

氏名(本籍)	尹善愛(中華人民共和国)
学位の種類	博士(獣医)
学位記番号	獣医博甲第130号
学位授与年月日	平成15年3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岩手大学
学位論文題目	Studies on Classification of Bovine Leukosis by Phenotype of Lymphocytes (牛白血病のリンパ球のPhenotypeによる分類に関する研究)
審査委員	主査 岩手大学 教授 岡田幸助 副査 帯広畜産大学 教授 石黒直隆 副査 岩手大学 教授 三宅陽一 副査 東京農工大学 教授 松田浩珍 副査 岐阜大学 教授 柵木利昭

### 論文の内容の要旨

牛白血病は疫学のおよび臨床病理学所見から地方病性牛白血病 (enzootic bovine leukosis : EBL) と散発性牛白血病 (sporadic bovine leukosis : SBL) に分類されており、さらに SBL はその発症年齢および腫瘍形成部位から子牛型、胸腺型および皮膚型に分類されている。しかし、発症年齢や腫瘍形成部位において子牛型と胸腺型が共存するものもみられ、それらを中間型とする分類も提唱されており、しばしば混乱を招いている。

EBL は牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus : BLV) の感染により、B細胞が腫瘍化したものである。SBL は BLV の関与が認められず、原因不明とされていた。

ヒトやマウスの正常 B 細胞は、表面抗原、発生起源、体内分布および機能の相違から3種類に細分されている。ひとつは、CD5<sup>+</sup> および CD11b<sup>+</sup> 細胞である B-1a 細胞であり、2つ目は CD5<sup>-</sup> および CD11b<sup>+</sup> を示す B-1b 細胞である。3つ目は CD5<sup>-</sup> および CD11b<sup>-</sup> 細胞である B-2 細胞である。牛において、B-1 (B-1a, B-1b) 細胞はヒトと同様に主に末梢血液中に存在しており、BLV 感染牛および羊において、末梢血液中の CD5<sup>+</sup> および CD5<sup>-</sup> 細胞に BLV プロウイルスが存在することが明らかとなっている。また、EBL の発症牛において、腫瘍細胞の phenotype は B-1a, B-1b および B-2 細胞の3種類に特徴づけられている。

今回は、EBL と SBL における腫瘍細胞の phenotype を明確にし、phenotype と細胞形態および腫瘍組織分布との相関性について検討し、牛白血病の再分類を試みた。

EBL と診断された 33 例および SBL と診断された 14 例を実験に用いた。全ての症例は、放血殺後直ちに剖検し、詳細な肉眼的検索を行った。全身臓器から組織切片を採材し、10%ホルマリン液に固定した。常法に従いパラフィン包埋後ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色し、凍結組織は牛のリンパ球分化抗原に対する単クローン性抗体を用いて、ABC 染色を行った。

腫瘍細胞の phenotype の検査によって、EBL は B-1a 細胞型 17 例、B-1b 細胞型 10 例および B-2 細胞型 6 例に、SBL は B 細胞由来 (B-2 細胞型) 5 例および T 細胞由来 (immature T 細胞型 : iT 細胞型) 9 例に分類された。

EBL において phenotype による発症年齢の平均は、B-1a 細胞型は 8.6 歳、B-1b 細胞型は 6.5 歳、および B-2 細胞型は 4.5 歳であった。SBL において iT 細胞型よりも B-2 細胞型が若い時期に発症していた。

腫瘍組織の分布では、EBL において、B-1a 細胞型は主に心臓、第四胃、耳下腺リンパ節、縦隔リンパ節および内腸骨リンパ節に浸潤する傾向が見られた。B-1b 細胞型は主に第四胃、心臓および浅頸リンパ節に浸潤する傾向がみられた。B-2 細胞型は主に肝臓、浅頸リンパ節および内腸骨リンパ節に浸潤する傾向がみられた。SBL において、B-2 細胞型と iT 細胞型は共通して主に肝臓、腎臓、胸腺、浅頸リンパ節、腋窩リンパ節、耳下腺リンパ節、腸骨下リンパ節、膝窩、縦隔リンパ節および内腸骨リンパ節に浸潤する傾向が見られた。

腫瘍細胞は核の形態および大きさから lymphocytic, prolymphocytic well differentiated, prolymphocytic poorly differentiated, histocytic lymphoma 4 つに分類された。Lymphocytic type は、小型の核を有する腫瘍細胞が均一にびまん性に増殖し、prolymphocytic well differentiated type は、小～中型の核を有する腫瘍細胞が均一に増殖しており、prolymphocytic poorly differentiated type は prolymphocytic well differentiated type よりも腫瘍細胞の核が大きく腫瘍細胞の大きさは不均一であった。Histocytic type は、核が大型で組織球様を示す腫瘍細胞がびまん性に増殖していた。

EBL において B-1a および B-1b 細胞型は lymphocytic type と prolymphocytic well differentiated type が多いが、一部 histocytic type のものも見られた。B-2 細胞型においては prolymphocytic well differentiated type および prolymphocytic poorly differentiated type の腫瘍から成り、中型の細胞形態を示していた。

SBL において、iT 細胞型の腫瘍細胞は核が円形で細胞質の辺縁が明瞭であり、腫瘍細胞が個々に単離して増殖していた。B-2 細胞型においても、やや個々の腫瘍細胞は単離して増殖しているようにも見えるが、EBL の腫瘍細胞に比較的類似していた。B-2 細胞型は lymphocytic type から prolymphocytic poorly differentiated type の腫瘍細胞から成り、細胞の大小不同はみられず均一に増殖していた。

