

11年後の再発で悪性リンパ腫と診断された 眼窩リンパ増殖病変の1例

石川 大介¹⁾, 中山以知郎²⁾, 安積 淳²⁾, 井上 正則²⁾

¹⁾兵庫県立柏原病院眼科, ²⁾神戸大学医学部眼科学教室

要 約

背景: 眼付属器原発のリンパ増殖性病変は低悪性度腫瘍性病変であることが多く, その予後は一般に良好とされている。しかし, 眼科領域からの再発例の報告は本邦では稀であり, その長期予後については不明な点が多い。

症例: 53歳, 女性。1986年に右眼窩炎性偽腫瘍リンパ腫型と診断され, その後, 治療を受けずに経過観察されていた。1997年に両側の眼窩腫瘍再発および胸腔への浸潤を指摘された。

所見: 病理組織学的に腫瘍細胞のモノクローナリティを証明できず, いずれの際も眼窩炎性偽腫瘍リンパ腫型と診断された。しかし, 1997年の生検凍結材料に免疫グロブリン遺伝子検索を行った結果, 遺伝子再構成がみられた。また, 1986年のパラフィン包埋材料に polym-

erase chain reaction (PCR)法を応用し, 遺伝子再構成陽性の結果を得た。

結論: 11年前に発症した眼窩リンパ増殖性病変は低悪性度悪性リンパ腫であり, 10年以上の歳月を経て再発したものと診断した。病理組織学的に明らかな悪性リンパ腫と判断できないものでも, 将来, 再発・転移する眼付属器リンパ増殖性疾患が存在する。遺伝子検索の重要性とともに, 眼付属器原発リンパ増殖性病変は長期的な経過観察が不可欠である。(日眼会誌 103: 821—825, 1999)

キーワード: 悪性リンパ腫, リンパ増殖性病変, 遺伝子解析, 免疫組織染色

A Case of Orbital Lymphoproliferative Lesion Diagnosed as Malignant Lymphoma after Recurring 11 Years Later

Daisuke Ishikawa¹⁾, Ichirou Nakayama²⁾, Atsushi Azumi²⁾ and Masanori Inoue²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Hyogo Kaibara Hospital

²⁾Department of Ophthalmology, Kobe University School of Medicine

Abstract

Background: Most primary lymphoproliferative lesions in the ocular adnexa, including the eyelid, conjunctiva, and orbit, are diagnosed as low-grade malignant lymphomas. Recurrence and dissemination of these tumors are rare in Japan. The long-term prognosis for this disorder still remains to be clarified.

Case and Method: A 53-year-old woman was first referred to us for right orbital tumor in 1986. After subtotal resection of the tumor, the patient received no additional treatment. She visited us in 1997 with the complaint of bilateral orbital tumor. Biopsied specimens were examined histologically using hematoxylin-eosine and immunohistological staining. Southern blot hybridization was used to detect immunoglobulin gene rearrangement. The paraffin-embedded specimen obtained in 1986 was also examined for immunoglobulin gene rearrangement using nested polymerase chain reaction technique.

Findings: The specimens from 1997 and 1986 were both diagnosed as lymphoid type of inflammatory pseudotumor, based on polyclonal B cell immunohistological staining. Immunoglobulin gene rearrangement was present in both specimens.

Conclusion: The orbital tumor resected in 1986 was a low-grade malignant lymphoma which disseminated systemically 11 years later. This case shows a long-term course of orbital lymphoproliferative lesion with positive immunoglobulin gene rearrangement. It also shows the importance of follow-up over 10 years in the case of low-grade malignant lymphoma of the ocular adnexa. (J Jpn Ophthalmol Soc 103: 821—825, 1999)

Key words: Malignant lymphoma, Lymphoproliferative disorders, Molecular genetic analysis, Immunohistochemistry

別刷請求先: 658-0032 神戸市東灘区向洋町中2-11 六甲アイランド病院眼科 石川 大介
(平成11年2月15日受付, 平成11年6月21日改訂受理)

