

が14名(8%), HLが32名(19%)であった。移植時点における完全奏効 complete response (CR), 部分奏効 partial response (PR), 化学療法不応, 効果判定検査未施行の割合は, 25%, 45%, 29%, 1%であった。主な結果を表1に示す。また、移植時点における原疾患の状態別および疾患タイプ別の全生存割合 overall survival (OS) を図1に示す。3年再発割合は, indolent 29%, aggressive 31%, MCL 35%, HL 81%と明らかにHLの再発割合が高かった ($p < 0.001$)。さらに3年再発割合について indolent lymphoma である FL と CLL/SLL を比較すると, 14%対46%と統計学的有意差を認めた ($p = 0.04$)。移植後CRを確認したFLあるいはCLL/SLL患者のうち, 微小残存病変 minimal residual disease (MRD) が測定可能な31名について検証した。MRD観察期間中央値25カ月で, 分子学的寛解はFL 15/16名, CLL/SLL 6/15名であった ($p = 0.002$)。分子学的寛解後の再発は認めなかった。多変量解析では, OSは化学療法感受性(ハザード比 hazard ratio; HR = 3.6), HL (HR = 3.5), 急性GVHD (HR = 5.9) が, 無増悪生存割合はHL (HR = 4.2), 急性GVHD (HR = 3.1) が, それぞれ予後不良因子と

してあげられた。HL患者の成績は不良であるが, indolent および aggressive lymphoma 患者の成績は良好であることが前向き臨床試験で示されている。本試験の実施計画書を確認できていないため, 臨床試験の質を正確に評価することは困難だが, 同種移植の多施設共同前向き臨床試験を登録症例数170名の規模で実施したことは, 研究グループとして評価に値する。

Kusumiらは, 悪性リンパ腫に対するミニ移植の成績を報告した²⁾。解析対象は, 1999年から2002年までの期間にミニ移植を受けた indolent lymphoma (FL, 辺縁帯B細胞リンパ腫, SLL, LPL, 皮膚T細胞リンパ腫) 45名, aggressive lymphoma [びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), 末梢T細胞リンパ腫, 非特定 peripheral T-cell lymphoma (PTCL), unspecified, MCL, NK細胞リンパ腫, 未分化大細胞リンパ腫 anaplastic large cell lymphoma (ALCL), 血管免疫芽球T細胞リンパ腫] 58名, highly aggressive lymphoma (リンパ芽球性リンパ腫 lymphoblastic lymphoma; LBL, 成人T細胞白血病/リンパ腫, Burkittリンパ腫) 9名の計112名であった。年齢

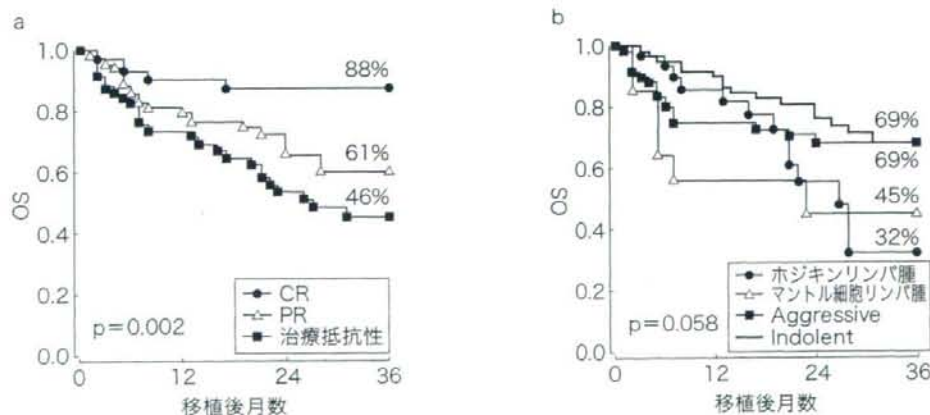


図1 悪性リンパ腫に対するミニ移植の全生存割合 (文献1より改変)

a: 移植時点における原疾患の状態別, b: 疾患タイプ別。

OS: overall survival, CR: complete response, PR: partial response

中央値49歳, 化学療法レジメン数中央値4であり, 自家移植後再発36%, 放射線治療後32%, 移植時化学療法感受性なしの患者が38%を占めた, 主な結果を表1に示す. 疾患タイプ別のOSを図2に示す. 多変量解析にてPFSの不良因子はPS 2~4, 診断から移植までの期間が1年以内, MTXを含まないGVHD予防, aggressive lymphomaであり, 再発/増悪の不良因子は放射線照射歴, 移植時中枢神経浸潤, 0~I度の急性GVHDであった. 悪性リンパ腫に対するミニ移植の後方視的臨床研究としては国内最大規模の本研究について, 悪性リンパ腫に対するミニ移植は治療関連死亡 therapy-related mortality (TRM) を減らし, GVHD発症が移植片対リンパ腫 graft-versus-lymphoma effect (GVL) 効果を誘導するかも知れないと結論づけている.

Stanford 大学から, リンパ系悪性腫瘍および急性白血病に対する全身リンパ節照射 total lymphoid irradiation (TLI) 800 cGy/10 Frおよび抗胸腺細胞グロブリン antithymocyte globulin (ATG) を前処置としたHLA適合血縁あるいは非血縁者間骨髄非破壊の末梢血幹細胞移植の成績が報告された³⁾. Lowsky, Takahashiらが用いた移植

前処置は, TLI 80 cGyを day -11~-7, day -4~-0に施行し, ATG製剤であるThymoglobulin® 1.5mg/kg/dayを day -11~-7に投与するというレジメンであった. ドナーは血縁13名, 非血縁11名であり, リンパ系悪性腫瘍24名の内訳は, MCL 9名, DLBCL 5名, CLLまたは前リンパ球性白血病5名, FL 2名, HL 2名, PTCL 1名であった. 移植時点におけるCR, PR, 腫瘍増悪の割合は, 17%, 75%, 8%であった. 主な結果を表1に示す. 特筆すべきは, 非血縁者移植が46%を占めているにもかかわらず, 過去のミニ移植の臨床研究の中で, II~IV度の急性GVHDの発症頻度が最も低い点である. ATG併用レジメンの場合, GVHDの発症頻度が低下するのは周知の事実だが, 通常の欧米人に用いられるATG投与量より総量として少なくとも, TLIの併用によりGVHD発症頻度を著しく抑えられた. ここまでGVHDを抑制するとGVL効果の減弱が気になるところであるが, 短期的には良好な成績を示している. より多くの対象患者による長期観察の結果が待たれる.

Fred Hutchinsonがん研究センターのBaronらは, 骨髄破壊の造血幹細胞移植後に再発した患者147名に対するミニ移植の成績を報告した⁴⁾.

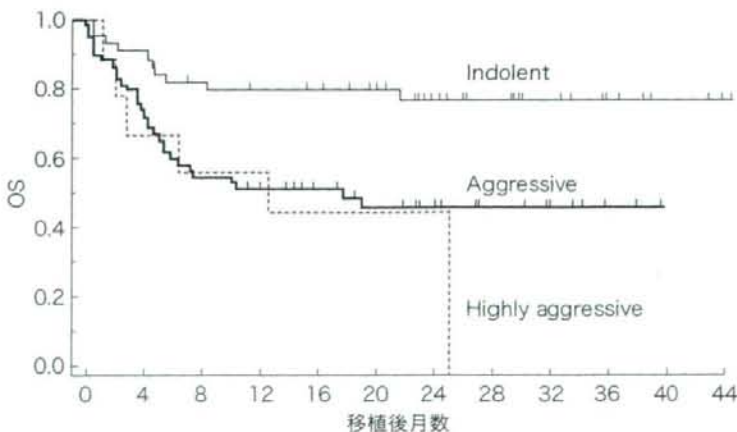


図2 悪性リンパ腫に対するミニ移植の全生存割合 (文献2より改変)

原疾患は悪性リンパ腫85名, 白血病/骨髄異形成症候群/骨髄増殖性疾患40名, 多発性骨髄腫22名であった。初回移植の内訳は自家135名, 同種10名, 同系2名, 再移植の内訳はHLA適合血縁者間62名, 非血縁者間85名であり, 再移植の前処置は全身放射線照射 total body irradiation (TBI) 2 Gy + Flud 136名, TBI 2 Gy単独11名であった。主な結果を表1に示す。再発・再燃の割合はNHLが最も低く, HLおよび多発性骨髄腫が最も高かった。ミニ移植時CR/PRおよびミニ移植後の慢性GVHD発症は, 再発・再燃のリスクが低かった。OSの予後良好因子は, ミニ移植時CR/PR, comorbidityがないこと, ミニ移植後急性GVHD発症がないことであった。再移植の成績は疾患別ではNHLで特に良好であり, 再移植としての非血縁者間移植の成績は血縁者間移植と同等であった。非血縁群はドナーコーディネイト期間を待てるだけの病勢であったことを加味する必要があるが, 非常に良好な成績といえる。

B. 悪性リンパ腫 (全般) に対する 骨髄破壊的同種移植

筆者らは, NHLに対する骨髄破壊的同種移植の多施設共同後方視的臨床研究の結果を報告した⁵⁾。解析対象は, 1990年から2001年までの期間に骨髄破壊的同種移植を受けたindolent lymphoma (FL 37名, MALTリンパ腫1名) 38名, aggressive lymphoma (DLBCL 44名, PTCL, unspecified 22名, 節外性NK/T細胞リンパ腫, 鼻型19名, ALCL 7名, MCL 5名, 他) 111名, LBL 84名, 計233名であった。年齢中央値は31歳, 化学療法レジメン数中央値は3, 17%の患者に自家移植歴があり, 移植時CRは39%であった。HLA適合血縁者間移植は154名(66%), 非血縁者間移植は60名(26%)であり, TBIを含むレジメンは193名(83%), 非TBIレジメンは40名(17%)であった。主な結果を表2に示す。TRMは98名(42%)で, その68%はGVHD関連であった。疾患タイプ別のOSを図3に示す。多変量解析にて, TRMの不

