

胃 MALT リンパ腫における IgH 再構成および p53, bcl-2 免疫染色の遺伝子学的検討

谷 穰 大野 博之 三坂 亮一
川口 実

東京医科大学内科学第四講座
(指導：斎藤利彦主任教授)

【要旨】 我々は今回、遺伝子学的検討が MALT リンパ腫の有力な補助診断となりうるかを知るために、外科的切除された MALT リンパ腫 6 例、非 MALT リンパ腫 18 例、MALT リンパ腫の H.p 除菌された 10 例を対象に IgH 再構成、p53 免疫染色、bcl-2 免疫染色を検討した。IgH 再構成は MALT リンパ腫、非 MALT リンパ腫でそれぞれ 75%、83.3% 認められた。また、MALT リンパ腫の除菌例においては、除菌成功例では IgH 再構成が陰性化し、無効例では変化しないという傾向にあった。bcl-2 蛋白の免疫染色の陽性率は非 MALT リンパ腫と比較して MALT リンパ腫で有意に高かったが、p53 蛋白の免疫染色の陽性率では両者に有意差はなく、相関関係は認められなかった。しかしながら、MALT リンパ腫ではその 68.8% (11/16) が bcl-2 蛋白陽性、p53 蛋白陰性のパターンを示し、非 MALT リンパ腫ではそのパターンは 1 例も示さなかった。また除菌無効例も異なるパターンを示した。以上より、IgH 再構成、p53 免疫染色、bcl-2 免疫染色を組み合わせるにより MALT リンパ腫の術前診断の補助になりえることが示唆された。

はじめに

1983 年に Issacson ら¹⁾により、Low-grade B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) が報告されて以来、胃において従来の反応性リンパ組織過形成 (Reactive lymphoreticular hyperplasia : RLH) や早期の悪性リンパ腫の多くの症例が、この低悪性度 B 細胞性リンパ腫 (MALT リンパ腫) と診断されるようになって²⁾。また進行した悪性リンパ腫も MALT リンパ腫から多段階的に遺伝子異常が出現することにより完成すると考えられるようになって³⁾。さらに、胃 MALT リンパ腫には *Helicobacter pylori* (以下 H.p) が高率に感染していることが 1991 年に Wotherspoon ら⁴⁾によって報告され、その除菌により MALT リンパ腫が肉眼的、組織学的に消失したとの報告が相次いで⁵⁾。

しかし一方で、H.p 除菌後 MALT リンパ腫の再発例や進行例の報告もあり^{6,7)}、MALT リンパ腫に対する除菌療法の適応や治癒判定、除菌後の経過については不明な点が多い。これらの現状から、MALT リンパ腫は悪性リンパ腫の類縁疾患として鑑別診断および治療が重要視されてきたとおもわれる。そこでわれわれは近年、注目されている遺伝子診断が鑑別困難な MALT リンパ腫の有力な補助診断となりうるかを知るため、胃悪性リンパ腫と H.p 除菌例を含む胃 MALT リンパ腫について、免疫グロブリン重鎖 (IgH) 再構成のモノクロナリティーおよび p53, bcl-2 免疫染色の検討をおこなった。

対 象

1991 年から 1997 年 10 月までに外科的切除された胃悪性リンパ腫 24 例を組織学的に再検討し、centro-

2000 年 1 月 31 日受付, 2000 年 2 月 28 日受理

キーワード：胃 MALT リンパ腫, IgH 再構成 p53 免疫染色, bcl-2 免疫染色。

(別刷請求先：〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学内科学第四講座 谷 穰)

cyte-like cell の密な増生，明らかな lymphoepithelial lesion の存在するものを MALT リンパ腫としたところ，MALT リンパ腫は6例，非 MALT リンパ腫は18例であった．加えて胃 MALT リンパ腫の H.p 除菌例10例の生検組織材料を対象に IgH 再構成および p53, bcl-2 免疫染色をおこなった．症例の平均年齢は44歳，男女比は1.8:1.0であった．ただし，今回 MALT リンパ腫を Issacson らの概念に従い分類しており，Real 分類の Marginal zone B-cell lymphoma とは異なる．

方 法

1. IgH 再構成判定のための DNA 抽出および PCR 法

DNA の抽出は，DNA アイソレーター PS キット（和光純薬工業株式会社製）を用いて抽出した．すなわち，ホルマリン固定パラフィン包埋標本10 μ m をキシレン，エタノールで4回洗浄し，目的部分の組織のみをエッペンドルフチューブにとった後，酵素反応液18 μ l を加え90 $^{\circ}$ C 10分間加熱した．さらに，酵素反応促進剤，蛋白分解酵素をそれぞれ2 μ l 加え，50 $^{\circ}$ C 20分間反応させた後，DNA 沈澱促進剤5 μ l，イソプロテレノール25 μ l 混合後，12000 rpm 15分遠心した．上清を除いた後，500 μ l のエタノールを加え再度12000 rpm 5分遠心し，エタノールを捨てて乾燥し，TE緩衝液20 μ l 加え，不純物を沈澱させることにより DNA を抽出した．PCR は Wan ら⁸⁾ の方法に準じて IgH-VDJ 再構成領域の各プライマーの Sequence を以下のように設定して2段階の増幅をおこなった．

FR3A : 5' ACACGGYSTGTATTACTGT3'

LJH : 5' TGAGGAGACGGTGACC3'

VLJH : 5' GTGCCAGGGTNCCTTGGCCCCAG3'

