

短 報

4 種の異なる腫瘍を併発した牛の 1 例

井本康俊^{1)†} 高平健介²⁾ 菊地原 陽¹⁾ 中村溪太¹⁾ 大森笑子¹⁾
 中島孝郎¹⁾ 大島克司¹⁾ 相原尚之²⁾

1) 神奈川県食肉衛生検査所 (〒243-0022 厚木市酒井 892-1)

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

(2020年8月24日受付・2020年12月23日受理)

要 約

13歳齢のホルスタイン種雌牛において、甲状腺、副腎、結腸及び胸壁にそれぞれ異なる腫瘍を併発した症例に遭遇した。病理組織学的所見、免疫組織化学的所見及び分子生物学的所見から、甲状腺腫瘍はC細胞癌、副腎腫瘍は褐色細胞腫、結腸腫瘍は消化管間質腫瘍、胸壁腫瘍はB細胞性リンパ腫と診断した。また、C細胞癌の腫瘍組織内にはB細胞性リンパ腫の浸潤が認められた。本症例は、牛において4種類の異なる腫瘍を併発した最初の症例報告である。
 ——キーワード：C細胞癌、消化管間質腫瘍、褐色細胞腫。

-----日獣会誌 74, 509～513 (2021)

牛において、同一個体で異なる腫瘍が同時に発生することはまれであり、C細胞癌及び褐色細胞腫の併発は、ホルスタイン種、黒毛和種、ガンジー種の雄牛において報告されている [1-3] が、雌牛における同腫瘍の併発は報告がない。また、牛のリンパ腫のうち、牛伝染性リンパ腫ウイルス (Bovine leukemia virus : BLV) に起因する地方病性牛伝染性リンパ腫 (Enzootic bovine leukosis : EBL) では、ホルスタイン種において心膜中皮腫との併発例が報告されている [4]。一方、消化管間質腫瘍 (Gastrointestinal stromal tumor : GIST) は、犬、馬等で報告されている [5, 6] が、牛での報告は見当たらない。

今回、ホルスタイン種雌牛において、甲状腺のC細胞癌、副腎の褐色細胞腫、結腸のGIST及び胸壁のB細胞性リンパ腫を併発した症例に遭遇し、詳細な病理学的検索を実施したので、その概要を報告する。なお、本症例は、著者らの知る限り、牛において4種類の異なる腫瘍を併発した初めての報告である。

材料及び方法

症例：牛 (ホルスタイン種)、雌、13歳齢。平成31年3月に肺炎を発症し、治療するも症状が好転せず、同

年4月に食欲廃絶、泌乳停止となったため、病畜として、神奈川県食肉衛生検査所所管のと畜場に搬入された。

病理組織学的検査：病変部を10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定し、常法に従いパラフィン切片を作製後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施した。

免疫組織化学的検査：病変部パラフィン切片に対し、市販の免疫組織化学検査キット (ヒストファインシンプルステイン MAX-PO (MULTI), (株)ニチレイバイオサイエンス, 東京) を用いた。一次抗体として、抗ケラチン/サイトケラチンモノクローナル抗体 (AE1/AE3) (CK), 抗ビメンチンモノクローナル抗体 (Vim), 抗シナプトフィジンモノクローナル抗体 (27G12) (Syn), 抗c-kit 遺伝子産物ポリクローナル抗体 (c-kit), 抗S-100 タンパクポリクローナル抗体 (S-100), 抗アクチン (平滑筋) モノクローナル抗体 (SMA), 抗CD79 α モノクローナル抗体 (CD79 α) (以上, (株)ニチレイバイオサイエンス, 東京), 抗TTF-1抗体 (TTF-1), 抗カルシトニン抗体 (Cal), 抗CD3抗体 (CD3) (以上, ダコ・ジャパン(株), 東京), 抗サイログロブリン抗体 (TG) (Santa Cruz Biotechnology Inc, U.S.A.) を用いた。c-kitの陽性対照には、正常な牛結腸のパラフィン切片を用いた。一次抗体の抗原賦活化には、Calは

† 連絡責任者：井本康俊 (神奈川県食肉衛生検査所)

