

## 表面抗原解析による遺伝子診断が有用であった 組織球性肉腫の犬 8 例

山崎裕毅<sup>1)</sup> 高木 哲<sup>2)†</sup> 細谷謙次<sup>1)</sup> 星野有希<sup>2)</sup> 奥村正裕<sup>1)</sup>

1) 北海道大学大学院獣医学研究科 (〒060-0818 札幌市北区北18条西9)

2) 北海道大学大学院獣医学研究科附属動物病院 (〒060-0818 札幌市北区北18条西9)

(2013年10月2日受付・2013年12月20日受理)

### 要 約

犬組織球性肉腫 (HS) の表面抗原解析に基づいた遺伝子診断法を用いて臨床的にHSが疑われた犬12症例に対し、その実用性を検討した。これらの12症例からコア生検で検体を採材し、定量的リアルタイムPCRを用いて犬HSの特異的表面抗原であるMHCクラスII $\alpha$ 、CD11b、CD11cとCD86のmRNA相対発現量を解析し、これらを犬HSの診断基準値に適用して、その検出を試みた。最終的に、これらの12例を病理組織学的に診断し、本診断結果と比較した。その結果、12例中8例において、各表面抗原がいずれも高発現し、本診断基準値を満たしたため、犬HSと判断し、残りの4例は本腫瘍から除外された。最終的な病理診断により、これらの8例はいずれも犬HSと確定された。本法は病理診断結果を補助し、コア生検からでも犬HSを客観的かつ迅速に診断できる可能性が示唆され、早期診断と予後の改善が期待された。——キーワード：犬、遺伝子解析、組織球性肉腫、表面抗原。

日獣会誌 67, 263～268 (2014)

犬組織球性肉腫 (HS) は、樹状細胞 (DC) 由来の局所型・播種型HSとマクロファージ由来の赤血球貪食型HSに大別され、いずれも生物学的並びに臨床学的挙動が悪く、予後もきわめて悪い [1-5]。また、犬HSは未分化な形態を有し、炎症細胞や壊死組織が混在している場合も多いため、従来の病理組織学的評価のみでは、確定診断は困難である [1, 3, 4]。治療反応期間及び生存期間を改善させるためには早期に的確な診断をつけ、抗癌治療を迅速に開始する必要がある。近年、犬HSの特異的表面抗原であるCD11d、CD18やMHCクラスIIの犬モノクローナル抗体が樹立され、これらを用いた免疫組織化学染色法が確立された [3, 4]。しかし、免疫組織化学染色法は凍結切片作製のための特殊設備や技術が必要であり、また生検針では検体量が不十分で確実な診断結果が得られない場合が多い [1]。定量的PCR法は微量検体から標的癌遺伝子を迅速に検出することが可能であり、さまざまな腫瘍疾患の診断法として応用されている [6, 7]。そこで、犬HSの遺伝子診断を確立するために、犬組織球系細胞の特異的表面抗原として知られるMHCクラスII $\alpha$ 、CD11b、CD11cとCD86を選出し、

犬HS 30例及びその他の悪性腫瘍を含む類似疾患36例の検体を用いて、これらの表面抗原における遺伝子レベルの比較解析を試み報告した [1]。これらの解析結果では、犬HSのMHCクラスII $\alpha$ のmRNA発現量はその他の疾患と比較して、有意に高値を示し、病理組織学的診断と比較した結果、感度86.7%、特異度88.9%、及び正診率87.9%を示した。CD11bとCD11cのmRNA発現量においても、犬HSはその他の疾患と比較して、有意に高値を示し、CD11bは感度86.7%、特異度86.1%、及び正診率86.4%であり、CD11cでは感度83.3%、特異度88.9%、及び正診率86.4%を示した。CD86のmRNA発現量も、犬HSで有意に高く、感度83.3%、特異度86.1%、及び正診率84.8%であった。この結果から、定量的リアルタイムPCRを用いた表面抗原解析は犬HSに対する高精度な遺伝子迅速診断法である可能性が示唆された [1]。しかし、これらの研究は回顧的調査であり、臨床応用のためには、その実用性をさらに検討する必要がある。

