

症 例

単純ヘルペスウイルス肺炎の一症例  
—細胞学的特徴と細胞診標本から抽出された核酸を使った  
Polymerase Chain Reaction (PCR) による同定—

病理センター、細胞診断室：細胞検査士<sup>1)</sup>、細胞診指導医<sup>2)</sup>  
遺伝子診断室（中越遺伝子診断研究会）：臨床検査技師<sup>3)</sup>、病理医<sup>4)</sup>

伊藤 保<sup>1)</sup>、長谷川秀浩<sup>3)</sup>、杵渕 典子<sup>1)</sup>、石澤 重一<sup>1)</sup>  
片桐 丘充<sup>1)</sup>、小杉 久良<sup>1)</sup>、大橋 珠紀<sup>1)</sup>、五十嵐俊彦<sup>2)4)</sup>

背景：ウイルス性肺炎は小児の中で頻度の高いものであり、また後天性免疫症候群（AIDS）や免疫抑制状態の患者の日和見感染としてしばしば認められる。それゆえ、ウイルスを同定することは診断上重要であると考えられる。症例：47歳、女性、胸部X線撮影でS<sup>10</sup>～S<sup>6</sup>に集塊状陰影あり、また全肺に散布性の粒状影もあり、画像状は肺癌を強く疑うがはっきりせず。精密検査のため気管支鏡を施行し、キュレットと洗浄を行い、細胞診で核内封入体を持ったウイルス感染によると考えられる細胞を認めた。そのため、ウイルス同定の目的に、PCRを行った。考察：細胞学的にヘルペスウイルス感染を疑い、PCR法により単純ヘルペスウイルス核酸（herpes simplex virus-deoxynucleic acid, HSV-DNA）を検出し、ヘルペスウイルスと同定された。PCR法はウイルス感染症の診断に有効であると考えられた。

キーワード：核内封入体、ヘルペスウイルス感染細胞、細胞診標本からの核酸抽出、Polymerase Chain Reaction (PCR)

緒 言

上気道に感染するウイルスは多数あるが、下部気道、肺の感染をきたすものは少ない。しかしウイルス性肺炎小児の中で頻度の高いものである。また、後天性免疫症候群（AIDS）や免疫抑制状態の患者の日和見感染としてしばしば認められる<sup>1)</sup>。それゆえ、ウイルスを同定することは、診断、治療上重要であると考えられる。

今回、われわれは気管支キュレッタージおよび気管支洗浄の細胞診で腺癌を疑う異型細胞とともに核内封入体をもった細胞が出現し、ウイルス感染を疑うが、細胞学的形態だけでは確定診断はできず、Polymerase chain reaction (PCR) 法により遺伝子解析を実施し、同定を試みたので報告する。

症 例

年齢：47歳  
性別：女性  
現病歴

胸部X線撮影でS<sup>10</sup>～S<sup>6</sup>に集塊状陰影あり、また全肺に粒状影もあり、CEA 60、ツベリクリン反応10×12 mmであった。画像上は肺癌を強く疑うが、小粒状影は結核か癌転移かはっきりせず。精密検査のため気管支鏡を施行、B<sup>10</sup>入口部は狭窄しており、その部位をキュレットと洗浄をおこなった。

喀痰、尿、血液、いずれも結核菌は陰性であった。

細胞学的所見

多数の気管支上皮と少数の白血球や塵埃細胞などの見られる背景に無構造な核を持った細胞（写真1）や核内に好酸性の封入体を持った細胞（写真2）が多数認められた。また、多核巨細胞化した細胞（写真3）も出現しており、ヘルペスウイルス感染を疑った。そのうえ、腺癌を疑う核小体明瞭で、核腫大し、クロマチン増量した異型細胞も認められた（写真4）。

組織学的所見

肺B<sup>10</sup>入口部とB<sup>6</sup>およびB<sup>8-10</sup>の突起部よりの肺生検にて、高分化管状腺癌、または細気管支肺胞上皮型腺癌と診断された（写真5）。

DNA抽出

顕微鏡下において、核内封入体を有する細胞を確認しながら27G注射針にてこれを探取し、フェノール／クロロホルム法によりDNA抽出を行った<sup>2)</sup>。

