

フトアゴヒゲトカゲの胃原発カルチノイドの3例

嘉手苺 将¹⁾ 鈴木哲也²⁾ 宇根有美^{1)†}

1) 麻布大学獣医学部 (〒252-5201 相模原市中央区淵野辺1-17-71)

2) 横浜市開業 (〒224-0026 横浜市都筑区南山田町4076-1)

(2010年4月19日受付・2010年9月2日受理)

要 約

フトアゴヒゲトカゲ (*Pogona vitticeps*) 3匹に胃カルチノイドを認めた。症例はすべて成体の雌で、いずれも肉眼的に胃に大型・貫壁性の腫瘍が観察され、症例3は肝転移を伴っていた。組織学的に、腫瘍組織は被膜を持たず胞巣状〜リボン状構造を作って浸潤性に増殖しており、症例2に偽花冠状配列もみられた。これらの腫瘍細胞は接着性に乏しく、狭小な細胞質と小型、濃染性、類円形の核をもつ細胞や、大型・明調でやや紡錘形の核を有する細胞が認められた。免疫染色で、全例の腫瘍細胞にクロモグラニンAとシナプトフィジンの存在が証明され、症例1のみサイトケラチンの発現がみられた。さらに、電子顕微鏡学的に、症例3の腫瘍細胞細胞質内に平均直径220nmの神経内分泌顆粒を観察した。——キーワード：フトアゴヒゲトカゲ、カルチノイド、胃。

----- 日獣会誌 63, 945~949 (2010)

フトアゴヒゲトカゲ (*Pogona vitticeps* : 以下PVとする) は、アガマ科アゴヒゲトカゲ属に属するオーストラリア原産の、頭尾長50cm前後のトカゲで、ペットとしては非常にポピュラーな種類であるが、原産国の厳しい輸出規制により、国内外で繁殖された個体のみが流通し、現在、非常に品種改良が進んでいる [1]。

カルチノイドは、消化管、肝臓、脾臓、肺、気管、膀胱などに多く分布する神経内分泌細胞に由来する腫瘍で、消化管に生じた腫瘍を胃腸管 (Gastrointestinal) カルチノイド (GI carcinoid) といい [2]、動物での発生はまれである。

爬虫類では、代謝性骨疾患 [3] や感染症 [4-6] などの疾患が一般的で、腫瘍性疾患の発生は少なく、トカゲでは30報に満たない [7]。われわれは2000年 (症例1)、2001年 (症例2) および2007年 (症例3) にPVの胃カルチノイドに遭遇し、検索の機会を得たので報告する。

材 料 お よ び 方 法

症例はいずれも成体の雌で、死亡後、動物病院の獣医師によって剖検され、症例1、2は全身諸臓器、症例3は胃と肝臓の10%ホルマリン固定材料が当研究室に送付された。

症例1は3歳、産卵経験がなく、死亡1カ月ほど前か

ら食欲低下、5日ほど前から食欲廃絶、死亡前日に容態が急変し死亡した。症例2は長期にわたる600mg/dl以上の高血糖 (基準値223mg/dl) [8] を呈し、死亡した。症例3は死亡15日前より食欲不振、8日前より衰弱、5日前から嘔吐がみられるようになり、死亡した。いずれの症例も生前に腫瘍の存在を示唆するような特異的な症状を示さなかった (表1)。

病理組織学的検索：ホルマリン固定材料から常法に従ってパラフィン標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE染色) および特殊染色としてグリメリウス染色とフォンタナ・マッソン染色を行い、腫瘍細胞の好銀性および銀親和性の有無を検討した。

