

参 考 文 献

- 1) Carbone, P.P., Kaplan, H.S., Musshoff, K, et al.: Report of the committee on Hodgkin' disease staging classification, *Cancer Res.*, **31**: 1860~1861, 1971.
- 2) 小島 瑞, 編: 新分類による悪性リンパ腫アトラス, 文光堂(東京), 1981.
- 3) **The non-Hodgkin's lymphoma pathologic**

classification project: National Cancer Institute sponsored study of classification of non-Hodgkin's lymphoma. Summary of description of working formulation for clinical usage. *Cancer*, **49**: 2112~2115, 1982.

- 4) 村川英三, 佐藤正之: シンポジウム「悪性リンパ腫とその周辺」4) 内科的立場から, *新潟医学会雑誌*, **93**: 477~482, 1979.

5) 悪性リンパ腫の免疫学的検討

新潟大学医学部第一内科学教室(主任: 柴田 昭教授)

永井 孝一・斉藤 弘行

Koichi NAGAI and Hiroyuki SAITOU

*First Department of Internal Medicine, Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Akira SHIBATA)*

Surface marker analysis of tumor cells was performed in 50 patients with non-Hodgkin's lymphoma. Twenty eight were B cell lymphoma and 22 were T cell lymphoma. In B cell lymphoma, lymphoma cells reacted with CD19, CD20, CD21, anti-HLA DR, and partly CD10 monoclonal antibodies, and had monoclonal surface immunoglobulin. In T cell lymphoma, cells reacted with CD 2, CD 3, CD 5, CD 4 or 8, and partly CD7 monoclonal antibodies. The proportion of T cell lymphoma in this analysis was thought to be higher than that in eastern Japan. Remission rate of therapy was no difference between T and B cell lymphoma.

Concerning to the circulating lymphocytes, in CD4 positive T lymphoma, patients were divided to three groups based on CD4/CD8 ratio. In low CD4/CD8 ratio group, CD4 positive rate was depressed. While, in high CD4/CD8 ratio group, patients had high CD4 positive rate.

Kappa-lambda analysis was the useful method to detect monoclonal B cell population. Kappa-lambda analysis on peripheral lymphocytes in B cell lymphoma revealed that D values of active CSIII/IV group were significantly higher than those of active CSI/II group and CR group. D values were elevated during active period, and lowered to

Reprint request to: Koichi NAGAI,
First Department of Internal Medicine
Niigata University School of Medicine
Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部第一内科学教室

永井 孝一

normal range during remission. Therefore, D values in kappa-lambda analysis corresponded with clinical stage of the patients with B cell lymphoma.

Key word: malignant lymphoma, T cell, B cell, kappa-lambda analysis, surface marker.

悪性リンパ腫, T細胞, B細胞, kappa-lambda 解析, 表面形質.

リンパ球は、その分化段階に応じて、表面形質が異なるため、各種モノクロナル抗体に対する反応性が変化する。リンパ系腫瘍である悪性リンパ腫は、リンパ球の分化段階からみると、末梢型のリンパ球の腫瘍化と考えられている。本稿では、悪性リンパ腫症例の腫瘍細胞および末梢血リンパ球に関する、表面形質を中心とした免疫学的検討の成績を呈示する。

1. 対象症例

1976年以後に新潟大学医学部第一内科で検索した、組織診断の決定された86例を対象とした。86例中50例については、リンパ腫細胞の表面形質を詳細に検討した。

年齢は、9才から84才で、中央値は65才、男性56例、女性30例であった。組織分類は、LSG 分類¹⁾に加え、IBL様Tリンパ腫²⁾を独立させて解析した。内訳は、濾胞性リンパ腫8例、びまん性リンパ腫のうち、大細胞型37例、

混合細胞型8例、中細胞型15例、多形細胞型6例、小細胞型2例、パーキット型2例、IBL様Tリンパ腫7例であった。Ann-Arbor 分類による臨床病期別では、I期11例、II期15例、III期18例、IV期42例であった。

