

Methylation of the Tyrosine Phosphatase SHP1 Gene and Loss of its Protein in Thyroid B-cell Lymphoma

Nobuaki SAITO^{1*)}, Yohko NAKATANI²⁾, Takashi OKA²⁾,
Koichi OHSHIMA³⁾, Morishige TAKESHITA¹⁾, Hiroshi IWASAKI¹⁾
and Seiyo IKEDA⁴⁾

¹⁾ Department of Pathology, Faculty of Medicine, Fukuoka University

²⁾ Department of Pathology, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry

³⁾ Department of Pathology, Kurume University School of Medicine

⁴⁾ First Department of Surgery, Faculty of Medicine, Fukuoka University

Abstract : Tyrosine phosphatase SHP1 is an important negative regulator of signaling by receptors for cytokines and growth factors in hematopoietic cells. The methylation of the SHP1 gene plays a role in the proliferation and differentiation of various kinds of malignant lymphoma and leukemia. This study examined the methylation of the SHP1 gene in thyroid B-cell lymphoma and Hashimoto's disease by methylation specific PCR and the loss of SHP1 protein in tumor tissue by the immunohistochemistry. Almost all cases of the B-cell lymphoma and 2 of Hashimoto's disease examined in this study showed methylation of the SHP1 gene in the tissue specimens. The methylation of the SHP1 gene may therefore be one of the critical events in the pathogenesis of thyroid B-cell lymphoma. However, the loss of SHP1 protein was found in about the half of all cases of diffuse large B-cell lymphoma, but rarely in MALToma cases. The loss of SHP1 protein may therefore be related, not only with the histological types of B-cell lymphoma but also with the characteristics of the proliferation rate and activated molecules.

Key words : Thyroid gland, Malignant lymphoma, Methylation, SHP1

甲状腺原発 B 細胞リンパ腫におけるチロシンリン酸化酵素 SHP1 遺伝子のメチル化と蛋白発現消失の検討

斉藤 信明^{1*)} 中谷 陽子²⁾ 岡 剛史²⁾
大島 孝一³⁾ 竹下 盛重¹⁾ 岩崎 宏¹⁾
池田 靖洋⁴⁾

¹⁾ 福岡大学医学部病理学

²⁾ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻病態機構学大講座病理病態学分野

³⁾ 久留米大学医学部病理学

⁴⁾ 福岡大学医学部外科学第一

要旨 : チロシンリン酸化酵素 SHP1 は各種サイトカインや増殖因子のレセプターに作用するシグナル伝達経路の抑制的な調節因子で、そのメチル化は悪性リンパ腫、白血病における増殖と活性に重要な役割をはたしている。今回我々は甲状腺原発 B 細胞リンパ腫、橋本病の組織において、メチル化特異的 PCR 法にて SHP1 遺伝子のメチル化を、免疫組織染色にて SHP1 の蛋白発現の低下を検討した。SHP1 遺伝子のメチル化は検討したほとんどのリンパ腫と橋本病で認められ、SHP1 遺伝子が本リンパ腫の重要な発症の原因のひとつであると推測された。しかしその蛋白発現の消失はびまん性大細胞 B リンパ腫の約半数に見られ、MALT リンパ腫ではほとんど見られなかった。SHP1 蛋白発現の消失は、B 細胞性リンパ腫の

組織学的形態だけでなく腫瘍細胞の増殖や活性に関係していると推測される。

キーワード：甲状腺，悪性リンパ腫，メチル化，SHP1

はじめに

DNA のメチル化は，DNA を構成する 4 つの塩基のうちシトシンに生じる．一般に遺伝子の調節をつかさどる CpG アイランドはシトシンやグアニンが豊富に存在する領域で，この領域の CpG の二塩基配列がメチル化されると，遺伝子の発現が抑制され，脱メチル化されると再び活性化する．DNA のメチル化は遺伝子の発現を調節し，正常な個体の発生や維持に重要な役割を果たしていると考えられている．

