

原著

十二指腸型濾胞性リンパ腫の組織学的形質転換の発生頻度についての長期経過観察

1 昭和大学医学部 臨床病理診断学講座

2 聖路加国際病院 病理診断科

村井聡 1 塩沢英輔 1 鈴木高祐 2 佐々木陽介 1 本間まゆみ 1 瀧本雅文 1

矢持淑子 1

ランニングタイトル

十二指腸型濾胞性リンパ腫の組織学的形質転換

連絡先著者名

村井聡

所属

昭和大学医学部 臨床病理診断学講座

抄録

【背景】濾胞性リンパ腫は低悪性度 B 細胞リンパ腫であり一般に緩徐な経過を示す。経過中に組織学的形質転換 Histological transformation (HT) をきたすと予後不良とされる。十二指腸型濾胞性リンパ腫 Duodenal-type follicular lymphoma (DFL) は濾胞性リンパ腫の一亜型である。DFLでは HT は稀であるとされるが、その発生頻度に関して報告は少ない。DFL の HT の発生頻度を明らかにすることは治療方針を考えるうえで重要な意義を持つ。

【目的】DFL症例を長期観察と内視鏡検査による連続的な病理組織診断によって組織学的変化を評価し HT の発生を病理学的に検討する。

【方法】十二指腸・小腸生検により濾胞性リンパ腫と診断された37症例をデータベースから抽出した。節性濾胞性リンパ腫の消化管浸潤例を除外するため、消化管リンパ腫 Lugano 分類における臨床病期 I 期のみを対象とした。Hematoxylin-eosin 染色標本による組織形態学的評価と免疫染色標本による評価を行い HT の発生を評価した。

【結果】条件を満たしたDFLの症例は20症例だった。診断時の Histological grade は20症例全例で Grade 1-2 だった。臨床的な観察期間は中央値56か月（範囲：12か月～147か月）だった。経過中に臨床的に臨床病期の進行した症例はなかった。病理組織学的に HT が認められた症例はなかった。

【考察】DFLにおけるHTの発生頻度を評価するうえで、本研究のように単一施設で同一患者において定期的な内視鏡検査・生検を長期の観察期間に渡って行いHTの有無を組織学的に確認すること、ならびにDFLの診断において節性のFLの十二指腸浸潤を確実に除外することは高い信頼性があると考えられた。DFLと的確に診断できる場合にはHTのリスクは低く、節性のFLに準じた集学的治療を行うことは過剰な治療となる可能性がある。

キーワード：

十二指腸型濾胞性リンパ腫，組織学的形質転換，長期経過観察，免疫組織化学，消化管病理組織

## 緒言

濾胞性リンパ腫 Follicular lymphoma (FL) は代表的な非ホジキンリンパ腫である。胚中心 B 細胞を由来とする B 細胞性リンパ腫であり、大部分において t(14;18)(q32;q21)/IGH-BCL2 を持つ。低悪性度 B 細胞性リンパ腫であり一般に緩徐な経過を示す。しかし、経過中に組織学的形質転換 Histological transformation (HT) をきたすことがあり、HT をきたした FL は予後不良とされ多剤併用化学療法や自家移植併用大量化学療法が推奨される<sup>1)</sup>。FL で HT を来す頻度は全体の 25-30% 程度、年率では 2-3% 程度とされる<sup>2)3)</sup>。

十二指腸型濾胞性リンパ腫 Duodenal-type follicular lymphoma (DFL) は造血器腫瘍 World Health Organization (WHO) 分類第 4 版改訂版で新たに定義された FL の一亜型である。DFL は十二指腸の second portion に好発し、節性の濾胞性リンパ腫 Nodal follicular lymphoma (NFL) と同様に腫瘍細胞において高率に t(14;18)(q32;q21)/IGH-BCL2 が同定される。DFL の特徴として NFL と比較し良好な臨床経過を示すこと<sup>4)</sup>、遺伝子発現の解析では粘膜関連リンパ組織型節外性辺縁帯リンパ腫と共通する特徴を有すること<sup>5)</sup>、クラススイッチ組換えや体細胞変異において重要な働きをするとされる activation-induced cytidine deaminase (AID) の発現を欠くこと<sup>6)</sup>などが報告されている。また組織形態学的に DFL では濾胞樹状細胞 follicular dendritic cells (FDCs) が腫瘍性濾胞の辺縁にのみ存在することが特徴である<sup>7)</sup>。WHO 分類において DFL では HT は稀であると記載されるが<sup>4)</sup>、短期間の経過観察では、年 2-3% の頻度とされる FL の HT の発生を評価するのは困難であ

る。しかしこれまでに同一の症例を長期の期間にわたって経過観察し、繰り返しの内視鏡検査での病理組織学的検討を行って HT を十分に評価した報告はない。

我々は一定期間に単一の専門医療機関で診断されたDFLの全症例を対象とし、長期の経過観察と内視鏡検査による連続的な病理組織診断によって、DFL 症例の組織学的変化を評価し HT の有無を病理学的に検討した。

## 研究方法

### 1. 対象

聖路加国際病院（東京）において2008年1月から2018年4月までに消化管内視鏡検査での十二指腸・小腸生検により、病理組織学的に FL と診断された37症例を対象とした。

対象症例に関して診療録から年齢、性別、内視鏡検査を行った理由、ヘモグロビン値、血清 Lactate dehydrogenase（LDH）値、血清 Soluble interleukin-2 receptor（sIL-2R）値、Follicular lymphoma international prognostic index（FLIPI）<sup>8)</sup>、治療を含めた診療内容、内視鏡検査所見、臨床病期の進行 Clinical stage progression（CS progression）の有無を確認した。

対象症例の中からNFLの消化管浸潤と考えられる症例を除外するため、消化管リンパ腫 Lugano 分類<sup>9)</sup>における臨床病期 Clinical Stage（CS）I期のみを対象とした。消化管リンパ腫 Lugano 分類のCS I期は漿膜穿通を伴わず消化管に病変が限局する症例が該当し（原発病変の数は問わない）、原発巣からリンパ行性に腹腔

内リンパ節に浸潤を認めるものを CS II 期，隣接臓器への漿膜穿通または穿孔・腹膜炎を伴うものを CS II E 期，播種性節外病変または横隔膜上部のリンパ節浸潤を伴う消化管病変を CS IV 期と定義されている（CS III 期は存在しない）．CS の判断に際しては，画像検査で全身の Computed tomography（CT）検査が行われていない症例は対象から除外したが，Positron emission tomography（PET）検査やガリウムシンチグラフィ検査は必須としなかった．また骨髄検査に関しても必須とはしなかった．既にNFLと診断されたことがある症例は除外した．

## 2．組織形態学的評価

ホルマリン固定後のパラフィン包埋ブロックから作製した Hematoxylin-eosin（HE）染色標本による組織形態学的評価を再度行った（Fig.1）．組織形態学的評価においては以下のようなDFLの病理組織像の特徴を確認した．DFLの病理組織像では，粘膜ないし粘膜下層に腫瘍性濾胞（胚中心）を形成する．この腫瘍性濾胞を構成する腫瘍細胞は小型で核にくびれのある多数の中心細胞（centrocyte）と，大型で粗顆粒状クロマチンを有する類円形核と狭小な細胞質を持つ少数の中心芽細胞（centroblast）からなるのが一般的である．腫瘍性濾胞においては胚中心の極性が消失し，アポトーシスに陥った細胞を貪食した組織球である tingible body macrophage が消失している．また腫瘍細胞は濾胞をこえて絨毛下の粘膜固有層に密に浸潤増殖し，絨毛は肥厚を呈する（villous colonization）<sup>10)</sup>．粘膜上皮向性は示さない<sup>411)</sup>．