本研究では、臨床的にHSを疑った犬12例に対して、これらの遺伝子診断法を適用し、病理組織学的診断を基

† 連絡責任者：高木 哲 (北海道大学大学院獣医学研究科診断治療学講座先端獣医学教室)

〒060-0818 札幌市北区北18条西9 ☎・FAX 011-706-5100 E-mail: staka@vetmed.hokudai.ac.jp

表1 各表面抗原の標的プライマー

遺伝子名	増幅産物(bp)	遺伝子部位	シーケンス配列	Genbank No
GAPDH	100	696-716	Forward 5'-TGTCACCCACCCCAATGTATC-3'	NM001003142
		795-772	Reverse 5'-CTCCGATGCCTGCTTACTACCTT-3'	
MHCクラス II $\alpha$	211	623-642	Forward 5'-CCTGAGGTTCCAACCCCTAT-3'	NM001011726
		833-814	Reverse 5'-GGTCCACTCTTCTGCTCTGG-3'	
CD11b	60	2598-2619	Forward 5'-GAGTCTGACGATTCCACTAATG-3'	XM843434
		2657-2639	Reverse 5'-GTTTATGCTGCAGCTGCTA-3'	
CD11c	154	101-123	Forward 5'-GTGCTGGATTTGGACACAGCGTG-3'	XM547049
		254-233	Reverse 5'-AAGGGGACCTGCAGTTGGATGG-3'	
CD86	221	6-30	Forward 5'-ATGTATCTCAGATGCACTATGGAAC-3'	NM001003146
		226-202	Reverse 5'-TTCTCTTGCCTCTGTATAGCTCGT-3'	

準とした診断精度からその有用性を検討した。

### 材料及び方法

**症例と採材方法：**2012年4月～2013年3月までに北海道大学附属動物病院において、犬HSの代表的な臨床所見 [1, 8] を参照して、好発犬種（バーニーズ・マウンテン・ドッグ、フラットコートド・レトリバー、及びウェルシュ・コーギー）、既往歴（抗炎症治療に反応しない跛行症状並びに急速な腫瘍増大や容体悪化など）、臨床徴候（跛行、呼吸困難、運動不耐性や貧血・黄疸など）、発生部位（肺、脾臓、肝臓や関節など）、血液検査（貧血や血小板減少）、血液生化学検査（ビリルビン値上昇、並びにアルブミン値とコレステロール値の低下など）、画像検査（肺、脾臓や肝臓を原発とする腫瘍状陰影、並びに関節近傍の腫瘍状陰影やその所属リンパ節の腫脹など）、及び細胞診（非炎症性の組織球性細胞増殖像）からHSが疑われた犬12例を対象とした。悪性腫瘍の既往歴や由来の異なる複数の腫瘍病変を併発している症例は本研究から除外された。いずれの症例も食欲不振や元気消失など本腫瘍が原因と考えられる一般状態の低下がみられたため、各病変部からコア生検針（Fine Core, 東レ・メディカル株, 東京）を用いて超音波ガイド下で検体を採材した。採材後、スタンプ標本から異形細胞の存在を確認し、検体を病理組織学的検査と遺伝子解析にそれぞれ供した。病理検査用の検体は、10%ホルマリン（和光純薬工業株, 大阪）に浸漬した。遺伝子解析用の検体は2～3mm角に細断し、生理食塩水で3回洗浄後、常法に従ってRNAを抽出した。採材からRNA抽出作業までに時間を要する場合は検体をRNA保存液（RNAlater<sup>®</sup>, Ambion, U.S.A.）に浸漬し、-80℃で冷凍保存した。

**RNA抽出法：**各検体からRNA抽出用キット（RNeasy Mini Kit<sup>®</sup>, Qiagen, U.S.A.）とDNA分解酵素（Recombinant DNase I, タカラバイオ株, 滋賀）を製造元の説明書に従い、RNAの抽出及びゲノミックDNA処理を実施した。抽出後に、RNAサンプルの完全