表2 悪性リンパ腫に対する骨髄破壊的同種造血幹細胞移植に関する臨床研究

著者 (発表年, 文献)	患者数	組織型/疾患タイプ	前処置レジメン
Kim (2006) ⁵⁾	233	Indolent, 38 Aggressive, 111 LBL, 84	TBI-containing, 193 Non-TBI, 40
Law (2006) ¹⁸⁾	31	Low grade, 2 Intermediate, 26 High grade, 3	BCNU/VP-16/CY
Aksentijevich (2006) ¹⁹⁾	45	DLBCL	Bu/Cy, 17 Cy/TBI, 22 Bu/Cy/VP-16, 6
Feyler (2007) ²⁰⁾	18	PTCL-NOS, 9 T-cell leukemia/lymphoma, 5 ALCL, 3 Cutaneous TCL, 1	TBI-containing, 6 Non-TBI ± Campath, 12
Wulf (2005) ²¹⁾	10	PTCL, unspecified, 7 AILT, 2 T-PLL, 1	Flud/Bu/CY

(+): 移植時化学療法感受性あり, (-): 移植時化学療法感受性なし

良因子は化学療法抵抗性、自家移植歴、慢性GVHDであり、OSの不良因子は化学療法抵抗性、自家移植歴、放射線治療歴であった。NHLに対する骨髄破壊的同種移植は効果的な治療法であることが示されたが、ミニ移植の導入、GVHD予防の強化、B細胞リンパ腫に対するrituximab (R) やradioimmunoconjugateの併用などによって、TRMや再発を減らす必要があると考える。

C. 濾胞性リンパ腫に対するミニ移植

MD Andersonがんセンター (MDACC) のKhouriらは、化学療法感受性のある再発FLに対する大量Rを併用した自家移植およびミニ移植の成績を報告した⁶⁾。自家移植群21名はCy/TBI/大量R (8名)あるいはBCNU/VP-16/cytarabine/melphalan (BEAM)/大量R (13名)を、ミニ移植群47名はFlud/Cy/大量Rをそれぞれ受けた。大量Rの投与スケジュールは、移植前 (自家移植の場合、採取のための救済化学療法開始前日および

day 7)の2回投与 (初回は375mg/m², 2回目は1000mg/m²)と移植後の2回投与 (day 1および8に1000mg/m²/回)であった。HLA適合同胞がいなければ自家移植、いればミニ移植を選択した。両群とも年齢中央値53歳など患者背景に差はなかったが、同種移植群は第2再発期以降の割合と化学療法レジメン数4以上の割合が高く、自家移植後再発患者が17%含まれていた。自家移植およびミニ移植の3年OS, 3年無病生存割合disease-free survival (DFS), 再発/増悪割合は、84%対84%, 84%対85%, 5%対3%であった。死因は、自家移植では二次性白血病2名、ウイルス脳炎1名であったが、ミニ移植では急性GVHD 2名、慢性GVHD 2名、不明1名であった。大量Rを併用したミニ移植は自家移植と同等の安全性と有効性が確認されたが、さらに長期のOS, PFS, PDの成績についても注目したい。ランダム化臨床試験の実施が望まれる。

幹細胞ソース	観察期間 中央値	DFS/PFS	OS	急性GVHD II~IV度	慢性 GVHD	TRM	再発/ 増悪
BM, 159 PBSC, 70 Others, 4	31カ月	36% @5y	39% @5y	39%	48%	42%	21%
PBSC, 27 BM, 4	11.5カ月	44% @5y	47% @5y	29%	39%	31%	29%
BM, T細胞除去	51カ月	(+) 53% @3y (-) 6% @3y	(+) 52% @3y (-) 12% @3y	38% (I~IV)	24%	51%	(+) 30% (-) 75%
PBSC or BM	57カ月	33% @3y	39% @3y	33%	17%	39%	28%
PBSC	7カ月			40%	50%	30%	20%

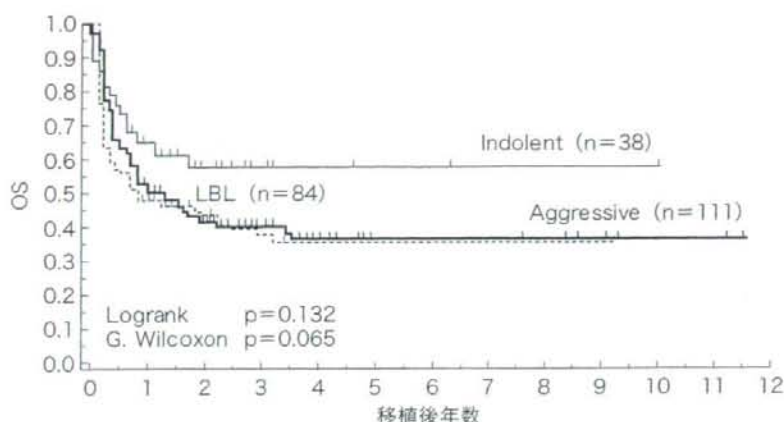


図3 悪性リンパ腫に対する骨髄破壊的同種造血幹細胞移植の全生存割合
LBL: lymphoblastic lymphoma (文献5より改変)

D. ホジキンリンパ腫に対するミニ移植

英国のPeggsらは、再発HL49名に対するミニ移植の成績を報告した⁷⁾。前処置はFlud/Mel 140mg/m²/Alemtuzumab, GVHD予防はCSPであった。ドナーは血縁31名と非血縁18名であった。自家移植後に再発・再燃した患者が90%を占め、移植時の原疾患の状態はCRまたはCRu 16%, PR 51%, 不応31%, 効果判定未施行2%であった。年齢中央値32歳, レジメン数中央値5, 診断から同種移植までの期間中央値4.8年, 自家移植から同種移植までの期間中央値2.3年であった。ドナーリンパ球輸注 donor lymphocyte infusion (DLI) 未施行の時点でのII~IV度の急性GVHD発症頻度は16%, 慢性GVHDは14%であった。移植後3カ月以降に残存あるいは増悪した病変を有する16名に対してDLIを施行したところ, DLI後の奏効9名(56%) (CR8名, PR1名), 急性GVHD 6名(38%), 慢性GVHD 5名であった。2年NRM 16% (血縁7%, 非血縁34%, p=0.0206)。過去のHLに対する骨髄破壊的同種移植のNRMよりも明らかに低かった。II~IV度の

急性GVHDまたは全身型慢性GVHDを発症した患者は, 0~I度の急性GVHDまたは限局型慢性GVHDを発症した患者と比べて再発が少ない傾向があった(20%対50%, p=0.3263)。4年OS 56% (血縁62%, 非血縁45%), current PFS 39% (血縁42%, 非血縁34%)。移植時のdisease statusごとのOSは移植時CRまたはCRu 100%, PR 51%, 不応36% (p=0.0398)。移植時の原疾患の状態ごとのcurrent PFSは移植時CRまたはCRu 83%, PR 34%, 不応22% (p=0.0389)であった。Peggsらは, 血縁者間移植ではNRMのリスクが低いので, [¹⁸F] FDG-PET/CTも導入した上で, より早期に同種移植を試みることを提案している。

CIBMTR からHL 146名に対するHLA適合非血縁者間ミニ移植の成績が報告された⁸⁾。レジメン数中央値3, 自家移植後89%, 化学療法感受性なし51%のHL患者に対し, reduced-intensity conditioning (65%)あるいはnonmyeloablative conditioning (35%)を用いた。主な結果を表1に示す。節外病変およびKarnofsky performance status < 90%がTRMのリスク因子であった。移植前処置の強度とTRM, 再発, PFS, OS, 死亡

との関連はなく、化学療法感受性と再発との関連もなかった。著者のDevettenらは、高リスクHLであることを考慮すると、本研究のTRMは許容範囲内であり、移植後2年以降の再発がほとんどないことは重要な知見としている。

E. Radioimmunotherapyを併用したミニ移植

B細胞リンパ腫に対するキメラ型抗CD20抗体 rituximabの臨床的有用性は確立されている。加えて、抗CD20 radioimmunoconjugateに関する研究も精力的に進められてきた。radioimmunoconjugateは非標識抗体を上回る抗腫瘍効果を有し、今後の発展が大いに期待される分野である。自家移植や同種移植の前処置としてradioimmunoconjugateを用いた報告も始めている⁹⁾。

シアトルからミニ移植における⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetanの臨床第II相試験の成績が報告された¹⁰⁾。前処置レジメンは、Zevalin 0.4mCi/kg (day -14), Flud 30mg/m² (day -7~-5), TBI 2Gy (day 0)であった。ドナーはHLA適合の血縁8名と非血縁6名であった。患者背景は、年齢中央値57歳、レジメン数中央値6、自家移植歴36%、化学療法感受性なし100%、LDH高値36%、ベースラインと比べた血球減少57%、25%以上の骨髄浸潤36%であった。主な結果を表1に示す。生着不全はなく、全例においてday 28時点におけるCD3/CD33キメリズム80%以上ドナータイプを達成し、day 100時点におけるNRMもなかった。III度の急性GVHD発症はなく、II度の急性GVHD発症が7名であった。1カ月時点におけるCRは1名、PRは6名、不変は3名であった。原疾患の増悪による死亡は3名、day 100以降のGVHD+感染症による死亡は2名であった。

