

眼・中枢神経系原発眼内悪性リンパ腫の一例 剖検症例の免疫組織化学的検討

大島 浩一*, 松尾 信彦*, 白川 恵士*, 吉野 正**, 赤木 忠厚**

*岡山大学医学部眼科学教室, **岡山大学医学部病理学教室

要 約

眼・中枢神経系原発眼内悪性リンパ腫の一症例を経験し、剖検で得られた眼球と脳病巣を、病理組織学的および免疫組織化学的に検討した。リンパ腫細胞は、中枢神経系と眼内に浸潤していた。眼内では、腫瘍細胞は硝子体腔にのみ認められ、その他の眼組織には、見出すことができなかった。硝子体内では、リンパ腫細胞の形態は、硝子体手術標本におけるよりも、より良く保たれていた。剖検で得られた眼球と脳病巣を、酵素抗体法で検討し、本症例のリンパ腫細胞が、B細胞性であることを明らかにした。また、硝子体生検における診断を、再確認しえた。(日眼会誌 94:1085-1090, 1990)

キーワード：眼内悪性リンパ腫，免疫組織化学的染色，剖検，眼球，脳

The Immunohistochemical Analysis of Necropsy Eyes and Brain Lesion in a Case of Intraocular and Brain Malignant Lymphoma

Koh-ich Ohshima*, Nobuhiko Matsuo*, Keishi Shirakawa*,
Tadashi Yoshino** and Tada-atsu Akagi**

*Department of Ophthalmology Okayama University Medical School

**Department of Pathology, Okayama University Medical School

Abstract

A case of intraocular and brain malignant lymphoma was presented in which histopathological and immunohistochemical analysis of the necropsy eyes and brain lesions were performed. Lymphoma cells infiltrated into both eyes and the brain. The tumor cells could be found only in the vitreous cavity, not in other ocular tissues. Lymphoma cells were morphologically better preserved in the vitreous cavity, than in the vitrectomized specimen. Applying immunoperoxidase techniques to the necropsy eyes and brain lesions, the lymphoma cells were identified a B cell type, and the diagnosis of vitreous biopsy specimen was confirmed. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 1085-1090, 1990)

Key words: Intraocular malignant lymphoma, Immunohistochemistry, Necropsy, Eyeball, Brain

別刷請求先：700 岡山市鹿田町2-5-1 岡山大学医学部眼科学教室 大島 浩一
(平成2年6月15日受付，平成2年7月12日改訂受理)

Reprint requests to: Koh-ichi Ohshima, M.D. Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700, Japan

(Received June 15, 1990 and accepted in revised form July 12, 1990)

I 緒 言

悪性リンパ腫の分類法として、従来は Rappaport 分類や、LSG 分類が用いられていた。しかし、近年になり免疫組織化学的手法や分子細胞生物学的手法が導入されるに伴い、悪性リンパ腫の診断法および分類法に、新しい展開がみられるようになりつつある¹⁾²⁾。

眼内悪性リンパ腫の症例にたいしても、上述の方法などをもちいて再検討すれば、診断法、分類、予後推定などに、新たな局面が開ける可能性がある。ところが、いままでのところ、免疫組織化学的な検討は、あまり行なわれていない^{3)~7)}。しかも、ほとんどの報告で、生検で得られた眼内液や網脈絡膜を材料として、診断している。

生検材料は、眼内悪性リンパ腫の早期診断には、確かに役立つ。しかし、これに免疫組織化学を応用するには、いくつかの問題点がある。一般に、悪性リンパ腫では、多種類のマーカーを使い、多角的に検討するから、検体はできるだけ多いのが良い。したがって、前房蓄膿をきたしている症例をのぞいて、前房水のみでは腫瘍細胞の数が少なすぎる。また、硝子体手術を行えば、多くの腫瘍細胞を採取しうるが、その多くは変性している⁸⁾。この理由として、Ljung ら⁹⁾は、硝子体灌流液が、リンパ腫細胞の変性をもたらすのではないかと推測しているが、真相は明らかでない。網脈絡膜の生検材料は、腫瘍部分が正確に採取できていなければ、病理検体としての意味はない。さらに、術中に試料を挫滅しやすく、つねに、眼内出血や網膜剥離の危険性を伴う。したがって、各種の生検材料に免疫組織化学を応用して、腫瘍の性質を判定するためには、今後、いくつかの技術的な改良が必要である。