性を評価するためにアガロースゲル電気泳動法及びRNA濃度測定法を以下の方法で実施した。

アガロースゲル電気泳動法においては、(UltraPure<sup>™</sup> agarose-1000, Invitrogen life Technologies, U.S.A.) 1gを50mlの超純水に加え、ゲル状にした後、5 $\mu$ gのエチジウムブロマイド（和光純薬工業株, 大阪）と1mlのトリス・酢酸・EDTA緩衝液バッファー（50 $\times$ TAE buffer, 和光純薬工業株, 大阪）を加え、静かに攪拌した。ゲルをキャストに流し込み、十分に凝固させた後、2 $\mu$ lの抽出RNAサンプルと1 $\mu$ lの10 $\times$ loading dye（タカラバイオ株, 滋賀）の混合物及びDNAサイズマーカー（100bp DNA Ladder, タカラバイオ株, 滋賀）をゲルのウェルに充填した。電気泳動システム（Mupid- $\alpha$ , 株アドバンス, 東京）で電気泳動を行い、トランスイルミネーター（UVP transilluminator, フナコシ株, 東京）を用いてRNAバンドを可視化させた後、画像解析ソフトウェア（Image J, <http://rsbweb.nih.gov/ij/>）により、2つのRNAバンド（28S及び18S）の比が2：1であることを確認した [9]。

RNA濃度測定法においては、10～100倍に希釈した抽出RNAサンプルの波長260nmの吸光度を分光光度計（WPA biowave DNA spectrophotometer, Biochro Ltd., U.K.）を用いて測定した。測定値から近似式 [10] を用いてすべてのRNA濃度が1.8～2.0の範囲内であることを確認した。以上の方法で抽出RNAサンプルの完全性を評価し、以下のリアルタイムPCRによる解析に供した。

**リアルタイムPCR：**マウスレトロウイルス由来逆転写酵素（M-MLVRT, Invitrogen life Technologies, U.S.A.）とオリゴdTプライマーを用いて抽出したRNAをサーマルサイクラー（Life Pro Thermal Cycler, Bioer Technology Co., China）により37℃, 60分間で逆転写を行い、cDNAを合成した。これらのcDNAから、内部標準であるglyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase（GAPDH）を用いてCD11c, CD11b, CD86, 及びMHCクラスII $\alpha$ のmRNA発現量

表2 組織球性肉腫を疑った犬12症例

No	遺伝子診断	品種*	年齢	性別	原発巣	臨床徴候	免疫組織化学染色	病理組織学的診断 (初回の診断名)
1	組織球性肉腫と判定された犬8例	BMD	7	未避妊雌	関節	元気消失, 跛行	MHCクラスII陽性	組織球性肉腫
2		WC	9	避妊雌	肺	呼吸促進, 発咳	MHCクラスII陽性	組織球性肉腫
3		FCR	11	未去勢雄	肺	呼吸促進	MHCクラスII陽性	組織球性肉腫
4		WC	12	去勢雄	肺	運動不耐, 発咳	MHCクラスII陰性 (初回)	組織球性肉腫
5		WC	9	避妊雌	肺	食欲不振, 呼吸促進	CD18陽性(再検査)	(由来不明の未分化肉腫)
6		FCR	10	避妊雌	関節	食欲不振, 跛行	MHCクラスII陰性 (初回)	組織球性肉腫
7		WC	14	去勢雄	肺	削瘦, 呼吸促進	CD18陽性(再検査)	(炎症性肉芽腫)
8		WC	12	去勢雄	肺	食欲不振, 呼吸促進	MHCクラスII陽性	組織球性肉腫
9	組織球性肉腫が除外された犬4例	BMD	8	未避妊雌	脾臓	運動不耐, 貧血, 黄疸		血管肉腫
10		FCR	8	未去勢雄	関節	食欲不振, 跛行		骨肉腫
11		BMD	12	去勢雄	肺	呼吸促進		腺癌
12		FCR	9	避妊雌	関節	元気消失, 跛行		軟骨肉腫