MDACCからも同様の試験について報告があっ

た¹¹⁾。B細胞リンパ腫患者7名に対し、day-14にZevalin 0.2~0.3 mCi/kgを投与した上で、MDACCが従来から施行しているFlud/Cy/大量Rによるミニ移植が実施された。患者背景は、年齢中央値56歳、CR 1名、PR 5名、化学療法不応1名であった。主な結果を表1に示す。生着不全はなく、早期死亡は2名(原疾患の増悪1名、感染症+GVHD 1名)であった。

その他、MALTリンパ腫からDLBCLへの移行を認めた患者およびMCLの患者に対する同様の試みについて、ドイツのグループから報告されている¹²⁾。

米国FDAでは⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan (⁹⁰Y-Zevalin®) および¹³¹I-tositumomab (¹³¹I-Bexxar®) がすでに承認されており、日本でも⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetanの承認取得が目前である。日本においても、radioimmunoconjugateを前処置とした自家移植や同種移植の安全性と有効性を検証する臨床試験が計画・実施されることが望まれる。

むすび

非ホジキンリンパ腫およびホジキンリンパ腫に対する同種造血幹細胞移植の最近の報告をいくつか紹介した。悪性リンパ腫に対する同種移植の研究は、後方視的臨床研究が大多数を占めており、第II相および第III相前向き臨床試験の報告が極端に少ない。Selection biasを極力排除し、同種移植の至適なタイミングを明らかにする目的で、初期治療あるいは救済化学療法の時点から治療レジメンを規定した、包括的な同種移植の前向き臨床試験が実施されることが望まれる。そのためには、化学療法や抗体療法を専門とする血液内科医、悪性リンパ腫のエキスパートとの連携が不可欠である。また、欧米における一部の臨床試験や厚生科学研究岡村班における成人T細胞白血病/リンパ腫に対するミニ移植臨床試験のように、今後の

臨床試験は疾患タイプあるいは病理組織型ごとに計画されるべきであろう。加えて、移植前処置レジメンやGVHD予防法のみならず、再発時の治療法、再発の高リスク患者に対する移植後補助療法、 ^{18}F FDG-PET/CTを用いた評価法についても、臨床試験によって検証すべきである。

文献

- 1) Corradini P, Doderio A, Farina L, et al. Allogeneic stem cell transplantation following reduced-intensity conditioning can induce durable clinical and molecular remissions in relapsed lymphomas: pre-transplant disease status and histotype heavily influence outcome. *Leukemia*. 2007; 21: 2316-23.
- 2) Kusumi E, Kami M, Kanda Y, et al. Reduced-intensity hematopoietic stem-cell transplantation for malignant lymphoma: a retrospective survey of 112 adult patients in Japan. *Bone Marrow Transplant*. 2005; 36: 205-13.
- 3) Lowsky R, Takahashi T, Liu YP, et al. Protective conditioning for acute graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 2005; 353: 1321-31.
- 4) Baron F, Storb R, Storer BE, et al. Factors associated with outcomes in allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning after failed myeloablative hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 4150-7.
- 5) Kim SW, Tanimoto TE, Hirabayashi N, et al. Myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a nationwide survey in Japan. *Blood*. 2006; 108: 382-9.
- 6) Khouri IF, Saliba RM, Hosing CM, et al. Autologous stem cell (AUTO) vs non-myeloablative allogeneic transplantation (NMT) after high-dose rituximab (HDR)-containing conditioning regimens for relapsed chemosensitive follicular lymphoma (FL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2005; 106: 48.
- 7) Peggs KS, Hunter A, Chopra R, et al. Clinical evidence of a graft-versus-Hodgkin's-lymphoma effect after reduced-intensity allogeneic transplantation. *Lancet*. 2005; 365: 1934-41.
- 8) Devetten MP, Hari P, Carerras J, et al. Unrelated donor nonmyeloablative/reduced intensity (NST/RIC) hematopoietic stem cell transplantation (HCT) for patients with relapsed and refractory Hodgkin's lymphoma (HL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2006; 108: 601.
- 9) Gopal AK, Rajendran JG, Gooley TA, et al. High-dose ^{131}I tositumomab (anti-CD20) radioimmunotherapy and autologous hematopoietic stem-cell transplantation for adults \geq 60 years old with relapsed or refractory B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007; 25: 1396-402.
- 10) Gopal AK, Rajendran JG, Pagel JM, et al. A phase II trial of ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan-based reduced intensity allogeneic peripheral blood stem cell (PBSC) transplantation for relapsed CD20⁺ B-cell non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2006; 108: 316.
- 11) Khouri IF, Saliba RM, Hosing C, et al. Efficacy and safety of yttrium 90 (^{90}Y) ibritumomab tiuxetan in autologous and nonmyeloablative stem cell transplantation (NST) for relapsed non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2006; 108: 315.
- 12) Fietz T, Uharek L, Gentilini C, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation following conditioning with ^{90}Y -ibritumomab-tiuxetan. *Leuk Lymphoma*. 2006; 47: 59-63.
- 13) Khouri IF, Saliba RM, Lee MS, et al. Longer follow-up confirms a low relapse rate after nonmyeloablative allogeneic transplantation (NMT) for non-Hodgkin's lymphoma (NHL), including patients with PET or gallium-avid disease. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2005; 106: 44.
- 14) Thomson KJ, Morris EC, Milligan D, et al. Reduced intensity allogeneic transplantation for non-Hodgkin's lymphoma: extended follow-up of an alemtuzumab-containing regimen. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2005; 106: 401.
- 15) Van Besien K, Carreras J, Zhang MJ, et al. Reduced intensity vs myeloablative conditioning for HLA matched sibling transplantation in follicular lymphoma. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2005; 106: 656.
- 16) Avivi I, Canals C, Taghipour G, et al. Matched unrelated donor stem cell transplantation for

- patients with diffuse large cell B cell lymphoma: a retrospective analysis of 118 patients registered through the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2006; 108: 602.
- 17) Thomson KJ, Peggs KS, Smith P, et al. Improved outcome following reduced intensity allogeneic transplantation in Hodgkin's lymphoma relapsing post-autologous transplantation. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2005; 106: 657.
- 18) Law L, Horning S, Wong R, et al. High-dose carmustine, etoposide, and cyclophosphamide followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation for non-Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006; 12: 703-11.
- 19) Aksentjevich I, Jones R, Ambinder R, et al. Clinical outcome following autologous and allogeneic blood and marrow transplantation for relapsed diffuse large-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006; 12: 965-72.
- 20) Feyler S, Prince HM, Pearce R, et al. The role of high-dose therapy and stem cell rescue in the management of T-cell malignant lymphomas: a BSBMT and ABMTRR study. *Bone Marrow Transplant*. 2007; 40: 443-50.
- 21) Wulf GG, Hasenkamp J, Jung W, et al. Reduced intensity conditioning and allogeneic stem cell transplantation after salvage therapy integrating alemtuzumab for patients with relapsed peripheral T-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant*. 2005; 36: 271-3.

眼付属器原発 MALT リンパ腫

谷本一樹, 金子明博, 鈴木茂伸, 関口直宏,
丸山大, 金成元, 渡辺隆, 小林幸夫,
加賀美芳和, 前島亜希子, 松野吉宏, 飛内賢正

臨床血液 第49巻第1号 別刷

(2008年1月)

眼付属器原発 MALT リンパ腫

谷本一樹¹, 金子明博², 鈴木茂伸², 関口直宏¹,
丸山大¹, 金成元¹, 渡辺隆¹, 小林幸夫¹,
加賀美芳和³, 前島亜希子⁴, 松野吉宏⁴, 飛内賢正¹

Key words: Ocular adnexal MALT lymphoma, MALT lymphoma, Observation, Heterogeneity

1. はじめに

粘膜関連リンパ組織に発生する節外性辺縁帯 B 細胞リンパ腫 (mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) リンパ腫) は、1983 年に Isaacson らにより提唱された疾患群で、その後提唱された REAL 分類および WHO 分類で、独立した疾患群として分類された¹⁻³⁾。MALT リンパ腫は、緩徐な臨床経過を示す低悪性度 B 細胞リンパ腫で、患者の多くが限局性の病変を示すという特徴がある^{4,5)}。眼付属器に発生する悪性リンパ腫は稀であり、節外性リンパ腫の約 8% を占めるといわれており⁶⁾、その多くは MALT リンパ腫である⁷⁻¹²⁾。また、眼付属器に発生するリンパ腫の中で、REAL 分類または WHO 分類で MALT リンパ腫と診断された患者は、他の病理組織型の患者に比べて良好な予後を示すことが知られている⁹⁻¹²⁾。

眼付属器に発生する悪性リンパ腫は、大半が眼球結膜、眼瞼結膜、涙腺、眼窩から発生するもので、これらのいずれか、あるいは複数の部位にリンパ腫病変が認められる。病変の広がりについて、Knowles らは 108 例中 90 例 (83%)、White らは 80 例中 49 例 (61%) が限局性であったと報告しており、限局性の広がり示す患者が多いといえる^{7,8)}。臨床症状としては、病変部の腫脹や眼球突出が主訴になることが多く、その他、眼瞼に腫瘍がある場合などには眼瞼下垂や複視の症状が見られる⁷⁾。涙腺や眼瞼の病変は腫瘤として認識されることが多いが、眼球結膜の病変は多くの場合サーモンピンクの腫瘤性病変を結膜上に確認できる。治療は、多くの患者が限局性の病変を呈することや病理組織学的に MALT リンパ腫が

