

牛 芽 球 型 急 性 赤 血 病 の 1 例

梅島典子^{1)†} 田中成子¹⁾ 木村政明¹⁾ 新堂美穂¹⁾菊 佳男²⁾ 石川義春²⁾ 門田耕一²⁾

1) 十和田食肉衛生検査所 (〒034-0001 十和田市三本木野崎1-13)

2) 国研農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門北海道研究拠点

(〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘4)

(2019年4月28日受付・2019年9月9日受理)

要 約

沈鬱と消瘦を示す黒毛和種雌牛に、急性赤血病（純赤芽球性白血病）が認められた。白血球数は高値ではなかったが、血液塗抹において腫瘍細胞比率が高かった。肉眼的には脾臓といくつかのリンパ節が高度に腫大していた。腫瘍細胞は脾臓、リンパ節、胸腺をほぼ完全に置換していた。この細胞にはヘモグロビン（Hb）がときどき発現していたが、その他のリンパ造血系マーカーは陰性であった。以前の報告では成熟した赤芽球系細胞が存在していたのに対し、今回の症例では大型の芽球が大部分を占めていたため、芽球型急性赤血病と診断したが、牛ではこの型の腫瘍の報告は初めてである。赤芽球系腫瘍の診断は、動物では血液または骨髄の塗抹標本を用いて行われることが多いが、今回の研究で、塗抹標本や組織切片でHbに対する免疫染色を使えば、診断はより正確になることが示唆された。

——キーワード：急性赤血病，牛，赤芽球性白血病，ヘモグロビン。

-----日獣会誌 73, 47～51 (2020)

ヒト急性骨髄性白血病のWHO分類において、赤芽球系細胞が主体を占める腫瘍（急性赤芽球性白血病）は、赤芽球系細胞だけから成るタイプ（純赤芽球性白血病）と赤芽球系細胞と骨髄芽球から成るタイプ（赤白血病）に分けられる [1]。前者において、主に未熟な芽球（前赤芽球に相当）から成る症例は芽球型赤血病と呼ばれることがある [2]。

赤芽球性白血病は臨床的には顕著な貧血を示すことが多く、最初から白血病として起こってくる場合と、骨髄異形成症候群などが急性転化により白血病に移行する場合がある [3]。赤芽球系腫瘍のマーカーとしてはヘモグロビンとグリコフォリンがあり、腫瘍化した赤芽球系細胞は過ヨウ素酸シッフ（PAS）染色で陽性に染まりやすくなる [3]。

牛の骨髄系腫瘍の報告は少なく、子牛に発生した場合、白血球数（WBC）や腫瘍細胞の体内分布が類似する子牛型白血病（前駆リンパ芽球性白血病）と誤診している可能性がある [4]。また、過去の報告例では、腫瘍

細胞の免疫表現型が調べられていないことがある [5]。

一方、免疫染色を実施しても一部のマーカーしか調べていない場合、混合性白血病のように複数の系統が腫瘍化している可能性を否定できない [3]。赤芽球系腫瘍の報告は猫で比較的多く、ほとんどの症例が猫白血病ウイルスと関連している [6]。馬の急性赤血病の報告は2例あり、骨髄塗抹標本に基づいて診断が行われた [7, 8]。牛ではヘモグロビン（Hb）に対する免疫染色に基づき、急性赤血病と赤芽球肉腫の確定診断が行われたが [9, 10]、芽球型急性赤血病の報告はない。

今回、雌成牛に急性赤血病を認め、既報の赤芽球系腫瘍と比較したので報告する。

材 料 及 び 方 法

牛の概要：雌牛（3.5歳，黒毛和種）が沈鬱と中程度の消瘦を示していた。放血時に採取した血液の白血球数（WBC）は16,400/ μ lで（正常値：5,000～11,000）、塗抹標本にて有核細胞の多くは好塩基性細胞質を有する