\*BMD: パーニーズ・マウンテン・ドッグ, FCR: フラットコートド・レトリバー, WC: ウェルシュ・コーギー

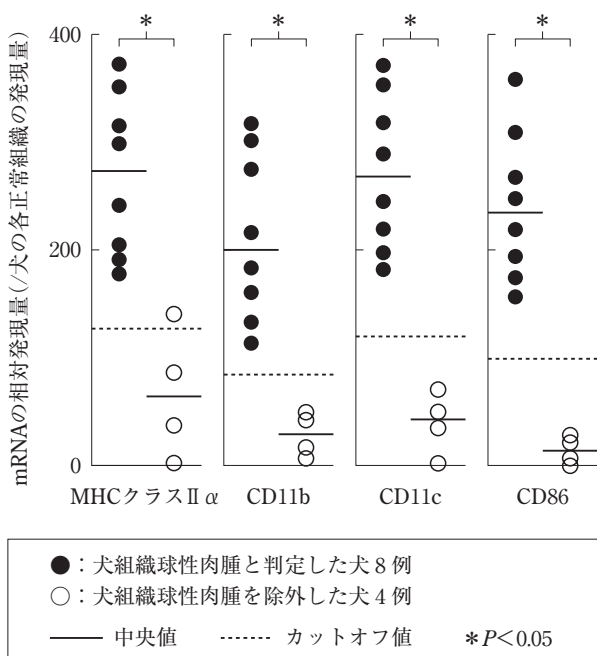


図 本研究で組織球性肉腫を疑った犬12例における各表面抗原のmRNA発現量

を測定した。各標的プライマーは以前の報告により設計された [1] (表1)。合成したcDNAに、それぞれのセンス及びアンチセンスプライマーと抽出用Taqポリメラーゼ (TaKaRa Ex Taq, タカラバイオ株, 滋賀) を加え、PCR解析を行った。リアルタイムPCR (Rotor-Gene Q, Qiagen, Germany) においては、PCR用試薬 (KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix, KAPA Biosystems, U.S.A.) を製造元が推奨する濃度で使用した。PCR反応は、95℃で20秒間加温後、95℃で3秒

間及び60℃で20秒間を40サイクル繰り返して、反応させた。検量線用サンプル作成のために、任意に選択された検体から合成したcDNA及び各標的プライマーが使用された。得られたPCR産物を10<sup>2</sup>から10<sup>10</sup>倍に10倍段階希釈し、遺伝子濃度のサンプルを作製した。これらを用いて、PCR解析を行い、検量線作成のために最適な希釈倍率を決定し、表面抗原発現量を定量解析した。また、各犬HSの原発巣と同部位の正常組織を正常犬 (ビーグル, 雌, 1歳齢) から採取し、これらの各表面抗原遺伝子発現量を基準として、すべてのmRNA発現量が補正された [1]。PCR増幅産物の特異性は融解曲線分析により確認された。抽出用試薬 (Quantum Prep Freeze N Squeeze DNA Gel Extraction Spin Column, Bio-Rad Laboratories, U.S.A.) で増幅産物を抽出し、シーケンス解析 (北海道システムサイエンス株, 北海道) 後、BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) を用いて、遺伝子相同性検索を実施した。

**診断基準と検出方法:** 過去に報告した表面抗原発現量の比較解析法では、HSの犬30例及びその他の類似疾患36例の検体を用いて各表面抗原のmRNA相対発現量を計測し、犬HSの検出における受診者動作特性 (ROC) 曲線を作成した [1]。また、これらのROC曲線から各表面抗原の曲線下面積 (AUC), 並びに95%信頼区間を有した感度と特異度をそれぞれ算出し、犬HSを最も高率に検出できる各表面抗原のカットオフ値を確立した [1]。本研究では、HSを疑った犬12例の検体から前述の方法で各表面抗原のmRNA発現量を定量解析し、これらの発現量が確立されたカットオフ値をすべて満たした症例を犬HSと判断した。最終的に、病理組織学的診



断結果を基準として本法の診断結果における正誤判定を行い、本法の有用性を評価した。

**病理組織学的診断：**本研究に用いた12症例の確定診断のために、特定の病理検査機関（ノースラボまたは、アイデックスラボラトリーズ株）に診断を依頼した。犬HSにおいてはパラフィン切片標本による従来の組織学的形態の評価に加え、MHCクラスII（抗ヒトモノクローナル抗体（マウス）、TAL.1B5, ダコ・ジャパン株, 東京）を用いた免疫染色（ノースラボ）を実施した [3, 4]。初回のコア生検で病理診断が確定できなかった症例は、後日に切除生検を実施し、CD18（抗マウスモノクローナル抗体 [イヌ] CD18, Leukocyte Antigen Biology Laboratory, U.S.A.）を用いた免疫染色により再検査を依頼した [3, 4]。

