症 例

細胞診が診断に有用であったアメーバ性肝膿瘍の1例

高知医科大学附属病院検査部¹⁾, 同 第1内科²⁾, 同 寄生虫学教室³⁾三谷 美湖¹⁾ 高橋 保¹⁾ 森木 利昭¹⁾ 植田 庄介¹⁾一圓 美穂¹⁾ 根本 禎久²⁾ 熊澤 秀雄³⁾

背景：アメーバ性肝膿瘍は，日常の細胞診で遭遇する機会はまれで，その報告は少ない．今回，細胞診が診断の根拠となった症例を経験したので報告する．

症例：49歳，男性．高熱と腹痛を主訴に受診．画像上，肝右葉に3cm大の膿瘍様病変が認められた．8ヵ月前の中国渡航歴からアメーバ性肝膿瘍が疑われ治療が行われた．治療開始2日後に採取された灰～黄白色調の肝膿瘍液の生鮮標本からアメーバは検出されず，同時に提出された血清学的検査も陰性であった．しかし，細胞診では栄養型アメーバが認められ，PAS反応やライト染色，抗赤痢アメーバ抗体を用いた免疫染色結果から赤痢アメーバ栄養型と確定し，アメーバ性肝膿瘍と診断した．

結論：赤痢アメーバ栄養型は，ババニコロウ染色およびPAS反応で好染する内質と染色性に乏しい外質，小型円形核と中心性のkaryosomeが特徴的で，他の細胞成分との鑑別点となった．確定には細胞診標本で抗赤痢アメーバ抗体を用いた免疫染色が有用であった．感染源の特定は困難であるが8ヵ月前の中国渡航での感染の可能性が疑われた．膿瘍液の外観や血清抗体価にとらわれず，常にアメーバ性肝膿瘍の疑いをもって対処することが重要と思われた．

Key words : Amebic liver abscess — Cytology — *Entamoeba histolytica*

I. はじめに

わが国における赤痢アメーバ症は，近年輸入感染症や性行為感染症として増加傾向にあるといわれているが¹⁻³⁾，その診断は運動性アメーバを検出するか，超

音波検査などの画像診断と血清学的検査を併用する方法がとられ，日常の細胞診で遭遇する機会はまれであり細胞診からの報告は少ない³⁻⁵⁾．今回われわれはアメーバ性肝膿瘍の診断において，細胞診がきわめて有用であった1例を経験したので，細胞像，免疫組織化学染色所見と文献的考察を加えて報告する．

A case of amebic liver abscess diagnosed by cytology

Miko MITANI¹⁾, C.T., Tamotsu TAKAHASHI¹⁾, C.T., I.A.C., Toshiaki MORIKI¹⁾, M.D., Shousuke UEDA¹⁾, C.T., Miho ICHIEN¹⁾, M.T., Yoshihisa NEMOTO²⁾, M.D., Hideo KUMAZAWA³⁾, D.Sc.

¹⁾Department of Clinical Laboratory, ²⁾Department of Internal Medicine, ³⁾Department of Parasitology, Kochi Medical School Hospital

論文刷請求先 〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮 高知医科大学附属病院検査部 三谷美湖