1回目の PCR は total 100 μ l の反応液，1 μ l の DNA，各 50 pmol の FR3A と LJH プライマー，5 単位 Ampli Tag Gold (Perkin Elmer Cetus)，0.5 mM dNTP Mix，10 mM Tris HCL (pH8, 3)，1.5 Mm Mgcl，50 mM KCl を加えた．検体 PCR は 94 $^{\circ}$ C 5分 denature した後，下記条件下で30回おこなった．94 $^{\circ}$ C 30秒 (denature)，56 $^{\circ}$ C 30秒 (annealing)，72 $^{\circ}$ C 60秒 (extention)，最後の extention は72 $^{\circ}$ C 5分おこなった．2回目の PCR は100倍希釈した PCR 増幅産物1 μ l，50 pmol の FR3A と VLJH プライマーを1回目と同じ100 μ l の反応液に加え，同条件で

30回の増幅をおこなった．増幅産物は3% アガロースゲルに電気泳動した．染色法はエチジウムブロマイド染色をおこない，染色バンドの性状を検討した．なお，再構成の陰性対象としては正常胃粘膜のリンパ濾胞組織を用い，陽性対象としては白血病細胞性株 BALL-1⁹⁾ を使用した．

2. p53, bcl-2 蛋白の免疫組織学的染色法

p53 蛋白の免疫組織学的検討は一次抗体として抗モノクローナル抗体 DO-7 (Dako 社) を用いた．Amex 標本より4 μ m 薄切片を作製し，ABC (avidin-biotinperoxidase complex) 法にておこなった．すなわち，skim milk で処理後，300倍に希釈した DO-7 を16時間4 $^{\circ}$ C で反応させ，buffer 洗浄後，二次抗体としての biotinylated rabbit IgG (Dako 社) を室温，30分反応，再度 buffer 洗浄し，avidin-biotin complex で処理後，diaminobenzidine を含む H₂O₂ 溶液にて発色させた．bcl-2 蛋白の検討は一次抗体として抗モノクローナル抗体 124 (Dako 社) を用い上記と同様 ABC 法でおこなった．染色方法は，p53 蛋白では400倍視野で核の50%以上が染まるものを陽性とし，10%以下のものを陰性，その間を疑陽性とした (Fig. 1)．bcl-2 蛋白では400倍視野で核以外の細胞質の50%以上が染まるものを陽性とし，10%以下のものを陰性，その間を疑陽性とした (Fig. 2)．

3. H.p の除菌方法

除菌方法は基本的に，amoxicillin (AMPC) 1500 mg \times 2 weeks, proton pump inhibitor (PPI) 30 mg \times 2 weeks とし，除菌前と除菌3カ月ないし6カ月後の生検材料について IgH 再構成および免疫染色を比較検討した．

なお，有意差検定は χ^2 検討した．

結 果

1. 全体における IgH 再構成の検出率

PCR による IgH 再構成の検出は予想されたごとく100 bp 付近に再構成バンドを認めた．正常胃粘膜ではバンドは検出されないとされており，MALT リンパ腫では16例中12例 (75%)，非 MALT リンパ腫では18例中15例 (83.3%) とともに高率であった (Table 1)．IgH 再構成の結果を Fig. 3 に示す．

2. H.p 除菌例における IgH 再構成の変化

H.p 除菌を試みた10例の投与薬剤と効果について Table 2 に示す．今回検討した MALT リンパ腫

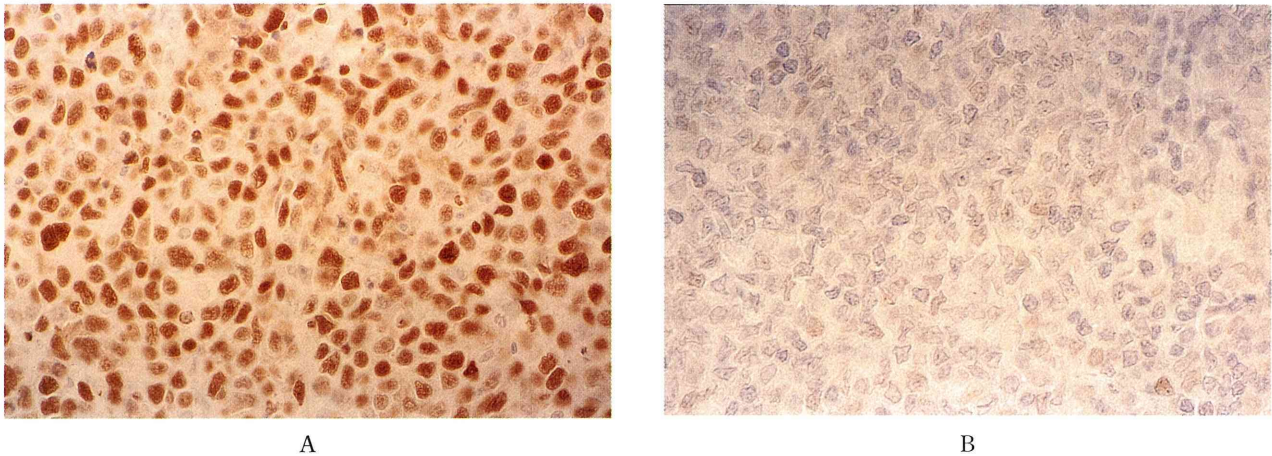


Fig. 1 Immunohistochemical staining of p53 protein
 A = Positive staining in the nuclei of cells (×200)
 B = No staining of p53 protein (×200)

