

# 乳房に数個のソフトボール大の腫瘤を認めた牛伝染性リンパ腫の1症例

|       |                                                       |
|-------|-------------------------------------------------------|
| 誌名    | 産業動物臨床医学雑誌 = Japanese journal of large animal clinics |
| ISSN  | 1884684X                                              |
| 著者名   | 谷,千賀子<br>福家,直幸<br>田角,隆行<br>山口,良二<br>中畑,新吾<br>森下,和広    |
| 発行元   | 日本家畜臨床学会                                              |
| 巻/号   | 13巻1号                                                 |
| 巻号補足  |                                                       |
| 掲載ページ | p. 8-14                                               |
| 発行年月  | 2022年5月                                               |

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 乳房に数個のソフトボール大の腫瘤を認めた 牛伝染性リンパ腫の1症例

谷 千賀子<sup>1,2)†</sup> 福家直幸<sup>3,4)</sup> 田角隆行<sup>5)</sup>  
山口良二<sup>4)</sup> 中畑新吾<sup>1)</sup> 森下和広<sup>1)</sup>

- 1) 宮崎大学医学部 機能制御学講座 腫瘍生化学分野
- 2) プラチナ ベテリナリー サービス
- 3) 宮崎県都農食肉衛生検査所
- 4) 宮崎大学農学部 獣医学科 獣医病理学研究室
- 5) 宮崎県小林食肉衛生検査所

(2021年9月26日受付・2022年3月2日受理)

**要 約** 牛伝染性リンパ腫 (enzootic bovine leucosis: EBL) は、国内において増加傾向にあり、清浄国を除く世界中で問題になっている。EBLの原因は、牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus: BLV) であり、病理学的特徴は、多形型 B 細胞性リンパ腫である。本症例は宮崎県内のと畜場に搬入され、解体時に乳房に数個のソフトボール大の腫瘤を認めたため、一時保留処分となった。その後、食肉衛生検査所における病理組織学的検査および抗 BLV 抗体検査の結果、EBL と診断され全部廃棄処分になった。乳房の腫瘤の由来は肉眼的には不明であったが、病理組織学的検査において、腫瘤組織中に腫瘍細胞の浸潤とリンパ節の髄洞に相当する部位を認めたことから、乳房リンパ節が腫瘍細胞の浸潤によって腫大したものと思われた。また乳房腫瘤内に CD20, IgM 抗体陽性の B 細胞が浸潤し、核分裂像が散見された。EBL の診断において、本例のように臨床所見だけでは判断ができないため、血液検査、ウイルスの抗体検査・PCR 検査、剖検所見、病理組織学的所見の全ての総合的な診断が、極めて重要であることを再確認した。

——キーワード：CD20, 牛伝染性リンパ腫, 病理組織学的検査, IgM, 乳房腫瘤

産業動物臨床医誌 13(1): 8-14, 2022

### はじめに

牛伝染性リンパ腫 (enzootic bovine leucosis: EBL) は、国内においては感染が増加傾向にある [1, 2]。EBLの原因は、デルタレトロウイルスに属する牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus: BLV) であり、清浄国を除く世界中で問題になっている [3]。また EBL の病理学的特徴は、多形型 B 細胞性リンパ腫である [4]。

牛の臨床現場では、EBL の診断は、臨床所見と白血球数、リンパ球数を主体とした一般的血液検査、およびウイルスの抗体検査と PCR 検査が主体である [5]。しかし多くの現場の臨床獣医師は、独自ではウイルスの抗体検査・PCR 検査はできないため、EBL の発症が疑わ

れる場合は、各県の家畜保健衛生所へ依頼しているのが一般的である。そのため EBL を臨床的に確認してから BLV 抗体検査の結果がわかるまでには時間を要する。また感染ウイルス量の測定は重要であり、感染源リスクとなる牛の指標となるが、高額な機器が必要である [5]。

現在、EBL の典型的な臨床症状がある患畜は、抗体陽性が確認された場合は、農場で安楽死される。その一方で、健康な牛や病畜 (EBL 以外の何らかの疾患であると診断された患畜) がと畜場に搬入され、解体時に EBL が判明する場合もある。したがって EBL の病理学的診断は、食肉衛生検査所が担っているのが現状である。

