症 例

気管支鏡下吸引痰細胞診で推定しえた肺胞蛋白症の 1 例

田島 秀昭¹⁾ 荒川 文子¹⁾ 齋藤 広樹¹⁾ 村田 行則²⁾
石井 幸雄³⁾ 當銘 良也¹⁾ 石田 剛¹⁾

独立行政法人国立国際医療研究センター国府台病院中央検査部¹⁾,
独立行政法人国立国際医療研究センター病院中央検査部²⁾,
独立行政法人国立病院機構東埼玉病院臨床検査科³⁾

背景：肺胞蛋白症（PAP）は、肺胞を中心とした気腔内にサーファクタントが異常貯留する比較的まれな疾患である。気管支鏡下吸引痰と気管支肺胞洗浄液（BALF）中に特徴的な微細顆粒状構造物と無構造物質を認めた PAP の 1 例を経験したので報告する。

症例：46 歳，女性。左乳房腫瘍精査の際，胸部 CT で異常陰影を指摘され検査入院となった。気管支鏡下吸引痰細胞診で，微細顆粒状構造物や無構造物質を少量認め，PAP が疑われたが確定診断にはいたらなかった。後日，気管支肺胞洗浄が行われ，乳白色の液を回収した。BALF 細胞診では，ライトグリーンに染まる微細顆粒状構造物を背景に，オレンジ G およびライトグリーンに染まる大小さまざまな無構造物質が無数に認められた。その内部構造は均一で層状構造は認めなかった。また，無構造物質を貪食したマクロファージや泡沫状細胞質の大型マクロファージが観察された。微細顆粒状物質および無構造物質は PAS 反応陽性であった。経気管支肺生検にて，組織学的に PAP と診断された。

結論：気管支鏡下吸引痰細胞診でも，微細顆粒状構造物や無構造物質などの非細胞成分に注意を払い，画像所見や臨床情報を加味することで，BALF 細胞診と同様，PAP の確定診断をすることができると考えられた。

Key words : Pulmonary alveolar proteinosis, Cytology, Bronchoalveolar lavage fluid, Case report

I. はじめに

A case of pulmonary alveolar proteinosis with a presumptive diagnosis made based on cytology

Hideaki TAJIMA¹⁾, C. T., I. A. C., Ayako ARAKAWA¹⁾, C. T., I. A. C., Hiroki SAITHO¹⁾, C. T., I. A. C., Yukinori MURATA²⁾, C. T., I. A. C., Yukio ISHII³⁾, C. T., I. A. C., Yoshiya TOME¹⁾, C. T., I. A. C., Tsuyoshi ISHIDA¹⁾, M. D.

¹⁾Department of Pathology and Laboratory Medicine, National Center for Global Health and Medicine, Kohnodai Hospital

²⁾Department of Pathology and Laboratory Medicine, National Center for Global Health and Medicine, Center Hospital

³⁾Department of Pathology and Laboratory Medicine, National Hospital Organization East-Saitama Hospital

論文別刷請求先 〒272-8516 千葉県市川市国府台 1 の 7 の 1 独立行政法人国立国際医療研究センター国府台病院中央検査部 田島秀昭

平成 24 年 6 月 13 日受付

平成 24 年 11 月 15 日受理

肺胞蛋白症（pulmonary alveolar proteinosis：以下，PAP）は，1958 年に Rosen ら¹⁾により初めて報告された比較的まれな疾患で，肺胞を中心とした気腔内にサーファクタントが異常貯留する疾患である。PAP の診断には気管支肺胞洗浄液（bronchoalveolar lavage fluid：以下，BALF）が有用であるとされている²⁾。

BALF と気管支鏡下吸引痰中に特徴的な微細顆粒状構造物と無構造物質を認めた PAP の 1 例を経験したので，その細胞像を中心に若干の文献的考察を加えて報告する。

II. 症 例

患 者：46 歳，女性。

Photo. 1 Chest computed tomography (CT) shows reticulation and ground-glass opacities forming a crazy paving pattern with a geographic distribution.

主 訴：胸部異常陰影，咳嗽，左乳房腫瘍。

既往歴：特記すべきことなし。

職業歴：無職。

喫煙歴：なし。

現病歴および経過：3 ヶ月前に触知した左乳房腫瘍の精査の際，胸部単純 X 線で上肺野および下肺野を中心に，網状～微細斑点状の陰影が認められた．また胸部 computed tomography (CT) で，地図状のすりガラス陰影 (ground-glass opacity) と，内部の小葉間隔壁の肥厚を認める crazy paving appearance (Photo. 1) を指摘され，臨床的に PAP や lipid pneumonia，乳癌の転移等が疑われ検査入院となった．入院後，気管支鏡下吸引痰細胞診が提出されたが悪性所見はみられず，PAP が疑われたが確定診断にはいたらなかった．後日，右肺上葉の気管支肺胞洗浄が行われ，乳白色の液を回収した．同時に経気管支肺生検 (transbronchial lung biopsy：以下，TBLB) が施行された．なお左乳房腫瘍は針生検の結果，粘液癌と診断された．