近年 Methylation specific polymerase chain reaction (MSP 法) などの新しいメチル化検出法が開発され，各種悪性腫瘍においていくつかの遺伝子のメチル化が確認されている．このなかで血球系特異的なプロテインチロシンフォスファターゼ (Protein Tyrosine Phosphatase : PTP) である Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 1 (SHP1) 遺伝子のメチル化による発現異常は，パーキットリンパ腫，形質細胞腫，NK/T 細胞リンパ腫，成人 T 細胞白血病，慢性骨髄性白血病などの細胞株で高頻度に見い出され，それらの発症に重要な役割をはたすと推測されている¹⁾．

SHP1 は SH-PTP1, PTP1C, PTPN6, HCP ともいわれ，染色体 12p13 上にある．SHP1 はインターロイキン 2 (IL-2R) や他のサイトカインの受容体に結合して，活性化受容体からのシグナルを抑制するという細胞の増殖や分化に対する抑制性シグナル伝達経路の重要な 1 つであることが知られている^{2)~4)}．SHP1 蛋白の発現は，正常の B 細胞ではその成熟程度で違いが見られ，マントル帯，濾胞辺縁帯や形質細胞に強く発現し，胚中心では発現は弱い⁵⁾．B 細胞リンパ腫での発現パターンは，正常の B 細胞の発現パターンに相関していると考えられている^{6)~8)}．悪性リンパ腫における病理組織マイクロアレイによる SHP1 蛋白発現の解析では，Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT リンパ腫) は 64%，その他の型の B 細胞性リンパ腫は 90-100%⁹⁾，T 細胞性リンパ腫は 85.7%¹⁰⁾ という高率な蛋白発現の消失をみとめたという報告がある．

今回我々は甲状腺原発 B 細胞リンパ腫において，MSP 法を用い SHP1 遺伝子のメチル化を検索し，さらに SHP1 の免疫組織染色を行いその蛋白発現の低下を検索した．その結果，SHP1 遺伝子の高率なメチル化が MALT リンパ腫，びまん性大細胞 B リンパ腫 (Diffuse

large B cell lymphoma : DLBCL) とともに認められ，本遺伝子が甲状腺原発 B 細胞リンパ腫の発症に関係していると推測した．しかし免疫組織染色においては，低悪性度 MALT リンパ腫では SHP1 蛋白の発現の消失は認めず，高悪性度 MALT リンパ腫では 6 例中 1 例 (16.7%) に，DLBCL では 13 例中 6 例 (46.2%) に発現の消失を認め，SHP1 蛋白発現の消失の頻度は組織型により差異が認められた．この差異に関しては，悪性リンパ腫の増殖期 (G1, S, G2, M 期) を同定する抗体 Ki67 (MIB1) や，インターフェロン調節因子 Multiple myeloma oncogene 1 (MUM1) との関係とあわせて検討した．さらに本研究においては，橋本病 5 例でも SHP1 遺伝子蛋白の検討を行い，悪性リンパ腫との関係も考慮した．

対象と方法

対象

1990年から2005年までに福岡大学医学部病理学教室で診断した甲状腺原発 B 細胞リンパ腫 29 例を対象とした．悪性リンパ腫の診断のための免疫組織染色では B 細胞マーカーとして CD20 (Dako Cytomation, Denmark), CD79a (Dako Cytomation, Denmark), NK/T 細胞マーカーとして CD3 (Novocastra Laboratories Ltd., UK), CD56 (Novocastra Laboratories Ltd., UK), CD45RO (Dako Cytomation, Denmark) を用い，全例 B 細胞性リンパ腫であることを確認した．悪性リンパ腫の組織学的診断は新 WHO 分類¹¹⁾ に準拠し，低悪性度 MALT リンパ腫の存在によって次のように分類した．1) 低悪性度 MALT リンパ腫．2) 高悪性度 MALT リンパ腫：低悪性度 MALT リンパ腫を一部に含む大細胞性 B リンパ腫．3) DLBCL：低悪性度 MALT リンパ腫を含まない大細胞性 B リンパ腫．