2. リンパ腫細胞の表面形質

リンパ節または腫瘍組織を細切し、細胞浮遊液を調整し検体とした。CD 2 (OKT 11), CD 3 (OKT 3), CD 4 (OKT 4), CD 5 (Leu 1), CD 7 (Leu 9), CD 8 (OKT 8), CD 10 (J 5), CD 19 (Leu 12), CD 20 (B 1), CD 21 (B 2), CD 25 (抗 IL-2 receptor 抗体), 抗 HLADR 抗体, 及び抗ヒト IgG, IgM, IgA 1, IgA 2, IgD, κ, λ 抗体の各モノクロナル抗体で、直接または間接蛍光抗体法にて染色し、flow cytometer (Spectrum III) にて、腫瘍細胞の分布する部位の陽性率を算定した。

表 1 リンパ腫の表面形質

	N	CD 2 OKT 11	CD 3 OKT 3	CD 5 Leu 1	CD 7 Leu 9	CD 4 OKT 4	CD 8 OKT 8	CD 25 αIL2R	CD 19 Leu12	CD 20 B1	CD 21 B2	CD 10 J5	anti HLADR	Sm-Ig
BCL														
follicular	4	-/+	-/+	-	-	-	-					-/+		
d large	9	-/+	-/+	-	-	-	-	-			+/-	-/+	+/-	
d medium	6	-/+	-	-/+	-	-	-	-	+/-		-/+	-/+	+/-	
d mixed	2	-/+	-/+			-	-							
CD4 TCL														
d large	7		+/-		-		-	-	-	-	-	-		-
d medium	3						-	-	-	-	-	-	+/-	-
d mixed	4						-	-	-	+/-	-	-	+/-	-
d pleo	2						-	-	-	-/+	-	-	-	-
IBL-like T	6						-	-	-	-	-	-	+/-	-
CD8 TCL														
d large	3					-		-	-	-/+	-	-		-

各抗体の陽性率が40%以上の場合を陽性と判定し、組織型別に反応性を示した。

■ 全例陽性の場合, +/- 半数以上の症例で陽性
 -/+ 半数以下の症例で陽性

表 2 組織型及び表面形質と治療反応性

	BCL					T4 TCL					T8 TCL				total						
	F	D	L	DMED	DMIX	D	P	total	D	L	DMED	DMIX	D	P		IBL-T	total	D	L	DMED	IBL-T
CR YES	3	2	2	2			9		1	2	3	1	3	10			2	1		3	22
							40.9%							45.5%						50.0%	44.0%
CR NO	1	7	4			1	13		6	1	1	1	3	12			1	1	1	3	28
							59.1%							54.5%						50.0%	56.0%

B細胞リンパ腫は、表面免疫グロブリンに monoclonality を有する他、CD 19, CD 20, CD 21 というB細胞系の抗体が陽性となる場合に診断した。T細胞リンパ腫は、表面免疫グロブリン及びB細胞系の抗体が陰性で、CD 2, CD 3, CD 5, CD 7, 及び CD 4 または CD 8 の一方が陽性となる場合に診断した³⁾。

検討した50例中、T細胞リンパ腫は28例で、B細胞リンパ腫は22例であり、新潟地方のTリンパ腫の比率は九州地方ほどでないにしても、比較的高頻度と考えられた⁴⁾。組織型別でも、濾胞性のB細胞リンパ腫、IBL様Tリンパ腫以外の組織型では、T・B両形質由来のリンパ腫が認められた(表1)。

B細胞リンパ腫では、CD 19, 20, 21 の他、抗 HLADR 抗体が高率に陽性で、CD 10 陽性例もかなり認められた。逆に、T細胞リンパ腫では、CD 2, CD 3, CD 5, CD 7, CD 4 または CD 8 の他、抗 HLADR 抗体が高率に陽性であった。CD 25 が40%以上の陽性の症例は認められず、ATLA 抗体も全例陰性であった。

びまん性大細胞型 CD 4 陽性リンパ腫では、CD 7 が40%以上陽性となる症例は、検索した4例中には認められず、CD 3 も6例中3例で40%以下の陽性率で、この組織型の細胞の特異性を示す可能も考えられた(表1)。

