



X. 病理学からみた感染症診断・研究の魅力

つつみ 堤 ゆたか 寛
Yutaka TSUTSUMI

はじめに

臨床所見や臨床情報の分析とともに、病原体の培養や血清抗体価測定（とくにペア血清検査）といった検査成績が感染症診断の基本中の基本である。最近では、臨床検体からの病原体ゲノムの検出が普及してきている。形をみて判断する病理診断は、悪性腫瘍の分野では絶大な信頼を得ているが、感染症領域ではやや影が薄い感がある。

感染症の病理診断では、肉眼所見、HE染色による組織反応様式の認識、Papanicolaou (Pap) 染色やGiemsa染色による細胞像の把握が肝要である。Gram染色、PAS染色、Grocott染色、Ziehl-Neelsen（抗酸菌）染色といった特殊染色の有用性も忘れてはならない¹⁾。特異抗体を利用した免疫染色（酵素抗体法）や病原体ゲノムに反応するプローブを利用した *in situ* hybridization (ISH) 法、さらに病理標本から抽出した核酸を対象とした polymerase chain reaction (PCR) も利用される²⁾。ウイルスの証明には電子顕微鏡が威力を発揮する。免疫染色におけるさまざまな落とし穴やピットフォールをよく知ることは、この特異的染色法を正しく利用するための基本となる³⁾。

感染症の病理診断が“肉芽腫性炎症”や“膿瘍”にとどまっているようでは、腫瘍の診断を“上皮性悪性腫瘍”とすると同じで、まったく不満足だし、臨床医の評価も高くないだろう。可能な限り、上記手法を応用して、原因となった病原体の証明に努めるべきである。次の2点を考えると、感染症の病理診断は悪性腫瘍のそれと同等に重要である。

①正しい診断が患者の治療に直結する。

②診断結果に「社会性」がある。

数少ない感染症病理医として、私が感染症の病理診断や病理学的研究に感じる魅力を述べさせていただく。HPにさまざまな情報を公開しているので、ぜひ利用してほしい^{4~6)}。教科書的記述も参考にいただければ幸いである^{7, 8)}。

I. 顕微鏡ではじめて診断できる感染症がある！

1. 病理標本で診断された感染症⁹⁾

病理診断で診断された梅毒：B細胞性悪性リンパ腫に対する化学療法後、寛解中の50代男性。発熱とともに頭頸部にびらん性丘疹が多発したため、皮膚再発が疑われて生検が行われた。組織学的に、真皮に高度の形質細胞浸潤と内皮細胞腫大を認めた。*Treponema pallidum* に対する抗血清を利用した免疫染色で、表皮に長らせん菌が多数観察された（図1）。再診時、血清梅毒反応強陽性で、第2期梅毒の診断が確定した。梅毒病変では組織学的に形質細胞浸潤が目立つ点の特徴である。

高度の下痢を訴える20代女性の大腸生検：臨床的に炎症性腸疾患の可能性が疑われた。粘膜の炎症はモザイク状で、炎症が目立つ部位の大腸粘膜表面に桿菌が付着していた（図2）。下痢原性大腸菌である腸管付着性大腸菌あるいは腸管出血性大腸菌による感染症が考えられ、海外渡航歴のないことから、後者と推定された。培養検査で腸管出血性大腸菌 O157, H7 の感染が確定された。

2. 感染症における細胞診の役割^{10～12)}

喀痰細胞診で診断された肺ノカルジア症：潰瘍性大腸炎に対してステロイド治療中の20代男性が発熱、呼吸困難を訴えた。左肺上葉に空洞性病変を認めた。臨床的に真菌症が疑われ、喀痰細胞診が提出された。Pap染色に加えて検討されたGrocott染色で、細長く分岐する糸状菌が観察された(図3)。病歴とあわせ、ノカルジアによる日和見感染が示唆された。その後の培養検査で *Nocardia asteroides* が証明され、サルファ剤投与で病変は治癒した。

クラミジア症の細胞診断：帯下を主訴に来院した30代女性に子宮頸部擦過細胞診が行われた。化生細胞の細胞質に“星雲状封入体”が観察された。同一

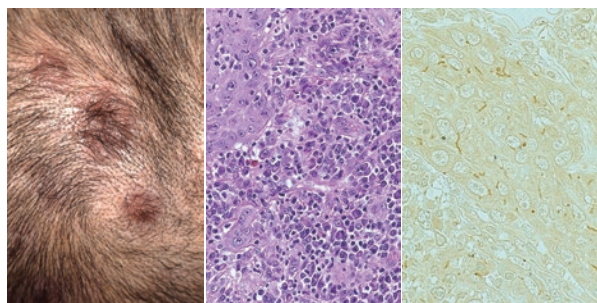


図1 臨床的に疑われなかった梅毒(左：頭部皮疹、中：HE染色、右：*Treponema pallidum* 抗原)

50代男性。悪性リンパ腫の皮膚再発を疑われて、頭頸部のびらん性丘疹より生検された。真皮に高度の形質細胞浸潤と内皮細胞腫大を認め、*Treponema pallidum* 抗血清による免疫染色で、表皮に長らせん菌が多数観察された。

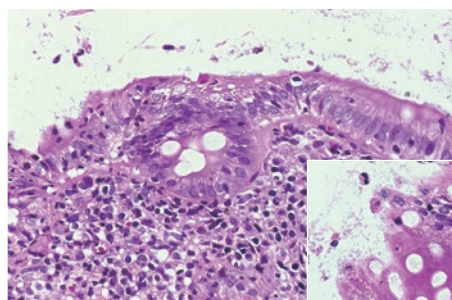


図2 大腸生検が決め手となった腸管出血性大腸菌感染症(大腸生検 HE染色、inset：油浸所見)

20代女性。高度の下痢を主訴に来院。炎症性腸疾患が疑われ、大腸生検が行われた。粘膜にモザイク状の強弱を示す炎症所見あり。炎症の目立つ部位に一致して、粘膜表面への桿菌附着を認める。腸管附着性病原性大腸菌感染と診断。培養で大腸菌 O157, H7 が同定された。

切片を利用して、*Chlamydia trachomatis* に対するモノクローナル抗体による免疫染色が「再染色」された(図4)。クラミジア症の最終診断が確定した。