したがって、現状では、患者が不幸な転機をとった場合には、できるだけ剖検を行ない、脳病変や眼球組織を対象として、免疫組織化学的染色を行なうべきである。かつて、Qualman ら⁴⁾は、眼内悪性リンパ腫の剖検症例の 8 例に、免疫組織化学的染色を行ない、1 症例のみで、腫瘍細胞の細胞質内免疫グロブリンを、証明できたにすぎない。この理由のひとつとして、当時(1983年以前)、リンパ腫細胞の性質を調べる良い抗体が、開発されていなかったことが挙げられる。しかし現在では、多数の抗体を入手できる。しかも、これらの抗体をうまく利用すれば、未固定凍結切片のみならず、ホルマリン固定後のパラフィン切片でも、ある程度までは補助診断が可能である。

最近我々は、前房混濁と硝子体混濁を主症状とし、脳の悪性リンパ腫を伴う、眼内悪性リンパ腫の一症例を経験した。そして、剖検時に摘出した眼球と脳病巣を、免疫組織化学的に検討し、さらに、硝子体生検の結果との比較を行うことができたので、以下に述べる。

II 対象と方法

症例は54歳、男性(SF, 09-572-54)。1982年に多発性脳腫瘍と診断され、コバルト照射(50Gy)を受け、CT上で腫瘍は消失した。1987年某眼科で、水晶体融解性緑内障を疑われ、水晶体全摘出術を受けた。しかし、両眼の硝子体混濁が持続したため、当科を紹介された。我々は、眼内悪性リンパ腫を疑い、眼内液生検を行なった。その結果、眼内悪性リンパ腫の診断を確定することができた。その後1988年に、小脳症状が出現したので、小脳生検を行なったところ、悪性リンパ腫、びまん性B細胞性と病理診断され、先の眼内悪性リンパ腫の診断が裏付けられた。全頭部と両眼に、Linac, 30Gyが照射され、小脳腫瘍と硝子体混濁は、ほぼ消失した。その後、郷里に転院し療養を続けたが、中枢神経系に悪性リンパ腫が再発し、さらに、全身にカンジダ症を発症した。この間の眼科的所見は、不明であった。1989年5月、尿毒症のため永眠され、病理解剖に付された。リンパ腫は、眼球と脳にのみ認められ、他の部位への浸潤はなかった。

剖検時に摘出した眼球と脳病巣を、以下のように処理した。

右眼は、摘出後ただちに10%ホルマリンで固定した。数日後に割断し、0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.4)で洗浄後、脱水し、パラフィン包埋した。5 μ 切片を薄切し、H.E.染色、PAS染色、グロコット染色、免疫組織化学的染色を行なった。免疫組織化学的染色に用いた一次抗体は、CD45、CD43、CD45RO、OP-D4(CD分類未加入)、L26(CD分類未加入)、CD45R、CDw75、CD74、LN-3(CD分類未加入)、抗ヒト lysozyme 抗体($\times 100$, DAKO)であった。

左眼球と脳病巣の一部は、摘出後ただちにアセトン・ドライアイスで凍結した。左眼球を数日後、室温で解凍し、割断したところ、眼内液はすべて流出し、失われてしまった。左眼球組織と脳病巣の凍結切片を作成し、免疫組織化学的染色を行なった。使用した一次抗体は、CD3、CD4、CD5、CD8、CD19、CD10、CD20、抗ヒト Ig κ ($\times 400$, TAGO)、抗ヒト Ig λ ($\times 400$, TAGO)であった。一次抗体として用いたモノク