† 連絡責任者：梅島典子（十和田食肉衛生検査所）

〒034-0001 十和田市三本木野崎1-13

☎ 0176-22-1716 FAX 0176-22-5021

E-mail : n326umeshima@gmail.com

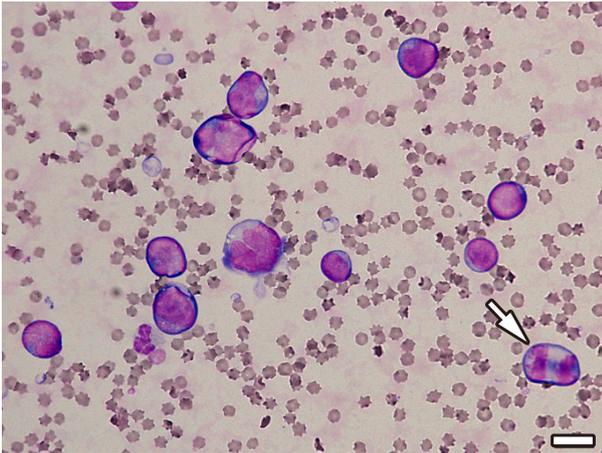


図1 血液塗抹標本
さまざまな大きさを示す異型細胞（腫瘍細胞）が観察され、有糸分裂像も認められる（矢印）（ギムザ染色 Bar=10 μ m）.

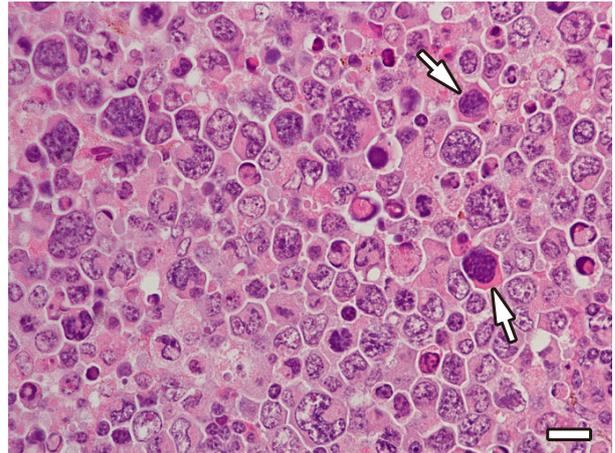


図2 内側腸骨リンパ節
腫瘍性巨細胞が目立つ領域で、一部の腫瘍細胞の細胞質は好酸性で、核は濃縮傾向を示す（矢印）（HE染色 Bar=10 μ m）.

細胞で、核はしばしば不整形で、有糸分裂像を少数認めた（図1）。この細胞を異型細胞として白血球百分比を求めたところ、分葉核好中球1.5%、リンパ球6.5%、単球2.5%、異型細胞（円形核）88.5%、異型細胞（分葉核）1.0%であった。比較的小型で濃縮核を有する赤芽球様細胞の数は、きわめて少なかった。

肝臓、脾臓、腎臓、縦隔リンパ節、内側腸骨リンパ節の nested PCR 検査で [11]、牛白血病ウイルス（BLV）プロウイルス遺伝子が検出された。

組織学的、酵素組織化学的検査：肝臓、脾臓、腎臓、心臓、縦隔リンパ節、内側腸骨リンパ節、胸腺、子宮を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィンに包埋し、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色とギムザ染色を行った。好中球系または肥満細胞系への分化の有無を知るために、ナフトールAS-Dクロロアセテートエステラーゼ（CAE）染色を実施した。

免疫組織化学的検査：HE染色標本の観察によって腫瘍細胞の状態が良好なパラフィンブロックを選び、切片を作製した。一次抗体として、CD3（Dako A/S, Denmark）、CD20（Spring Bioscience, U.S.A.）、第8因子関連抗原（株ニチレイバイオサイエンス、東京）、Hb（Lipshaw, U.S.A.）に対するウサギポリクローナル抗体と、トリプターゼ（クローン名AA-1, Lab Vision, U.S.A.）、マクロファージ、ミエロイド／組織球抗原（MMA）（MAC387, Dako A/S, Denmark）、CD68（EBM11, Dako A/S, Denmark）、サイトケラチン（CK）（MNF116, Dako Corporation, U.S.A.）に対するマウスモノクローナル抗体を使用した。以後の操作は、ヒストファインSAB-POキット（Histofine SAB kit, 株ニチレイバイオサイエンス、東京）により実施した。