〒243-0022 厚木市酒井 892-1

☎ 046-228-3516 FAX 046-227-6924

E-mail : imoto.968b@pref.kanagawa.jp



図1 甲状腺腫瘍剖面（ホルマリン固定後）の肉眼像
腫瘍剖面は膨隆し、結合組織により区画され、分葉状を呈する。

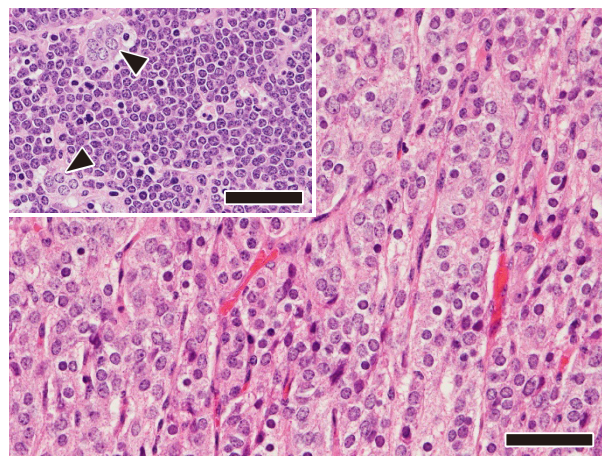


図3 甲状腺腫瘍の組織像
好酸性で豊富な細胞質を持つ多角形の腫瘍細胞が増殖し、繊細な結合組織により胞巣状構造を形成している。挿入図は腫瘍内のリンパ球様の腫瘍細胞浸潤部位を示し、同部では多角形の腫瘍細胞（矢頭）が島状に認められる（HE染色 Bar=50 μ m）。

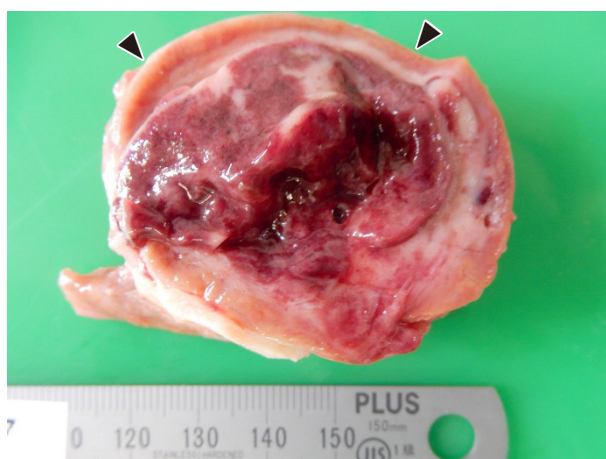


図2 左副腎剖面の肉眼像
髄質に直径3cmの暗赤色腫瘍が一つ認められる。同腫瘍は皮質（矢頭）を圧迫している。

97 $^{\circ}$ C 15分のマイクロウェーブ処理、TTF-1は121 $^{\circ}$ C 20分、その他は121 $^{\circ}$ C 10分のオートクレーブ処理を行った。対比染色としてヘマトキシリンを用いた。

分子生物学的検査：甲状腺及び胸壁の病変部パラフィン切片を用いて、BLVプロウイルス検出のため、Tax領域及びLTR領域を標的としたPCR法を実施した。また、同材料を用いてB細胞リンパ球のクローナリティー解析のため、BCR可変領域を標的としたPCR法を実施した。PCR法は既報 [7-9] に準拠した。

成 績

病理解剖学的所見：甲状腺では、大きさ19×14×11cmの灰白色腫瘍が一つ認められた。腫瘍は喉頭部正中側の気管軟骨上に位置し、腫瘍の辺縁部には、圧排された甲状腺固有組織がわずかに残存していた。同腫瘍剖面は膨隆し、結合組織により区画され、分葉状を呈し、

腫瘍中心部には、水腫、壊死、硬結感を有する白色組織が散見された（図1）。左副腎は7×5.5×4cmに腫大し、剖面では、髄質に直径3cmの淡赤色から暗赤色の腫瘍が一つみられた。同腫瘍は脆弱で構造は不明瞭であり、皮質を圧迫していた（図2）。結腸では、漿膜下に直径2cmの乳白色結節が一つ認められた。右胸壁では、右第六肋骨部の胸膜に6×2×0.5cmの乳白色扁平組織が一つ附着していた。右副腎を含むその他の臓器に異常は認められなかった。

病理組織学的所見：甲状腺の腫瘍では、好酸性で豊富な細胞質を持つ多角形の腫瘍細胞が増殖し、繊細な結合組織により胞巣状構造を形成していた（図3）。腫瘍細胞の核は大小不同の類円形で、有糸分裂像はまれであった。腫瘍組織は甲状腺固有組織を圧迫し、被膜内へ浸潤・増殖が認められた。また、腫瘍組織内でリンパ球様の腫瘍細胞がび慢性に浸潤している部位も観察された（図3挿入図）。リンパ球様の腫瘍細胞の核は類円形で、大小不同を認め、有糸分裂像が散見された。副腎腫瘍では、好酸性で豊富な細胞質を持つ多角形の腫瘍細胞が増殖し、繊細な結合組織で区画され、索状、胞巣状に配列していた（図4）。腫瘍細胞の核は類円形であった。結腸腫瘍では、筋層で好酸性の細胞質を有する長紡錘形の腫瘍細胞が増殖し、束状に配列していた（図5A）。腫瘍細胞の核は、楕円から桿状核で、有糸分裂像は認められなかった。胸壁の腫瘍では、甲状腺と同様のリンパ球様の腫瘍細胞がび慢性に浸潤していた（図6）。