**統計解析：**統計処理ソフト（SPSS, version12.0.1, SPSS, Inc, U.S.A.）を用いたマン・ホイットニーのU検定を実施し、 $P < 0.05$ を持って有意差ありと判定した。

## 成 績

犬HSを疑った12例における各表面抗原の遺伝子発現量と臨床情報（遺伝子診断、品種、性別、年齢、原発巣、臨床徴候、免疫組織化学染色法、及び病理組織学的診断名）をそれぞれ、図と表2に示した。本法による解析結果では、12症例中8例における各表面抗原のmRNA発現量がそれぞれのカットオフ値を上回り、本診断基準を満たしたため、これらの8例を犬HSと判断した（図）。残りの4例中3例においては各表面抗原のmRNA発現量がいずれもカットオフ値を下回り、1例（No. 9）はMHCクラスII $\alpha$ の発現量がカットオフ値を超えたが、残りの3つはカットオフ値を下回ったため犬HSから除外された。

本法により犬HSと判定された8例は、最終的に、病理組織学的評価並びに免疫組織化学染色法によりいずれも犬HSと確定された（表2）。本法により犬HSを除外した4例の病理組織学的診断名はそれぞれ、血管肉腫、骨肉腫、腺癌、及び軟骨肉腫であった（表2）。犬HSの8例中2例は初回の病理検査では確定診断が得られなかった。これらの2例中1例は由来不明の未分化肉腫（MHCクラスII免疫染色陰性）、残りの1例は炎症性肉芽腫（MHCクラスII免疫染色陰性）と判定されたが、後日に切除生検を実施し、再検査したところ、2例ともにCD18陽性で犬HSが確定された。これに対し、コア生検による遺伝子解析では、初回で8例のすべてを犬HSと判定することができた。

## 考 察

本研究では、犬HSの8例中2例は、コア生検による

病理検査では確定できなかった。犬HSの多くは未分化形態で炎症や壊死組織が混在し、その組織学的形態も不特定であるため、診断が難しい [1, 5, 8]。過去の報告では犬滑膜腫瘍と病理診断された検体に対し、CD18を用いた免疫染色で再評価したところ、その51%が犬HSであった [11]。病理検査以外にも犬HS検出法の確立が試みられてきたが、いずれも実用化には至っていない。過去に報告されたフローサイトメトリーによる犬HSの表面抗原解析における正診率は67%であった [8, 12]。これに対し、本法は、特異抗体や液体窒素を必要とせず、コア生検により、犬HSを判定することができた。RNAは不安定な構造であるため、迅速な解析が必要であり、長期経過した検体やホルマリン固定検体は本解析に適用できない。しかし、犬HS疑いの症例が病理検査で確定できなかった場合でも、本法は低侵襲で比較的实施しやすく、犬HSの有力な診断情報が得られる。

本法により犬HSと判断された8例における各表面抗原のmRNA発現量は残りの4例と比較し、有意に高値を示した。また、最終的な病理診断からもこれらの8例はHSと確定し、その有用性が示唆された。本法に用いたMHCクラスII $\alpha$ は組織球系細胞の表面抗原であるため、組織球系疾患の指標となり、CD11bはマクロファージ、CD11cはDCにそれぞれ特異的であるため、これらを由来とする犬HSの検出が可能であった [1, 3, 13]。CD86は未成熟型DCに高発現するため、組織学的に鑑別困難である未分化型HSに対しても有効であると考えられた [1, 14, 15]。

