症 例

中枢神経ループスの胸水中に出現した LE 細胞の検討

大森赤十字病院病理¹⁾, 東邦大学医学部第 2 病理学教室²⁾, 大森赤十字病院検査部³⁾, 同 循環器科⁴⁾木口 英子^{1,2)} 石川由起雄²⁾ 赤坂 喜清²⁾ 石黒 芝輝³⁾日下部民美³⁾ 岩上 正義³⁾ 箕輪 久⁴⁾

LE 細胞試験は、全身性エリテマトーデス (SLE) などの自己免疫疾患で抗核抗体である LE 因子を、人為的方法で好中球の核と反応させ、形成された LE 細胞を観察する方法である。本来 LE 細胞は *in vitro* での反応であるため、生体の体腔液などにおいて観察されることはきわめてまれである。本症例は 66 歳の男性に発症した重症の SLE で、精神神経症状を呈した中枢神経ループス (CNS ループス) であり、年齢・性別・初発症状などが非定型的であったが、胸水の細胞診で LE 細胞が観察されたことが、その後の検査・治療に有用であった。患者検体の胸水では多数の好中球や反応性中皮による炎症所見があり、この中に多数の LE 細胞がさまざまな形態で出現していた。典型的な LE 細胞以外に、破碎した LE 小体を貪食した LE 細胞もみられ変性細胞と誤診断される可能性が考えられた。また、好中球の小集塊の中では、中心に LE 小体を有するロゼットを見逃さないよう注意すべきである。実際には細胞診での診断機会が非常に少ない LE 細胞であるが、検出できた場合には診断的意義が高いため、スクリーニングにも十分な注意を払う必要がある。

Key words: LE cell—Cytology—Pleural fluid—SLE

I. はじめに

LE 細胞は、SLE 患者の骨髓血液塗抹標本中に封入体を有する細胞として発見された。LE 細胞試験に

Cytologic examination of LE cells in pleural fluid from a patient with CNS lupus erythematosus

Hideko KIGUCHI^{1,2)}, M.D., Yukio ISHIKAWA²⁾, M.D., Yoshikiyo AKASAKA²⁾, M.D., Shigeki ISHIGURO³⁾, C.T., I. A.C., Hitomi KUSAKABE³⁾, C.T., I.A.C., Masayoshi IWAGAMI³⁾, C.T., I.A.C., Hisashi MINOWA⁴⁾, M.D.

¹⁾Department of Pathology, Omori Japanese Red Cross Hospital

²⁾Second Department of Pathology, Toho University School of Medicine

³⁾Department of Laboratory Medicine, ⁴⁾Department of Cardiovascular Medicine, Omori Japanese Red Cross Hospital

論文別刷請求先 〒143-8540 東京都大田区大森西 5-21-16

東邦大学医学部第 2 病理学教室 木口英子

平成 10 年 12 月 24 日受付

平成 11 年 6 月 11 日受理

は、いくつかの方法があるが Zimmer-Hargraves 法 (直接法) が行われていることが多い。本来は *in vitro* の現象であるが、生体中でも同様な反応が起こるといわれており、心嚢液¹⁾・皮膚水疱^{2,3)}・関節液⁴⁾・腹水⁵⁾・胸水^{6,7)}で検出された報告がある。しかし、実際の細胞診での診断機会はきわめてまれである。

本論文では、胸水中に出現した LE 細胞の形態を検討するとともに、過去の自己免疫疾患の報告例から、体腔液での LE 細胞出現の可能性についても検討した。

II. 症 例

患 者: 66 歳, 男性

既往歴: 平成 5 年, 完全 A-V block のため pacemaker 植え込み術の既往がある。平成 6 年から多発性脳梗塞で入退院を繰り返す。

主 訴: 発熱, 胸水貯留

現病歴: 平成 8 年 10 月より動作が不自由であるた

Fig. 1

め大森赤十字病院循環器科に入院していたが、11月11日より38~39度の発熱、11月19日より胸部レントゲン上に両側胸水が出現した。諸検査が行われたが、喀痰・動脈血培養などで細菌感染を認めず、髄液検査も異常なし。画像的にも腫瘍性病変はなく、腫瘍マーカーも陰性。抗生剤投与にも解熱傾向はなかった。11月20日1回目の胸水細胞診では、軽度の炎症所見を示すのみであった。胸水の培養検査も陰性。11月26日2回目の胸水細胞診では、異型細胞の出現はないが多数のLE細胞が認められたため、翌日には所見を報告した。

