

牛 B 細胞性腫瘍の組織学的分類

門田耕一*, 石川義春

(平成 28 年 9 月 12 日 受付)

A proposal for the histological classification of B cell neoplasms in cattle

Koichi KADOTA* & Yoshiharu ISHIKAWA

序

動物のリンパ球の腫瘍は、人用の組織学的分類法に基づいて分類できるという意見がある。しかし、リンパ系腫瘍には組織学的な動物間種差があるため、人の分類をそのままあてはめることは難しい。牛ではリンパ系腫瘍は、牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus: BLV) 感染の有無、牛の年齢、腫瘍の形成部位に基づいて、4 つのタイプに分けられてきた。つまり、BLV が関与し成牛に発生する地方病性 (enzootic bovine leukosis: EBL)、子牛に発生する子牛型、胸腺が腫大する胸腺型、皮膚に腫瘍を作る皮膚型である¹⁾。ところが、これらに当てはまらない症例が存在している上に、BLV が蔓延している地域では、BLV 陽性の子牛型や胸腺型が認められる。さらに、BLV 関連リンパ腫が子牛においても発生している²⁾。本来、腫瘍の診断は病理組織学的に行うべきもので、単なるウイルスの感染や牛の年齢に基づいて診断することには無理がある。また、牛では骨髄性白血病的報告が少ないが、この理由として、多くの症例がリンパ系腫瘍と誤診されている可能性が高い。牛のリンパ系腫瘍は人や豚の症例とはかなり違っているが、病

理形態と免疫学的表現型に基づいて診断するという考え方は同じで、大部分の B 細胞性腫瘍では、正常 B 細胞の分化段階に対応した診断名が与えられる³⁾。今回、これまでに発表した症例と新たに入手した症例に基づいて、作成した B 細胞性腫瘍の組織学的分類を報告する。

材料と方法

家畜保健衛生所または食肉衛生検査所から送付された B 細胞性腫瘍症例のパラフィン包埋ブロックを薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色とギムザ染色を行った。さらに、免疫学的表現型を知るために、CD20 などのリンパ球のマーカーに対する免疫染色を実施した。一次抗体 (マウスモノクローナル抗体 [MAb] または兎ポリクローナル抗体) と反応させた後、ヒストファイン SAB-PO (MULTI) キット (Nichirei 社) を用いた。抗原の賦活化には、酵素処理 (0.05% ペプシン, 37 °C, 25 分) またはマイクロウェーブによる熱処理 (90 °C, 9 分) を行った。賦活化液の pH は 6.0 (BioGenex 社) または 9.0 (Dako 社) である。

免疫組織化学的マーカーの特徴

細胞形態の観察と同様に、免疫染色においても固定、切り出し、包埋、湯伸ばしにおける失敗は、染色結果に大きな影響を与える。しかし、状態のよくない標本でも、丹念に探せば陽性の腫瘍細胞が見つかることがある。非特異的反応の出にくい染色で、腫瘍細胞の存在する領域全体が薄く染まって見える場合 (低倍率で観察すると分かりやすい)、もっと状態のよい切片を調べれば陽性細胞が見つかる可能性がある。リンパ系腫瘍の場合、腫瘍

農研機構 動物衛生研究部門 北海道研究拠点

文責: 門田耕一

* Corresponding author: Koichi KADOTA
Hokkaido Research Station, National Institute of Animal Health,
NARO
4 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo 062-0045, JAPAN
Tel: 011-851-5226
E-mail: kkadota@affrc.go.jp

細胞が変性や壊死を起こしやすいため、染まらないこともある。また、残存した正常リンパ球や腫瘍に対する反応性 T 細胞が数的に優位を占める場合、誤った判断をする可能性もある。したがって、腫瘍細胞の形態学的な同定が重要である。リンパ造血系の正常細胞は腫瘍組織中に認められることが多いため、コントロールとして使うことができる。

CD20: 兎ポリクローナル抗体 (Spring Bioscience 社): B 細胞のマーカーで、死後変化があっても (死亡した症例または固定液が浸透してくるまでに時間がかかった部位を採材した場合)、よく染まる。多くの場合、細胞膜が陽性となる。抗原賦活化のための前処理は不要である。

CD79a: MAb HM57 (Dako 社): B 細胞のマーカーで、死後変化がある場合は、染まらない。細胞質が陽性となるが、稀に細胞膜だけが陽性になることがある。通常は、低 pH の抗原賦活液を使用する。高 pH の緩衝液では染まりが強くなるが、細胞形態にダメージを与える。

CD3: 兎ポリクローナル抗体 (Dako 社): T 細胞のマーカーで (厳密に言うと、ナチュラルキラー細胞でも陽性)、死後変化の影響を受けにくい、非特異的反応が出やすいため、判定に苦労することがある。通常、細胞質が染まるが、細胞膜だけが染まることもある。前処理にはペプシンを使用するが、熱による抗原賦活化法でも染まる。別のメーカーのポリクローナル抗体 (Spring Bioscience 社) も使用することができる。

CD5: 兎ポリクローナル抗体 (Thermo Scientific 社): T 細胞と B1-B 細胞 (B1 細胞) のマーカーで、死後変化の影響を CD79a よりも受ける。細胞膜が染まることが多いが、ゴルジ野も染まることもある。細胞質がバックグラウンド以上で弱く染まることもある。B1 細胞は T 細胞よりも染まりが弱い傾向にある。このマーカーは腫瘍化と関連して脱落することが多く、しかも正常または反応性の T 細胞も陽性となるため、B 細胞性腫瘍が CD5 陽性かどうかの判定が難しいことがある。心耳のように正常または反応性のリンパ球が少ない部位を観察すると判定しやすい。細胞質において泡状または顆粒状の強陽性像が認められる場合 (非特異的反応)、一次抗体の濃度を下げる。前処理には、低 pH の抗原賦活液を用いる。

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): 兎ポリクローナル抗体 (Dako 社): 未熟なリンパ球のマーカーで、死後変化があると染まらないが、長期固定の影響は受けにくい。核が染まるが、染まりがよすぎて細胞質も染まっているように見えることがある。

抗原の賦活化には高 pH の緩衝液を用いるべきである。Abcam 社の抗体 (ab14772) も使用可能である。

細胞質内免疫グロブリン (cIg): 胚中心細胞以降の分化段階で、出現する。死後変化があると染まらなくなるか、または非特異的反応が強くなる。軽鎖の場合、人の軽鎖に対して作ったポリクローナル抗体 (Fitzgerald 社) が使えるが (前処理は不要)、どのメーカー製でもよいわけではない。牛では正常の cIg 陽性細胞の大部分が λ 鎖陽性で、腫瘍においてもほとんどの症例が λ 鎖陽性となる。重鎖染色の場合、牛の重鎖に対して作った抗体を用いる必要がある (Bethyl 社) (前処理はペプシン)。例えば、抗 IgM (H&L) として市販されている抗体では、 μ 鎖だけでなく軽鎖に対する反応が起こる可能性があるため、 μ 鎖か IgM (Fc) を抗原とした抗体を使うべきである。軽鎖染色の方がきれいに染まることから、Ig 産生能の判定は軽鎖染色に基づいた方がよい。

組織学的分類

いずれの組織型の B 細胞性腫瘍においても、CD20、CD79a が陽性、CD3 が陰性となる。未熟なリンパ球に由来する腫瘍は TdT が陽性で、成熟リンパ球の腫瘍は濾胞性リンパ腫以降の分化段階で cIg が陽性となる。末梢性 B 細胞性腫瘍では CD5 陽性例が多く、B1 細胞由来と考えられる。リンパ腫の場合、原発巣の方が細胞の特徴を把握しやすく、マーカーの脱落の程度も軽い。腫瘍の分類は便宜的に作られたもので、2つの組織型の中間に位置する腫瘍や定義に完全には一致しない症例にも注意が必要である。