橋本病は，サイロイドテスト陽性，マイクロゾームテスト陽性など甲状腺自己抗体が上昇しているもので，組織学的にも慢性炎症があり，他の疾病がない 5 例を用いた．

遺伝子解析

SHP1 遺伝子の解析は新鮮標本から DNA を抽出できた甲状腺原発 B 細胞リンパ腫 18 例，橋本病 2 例，反応性リンパ節炎 2 例について行い，K562 (CML 細胞系) 2 例と健常者末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cells : PBMC) の DNA をコントロールに用いた．

DNA を亜硫酸水素処理 (bisulfite 処理) するとシトシンはウラシルに置換されるが、メチル化されたシトシン (5'-メチルシトシン) は置換されないことが知られてる。MSP 法および非メチル化 PCR (un methylation specific PCR : unMSP) はこの bisulfite 処理を行った DNA のメチル化、非メチル化配列のそれぞれに特異的なプライマーを使って PCR を施行し、増幅の有無で DNA メチル化の有無を検索する方法である。

今回は DNA の 1µg を CpGenome DNA Modification kit (Intergen Co., NY. US) を用いて亜硫酸水素ナトリウム処理を行った。メチル化に特異的なプライマーは [5'-TGT GAA CGT TAT TAT AGT ATA GCG -3'] および [5'-CCA AAT AAT ACT TCA CGC ATA CG-3'] で、これらのプライマーは SHP1 遺伝子 (nucleotide numbers 7034-7207 of GenBank accession number AB079851) の Exon1b から得られた。非メチレーションに特異的なプライマーは [5'-GTG AAT GTT ATT ATA GTA TAG TGT TTG G-3'] および [5'-TTC ACA CAT ACA AAC CCA AAC AAT-3'] で、これらのプライマーは SHP1 遺伝子 (nucleotide numbers 7035-7196 in GenBank accession number AB079851) の Exon1b から得られた。PCR 産物を10% ポリアクリルアミドゲルで電気泳動によって分離した。

免疫組織染色

SHP1 の免疫組織染色は、甲状腺原発B細胞リンパ腫29例、橋本病5例、反応性リンパ節炎5例で行った。標本は20%ホルマリンで固定しパラフィン包埋した組織を用いた。薄切標本を脱パラフィン後、EDTA バッファーを用い、マイクロウェーブ95 で10分間賦活化した。一次抗体は SHP1 (SH-PTP1, Clone cs-287, Santa Cruz Biotechnology, US) を250倍で1時間反応させ、Envision kit (Dako Cytomation, Denmark) で染色を行い、ヘマトキシリンで核染した。染色の判定は染色の発現が消失しているものを陰性 (-)、発現が陽性のものを (+)、特に強く発現したものを強陽性 (#) とした。この他、本B細胞リンパ腫の特徴を見るため CD10 (Novocastra Laboratories, UK)、MIB1 (Dako Cytomation, Denmark)、MUM1 (Dako Cytomation, Denmark) の免疫染色を行った。MIB1 に関しては、病巣部の細胞500個における陽性率を算定した。

結 果

臨床病理学的所見

甲状腺原発B細胞リンパ腫29例の臨床病理学像を (表1) に示す。年齢は51歳から86歳 (平均67.8歳)、男性10

表1 甲状腺原発B細胞リンパ腫29例の臨床病理学的所見

年齢	(中間値)	51-86 (67.8)
性別	男性 : 女性	10 : 19
主訴	甲状腺腫大	29 (100%)
	呼吸困難, 嚔声	9 (31.0%)
	急速増大	8 (27.6%)
橋本病	あり	17 (58.6%)
	なし	12 (41.3%)
病期		17 (58.6%)
		8 (27.6%)
		3 (10.3%)
		1 (3.4%)
組織型	低悪性度 MALT リンパ腫	10 (34.5%)
	後悪性度 MALT リンパ腫	6 (20.7%)
	びまん性大細胞Bリンパ腫	13 (44.8%)

