

15 乳用育成牛の脳にみられた

顆粒小体と硝子様封入体を伴う星細胞腫

東青地域県民局地域農林水産部青森家畜保健衛生所

○水島 亮 林 敏展
齋藤 豪 相馬 亜耶
菅原 健 太田 智恵子
中村 成宗 中島 聡
盛田 淳三

牛で神経症状を起こす原因としてリステリア症などの感染症、大脳皮質壊死症、BSEなどが知られているが、稀に脳腫瘍によることもある¹⁾。

今回、県内の乳用牛育成施設において、神経症状を呈し死亡・病性鑑定を実施し、「星細胞腫」と診断したので、その概要を報告する。

1 はじめに

中枢神経系は発生母地となる細胞が多いため多種多様な脳腫瘍が存在し、2007年WHO脳腫瘍分類では、病理組織学的に100種類以上の脳腫瘍に分類している²⁾。脳腫瘍の多くは原発性で、小児においては全腫瘍の約20%を占めている³⁾。また、原発性脳腫瘍の組織型別発生頻度は、髄膜腫、グリア系腫瘍、下垂体腺腫の順に多くなっている⁴⁾。

2 発生概要

平成25年5月、乳用牛約100頭を飼養する育成施設において、8か月齢育成牛が元気・食欲はあるものの、背弯姿勢を示し、13か月齢頃から動きが鈍くなった。当該牛は、その1か月後、壁や柱によりかかるなどの神経症状を呈し死亡した（死亡時月齢14か月）。

3 材料及び方法

(1) 病理組織学的検査

10%中性緩衝ホルマリン液固定臓器について、常法によりパラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を実施したほか、大脳については、ギムザ染色、PAS染色及びトルイジンブルー染色を実施した。

(2) 免疫組織化学的染色

大脳について、抗シナプトフィジンマウスモノクローナル抗体 clone:SY38、抗ヒトEMAマウスモノクローナル抗体、抗ヒト

ニューロフィラメントマウスモノクローナル抗体、抗 PCNA マウスモノクローナル抗体 (DAKO)、抗ビメンチンウサギモノクローナル抗体、抗サイトケラチンマウスモノクローナル抗体、抗 S-100 タンパクウサギポリクローナル抗体、抗 GFAP マウスモノクローナル抗体 (ニチレイ)、抗 Iba1 ウサギポリクローナル抗体 (WAKO) を用いてポリマー法による免疫組織化学的染色 (以下、免疫染色) を実施した。なお、免疫染色は、市販キット (ヒストファイン シンプルステイン MAX-0 (MULTI), ニチレイ 株) を使用した。

(3) 透過型電子顕微鏡学的検査

大脳ホルマリン固定材料の一部を 1% オスミウム酸で後固定し、脱水後、エポン包埋し、超薄切片を作製した。切片は酢酸ウランとクエン酸鉛で染色し、透過型電子顕微鏡 (TEM) で超微細構造を観察した。

4 成績

(1) 病理解剖学的検査成績

当該死亡牛の外貌では、著変を認めなかった。主要臓器に著変はなく、開頭した結果、図 1 に示すように大脳右嗅溝部にピンポン玉大の暗赤色・脆弱腫瘍を認めた。

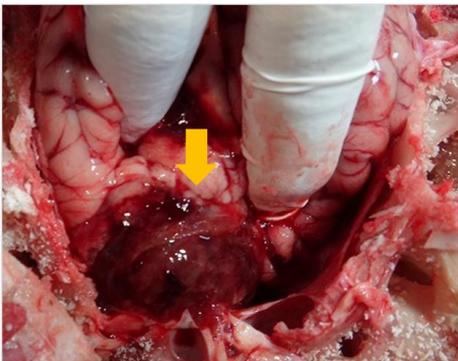


図 1 大脳右嗅溝部の腫瘍

(2) 病理組織学的検査成績

大脳腫瘍は、図 2 に示すように広範に出血・壊死を認め、その間を多くの細胞 (腫瘍細胞) が浸潤していた。大脳と腫瘍の境界部は、線維芽細胞が増殖し、腫瘍は被包化されていた。

