原 著

Chlamydia 感染を示唆する細胞異型

杏林大学保健学部細胞診断学教室¹⁾, 千葉大学医学部附属病院中検細胞診²⁾椎名 義雄¹⁾ 依田さつき¹⁾ 飯島 淳子¹⁾
沢田 好明¹⁾ 武田 敏²⁾

Papanicolaou 標本において, chlamydia 感染に特有な星雲状封入体 (nebular inclusion=NI) は, その乏しい形態学的特徴のため, ルチーンのスクリーニングでしばしば検出できないことがある. それを補うために, chlamydia 感染細胞の核形分析を行い, 非感染細胞および異型上皮由来の dyskaryotic cell と比較した. 30 例より得られた 461 個の chlamydia 感染細胞はすべて酵素抗体 (PAP) 法で chlamydial inclusion の存在を確認した.

その結果は,

1) chlamydia 感染細胞の核径および核縁不整は非感染細胞と異型上皮由来の dyskaryotic cell の中間であった.

2) 最も強い核異型は, chlamydia 感染修復細胞にみられたが, このような異型上皮に類似の核異型を示したのは 30 例中わずか 1 例であった.

実際のスクリーニングでは軽度の核肥大・クロマチンの増量・核縁下整を伴う多数の異型化生細胞を認めたとき, その標本は chlamydia 感染が強く疑われるため, 注意深く NI を捜すべきと思われる.

Key words : Uterine cervix—Chlamydial infection—Nuclear atypia—Cytology

はじめに

Chlamydia trachomatis は非リン菌性尿道炎の原因菌として注目され, 特に欧米諸国では若年婦人の罹患率が高く, 社会的問題となっている^{9,17)}. その診断は培養法⁷⁾, 微量蛍光抗体法²⁰⁾, 補体結合法などで行われてき

たが, いずれの方法もルチーン検査としては問題がある. その点, 細胞診は迅速診断が可能であり, 諸家により試みられている^{2,3)}.

われわれは, 細胞診と免疫学的方法の併用によって形態で診断可能な所見として星雲状封入体の存在を明らかにしてきた¹⁹⁾. しかし, それはスクリーニングで見落としやすいため, 感染細胞の種類や形態を把握することが重要と思われる. そこで, 免疫学的に確認できた感染細胞, 非感染細胞および異型上皮由来の dyskaryotic cell の核形分析を行い, それぞれを比較した.

研究対象および方法

chlamydia 感染細胞の確認は NI を認めた Papanicolaou 標本を脱色し, 酵素抗体 (PAP) 法で行った. Papanicolaou 標本の脱色は, 脱カバー後, 下降エタノール系列を通して 50% エタノールに 30 分ほど浸漬した.

Cellular atypia suggesting chlamydial infection

Yoshio SHIINA, C.T., M.I.A.C., Satsuki YODA, C.T., J.S.C., Junko IJIMA, M.T., Yoshiaki SAWADA, M.D., F.I.A.C.

Department of Cytology, Kyorin University School of Health Sciences

Bin TAKEDA, M.D., F.I.A.C.

Center Laboratory of Cytology, Chiba University School of Medicine

論文別刷請求先 ☎ 192 八王子市宮下町 476 杏林大学保健学部細胞診断学教室 椎名義雄

昭和 60 年 3 月 5 日受付

昭和 60 年 8 月 8 日受理

免疫反応は Ortho Diagnostic Systems Inc. の Chlamydia Identification Kit (Lot. 074018), 発色には 0.005% 過酸化水素加 0.02% 3,3'-diaminobenzidine (DAB) 液を用いた。感染細胞は, 30 例の子宮腔部擦過スミアから化生細胞 153 個, 頸管腺細胞 142 個, 修復細胞 47 個, 旁基底細胞 64 個, 中間層細胞 55 個の計 461 個が得られた。これらに相当する非感染細胞は, 標本中に chlamydial inclusion およびそれに類似したすべての封入体を認めない症例で, さらに PAP 法でそれらの細胞質内に陽性所見を示さなかった細胞を 5 例よりそれぞれ 20 個, 計 100 個の細胞を選び計測した。検索項目は核径 (長短径の和の 1/2), 核数, 核小体数, クロモセーター数, 核縁不整・肥厚である。