結 果

肉眼所見：脾臓は高度に腫大し、脾材が不明瞭であった。リンパ節（縦隔、内側腸骨、肝）も高度に腫大し割面の膨隆を示したが、胸腺は正常にみえた。肝臓の表面と実質、心外膜、心室の心筋、腹部から背部にかけての皮下組織に点状出血があり、心外膜には直径5mmの白色結節が認められた。腎臓では、点状出血と梗塞巣が散見された。

以上の所見から、牛白血病または敗血症を疑った。

組織学的、酵素組織化学的所見：脾臓は腫瘍組織から成り、リンパ組織はほとんどなかった。リンパ節と胸腺も、ほぼ完全に腫瘍細胞に置換されていたが、わずかにリンパ組織が残存していた。肝臓のグリソン鞘と類洞には多数の腫瘍細胞が存在し、腎臓には中等度の腫瘍細胞の浸潤と増殖がみられた。心臓と子宮には広範囲に軽度の腫瘍細胞浸潤があった。

腫瘍細胞は主に大型で、大小不同を示した。核は円形、楕円形または不整形で、核小体は小型から中型の大きさで、クロマチンの凝集は軽度であった。大部分の腫瘍細胞は中等量の細胞質をもっており、ギムザ染色で細胞質内顆粒は観察されなかった。単核または多核の巨細胞がときどきみられ（図2、3）、一部の細胞には大きな核小体と高度の核膜不整を特徴とする大型異型核を認めた。濃縮核または好酸性細胞質を有する腫瘍細胞はまれで（図2）、CAE陽性腫瘍細胞はなかった。有糸分裂像は頻繁に認められた。

免疫組織化学的所見：Hb染色で陽性に染まる腫瘍細胞がときどき認められ（図4）、その数はHE染色で細胞質が好酸性に染まる細胞の数よりもはるかに多かった。前赤芽球に相当する大型細胞や、より小型の細胞が

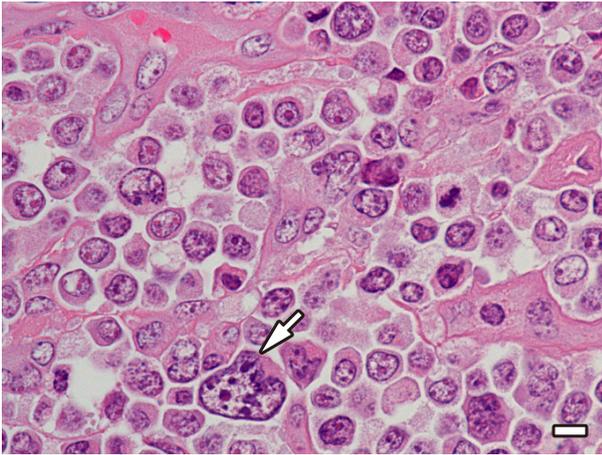


図3 胸腺
腫瘍細胞の大多数は大型で、単核の巨細胞も認められる(矢印)(HE染色 Bar=5 μ m).

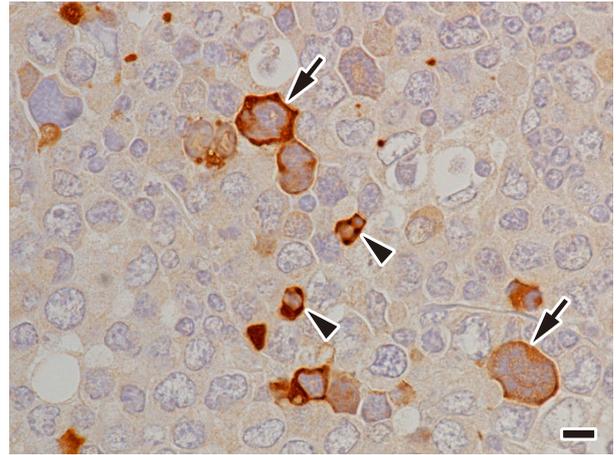


図5 内側腸骨リンパ節
大型腫瘍細胞(矢印)と赤芽球に相当する小型腫瘍細胞(矢頭)が、Hb染色で陽性を示す(免疫染色 Bar=5 μ m).