WHO 分類に従って次のように FL の Histological grade を評価した<sup>4)</sup>。400 倍強拡大（High power field: HPF）で観察される中心芽細胞の数によって、0～5/HPF のものを Grade 1，6～15/HPF のものを Grade 2，15/HPF をこえるものを Grade 3 とした。ただし、Grade 1 と Grade 2 に関しては臨床的な違いが乏しいこと、検者間の不一致が多いことから、WHO 第 4 版改訂版では Grade 1-2 とすることが推奨されており、本研究においても Grade 1 と Grade 2 は区別せずに Grade 1-2 として検討した。

### 3. 染色評価

ホルマリン固定後のパラフィン包埋ブロックを用いて作製された免疫染色標本の評価を再度行った。染色性の均一化と再現性を担保するために推奨プロトコールに従って自動免疫染色装置（VENTANA BenchMark ULTRA）を使用し、以下のモノクローナル抗体を用いて作製されている。一次抗体：抗 CD3 抗体（2GV6，Ventana Medical System，Tuscon，AZ，USA，希釈済み），抗 CD5 抗体（4C7，Novocartra，Newcastle-upon-Tyne，1：100），抗 CD10 抗体（SP67，Ventana Medical System，希釈済み），抗 CD20 抗体（L26，Ventana Medical System，希釈済み），抗 CD21 抗体（2G9，Ventana Medical System，希釈済み），抗 BCL2 抗体（124，Dako，Glostrup，Denmark，1：25），抗 Ki67 抗体（MIB-1，Dako，1：100）。

免疫染色標本では、濾胞を構成する腫瘍細胞および絨毛内に浸潤増殖する腫瘍細胞が CD20 陽性の B 細胞由来であることを確認した。同時に CD3 陽性かつ CD5 陽性の非腫瘍性 T 細胞の分布を確認した。B 細胞由来が確認できた腫瘍細胞は CD10 陽性の胚中心由来細胞であることを確認し、さらに腫瘍性胚中心であることの確認として抗アポトーシスに関わる BCL2 染色が陽性となることを確認した。また慢性リンパ性白血病 / 小リンパ球性リンパ腫およびマントル細胞リンパ腫を除外するために腫瘍細胞が CD5 陰性であることを確認した。さらに Ki67 染色において腫瘍細胞の細胞増殖能を評価した。

続いて CD21 染色で FDCs の同定と分布の確認を行った。FDCs は核小体を持つ淡明な類円形ないし短紡錘形の核を持つ細胞であり CD21 染色で同定できる。

FDCs は非腫瘍性胚中心や NFL における腫瘍性胚中心においてはネットワークを形成して分布するのに対して、DFL においては高確率にネットワーク形成を欠き濾胞の辺縁に存在する（"Duodenal pattern"）ことが特徴とされる<sup>7)</sup>。この FDCs の Duodenal pattern での分布様式は DFL と NFL を鑑別するうえで有用な所見とされる。

#### 4. 組織学的形質転換（HT）の評価

HT を以下の 3 つを満たすものと定義し、HT の有無を評価した。① HE 染色標本での腫瘍細胞の大型化（中心芽細胞のシート状の増殖と小型の中心細胞の消失）、② Ki67 染色標本における腫瘍細胞の高発現化（細胞増殖能の亢進）、③ HE 染色標本および CD21 染色標本での濾胞構造の破壊（びまん性浸潤）<sup>12)13)</sup>。



HE 染色標本および免疫染色標本の評価は病理専門医（ E.S および K.S ）および筆頭著者（ S.M ）が行った。

## 5. Fluorescence in situ hybridization （ FISH ）

2 症例において t(14;18)(q32;q21)/IGH-BCL2 の確認のため以下の FISH を施行し診断の信頼性を担保した。ホルマリン固定後のパラフィン包埋ブロックから標本作製しキシレンにより脱パラフィンを行い、段階的にエタノールで親水化し、98℃に加熱処理、ペプシンによりタンパク質分解、FISH probe（Vysis LSI IGH/BCL2 dual color, dual fusion translocation probe, 05J71-001; Abbott, Chicago, IL, U.S. ）と37℃で1晩ハイブリダイゼーションした。4'6-diamino-2-phenylindole（DAPI）で染色を行ったスライドは4℃で保管した。BZ-8100 Biozero All-in-one fluorescence microscope（Keyence, Higashi-Yodogawa, Osaka, Japan）を用いて画像取り込みと解析を行った。200細胞以上を計測し1個またはそれ以上の融合シグナルが10%以上の細胞に認められた場合にt(14;18)(q32;q21)/IGH-BCL2陽性と判断した（ Fig.2 ）。

## 6. 倫理指針

本研究は昭和大学医学部「人を対象とする研究等に関する倫理委員会」での承認（2018年，承認番号2766）および聖路加国際大学研究倫理審査委員会での承認（2019年，整理番号 18-R187）を得ている。

## 結果

十二指腸・小腸生検により FL と診断された37症例のうち、CS II期以上だった11症例、CT 検査を行っておらず病期判定が不十分と考えられた 3 症例、既に NFLと診断されている 3 症例を除外した。条件を満たしてDFLとして対象とした症例は20症例だった。FISH 検査を行った症例は 2 症例（Case No.10 および No.14）で、2 症例ともに t(14;18)(q32;q21)/IGH-BCL2 を認めた。20症例の特徴と臨床経過の概略をそれぞれ Table 1 と Table 2 に示す。

診断時の年齢の中央値は 64.5 歳（範囲：42歳～80歳）だった。男性が13症例（65%）に対し女性は 7 症例（35%）だった。ヘモグロビン値は19例（95%）が 12 mg/dl 以上で、1 例（5%）のみ 12 mg/dl 未満だった。血清 LDH 値は20例すべてで基準値範囲内だった（100%）。血清 s-IL-2R 値は19例（95%）で基準値範囲内であり、1 症例（5%）で基準値を超えていた。FLIPI は19症例（95%）が low risk であり、1 症例（5%）が intermediate risk だった。内視鏡検査を行った理由に関しては、11症例（55%）が検診時の偶発的なもの、5 症例（25%）が消化器症状の精査によるもの、3 症例（15%）が他の消化器疾患のフォローアップによるもの、1 症例が鉄欠乏症の精査によるものだった。診断時の Histological grade は20症例全例で Grade 1-2 だった（100%）。20症例全例で Duodenal pattern の FDCs 分布を示した（100%）。

全症例における上部消化管内視鏡検査での組織診断の総回数は87回だった。1症例あたりの組織診断の総回数の中央値は4回（範囲：1回～16回）だった。20症例のうち再生検を施行している症例は17症例（85%）であり，その中で初診時と異なる部位から生検をされた症例はなかった。初診時に下部消化管内視鏡検査での生検が行われた症例は2症例あり（Case No.9 および No.17），いずれも組織学的に濾胞性リンパ腫が認められた（いずれも回腸病変で Histological grade は Grade 1-2）。初診時に小腸バルーン内視鏡検査で生検が行われた症例は5症例だった（Case No. 2，No.3, No.5, No.8および No.18）。そのうち3症例においては小腸においても組織学的に濾胞性リンパ腫が認められた（Case No. 3，No.5および No.18，Histological grade はいずれも Grade 1-2）。小腸カプセル内視鏡検査が行われた症例は2症例でそのうちの1症例では病変は認められず，もう1症例においては小腸に白色調のポリープ病変が認められた。骨髓検査が行われた症例は14例（70%）だった。骨髓浸潤を認めた症例は確認されなかった。FDG-PET/CT検査が行われた症例は12症例（60%）だった。リンパ節への集積が認められた症例は確認されなかった。ガリウムシンチグラフィ検査が行われた症例は4症例（20%）だった。リンパ節への集積が認められた症例は確認されなかった。