結 果

chlamydia 感染細胞の核は通常強い変性像を示すことは少ないが, 変性膨化し融解状になったものもある (図 1)。Papanicolaou 標本におけるクロマチン量の表現は客観性に乏しいため計測には加えなかったが, 細胞変性に陥っていない核のクロマチンパターンは非感染細胞同様細顆粒状均一で軽度増量を示した。しかし, 異型上皮由来の dyskaryotic cell のようなクロマチンの増量はみられなかった。

表 1 Chlamydia 感染細胞と非感染細胞の核径比較 (μ)

	感染細胞		非感染細胞	
	平均値	S.D.	平均値	S.D.
扁平上皮化生細胞	11.9	2.03	9.6	0.84
頸管腺細胞	11.0	1.53	9.1	1.07
修復細胞	13.9	2.33	11.6	1.49
旁基底細胞	10.6	1.35	9.0	0.96
中間層細胞	12.2	2.53	9.4	0.89
Dyskaryotic cell*			15.9	2.66

*軽度異型上皮由来

核径はいずれも非感染細胞に比べやや大型で, 非感染例の化生細胞が $9.6 \pm 0.84 \mu$ (平均値 $\pm$ 標準偏差, 以下同様), 頸管腺細胞 $9.1 \pm 1.07 \mu$, 修復細胞 $11.6 \pm 1.49 \mu$, 旁基底細胞 $9.0 \pm 0.96 \mu$, 中間層細胞 $9.4 \pm 0.89 \mu$ で感染のある化生細胞は $11.9 \pm 2.03 \mu$, 頸管腺細胞 $11.0 \pm 1.53 \mu$, 修復細胞 $13.9 \pm 2.33 \mu$, 旁基底細胞 $10.6 \pm 1.36 \mu$, 中間層細胞 $12.2 \pm 2.53 \mu$ (いずれも $P < 0.01$) であった。それに対して, 軽度異型上皮由来の dyskaryotic cell の核径は $15.9 \pm 2.66 \mu$ で, 感染を認めた中間層細胞の $12.2 \pm 2.53 \mu$ ($P < 0.01$) に比べ明らかに大型であった (表 1)。

多核形成は dyskaryotic cell を除く非感染細胞にはみられなかったが, 感染細胞では低頻度ではあるが観察された。頸管腺細胞, 旁基底細胞, 中間層細胞では 2 核以上のものはみられなかったが, 化生および修復細胞では 4 核の感染細胞を認めた。それらの頻度は修復細胞が 12.7% と最も高く, ついで化生細胞の 3.1% であった (表 2)。また, 多核感染細胞は nuclear molding を示すものが多かった (図 1)。dyskaryotic cell との比較では chlamydia 感染中間層および旁基底細胞が低頻度であった。

核小体およびクロモセーター数は両者に著明な差はないが, 化生細胞で核小体が明瞭化する傾向にあった (表 3, 4)。

核縁の不整, 肥厚は非感染細胞, 感染細胞および dyskaryotic cell の 3 者間で明らかな差がみられた (表 5)。核縁不整は軽度異型上皮からの細胞に最も多く 56.0%, 感染例では旁基底細胞が 44.6%, 化生細胞が 28.3%, 中間層細胞が 26.4%, 修復細胞が 19.9% と最も少なかったが, これらのなかには封入体に圧迫され三日月様になったものも認めた。また, 核縁の不規則な肥厚は非感染例では修復細胞に 4.0% の割合で観察された以外は認められなかったのに対し, 感染例では化生細胞が 11.3%, 頸管腺細胞が 14.0%, 旁基底細胞が 23.1%,

表 2 Chlamydia 感染細胞と非感染細胞の核数比較 (%)

	感染細胞				非感染細胞			
	1	2	3	4	1	2	3	4
扁平上皮細胞	96.9	1.9	0.6	0.6	100	0	0	0
頸管腺細胞	97.9	2.1	0	0	100	0	0	0
修復細胞	87.3	8.5	2.1	2.1	100	0	0	0
旁基底細胞	98.4	1.6	0	0	100	0	0	0
中間層細胞	98.1	1.9	0	0	100	0	0	0
Dyskaryotic cell*					94	5	1	0

*軽度異型上皮由来

表3 Chlamydia 感染細胞と非感染細胞の核小体数比較 (%)

	感染細胞				非感染細胞			
	0	1	2	3	0	1	2	3
扁平上皮化生細胞	37.1	57.2	5.7	0	87	13	0	0
頸管腺細胞	17.5	70.6	10.5	1.4	10	80	10	0
修復細胞	0	61.7	31.9	6.4	0	66	29	5
旁基底細胞	56.9	38.5	4.6	0	60	34	6	0
中間層細胞	79.2	20.8	0	0	88	12	0	0
Dyskaryotic cell*					99	1	0	0