前駆 B リンパ芽球性白血病 (急性 B リンパ球性白血病)^{2,4,5)}: 胎子を含む子牛に主に発生するが、成牛でも稀に認められる。病変の主座が血管内のため、早期から血管内に腫瘍細胞が出現し、白血球数 (WBC) の増加が認められる。組織学的には肺の毛細血管内や脾洞内において、多数の腫瘍細胞を観察することができる。白血病の末期には、体の様々な部位で血管性の腫瘍細胞浸潤が起こり、やや大きな腫瘤に移行することがある。

細胞学的には、大型細胞が主体となる場合と大型細胞と中型細胞が混在する場合がある。多くの症例では、円形~類円形の核と中等度に凝集したクロマチンを有し、核小体の大きさは様々で、大型核小体を有する細胞もある (図 1A)。細胞質の広さも様々で、比較的豊かな細胞質を持つ細胞がある。核小体が目立たず、クロマチン網が比較的繊細な症例もあるが、細胞質は比較的豊富である (図 1B)。免疫染色では CD20 (図 2A) と CD79a が

陽性で、TdT (図 2B) も陽性となる。しかし、大部分の症例で TdT 陽性細胞の数は少なく、死後変化の少ない領域で丹念に観察する必要がある(安易に陰性と判断しない)。以上の組織学的特徴に基づけば組織学診断は容易で、骨髓がなくても診断は可能である。

胸腺型 B 細胞性リンパ腫^{2,4)}：縦隔腫瘍を肉眼的な特徴とし、胸腺に原発する。場所によっては、間質の線維化がある。腫瘍は主に大型細胞から成り、小さい核小体、繊細で均等に分布するクロマチン、乏しい細胞質を特徴とする(図 3A)。リンパ節では、この特徴が目立たなくなっていることがある。B 細胞のマーカーと TdT が陽性となるが、標本の状態がよければ TdT の観察は容易である(図 3B)。

前駆 B リンパ芽球性リンパ腫：全身に病変が分布していても、WBC の増加が目立たない。縦隔腫瘍を肉眼的に認めないが、胸腺への浸潤はあり得る。胸腺型 B 細胞性リンパ腫と同様の細胞学的特徴と免疫学的表現型が認められる(図 4A, 4B)。人の症例とは異なり、細胞学的に前駆 B リンパ芽球性白血病とは似ていない。

前駆 B1 細胞性リンパ腫⁶⁾：皮下および腹腔内に腫瘤を形成した症例では、細胞学的に腫瘍細胞は大型～中型で、クロマチンは比較的繊細で、核小体はあまり目立たず、細胞質は乏しい傾向にあるが(図 5A)、核は軽度不整である。固定の良好な部位において TdT の観察は容易であるが(図 5B)、CD5 の判定は簡単ではない。脊髄硬膜外に原発した症例でも、細胞学的、免疫組織化学的特徴は同様で(図 6A, 6B)、少数の CD5 陽性腫瘍細胞が確認される。これらの症例は胸腺型 B 細胞性リンパ腫や前駆 B リンパ芽球性リンパ腫と比べると、細胞の大きさは均一ではなく、やや不整な核が多く、様々な組織型との鑑別が問題となるが、TdT 染色により確定診断することが可能である。

多形型 B 細胞性リンパ腫^{2,4,5,7,8)}：細胞学的な多形性と異型性を特徴とし、BLV が原因として関与している。病気の初期には白血化していない典型的なリンパ腫で、末期になると WBC が急速に増加してくる。脾臓や肝臓では末期に急速に腫瘍化が進行することが多い。腹腔またはリンパ節に原発する症例が多い。胸腺や骨髓に腫瘍細胞が浸潤することがある。細胞学的な特徴としては、以下の 3 つが挙げられ、いずれか 1 つが該当すれば多形型に分類されるが、大部分の症例で複数の細胞学的特徴が認められる。多形型以外のリンパ系腫瘍の組織学的特徴を把握することにより、多形型の診断の精度はさらに高まる(多数の症例を経験することが重要)。

①高度の異型性を示す大型腫瘍細胞が増殖している(図 7A)。

②場所によって、腫瘍細胞の大きさや形態に極端な差がある(図 7A, 7B)。このような現象は 1 つの病巣においても認められることがある。HE 染色(図 8A, 8B)や免疫染色を実施し(図 9A-9C)、サイズの差があると思われる領域の写真を撮って、並べて見ると分かりやすい。

③腫瘍細胞は比較的小さいが、核の輪郭が高度に不規則である(図 10A)。

多形型を示唆する所見としてはやや弱いですが、1 つの視野において腫瘍細胞の大きさが極端に異なっているか(図 10B)、または均等な大きさの腫瘍細胞から成る領域において極度に大きな腫瘍細胞が 1～2 個出現する場合(図 11A, 11B)、多形型の可能性が高い。リンパ節では反応性の大型 T 細胞が出現することがあるので、極度に大きな細胞において CD20 陽性像を確認するとよい。CD20 (図 12A) や CD79a 以外に CD5 (図 12B) も陽性になるが、腫瘍化に伴うマーカーの脱落や不適切な標本作製により CD5 の確認ができないことがある。CD5 陽性腫瘍細胞が少数しかない場合は、連続切片を作って 1 つの腫瘍細胞における CD20 と CD5 の発現(または CD5 陽性で CD3 陰性であることを)を確認するとよい(写真を撮って並べると確認しやすい)。腫瘍細胞による赤血球の貪食が目立つ症例があるが、この現象は $\gamma\delta$ T 細胞性リンパ腫、胸腺型リンパ腫、リンパ芽球性白血病などの他の組織型でも認められることがあり、多形型の特徴とは言えない。現時点で、多形型と診断した子牛のうち、最も若い症例は 54 日齢で、1 ヶ月齢の時に既に両方の耳下リンパ節が腫大しており、腫瘍化は胎子期に始まったと考えられる。

B1 細胞性リンパ腫^{4,9)}：大脳原発例(図 13)と皮膚型の報告がある。どちらの症例でも大型細胞が主体で、核は円形～類円形で、核小体は小さいか中等度の大きさで、クロマチンは軽度～中等度に凝集し、中等量の細胞質を持つ(図 14A, 14B)。原因学的に BLV とは無関係だが、皮膚の症例は多形性、異型性が脳の症例よりも強いいため、BLV が陽性であった場合は、多形性と異型性があまり強くない多形型との鑑別が難しい。

マントル細胞性リンパ腫：マントルゾーンパターン(図 15)だけでなく、結節性増殖やシート状増殖も認められ、最終的にはびまん性増殖を示す。多形型リンパ腫への移行があり(図 16)、BLV が関与していると考えられる。腫瘍細胞の大きさは中型で、核は円形～類円形で、核小体は目立たないか中等度の大きさで、クロマチンは軽度

に凝集し、中等量の細胞質を有している (図 17A)。免疫染色では、CD20 (図 17B), CD79a, CD5 が陽性で、人のマントル細胞性リンパ腫のマーカーである cyclin D1 も陽性となる (ただし、間質の細胞も染まるので、判定は容易ではない)。BLV とは無関係なマントル細胞性リンパ腫も存在していると考えられる。

濾胞性リンパ腫¹⁰⁾ : 発表済みの 2 症例では、腫瘍細胞は胚中心様 (濾胞様) 結節を形成する (図 18)。腫瘍細胞の大きさは中型で、核小体は比較的目立ち、クロマチンの凝集は軽度で、細胞質は比較的乏しい (核細胞質比が大きい) (図 19A)。異型な細胞に見えるが、同じような大きさや形態の細胞が単調に増殖している。免疫組織化学的には、CD20 や CD79a が陽性で、一部の腫瘍細胞は IgM (λ) を産生する (図 19B)。

