

8 鶏白血病の診断における BAFF-R 抗体を用いた免疫組織化学的検査の検討

中央家畜保健衛生所

○森谷 翠・松本 裕治・小池 絵理子

I 背景と目的

鶏白血病(AL)は、B細胞主体のリンパ球性腫瘍の形成を特徴とするウイルス性の届出伝染病で、類症鑑別としてT細胞主体のリンパ球性腫瘍のマレック病(MD)がある。ともに野外に広く浸潤し不顕性感染が多いため、確定診断には疫学情報、臨床検査、剖検所見、病理組織学的検査、ウイルス学的検査の多角的な診断材料を用いた総合的な判断が必要である¹⁾。病理組織学的検査でALは大型均一のリンパ様細胞(腫瘍細胞)が正常組織へ境界明瞭に、MDは大小不同の腫瘍細胞が正常細胞へ境界不明瞭に全身諸臓器に浸潤する²⁾。しかし、腫瘍細胞を浸潤像や形態のみで判別するには病理検査者の熟達が必要である。

今回2001年から2022年までに本県でALと診断及び疑われた症例について再検索し、2020年に開発された抗BAFF-R抗体を用いた鶏B細胞の免疫組織化学的検査(IHC)法³⁾について本県でも有用であるか検証した。

II 材料及び方法

1 材料

2001年から2022年までに本県でALと診断された4症例及び疑われた2症例の計6症例の肝臓のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを使用し、各検査に供した。

2 方法

(1) 過去の病性鑑定成績書の検索

各症例の過去の病性鑑定成績書を検索し、疫学情報、臨床検査情報、剖検所見を調査した。

(2) 病理学的検査

各症例の肝臓のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックを厚さ1.5 μ mで薄切しパラフィン切片を作成した後、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を実施した。

さらに、抗BAFF-R抗体

(MOUSE ANTI CHICKEN CD268 / BAFF-R, Bio-Rad Laboratories, Inc.)を用いて

B 細胞、抗 CD3 抗体 (Monoclonal Mouse Anti-Human CD3 Clone F7.2.38, Daco.) を用いて T 細胞に対して IHC を実施した。

III 検査成績

1 過去の病性鑑定成績書の検索

各症例の疫学情報、臨床検査、剖検所見及び過去の疾病診断の検索結果のまとめは以下の表 1 のとおり。

表 1 検索結果まとめ

No.	疫学情報	臨床検査	剖検所見			過去の疾病診断
			肝臓	末梢神経	その他	
1	約12週齢 タマシャモ	急死	—	—	—	AL
2	約34週齢 ボリスブラウン	水溶性下痢 鶏盲腸虫卵検出	—	—	線虫寄生	AL疑い
3	不明 ウコッケイ	鶏冠に結節	—	NT	鶏冠に結節	鶏痘 AL疑い
4	約17週齢 採卵鶏(不明)	斜頸 頸部腫瘍	—	—	頸部腫瘍	AL
5	不明 ウコッケイ	急死	—	—	—	AL
6	不明 ウコッケイ	歩様異常 呼吸促拍	灰白色結節	NT	体腔・腎臓 肺に灰白色結節	AL

—: 著変なし
NT: 検査なし

疫学情報では、MD の好発時期とされる 6 週齢以降⁴⁾は No. 1、2 及び 4 の 3 症例で、AL の好発時期とされる 16 週齢以降⁴⁾は No. 2、4 の 2 症例であったが、その他の週齢については不明であった。

臨床検査では、MD でみられる神経症状として No. 4 に斜頸が認められた。

剖検所見では、No. 6 で体腔、肝臓、腎臓、肺に灰白色結節が散在していた。なお、No. 4 の頸部腫瘍は肉芽腫性の腫瘍であり、AL、MD による腫瘍形成は否定された。

