

豚の両側眼瞼に発生した形質細胞腫の1例

渡戸欽也¹⁾ 山岸純二郎¹⁾ 村松智恵子¹⁾ 酒井洋樹^{2)†}

1) 名古屋市食肉衛生検査所 (〒455-0027 名古屋市港区船見町1-39)

2) 岐阜大学応用生物科学部 (〒501-1193 岐阜市柳戸1-1)

(2019年6月28日受付・2019年10月17日受理)

要 約

6カ月齢、去勢済み雑種豚のと畜検査時に、両側眼瞼の外反を伴う腫脹を認めた。内臓を含めたその他の部位には著変は認めなかった。病理組織学的に、腫脹した両側眼瞼結膜下において、形質細胞様腫瘍細胞がびまん性かつシート状に増殖し、これらの腫瘍細胞はCD3、CD79 α 及びCD20には陰性を示したが、免疫グロブリン λ 鎖及び α 鎖、MUM1に陽性を示した。病理組織学的及び免疫組織化学的に形質細胞腫と診断された。

——キーワード：眼瞼，豚，形質細胞腫。

-----日獣会誌 73, 149～153 (2020)

形質細胞性腫瘍は、B細胞の最終分化段階である形質細胞由来の腫瘍で、免疫グロブリンの産生を特徴とする[1]。動物の形質細胞性腫瘍は、骨髄組織に認められる骨髄腫の報告は少なく、軟部組織に認められる髄外性形質細胞腫については、老犬における発生が多く報告されているものの、その他の動物においてはまれである[2, 3]。豚においては、腸管に認められた免疫グロブリン λ 鎖及び α 鎖を産生する形質細胞腫が報告されているが[4]、眼部に認められた症例の報告はこれまでにない。

今回、去勢済みの雑種豚において、と畜検査時に両眼瞼に外反を伴う全周性の腫脹を認め、病理組織学的及び免疫組織化学的検査により、形質細胞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、名古屋市食肉衛生検査所所管のと畜場に搬入された雑種豚、去勢済み雄、6カ月齢で、生体検査では両側眼瞼に、外反を伴う高度な全周性の腫脹を認めた(図1A)。元気及び歩行、その他には異常は認められなかったため、と殺解体を行った。

肉眼検査及び病理組織学的検査：採取された眼部病変部組織は肉眼観察の後、20%中性緩衝ホルマリン液で固定し、定法に従いパラフィンに包埋、3 μ mに薄切後、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。HE染色標本における腫瘍細胞の有糸分裂像指数の算定は、

高倍率(対物レンズ40倍及び視野数22mmの接眼レンズ10倍)で10視野をもとに算出した[3]。

免疫組織化学的検査：病変部のパラフィン包埋連続切片に対して、市販の免疫組織化学的検査キット(ENVISION/HRP-DAB, ダコ・ジャパン(株), 東京)を用いた。一次抗体は、抗ヒトcytokeratinマウスモノクローナル抗体(AE1/AE3, 希釈済み)、抗ヒトvimentinマウスモノクローナル抗体(V9, 希釈済み)、抗ヒトCD3ウサギポリクローナル抗体(8,000倍希釈)、抗ヒトCD79 α マウスモノクローナル抗体(HM57, 50倍希釈)、抗ヒトMUM1マウスモノクローナル抗体(MUM1p, 50倍希釈)、抗ヒト免疫グロブリン λ 鎖ウサギポリクローナル抗体(10,000倍希釈)、抗ヒト免疫グロブリン κ 鎖ウサギポリクローナル抗体(8,000倍希釈)、抗ヒトKi-67抗原マウスモノクローナル抗体(MIB1, 50倍希釈)(以上、ダコ・ジャパン(株), 東京)、抗ブタ免疫グロブリン μ 鎖ウサギポリクローナル抗体、抗ブタ免疫グロブリン α 鎖ウサギポリクローナル抗体、抗ブタ免疫グロブリン γ 鎖ウサギポリクローナル抗体(以上、3,200倍希釈, Bethyl Laboratories, U.S.A.)及び抗ヒトCD20ウサギポリクローナル抗体(1,000倍希釈, Lab Vision Corporation, U.S.A.)を用いた。