体表リンパ節が腫瘍化し、胚中心様構造を認めた症例では (図 20A)、上記の症例とはまったく違った腫瘍細胞の増殖が認められた。腫瘍細胞の大きさは大型～中型で、円形～類円形の核を有し、核小体は小さいか中等度で、クロマチンは中等度に凝集し、細胞質は中等量か比較的広い (図 20B)。炎症時の濾胞過形成とは異なり、間質における大食細胞の反応はあまり目立たない。免疫組織化学的には、CD5 は陰性で cIg は一部の腫瘍細胞に陽性である。腫瘍病変は主に体表リンパ節に存在し、初期病変の可能性が考えられる。3 例とも BLV 陽性で、うち 2 例は細胞学的異型度が高いことから、BLV との関係は否定できない。しかし、BLV とは無関係な濾胞性リンパ腫も存在していると考えられる。

リンパ形質細胞様リンパ腫^{5, 11)} : 細胞質の乏しいリンパ球様細胞と細胞質が豊富で核が偏在する形質細胞様細胞から成るが、免疫芽球に似た細胞も認められる (図 21A)。形質細胞様細胞の核は、リンパ球様細胞の核に似ている。腫瘍細胞は CD5 が陽性で、形質細胞への分化を示す細胞では、IgM の産生が認められる (図 21B)。早い時期から白血化する傾向にある。このような分化段階の異なる多種類の細胞から成る場合は、多種類性 polymorphism と表現すべきで、多形性 pleomorphism との表現は妥当ではない。人では慢性リンパ性白血病／小リンパ球性リンパ腫に含まれ、形質細胞への分化が見られるが、細胞形態は牛の症例とは異なっている。

リンパ形質細胞性リンパ腫⁴⁾ : リンパ球様細胞と形質細胞に似た細胞から成り、免疫芽球に似た大型細胞もある。形質細胞への分化を示す細胞では、核は形質細胞を思わせる。正常の形質細胞よりも細胞質が豊富ではないことが多いが (図 22A)、IgM の産生能を有する (図 22B)。

CD5 は陰性である。

免疫芽球性リンパ腫⁴⁾ : 大きな核小体と豊富な細胞質を特徴とするが (図 23A)、人の免疫芽球性リンパ腫とは異なり、典型的な免疫芽球はそれほど多くない。cIg が陽性となるが、典型的な免疫芽球よりも核が偏在した細胞の方がよく染まる傾向にある (図 23B)。

形質細胞腫 (骨髓腫)¹²⁾ : 1 例のみ報告があり、骨髓に腫瘍性形質細胞が認められたことから骨髓腫と診断された。どの腫瘍細胞も細胞質が豊富で形質細胞または形質芽球に類似している (図 24A)。cIg が陽性となるが (図 24B)、すべての腫瘍細胞が染まるわけではない。

末梢 B 細胞性リンパ腫, 非特異型 : 末梢 B 細胞性腫瘍のうち、他の組織型に分類できなかった症例がこのカテゴリーに入る。BLV 陽性だが細胞学的に多形型と断定できない症例もある。ただし、BLV のコピー数が多ければ¹³⁾、BLV 関連末梢 B 細胞性リンパ腫、非特異型とする。PCR 用サンプルは、インタクトな腫瘍性 B 細胞が充満した組織から採材するとよい。

まとめ

細胞形態と免疫学的表現型に基づき、牛の B 細胞性腫瘍は 13 の組織型に分類できる。ただし、死後変化や標本の作製に問題があると、細胞形態の把握が困難になり、腫瘍細胞が免疫染色で染まらなくなるため組織学的診断は難しい。BLV の感染率が低い地域では、今回の分類と BLV 感染の有無を調べることで、ほぼ完全にリンパ系腫瘍を組織学的に診断できる。しかし、濃厚汚染地帯では様々な組織型で BLV が陽性となり、多形性を疑うが多形性と異型性の程度がそれほど強くない症例に遭遇する機会が増す。図 8 の症例は形態学的に典型的な多形型リンパ腫で、リンパ節はほぼ完全に腫瘍化しており、BLV コピー数が高値を示すのは当然と言える。一方、多形型の特徴の出方が弱い症例では、BLV の高コピー数はこのウイルスの関与を支持する所見として有用である。ただし、人の成人 T 細胞性白血病／リンパ腫におけるレトロウイルスと同様に^{14, 15)}、1 個の腫瘍細胞に 1 つのプロウイルスが組み込まれている場合だけでなく、複数のプロウイルスが組み込まれた腫瘍細胞の存在も考えられる。BLV 感染牛では、腫瘍化とは無関係に血中のコピー数が異常な高値を示すことがあり、組織学的な診断がないにも関わらず、高コピー数と B 細胞のマーカーのみに基づいて診断することは、科学的根拠を欠くと言える。腫瘍化していないリンパ節でも、B リンパ球は多数存在している。また、BLV と無関係な組織

型の B 細胞性腫瘍の多くで、正常の B 細胞領域が残存している。このような非腫瘍性の B リンパ球が高コピー数の原因となる可能性があることから、病理組織学的な診断を行い、壊死した腫瘍細胞の数や正常リンパ球の割合などを確認しておくことが重要である。

人では、大型の腫瘍性 B 細胞から成るびまん性リンパ腫の発生頻度は高いが、細胞起源が不明なことも多く、雑多なリンパ腫を含んだ“くずかご”的なカテゴリーとなっている^{3,16)}。さらに、T 細胞性リンパ腫においても、明確な疾病単位 (disease entity) として定義できない症例があり、末梢性 T 細胞性リンパ腫、非特異型というカテゴリーを設けている。そこで、“くずかご”的な組織型として、末梢 B 細胞性リンパ腫、非特異型を作ったが、新しい組織型と言える症例が見つかった時には、分類に新しいカテゴリーを追加していく必要がある。人の悪性リンパ腫の分類を歴史的に見ると、Rappaport の分類から数々の変遷を経て新 WHO 分類に至っているが、基本的には Lennert の Kiel 分類の流れを汲んでいる¹⁶⁾。豚のリンパ系腫瘍は人の症例と比較的類似しており¹⁷⁾、例えば、濾胞性リンパ腫はそれほど稀ではなく、印環細胞リンパ腫は人の症例と非常によく似ており^{18,19)}、人の分類や記載が大いに参考となる。一方、牛の症例では、BLV による B 細胞性リンパ腫が存在している上に、濾胞性リンパ腫はきわめて稀にしか発生せず、しかも人の症例とは細胞学的に似ておらず、T 細胞性腫瘍では $\gamma\delta$ T 細胞性リンパ腫の発生が多いなどの人の症例とは相当に異なった特徴がある。そこで、牛のリンパ系腫瘍の分類を試みた。今後、人の分類と同様に既知の症例のデータの蓄積や新たな症例の追加によって、牛の分類が改良されていくことが期待される。

