症 例

造血幹細胞移植後尿中にアデノウイルス 11 型感染細胞を認めた
成人 T 細胞性白血病 (ATL) の 2 例雪の聖母会聖マリア病院病理部細胞診¹⁾, 同 遺伝子診断部²⁾伊藤 園江¹⁾ 大田 喜孝¹⁾ 原武 晃子¹⁾ 中野 祐子¹⁾大田 桂子¹⁾ 榎田 明美¹⁾ 中村 康寛¹⁾ 沼田 早苗²⁾

背景：白血病で造血幹細胞移植後出血性膀胱炎を引き起こし、尿中にアデノウイルス (ADV) 11 型感染細胞が出現した 2 例を経験したので報告する。

症例：症例 1 は 38 歳、男性で、成人 T 細胞性白血病 (ATL) にて骨髓移植後の例。症例 2 は 58 歳、女性で、ATL にて末梢血幹細胞移植後の例である。2 例とも出血性膀胱炎を起こし、尿の polymerase chain reaction 遺伝子解析 (PCR) 法にて ADV11 型が検出された。尿の細胞形態は、1) 出血を背景に壊死物質、壊死細胞を認めた、2) 感染細胞の多くの核は全体を不鮮明な核内封入体で占められ、くすんだヘマトキシリンに染色されて認められた、3) これらの感染細胞の核形は類円形のほかにひょうたん型、半月型、涙型、腎形、長楕円形など多彩な形状を示した、4) 感染細胞は孤在性の出現のほかに集団を形成して認めた、5) 少数ながらふくろうの目状核内封入体細胞の出現、を特徴とした。症例 1 の剖検組織では腎盂、尿管、膀胱にかけて移行上皮細胞はすべて脱落剥離し、間質がむき出しとなり出血所見と著明な異型リンパ球の浸潤を伴っていた。腎実質組織では壊死と出血とともに、尿細管上皮細胞に多くの好塩基性の核内封入体細胞を認めた。同、腎組織の電顕では尿細管上皮細胞の核内と細胞質の一部に散在して 70~80 nm の六角形のウイルス粒子が観察された。

結論：ADV11 型が臨床的に高率に出血性膀胱炎を引き起こすことや、尿中に出現するその特徴的な感染細胞の細胞形態を認識することで、ADV 感染細胞を推定することは可能と思われた。

Key words : Adenovirus type 11 — Urinary cytology — Hemorrhagic cystitis — Immuno-compromised state — Adult T cell leukemia

Adenovirus type 11 infected cells of two patients of ATL (Adult T cell leukemia) treated by stem cell transplant

Sonoe ITOH¹⁾, C.T., I.A.C., Yoshitaka OHTA¹⁾, C.T., I.A.C., Akiko HARATAKE¹⁾, C.T., I.A.C., Yuko NAKANO¹⁾, C.T., I.A.C., Keiko OHTA¹⁾, C.T., I.A.C., Akemi UMEDA¹⁾, C.T., I.A.C., Yasuhiro NAKAMURA¹⁾, M.D., Sanae NUMATA²⁾, M.T.

¹⁾Department of Cytology & Pathology, ²⁾Department of Medical Genetics, St. Mary's Hospital

論文別刷請求先 〒830-8543 福岡県久留米市津福本町 422 雪の聖母会聖マリア病院病理部細胞診 伊藤園江

平成 15 年 7 月 14 日受付

平成 16 年 3 月 15 日受理

I. はじめに

近年、白血病治療に造血幹細胞移植が盛んに行われるようになり、それに伴う免疫抑制剤の使用によりウイルス感染対策はますます重要となってきた。このような背景のなかで、喀痰や尿中の細胞診によるウイルス封入体細胞の形態学的検出は、ウイルス分離、遺伝子解析とともにウイルス感染を診断するうえで重要となってきた。しかし今日まで、herpes simplex

virus (HSV), cytomegalo virus (CMV), Human polyoma virus の一つである BK virus (BKV) 感染では, その細胞形態学的所見はおおむね確立されつつあるが, Adenovirus (ADV) に関する細胞学的報告はわれわれの知るかぎりではほとんどみられない. 今回白血病治療中の尿中に ADV11 型感染細胞が出現した2例を経験したので, その特徴ある細胞形態とともに遺伝子解析, 症例1の剖検組織所見, 電顕所見を併せて報告する.

II. 症 例

症例1

患 者: 38歳, 男性.

主 訴: 心窩部不快感, 腹部膨満感, 倦怠感.

家族歴: 兄29歳時にATL発症, 姉ATLキャリアー.

