

主論文の要旨

**Reappraisal of EBV in diffuse large B-cell lymphoma
(DLBCL): comparative analysis between EBV-positive
and -negative DLBCL with EBV-positive bystander cells**

びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫(DLBCL)における EBV の再評価：
EBV 陽性 DLBCL、および非腫瘍性 EBV 活性化背景細胞(bystander 細胞)
を伴う EBV 陰性 DLBCL の比較検討

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
高次医用科学講座 臓器病態診断学分野

(指導：中村 栄男 教授)

大橋 明子

[背景と目的]

Epstein-Barr virus(EBV)は全世界の成人の 90%以上に潜伏感染しており、感染が終生持続する。EBV は様々な悪性腫瘍と関連があり、EBV 関連リンパ増殖性疾患として、移植後関連リンパ増殖性疾患やメソトレキセート関連リンパ増殖性疾患などが知られている。

加齢性 EBV 陽性びまん性大細胞型リンパ腫(EBV+ diffuse large B-cell lymphoma [DLBCL] of the elderly)は、DLBCL の一亜型であり、2008 年に世界保健機構(World Health Organization [WHO])の血液腫瘍分類に加えられた新しい疾患単位である。EBV 陽性 DLBCL は加齢に伴った免疫老化と関連して発生すると考えられていたが、近年若年例の報告もあり、2016 年の新しい WHO 分類では EBV+ DLBCL, 非特定型 not otherwise specified(NOS)と改称された。EBV 陽性 DLBCL は EBV 陰性の DLBCL と比較して、特に高齢者において予後不良とされる。一方、EBV 陰性の DLBCL においてときに EBV 陽性の背景細胞、すなわち非腫瘍性 EBV 活性化背景細胞 (本編では bystander 細胞と呼称を統一)が報告されるが、その臨床病理学的意義は不明である。EBV 活性化 bystander 細胞を伴った EBV 陰性 DLBCL の特徴を明らかにするために、EBV 陽性 DLBCL との比較検討を行った。

[対象及び方法]

成人リンパ腫研究会(ATLSG)で連続的に登録された DLBCL526 例と、藤田保健衛生大学で連続的に診断された 141 例の DLBCL 症例、合計 667 例を対象とした。DLBCL の診断は WHO 分類に従い、形態学的、免疫組織化学的評価に基づき行われた。これらの症例に対し、EBV 感染の有無の検索のため EBER in situ hybridization (EBER-ISH)を施行した。対象とした症例の年齢、性別、病変部位、治療、予後等臨床データを収集した。対象群を EBV 陽性 DLBCL と、EBV 活性化 bystander 細胞を伴った DLBCL、同 bystander 細胞を伴わない DLBCL の三群に分け、上記データに関し、比較検討のため統計学的解析を行った。

[結果]

667 例中、34 例が腫瘍細胞に EBV 陽性であった。明らかな免疫不全のない 31 例を EBV 陽性 DLBCL と診断し、そのうち臨床情報の得られた 30 例について解析した。それらとは別に、29 例に EBV 陽性の非腫瘍性の B リンパ球が認められた。これらを EBV 活性化 bystander 細胞を伴った EBV 陰性 DLBCL と診断した。同判断には、適宜、表面マーカーと EBER-ISH の二重染色を参照した。両者はともに加齢に伴って頻度が増加し、全体に占める比率は EBV 陽性 DLBCL では 81 歳以上で 19%、bystander 細胞を伴った DLBCL では 71-80 歳で 9%であった(図 1A,B)。

それぞれの臨床学的特徴を表 1 にまとめた。Bystander 細胞をもたない EBV 陰性 DLBCL と比較して、EBV 陽性 DLBCL 群は年齢分布が有意に高かった(中央値、71 歳 vs. 62 歳; $P<0.01$)。Bystander 細胞を伴った DLBCL も高齢者に多い傾向がみら

れたが、bystander 細胞を伴わない DLBCL と比較して有意な差は認められなかった(表 1)。

臨床学的因子で三群間に有意な差は認められなかったが、EBV 陽性 DLBCL と bystander 細胞を伴った DLBCL は、いずれも国際予後指標(International Prognostic Index : IPI) で高中間リスクもしくは高リスクに分類されることが多かった(60% and 59% vs.46%)。診断時の病変分布における節外浸潤の割合は三群で差がなかったが、bystander 細胞を伴わない DLBCL 群と比較して、bystander 細胞を伴った DLBCL では、肺に病変を有する率が有意に高かった(10% vs. 2%; $P<0.05$)(表 1)。

形態学的には EBV 陽性 DLBCL は大型の異型 B リンパ球のびまん性増殖からなり、80%以上の腫瘍細胞が EBV 陽性であった。Bystander 細胞を伴った DLBCL は通常の EBV 陰性 DLBCL と形態学的には鑑別できず、腫瘍辺縁や内部に EBV 陽性の小型 B リンパ球が少量みられた。