3. リンパ腫の表面形質と治療反応性

リンパ腫細胞の表面形質を解析した50例の治療による

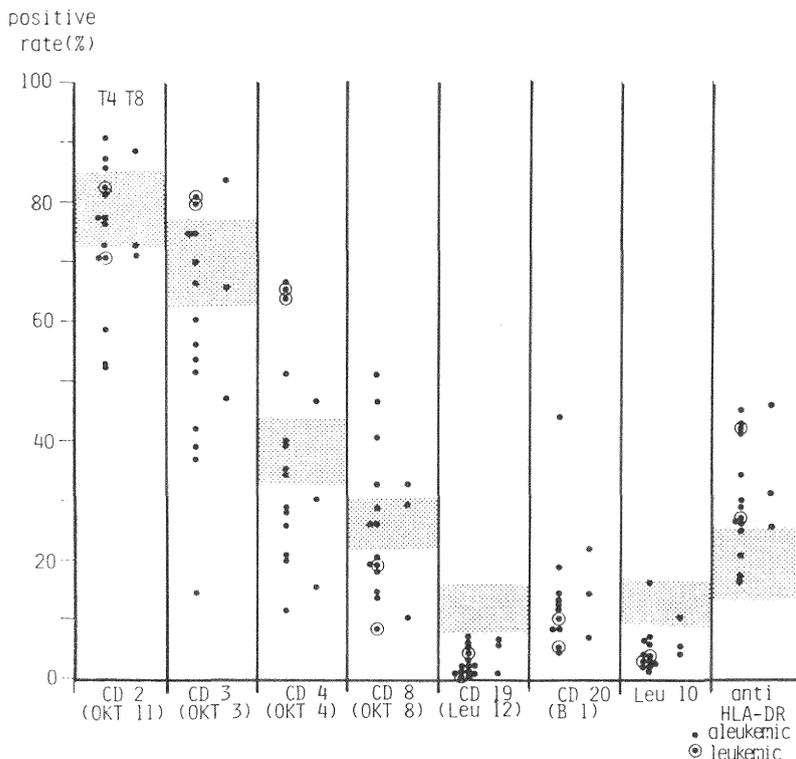


図 1 T細胞リンパ腫の末梢血リンパ球の表面形質

完全寛解率と組織型及び表面形質の関連を表 2 に示す。22例が完全寛解となり、完全寛解率は 44.0%であった。B細胞リンパ腫及び CD 4 陽性T細胞リンパ腫のびまん性大細胞型で寛解率が低い他は、同等の成績で、組織型、表面形質による差は認められなかった。尚、完全寛解の基準は、固形がん効果判定基準（小山一斉藤班）⁵⁾ に従い判定した。

予後に関しては、50例全例で、50%生存期間は 13.8ヶ月であった。今回の検討では、T細胞リンパ腫とB細胞リンパ腫、CD 4 陽性Tリンパ腫と CD 8 陽性Tリンパ腫の予後を Kaplan-Mayer 法により比較しても有意差は認められなかった。

4. 末梢血リンパ球の表面形質 (Tリンパ腫症例)

末梢血リンパ球の解析には、ヘパリン加または EDTA 加血を検体とした。CD 2, CD 3, CD 4, CD 8, CD 19, CD 20, Leu 10, 抗 HLADR 抗体で直接蛍光抗体法により染色し、flow cytometer (Spectrum III) にて陽性率を算定した。

Tリンパ腫では、CD 19, Leu 10 陽性細胞の減少と抗 HLADR 抗体陽性細胞の増加が認められた (図 1)。

CD 4 陽性リンパ腫症例の末梢血リンパ球の CD 4, CD 8 陽性率及び CD 4/CD 8 比を症例別に示した結果が図 2 に示してある。CD 4/CD 8 比より分類すると、正常域を超えて高値となる群、正常群及び低値となる群の 3 群に大別される。高値群では、CD 4 陽性細胞比率が増加し、CD 8 陽性細胞比率が減少しており、5 例中 2 例で白血化例を認めた。このことより、CD 4 陽性リンパ腫クローン由来細胞が形態的には認識されなくとも、末梢血中に出現している可能性も考えられた。

一方、CD 4/CD 8 比が正常より低値となる群では、CD 4 陽性細胞比率の減少が著明で、CD 8 陽性細胞比率は正常または増加し、一般の担癌患者と同様の免疫不全状態と考えられた。

5. 末梢血リンパ球の表面形質 (Bリンパ腫症例)

