



話題

宮城県における悪性リンパ腫の
調査研究: MIYAGI Study*

張替秀郎** 一迫玲***

Key Words: malignant lymphoma, epidemiology, MIYAGI

はじめに

造血器腫瘍である悪性リンパ腫の分類は、度重なる変遷を経たのち、現在は2008年に刊行されたWorld Health Organization (WHO)分類に拠っている¹⁾。この中で、悪性リンパ腫はホジキンリンパ腫 (Hodgkin lymphoma; HL) と非ホジキンリンパ腫 (non-Hodgkin lymphoma; NHL) に大別され、NHLはB細胞性腫瘍とT/NK細胞性腫瘍に大分類される。さらに、それぞれの大分類は発生分化や細胞起源などにより細かな疾患単位に小分類されている。各疾患単位は、臨床像、腫瘍細胞の形態・サイズ、細胞膜表面および細胞内マーカーの免疫組織化学的検索、染色体検査、遺伝子解析などの細胞形質をもとに分類されるため、正確な診断にはこれら形態・蛋白質・染色体・遺伝子レベルでの多角的解析結果が必要となる。また、治療法としてrituximabをはじめとする分子標的薬が次々と臨床に用いられるようになり、診断法としてもDNAアレイによる遺伝子プロファイリングが、疾患の亜分類や予後予測に用いられつつある現状を考えると、腫瘍細胞の細胞生物学的情報をできるだけ詳細に得ることは、正確な診断を下すためだけでなく、治療法の選択や予後を判定するためにも必須である。しかしながら、現状ではHE染色による形態学的検索と免疫組織染色のみにより診断がな

される場合が少なくない。

一方で、悪性リンパ腫の国別・地域別の病型・発生部位別頻度などの疫学調査のほとんどは、単独もしくは複数の大規模病院の血液内科で診断・治療された症例の集計であり、小～中規模病院の症例は含んでいないことが多い^{2)~7)}。悪性リンパ腫はあらゆる臓器から発生するため、患者が最初に受診する科は多岐にわたり、大規模病院の血液内科患者のみを調査対象とした場合、対象症例にバイアスがかかることは否定できない。さらに、従来の疫学研究は免疫組織化学的検索、染色体検査、遺伝子解析などを包括した研究ではなく、WHO分類に対応できる情報が収集された研究とは言い難い。海外においてはカナダのプリティッシュコロンビア州において全州的な患者登録システムが構築され、悪性リンパ腫症例の包括的検査データ収集と臨床経過の追跡が行われることにより、悪性リンパ腫の疫学的解析・治療法の評価等においてきわめて価値の高い報告がなされている^{8)~11)}。

宮城県は地域的に偏在が認められるヒトT細胞向性ウイルス1型 (human T lymphotropic virus type 1; HTLV-1) 非流行地域であり、年齢別人口割合・人口増加率が全国平均と近似している。また、他の大都市圏と比較し患者の流動が少ないことから、宮城県の悪性リンパ腫の亜型頻度は、HTLV-1流行地域を除いた日本全体のそ

* Clinicopathological analysis of malignant lymphoma in Miyagi prefecture: MIYAGI Study.

** Hideo HARIGAE, M.D., Ph.D.: 東北大学大学院医学系研究科血液・免疫病学分野 [〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1]; Department of Hematology and Rheumatology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai 980-8574, JAPAN

*** Ryo ICHINOHASAMA, M.D., Ph.D.: 東北大学大学院医学系研究科血液病理学

表 1 2007年の日本全国および宮城県の人口動態統計

	日本	宮城県
人口(万人)	12,777	235
男女比	1 : 1.1	1 : 1.1
年少人口割合	13.5%	13.6%
老年人口割合	21.5%	21.0%
生産年齢人口割合	65.0%	65.4%
人口増加率	0.00	-0.31
自然増加率	0.01	0.00
社会増加率	-	-0.23