Reprint requests to: Daisuke Ishikawa, M.D. Department of Ophthalmology, Rokko Island Hospital, 2-11 Naka Koyo-cho, Higashinada-ku, Kobe 658-0032, Japan

(Received February 15, 1999 and accepted in revised form June 21, 1999)

I 緒 言

眼付属器に発生するリンパ増殖性疾患には、病理組織診断が困難な症例が存在する。従来、免疫染色法は悪性リンパ腫と良性の反応性リンパ過形成(眼窩炎性偽腫瘍, 眼窩偽リンパ腫)を鑑別する有用な方法とされてきた^{1)~3)}。しかし、免疫組織学的にポリクローナルとされた症例においても、全身性に悪性リンパ腫を発生する率は、モノクローナルなものとの有意差はないなどの報告⁴⁾から、今日、免疫染色法は眼付属器のリンパ増殖性疾患を鑑別する上で絶対的な方法とはいえない。

一方、免疫グロブリン領域の遺伝子再構成の解析は、免疫染色以上の感度の高い方法であり、眼付属器のリンパ増殖性疾患の鑑別に有用とされている⁵⁾。

今回、著者らは免疫組織学的に眼窩炎性偽腫瘍リンパ腫型と診断されたが、11年後に両側性の腫瘍再発を生じた症例を経験した。遺伝子検索の結果は再構成陽性であり、低悪性度眼窩悪性リンパ腫と診断し加療を行った。本症例を通して遺伝子診断の有用性と問題点についての考察を試みた。

II 症 例

症 例：53歳，女性。

主 訴：右上眼瞼腫脹。

既往歴：特記すべきことなし。

家族歴：特記すべきことなし。

現病歴：1985年11月家人に右上眼瞼腫脹を指摘された。腫脹は、ときに寛解するも増悪傾向であったため、1986年5月6日兵庫県立柏原病院眼科を受診した。受診時、右上眼瞼腫脹があり、右眼球は約5mm内下方に偏位しており、眼球突出度は右眼20mm、左眼12mm(Hertel眼球突出計)であった。中間透光体・眼底には特記すべき異常はなかった。眼窩部 computed tomography (CT)では右涙腺近傍に高吸収域の腫瘍陰影がみられたため、同年5月21日に神戸大学医学部附属病院眼科に紹介された。同院でクレーンライン法による腫瘍摘出術を施行し、病理組織学的検査の結果、眼窩炎性偽腫瘍リンパ腫型と診断された。腫瘍はほぼ全摘出されたため、プレドニソン20mg/日から漸減療法を行い、以降、兵庫県立柏原病院眼科で経過観察した。

しかし、1997年4月頃から左眼窩部の腫脹を自覚し、徐々に増悪するため、眼窩部CTを再検したところ両側に眼窩腫瘍が再発していた。このため、同年7月1日神戸大学医学部附属病院眼科を再受診した。

1997年再診時の所見：視力は右眼(0.8×+1.00D)、左眼(1.0×+0.50D)で、眼圧は右眼13mmHg、左眼16mmHgであった。眼球突出度は右眼17mm、左眼18mmで、左上眼瞼は腫脹し、結膜下にサーモンピンク様の腫瘍浸潤がみられた。このため眼窩炎性偽腫瘍の再発と考え、