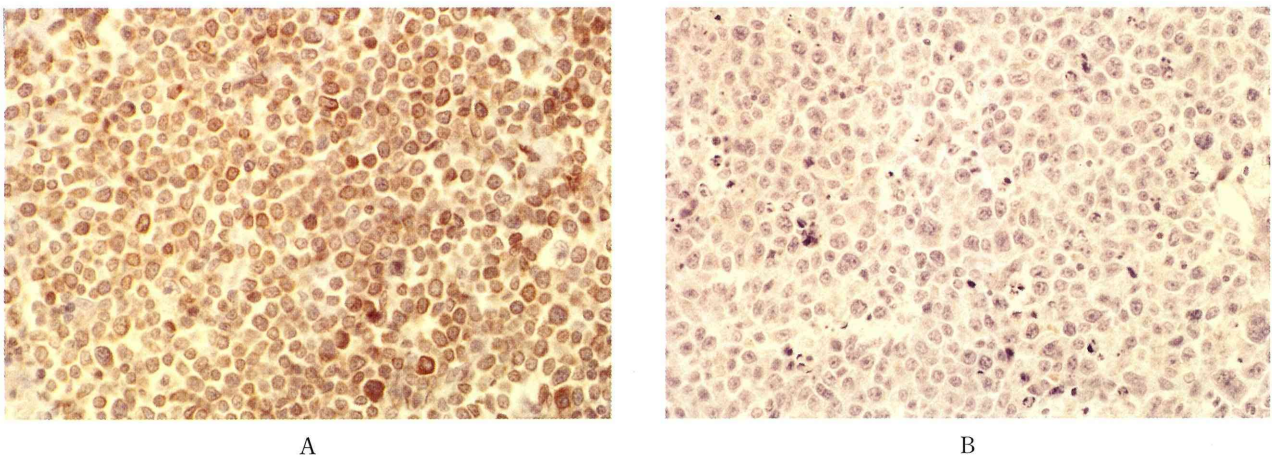


Fig. 2 Immunohistochemical staining of bcl-2 protein
 A = Positive staining in the cytoplasm without nuclei of cells (×200)
 B = No staining of bcl-2 protein (×200)

除菌例 10 例中 8 例が除菌に成功し、除菌後には内視鏡下生検の病理学的診断においてもリンパ腫細胞を認めなかった。除菌前から再構成を示さなかった 2 例を除く 6 例は全例に IgH 再構成の消失がみられた。除菌無効の 2 例では IgH 再構成の消失は認めなかった。除菌例による IgH 再構成の変化を Fig. 4 に示す。

3. 免疫染色の陽性率

p53 蛋白の免疫染色の結果をみると、MALT リンパ腫では 16 例中、疑陽性例を 1 例 (6.3%) 認め、非 MALT リンパ腫では 18 例中、陽性 3 例 (16.7%)、疑陽性 7 例 (38.9%) 認めたが、両者に有意差はな

かった。MALT リンパ腫では 1 例を除き p53 蛋白陰性であった (Table 3)。一方、bcl-2 蛋白の免疫染色についてみると、MALT リンパ腫では 16 例中 12 例 (75%) に陽性を示し、非 MALT リンパ腫の 18 例中 3 例 (16.7%) に比べ、有意に高い陽性率を示した ($p < 0.01$)。また MALT リンパ腫除菌例 10 例のうち、無効例の 2 例を除いた 7 例は bcl-2 蛋白染色陽性、1 例が疑陽性であった (Table 4)。両蛋白の免疫染色の結果を総合して検討してみると、MALT リンパ腫ではその 68.8% (11/16) が p53 蛋白陰性、bcl-2 蛋白陽性のパターンを示しているのに対し (Table 5)、非 MALT リンパ腫では同様のパターン

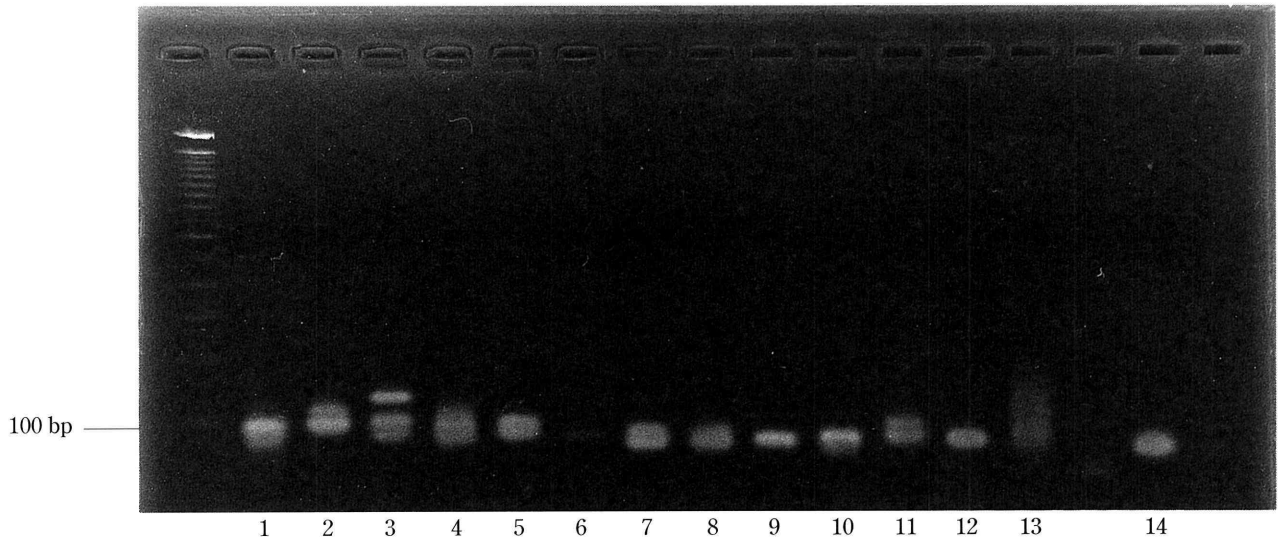


Fig. 3 Agarose gel electrophoresis after PCR of DNA from MALT and non-MALT lymphoma
 1~6 : MALT lymphoma 7~12 : non-MALT lymphoma
 13 : Negative control = Lymphoid tissue in normal gastric mucosa
 14 : Positive control = Ball 1
 Lane 2, 3, 4, 11 show broad smear patterns