多いことより、放射線療法が広く行われており、その局所制御効果は 80~100% と良好である¹³⁻¹⁶⁾。また発生部位による治療法、予後に関して詳細な検討の報告は乏しい。

これまでの諸家の報告により、眼付属器 MALT リンパ腫の臨床像はある程度推測することができる。限局性で緩徐な臨床経過をたどり、放射線療法が有効であると思われる。しかし、発症頻度の低い疾患であることや、今までの報告の多くが MALT リンパ腫全体の中での部分的な解析、もしくは眼付属器悪性リンパ腫症例全体の中での部分的な解析のみであり、少数患者での検討が大部分であり、本疾患に限っての検討は十分でない。

今回我々は、単一施設で診療対象となった眼付属器原発 MALT リンパ腫のみの臨床のおよび基礎的な検討を行った。本総説では、自験例の検討結果を中心に、諸家の報告と比較検討しながら本疾患の特徴を述べる。

2. 臨床像

眼付属器原発 MALT リンパ腫は、低悪性度 B 細胞リンパ腫の中の 1 つの独立した疾患単位と認識され、一般的に限局性で緩徐な臨床経過をたどるとされている。しかし、今までの諸家の検討の多くは、眼付属器リンパ腫の中で種々の組織型を一緒に検討しているため、眼付属器原発 MALT リンパ腫のみの検討が少なく、その臨床的特徴は十分に検討されていない。

国立がんセンター中央病院単施設での検討結果を示す¹⁹⁾。1970 年から 2003 年までに、当院で診療された 114 名の患者を後ろ視的に検討した。男性 71 名 (62%)、女性 43 名 (38%) で、年齢中央値 57.5 歳 (15~90)。107 名 (94%) が I/II 期の限局期で、7 名 (6%) が進展期であり、17 名 (15%) が両側性であった。100 名 (88%) が International Prognostic Index (IPI) で低リスクに属した。

¹ 国立がんセンター中央病院 血液内科

² 国立がんセンター中央病院 眼科

³ 国立がんセンター中央病院 放射線治療部

⁴ 国立がんセンター中央病院 臨床検査部

診断後の経過を示す。観察中央値 5.7 年 (0.6 年から 34 年) で全生存期間の中央値は、18.4 年であり、5 年、10 年、15 年での推定全生存割合は、各々 96%、92%、71%であった (Fig. 1)。画像上もしくは診察上で明らかに腫瘍の増大が見られたもの、または他部位への進展を認めたものを増悪と定義すると、無増悪生存期間の中央値は 11 年であり、5 年、10 年、15 年での推定無増悪生存割合は、各々 77%、57%、39%であった (Fig. 1)。

初期治療は、局所放射線照射単独が 58 名 (51%)、化学療法単独が 15 名 (13%)、化学療法と放射線療法の併用が 5 名 (4%)、無治療経過観察が 36 名 (32%)、であった。これら治療群間の全生存割合および無増悪生存割合の比較を示す (Table 1)。これら治療群間で全生存割合に有意差を認めなかった。一方、無増悪生存割合に

ついては、放射線治療群で良好な傾向を認めた。

全生存割合および無増悪生存割合に影響する臨床的予後因子を検討した。全生存割合については、年齢 (60 歳以上か未満か) が有意であったが、病変部位の違いも含めて他に有意な予後因子は認められなかった。無増悪生存割合では有意な因子は認められなかった。本検討では、初期治療に無治療経過観察を行った患者も含めて検討しているため、無治療経過観察群の予後因子解析への影響の可能性を考慮し、即時治療を行った患者に限定して同様の検討を行ったが、有意な予後因子は認められなかった。

観察期間内で 114 名中 13 名 (11%) が死亡した。死因は、3 名が原病の進展であり、他は原病に直接関連しないものであった。具体的には、2 名が膵臓がん、2 名

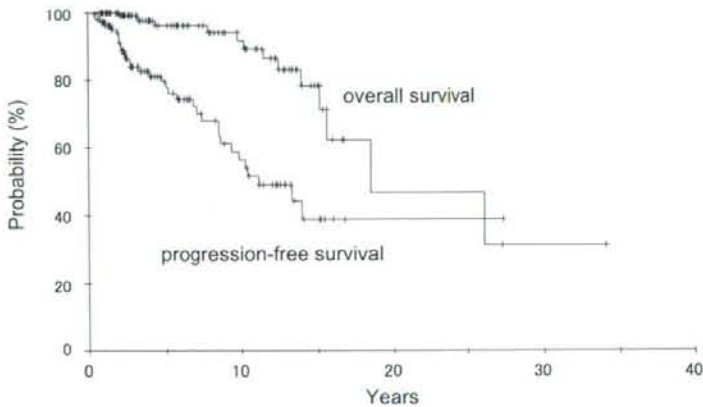


Fig. 1 Overall survival and progression-free survival in all patients with primary ocular adnexal MALT lymphoma. Adapted from Tanimoto et al. with modifications¹⁹⁾.

Table 1 Univariate analysis of initial management affecting overall survival and progression free survival. Adapted from Tanimoto et al. with modifications¹⁹⁾.

therapy	probability (%)			
	10-year overall survival	p-value	10-year progression free survival	p-value
Initial management				
radiation	92.3	0.284	72.2	0.053
chemotherapy	77.1		41.6	
chemotherapy with radiation	100.0		50.0	
observation	93.5		46.1	
radiation containing	93.3	0.091	70.7	0.016
no radiation containing	89.6		45.1	

が肺がん、その他、食道がん、脳梗塞、心不全、腎不全、肺炎、詳細不明が1名ずつであった。また、経過中失明などの重篤な合併症を併発した患者はいなかった。

我々の検討では、多くの患者の病変は限局性であり、IPIも低リスクの患者が大部分であった。この結果は、諸家の報告と同様である^{8-12, 19, 20}。

我々の検討では、多くの患者が緩徐な臨床経過を示し、長期生存が望める結果であった。この結果は諸家の報告とはほぼ同様であった⁸⁻¹⁹。注目すべきは、無治療で長期観察を行った患者のうち、半数弱の患者が増悪したことである。これは、本疾患は緩徐な経過をたどるものの、ゆっくりと増悪することを示しており、一般的な低悪性度リンパ腫の特徴を示していると考えられる。また長期観察により、全生存割合と無増悪生存割合に一定の乖離が認められた。これは、増悪しても、その後の治療によって病勢のコントロールが比較的容易であり、また、有病であっても死亡には至らない患者が多いことを反映していると考えられる。

我々の検討では、初期治療として放射線療法が選択された患者が最も多かったが、約半数の患者で他の治療法が選択された。治療法別の比較では、全生存割合では治療群間の差は認められなかった。一方、無増悪生存割合は、放射線療法群で良好な傾向が認められた。一般的に限局期低悪性度リンパ腫の初期治療は局所放射線療法が標準的なため、これまでの諸家の報告では、放射線療法のみでの検討がほとんどであり、他の治療法との比較検討はほとんど行われていない¹³⁻¹⁸。初期治療の選択には、患者の病状、年齢、年代、担当医の考え方など各種の要因が影響した可能性が示唆されるが、全生存割合において治療法による差を認めなかったことは興味深い。初期治療としては放射線療法が標準的であるが、十分なエビデンスではないものの、病状、患者の希望などを踏まえて無治療経過観察も治療選択肢となりうることを示唆される^{19, 22}。

予後因子は今回の検討では見いだせなかった。諸家の報告でも、予後因子は十分に検討されておらず、眼付属器リンパ腫患者に限定した予後因子は十分に解明されていない。

3. 無治療経過観察

無治療経過観察は、一般的に進行期の低悪性度B細胞リンパ腫、特に濾胞性リンパ腫において許容されている治療選択の一つである^{23, 24}。一方、最近スタンフォード大学より、限局期濾胞性リンパ腫患者においても無治療経過観察が治療選択の一つになりうることを報告された²⁵。眼付属器MALTリンパ腫の放射線治療には白内障、dry eyeなどの合併症があり、濾胞性リンパ腫より

緩徐な経過を示す疾患であることを考慮すると、無治療経過観察が治療選択肢の一つになる可能性があると我々は考えた。

我々が行った無治療経過観察36名の検討結果を示す²²。対象患者は、1973年より2003年までに当院で診断後、3ヶ月以上無治療で経過観察された36名で、これらの患者を後方視的に解析した。年齢中央値63歳(22~84)で全患者がI期(片側31名、両側5名)であった。治療決定の時点で複視や眼球運動異常などの眼症状を有する患者はいなかった。初期治療として無治療経過観察を選択した理由は、患者自身の選択によるものが7名(19%)、医療者側の判断によるものが28名(78%)、1名(3%)が高齢のためであった。特に医療者側の判断の根拠になったものは、症状を有していなかったこと、摘出術で十分もしくは大部分の腫瘍が摘出されていたこと、判断時にはMALTリンパ腫の概念がなく、その当時は良性の可能性も考慮に入れたこと等でであった。観察期間中央値7.1年で17名(47%)が増悪を示したが、増悪した6名を含め25名(69%)が最終観察時点で無治療経過観察を継続中であった。増悪した17名のうち、増悪後に抗腫瘍療法が実施された11名(31%)の診断から抗腫瘍療法開始までの期間の中央値は4.8年であった。6名(17%)が死亡したが、原病による死亡は2名(6%)のみで、内1名で組織学的進展を確認した。臨床的増悪を17名(47%)に認めたが組織学的進展は1名(3%)のみであった。5年、10年、15年の推定全生存割合は94%、94%、71%であった(Fig. 2)。また5年、10年、15年の無治療経過観察可能割合は、80%、63%、57%であった(Fig. 2)。また、無増悪生存割合、無治療経過観察可能割合ともに、年齢、病変部位、切除度などの臨床因子による有意差を認めなかった。また、全生存割合でも同様の結果であった。