Ⅱ. パラフィンブロックは情報の宝庫

1. パラフィン切片を利用した組織化学・PCR

免疫染色やISH法は感染症の病理診断に適した方法論である^{2, 13～16)}。病原体抗原・ゲノムはヒト組織に存在しないため、ノイズの少ない組織化学染色が可能である。ISH法では異種核酸である病原体ゲノム(DNA、RNA)を検索対象に選べる。病原体ゲノムはよく研究されており、特異的標識プローブが

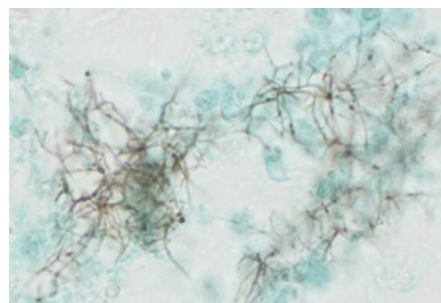


図3 喀痰細胞診で診断された肺ノカルジア症(喀痰細胞診、Grocott染色)

20代男性。潰瘍性大腸炎に対してステロイド治療中。発熱、呼吸困難を訴え、左肺上葉に空洞性病変を認めた。真菌症が疑われ、喀痰細胞診が提出された。Grocott染色で、細長く分岐する糸状菌が観察された。その後、培養検査で *Nocardia asteroides* が証明された。

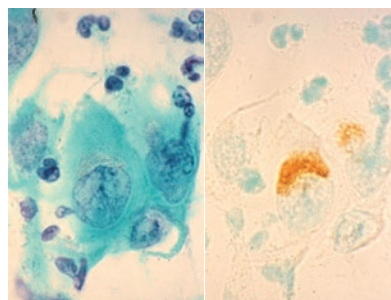


図4 細胞診で確定された膣クラミジア症(左：Pap染色、右：*Chlamydia trachomatis* 抗原)

30代女性。帯下を主訴に来院し、子宮頸部擦過細胞診が行われた。化生細胞の細胞質に“星雲状封入体”が疑われ、同一切片を用いた再染色(モノクローナル抗体による免疫染色)によって、*C. trachomatis* 抗原の局在が確認された。

デザインしやすい。感染病巣には病原体数が多く、組織化学的証明に適している。パラフィン切片から抽出した核酸を利用した PCR 法の有用性も高い。

抗 Bacillus Calmet Guérin (BCG) 家兎血清を利用した結核菌の証明：Ziehl-Neelsen 染色で陰性を呈する陳旧性結核結節においても、免疫染色では高頻度に陽性所見が得られる。泡沫細胞に貪食され、あるいは線維・壊死組織に沈着した菌体成分に抗血清が反応するため、低倍率の観察で陽性・陰性を判断しやすい(図 5)¹⁷⁾。なお、結核菌に対する特異性の高い免疫組織化学的証明には MPT64 抗原が適している¹⁸⁾。

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の組織化学的証明：剖検肺に観察されるグラム陽性球菌感染巣が MRSA 肺炎であることを組織化学的に証明できる¹⁹⁾。ブドウ球菌抗原に対する免疫染色に加えて、黄色ブドウ球菌の 16S RNA や mecA 遺伝子を標的とした ISH 法が応用できる(図 6)。mec A 遺伝子産物である PBP2' (penicillin-binding protein-2') に対するモノクローナル抗体による免疫染色も有用である。

ヒトパピローマウイルス (HPV) の組織化学的証明：HPV 感染症のうち、良性疣贅(イボ)では、HPV capsid 抗原に対する免疫染色で核内封入体が陽性となる。腫瘍原性 HPV による病変(子宮頸部の高度異形成)では capsid 抗原は発現しないため、ISH 法陽性、免疫染色陰性となる。尖圭コンジローマ(性

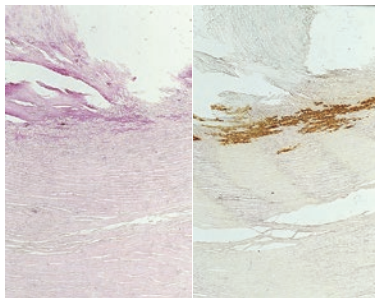


図 5 抗 BCG 家兎血清を利用した結核菌の証明(陳旧性石灰化肺結核病巣、左：HE 染色、右：BCG 抗原に対する免疫染色)

Ziehl-Neelsen 染色陰性の陳旧性石灰化結核結節でも、免疫染色の陽性所見は明瞭である。線維化組織に沈着した菌体成分に抗血清が反応し、低倍率の観察で陽性・陰性を判断しやすい。

病性イボ)では、時間経過とともにウイルス粒子産生が低下し、ウイルスゲノムが episome (裸の DNA) の状態で核内に分布する結果、免疫染色に比して ISH 法の陽性像が優位となる(図 7)²⁰⁾。

歯肉アメーバの偶発的感染(細胞診標本の応用例)：子宮腔内に挿入された避妊具に放線菌感染が生じると帯下を誘発する。この場合、口腔に常在する歯肉アメーバ *Entamoeba gingivalis* が共感染することがある。放線菌とアメーバの感染経路はオーラルセックスである。細胞標本に放線菌顆粒とともにアメーバ原虫が観察された。1 枚しかない細胞標本を「細胞転写法」によって膜状に剥離したのちに DNA を回収し、特異的プライマーペアによる PCR

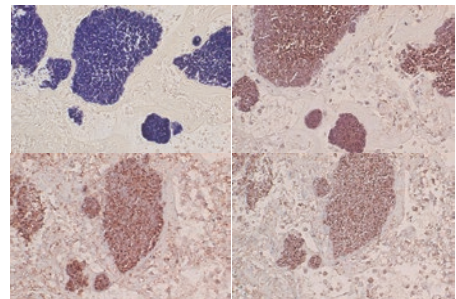


図 6 MRSA 肺炎の組織化学的証明(左上：Gram 染色、右上：ブドウ球菌抗原、左下：黄色ブドウ球菌 16S RNA に対する ISH 法、右下：mec A に対する ISH 法)

免疫染色および ISH 法により、剖検肺に認められたグラム陽性球菌感染巣が MRSA 肺炎と診断された。ブドウ球菌抗原とともに、黄色ブドウ球菌 16S RNA および mec A 遺伝子の発現が観察される。