免疫組織化学的検索：上皮性あるいは非上皮性腫瘍の鑑別にサイトケラチンおよびビメンチンと、神経内分泌細胞由来腫瘍細胞の診断に有用とされるクロモグラニンA (CgA)、シナプトフィジン (Syn)、Neuron-specific enolase (NSE) に、それぞれ特異性のある一次抗体 (表2) を用いた。抗原賦活化にはマイクロウェーブ処理 (クエン酸緩衝液pH6.0, 90℃, 9分) を行った。反応の可視化にはヒストファインシンプルステインキット (シンプルステインMAX-PO, 株ニチレイ, 東京) を用いた。陽性対照として、猫とPVの副腎と消化管を用い、陰性対照として一次抗体の代わりにリン酸緩衝液を用いた。

† 連絡責任者：宇根有美 (麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室)

〒252-5201 相模原市中央区淵野辺1-17-71 ☎・FAX 042-769-1628 E-mail : une@azabu-u.ac.jp

表1 症例のまとめ

	症例1	症例2	症例3
臨床記録	3歳, 雌, 食欲低下・廃絶	成体, 雌, 高血糖	成体, 雌, 食欲不振, 嘔吐
増殖態度	胃粘膜深層 (浸潤・貫壁性)	胃粘膜深層 (浸潤・貫壁性, 穿孔)	胃粘膜深層 (浸潤・貫壁性, 潰瘍)
大きさ (cm)	2.8×2.4×0.4	3.4×2.8×0.5	1.3×1.0以上×0.9
発育形態	胞巣～リボン状	胞巣～リボン状, 偽花冠状配列	胞巣～リボン状, 偽花冠状配列 (肝臓)
細胞形態	小型・類円形, サイズ均一, 核濃染性	小型・類円形・核濃染性～ 中程度・紡錘形・明調な核	中型～大型(大小不同), 類円形 ～紡錘形, 明調な核, 有糸分裂
転移	なし	なし	肝臓
好銀性反応	Unknown	Unknown	Unknown
銀親和性反応	-	-	-
Chromogranin A	+	+	+
Synaptophysin	+	+	+
Cytokeratin (AE 1/3)	+	NR	NR
Neuron-specific enolase	NR	NR	NR
Vimentin	NR	NR	NR
超微形態学的特徴	Not done	Not done	内分泌顆粒 (220nm)

Unknown: 判断できなかった. NR: トカゲ陽性対照ともに反応が得られなかった. Not done: 検索を行わなかった.

表2 免疫染色に用いた抗体と条件

抗体名 (Clone)	希釈倍率	購入元
Cytokeratin (Clone AE1/3)	1:200	Boehringer Mannheim Biochemica, Basel, Switzerland
Vimentin (Clone V9)	1:200	Dako, Glostrup, Denmark
Chromogranin A (polyclonal, Lot. A0430)	1:400	Dako, Glostrup, Denmark
Synaptophysin (Clone SY38)	1:100	Dako, Glostrup, Denmark
Neuron-specific enolase (Clone NSE-1G4)	1:100	Zymed Laboratories, San Francisco, U.S.A.

抗原賦活化: 全てマイクロウェーブ処理. クエン酸緩衝液 pH 6.0, 90℃, 9分

超微形態学的検索: 材料の保存状態が良好であった症例3の胃と肝臓ホルマリン固定材料から常法に従い, エポキシ樹脂包埋ブロックを作製し超薄し, 酢酸ウラン・クエン酸鉛重染色を施し, 透過型電子顕微鏡にて観察した.

成 績

肉眼所見: 3例の胃に, 症例1では2.8×2.4×0.4cm, 症例2では3.4×2.8×0.5cm, 症例3では1.3×1.0以上×0.9cmと, いずれも乳白色～白色を呈し, 孤在性, 貫壁性の腫瘍が観察された. 症例1と3では, 腫瘍は粘膜面に隆起性に増殖し, 症例2には腹膜炎を伴う穿孔性潰瘍がみられ, 腫瘍表面には黄土色の偽膜の付着があり, 穿孔付近は暗赤色を呈していた (図1). 症例3の肝臓漿膜面および割面に多数の米粒大～小指頭大の白色結節を認め, 漿膜面は凹凸を呈していた.