れに近似すると推察される。さらに、宮城県における血液疾患の主たる治療施設は東北大学関連病院であり、発症した悪性リンパ腫は治療のためにこれらの病院に集積されるため、小～中規模病院、血液内科医以外で診断された症例も含め、全県的な症例の登録が可能である。したがって、宮城県での悪性リンパ腫登録事業は、これまで報告されてきた数か所の血液専門施設の統計とは異なり、日本の悪性リンパ腫の現状を反映した疫学研究になるものと考えられる。また、悪性リンパ腫の診断の際に、宮城県においてはほとんどの施設が標準的な病理組織診断に加え、フローサイトメトリー(FCM)による特異抗原発現、染色体・遺伝子解析情報を包括した検査システムであるREAD systemを利用しているため、宮城県で診断された症例については詳細な腫瘍細胞の細胞遺伝学的形質の情報を蓄積することが可能である。これらの背景をもとにわれわれは、宮城県全域で診断された悪性リンパ症例について、免疫組織化学的検索、染色体検査、遺伝子解析を含んだ病理組織学的検査所見および臨床所見からなるデータベースを構築し、日本における悪性リンパ腫の特徴を明らかにする調査研究：MIYAGI Studyを計画した。なお、MIYAGI Studyは、財団法人である一迫記念READ血液アカデミーの公益事業として宮城県に認可された事業であり、東北大学がその中心施設として、調査研究を行っている。その具体的な目標は、

- ①宮城県内における悪性リンパ腫の全例登録
- ②登録症例の再発・生存・検査値・治療内容等の長期追跡
- ③悪性リンパ腫の診断・治療を目的とした臨

床研究とのリンク

である。これらの目標が達成できれば、この宮城県における悪性リンパ腫の調査研究はブリティッシュコロニア研究に比肩する研究になりうる可能性があると考えている。以下に、宮城県における悪性リンパ腫の疫学調査を開始するにあたっての研究背景について概説し、現在までに得られた調査結果の一部を紹介する。

研究の背景：宮城県の人口動態・悪性リンパ腫診療の現状

宮城県の2007年度人口は235万人であり、その中心が人口およそ100万人の仙台市である。仙台市周辺は農村部、さらに沿岸の漁村部からなり、大まかにとらえると、宮城県は都市部の仙台市とその周辺の郡部から構成されている県といえる。その人口構成は表1に示すごとくで、男女比、年少人口割合、老年人口割合、生産年齢割合、人口増加率いずれも日本全体にきわめて類似している。したがって、都市部、郡部の両方をコンパクトに兼ね備え、人口構成も類似している宮城県は日本の縮図と言い換えることができる。また、沿岸部にHTLV-1キャリアーが認められるものの、県全域を考えるとキャリアー率は低くHTLV-1非流行地域といえる。これらのことから、宮城県における悪性リンパ腫の全例登録・追跡調査が達成できれば、その解析結果は日本の悪性リンパ腫の疫学を代替する解析結果になりうるものと考えられる。これまでに、日本における悪性リンパ腫の疫学研究としていくつかの報告があるが、いずれも症例数的にはある程度の数が担保された研究であるものの、代表的な血液疾患施設の集計であることから、集積された症例にバイアスがかかっている可能性は否定できない²⁾⁴⁾。すなわち、大規模な病院で集積された症例は、遠方からの症例を含んでいる代わりに、地域の小～中規模病院の症例は含んでいない可能性もあり発症した地域全体の悪性リンパ腫症例を、年齢、性別問わず漏れなく把握しているとは限らない。また、悪性リンパ腫はあらゆる臓器から発生するため、患者が最初に受診する科は多岐にわたり、診断科が必ずしも血液内科ではないことも多い。実際に、