免疫組織化学的所見：甲状腺腫瘍組織のうち、多角形の腫瘍細胞は、CK、Syn、TTF-1に対し陽性を示し、Calは一部陽性、TGに対し陰性を示した。副腎の腫瘍

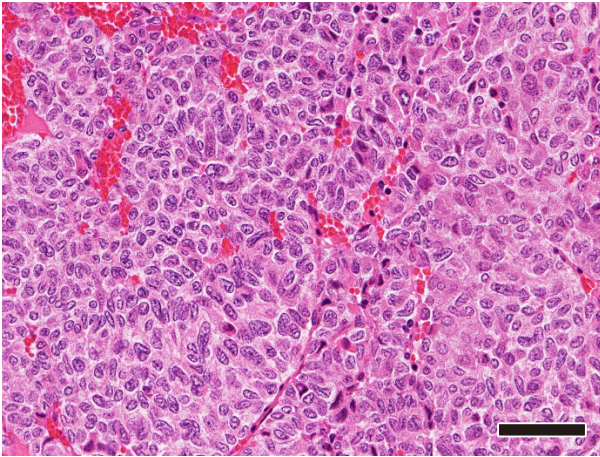


図4 副腎腫瘍の組織像
腫瘍内では、好酸性で豊富な細胞質を持つ多角形の腫瘍細胞が増殖し、毛細血管に富む線維性の間質により取り囲まれている (HE 染色 Bar=50 μ m).

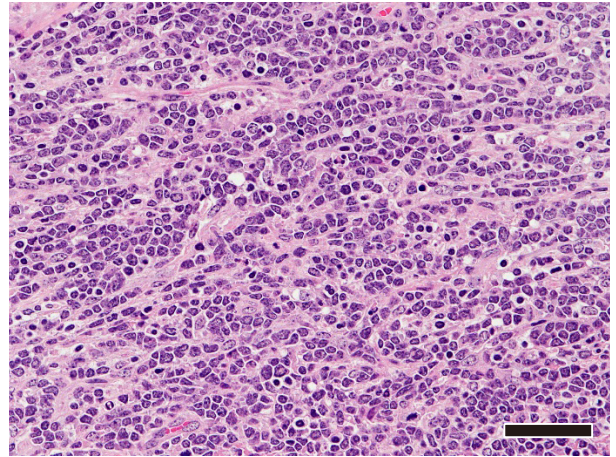


図6 胸壁腫瘍の組織像
リンパ球様の腫瘍細胞がび漫性に浸潤している (HE 染色 Bar=50 μ m).

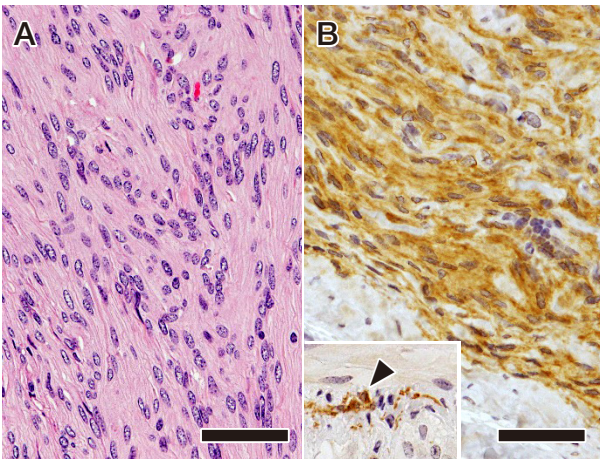


図5 結腸腫瘍の組織像
A: 筋層では、楕円から桿状核で好酸性細胞質を有する長紡錘形の腫瘍細胞が増殖し、束状に配列している (HE 染色 Bar=50 μ m).
B: 腫瘍細胞の細胞質はc-kit陽性を示している。挿入図は陽性対照のカハール介在細胞 (矢頭) (c-kitを用いた免疫染色 Bar=50 μ m).