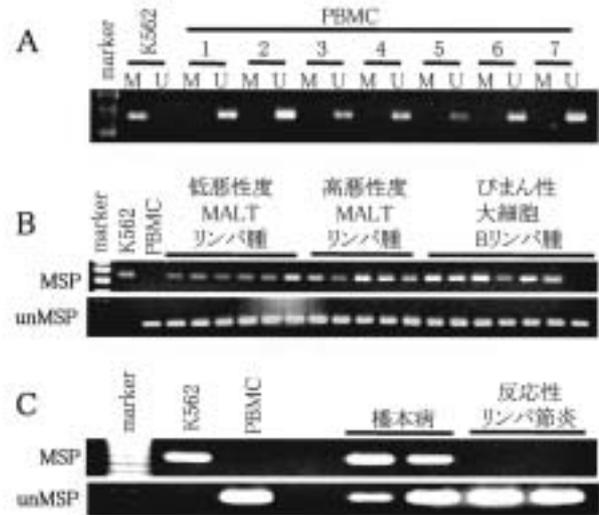


図1 MSP と unMSP による SHP1 遺伝子の解析
 A : コントロールの K562 (CML cell line) ではメチル化がみられ (M)、健康者末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cells : PBMC) 7 例ではメチル化はみられない (U)。
 B : 低悪性度 MALT リンパ腫 6 例と高悪性度 MALT リンパ腫 5 例の全例にメチル化がみられ、びまん性大細胞 B リンパ腫では 7 例中 6 例 (85.7%) にメチル化がみられる。
 C : 橋本病 2 例はともにメチル化がみられ、反応性リンパ節炎 2 例ではともにメチル化はみられない。

例、女性19例であった。全例で甲状腺腫大を認め、呼吸困難や嚔声を認めたものを9例、1ヶ月以内で急速な腫瘤の増大を自覚したものを8例認めた。病期は が17例、 が8例、 が3例、 が1例であった。橋本病に罹患しているものは男性5例、女性12例の計17例 (58.6%) で、発症までの平均罹患期間は3.3年、5年以上の長い経過を経ているものは4例 (13.8%) であった。橋本病と診断されたものはサイロイドテスト陽性、マイクロゾームテスト陽性など甲状腺の自己抗体の上昇が見られ、5年

以上経過した4例を含む6例(20.7%)では甲状腺機能低下症を認めた。組織型は低悪性度 MALT リンパ腫が10例, 高悪性度 MALT リンパ腫が6例, DLBCL が13例であった。治療は放射線療法その他, CHOP 療法を中心とした化学療法や手術療法が単独又は併用して行われ, ほとんどの症例で完全寛解, 部分寛解が得られたが,

病期 の高悪性度 MALT リンパ腫2例と DLBCL 1例で死亡例が見られた。

MSP による遺伝子解析

SHP1 遺伝子の MSP と unMSP の結果を(図1)に示す。陰性コントロールに用いた健常者 PBMC 7例で

表2 甲状腺原発B細胞リンパ腫、橋本病、反応性リンパ節炎における SHP1 の免疫組織染色および遺伝子解析

	SHP1 の免疫組織染色 (%)			SHP1 の MSP 発現率 (%)
	-	+	+	
低悪性度 MALT リンパ腫	0 / 10 (0)	4 / 10 (40)	6 / 10 (60)	6 / 6 (100)
後悪性度 MALT リンパ腫	1 / 6 (16.7)	4 / 6 (66.7)	1 / 6 (16.7)	5 / 5 (100)
びまん性大細胞Bリンパ腫	6 / 13 (46.2)	5 / 13 (38.5)	2 / 13 (15.4)	6 / 7 (85.7)
橋本病	胚中心	0 / 5 (0)	5 / 5 (100)	2 / 2 (100)
	マンテル帯	0 / 5 (0)	1 / 5 (20)	
	濾胞辺縁帯	0 / 5 (0)	5 / 5 (100)	
反応性リンパ節炎	胚中心	0 / 5 (0)	5 / 5 (100)	0 / 2 (0)
	マンテル帯	0 / 5 (0)	5 / 5 (100)	
	濾胞辺縁帯	0 / 5 (0)	1 / 5 (20)	