薄切切片を脱パラフィン後、抗原賦活化処理として、cytokeratin, vimentin, CD3, CD79 α , MUM1及びKi-67に対しては、クエン酸緩衝液(Target Retrieval

† 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

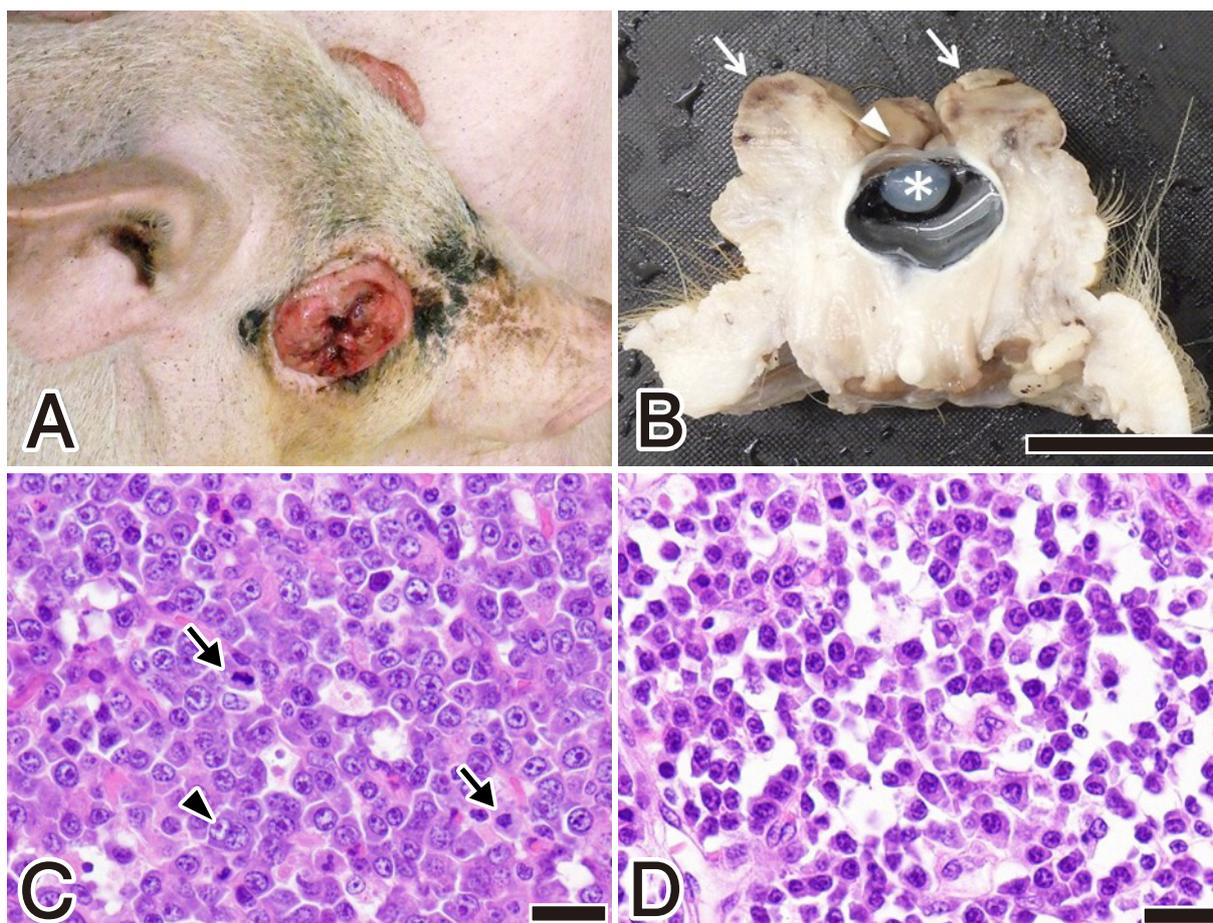


図1 豚の両側眼瞼に発生した形質細胞腫

- A: 肉眼像. 両側性に眼瞼は腫大, 外反し, 眼裂は狭小化していた.
- B: 眼球とともに摘出した眼瞼腫瘍の固定後剖面像. *は水晶体で, 矢印が腫大した眼瞼, 矢頭が角膜表面に形成された白色結節. 眼瞼は腫瘍増殖で腫大するものの, 眼球強膜とは境界明瞭で, 外眼筋への浸潤もみられなかった. (Bar=3cm)
- C: 眼瞼粘膜下の組織像. 腫瘍細胞は, やや偏在した卵円形核(8~10 μ m)と両染色の少量から中等量の細胞質を有し, 核染色質は粗造で, 核内には, 明瞭で大型の核小体を1~2個有していた. 二核化した腫瘍細胞も散見された(矢頭). 矢印は有糸分裂像. (Bar=20 μ m)
- D: 眼瞼の腫瘍増殖の辺縁部の組織像. 腫瘍細胞は, 核の直径が5 μ m程度で, 核小体は不明瞭, 凝集した染色質を有し, 核近傍の細胞質にゴルジ野が観察される形質細胞様を呈していた. (Bar=20 μ m)