細胞診の結果から、自己免疫疾患を想定した血清学的検査がなされ、その結果11月27日の検査で抗核抗体2560倍、抗DNA抗体640倍が判明した。また、改訂SLE分類基準（1982年、アメリカリウマチ協会）に準拠して、漿膜炎（胸水貯留）、血液学的異常（リンパ球減少症）、免疫学的異常（LE細胞陽性）、抗核抗体の4項目の存在により、SLEと診断され、同日よりステロイド投与が開始された。この頃には、肝機能障害も出現しており、GOT、GPTが高値を示していた（Fig. 1）。胸水細胞診の8日後にLE細胞試験および蛍光抗体法が依頼され、LE細胞試験は陽性、蛍光抗体法による抗核抗体はPeripheral patternとHomogeneous patternが認められた。

治療はmethylprednisolone 500 mgで開始したところ、解熱がみられ、胸水も短期間で消失し、以後細胞診は行われなかった。しかし、ステロイドを減量すると臨床症状が増悪するという状態で、12月上旬からは大脳辺縁系障害による幻覚・意識障害、右大脳皮

質運動領域障害による左上肢の単麻痺などが出現したため、SLEの重症度分類に準拠して、CNSループスと診断された。その後もmethylprednisolone 1000 mg 3日間のパルス療法などを行ったが、上肢の筋強直、両側尖足位、両側第三脳神経麻痺による両側眼瞼下垂などがみられ、中枢神経症状は悪化した。ステロイドは500 mg~1000 mgの投与を続けたが、消化管出血による多臓器障害も進行し平成9年1月11日に肺出血を併発し死亡した。病理解剖は、家族の同意が得られず施行されなかった。

III. 胸水細胞診の所見とLE細胞試験の比較

11月26日に採取された胸水での細胞所見と、8日後に行われたLE細胞試験での細胞形態を比較した。胸水のPapanicolaou染色（Pap.染色）では、低倍率で少数の反応性中皮細胞と、多数の好中球および好中球による小集塊が散在していた。通常の好中球に混じて、ライトグリーンに染まる球形・楕円形の均質無構造な物質を貪食し、核が辺縁部に圧排された典型的なLE細胞が多数認められた（Photo. 1 a）。多数のLE細胞の中には、不整形のLE小体を貪食したり、貪食によって細胞が破砕し、変性細胞と考えられ見逃される可能性のあるものも多数認められた（Photo. 1 b）。細胞診でのGiemsa染色では、LE小体は一様に薄い紫紅色に染まり観察された（Photo. 2 a）。また、形態の崩れたLE細胞も観察された（Photo. 2 b）。当院で行っているZimmer-Hargraves法で検出したLE細胞と比較しても、ほぼ同様の形態であった（Photo. 2 c）。好中球の小集塊を観察すると、Pap.染色では均質無構造なLE小体を中心としたロゼット形成が認められた（Photo. 3）。また、明瞭な物質はないが、中心がレース状にみえるロゼットも存在した。細胞診のGiemsa染色では、ロゼット内のレース状物質が明瞭となり、extracellular materialであるヘマトキシリン体（HE体）を取り囲んだものと認識された（Photo. 4）。

Zimmer-Hargraves法で観察したロゼットは、HE体を好中球が取り囲むという形態よりは、LE細胞の周囲に好中球が集合した形態が主体であった（Photo. 5）。LE細胞試験と同日の検体での蛍光抗体法では、抗核抗体は40倍希釈ではPeripheral pattern（Photo. 6 a）が認められ、80倍希釈以上でHomogeneous pattern（Photo. 6 b、写真は160倍希釈）もみられ、両型が混在したSLEに対応する所見であった。

IV. 考 察

SLE患者血清中に存在するLE因子は、生体内ではLE細胞を形成しないが、これは、循環血中有核細胞の傷害や核の放出などが起こらず、LE因子の貪食が生じないためである。Zimmer-Hargraves法などのLE細胞試験は、好中球などの有核細胞を人為的に傷害して検出するものだが、生体内においても胸水・腹水・心嚢液中では凝固機転の一部進行によるフィブリン析出と有核細胞の傷害が起こりうるためLE細胞が形成される可能性が生じる⁸⁾。

Photo. 2 c に示されたLE細胞試験による定型的LE細胞には、細胞診でのPhoto. 1 a, 2 a, が相当し、ほぼ同様の形態で出現している。また、LE細胞試験では、封入体が好塩基性に染まる（有核部分を残す）tart cell, pseudo LE cell といわれる分類がある

