

【産業動物】 症例報告

ホルスタイン乳牛に発生した地方病性牛白血病の3症例

猪熊 壽¹⁾ 下夕村圭市²⁾ 野田陽一郎²⁾ 吉本 薫²⁾ 竹内 俊彦³⁾
 田川 道人¹⁾ 千葉 史織¹⁾ 古林与志安¹⁾ 古岡 秀文¹⁾

1) 帯広畜産大学 (〒080-8555 帯広市稲田町西2線11)

2) 十勝農業共済組合 (〒089-1182 帯広市川西町基線59番地28)

3) いぶり農業共済組合 (〒059-1605 勇払郡厚真町字本郷273番地6)

(受付2012年3月20日)

要 約

食欲不振および削瘦を呈したホルスタイン種乳牛3頭が、顕著な体表リンパ節の腫大、細胞診による腫瘍細胞の確認および牛白血病ウイルス抗体陽性所見から地方病性牛白血病と診断された。LDH アイソザイム2と3活性値の和、および血清チミジンキナーゼ活性値はいずれの症例でも高値を呈したが、著しいリンパ球増多症を呈したのは3頭のうち1頭だけであった。血清チミジンキナーゼ活性値は、リンパ節腫大の程度が大きいほどより高値を示す傾向を示したが、LDH アイソザイムではそのような傾向はみられなかった。

-----北獣会誌 57, 513~516 (2013)

牛白血病は地方病性(成牛型)と原因不明の散発型に大別され、地方病性牛白血病(Enzootic bovine leukosis: EBL)は牛白血病ウイルス(BLV)感染に起因する^[1,2]。EBLの潜伏期間は長く、BLVに感染後無症状のまま数年間経過し、リンパ球増多症、様々なリンパ節の腫大とそれに関連する臨床症状を発現する^[1,2]。リンパ球増多症またはリンパ節腫大を示さない症例では、臨床的な診断が困難となる^[3]。LDH アイソザイム分析または血清チミジンキナーゼ(TK)活性値の測定が牛白血病発症マーカーとして利用されることがあるが、活性値と病態の関係は明らかではない^[4]。今回、リンパ球増多症または体表リンパ節の著しい腫大を呈し、生前に診断が確定した典型的なEBL3症例に遭遇し、牛白血病発症マーカーを含む臨床所見および病理所見の関連を考察したためその概要を報告する。

症 例

症例1:ホルスタイン種、3歳6カ月齢の雌で、最終分娩は6カ月前である。第1病日、食欲不振および発熱を主訴として初診となった。初診時体温40.5℃、心拍数90/分、呼吸数40/分で、肺音粗励、軟便、および左右の

腸骨下リンパ節腫大が認められた。抗生剤および解熱鎮痛剤を投与されたが、状態は改善されなかった。臨床所見とリンパ球増多による著しい末梢血白血球増多症(白血球数38,800/μl、リンパ球数34,920/μl)所見から牛白血病を疑い、血清ゲル内沈降反応(Agar gel immune diffusion: AGID)を実施したところBLV抗体検査陽性を呈した。第8病日に病性鑑定のため帯広畜産大学に搬入された。表1に第8病日の血液および血液生化学検査所見を示す。貧血、リンパ球増多症、末梢血への異型リンパ球出現(90%以上)、LDHの著増(6,750 IU/L)が認められた。LDH アイソザイム分析ではLDH1~5すべての分画で高値を示し、LDH2とLDH3の和は3,965 IU/Lであった。また血清TK活性は22 U/Lであった。右腸骨下リンパ節の細針吸引生検(Fine Needle Aspiration: FNA)による細胞診では、明瞭な核小体を有する大型不整形核または類円形核をもつリンパ芽球が主体であり、分裂像も認められた(図1)。

症例2:ホルスタイン種、3歳8カ月齢の雌で、最終分娩は5カ月前である。食欲不振を主訴として初診となった。初診時体温38.3℃、心拍数88/分で、左右の腸骨下リンパ節の著しい腫大が認められた。また直腸検査