病理組織学的所見: 症例によって程度に差はあったが, 3例ともに腫瘍組織は胃壁を置換するように増殖し, 周囲組織に浸潤していた. 腫瘍表面の胃粘膜は消失していた. 腫瘍組織は繊細な結合織によって不規則に区画され, 胞巣状～リボン状に発育していた (図2a). 症例2には偽花冠状配列が認められた (図2b). 腫瘍細胞は,

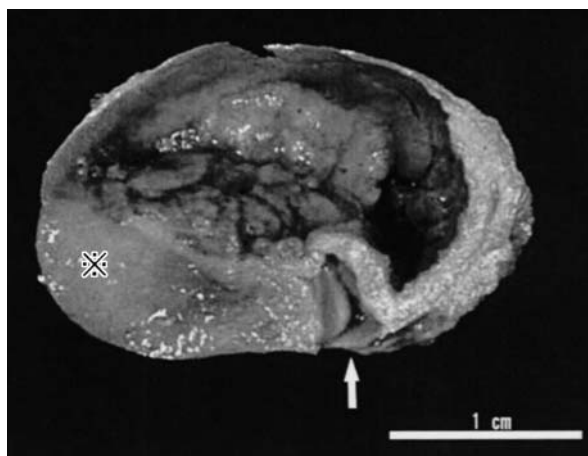


図1 胃カルチノイド, 胃体部横断面. 腫瘍(*)による胃壁の肥厚と穿孔部(矢印), 腫瘍の表面には, 偽膜が付着している. 症例2, ホルマリン固定材料. (Bar = 1cm)

症例1では小型の細胞が主体をなし, 症例2は小型～中型, 症例3は中型の細胞を主体としていたが, 大小不同があり, ときおり大型の細胞もみられた. これらの腫瘍細胞は接着性に乏しく, 狭小な細胞質と小型・濃染性で類円形の核をもつ細胞や大型・明調でやや紡錘形の核を有する細胞が観察された. また, 症例3では有糸分裂像

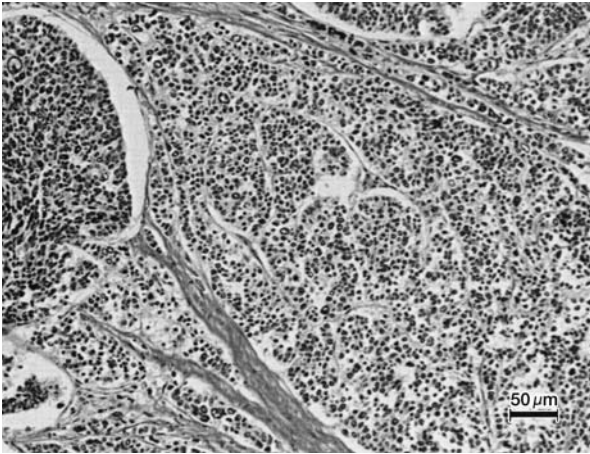


図2a 胃カルチノイド，胃壁内で胞巣状増殖を示す腫瘍組織．（症例3，HE染色 Bar = 50 μm）

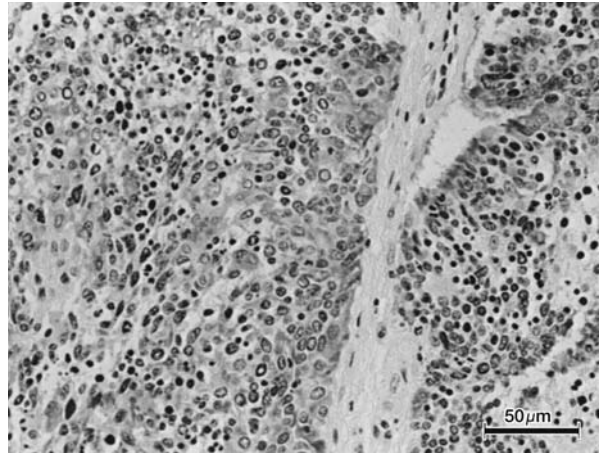


図3a 胃カルチノイド，クロモグラニンを有する腫瘍細胞．陽性細胞は胞巣辺縁部に多く観察される．（症例2，抗クロモグラニンA抗体を用いた免疫染色 Bar = 50 μm）