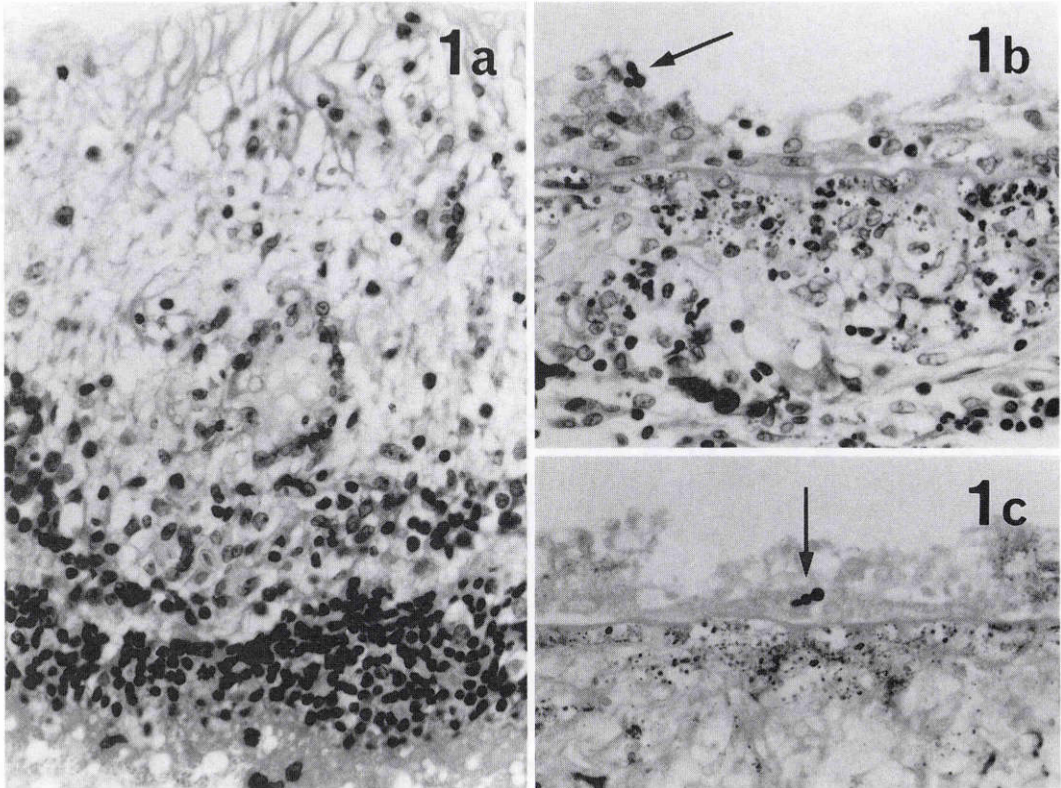


図 1a 網膜の肉芽病巣。網膜のほぼ全層にわたり、マクロファージの浸潤を認める。H.E.染色, ×400
 図 1b 脈絡膜内層を中心に、肉芽病巣が形成されている。色素上皮層に、カンジダ様構造物 (矢印) を認める。PAS 染色, ×400
 図 1c 色素上皮層に、カンジダ様構造物 (矢印) を認める。グロコット染色, ×400

表 1 免疫組織化学的染色に用いたモノクローナル抗体

CD	クローン	希釈倍率	供給元	備考
45	LCA	×25	DAKO	
43	MT-1	×20	Bio-Science	
45R0	UCHL-1	×25	Dako	
*	OP-D4	×200	岡山大学医学部第二病理	helper/inducer T cell
*	L26	×100	Kyowa	Pan B
45R	MB-1	×20	Bio-Science	
#75	LN-1		生化学工業キット	
74	LN-2		生化学工業キット	
*	LN-3		生化学工業キット	HLA-DR を認識する
3	Leu 4	×20	Becton-Dickinson	
4	Leu 3a	×20	Becton-Dickinson	
5	Leu 1	×20	Becton-Dickinson	
8	Leu 2a	×20	Becton-Dickinson	
19	Leu 12	×20	Becton-Dickinson	
10	CALLA	×20	Kyowa	
20	Leu 16	×20	Becton-Dickinson	

CD: Cluster differentiation number を示す。
 * は CD 分類未加入を示す。

ロナール抗体を、表 1 にまとめた。

ポリクローナル抗体は、間接法、モノクローナル抗体は、ABC 法で反応させ、DAB で発色し、ヘマトキシリンまたはメチル・グリーンで核染色した。

III 病理所見

1. 肉眼所見

右眼は後部硝子体剥離を生じており、混濁した硝子体は、収縮して前方へ偏位していた。網膜表面に、境界の比較的鮮明な、円形の、灰白色扁平隆起斑を多数認めた。網膜出血、剥離はなかった。左眼では、水晶体、有形硝子体は残っていなかった。網膜に、右眼と同様の、多数の灰白色隆起斑を観察できた。両眼とも、網膜に不定型の白色滲出性病巣を認めることはできなかった。