*軽度異型上皮由来

表4 Chlamydia 感染細胞と非感染細胞の chromocenter 数比較 (%)

	感染細胞					非感染細胞				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
扁平上皮化生細胞	22.0	49.0	23.3	4.4	1.3	12	44	41	3	0
頸管腺細胞	50.3	34.3	12.6	2.1	0.7	45	52	3	0	0
修復細胞	44.7	36.2	17.0	2.1	0	48	35	16	1	0
旁基底細胞	13.8	52.3	26.2	4.6	3.1	18	51	26	5	0
中間層細胞	28.3	39.6	22.6	9.4	0	17	54	26	3	0
Dyskaryotic cell*						9	20	44	15	5

*軽度異型上皮由来

中間層細胞が13.2%と高頻度であった。

30例の症例別細胞診成績は表6に示すごとく化生細胞を認めたのが、軽度異型上皮と診断された1例を含め28例(93.3%)であり、そのなかで異型化生細胞は14例(46.7%)の症例にみられた。

考 察

Papanicolaou 標本における chlamydia 感染の診断はまず Naib¹³⁾によって行われ、その後も多くの報告がある^{5,6,8,11)}。しかし、それらのなかにみられる封入体の形態は極めて多彩で、しかも粘液空胞との鑑別が困難であることが多いため、われわれは免疫組織化学的に検索してきた¹⁹⁾。そして、chlamydial inclusion であることを確認できた封入体を星雲体封入体 (nebular inclusion = NI) と名付けた。これは Gupta ら⁸⁾がいう “coccoid bodies” が密に集合したもので、感染後期から末期にかけての所見に相当するものと思われる。この Papanicolaou 標本で chlamydia 感染の診断可能な NI は、前述のごとく実際のスクリーニングで極めて見逃されやすい形態であるため、標本上にキャンノンボールを多数認めるときに trichomonas 症を考慮しながらスクリーニングするように、chlamydia 感染を示唆する副所見をみいだすことは、NI の検出率をあげる方策と考え、特に核

表5 Chlamydia 感染細胞と非感染細胞の核縁比較 (%)

	感染細胞		非感染細胞	
	不整	肥厚	不整	肥厚
扁平上皮化生細胞	28.3	11.3	0	0
頸管腺細胞	21.7	14.0	2.0	0
修復細胞	19.9	4.3	5.0	4.0
旁基底細胞	44.6	23.1	2.0	0
中間層細胞	26.4	13.2	8.0	0
Dyskaryotic cell*			56.0	7.0

*軽度異型上皮由来

形分析を試みた。

chlamydia 感染がほかの微生物感染同様^{1,12,14,21)}、子宮頸癌の原因の1つに考えられているのは非感染例に比べ Papanicolaou のクラス分類で II や III の頻度が増加し⁶⁾、組織診およびコルポスコープでも異常を示すものが多くなるためと思われる^{5,9,16,18)}。感染細胞の形態について、Gupta ら⁸⁾は核がよく保たれ、肥大、クロマチンの増量さらに核膜の不整をあげ、mild~moderate atypia や葉酸欠乏でみられる核に似、核小体はまれで、大型扁平細胞にはしばしば4~8個の核を認め nuclear molding はほとんどみられないと述べている。また、Boon ら⁵⁾は chlamydia indicator cell, 未熟・成熟化生細胞および CIN 細胞の核面積と N/C 比を比較し、感染細胞は核面積と N/C 比において化生細胞より大型で、

表 6 Chlamydia 感染例の細胞診断

症 例	年齢	細胞診断
1) K.O.	43	組織修復細胞*
2) M.O.	48	異型化生細胞*
3) E.K.	42	異型化生細胞
4) K.K.	32	異型化生細胞*
5) K.H.	49	異型化生細胞
6) I.K.	43	化生細胞
7) Y.A.	45	異型化生細胞
8) S.S.	36	化生細胞
9) K.T.	38	化生細胞
10) K.S.	38	異型化生細胞
11) T.O.	35	化生細胞
12) M.W.	44	軽度核異型細胞
13) A.K.	57	化生細胞
14) S.K.	41	化生細胞
15) M.T.	37	異型化生細胞
16) M.N.	42	異型化生細胞
17) F.F.	52	化生細胞
18) K.O.	41	異型化生細胞
19) K.K.	40	化生細胞
20) K.N.	43	化生細胞
21) S.H.	37	異型化生細胞
22) F.S.	61	異型化生細胞
23) M.I.	20	異型化生細胞
24) K.S.	38	化生細胞*
25) Y.T.	37	化生細胞*
26) Y.T.	43	化生細胞*
27) K.W.	43	異型化生細胞
28) M.S.	36	化生細胞
29) Y.J.	39	異型細胞を認めない
30) N.S.	43	異型化生細胞