臨床的な観察期間は中央値56か月（範囲：12か月～147か月）だった。組織学的な観察期間の中央値は34か月（範囲：0か月～125か月）だった。

治療に関しては無治療経過観察のみだった症例が15症例（75%）だった。

Rituximab と多剤併用化学療法が行われた症例が2症例（10%）あった。このうち

1 症例（Case No.2）においては病変が消失しその後のフォローアップにおいても再発は認められず、もう 1 症例（Case No.5）においては病変が一時消失したものの、その後に十二指腸に再発した。再発時の Histological grade は Grade 1-2 であり、その後は無治療経過観察となったがその後のフォローアップにおいても HT および CS progression は認められなかった。Rituximab と多剤併用化学療法に続いて Rituximab 単剤療法が行われた症例が 1 症例あった（Case No.18）。治療後に病変は消失し、フォローアップにおいても再発は認められなかった。Rituximab 単剤療法が行われた症例が 1 例（5%）あった（Case No.3）。治療によっても病変は消失せず残存し無治療経過観察となったが、その後のフォローアップにおいて HT および CS progression は認められなかった。その他に、他施設で治療が行われ、対象施設では内視鏡検査や画像検査のフォローアップが行われたために治療内容が不詳だった症例が 1 症例（5%）あった（Case No.8）。この症例も病変は残存し続けたが HT および CS progression は認められなかった。

全症例において経過中に HT が認められた症例は確認されなかった。また CS progression が認められた症例は確認されなかった。

## 考察

FL は代表的な低悪性度 B 細胞リンパ腫であり、一般に緩徐な進行を示す。しかし、FL は診断時に進行期（CS III・IV期）であることが多く、化学療法によっ

て反応が得られても再発を繰り返すことが多く、経過中に HT を起こすことで生命予後に影響を与える。

NFLの治療に関しては進行期と限局期では方針が異なる。進行期のNFLでは Group d'Etude des Lymphomes Folliculaires (GELF) の高腫瘍量の規準や British National Lymphoma Investigation (BNLI) の規準に従って化学療法 of 適応の判断がされることが一般的となっている。一方で、限局期 (CS I・II期) のNFLにおいては放射線治療や化学療法により完治が見込める可能性が比較的高いため、積極的な治療が推奨されている。一方で DFL の治療に関しては、HT のリスクが低いとされ、無治療経過観察を勧める報告は多いが<sup>4)14)15)16)</sup>、現状では標準治療は確立されておらず、NFLに準じた治療が行われることがある。DFLの HT のリスクが極めて低い、ないしは起こりえない (生命予後に影響を与えない) のであれば、DFLにおいてNFLに準じて治療を行うことは過剰な治療である可能性がある。DFLの HT のリスクを明らかにすることは、不必要な治療を避けることができる可能性があり、DFLの診療において重要な意義を持つ。

DFLの HT のリスクを評価するために、過去の報告症例を参照する際には、対象とする症例の定義に注意する必要がある。十二指腸を病変とする FL の報告は2000年の Yoshino らの報告<sup>17)</sup>に端を発し、2008年に造血器腫瘍 WHO 分類第4版においては “ Primary intestinal follicular lymphoma ” として記載された<sup>18)</sup>。さらにその後、胃や大腸を原発とする FL と異なり AID の発現を欠くこと<sup>6)</sup>や遺伝子発現において粘膜関連リンパ組織型節外性辺縁帯リンパ腫と共通した特徴を有することが

わかり<sup>5)</sup>，それらにより自然史も異なることが示唆され，2017年の造血器腫瘍

WHO 分類第4版改訂版において“Duodenal-type follicular lymphoma”として記載された<sup>4)</sup>．そのため過去の文献を参照する際には十二指腸のFL症例が必ずしも現在の“Duodenal-type follicular lymphoma”を指すとは限らず，特にNFLの十二指腸・小腸浸潤の症例を含んでいる可能性があることに注意が必要である．腸間膜リンパ節に病変を持つNFLでは隣接する消化管壁および消化管粘膜に浸潤することがあるが，この場合にはDFLとしての良好な臨床経過を辿る性質を示さないため，

DFL とすべきでないと言われる<sup>4)</sup>．十二指腸・小腸に限局するDFLは消化管リンパ腫 Lugano 分類でCS I期に相当するが，一方で腹腔内リンパ節病変を伴うものもCS II期のDFLとして該当する<sup>4),9)</sup>．しかし，これらと腸間膜リンパ節を原発とするNFLの十二指腸・小腸浸潤症例とを鑑別することは実際には難しい．固有筋層や漿膜に病変がみられる場合にはNFLの浸潤病変と考えられるが，生検検体では粘膜～粘膜下層までの組織の採取がほとんどであり，固有筋層や漿膜の評価は困難である．内視鏡所見（白色顆粒状ポリープ）や組織形態でのFDCsの分布様式の特徴（Duodenal pattern）は鑑別において重要であるがWHO分類第4版改訂版においても明確な定義があるわけではない．Moriらの報告<sup>19)</sup>では，十二指腸に濾胞性リンパ腫が認められた49症例のうち，21症例（43%）は既に全身性のFL病変が同定されており，病期決定の際に内視鏡検査が施行されて見つかった病変であるとされ，しかも病変は小さくCT検査やPET検査では容易に見過ごされてしまうものだったとされる．Sentaniらの報告<sup>20)</sup>においても，十二指腸にFLが認められた26症例

のうち、12症例は Ann Arbor 分類で CS I 期もしくは II 期であるが、14症例は CS III 期もしくは IV 期の進行期だったとされる（後者はリンパ節腫大や体重減少などで FL と診断され、病期決定において十二指腸にも病変が認められた症例がほとんどであるとされる）。

これまでの多数の腸管 FL 症例を対象とした報告で HT に関する記載のあるものを Table 3 に示す<sup>14)19) 21)-23)</sup>。2011年の Takata らの報告<sup>21)</sup>では、上部・下部内視鏡検査で診断された Primary gastrointestinal FL のうち、消化管リンパ腫 Lugano 分類 CS II 2 期および IV 期の症例および Histological grade 3B の症例を除外した 125 症例が対象となっているが、HT を認めた症例はない。同じく 2011年の Schmatz らの報告<sup>14)</sup>では、十二指腸生検で WHO 分類第 4 版の FL の定義を満たす症例のうち、消化管リンパ腫 Lugano 分類 CS II 期および IV 期を除いた 63 症例を対象としているが、HT を認めた症例はない。この 2 つの報告からは消化管の FL において消化管リンパ腫 Lugano 分類 CS I 期では HT のリスクが低いことが示唆され、CS I 期のみを対象とした本研究においても HT が 0 例であった結果と矛盾しないものと考えられる。これは CS I 期のみを対象にすることで NFL の消化管浸潤症例をある程度除外できているためと考える。