腫瘍細胞の浸潤形態は、多くが規則的な配列を持たず肉腫様に浸潤していたが、図 3 に示すように、一部、血管周囲性の浸潤を認めた。

腫瘍細胞の形態は、図 4 に示すように大型から小型な円形、楕円形と多様な形態を示し、有糸分裂像も散見された。腫瘍細胞の一部には、細胞質内に好酸性の顆粒小体をもつ細胞や硝子様封入体を持つラブドイド細胞様の細胞を認めた。

腫瘍細胞は、PAS 染色において陽性の赤色顆粒を認めたが、トルイジン青染色でメタクロマジーは示さなかった。PAS 陽性顆粒は顆粒小体と思われ、硝子様封入体についてはほとんど陽性反応を認めなかった。

免疫染色において、腫瘍細胞は抗 GFAP 血清及び抗ビメンチン血清に陽性反応を認めた。抗 GFAP 血清に対する反応性は、図 5 の長矢印で示すように脳実質で強陽性反応を認めたが、髄膜側では、短矢印で示すように染色性が弱かった。また、硝子様封入体は抗 GFAP 血清、抗ビメンチン血清に陽性反応を認めた。その他実施した抗血清は陽性反応を認めなかった。また、本症例は、細胞増殖マーカー抗 PCNA 血清の免疫染色の染色性から、WHO の脳腫瘍グレード分類の Grade II と分類された。

TEM 検査において、HE 染色で認められた好酸性の硝子様封入体は、図 6 に示すよう

に渦巻き状に配列する 5-10nm のフィラメントを認めた。なお、細胞間に接着装置は認めなかった。

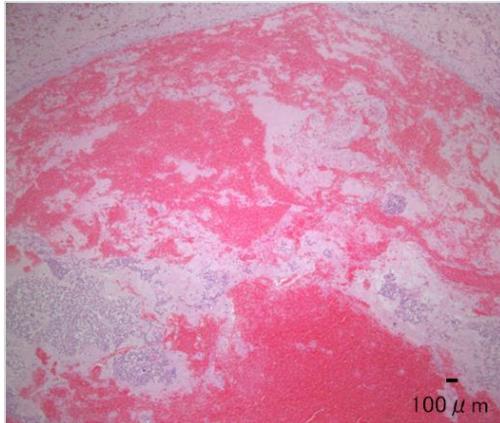


図 2 広範な出血・壊死、腫瘍細胞浸潤 (H E 染色, 低倍率)

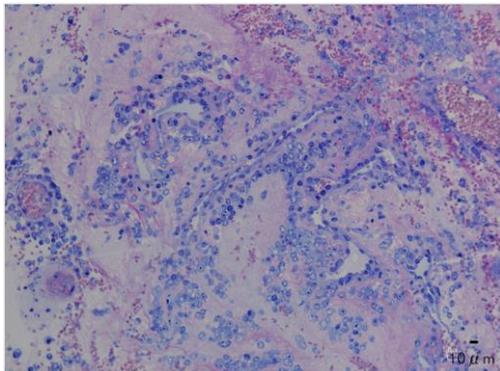


図 3 血管周囲性細胞浸潤 (ギムザ染色, 中倍率)

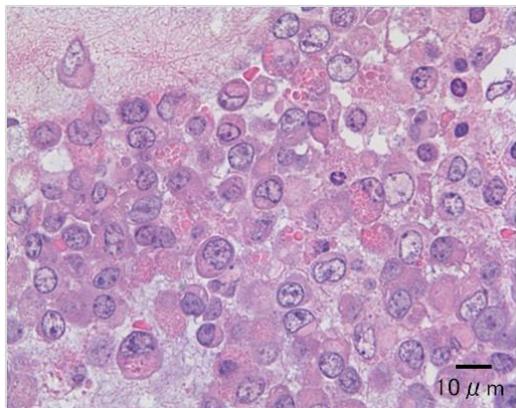


図 4 腫瘍細胞の形態 (H E 染色, 高倍率)