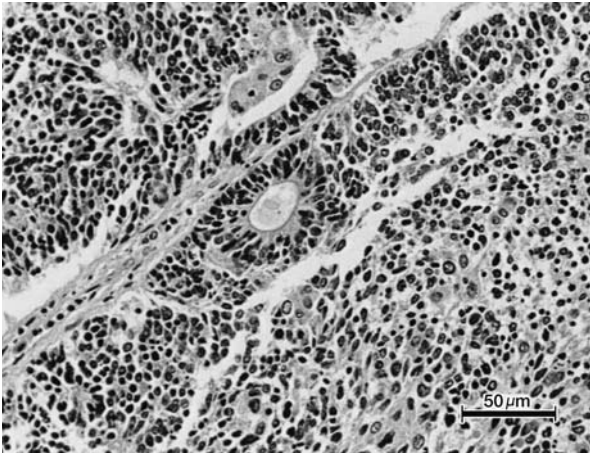


図2b 胃カルチノイド，腫瘍組織の偽花冠状構造（症例2，HE染色 Bar = 50 μm）．

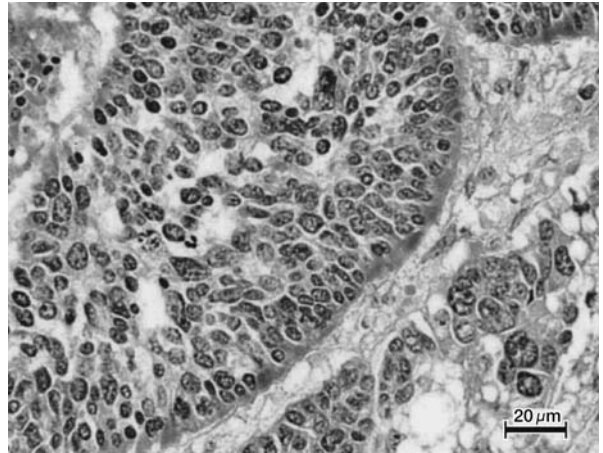


図3b 胃カルチノイド肝転移部．細胞質内にシナプトフィジンを有する腫瘍細胞．陽性細胞は胞巣辺縁部に多く認められる．（症例3，抗シナプトフィジン抗体を用いた免疫染色 Bar = 20 μm）

も頻繁にみられ，肝臓でも同様の細胞が増殖していた．異型度は症例3，2，1の順に高かった．特殊染色では，腫瘍細胞はフォンタナ・マッソン染色陰性で，グリメリウス染色では明瞭な好銀性反応が得られなかった．

免疫組織化学的所見：抗CgAおよびSyn抗体によって，3例すべての腫瘍胞巣辺縁部の腫瘍細胞の一部が陽性となり（図3a，3b），症例1の腫瘍細胞のみ抗サイトケラチン抗体陽性となった．なお，今回用いた抗ビメンチン抗体およびNSE抗体はPVの正常組織に反応しなかった．

超微形態学的所見：胃と肝臓の腫瘍細胞はほぼ同一で，ともに，腫瘍細胞の細胞質内に直径約130～360nm，平均220nmの顆粒が観察された．これらの顆粒は電子密度に高低があったが，比較的高く，一層の限界膜に囲まれていた（図4）．なお，ウイルス粒子様の構造物はみられなかった．以上の結果を表1にまとめた．