*トリコモナス陽性

CIN 細胞との比較では核面積, N/C 比ともにほぼ同様な分布を示したと報告している。われわれの成績は前述したように chlamydia 感染細胞の核径は非感染細胞と異型上皮由来の dyskaryotic cell の中間に位置し, 実際のスクリーニングでは軽度の核肥大とクロマチン増量を示す細胞と認識されるものに注目すべきと思われる。さらに緒家の報告からも明らかのように, 感染宿主細胞がおもに化生細胞であることから^{5,8,11)}標本上に前述の所見を満たす化生細胞が多数出現している場合は chlamydia 感染が考えられるため, 慎重に NI の検索をする必要があると思われる。

多核形成は herpes simplex virus 感染細胞ほど著明でないが, われわれの成績では chlamydia 感染修復細胞で特にその出現率が高値であった。修復細胞は健康人で 1%⁴⁾, chlamydia 非感染例で 3%¹⁶⁾程度に検出されているが, chlamydia 感染例ではわれわれが 11.5%,

Paavonen ら¹⁶⁾が 12% とほぼ同様に出現率が高くなっており, スクリーニング上の注目点と思われる。また, この細胞に nuclear molding を示すものもあるが, これは trichomonas の重複感染例でより顕著であるため, 必ずしも chlamydia 感染だけに起因するものとはいえない。

chlamydia 感染細胞の核縁不整は, dyskaryotic cell のように波打状のものから封入体に圧迫され三日月状になったものまで多彩であり, このような核の出現率が増加することも事実である。しかし, chlamydia 感染細胞の核所見が軽度異型上皮や葉酸欠乏時の患者から得られる dyskaryotic cell に類似していたのは^{8,18)}, 今回検索した 30 例ではわずかに 1 例であり, このような核を有する細胞は chlamydia 感染細胞のマーカーとなり得ない。もしそのような所見に注目しスクリーニングすると, chlamydial infection の診断率はさらに低値になるものと考えられる。

今回の検索で chlamydia 感染例では異型化生細胞の出現するケースが多く, これがスクリーニングにおいて NI を検出する 1 つの目安として重要であることが明らかになった。異型化生細胞の出現が chlamydia に特徴的か否かについては今後さらに多数例について検討する必要があるが, 現段階では明言できないが, chlamydia 感染で異型化生細胞が多数出現することは, trichomonas や herpes simplex virus 感染症に比べれば特徴的と思われる。

Summary

The nebular inclusions (NI), which are characteristic of chlamydial infection, are often overlooked in the routine screening work because of poor morphological characteristics of the inclusions. Which a view to making up for the weak points, morphological analysis of the nuclei of the chlamydia-infected cells were performed to compare with the nuclei of the noninfected cervical cells.

It was confirmed by the immunoperoxidase method (PAP) that all of 461 infected cells collected from the uterine cervixes of 30 patients contained the chlamydial inclusions.

The results are as follows:

- 1) The nuclear diameter and the irregularity of nuclear rim of the infected cells showed intermediate values between those of the noninfected cells and the dyskaryotic cells.
- 2) The most remarkable nuclear atypia was observed in the tissue repair cells infected with chlamydia, while the

atypical nuclei resembling those of the dyskaryotic cells derived from dysplasia were detected in only one case out of 30 cases of chlamydial infection.

These findings suggest that if a lot of atypical metaplastic cells with slightly enlarged nuclei, hyperchromasia and irregular nuclear rim are encountered in screening, the preparation should be examined for NI with the utmost care, because the case is strongly suspected to be chlamydial infection.

