

氏名(本籍)	中島弘美(茨城県)
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	乙第378号
学位授与の要件	学位規則第3条第3項該当
学位論文題名	豚のリンパ腫における腫瘍細胞の由来と組織学的特徴
論文審査委員	(主査)野村靖夫 (副査)小林好作 (副査)代田欣二

論文内容の要旨

リンパ腫(同義語:悪性リンパ腫、リンパ肉腫)はリンパ系の腫瘍で、豚において最も普通に見られ、その発生状況に関しては多数の報告がある。解剖学的にはほとんどの症例が多中心型で、残りは胸腺型であるとされている。しかし、最近になって消化器型の症例が報告されるようになった。

豚のリンパ腫は以前、組織学的に4つのタイプに分類されたが、その後、ヒトのリンパ腫の分類に従い細胞学的に分類されるようになった。豚の腫瘍性リンパ様細胞の超微形態学的特徴についても幾つかの報告がある。しかし、これら解剖学的、組織学および超微形態学的研究は断片的なものが多く、個々の症例の病理形態学的特徴を十分に把握し、系統的に分析した研究は少ない。また、家畜のリンパ腫の免疫学的検索は途についたばかりで、豚のリンパ腫の免疫学的知見は乏しい。

この研究の目的は豚のリンパ腫の検出状況を調査し、解剖学的、組織学的、超微形態学および免疫学的所見から、豚のリンパ腫における腫瘍細胞の由来と組織学的特徴をつかむことにより、豚のリンパ腫の病態を明らかにすることである。

調査・材料収集期間は1976年4月から1996年3月までの20年間で、茨城県県西および県南食肉衛生検査所管内のと畜場で検査された豚14,167,540頭のうち、リンパ腫と診断された86例を供試材料とした。

稟告聴取、望診、肉眼的検査の後、採取した材料を病理組織学的検査用に10%ホルマリン液、または10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。解剖学的分類は肉眼的腫瘍病変の分布に基づく著者の分類を用い、組織学的分類は腫瘍を構成する細胞の形態学的特徴および増殖様式に基づきヒトのKiel分類に従った。

病理組織学的検査は固定した材料から定法によりパラフィン切片を作成し、主としてヘマトキシリン・エオジン染色、必要に応じて各種染色を施して光学顕微鏡で観察した。

超微形態学的検査は腫瘍化したリンパ節から新鮮組織材料を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液、または4%ホルムアルデヒドと1%グルタルアルデヒドの混合液で前固定、1%オスミウム酸で後固定し、通常の方法で超薄切片を作成した。超薄切片は酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色し、JEM-100CX電子顕微鏡で観察した。

免疫学的検査では、表面マーカー検索のために、新鮮腫瘍組織から得た細胞浮遊液を用いて綿羊赤血球ロ

ゼット (E-ロゼット) 形成テストと細胞表面免疫グロブリン (SIg) 免疫蛍光分析を実施した。また、パラフィン切片を用いて細胞質内免疫グロブリン (CIg) 検索のためにペルオキシダーゼ・アンチペルオキシダーゼ法を、ターミナル・デオキシヌクレオチジル・トランスフェラーゼ (TdT) のためにはビオチン・ストレプトアビジン法によるペルオキシダーゼ染色を行った。

さらに、腫瘍細胞がT細胞性かB細胞性かの判定のために、新鮮腫瘍組織材料を直ちに凍結するか、4%パラフォルムアルデヒド液で固定した後、凍結切片を作成し、 β -グルクロニダーゼ、酸性フォスファターゼ、アルカリフォスファターゼおよびアデノシン・トリフォスファターゼの酵素組織化学染色と市販のマウスモノクローナル抗体による免疫組織化学染色をビオチン・ストレプトアビジン法で実施した。