平成14年7月19日受付

平成14年11月9日受理

II. 症 例

患 者：49歳，男性．

既往歴：平成8年よりB型肝炎と糖尿病で加療．

主 訴：高熱と軽度の腹痛

海外渡航歴：平成12年6月，中国への渡航歴あり．

現病歴：平成13年2月，39度台の発熱と腹痛のため近医を受診．白血球増加とCRPの上昇が認められた．腹部超音波とCTで肝右葉内に3cm大の膿瘍と考

えられる病変を認め、起因菌不明のままセフェム系抗生剤で治療を行うも抵抗性のために当院紹介入院。中国への渡航歴からアメーバ性肝膿瘍を疑い、直ちに肝膿瘍に対して穿刺ドレナージとメトロニダゾールによる治療が開始された。なお、入院時における赤痢アメーバの血清抗体価は陰性、下痢や下血もみられなかった。その後、ドレナージより灰～黄白色調の膿が採取され細胞診検査、生鮮標本の位相差顕微鏡検査および細菌検査が行われた。細胞診で赤痢アメーバの栄養型が検出されたが、採取直後の生鮮標本では検出されなかった。また、細菌検査でのグラム染色鏡検・培養はともに陰性であった。なお、同時に行われた便検査でもアメーバは検出されなかった。細胞診で赤痢アメーバが検出されたため治療を継続。治療2週間後に肝膿瘍は著明に縮小、CRPも正常値となった。3月、入院時陰性であった血清抗体価は400倍と陽性化した。また下部消化管内視鏡検査および生検による病理組織学的検索が行われたが、赤痢アメーバ症を示唆する所見は得られなかった。4月軽快し退院、その後再発はみられない。なお、患者は同性愛者としての経歴はなく、またHIV検査も陰性であった。

入院時検査所見：白血球数17500/ μ l, ALP 304IU/ml (基準値70~220IU/ml), CRP 34.2mg/dlといずれも高値であった。CEA, AFP, CA19-9はいずれも正常範囲であった。

III. 細胞所見

細胞融解像が著しい炎症性背景で、強く変性した組織球や好中球、リンパ球、肝細胞、さらに少数の赤血球と数個のシャルコ・ライデン結晶が認められた。その中に20 μ m大の円形～楕円形の赤痢アメーバ栄養型が散見された(Photo. 1)。アメーバはライトグリーンに厚く顆粒状に好染する内質と薄く染色性に乏しい外質が認められた(Photo. 2)。内質には大小の食胞がみられ、赤血球の貪食像もわずかながら認められた。核は4 μ m前後と小さく円形で、中心にkaryosomeが1個認められた。PAS反応では外質は陰性、内質は強陽性を示した(Photo. 3)。ライト染色で細胞質は好塩基性を示し、核は淡染性で、核内構造は不明瞭であった。確認された赤痢アメーバはいずれも栄養型であった。パパニコロウ染色標本を脱色し、抗赤痢アメーバ抗体(*Entamoeba histolytica* HK-9 monoclonal antibodies, QED Bioscience Inc. 1:50)での免疫染色でアメーバは強く陽性を示した(Photo. 4)。なお、免疫染色には自動免疫染色装置(OptiMax Plus; BioGenex)を使用した。

IV. 考 察

赤痢アメーバは、消化管症状を主とする腸アメーバ症と、肝や肺などに膿瘍を形成する腸管外アメーバ症に区別される。腸管外アメーバ症としては肝臓が最も

Photo. 1 Trophozoites of *Entamoeba histolytica* (arrows). Backgrounds were abundant necrotic cellular debris, degenerated hepatocytes, and mixed inflammatory cells with Charcot Leiden crystals (inset) (Papanicolaou stain, $\times 10$, inset: $\times 20$).

Photo. 2 The trophozoite of *Entamoeba histolytica* had small, vesicular nuclei with dot-like central karyosomes and cytoplasm with finely granular endoplasm and clear ectoplasm (Papanicolaou stain, $\times 100$).

Photo. 3 Periodic acid Schiff reaction showing the trophozoite with a strong positive reaction in endoplasm and negative reaction in ectoplasm (periodic acid Schiff reaction, $\times 100$).

Photo. 4 Immunostaining for anti-*Entamoeba histolytica* antibody showing a strong positive reaction in the trophozoite (biotin-streptavidin amplification, $\times 100$).