2 病理学的検査

(1) HE 染色

各症例の HE 染色結果は図 1、2 のとおり。

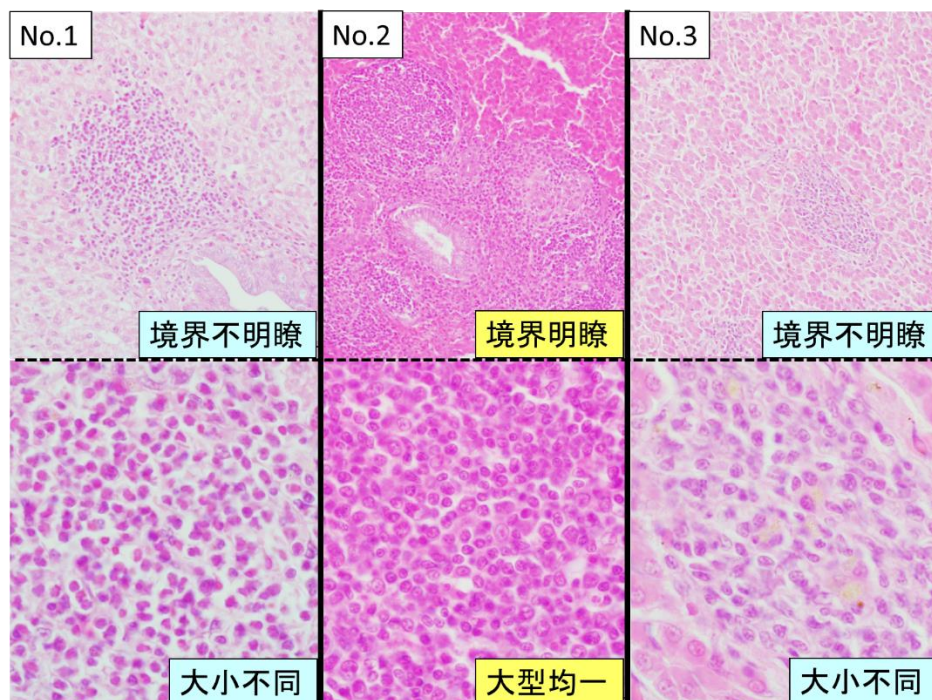


図1 No.1～3 HE染色結果
上段：弱拡大、下段：強拡大

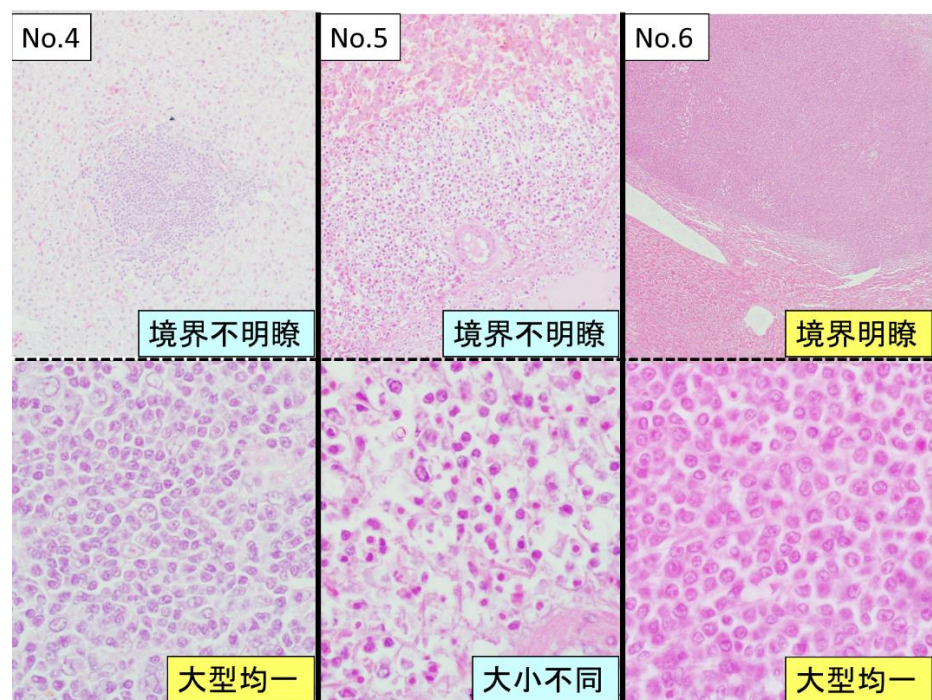


図2 No.4～6 HE染色結果
上段：弱拡大、下段：強拡大

腫瘍細胞の正常な肝細胞への浸潤像は、No.1、3～5で境界不明瞭、No.2、6で境界明瞭であった。

腫瘍細胞の形態は、No.1、3、5で大小不同、No.2、4、6で大型均一であった。

(2) IHC

各症例の IHC 結果は図 3~5 のとおり。

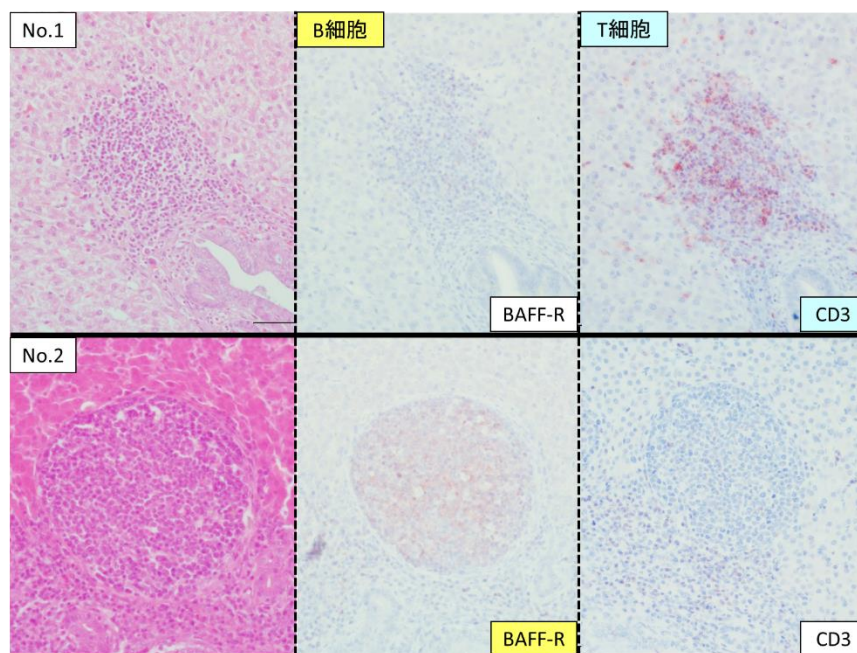


図 3 No. 1 (上段)、2 (下段) IHC 結果

左列：IHC と同部位の HE 染色

中央列：抗 BAFF-R 抗体を使用した IHC

右列：抗 CD3 抗体を使用した IHC

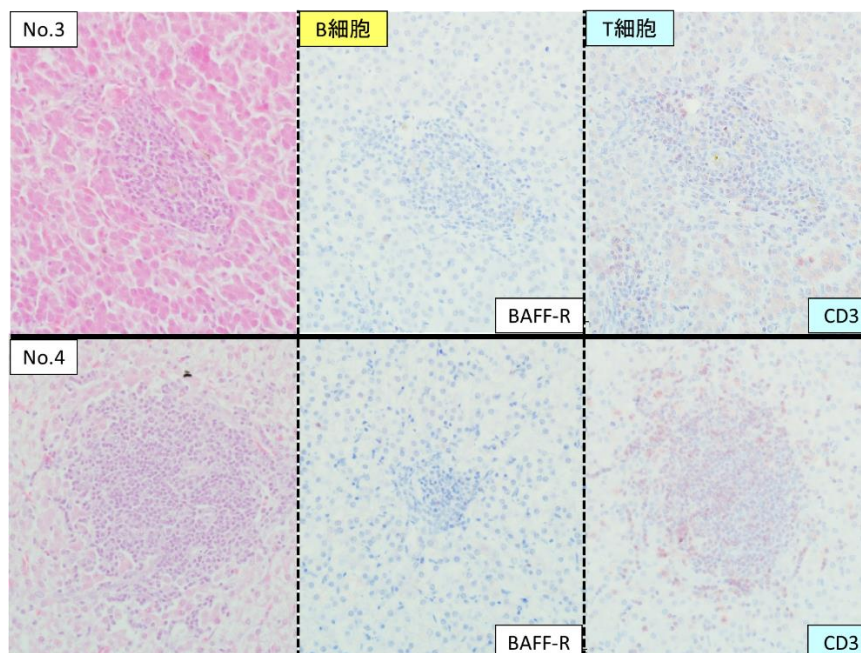


図 4 No. 3 (上段)、4 (下段) IHC 結果

左列：IHC と同部位の HE 染色

中央列：抗 BAFF-R 抗体を使用した IHC

右列：抗 CD3 抗体を使用した IHC

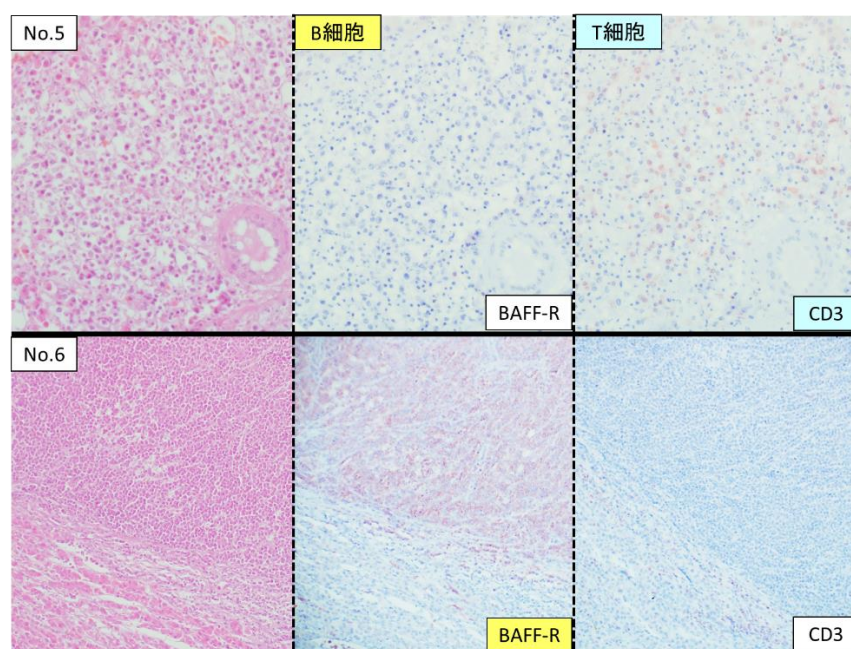


図 5 No. 5 (上段)、6 (下段) IHC 結果

左列：IHC と同部位の HE 染色

中央列：抗 BAFF-R 抗体を使用した IHC

右列：抗 CD3 抗体を使用した IHC

腫瘍細胞は抗 BAFF-R 抗体を使用した IHC では、No. 2、6 で B 細胞、抗 CD3 抗体を使用した IHC では、No. 1、3～5 で T 細胞と同定された。