図1 Magnetic resonance imaging(MRI)写真。眼球に沿って眼窩内に浸潤する腫瘍陰影がみられる。

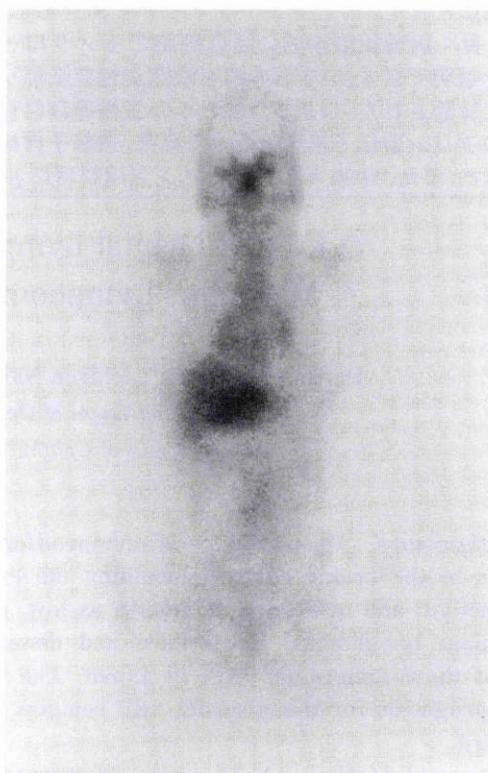


図2 Ga シンチ検査。

両眼窩部および縦隔に明らかなガリウムの異常集積がみられる。

加療目的で同年8月22日入院となった。

経過：Magnetic resonance imaging(MRI)検査では、眼窩内にT1強調画像、T2強調画像ともに高信号輝度を示す腫瘍陰影が両側にみられた(図1)。Ga シンチ検査では両眼窩部の他に両耳下線および縦隔に異常集積があった(図2)。同年8月28日左眼窩部の生検を行った。手術は耳側眼窩縁に沿って約3mmの皮膚切開を行い、眼窩隔膜を露出した。次に眼窩隔膜を切開して腫瘍に到達した。腫瘍は眼窩脂肪組織に浸潤して境界不明であったため、一部ずつ切除しながら摘出した。病理診断は前回と同じく眼窩炎性偽腫瘍リンパ腫型であった。

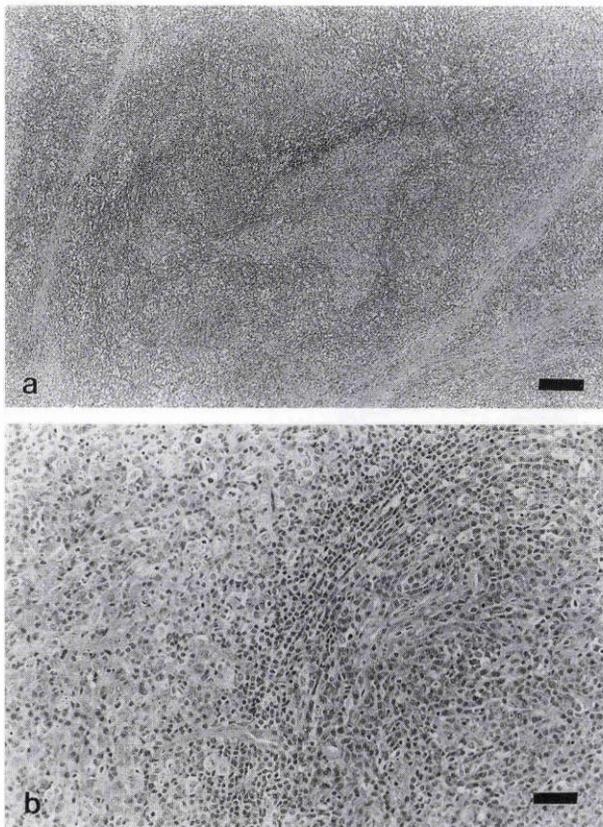


図 3 1986 年摘出標本の病理組織像.

a: ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色, バーは 250 μm

b: HE 染色, バーは 50 μm

しかし, 同部位の凍結標本を用いてサザンブロッティング法による遺伝子検査を行ったところ, 免疫グロブリンの重鎖および軽鎖の κ 鎖に遺伝子再構成がみられた. また, 胸部 CT で縦隔内リンパ節の腫大, 末梢肺野に点在する小結節があったため, 悪性リンパ腫と診断し, 放射線科で, cyclophosphamide, hydroxydaunorubicin, vincristine, prednisolone (CHOP) 療法 3 クールを施行した, 化学療法後, 眼窩内に充満していた腫瘍陰影は著明に縮小し, 眼球突出度は右眼 13 mm, 左眼 12 mm となったが, 胸部縦隔内リンパ節については現在明らかな縮小傾向はない.