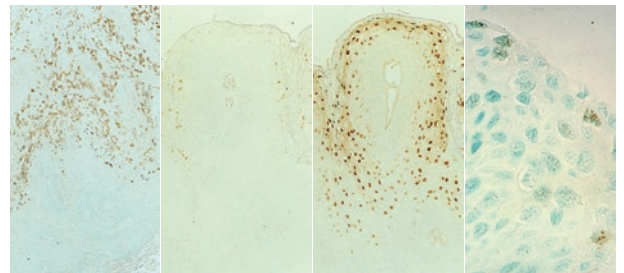


図 7 HPV 感染の組織化学的証明(左：尋常性疣贅における HPV 抗原、中左：尖圭コンジローマにおける HPV 抗原、中右：尖圭コンジローマにおける HPV6/11 ゲノム、右：子宮頸部高度異形成における HPV16/18 ゲノム)

良性のイボでは核内封入体に HPV capsid 抗原が陽性となる。尖圭コンジローマ(性病性イボ)では、免疫染色に比して ISH 法の陽性像が優位となる。高度異形成では腫瘍原性 HPV ゲノムが核内にドット状に陽性となるが、HPV 抗原は陰性である。

解析が行われた。PCR 産物の塩基配列から *E. gingivalis* が確定された (図 8)²¹⁾。

2. パラフィン切片から電子顕微鏡像をさぐる

通常のパラフィン切片を利用した電子顕微鏡観察を紹介する。形態保持の悪さを補う利点として次の諸点があげられる。①材料が豊富で、まれな症例の検討が可能である。②retrospective study に適している。③抗体やプローブの浸透性が高い。④狙い定めた電顕観察が可能である。⑤病原体粒子の構造はパラフィン切片でも比較的安定している。

造血幹細胞移植後に生じた日和見ウイルス感染症：急性リンパ性白血病の 10 歳男児に対して CD34 陽性造血幹細胞移植 (HLA-mismatched) が行われた。1 週後に下痢が生じ、血便となった。3 か月後に、高度の下血によって死亡、剖検となった。剖検時、移植片対宿主病 (GVHD) に加えて、小腸粘膜と膀胱粘膜に核内封入体を認めた。HE 染色では単一ウイルスの全身感染と思われたが、ホルマリン固定パラフィン切片を利用した狙い定めた電顕観察により、アデノウイルス小腸炎と BK ウイルス膀胱炎の併存が確認された (図 9)^{1, 2, 5)}。

クラミジア性副睾丸炎に対する免疫電顕観察：臨床的に副睾丸腫瘍として手術切除されたクラミジア性副睾丸炎である。組織学的に、慢性炎症の目立つ導管上皮に細胞質内封入体が認められ、連続切片で

同部に *Chlamydia trachomatis* 抗原が証明された。この切片に対して、pre-embedding 法による免疫電顕観察を行うと、大小のクラミジア粒子の細胞壁に一致した陽性所見が確認された (図 10)²²⁾。E は基本小体 (感染性粒子)、R は網状小体 (増殖性粒子) である。

HPV の電顕的局在観察：図 7 に示した HPV 抗原・ゲノムの局在をそのまま電顕レベルで観察した。皮膚の尋常性疣贅に対するウイルスカプシド抗原の免疫染色では径 50 ～ 60 nm のウイルス粒子が、尖圭コンジローマ (HPV6/11 型感染症) に対する ISH 法

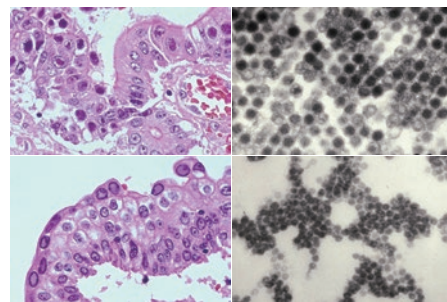


図 9 アデノウイルスと BK ウイルスの重複感染の電顕的証明 (左：HE 染色、右：電顕観察、上：アデノウイルス小腸炎、下：BK ウイルス膀胱炎)

10 歳男児。急性リンパ性白血病に対して CD34 陽性造血幹細胞移植が行われた。3 ヶ月後、高度の消化管出血により死亡。剖検時、小腸粘膜と膀胱粘膜に核内封入体形成を認めた。ホルマリン固定パラフィン切片を利用した狙い定めた電顕観察によって、アデノウイルス小腸炎と BK ウイルス膀胱炎が診断された。

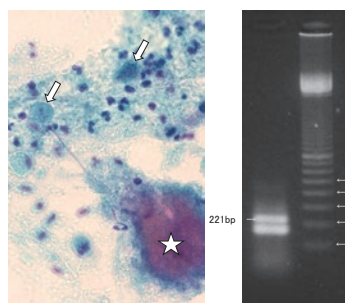


図 8 子宮内膜への歯肉アメーバの偶発的感染 (左：細胞診 Pap 染色、右：細胞転写法で得られた DNA を利用した PCR 解析)

子宮腔内に挿入された避妊具に放線菌が感染し帯下を誘発した。細胞標本で、放線菌顆粒 (☆印) とともに、口腔に常在する歯肉アメーバの共感染が示唆された (矢印)。1 枚しかない細胞標本から「細胞転写法」によって DNA が回収され、PCR 解析が行われた。PCR 産物 (221 bp) の塩基配列から *Entamoeba gingivalis* 感染が確定された (Sense primer 5'-tcagataccgtcgtagtctct-3', antisense primer 5'-cctggtgtgccttcctg-3')。

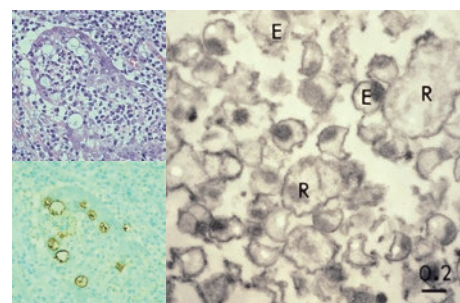


図 10 クラミジア性副睾丸炎に対する免疫電顕観察 (左上：HE 染色、左下：*Chlamydia trachomatis* 抗原、右：パラフィン切片を利用した免疫電顕観察)。