初回の病理検査で確定できなかった犬HSの2例中1例は、組織学的に未分化形態が強く由来が特定できなかった。残りの1例は炎症細胞が多く混在していたため判定過誤が生じた。本研究では客観的指標として、4つすべての表面抗原発現量が本診断基準値を満たした症例をHSと判定したため、炎症細胞や未分化細胞が混在していた検体でも診断が可能であった。しかし、過去の報告では、4つの基準値すべてを満たさないHSも存在し、このような症例を見逃さないためにも本診断基準値の再検討が必要である [1]。現段階では、MHCクラスII $\alpha$ とCD11cがともに本基準値を満たし、さらに、CD11b、またはCD86のいずれか1つが基準値を満たした症例をHSと判定した場合、最も有効性の高い92%の正診率が得られている。高精度な診断基準を確立するためにも、さらなる調査が必要である。また、これらの発現量は正常の組織球系細胞の分化・成熟過程に応じて、増減することが知られているが [14, 15]、HS細胞の増殖過程を含む生物学的挙動には関連しないと考えられる [1]。その裏付けとして、本研究や過去の調査においても、同じ犬HSで表面抗原発現量に差が生じたが、これらの発現量と症例の無増悪期間、または生存期間における関連性

はみられなかった [1].

本研究に用いた各表面抗原は組織球系細胞, その他の抗原提示細胞及び造血幹細胞においても, 高発現する [13, 16-18]. したがって, リンパ腫, 多発性骨髄腫, 及びリンパ節転移病巣など, ある特定の疾患は本解析では適応できないかもしれない [1]. しかし, 本法を臨床例に用いる場合, 本研究のように臨床徴候の確認やその他の臨床検査を事前実施するため, 現実的には, これらの臨床情報を基盤として本法の解析結果を考慮することができる. 本研究でも, 初回で炎症性肉芽腫と判定された犬HSの1例は臨床挙動や経過が病理診断名と大きく異なっており, 各表面発現量も本診断基準値を満たした. したがって, 再検査が必要とされ, 結果的には判定過誤にはならなかった.

本法はコア生検からでも犬HSにおける再現性の高い診断指標となる可能性が示唆された. リアルタイムPCRを用いた犬HS表面抗原解析法は過去に報告がないため, その有用性をさらに検討する必要があるが, 従来の病理検査と本法を併用することで, 誤診を防ぎ, 診断精度をさらに上げることが期待される.

#### 引用文献

- [1] Yamazaki H, Takagi S, Hosoya K, Hoshino Y, Okumura M : Comparative analysis of mRNA expression of surface antigens between histiocytic and non-histiocytic sarcoma in dogs, *J Vet Intern Med*, Epub ahead of print (2013)
- [2] Yamazaki H, Takagi S, Hoshino Y, Hosoya K, Okumura M : Inhibition of survivin influences the biological activities of canine histiocytic sarcoma cell lines, *PloS One*, 8, e79810 (2013)
- [3] Affolter VK, Moore PF : Localized and disseminated histiocytic sarcoma of dendritic cell origin in dogs, *Vet Pathol*, 39, 74-83 (2002)
- [4] Moore PF, Affolter VK, Vernau W : Canine hemophagocytic histiocytic sarcoma: a proliferative disorder of CD11d+ macrophages, *Vet Pathol*, 43, 632-645 (2006)
- [5] Fulmer AK, Mauldin GE : Canine histiocytic neoplasia: An overview, *Can Vet J*, 48, 1041-1050 (2007)
- [6] Philip SB, Carl TW : Real-time PCR technology for cancer diagnostics, *Clin Chem*, 48, 1178-1185 (2002)
- [7] Yagihara H, Tamura K, Isotani M, Ono K, Washizu T, Bonkobara M : Genomic organization of the T-cell receptor gamma gene and PCR detection of its clonal rearrangement in canine T-cell lymphoma/leukemia, *Vet Immunol Immunopathol*, 115, 375-382 (2007)
- [8] Klahn SL, Kitchell BE, Dervisis NG : Evaluation and comparison of outcomes in dogs with periarticular and nonperiarticular histiocytic sarcoma, *J Am Vet Med Assoc*, 239, 90-96 (2011)
- [9] Aranda PS, LaJoie DM, Jorcyk CL : Bleach gel: a simple agarose gel for analyzing RNA quality, *Electrophoresis*, 33, 366-369 (2012)
- [10] Gallagher SR, Cole S : DNA quantitation with a benchtop fluorometer, *Am Biotechnol Lab*, 10, 42 (1992)
- [11] Craig LE, Julian ME, Ferrcone JD : The diagnosis and prognosis of synovial tumours in dogs 35 cases, *Vet Pathol*, 39, 66-73 (2002)
- [12] Weiss DJ : Flow cytometric evaluation of hemophagocytic disorders in canine bone marrow, *Vet Clin Pathol*, 31, 36-41 (2002)
- [13] Kathrani A, Schmitz S, Priestnall SL, Smith KC : CD11c+ cells are significantly decreased in the duodenum, ileum and colon of dogs with inflammatory bowel disease, *J Comp Path*, 145, 359-366 (2011)
- [14] Bonnefont-Rebeix C, de Carvalho CM, Bernaud J, Chabanne L, Marchal T, Rigal D : CD86 molecule is a specific marker for canine monocyte-derived dendritic cells, *Vet Immunol Immunopathol*, 109, 167-176 (2006)
- [15] Wang YS, Chi KH, Liao KW, Liu CC, Cheng CL, Lin YC, Cheng CH, Chu RM : Characterization of canine monocyte-derived dendritic cells with phenotypic and functional differentiation, *Can J Vet Res*, 71, 165-174 (2007)
- [16] Doveren RF, van der Linden CJ, Spronken EE, Groenewegen G, Buurman WA : Canine MHC class II antigens on B and T lymphocytes, *Tissue Antigens*, 27, 87-98 (1986)
- [17] Kipar A, Baumgärtner W, Vogl C, Gaedke K, Wellman M : Immunohistochemical characterization of inflammatory cells in brains of dogs with granulomatous meningoencephalitis, *Vet Pathol*, 35, 43-52 (1998)
- [18] Weiss DJ, Welle M, Mortiz A, Walcheck B : Evaluation of leukocyte cell surface markers in dogs with septic and nonseptic inflammatory diseases, *Am J Vet Res*, 65, 59-63 (2004)