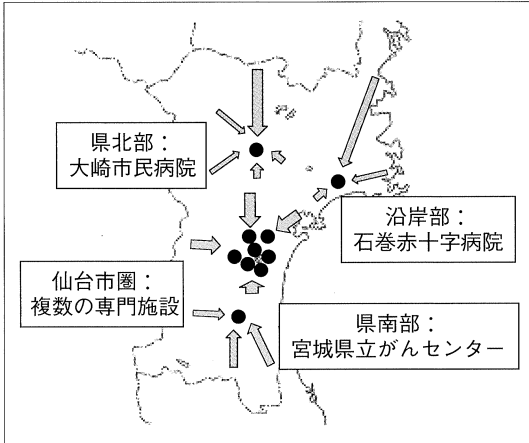


図 1 宮城県における悪性リンパ腫治療施設

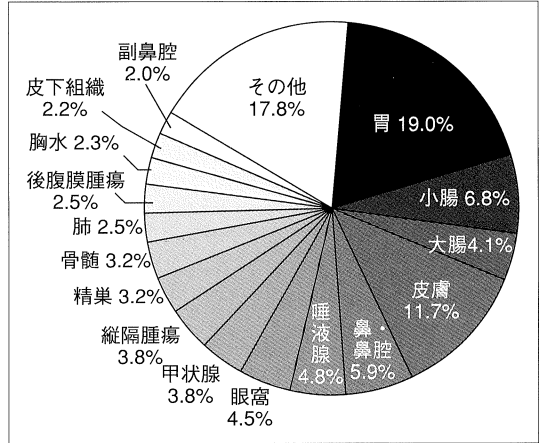


図 2 節外生検部位

MIYAGI Studyで解析した症例の生検部位は全体の64%がリンパ節であったものの、36%がリンパ節以外の節外部位から生検を受けており、その部位も胃・小腸・大腸の消化管系や皮膚などを中心として全身にわたっていた(図1)。このように、診断医療施設、診断科が多岐にわたる悪性リンパ腫の疫学調査を行うためには、発症した症例が他の地域に治療のために移動することがなく、かつ、治療施設が限られた地域であることが条件となる。その点において、宮城県は、主要な血液疾患の治療施設が東北大学関連であり、図2に示すように、ほぼ宮城県全域の症例が、他県に移動することなくこれらの中核病院に集約する流れになっている。すなわち、宮城県は、地域の症例が他の地域に移動することなく、限られた治療施設に集約されるという疫学調査の条件を満たす診療圏であるということが出来る。前述の日本との人口構成の近似性とこの診療の地域性を合わせて考えると、宮城県が悪性リンパ腫の疫学調査を行う上で、理想的な環境にあることが理解していただけるものと思う。さらに、この地域特性は、今後、登録症例の長期的な予後の追跡や、統一したプロトコルの施行とその有効性の検討といった臨床研究を行う上でもきわめて大きなアドバンテージを付与しているといえる。具体的な数字を挙げると、2002~2008年の7年間でMIYAGI Studyに集計された症例数を平均すると、1年に男性で119人、女性で103人、計222人の初発症例が捕捉

表 2 年度別集計人数(初発例)

年度	男	女	全体
2002年	100	74	174
2003年	117	89	206
2004年	102	108	210
2005年	89	97	186
2006年	116	93	209
2007年	136	127	263
2008年	167	131	298
計	827	719	1,546
年平均	118	103	221

できていることになる。2002年の日本における悪性リンパ腫推定罹患数は15,551人(男性：8,728人、女性：6,823人)、推定粗罹患率は人口10万人あたり12.2(男性：14.0、女性：10.5)である。前述のように、宮城県の2007年度人口は235万人であり、上記推定罹患率から、年に287人(男性：160人、女性：127人)が新たに悪性リンパ腫と診断されると推定できる。本データの年平均初発症例数は222人であり、推計捕捉率は77%である。2008年に限ってみれば、症例数は302人(男性：169人、女性：133人)で、推定罹患数と近似する症例数が集まっていると考えられる(表2)。

研究の背景：READ system

これまでの日本における疫学調査は、いくつかの大規模病院の症例の集積であり、バイアスがかかっている可能性があることは前に述べた。症例集積の際に対象とする地域全域の症例を捕捉できることに加えて、充実した悪性リンパ腫