慢性炎症の目立つ導管上皮に細胞質内封入体を認め、連続切片で同部に *C. trachomatis* 抗原が証明された。この切片に対して、免疫電顕観察 (pre-embedding 法) を行うと、クラミジア粒子の細胞壁に一致した陽性像が得られた (E：感染性粒子である基本小体、R：増殖性粒子である網状小体)。

では径 20 nm のエピゾーム粒子 (ウイルス抗原を欠く DNA 粒子) が、高度異形成 (HPV16/18 型感染症) に対する ISH 法では核クロマチンに一致した局所的 (ドット状) の陽性像 (宿主ゲノムに取り込まれた所見) がそれぞれ観察された (図 11)²⁰⁾。

Ⅲ. 特異性より感度を求める免疫染色の応用

1. 抗細菌抗血清が有する広い交差反応性を 利用した病原体の存在診断

感染症を強く疑うが、臨床情報が乏しく、あるいは病原体の推測が困難な事例にときに遭遇する。こうした場合、病原体に対する市販抗血清による免疫染色が有用である。筆者は、抗 BCG (DAKO 社)、抗大腸菌 (DAKO 社)、抗梅毒トレポネーマ (Biocare 社) および抗セレウス菌 (Abcam 社) の 4 種を愛用している。これら抗血清の特異性は低く、さまざまな細菌類に交差反応する可能性が高い。しかも、ヒトの組織成分に反応しないため、炎症性病変における病原体の「存在診断」が可能となる。言い換えれば、免疫染色のいのちともいえる特異性を追究するのではなく、感度を優先的に利用する考え方である^{3, 23)}。病原体の存在診断が感染症の病理診断の第一歩となる。

マラコプラキアにおける病原体の証明：膀胱、大

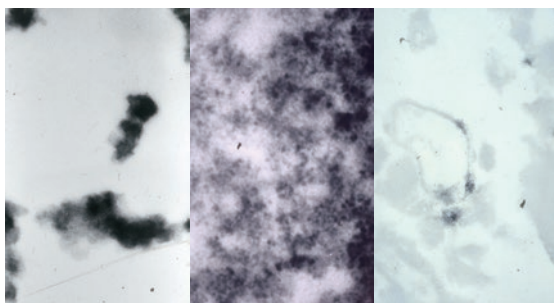


図 11 パラフィン切片を利用した HPV 抗原およびゲノムの電顕的局在観察 (左：尋常性疣贅における HPV 抗原、中：尖圭コンジローマにおける HPV6/11 ゲノム、右：子宮頸部高度異形成における HPV16/18 ゲノム)

図 7 に示した HPV 抗原・ゲノムの局在をそのまま電顕レベルで観察した。尋常性疣贅に対する免疫染色では径 50 ～ 60 nm のウイルス粒子、尖圭コンジローマに対する ISH 法では径 20 nm のエピゾーム粒子 (ウイルス抗原を欠く DNA 粒子)、高度異形成に対する ISH 法では核クロマチンに一致した局所的 (ドット状) の陽性像 (宿主ゲノムに取り込まれた所見) が観察される。

腸や胆嚢にみられる隆起性多発病変は大腸菌を主体とする腸内細菌感染症で、泡沫状マクロファージを主体とする黄色肉芽腫性炎症を呈する。泡沫細胞の細胞質に大腸菌抗血清に反応する病原体が証明できる (図 12)²⁴⁾。

肉芽腫性乳腺炎における病原体の証明：肉芽腫性乳腺炎は脂肪好性のグラム陽性桿菌 *Corynebacterium kroppenstedtii* を原因菌とする授乳後感染症である。膿瘍性病変の脂肪滴や食細胞の細胞質に、梅毒トレポネーマ抗血清ならびに BCG 抗血清に反応する病原体が認められる (図 13)。特徴的な病変に一致して陽性を呈することから、原因菌が可視化されていると判断される。特異性は、パラフィン切片から抽出した DNA を鋳型とした PCR 法で確認された^{2, 23)}。

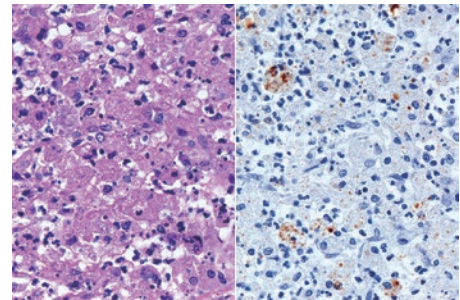


図 12 膀胱マラコプラキアにおける病原体の証明 (左：HE 染色、右：大腸菌抗原に対する免疫染色)

膀胱粘膜の柔らかい隆起性病変に、泡沫細胞を主体とする黄色肉芽腫が形成されている。免疫染色で、大腸菌抗原が泡沫細胞の細胞質に証明される。

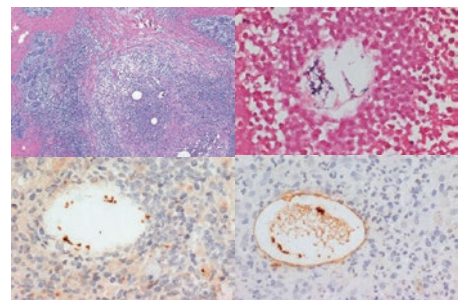


図 13 肉芽腫性乳腺炎における病原体の証明 (左上：HE 染色、右上：Gram 染色、左下：Treponema pallidum 抗原、右下：BCG 抗原)

肉芽腫性乳腺炎は脂肪好性のグラム陽性桿菌 *Corynebacterium kroppenstedtii* による授乳後乳腺感染症である。脂肪滴中心性の膿瘍性病変が特徴的である。免疫染色で、脂肪滴中心性の食細胞の細胞質に梅毒トレポネーマ抗血清や BCG 抗血清に反応する病原体が観察される。

百日咳肺炎における病原体の証明：百日咳はときに重症化して小児の死亡につながる。百日咳の剖検肺を上記抗血清で免疫染色すると、BCG 抗血清とセレウス菌抗血清に反応する細菌が食細胞に多数貪食されている様子が観察される (図 14)²⁵⁾。