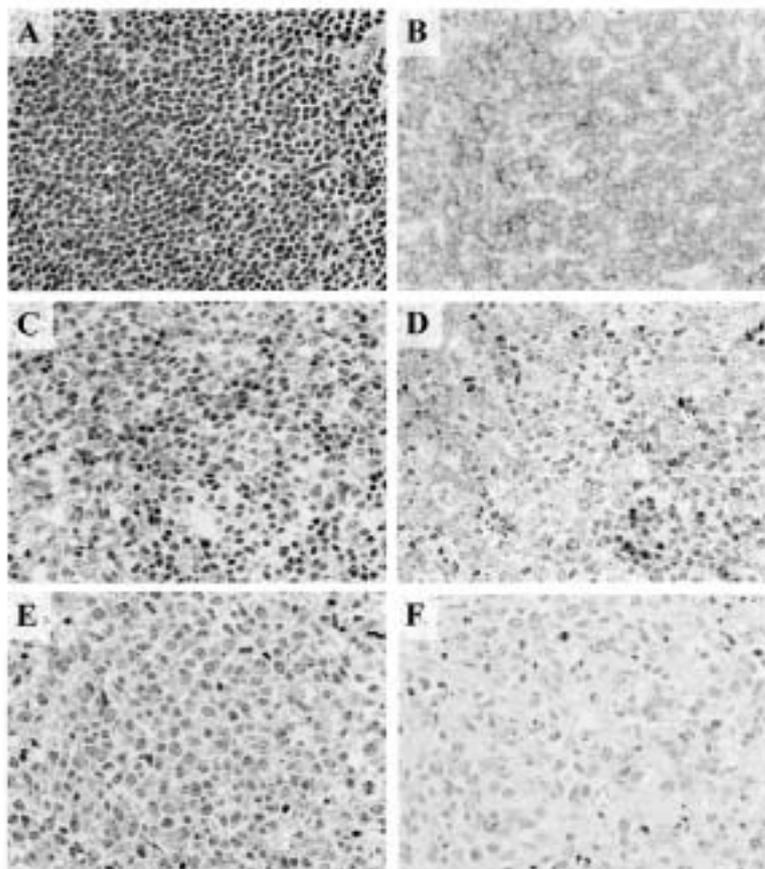


図2 甲状腺原発B細胞リンパ腫の HE 染色と SHP1 の免疫組織染色 (×400) (A, B): 低悪性度 MALT リンパ腫の症例で SHP1(+)を示し蛋白発現の消失は見られない。(C, D): 高悪性度 MALT リンパ腫の症例で SHP1(+)を示す。(E, F) はびまん性大細胞Bリンパ腫の症例で SHP1(-)を示し, 蛋白発現の消失が見られる。

が(+)であり、リンパ濾胞辺縁帯は全例(+)であった。反応性リンパ節炎では胚中心は全例(+), マントル帯は全例(+), 濾胞辺縁帯は1例が(+), 4例が(+)であった。橋本病では反応性リンパ節炎に比してリンパ濾胞辺縁帯での SHP1 発現が低下していた(図3)。