症例報告を含め十二指腸の FL で HT を認めた症例を Table 4 に示し<sup>19), 20), 22)-25)</sup>、HT を生じた症例に関して考察する。2016 年の Tari らの報告<sup>22)</sup>では Intestinal FL と診断された 33 症例を無治療経過観察で経過を追っており、2 症例において HT を認めている (Table 4, Case No.6 と No.7)。Case No.7 では十二指腸の

FL と HT を発症した胃病変とで Southern blot hybridization analysis において同一クローンであることを証明している。しかし、この 2 症例はいずれも初診時に消化管リンパ腫 Lugano 分類 CS IV期でリンパ節にも病変を認めており、また HT が確認された病変の部位も十二指腸病変ではない。FDCs 分布のパターンについても不明である。2020年の Saburi らの報告<sup>20)</sup>では十二指腸生検で診断された Duodenal type FL 23 症例を対象としており、2 症例において HT を認めた (Table 4, Case No.10 と No.11)。この 2 症例はいずれも初診時の十二指腸病変の FDCs 分布は Duodenal pattern を示していたが、消化管リンパ腫 Lugano 分類で CS II 2期であり、また HT が認められた病変の部位はそれぞれ十二指腸の third portion と腸管リンパ節であり、初診時の部位 (十二指腸の second portion) と異なっていた。これらの症例はNFLの消化管浸潤の可能性が否定できないものと考えられる。

2010年のMoriらの報告<sup>19)</sup>では、十二指腸検体で診断された FL 症例のうち Lewin らの規準で定義された Primary gastrointestinal lymphoma の定義を満たす27症例を対象としており、1 症例において HT を報告している (Table 4, Case No.2)。この症例は診断時には消化管リンパ腫 Lugano 分類 CS I 期だったものの、診断から 4.7 か月後に頸部リンパ節の生検で HT を認めたとされる。FDCs 分布のパターンに関しては不明である。この他に HT を認めた症例として Table 4 の Case No. 3, No.5, No.8, およびNo.9では初診時の消化管リンパ腫 Lugano 分類 CS I 期ではあるが FDCs の分布パターンに関して不明である。FDCs の Duodenal pattern はDFL とNFLの鑑別、すなわちNFLの消化管浸潤を除外するうえで重要であると考えられ、



対象の20症例すべてに Duodenal pattern が確認できた本研究において HT が生じた症例がなかったことと合致する。

消化管リンパ腫 Lugano 分類 CS I 期でかつ FDCs の Duodenal pattern の分布を確認し HT を報告しているのは Miyata-Takata らの報告<sup>25)</sup> ( Table 4 の Case 4) の症例のみである。この症例では HT を認めた部位も初診時と同じ十二指腸であり、PCR法によって初診時と HT の病変が同一クローンであることを確認している。ただし、初診からわずか6か月後に血液検査で白血球数の増加が認められ、FL の骨髄浸潤が疑われていることはDFLとしては典型的な経過ではない。

先行研究と比較し本研究の特筆すべき点は、単一施設において同一患者において定期的な内視鏡検査・生検を、長期の観察期間（中央値56か月，12～147か月）に渡って行い HT の発生の有無を組織学的に確認していることである。加えて NFLの十二指腸・小腸浸潤を確実に除外するために CS I 期の症例のみを対象にしていることが特徴である。また組織診断においても Duodenal pattern の FDCs の分布を全例で確認している。これらの要素は、年 2-3% というNFLにおける HT の発生頻度を鑑み、DFL における HT という病理組織学的事象の発生頻度を正確に評価するうえで不可欠であると考えられ、種々の先行研究における限定的な観察期間における断続的な臨床的評価によってDFLにおける HT の頻度を評価するものに比し、高い信頼性があると考えられた。

## 結語

十二指腸・小腸生検で FL の診断が得られた場合には、DFLに該当するかを的確に判断する必要がある。DFLの CS I 期 20 症例を長期間にわたって連続的な内視鏡検査によって組織学的変化を評価したところ HT は認めなかった。DFLと判断できる場合には HT のリスクは低く無治療経過観察が望まれ、NFLに準じて治療を行うことは過剰な治療となる可能性がある。

#### 利益相反

本研究に関し開示すべき利益相反はない。

文献

- 1) 中尾眞, 木下朝博, 小松則夫, ほか. 造血器腫瘍診療ガイドライン2018年版. 第2版. 東京: 金原出版; 2018年
- 2) Montoto S, Davies AJ, Matthews J, *et al.* Risk and Clinical Implications of Transformation of Follicular Lymphoma to Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007; 25: 2426-2433.
- 3) 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: 5165-5169.
- 4) SwerdlowSH, Campo E, Harris NL, *et al.* WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Revised 4<sup>th</sup> edition, IARC Press, Lyon, 2017.
- 5) Takata K, Tanino M, Ennishi D, *et al.* Duodenal follicular lymphoma: Comprehensive gene expression analysis with insights into pathogenesis. *Cancer Sci.* 2014; 105: 608-615.
- 6) Takata K, Sato Y, Nakamura N, *et al.* Duodenal and nodal follicular lymphomas are distinct: the former lacks activation-induced cytidine deaminase and follicular dendritic cells despite ongoing somatic hypermutations. *Modern Pathol.* 2009; 22: 940-949.

- 7) Takata K, Sato Y, Nakamura N, et al. Duodenal follicular lymphoma lacks AID but express BCCH2 and has memory B-cell characteristics. *Modern Pathol.* 2013; 26: 22-31.
- 8) Solai-Celigny P, Roy P, Colombat P, et al. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Blood.* 2004; 104: 1258-1265.
- 9) Rohatinar A, d'Amore F, Coiffier B, et al. Report on a work shop convened to discuss the pathological and staging classification of gastrointestinal tract lymphoma. *Ann Oncol.* 1994; 5: 397-400.
- 10) Tsuyama N, Yokoyama M, Fujisaki J, et al. Villous colonization (glove balloon sign): A histopathological diagnostic marker for follicular lymphomas with duodenal involvement including duodenal-type follicular lymphoma. *Pathol Int.* 2019; 69: 48-50.
- 11) 中村栄男, 大島孝一, 竹内賢吾, ほか. リンパ腫アトラス. 5版. 東京: 文光堂; 2018年.
- 12) Shiozawa E, Yamochi-Onizuka T, Yamochi T, et al. Disappearance of CD21-positive Follicular Dendritic Cells Preceding the Transformation of Follicular lymphoma: Immunohistological Study of the Transformation Using CD21, p53, Ki67, and P-glycoprotein. *Pathol. Res. Pract.* 2003; 199: 293-302.

- 13) Hans CP, Weisenburger DD, Vose JM, et al. A significant diffuse component predicts for inferior survival in grade 3 follicular lymphoma, but cytologic do not predict survival. *Blood*. 2003; 101: 2363-2367.
- 14) Schmatz AI, Strebel B, Kretschmer-Chott E, *et al*. Primary follicular lymphoma of the duodenum is a distinct mucosal/submucosal variant of follicular lymphoma: a retrospective study of 63 cases. *J Clin Oncol*. 2011; 29: 1445-1451.
- 15) Tari A, Kitadai Y, Mouri R, et al. Watch-and-wait policy versus rituximab-combined chemotherapy in Japanese patients with intestinal follicular lymphoma. *J Gastroenterol and Hapatol*. 2018; 33:1461-146.
- 16) Marks ED, Shi Y. Duodenal-Type Follicular lymphoma A Clinicopathologic Review. *Arch Pathol Lab Med*. 2018; 142: 542-547
- 17) Yoshino T, Miyake K, Icimura K, et al. Increased Incidence of Follicular Lymphoma in the Duodenum. *Am J Surg Pathol*. 2000; 24: 688-693.
- 18) SwerdlowSH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 4<sup>th</sup> edition, IARC Press, Lyon, 2008.
- 19) Mori M, Kobayashi Y, Maeshima AM, *et al*. The indolent course and high incidence of t(14;18) in primary duodenal follicular lymphoma. *Ann Oncol*. 2010; 21: 1500-1505.