2. 患者血清を利用した免疫染色による病変内病原体の可視化

患者血清中の病原体に対する特異抗体をパラフィン切片に眠る病原体の証明に利用できる^{3, 23, 26, 27)}。とくに、膿瘍、肉芽腫などの生体反応が病理組織学的に確認される場合は、患者血中に高力価の特異抗体が存在するとみなされる。患者血清は 500 ～ 1,000 倍希釈で使用できる。患者自身の病変のみならず、他の患者から採取された病変にも利用できる。組織内の内在性 IgG による背景染色を避ける目的で、酵素抗体法間接法が選ばれる。原則として、標本の前処理は不要である。免疫不全状態における日和見感染では、抗体価が上昇しにくい。

市販抗体の入手しにくい感染症、リーシュマニア (皮膚型、内臓型)、赤痢アメーバ、アカントアメーバ、トキソプラズマ、クリプトスポリジウム、イソスポーラ、プラストシスティスといった原虫、ならびに回虫、顎口虫、広東住血線虫、ビルハルツ住血吸虫、有鉤囊虫といった蠕虫類の感染症において、本法の有用性は格別である (特異性がある程度期待できる)。ツツガムシ病、ネコひっかき病 (バルトネラ症)、ブドウ球菌性膿皮症や各種真菌症 (クリプトコッカス、スポロトリックス、癭風菌など) で

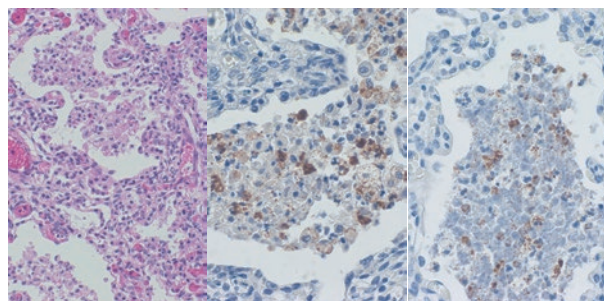


図 14 百日咳肺炎における病原体の証明 (左：HE 染色、中：BCG 抗原、右：Bacillus cereus 抗原)

百日咳はときに重症化して小児の死亡につながる。百日咳の剖検肺を BCG 抗血清やセレウス菌抗血清で免疫染色すると、百日咳菌と思われる細菌が食細胞に多数貪食されていることが示される。

も病原体の可視化に応用できるが、患者血清の病原体特異性は低い。バイオハザード防止の観点から、B 型・C 型肝炎ウイルス、HIV、HTLV キャリア血清の使用は避けねばならない。

患者血清を利用する免疫染色では、特異性を求める場合と病原体の可視化を目的とする場合 (特異性が不明) がある。臨床的、疫学的あるいは他の検査で診断が確定している患者血清を用いるときは、当該感染症の病原体を病変内に証明することが目的となる。一方、感染症の診断がついていない場合、当然、血清のもつ特異性は不明である。膿瘍や肉芽腫を有する病理標本に対して、この患者血清を利用した免疫染色を行うと、病変内に病原体が可視化される。そして、その分布や大きさ・形から病原体の質が推測できる。つまり、特異性を犠牲にして感度を求める免疫染色といえる。

内臓型リーシュマニア症：インド在住の 30 代男性ビジネスマンが、頭痛、高熱、血小板減少 (DIC)、肝機能障害を訴えて帰国・来院した。肝生検では肝実質に類上皮細胞肉芽腫が形成され、組織学的に Q 熱、ブルセラ症、非結核性抗酸菌症などが疑われた。患者血清 (500 倍希釈) を利用した酵素抗体法間接法で、肉芽腫を構成するマクロファージに貪食された原虫大の病原体に一致した陽性所見が観察され、組織学的に内臓型リーシュマニア症 (Kala Azar) が強く疑われた (図 15)。血清抗体価も高値だった。本例は重症例で、一刻も早い診断確定が求められた。

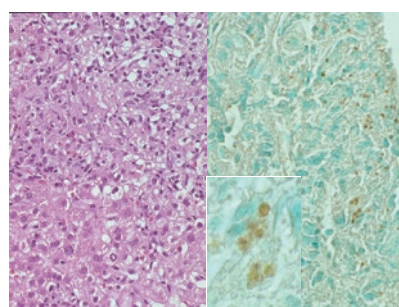


図 15 患者血清を利用した内臓型リーシュマニア症の病理診断 (左：HE 染色、右：患者血清による免疫染色、inset：高倍像)

30 代男性。インド滞在中に、頭痛、高熱、血小板減少 (DIC)、肝機能障害を訴えて帰国・来院。肝生検で肝実質に類上皮細胞肉芽腫を認めた。希釈患者血清を利用した酵素抗体法間接法で、肉芽腫病変内に原虫に一致した陽性所見が観察され、内臓型リーシュマニア症 (Kala Azar) が強く疑われた。その後、血清抗体価の高値が確認された。

アンチモン剤投与で患者の容態は著しく改善した。患者血清による免疫染色の有用性が最大限に発揮された事例といえる²⁸⁾。

アカントアメーバ脳炎：アルコール性肝硬変を有する60代男性にみられたアカントアメーバ脳炎例を示す。左片麻痺が悪化し、CTで右半球に多発性低吸収域と脳腫脹を認めた。減圧開頭術と脳生検が施行された（血清HIV抗体は陰性）。生検脳組織には血管周囲性に慢性炎症所見が目立ち、血管周囲性に見マクロファージに似たアメーバ栄養体と嚢子が観察された。患者血清（500倍希釈）を用いた酵素抗体法間接法で、原虫体に一致した陽性像が得られた（図16）。*Acanthamoeba culbertsoni* マウス抗血清でも陽性、*A. polyphaga*、*A. castellani* 抗原は陰性だった。*A. culbertsoni* に対する血清抗体価が高値だった。以上より、*A. culbertsoni* による日和見脳炎が確定された²⁹⁾。

IV. 感染症の古病理学

パラフィンブロックやホルマリン固定材料をいつまで保存するかは大きな課題の一つである。通常の医療施設では、保存スペースが限られており、しかも保存標本を再利用する機会は減多にない。少なくともホルマリン固定臓器は一定期間保存されたあと焼却処分されるし、施設によっては、ガラス標本や

