

短 報

牛の原発不明胎児型横紋筋肉腫の1例

可知正行^{1),2)} 松尾加代子^{1),2)} 加藤樹夫¹⁾ 柳井徳磨²⁾ 酒井洋樹^{2)†}

1) 岐阜県食肉衛生検査所 (〒503-0015 大垣市林町3-167-1)

2) 岐阜大学応用生物科学部 (〒501-1193 岐阜市柳戸1-1)

(2015年12月17日受付・2016年3月2日受理)

要 約

63カ月齢、雌、ホルスタイン牛のと畜検査時に肺や複数の体腔内リンパ節に白色腫瘍を認めた。腫瘍の押捺細胞診により、数個の大型核が密に配置する多核巨細胞を伴う悪性間葉系腫瘍と診断された。病理組織学的には、小型円形の腫瘍細胞の増殖を主体とし、横紋筋芽細胞や筋管様細胞が混在した胎児型横紋筋肉腫と診断された。免疫染色にて、腫瘍細胞は vimentin 及び desmin 陽性で、小型円形腫瘍細胞は MyoD1 陽性、横紋筋分化を呈する腫瘍細胞は myogenin が陽性を示した。本例はまれな牛の胎児型横紋筋肉腫であり、押捺細胞診において筋管様腫瘍細胞に相当する多核巨細胞が検出され、病理組織学的特徴が細胞診標本に反映されていた。

——キーワード：牛，胎児型横紋筋肉腫，押捺細胞診。

-----日獣会誌 69, 199~202 (2016)

動物の横紋筋肉腫は人と同様に、その組織形態から胎児型、胞巣型及び多形型に分類される [1]。牛での横紋筋肉腫の発生は、他の動物種同様に少なく、胎児型の横紋筋肉腫として報告されている症例も少ない [2, 3]。

今回、雌のホルスタイン牛において、と畜検査時に肺や複数の体腔内リンパ節に白色腫瘍形成を認め、腫瘍部の押捺細胞診標本から悪性間葉系腫瘍と判断し、病理組織学的及び免疫組織化学的検索により胎児型横紋筋肉腫と診断した症例に遭遇したので報告する。

材料及び方法

症例：症例は、岐阜県食肉衛生検査所所管のと畜場に搬入されたホルスタイン牛、雌、63カ月齢で搬入時より起立不能であり、生体検査では消瘦を呈していた。神経症状を含め他の異常は認められなかったため、と殺解体を行った。

細胞学的検索：病変部の剖面から押捺標本を作製し、十分な風乾の後、100%メタノールで固定し、ヘマカラー染色（メルク株、東京）を施した。

病理組織学的検索：採取された病変部組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、定法に従ってパラフィン包埋切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）、リタングステン酸・ヘマトキシリン（PTAH）染色を

施した。

免疫組織化学的検索：病変部のパラフィン包埋連続切片を用い、ENVISION/HRP (DAB) キット（ダコ・ジャパン(株)、東京）を用いて実施した。一次抗体には希釈済みの cytokeratin (CK AE1/AE3, ダコ・ジャパン(株)、東京)、希釈済みの vimentin (ダコ・ジャパン(株)、東京)、希釈済みの desmin (ダコ・ジャパン(株)、東京)、50倍希釈の myogenin (ダコ・ジャパン(株)、東京)、100倍希釈の MyoD1 (ダコ・ジャパン(株)、東京)、希釈済みの α -smooth muscle actin (α -SMA, ダコ・ジャパン(株)、東京) を用いた。薄切切片を脱パラフィン後、抗原賦活化として、Target Retrieval Solution (ダコ・ジャパン(株)、東京) に浸漬後、オートクレーブにて121℃、5分加熱処理した。以降はキットの手順に従った。一次抗体の反応は各抗体において上記の希釈倍率で、4℃、18時間行った。発色には3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (Liquid DAB+Substrate-Chromogen System: ダコ・ジャパン(株)、東京) を用い、ヘマトキシリンで対比核染色を行った。CK AE1/AE3, vimentin, desmin 及び α -SMA に対しては、それぞれ標本内に含まれる気管支あるいは肺胞上皮、線維芽細胞及び気管支平滑筋を陽性対照として評価した。また、myogenin 及び MyoD1 の陽性対照として、犬の横