2. H.E.染色, PAS 染色, グロコット染色の所見

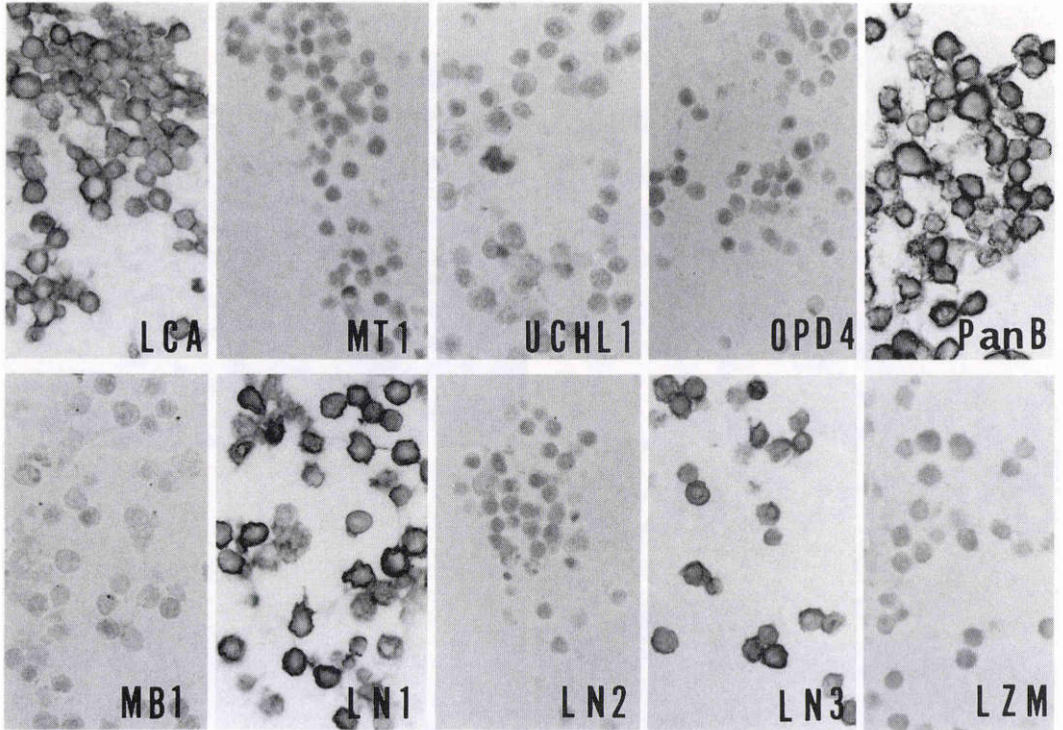


図2 右眼硝子体腔のリンパ腫細胞. 腫瘍細胞は, LCA 陽性, MT-1陰性, UCHL-1陰性, OP-D4陰性, PanB 陽性, MB-1陰性, LN-1は一部の腫瘍細胞に陽性, LN-2陰性, LN-3は一部の腫瘍細胞に陽性, lysozyme 陰性である. これらの細胞は, B 細胞性リンパ腫の表現型を示す. 免疫組織化学的染色. DABで発色し, メチルグリーンで核染色した. ×400

表2 眼球と脳病巣に対する, 免疫組織化学的染色の結果

	硝子体のリンパ腫細胞	肉芽組織の組織球		脳病巣のリンパ腫細胞
LCA	++	-	CD3	-
MT-1	-	-	CD4	-
UCHL1	-	-	CD5	-
OP-D4	-	-	CD8	-
Pan B	++	-	CD19	++
MB-1	-	-	CD10	+
LN-1	+	-	CD20	++
LN-2	-	-	Ig κ	-
LN-3	+	-	Ig λ	-
lysozyme	-	+		

++:ほとんどの細胞で陽性
 +:一部の細胞で陽性
 -:すべての細胞で陰性

1) 右眼: 腫瘍細胞は, 主に硝子体ゲル内に散在していた. 特に, 水晶体周囲と, 有形硝子体の後面附近に多かった. 腫瘍細胞は, 大小不同を示し, 成熟リンパ球より大きく, 一部は, 肉芽組織内(後述)の組織球

と同等の大きさであった. 細胞質は少量で, 核はクロマチンに富むもの, 核小体の明らかなものなど, 多様であった. 細胞分裂像も散見された. 硝子体中には, 腫瘍細胞の他に, 好中球, 成熟リンパ球等の炎症細胞が, わずかながら認められた. 硝子体以外の部位では, 腫瘍細胞を見つけ出すことはできなかった.