EBL の病変は多様であり、一条ら [6] は、ホルス

† 連絡責任者：谷 千賀子 (プラチナ ベテリナリー サービス)  
〒861-8041 熊本市東区戸島 3-13-41 ☎ 090-5488-2488  
E-mail: janemore201@gmail.com

タイン種乳牛の31例において、リンパ節では、内腸骨(100%)、浅頸(74.2%)、腸骨下(51.6%)、下顎(41.9%)、耳下腺(38.7%)、乳房は29.0%に病変があり、骨盤腔や後腹部に腫瘍塊(29%)があったとしている。このように乳房周囲リンパ節の病変は、発症牛の約30%に存在するという報告がある。また、乳房リンパ節の腫大した症例において、BLV抗体の陽性例[7]と陰性例[8]が報告されているが、乳房の病理組織所見の詳しい報告は少ない。

牛の乳房に発生する腫瘍として、乳腺上皮細胞由来の乳腺腺腫、パピローマウイルスによる乳頭腫、乳房リンパ節のリンパ腫が知られており、それぞれ病理組織学的に診断は可能である。本症例は、と畜場において乳房に腫瘍を認めたが、その腫瘍が乳房組織由来の腫瘍であるか、乳房リンパ節が腫瘍化したものなのか、肉眼的に判別が困難であった。今回、乳房腫瘍を病理組織学的に検索し、乳房リンパ節のリンパ腫と診断したのでその概要を報告する。

### 症 例

**症例の概要：**ホルスタイン種乳用牛の雌で69カ月齢であった。宮崎県内のと畜場に搬入され、搬入後の生体検査では異常は認められなかったが、解体時に乳房に数個のソフトボール大の腫瘍を認めたため、一時保留処分となった。その後、食肉衛生検査所における病理組織学的検査および抗BLV抗体検査の結果、EBLと診断され全部廃棄処分になった。

**血液検査所見：**血液は解体時に、頸静脈から採血した。血液検査所見は、WBC 16,000/ $\mu\text{l}$ 、RBC  $567 \times 10^4/\mu\text{l}$ 、リンパ球 11,200/ $\mu\text{l}$ 、ヘマトクリット値 24%であった。

**解体時の剖検所見：**心耳、腎盂、子宮角に乳白色髄様の腫瘍を認めた。内腸骨リンパ節は手拳大に腫大してい

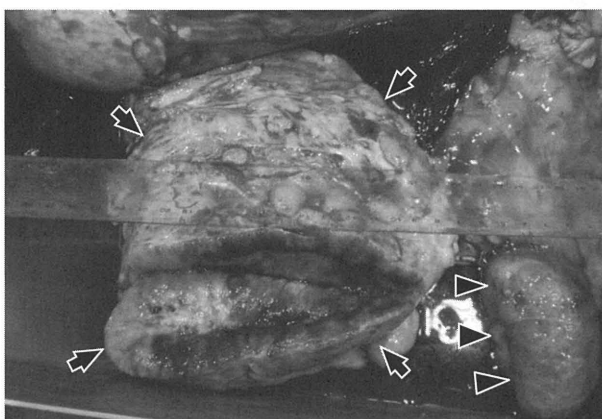


図 1. 乳房腫瘍の肉眼所見

大型腫瘍(矢印)と小型腫瘍(矢頭)が認められる。大型腫瘍断面は膨隆し、皮質と髄質の境界は不明瞭で髄様を呈し、断面の色は暗赤、淡黄、灰白色を呈す

た。乳房皮下において、乳房間溝を挟み、後位乳区を横断するように、両側に  $15 \times 16 \text{ cm}$  大の大型腫瘍を6個確認した。腫瘍は、解剖学的には乳房リンパ節に相当する位置に存在していた。腫瘍周囲には、小型の多発性腫瘍も散見された。各腫瘍は暗赤、灰白色を呈し、腫瘍断面は膨隆し、皮質、髄質の境界は不明瞭で髄様を呈し、断面の色は暗赤、淡黄、灰白色を呈した(図1)。