多く、大腸の腸壁で増殖した栄養型アメーバが門脈の分枝に塞栓を形成し、その分布域が梗塞となり肝膿瘍を形成すると考えられている⁶⁾。しかし、アメーバ性肝膿瘍に必ずしも腸アメーバ症が併発するとは限らず、高田ら⁷⁾によれば消化管症状がなく便検査でもアメーバは検出されなかったが肝膿瘍のみ認められた症例が24例中17例(71%)であったと報告している。

アメーバ性肝膿瘍における膿は、アンチオビソース様と表現される特徴的な外観を呈し^{1,8)}、細菌が存在しない場合は、診断が確定できるとまでいわれている⁶⁾。一方、本症例のように特徴的な肉眼像を示さない症例も報告されており⁹⁾、膿の外観だけでアメーバ性肝膿瘍が否かを判断することはできない。

膿から直接アメーバを検出するには膿瘍壁部から検体を採取することが重要とされているが⁶⁻⁸⁾、それでも検出率は高くなく⁷⁾。ミトコンドリアを欠き嫌気条件下でしか生きられないアメーバは、グリコーゲンを豊富に有し、エネルギー源を解糖系に頼っている^{1,6)}。したがって、その運動性は検体採取後速やかに失われるため採取後ただちに検査しなければならない。本症例では検体採取後約10分で検体処理し鏡検したが運動性アメーバは検出されなかった。これは検査前に行われたメトロニタゾールによる治療の影響ではないかと考えられる。

アメーバ性肝膿瘍と鑑別を要する疾患として重要なものに細菌性肝膿瘍があるが、アメーバ性の細胞学的特徴として、①炎症細胞は細菌性に比べて少なく、好中球よりマクロファージが多い、②アメーバが出す細胞融解物質により肝細胞をはじめ炎症細胞は強い変性

を示す^{8,10)}。さらに③シャルコ・ライデン結晶が約半数の赤痢アメーバ症で検出されるが、細菌性ではみられないとされている²⁾。これらの所見は細胞診でアメーバ性か細菌性かを推測する上で重要である。

形態学的に赤痢アメーバ栄養型と鑑別上重要なものは組織球であるが^{3,4,10)}、赤痢アメーバには内・外質の存在が特徴的で^{1,3)}、PAS反応でより明瞭となる。また、赤痢アメーバの核は、4 μm 大と小さくて丸く、小型ながら明瞭な中心性のkaryosomeが特徴である。一方、組織球の細胞質や核は多様である³⁾。

赤血球の捕食能は、赤痢アメーバと他のアメーバとの鑑別において最も簡便で、しかも信頼性が高い所見とされているが⁵⁾、本症例のように赤血球の捕食像がきわめて少ない場合には指標とはなりにくい。しかし、肝膿瘍を形成する病原性アメーバは赤痢アメーバであり、しかも栄養型しか認められず⁵⁾、アメーバが検出されたらまず赤痢アメーバと考えてよいと思われる。

血清学的診断法はアメーバ性肝膿瘍においては、特異性や感度に優れた診断法として優先すべき方法との考えがあり¹¹⁾、臨床的にアメーバ性肝膿瘍が疑われ、血清抗体価が高い場合には、アメーバが確認されなくても駆虫薬での治療が開始されることが多いといわれている⁶⁾。しかし、本症例のように発病初期では陰性で、治療後かなりたってから強陽性を示す例もあり、血清抗体価が陰性であっても必ずしもアメーバ性肝膿瘍が除外できないことも指摘されている⁶⁾。

顕微鏡下に赤痢アメーバを同定し確定診断する方法としては、特異抗体を用いた免疫組織化学的染色法が

あり²⁾、市販の赤痢アメーバ原虫に対するモノクローナル抗体を用いるか、血清抗体価高値の患者血清を一次抗体として用いる方法がある^{1,2)}。今回、われわれは市販の抗赤痢アメーバ抗体を用い細胞診標本で免疫染色を行ったが、アメーバは強陽性を示し、組織球や変性した肝細胞との鑑別は容易であった。細胞診用のエタノール固定標本やパパニコロウ染色標本からも免疫染色は可能であり、本症例のように生鮮標本中には運動性アメーバが検出されず、血清抗体価も陰性のアメーバ性肝膿瘍例では免疫染色を併用した細胞診は有用と考えられる。なお、セルブロックからの免疫染色は有用であり、充分量の検体が提出された場合にはセルブロックを作製しておく必要があると思われる。