毛様体突起, 脈絡膜内層, 網膜に, 比較的小さい肉芽組織を認めた. 肉芽組織内には, 異物巨細胞が観察できたが, 結核, 梅毒, 癩, サルコイドーシスなどでみられるような, 特徴的な所見はなかった. 一部の肉芽組織は, 網膜表面から硝子体へ向けて隆起しており(図1a), 肉眼的に網膜の灰白色隆起斑として観察できたものは, このような肉芽組織であった. 肉芽組織内に, カンジダの胞子と思える構造物を認めた. これは, PAS染色(図1b)とグロコット染色(図1c)で, 一層明らかに示された. 肉芽組織内に, 腫瘍細胞は認められなかった. 網膜とぶどう膜では, 肉芽組織以外の部

分の炎症細胞浸潤は、軽微であった。

2) 左眼：液化した硝子体が、眼球割断時に流失したため、硝子体内の腫瘍細胞は検索できなかった。それ以外の眼組織では、腫瘍細胞を明確に同定できなかった。網膜と脈絡膜に、右眼と同様の、肉芽病巣を認めた。

3) 脳病巣の所見：大型ないし中型の核を有するリンパ腫細胞が、核分裂像を伴って増殖しており、非ホジキンリンパ腫で、LSG分類では、びまん性、混合型と診断した。

3. 免疫組織化学的所見

右眼硝子体内の腫瘍細胞は、LCA陽性、MT-1陰性、UCHL-1陰性、OP-D4陰性、PanB陽性、MB-1陰性、LN-1は一部の腫瘍細胞に陽性、LN-2陰性、LN-3は一部の腫瘍細胞に陽性、lysozyme陰性であった(図2)。硝子体の腫瘍細胞は、B細胞性リンパ腫の表現型を示した。

網膜、脈絡膜の肉芽病巣の、中型ないし大型の単核球は、lysozymeが一部の細胞で陽性であったが、その他のマーカーは陰性であり、組織球と考えられた。肉芽組織内の成熟リンパ球は、LCA陽性、MT-1、UCHL-1、OP-D4、PanB、MB-1は一部に陽性、LN-1、LN-2、LN-3、lysozymeは陰性であり、Tリンパ球とBリンパ球が、混在していた。

脳病巣の腫瘍細胞では、CD3、CD4、CD5、CD8はいずれも陰性、CD19陽性、CD10は一部で陽性、CD20陽性、Ig κ 、Ig λ はいずれも陰性であった。脳病巣の腫瘍細胞は、B細胞性リンパ腫の表現型を示した。

硝子体のリンパ腫細胞、肉芽組織内の中型単核球、および脳病巣のリンパ腫細胞に対する免疫組織化学的染色の結果を、表1に示した。

IV 考 按

1. 眼内悪性リンパ腫の、いくつかの病型のうち、本症例は、どの型に属するか？

Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) の Hidayat は、眼内リンパ性腫瘍を、以下の3型に分類した⁹⁾。

- I. 中枢神経系原発の眼内悪性リンパ腫
- II. 全身の悪性リンパ腫の経過中に発症した、眼内悪性リンパ腫
- III. reactive lymphoid hyperplasia

I型では、リンパ腫細胞は、主として網膜・硝子体に浸潤し、経過中に、全身に広がる可能性はほとんど

ない、とされている。

本症例は、まず脳腫瘍で発症し、その後、眼内炎のかたちで眼球を冒した。さらに、経過中、腫瘍の全身転移をみることもなかったから、AFIP分類ではI型に属する。

Hidayat は、I型の場合には、悪性リンパ腫は中枢神経系に原発したのち、眼内に転移すると考えた。しかし他方では、悪性リンパ腫は、眼内と中枢神経系に、それぞれ独立して多中心性に発生する、という考え方もある¹⁰⁾。また Qualman ら⁴⁾は、直接浸潤、遠隔転移、多中心性発生の、いずれの状況も生じうる、と述べた。

本症例では、視神経あるいは視神経鞘に、腫瘍細胞を見つけることができず、悪性リンパ腫の転移経路を、明らかにできなかった。また、病理組織学および免疫組織化学的に検討したところ、脳病巣と眼内のリンパ腫細胞は、互いに類似していた。このような場合、skip lesion と考えることもできるし、多中心性発生と解釈することもできる。このような症例にたいして、複数の病巣のリンパ腫の genotype を、Southern-blot 法を用いて検討し、Ig 遺伝子、TCR 遺伝子の再構成パターンが、病巣ごとに異なっていることを明らかにできれば、多中心性発生であることを証明できるであろう。この点は、今後の課題である。

本症例では、リンパ腫細胞は、硝子体にのみ認められ、網膜では見出すことができなかった。眼球全体を、連続切片にして調べたわけではないが、少なくとも実体顕微鏡下には、網膜下の滲出性病巣を認めることはできなかった。Minckler ら¹¹⁾も、我々と同様に、硝子体にのみリンパ腫細胞が浸潤した症例を、経験している。このような症例を、眼・中枢神経系原発眼内悪性リンパ腫の硝子体炎型として、細分類することが可能であり、病態の理解に役立つと考える。ただし、リンパ腫が、硝子体内に原発したのか、あるいは網膜などの隣接する組織に原発し、硝子体内で増殖したのかは、いまのところ明らかでない。