入院時検査所見：血液検査では，KL-6：804 U/ml (基準値 500 U/ml 未満)，CEA：88.5 ng/ml (基準値 5 ng/ml 未満) と高値を示した．BALF 中の血球分画ではリンパ球が 51.0% と優位な増加を認めた．室内気吸入下での動脈血ガス分析では，pH 7.418，PO₂ 50.4 mmHg，PCO₂ 41.0 mmHg，BE 1.3 mEq/l であった．

細菌検査では気管支鏡下吸引痰の培養検査が行われ，*Staphylococcus aureus* のみ検出された．polymerase chain reaction (PCR) 法による *Mycobacterium tuberculosis* および *Mycobacterium avium complex* の抗酸菌遺伝子検査はともに陰性であった．

Photo. 2 Cytological findings of sputum taken by aspiration in TBLB. (a) Finely granular materials (Pap. staining, × 20), and (b) amorphous material (Pap. staining, × 40) can be seen.

III. 細胞学的所見

気管支鏡下吸引痰細胞診所見：粘液性背景の一部に微細顆粒状構造物を認め，無構造物質が少量出現していた (Photo. 2)．悪性所見はみられなかった．

BALF 細胞診所見：提出された BALF は乳白色を呈していた．遠心分離後に，淡黄白色の沈渣をすり合わせ法にて標本作製した．Papanicolaou (Pap.) 染色において，ライトグリーンに染まる微細顆粒状構造物を背景に，20～100 μm 大のオレンジ G およびライトグリーンに染まるさまざまな無構造物質が無数に認められた．その内部構造は均一で層状構造は認めなかった (Photo. 3)．また，無構造物質を貪食したマクロファージ (Photo. 4)，泡沫状細胞

Photo. 3 Globular amorphous materials are stained with Orange G and light-green and foamy alveolar macrophages can be noted (Pap. staining, $\times 20$).

a

b

Photo. 4 Alveolar macrophages are seen (a) Containing globular amorphous material (Pap. staining, $\times 40$) ; and (b) intracellular granular materials are positive for Oil red O staining ($\times 40$).

質を有する大型マクロファージや核が濃縮した異型のない気管支線毛円柱上皮が少数観察された。顆粒状物質および無構造物質は Periodic acid Schiff (PAS) 反応陽性 (Photo. 5) で、Oil red O 染色は陰性であった。マクロファージの細胞質内には顆粒状ないし滴状の Oil red O 染色陽性物質を認めた (Photo. 4)。

IV. 病理組織学的所見

TBLB で採取された末梢肺組織では、肺胞中隔にはほとんど変化はなく、一部の肺胞腔内に好酸性顆粒状物質を認めた (Photo. 6)。それらは PAS 反応陽性、diastase 抵抗性であり、Alcian Blue 染色は陰性であった (Photo. 6)。泡沫細胞は目立たず、コレステリン結晶や異型細胞はみられなかった。Grocott 染色で菌体は認められなかった。以上の所見から PAP と診断された。また抗 carcinoembryonic antigen

a

b

Photo. 5 Globular amorphous materials (a) and granular materials (b) are positive for PAS reaction (a, $\times 40$, b, $\times 20$).

Photo. 6 Histological findings of a TB�B specimen. Alveoli are filled with granular and amorphous eosinophilic materials. These materials are positive for PAS reaction and diastase-resistant, but negative for Alcian blue staining.
(a) HE staining. (b) PAS reaction. (c) PAS reaction after digestion with diastase. (d) Alcian blue staining. (e) Immunohistochemical findings. Granular materials are positive for CEA (a, b, c, d, e, $\times 20$).

(CEA) 抗体を用いた免疫組織化学的染色で、好酸性顆粒状物質は陽性を示した (Photo. 6)。

V. 考 察

PAP は肺胞を中心とした末梢気腔内にサーファクタントが異常貯留する比較的まれな疾患である。現在では発症機序や病態の解明が進み、PAP は次の 3 型に分類されている。すなわち、新生児に発症する先天性 PAP、血液疾患や感染症などの基礎疾患を有する場合や粉塵暴露、喫煙に起因する続発性 PAP、明らかな基礎疾患を有さない特発性 PAP の 3 型である³⁾。PAP の約 90% は特発性 PAP であり、その血清中に肺胞マクロファージ活性化因子である granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) に対する自己抗体 (抗 GM-CSF 抗体) が存在することから、特発性 PAP は自己免疫疾患と考えられている⁴⁾。本例は抗 GM-CSF 抗体は測定していないが、成人であること、血液疾患や感染症などの明らかな基礎疾患や喫煙歴がないことから、特発性 PAP と推測された。なお本例では乳癌の合併があるが、乳癌は PAP の基礎疾患とは考えられていない⁴⁾。