- 20) Sentani K, Miyagi-Maeshima A, Nomoto J, et al. Follicular Lymphoma of the Duodenum: A Clinicopathologic Analysis of 26 Cases. *Jpn J Clin Oncol.* 2008; 38(8): 547-552.
- 21) Takata K, Okada H, Ohmiya N, et al. Primary gastrointestinal follicular lymphoma involving the duodenal second portion is a distinct entity: A multicenter, retrospective analysis in Japan, *Cancer Sci.* 2011; 102: 1532-1536.
- 22) Tari A, Asaoku H, Takata K, *et al.* The role of "watch and wait" in intestinal follicular lymphoma in rituximab era. *Scand J Gastroenterology.* 2016; 51: 321-328.
- 23) Saburi M, Kondo Y, Ogata M, et al. Development of diffuse large B-cell lymphoma from duodenal type follicular lymphoma: a retrospective study of 23 cases. *Int. J Hematol.* 2020; 112: 658-665.
- 24) Hangai S, Nakamura F, Kamikubo Y, et al. Primary gastrointestinal follicular lymphoma with histological transformation. *Ann Hematol.* 2013; 92: 993-994.
- 25) Miyata-Takata T, Takata K, Sato Y, *et al.* A case of diffuse large B-cell lymphoma transformed from primary duodenal follicular lymphoma. *Pathol Int.* 2014; 64: 527-532.
- 26) Akiyama S, Izutsu K, Ota Y, *et al.* A case report of the histologic transformation of primary follicular lymphoma of the duodenum. *Medicine,* 2014; 93: e165-168.

- 27) Kitabatake H, Nagaya T, Tanaka N, *et al.* Development of diffuse large B-cell lymphoma from follicular lymphoma of the duodenum: changes in endoscopic findings during a 6-year follow-up. *Clin J Gastroenterol.* 2017; 10: 79-85.
- 28) Tanigawa T, Abe R, Kato J, *et al.* Histological transformation in duodenal-type follicular lymphoma: a case report and review of the literature. *Oncotarget.* 2019; 10: 3424-3429.

Long-term follow-up study with pathological analysis of histological transformation in duodenal-type follicular lymphoma

So Murai 1, Eisuke Shiozawa 1, Koyu Suzuki 2, Yosuke Sasaki 1, Mayumi Homma 1, Masafumi Takimoto 1, Toshiko Yamochi 1

1. Department of Pathology, Showa University School of Medicine

2. Department of Pathology, St. Luke's International Hospital

Background: Follicular lymphoma (FL) is a low-grade B-cell lymphoma that generally exhibits an indolent clinical course, but histological transformation (HT) makes prognosis poor. Duodenal-type follicular lymphoma (DFL) is a variant of FL, newly listed in the classification by the World Health Organization, 2017. Although the risk of HT in DFL is low, there has been few reports about its occurrence. Further studies on the incidence of HT in DFL will give valuable information for developing treatment strategies.

Objective: We followed up with patients with DFL for a long time and examined the intestinal biopsy specimens to detect histological changes and to study the incidence of HT in DFL.



Methods: We studied 20 patients with FL in the duodenum or small intestine, and those with stage I FL of the Lugano classification. Immunohistochemistry and morphology of the specimens were studied by hematoxylin-eosin staining specimen.

Results: Histological grade of FL at diagnosis was Grade 1-2 for all. The median follow-up period was 56 months (range: 12 months to 147 months). No patients showed clinical progression or HT.

Conclusions: We detected very low incidence of HT in DFL. Although the patients number studied are small, treatment for nodal FL may be unnecessary and even harmful in patients diagnosed with DFL.

Keyword: duodenal-type follicular lymphoma, histological transformation, long-term follow-up, immunohistochemistry, gastrointestinal tissue

## 図表説明

Fig.1\_Duodenal-type follicular lymphoma (DFL). The presented case is the Case No.12 in

Table 2. (A) Hematoxylin-eosin (HE) stain shows follicles are present in the mucosa and

lymphocytes are infiltrating in lamina propria of the villi (objective, 4x), (B) HE stain

shows most of the cells in the follicles are centrocytes. (objective, 40 x)

(C) shows CD20-positive B cells are seen in both follicles and the lamina propria of the

villi. (objective, 4x)

(D) shows CD3-positive T cells are mainly seen in extrafollicular. (objective, 4x)

The lymphocytes in the follicles and in the lamina propria of the villi are positive for

CD10 (E) and BCL2 (F). (objective, 4x)

(G) shows the expression of Ki67 is low. (objective, 4x)

(H) shows CD21-positive follicular dendritic cells are located in the periphery of the

follicle. (objective, 4x)