2. リンパ腫細胞は、硝子体内では変性していない。

Ljung ら⁵⁾は、硝子体手術で得られたリンパ腫細胞は、変性が強く、その原因は、硝子体灌流液として用いられた、Balanced Salt Solution にあるのではないかと述べた。我々は、硝子体灌流液として、オベガード MA[®] (pH 7.45 \pm 0.75、浸透圧比1.00 \pm 0.14)を使用しているが、既報で述べたように⁸⁾、腫瘍細胞のかなりのものが変性しており、診断的価値が、著しく損われていた。ところが、剖検眼では、硝子体内のリンパ

腫細胞は、多少は変性していたものの、生検材料におけるほど、ひどくはなかった。すなわち、リンパ腫細胞の多くは、硝子体内では未だ変性しておらず、正常な形態が保たれていると考えられる。したがって、リンパ腫細胞の変性は、主として硝子体手術、あるいはその後の標本作成過程（主に固定までの過程）で、生じると考えられる。今後、眼内悪性リンパ腫が疑われる症例に、硝子体生検を行なう際には、腫瘍細胞の変性を少なくすることが、重要な課題である。

3. 免疫組織化学的染色で明らかになったこと

本症例では、剖検を行なう機会に恵まれ、両眼球と脳病巣のリンパ腫細胞を、免疫組織化学的に検討することができ、どちらもB細胞由来と判定できた。

我々は以前に、本症例患者の左眼硝子体を生検し、これに免疫組織化学的染色を施行し、B細胞性リンパ腫であることを確認し、報告した⁸⁾。さらにこのたび、ホルマリン固定した右眼球のパラフィン切片に、免疫組織化学的染色を行なう機会を得、硝子体内の異型細胞が、B細胞系のリンパ腫細胞であると、結論できた。このように、生検材料と摘出眼球における、リンパ腫細胞の染色結果は、互いに矛盾していなかった。このことから、我々が先に行なった、生検材料にたいする免疫組織化学的染色の結果は、ある程度までは信頼できる、と考えた。

剖検に御協力いただきました、三豊総合病院病理部、川端健二先生に感謝します。

文 献

- 1) 森 茂郎：悪性リンパ腫の免疫学的分類。免疫薬理 7: 10—16, 1989.
- 2) 河 敬世：悪性リンパ腫の由来とClonalityの同

定。免疫薬理 7: 17—22, 1989.

- 3) Green WR: The uveal tract, lymphoma, Spencer WH, Ophthalmic Pathology, an Atlas and Textbook, Third edition, volume 3. Philadelphia, WB Saunders Company, 1656—1671, 1986.
- 4) Qualman SJ, Mendelsohn S, Mann RB, et al: Natural history based on a clinicopathologic study of eight cases and review of the literature. Cancer 52: 878—886, 1983.
- 5) Ljung BM, Char DH, Miller TR, et al: Intraocular lymphoma, cytologic diagnosis and the role of immunologic markers. Acta Cytol 32: 840—847, 1988.
- 6) Char DH, Ljung BM, Descenes J, et al: Intraocular lymphoma: Immunologic and cytological analysis. Br J Ophthalmol 72: 905—911, 1988.
- 7) 神園純一, 松橋正和, 気賀沢一輝, 他: 後部ぶどう膜炎を初発症状とする, 眼, 中枢神経系原発悪性リンパ腫の4例. 臨眼 40: 455—460, 1986.
- 8) 大島浩一, 曾我部由香, 清水慶一, 他: 眼内液生検により診断し得たB細胞性眼内悪性リンパ腫. 眼紀 40: 1943—1949, 1989.
- 9) Hidayat AA: Intraocular lymphomas, Ophthalmic pathology for ophthalmologists. 1984.
- 10) Kattach JC, Jenkins RB, Pilkerton AR, et al: Multifocal primary ocular and central nervous system malignant lymphoma. Ann Ophthalmol 13: 589—593, 1981.
- 11) Minckler DS, Font RL, Zimmerman LE: Uveitis and reticulum cell sarcoma of brain with bilateral neoplastic seeding of vitreous without retinal or uveal involvement. Am J Ophthalmol 80: 433—439, 1975.