考 察

メチル化による蛋白の発現抑制が, アポトーシス関連遺伝子, 細胞周期制御遺伝子(p16, p27), DNA 修復遺伝子(hMLH1, hMSH2), 細胞接着因子(E-カドヘリン)ほか多くの遺伝子で報告されている。Death-associated protein (DAP)-キナーゼはアポトーシスを誘導する遺伝子で, 種々の腫瘍細胞株で DNA のプロモーター領域のメチル化による発現低下が見られる。Derringer らは DAP-キナーゼに関する DNA の検討で, 橋本病の22%, 甲状腺原発悪性リンパ腫の84%にメチル化を認めた。彼らは患者末梢血単核球ではメチル化がおこっていないことから甲状腺病変部に浸潤しているリンパ球の DAP-キナーゼにメチル化が起こったと考えた。橋本病に見られるリンパ球が DAP-キナーゼのメチル化などによりアポトーシス抵抗性となり, 悪性リンパ腫へ移行する可能性があると考えられている¹²⁾。

近年注目されている SHP1 遺伝子に関して, Koyama らは DLBCL では本 DNA のメチル化が93%で蛋白発現の消失が95.8%, MALT リンパ腫では本 DNA のメチル化が82%で蛋白発現の消失が82.4%, マントル細胞リンパ腫では本 DNA のメチル化が75%で蛋白発現の消失が92.3%, 濾胞性リンパ腫では本 DNA のメチル化が95.8%で蛋白発現の消失が100%, 形質細胞腫では本 DNA のメチル化が100%で蛋白発現の消失も100%であったと報告した。悪性リンパ腫では SHP1 遺伝子のメチル化による蛋白発現消失が腫瘍の進展に関係していると考えられている¹³⁾。

しかし, Kossev らは Grade1 の濾胞性リンパ腫で SHP1 蛋白発現の消失が69.7%に見られるが, マントル細胞リンパ腫や MALT リンパ腫では発現の低下は見られないと報告した。これら SHP1 蛋白発現の消失は, 反応性リンパ節炎における SHP1 の反応を反映しているものであり, B 細胞リンパ腫の由来細胞に関係していると考えられている⁷⁾。さらに Paessler らは, 移植後 B 細胞性リンパ腫58例の検討において, 全例 CD10 陰性で SHP1 蛋白の発現消失が見られなかったことから, 本リンパ腫が後胚中心 B 細胞由来であるとした。SHP1 蛋白が, 胚中心細胞と後胚中心細胞由来の B 細胞性リンパ腫との鑑別に利用できる可能性があると考えられている⁵⁾。

今回の検討では, MALT リンパ腫で100%, DLBCL で85.7%と高頻度に SHP1 遺伝子のメチル化が見られて

おり, 甲状腺原発 B 細胞リンパ腫においては組織型に関係なく SHP1 遺伝子のメチル化が腫瘍の増殖や分化に関係していると推測した。しかし, SHP1 蛋白発現の消失に関しては低悪性度 MALT リンパ腫では0%, 高悪性度 MALT リンパ腫で16.7%, DLBCL で46.2%であり, 悪性度が高くなるに従い発現消失の頻度が高くなる傾向があった。SHP1 遺伝子のメチル化が高頻度であり, その蛋白発現消失が低いという差異の原因に関しては, Kossev, Paessler らが言う SHP1 蛋白が分化段階を反映しているという考えと SHP1 の機能的側面に関係があると推測される。

本検討において, 増殖の指標である MIB1 インデックスは, 低悪性度 MALT リンパ腫で3.9%, 高悪性度 MALT リンパ腫で27.4%であった。後胚中心 B 細胞の活性化蛋白であるインターフェロン調節因子 MUM1¹⁴⁾ の発現は, 低悪性度 MALT リンパ腫で1例(10%)陽性, 高悪性度 MALT リンパ腫で1例(16.7%)陽性と低率であった。これらのことより MALT リンパ腫においては増殖率や活性化が低いことが推測され, MALT リンパ腫の状態では SHP1 蛋白発現消失もおこりにくい, すなわち抑制がかかった状態であると推測した。一方 DLBCL では, MIB1 インデックスが62.1%で, MUM1 も46.2%が陽性であり, 腫瘍細胞の増殖, 活性が高いことが確認され, SHP1 蛋白の消失が起こりうる, すなわち抑制が取り除かれた状態であると推測された。SHP1 は機能的には抑制遺伝子である。SHP1 蛋白は B 細胞の分化段階のマーカーという考え方だけでなく, その機能的側面についても考慮することが必要であると考える。