現病歴: 平成10年9月, 心窩部不快感を認め某病院を受診した. 胃内腫瘍, 腹腔内リンパ節腫大, 胸腹水を指摘され, 胃癌の疑いにて同院外科に入院となるが, 11月に腹水細胞診にてATLL (adult T cell leukemia/lymphoma) と診断された. 平成11年6月10日まで化学療法を施行するも, 胃内病変が増悪傾向を示し, 平成11年6月23日骨髓移植目的にて当院血液内科紹介入院となった.

臨床経過: 7月26日から移植前処置 (Total: 全身放射線照射 13.2 Gy, cytarabine 22.4 g, cyclophosphamide 8 g) を施行後, 7月30日に非血縁者間の骨髓移植が施行された. 移植後17日後より出血性膀胱炎症状が出現した. 26日後に骨髓生着を確認した. 31日後, 腎障害, 高熱, 精神症状が出現した. 37日後にgraft versus host disease (GVHD) Grade II と診断された. 47日後, 下血が出現した. 55日後, GVHD Grade III, 高ビリルビン血症, 腎不全, 血尿を認めた. 60日後, 白血球数の減少が出現した. 71日後, MRSA 敗血症, 甲状腺クリーゼが出現し, 腎不全はさらに悪化した. 75日後, 代謝性アシドーシス, 心停止にて永眠し, 剖検が許可された.

症例2

患 者: 58歳, 女性.

主 訴: 体幹部皮疹.

家族歴: 姉がATLキャリアー.

既往歴: 21歳虫垂炎, 29歳, 33歳時に帝王切開出産.

現病歴: 平成11年12月ATL発症. 3ヵ月間の加療にて軽快退院した. 外来にて治療継続中に両下腿に皮疹, 左下腿に腫瘍, 左腋窩リンパ節腫脹, 体幹部皮疹が出現し, 平成13年12月再入院となった.

臨床経過: 化学療法, DeVic 療法を施行するも効果なく, 全身リンパ節腫脹を認めたため, 移植前処置 (Total: 全身放射線照射 8.0 Gy, cyclophosphamide 3.4 g) 後, 平成14年4月1日血縁者からの末梢血幹細胞移植が施行された. 移植後9日後より肺炎 (結核菌 Guffky 2号) と心不全症状が出現した. 結核菌は経過とともに喀痰のPCR法で陰性化した. 移植後15日後から出血性膀胱炎が, 26日後より皮疹が出現した. 70日後にはrecipientの細胞が84%に増加するとともに白血球中にATL細胞が増加し, ATL再燃増悪と診断した. 81日後, 意識障害などの中枢神経症状が出現し永眠した.

III. 尿中ウイルス検出経過

尿のウイルス検出はADV11型, CMV, BKV, JC virus (JCV) の遺伝子解析がPCR法にて定期的に施行された (Photo. 1). JCVはBam HIにてBKVと区別した.

症例1は移植後の出血性膀胱炎の症状に一致して尿中のPCR法でBKVとADV11型が検出され, BKVは速やかに陰性化した. ADV11型の陽性は持続し, ウイルス分離培養でもADV11型が同定された (Fig. 1). 症例2は末梢血幹細胞移植後15日目から出血性膀

M=Marker N=Negative control P=Positive control S=Specimen
CMV-LA=Cytomegalo virus late antigen. ADV11=Adenovirus type 11
CMV-IE=Cytomegalo virus Immediate early antigen. BKV=BK virus

Photo. 1 PCR yielded positive bands corresponding to the 518 base pair in ADV type 11 (case 2).

Blood	CMV antigenemia	- -	-	1 / 30000	3 / 34000	16 / 51000	58 / 34000
Urine	ADV (shell vial)				+	+	+
	ADV11 (PCR)				+	+	
	ADV11 (isolation)						+
	CMV-IE (PCR)				-	-	-
	BKV (PCR)				+	+	-
	HSV (PCR)				-	-	-
	Cytology						
Conditioning				Day 40		Day 70	
BMT							Autopsy

Abbreviations : BMT, Bone marrow transplantation ; ADV11, adenovirus type 11 ; CMV-IE, cytomegalo virus immediate early antigen ; BKV, BK virus ; HSV, herpes simplex virus

Fig. 1 Studies of opportunistic pathogen (case 1)

Blood	CMV antigenemia	- -	-	1 / 23000	1 / 37000	3 / 29000	1 / 18000
Sputum	Tb (PCR)	-		+	+		-
	CMV-IE (PCR)			-	-	-	-
	P. carinii (PCR)			-	-	-	-
	HSV (PCR)			-	-	-	-
Urine	ADV11 (PCR)	-		+	+	+	+
	CMV-IE (PCR)	-		-	-	-	-
	BKV (PCR)	-		-	-	-	-
	HSV (PCR)	-		-	-	-	-
	Cytology						
Conditioning				Day 40		Day 70	
Allo-PBSCT							Death