Table 1 Monoclonality of IgH rearrangement in MALT lymphoma and non-MALT lymphoma by PCR

	(+)	(-)
MALT lymphoma	12/16	4/16
operative tissue	4/6	2/6
biopsy (H.p. eradication)		
before	8/10	2/10
after	2/10	8/10
non-MALT lymphoma	15/18	3/18

は1例も示さず、かつその分布パターンは一定の傾向を示さなかった (Table 6)。

考 察

1983年 Issacson ら¹⁾により、MALT リンパ腫という疾患概念が提唱されて以来、これまで胃における反応性リンパ組織過形成 (RLH) といわれてきた疾患はほとんど MALT リンパ腫と同義語になりつつある²⁾。これにより、胃のリンパ増殖性疾患の診断はおおきく変わりつつあり、特に MALT リンパ腫と非 MALT リンパ腫の鑑別は困難なものになっている。胃悪性リンパ腫のうち肉眼型¹⁰⁾が潰瘍型や巨大皺襞型のような進行した病変の場合は診断が容易であるが、表層型ないし表層拡大型の場合、内

視鏡検査だけでは MALT リンパ腫の診断は困難な場合が多い。また鉗子生検による病理診断も、広範囲の生検にもかかわらず、組織が小さく挫滅しやすい、粘膜全層の観察ができない、などの理由により、かならずしも良好な成績ではない。

近年、急速に進歩している遺伝子学的診断が鑑別困難な MALT リンパ腫の有力な補助診断となりうるかを知るため、今回われわれは MALT リンパ腫と非 MALT リンパ腫について比較検討をおこなった。まず IgH 再構成であるが、胃悪性リンパ腫の90%がB細胞由来であることから、遺伝子の再構成を検索し、単クローン性を証明することで診断に寄与しようとする試みは以前から注目されてきている。従来その診断には免疫グロブリンおよび TCR 遺伝子の再構成を検出するサザンプロット法が使われている^{11, 12)}が、新鮮組織ないし細胞から抽出された DNA が相当量必要であり、事実上限定領域の検出は困難である。最近では PCR 法が開発され、パラフィン包埋切片を応用することにより、微量の検体からの遺伝子解析が可能となっている^{13, 14)}。過去の文献によると非 MALT 型の悪性リンパ腫では、PCR 法による IgH 再構成の検出率は80%前後と高く^{15, 16)}、これに対し、MALT リンパ腫では40-60%と低い傾向である^{17, 18)}。われわれの結果も同様で、非 MALT リンパ腫では83.3% (15/18) であるのに

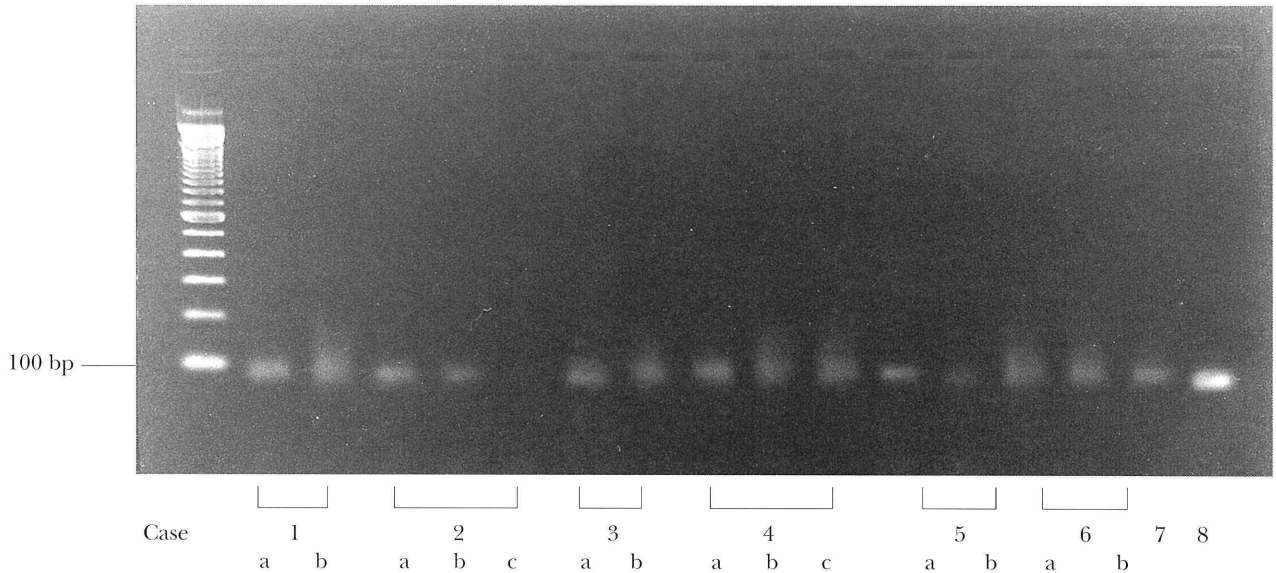


Fig. 4 Agarose gel electrophoresis after PCR of DNA from MALT lymphoma after H.p. eradication
 Case 7 : Negative control = Lymphoid tissue in normal gastric mucosa
 Case 8 : Positive control = Ball 1
 a = before eradication b = 3 months after eradication c = 6 months after eradication
 Cases 1, 3, 4, 6 are successful cases. Cases 1, 3, 4 become negative, but 6 was negative before eradication. Cases 2 and 5 are failure cases. IgH rearrangement remains positive.