細胞は、Syn に対し陽性を示した。結腸の腫瘍細胞は、Vim 及び c-kit に対し陽性 (図 5B)、S-100 に対し一部陽性、CK 及び SMA に対し陰性を示した。また、陽性対照とした牛結腸では、筋層のカハール介在細胞が c-kit 陽性であった (図 5B 挿入図)。甲状腺に浸潤していたリンパ球様の腫瘍細胞と胸壁の腫瘍細胞は、CD79 α に対し陽性、CD3 に対し陰性を示した。

分子生物学的所見: BLV プロウイルス検出では、甲状腺及び胸壁の病変部で Tax 領域及び LTR 領域が増幅された。クローナリティー解析では、甲状腺及び胸壁の病変部で BCR 可変領域が単クローン性に増幅された。

考 察

本症例において、甲状腺の腫瘍細胞は免疫組織化学的に Cal 及び Syn が陽性、TG が陰性を示したことから、腫瘍の起源は C 細胞由来と考え、腫瘍細胞の細胞形態や浸潤増殖像から C 細胞癌と診断した。また、副腎腫瘍は病理組織学的所見及び免疫組織化学的に Syn 陽性を示したことから、褐色細胞腫と診断した。結腸腫瘍は免疫組織化学的に c-kit 陽性を示したため、GIST と診断した。甲状腺腫瘍組織及び胸壁に浸潤していたリンパ球様の腫瘍細胞は、免疫組織化学的に CD79 α 陽性、CD3 陰性であったことから、B 細胞性と考えられた。また、分子生物学的に BLV プロウイルスが検出され、クローナリティー解析により単一の B 細胞増殖が確認されたことから、BLV に起因する B 細胞性リンパ腫と診断した。

人の多発性内分泌腫瘍症 (Multiple endocrine neoplasia: MEN) は、複数の内分泌臓器に腫瘍や過形成を生じる疾患で、1 型と 2 型に分類され、2 型は C 細胞癌と褐色細胞腫を主病変とする常染色体優性遺伝性疾患である [10]。一方、牛では、MEN の一部分症やガンジー種の 1 家系における常染色体優性遺伝による C 細胞腫瘍と褐色細胞腫の発生が雄牛において報告されている [3, 11]。また、高齢の雄牛では、過剰なカルシウム食摂取により C 細胞腫瘍が高率に発生するが、雌牛では、周産期の高カルシウム要求による負荷のため、同様の条件下では C 細胞腫瘍を発症しないといわれている [11]。このことから、本症例における C 細胞癌と褐色細胞腫の併発は、MEN を含めた遺伝的要因が関与していた可能性を疑った。しかし、本症例の同一家系における C 細胞癌及び褐色細胞腫の発生状況は不明であり、人の MEN2 型では、褐色細胞腫は両側性に発生することが

多い [10] が、本症例の褐色細胞腫は片側に発生していたことから、偶発的に併発した可能性も考えられた。

GISTは従来、平滑筋腫瘍と診断されてきた、消化管のカハール介在細胞由来の腫瘍で、確定診断にはc-kitが有効とされている [12]。また、犬や馬では免疫組織化学的にS-100やSMAが種々の程度に陽性となることがある [5, 6]。本症例のGISTはc-kit陽性、S-100一部陽性、SMA陰性であり、犬や馬における報告と類似していた。牛のGISTの病理学的特徴については、今後の症例の蓄積が望まれる。また、人では、GISTがMEN2型に併発したことから、GISTとの関連性を示唆する報告 [13] がある。しかし、本症例は遺伝子学的検索を実施していないため、本腫瘍の成因については、遺伝子学的検索を含めて、症例を重ねて調査する必要がある。

EBLは、主に水平伝播し、腫瘍性病変の好発部位として心臓、第四胃、子宮、リンパ節等がある [15]。本症例は、甲状腺の腫瘍組織内にリンパ腫の腫瘍細胞が浸潤していたが、甲状腺はEBLの好発部位ではなく、好発部位とされる臓器に腫瘍性病変を見出せなかった。併発した他の腫瘍との関連性は不明だが、複数の腫瘍を併発した症例に遭遇した際は、1種の腫瘍内に異なる腫瘍が浸潤している可能性を考慮して検査を実施することで、今後のと畜検査の精度向上に努めていきたい。