**抗体およびウイルス学的検査：**抗体検査には、BLエライザキット(BL1808:JNC, 東京)を用い、使用説明書に従い検査を行った。抗BLV抗体は陽性であった。またプロウイルス量の測定には、StepOnePlusリアルタイムPCRシステム(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)を用いた。試薬は、(CoCoMo-BLV Primer/Probe A803・BLVPlasmidDNA/DilutionSolution A804・BLVPostiveControl/NegativeControl A805:理研ジェネシス, 神奈川)を用い、使用説明書に従い検査を行った[9]。内腸骨リンパ節のプロウイルス量は、55,940 copies/10万細胞であった。

**病理組織学的検査：**心耳、内腸骨リンパ節、乳房腫瘍を供した。組織を採取後、20%中性緩衝ホルマリン液で固定した。ロータリーティッシュプロセッサ(HistoCore Arcadia パラフィン包埋装置 TP1020:Leica Instruments, Shanghai, China)を使用してパラフィンに包埋した。回転式ミクロトーム(HistoCore MULTICUT:Leica Instruments)を用いて  $4 \mu\text{m}$  に薄切した。作製したパラフィン切片に、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色と免疫組織化学検査(免疫染色)を実施した。免疫染色は一次抗体として、抗CD3抗体(T細胞マーカー、ポリクローナル C7930, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA, 希釈倍率/1:800)、抗IgM抗体(B細胞マーカー、ポリクローナル A10-100A, Bethyl, Moutgomery, TX, USA, 希釈倍率/1:800)、抗CD5抗体(T細胞/B細胞マーカー、ポリクローナル PA1-37292, Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA, 希釈倍率/1:50)、抗CD20抗体(B細胞マーカー、ポリクローナル GR3226036-1, Abcam, Cambridge, England, 希釈済み)、抗原賦活化として、クエン酸バッファー(pH 6.0)用いた熱処理(オートクレーブ  $121^\circ\text{C}$  10分)を実施した。二次抗体として、抗CD3抗体および抗IgM抗体には、EnVision+デュアル・リンク、ポリマー試薬/HRP標識(K406311:Agilent Technologies, CA, USA)、抗CD5抗体および抗CD20抗体には、Histofine Simplestain MAXPO(Multi)(424152:Nichirei Bioscience, Tokyo)をそれぞれ使用した。発色剤は、DAB+, Liquid, RUO K346711(Agilent Technologies)および3,3'-diaminobenzidine D5637-50G(Sigma-Aldrich)を用いた。

**心耳：**心筋組織および脂肪組織間に、大型独立類円形

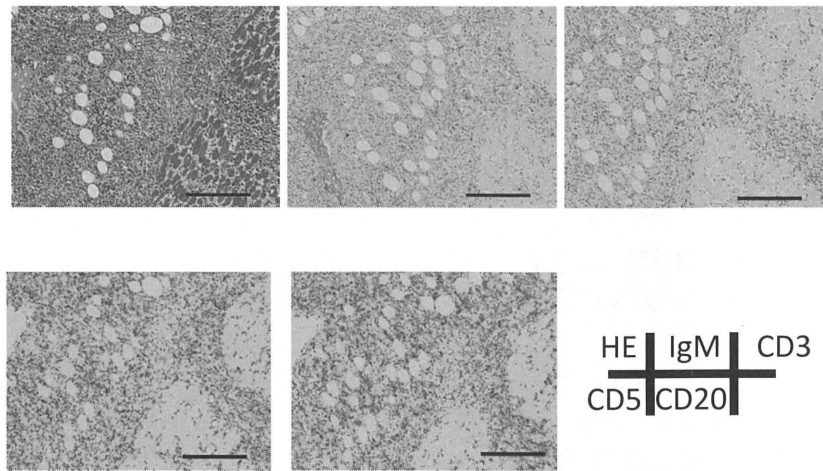


図 2. 心耳の病理組織学的および免疫組織化学所見

心筋組織および脂肪組織間に、異型リンパ球が多数浸潤し、CD5 および CD20 抗体に陽性、IgM 抗体一部陽性を示す。異型リンパ球周囲に CD3 および CD5 抗体陽性の正常 T 細胞が軽度出現する (Bar = 200  $\mu$ m)