1. 病理所見

1986 年時の病理所見では, 腫瘍組織は赤色の被膜に覆われた淡黄色の断面をもつ充実性の腫瘍であった. 標本は線維組織で分画され, リンパ組織が増生していた (図 3 a). リンパ組織は小リンパ球が主体を成し, 小葉構造の中心部には大型の大食細胞と考えられる細胞が存在し, 胚中心を形成していた. 小葉の周辺部には多数の形質様細胞があり, 血管の増生も散見された (図 3b). 免疫組織検査では軽鎖の λ 鎖, κ 鎖両方に染色され, ポリクローナルな増殖がみられた. 1997 年の病理組織像もリンパ球, 形質様細胞が著しく増生しており, 前回と比べて線維化がやや少ないものの, ほぼ同様の所見を呈していた (図 4a,

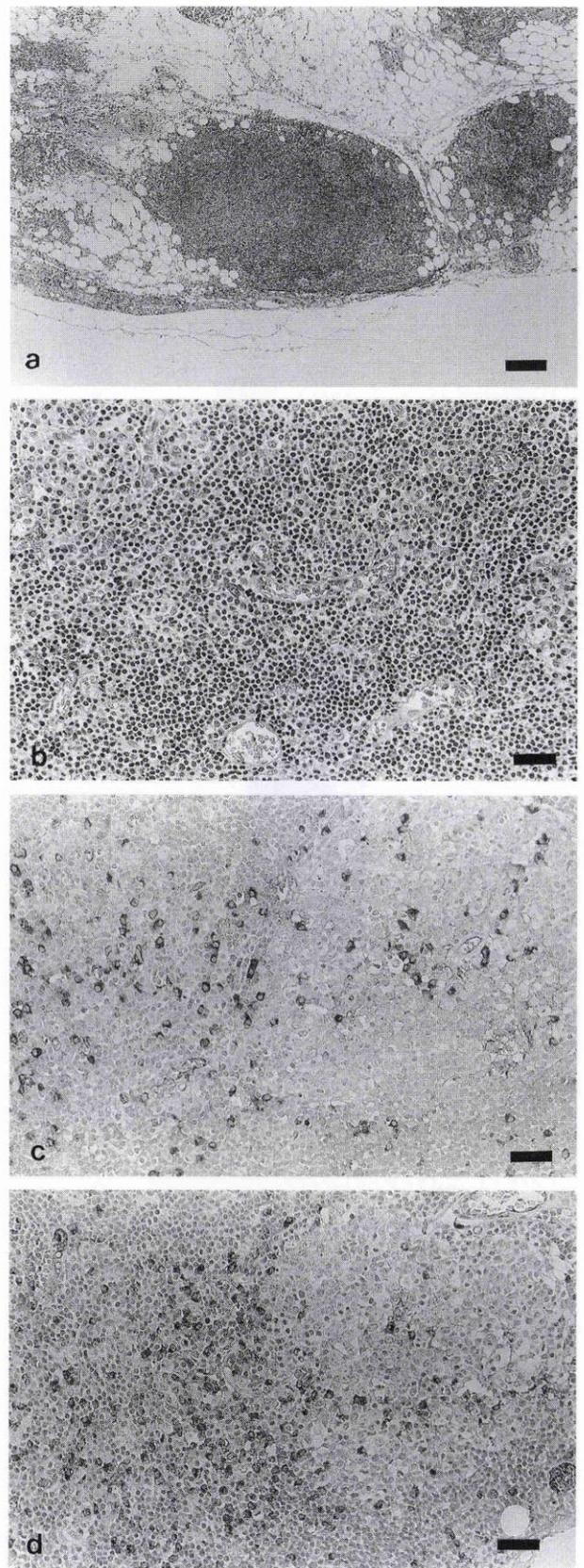


図 4 1997 年摘出標本の病理組織像.