† 連絡責任者：酒井洋樹（岐阜大学応用生物科学部共同獣医学科獣医病理学研究室）

〒501-1193 岐阜市柳戸1-1 ☎・FAX 058-293-2957 E-mail: shiroki@gifu-u.ac.jp

紋筋肉腫組織を用いた [10]. これらの組織とともに、牛の正常な骨格筋組織の染色性も確認した。

成 績

肉眼所見: 解体後検査では、肺の左右両葉の実質及び肺胸膜に直径3~5cmの不定形な白色腫瘍を多数認めた (図1). 腫瘍は硬結感を示し、断面は乳白色充実性で、周辺肺実質との境界は明瞭な部分と不明瞭な部分が認められた (図1). その他、気管気管支リンパ節、縦隔リンパ節、胸骨リンパ節、肝リンパ節、第四胃周囲のリンパ節、腎リンパ節及び内腸骨リンパ節はさまざまな程度に腫大し、硬度を増していた。これらのリンパ節の断面も肺の腫瘍と同様に乳白色を呈したが、壊死や出血も伴っていた。

細胞診所見: と殺後に時間経過した死後組織の押捺細胞診標本であったため、裸核化した細胞が多かったが、観察しうる形態が保持された有核細胞は、弱好塩基性の紡錘形から多角形の細胞質と、1~2個の明瞭な核小体を含む卵円形から長円形の核を有する異型間葉系細胞で、孤在性に散在していた (図2A). また、これらの異型細胞が細胞間に赤紫色の細胞外基質を伴いながら集塊状を成すものも認められた。二核あるいは数個の大型の核が密に配置し、少量の細胞質を有する巨細胞も観察された (図2A).

病理組織学的所見: 肺腫瘍では、類円形の核とごく少量の細胞質を有する小型で円形の腫瘍細胞が充実性に増殖し、一部の領域では、線維性結合組織の増生も観察された (図2B). 腫瘍細胞の核染色質は繊細で、クロマチン結節に富み、明瞭な核小体を1つから数個有していた。これらの腫瘍細胞の増殖巣内にやや濃染する核と好酸性

の広い細胞質を有する円形の横紋筋芽細胞様腫瘍細胞 (図2C) や、細胞質が好酸性細線維状で細長く、二核あるいは多核化した筋管様腫瘍細胞が散見された (図2C). これらの筋管様腫瘍細胞には細胞質内に横紋構造が観察されるものもあり、これらの横紋はPTAH染色でより明瞭に染色された (図2D). 小型で円形の腫瘍細胞に有糸分裂像は多く認められたが、横紋筋芽細胞様腫瘍細胞や筋管様腫瘍細胞には有糸分裂像は乏しかった。腫瘍細胞は周囲の肺組織に浸潤性に増殖し、肺胞腔あるいは細気管支内に突出する部分も認められた。腫大、硬化していた各リンパ節も、肺腫瘍と同様の腫瘍組織により置換されていた。

免疫組織化学的所見: 免疫染色では、腫瘍細胞の細胞質において vimentin 及び desmin が陽性を示した。また、陽性対照の犬の横紋筋肉腫組織と同様に、myogenin は大型の細胞質を有する横紋筋芽細胞様腫瘍細胞や多核化した筋管様腫瘍細胞の核が陽性を示し (図2E). 一方、MyoD1 はおもに細胞質の乏しい小型円形腫瘍細胞の核が陽性を示した。CK AE1/AE3 及び α -SMA は、それぞれ気管支あるいは肺胞上皮、気管支平滑筋で陽性を示したものの、腫瘍細胞は陰性であった。牛の正常な骨格筋組織において、骨格筋細胞では myogenin 及び MyoD1 は陰性を示した。

本症例は病理組織学的及び免疫組織化学的特徴から胎児型横紋筋肉腫と診断された。

考 察

本例において、腫瘍は肺及び体腔内リンパ節に認められ、骨格筋や心臓を含む、他の臓器には認められなかった。また、肺では実質内に複数の腫瘍が認められたが、体腔リンパ節にも腫瘍が認められたため、肺に原発し肺内転移したものか、あるいは他部位からの肺転移かの判断はできなかった。横紋筋肉腫は、必ずしも横紋筋組織から発生するわけではなく、むしろ骨格筋などの横紋筋組織からの発生は少ないとされる [1]. 過去にも、原発臓器の特定が困難な体腔内の複数の腫瘍形成を認める牛の横紋筋肉腫が報告されており [2, 4, 5], 本例も原発臓器の特定が困難な例の1つと考えられた。