が⁹⁾、これらは検査過程における人工的な細胞の傷害で、核が裸核となって他の好中球に貪食されて生じたものといわれている。このようなpseudo LE cellの出現は、本症例の胸水中では認識できなかった。ただし仮に出現した場合でも、貪食された物質の色調と性状を観察することで、Pap.染色においても鑑別が可能と考えられる。以前はLE細胞の形態で、SLEやオーバーラップした自己免疫疾患、薬物過敏症などを鑑別することが検討されていたが、血清検査が進歩した今日では、LE細胞の形態を詳細に分類する意義は高くはない。よって、*in vitro*, *in vivo*において、ほぼ同様の形態で出現するLE細胞自体を見逃さないことが重要である。

LE細胞試験では、細胞に貪食されずに遊離しているLE因子があり、これをExtracellular material (HE体) というが、細胞診ではHE体の周囲に好中球が集合したロゼットとして観察された。このHE

Table 1

author	sex age	sample	clinical diagnosis and mani- festation	steroid therapy	diagnosis and prognosis
Seaman ¹⁾ (1952)	F 38	pericardial fluid	subacute pericarditis	—	SLE
Tromovitch ²⁾ (1961)	F 26	intraepidermal bulla	eruption, blisters, hemorrhagic bullae	+	SLE
Wilson ³⁾ (1961)	F 42	skin	erythema, anetoderma	—	SLE
Chomet (1970)	F 29	peripheral blood smear	fever, albuminuria pleuropericarditis	+	SLE death (7 months)
Hunder ⁴⁾ (1970)		synovial fluid			SLE 4 persons RA 2 persons
Labowitz (1971)		synovial fluid			SLE
Carey (1973)	F 62	pericardial fluid	pericardial tamponade	—	Hydralazine- induced lupus syndrome
Metzger ⁵⁾ (1974)	F 24	ascitic fluid	acute abdomen, necrotizing vasculitis of the appendix	+	CNS lupus
Nosanchuck ¹⁰⁾ (1976)	F 65	cerebrospinal fluid	meningitis	+	SLE death (45 days)
Pandya ⁶⁾ (1976)	F 49	pleural fluid	pleuritis, morning stiffness	—	SLE
Yoshie (1980)	M 39	skin	dermatomyositis	+	SLE
Hidalgo ⁷⁾ (1987)	M 61	pleural fluid	SLE	+	CNS lupus
Sugihara (1990)	M 75	pleural fluid	fever, dispnea	—	SLE

体には均質無構造の HE 体の他に、レース状の HE 体という分類もあり⁹⁾、Photo. 4 にみられたロゼット内の物質に相当すると考えられる。LE 細胞試験でのロゼットは、Photo. 5 に示す形態が多く、レース状の HE 体はむしろ細胞診の Giemsa 染色で明瞭に認められた。

Table 1 に体腔液または組織中に出現した LE 細胞についての症例を示した。心嚢液、胸水貯留、広範な皮膚症状など、初発症状が非定型のあるいは重症であったために、SLE の診断に苦慮したものが多い。症状も反復性、遷延性あるいは治療に抵抗性であり、体腔液や組織で LE 細胞が検出された時点で、臨床診断が SLE と確診されていたものは少なかった。また、LE 細胞の検出時期とステロイド投与の関係を検討すると、Tromovitch²⁾、Metzger⁵⁾、Hidalgo⁷⁾ の各症例では、ステロイドを投与されている間も、症状の増悪に一致して反復して LE 細胞が出現した。しかし、他の症例では、ステロイド投与後に臨床症状の改善、体腔液の消失が認められており、反復して体腔液などから LE 細胞を検出したという記載は明らかではなかった。症状が重篤で CNS ループスと考えられる症例は Metzger⁵⁾、Hidalgo⁷⁾、Nosanchuk¹⁰⁾ の 3 例であり、さらに SLE の重症化により短期間に死亡した症例は Nosanchuk¹⁰⁾ などの 2 例にみられた。本症例は重症型の CNS ループスであるが、過去の症例もまた重症の SLE が多く、LE 細胞の出現時期としては、発症早期あるいは増悪期であるため、この時期の患者の体腔液ではスクリーニングに十分な注意が必要である。

一般的に、胸水の細胞診では悪性所見の検出に重点がおかれがちだが、LE 細胞のような疾患特異的な細胞を同定することは、その後の治療方針にも重要な情報となる。既存疾患の病勢・臨床症状を参考にスクリーニングにあたる必要がある。

Abstract

Background : The LE test examines the conversion of neutrophils to typical LE cells when normal neutrophils are incubated *in vitro* in the presence of serum factor obtained from individuals with systemic lupus erythematosus (SLE). However, this *in vitro* phenomenon may not represent the *in vivo* phenomenon occurring in celomic fluid.