現在、わが国の赤痢アメーバ患者の約半数以上が同性愛者で、エイズに合併する頻度が高く日和見感染症としての側面も指摘されている¹⁾。しかし、本症例の患者は同性愛者ではなく HIV 抗体検査も陰性であった。感染源の特定は困難であるが8ヵ月前の中国渡航での感染の可能性が疑われた。

肝膿瘍例においては、膿の外観や血清抗体価にとらわれず、また下痢症状や内視鏡的にも腸アメーバ症の所見が認められなくても、アメーバ性肝膿瘍を念頭ににおいて対処することが重要と思われる。

Abstract

Background : Amebic liver abscess (ALA) is commonly diagnosed by detecting moving ameba and serological tests. Few reported ALA cases were diagnosed based on cytology.

Case : A 49-year-old man admitted with a high fever and abdominal pain was found in ultrasonography and computed tomography to have an intrahepatic abscess. ALA was suspected because he had traveled to China. After medication with an anti-protozoal agent, a gray yellowish-colored aspirated material from the lesion was inspected by phase-contrast microscopy. Culture and serological tests were done but *Entamoeba histolytica* (EH) was not detected. Cytological examination was done with the same material and trophozoites of EH associated with abundant necrotic cellular debris, degenerated hepatocytes, and mixed inflammatory cells with Charcot Leiden crystals were observed. EH had small vesicular nuclei and vacuolated cytoplasm containing some phagocytosed red blood cells. The diagnosis

was confirmed by immunostaining using anti-EH antibody on the cytological specimen.

Conclusion : Although our case was unusual from the gross appearance of aspirated material and the negative serological result, EH with typical staining by Papanicolaou and periodic acid-Schiff was observed in the cytologic specimen. Immunostaining for EH was considered very useful for confirming the diagnosis of ALA.

文 献

- 1) 堤 寛. 感染症病理アトラス. 原虫感染症, 赤痢アメーバ症. 東京: 文光堂, 2000: 216~219.
- 2) 小林正規, 竹内 勤. 微生物感染症検査, 免疫学的検査, 原虫感染症, 赤痢アメーバ. 検査と技術 (増刊号) 1999; 27: 902~905.
- 3) 熊澤鈴子, 池田征幸, 花岡香織, 上田真理江. 細胞診検査からみた赤痢アメーバの1症例. 医学検査 (資料) 2001; 50: 1232~1235.
- 4) 雲類鷲恭子, 原 秀俊, 中川晴夫, 船越尚哉, 藤原 明, 中川真也・ほか. アメーバ性肝膿瘍の1例. 日臨細胞誌 1990; 29: 68~69.
- 5) 根本則道, 小松京子, 関 利美, 斎藤俊夫, 稲庭義巳, 絹川典子・ほか. アメーバ性肝膿瘍の1例—胸水細胞像ならびに組織像について—. 日臨細胞誌 1991; 30: 1098~1102.
- 6) 清水利恭, 高橋 央, 若林なおみ (訳). 熱帯医学 Medical Tropicale. 東京: 中山書店, 1997: 164~178.
- 7) 高田季久, 井関基弘, 木俣 薫, 加藤真由美. 赤痢アメーバ症—疫学的考察および診断—, 話題の原虫感染症. 臨床と微生物 (特集) 1987; 14: 415~422.
- 8) Water, E., Armstrong, J. Disorders of the liver, Diagnostic cytopathology, Gray W ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1995: 353~401.
- 9) 北村政次, 小野寺時夫, 増田剛太, 田島 強, 中村毅志夫, 早川和夫. アメーバ性肝膿瘍の臨床的検討. 最新医学 1983: 543~548.
- 10) Silverman, J., Geisinger, K. Fine needle aspiration cytology of the liver and pancreas, surgical pathology and cytopathology, Silverberg SG ed. New York: Churchill Livingstone, 1997: 1941~1996.
- 11) 小林 潤, 新里 敬. 感染症とその治療 (後編) —赤痢アメーバ症—. 最新医学 1999; 54: 215~222.