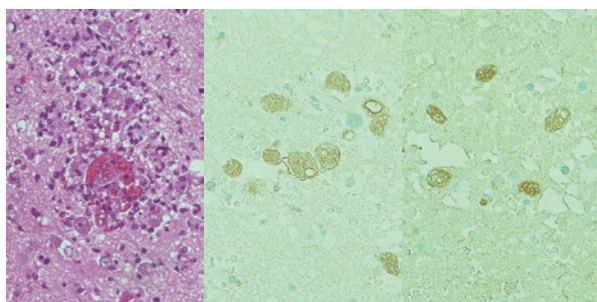


図16 患者血清を利用したアカントアメーバ脳炎の病理診断（左：HE染色、中：患者血清による免疫染色、右：*Acanthamoeba culbertsoni* マウス血清による免疫染色）

60代男性。アルコール性肝硬変の経過中に左片麻痺が悪化。減圧開頭術と脳生検が施行された。生検脳組織の血管周囲に慢性炎症所見とアメーバ感染（栄養体と嚢子）を認めた。希釈患者血清を用いた酵素抗体法間接法で、原虫体に一致した陽性像が得られ、同部は*A. culbertsoni* マウス抗血清にも反応した。

パラフィンブロックも焼却処分せざるを得ないのが実情である³⁰⁾。ここでは、長期間固定液中に保存された標本から追加切り出しを行った標本を利用した古病理学 archival pathology の有用性を示し、標本保存の重要性を訴えたい。

1. Thomas Hodgkin が解剖したホジキン病

1997年9月、英国ロンドンにあるGuys病院のGordon Museumを訪れた。この病理博物館にはThomas Hodgkin（初代館長）が約180年前に解剖したホジキン病の臓器が展示されている。病理解剖は当時、最も重要な疾病の研究手段だった。顕微鏡はまだ実用されず、すべて肉眼解剖だった。Hodgkinはリンパ節と脾臓の腫れる致死性疾患として、1826～30年に実施された7例の病理解剖例を発表した。そのうち3例の標本が展示されている。この臓器は80年間アルコール固定されたのち、ホルマリン液へと移された。訪問の際、筆者は3例それぞれの未染色標本を1枚ずつ頂戴した。この宝物標本に対して、HE染色のあと、Hodgkin病のマーカーであるCD15とEBER1（EBウイルス関連核内小型RNA）を染色した。1枚の標本から複数の染色を実施するには「細胞転写法」³¹⁾を用いた。結果、2例のHodgkin病標本にみごと陽性像が得られた（1例は非Hodgkinリンパ腫で陰性）³²⁾。肝病変におけるCD15とEBER1の陽性所見を図17に示す。

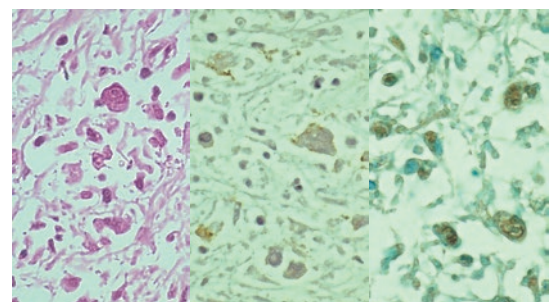


図17 170年前にThomas Hodgkinが解剖したホジキン病の肝病変におけるCD15とEBER1陽性像（左：HE染色、中：CD15、右：EBER1）

1枚しかない標本に対して、HE染色のあと、「細胞転写法」によって複数の標本に分け、CD15に対する免疫染色とEBER1（Epstein-Barrウイルス関連核内小型RNA）に対するISH法を実施した。ホジキン細胞・Reed-Sternberg巨細胞に、長期固定に耐えたCD15とEBER1の陽性所見が確認された（それぞれ、細胞膜と核に陽性）。

2. C型肝炎ウイルスはすでに明治期の日本にあった！

RNAウイルスであるC型肝炎ウイルス(HCV)のゲノムもパラフィン切片から証明できる。長期間ホルマリン固定された肝硬変症例のパラフィン切片から抽出したtotal RNAからcDNAを逆転写し、これを鋳型にnested PCRを実施した(標的はC型肝炎ウイルスゲノムのC領域)。B型肝炎ウイルス(HBV)に対してはHBs抗原の免疫染色を加えた。九州大学医学部に保存されていた肝硬変の剖検組織10例(明治40年～大正3年)を対象とした。HBs抗原は8例に陽性、HCVゲノムは2例に証明された(図18)。HCVゲノムはともに1b型で、2例ともHBVとHCVの重複感染を示した。最古のC型肝炎症例は、明治42年(1909年)の剖検例だった³³⁾。

3. 長期ホルマリン固定標本を利用した免疫染色による病態解析

筆者は昭和15年から10年ほどにわたる剖検例の検索をする機会に恵まれた。ホルマリン固定期間は60～70年に及んだ。結核、化膿性髄膜炎、大葉性肺炎やウイルス性肝炎といった感染症の死亡例が多かった。長期ホルマリン固定に耐えて証明できた抗原たちを紹介する。①大葉性肺炎における肺炎球菌抗原(図19)、②肝硬変におけるHCV抗原(図

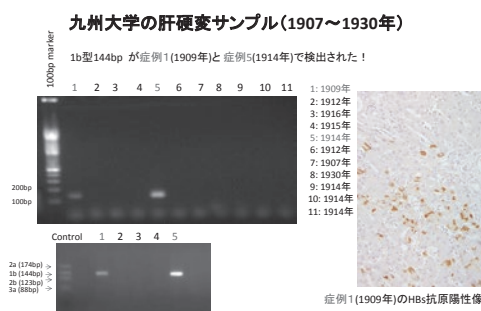


図18 100年以上にわたって九州大学医学部に保存されていた肝硬変の剖検肝(11例)におけるHBs抗原とC型肝炎ウイルス(HCV)ゲノムの証明(ウイルスゲノムのC領域を対象としたnested reverse transcription PCR解析結果、右:HBs抗原免疫染色)

長期固定に耐えて、HBs抗原は8例に陽性、HCVゲノムは2例に証明された。HCVゲノムはともに1b型で、2例ともHBVとHCVの重複感染を示した。最古のC型肝炎症例は、明治42年(1909年)の剖検例だった。