考 察

腫瘍の分布，病理組織学的，免疫組織化学的および電子顕微鏡学的所見より，3症例を胃原発カルチノイドと診断した．

PVの腫瘍に関する報告は著者が知るかぎり4報あるのみで[9-12]，うち一つがPVの胃原発カルチノイド10例を報告しており[9]，本論文が2報目となる．当研究室では，2000年～2008年7月までにPV25例を含む爬虫類461例の病性鑑定を行ったところ，感染症が104例と最も多く，腫瘍性疾患は8種10例（2.1%）のみだった．そして，PV25例中3例に腫瘍があり，すべて胃原発カルチノイドであったことから，本腫瘍はPVの好発腫瘍と考えられた．

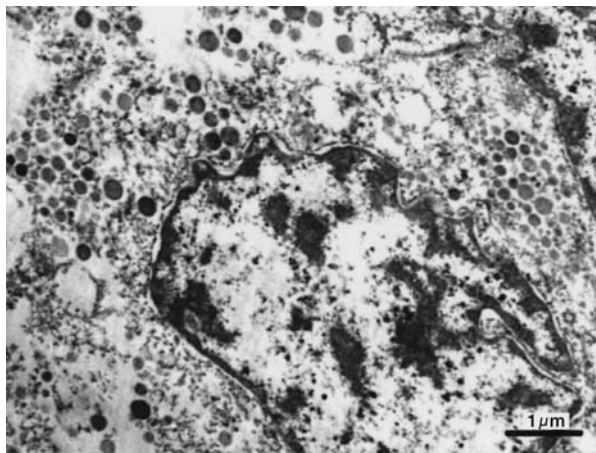


図4 胃カルチノイド，腫瘍細胞の超微形態．腫瘍細胞の細胞質内に平均220nmの電子密度の高い内分泌顆粒が認められる．(症例3，ホルマリン固定材料より作製したエポキシ樹脂包埋，超薄切標本 Bar = 1 μm)

今回の結果と既報 [9] とを比較すると，組織学的特徴は一致するものの，既報では，雄3：雌2と明らかな性差はなく，90%が転移を伴い多結節性の病変を形成していた．しかし，今回対象とした動物はすべて雌で，かつ胃に弧在性の病変を形成し，転移も1例にしかみられなかった．この違いは系統によるものか，あるいは病勢の進行程度によるものか，症例数が少なく判断ができなかった．

常染色体優性遺伝性疾患である人のフォン・レックリングハウゼン病では，神経線維腫症を発症し，まれに十二指腸原発性ソマトスタチン産生腫瘍を随伴することが知られている [13]．PVでは長期にわたる繁殖と品種改良が進んでいることや若齢の動物に発生していることから，Ritterら [9] は，人と同様に腫瘍発生要因として遺伝的背景を疑っており，著者らも同様の遺伝的要因の関与を疑った．しかし，3例の血縁関係，繁殖者および系統についての情報は収集できなかった．いっぽう，ヘビの腫瘍組織でレトロウイルスが観察され，発ガンにウイルスの関与が指摘されているが [14, 15]，電子顕微鏡学的検査のできた1例には，ウイルス様粒子は観察されなかった．

人のGIカルチノイドは発育が緩慢で，ときに転移し，低悪性度の腫瘍として捉えられているが，動物のカルチノイドは一般に悪性とされている．本例も3例ともに浸潤性に増殖し，症例2に穿孔，症例3に肝転移を認めたことから，いずれも悪性腫瘍と判断した．

カルチノイドの鑑別診断に免疫染色が汎用されており，人ではCgA, Syn, NSEが有用とされ，診断にはこれらの複数のマーカーを使用することが有効であるといわれている [16]．動物では同様の抗体が高率に陽性を示した犬のGIカルチノイドの報告 [17] があるいっぽ

