

豚の回腸原発リンパ腫の病理学的研究

論文要旨

谷本忠司

高知県中央食肉衛生検査所

豚の好発腫瘍の一つであるリンパ腫は、大部分が多中心型、一部が胸腺型の解剖学的病型をとり、消化器型や皮膚型の病型は極めて稀とされているが、最近、回腸や腸間膜リンパ節に原発した消化器型リンパ腫とみなしうる症例が相次いで報告され、著者も、肉用豚に見られた回腸原発リンパ腫を12例見いだした。豚リンパ腫では、パラフィン切片に応用可能な抗リンパ球抗体がないために、腫瘍細胞の起源や特徴が十分に明らかにされていない。そこで、第1部では、「ホルマリン固定・パラフィン切片とした豚組織中のリンパ球に反応する抗体の検索」、第2部では、第1部での研究成果を加え、「豚の回腸リンパ腫の組織学的、酵素細胞化学的、免疫組織化学的および超微形態学的検索」を実施した。

第1部 ホルマリン固定・パラフィン切片とした豚組織中のリンパ球に反応する抗体の検索

組織や血液中のリンパ球 subset を同定することは、ヒトと同様に家畜での正常および異常な免疫反応の解析、リンパ球増殖性疾患の診断のために重要である。単クローン性抗体を使った免疫組織化学的検索は、これらの研究手法として最も高感度で有用なものの一つである。豚のリンパ球を認識する単クローン性抗体が幾つか作製されているが、これらは通常、新鮮な細胞浮遊液あるいは組織の凍結切片にしか応用出来ない。そこで、ヒトあるいは豚のリンパ球に反応する抗体のうち、ホルマリン固定・パラフィン切片とした豚組織中のリンパ球に良好に反応する抗体があるかどうか、脱パラフィン切片を抗原賦活処理した後、免疫染色して検討し、また最適な抗原賦活処理法についても検討した。

材料と方法：合計33種類のリンパ球に反応する抗体（ヒト抗体は25種類、豚抗体は8種類）について検討した。使用した抗体に対する最適な抗原賦活条件を決定するために、11種類の抗原賦活処理法（6種類の浸漬液を使ったマイクロウェーブ熱処理、2種類の市販浸漬液を使った熱湯中での加熱処理および3種類のタンパク分解酵素を使った酵素処理）を実施した。処理後、未処理切片と一緒に免疫染色した。

結果：検討した合計33種類の抗体の内、polyclonal 抗ヒト κ 鎖抗体（Dako社）、polyclonal 抗ヒト λ 鎖抗体（Dako社）、CDw75（clone LN-1）、CD79 α （clone HM57）、CD79 β （clone B29/123）、HLA-DR（clone TAL.1B5）およびpolyclonal CD3（Dako社）の合計7種類のヒト抗体が、ホルマリン固定・パラフィン切片とした豚組織中のリンパ球に良好な反応性を示した。これらの抗体の陽性部位は、ヒトでの報告とほぼ一致した。11種類の抗原賦活処理の効果を比較したところ、抗ヒト軽鎖抗体には、0.1% trypsin による酵素処理が、抗

ヒト・リンパ球抗体には、0.1M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 中でのマイクロウェーブ熱処理および antigen retrieval solution (Dako 社) 中での熱湯による加熱処理が最も良い結果を得た。

結論：これら7種類の抗体は、ホルマリン固定・パラフィン切片とした豚組織中のリンパ球 subset の同定、鑑別および特徴付けに役立つ。また、脱パラフィン切片を適切に抗原賦活処理することにより、凍結切片しか反応しない抗体や抗原由来の動物種しか反応しない抗体でもパラフィン切片に応用可能である。