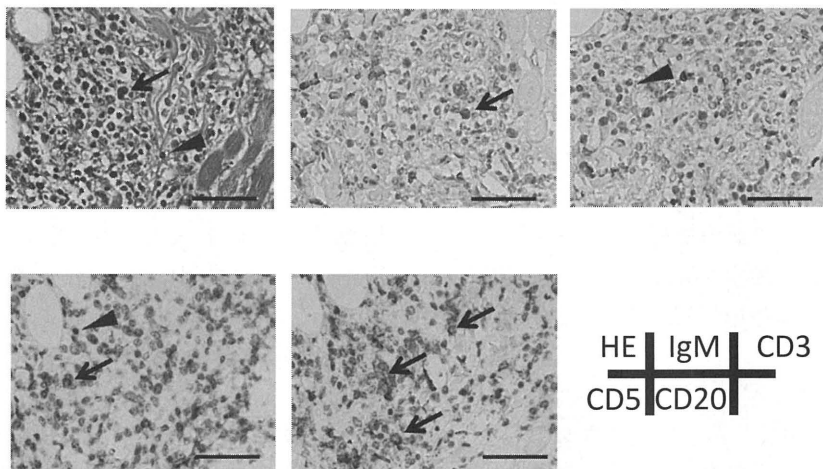


図 3. 心耳の病理組織学的および免疫組織化学所見 (図 2 の強拡大像)

大型独立類円形の異型リンパ球 (矢印) と小型炎症細胞 (矢頭) が浸潤している。異型リンパ球は、CD5 および CD20 抗体に陽性、IgM 抗体一部陽性を示す。異型リンパ球周囲に CD3 および CD5 抗体陽性の正常 T 細胞が軽度出現する (Bar = 50  $\mu$ m)

から不整形の異型リンパ球が広範に浸潤していた。異型リンパ球は、クロマチン粗雑顆粒の大型類円形核と明瞭な核小体を有し、時に、核にくびれを持つものもみられた。同細胞は、CD5 および CD20 抗体陽性、IgM 抗体一部陽性の B 細胞であった。異型リンパ球周囲には、CD3、CD5 抗体陽性の正常 T 細胞が少数出現していた (図 2, 3)。

**内腸骨リンパ節：**リンパ組織の大半は残存し、髄洞内に異型リンパ球が多数出現していた。異型リンパ球は、クロマチン粗雑顆粒の大型類円形～不整形核と明瞭な核小体を有し、時に、核にくびれを持つものもみられた。有糸分裂像はしばしば認められた。腫瘍細胞は、CD5

および CD20 抗体に陽性、IgM 抗体に一部陽性であった。髄索には、CD20 抗体陽性の B 細胞や CD3 および CD5 抗体陽性の T 細胞が存在していた。腫瘍細胞間には、核破砕物を貪食するマクロファージが出現していた。 (図 4-7)。

**乳房腫瘍：**腫瘍は、被膜で囲まれ、リンパ節の髄質に相当する構造が認められた。異型リンパ球は、クロマチン粗雑顆粒の大型類円形～不整形核と明瞭な核小体を有し、時に、核にくびれを持つものもみられた。髄洞内には、異型リンパ球が出現し、CD20 抗体に陽性、IgM および CD5 抗体に一部陽性、CD3 抗体に陰性であった。有糸分裂像がしばしば認められた。 (図 8-10)。

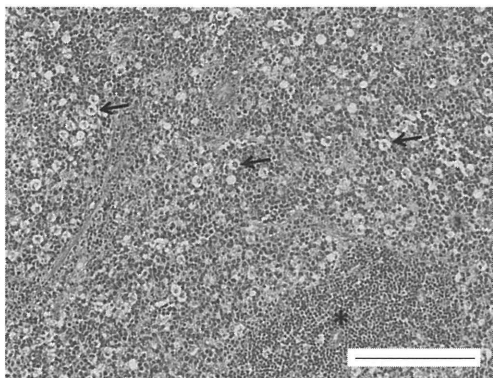


図 4. 内腸骨リンパ節の病理組織学的所見  
リンパ髓質の髓洞内に多数の異型リンパ球が出現する。矢印は核破砕物を貪食するマクロファージ、  
\*は髓索を示す (HE 染色, Bar = 200  $\mu$ m)