文 献

- 1) Alexander, E.R. : Possible etiologies of cancer of the cervix other than herpesvirus, *Cancer Res.*, 33 : 1485~1496, 1973.
- 2) Berger, E.K. : Cytologic Manifestation of Chlamydia in the Female Genital Tract. In *Common Problems in Cytology*, American Society of Cytology, Pennsylvania, 1982.
- 3) Bibbo, M., et al. : Microbiology and Inflammation of Female Genital Tract. *International Cytology Slide Sets*, Vol. 30, Chicago, Illinois, 1981.
- 4) Bibbo, M., et al. : The cytologic diagnosis of tissue repair in the female genital tract, *Acta Cytol.*, 15 : 133~137, 1971.
- 5) Boon, M.E., et al. : Cervical Cytology and Chlamydia Trachomatis Infection. *Arch. Gynecol.*, 233 : 133~140, 1983.
- 6) Carr, M.C., et al. : Chlamydiae, Cervicitis and Abnormal Papanicolaou Smear. *Obstet. Gynecol.*, 3 : 27~30, 1979.
- 7) Gordon, F.B., et al. : Isolation of the trachoma agent in cell culture, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 118 : 354~359, 1965.
- 8) Gupta, P.K., et al. : Cytologic investigations in chlamydial infection, *Acta Cytol.*, 23 : 315~320, 1979.
- 9) Hare, M.J. : Follicular cervicitis—Colposcopic appearances and association with chlamydia trachomatis, *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 88 : 174~180, 1981.
- 10) Hunter, J.M., et al. : Chlamydia trachomatis infection of the cervix; the need for a diagnostic service, *Scot. Med. J.*, 27 : 147~151, 1982.
- 11) 久保田浩一・他 : クラミジア頸管炎の細胞像について, *日臨細胞誌*, 22 : 235~242, 1983.
- 12) Meisels, A. : Microbiology of the female reproductive tract as determined in the cytologic specimen. III. In the presence of cellular atypia, *Acta Cytol.*, 13 : 64~71, 1969.
- 13) Naib, Z.M. : Cytology of TRIC agent infection of the eye of newborn infants and their mother's genital tracts, *Acta Cytol.*, 14 : 390~395, 1970.
- 14) Naib, Z.M., et al. : Cytology and Histopathology of cervical herpes simplex infection, *Cancer*, 19 : 1026~1031, 1966.
- 15) Paavonen, J., et al. : Colposcopic and Histologic Findings in Cervical Chlamydial Infection, *Obstet. Gynecol.*, 59 : 712~715, 1981.
- 16) Paavonen, J., et al. : Cytologic findings in cervical chlamydial infection, *Med. Biol.*, 58 : 174~178, 1980.
- 17) Schachter, J., et al. : Human Chlamydial Infections, pp. 56~59, 157~158, PSG Publishing, Littleton, Massachusetts, 1978.
- 18) Schachter, J., et al. : Chlamydial infection in women with cervical dysplasia, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 123 : 753~757, 1975.
- 19) 椎名義雄・他 : Monoclonal 抗体で確認した Chlamydia 感染細胞の形態について, *日臨細胞誌*, 22 : 1046, 1983.
- 20) Wang, S.-P., et al. : Immunologic relationship between genital TRIC, Lymphogranuloma venereum and related organisms in a new microtiter immunofluorescence test, *Am. J. Ophthalmol.*, 70 : 367~374, 1970.
- 21) Zur Hausen, H. : Human papillomavirus and their possible role in squamous cell carcinoma, *Cur. Top. Microbiol. Immunol.*, 78 : 1~30, 1977.

図 1 Chlamydia 感染修復細胞

核は変性像を示すが, molding がみられる. 矢印の先端に帯状の NI を認める (Pap. 染色, $\times 1,000$)

図 4 Chlamydia 感染修復細胞

核小体の著明な修復細胞と思われる細胞質内に大の NI を認める (矢印) (Pap. 染色, $\times 1,000$)

図 2 Chlamydia 感染頸管腺細胞

核は偏在傾向を示し, 辺縁の不整や不規則な肥厚もみられる. 多数の NI を認める (矢印) (Pap. 染色, $\times 1,000$)

図 5 Chlamydia 感染旁基底細胞

核は軽度の肥大・クロマチン 増量を示し, 辺縁は不規則に肥厚している (A: Pap. 染色, B: PAP 法, ともに $\times 1,000$)

図 3 Chlamydia 感染扁平上皮化生細胞

核は軽度の肥大・クロマチン 増量を示し, 不整形で不規則な肥厚もみられる. NI (矢印) (Pap. 染色, $\times 1,000$)

図 6 Chlamydia 感染扁平上皮化生細胞

免疫反応は塗抹の厚い部位でも NI に特異的である (PAP 法, $\times 1,000$)