牛の横紋筋肉腫では、胎児型、胞巣型及び多形型いずれの組織型も報告されている [2-8]. 胎児型は小型の未分化な円形の腫瘍細胞、横紋筋芽細胞様細胞及び筋管様細胞が混在して増殖したもの、胞巣型は小型の未分化な円形細胞の増殖がみられ、胎児型にみられる横紋筋芽細胞様細胞及び筋管様細胞がみられないもの、さらに多形型は未分化な円形細胞成分はみられず、紡錘形の腫瘍細胞と横紋筋芽細胞様細胞及び筋管様細胞が混在した増殖を示す [1]. 本例では、増殖の主体は横紋筋芽細胞への分化に関連した転写因子である MyoD1 陽性の小型の

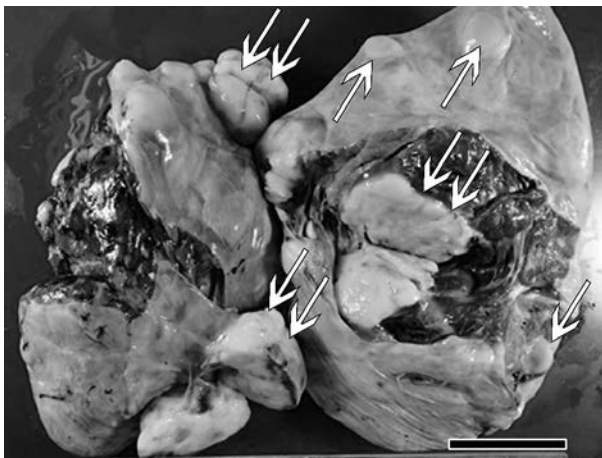


図1 肺の肉眼写真

肺の実質及び肺胸膜に直径3~5cmの不定形な白色腫瘍を数個認める (矢印). 腫瘍の断面は乳白色充実性で、周辺肺実質との境界が明瞭な部分と不明瞭な部分が認められる. (Bar=5cm)