表1 各症例の臨床症状、リンパ球数、LDH 活性、TK 活性および腫大リンパ節の大きさ

	症例 1	症例 2	症例 3
月齢	42	44	98
臨床症状	食欲不振 発熱 軟便	消瘦 食欲不振 発咳	消瘦・脱水 食欲不振
白血球数 (/ul)	34,800	10,600	15,100
リンパ球 割合 (%)	92	51	13
数 (/ul)	32,016	5,406	1,963
血清 TK 活性 (IU/L)	22	44	70
血清 LDH (IU/L)	6,750	3,210	4,400
LDH-2 (IU/L)	2,903	1,194	1,676
LDH-3 (IU/L)	1,053	421	757
1 辺が10 cm 以上の腫大リンパ節 (cm)	浅頸 L: 10x 5 x 5 浅頸 R: 10x 5 x 5 腸骨下 L: 10x 5 x 5 腸骨下 R: 10x 5 x 5 乳房上 20x10x10 心臓周囲 30x35x20	腸骨下 R: 22x14x11 内腸骨 L: 30x20x 5 内腸骨 R: 40x25x20 縦隔(1) 30x10x 8 縦隔(2) 20x13x 8 縦隔(3) 10x 5 x 3	浅頸 L: 21x19x13 腋窩 L: 13x10x 7 腸骨下 R: 15x 8 x 7 乳房上 L: 27x22x11 乳房上 R: 32x28x17 内腸骨 L: 29x28x14 内腸骨 R: 25x16x12 胃周囲 19x17x 9 前縦隔 12x 8 x 8
上記リンパ節の 縦 x 横 x 高さの和 (cm ³)	24,000	31,018	48,546

L: 左、R: 右

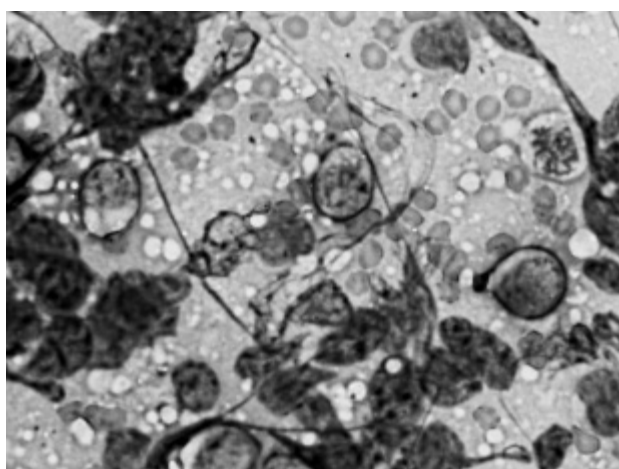


図1. 右腸骨下リンパ節の FNA 塗抹標本 (ギムザ染色)。明瞭な核小体を有する大型不整形核または類円形核をもつリンパ芽球が主体であり、分裂像も認められる。

でも腫瘍が触知された。牛白血病を疑い、血液検査を実施したところ、軽度のリンパ球増多 (リンパ球数5,022/ μ l) および異型リンパ球の出現を認めた。AGID では BLV 抗体検査陽性であった。第3病日に病性鑑定のため帯広畜産大学に搬入された。血液および血液生化学検査では (表1)、軽度の貧血とリンパ球増多症、LDH の著増 (3,210 IU/L) が認められた。LDH アイソザイ

ム分析では LDH1~3の分画で高値を示し、LDH2と LDH3の和は1,615 IU/Lであった。血清 TK 活性は44 U/Lであった。右腸骨下リンパ節の FNA による細胞診では、大型で明瞭な核小体を有する類円形核が特徴的なリンパ芽細胞が多数観察された (図2)。これらの細胞の大きさは大小不同であり、分裂像も散見された (図2)。

症例3: ホルスタイン種、6歳6カ月齢の雌で、分娩後約1カ月である。第1病日、食欲不振を主訴として初診となった。初診時体温39.0℃で、左右の浅頸リンパ節、腸骨下リンパ節および乳房上リンパ節の腫大が認められた。また直腸検査でも腫瘍が触知された。牛白血病を疑い、血液検査を実施したが、リンパ球増多症はみられず (リンパ球数1,303/ μ l)、異型リンパ球の出現も認められなかった。しかし、LDH アイソザイムは3,650 IU/Lと高値を示した。AGID では BLV 抗体検査陽性であった。第8病日に病性鑑定のため帯広畜産大学に搬入された。表1に第8病日の血液および血液生化学検査所見を示す。貧血、リンパ球増多症、末梢血への異型リンパ球出現 (約15%)、LDH の著増 (4,400 IU/L) が認められた。LDH アイソザイム分析では LDH1~4分画で高値を示し、LDH2と LDH3の和は2,433 IU/Lであった。血清 TK 活性は44 U/Lであった。右浅頸リンパ節の FNA による細胞診では、不整形核を有する類円形細胞、