Solution, Citrate pH6, ダコ・ジャパン(株, 東京)に浸漬後, オートクレーブにて121 $^{\circ}$ C, 15分間加熱処理し, 免疫グロブリンの各分子に対しては, タンパク分解酵素(Proteinase K, 0.4mg/ml, ダコ・ジャパン(株, 東京)処理(37 $^{\circ}$ C, 15分)を行った. CD20に対しては, 抗原賦活化処理を行わなかった.

その後の手順は, キットのプロトコールに従った. 一次抗体の反応は, 4 $^{\circ}$ C, 18時間行った. 発色には, 3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride (DAB+, Liquid, 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. 陽性対照として, cytokeratin, Ki-67またはvimentinに対して, 切片内の眼瞼結膜上皮細胞または血管内皮細胞及び線維芽細胞が, CD3, CD20, CD79 α , MUM1及び免疫グロブリンの

各分子に対して, 切片内に浸潤するリンパ球及び形質細胞が陽性を示した. Ki-67陽性率は, 高倍率(対物レンズ40倍及び視野数22mmの接眼レンズ10倍)で, 形態学的に大型の核を有する腫瘍細胞が増殖する領域及び, より形質細胞様に分化した腫瘍細胞が増殖する領域において, それぞれ1,000個の腫瘍細胞を数え, Ki-67陽性細胞の割合を百分率として算出した.

成 績

肉眼所見: 解体後検査では, 両側の眼瞼に全周性に腫脹がみられ, 腫脹した眼瞼結膜が外反し, 眼裂は狭小化し, 眼球はわずかにみえるのみであった(図1A). 腫脹した眼瞼結膜は軟らかく, 暗赤色から桃色を呈し, 結膜表面は平滑で光沢があった. 眼瞼及び外眼筋とともに摘