Bリンパ腫では、白血化例では当然の如くT細胞比率が減少し CD 2, CD 3, CD 4, CD 8 陽性率が減少し、B細胞比率が増加し、CD 19, CD 20, Leu 10, 抗 HLADR 抗体陽性率が増加していた。他の症例では、CD 19, Leu 10 陽性率の減少と抗 HLADR 抗体陽性率の増加を認めた (図 3)。

6. Kappa-lambda 解析

Bリンパ腫症例の末梢血中に、リンパ腫クローン由来細胞の有無を検討する目的で、1979年に Ault⁷⁾ により考案された monoclonal B cell を検出する Kappa-

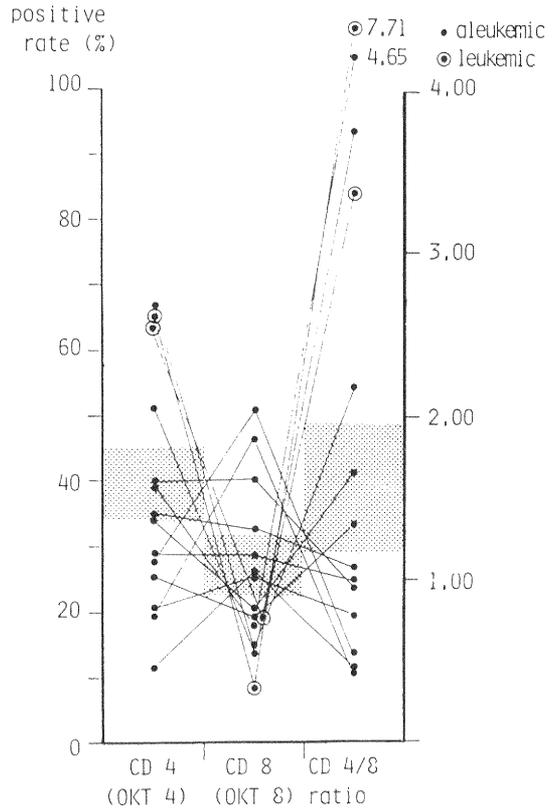


図 2 CD 4 陽性リンパ腫の末梢血 CD 4, CD 8 陽性率と CD 4/CD 8 比

lambda 解析を改変し解析した。ヘパリン加末梢血より、非貧食単核球を回収し、抗ヒト κ 及び λ モノクロナル抗体にて間接蛍光抗体法にて染色後、flow cytometer (FACS 420) にて分析し、表面免疫グロブリン κ 鎖及び λ 鎖保有細胞の蛍光強度別ヒストグラムを求めた (図 4)。両ヒストグラムの累積度数分布曲線の差の最大値を示す D 値を算定し、Wilcoxon の順位和検定にて比較検討した。D 値の算定は、Kormogorov-Smirnov test により以下の如く算定した。

$$D \text{ 値} = \frac{\left| m\alpha \times \sum_1^x f_{\kappa}(x) - \sum_1^x f_{\lambda}(x) \right|}{N} \times 100$$

N は分析細胞数、x は蛍光強度を示すチャンネル番号、 $f_{\kappa}(x)$ 、 $f_{\lambda}(x)$ はチャンネル番号 x における κ-ヒストグラム、λ-ヒストグラムの細胞数を表す。