20)、③続発性全身性アミロイドーシスにおけるアミロイドA蛋白(図21)³⁾。このほか、血液型物質や免疫グロブリンの抗原性も保存されていた。病理臓器保存の大切さが改めて実感された。

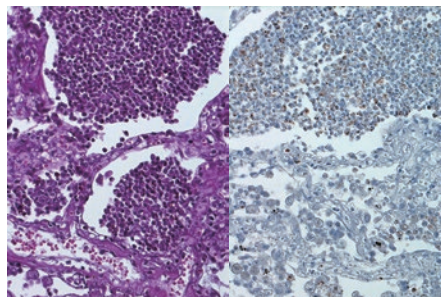


図19 60～70年間ホルマリン固定された標本を利用した免疫染色Ⅰ:大葉性肺炎における肺炎球菌抗原(左:HE染色、右:肺炎球菌抗原)

肺胞内に好中球がびまん性に浸潤している。好中球の細胞質内に肺炎球菌抗原が観察される。

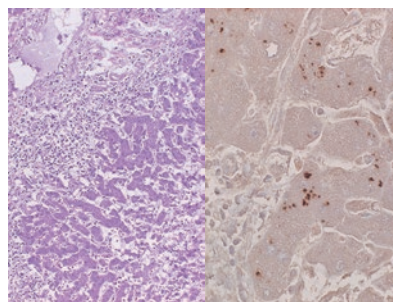


図20 60～70年間ホルマリン固定された標本を利用した免疫染色Ⅱ:肝硬変におけるHCV抗原の局在(左:HE染色、右:HCVのNS3抗原)

肝硬変を伴う肝細胞の細胞質に、ドット状のHCV抗原陽性所見が確認される。

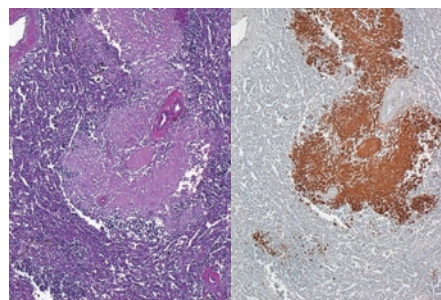


図21 60～70年間ホルマリン固定された標本を利用した免疫染色Ⅲ:続発性全身性アミロイドーシスにおけるアミロイドA蛋白(左:HE染色、右:アミロイドA蛋白)

脾臓の白脾髄に沈着するアミロイドにアミロイドA蛋白の免疫反応性が証明される。

V. 病原体の顕微鏡画像のアートとしての美しさ

日々病理診断に携わっていると、病理標本のアートとしての美しさにため息のでる機会が少なくない。無条件に美しいと（病理画像に魅せられた）筆者が感じる病理画像を4点お目にかけたい。余分な説明は無用だろう。

- a) エキノコックス症（単包虫症）における胞囊壁（Grocott 染色）（図 22）
- b) 小腸アニサキス症（HE 染色）（図 23）
- c) 細胞標本に混入したアルテルナリア（黒色真菌の一種）（Giemsa 染色）（図 24）
- d) サイトメガロウイルス（細胞質内のビリオン、電子顕微鏡像）（図 25）

最近、感染症画像を利用した「ポーセラーツ」に挑戦し始めている。ポーセラーツ（porcelain：磁器

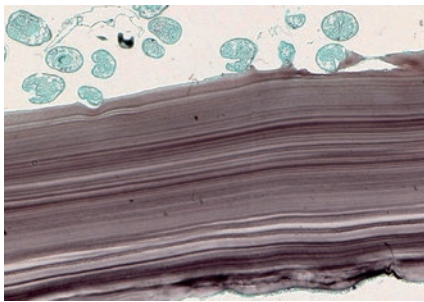


図 22 単包性エキノコックス症の胞囊壁
Grocott 染色像

肝臓病変にみられる胞囊壁の美しい重層構造と条虫の幼虫である原頭節を示す。



図 23 小腸アニサキス症の HE 染色像

アニサキス幼虫の断面で、体表を覆う角皮とその内側の筋細胞、双葉状に突出する側索、高円柱上皮よりなる消化管、好酸性の目立つレネット細胞が観察される。

と art：芸術を組み合わせた造語）は白い器にシール感覚で使える転写紙を切り貼りして皿やカップなどのテーブルウェアをつくるクラフトである。図 26 に作品の一例を示す。

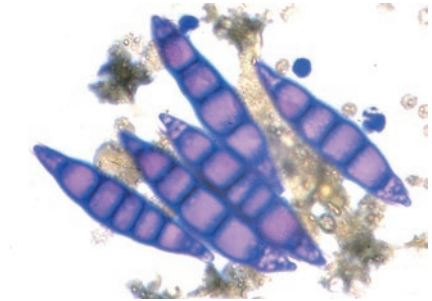


図 24 アルテルナリアの Giemsa 染色像

アルテルナリアは空気中を漂う非病原性黒色真菌である。細胞標本に混入したアルテルナリアの分生子を示す。

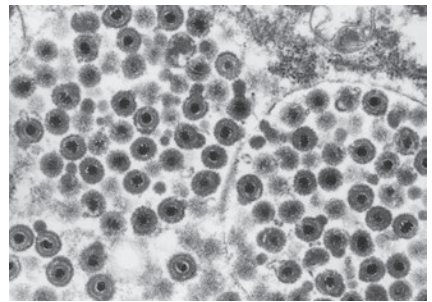


図 25 サイトメガロウイルスの電子顕微鏡像

Ⅱ型肺胞上皮の細胞質にビリオンが形成されている。ビリオンは直径 180 nm の球状粒子で、正 20 面体のカプシドがエンベロープに包まれている。



図 26 ポーセラーツ（病原体画像を貼りつけたマグカップたち：左から、膀胱マラコプラキア PAS 染色、単純ヘルペス外陰炎 Pap 染色、トキソプラズマ筋炎 Pap 染色、胆汁中のフィラメント化した腸内細菌 Pap 染色）

ポーセラーツは、白い器にシール感覚で使える転写紙を切り貼りするクラフトである。病理画像をアート素材として利用できる（と信じている）。<https://www.withness.info/>