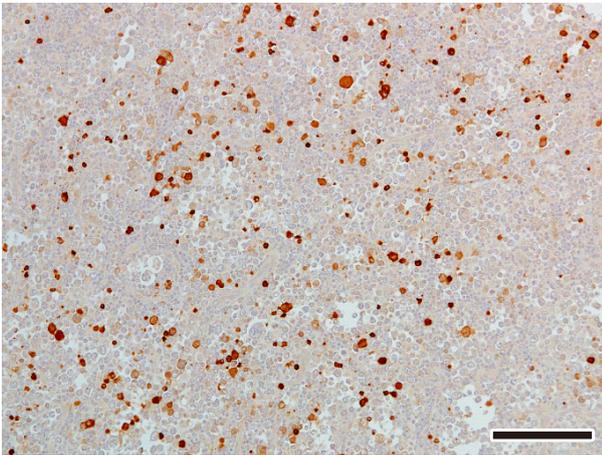


図4 内側腸骨リンパ節
Hb陽性腫瘍細胞が散見される(免疫染色 Bar=100 μ m).

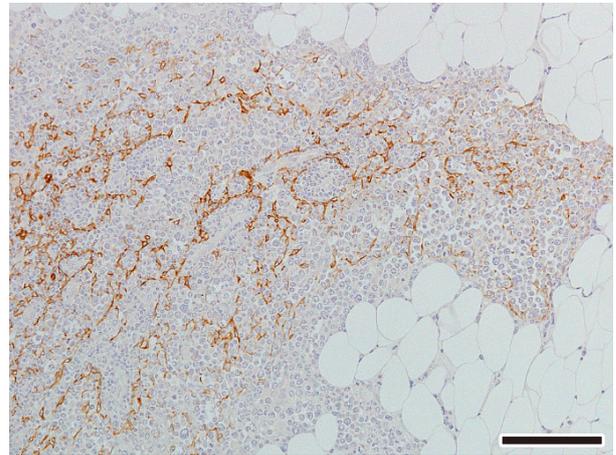


図6 胸腺
CK染色により、上皮性細胞網工の残存と腫瘍細胞の周囲脂肪組織への侵襲がみられる(免疫染色 Bar=100 μ m).

陽性であったが(図5)、核濃縮を示す陽性細胞は非常に少なかった(核細胞質成熟乖離)。Hb以外のマーカーに対する免疫染色は陰性であった。上皮性細胞網工はCK陽性で、この染色により腫瘍組織全体にわたる胸腺の基本構築の残存が明白になった(図6)。

考 察

生体検査と肉眼検査の結果から地方病性牛白血病(リンパ系腫瘍)を疑い、リンパ球のマーカーを調べたが腫瘍細胞は陰性であった。骨髄性白血病の可能性があり、HE染色では診断しにくいいためギムザ染色を実施したが、細胞質内に顆粒はなく、顆粒球、肥満細胞及び細胞質内に顆粒を含むリンパ球の腫瘍ではないことが証明された(ただし、牛では形態学的に前骨髄球以降の分化を

示さない顆粒球系腫瘍の診断は難しい)。さらに、免疫染色により、腫瘍細胞がリンパ球、好中球、好塩基球、肥満細胞、単球/大食細胞、巨核球のマーカーを発現していないことを確認した[10]。唯一陽性に染まったのはHbで、赤芽球の腫瘍だと判断した。牛の急性骨髄性白血病の報告は子牛が多く、急性赤血病は128日齢の子牛に発生したことがある[9]。