今回の検討結果から、限局期の眼付属器MALTリンパ腫の一部の患者においては、無治療経過観察も治療選択の一つとなりうると思われる。われわれの検討では、無治療経過観察を行った患者の約70%が無治療での長期経過観察が可能であった。また、診断後即時放射線療法を受けた患者の全生存割合は劣っていなかった¹³⁻¹⁸。

更に、自施設での114名の検討において、無治療経過観察群と即時治療群との比較を行った¹⁹。全生存割合では両群間に有意差を認めなかった($p=0.499$)(Fig. 3)。無増悪生存割合では、即時治療群で長い傾向を認めたが、有意差は認めなかった($p=0.073$)。

今回の検討では、生存期間、無増悪生存期間ともに、年齢、病変部位、切除度などの臨床因子による有意差を認めなかった。切除度において、完全切除群と部分切除

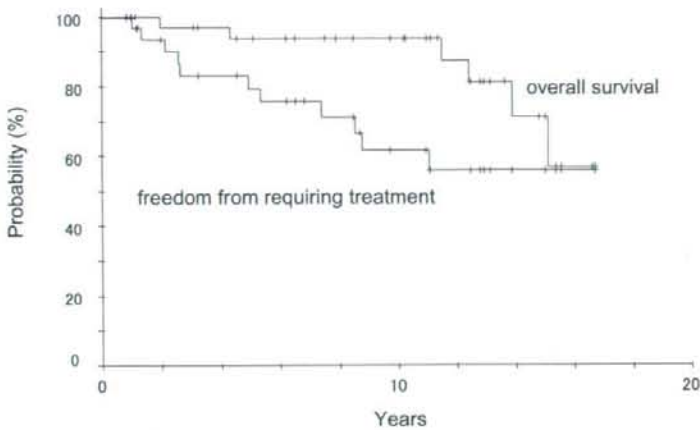


Fig. 2 Overall survival and freedom from requiring treatment in patients who were managed with no initial therapy. Adapted from Tanimoto et al. with modifications²².

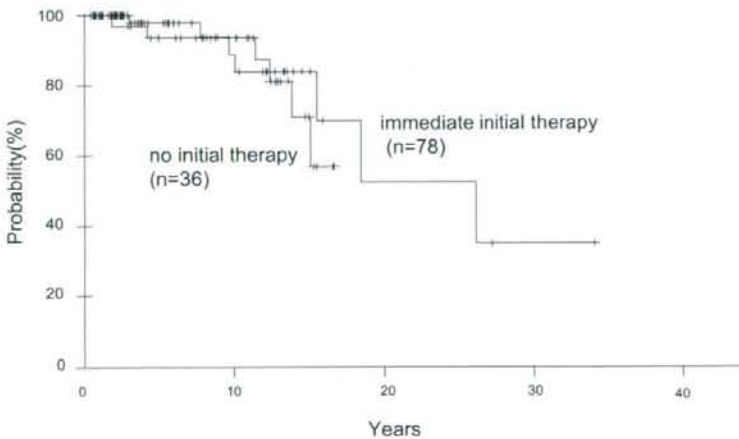


Fig. 3 Overall survival according to their initial treatment: immediate initial therapy cohort versus no initial therapy cohort. Adapted from Tanimoto et al. with modifications¹⁹.

群で生存期間、無治療経過観察可能期間ともに有意差を認めなかったことは興味深い。

我々の検討のほかに無治療経過観察が行われた報告は、結膜に発生した MALT リンパ腫の少数患者での検討のみである²⁶。今回の検討結果は、無治療経過観察が一部の患者において許容しうる治療選択肢の一つであることを示唆する。ただし、今回の検討はあくまでも後方視的な検討であり、無治療経過観察が即時治療に比べて不利益のない選択かどうかは、今後の前方向視的検討により明らかにする必要がある。

4. 染色体異常および病理組織像

MALT リンパ腫では、t(11;18)や t(1;14)、トリソミー 3, 7, 12, 18 などの染色体異常が報告されている²⁷⁻³¹。また IgH 遺伝子と MALT1 遺伝子の融合を生じる t(14;18)(q32;q21)が報告され、最近 t(3;14)(p14;q32)が同様に MALT リンパ腫で認められることが報告された^{32,33}。興味深いことに Streubel らの報告では、これらの染色体転座は、発生臓器ごとに頻度が異なっていた³⁴。t(11;18)は肺、胃に多く見られ、肺では 15 例中 8 例 (53%)、胃

では71例中17例(24%)に認めた。t(14;18)は眼付属器、皮膚、唾液腺に多く見られ、各々37例中9例(24%)、51例中7例(14%)、42例中5例(12%)に認めた。t(1;14)は252例中4例に認め、腸に2例、肺、唾液腺に1例ずつ認めた。一方MALTリンパ腫の病理形態所見の特徴は多彩な腫瘍細胞から構成されることである^{2,3)}。具体的には、中心細胞様細胞(centrocyte like cell)、単球様細胞(monocytoid cell)、小型リンパ球、少数の免疫芽球や中心芽球様細胞(centroblast like cell)が混在しており、種々の程度に形質細胞分化を認めるのが一般的である。それら多様な細胞成分の出現程度は個々の患者で様々とはいえない。これらは、MALTリンパ腫が細胞遺伝学および病理形態学的に多様な集団である可能性を示唆しており、眼付属器原発MALTリンパ腫も同様に多様な集団の可能性があると我々は考えた。

眼付属器原発MALTリンパ腫34名を対象とした我々の検討結果を示す³⁵⁾。染色体異常は、間期核 fluorescence in situ hybridization (FISH)法により検討した。FISH法で染色体転座および染色体数の異常を検出するとともに、病理形態に基づく分類を試みた。さらに、これらの結果と臨床所見との関連を検討した。

染色体異常は、転座はt(14;18)陽性患者の1名(3%)のみで、染色体数の異常として、トリソミー3を21名(62%)に、トリソミー18を16名(47%)に認めた(Table 2)。また病理形態に関して、出現細胞及び出現の程度は患者ごとに多様であった。MALTリンパ腫でよく見られる形態のうち、形質細胞分化を認めたものは34名

中29名(85%)、単球様細胞(monocytoid cell)を認めたものは28名(82%)、lymphoepithelial lesion (LEL)を認めたものは評価可能13名中9名(69%)であった。また病変部位による一定の特徴を認めた。例えば、結膜病変では結節像が少なく(逆に言えば他部位では大半に結節像を認める)、多核細胞の出現を全ての患者に認めた。また、涙腺病変では全てに結節像を認め、大型リンパ球が多く見られ、反応性のT細胞も多く見られるといった特徴があった。

臨床像、形態像と染色体異常との関連では、トリソミー18を認めた患者に一定の特徴を認めた。その病理形態の特徴として、LELを認め、びまん性病変が多く、臨床的特徴として、結膜病変に多い傾向があり、女性及び50歳未満の若年者での比率が高い傾向を認めた。5名が再燃したが、すべてトリソミー18を認めた患者であった。

我々の検討では、転座陽性はt(14;18)の1名のみであった。Streubelらは、眼付属器MALTリンパ腫37名中9名(24%)にt(14;18)(q32;q21)を認め、1名にt(11;18)(q21;q21)を認めたと報告しており、我々の検討の結果とは異なっている³⁶⁾。我々はその理由として、地域差や人種差の存在を推測している。地域差に関しては、我々は濾胞性リンパ腫に関して既に報告しており、t(14;18)が欧米患者に多く検出されるのに対して、わが国の患者の検討では、その相対頻度が低かった³⁶⁾。対照的に、染色体数の異常は、他の報告と比較して高頻度に認められ、約半数の患者にトリソミー3もしくは18を認めた^{30, 31, 34)}。我々はこの理由を染色体数の異常の検出方法に起因するものと考えている。他の報告の多くは従来の染色体分染法の検討結果であり、我々の検討はFISH法による検討結果である。FISH法は、従来の染色体分染法に比べて異常の検出感度が高いと考えられる。また、眼付属器MALTリンパ腫は大部分が低悪性度で腫瘍細胞の増殖速度の遅い疾患であることも、間期核FISH法で染色体異常を検出するのにより適切な方法である一因である。ただし、今回の我々の検討はまだ少数患者での検討結果であり、より多くの患者での検討が必要である。

病理形態像の検討では、出現細胞の程度は多様であり、病変部位による形態的差異を認めた。大型細胞、多核細胞及びLELの出現程度や、結節像の程度は、病変部位により異なっていた。異なる部位に発生したMALTリンパ腫が異なる形態を示すことは、自然なことと思われるが、発生機序の違いを反映している可能性もあり興味深い。

トリソミー18を認めた患者には臨床的かつ形態的に一定の特徴を認めた。これらの事実、トリソミー18を認めるものは、眼付属器原発MALTリンパ腫のなかで、一つの特徴ある疾患群である可能性を示している。我々

Table 2 Result of interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis.
Adapted from Tanimoto et al. with modifications³⁵⁾.