今回我々は甲状腺原発 B 細胞リンパ腫に加え, 橋本病についても検討した。甲状腺悪性リンパ腫は慢性炎症である橋本病を基盤に発症してくると強く推測されており, その発生には炎症巣で産生されるサイトカインの関与が考えられる¹⁵⁾¹⁶⁾。Reverse transcriptase PCR 法を用いたサイトカインの検討では, IL-7 の発現が悪性リンパ腫で有意に上昇していることが判明している¹⁷⁾。そして青笹らは, In situ hybridization 法を用いた IL-7, IL-7R の検討で, 橋本病のリンパ濾胞中心細胞に比べ, 甲状腺悪性リンパ腫で IL-7 陽性細胞が有意に多く見られたと報告した。橋本病におけるリンパ球の増殖はリンパ装置から産生される IL-7 により支持され, そのリンパ球がゲノムの不安定性を増すことにより悪性リンパ腫へ進展していくと推測される¹⁸⁾。今回の検討においては, 橋本病2例の組織で SHP1 遺伝子のメチル化を認め, 濾胞辺縁帯部での SHP1 蛋白発現の低下が認められた。SHP1 遺伝子のメチル化が橋本病の段階ですでにおこり, リンパ球の増殖や分化の不安定化が起こっている可能性があると考えられる。

メチル化により DAP キナーゼの発現の低下を認めた腎癌, 膀胱癌, 乳癌や悪性リンパ腫の細胞株が, 脱メチル化剤である 5-aza-2'-deoxycytidine を用いて処理すると DAP キナーゼの発現が回復すると報告されている^{19,20)}。岡らは SHP1 遺伝子に関しても, 多くの血液系培養細胞に対して, 脱メチル化剤である 5AzaCdR 処理を行うと発現回復が見られると報告している。実際に急性リンパ性白血病, 慢性骨髄性白血病の診断時の患者検体で認められた SHP1 遺伝子のメチル化が, 完全寛解後の検体で消失を認めている⁹⁾。遺伝子のプロモーター領域のメチル化は MSP 法などを用いた簡便な方法で検出可能であり, 悪性リンパ腫, 白血病に対するメチル化阻害剤を用いての新しい治療法の開発が期待される。