参考文献

- 1) Theilen, G. H. & Madewell, B. R.: Bovine. In: Veterinary Cancer Medicine (Theilen, G. H. & Madewell, B. R. eds.), 2nd ed. Lea & Febiger, Philadelphia. 408-430 (1987).
- 2) Kagawa, Y., Tomita, K., Nakatani, H., et al.: Immunohistochemical characterization of five types of lymphoid neoplasms in calves. *Jpn. Agric. Res. Quart.* 43, 239-245 (2009).
- 3) 木崎昌弘, 押味和夫編: 新 WHO 分類による白血病・リンパ系腫瘍の病態学. 中外医学社, 東京 (2004).
- 4) Murayama, S., Sato, K., Ikehata, T., et al.: Cytologic and immunophenotypic investigation of lymphohematopoietic neoplasms in cattle. *Jpn. Agric. Res. Quart.* 45, 225-231 (2011).
- 5) 萩原晶代, 齊藤守弘, 石川義春, 他: 牛白血病ウイルス感染牛におけるリンパ系腫瘍の組織学的検討. *日獣会誌.* 67, 199-203 (2014).
- 6) Yamamoto, S., Wada, Y., Ishikawa, Y., et al.: Precursor B-1 B cell lymphoma in a newborn calf. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19, 447-450 (2007).
- 7) Abe, Y., Shoji, H., Ota, K., et al.: Immunohistochemical study of lymphomas of abdominal cavity origin in two cows with bovine leukemia virus. *Jpn. Agric. Res. Quart.* 41, 153-156 (2007).
- 8) Iwama, Y., Inomata, T., Ishikawa, Y., et al.: Cytology of B cell lymphomas in cattle infected with bovine leukosis virus. *Jpn. Agric. Res. Quart.* 47, 103-107 (2013).
- 9) Anjiki, T., Kagawa, Y., Ishikawa, Y., et al.: Immunohistochemical study on cutaneous B cell lymphoma in two cows. *Jpn. Agric. Res. Quart.* 43, 33-36 (2009).
- 10) Ishino, S., Kadota, K., Yoshino, T., et al.: Pathological and immunohistochemical studies of follicular lymphoma in two calves. *J. Comp. Pathol.* 103, 265-275 (1990).
- 11) Honda, H., Ishikawa, Y. & Kadota, K.: Lymphoplasmacytoid lymphoma in a cow. *J. Vet. Med. Sci.* 71, 673-676 (2009).
- 12) Kameyama, M., Ishikawa, Y., Shibahara, T., et al.: Plasma cell myeloma producing IgG, IgM, and IgA immunoglobulins in a cow. *J. Vet. Diagn. Invest.* 15, 166-169 (2003).
- 13) Somura, Y., Sugiyama, E., Fujikawa, H., et al.: Comparison of the copy numbers of bovine leukemia virus in the lymph nodes of cattle with enzootic bovine leukosis and cattle with latent infection. *Arch. Virol.* 159, 2693-2697 (2014).
- 14) Shimamoto, Y.: Clinical indications of multiple integrations of human T-cell lymphotropic virus type I proviral DNA in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk. Lymphoma.* 27, 43-51 (1997).
- 15) Yamamoto, I., Takajo, I., Umeki, K., et al.: Multiple integrations of human T-lymphotropic virus type 1 proviruses in the engrafted cells from the asymptomatic carriers in NOD/SCID/ γc^{null} mice.

- Intervirology, 53, 229-239 (2010).
- 16) 菊池昌弘, 森 茂郎編: 最新・悪性リンパ腫アトラス. 文光堂, 東京 (2004).
- 17) Ogihara, K., Ohba, T., Takai, H., et al.: Lymphoid neoplasms in swine. J. Vet. Med. Sci. 74, 149-154 (2012).
- 18) Kadota, K. & Niibori, S.: A case of swine follicular lymphoma with intracytoplasmic immunoglobulin inclusions. J. Comp. Pathol. 95, 599-608 (1985).
- 19) Nishijo, S., Ogihara, K., Ishikawa, Y., et al.: Signet ring cell lymphoma with plasmacytic differentiation in a pig. J. Vet. Med. Sci. 75, 799-802 (2013).

Summary

A proposal for the histological classification of B cell neoplasms in cattle

Koichi KADOTA* & Yoshiharu ISHIKAWA

Bovine lymphoid neoplasms are classifiable based on histology and immunohistochemistry. B cell neoplasms are divided into 4 histological types of immature B cell origin and 9 types of mature B cell origin.

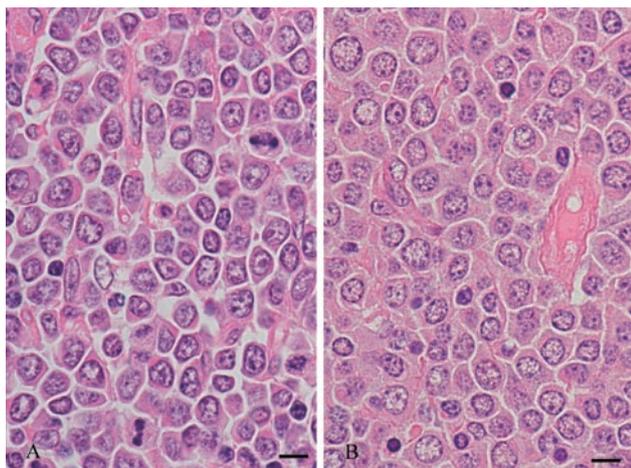


図 1A. 前駆 B リンパ芽球性白血病。ホルスタイン(H)種、雌、70日齢、BLV 陰性。胸腺、HE 染色、Bar = 5 μ m。腫瘍細胞の大きさはいろいろで、中等量の細胞質と比較的大きな核小体を持つ大型細胞が見られる⁴⁾。

図 1B. 前駆 B リンパ芽球性白血病。黒毛和種(JB)、去勢雄、30ヶ月齢、BLV 陽性。耳下リンパ節、HE 染色、Bar = 5 μ m。クロマチン網は比較的繊細で核小体も目立たないが、中等量の細胞質を持つ細胞が多い⁵⁾。

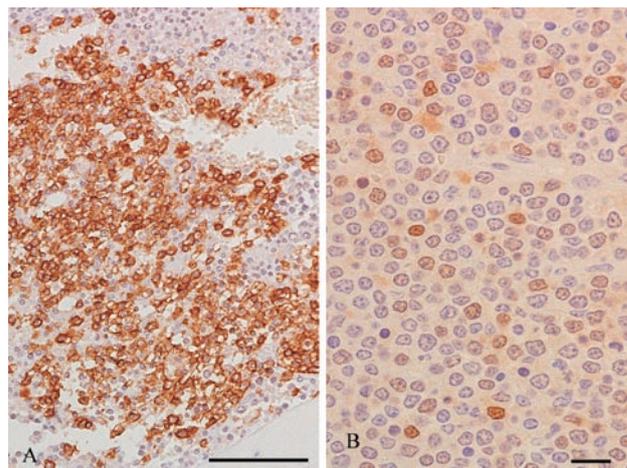


図 2A. 前駆 B リンパ芽球性白血病。JB 種、去勢雄、15ヶ月齢。胸骨骨髓、CD20 染色、Bar = 50 μ m。骨髓内に陽性の腫瘍細胞が多数認められる。右下には骨梁が見える。(鳥取県 岡田綾子)

図 2B. 前駆 B リンパ芽球性白血病。JB 種、予定日より 20 日前に死産した胎子、BLV 陰性。左深頸リンパ節、TdT 染色、Bar = 10 μ m。年が若いほど TdT 陽性細胞が多くなる傾向があり、この症例では例外的に陽性細胞が多い。(大分県 河上 友)

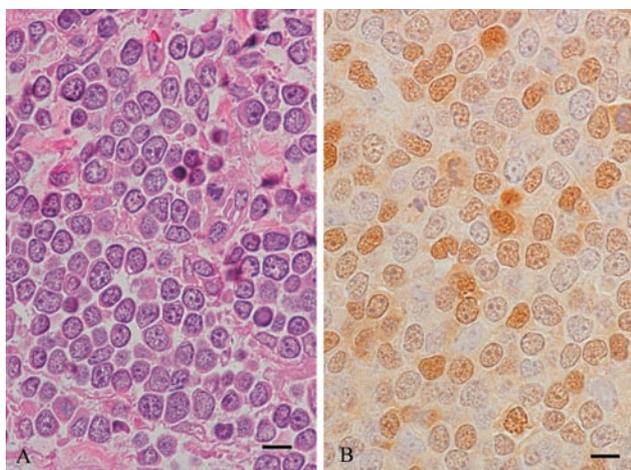


図 3A. 胸腺型 B 細胞性リンパ腫。H 種、雌、183日齢、BLV 陰性。胸腺、HE 染色、Bar = 5 μ m。クロマチン網が繊細に均等に分布し、核小体が目立たない細胞が多い。リンパ芽球性白血病とは違って、細胞質は乏しい。(北海道 藤本彩子)