Abbreviations : Allo-PBSCT, allogenic peripheral blood stem cell transplantation ; Tb, tuberculous ; CMV-IE, cytomegalo virus immediate early antigen ; P. carinii, pneumocystis carinii ; HSV, herpes simplex virus ; ADV11, adenovirus type 11 ; BKV, BK virus

Fig. 2 Studies of opportunistic pathogen (case 2)

膀胱炎が出現した。同時にPCR法でADV11型が検出された (Fig. 2)。

IV. 細胞所見

症例1では出血性膀胱炎症状がみられて27日目、33日目、50日目に、症例2では1日目、4日目に尿細胞

診を施行した。いずれの尿にも血液成分とともに多くの壊死細胞を認め、核腫大し、核内全体にくすんだ不鮮明の封入体をもつ感染細胞を認めた。感染細胞の一部は壊死に陥り、核、細胞質ともにライトグリーンに染色されて認められた。散在した保存のよいADV感染細胞はBKV感染細胞に類似するが、BKV感染細胞が均一で明瞭なすりガラス状核内所見を呈するのに対

Photo. 2 Characteristic features of ADV-infected cells on Papanicolaou staining are mild nuclear enlargement, smudge basophilic inclusion filling the nucleus (smudge cells), and necrotic cells containing poorly preserved nuclear inclusion. The nucleus may be round or not (L: case 1 $\times 60$, R: case 2 $\times 100$).

Photo. 3 ADV-infected cells exist as cell clusters (case 1 $\times 40$).

Photo. 4 A small number of infected cells possess haloed intranuclear inclusion bodies and margination of chromatin (Cowdry type A intranuclear inclusion) (case 2 $\times 100$).

し、ADV 感染細胞はそれより細胞の大きさが小型で核はヘマトキシリンにくすんで染色された。核形は類円形のほか、ひょうたん型、半月型、涙型、腎形、長楕円形など多彩な形状を呈した (Photo. 2)。これらの細胞は集団を形成するものも多くみられた (Photo. 3)。また少数ながらふくろうの目状核内封入体細胞も認めた。しかし大きさは CMV 感染細胞に比較的小型で、封入体が不整形を示し、ADV 感染細胞の変化した形態と考えられた (Photo. 4)。

V. 剖検病理組織所見

症例 1 のみ剖検が施行された。剖検腎実質は肉眼的に強い出血所見を認め、腎盂部は拡張し、腎盂から膀胱にかけて凝血塊が詰まり、膀胱タンポナーゼの状態

であった。病理組織所見では腎盂、尿管、膀胱にかけて移行上皮細胞はすべて脱落剥離し、間質がむき出しとなり出血所見と著明な異型リンパ球の浸潤を認めた。腎実質組織においても強い壊死と出血所見を認め、また間質への著明な異型リンパ球の浸潤を伴っていた。これら異型リンパ球は、免疫組織化学染色で T 細胞と B 細胞が混在しており ATL の浸潤とは診断できなかった。ADV 感染細胞は主として近位尿管上皮細胞に多数みられ、好塩基性核内封入体が核全体を占め、くすんだヘマトキシリン色を呈した。これらの細胞は“smudge cells”と称されており、核形は一定せず多彩な形状を呈した (Photo. 5)。感染細胞の一部は封入体が核中心にありふくろうの目状を呈し、

“Cowdry type A” 封入体と称されている (Photo 5 : inset). 腎組織に CMV (DAKO), BKV (Novo casta) の抗体を用いて免疫組織化学染色を行ったが、

Photo. 5 Renal tissue from the autopsy in case 1. Histology of the kidney shows marked necrosis, bleeding, and many smudge nuclear inclusion bodies in renal tubular epithelial cells (smudge cells). Hematoxylin and eosin staining ($\times 20$). Inset : Cowdry type A intranuclear inclusion. This type of inclusion body showed an “owl eye” appearance. Hematoxylin and eosin staining ($\times 40$).