a: HE 染色. バーは 250 μm

b: HE 染色. バーは 50 μm

c: λ 鎖陽性細胞がみられる. バーは 50 μm

d: κ 鎖陽性細胞がみられる. バーは 50 μm

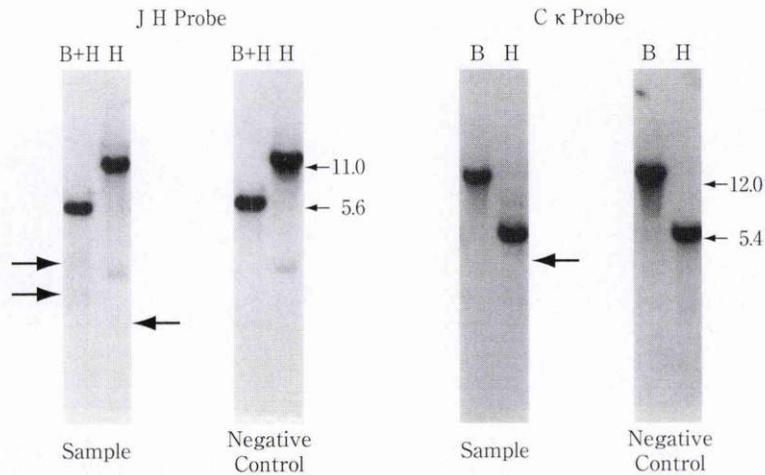


図5 サザンプロット法を用いた遺伝子解析。
JH および C κ プローブで再構成バンドがみられた(矢印)。
B: 制限酵素 BamH I H: 制限酵素 Hind III

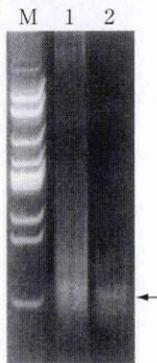


図6 Nested polymerase chain reaction(PCR)法を用いた遺伝子解析。
免疫グロブリンH鎖遺伝子領域に明瞭なバンドが検出された(矢印)。
M: サイズマーカー 1: 対照 2: 症例

b). また, 免疫組織染色でも前回と同様, 軽度の λ 鎖, κ 鎖の両方に染色され(図4c, d), ポリクローナリティを示したことから, 再度眼窩炎性偽腫瘍リンパ腫型と診断された。

2. 遺伝子診断

今回, 生検から得られた凍結組織を用いてサザンプロット法による腫瘍細胞の遺伝解析を行った(図5). 生検で得られた組織をRNaseとproteinase Kで処理した後, エタノール沈殿し高分子DNAを抽出した。得られたDNAは制限酵素(Hind III, Bam HI)で切断し, アガロースに電気泳動した後, ラベルした重鎖遺伝子(JHプローブ), 軽鎖遺伝子(C λ , C κ プローブ)とハイブリダイゼーションを行った。その結果, JHおよびC κ プローブで正常 Germ-line と異なる再構成バンドがみられた。

1986年の凍結標本は保存していなかったため, 当時のパラフィン切片を用いて nested polymerase chain reac-

tion(PCR)法により腫瘍細胞のクローナリティを検出した(図6). ホルマリン固定したパラフィン切片10 μ m厚を検体としてDNAを抽出した。PCRはLozanoら⁶⁾の方法に準じてプライマーを作製し, 2段階の増幅を行った1回目のPCRはdenaturation(94 $^{\circ}$ C, 40秒)—annealing(55 $^{\circ}$ C, 40秒)—extension(72 $^{\circ}$ C, 40秒)で30サイクル, 2回目は1回目のPCR産物を各々94 $^{\circ}$ Cで40秒, 55 $^{\circ}$ Cで10秒, 72 $^{\circ}$ Cで40秒を20サイクル反応させた。増幅産物は2%アガロースゲルに電気泳動し, 染色バンドの性状を検討した。その結果, 免疫グロブリンH鎖遺伝子領域に明瞭なバンドが検出され, クローン性増殖がみられた。