図 3B. 図 3A と同じ症例。胸腺、TdT 染色、Bar = 5 μ m。多数の陽性細胞が見られるが、すべてが陽性とはならない。

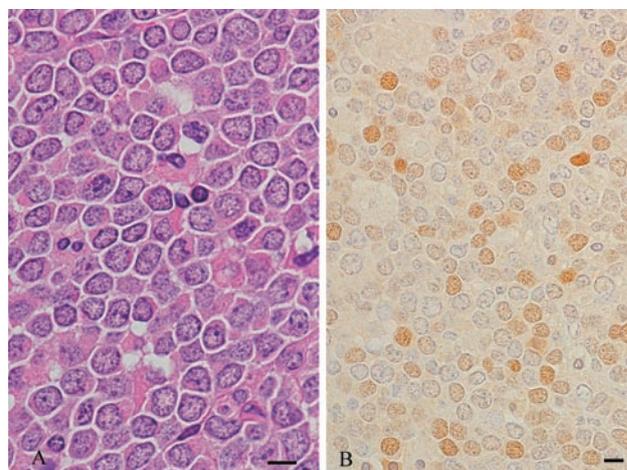


図 4A. 前駆 B リンパ芽球性リンパ腫。JB x H 種、7ヶ月齢、BLV 陽性。腸骨下リンパ節、HE 染色、Bar = 5 μ m。クロマチン網は繊細で均等に分布し、核小体は非常に小さい。

図 4B. 図 4A と同じ症例。腸骨下リンパ節、TdT 染色、Bar = 5 μ m。多数の腫瘍細胞が陽性に染まっているが、染まらない細胞もある。

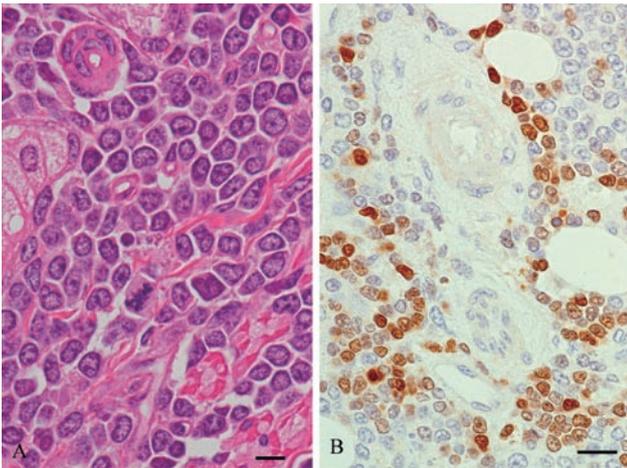


図5A. 前駆B1細胞性リンパ腫。H種, 雌, 新生子牛。皮下腫瘍, HE染色, Bar = 5 μ m。表皮向性は認められない。クロマチン網は比較的繊細で核小体もあまり目立たないが, 核の輪郭は軽度に不規則である⁶⁾。

図5B. 図5Aと同じ症例。皮下腫瘍, TdT染色, Bar = 10 μ m。固定時に血管の周囲では固定液の浸透が早く起こるため, この部位で多数の陽性細胞が認められる。生体内では, 他の部位よりも腫瘍細胞が変性や壊死に陥りにくい点も良好な染色性と関係がある。

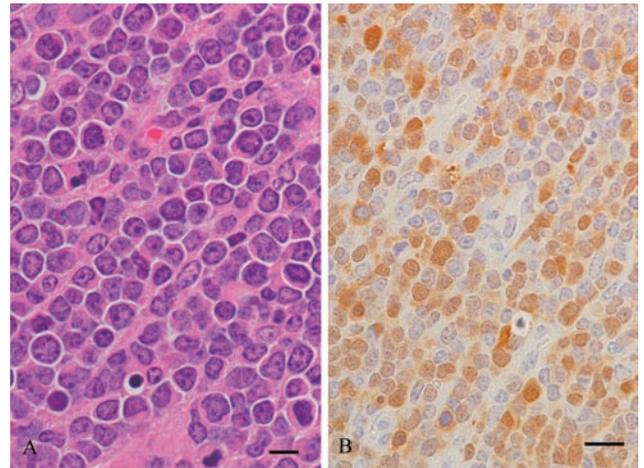


図6A. 前駆B1細胞性リンパ腫。黒毛和種, 雄, 19ヶ月齢, BLV陰性。脊髄硬膜外腫瘍, HE染色, Bar = 5 μ m。腫瘍組織のほとんどが壊死しているため, 比較的良好なこの部分でも, 図5Aよりも細胞の状態が悪くて所見が取りづらい。しかし, 軽度に不規則な核を持つ腫瘍細胞が目立ち, 細胞質は胸腺型の腫瘍細胞よりも広い傾向にあることが分かる。(鳥取県 岡田綾子)

図6B. 図6Aと同じ症例。脊髄硬膜下腫瘍, TdT染色, Bar = 10 μ m。多数の陽性細胞が認められ, 未熟リンパ球に由来することが明白である。

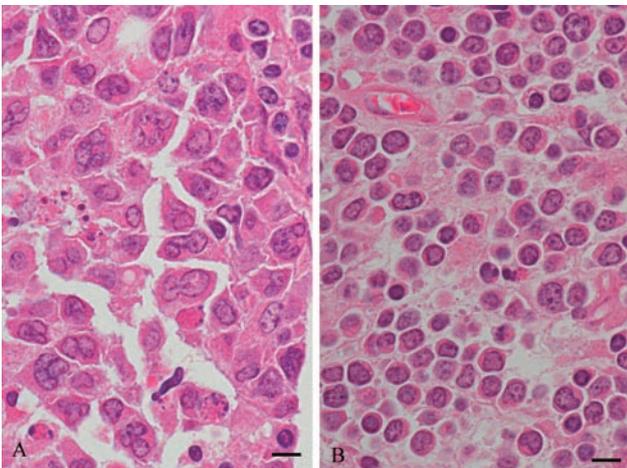


図7A. 多形型B細胞性リンパ腫。H種, 雌, 成牛, BLV陽性。内側腸骨リンパ節, HE染色, Bar = 5 μ m。このリンパ節は, 異型核を有する大型腫瘍細胞から成る。多形型の腫瘍細胞は特に壊死しやすい⁸⁾。

図7B. 図7Aと同じ症例。腸間膜, HE染色, Bar = 5 μ m。この領域では, 円形~類円形の核を持つ比較的小型の腫瘍細胞が主に増殖している。

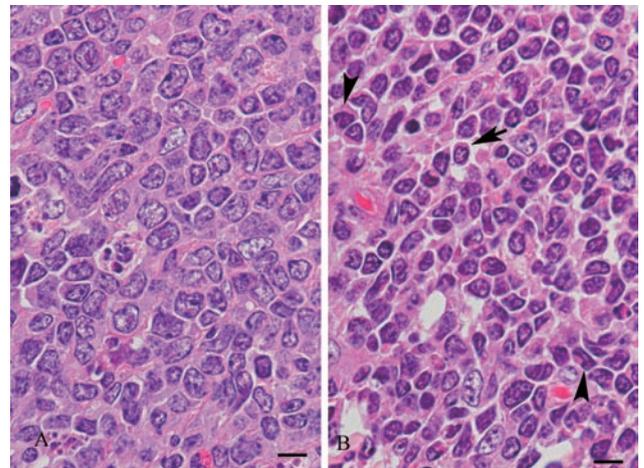


図8A. 多形型B細胞性リンパ腫。JB種, 雌, 4, 5ヶ月齢, BLV陽性。腸骨下リンパ節, HE染色, Bar = 5 μ m。この場所では, 大型腫瘍細胞が比較的多い。BLVのコピー数は8,037/100 ng DNAである。(静岡県 金森健太)

図8B. 図8Aと同じ症例。心臓, HE染色, Bar = 5 μ m。図8Aと比べると, 腫瘍細胞はより小さいだけでなく(矢印), 核の輪郭がしばしば不規則で, 矢頭で示すような核は多形型を強く示唆する(ただし, 状態の悪い標本だと, 核形が不規則または奇怪に見えることがあるので混同しないこと)。コピー数は994と比較的低値で, 心臓に浸潤している腫瘍細胞の数が少ないことの反映である。