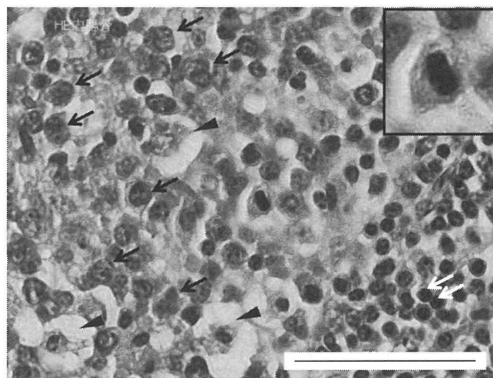


図 5. 内腸骨リンパ節の病理組織学的所見 (図4の強拡大像)  
異型リンパ球 (黒矢印) は、クロマチン粗雑顆粒状類円形から不整形の核と明瞭な核小体を有し、時にくびれのある核も散見される。異型リンパ球間には、マクロファージ (黒矢頭) や炎症細胞 (白矢印) も認められる。挿入図は、腫瘍細胞の有糸分裂像を示す (HE 染色, Bar = 50  $\mu$ m)

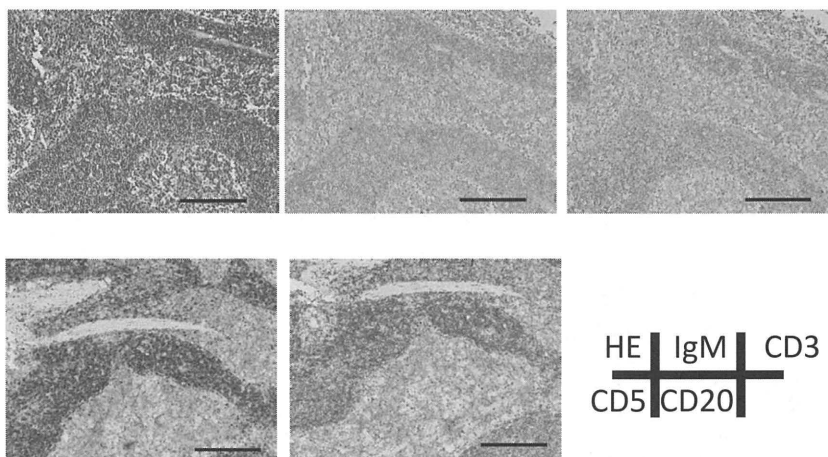


図 6. 内腸骨リンパ節の病理組織学的および免疫組織化学所見  
リンパ髓質の髓洞内に多数の異型リンパ球が出現する。異型リンパ球は、CD5 および CD20 抗体に陽性、IgM 抗体に一部陽性を示す。髓索には、CD20 陽性の B 細胞や CD3 および CD5 抗体陽性の T 細胞が存在する (Bar = 200  $\mu$ m)

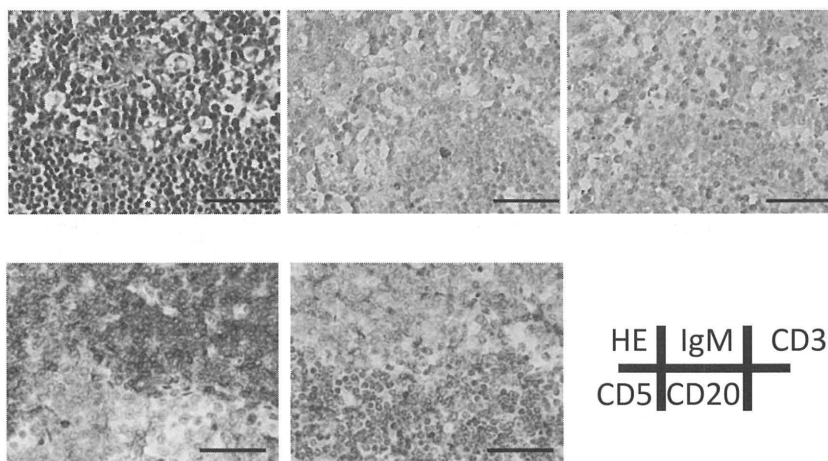


図 7. 内腸骨リンパ節の病理組織学的および免疫組織化学所見 (図 6 の強拡大像)  
リンパ髓質の髓洞内に多数の異型リンパ球が出現する。異型リンパ球は、CD5 および CD20 抗体に陽性、IgM 抗体に一部陽性を示す。髓索には、CD20 陽性の B 細胞や CD3 および CD5 抗体陽性の T 細胞が存在する (Bar = 50  $\mu$ m)

