

ウシにおける未分化横紋筋肉腫に対する免疫組織学的研究

松井 高峯

獣医学科家畜病理学研究室

1. 目 的

未分化横紋筋肉腫は腫瘍細胞に横紋構造が認められず通常の病理組織学的検索方法によっては確定診断を下すことが困難な腫瘍である。近年通常のパラフィン切片標本に対して免疫組織学的手法の応用が可能となり、細胞骨格および腫瘍特異蛋白等の証明によりこれまで診断不能とされていた腫瘍の確定診断が可能となった。

本研究は臨床的にウシの白血病が疑われ、病理組織学的には未分化横紋筋肉腫が疑われた腫瘍についてヌードマウス可移植系株を確立するとともに免疫組織学的に検索し確定的な診断を得ることを目的とする。

2. 材料および方法

上士幌町にて乳用に飼育されていたウシ(ホルスタイン種、雌、7歳)の腹腔内に直腸検査で多数の腫瘤が触知された。ウシ白血病が疑われ予後不良として1985年3月12日日本学に寄贈された。放血・安楽死後に病理解剖を行った。肉眼検査後、腫瘍組織を含む全身の主要臓器・組織を採取10%ホルマリン水溶液にて固定した。パラフィン切片作成後ヘマトキシリン・エオシン(H・E)染色を実施し、病理組織学的検索を行った。腫瘍組織についてはGomori鍍銀染色、燐タングステン酸ヘマトキシリン(PTAH)染色、過ヨウ素酸シッフ(PAS)染色を施した。免疫組織化学的検索にはパラフィン切片を用い、ペルオキシダーゼ・抗ペルルオキシダーゼ(PAP)法にて検索を行った。一次抗体として抗ヒトミオグロビンウサギ血清(DAKO社製 lot. 085-2)、抗ニワトリデスミンウサギ血清(DAKO社製 lot. 115-1)および抗ヒトクレアチンフォスフォキナーゼMMアイソザイム(CPK-MM)ヤギ血清(MERCK社製 lot. F25493)を使用した。

ヌードマウスへの移植：無菌的にウシの腹腔内から採取した新鮮腫瘍組織を1辺約3mmの立方体に細切し、ヌードマウス(BALB/c・nu/nu)皮下に移植した。第1代目の腫瘍組織は、移植後約3ヶ月目(約2cmに発育)に採取し、継代するとともにウシの原発腫瘍と同様の検索を行った。第2代目の腫瘍組織は移植後約5ヶ月目(約3cmに発育)に採取し、継代するとともに無水エタノールで固定後、通常の方法によりパラフィン切片を作成し原発の腫瘍と同様に検索した。

3. 結 果

a. 剖検所見

壁側腹膜，臓側腹膜および腹膜ヒダの表面に人頭大に至る大小さまざまな白色硬質腫瘍塊が密在し，腹腔内には淡黄色透明の腹水が多量に貯留していた (Fig. 1)。壁側胸膜，肺胸膜および心膜の表面に手拳大に至る多数の腫瘍塊が存在していた。肝臓および肺の実質内，腎臓の皮質深層，副腎の髓質，および子宮内膜下に転移性結節が認められた。

b. 病理組織学的所見

腹腔内および胸腔内の腫瘍は中皮下に結節状に増殖していた。また転移巣においては各臓器の実質内において結節状を示し，圧排性に増殖していた。横隔膜腹腔側表面の腫瘍には筋組織内への浸潤性増殖が認められた。腹腔内および胸腔内の腫瘍は胞体の乏しい多核，円形および紡錘形の腫瘍細胞からなり，その核は円形～楕円形で染色質に富み，有糸分裂像が多数みられた。個々の腫瘍細胞と関連した線維の形成はみられず，腫瘍細胞は胞巣状に配列していた (Fig. 2)。肺および横隔膜等の転移巣では胞体の乏しい腫瘍細胞の間にエオシンに好染し，PTAH染色で無構造深青色に染まる胞体をもつ円形および紡錘形の細胞がわずかに存在していた。

c. 免疫組織化学的所見

胞体の乏しい腫瘍細胞からなる腫瘍組織においては，デスミン，ミオグロビンともに陰性であった。エオシンに好染する胞体を有する腫瘍細胞が存在する腫瘍組織（転移巣）において，デスミンは胞体の乏しい腫瘍細胞を含む多くの腫瘍細胞に対して陽性であり，ミオグロビンはエオシンに好染する胞体をもつ腫瘍細胞のごく一部に対して陽性であった。