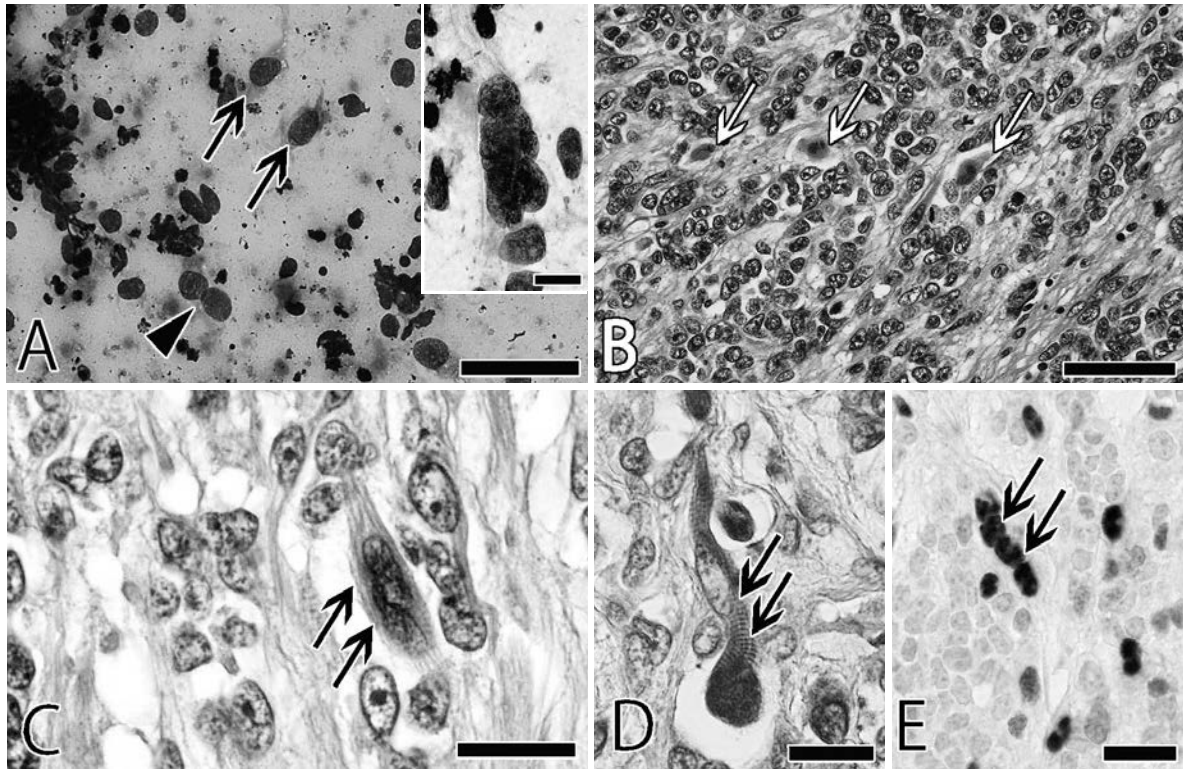


図2 牛の横紋筋肉腫の細胞学的、病理組織学的及び免疫組織学的特徴

- A: 肺の押捺細胞診標本。紡錘形で、弱好塩基性の細胞質と円形から長円形で、1～2個の明瞭な核小体を有する異型間葉系細胞が孤在性に散在している(矢印)。二核のものも認められる(矢頭)。(Bar=50 μ m)
挿入図は多核巨細胞で、数個の大型の核が密に配置し、少量の細胞質を有する。(Bar=10 μ m)
- B: 肺のHE標本。類円形の核とごく少量の細胞質を有する小型円形腫瘍細胞が充実に増殖する。やや濃染する核と好酸性の広い細胞質を有する円形の横紋筋芽細胞様腫瘍細胞(矢印)が散在する。(Bar=50 μ m)
- C: 筋管様腫瘍細胞。細胞質が好酸性細線維状で細長く、複数の核が密接して存在する(矢印)。(Bar=20 μ m)
- D: PTAH染色。細胞質内に横紋が明瞭に観察される(矢印)。(Bar=20 μ m)
- E: myogeninに対する免疫染色。多核化した筋管様腫瘍細胞の核が陽性を示す(矢印)。(Bar=20 μ m)

円形細胞が主体で、その中に横紋筋芽細胞様細胞及び細胞増殖を停止させ、筋管細胞へ導く転写因子であるmyogenin陽性の筋管様細胞が散在する胎児型に相当するものと考えられた[9, 10]。牛ではMyoD1やmyogeninの発現についての報告は乏しいが[6, 7]、本症例ではこれらの転写因子の発現と腫瘍細胞の形態の関係は、人や犬の横紋筋肉腫の報告と一致していた[9, 10]。

細針生検や押捺標本を用いた細胞学的検査は、小動物臨床では一般的に行われる形態学的検査である。その簡便性及び迅速性から、と畜検査時の腫瘍診断などに応用可能と思われるが、リンパ腫(牛白血病)などの一部の腫瘍を除いて、細胞学的な特徴に関する情報は乏しい[11]。牛の横紋筋肉腫の細胞学的所見に関する報告も乏しいが[6]、人や小動物の横紋筋肉腫症例では、細胞質内に横紋構造の存在が報告されている[12, 13]。本例の押捺標本では紡錘形の悪性とみられる間葉系腫瘍細胞が主体であったものの、横紋構造は確認できなかった。しかし、横紋筋肉腫で特徴的とされる複数の核が連鎖状に配列する多核の腫瘍細胞が認められた[12, 13]。

この多核巨細胞はHE標本において散在していた好酸性の豊富な紡錘形の細胞質を有する筋管様腫瘍細胞に一致すると考え、これら多核巨細胞の核にmyogeninの陽性像を認めた点から、横紋筋の発生・分化過程にみられる筋管に類似した分化を示す横紋筋肉腫に特異的な細胞と考えられた。HE標本上での筋管様腫瘍細胞の数に比較して、今回の細胞診標本では、これらの細胞は非常に少なかった。これは、死後変化による裸核化に起因すると考えられ、より新鮮な組織からの細胞診標本の作製が必要と思われた。

本症例では腫瘍の押捺細胞診標本から、横紋筋肉腫が予想される多核巨細胞を伴う悪性間葉系腫瘍と診断できたことから、と畜検査における細胞診の有用性について再確認した症例であった。と畜検査において、年齢の高い廃用牛を検査する場合、家畜伝染病予防法に規定する届出伝染病である牛白血病や、牛白血病と肉眼的に鑑別に苦慮する腫瘍に遭遇する機会も多く、詳細な検索がなされないまま多発性腫瘍として全部廃棄処分とすることも少なくない。この多発性腫瘍には本例のようなまれな

腫瘍症例が含まれている可能性もあり、今後、腫瘍性病変を含めたさまざまな病変についての細胞診所見を蓄積することにより、簡便かつ迅速な腫瘍の形態学的診断として、と畜検査への細胞診の活用が期待される。