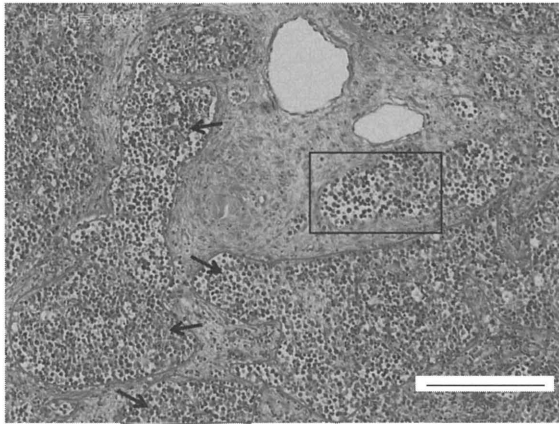


図 8. 乳房腫瘍の病理組織学的所見  
髄洞内に多数の異型リンパ球が出現する  
矢印は髄洞を示す (HE 染色, Bar = 200  $\mu$ m)

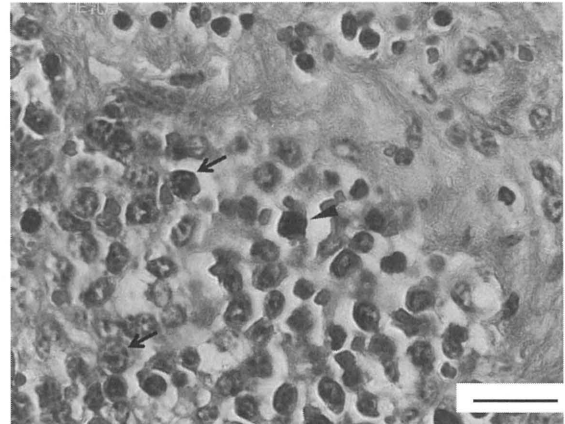


図 9. 乳房腫瘍の病理組織学的所見 (図 8 の強拡大像)  
異型リンパ球 (矢印) は、クロマチン粗雑顆粒状類円形から不整形の核と明瞭な核小体を有する  
黒矢頭は、有糸分裂像を示す (HE 染色, Bar = 20  $\mu$ m)

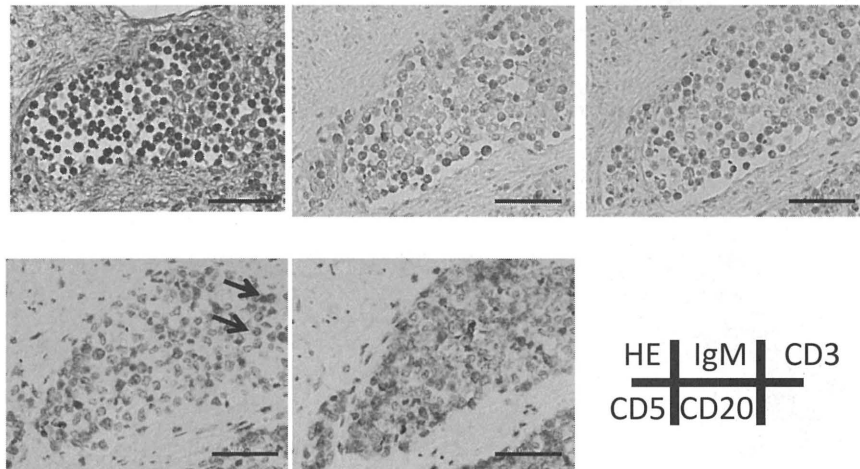


図 10. 乳房腫瘍の病理組織学的および免疫組織化学所見  
異型リンパ球は、CD20 抗体に陽性、IgM および CD5 抗体に一部陽性 (矢印)、  
CD3 抗体に陰性を示す (Bar = 50  $\mu$ m)