Table 2 IgH rearrangement before and after H.p. eradication

case	age/sex	method of H.p. eradication	effect of eradication	IgH rearrangement before → after		
①	39 M	AMPC 1500 mg × 2 weeks lansoprazole 30 mg × 2 weeks	effective	+	→	-
②	62 M	the same as above	no effect	+	→	+
③	52 F	the same as above	effective	+	→	-
④	66 M	the same as above	effective	+	→	-
⑤	47 F	the same as above	no effect	+	→	+
⑥	59 M	the same as above	effective	-	→	-
⑦	64 M	the same as above	effective	+	→	-
⑧	58 M	the same as above	effective	-	→	-
⑨	63 F	AMPC 1500 mg × 2 weeks lansoprazole 30 mg × 6 weeks	effective	+	→	-
⑩	71 F	AMPC 1500 mg × 2 weeks sodium rabeprazole 10 mg × 6 weeks	effective	+	→	-

対して、MALTリンパ腫では75% (12/16) とやや低率であった。MALTリンパ腫におけるIgH再構成の検出率が低い原因は発生初期に、多種の反応性リンパ球の集合の多クローン性増殖により分子量の異なるDNAが増殖されるため、ゲル上ではsingle bandとしては検出されないと考えられている¹⁹⁾。

また今回検討したMALTリンパ腫は全て表層型であり、これらの病巣内や周囲には多少なりとも、反応性リンパ球浸潤を伴っており、このこともゲル上ではsingle bandとしては検出されない理由として考えられる。
 次に除菌による変化であるが、胃MALTリンパ

Table 3 Results of immunohistochemical staining of p53 protein

	(+)	(±)	(-)
MALT lymphoma	0/16	0/16	15/16
operative tissue	0/6	1/6	5/6
biopsy (H.p. eradication)	0/10	0/10	10/10
non-MALT lymphoma	3/18	7/18	8/18

Table 4 Results of immunohistochemical staining of bcl-2 protein

	(+)	(±)	(-)
MALT lymphoma	12/16*	1/16	3/16
operative tissue	5/6	0/6	1/6
biopsy (H.p. eradication)	7/10	1/10	2/10
non-MALT lymphoma	3/18*	3/18	12/18

*p<0.01

腫と H.p 感染を認める慢性胃炎との密接な関係を示す成績が数多く提出されており²⁰⁾, 胃 MALT リンパ腫の大半には H.p 感染が存在しているという報告や⁴⁾, 低悪性度 MALT リンパ腫が H.p 除菌により消退した報告や^{5, 21)}, その再感染で再燃した⁶⁾ との報告もあり, H.p 感染が多くの MALT リンパ腫の発生機序に深く関与していることはほぼ確実なものと考えられている. IgH 再構成が除菌効果と関連があるかを検討したところ, 除菌成功例の 75% (6/8) が除菌により IgH 再構成が陰性化し, 除菌無効例では 100% (2/2) で除菌前後で単クローンを示し, 陰性化は認めなかった. 小野ら¹⁸⁾ も除菌をおこなった胃 MALT リンパ腫 8 例について IgH 再構成を検討した結果, 成功例 4 例中 2 例が除菌後陰性化し, また無効例 4 例中 3 例が除菌前後ともに単クローンであり, 除菌の変化と IgH 再構成の結果との一致率が高いと報告している. しかしながら除菌前において単クローンが全例にみられるわけでもなく, またパラフィン固定時の DNA の変性や somatic mutation による DNA 上の塩基置換によりクローナルな再構成にもかかわらずバンドが証明されない場合もある²²⁾. また逆に, 慢性胃炎でも単クローンを認められることがある²³⁾ などの問題点もおおく, IgH 再構成単独では補助的診断の域をこえるものではないと考えられる.

そこで今回はさらなる遺伝子学的検討として, 多

Table 5 Relationship between immunohistochemical staining of p53 and bcl-2 protein in MALT lymphoma

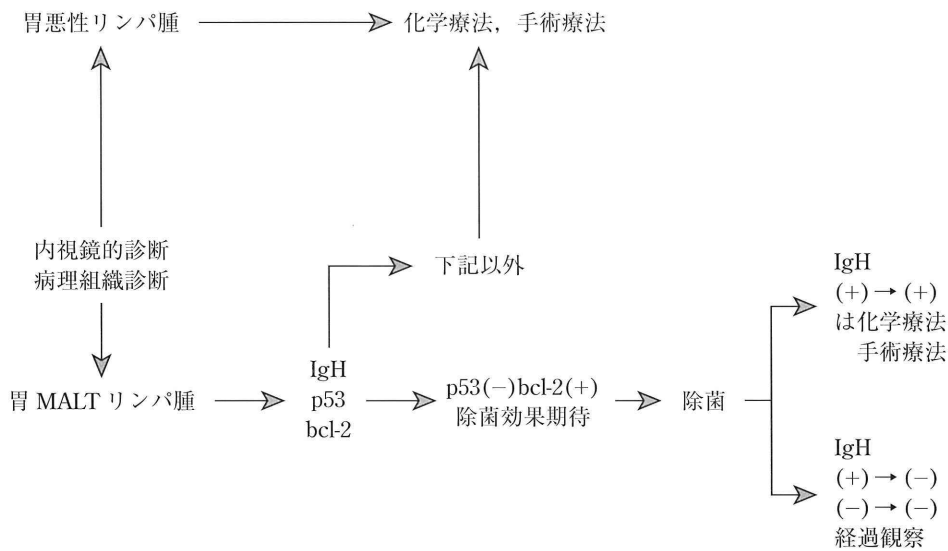
	bcl-2			total
	+	±	-	
p53 +	0	0	0	0
p53 ±	1	0	0	1
p53 -	11	1	3	15
total	12	1	3	16