すべての感染細胞に陽性像は得られなかった。腎、膀胱組織の PCR 法によるウイルス検索で ADV11 型が検出された。肺と甲状腺には多くの真菌がみられ、培養で *Candida albicans* が同定された。肝臓には感染はみられないものの、軽度の胆汁鬱滞とグリソン鞘のリンパ球浸潤などの GVHD を示唆する所見がみられた。

VI. 電顕所見

症例 1 の剖検腎組織の電顕検索では、変性した尿細管上皮細胞の核内と細胞質内の一部のオルガネラの間 に散在して 70~80 nm の六角形のウイルス粒子を認めた。ウイルス粒子の大きさと形状から、ADV のウイルス粒子であることが確認できた (Photo. 6)。

VII. 考 察

ADV は現在 49 型の血清型が知られており、急性熱性咽頭炎 (1, 2, 5, 7 型)、咽頭結膜熱 (3, 4, 7, 14 型)、成人肺炎・気管支炎 (4, 7 型)、乳幼児肺炎・細気管支炎 (3, 7 型) などの急性気道感染症のほかに、流行性角結膜炎 (8, 19, 37 型)、急性ろ胞性結

Photo. 6 Electron microscopic examination of tubular epithelial cells showed intranuclear crystalline arrays of ADV particles 70 to 80 nm in diameter. Viral particles are scattered randomly in the cytoplasm (case 1, $\times 8000$). Inset : Higher magnification of viral crystals showing hexagonal viral particles ($\times 30000$, Bar=100 nm)

膜炎 (3, 4, 7 型), 小児胃腸炎 (2, 3 型), 乳幼児下痢症 (40, 41 型), 出血性膀胱炎 (11, 21 型) など多彩な病型の存在が知られている¹⁾。

ADV の初感染は小児期に多く, これらのほとんどは急性に経過し自然治癒するが, 不顕性持続感染に移行することがあり, 外科的に摘出された扁桃組織の 50% 以上に, また腎やリンパ球からもしばしば分離されることから, 生涯にわたって潜伏感染することが知られている²⁾。造血幹細胞移植後の患者における ADV の感染は日和見感染が考えられ³⁾, 特に ADV11 型は, 免疫不全状態の患者において BKV とともに出血性膀胱炎を惹起するウイルスとして知られている^{4, 5)}。ADV11 型による出血性膀胱炎は特に出血と膀胱刺激症状が強く, 遅延型で移植後 1~4 ヶ月に多いとされ, 非血縁者間移植で高頻度にみられる⁶⁾。

組織学的には BKV 感染が膀胱をはじめ腎盂, 尿管などの移行上皮細胞に感染細胞の報告をみるのに対し^{7, 8)}, ADV 感染の組織学的報告は肺, 肝などにおいてみられるが^{9~12)}, ADV11 型に関する報告は少なく, Ito ら¹³⁾ が剖検 10 例の出血性壊死性腎炎について詳細な報告を行っている。いずれの報告もその形態は高度の壊死と出血を伴い, 気管支上皮細胞, 肺胞上皮細胞, 肝細胞, 腎尿管上皮細胞に好塩基性核内封入体細胞を認めることで見解が一致している。Ito ら¹³⁾ の出血性壊死性腎炎の組織学的報告は, 腎実質の著しい壊死, 出血所見とともに尿管上皮細胞に感染細胞を認め, 核縁が不明瞭で一見変性細胞様にみえる“smudge cells”と不整形封入体が核中心にみられる“Cowdry type A”封入体細胞の出現を特徴として述べている。また, これらの症例のなかには前立腺, 膀胱にも感染細胞を認めており, 出血性壊死性腎炎の起因を出血性膀胱炎からの ADV の上行感染をあげている。われわれの経験した症例 1 の剖検組織では腎盂から膀胱, 尿道の一部まで粘膜が剥離していたため, 移行上皮細胞への感染は確認できなかったが, 腎実質組織では, Ito ら¹³⁾ と同様に著しい壊死, 出血所見と著明な異型リンパ球の浸潤を伴い, 尿管上皮細胞に多くの“smudge cells”といくらかの“Cowdry type A”封入体細胞が観察された。電顕所見では ADV は BKV と同じようにウイルス粒子は正二十面体を呈し, 電顕所見では両者とも六角形の粒子として観察されるが, BKV が直径約 40 nm であるのに対し, ADV は 80 nm と約 2 倍の大きさを呈し¹⁰⁾, その鑑別は十分に可能であった。しかし, 電顕によるウイルス粒子観察

は確実ではあるが時間や設備を必要とし, 臨床に即した検出法とはいいがたい。今回 ADV11 型の検出には CMV, BKV, JCV とともに PCR 法が簡便な検出法として有用であった。