治療奏効率においては三群間に有意差はみられなかった。生存曲線では、生存率(overall survival [OS])、無増悪生存率(progression-free survival[PFS])ともに、EBV 陽性 DLBCL 群および bystander 細胞を伴った DLBCL 群は bystander 細胞を伴わない EBV 陰性 DLBCL 群と比較して予後不良であった(生存期間中央値 100 か月、40 か月 vs. 到達せず ; $P<0.01$)(図 2A,B)。Bystander 細胞を伴った DLBCL は EBV 陽性 DLBCL と比較して 予後不良な傾向がみられたが、有意差は認めなかった(OS, $P=0.14$; PFS, $P=0.24$)(図 2A,B)。

[考察]

EBV 陽性 DLBCL と EBV 活性化 bystander 細胞を伴った DLBCL について比較検討を行ったが、両者の罹患率は、前者 4.7%、後者 4.4%と近い値であった。EBV 陽性 DLBCL の罹患率は、以前我々が報告した割合(8.7%)より低い値であったが、高齢者により多くみられ、患者背景の加齢による免疫機能低下が発症に関わるという従来の仮説を支持する結果であった。Bystander 細胞を伴った DLBCL も加齢に伴い頻度が増加したが、bystander 細胞を伴わない DLBCL 群と比較して、統計学的な有意差は得られなかった。

EBV 陽性の bystander 細胞は、Hodgkin リンパ腫や T 細胞性リンパ腫で報告されている。これらの bystander 細胞はリンパ腫に起因する微小環境レベルでの免疫抑制の結果から生じるとされるが、その臨床学的意義は明らかではなかった。過去における bystander 細胞を伴った DLBCL についての記載は、EBV 陽性 DLBCL に関する Quintanilla-Martinez らの研究で、付随的にドイツ人症例の 0.6%、メキシコ人症例の 5.1%に認められたとの報告がある。今回の研究では bystander 細胞を伴った DLBCL は 4.4%とメキシコ人症例と近似の値であった。EBV 陽性 DLBCL は欧米と比較して、アジアと南米患者で多く発症することが疫学的に知られている。Bystander 細胞を伴った DLBCL に関しても、EBV 感染に対するアジア及び南米患者の感受性の高さが関係しているものと考えられた。EBV 陽性 DLBCL は加齢に伴う免疫機能低下

が発症に関わるとされるが、今回の研究において bystander 細胞を伴った DLBCL も高齢者に多くみられたことから、リンパ腫に関連した微小環境における免疫機能低下は全身の免疫老化の影響を受けているものと推測された。

Bystander 細胞を伴った DLBCL の予後に関しては、2016 年 Klapper らが 4 例の患者で 4-11 ヶ月の経過観察では比較的予後良好であったと報告した。今回、我々の最長 76 ヶ月の経過観察においては、bystander 細胞を伴った DLBCL は bystander 細胞を伴わない EBV 陰性 DLBCL と比較して明らかに予後不良であった。興味がもたれるのは、統計学的に有意な差は得られなかったが EBV 陽性 DLBCL よりも予後不良な傾向がみられた点である。リンパ腫関連、および加齢関連免疫機能低下の双方が、bystander 細胞の出現と不良な予後に関係していると推測されるが、詳細な発生機序には更なる検討が必要と考える。

EBV 陽性 DLBCL の診断には EBER-ISH が必須である。EBV 陽性 DLBCL の診断における EBER-ISH による EBV 陽性率は明確には定義されておらず、過去の研究では様々な値が用いられた。Nicolae らは 90%以上、Hofscheiner らは 80%以上を陽性と定義しており、これらの値より低い場合は EBV 陽性と腫瘍化は必ずしも関連しないと指摘した。一方、以前の研究では 10%が閾値として用いられているものもあり、これらでは EBV 陽性細胞が腫瘍細胞ではなく、非腫瘍性の bystander 細胞であった可能性が示唆された。少量の EBV 陽性細胞のみが認められた場合、EBV 陽性 DLBCL と誤って診断されるリスクが明らかにされ、注意が必要である。今回の研究では、EBV 陽性 DLBCL だけではなく、EBV 活性化 bystander 細胞を伴う DLBCL も、EBV 非検出型（陰性）DLBCL とは臨床病理学的に異なる点が指摘され、今後の治療・研究などにおいて区別されるべきと考えられた。

[結語]

Bystander 細胞を伴った DLBCL の臨床病理学的特徴を、EBV 陽性 DLBCL、および bystander 細胞を伴わない DLBCL と比較検討した。Bystander 細胞を伴った DLBCL は、EBV 陽性 DLBCL と同様に、発症年齢が高く、国際予後指標で高中間リスクもしくは高リスクに分類される症例が多く、予後不良であった。以上のことから、bystander 細胞を伴った DLBCL は、リンパ腫に起因する免疫機能低下と、加齢に関連する免疫機能低下の双方が発症に関係している可能性が示唆された。