通常、II 型肺胞上皮から分泌されたサーファクタントの 70~80% は再び II 型肺胞上皮に取り込まれ、再利用あるいは分解される。残りの 20~30% のサーファクタントは肺胞マクロファージが取り込み分解処理するが、PAP では抗 GM-CSF 抗体による GM-CSF の阻害や基礎疾患などが原因で、肺胞マクロファージ数の減少や機能異常が生じる。そのため、サーファクタント処理能力が低下し肺胞や気腔内にサーファクタントが異常貯留すると考えられている。主な症状は労作時呼吸困難や咳嗽であり、発熱や胸痛はまれである⁵⁾。また CT ではすりガラス陰影を呈し、特徴的な crazy paving pattern を示すことが多いとされ⁶⁾、本例でも胸部 CT で両所見を確認できた。

PAP の診断には BALF 細胞診が有用であり^{7,8)}、乳白色を呈する BALF の外観と、PAS 反応陽性の微細顆粒状構造物や無構造物質、泡沫状マクロファージを確認することが重要であるとされている。本例において BALF の外観は乳白色で、Pap. 染色ではライトグリーンに染まる多量の微細顆粒状の無構造物を背景に、オレンジ G とライトグリーンに染まる、大小さまざまな無構造物質が無数にみられた。それらの一部は肺胞マクロファージに貪食され、PAS 反応では陽性を示し、これまでに報告されている BALF 細胞診の PAP の所見と一致していた。

サーファクタントは 90% のリン脂質と 10% の surfactant protein よりなる脂質蛋白複合体であり⁴⁾、脂肪染色で

微細顆粒状構造物や無構造物質は陽性を示すとされている。本例では Oil red O 染色で肺胞マクロファージの胞体に顆粒状ないし滴状の陽性物質を認めたが、背景の微細顆粒状構造物や無構造物質は染色されなかった。その原因としては、マクロファージに取り込まれたサーファクタントは濃縮され Oil red O 陽性となったが、背景の微細顆粒状構造物や無構造物質は濃縮の程度が低いため陽性とならなかった可能性が考えられた。

PAP で血中 CEA 値が高値を示すとの報告があり^{9,10)}、また異常貯留したサーファクタント中に II 型肺胞上皮が産生する CEA が含まれることが推測されている。本例では血中の CEA 値は 88.5 ng/ml と高値を示したが、左乳房に粘液癌を認めたため、CEA 値の上昇が PAP に起因するのか、合併する乳癌に起因するのかは乳癌の手術前には判断が困難であった。しかし、粘液癌摘出後に CEA 値は 15.8 ng/ml と低下したものの基準値よりも依然高値を示したことや、好酸性顆粒状物質が CEA 陽性であったことから、本例の血中 CEA 値の上昇の一部は PAP に起因するものと考えられた。

形態学的に PAP の無構造物質と鑑別を要する物質は、肺水腫などでみられる澱粉小体 (corpola amylacea) や肺アミロイド症のアミロイド物質があり両物質ともに PAS 反応陽性である⁹⁾。しかしながらそれらでは背景に微細顆粒状構造物の出現を認めないとされ⁷⁾、また澱粉小体は光顕的に内部に同心円状の層状構造が確認でき、アミロイド物質は内部構造が不均一であるといわれている^{7,9)}。PAP では、背景には微細顆粒状構造物がみられ、無構造物質に層状構造は認めず内部構造は均一なため、澱粉小体やアミロイド物質との鑑別は可能と考える。本例でも BALF 細胞診においては、多量のライトグリーンに染まる微細顆粒状構造物を背景に、内部構造は均一で層状構造を有さない無構造物質を多数確認できたことから、類澱粉小体やアミロイド物質との鑑別は可能であった。

PAP は BALF 細胞診により比較的容易に診断が可能とされているが、喀痰あるいは気管支鏡下吸引痰細胞診のみで診断にいたった報告は少なく、BALF が有用とされる以前は組織学的検索とあわせて診断が行われてきた。本例の気管支鏡下吸引痰細胞診では、少量の微細顆粒状構造物や無構造物質を認めたが、PAP 例の細胞診の経験がなく PAP の可能性を疑ったが確定診断にはいたらなかった。Vidone ら¹¹⁾は喀痰中には粘液物などの PAS 反応陽性物質がさまざまな病変でも出現するため、喀痰ではしばしば偽陰性を生じるとも述べており、また胸部 CT 所見や BALF 細胞診所見が PAP の診断には重要であるとの記載もある¹²⁾。しかしながら BALF 検体と同様、PAP に特徴的な微