	No. of patients (%)
t(11;18)	0 (0%)
t(14;18)	1 (3%)
trisomy 3*	21 (62%)
trisomy 7	2 (6%)
trisomy 12	0 (0%)
trisomy 18**	16 (47%)
trisomy 3 and trisomy 18	8 (24%)
MALT 1 gene amplification	1 (3%)
normal	6 (18%)

* There were eleven patients with trisomy 3 alone, eight with trisomy 3 and trisomy 18, one with t(14;18)(q32;q21), and one with MALT 1 gene amplification.

** There were eight patients with trisomy 18 alone and eight with trisomy 18 and trisomy 3.

は、胃 MALT リンパ腫における t(11;18) 転座陽性者との類似性を推測している。t(11;18) 転座陽性例は、臨床所見や予後、形態的特徴において、胃の MALT リンパ腫の中で特異な一群を構成していると考えられているためである^{37, 38)}。

我々は、細胞遺伝学的および病理形態学的には眼付属器原発 MALT リンパ腫は多様な集団であるが、トリソミー 18 を認めるものは特徴ある一群である可能性を考えている。ただしトリソミー 18 を認める眼付属器 MALT リンパ腫に認められた特徴ある所見の生物学的意義は不明である。現在これらの解明のために、遺伝子発現やゲノム解析などの更なる解析を進めている³⁹⁾。

5. クラミジアとの関連

最近になり、眼付属器 MALT リンパ腫にクラミジア (*Chlamydia psittaci*) 感染が関与しており、さらに抗菌剤投与による治療効果が報告された^{40, 41)}。その後、他地域の多くの研究者による追試がなされたが、概してクラミジアとの関連を認めない報告が多い⁴²⁻⁵⁰⁾。この原因としては、施設間の検出方法の差による感度の違いや、クラミジア感染の地域差によるものが一因ではないかと考察されているが、詳細は不明である⁵¹⁾。本邦での検討の報告も見られるが、クラミジアとの関連は確認されなかった^{43, 46, 47)}。

6. まとめ

自験例の検討結果を中心に、眼付属器原発 MALT リンパ腫に関する研究結果を概括した。本疾患は、限局性で緩徐な経過をたどり、長期予後は良好である。放射線感受性が高い腫瘍であることもあって、放射線療法が最も広く施行されている治療と推定されるが、一部の患者においては無治療経過観察も許容しうる治療選択肢の一つであることが示唆される。一方、本疾患の発症機序にかかわると思われる染色体異常やクラミジア感染などに関する検討が進められており、本疾患の多様性が明らかにされつつある。今後の研究の進展が臨床に還元されることを期待する。

文 献

- 1) Isaacson PG, Wright D. Malignant lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. A distinctive type of B-cell lymphoma. *Cancer*. 1983; **52**: 1410-1416.
- 2) Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasm: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994; **84**: 1361-1392.
- 3) Isaacson PG, Muller-Hermelink HK, Piris MA, et al. Extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma). Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al, editors. World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of haematopoietic and lymphoid tissue. Lyon: IARC Press; 2001: 157-160.
- 4) Thieblemont C, Bastion Y, Berger F, et al. Mucosa-associated lymphoid tissue gastrointestinal and nongastrointestinal lymphoma behavior: analysis of 108 patients. *J Clin Oncol*. 1997; **15**: 1624-1630.
- 5) Thieblemont C, Berger F, Dumontet C, et al. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma is a disseminated disease in one third of 158 patients analyzed. *Blood*. 2000; **95**: 802-806.
- 6) Freeman C, Berg JW, Cutler SJ. Occurrence and prognosis of extranodal lymphomas. *Cancer*. 1972; **29**: 252-260.
- 7) Knowles DM, Jakobiec FA, McNally L, Burke JS. Lymphoid hyperplasia and malignant lymphoma occurring in the ocular adnexa (orbit, conjunctiva, and eyelids): a prospective multiparametric analysis of 108 cases during 1977 to 1987. *Hum Pathol*. 1990; **21**: 959-973.
- 8) White WL, Ferry JA, Harris NL, Groves AS Jr. Ocular adnexal lymphoma. A clinicopathologic study with identification of lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue type. *Ophthalmology*. 1995; **102**: 1994-2006.
- 9) Nakata M, Matsuno Y, Katsumata N, et al. Histology according to the Revised European-American Lymphoma classification significantly predicts the prognosis of ocular adnexal lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 1999; **32**: 533-543.
- 10) Cho EY, Han JJ, Ree HJ, et al. Clinicopathologic analysis of ocular adnexal lymphomas: extranodal marginal zone B-cell lymphoma constitutes the vast majority of ocular lymphomas among Koreans and affects younger patients. *Am J Hematol*. 2003; **73**: 87-96.
- 11) Jenkins C, Rose GE, Bunce C, et al. Histological features of ocular adnexal lymphoma (REAL classification) and their association with patient morbidity and survival. *Br J Ophthalmol*. 2000; **84**: 907-913.
- 12) Auw-Haedrich C, Coupland SE, Kapp A, Schmitt-Graff A, Buchen R, Witschel C. Long term outcome of ocular adnexal lymphoma subtyped according to the REAL classification. Revised European and American Lymphoma. *Br J Ophthalmol*. 2001; **85**: 63-69.
- 13) Bolek TW, Moyses HM, Marcus RB Jr, et al. Radiotherapy in the management of orbital lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1999; **44**: 31-36.
- 14) Stafford SL, Kozelsky TF, Garrity JA, et al. Orbital lymphoma: radiotherapy outcome and complications. *Radiation Oncol*. 2001; **59**: 139-144.
- 15) Le QT, Eulau SM, George TI, et al. Primary radiotherapy for localized orbital MALT lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002; **52**: 657-663.
- 16) Bhatia S, Paulino AC, Buatti JM, Mayr NA, Wen BC. Curative radiotherapy for primary orbital lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002; **54**: 818-823.
- 17) Martinet S, Ozsahin M, Belkacemi Y, et al. Outcome and

- prognostic factors in orbital lymphoma: a Rare Cancer Network Study on 90 consecutive patients treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003; **55**: 892-898.
- 18) Uno T, Isoke K, Shikama N, et al. Radiotherapy for extranodal, marginal zone, B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue originating in the ocular adnexa: a multi-institutional, retrospective review of 50 patients. *Cancer.* 2003; **98**: 865-871.
- 19) Tanimoto K, Kaneko A, Suzuki S, et al. Primary ocular adnexal MALT lymphoma: a long-term follow-up study of 114 patients. *Jpn J Clin Oncol.* 2007; **37**: 337-344.
- 20) Lee JL, Kim MK, Lee KH, et al. Extranodal marginal zone B-cell lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue type of the orbit and ocular adnexa. *Ann Hematol.* 2005; **84**: 13-18.
- 21) Charlotte F, Doghmi K, Cassoux N, et al. Ocular adnexal marginal zone B cell lymphoma: a clinical and pathologic study of 23 cases. *Virchows Arch.* 2006; **448**: 506-516.
- 22) Tanimoto K, Kaneko A, Suzuki S, et al. Long-term follow-up results of no initial therapy for ocular adnexal MALT lymphoma. *Ann Oncol.* 2006; **17**: 135-140.
- 23) Horning SJ, Rosenberg SA. The natural history of initially untreated low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1984; **311**: 1471-1475.
- 24) Ardeshtna KM, Smith P, Norton A, et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: a randomized controlled trial. *Lancet.* 2003; **362**: 516-522.
- 25) Advani R, Rosenberg SA, Horning SJ. Stage I and II follicular non-Hodgkin's lymphoma: long-term follow-up of no initial therapy. *J Clin Oncol.* 2004; **22**: 1454-1459.
- 26) Matsuo T, Yoshino T. Long-term follow-up results of observation or radiation for conjunctival malignant lymphoma. *Ophthalmology.* 2004; **111**: 1233-1237.
- 27) Auer IA, Gascoyne RD, Connors JM, et al. t(11;18)(q21;q21) is the most common translocation in MALT lymphomas. *Ann Oncol.* 1997; **8**: 979-985.
- 28) Ott G, Katzenberger T, Greiner A, et al. The t(11;18)(q21;q21) chromosome translocation is a frequent and specific aberration in low-grade but not high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas of the mucosa associated lymphoid tissue (MALT) type. *Cancer Res.* 1997; **57**: 3944-3948.
- 29) Wotherspoon AC, Pan LX, Diss TC, Isaacson PG. Cytogenetic study of B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Cancer Genet Cytogenet.* 1992; **58**: 35-38.
- 30) Wotherspoon AC, Teresa MF, Isaacson PG. Trisomy 3 in low-grade B-cell Lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue. *Blood.* 1995; **85**: 2000-2004.
- 31) Ott G, Kalla J, Steinhoff A, et al. Trisomy 3 is not a common feature in malignant lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue type. *Am. J. Pathol.* 1998; **153**: 689-694.
- 32) Streubel B, Lamprecht A, Dierlamm J, et al. T(14;18)(q32;q21) involving IGH and MALT1 is a frequent chromosomal aberration in MALT lymphoma. *Blood.* 2003; **101**: 2335-2339.
- 33) Streubel B, Vinatzer U, Lamprecht A, Raderer M, Chott A. T(3;14)(p14.1;q32) involving IGH and FOXP1 is a novel recurrent chromosomal aberration in MALT lymphoma. *Leukemia.* 2005; **19**: 652-658.
- 34) Streubel B, Simonitsch-Klupp I, Mullauer L, et al. Variable frequencies of MALT lymphoma-associated genetic aberrations in MALT lymphomas of different sites. *Leukemia.* 2004; **18**: 1722-1726.
- 35) Tanimoto K, Sekiguchi N, Yokota Y, et al. Fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis of primary ocular adnexal MALT lymphoma. *BMC Cancer.* 2006; **6**: 249.
- 36) Sekiguchi N, Kobayashi Y, Yokota Y, et al. Follicular lymphoma subgrouping by fluorescence in situ hybridization analysis. *Cancer Sci.* 2005; **96**: 77-82.
- 37) Liu H, Ye H, Dogan A, et al. T(11;18)(q21;q21) is associated with advanced mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma that expresses nuclear BCL10. *Blood.* 2001; **98**: 1182-1187.
- 38) Liu H, Ruskon-Fourmestraux A, Lavergne-Slove A, et al. Resistance of t(11;18) positive gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma to Helicobacter pylori eradication therapy. *Lancet.* 2001; **357**: 39-40.
- 39) * Sekiguchi N, Tanimoto K, Ohta T, et al. Oligonucleotide Microarray Analysis of Ocular Adnexal MALT Lymphoma with Trisomy 18. *Blood.* 2006; **108**: 2423a.
- 40) Ferreri AJ, Guidoboni M, Ponzone M, et al. Evidence for an association between Chlamydia psittaci and ocular adnexal lymphomas. *J Natl Cancer Inst.* 2004; **96**: 586-594.
- 41) Ferreri AJ, Ponzone M, Guidoboni M, et al. Regression of ocular adnexal lymphoma after Chlamydia psittaci-eradicating antibiotic therapy. *J Clin Oncol.* 2005; **23**: 5067-5073.
- 42) Yoo C, Ryu MH, Huh J, et al. Chlamydia psittaci infection and clinicopathologic analysis of ocular Adnexal lymphomas in Korea. *Am J Hematol.* 2007; **82**: 821-823.
- 43) Yakushijin Y, Kodama T, Takaoka I, et al. Absence of Chlamydia infection in Japanese patients with ocular adnexal lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Int J Hematol.* 2007; **85**: 223-230.
- 44) Zhang GS, Winter JN, Variakojis D, et al. Lack of an association between Chlamydia psittaci and ocular adnexal lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2007; **48**: 577-583.
- 45) Gracia E, Froesch P, Mazzucchelli L, et al. Low prevalence of Chlamydia psittaci in ocular adnexal lymphomas from Cuban patients. *Leuk Lymphoma.* 2007; **48**: 104-108.
- 46) Liu YC, Ohyashiki JH, Ito Y, et al. Chlamydia psittaci in ocular adnexal lymphoma: Japanese experience. *Leuk Res.* 2006; **30**: 1587-1589.
- 47) Daibata M, Nemoto Y, Togitani K, et al. Absence of Chlamydia psittaci in ocular adnexal lymphoma from Japanese patients. *Br J Haematol.* 2006; **132**: 651-652.
- 48) Mulder MM, Heddema ER, Pannekoek Y, et al. No evidence for an association of ocular adnexal lymphoma with