活動期の B 細胞リンパ腫病期 III・IV 期症例の D 値は、

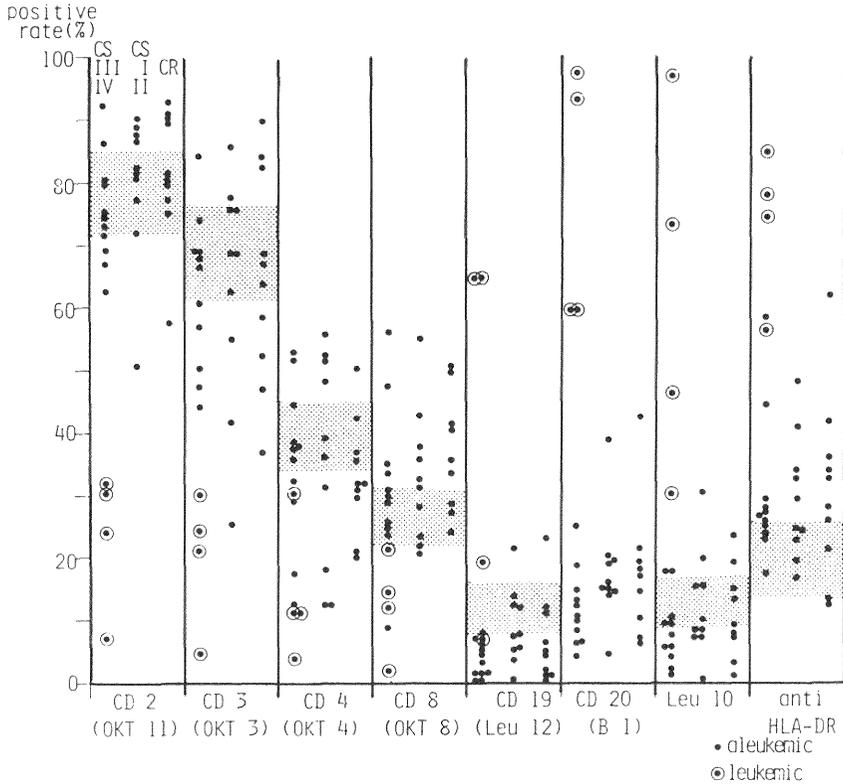


図 3 B 細胞リンパ腫の末梢血リンパ球の表面形質

病期 I・II 期, 完全寛解期, 活動期の T 細胞リンパ腫症例及び正常人の D 値より有意に高値で, B 細胞型慢性リンパ性白血病症例の D 値に匹敵する異常を認めた (図 5). 病期 III・IV 期の B 細胞リンパ腫症例の末梢血中存在する Kappa-lambda 解析で検出された monoclonal B cell の軽鎖は, リンパ腫細胞の軽鎖と一致することより, 末梢血中にリンパ腫クローン由来細胞の存在が示唆された.

5 例について Kappa-lambda 解析を活動期と寛解期で経時的に検索した. D 値は, 活動期で 28.6 ± 15.7 (mean \pm SD) と高値で, 寛解期では 5.9 ± 1.8 と有意に正常域に低下した. 完全寛解より再燃した例でも, 再燃早期に D 値の異常高値を認めた.

以上より, 病期の進展した B 細胞リンパ腫症例の末梢血の Kappa-lambda 解析により, 病勢の追跡及び再燃の早期発見が可能と考えられた.

ま と め

1. リンパ腫細胞の表面形質を解析した 50 例では, T

細胞リンパ腫を 28 例, B 細胞リンパ腫を 22 例認め, T 細胞リンパ腫の比率が高率であった.

2. B 細胞リンパ腫は, CD 19, CD 20, CD 21, 抗 HLADR 抗体の他, CD 10 陽性例を高率に認め, T 細胞リンパ腫では, CD 2, CD 3, CD 5, CD 7, CD 4 または CD 8 の他, 抗 HLADR 抗体陽性例を高率に認めた.

3. CD 4 陽性リンパ腫症例の一部に末梢血中のリンパ球の CD 4/CD 8 比が高値の群を認め, リンパ腫クローン由来細胞の末梢血への出現の可能性が示唆された.

4. B 細胞リンパ腫症例の末梢血 Kappa-lambda 解析により, 病期の進展した例では, 末梢血中にリンパ腫クローン由来細胞の存在が示唆された.

謝 辞

稿を終えるに臨み, 貴重な症例の検索の機会を与えて頂いた, 新潟大学附属病院, 新潟市民病院, 新潟南病院, 長岡赤十字病院, 厚生連佐渡総合病院,

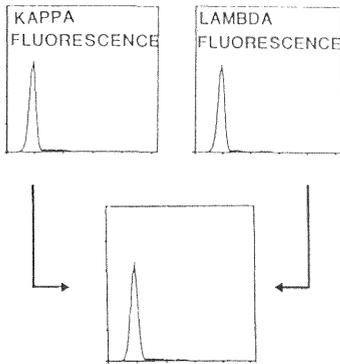
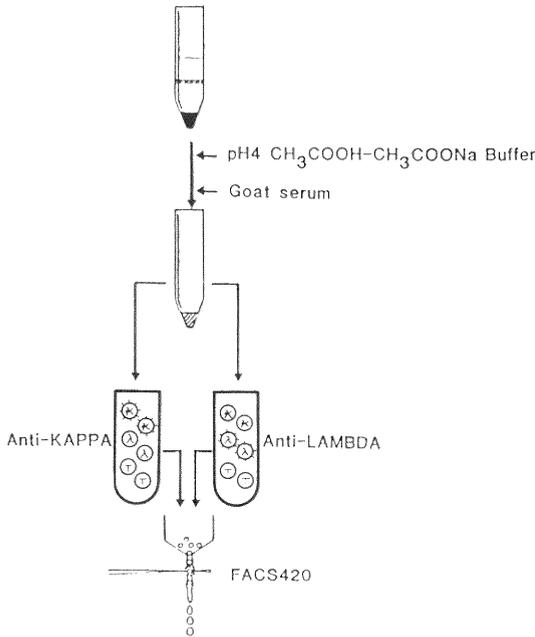