細顆粒状構造物や無構造物質が少数ながら気管支鏡下吸引痰でも認められたことから, PAP が疑われて気管支鏡下吸引痰細胞診が行われる場合, 微細顆粒状構造物や無構造物質などの非細胞成分に積極的に注意を払って鏡検し, それらを見逃さないことが重要である. PAP 細胞像の経験を積むことで, 喀痰あるいは気管支鏡下吸引痰細胞診などの BALF より低侵襲な検査検体で PAP を疑うことは可能であり, 胸部 CT などの画像所見や臨床情報を加味することで, BALF 細胞診検体ではなくても確定診断することが可能であると考えられ, 患者の負担軽減に寄与すると考えられた.

本論文の要旨は, 第 50 回日本臨床細胞学会秋期大会 (2011, 東京) にて発表した.

筆者らは, 開示すべき利益相反状態はありません.

Abstract

Background : Pulmonary alveolar proteinosis (PAP) is a rare pulmonary disease characterized by accumulation of surfactant in the alveolar spaces. We report herein on a case of PAP with the presumptive diagnosis made based on the results of bronchoscopic aspiration sputum cytology.

Case : An abnormal shadow on chest CT was discovered in a 46-year-old woman during a left breast mass examination. Bronchoscopic sputum aspiration cytology showed a small amount of finely granular materials and globular amorphous materials that were suggestive of PAP, however, we could not make a definitive diagnosis. A bronchoalveolar lavage (BAL) was then performed and milky fluid was collected. In cytology using the BAL fluid, numerous globular amorphous materials stained by Orange G, and light-green and foamy alveolar macrophages, some of which contained globular materials, were observed on a background of fine granular materials. These materials were positive for Periodic acid-Schiff reaction. Their internal structure was homogeneous, and did not show a concentric pattern. Transbronchial lung biopsy confirmed the diagnosis of PAP.

Conclusion : It is possible to make a presumptive cytological diagno-

sis of PAP using not only BAL fluid but also bronchoscopic aspiration sputum by taking into account the findings of characteristic non-cellular components and clinical information.

文 献

- 1) Rosen, S. H., Castleman, B., Liebow, A. A. Pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 1958 ; 258 : 1123-1142.
- 2) 田中義成, 大谷 博, 岸川正大. 検診で発見された特発性肺胞蛋白症の 3 例. *日臨細胞誌* 2003 ; 42 : 27-30.
- 3) 石井晴之, 中田 光. 肺胞蛋白症の病態と病理. *病理と臨床* 2006 ; 24 : 921-927.
- 4) 渡辺雅人, 中田 光. 肺胞蛋白症と抗 GM-CSF 抗体. *日本内科学会誌* 2006 ; 95 : 1042-1047.
- 5) Trapnell, B. C., Whitsett, J. A., Nakata, K. Pulmonary alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 2527-2539.
- 6) Borie, R., Danel, C., Debray, M. P., Taille, C., Dombret, M. C., Aubier, M., et al. Pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir Rev* 2011 ; 20 : 98-107.
- 7) 畠 栄, 鐵原拓雄, 森谷拓也, 広川満良, 真鍋俊明, 玉田貞雄・ほか. 肺胞蛋白症の 1 例. *日臨細胞誌* 1994 ; 33 : 509-513.
- 8) Bennet, M. W., David, J. P., Eric, J. S., Rodney, A. S. Diagnosing pulmonary alveolar proteinosis : A review and an update. *Chest* 1997 ; 111 : 460-466.
- 9) 金城光幸, 饒平名長令, 長嶺利恵子, 下地直美, 喜納治男, 内間惟晴・ほか. 肺胞蛋白症の 1 例—BAL 液の細胞診及び CEA の所見—. *日臨細胞誌* 2000 ; 39 : 233-238.
- 10) 田中不二穂, 中村政明, 中嶋博徳, 菅 守隆, 杉本峯春, 安藤正幸・ほか. 肺胞洗浄液中の CEA (Carcinoembryonic Antigen) の上昇を認めた肺胞蛋白症の 1 例. *日胸疾会誌* 1989 ; 27 : 968-973.
- 11) Vidone, R. A., Hoffman, L., Hukill, P. B., Nesbitt, K. A., McMahon, F. J. The diagnosis of pulmonary alveolar proteinosis by sputum examination. *Chest* 1966 ; 49 : 326-332.
- 12) Inoue, Y., Trapnell, B. C., Tazawa, R., Arai, T., Takada, T., Hizawa, N., et al. Characteristics of large cohort of patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis in Japan. *Am J Respir Crit Care Med* 2008 ; 177 : 752-762.