---

Significance of Diagnostic Approach using Surface Antigen mRNA Expression  
Analysis in 8 Dogs with Histiocytic Sarcoma

Hiroki YAMAZAKI<sup>1)</sup>, Satoshi TAKAGI<sup>2)†</sup>, Kenji HOSOYA<sup>1)</sup>, Yuki HOSHINO<sup>2)</sup>  
and Masahiro OKUMURA<sup>1)</sup>

- 1) *Laboratory of Veterinary Surgery, Department of Veterinary Clinical Sciences, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo, 060-0818, Japan*
- 2) *Veterinary Teaching Hospital, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo, 060-0818, Japan*

**SUMMARY**

Canine histiocytic sarcoma (HS) has aggressive local infiltration and high metastatic rates. The morphology of this tumor shows highly undifferentiated cells with a mixed pattern of round-cell and mesenchymal appearances. These features can therefore sometimes be misleading and cause difficulties in achieving a definitive diagnosis. Immunohistochemical staining using canine antibodies targeting CD11d, CD18 and MHC class II is helpful for the final diagnosis of canine HS, however this requires special techniques and equipment. We had reported previously that the mRNA expression levels of the four surface antigens CD11b, CD11c, CD86, and MHC class II $\alpha$  between canine HS and other disease samples were comparatively analyzed using qRT-PCR, resulting in the establishment of diagnostic tools for canine HS. The aim of this study was to evaluate diagnostic accuracy for suspected HS dogs clinically using this genetic diagnostic tool. Twelve dogs with suspected HS were included. First, the mRNA expression of each surface antigen in these samples was analyzed, and we applied the expression levels to the diagnostic criteria for canine HS. From the results, eight of the twelve dogs were estimated to have HS using this method. Finally, the estimated eight dogs were histologically determined to have HS, and the remaining four dogs were excluded from having HS. These results indicated that cell surface antigen analysis using qRT-PCR has the potential for clinical application, and may be useful as an adjunctive diagnostic tool for canine HS.

— Key words : dogs, gene analysis, histiocytic sarcoma, surface antigen.

† *Correspondence to : Satoshi TAKAGI (Laboratory of Advanced Veterinary Medicine, Department of Veterinary Clinical Sciences, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University)  
Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo, 060-0818, Japan  
TEL · FAX 011-706-5100 E-mail : staka@vetmed.hokudai.ac.jp*

*J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 67, 263 ~ 268 (2014)*