引用文献

- [1] Cooper BJ, Valentine BA : Muscle and Tendon. In Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals Vol.1, Maxie MG eds, 6th ed, 164-249, Elsevier, St Louis (2015)
- [2] Jimma K, Wada Y, Ishikawa Y, Kadota K : Differentiated embryonal rhabdomyosarcoma in a cow, J Vet Med Sci, 61, 577-580 (1999)
- [3] Ulrich R, Buck B, Distl O, Wohlsein P : Congenital embryonal rhabdomyosarcoma of the head in a red and white German Holstein calf, Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere, 42, 100-105 (2014)
- [4] Kajiwara A, Tani N, Kobayashi Y, Furuoka H, Sasaki N, Ishii M, Inokuma H : Rhabdomyosarcoma with posterior paresis and megaesophagus in a Holstein heifer, J Vet Med Sci, 71, 827-829 (2009)
- [5] Matsui T, Imai T, Han JS, Awakura T, Taniyama H, Osame S, Nakagawa M, Ono T : Bovine undifferentiated alveolar rhabdomyosarcoma and its differentiation in xenotransplanted tumors. Vet Pathol, 28, 438-445 (1991)
- [6] Bisby TM, Pratt SM, Fenton RK, Baird AN, Thompson CA, Lin TL : What is your diagnosis? Perifemoral mass in a cow, Vet Clin Pathol, 38, 343-347 (2009)
- [7] Taylor DP, Ladds PW, Tucker P : Primary cardiac rhabdomyosarcoma in a steer, Aust Vet J, 80, 571-572 (2002)
- [8] Aoyagi T, Saruta K, Asahi I, Hojo H, Shibahara T, Kadota K : Pleomorphic rhabdomyosarcoma in a cow, J Vet Med Sci, 63, 107-110 (2001)
- [9] Caserto BG : A comparative review of canine and human rhabdomyosarcoma with emphasis on classification and pathogenesis: Vet Pathol, 55, 806-826 (2013)
- [10] Kobayashi M, Sakai H, Hirata A, Yonemaru K, Yanai T, Watanabe K, Yamazoe K, Kudo T, Masegi T : Expression of myogenic regulating factors, Myogenin and MyoD, in two canine botryoid rhabdomyosarcomas, Vet Pathol, 41, 275-277 (2004)
- [11] Washburn KE, Streeter RN, Lehenbauer TW, Snider TA, Rezabek GB, Ritchey JW, Meinkoth JH, Allison RW, Rizzi TE, Boileau MJ : Comparison of core needle biopsy and fine-needle aspiration of enlarged peripheral lymph nodes for antemortem diagnosis of enzootic bovine lymphosarcoma in cattle, J Am Vet Med Assoc, 230, 228-232 (2007)
- [12] 木屋千恵子, 若木邦彦, 前田宜延 : 副咽頭に発生した胎児型横紋筋肉腫の1例, 日本臨床細胞学会雑誌, 37, 65-69 (1998)
- [13] 米富大祐, 蔵所宏好 : 骨浸潤をきたした横紋筋肉腫の猫の1例, 日獣会誌, 65, 138-141 (2012)

Embryonal Rhabdomyosarcoma of Unknown Origin in a Cow

Masayuki KACHI^{1),2)}, Kayoko MATSUO^{1),2)}, Mikio KATO¹⁾, Tokuma YANAI²⁾ and Hiroki SAKAI^{2)†}

1) Gifu Prefectural Meat Inspection Office, 3-167-1 Hayashi-machi, Ogaki 503-0015, Japan

2) Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu, 501-1193, Japan

SUMMARY

White masses were detected in the lungs and abdominal and thoracic lymph nodes of a 63-month-old-female Holstein cow in a meat inspection. Following a cytological examination, sarcoma with multinucleated giant cells was diagnosed using the stamp-smear method. Histopathological examination revealed that the tumor comprised a predominant proliferation of small round neoplastic cells with scattered myoblast- or myotube-like neoplastic cells. Thus, it was diagnosed as an embryonal rhabdomyosarcoma. Immunohistochemical analysis revealed that the neoplastic cells were positive for vimentin and desmin, the predominant small round neoplastic cells were positive for MyoD1, while the neoplastic cells with striated muscle differentiation were positive for myogenin. The present case is a rare form of bovine embryonal rhabdomyosarcoma. Moreover, multinucleated giant cells corresponding to the myotube-like neoplastic cells in the histopathological specimens were detected in the stamp smear. — Key words : cow, embryonal rhabdomyosarcoma, stamp cytology.

† Correspondence to : Hiroki SAKAI (Gifu University)

1-1 Yanagido, Gifu, 501-1193, Japan TEL · FAX 058-293-2957 E-mail : shiroki@gifu-u.ac.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 69, 199 ~ 202 (2016)