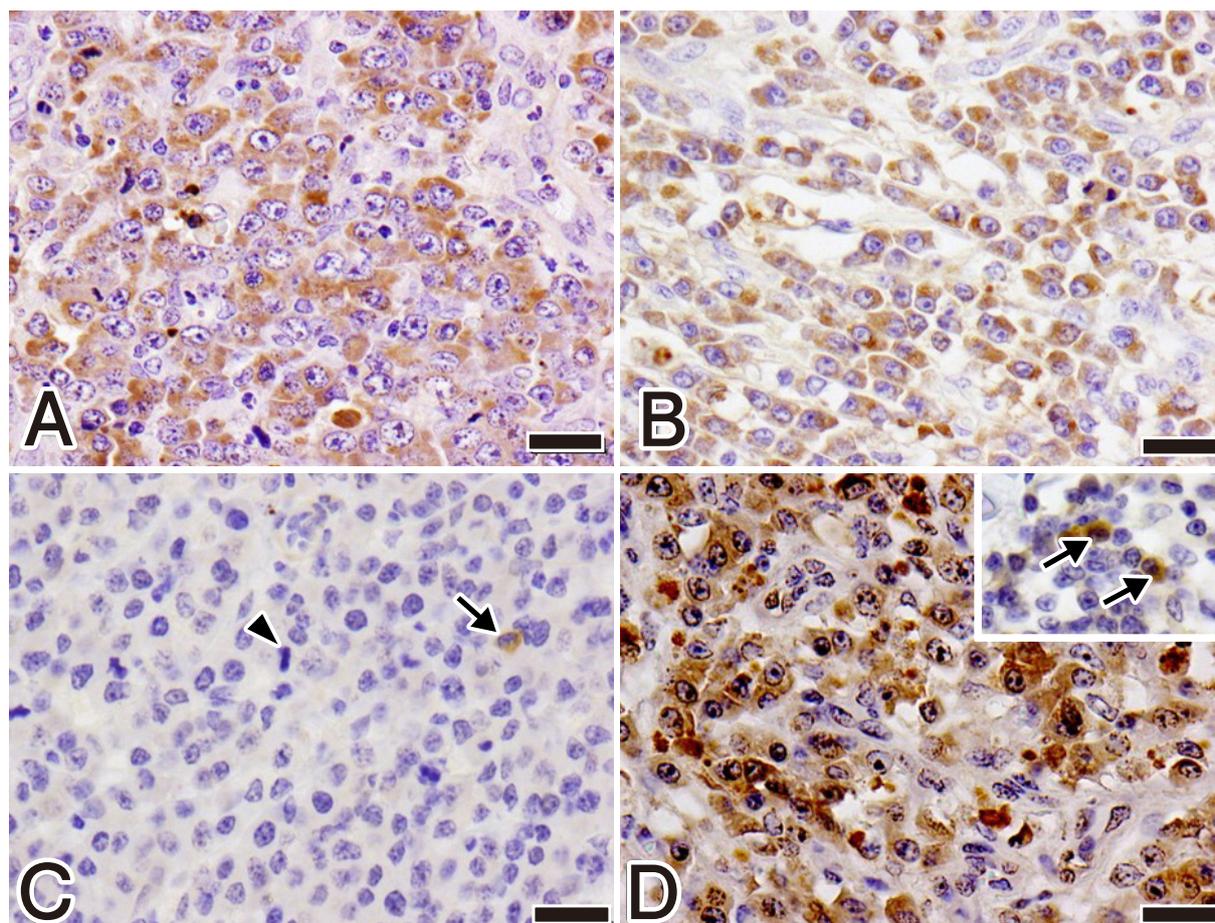


図2 豚の両側眼瞼に発生した形質細胞腫の免疫染色像

- A: 免疫グロブリンλ鎖. 腫瘍細胞の細胞質が陽性を示した. (Bar=40μm)
- B: 免疫グロブリンα鎖. 腫瘍細胞の細胞質が陽性を示した. (Bar=40μm)
- C: CD79α. 腫瘍細胞は陰性を示したが, 浸潤する成熟小型リンパ球は陽性を呈した (矢印). 矢頭は有糸分裂像. (Bar=40μm)
- D: MUM1. 腫瘍細胞の核と細胞質が陽性を示した. 挿入図は, 浸潤する形質細胞のMUM1免疫染色像で, 矢印で示した核と細胞質が陽性を示した. (Bar=40μm)

出した眼球の割面において, 腫脹した眼瞼は白色充実性で, 眼球強膜との境界は明瞭だった (図1B). 両側角膜は白濁し, それぞれ中心部の表面に直径0.5cm大の白色結節を認めた. その他, 臓器及び筋肉に著変は認められなかった.