結果は以下のとおりに要約された。

- 1) 病勢の進行した段階で発見されることが多く、全身に腫瘍病変を持つ豚が目立ち、従来の解剖学的分類では、病勢の進んだ胸腺型や消化器型が多中心型に入れられる傾向にあった。そこで新たな分類を考案し、86例を全身型43例、腹部型32例、縦隔型9例、体表型2例に分類した。今回の豚のリンパ腫の解剖学的分類は病勢の進行した胸腺型や消化器型を明確に分ける上で、以前の分類法よりも優れていた。
- 2) 組織学的研究では、86例のリンパ腫のうち、胚中心に由来する胚中心細胞性リンパ腫と胚中心芽球性リンパ腫は62例 (72.1%) を数え、豚のリンパ腫では、B細胞リンパ腫が多いことが判明した。
- 3) 豚のリンパ腫では、ろ胞性増殖はまれと考えられてきたが、腹部型では32例中9例 (28.1%) に見られ、まれではなかった。
- 4) 今回のB細胞リンパ腫の多くは全身型あるいは腹部型の胚中心由来のリンパ腫で、組織学的に腫瘍細胞の増殖態度は、部分的なるろ胞性増殖ないしび慢性増殖であった。腫瘍細胞の形態学的特徴は核の cleavage と粗面小胞体の軽度な発達およびデスモゾーム様構造であった。免疫学的には SIg 陽性 (+)、E-ロゼット陰性 (-) (CD2⁻) で一部の細胞に CIgM または CIgG を持つ細胞を認め、軽鎖としては λ 鎖を持つ細胞が多かった。これらのことから、B細胞リンパ腫の中心をなすのは胚中心に由来することが判明した。
- 5) 今回のT細胞リンパ腫は縦隔型のリンパ芽球性リンパ腫と免疫芽球性リンパ腫で、縦隔腫瘍形成を特徴としていた。腫瘍細胞は形態学的に幅の狭い細胞質、核の convolution および集合性デンスボディによって特徴づけられた。免疫学的には SIg⁻、E-ロゼット⁺ (CD2⁺) で、一部 double positive 細胞の可能性を示唆する CD4⁺、CD8⁺ の症例があった。これらのことから、縦隔腫瘍を特徴とする縦隔型のT細胞リンパ腫は胸腺細胞由来であることがわかった。
- 6) 今回の non-T non-B 細胞リンパ腫は全身型のリンパ芽球性リンパ腫で、腫瘍細胞は免疫学的に SIg⁻、E-ロゼット⁻ (CD2⁻) および TdT⁺ であることから、骨髄幹細胞に近い未分化なリンパ系細胞に由来する

ことがわかった。

上述のように、豚のリンパ腫はヒトのリンパ腫症例の所見と類似し、大部分が胚中心から発生したB細胞リンパ腫であった。

この成績は豚のリンパ腫の病理診断に活用されるとともに、本腫瘍の病理発生機序解明の手がかりとなる知見である。

論文審査の結果の要旨

豚の好発腫瘍の一つとされるリンパ腫は、養豚産業の盛んな各国で発生が報告されている。古くから、また多方面から研究がなされているもののヒトのリンパ腫は言うに及ばず、他の動物のリンパ腫に比べても不明な点が少なくない。この研究は、とくに豚のリンパ腫における腫瘍細胞の由来に焦点を合わせて、病態解明の前進を目指したもので、その内容を要約すれば以下の通りである。

WHOの家畜腫瘍の国際分類では、豚のリンパ腫の解剖学的病型は多中心型が主で、残りは胸腺型とされていたが、最近では消化器型の病例も少なくないと考えられている。動物のリンパ腫の分類には、解剖学的病型と細胞型が併記される。細胞型については、純形態学的なヒトのリンパ腫細胞の分類が適用されることが多く、豚のリンパ腫の病理形態学的特徴を十分に把握し、系統的に分析した研究は少ない。

材料と方法

1976年4月から1996年3月までの20年間にわたり、茨城県県西および県南食肉衛生検査所管内で食肉衛生検査を実施した豚14,167,540頭中に見出されたリンパ腫86例を用いた。

病型分類には肉眼病変の分布に基づく著者の分類を用い、組織・細胞学的分類は腫瘍細胞の形態学的特徴と増殖様式に基づきヒトのリンパ腫のKiel分類を準用した。

採取した材料はホルマリン固定し、パラフィン切片を作成、病理組織学的に検索した。また腫瘍化したリンパ節から新鮮組織材料を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液、または4%ホルムアルデヒドと1%グルタルアルデヒドの混合液で前固定、1%オスミウム酸で後固定して超薄切片を作成し、酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色して透過電子顕微鏡で観察した。