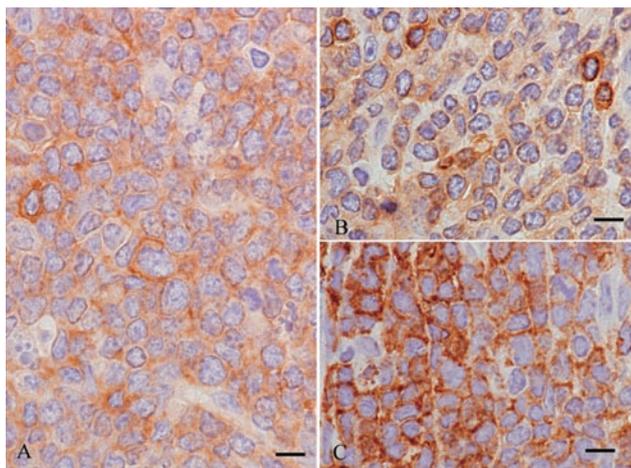


図 9A. 図 8A と同じ症例。腸骨下リンパ節, CD5 染色, Bar = 5 μ m。大型腫瘍細胞が優勢な領域で, 細胞膜が陽性に染まっている。

図 9B. 図 8A と同じ症例。心臓, CD5 染色, Bar = 5 μ m。一部の小型腫瘍細胞が強く陽性に染まっているが, その他の腫瘍細胞の染色性は弱く, 細胞膜が染まっているかどうか分かりにくい。

図 9C. 図 8A と同じ症例。浅頸リンパ節, CD20 染色, Bar = 5 μ m。CD5 だけでなく CD20 も陽性に染まっているので, B1 細胞由来である。このリンパ節では, コピー数は 18,059 と高値である。

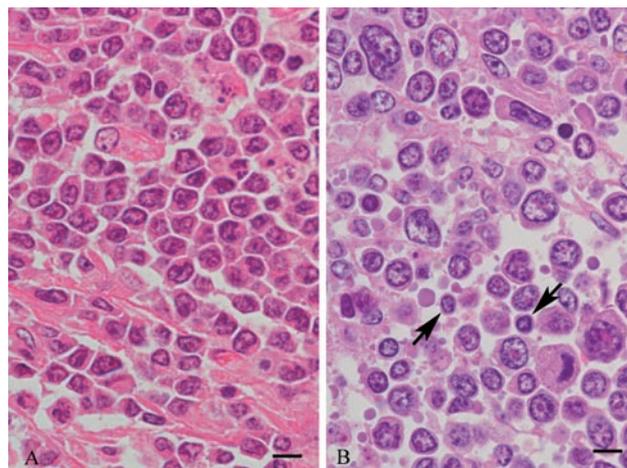


図 10A. 多形型 B 細胞性リンパ腫。H 種, 雌, 29 ヶ月齢, BLV 陽性。腸付属リンパ節, Bar = 5 μ m。腫瘍細胞は比較的小さいが, 核の輪郭は高度に不規則である⁸⁾。

図 10B. 多形型 B 細胞性リンパ腫。JB × H 種, 去勢雄, 5 ヶ月齢, BLV 陽性。腎リンパ節, HE 染色, Bar = 5 μ m。小型腫瘍細胞 (矢印) と大型腫瘍細胞の大きさに極端な差がある。ただし, 小型の腫瘍細胞と正常のリンパ球との形態学的区別が簡単にできるぐらいでない, 多形型の診断は難しい。(岡山県 橋田明彦)

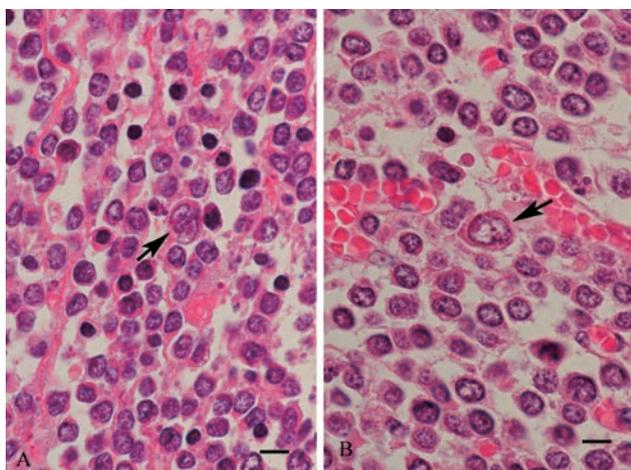


図 11A. 多形型 B 細胞性リンパ腫。H 種, 雌, 10 歳, BLV 陽性。腹腔内腫瘍, HE 染色, Bar = 5 μ m。比較的小型の腫瘍細胞から成る領域に, 大型異型細胞 (矢印) が 1 ~ 2 個認められることがある。濃縮核を有する小型細胞は, 正常のリンパ球や赤芽球ではなくて死んだ腫瘍細胞 (死後変化) なので, 組織所見には入れないこと⁵⁾。

図 11B. 図 11A の牛の胎子。皮下腫瘍, HE 染色, Bar = 5 μ m。親牛の腫瘍と同様に, 大型腫瘍細胞 (矢印) が出現し, 親牛の腫瘍が胎子に転移した可能性が高い。

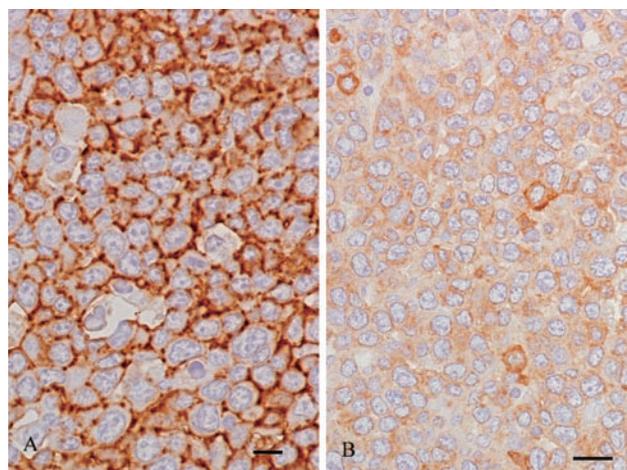


図 12A. 図 10B と同じ症例。そけいリンパ節, CD20 染色, Bar = 5 μ m。大型細胞 (下) や小型細胞 (上) があるが, 大きさに関係なくすべての腫瘍細胞が陽性に染まっている。

図 12B. 図 10B と同じ症例。腎リンパ節, CD5 染色, Bar = 10 μ m。一部の腫瘍細胞は強陽性だが (細胞学的に反応性の T 細胞ではない), 大部分の腫瘍細胞の染まりは弱い。

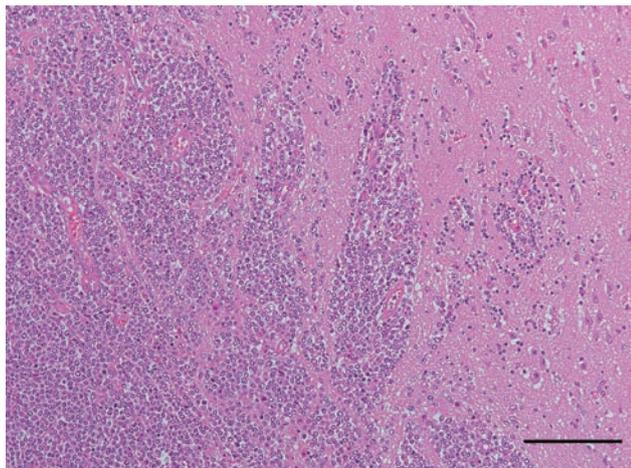


図13. 大脳原発のB1細胞性リンパ腫。H種, 雌, 13ヶ月齢。大脳, HE染色, Bar = 100 μ m。脳の実質(右)と腫瘍組織の境界部では, 血管周囲性の腫瘍細胞集簇が観察できる⁴⁾。