病理組織学的所見: 両側眼瞼ともに, 眼瞼結膜下において, 腫瘍細胞が眼瞼結膜に沿うように帯状に増殖していた. これらの増殖する腫瘍細胞は, やや偏在した直径8~10μmほどの卵円形核及び両染色性の少量から中等量の細胞質を有し, 核染色質は粗造で, 核内には明瞭で大型の核小体を1~2個有していた (図1C). また, 一部には核近傍の細胞質内にゴルジ野が観察できるものも認められ, 二核化した腫瘍細胞も散見された. 腫瘍細胞の有糸分裂像指数は30個であった. 腫瘍内には, 孤在性の腫瘍細胞の壊死や, それら壊死した細胞を貪食したマクロファージも散在した. また, 核がより小型 (直径5μm程度) で凝集した核染色質を有し, 核小体が不明瞭

で, 核近傍の細胞質にゴルジ野が明瞭に観察されるより形質細胞に類似した腫瘍細胞も散在した (図1D). これらの形質細胞に類似した腫瘍細胞は, 眼瞼の腫瘍増殖の中心部より辺縁部に多く認められた. 明瞭な核仁を有する腫瘍細胞と, より形質細胞に類似した腫瘍細胞の両者には移行像が観察された. 肉眼的に角膜にみられた結節においては, 上記の腫瘍細胞が角膜上皮層下で増殖していた. その他の臓器として, 体躯リンパ節, 内臓主要臓器及び脊椎に腫瘍性病変は認められなかった.

免疫組織化学的所見: 腫瘍細胞の細胞質は, vimentin, 免疫グロブリンλ鎖 (図2A) 及びα鎖 (図2B) に対し, び漫性に細胞質が陽性を示した. 腫瘍細胞は免疫グロブリンκ鎖, γ鎖, cytokeratin, CD3, CD20及びCD79α (図2C) に対し, 陰性を示した. さらに, 腫瘍細胞はMUM1に対し, 核と細胞質が陽性を示した (図2D). 陽性対照として, cytokeratin, Ki-67またはvimentin に対して, 切片内の眼瞼結膜上皮細胞または

血管内皮細胞及び線維芽細胞が、また、CD3、CD20、CD79 α 、各免疫グロブリン及びMUM1に対しては、腫瘍組織及び腫瘍の周囲組織内に浸潤するリンパ球及び形質細胞が陽性を示すことを確認した。また、Ki-67陽性率は形態学的に大型の核を有する腫瘍細胞が増殖する領域では82.7%、より形質細胞様に分化した腫瘍細胞が増殖する領域では61.3%となり、形質細胞様の分化がみられる領域の方が、若干増殖活性が低かった。

考 察

本例は、両側眼瞼における形質細胞様の腫瘍細胞のびまん性かつシート状の増殖を特徴とする腫瘍であった。形質細胞腫はB細胞性腫瘍であり、おもにリンパ節やリンパ装置に発生するとされている [1]。

人における眼瞼結膜の孤発性髄外性形質細胞腫の報告では、腫瘍発生の原因の一つとして慢性結膜炎が考えられている [5]。豚において、粉塵、アンモニア、硫化水素等の環境因子やクラミジア、マイコプラズマ、豚サイトメガロウイルス、豚インフルエンザウイルス等の病原体による結膜炎が知られており [6]、本例においても、結膜炎による慢性的な刺激が背景にあり、粘膜関連リンパ組織 (MALT) 等から腫瘍が発生した可能性が考えられる。また、本例では、両側の眼瞼に腫瘍の発生がみられたが、人では、形質細胞腫と同じB細胞性腫瘍であるMALTリンパ腫の両側眼瞼結膜における発生が報告されているものの [7, 8]、人を含めた動物での両側性の眼瞼の形質細胞腫の報告については、調べた限り認められなかった。慢性炎症によるリンパ系腫瘍発生の可能性があることから、両側性の慢性結膜炎が、本例の腫瘍惹起に関連した点が疑われるが、正確な病理発生の解明には、今後の症例の蓄積が望まれる。