う，CgA陰性の牛の直腸カルチノイドの報告 [18] もある．PVのカルチノイドの報告によれば [9]，ソマトスタチン5/5陽性，ガストリン3/5陽性，Syn2/5陽性，グルカゴン1/5陽性，CgAとCgBに各1/5弱陽性，NSE陰性であったことから，5例はソマトスタチン産生腫瘍に亜分類され，一部に多ホルモン性発現があるとしている．本論文では既報と異なり，全例がCgA, Syn陽性であったことから，この2つの抗原はカルチノイドの診断に有用であると考えた．今回，PVのソマトスタチンに特異的な抗体が得られなかったため，産生ホルモンの特定はできなかったが，ソマトスタチンやガストリンなどホルモンの有無を確認することで診断がより確実になるものと思われた．

今回対象とした動物には高血糖や嘔吐など既報例 [9] と同様の症状が確認されており，人のソマトスタチン産生腫瘍やガストリン産生腫瘍（ゾリンジャー・エリソン症候群） [19] で発現する症状に類似していた．しかし，今回，ホルモン検索を行っていないこと，嘔吐自体はカルチノイドに特異的な症状でないこと，この種のトカゲでは高血糖がしばしばみられることから，症状と腫瘍の関連については不明であった．

人，哺乳類ともに発生のまれなカルチノイドが，近年になってPVという爬虫類の胃に限って複数報告され [9]，今回繁殖が盛んな米国以外の地域でも見つかったことは，地域偏向がなく，この種の動物の好発腫瘍として捉えられる．商品価値を高めるための現在のPVの繁殖現状を考慮すると，本腫瘍発生機序の解明が不可欠で，比較医学的にも興味深く，今後さらなる症例の集積と解析が必要である．

最後に，貴重な症例をご提供いただいた小家山仁先生（東京都開業）に深謝する．

引用文献

- [1] Robert D, Valerie D : フトアゴヒゲトカゲ, 千石正一監訳, 爬虫両生類飼育入門 Q & A マニュアル, 52-53, 緑書房, 東京 (1998)
- [2] Kiupel M, Capen C, Miller M, Smedley R : Tumors of the islets of Langerhans and tumors of dispersed endocrine cells, *Histological classification of tumors of the endocrine system of domestic animals*, Schulman FY, ed, 2nd series (XII), 64-67, Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C. (2008)
- [3] Marder DR : 61, *Metabolic bone disease*, Reptile medicine and surgery, Marder DR ed, 2nd ed, 841-851, Saunders Elsevier, Missouri (2006)
- [4] Abarca ML, Martorell J, Castellá G, Ramis A, Cabañes FJ : Dermatomycosis in a pet inland bearded dragon (*Pogona vitticeps*) caused by a *Chrysosporium* species related to *Nannizziopsis vriesii*, *Vet dermatol*, 20, 295-299 (2009)
- [5] Jacobson ER, Kopit W, Kennedy FA, Funk RS : Coin-