III 考 按

従来から悪性リンパ腫と良性の反応性リンパ過形成(眼窩炎性偽腫瘍, 眼窩偽リンパ腫)を鑑別する方法としては, 形態学的所見に加えて免疫組織学的検索法が重要な役割を果たしてきた。つまり, 免疫染色による結果がポリクローナルであれば良性で, モノクローナルであれば悪性という概念が広く受け入れられてきた。しかし, 今日では免疫染色法は眼付属器のリンパ増殖性疾患を鑑別する上で絶対的な方法とはいえないことが, 詳細な臨床経過の検索によって明らかになっている。Knowlesら⁴⁾は眼付属器のリンパ増殖性疾患において, 全身他部位のリンパ腫の併発する確率は, 免疫組織染色の結果がポリクローナルなものとモノクローナルなものに差がないことを報告した。Rubinら⁷⁾は良性=ポリクローナル, 悪性=モノクローナルという等式を自動的に眼付属器病変に当てはめるべきではないと言及している。

今回の症例は, こうした免疫染色に関する一連の検討の過渡期に経験された症例といえる。1986年当時, 核異型の乏しい小型リンパ球の浸潤と類リンパ濾胞の形成を特徴とする病理組織所見を呈し, 免疫染色によってB細

胞のポリクローナリティを示す眼窩腫瘍を眼窩炎症性偽腫瘍リンパ腫型と診断することは妥当であったと思われる。眼付属器のリンパ増殖性病変は臨床予後が良いという観点から、偽リンパ腫という名称を付けられていた経緯もあり⁸⁾、腫瘍がほぼ全摘出されたことから紹介医のもとで経過観察したことも、当時の認識からは常識的な対応であったと思われる。しかし、① 1997 年になって両側眼窩および胸腔に腫瘍浸潤を来し、再度の生検でも同様の組織像を呈したこと、② 1997 年の生検で得られた凍結切片をサザンブロッティング法で検索した結果、JH および Cλ の再構成がみられたこと、③ 1986 年時のホルマリン固定したパラフィン包埋標本を用いて nested PCR 法で検索したところ、H 鎖遺伝子再構成が陽性であったことから、11 年前に右眼窩に発生した腫瘍は低悪性度悪性リンパ腫であり、10 年以上の歳月を経て全身他臓器に播種したものと診断した。

このように、免疫グロブリン遺伝子をターゲットとしてその遺伝子再構成を検索することは、B 細胞性悪性リンパ腫の診断に有用である。凍結標本を用いたサザンブロット法による検索や PCR 法を応用したパラフィン標本での診断など、本邦においても近年その診断的有意性を強調する報告^{9)~12)}が散見される。しかし、遺伝子検索の結果を臨床的に如何に判断するべきか、という点についてはなお議論の余地がある。Jakobiec ら¹³⁾は病理組織所見上明らかな眼窩原発反応性リンパ過形成 5 症例を精査し、免疫組織染色がポリクローナルであったにもかかわらず、その 3 例に遺伝子再構成が陽性であったと報告した。彼らはこの結果を悪性リンパ腫の診断根拠とするのではなく、このような明らかな悪性リンパ腫と診断し難い病変は、B 細胞クローンの腫瘍化を惹き起こす潜在性をもった‘不安定な病変’であり、悪性リンパ腫の発生母地という解釈で論を進めている。さらに、腫瘍性病変の判定に有用であると考えられてきた免疫染色結果が、その個体における腫瘍再発や転移を十分に予知するものではなかった、という経過があることから、眼付属器におけるリンパ増殖性病変の遺伝子検索も慎重に評価する姿勢が重要と思われる。すなわち、遺伝子再構成の結果をふまえ、その後の臨床経過を注意深く検討することが、遺伝子検索の真の臨床的意義を評価する上で不可欠である。