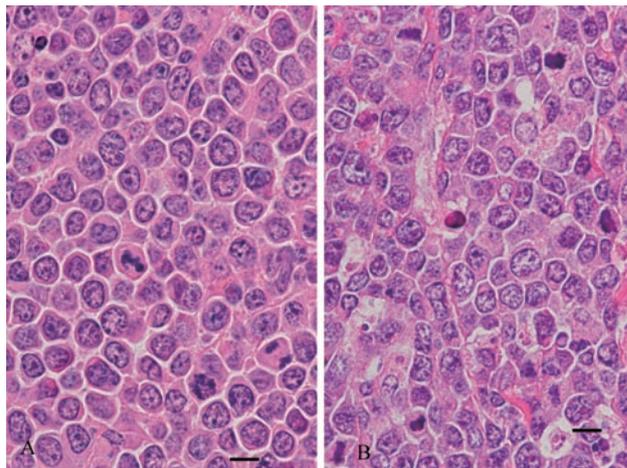


図14A. 図13と同じ症例。大脳, HE染色, Bar = 5 μ m。円形~類円形の核を有し, 核小体はあまり目立たない。

図14B. 皮膚のB1細胞性リンパ腫。H種, 雌, 9歳, BLV陰性。皮下腫瘍, HE染色, Bar = 5 μ m。大脳の症例よりも核の輪郭が不整で, 核小体が目立つ⁹⁾。

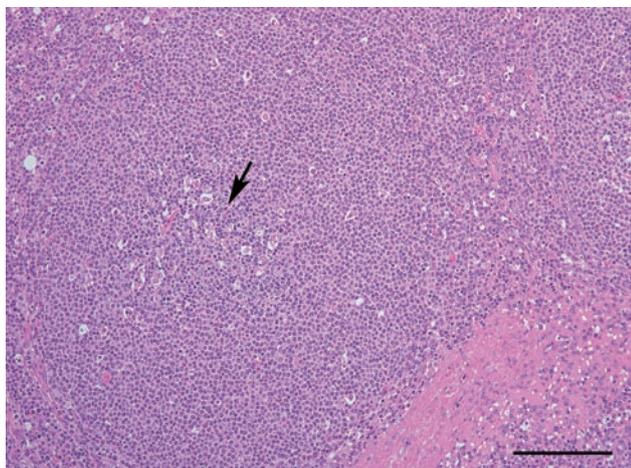


図15. マントル細胞性リンパ腫。JB x H種, 雌, 27ヶ月齢, BLV陽性。膝十二指腸リンパ節, HE染色, Bar = 100 μ m。このリンパ節はマントルゾーンパターンを示す腫瘍細胞から成り, マントルゾーンの中心部には既存の胚中心(矢印)が認められる。(埼玉県 萩原晶代)

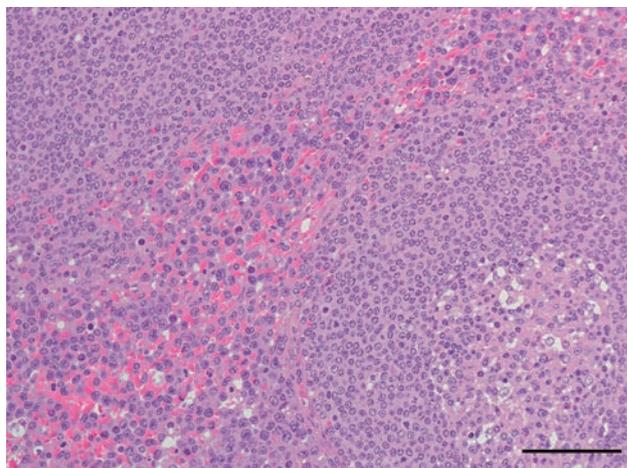


図16. 図15と同じ症例。腺部リンパ節, HE染色, Bar = 50 μ m。マントルゾーン間(左下, 右上)には, 多形型リンパ腫細胞が認められる。

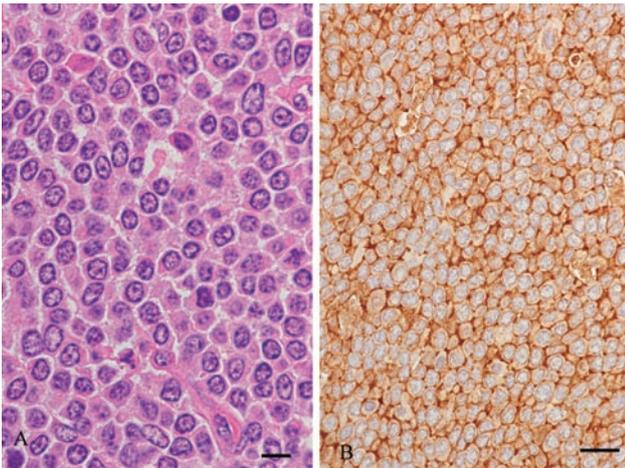


図 17A. 図 15 と同じ症例。十二指腸リンパ節, HE 染色, Bar = 5 μm 。マントルゾーン内にある腫瘍細胞は大きさや形態が比較的均一である。

図 17B. 図 15 と同じ症例。脾臓, CD20 染色, Bar = 10 μm 。均一な大きさの腫瘍細胞がほぼすべて陽性に染まっている。

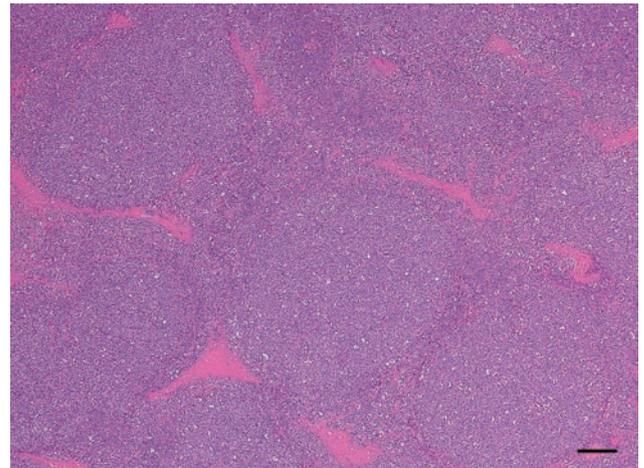


図 18. 濾胞性リンパ腫。H 種, 雌, 10 ヶ月齢, BLV 陽性。浅頸リンパ節, HE 染色, Bar = 100 μm 。このリンパ節は完全に腫瘍性濾胞により置換されている¹⁰⁾。

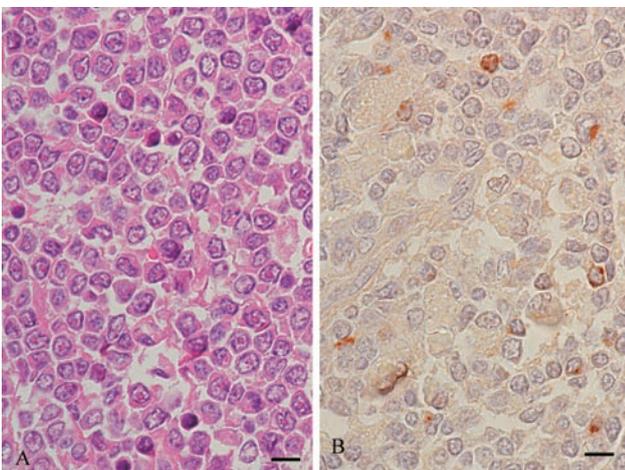


図 19A. 図 18 と同じ症例。浅頸リンパ節, HE 染色, Bar = 5 μm 。核小体が目立ち, 比較的乏しい細胞質を持つ腫瘍細胞が単調に増殖している。