結膜下に増殖する腫瘍細胞に比較して、腫瘍増殖部の辺縁領域に存在する腫瘍細胞は、より形質細胞に類似した細胞であった。これらの細胞が腫瘍性のものであるか、腫瘍増殖に伴って浸潤した形質細胞なのかの判断が困難であったが、形態的に両者に移行がみられ、免疫グロブリン λ 鎖及び α 鎖の免疫染色の結果は、腫瘍中央部の腫瘍細胞と同じであった。Ki-67では、腫瘍中央部の腫瘍細胞ほどではないものの、より形質細胞に類似した腫瘍細胞にも陽性像が観察され、増殖活性が確認された。よって、これらはより形質細胞に類似した形態に分化した腫瘍細胞と判断された。豚のリンパ系腫瘍の由来の鑑別には、犬や猫と同様にT細胞マーカーとしてCD3、CD5またはWC1、B細胞マーカーとしてCD79 α 、各種免疫グロブリン (軽鎖または重鎖) の発現検索が利用されている [9]。本例の腫瘍組織内には、CD3、CD20またはCD79 α 陽性の成熟リンパ球は散見されたものの、腫瘍細胞はいずれも陰性を示した。

一方で、腫瘍細胞の細胞質は免疫グロブリン λ 鎖及び α 鎖が強く陽性を示し、腫瘍細胞の単クローナルな免疫グロブリンの産生が確認され、本例は免疫グロブリンの単クローナルな産生がみられる腫瘍と考えられた。免疫グロブリン軽鎖及び重鎖が単クローナルに陽性を示した豚のリンパ性腫瘍の過去の報告では、それらはさまざまな組織型のB細胞性リンパ腫として診断され、すべてCD79 α 陽性を示していた点で本例と異なっていた [10]。その他の免疫グロブリンを産生する腫瘍として、形質細胞由来腫瘍があげられる。豚では、過去に形質細胞腫が報告されているが、CD79 α の免疫染色は行われていない [4]。犬の形質細胞腫におけるCD79 α 及びCD20の染色性について、42.9%及び80.6%が陰性を示すことが報告されている [11]。検索の限りでは、豚の形質細胞腫についてのこれらの情報は認めないが、犬の報告を参考にすると動物の形質細胞腫では、必ずしもCD79 α やCD20が陽性とはならない可能性が考えられた。

そこで、今回、新たにMUM1に対する免疫染色を行った。MUM1は正常及び腫瘍性形質細胞の特異マーカーとされる。核と、弱く細胞質が陽性となる犬の形質細胞腫において、MUM1の陽性率は94%とされ、形質細胞腫のマーカーとしてもCD79 α やCD20をしのぐとされている [11]。検索の限りでは、豚で報告がないものの、本報告において正常なリンパ節にみられる形質細胞の核と細胞質が陽性を示した点から、MUM1は豚の形質細胞のマーカーとしても有用であり、本症例は、腫瘍細胞の形態と免疫染色の結果から形質細胞腫と考えられた。

本例の解体後検査において、腫瘍は両側の眼瞼結膜部のみ認められ、脊椎、体躯リンパ節をはじめとした他の臓器には腫瘍増殖は観察されなかったことから、両側の眼瞼に原発した髄外性形質細胞腫と考えられた。犬や猫における髄外性形質細胞腫について、犬では老齢個体において皮膚や消化管に比較的起こりやすいとされ [2, 3, 12]、第三眼瞼腺に発生した症例も報告されている [13]。眼窩に認められた形質細胞腫は、原発性と二次性のものに分けられ、原発性のもは孤発性髄外性形質細胞腫であり、侵襲が局所的で転移をほとんど伴わないのに対し、二次性のもは多発性骨髄腫の一つと考えられ、侵襲性が強く、転移しやすい [14]。本例は、両側の前眼部に原発した孤発性髄外性形質細胞腫と考えられ、侵襲性が低く、転移が認められない点が人における孤発性髄外性形質細胞腫の報告と類似していると考えられた。本例は、両側眼瞼が高度に腫大した肉眼所見であり、生体検査及び解体後検査において、眼瞼の炎症との鑑別が困難であったが、病理組織学的及び免疫組織化学的に非常にまれな両側眼瞼に発生した形質細胞腫と診断された。よって、肉眼検査に加え、病理組織学的及び免