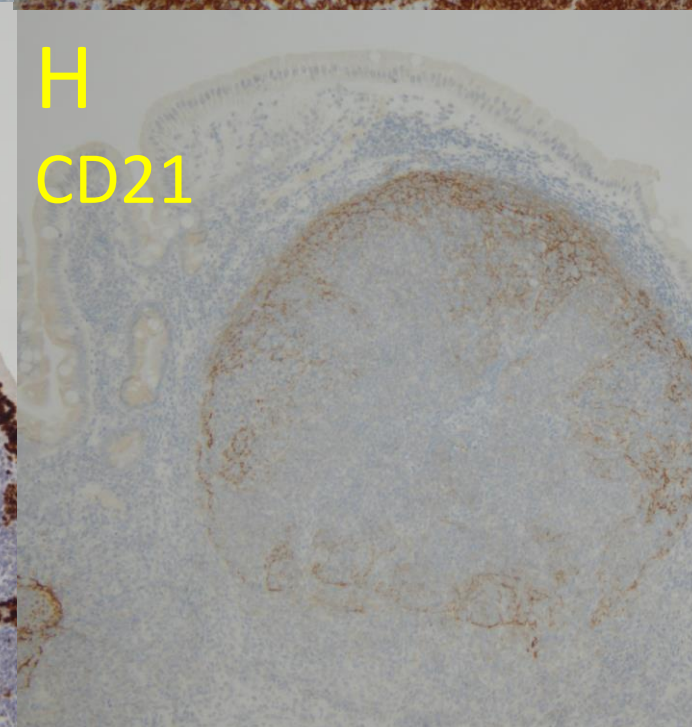
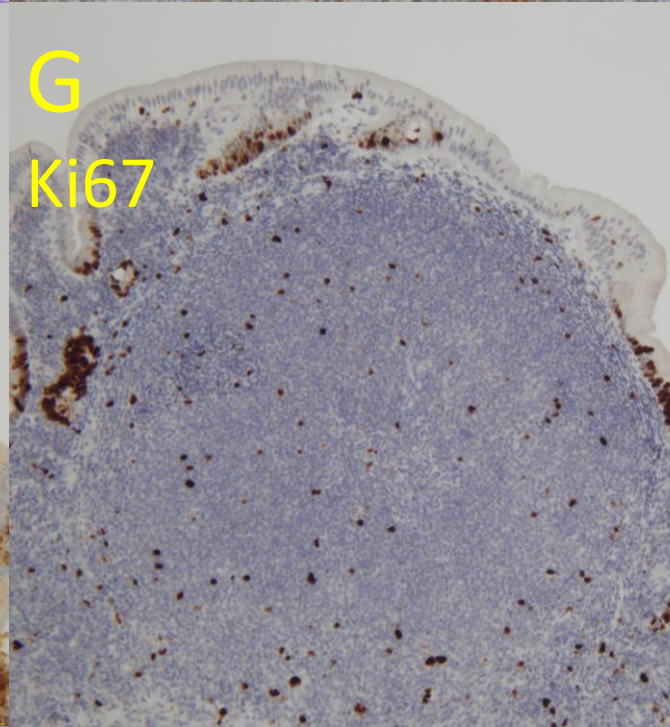
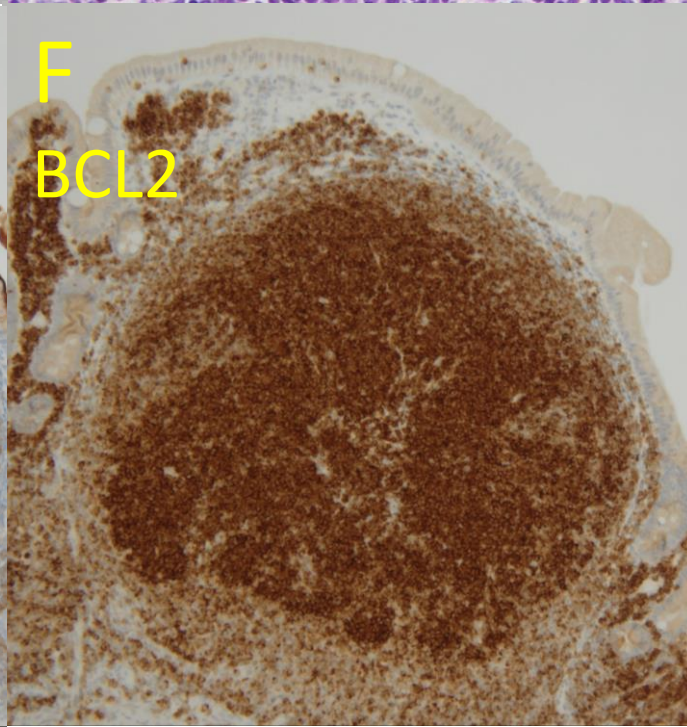
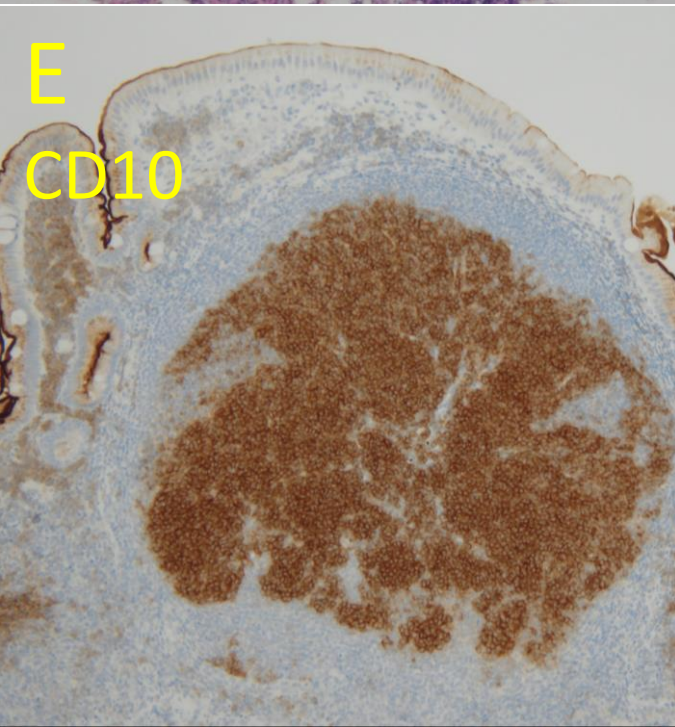
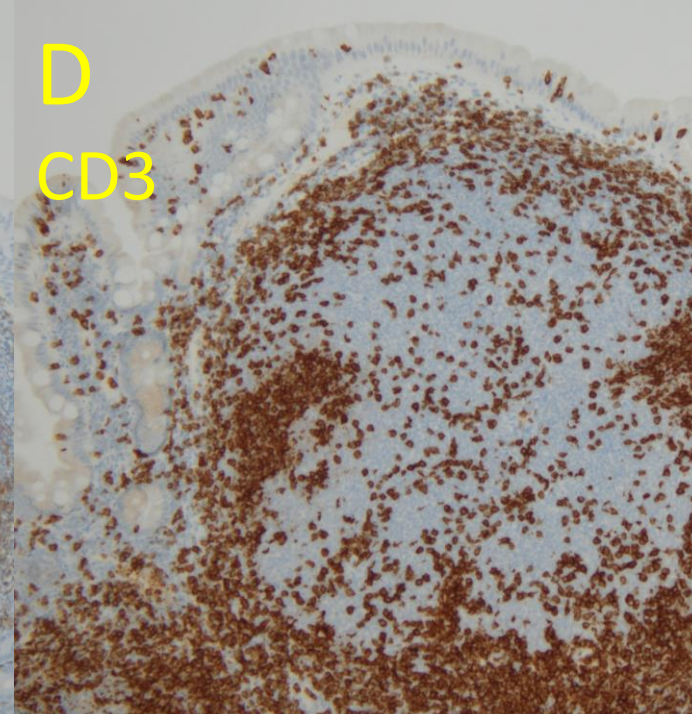
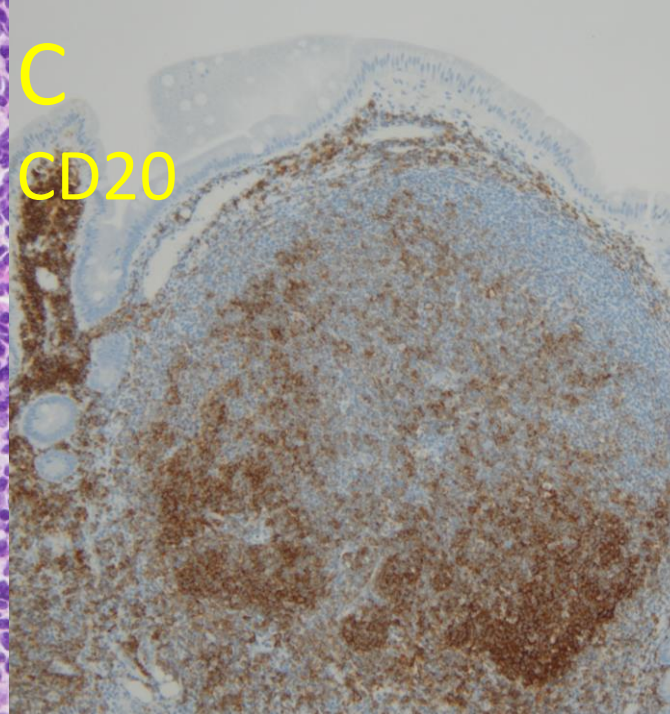
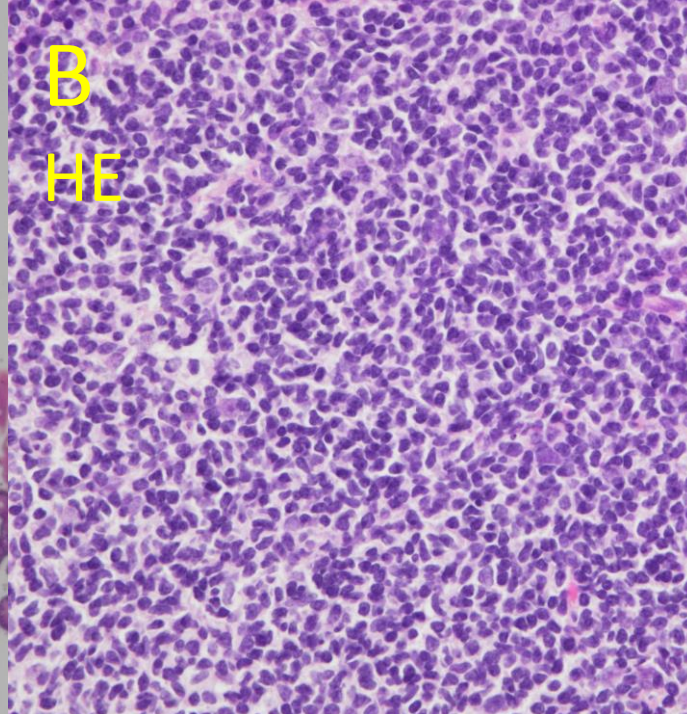
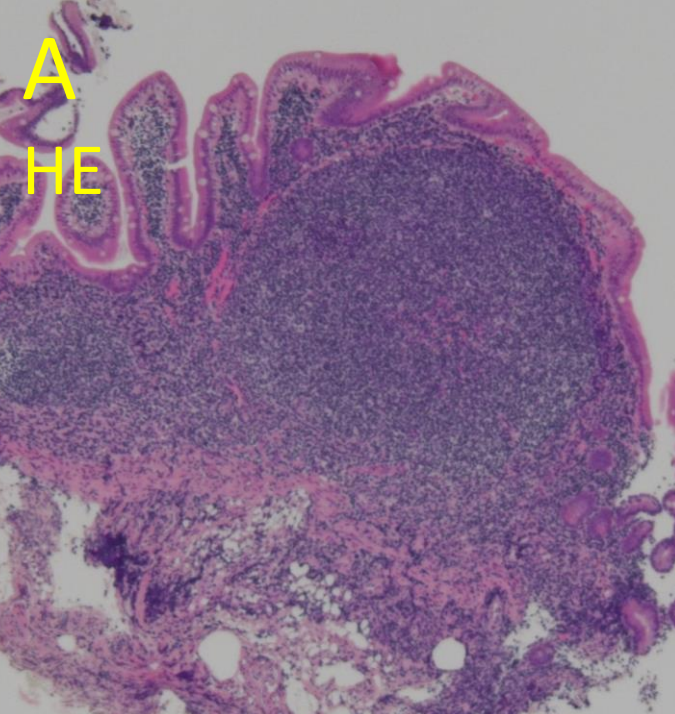
Fig.2 Dual color fluorescence in -situ hybridization (FISH) with probe IGH (14q32) and