DNA解析

サイトメガロウイルスDNAの検出はAkrigg.A等<sup>3)4)</sup>により解析されたCMVの固有配列部分のなかで前初期 immediate-early (IE) の一部をコードするプライマーを用いて増幅される146 bpを標的領域とし、また、単純ヘルペスウイルスDNAの検出はHSV糖蛋白gBをコードする領域のなかで Domingues等<sup>5)</sup>により設定されたプライマーを用いて増幅される148 bpを標的領域としてPCR増幅を行った。その増幅産

物を12.5%アガロースゲルにより電気泳動を行いEtBr染色を施した後、UVイルミネーターを通し増幅産物へ確認を行った。その結果、(写真6)に示すようにHSV特異的蛋白増幅を示す148bpにバンドが認められた。

## 考 察

今回、我々は腺癌を疑う異型細胞とともに好酸性核内封入体を持った細胞の出現した症例を経験した。異型細胞は組織診断により腺癌由来と確定された。また、ウイルス感染によると考えられた核内封入体を有する細胞は、PCR法によりHSV-DNAを検出し、ヘルペスウイルス感染によるものと同定された。

細胞学的にヘルペスウイルス感染が疑われ、PCR法によりHSV-DNAを検出し同定することができた。PCR法は感度や特異性に優れた検査法であり、ウイルス感染の診断に有効であると考えられた<sup>6)</sup>。

最後に、本症例を提供していただいた上越総合病院内科中島先生に御礼を申し上げます。

## 文 献

- 1) 飯島宗一他編集、現代病理学体系、東京：中山書店、1993；14 A, 314
- 2) 日本臨床検査技師会ライブラリーXVI、臨床検査遺伝子・染色体検査教本、技術・操作編、DNA抽出27-33、近代出版1998年、日本臨床検査技師会編
- 3) Akrigg A, Wilkinson GW, Oram JD. The structure of the major immediate early gene of human cytomegalovirus strain AD 169. *Virus Res* 1985；2 (2)：107-21.
- 4) 長谷川秀浩、片桐丘充、五十嵐俊彦、Polmerase chain reaction (PCR) 法による病理組織からのCytomegalovirus (CMV) DNAの検出、新潟県厚生連医誌2003；12(1)：6-8.

- 5) Domingues RB, Lakeman FD et al: Application of competitive PCR to cerebrospinal fluid samples from patients with herpes simplex encephalitis, *J Microbiol* 36：2229-2234, 1998.
- 6) 杵淵典子他、サイトメガロウイルス感染症と鑑別困難であった核内封入体を示した1症例、新潟県厚生連医誌2003；13(1)：98-99.

## 英 文 抄 録

A case of herpes simplex virus pneumonia diagnosed by cytological nuclear inclusion and Polymerase Chain Reaction (PCR) with nucleic acid extracted from cytological specimen

Pathological Center, Laboratory of cytological diagnosis: Cytological technician<sup>1)</sup>, Advising doctor of cytological diagnosis<sup>2)</sup>, Laboratory of genetic diagnosis: Clinical technician<sup>3)</sup>, Pathologist<sup>4)</sup>

Tamotsu Itoh<sup>1)</sup>, Hidehiro Hasegawa<sup>3)</sup>, Noriko Kinefuchi<sup>1)</sup>, Shigekazu Ishizawa<sup>1)</sup>, Takamitsu Katagiri<sup>1)</sup>, Hisayoshi Kosugi<sup>1)</sup>, Tamaki Oohashi<sup>1)</sup>, Toshihiko Ikarashi<sup>2,4)</sup>

We experienced a case of herpes simplex virus pneumonia (HSV infection). Her chest simple X-ray film showed nodular shadows with surrounding diffuse military nodules, mimic to advanced lung cancer. Bronchoscopic curettage and regurgitation were done to obtain cytological specimens. Cytological intranuclear inclusion suggested virus infection. HSV infection was confirmed by PCR analysis with DNA extracted from cells attached on specimen glass. This PCR maneuver was very useful in a cytological study.