疫組織化学的検査により, と畜検査の精度向上に努めていきたい。

引用文献

- [1] 柳井徳磨: B細胞性腫瘍, 動物病理学各論, 日本獣医病理学会, 第2版, 56, 文永堂出版, 東京 (2010)
- [2] Jacobs RM, MacNeill AL: 3 B-Cell Neoplasms, In Veterinary comparative hematopathology, Valli VE, ed, 1st ed, 189-206, Wiley-Blackwell, Ames (2007)
- [3] Munday JS, Lohr CV, Kiupel M: Tumors of the Alimentary Tract, In Tumors in domestic animals, Meuten DJ, ed, 5th ed, 513-514, Wiley-Blackwell, New Jersey (2017)
- [4] Kadota K, Nemoto K, Mabara S, Shirai W: Three types of swine immunoglobulin-producing tumours: Lymphoplasmacytic lymphosarcoma, immunoblastic lymphosarcoma and plasmacytoma, J Comp Pathol, 96, 541-550 (1986)
- [5] Incesoy-Özdemir S, Yüksek N, Bozkurt C, Şahin G, Memiş L, Dizman A, Ertem U: A rare type of cancer in children: extranodal marginal zone B-cell (MALT) lymphoma of the ocular adnexa, Turkish J Pediatr, 56, 295-298 (2014)
- [6] Done S, Williamson SM, Strugnell BW: 19 Nervous and Locomotor Systems, In Diseases of swine, Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, ed, 10th ed, 301-302, Wiley-Blackwell, New Jersey (2012)
- [7] Akpek EK, Polcharoen W, Ferry JA, Foster CS: Conjunctival lymphoma masquerading as chronic conjunctivitis, Ophthalmology, 106, 757-760 (1999)
- [8] Alexiou C, Kau RJ, Dietzfelbinger H, Kremer M, Spiess JC, Schratzenstaller B, Arnold W: Extramedullary Plasmacytoma: tumor occurrence and therapeutic concepts, Cancer, 85, 2305-2314 (1999)
- [9] Ogihara K, Ohba T, Takai H, Ishikawa Y, Kadota K: Lymphoid neoplasms in swine, J Vet Med Sci, 74, 149-154 (2012)
- [10] Nishijo S, Ogihara K, Ishikawa Y, Kadota K: Signet ring cell lymphoma with plasmacytic differentiation in a pig, J Vet Med Sci, 75, 799-802 (2013)
- [11] Ramos-Vara JA, Miller MA, Valli VEO: Immunohistochemical detection of multiple myeloma 1/interferon regulatory factor 4 (MUM1/IRF-4) in canine plasmacytoma: comparison with CD79a and CD20, Vet Pathol, 44, 875-884 (2007)
- [12] Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK: 37 Lymphocytic tumors, In Skin diseases of the dog and cat: Clinical and histopathologic diagnosis, 2nd ed, 866-872, Blackwell science, Oxford (2005)
- [13] Perlmann E, Dagli ML, Martins MC, Siqueira SA, Barros PS: Extramedullary plasmacytoma of the third eyelid gland in a dog, Vet Ophthalmol, 12, 102-105 (2009)
- [14] Bonavolonta G, Strianese D, Grassi P, Comune C, Tranfa F, Uccello G, Iuliano A: An analysis of 2,480 space-occupying lesions of the orbit from 1976 to 2011, Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery, 29, 79-86 (2013)

Bilateral Palpebral Plasmacytomas in a Pig

Kinya WATANDO¹⁾, Jyunjiro YAMAGISHI¹⁾, Chieko MURAMATSU¹⁾
and Hiroki SAKAI^{2)†}

1) Nagoya City Meat Hygiene Inspection Laboratory, 1-39 Funami, Minato, Nagoya, 455-0027, Japan

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

SUMMARY

A 6-month-old, castrated, crossbred pig exhibited severe swelling and ectropion of bilateral eyelids at slaughter. A thorough examination of the pig, including its visceral organs, revealed no other significant lesions. Histopathologically, plasmacytoid neoplastic cells proliferated diffusely in sheets beneath the palpebral conjunctiva. The neoplastic cells tested positive for immunoglobulin light chain, heavy chain, and MUM1, and tested negative for CD3, CD79, and CD20. The present case was diagnosed with plasmacytoma based on histopathology and immunohistochemistry. — Key words: palpebra, pig, plasmacytoma.

† 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., 73, 149~153 (2020)