- fection of a bearded dragon, *Pogona vitticeps*, with adenovirus- and dependovirus-like viruses, *Vet Pathol*, 33, 343-346 (1996)
- [6] Chia MY, Jeng CR, Hsiao SH, Lee AH, Chen CY, Pang VF : Entamoeba invadens myositis in a common water monitor lizard (*Varanus salvator*), *Vet Pathol*, 46, 673-676 (2009)
- [7] Mauldin GN, Done LB : 19, *Oncology, Reptile medicine and surgery*, Mader DR, ed, 2nd ed, 299-322, Saunders Elsevier, Missouri (2006)
- [8] 田向健一, 金澤優子 : ドライケミストリー法によるフトアゴヒゲトカゲの血液生化学検査基準値の検討, *日獣会誌*, 62, 553-558 (2009)
- [9] Ritter JM, Garner MM, Chilton JA, Jacobson ER, Kiupel M : Gastric neuroendocrine carcinomas in bearded dragons (*Pogona vitticeps*), *Vet Pathol*, 46, 1109-1116 (2009)
- [10] Lemberger KY, Manharth A, Pessier AP : Multicentric benign peripheral nerve sheath tumors in two related bearded dragons, *Pogona vitticeps*, *Vet Pathol*, 42, 507-510 (2005)
- [11] Tocidowski ME, McNamara PL, Wojcieszyn JW : Myelogenous leukemia in a bearded dragon (*Acanthodraco vitticeps*), *J Zoo Wildl Med*, 32, 90-95 (2001)
- [12] Gregory CR, Latimer KS, Fontenot DK, Lamberski N, Campagnoli RP : Chronic monocytic leukemia in an inland bearded dragon, *Pogona vitticeps*, *J Herp Med Surg*, 14, 12-15 (2004)
- [13] Mao C, Shah A, Hanson DJ, Howard JM : Von Recklinghausen's disease associated with duodenal somatostatinoma : contrast of duodenal versus pancreatic somatostatinomas, *J Surg Oncol*, 59, 67-73 (1995)
- [14] Orós J, Lorenzo H, Andrada M, Recuero J : Type A-like retroviral particles in a metastatic intestinal adenocarcinoma in an emerald tree boa (*Corallus caninus*), *Vet Pathol*, 41, 515-518 (2004)
- [15] Chandra AM, Jacobson ER, Munn RJ : Retroviral particles in neoplasms of Burmese pythons (*Python molurus bivittatus*), *Vet Pathol*, 38, 561-564 (2001)
- [16] 佐野壽昭 : 神経内分泌腫瘍の鑑別診断と免疫組織化学, *病理と臨床*, 20, 701-708 (2002)
- [17] Sako T, Uchida E, Okamoto M, Yamamoto E, Kagawa Y, Yoshino T, Hirayama K, Taniyama H : Immunohistochemical evaluation of a malignant intestinal carcinoid in a dog, *Vet Pathol*, 40, 212-215 (2003)
- [18] Michishita M, Takahashi K, Moriya H, Nakamura S, Koyama H, Sako T : Poorly differentiated rectal carcinoid in a cow, *Vet Pathol*, 44, 414-417 (2007)
- [19] Maitra M, Abbas AK : Chapter 24, *The endocrine system*, Robbins and Cotran pathologic basis of disease, Kumar V et al eds, 7th ed, 1155-1226, Elsevier Saunders, Pennsylvania (2005)

Gastric Carcinoid in Three Bearded Dragons

Sho KADEKARU*, Tetsuya SUZUKI and Yumi UNE†

* Laboratory of Veterinary Pathology, School of Veterinary Medicine, Azabu University, 1-17-71 Fuchinobe, Chuuou-ku, Sagamihara, 252-5201, Japan

SUMMARY

Gastric carcinoids were observed in three adult female bearded dragons (*Pogona vitticeps*). Macroscopically, large and transmural tumors were seen in the stomach of all cases, and Case 3 had hepatic metastasis. Microscopically, in all cases, infiltrative tumor cells proliferated without capsulation and formed nests and ribbon-like rows of cells. Pseudorosette formation was observed in Case 2. Some tumor cells were poorly adhesive, having scant cytoplasm and small round pyknotic nuclei. The other tumor cells had large, spindle shaped and bright nuclei. Immunohistochemically, the tumor cells were positive for chromogranin A and synaptophysin in all cases. Only Case 1 expressed cytokeratin. In electron microscopy, neuroendocrine granules averaging 220 nm in diameter were seen in the cytoplasm of the tumor cells in Case 3.

— Key words : Bearded dragon, Carcinoid, Stomach.

† Correspondence to : Yumi UNE (Laboratory of Veterinary Pathology, School of Veterinary Medicine, Azabu University) 1-17-71 Fuchinobe, Chuuou-ku, Sagamihara, 252-5201, Japan
TEL · FAX 042-769-1628 E-mail : une@azabu-u.ac.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 63, 945 ~ 949 (2010)