IV まとめと考察

今回、新規開発された IHC の有用性の確認のため、本県で過去に AL と診断及び疑われた 6 症例について IHC を実施した。加えて過去の病性鑑定成績書の検索、HE 染色を実施し、総合的に判断した結果、No. 2、6 は AL、No. 1、3～5 は MD と再診断した。HE 染色、IHC、再診断の結果は表 2 のとおり。

表 2 HE 染色、IHC 結果まとめ

No.	HE染色		IHC	過去の診断	再診断後
	腫瘍細胞の浸潤像	腫瘍細胞の形態	腫瘍細胞の種類		
1	境界不明瞭	大小不同	T細胞	AL	MD
2	境界明瞭	大型均一	B細胞	AL疑い	AL
3	境界不明瞭	大小不同	T細胞	AL疑い	MD
4	境界不明瞭	大型均一	T細胞	AL	MD
5	境界不明瞭	大小不同	T細胞	AL	MD
6	境界明瞭	大型均一	B細胞	AL	AL

過去の病性鑑定成績書の診断結果と今回再診断した結果に相違があった。相違があった理由について大きく 2 つの理由が考えられた。1 つ目は、過去の診断時は診断材料が少なかったことである。病性鑑定指針では AL、MD ともに診断するためには疫学情報、臨床検査、剖検所見、病理組織学的検査、ウイルス学的検査の結果から総合的に診断を行うと定められている¹⁾。しかし、過去の病性鑑定成績書を検索した際、疫学情報である週齢やワクチン接種歴などの情報がない症例 (No. 3、5、6)、ホルマリン固定された臓器だけ当所に送付され、病理組織学的検査を行っている症例 (No. 3~5) があった。さらに、当時はウイルス遺伝子検査 (PCR) が当所に導入されていなかった。2 つ目は、病理検査者によって診断にばらつきがあることである。病理組織学的検査は主観的な要素が多く、検査者によって細胞の形態や浸潤像の判断が異なる場合がある。