図 19B. 図 18 と同じ症例。浅頸リンパ節, λ 鎖染色, Bar = 5 μm 。一部の腫瘍細胞に免疫グロブリンの産生が認められる。

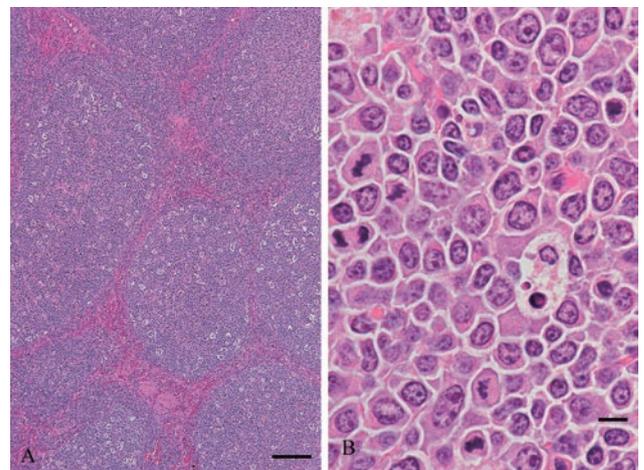


図 20A. 濾胞性リンパ腫。H 種, 雌, 3 歳, 頸部皮下リンパ節, HE 染色, Bar = 100 μm 。このリンパ節は胚中心様構造により置換されている。(富山県 横田利恵)

図 20B. 図 20A と同じ症例。頸部皮下リンパ節, HE 染色, Bar = 5 μm 。主に胚中心芽細胞に相当する細胞から成るが, より小型の胚中心細胞を思わせる細胞も存在する。

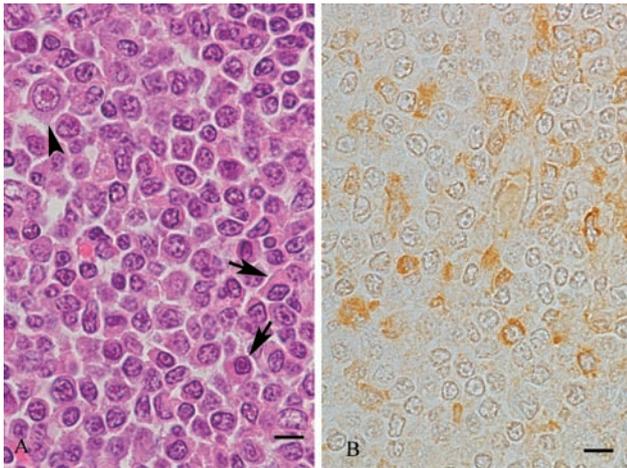


図 21A. リンパ形質細胞様リンパ腫。H 種, 雌, 8 歳, BLV 陽性。肝リンパ節, HE 染色, Bar = 5 μm 。細胞質の豊富な腫瘍細胞が認められるが (矢印), 核は形質細胞の様な車軸状核ではない。免疫芽球に類似する腫瘍細胞も観察される (矢頭)¹¹⁾。

図 21B. 図 21A と同じ症例。肝リンパ節, λ 鎖染色, Bar = 5 μm 。免疫グロブリンを産生している腫瘍細胞がある。

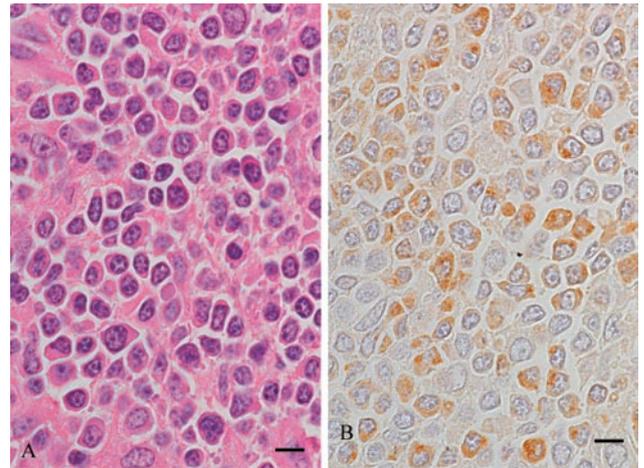


図 22A. リンパ形質細胞性リンパ腫。H 種, 雌, 9 歳, BLV 陰性。右腸骨下リンパ節, HE 染色, Bar = 5 μm 。核が偏在して形質細胞への分化を思わせる腫瘍細胞が見られるが, 細胞質はそれほど豊富ではない⁴⁾。

図 22B. 図 22A と同じ症例。右腸骨下リンパ節, λ 鎖染色, Bar = 5 μm 。この領域では cIg 陽性の腫瘍細胞が目立つが, 正常の形質細胞よりも細胞質が豊かではない細胞が多い。

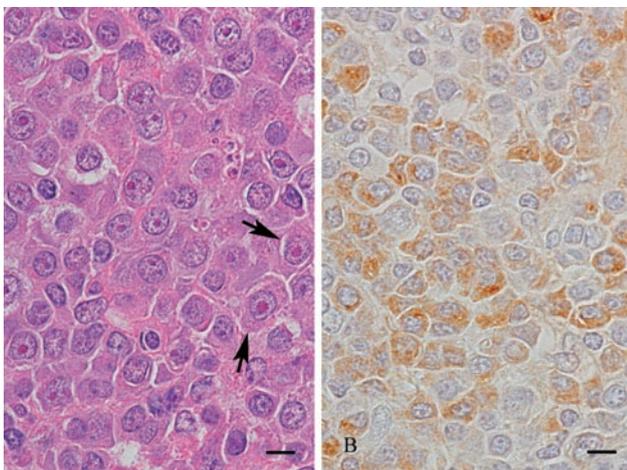


図 23A. 免疫芽球性リンパ腫。H 種, 雌, 28 ヶ月齢, BLV 陰性。浅そけいリンパ節, HE 染色, Bar = 5 μm 。典型的な免疫芽球様細胞は大型で, 核の中心に 1 個の明瞭な核小体を有し, 細胞質は比較的豊富である (矢印)⁴⁾。

図 23B. 図 23A と同じ症例。浅頸リンパ節, λ 鎖染色, Bar = 5 μm 。すべての腫瘍細胞が陽性になるわけではなく, 核が偏在して形質細胞への分化を思わせる細胞がよく染まる。

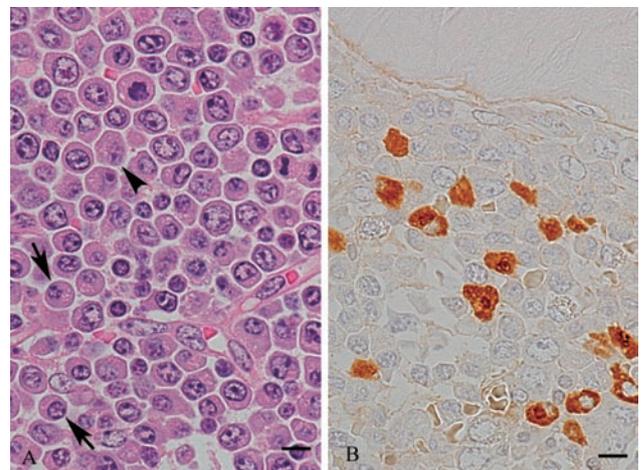


図 24A. 形質細胞腫 (骨髓腫)。H 種, 雌, 6 歳, BLV 陰性。後腸間膜リンパ節, HE 染色, Bar = 5 μm 。このリンパ節は腫瘍細胞によりほぼ完全に置換されている。矢印に示すような豊富な好塩基性細胞質と偏在した核を持つ細胞は, 形質細胞によく似ている。標本の状態が良好なので, 細胞質内に免疫グロブリンを含んだ粗面小胞体 (ラッセル小体になる直前) が観察できる (矢頭)¹²⁾。

図 24B. 図 24A と同じ症例。胸骨骨髓, λ 鎖染色, Bar = 5 μm 。骨髓腔内に免疫グロブリンを産生している腫瘍細胞が認められるが, すべての腫瘍性形質細胞が染まるわけではない。骨梁も観察される (上)。