、呼吸音正常。表在リンパ節は触知しなかった。

入院時検査所見：血液像、生化学的検査に異常所見を認めなかった。免疫学的には、抗核抗体陽性であった。その他腫瘍マーカーは正常範囲内、血液ガス、呼吸機能に異常を認めなかった（Table 1）。

入院時胸部X線：左下肺野横隔膜直上に心陰影と重なる25mm大の類円形陰影を認めた（Figure 1）。

胸部CT：横隔膜直上レベルの肺野条件では、左S^{10b}主体に一部S⁹にまたがる辺縁不明瞭な25mm大の結節影を認めた。縦隔条件では辺縁が凹凸不整で一部内部



Figure 1. Chest X-ray on admission, showing a 25 mm round shadow in the left lower lung field.

に low density を認めた（Figure 2）。

以上の画像所見より肺癌を疑い、経気管支擦過細胞診を施行したが、悪性所見を認めなかった。診断確定のため超音波ガイド下経皮肺生検を施行した。

超音波ガイド下経皮肺生検の組織像：弱拡大像では、小型から中型の異型に乏しいリンパ球がびまん性に浸潤している像が認められた（Figure 3）。また、免疫組織化学的にCD20（L-26）陽性、CD45RO（UCHL-1）陰性より腫瘍細胞はB細胞性と考えられ、MALT リンパ腫が強く疑われた。

全身ガリウムシンチグラフィ、頸部CT、腹部CT、上部消化管内視鏡検査、骨髄検査を施行したが、異常所見を認めなかった。以上の検査結果より肺原発 MALT

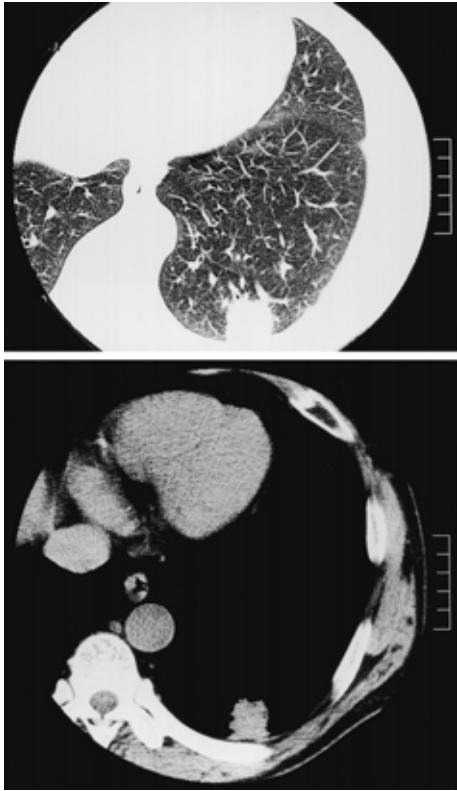


Figure 2. Chest CT scan shows a mass lesion in left S¹⁰b-S⁹.

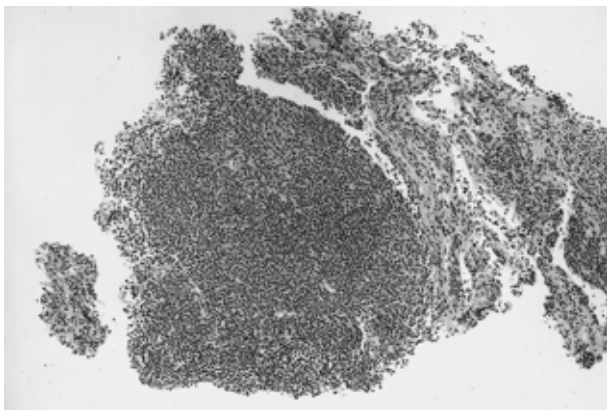


Figure 3. Ultrasound-guided percutaneous lung biopsy specimen shows diffuse proliferation of small-to-medium-sized lymphoid cells (HE stain, $\times 4$)