細胞形態学的には, 尿中に出現した ADV 核内封入体細胞の一部は BKV 感染細胞に類似し, ふくろうの目状核内封入体細胞は CMV 感染細胞に類似したが, ADV 感染細胞のほうがより小型で核縁が不明瞭, 核内が透明感がなく不鮮明であった。今回の検索で 2 例の細胞形態の共通点は以下のとおりだった。1) 出血と同時に壊死物質や壊死細胞を認めること, 2) 感染細胞の核内封入体がくすんだヘマトキシリン染色性を呈し不鮮明であること, 3) これらは核形が多彩なこと, 4) 集団でも観察されること, 5) 少数ながらふくろうの目状封入体細胞もみられることなどから, 光顕レベルでも注意深く強拡大で観察することで ADV 感染細胞の鑑別は可能と考えられた。

Abstract

Background : We reported two immunocompromised patients treated for leukemia who developed hemorrhagic cystitis caused by ADV type 11 infection.

Cases : The first patient was a 38-year-old man with ATL after bone marrow transplant. The second was a 58-year-old woman with ATL treated by stem cell transplant.

Adenovirus (ADV) type 11 was detected by PCR from urine in both cases.

Histologically (case 1), the kidney showed tubuli with smudge basophilic inclusion in mildly enlarged nuclei, prominent necrosis, and atypical lymphocytes infiltration.

An electron microscopic examination of renal tissue in case 1 showed hexagonal viral particles 70 to 80 nm in diameter both in the nucleus and cytoplasm.

Cytologically, bleeding and necrosis were observed in the background in both cases. Each infected cell contained a large basophilic homogeneous intranuclear inclusion body : smudge cells. Smudge cells featured single cells and cell clusters. A small number of infected cells had an “owl eye” appearance : Cowdry type A.

Conclusion : A careful observation with knowledge of characteristic features of ADV type 11 infected cells leads to an appropriate diagnosis.

文 献

- 1) 向山淳司. 診断・治療と遺伝子検査アデノウイルス. 臨床と微生物 1999 ; 26 : 678~689.
 - 2) 井村裕夫・ほか. 最新内科学大系 ウイルス感染症. 東京 : 中山書店, 1994 : 126~132.
 - 3) 堤 寛・ほか. 感染症病理アトラス. 東京 : 文光堂, 2000 : 136~138.
 - 4) 大原雄二, 白石泰介, 脇口 宏, 喜多村 勇. Virus Associated Hemophagocytic Syndrome (VAHS) を合併しCMV, adenovirus type 11の持続排出のみられたT-ALLの一例. 小児科臨床 1986 ; 39 : 272~276.
 - 5) Ghez, D., Oksenhendler, E., Scieux, C., Lassoued, K. Hemorrhagic cystitis associated with adenovirus in a patient with AIDS treated for a non-Hodgkin's lymphoma. Am J Hematol 2000 ; 63 : 32~34.
 - 6) 上田龍三. プラクティカル内科シリーズ11 造血器腫瘍 : 白血病・悪性リンパ腫・多発性骨髄腫—治療をめざした診断・治療の実践. 東京 : 南江堂, 2001 : 121.
 - 7) Shinohara, Y., Matsuda, M., Cheng, S.H., Marshall, J. BK virus infection of the human urinary tract. J Med Virol 1993 ; 41 : 301~305.
 - 8) Itoh, S., Irie, K., Nakamura, Y., Ohta, Y., Haratake, A., Morimatu, M. Cytologic and genetic study of polyomavirus-infected or polyomavirus-activated cells in human urine. Arch Pathol Lab Med 1998 ; 122 : 333~337.
 - 9) Zahradink, J.M., Spencer, M.J., Porter, D.D. Adenovirus infection in the immunocompromised patient. Am J Med 1980 ; 68 : 725~732.
 - 10) Abbondanzo, S.L., English, C.K., Kagan E., McPherson, R.A. Fatal adenovirus pneumonia in a newborn identified by electron microscopy and *in situ* hybridization. Arch Pathol Lab Med 1989 ; 113 : 1349~1353.
 - 11) Koneru, B., Jaffe, R.E., Squivel, C.O., Kunz, R., Todo, S., Iwatsuki, S., et al. Adenoviral infections in pediatric liver transplant recipients. JAMA 1987 ; 258 : 489~492.
 - 12) Otori, N.P., Michaels, M.G., Jaffe, R., Williams, M.P., Yousem, S.A. Adenovirus pneumonia in lung transplant recipients. Human Pathol 1995 ; 26 : 1073~1079.
 - 13) Ito, M., Hirabayashi, N., Uno, Y., Nakayama, A., Asai, J. Necrotizing tubulointerstitial nephritis associated with adenovirus infection. Human Pathol 1991 ; 22 : 1225~1231.
-