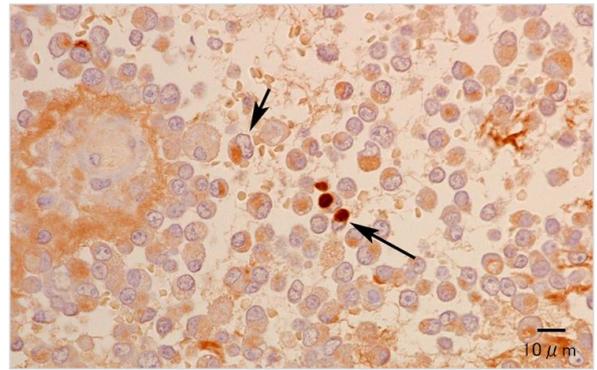


図 5 免疫染色結果 (抗GFAP血清)

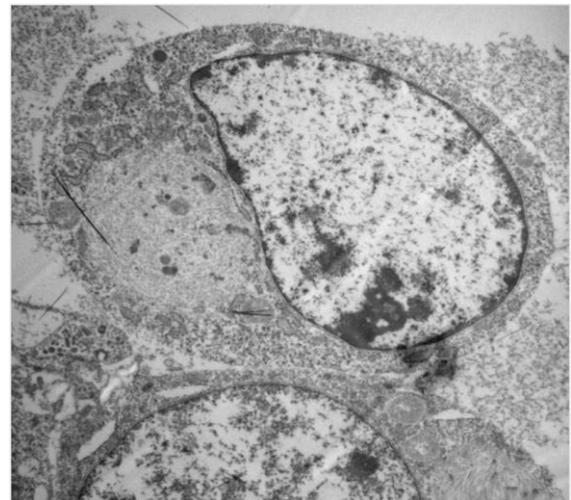


図 6 TEM 検査結果

5 まとめ及び考察

本症例の腫瘍形成部位は右脳右嗅溝部、腫瘍原発部位は髄膜、脳実質、側脳室と多くが考えられた。HE 染色では広範に出血・壊死、有糸分裂像を伴う多様な形態の腫瘍細胞浸潤、多くは肉腫様浸潤で、一部、血管周囲性浸潤及び腫瘍細胞の一部に好酸性の顆粒小体と硝子様封入体を認め、以上からは、星細胞腫や上衣腫などのグリア系腫瘍、髄膜腫など多くの腫瘍が考えられた。免疫染色では星細胞腫の由来細胞であるアストロサイトのマーカー抗 GFAP 血清と間葉系のマーカー抗ビメンチン血清に陽性反応を認め、抗 EMA 血清などの上皮系マーカーは陽性反応を認めなかった。

TEM 検査では、上衣腫、髄膜腫で認められ

る細胞接着装置を認めず、以上より本症例を「星細胞腫」と診断した。

星細胞腫は、グリア細胞の1つ、アストロサイト由来の腫瘍で、小分類として図8に示すように原線維性星細胞腫の3種類と特殊な型毛様細胞性星細胞腫の計4種類に分類されている^{1) 3) 5)}。本症例とこれらを比較すると、血管周囲性の腫瘍細胞浸潤及び腫瘍Grade IIと分類されたことは高分化型星細胞腫の特徴に一致した。しかし、顆粒小体の出現を伴う点は毛様細胞性星細胞腫、広範に出血・壊死を認めた点はより悪性度の高い退形成星細胞腫や多形膠芽腫の特徴であった。このため、本症例は病理組織学的に多様な特徴を認め、明確な小分類は困難であった。本症例は星細胞腫の多様な病理組織学的形態及びグリア系腫瘍組織内に変性構造物⁷⁾を認めたことから「顆粒小体と硝子様封入体を伴う星細胞腫」と診断した。