表 3 READ system®

R : Registration <病院と症例の登録>
1. 病院登録
2. 症例登録と検体提出 : 2種類(ホルマリン固定組織・未固定組織)
EA : Examination & Analyses(4Ms) <観察と解析>
1. 病理組織学的観察 : <u>Morphological examination</u> → HE標本による形態学的解析
2. 免疫学的表現型解析 : <u>Marker analysis</u> → フローサイトメトリー法/免疫組織化学による解析
3. 分子遺伝学的解析 : <u>Metaphase analysis</u> → 染色体分析/FISH法による解析
4. 分子生物学的解析 : <u>Molecular analysis</u> → サザン法/PCR法による解析
D : Description <診断の記載>
血液病理医がすべての「M」についての所見を記載・報告

の疫学調査を行う上で重要な点が情報量である。現在、悪性リンパ腫の診断はWHO分類に拠ってなされているが、その分類のもとになっている情報は、形態学的情報だけでなく、細胞生物学的、細胞遺伝学的、分子生物学的情報が含まれており、これらの情報を総合して、悪性リンパ腫の細分類がはじめて可能となる。他の臓器と比べて、悪性リンパ腫の診断の際にこれら複数のしかも専門性の高い検査法が必要である要因の第一は、悪性リンパ腫の発生母地であるリンパ球という細胞の特殊性と特異性にに基づいている。リンパ球は機能的にかなり多様であり、それを可能にしているのが遺伝子レベルでの再構成(免疫グロブリン遺伝子、T細胞受容体にはそれぞれ $\sim 10^{11}$ 、 $\sim 10^{15}$ 通りという天文学的な再構成パターンがある)および、分化や活性化状態等に関連する数多くの膜蛋白である。腫瘍細胞におけるこれらの細胞特性を解析し、正常リンパ球の分化段階との類似性を見出し、さらに、腫瘍細胞特異的な発現異常や、染色体・遺伝子異常を検出することで、WHOに基づく悪性リンパ腫の診断が完結するため、多様で専門性の高い検査法が必要となることは必然といえる。実際、一般的に悪性リンパ腫の病理診断は、形態学的検査のみでは反応性か腫瘍性かの鑑別がかなり難しい場合があり、さらに、亜型分類の種類やvariantの数がかなり多いこともあることから、他の臓器に比べて病理診断にバラツキが多いことが知られている。そのため、HE標本や免疫組

織化学のみでは亜型が確定しないことや異なった亜型分類に至ってしまうこともあるのも事実である。READ systemは病理組織学的観察とともに、FCM・免疫組織化学(IHC)・染色体分析・遺伝子診断といった多角的解析を行い、その解析結果をもとに血液病理医が診断する悪性リンパ腫の総合的診断システムである(表3)。このシステムを利用することにより、WHO分類に必要な細胞生物学的、細胞遺伝学的、分子生物学的情報を得ることが可能となり、悪性リンパ腫の細分類に至る正確な診断が確定できる。現在、これらの特殊検査項目は保険適用となり、またコマーシャルベースで依頼が可能であるため、宮城県内のすべての東北大学関連の血液治療施設はこのシステムを利用し、悪性リンパ腫の診断を行っている。したがって、各病院から得られた情報は、必然的にこれらの専門的検査による詳細な腫瘍細胞の情報を包括しているため、MIYAGI Studyでは従来の疫学研究にはない、総合的な悪性リンパ腫のデータベースを構築することが可能となった。

さて、このREAD systemにより得られた情報をもとに構築したMIYAGI Studyの解析データから、病型別頻度を解析すると、全病型の中で最多のものはびまん性大細胞型B細胞性リンパ腫(DLBCL)であり、濾胞性リンパ腫(FL)、節外性濾胞辺縁帯リンパ腫(MALT lymphoma)、末梢性T細胞リンパ腫、非特異型(PTCLU)がそれに続いた。男女別にみると、女性においてFLの高頻