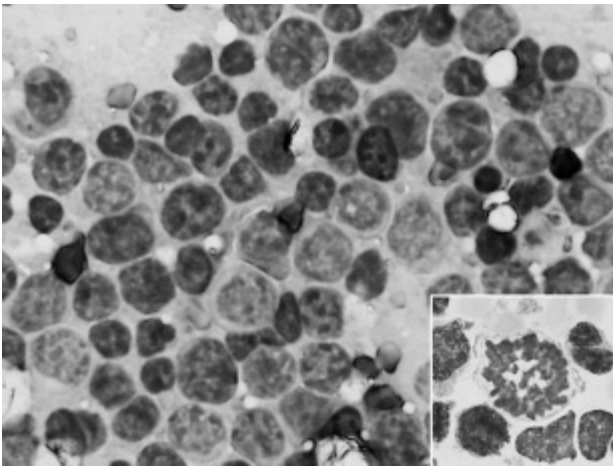


図2. 右腸骨下リンパ節のFNA塗抹標本(ギムザ染色)。大型で明瞭な核小体を有する類円形核が特徴的なリンパ芽細胞が多数観察される。細胞の大きさには大小不同があり、分裂像も認められる(右下)。

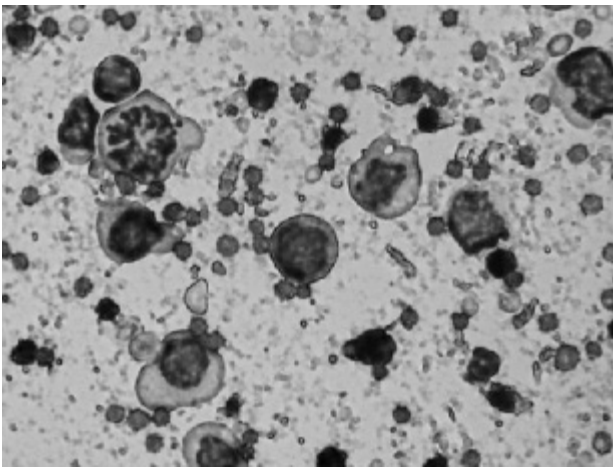


図3. 右浅頸リンパ節のFNA塗抹標本(ヘマカラー®染色)。不整形核を有する類円形細胞、細胞質の広い不整形細胞のほか、分裂像も認められる。

細胞質の広い不整形細胞のほか、分裂像も散見された(図3)。

病理解剖所見

症例1: 体表(浅頸、腸骨下、乳房上)および胸腔内(心臓周囲)のリンパ節に腫大がみられた。とくに心臓周囲のリンパ節は35 x 30 x 20 cmと著しく腫大し、心臓を圧迫していた。また、腹腔～骨盤腔内にも、多くのリンパ節が軽度腫大していたほか、脾臓、腎臓、膀胱粘膜、子宮壁には直径2～20 mm大の白色ないし乳白色斑が散在して認められた。脾臓は腫大し、断面は暗赤色で多結節性に膨隆していた。

症例2: 体表(浅頸、腸骨下、膝窩)、腹腔～骨盤腔内(内腸骨)および胸腔内(縦隔)のリンパ節に腫大が

みられた。とくに内腸骨リンパ節は著しく腫大し、表面が不整であった。右内腸骨リンパ節は右側尿管および上部直腸を巻きこんでおり、右腎表面は褪色し腎盂は拡張していた。

症例3: 体表リンパ節(下顎、浅頸、腋窩、腸骨下、乳房上)は軽度から高度に腫大していた。また腹腔～骨盤腔内においても胃周囲リンパ節および内腸骨リンパ節の著しい腫大を認めた。胸腔内では前縦隔リンパ節が高度に腫大しており、肺葉および胸壁と一部で癒着していた。

各症例の腫大リンパ節のうち、縦・横・高さのひとつが10 cm以上であったものを著しい腫大リンパ節と定義し、それらの大きさを表1にまとめて記載した。各症例の著しい腫大リンパ節の大きさを縦・横・高さの積で表し、その和を各症例の便宜上のリンパ節腫大の程度としたところ、症例1、2、3の値は、それぞれ24,000、31,018、48,546cm³となった。

考 察

EBLでは体表および体腔内リンパ節の腫大が特徴的であり、生前に本病を疑う際の手掛かりとして重要である[1-3,5]。さらに、末梢血リンパ球数の増加および異型リンパ球の出現が末梢血にみられることがあり、EBLの診断に有用である[1,2,5]。今回の3症例はいずれも体表および体腔内リンパ節の腫大が著しく、また症例1では著しいリンパ球増多症もみられたため、臨床現場においてEBLが強く示唆された典型的な症例であったと考えられた。

体表リンパ節腫大が認められる場合、腫大リンパ節のFNA塗抹標本の観察により牛白血病が確定されることがある[4]。牛白血病診断におけるFNAの感度は38～67%、特異性は25～80%と報告されているが[6]、今回の症例1～3では、芽球化して大型・均一な形態、核の異型または分裂像など腫瘍化の特徴的な所見が得られており、生前診断が比較的容易であった。