Table 6 Relationship between immunohistochemical staining of p53 and bcl-2 protein in non-MALT lymphoma

	bcl-2			total
	+	±	-	
p53 +	1	1	1	3
p53 ±	2	1	4	7
p53 -	0	1	7	8
total	3	3	12	18

くの悪性腫瘍の promotion に関与する p53 と follicular lymphoma で異常発現を呈する bcl-2 についてその免疫組織染色を検討した. p53 遺伝子は第 17 番染色体短腕に位置し, 細胞周期のチェックポイントに関与し, 細胞増殖やアポトーシスを制御する遺伝子と考えられている²⁴⁾. p53 遺伝子に異常が起ると変異 p53 蛋白が生じ, 癌細胞核内に蓄積するので p53 蛋白の多量な蓄積が p53 変異と相関すると考えられ, 消化器疾患でも胃, 大腸において腺腫に比較して癌に p53 蛋白の異常発現の頻度が高く, 腺腫においては異型度が増すごとに, 発現頻度が高くなる傾向を示し, 癌では有意に高いことなども報告されている^{24, 25)}. これらのことから p53 遺伝子異常は腺腫から癌への進展に関与する遺伝子と考えられている. MALT リンパ腫や非 MALT リンパ腫でも p53 蛋白異常の蓄積はその進展に関連し予後にも影響するとの報告がある^{26, 27)}. 特に Du²⁶⁾ らは low-grade MALT リンパ腫 48 例と high-grade MALT リンパ腫 27 例について p53 遺伝子の LOH, point mutation を検討し, low-grade type では LOH 6.8%, point mutation 18.8%, high-grade ではそれぞれ 28.6%, 33.3% と MALT リンパ腫が, p53 異常の進展にしたがって, low-grade から high-grade へ移行する可能性を示唆している. また免疫染色では中村²⁸⁾, 斉藤²⁹⁾ らが MALT リンパ腫 (low-grade リンパ腫) と high-grade リンパ腫を比較し, MALT リンパ腫

Table 7 Proposed clinical management of gastric MALT lymphoma



でそれぞれ6%, 8%, high-grade リンパ腫で31%, 58%と悪性度の増加にしたがって高頻度になると報告している。われわれの結果では p53 蛋白の陽性率は MALT リンパ腫で0% (0/16), 非 MALT リンパ腫で 16.7% (3/18) で有意差は認めなかった。

bcl-2 遺伝子は第 18 番染色体長腕に位置し, 第 14 番長腕に存在する免疫グロブリンと遺伝子転座 t(14:18) を起こし, bcl-2 遺伝子産物の過剰発現を促す遺伝子である。この産物は細胞のミトコンドリア内に蓄積し, アポトーシスの抑制に関与するといわれている³⁰⁾。MALT リンパ腫における bcl-2 蛋白は Ashon-key³¹⁾ らによりその発現が報告され, さらに中村²⁸⁾ らは low-grade MALT リンパ腫の 93% が bcl-2 蛋白陽性で, high-grade リンパ腫では 44% と悪性度の増加にともない bcl-2 蛋白発現が低下するとし, p53 蛋白と負の相関を呈していると報告した。この理由としては p53 遺伝子はその増殖により, アポトーシスを促進するのに対し, bcl-2 遺伝子では抑制に働くためと推測している。われわれの結果では MALT リンパ腫 75% (13/16) 非 MALT リンパ腫で 16.7% (3/18) とやはり MALT リンパ腫で高率であるという結果で, 自験例における MALT リンパ腫は low-grade リンパ腫であり, 非 MALT リンパ腫は high-grade リンパ腫に相当することが裏付けられた。また, 今回の検討で特徴的であったことは個々の症例を検討してみると, MALT リンパ腫では 68.8% と多くの例が bcl-2 蛋白陽性, p53 蛋白陰性のパターンを呈し, 非 MALT リン

パ腫にはみられなかったことである。このことは, MALT リンパ腫の多くは, 腫瘍としての性格に乏しく, 浸潤するリンパ球は可逆性増殖の性格を示していると考えられる。また H.p 除菌例では除菌無効例 2 例を除く, 8 例中 7 例が bcl-2 蛋白陽性であった。以上のことより IgH 再構成, p53, bcl-2 免疫染色を組み合わせることによって臨床面への応用に役立つ可能性が強く示唆された。すなわち Table 7 に示すように MALT リンパ腫に対する H.p 除菌の適応は p53 蛋白陰性, bcl-2 蛋白陽性の症例で, 除菌後の IgH 再構成の変化は治療効果判定に有用であり, 陰性化を示さない症例に対しては化学療法, 手術療法などの追加治療が望ましいと考えられた。

結 語

1. MALT リンパ腫および非 MALT リンパ腫の IgH 再構成の検出率は, それぞれ 75% (12/16), 83.3% (15/18) であった。
2. MALT リンパ腫の H.p 除菌例 10 例中 8 例が除菌に成功し, 除菌前から IgH 再構成を示さなかった 2 例を除く全例で IgH 再構成が陰性化した。除菌無効例 2 例は再構成の陰性化は認めなかった。
3. p53 蛋白の免疫染色では, 非 MALT リンパ腫では 18 例中 3 例 (16.7%) が陰性, 7 例 (38.8%) が疑陽性であった。MALT リンパ腫では 16 例中 1 例 (6.3%) が疑陽性であった。
4. bcl-2 蛋白の免疫染色では陽性例は, MALT リンパ腫で 12 例 (75%) と高く, 非 MALT リンパ腫