### 考 察

リンパ節は、皮質と髄質から構成され、髄質は髄索と髄洞からなる。前者は、細網細胞、リンパ球、形質細胞、マクロファージ、樹状細胞などから構成され、後者はリンパ液が流れる空間である [10]。病理組織学的に、本症例の乳房腫瘍において髄洞が確認されたことから、腫瘍は乳房周囲に存在する乳房リンパ節が腫瘍細胞の浸潤によって腫大化したものと思われた。乳房腫瘍は、乳房の表面にできている場合は、外見で判別ができる場合も多いが、乳房炎等が原因で乳房リンパ節が腫大する症例もある [8] ことから、乳房病変の臨床的診断は難しい。本症例は EBL の症状としては、外見で判別できる腫瘍ではなかったものと思われる。しかし今回はと畜場へ搬入前の詳しい臨床所見がわからないため、詳細は不明である。

心筋組織には、CD5 および CD20 抗体陽性、IgM 抗体一部陽性の大型異型リンパ球が広範に浸潤していた。内腸骨リンパ節および乳房リンパ節においても、異型リンパ球が髄洞を中心に出現していた。異型リンパ球は、いずれも核の多形性と異型性を特徴としていた。荻原ら [11] は 59 頭の EBL 牛において、大部分は多形型 B 細胞性リンパ腫であり、CD5、CD20、CD79 $\alpha$  抗体が陽性であり、細胞学的には多形性と異型性を特徴としていたと報告している。須藤ら [12] は EBL 牛において、心臓の心筋線維の間に、CD20 抗体陽性細胞が、びまん性に観察されることを報告しており、本症例は過去の報告例と類似していた。内腸骨リンパ節では、腫瘍細胞間に核破砕物を貪食するマクロファージが出現していた。これは、Starry sky 像あるいは星空像と呼び、ヒトのバーキットリンパ腫や、びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ

腫で認められ、EBLにおいても観察されることがある。また門田と石川 [4] は、CD5 は T 細胞と B1b 細胞のマーカーで、正常または反応性の T 細胞も陽性となるため、B 細胞性腫瘍が CD5 陽性かどうかの判定が難しいことを指摘している。

ヒトのリンパ球向性ウイルス 1 型 (human T-lymphotropic virus type I : HTLV-1) は BLV に近縁のウイルスである [3, 13]。HTLV-1 においては Cell adhesion molecule 1 (CADM1) が腫瘍細胞のマーカーとして確立されており腫瘍の判別に活用されている [14]。EBL における腫瘍細胞の決定的なマーカーは、未だ確定されてはいない。今後は EBL においても、腫瘍マーカーの確立が期待される。

EBL の診断は国内においては、臨床獣医師（臨床所見・血液検査）と家畜保健衛生所（ウイルスの抗体検査と PCR 検査）、および食肉衛生検査所（剖検所見・病理組織学的所見）が担当している。門田と石川 [4] は、「本来、腫瘍の診断は病理組織学的に行うべきもので、単なるウイルスの感染や牛の年齢に基づいて診断することには無理がある」と指摘している。臨床現場において患者に正しい診断を下すことは、今後の EBL 対策にきわめて重要であると思われる。現状では臨床獣医師が、独自で病理学的な診断をすることは困難である。しかし EBL の確定診断を下すために、EBL の診断を迷う場合、腫瘍を伴う症例であれば、生検による病理組織学的検査が必要であると考え、また臨床獣医師が、と畜場に搬入した患者の詳しい病理組織学的所見を確認することは難しい。そのために臨床獣医師は、EBL の確定診断の詳しい結果を把握することができず、それを実際の農場での防疫に活用できない。

EBL の診断において、臨床所見、血液検査、ウイルスの抗体検査・PCR 検査、剖検所見、病理組織学的所見の全ての総合的な診断が、極めて重要である。この疾病の病態や我が国の畜産現場における浸潤状況を知るためには、EBL が疑われる症例には生検あるいは剖検による病理組織学的検査を積極的に実施し、診断データを関係者間で共有することが望まれる。