図4 Kappa-lambda 解析の方法

小千谷総合病院, 県立吉田病院, 済生会新潟病院の諸先生方に深謝致します。解析に協力して頂いた新潟大学医学部第一内科学教室の青木定夫先生, 丸山聡一先生, 大西昌之先生, 木村美奈子嬢, 及び, 御指導, 御教授頂いた品田章二助教授, 柴田昭教授に深謝致します。

参 考 文 献

1) 小島 瑞, 他編集: 新分類による悪性リンパ腫アトラス. 文光堂, 東京, 1981.
 2) Shimoyama, M., et al.: Immunoblastic lymphadenopathy (IBL)-like T cell lymphoma.

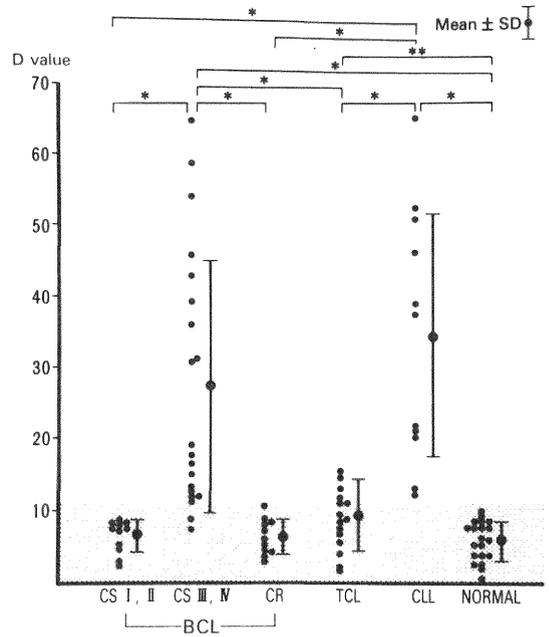


図5 Kappa-lambda 解析の結果

* p<0.01 ** p<0.05

Jpn. J. Clin. Oncol., 9(Suppl.), 347, 1979.
 3) Shimoyama, M., et al.: 非ホジキンリンパ腫の表面マーカー, T-, B-リンパ腫分類および予後因子. 臨床放射線, 30, 1177, 1985.
 4) Tajima, K., et al.: Geographical features and epidemiological approach to endemic T cell leukemia/lymphoma in Japan. Jpn. J. Clin. Oncol., 9(Suppl.), 495, 1979.
 5) 小山善之: 固形がん化学療法直接効果判定基準. 癌化学療法・癌免疫療法の効果判定基準と制癌剤開発 (齊藤達雄編集), サイエンスフォーラム, 東京, 28, 1981.
 6) Janowska-Wieczorek, A., et al.: Deficiency of mature B and T lymphocyte subsets in the blood of non-Hodgkin lymphoma patients. Am. J. Haematol., 26, 125, 1987.
 7) Ault, K., A.: Detection of small numbers of monoclonal B lymphocytes in the blood of patients with lymphoma. N. Engl. J. Med., 300, 1401, 1979.
 8) Nagai, K.: Kappa-lambda analysis of peripheral non phagocytic cells in patients with non-Hodgkin's lymphoma. Acta. Haematol. Jpn., in preparation.