免疫染色において脳実質の側脳室側と髄膜側での抗GFAP血清に対する染色性の違いを認めた。一般に、腫瘍マーカーの染色性は悪性度が高くなるにつれて弱くなる傾向があると考えられており、本症例においては側脳室側で染色性が強く、髄膜側で染色性が弱かった。このことは、腫瘍の悪性度は髄膜側でより高かったと考えられた。

腫瘍細胞の一部に認められた血管周囲性浸潤や細胞質内の好酸性顆粒小体は、星細胞腫の比較的悪性度の低い所見であった^{1) 5)}。

本症例のHE染色で認められた細胞質内に好酸性の硝子様封入体をもつ細胞について、ラブドイド細胞と関連させて考察する。ラブドイド細胞とは、細胞質内に好酸性の封入体構造を認め、核小体が明瞭で、核が圧迫され

て偏在し、三日月状を呈する細胞で、免疫染色においては抗ビメンチン血清などの中間系フィラメントに陽性反応を認め、TEM検査においては、渦巻き状に配列する中間径フィラメントを認める細胞である⁶⁾。本症例で認められた硝子様封入体は、ラブドイド細胞の特徴に一致した。一般に、ラブドイド細胞の出現する腫瘍は予後が悪いと考えられており、広範に出血・壊死を認めた点も悪性度の高い所見であった。

免疫染色における染色性の部位による違い、血管周囲性の細胞浸潤及び顆粒小体の出現から脳実質（側脳室側）で比較的悪性度の低い腫瘍化したアストロサイトがクモ膜下腔に脱落し、浸潤・増殖した結果、出血・壊死、ラブドイド細胞の出現など悪性度の高い所見を呈したと考えた。

本症例は星細胞腫の多様な病理組織学的形態を認め「顆粒小体と硝子様封入体を伴う星細胞腫」と診断した。腫瘍細胞が脳実質からくも膜下腔に脱落し浸潤・増殖したと考えた。本症例で認められた硝子様封入体はラブドイド細胞の特徴に一致し、ラブドイド細胞を伴う脳腫瘍の報告は犬の1例のみで⁸⁾、牛では初報告となり、希有な症例と考える。

免疫染色	星細胞腫	上衣腫	髄膜腫	本症例
	GFAP	+	±	
Vimentin	+	+	+	+
EMA	-	+	+	-
電顕検査	星細胞腫	上衣腫	髄膜腫	本症例
	細胞接着装置	-	+	

図7 免疫染色とTEM検査結果まとめ

	原線維性星細胞腫			毛様細胞性 星細胞腫	本症例
	高分化型 星細胞腫	退形成 星細胞腫	多形 膠芽腫		
血管周囲 性浸潤	+	-	-	-	+
Grade	II	III	IV	I	II
顆粒小体	-	-	-	+	+
出血 壊死	-	-~+	++	-	++

図8 星細胞腫の小分類

6 謝辞

稿を終えるにあたり、免疫染色及びTEM検査を実施して下さった農業・食品産業技術総合研究機構 独立行政法人 動物衛生研究所 播谷亮上席研究員、門田耕一上席研究員、三上修主任研究員に深謝する。

引用文献

- 1) 動物病理学各論, 第2版, 第8章神経系
- 2) David N.Louis et.al : The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System, Table1
- 3) ロビンス基礎病理学, 原書8版, 1011-1012
- 4) CBTRUS statistical report : primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009.
- 5) 脳腫瘍臨床病理カラーアトラス, 第3版, 18-37
- 6) 佐野寿昭 : いわゆるラブドイド細胞の性状と成り立ち, 臨床と病理, Vol. 10, No. 12, 1992, 1356-1360
- 7) 玉城修 : グリオーマ腫瘍組織内の変性構造物 (Rosenthal 線維, 円形顆粒小体,

硝子様封入体) に関する組織学的, 免疫組織化学的, 電顕的検討, 北関東医学 40 (2) : 139-149, 1990

- 8) K.E.STEELE et.al : Rhabdoid Tumor in the Brain of a dog, Vet Pathol 34: 359-363 (1997)