第2部 豚の回腸リンパ腫の組織学的，酵素細胞化学的，免疫組織化学的および超微形態学的検索

豚では、消化器型リンパ腫は極めて稀とされているが、最近、回腸や腸間膜リンパ節に発生した消化器型リンパ腫の症例が若干報告された。しかし、病理学的特徴、特に腫瘍細胞の起源や特徴は十分に明らかにされていない。著者も、1980~1994年に高知県で行った食肉衛生検査で発見した26例の豚のリンパ腫中に、回腸を侵す12例を見いだした。家畜の消化器型リンパ腫は、猫で最も特徴付けられており、その病理学的特徴はヒトのバーキットリンパ腫に似ているとされ、豚のリンパ腫の研究の中には、ヒトのバーキットリンパ腫との類似性を指摘したものがある。さらに、ヒトの非ホジキン型リンパ腫には、ヒトのバーキットリンパ腫の原因の一つとされている Epstein-Barr virus (EBV) が高率に検出されている。そこで、これらの知見を参考にしながら、豚の回腸原発リンパ腫の病理学的特徴、特に十分に検索されていない腫瘍細胞の特徴を明らかにするために病理学的検索を行った。

材料と方法：12例の豚の回腸原発リンパ腫を病理組織学的、酵素細胞化学的、免疫組織化学的および超微形態学的に検索し、得られた所見を猫やヒトの小腸リンパ腫並びにヒトのバーキットリンパ腫と比較し、特徴付けた。また、免疫組織化学的手法を使った腫瘍組織からの EBV の検出も試みた。

結果：高知県で発生した豚の回腸原発リンパ腫の発生頭数は、10万頭あたり0.8頭で、豚のリンパ腫の解剖学的病型は、腸管型(12例, 46%)あるいは多中心型(10例, 38%)が目立った。いずれの症例も、体重減少あるいは下痢などの臨床症状はなかった。回腸リンパ腫は、パイエル板から孤立性腫瘍として発生し、早期の腸間膜リンパ節転移を伴いながら、リンパ濾胞を侵襲し、びまん性に増殖していた。回腸リンパ腫の細胞学的特徴は、ヒトのバーキットリンパ腫とは類似性がなく、the lymphoma-leukemia study group of Japan (LSG) 分類により、11例がびまん性・大細胞非切れ込み型(DLNC型)、胚中心細胞性に、1例がびまん性混合型(DM型)、抗体産生細胞性に分類された。DM型

リンパ腫細胞は、過ヨウ素酸シッフ (PAS) 反応陽性の核内封入体 (Dutcher body) や細胞質内封入体 (Russell body) を有していた。二つの細胞型の腫瘍組織には、多数の星空像を示す組織球が見られた。回腸リンパ腫の腫瘍細胞は、しばしば回腸の筋層に浸潤し、列をなしていた (Indian file infiltration)。2例においては、特徴的な腹腔への漿膜転移が見られ、白血化もしていた。リンパ腫細胞には、alkaline phosphatase の細胞膜での陽性、acid phosphatase および α -naphthyl butyrate esterase の細胞質でのびまん性陽性像が観察された。9例の腫瘍細胞には、免疫組織化学的に単クローン性の細胞質内免疫グロブリン陽性像が見られた (IgM- λ 型 7例, IgG- λ 型 1例, IgG- κ 型 1例)。10例の腫瘍細胞は、ヒトの汎 B 細胞マーカーである CD79 α と CD79 β に陽性であった。リンパ濾胞の侵襲部では、S-100 蛋白 β 亜分画陽性の濾胞樹状細胞 (FDC) の網目状構造の破壊が見られた。腫瘍細胞には、超微形態学的に拡張した粗面小胞体や散在性あるいは集合性 dense body が顕著であった。いずれの症例にも EBV 抗原は検出されなかった。

結論：豚の回腸リンパ腫は、パイエル板から孤立性腫瘍として発生し、早期の腸間膜リンパ節転移を示すこと、リンパ濾胞を侵襲し、びまん性に増殖すること、筋層に浸潤し、列をなすこと (Indian file infiltration)、腹腔に漿膜転移することなどの病理学的特徴を持ち、腫瘍細胞の免疫学的表現型として IgM- λ 型の免疫グロブリンを産生する B 細胞性大細胞型リンパ腫細胞が多い。