おわりに

病理学の基本は形態学にある。病理学的な顕微鏡観察にはさまざまな染色技法が用いられる。日常業務で得られるふつうの病理標本を利用して、付加価値の高い診断や形態学的研究が実施できる。形や色の変化を自然界のアートとして楽しめる魅力の側面もぜひ強調したい。病理標本は情報の宝庫である。パラフィンブロックさえ保存されていれば、いつでもどこでも、新たな科学とアートが始められる。いや、長期保存されたホルマリン固定臓器もさまざまな解析に利用できる。そんな病理学の強みを改めて認識し、興味をもっていただけたら幸いである。

文 献

- 1) 堤寛. 感染症の病理診断に用いられる特殊染色、化学療法領域 2017; **33**: 2110-2123.
- 2) 堤寛. 病理標本に眠る病原体の特異的証明法. 化学療法領域 2017; **33**: 2272-2290.
- 3) 堤寛. 免疫組織化学総論: 検体処理・染色にあたっての注意点. 胃と腸 2017; **52**: 973-987.
- 4) 堤寛. 感染症病理アトラス. 文光堂、東京、2000(全349ページ、復刻版あり).
<http://pathos223.com/atlas/index>
http://pathos223.com/atlas2017/book/index.html#target/page_no=1
- 5) Tsutsumi Y. Pathology of Infectious Diseases. 2004
<http://pathos223.com/en>
- 6) Tsutsumi Y. Pathology of Skin Infections (Nova Bioscience, New York, 2013
[http://pathos223.com/bookintroduction/pathology_of_skin_infectious.html\(password:333540\)](http://pathos223.com/bookintroduction/pathology_of_skin_infectious.html(password:333540)))
- 7) 堤寛. 感染症. 「器官病理学第14版」(笹野公伸ほか、編), pp. 131-160, 南江堂、東京、2013.
- 8) 堤寛. 感染症. 組織病理アトラス(小田義直ほか、編), pp. 497-523, 文光堂、東京、2015.4.
- 9) 堤寛. 感染症の病理診断の意義. 臨床的に疑われなかった感染症. 化学療法領域 2017; **33**: 1335-1344.
- 10) 堤寛. 細胞診でみつける病原体. 病理と臨床 2002; **20**(臨時増刊): 56-68.
- 11) 堤寛. 感染症の細胞診断. 病理と臨床 2010; **28**: 409-419.
- 12) 堤寛. 感染性疾患. 病理と臨床 2013; **31**(臨時増刊: 細胞診の基本から実践へ): 390-404.
- 13) 堤寛. 病理標本における病原体の検出. 病理と臨床 2003; **21**(臨時増刊): 74-91.
- 14) 堤寛、下村龍一. *In situ* hybridization法を利用した細菌感染症の病理診断. 検査と技術 2005; **33**: 849-856.
- 15) 堤寛. 感染症における病理診断の役割. 病理と臨床 2010; **28**: 360-366.
- 16) 堤寛. 感染症の病理診断. 第2回いむーのセミナー(神戸免疫組織診断セミナー) 2013; 96-124.
- 17) 川井健司、堤寛. 酵素抗体法による抗酸菌同定の試み: 従来の抗酸菌染色との比較. 病理と臨床 1984; **2**: 862-867.
- 18) Mustafa T, Wiker HG, Mfinanga SGM, Morkve O, Sviiland L. Immunohistochemistry using a *Mycobacterium tuberculosis* complex specific antibody for improved diagnosis of tuberculous lymphadenitis. Mod Pathol 2006; **19**: 1606-1614.
- 19) Shimomura R, Tsutsumi Y. Histochemical identification of Methicillin-resistant-*Staphylococcus aureus*: contribution to preventing nosocomial infection. Seminar Diagnost Pathol 2007; **24**: 217-226.
- 20) Tsutsumi Y, Kawai K, Hori S, Osamura RY: Ultrastructural visualization of human papillomavirus DNA in verrucous and precancerous squamous lesions. Acta Pathol Jpn 1991; **41**: 757-762.
- 21) 堤寛. 1枚しかないパラフィン切片や細胞標本の有効活用. 病理と臨床 2004; **22**: 1291-1297.
- 22) Hori S, Tsutsumi Y. Histologic differentiation between chlamydial and bacterial epididymitis: Nondestructive and proliferative versus destructive and abscess-forming. Immunohistochemical and clinicopathological findings. Hum Pathol 1995; **26**: 402-407.
- 23) 堤寛. 感染症(細菌、真菌、原虫). 病理と臨床 2014; **32**(臨時増刊): 306-319.
- 24) 堤寛. マラコプラキアと膀胱. 病理と臨床 2010; **28**(臨時増刊): 228-229.
- 25) 堤寛. 呼吸器感染症の病理. 最新医学別冊、診断と治療のABC「呼吸器感染症」 2017; **129**: 29-56.
- 26) Tsutsumi Y, Kawai K, Nagakura K: Use of patients' sera for immunoperoxidase demonstration of infectious agents in paraffin sections. Acta Pathol Jpn 1991; **41**: 673-679.
- 27) Tsutsumi Y. Histopathological diagnosis of infectious diseases using patients' sera. Semin Diagnost Pathol 2007; **24**: 243-252.
- 28) 堤寛. 劇症型感染症の病理. 法医病理 2010; **16**: 69-82.
- 29) Tsutsumi Y, Tachibana H, Azuma S, Ariwa R. Acanthamoebic meningoencephalitis associated with alcoholic liver cirrhosis. Pathol Case Review 2002; **7**: 273-277.
- 30) 堤寛. 病理臓器をめぐる諸問題. 病理と臨床 2005; **23**: 765-773.
- 31) 伊藤仁、宮嶋葉子、長村義之、堤寛. 迅速細胞転写法の検討. 日本臨床細胞学会雑誌 2002; **41**: 302-303.
- 32) Tsutsumi Y. Demonstration of Epstein-Barr virus genome in archival paraffin sections of Hodgkin's lymphoma autopsied by Thomas Hodgkin nearly 170 years ago. Acta Histochem Cytochem 2003; **36**: 511-514.
- 33) 堤寛. C型肝炎ウイルスはいつから日本に存在したか? 第106回日本病理学会総会抄録集 2017; 3-G-4(一般口演 55).