細胞形態学的に腫瘍細胞は B 細胞由来のリンパ腫と T 細胞由来のリンパ腫の違いが認められた。T 細胞の腫瘍細胞は、核が円形で、細胞質の辺縁が明瞭であり、細胞が個々に単離して増殖していたが、B 細胞では T 細胞と比べて細胞と細胞との境界が不明瞭であった。しかし、phenotype と従来 of 腫瘍細胞の形態学的特徴による分類との相関性は認められなかった。

以上のことから、phenotype の違いにより発症年齢の違いや腫瘍形成部位に差が生じることで牛白血病を phenotype で分類することが可能であると考えられた。EBL

は BLV 関連の 3 タイプの B 細胞リンパ腫に分けられた。さらに SBL は発症年齢や腫瘍形成部位を考慮に入れると、子牛型 B 細胞リンパ腫、若齢型 T 細胞リンパ腫および皮膚型 T 細胞リンパ腫に分類された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

従来、牛白血病は疫学および臨床病理学所見から地方病性牛白血病 (enzootic bovine leukosis : EBL) と散発性牛白血病 (sporadic bovine leukosis : SBL) に分類されており、さらに SBL はその発症年齢および腫瘍形成部位から子牛型、胸腺型および皮膚型に再分類されている。しかし、発症年齢や腫瘍形成部位において子牛型と胸腺型が共存する症例もみられ、それらを中間型とする分類も提唱されており、しばしば混乱を招いている。

尹は、EBL と SBL における腫瘍細胞の phenotype を明確にし、phenotype と細胞形態および腫瘍組織分布との相関性について検討し、牛白血病の再分類を試みた。

材料として EBL と診断された 33 例および SBL と診断された 14 例を実験に用いた。

免疫組織化学検索にて腫瘍細胞の phenotype を決定し、EBL は B-1a 細胞型 17 例、B-1b 細胞型 10 例および B-2 細胞型 6 例に、SBL は B 細胞由来 (B-2 細胞型) 5 例および T 細胞由来 (immature T 細胞型 : iT 細胞型) 9 例に分類された。

EBL の発症年齢の平均は、B-1a 細胞型は 8.6 歳、B-1b 細胞型は 6.5 歳、および B-2 細胞型は 4.5 歳であった。SBL では iT 細胞型よりも B-2 細胞型が若い時期に発症していた。

腫瘍組織の発生部位では、EBL は全身、特に臓器に腫瘍が発生する傾向が見られた。SBL において、B-2 細胞型と iT 細胞型はいずれもリンパ節に主に発生する傾向が見られた。

病理組織形態学的に腫瘍は lymphocytic, prolymphocytic well differentiated, prolymphocytic poorly differentiated, histocytic lymphoma の 4 つに分類された。

SBL の腫瘍細胞は B 細胞由来のリンパ腫と T 細胞由来のリンパ腫で細胞形態に相違が認められた。T 細胞の腫瘍細胞は、核が円形で、細胞質の辺縁が明瞭であり、細胞が個々に単離して増殖していたが、B 細胞では T 細胞と比べて細胞と細胞との境界が不明瞭であった。しかし、従来の腫瘍細胞の形態学的特徴による分類と腫瘍細胞の phenotype との相関性は認められなかった。

以上のことから、phenotype の違いにより発症年齢や腫瘍形成部位に差が生じることが明らかとなり、牛白血病を phenotype で再分類することが可能であると考えられた。そこで尹は EBL を BLV 関連の 3 タイプの B 細胞リンパ腫に、さらに SBL を子牛型 B 細胞リンパ腫、若齢型 T 細胞リンパ腫および皮膚型 T 細胞リンパ腫に分類することを提唱した。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

1) 題 目 : Relation between phenotype of tumor cells and clinicopathology in bovine leukosis

著 者 名 : YIN, Shan-ai    MAKARA, Manami    PAN, Yaoqian    ISHIGURO, Hiroyuki  
IKEDA, Manabu    NUMAKUNAI, Shigeru    GORYO, Masanobu  
and OKADA, Kosuke

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : in press

既発表学術論文

1) 題 目 : Delayed-type hypersensitivity in sheep induced by synthetic peptides of bovine leukemia virus encapsulated in mannan-coated liposome

著 者 名 : OKADA, Kosuke    SONODA, Kai    KOYAMA, Masato    YIN, Shan-ai  
IKEDA, Manabu    GORYO, Masanobu    CHEN, Sau Leok    KABEYA, Hidenori  
OHISHI, Kazue    and ONUMA, Misao

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : in press

2) 題 目 : A mutant from of the Tax protein of bovine leukemia virus (BLV), with enhanced transactivation activity, Increases the expression and propagation of BLV in vitro but not in vivo

著 者 名 : TAJIMA, Shigeru    TAKAHASHI, Masahiko    TAKESHIMA, Shin-nosuke  
KONNAI, Satoru    YIN, Shan-ai    WATARAI, Shinobu    TANA  
TANAKA, Yoshimasa    ONUMA, Misao    OKADA, Kosuke    and AIDA, Yoko

学術雑誌名 : Journal of Virology

巻・号・頁・発行年 : in press