- Chlamydia psittaci* in a cohort of patients from the Netherlands. *Leuk Res.* 2006; **30**: 1305-1307.
- 49) Vargas RL, Fallone E, Felgar RE, et al. Is there an association between ocular adnexal lymphoma and infection with *Chlamydia psittaci*? The University of Rochester experience. *Leuk Res.* 2006; **30**: 547-551.
- 50) Rosado MF, Byrne GE, Ding F, et al. Ocular adnexal lymphoma: a clinicopathologic study of a large cohort of patients with no evidence for an association with *Chlamydia psittaci*. *Blood.* 2006; **107**: 467-472.
- 51) Chanudet E, Zhou Y, Bacon CM, et al. *Chlamydia psittaci* is variably associated with ocular adnexal MALT lymphoma in different geographical regions. *J Pathol.* 2006; **209**: 344-351.

Impact of T Cell Chimerism on Clinical Outcome in 117 Patients Who Underwent Allogeneic Stem Cell Transplantation with a Busulfan-Containing Reduced-Intensity Conditioning Regimen

Bungo Saito, Takahiro Fukuda, Hiroki Yokoyama, Saiko Kurosawa, Toshihiro Takahashi, Shigeo Fuji, Noriko Takahashi, Kinuko Tajima, Sung-Won Kim, Shin-ichiro Mori, Ryuji Tanosaki, Yoichi Takaue, Yuji Heike

Within the concept of reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) there is a wide range of different regimens used, and little information is available on the clinical impact of chimerism status in patients conditioned with a busulfan-containing regimen. Therefore, we retrospectively reviewed lineage-specific chimerism and the subsequent clinical outcome in 117 patients (median age, 55 years; range: 29-68) who underwent busulfan-containing RIST. The conditioning regimen consisted of busulfan (oral 8 mg/kg or i.v. 6.4 mg/kg) and fludarabine (180 mg/m², n = 64) or cladribine (0.66 mg/kg, n = 53), with or without 2-4 Gy total-body irradiation (TBI) (n = 26) or antihuman T-lymphocyte immunoglobulin (ATG; 5-10 mg/kg; n = 31). Chimerism was evaluated with peripheral blood samples taken on days 30, 60, and 90 after transplantation by polymerase chain reaction (PCR)-based amplification of polymorphic short tandem repeat regions. The median follow-up of surviving patients was 1039 days (153-2535). The percent donor-chimerism was significantly higher in granulocyte than T cell fraction throughout the entire course, and the median (mean) values were, respectively, 100% (96%) versus 95% (83%), 100% (98%) versus 100% (89%), and 100% (98%) versus 100% (91%) at days 30, 60, and 90 after RIST. In a multivariate analysis, having received <2 types of chemotherapy regimens before RIST was the only factor that was significantly associated with low donor T cell chimerism (<60%) at day 30 (hazard ratio [HR]: 6.1; 95% confidence interval [CI], 2.1-18.4; *P* < .01). The median percentage of donor T cell chimerism at day 30 was 9% (0%-63%) in 5 patients who experienced graft failure, which was significantly lower than that (97%; 15%-100%) in the rest of the patients (*P* < .01). No correlation was found between the kinetics of T cell chimerism and the occurrence of acute or chronic GVHD (aGVHD, cGVHD). The stem cell source and the addition of TBI or ATG were not associated with the degree of T cell chimerism, overall survival (OS) or event-free survival (EFS). In a Cox proportional hazard model, low donor T cell chimerism of <60% at day 30 was associated with both poor OS (HR: 2.2; 95% CI, 1.1-4.5; *P* = .02) and EFS (HR: 2.0; 95% CI, 1.1-3.8; *P* = .02). In conclusion, we found that 43% of the patients retained mixed donor T cell chimerism (<90% donor) at day 30, whereas 92% achieved complete chimerism in granulocyte fraction. Low donor T cell chimerism of <60% at day 30 may predict a poor outcome, and a prospective study to examine the value of early intervention based on chimerism data is warranted.

Biol Blood Marrow Transplant 14: 1148-1155 (2008) © 2008 American Society for Blood and Marrow Transplantation

KEY WORDS: Reduced-intensity stem cell transplantation, Chimerism, Busulfan

From the Hematopoietic Stem Cell Transplantation Division, National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan
Financial disclosure: See Acknowledgments on page 1154.
Correspondence and reprint requests: Takahiro Fukuda, MD, PhD, Hematopoietic Stem Cell Transplantation Division, National Cancer Center Hospital, 5-1-1, Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo, 104-0045, Japan (e-mail: tafukuda@ncc.go.jp).
Received March 10, 2008; accepted July 20, 2008
1083-8791/08/1410-0001\$34.00/0
doi:10.1016/j.bbmt.2008.07.013

INTRODUCTION

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with a reduced-intensity conditioning (RIC) regimen has been increasingly used in patients with hematologic diseases who cannot be candidates for conventional HSCT because of age, medical comorbidities, or prior failed myeloablative SCT. Many different RIC regimens are currently in use, but most of them

incorporate fludarabine (Flu) as a background agent in combination with other drugs including cyclophosphamide (Cy) [1], melphalan (Mel) [2], busulfan [2,3], low-dose total body irradiation (TBI) [4], antihymocytoglobulin (ATG) [3], and alemtuzumab [5].

RIC regimens have been investigated in the hope of reducing toxicity, whereas their engraftment potential and antileukemia effect rely mainly on the expansion of donor-derived cells and subsequent immune-mediated graft-versus-leukemia (GVL) effects [6,7]. In this setting, lineage-specific chimerism analysis to assess the origin of lymphohematopoietic cells becomes particularly important for identifying patients at risk for graft failure/rejection, graft-versus-host disease (GVHD), and relapse or progressive disease (PD) [4,8,9]. Because the posttransplantation chimerism status is based on a fine balance between the cytotoxicity or immunosuppressive potential of the regimen used and the recipient's reserve immunocompetence, each RIC regimen should be evaluated individually for chimerism kinetics [1,4,10-13].

Compared with a regimen that includes Flu and Me, it has been reported that the combination of Flu and i.v. Bu was associated with improved survival in patients transplanted in remission, which was more frequently associated with mixed chimerism [2]. However, very little information is currently available on the clinical impact of lineage-specific chimerism status in patients who are conditioned with a Bu-containing RIC regimen. Therefore, we examined the correlation between specific patterns of lineage-specific chimerism and subsequent clinical outcomes.