引用文献

- [1] Wilkie BN, Krook L : Ultimobranchial tumor of the thyroid and pheochromocytoma in the bull, *Pathol Vet*, 7, 126-134 (1970)
- [2] Seimiya YM, Takahashi M, Furukawa T, Mizutani K, Kimura K, Haritani M : An aged bull with concurrent thyroid C cell carcinoma, adrenal pheochromocytoma and pituitary chromophobe adenoma, *J Vet Med Sci*, 71, 225-228 (2009)
- [3] Sponenberg DP, McEntee K : Pheochromocytomas and ultimobranchial (C-cell) neoplasms in the bull: Evidence of autosomal dominant inheritance in the Guernsey breed, *Vet Pathol*, 20, 396-400 (1983)
- [4] 酒井由紀夫, 飛永崇晴, 酒井博史, 伊藤広記, 石田 剛, 田中省吾 : 臨床的に創傷性心膜炎が疑われた心膜中皮腫と地方病性牛白血病を併発した1症例, *産業動物臨床医誌*, 5, 259-263 (2015)
- [5] Kumagai K, Uchida K, Miyamoto T, Ushigusa T, Shinohara S, Yamaguchi R, Tateyama S : Three cases of canine gastrointestinal stromal tumors with multiple differentiations and c-kit-expression, *J Vet Med Sci*, 65, 1119-1122 (2003)
- [6] Del Piero F, Summers BA, Cummings JF, Mandelli G, Blomme EA : Gastrointestinal stromal tumors in equids, *Vet Pathol*, 38, 689-697 (2001)
- [7] Ikebuchi R, Konnai S, Shirai T, Sunden Y, Murata S, Onuma M, Ohashi K : Increase of cells expressing PD-L1 in bovine leukemia virus infection and enhancement of anti-viral immune responses in vitro via PD-L1 blockade, *Vet Res*, 42, 103 (2011)
- [8] Duncan RB Jr, Scarratt WK, Buehring GC : Detection of bovine leukemia virus by in situ polymerase chain reaction in tissues from a heifer diagnosed with sporadic thymic lymphosarcoma, *J Vet Diagn Invest*, 17, 190-194 (2005)
- [9] Maezawa M, Watanabe K, Horiuchi N, Matsumoto K, Kobayashi Y, Inokuma H : A clinical case of enzootic bovine leukosis in a 13-month-old Holstein heifer, *Jpn J Vet Res*, 66, 209-213 (2018)
- [10] 櫻井晃洋 : 多発性内分泌腫瘍症 (MEN), *日本内科学会雑誌*, 103, 932-939 (2014)
- [11] Rosol TJ, Meuten DJ : Tumors of the endocrine glands, *Tumors in domestic animals*, Meuten DJ ed, 5th ed, 803-809, WILEY Blackwell, Hoboken (2017)
- [12] 朴 天鎬 : 腸, *動物病理学各論*, 日本獣医病理学会編, 第2版, 202-203, 文永堂出版, 東京 (2010)
- [13] Malek R, McCarthy-Keith D, Levens ED, Merino MJ, DeCherney AH, Weinstein LS : A gastrointestinal stromal tumor in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2A and metastatic medullary thyroid cancer to the ovaries, *Endocr Pract*, 14, 898-901 (2008)
- [14] 御領政信 : ウイルス性腫瘍, *動物病理学総論*, 日本獣医病理学会編, 第3版, 220-221, 文永堂出版, 東京 (2013)

A Case of a Holstein Cow with Four Different Tumors

Yasutoshi IMOTO^{1)†}, Kensuke TAKAHIRA²⁾, Yoh KIKUCHIHARA¹⁾, Keita NAKAMURA¹⁾,
Emiko OHMORI¹⁾, Takaroh NAKAJIMA¹⁾, Katsuji OHSHIMA¹⁾ and Naoyuki AIHARA²⁾

1) *Kanagawa Prefectural Meat Inspection Station, 892-1 Sakai, Atsugi, 243-0022, Japan*

2) *School of Veterinary Medicine, Azabu University, 1-17-71 Fuchinobe, Chuou-ku, Sagamiha-
ra, 252-5201, Japan*

SUMMARY

In a Holstein cow, we found a case with different tumors in the thyroid, adrenal gland, colon and thoracic wall. Based on histopathological, immunohistochemical and molecular biological findings, the thyroid gland was diagnosed as having C-cell carcinoma, the adrenal gland as having pheochromocytoma, the colon as having a gastrointestinal stromal tumor and the thoracic wall as having B-cell lymphoma. Infiltration of the B cell lymphoma was found in the tumor tissue of the C-cell carcinoma. This case was the first report of four different tumors in a cattle. — Key words : C-cell carcinoma, Gastrointestinal stromal tumor, pheochromocytoma.

† *Correspondence to : Yasutoshi IMOTO (Kanagawa Prefectural Meat Inspection Station)*

892-1 Sakai, Atsugi, 243-0022, Japan

TEL 046-228-3516 FAX 046-227-6924 E-mail : imoto.968b@pref.kanagawa.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 74, 509 ~ 513 (2021)