

2023 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	牛伝染性リンパ腫における B-1a 細胞選択的腫瘍化機構の解明 ーB-1a 細胞増殖に関与するウイルス特異抗原の機能解明ー
キーワード	①牛伝染性リンパ腫、②B-1a 細胞、③体腔内脂肪組織

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	アイハラ ナオユキ 相原 尚之
配付時の所属先・職位等 (令和 5 年 4 月 1 日現在)	麻布大学 獣医学部 講師
現在の所属先・職位等	麻布大学 獣医学部 講師
プロフィール	2014 年 3 月麻布大学大学院獣医学研究科博士課程修了、博士（獣医学）。農林水産省にて動物用医薬品の行政、研究に取り組んだ後、2018 年 4 月に麻布大学獣医学部病理学研究室に着任。牛伝染性リンパ腫、豚筋疾患の病理発生の解明をテーマに研究に取り組んでいる。

1. 研究の概要

牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) は、B-1a 細胞を選択的に腫瘍化させる性質を持ち、地方病性牛伝染性リンパ腫（以下、牛リンパ腫）の原因となる。BLV による牛リンパ腫発生は、30 年前の 40 倍以上に急増し、2021 年の国内発生件数は 4,375 件である（農林水産省監視伝染病発生状況）。国内で飼養される牛約 400 万頭の 30～40%が BLV に感染しており、牛リンパ腫の予備軍は 120 万頭以上と推定される。

我々は、BLV 感染により B-1a 細胞が選択的に腫瘍化することに着目し、牛リンパ腫の病理発生機序の解明に取り組むこととした。B-1a 細胞は、血中にはわずかしかな存在しない一方、体腔内脂肪組織内のリンパ組織に多く分布している。本研究では、B-1a 細胞選択的な腫瘍化進展に必要な微小環境として体腔内脂肪組織に着目し、B-1a 細胞の増殖に必須となる BLV 抗原を同定することにより、B-1a 細胞腫瘍化機構を解明する事を目的とした。

2. 研究の動機、目的

我々は、BLV 感染により牛の B-1a 細胞が選択的に腫瘍性増殖することに着目した。B-1a 細胞は局在及び細胞学的特性が特殊な B リンパ球であり、血中リンパ球のわずか 0.3～0.5%にすぎない一方、体腔内脂肪組織にあるリンパ組織 (fat-associated lymphoid cluster、FALC) に B-1a 細胞が集中して分布していることから、BLV 感染による FALC の形態学的変化に着目し、腫瘍化進展の初期メカニズムの解明に取り組むこととした。

申請者は、寄生虫感染マウスモデルにおいて、B-1a 細胞が寄生虫特異抗原とサイトカインの共刺激により選択的に増殖することを明らかにした (Histol Histopathol. 2011. Am J Pathol. 2015.)。そこで、BLV 感染牛の FALC には B-1a 細胞の腫瘍化に必要なウイルス特異抗原及びサイトカインが分布すると仮説を立てた。研究は、BLV 感染牛では無症状期から FALC において B-1a 細胞選択的な腫瘍化が進展するという仮説に基づき、FALC における B-1a 細胞の選択的増殖に関与する BLV 特異抗原や微小環境を同定し、腫瘍発生の初期機序を明らかに

することを目的とする。

3. 研究の結果

1. BLV 感染による FALC の肉眼的変化について

BLV 感染リンパ腫未発症牛（無症状期、持続性リンパ球増多症期（PL 期））、リンパ腫発症牛を病理解剖し、体腔内 FALC および全身リンパ組織を観察した。BLV 感染牛においては、無症状期、PL 期ともに大網、腸間膜、心嚢膜の脂肪組織内において淡桃色の腫大部が見られた。

2. BLV 感染による FALC の組織形態学的変化について

脂肪組織内における肉眼的な淡桃色部および全身のリンパ組織を組織形態学的に評価した。その結果、BLV 感染無症状期、PL 期の同部位では、リンパ球の優勢な増殖が認められた。そこで、CD5、CD11b、CD20 の免疫組織学的染色により、B-1a 細胞の局在を病態ステージごとに評価した。無症状期では、83%の個体の大網、83%の腸間膜、58%の心嚢膜の FALC において B-1a 細胞の優位な増殖が観察された。PL 期では、大網、腸間膜、心嚢膜に加え、リンパ節においても B-1a 細胞の増殖が見られた。

3. 体腔内脂肪組織における BLV 局在の解析

BLV ウイルス RNA を高感度 in situ hybridization (ISH) により検出し、無症状期、PL 期牛の BLV の局在を明らかにした。今回開発した ISH により、リンパ腫発症前の BLV ウイルス局在を初めて検出できた。無症状期では、大網、腸間膜、心嚢膜の FALC において BLV 遺伝子発現しており、PL 期では、大網、腸間膜、心嚢膜の FALC に加え、リンパ節においても BLV 遺伝子発現が認められた。

4. B-1a 細胞選択的増殖に関わる BLV 抗原の解析

BLV 特異抗原刺激により増殖する B-1a 細胞クローンが選抜されるのであれば、B 細胞受容体 (BCR) は類似の構造の抗原を認識すると仮説をたて、BCR 可変領域を個体間で比較した。BCR 可変領域の PCR により、無症状期の段階で既に、FALC では少数クローンの選択的増殖があることが認められた。個体間の比較については、十分なサンプル数の解析を実施できなかった。

5. 腫瘍好発部位の調査

発症牛 120 頭の腫瘍発生部位を調査したところ、多中心性のリンパ節の腫瘍化に加え、94%で心臓、83%で第四胃、半数程度で腎臓、子宮に腫瘍形成が見られた。心臓、第四胃は心嚢膜、大網と隣接した臓器であり、FALC を原発巣として腫瘍化する可能性が示された。

4. 研究者としてのこれからの展望

近年、体腔内脂肪組織内リンパ装置として FALC が発見され (Moro et.al., Nature, 2010)、FALC には血液中、リンパ節とは全く異なるサイトカイン環境の存在が存在することが明らかになっています。今回、FALC の形態的变化に注目することにより、牛リンパ腫の発症に至るまでの初期メカニズムの解明に有用な結果を得ることができました。今後は、病理形態学の専門性を生かしながら、独自の視点を持つことを意識して、動物の重要な疾患の病理発生の解明に取り組むたいと考えています。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

本研究課題に対してご支援を賜りましたことにお礼申し上げます。牛リンパ腫の国内発生件数は、30 年前の 40 倍以上に急増し、また、リンパ腫発症牛に有効な治療法やワクチンがないことから、大きな経済的損失を余儀なくされている疾患です。今回の支援を受けて得た知見を基に、その病理発生についての理解を深め、この問題の解決に向けてさらに熱心に研究に取り組むたいと考えています。



学生たちとの牛の病理解剖（本学病理解剖場にて）