度が顕著であった。FLの発生頻度は、本邦を含むアジアでは欧米諸国(全リンパ腫の11~30%)と比較し低値(6~8%)と報告されてきた²⁾³⁾¹²⁾。しかし近年、台湾および本邦で欧米並みの頻度を示すとの報告があり⁴⁾⁵⁾¹³⁾、韓国からも、頻度は低いものの経時的にみると増加していると報告されている³⁾。この数十年で日本における悪性リンパ腫の罹患率は増加しているが¹⁴⁾、FLの増加もその原因の一端を担っている可能性がある。

さらに、B細胞性リンパ腫において臨床的に重要な表面抗原であるCD20の陽性率を解析してみたところ、IHCによる結果とFCMの結果の乖離を認める症例が認められた。Rituximabがその治療効果を発現するにはCD20が細胞表面に発現している必要があり、その局在は重要である。この結果は、rituximab治療時にはIHCだけでなく、FCMによるCD20発現の確認が必要であることを示唆している。また、DLBCLにおける予後予測因子として知られているCD5についても、CD20同様にIHCとFCMの間で結果の乖離が認められる症例が少なからず認められており、CD5発現の有無を把握するにあたっては、IHCだけではなくFCMを同時に施行することの重要性が示唆される。現在、CD5、CD20の発現においてIHCとFCM間で乖離が認められる頻度を解析中である。

一方、FLについても新たな知見が得られつつある。FLは低悪性度リンパ腫の代表的病型であるが、その多くでt(14;18)(q32;q21)によるBCL2遺伝子と免疫グロブリン重鎖(immunoglobulin heavy chain ; IGH)遺伝子の転座が認められることが知られている¹⁵⁾¹⁶⁾。IgH/BCL2転座は、欧米ではFLの70~95%に認められるが、日本や他のアジア諸国のFLでは陽性率は低いとされてきた¹⁷⁾。MIYAGI Studyの結果でも、G分染法を用いた場合は概してその検出感度は低かったが、パラフィン切片を用いたFISH法(PS-FISH)は高い検出率を示す傾向が認められている。現在、具体的な検出率の違いを解析中であるが、日本においても(PS-FISH)のような検出率が高い方法を用いれば、海外と同程度のIgH/BCL2転座比率が認められる可能性が示唆される。また、これまでに、IgH/BCL2転座陽性の症例は免疫形質、遺伝学的

異常などが比較的共通しており、病理学的に均一な腫瘍である一方、IgH/BCL2転座を有しないものは免疫形質、形態の点で不均一であることが報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾。MIYAGI Studyでは、前述のように包括的な腫瘍細胞の特性に関する情報を集積しているため、そのデータをもとにIgH/BCL2転座陰性例の染色体異常のプロフィールを含め、IgH/BCL2転座陽性群、陰性群間での腫瘍細胞の生物学的特徴の違いを解析中であるが、これまでの報告を支持する結果が得られつつある。これら2群間で、治療の感受性や予後に關しては臨床的にも差が認められるかどうかは、今後MIYAGI Studyで長期的に追跡調査観察を行うことにより明らかになるものと考えられる。これらの知見は、MIYAGI Studyが病理組織学的情報だけでなく、複数の解析方法によって解析された細胞生物学的、細胞遺伝学的、分子生物学的情報を含んだデータを集積しているからこそ得られた知見であることを強調しておきたい。

おわりに

宮城県の悪性リンパ腫の調査研究はまだまだ緒についたばかりであり、今後全例登録、および前向きな追跡調査を確立しなければならない。しかしながら、現在までの調査解析を検討すると、人口比から考え高率に症例の把握ができつつあること、また、FCMによる抗原発現、染色体・遺伝子解析の情報を網羅することにより、多方面からの解析が可能であることなど、本研究の目標の達成が現実的であることが予感される。今後、長期的な臨床経過の追跡を含めた臨床データの充実を図るとともに、新規治療法の実施やプロトコール標準化などの臨床研究と組み合わせることにより、本研究の意義がさらに高まるものと考えられる。