ヌードマウスに移植された1代目の腫瘍はウシの腹腔内等の腫瘍と同様，胞体の乏しい腫瘍細胞が胞巣状に発育していた。デスミンが一部の腫瘍細胞に対して陽性を示したが，ミオグロビンは陰性であった。2代目の腫瘍ではエオシンに好染する胞体を有する円形，紡錘形および帯状の腫瘍細胞が多数出現していた (Fig. 3)。デスミンおよびCPK-MMは胞体の乏しい腫瘍細胞を含む多くの腫瘍細胞に対して陽性を示した (Fig. 4)。ミオグロビンはエオシンに好染する胞体をもつ細胞の一部に陽性を示した (Fig. 5)。

4. 考 察

腹腔内に原発した腫瘍塊は通常の病理組織学的および免疫組織学的検索においても横紋筋肉腫と診断できる根拠は得られなかった。転移巣と思われる腫瘍については病理組織学的に横紋筋芽細胞に類似するエオシン好性の胞体を有する細胞が存在することより未分化横紋筋肉腫が疑われた。又免疫組織学的に多くの細胞に筋系細胞に特異的な細胞骨格蛋白であるデスミンの存在が確認され，横紋筋特異蛋白であるミオグロビンの存在も証明され横紋筋肉腫であることが診断された。腹腔内未分化腫瘍がヌードマウスに継代され，初代のものではウシ原発巣と同じく未分化の状態であったものが2代目の腫瘍においてミオグロビン，デスミンともに陽性となり，腹腔内未分化腫瘍が転移巣において分化したものと思われた。又，ヌードマウス移植系腫瘍ではウシの原発腫瘍では固定法の違いにより検出不能であったCPK-MMに対し固定法を変えることにより検出でき，可移植系として維持しておくことが後の検索に有用であることも示唆された。

写真説明

Fig. 1 : 解剖時肉眼所見

Fig. 2 : 腹腔内腫瘍の組織像, H-E

Fig. 3 : ノードマウス 2 代目腫瘍組織像, H-E

Fig. 4 : ノードマウス 2 代目腫瘍, PAP 法, 抗デスミン染色

Fig. 5 : ノードマウス 2 代目腫瘍, PAP 法, 抗ミオグロビン染色

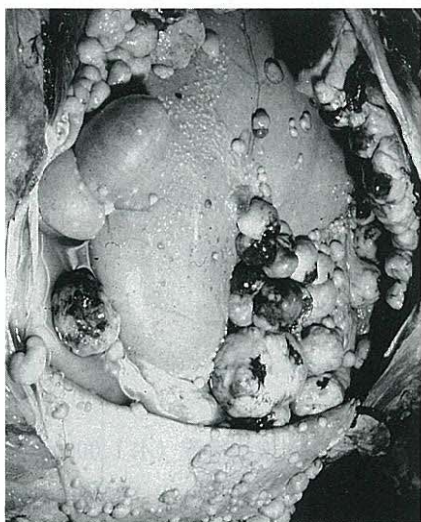


Fig. 1

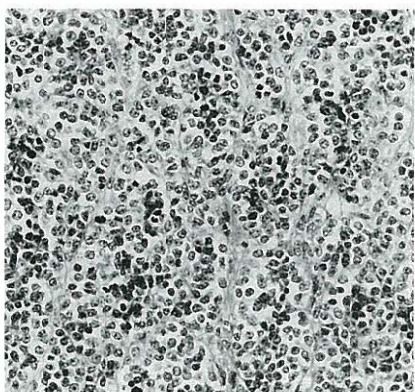


Fig. 2



Fig. 3

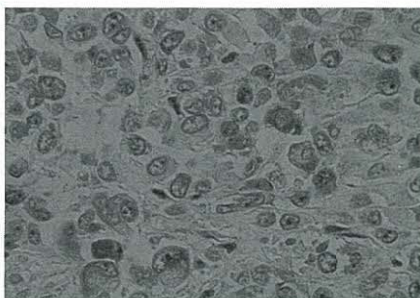


Fig. 4

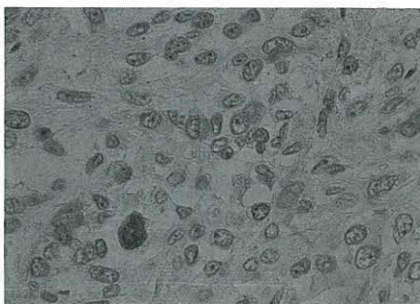


Fig. 5