ではそれに反し、3例(16.7%)と低かった($p < 0.01$)。

5. p53, bcl-2 蛋白免疫染色の関係をみてみると、明らかな負の相関関係は存在しなかったが、MALT リンパ腫ではほとんどの例(11/16)で p53 蛋白陰性、bcl-2 蛋白陽性のパターンを呈していた。また H.p 除菌例では除菌無効だった2例を除き8例中7例が bcl-2 蛋白陽性であった。

以上により、IgH 再構成、p53, bcl-2 免疫染色を組み合わせることにより、MALT リンパ腫の術前診断の補助になりうる事が示された。すなわち、除菌療法が有効な MALT リンパ腫は、p53 蛋白陰性、bcl-2 蛋白陽性の症例であり、除菌の治療効果判定には IgH 再構成の検索が有用であると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師斉藤利彦教授に深く感謝致します。ならびに教室員各位に厚く感謝の意を表します。なお標本作製にあたり御助力を戴いた戸田国治氏にも御礼申し上げます。また、快く病理組織標本をお貸し下さった、栃木県立がんセンターの堀口潤先生にも深謝致します。

文 献

- 1) Issacson P, Wright DHL : Malignant lymphoma of mucosa-associated-lymphoid tissue: A distinctive type of B-cell lymphoma. *Cancer* **52** : 1410~1416, 1983
- 2) 林香子, 本告 匡, 中村栄男, 越川 卓, 中村常哉, 小島 勝, 須知泰山 : 胃原発悪性リンパ腫の病理組織学的ならびに臨床病理学的検討—低悪性度病変 (MALT 型リンパ腫) と高悪性度病変. *日消化雑誌* **90** : 2985~2998, 1993
- 3) 小野裕之, 斉藤大三, 佐川 保, 永田和弘, 小竹桃子, 後藤田卓志, 近藤 仁 : 胃リンパ腫に対する遺伝子診断の現況. *胃と腸* **33** : 309~313, 1998
- 4) Wontherspoon AC, Ortiz Hidalgo C, Farcon MR, Issacson P : Helicobacter pylori associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* **338** : 1175~1176, 1991
- 5) Wontherspoon AC, Dolioni C, Diss TC, Pan L, Moschini A, Boni M : Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of Helicobacter pylori. *Lancet* **342** : 575~577, 1993
- 6) Cammarota G, Montalto M, Tursi A, Vecchio FM, Fedeli G, Gasbarrini G : Helicobacter pylori reinfection rapid relapse of low-grade B-cell gastric lymphoma. *Lancet* **345** : 192, 1995
- 7) Horstmann M, Erttmann R, Winkler K : Relapse of MALT lymphoma associated with Helicobacter pylori after antibiotic treatment. *Lancet* **343** : 1098~1099, 1994
- 8) Wan JH, Trainor KJ, Brisco MJ, Morle AA : Monoclonality in B-cell lymphoma detected in paraffin wax embedded sections using the polymerase chain reaction. *J Clin Pathol* **43** : 888~890, 1990
- 9) Yoshida M, Rybak RJ, Greenberg SJ, Barcos M, Kawata A, Matsuno F, Tsai H, Seon B : Development of a severe combined immunodeficiency (SCAD) Mouse model consisting of highly disseminated human B-cell leukemia/lymphoma cure of the tumors by systemic administration of immunotoxin, and development/application of a clonotype-specific polymerase chain reaction-based assay. *Cancer research* **57** : 678~685, 1997
- 10) 佐野量造 : 胃疾患の臨床病理. 医学書院, 1974
- 11) Cleary ML, Chao J, Warnke R, Sklar J : Immunoglobulin gene rearrangement as a diagnostic criterion of B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* **815** : 593~597, 1984
- 12) Griesser H, Feller A, Lennert K, Minden M, Mak TW : Rearrangement of the β chain of the T cell antigen receptor and immunoglobulin genes in lympho-proliferative disorders. *J Clin invest* **78** : 1179~1184, 1986
- 13) Mccarthy KP, Sloane JP, Wiedemann LM : Rapid method for distinguishing clonal from polyclonal B cell populations in surgical biopsy specimens. *J Clin Pathol* **43** : 429~432, 1990
- 14) Brisco MJ, Tan LW, Orsborn AM, Morley AA : Development of a highly sensitive assay, based on the polymerase chain reaction, for rare B-lymphocyte clones in a polyclonal population. *Br J Haemathol* **75** : 163~167, 1990
- 15) 湯本典夫, 黒須克志, 尾崎修武, 三村 孝, 伊藤国彦, 谷口 克, 三方淳男 : 胃および甲状腺リンパ腫パラフィン切片の PCR 用いたクロナリティーの検出. *日網内会誌* **34** : 337~346, 1994
- 16) Ono H, Kondo H, Saito D, Yoshida S, Shirao K, Yamaguchi H, Yokota T, Hosokawa K, Fukuda H, Hayashi S, Ochiai A, Oguro Y : Rapid diagnosis of gastric malignant lymphoma from biopsy specimens: Detection of immunoglobulin heavy chain rearrangement by polymerase chain reaction. *Jpn J Cancer Res* **84** : 813~817, 1993
- 17) 赤松泰次, 宮林秀晴, 藤森一也, 清澤研道, 降旗謙