今回再診断した 6 症例について、過去の診断材料は HE 染色による病理組織学的検査が主であったが、IHC が加わり診断材料が増加した。さらに 6 症例の腫瘍細胞の浸潤像、形態を同時に比較、判別できたことで AL の診断へのアプローチが過去の診断時より多角的になった。

現在、本県での AL の診断は、疫学情報、臨床検査、剖検所見、病理組織学的検査、ウイルス学的検査の 5 つを軸としている。今回、抗 BAFF-R 抗体を用いた新規 IHC が本県でも鶏のウイルス性腫瘍鑑別の一助となることが確認できたことにより、今後は上記の 5 つの軸に IHC を加え、腫瘍細胞の浸潤像、形態だけでなく分類も含めた多角的な AL の診断が可能と考えられる。

VI 参考文献

- 1) 病性鑑定指針 (平成 27 年 3 月 13 日), 農林水産省消費・安全局, 26 消安第 4686 号; マレック病; 308-309, 鶏白血病; 316-317

- 2) 鶏病病理学カラーアトラス, 学窓社, マレック病:7-10, 鶏白血病 ; 17-19.
- 3) Kurokawa A. et al. (2020). Immunohistochemical identification of T and B lymphocytes in formalin-fixed paraffin-embedded chicken tissues using commercial antibodies. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 228:110088.
- 4) カラーマニュアル 鶏の病気, 第 6 版, 鶏病研究会編, マレック病:27-29, 鶏白血病 ; 30-33.