謝辞：MIYAGI Studyの登録施設(石巻赤十字病院、NTT東日本東北病院、岩山山病院、大崎市民病院、気仙沼市立病院、公立刈田総合病院、坂総合病院、JR仙台病院、仙台医療センター、仙台オープン病院、仙台厚生病院、仙台社会保険病院、仙台市立病院、仙台赤十字病院、仙台通信病院、東北厚生年金病院、東北大学病院、東北労災病院、南郷病院、みやぎ県南中核病

院, 宮城県立がんセンター, 宮城県立こども病院)の諸先生方に深謝申し上げます。

文 献

- 1) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon : IARC Press ; 2008.
- 2) Lymphoma Study Group of Japanese Pathologists. The World Health Organization classification of malignant lymphomas in Japan : incidence of recently recognized entities. *Pathol Int* 2000 ; 50 : 696.
- 3) Ko YH, Kim CW, Park CS, et al. REAL classification of malignant lymphomas in the Republic of Korea : Incidence of recently recognized entities and changes in clinicopathologic features. *Cancer* 1998 ; 83 : 806.
- 4) Aoki R, Karube K, Sugita Y, et al. Distribution of malignant lymphoma in Japan : analysis of 2260 cases, 2001-2006. *Pathol Int* 2008 ; 58 : 174.
- 5) Lee MY, Tan TD, Feng AC, et al. Clinicopathological analysis of 598 malignant lymphomas in Taiwan : seven-year experience in a single institution. *Am J Hematol* 2006 ; 81 : 568.
- 6) Sukpanichnant S. Analysis of 1983 cases of malignant lymphoma in Thailand according to the World Health Organization classification. *Hum Pathol* 2004 ; 35 : 224.
- 7) Morton LM, Wang SS, Devesa SS, et al. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood* 2006 ; 107 : 265.
- 8) Sehn LH, Donaldson J, Chhanabhai M, et al. Introduction of combined CHOP plus rituximab therapy dramatically improved outcome of diffuse large B-cell lymphoma in British Columbia. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 5027.
- 9) Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood* 2007 ; 109 : 1857.
- 10) Al-Tourah AJ, Gill KK, Chhanabhai M, et al. Population-based analysis of incidence and outcome of transformed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 5165.
- 11) Johnson NA, Boyle M, Bashashati A, et al. Diffuse large B-cell lymphoma : reduced CD20 expression is associated with an inferior survival. *Blood* 2009 ; 113 : 3773.
- 12) Biagi JJ, Seymour JF. Insights into the molecular pathogenesis of follicular lymphoma arising from analysis of geographic variation. *Blood* 2002 ; 99 : 4265.
- 13) Miyazato H, Nakatsuka S, Miyanaga I, et al. Follicular lymphoma in Osaka, Japan : histological features and chronological change. *Int J Hematol* 2002 ; 76 : 333.
- 14) Matsuda T, Marugame T, Kamo K, et al. Cancer incidence and incidence rates in Japan in 2002 : based on data from 11 population-based cancer registries. *Jpn J Clin Oncol* 2008 ; 38 : 641.
- 15) Yunis JJ, Oken MM, Kaplan ME, et al. Distinctive chromosomal abnormalities in histologic subtypes of non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1982 ; 307 : 1231.
- 16) Cleary ML, Smith SD, Sklar J. Cloning and structural analysis of cDNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation. *Cell* 1986 ; 47 : 19.
- 17) Biagi JJ, Seymour JF. Insights into the molecular pathogenesis of follicular lymphoma arising from analysis of geographic variation. *Blood* 2002 ; 99 : 4265.
- 18) Ott G, Katzenberger T, Lohr A, et al. Cytomorphologic, immunohistochemical, and cytogenetic profiles of follicular lymphoma : 2 types of follicular lymphoma grade 3. *Blood* 2002 ; 99 : 3806.
- 19) Guo Y, Karube K, Kawano R, et al. Low-grade follicular lymphoma with t(14;18) presents a homogeneous disease entity otherwise the rest comprises minor groups of heterogeneous disease entities with Bcl2 amplification, Bcl6 translocation or other gene aberrances. *Leukemia* 2005 ; 19 : 1058.