司会 ありがとうございます。これで5名の方の発表が終わったわけですが、何か御質問ございますでしょうか。だいぶ昔とは違って治療成績は良くなってきていることと、新しいテクニックが入ってきたり、各科の相互連携プレーということを充分念頭においていかないと具合が悪いというのが、今日のお話かと思いますが、どなたか如何でしょうか。

根本 永井先生にお聞きしたいのですが、T細胞リンパ腫の中で helper 型は確かに多いのですが、suppressor 型はあまり経験がありません。先生のお話ですと、3例程あって予後にはあまり差がなかったみたいですが、病態としては何か違いがあったのでしょうか。

永井 はっきりした違いは今の所ないようです。当科の症例はほとんど病期Ⅳの症例で、例えば skin involvement や白血化に関しても、生命予後に関してはあまりはっきりした差は今の所出ていませんし、最近の症例では寛解率に関してもあまり差はないのです。

根本 あれに ATL は入っていないのですね。

永井 ATL は含まれておりません。先程言い忘れましたが、IL2 receptor 抗体も調べてありますけれども全例陰性でした。

司会 私から村川先生におかがいしますが、外科的治療うんぬんということがございましたが、外科で治療をしてその後いろいろ内科的治療をされると思います。そういった場合にどういったエレメントが患者にとって不利になるか、延命にプラスになるのかということをお教え下さい。

村川 今の御質問はいくつかの問題点を含むものと思います。一つは生検をも含め術前に臨床診断をしっかりつけておくことが非常に大事なことだと思います。と申しますのは、例えば外科系の先生が胃でも扁桃でも鼻でも同じことですが、術前に NHL を念頭において手術するのかどうか、これがその後、検査の進め方や治療方針の決定に極めて大きい影響を与えます。従って我々内科医についても、理学的所見の把握や胃の内視鏡その他に関して十分にトレーニングをやっておかなければなりません。

また、外科系の先生にお願いしたいのですが、手術所見から NHL が疑われた場合は直ちに、私達ですと内科、中検、病理が一つのチームを作って動いていますので、そのチームに連絡を頂きたいということです。そのチームが互いに連携して検査を進めますので、捺印標本、マーカー、場合によっては電顕、染色体をも含めた総合的な診断ができることとなります。そういった院内の連携プレーが非常に大切だと思います。

それから、外科系の先生が手術をされる時に、非常に early stage だと考えられる場合、あるいは認められるリンパ節は全部郭清したとお感じになる場合でも、決して油断をしないで頂きたい、というのが今回の集計で感じたことです。やはり放射線療法、化学療法などをも含めた総合的な治療が予後の決定に極めて重要であると思います。

司会 先生のデータで先程良くわからないとおっしゃたんですけども、女性と男性を比べると女性の方が延命率が長いというあたりを、もう少し砕いて説明して頂けますか。

村川 簡単にいいますと、全 NHL 症例のうち男性の50% survival は約1年3ヶ月です。ところが女性を同じ条件で求めますと5年です。びっくりする程の差があるので、いろいろな要因分析を試みましたが、結論からいうと、その理由は良くわかりません。ただ GI 原発例、それから Waldyer 輪原発例の2つの群に関しては性差が明らかに出ております。しかし、他の nodal あるいは GI 以外の extranodal に関してはあまりはっきりした性差は出ていません。この2つの部位からの NHL でなぜ女性が良くて、男性が悪いのか、これは全く謎としか言えません。

司会 それは周囲への進展度とは関係ありませんか。

村川 Stage その他の検討も行ってありますが、有意の差はございません。

司会 ありがとうございます。非常におもしろいデータだと思いますが、他にございませんか。

柴田 今日は非常におもしろいお話をうかがったのですが、therapy のことで一つおかがいしたい。早期の stage の患者に対して化学療法と放射線を積極的に併用した方がいいかどうかという問題で、これは先程の稲越先生のお話では10%ぐらい治療成績が up したとおっしゃっているし、村川先生の所では有意の差は出なかったとおっしゃるように思うのですが、この辺はいかがでしょうか。

村川 ちょっと補足させて頂きますと、この点については原発臓器によって明らかな差がございます。radiation による差ははっきりと出たのは Waldyer 輪原発例です。差が出なかったのは nodal の NHL です。稲越先生がおっしゃっている症例は、ほとんどが頭頸部 NHL ですので、その点で見解は全く同じだと考えております。

稲越 全く同意見です。

司会 よろしいですか。他にございませんでしょうか。ございませんようでしたら、これでシンポジウムを終わらせて頂きます。