リンパ腫と診断し、左下葉切除術を施行した。

切除肺の肉眼所見：断面は白色充実性腫瘤を呈していた (Figure 4)。

切除肺の病理組織像：弱拡大像では、異型に乏しいリンパ球が中心部においてはほとんど細気管支や肺胞の構造が認識できないほど密な増生を示し、辺縁においては

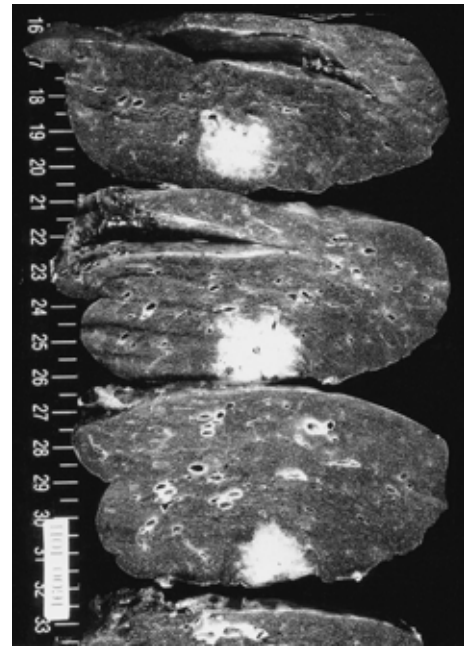


Figure 4. Cut surface of the resected specimen shows a whitish tumor.

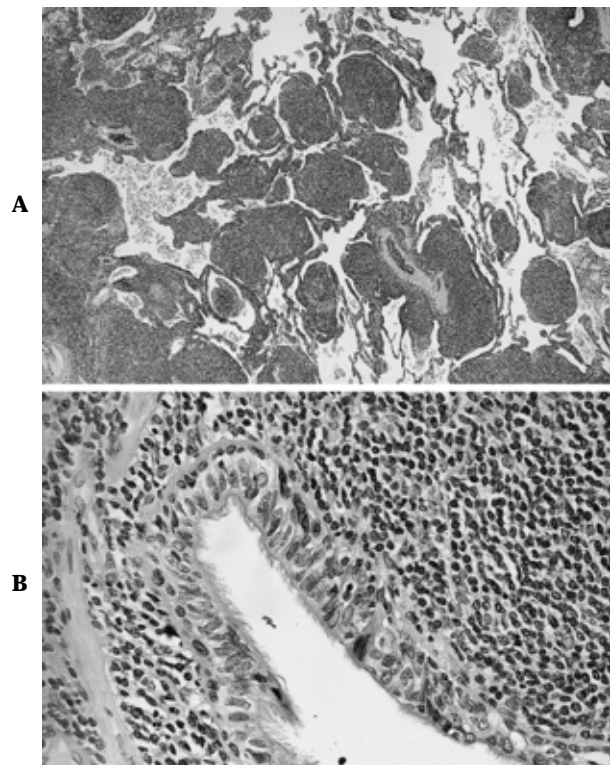
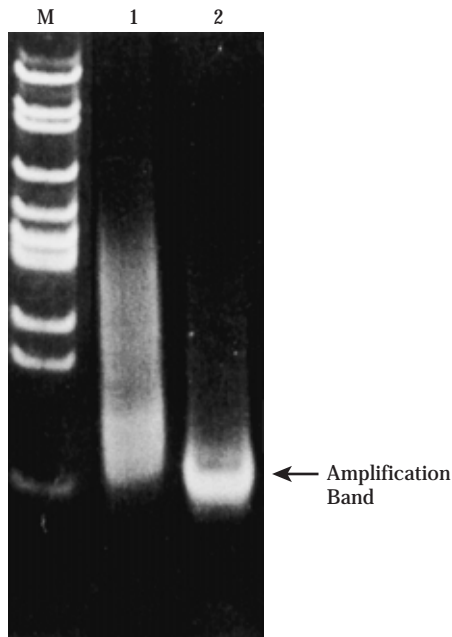


Figure 5. **A.** Microscopic findings of the resected tumor shows diffuse lymphocytic infiltration (HE stain, $\times 2$). **B.** Lymphoepithelial lesion is seen in the lung parenchyma (HE stain, $\times 20$)



M: Size Marker (ϕ X174DNA/Hinc II)
 1: Negative Control (Normal Lung Tissue)
 2: Sample

Figure 6. Surgical paraffin-embedded materials showed a sharp monoclonal band of immunoglobulin heavy chain (IgH) gene rearrangement on electrophoresis of polymerase chain reaction (PCR) products.

リンパ腫の細胞が bronchovascular bundle, 小葉間隔壁, 胸膜のリンパ管の豊富な領域に沿って進展する傾向がみられ, lymphocytic interstitial pneumonia (LIP) 様の像を示した (Figure 5A). また, 強拡大像では, 細気管支上皮にリンパ腫細胞が浸潤した lymphoepithelial lesion が認められた (Figure 5B).