こうした clinicopathological relationship (以下、臨床病理相関)の評価には、本来 prospective study を行うが、それにはなお 10 年以上にわたる検証を要する。本症例は、11 年前のパラフィン標本が残っていたことから、retrospective study を行うことで、ある程度遺伝子検索結果の臨床病理相関を実証できた。すなわち、病理組織学的に明らかな悪性リンパ腫と判断できない眼付属器リンパ増殖性病変において、遺伝子再構成がみられるものは、10 年以上を経て再発、転移する可能性があることが示された。また、転移した腫瘍は 10 年前のものと同じの病理組

織所見、免疫染色所見を有していた。このように、年余を経た転移の場合にも、モノクローナリティの高い病変に悪性変化するとは限らないことも、注目に値する。

遺伝子レベルでの検討が増加するにつれて、形態学的・免疫組織化学的結果と遺伝子検索結果との間に矛盾の生じる症例が増加すると予想される。こうした症例を長期にわたって経過観察を行うとともに、本症例のような過去において眼窩炎症性偽腫瘍リンパ腫型(眼窩偽リンパ腫、反応性リンパ過形成)と診断された症例を再度検証することで、眼付属器におけるリンパ増殖性疾患における遺伝子検索の意義を追及できる。

文 献

- 1) Knowles DM II, Halper JP, Jakobiec FA: Immunologic characterization of ocular adnexal lymphoid neoplasms. *Am J Ophthalmol* 87: 603—619, 1979.
- 2) Harris NL, Pilch BZ, Bhan AK: Immunohistologic diagnosis of orbital lymphoid infiltrates. *Am J Surg Pathol* 8: 83—91, 1984.
- 3) 清川達矢, 森野以知朗, 山本 節, 伊東 宏, 蒔 昭亮: パラフィン切片を用いた眼窩リンパ系腫瘍の免疫組織化学的検索. *眼紀* 41: 1123—1130, 1990.
- 4) Knowles DM, Jakobiec FA, McNally L, Burke JS: Lymphoid hyperplasia and malignant lymphoma occurring in the ocular adnexa (orbit, conjunctiva and eyelid). A prospective multiparametric analysis of 108 cases during 1977 to 1987. *Hum Pathol* 21: 959—973, 1990.
- 5) Medeiros LJ, Andrade RE, Harris NL, Cossman J: Lymphoid infiltrates of the orbit and conjunctiva: Comparison of immunologic and gene rearrangement data. *Lab Invest* 66: 614, 1989.
- 6) Lozano MD, Tierens A, Greiner TC, Wickert RS, Weisenburger DD, Chan WC: Clonality analysis of B lymphoid proliferations using the polymerase chain reaction. *Cancer* 77: 1349—1355, 1996.
- 7) Rubin PAD, Jakobiec FA: Orbital and ocular adnexal lymphoid tumors. *Principles and Practice of Ophthalmology*. Saunders, Philadelphia, 2005—2018, 1994.
- 8) 原 雄造, 大西克尚: 眼窩リンパ腫と炎症性偽腫瘍. *眼科 Mook* 19. 眼の腫瘍性疾患. 金原出版, 東京, 211—220, 1983.
- 9) 荻原正博, 原 拓, 木下裕子: 遺伝子解析により診断された眼悪性リンパ腫. *あたらしい眼科* 10: 473—477, 1993.
- 10) 久保田敏信, 谷田部恭, 栗屋 忍, 浅井淳平, 森 尚義: 眼部リンパ球増殖性疾患の免疫組織化学および遺伝子解析による検討. *日眼会誌* 101: 510—515, 1997.
- 11) 川本 潔, 宮永嘉隆: 眼窩悪性リンパ腫の遺伝子解析による診断. *日眼会誌* 101: 141—147, 1997.
- 12) 南條由佳子, 高巻公美子, 外園千恵, 西田幸二, 木下 茂: 遺伝子解析により診断された結膜悪性リンパ腫の一例. *臨眼* 51: 1017—1020, 1997.
- 13) Jakobiec FA, Neri A, Knowles DM II: Genotypic monoclonality in immunophenotypically polyclonal orbital lymphoid tumors. *Ophthalmology* 94: 980—994, 1987.