本研究にご協力いただきました宮崎県小林食肉衛生検査所の先生方に深謝いたします。本研究の一部は JSPS 科研費 18K07203 の助成を受けたものです。

## 引用文献

1. 井川真一：「白血病に関する衛生対策ガイドライン」の概要，獣医学雑誌，19, 114-118 (2015)
2. Murakami K, et al. : Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2010-2011, J Vet Med Sci, 75, 1123-1126 (2013)
3. Polat M, et al. : Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus, Virol J, 14, 209 (2017)
4. 門田耕一，石川義春：牛 B 細胞性腫瘍の組織学的分類，動衛研研究報告，123, 11-22 (2017)
5. 目堅博久：牛白血病ウイルス感染症の検査法とその特徴，産業動物臨床医誌，6, 221-226 (2016)
6. 一条 茂，他：牛白血病の臨床ならびに臨床病理学的所見 - I - 臨床所見，日獣会誌，35, 17-22 (1982)
7. 坂本礼央，他：血清チミジンキナーゼ活性の測定により早期摘発した地方病性牛白血病罹患牛の 1 例，日獣会誌，63, 91-193 (2010)
8. 猪熊 壽，他：牛白血病を疑った非牛白血病のホルスタイン種乳牛 11 症例の回顧的研究，産業動物臨床医誌，6, 1-5 (2015)
9. Jimba M, et al. : BLV-CoCoMo-qPCR: a useful tool for evaluating bovine leukemia virus infection status, BMC Vet Res, 8, 167 (2012)
10. Ross M, Pawlina W : Ross 組織学，5 版，418-421, 南江堂，東京 (2010)
11. 萩原昌代，他：牛白血病ウイルス感染牛におけるリンパ系腫瘍の組織学的検討，日獣会誌，67, 199-203 (2014)
12. 須藤重寿佳，他：山形県で流行している Bovine Leukemia Virus の遺伝子型別及び病理学的検索，日獣会誌，65, 883-887 (2012)
13. Aida Y, et al. : Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus, Front Microbiol, 4, 328 (2013)
14. Nakahata S, Morishita K : CADM1/TSLC1 is a novel cell surface marker for adult T-cell leukemia/lymphoma, J Clin Exp Hematop, 52, 17-22 (2012)

## A case of enzootic bovine leukosis manifested as multiple softball-sized masses in the mammary glands

C. Tani<sup>1, 2) †</sup>, N. Fuke<sup>3, 4)</sup>, T. Tatsuno<sup>5)</sup>,  
R. Yamaguchi<sup>4)</sup>, S. Nakahata<sup>1)</sup>, K. Morishita<sup>1)</sup>

1) *Division of Tumor and Cellular Biochemistry, Department of Medical Sciences,  
Faculty of Medicine, University of Miyazaki*

2) *Platinum Veterinary Service*

3) *Tsuno Meat Inspection Center, Miyazaki Prefectural Government*

4) *Laboratory of Veterinary Pathology, Department of Veterinary Sciences, Faculty of  
Agriculture, University of Miyazaki*

5) *Kobayashi Meat Inspection Center, Miyazaki Prefectural Government*

**ABSTRACT** Enzootic bovine leukosis (EBL) is on the rise in Japan and remains a challenge across the world except in EBL-free countries. EBL is caused by the bovine leukemia virus (BLV) and pathologically characterized as polymorphic B-cell lymphoma. Here we report a case of EBL with multiple softball-sized masses in the mammary glands identified at a meat inspection center in Miyazaki Prefecture. After diagnosis of EBL, the entire carcass was destroyed. Although the origin of the masses was inconclusive by gross inspection, histopathological examination of the masses revealed infiltration of tumor cells and structures resembling the medullary sinus of a lymph node, indicating that the masses were the mammary lymph nodes swollen with cellular infiltration. CD20- and IgM antibody-positive B cells were also identified in these tissues with scattered mitotic figures. Because EBL was not suspected based on clinical findings, a comprehensive diagnosis by blood testing, viral antibody testing, quantitative viral testing, autopsy and histopathology is important for the accurate diagnosis of EBL.

—Key Words : CD20, enzootic bovine leukosis, histopathological examination, IgM, mammary mass

† Correspondence to : Chikako Tani (Platinum Veterinary Service)

3-13-41 Toshima, Higashi-ku, Kumamoto-shi, Kumamoto 861-8041, Japan

E-mail : janemore201@gmail.com

.....Jpn. J. Large Anim. Clin. 13(1): 8-14, 2022