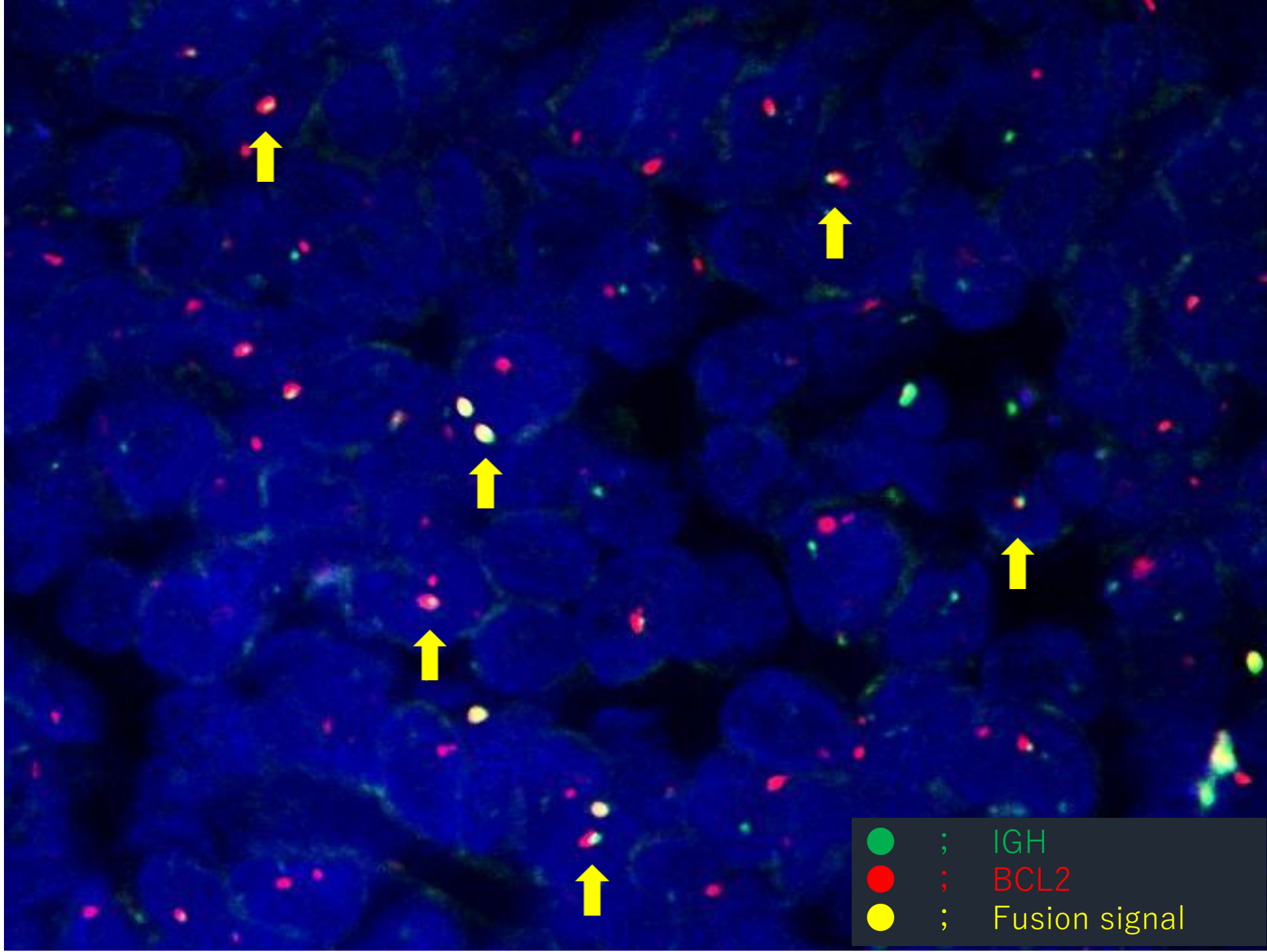
BCL2 (18q21) demonstrates the presence of a IGH-BCL2 fusion resulting from 14:18

translocation; The presented case is the Case No.14 in Table 2. the cells have a yellow

signal or overlapping green (IGH)/red (BCL2) signal, consistent with presence of IGH-

BCL2 fusion.