文 献

- 1) Oka T, Yoshino T, Hayashi K, Ohara N, Nakanishi T, Yamaai Y, Hiraki A, Sogawa CA, Kondo E, Teramoto N, et al : Reduction of hematopoietic cell-specific tyrosine phosphatase SHP1 gene expression in natural killer cell lymphoma and various types of lymphomas/leukemias : Combination analysis with cDNA expression array and tissue microarray. *Am J Pathol* 159(4) : 1495-1505, 2001.
- 2) Neel BG, Tonks NK : Protein tyrosine phosphatases in signal transduction. *Curr Opin Cell Biol* 9(2) : 193-204, 1997.
- 3) Siminovitch KA, Neel BG : Regulation of B cell signal transduction by SH2-containing protein-tyrosine phosphatases. *Semin Immunol* 10(4) : 329-47, 1998.
- 4) Tamir I, Dal Porto JM, Cambier JC : Cytoplasmic protein tyrosine phosphatases SHP-1 and SHP-2 : regulators of B cell signal transduction. *Curr Opin Immunol* 12(3) : 307-15, 2000.
- 5) Paessler M, Kossev P, Tsai D, Raghunath P, Majewski M, Zhang Q, Ramalingam P, Schuster S, Tomaszewski J, Arber DA, et al : Expression of SHP-1 phosphatase indicates post-germinal center cell derivation of B-cell posttransplant lymphoproliferative disorders. *Lab Invest* 82(11) : 1599-606, 2002.
- 6) Delibrias CC, Floettmann JE, Rowe M, Fearon DT : Downregulated expression of SHP-1 in Burkitt lymphomas and germinal center B lymphocytes. *J Exp Med* 186(9) : 1575-83, 1997.
- 7) Kossev PM, Raghunath PN, Bagg A, Schuster S, Tomaszewski JE, Wasik MA : SHP-1 expression by malignant small B-cell lymphomas reflects the maturation stage of their normal B-cell counterparts. *Am J Surg Pathol* 25(7) : 949-55, 2001.
- 8) Sugita Y, Tokunaga O, Nakashima A, Shigemori M : SHP-1 expression in primary central nervous system B-cell lymphomas in immunocompetent patients reflects maturation stage of normal B cell counterparts. *Pathol Int* 54(9) : 659-66, 2004.
- 9) 岡剛史, 大内田守 : 広範な悪性リンパ腫・白血病発症に関連する SHP1 遺伝子に関する最新知見 . *日本臨床* 61(11) : 2025-2032, 2003 .
- 10) Zhang Q, Raghunath PN, Vonderheid E, Odum N, Wasik MA : Lack of phosphotyrosine phosphatase SHP-1 expression in malignant T-cell lymphoma cells results from methylation of the SHP-1 promoter. *Am J Pathol* 157(4) : 1137-46, 2000.
- 11) Elaine SJ, Nancy LH, Harald S, James WV : World Health Organization of Tumors, Pathology & Genetics, Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press, 2001.
- 12) Derringer GA, Thompson LD, Frommelt RA, Bijwaard KE, Heffess CS, Abbondanzo SL : Malignant lymphoma of the thyroid gland : a clinicopathologic study of 108 cases. *Am J Surg Pathol* 24(5) : 623-39, 2000.
- 13) Koyama M, Oka T, Ouchida M, Nakatani Y, Nishiuchi R, Yoshino T, Hayashi K, Akagi T, Seino Y : Activated proliferation of B-cell lymphomas/leukemias with the SHP1 gene silencing by aberrant CpG methylation. *Lab Invest* 83(12) : 1849-58, 2003.
- 14) Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, Muller-Hermelink HK, Campo E, Braziel RM, Jaffe ES, et al : Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 103(1) : 275-82, 2004.
- 15) 青笹克之 : 悪性リンパ腫と慢性炎症 . *日本内科学会雑誌* 87(6) : 1144-8, 1998 .
- 16) Reddy J, Shivapurkar N, Takahashi T, Parikh G, Stastny V, Echebiri C, Crumrine K, Zochbauer-Muller S, Drach J, Zheng Y, et al : Differential methylation of genes that regulate cytokine signaling in lymphoid and hematopoietic tumors. *Oncogene* 24(4) : 732-6, 2005.
- 17) Takakuwa T, Nomura S, Matsuzuka F, Inoue H, Aozasa K : Expression of interleukin-7 and its receptor in thyroid lymphoma. *Lab Invest* 80(10) : 1483-90, 2000.
- 18) 青笹克之 : 慢性炎症を基盤に発症する悪性リンパ腫 . *日本病理学会雑誌* 90(2) : 19-38, 2001 .
- 19) Kissil JL, Feinstein E, Cohen O : DAP-Kinase loss of expression in various carcinoma and B-cell lymphoma cell lines : possible implications for role as tumor suppressor gene. *Oncogene* 15 : 403-407, 1997.
- 20) 中塚伸一, 高桑徹也, 青笹克之 : 悪性リンパ腫における DAP-Kinase 遺伝子のメチル化 . *臨床病理* 49(12) : 1242-1247, 2001 .

(平成21. 10.10受付, 21.12.17受理)