血清LDH活性の高値およびアイソザイム解析によるLDH2と3分画活性の和の上昇は、EBL診断の重要な所見であると報告されている[7]。いっぽうで、LDHは多くの組織から漏出し、腫瘍細胞特異性が低いとされているもの、今回の3症例ではいずれも著しい高値を示しており、身体検査、血液検査およびBLV抗体検査所見と併せて、EBL診断のための重要な手がかりであることが再確認された。さらに、最近血清TK活性値の増加が牛白血病発症マーカーとして利用可能とされてい

る^[8, 9]。今回の3症例においても、血清TK活性値はいずれも基準値(5.4 U/l)を大幅に上回っていた。

牛白血病発症例であっても、血清LDH活性およびTK活性が高値を示さない場合も報告されており、血清LDH活性およびTK活性値と牛白血病の病態・ステージとの関係には不明な点が多い。今回は、典型的なEBL 3症例について、リンパ節の腫大程度と牛白血病発症マーカーの関係を比較検討した。すなわち、病理解剖時に著しい腫大リンパ節とされた(1辺10 cm以上の)リンパ節の大きさを、縦・横・高さの積で表し、それらの和を便宜上のリンパ節腫大の程度と仮定し、血清LDH活性およびTK活性と比較した。血清LDH活性値およびアイソザイム解析によるLDH2と3分画活性の和は、リンパ節腫大程度と関連がないようであったが、血清TK活性値はリンパ節腫大程度が大きくなるに従い高値を示す傾向がみられた。TKは細胞分裂時のDNA合成に関与する酵素であり、腫瘍細胞の増殖が盛んな場合には血清中に出現しやすく^[10]、リンパ細胞が著しく分裂する際には高値を示すことが考えられた。いっぽう、LDHは細胞からの逸脱酵素であり^[11]、腫瘍細胞の体積ではなく、損傷程度と関連している可能性が考えられる。今後、症例数を増やして、牛白血病発症マーカーと病態との関係を調べ、各マーカーの臨床的意義をより明らかにする必要があると思われる。

謝 辞

本症例報告は十勝NOSAIと帯広畜産大学の共同研究「難診断患畜の臨床病理検索」により行われた。

引用文献

- [1] 田島誉士：獣医内科学 大動物編、日本獣医内科アカデミー編、208-209、文永堂出版、東京(2005)
- [2] 田島誉士：主要症状を基礎にした牛の臨床、前出吉光・小岩政照編、614-618、デーリィマン社、札幌(2002)
- [3] 田川道人、下田嵩、富樫義彦、渡辺由紀、古林与志安、古岡秀文、石井三都夫、猪熊 壽：非典型的牛白血病のホルスタイン種乳牛3症例、日獣会誌、61、936-940(2008)
- [4] 猪熊 壽：牛白血病臨床診断のピットフォールと発症牛早期診断の試み、家畜診療、57、137-143(2010)
- [5] 一条茂、金徳煥、小西辰雄、小沼操：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)
- [6] Washburn KE, Streeter RN, Lehenbauer TW, Snider TA, Rezabek GB, Ritchey JW, Meinkoth JH, Allison RW, Rizzi TE, Boileau MJ: Comparison of core needle biopsy and fine-needle aspiration of enlarged peripheral lymph nodes for antemortem diagnosis of enzootic bovine lymphosarcoma in cattle, *J Am Vet Med Assoc*, 230, 228-232(2007)
- [7] Ishihara K, Ohtani T, Kitagawa H, Onuma M: Clinical studies on bovine leukemia in Japanese black cattle. III. Serum lactate dehydrogenase activity and its isoenzyme pattern in groups of leukemic cattle and those negative or positive for antibody against bovine leukemia virus, *Jpn J Vet Sci*, 42, 289-295(1980)
- [8] Sakamoto L, Ohbayashi T, Matsumoto K, Kobayashi Y, Inokuma H: Serum thymidine kinase activity as a useful marker for bovine leukosis *J Vet Diagn Invest*, 21, 871-874(2009)
- [9] 坂本礼央、大林哲、古林与志安、松本高太郎、石井三都夫、猪熊壽：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、191-193(2010)
- [10] Bello LJ: Regulation of thymidine kinase synthesis in human cells. *Exp Cell Res* 89:263-274(1974)
- [11] Hoffman WE, Solter PF: Clinical biochemistry of domestic animals. Kaneko JJ *et al* eds, 6th ed, 351-378, Academic Press, San Diego(2008)