**Table 1** Characteristics of patients

Age (y), median (range)	64.5 (42-80)
Sex	
Male	13 (65%)
Female	7 (35%)
Hemoglobin	
$\geq 12$ mg/dl	19 (95%)
<12mg/dl	1(5%)
LDH	
Normal	20 (100%)
Elevated	0 (0%)
Soluble interleukin-2 receptor	
Normal	19 (95%)
Elevated	1 (5%)
FLIPI	
low	19 (95%)
intermediate	1 (5%)
Endoscopic examination	
Occasion at diagnosis	
Medical check-up	11 (55%)
Examination for digestive symptom	5 (25%)
Follow up of digestive tract disorder	3 (15%)
Examination for iron deficiency	1 (5%)
Histological grade at diagnosis	
Grade 1-2	20 (100%)
FDS <sub>c</sub> pattern	
Duodenal-pattern	20 (100%)
Histological examination (biopsy)	
EGD	87
colonoscopy	2
DBE	4
Bone marrow biopsy	14 (70%)
Imaging examination	
contrast enhanced CT	20 (100%)
FDG-PET/CT	12 (60%)
Galium scintigraphy	4 (20%)
Therapy	
W&W only	15 (75%)
Rituximab + chemotherapy	2 (10%)
Rituximab + chemotherapy →Rituximab	1 (5%)
Rituximab monotherapy	1 (5%)
Unknown	1 (5%)
Outcome	
Histological transformation	0
Clinical stage progression	0

EGD: esophagogastrodeuodenoscopy,

DBE: double-balloon enteroscopy,

VCE: video capsule endoscopy,

CT: computed tomography,

FDG: fluorodeoxyglucose,

PET: positron emission tomography

W&W: watch and wait

**Table 2** Clinical course of patients

Case No.		0	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132	144
1 (78/M)	Therapy	W&W	→	→	→									
	CS	CS I		N.P.	N.P.									
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	absent N.B.	present FL 1-2										
2 (57/M)	Therapy	W&W	→	R-CHOP	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I		N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	absent N.B.	absent N.B.	absent N.B.			absent N.B.		absent N.B.		absent N.B.
3 (64/M)	Therapy	R	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present duodenitis	present duodenitis	present duodenitis	present FL 1-2		
4 (67/M)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present N.B.		present N.B.	present FL 1-2	present duodenitis	present FL 1-2			present FL 1-2			
5 (73/M)	Therapy	R-COP	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	absent /	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2		present duodenitis	present duodenitis	present FL 1-2	present FL 1-2	
6 (65/M)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I				CS I	N.P.							
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	absent N.B.	absent N.B.		present FL 1-2	present N.B.							
7 (50/M)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.											
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2											
8 (42/M)	Therapy	unknown	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I												
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present N.B.	present N.B.	present FL 1-2	present N.B.	present N.B.	present N.B.	present N.B.	present N.B.	present N.B.	
9 (70/F)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.	N.P.										
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present N.B.											
10 (80/M)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.								
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	absent N.B.	present FL 1-2	present duodenitis	present N.B.								
11 (61/F)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I												
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2												
12 (71/F)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I		N.P.	N.P.									
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2									
13 (60/M)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.			N.P.	N.P.	N.P.						
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2		present FL 1-2	present N.B.	present FL 1-2							
14 (65/M)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.						
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present N.B.	present N.B.	present N.B.	present FL 1-2	present FL 1-2							
15 (64/F)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.	N.P.		N.P.								
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2	present FL 1-2									
16 (60/M)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.											
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2											
17 (49/F)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.											
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present FL 1-2											
18 (54/F)	Therapy	R-COP→F	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I												
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	absent N.B.	absent duodenitis	absent N.B.	absent N.B.	absent N.B.	absent N.B.	absent N.B.	absent N.B.	absent N.B.	absent N.B.	absent N.B.	
19 (68/F)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.											
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present N.B.											
20 (68/M)	Therapy	W&W	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CS	CS I	N.P.	N.P.	N.P.	N.P.								
	Endoscopic findings Histological findings	present FL 1-2	present N.B.	present N.B.	present N.B.	present N.B.								

Abbreviations: W&W, watch and wait; R, Rituximab; CHOP, Cyclophosphamide + Doxorubicine + Vincristine + Prednisolone; COP, Cyclophosphamide + Vincristine + Prednisolone; CS, clinical stage; N.P., no progression; FL 1-2, Follicular lymphoma Grade 1-2; N.B., no biopsy

**Table3** Summary of reports associated with histological transformation of duodenal-type follicular lymphoma

Source	No. of Pt	CS	Therapy	No. of HT	Follow up
Mori M, et al. (2010)	27	CS I : 20, II 2: 7	done: 14 W&W: 13	1 0	median 47.9 months (range: 7.7-118.6 months)
Takata K, et al. (2011)	125	CS I : 108, II 1: 17	done: 71 watch and wait: 33	0 0	median 40 months (range: 6-148 months)
Schmatz AI, et al. (2011)	63	CS I : 63	done: 32 W&W: 24	0 0	median 77 months (range: 12-177 months)
Tari A, et al. (2016)	33	CS I : 16, II 2: 7, IV: 10	done: 0 W&W: 33	0 2	median: 45.5 months (range: 13-110 months)
Saburi M, et al. (2020)	23	CS I :11, II 2:7, IV: 1, Unknown: 4	done: 9 W&W: 14	1 1	median 55.2 months (range: 9.6-240 months)

CS: clinical stage, W&W: watch and wait

**Table 4** Cases of histological transformation

Case	Sex	Age	Histological grade	Region of lymphoma at diagnosis	CS at diagnosis	FDCs pattern	Therapy until HT	Time from diagnosis	Region of HT	Special instruction
1 [20]	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	CS I or II (Ann Arbor)	N.D.	N.D.	4 months	Submandibular LN	
2 [19]	N.D.	N.D.	Grade 1	N.D.	CS I	N.D.	Radiation	4.7 months	Cervical LNs	
3 [24]	M	45	Grade 1	Duodenum	CS I	N.D.	-	0 month	Duodenum	HT had occurred at diagnosis.
4 [25]	M	73	Grade 1	Duodenum	CS I	Duodenal	W&W →etoposide →CPA and PSL	62 months	Duodenum	BM involvement was suspected after 6 months from diagnosis. PCR analysis showed same clone.
5 [26]	F	46	N.D.	Duodenum	CS I	N.D.	W&W only	7 years	Right iliac BM	Duodenum and cervical LN were consistent with FL.
6 [22]	F	65	Grade 1	Jejunum ileum	CS IV	N.D.	W&W only	49 months	Ileum	
7 [22]	F	77	Grade 1	Duodenum LN (neck, inguinal)	CS IV	N.D.	W&W only	37 months	Stomach	Southern blot hybridization analysis showed same clone.
8 [27]	M	71	Grade 1	Duodenum (decending portion)	CS I	N.D.	W&W only	6 years	Duodenum (decending portion)	Ileac lesion remained Grade 1. Mesentric LNs enlarged.
9 [28]	M	52	Grade 1	Duodenum (2nd portion) ileum	CS I	N.D.	W&W only	7.6 years	Abdominal tumor	
10 [23]	F	60	Grade 1	Duodenum (2nd portion)	CS II 2	Duodenal	W&W only	21 months	Duodenum (3rd portion)	Second portion's lesion remained Grade 1. Mesentric LNs enlarged.
11 [23]	M	49	Grade 2	Duodenum (2nd portion) jejunum	CS II 2	Duodenal	Rit.	8.3 years	Mesentric LN	

Abbreviations: N.D., not described; M, male; F, female; CS, clinical stage; FDCs, follicular dendritic cells; HT, histological transformation; LN: lymph node; W&W, watch and wait; CPA, cyclophosphamide; PSL, prednisolone; Rit., rituximab; BM, bone marrow