表面マーカー検索のために新鮮腫瘍組織から得た細胞浮遊液を用いて綿羊赤血球ロゼット(E-ロゼット)形成試験を行い、細胞表面免疫グロブリン(SIg)の免疫蛍光分析、パラフィン切片による細胞質内免疫グロブリン(CIg)検索、ターミナル・デオキシヌクレオチジル・トランスフェラーゼ(TdT)検索を行った。

さらに腫瘍細胞がT細胞性かB細胞性かの判定のため、新鮮腫瘍組織を直ちに凍結するか、4%ホルムアルデヒド液で固定した後、凍結切片を作成し、 β -グルクロニダーゼ、酸性フォスファターゼ、アルカリフォスファターゼおよびアデノシン・トリフォスファターゼの酵素組織化学染色と市販のマウスモノクローナル抗体による免疫組織化学染色を実施した。

結果と考察

- 1) 豚のリンパ腫は進行した段階で発見されることが多く、全身に腫瘍性病変を持つ豚が目立ち、WHOの病型分類では、病勢の進んだ胸腺型や消化器型が多中心型に入れられる傾向はあった。
著者の考案した新しい病型分類では、全身型43例、腹部型32例、縦隔型9例、体表型2例となり、病勢の進行した胸腺型や消化器型を明確に分類できた。
- 2) 86例のリンパ腫中、胚中心細胞性リンパ腫と胚中心芽球性リンパ腫は62例(72.1%)を数え、豚のリンパ腫では、B細胞リンパ腫が多かった。
- 3) 豚のリンパ腫では、ろ胞性増殖はまれとされていたが、腹部型では32例中9例(28.1%)に見られ、決してまれではなかった。
- 4) 今回著者の検索した豚のB細胞性リンパ腫の多くは全身型あるいは腹部型の胚中心由来のリンパ腫で、腫瘍細胞の増殖様式は、部分的なろ胞性増殖ないしび慢性増殖であった。
腫瘍細胞は超微形態学的に核の cleavage、発達がよくない粗細小胞体、デスモゾーム様構造をもつことが特徴であった。
免疫学的には SIg 陽性 (+)、E-ロゼット陰性 (-) (CD2⁻) で一部に CIgM または CIgG を持つ細胞を認め、軽鎖としては λ 鎖を持つ細胞が多かった。これらのことから、B細胞リンパ腫の中心をなすのは胚中心細胞由来と判断した。
- 5) 今回のT細胞リンパ腫は縦隔型のリンパ芽球性リンパ腫と免疫芽球性リンパ腫で、縦隔腫瘤形成を特徴としていた。腫瘍細胞は狭い細胞質、核の convolution および集合性デンスボディによって特徴づけられた。
免疫学的には SIg⁻、E-ロゼット⁺(CD2⁺) で、一部に double positive 細胞の可能性を示唆する CD4⁺、CD8⁺ の症例があった。これらのことから、縦隔型のT細胞リンパ腫は胸腺細胞由来と判断した。
- 6) 今回の non-T non-B 細胞リンパ腫は全身型のリンパ芽球性リンパ腫で、腫瘍細胞は免疫学的に SIg⁻、E-ロゼット⁻ (CD2⁻) および TdT⁺ であることから、骨髓幹細胞に近い未分化なリンパ系細胞に由来すると考えられた。

このように豚のリンパ腫は、ヒトのリンパ腫症例の所見と類似し、大部分が胚中心から発生したB細胞リンパ腫であった。

近年豚のリンパ腫の研究に関してわが国の研究者の業績が目立つ。その中であって、リンパ腫の分類はリンパ球の分化・発達段階を根拠にすべきだという認識に立つ著者の一連の研究は、豚のリンパ腫の免疫細胞学的特性の解明に先鞭をつけた。豚のリンパ腫は、さまざまな点でヒトのリンパ腫との類似が指摘され、比

較病理学的にも興味深いが、この研究は長期間にわたる絶えざる努力によって、好発腫瘍と言われつつも決して発生頻度が高いとは言えない豚のリンパ腫の病態解明を前進させたもので、博士（獣医学）の学位を付与するに相応しいものと評価する。