さらに術後検体のホルマリン固定パラフィン切片を用いて免疫グロブリン重鎖の遺伝子解析を行った. パラフィン切片より抽出した DNA から PCR 法で, 明らかな増幅バンドが認められ, 遺伝子の再構成が証明された (Figure 6). 以上の結果から, 本症例は肺原発 MALT リンパ腫と考えられた.

経過: 術後 18 カ月の現在, 再発なく経過中である.

方法

術後検体のホルマリン固定パラフィン切片を 5 μ m の厚さ, 6 \times 6 mm 相当の大きさに切断し, 切片 3 枚をマイクロチューブに移した. パラフィン切片からの DNA 抽出剤 Takara Dexpat™ (Takara, Japan) を試料の入ったチューブに添加し DNA 溶液を分取した.

次に Dexpat™ 抽出 DNA 溶液を用いて Dissら² に

よって提唱された Seminested PCR プロトコールが実施された. 高感度 PCR 増幅用キット Taq Gold™ (Promega, USA) を用い, 第一段階は, V 領域を増幅する Fr3 プライマー (5'-ACACGGC/TGG/CJGTATTACTGT-3') と J 領域 (外側) を増幅する LJH プライマー (5'-TGAGGAGACGGTGACC-3') を用い, PCR 条件 95 $^{\circ}$ C で 15 秒, 45 $^{\circ}$ C で 30 秒, 72 $^{\circ}$ C で 60 秒を 30 サイクル実施した. その後 72 $^{\circ}$ C で 7 分の伸長反応後, 第二段階は, Fr3 プライマーと J 領域 (内側) を増幅する VLJH プライマー (5'-GTGACCAGGGTNCCTTGCCCCAG-3') を用い, PCR 条件 95 $^{\circ}$ C で 15 秒, 50 $^{\circ}$ C で 30 秒, 72 $^{\circ}$ C で 60 秒を 20 サイクル実施し, その後 72 $^{\circ}$ C で 7 分の伸長反応を追加した.⁴

PCR 増幅後, アガロース電気泳動で免疫グロブリン重鎖の遺伝子再構成を検討した.

考察

1983 年 Isaacson と Wright により mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) に由来する低悪性度 B 細胞性リンパ腫が提唱された.⁵ 現在では LIP とされてきた症例の一部と pseudolymphoma と診断されてきた症例の大多数が遺伝子診断の進歩により MALT リンパ腫であることが明らかになってきている.⁶⁻⁸

MALT リンパ腫の好発年齢は中高年で 50 歳代がピークであり, 性差はほとんどない. 咳嗽, 呼吸困難, 咯血, 体重減少, 胸痛等の症状を示すこともあるが, 本症例のように偶然健診で発見されることも多い.⁹ 背景に, シェーグレン症候群,^{10,11} マクログロブリン血症, HIV 感染などが報告されているが, 本症例においては合併は認められなかった.

画像上の特徴は, 単発性の結節影または限局性浸潤影が一般的であるが, 多発性または両側びまん性の浸潤影を示すこともある.⁹ 本症例のように単発性の結節影の場合, 画像上肺腺癌との鑑別が問題となる. また, 浸潤影を示す症例では肺胞上皮癌や炎症性疾患との鑑別が必要となることもある.¹²

MALT リンパ腫の治療は症例数が少なくまだ確立されていないが, 本症例のような限局性病変には肺の部分切除または肺葉切除が一般的に行われている. 予後は全般に良好で, 限局性病変の場合, 手術のみで 5 年生存率は 90% を超える.^{7,13}

MALT リンパ腫の組織像は弱拡大で鏡検すると, 小型から中型の異型に乏しいリンパ球がびまん性に密な増生を示す. 中心部においてはほとんど細気管支や肺胞の構造が認識できないほど密な増生がみられる. また, 強拡大で気管支, 細気管支上皮にリンパ腫の細胞が浸潤して生ずるいわゆる lymphoepithelial lesion は MALT リンパ