Case : We report the cytologic detection of LE cells in pleural fluid collected from a 66-year-old male patient with

severe SLE associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and psychoneurosis (CNS lupus). This cytologic detection of LE cells *in vivo* later contributed to definitive diagnosis of the disease in this patient. In pleural fluid, neutrophils and reactive mesothelial cells were abundant indicating inflammation, and many LE cells formed various patterns including rosettes. Besides the typical morphology of LE cells, disrupted cells that may have been caused by incorporation of LE factor were observed. The latter feature could be easily misdiagnosed to indicate degenerative cells.

Conclusion : In the present study, cells in pleural fluid were stained with Papanicolaou and Giemsa stain and pathologic features of cells were compared with those observed in LE test. *In vivo* detection of LE cells, although these cells may frequently not be detected, should lead to definitive diagnosis of lupus erythematosus.

文 献

- 1) Seaman, A.J., Christerson, J.W. Demonstration of L. E. cells in pericardial fluid. J.A.M.A. 1952 ; 149 : 145 ~147.
- 2) Tromovitch, T.A., Hyman, A.B. Systemic lupus erythematosus with hemorrhagic bullae. Arch Dermatol 1961 ; 83 : 910~914.
- 3) Wilson, R.M., Abbott, R.R., Miller, D.K. The occurrence of L.E. cells and hematoxylin bodies in the naturally occurring cutaneous lesions of systemic lupus erythematosus. Am. J. Med. Sci. 1961 ; 241 : 31 ~43.
- 4) Hunder, G.G., Pierre, R.V. In vivo LE cell formation in synovial fluid. Arthritis Rheum 1970 ; 13 : 448~454.
- 5) Metzger, A.L., Coyne, M., Lee, S., Kramer, L.S. In vivo LE cell formation in peritonitis due to systemic lupus erythematosus. J. Rheum. 1974 ; 1 : 130~133.
- 6) Pandya, M.R., Agus, B., Grady, R.F. In vivo LE phenomenon in pleural fluid. Arthritis Rheum 1976 ; 19 : 962~963.
- 7) Hidalgo, C., Vladutiu, A.O. Lupus erythematosus cells in serum and pleural fluid of a patient with negative fluorescent antinuclear antibody test. Am. J. Clin. Pathol. 1987 ; 87 : 660~662.
- 8) 星野 孝. LE細胞はどうしてできるか. 検査と技術 1984 ; 12 : 127~131.
- 9) 橋本博史. LE細胞. 検査と技術 1977 ; 5 : 17~20.
- 10) Nosanchuk, J.S., Kim, C.W. Lupus erythematosus cells in CSF. J.A.M.A. 1976 ; 236 : 2883~2884.

Photo. 1 a : Characteristic morphology of LE cells that phagocytosed amorphous and homogeneous materials (Pap. Stain, $\times 100$), b : LE cells that phagocytosed fragmented LE body (Pap. Stain, $\times 100$)

Photo. 2 a : The typical morphology of LE cells (Giemsa stain, $\times 100$), b : LE cells with the appearance of disrupted cells. The features of cells could be easily misdiagnosed as those of degenerative cells (Giemsa stain, $\times 100$), c : Characteristic LE cells formed in LE test (Giemsa stain, $\times 100$)

Photo. 3 Rosette formation of LE cells surrounded by clustered neutrophils were centered by extracellular materials with an amorphous and homogeneous appearance (Pap. Stain, $\times 100$)

Photo. 4 When stained with Giemsa stain, fine meshwork structures were clearly observed in the extracellular materials in the center of rosettes formed by neutrophils (Giemsa stain, $\times 100$)

Photo. 5 The rosettes detected in LE test consisted of LE cells surrounded by neutrophils (Giemsa stain, $\times 100$)

Photo. 6 When LE cells formed in LE test were examined under immunofluorescence microscopy, antinuclear antibody associated with LE cells consisted of Peripheral pattern (a, $\times 40$) and Homogeneous pattern (b, $\times 160$)