今回の症例は3.5歳の成牛であったが、肉眼検査で節外性に大型腫瘍の形成はなく、血液塗抹で多数の腫瘍細胞を認めた。組織学的には、脾臓が腫瘍細胞に置換され、胸腺における腫瘍細胞の浸潤態度が急性リンパ性白血病に類似していたことから[12]、急性赤血病と診断した[9]。成熟した赤芽球様細胞が容易にみつける子牛の症例とは異なり、大部分の腫瘍細胞が核濃縮を示さない前

赤芽球様細胞であったため、最終診断名は芽球型急性赤血病とした [2].

牛の赤芽球肉腫では、腫瘍細胞に高度の多形性と異型性が認められ、このような形態学的異常は腫瘍細胞の機能（血管内に入り増殖する）にも影響を与えると考えられた（WBCは5,400と低値に留まる）[10]. この腫瘍は腫瘍の形成を特徴とし、病変の分布が体の一部に偏るため [10], 急性赤血病との鑑別は容易である. 一方、以前に報告された急性赤血病では、WBCは30,800と比較的高値で、腫瘍細胞は正常の赤芽球系細胞に似ており、しかも成熟赤芽球に相当する小型細胞（核は濃縮し、細胞質は好酸性で、Hbが陽性）が目立った [9].

今回は、HE染色標本において小型の赤芽球の数が少なく、赤芽球が腫瘍性であるかどうかを判断する必要があった. しかし、免疫染色により幼若な核を持つ大型細胞（前赤芽球に相当）にHb陽性像が確認され（核細胞質成熟乖離）、確定診断ができた.

猫では赤血病または赤白血病の報告が比較的多い [6]. 一方、牛や馬では非常に少なく、馬の2症例では骨髓塗抹標本における腫瘍細胞の形態に基づいて診断が行われた [7, 8]. しかし、牛赤芽球肉腫 [10] と今回の症例の血液塗抹標本では、赤芽球様細胞の出現はまれで、前赤芽球様細胞の同定も容易ではなかった. 動物の骨髓系腫瘍では、血液または骨髓の塗抹標本における腫瘍細胞の形態学的特徴を根拠に診断を下すことが多いが [5-8], 牛の骨髓系腫瘍の臨床及び病理は十分に確立されておらず、現時点では、血液検査だけに基づいて診断するには無理があると思われる.

食肉検査では、初期か中期の急性白血病に遭遇することが多く、肉眼病変が目立たないか軽微な場合がある. 本症例では、脾臓と一部のリンパ節の腫大が認められ、いくつかの臓器に点状出血があり、BLVが陽性であることから地方病性白血病（リンパ腫）を疑ったが、敗血症の可能性も考慮された. しかし、血液塗抹標本で大型腫瘍細胞が多数観察され、好中球はほとんどなかった.

今回は、組織の免疫染色により急性赤血病の診断が確定したが、塗抹標本やスタンプ標本に免疫染色を行えば、より迅速な診断が可能だと思われる. また、骨髓が腫瘍に置き換わる急性白血病では貧血が起こるので [3], 赤血球数やヘマトクリット値を調べると、急性白血病の診断の助けになるかもしれない.