Key words: intranuclear inclusion, herpes simplex virus infection (HSV), nucleic acid extracted from cytological specimen, Polymerase Chain Reaction (PCR)

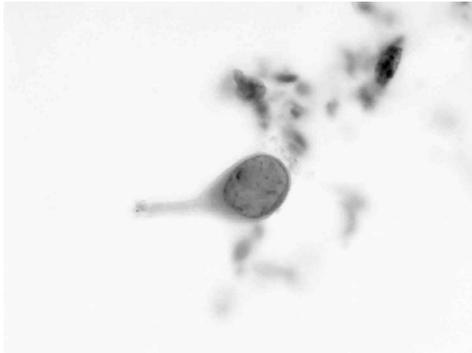


写真 1 パパニコロウ染色 (×60)  
スリガラス状 (無構造) の核を有する大きな細胞である。

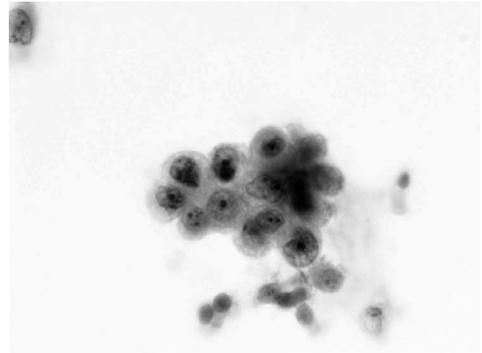


写真 4 パパニコロウ染色 (×60)  
核は腫大し、クロマチン増量しており、明瞭な核小体を有する。細胞質はライトグリーンに染まり、微細空胞をみとめる。

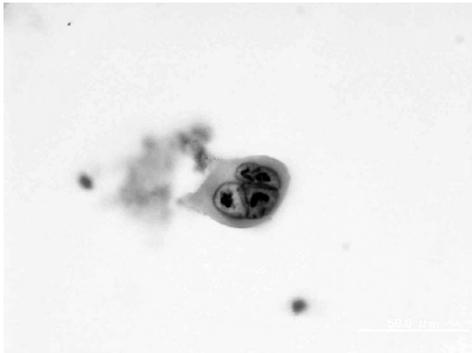


写真 2 パパニコロウ染色 (×60)  
好酸性の核内封入体を有し、核縁肥厚し、核の相互圧排像もみられる多核巨細胞である。

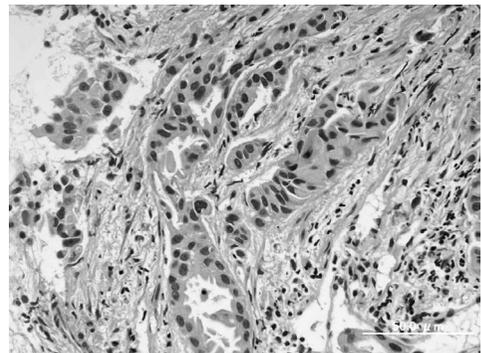


写真 5 ヘマトキシリン・エオジン染色 (×20)  
腺癌組織が管状を呈していると考えられる部分と肺胞上皮細胞を置換性に増殖していると考えられる部位も認められる。

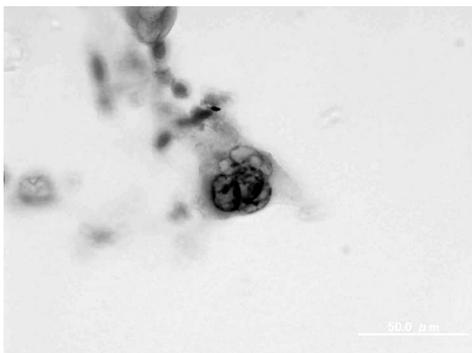
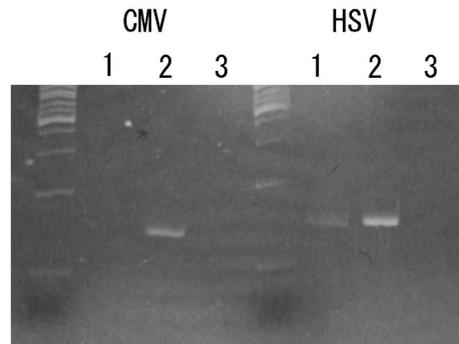


写真 3 パパニコロウ染色 (×60)  
核縁肥厚し、核の相互圧排像を示す多核巨細胞で、スリガラス状の核も認められる。



1:sample 2:p-con. 3:n-con.

写真 6 PCR. HSV-DNA の検出  
PCR-PAGE for virus infection  
CMV-DNA : Negative  
HSV-DNA : Positive