腫に特徴的な所見であり、本症例においても認められた。本症の報告例にはこのような組織学的所見より診断された報告も多くみられるが、最近では診断確定には免疫グロブリンの単クローン性や遺伝子の再構成の証明が必要との意見が多くみられる^{10,13}。遺伝子の再構成の証明には検出感度の点より新鮮組織を用いることが推奨されているが、1996年黒須ら¹⁵は経気管支肺生検(TBLB)にて得られたパラフィン切片でも遺伝子の再構成を示すことが可能と報告している。しかしこの報告後、本邦ではパラフィン切片を用いて遺伝子の再構成を証明しようとする試みは少なく、作ら¹¹による胸腔鏡下肺生検組織を用いた報告があるのみである。作らは生検組織の一部から得られた凍結組織にてSouthern blot法およびPCR法ともに遺伝子の再構成が認められたが、同一症例のホルマリン固定パラフィン切片ではPCR法にて遺伝子の再構成が認められなかったと報告している。術後組織の遺伝子の再構成の検討では新鮮組織を用いた検討が数例あるのみで、ホルマリン固定パラフィン切片を用いた検討は我々が検索し得た範囲ではなかった。

本症例は新鮮組織を用いた検索は施行しなかったが、術後検体のパラフィン切片より抽出したDNAを用い施行したPCR法にて遺伝子の再構成を証明することができた。組織学的診断のみで新鮮組織がないため遺伝子の再構成についての検討がなされなかった症例についてもパラフィン切片を用いた検討を考慮すべきだと考えられた。

謝辞：稿を終えるにあたり、直接ご指導を賜りました函館五稜郭病院病理科若林淳一先生に感謝申し上げます。

REFERENCES

1. 森田豊彦. 肺癌症例と比較した肺肉腫の頻度と推移. 日胸疾会誌. 1990;28:126-134.
2. Diss TC, Peng H, Wotherspoon AC, et al. Detection of monoclonality in low-grade B-cell lymphomas using the polymerase chain reaction is dependent on primer selection and lymphoma type. *J Pathol.* 1993;169:291-295.
3. Wan JH, Trainor KJ, Brisco MJ, et al. Monoclonality in B cell lymphoma detected in paraffin wax embedded sections using the polymerase chain reaction. *J Clin Pathol.* 1990;43:888-890.
4. Salvatore DV, Gianfranco F, Valli DR, et al. The polymerase chain reaction detects B cell clonalities in patients with Sjögren's syndrome and suspected malignant lymphoma. *J Rheumatol.* 1994;21:1497-1501.
5. Isaacson P, Wright DH. Malignant lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. A distinctive type of B-cell lymphoma. *Cancer.* 1983;52:1410-1416.
6. 小橋陽一郎. リンパ球性間質性肺炎(LIP)偽リンパ腫 pseudolymphomaの病理. 病理と臨床. 1999;17:135-140.
7. Li G, Hansmann ML, Zwinger T, et al. Primary lymphoma of the lung. Morphological, immunohistochemical and clinical features. *Histopathology.* 1990;16:519-531.
8. Colby TV, Koss MN, Travis WD. Lymphoreticular disorders. Colby TV, Koss MN, Travis WD, eds. *Tumors of the Lower Respiratory Tract.* Washington: Armed Forces Institute of Pathology; 1995:419-464.
9. 横井豊治, 中村栄男. 肺の MALT リンパ腫(BALT リンパ腫). 病理と臨床. 1999;17:154-160.
10. 林 晴男, 植竹健司, 小野澤康輔, 他. Sjögren 症候群に合併し, DNA 再構成を確認した肺原発悪性リンパ腫の1例. 日胸疾会誌. 1993;31:69-75.
11. 作 直彦, 小林 淳, 北村 諭, 他. シェーグレン症候群を合併した肺原発 MALT 悪性リンパ腫の1例. 日呼吸会誌. 1999;37:302-306.
12. 馬場二三八, 原 眞咲, 佐竹元治, 他. 肺原発 bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) lymphoma の画像所見. 臨放. 2001;46:88-93.
13. Cordier JF, Chailleux E, Lauque D, et al. Primary pulmonary lymphomas. A clinical study of 70 cases in nonimmunocompromised patients. *Chest.* 1993;103:201-208.
14. 塩田哲広, 澤井 聡, 石田久雄, 他. 遺伝子解析による肺原発のリンパ増殖性疾患の診断. 日胸疾会誌. 1991;29:1119-1125.
15. Kurosu K, Yumoto N, Mikata A, et al. Monoclonality of B-cell lineage in primary pulmonary lymphoma demonstrated by immunoglobulin heavy chain gene sequence analysis of histologically non-definitive transbronchial biopsy specimens. *J Pathol.* 1996;178:316-322.