- 一、勝山 努、松尾恭介、清水俊樹、後藤 暁：胃 MALT リンパ腫と反応性リンパ腫の鑑別診断に関する検討／内視鏡粘膜切除法と遺伝子診断の有用性。胃と腸 **31**：75～81, 1996
- 18) 小野裕之、斉藤大三、松本政権、近藤 仁、白尾国昭、横田敏弘、福田治彦、山口 肇、中西幸治、松野吉宏、落合淳志、下田忠和、吉田茂昭：臨床経過からみた胃 MALT リンパ腫の評価／遺伝子診断を含めて。胃と腸 **31**：83～92, 1996
- 19) 小野裕之、近藤 仁、斉藤大三、山口 肇、中西幸治、落合淳志、吉田茂昭：経過観察例からみた胃悪性リンパ腫の診断的問題点と遺伝子検索の有用性。胃と腸 **28**：1065～1073, 1993
- 20) Calvert R, Randerson J, Evans P, Cawkwell L, Lewis F, Dixon MF, Jack A, Owen R, Schiach C, Morgan GJ : Genetic Abnormalities during transition from Helicobacter pylori-associated gastritis to low-grade MALToma. *Lancet* **345** : 26～27, 1995
- 21) 半田 豊、川口 実、斉藤利彦：除菌療法後4年経過した胃 MALT リンパ腫の1例。胃と腸 **34**：1423～1428, 1999
- 22) 和田龍一：パラフィン包埋切片を用いた polymerase chain reaction 法による胃原発悪性リンパ腫の monoclonality の検討。弘前医学 **45**：104～113, 1993
- 23) Hsi ED, Greenson JK, Singleton TP, Siddiqui J, Schnitzer B, Ross CW : Detection of immunoglobulin heavy chain gene rearrangement by polymerase chain reaction in chronic active gastritis associated with Helicobacter pylori. *Hum Pathol* **27** : 290～296, 1996
- 24) 大野博之：ヒト胃癌組織における癌抑制遺伝子 p53 の発現に関する免疫組織学的検討。東京医大雑誌 **51**：153～163, 1993
- 25) 田口夕美子、片山麻子、杉浦弘和、須藤一郎、土屋和彦、井川守仁、佐々木敬典、白鳥泰正、窪田良彦、勝亦重弘、堀向文憲、宮岡正明、斉藤利彦：大腸癌および大腸腺腫における癌抑制遺伝子 p53 の発現。消化器癌の発生と進展 **4**：235～239, 1992
- 26) Du M, Peng H, Singh N, Issacson P, Pan L : The accumulation of p53 abnormalities is associated with progression of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Blood* **86** : 4587～4593, 1995
- 27) Hotta T, Ichikawa A, Kinoshita T : Mutation of the p53 gene as a prognosis factor in aggressive B-cell lymphoma. *Hum Pathol* **27** : 225～233, 1996
- 28) Nakamura S, Akazawa K, Kinukawa N, Yao T, Tsuneyosi M : Inverse correlation between the expression of bcl-2 and p53 proteins in primary gastric lymphoma. *Human Pathol* **27** : 225～233, 1996
- 29) 斉藤大三：胃 MALT リンパ腫／Helicobacter pylori 除菌の意義と留意点。日本リンパ網内系学会誌 **37**：265～275, 1997
- 30) Navratil E, Gaulard P, Kanavaros P, Audoin J, Bougaran J, Martn N, Diebold J, Mason DY : Expression of the bcl-2 protein in B cell lymphoma arising from mucosa associated lymphoid tissue. *J Clin Pathol* : 18～21, 1995
- 31) Ashton-Key M, Biddolph SC, Stein H : Heterogeneity of bcl-2 expression in MALT lymphoma. *Histopathology* **26** : 75～78, 1995

Genetic aspects of immunoglobulin heavy chain gene rearrangement and immunohistochemical staining of p53 and bcl-2 protein in cases with mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma

Yutaka TANI, Hiroyuki OHNO, Ryouichi MISAKA, Minoru KAWAGUCHI

Fourth Department of Internal Medicine, Tokyo Medical University
(Director: Prof. Toshihiko SAITO)

SUMMARY

The aim of our study was determine whether study of genetic aspects, including immunoglobulin heavy chain (IgH) gene rearrangement and immunohistochemical staining of p53 and bcl-2 protein, of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma could be effective in distinguishing MALT lymphoma from non-MALT lymphoma. We examined surgically resected specimens of MALT lymphoma (6 patients) and non-MALT lymphoma (18 patients). We also examined biopsy specimens of MALT lymphoma (10 patients) who had undergone *Helicobacter pylori* (*H.p*) eradication therapy. IgH gene rearrangement was observed in 75% of patients with MALT lymphoma and 83.3% of patients with non-MALT lymphoma. Concerning most patients with MALT lymphoma, IgH gene rearrangement was not seen after successful eradication of *H.p*. The positive rate of bcl-2 protein expression of the specimen of MALT lymphoma was significantly higher than that of non-MALT lymphoma. There was no significant difference and no correlation in the positive rate of p53 protein expression between the MALT lymphoma group and the non-MALT lymphoma group. Most resected specimens of MALT lymphoma showed a pattern of positive staining of bcl-2 protein and negative staining of p53 protein. This pattern was not observed in any patient with MALT lymphoma after unsuccessful eradication, and also in any patient with non-MALT lymphoma. These results suggested that combining the results of IgH gene rearrangement and immunohistochemical staining of p53 and bcl-2 protein can be useful in diagnosing MALT lymphoma before surgery.

〈Key words〉 MALT lymphoma, IgH gene rearrangement, 53 protein, bcl-2 protein