PATIENTS AND METHODS

Patients and Transplantation Procedures

We retrospectively reviewed the medical records of 117 patients who had various hematologic malignancies and underwent allogeneic HSCT with Bu-containing RIC at our hospital from January 2000 to December 2006. The reasons for selecting RIC regimens included older patient age, medical comorbidities, and prior failed myeloablative SCT. The patients' characteristics are summarized in Table 1. The median age of the patients was 52 years (range: 29-68 years), and the hematologic malignancy included acute myelogenous leukemia (AML) (n = 23), AML evolving from a myelodysplastic syndrome (MDS) (n = 16), acute lymphoblastic leukemia (ALL) (n = 5), malignant lymphoma (n = 44), MDS (n = 16), chronic myelogenous leukemia (CML) (n = 9), chronic lymphocytic leukemia (CLL) (n = 1), multiple myeloma (MM) (n = 1), and atypical CML (n = 2).

The conditioning regimen consisted of Bu (oral 8 mg/kg or i.v. 6.4 mg/kg) and Flu (180 mg/m², n = 64) or cladribine (0.66 mg/kg, n = 53), with or without

Table 1. Association between patients characteristics and donor T-cell chimerism at day 30

Characteristics	Total (n=117)	T cell chimerism at day 30	
		<60% (n=18)	≥60% (n=99)
Patient age, years			
Median (range)	55 (29-68)	57 (35-66)	54 (29-68)
<55	56 (48%)	6 (33%)	50 (51%)
≥55	61 (52%)	12 (67%)	49 (49%)
Diseases type			
Acute leukemia	44 (38%)	5 (28%)	39 (39%)
Lymphoma	46 (39%)	6 (33%)	40 (40%)
MDS/MPD	27 (23%)	7 (39%)	20 (20%)
Disease risk			
High	91 (78%)	15 (83%)	76 (77%)
Low	26 (22%)	3 (17%)	23 (23%)
No. of prior chemotherapy regimens			
≥2	77 (66%)	6 (33%)	71 (72%)
<2	40 (34%)	12 (67%)	28 (28%)
Donor			
Unrelated	32 (27%)	2 (11%)	30 (30%)
Related	85 (73%)	16 (89%)	69 (70%)
HLA			
Match	90 (77%)	15 (83%)	75 (76%)
Mismatch	27 (23%)	3 (17%)	24 (24%)
Stem cell source			
G-PBMC	81 (69%)	13 (72%)	68 (69%)
Bone marrow	36 (31%)	5 (28%)	31 (31%)
Conditioning regimen			
2CdA/Bu	24 (21%)	4 (22%)	20 (20%)
2CdA/Bu/ATG	18 (15%)	4 (22%)	14 (14%)
2CdA/Bu/TBI	11 (9%)	1 (6%)	10 (10%)
Flu/Bu	38 (32%)	8 (44%)	30 (30%)
Flu/Bu/ATG	11 (9%)	1 (6%)	10 (10%)
Flu/Bu/ATG/TBI	2 (2%)	0 (0%)	2 (2%)
Flu/Bu/TBI	13 (11%)	0 (0%)	13 (13%)

Acute leukemia (n = 44): acute myelogenous leukemia (AML; n = 23), AML evolving from a myelodysplastic syndrome (n = 16), and acute lymphoblastic leukemia (ALL; n = 5); Lymphoma (n = 46): malignant lymphoma (44), chronic lymphocytic leukemia (CLL; n = 1) and multiple myeloma (MM; n = 1); MDS/MPD (n = 27): MDS n = 16 and MPD including chronic myelogenous leukemia (n = 9) and atypical CML (n = 2); G-PBMC indicates granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells; 2CdA, cladribine; Bu, busulfan; Flu, fludarabine; ATG, anti-human T-lymphocyte immunoglobulin; TBI, total-body irradiation.

2-4 Gy TBI (n = 26) or antihuman T-lymphocyte immunoglobulin (Fresenius Biotech GmbH, Germany) (ATG; 5-10 mg/kg, n = 31).

In Japan, only bone marrow is permitted as a stem cell source in transplantation from an unrelated healthy volunteer donor. In the setting of nonmyeloablative SCT from an unrelated donor, the sustained engraftment rate has been reported to be lower for recipients of bone marrow than for those given granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cells (G-PBMC) [14]. Therefore, low-dose TBI was also added to the conditioning regimen in 25 of the 32 patients who underwent reduced intensity stem cell transplantation (RIST) from an unrelated bone marrow donor to facilitate engraftment. Recipients of HLA-mismatched grafts tended to receive ATG-containing conditioning regimens (20 of the 27 recipients of HLA-mismatched grafts [74%] versus 11 of the 90 recipients of HLA-matched grafts

[12%]). Prophylaxis for GVHD consisted of cyclosporin (CsA) alone ($n = 55$), Cyclosporin with short-term methotrexate (sMTX) ($n = 38$), tacrolimus alone ($n = 13$), or tacrolimus with sMTX ($n = 11$).

In 81 of the 117 patients, the source of stem cells was G-PBMC from a related donor, which contained a mean of 3.3×10^6 CD34⁺ cells/kg (range: $1.5-7.0 \times 10^6$ CD34⁺ cells/kg) and 8.7×10^7 CD3⁺ cells/kg (range: $6.4-86.1 \times 10^7$ CD3⁺ cells/kg). The other 36 patients received related ($n = 4$) or unrelated ($n = 32$) bone marrow, which contained a mean of 2.9×10^8 total nucleated cells (TNC)/kg (range: $0.97-6.53 \times 10^8$ TNC/kg).

A total of 9 patients received donor lymphocyte infusion (DLI), mainly after day 90, and all of them received DLI for relapse of disease. There was no patient who received DLI for low donor T cell chimerism.

Informed consent was obtained according to the Declaration of Helsinki.

Definitions

Graft failure was defined as (1) failure of absolute neutrophil count (ANC) to surpass $500/\text{mm}^3$ at day 30 after HSCT or (2) decrease in ANC $<100/\text{mm}^3$ at 3 determinations after the initial engraftment or (3) absence of donor T cells ($<5\%$) before relapse, disease progression, second HSCT, or death. The diagnosis and clinical grading of acute and chronic GVHD (aGVHD, cGVHD) were performed according to established criteria [15-17]. Complete remission (CR) was defined as according to the International Workshop Criteria in AML [18] and lymphoma [19] patients. Low disease risk was defined as AML or ALL in first CR, MDS-refractory anemia, and CML in first chronic phase. All other diagnoses were classified as high risk.

Chimerism Analysis

We assessed donor-recipient chimerism by the polymerase chain reaction (PCR)-based amplification of a polymorphic short tandem repeat region. Chimerism was evaluated using peripheral blood samples on days 30, 60, and 90 after transplantation. Samples were separated using Ficoll-hypaque into mononuclear cells and a precipitate that included red blood cells and granulocytes. Mononuclear cells were further separated into CD3-positive and -negative fractions with immunomagnetic beads (CD3 Magnetic Particles-DM, BD Pharmingen, San Diego, CA). Granulocytes were collected by lysing red blood cells in the precipitate. Briefly, DNA was extracted from selected cells using QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany). Multiplex PCR was performed using primer sets (AmpFISTR Identifier Kit, Applied Biosystems, Foster City, CA). Five-color fluorescence detection was performed on an ABI 3100-Avant Genetic

Analyzer (Applied Biosystems). For each STR allele, the area under the curve for the corresponding signal was automatically processed using GeneScan 3.7 software (Applied Biosystems). The percentage of donor cells was calculated as (area signal donor)/(area signal donor + area signal recipient). The range of the error of chimerism was regarded as 5% at our laboratory (Heike et al., unpublished data).

Statistical Analysis

The chi-square test, Fisher's exact test, and Pearson correlation coefficients were used to evaluate the association of percent donor chimerism with various clinical factors such as patient age at the time of RIST (with 55 years as a cutoff), disease type (acute leukemia, MDS/myeloproliferative disease [MPD], lymphoma), disease risk (high, low), stem cell source (G-PBMC, bone marrow), serologic HLA matching (match, mismatch), and conditioning with TBI (yes, no) or ATG (yes, no).

Overall survival (OS) was defined as the time between stem cell infusion to death from any cause. Event-free survival (EFS) was defined as the time from stem cell infusion to graft failure, PD, or nonrelapse mortality (NRM), whichever occurred earlier. OS and EFS were estimated by the Kaplan-Meier method [20]. The log-rank test and the generalized Wilcoxon test were used to compare the probabilities of survival after HSCT over time across patient subgroups. Multiple Cox regression models were used for multivariate risk factor analysis for OS and EFS. Clinical factors evaluated in the OS and EFS analyses were donor T cell chimerism at day 30 (with 60% as a cutoff), patient age at the time of RIST, disease type, disease risk, stem cell source, HLA matching, and conditioning. Logistic regression models were used for multivariate risk factor analysis for low donor T cell chimerism ($<60\%$) at day 30. Clinical factors evaluated for the risk of low donor T cell chimerism at day 30 were number of prior chemotherapy regimens (≥ 2 , <2) and donor type in addition to the variables mentioned above. We considered 2-sided P -values of $<.05$ to be statistically significant. Statistical analyses were performed with SAS version 8.2 (SAS Inc., Cary, NC).

RESULTS

Kinetics of Chimerism

Whereas 43% of the patients retained mixed donor chimerism ($<90\%$ donor) in the T cell fraction, 92% achieved complete chimerism ($\geq 90\%$) in the granulocyte fraction at day 30 after RIST (Figure 1). In the peripheral blood mononuclear cell (PBMC) fraction, 72% of the patients achieved complete chimerism