引用文献

- [1] Arber DA, Brunning RD, Orazi A, Porwit A, Peterson L, Thiele J, Le Beau MM : Acute myeloid leukaemia, not otherwise specified, WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW eds, 130-139, IARC, Lyon (2008)
- [2] 飯田真介, 竹内元二, 小松和弘, 坂野章吾, 脇田充史, 仁田正和, 高田勝利, 御供泰治, 山本正彦, 増岡秀一, 海渡 健 : 芽球型急性赤血病の1剖検例, 臨床血液, 32, 1486-1491 (1991)
- [3] 井口豊崇, 川合陽子, 木崎昌弘 : 分類不能の急性骨髄性白血球病, 木崎昌弘, 押味和夫編, 新WHO分類による白血球・リンパ系腫瘍の病態学, 82-96, 中外医学社, 東京 (2004)
- [4] Kagawa Y, Tomita K, Nakatani H, Sato K, Wada Y, Ishikawa Y, Kadota K : Immunohistochemical characterization of five types of lymphoid neoplasms in calves, JARQ-Jpn Agr Res Q, 43, 239-245 (2009)
- [5] Laabs EM, Mischke R, Dziallas P, Maiolini A, Tipold A, Raddatz B, Puff C, Rehage J : Acute basophilic leukaemia in a three-month-old calf, Acta Vet Scand, 57, 48 (2015)
- [6] Fischer C, Tan E, Bienzle D : Erythroleukemia in a retrovirus-negative cat, J Am Vet Med Assoc, 240, 294-297 (2012)
- [7] Forbes G, Feary DJ, Savage CJ, Nath L, Church S, Lording P : Acute myeloid leukaemia (M6B: pure acute erythroid leukaemia) in a Thoroughbred foal, Aust Vet J, 89, 269-272 (2011)
- [8] Panziera W, Tessele B, Bianchi R, Tochetto C, de La Corte F, Brass K, Figuera R : Equine acute erythroid leukemia, Cienc Rural, 45, 2214-2217 (2015)
- [9] Watanabe Y, Sekine T, Yabe M, Kadota K : Myeloproliferative disease in a calf, J Comp Pathol, 119, 83-87 (1998)
- [10] Ogasawara F, Kumagai Y, Mikami O, Ishikawa Y, Kadota K : Erythroblastic sarcoma in the thoracic cavity of a cow, J Vet Med Sci, 81, 134-137 (2019)
- [11] Fechner H, Blankenstein P, Looman AC, Elwert J, Geue L, Albrecht C, Kurg A, Beier D, Marquardt O, Ebner D : Provirus variants of the bovine leukemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle, Virology, 237, 261-269 (1997)
- [12] Yokota R, Sato K, Wada Y, Ishikawa Y, Kadota K : Immature T cell neoplasms in three young cattle, J Vet Med Sci, 77, 1697-1700 (2015)

Blastic Type of Acute Erythremic Myelosis in a Cow

Noriko UMESHIMA^{1)†}, Shigeko TANAKA¹⁾, Masaaki KIMURA¹⁾, Miho SHINDO¹⁾,
Yoshio KIKU²⁾, Yoshiharu ISHIKAWA²⁾ and Koichi KADOTA²⁾

1) *Towada Meat Inspection Center, 1-13 Nozaki, Sanbongi, Towada, 034-0001, Japan*

2) *Hokkaido Research Station, National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization, 4 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, 062-0045, Japan*

SUMMARY

A case of acute erythremic myelosis (pure erythroleukemia) was detected in a Japanese Black cow with depression and emaciation. The white blood cell count was not very high, but there was a high percentage of neoplastic cells on blood smears. Necropsy examination showed marked enlargement of the spleen and some lymph nodes. The spleen, lymph nodes and thymus were almost completely replaced by neoplastic cells. The cells sometimes expressed hemoglobin (Hb), but the other lymphohematopoietic markers tested were absent. In contrast to a previously reported case with several mature erythroid cells, the current case was composed mostly of large blastic cells and was diagnosed as a blastic type of acute erythremic myelosis, which has not been reported in cattle to our knowledge. The diagnosis of erythroid neoplasms is usually based on Giemsa-stained smears of blood or bone marrow in veterinary literature. However, this report suggests that the diagnosis is more correct when Hb immunohistochemistry is applied to smears or formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. — Key words : acute erythremic myelosis, cattle, erythroleukemia, hemoglobin.

† *Correspondence to : Noriko UMESHIMA (Towada Meat Inspection Center)*

1-13 Nozaki, Sanbongi, Towada, 034-0001, Japan

TEL 0176-22-1716 FAX 0176-22-5021 E-mail : n326umeshima@gmail.com

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 73, 47~51 (2020)