

図2 軟骨・骨破壊 (HE染色, 高倍率)
骨の周囲には破骨細胞(矢印)や単球, 線維芽細胞様細胞が増殖し, 骨を吸収する。

■ 病理

肉眼所見: RA は全身性疾患ではあるが, 標的臓器は全身の関節であり, 滑膜に始まった炎症は軟骨, 骨を破壊し(図1c; 赤く“なめこ”のようにみえるのが炎症性の滑膜で, これが軟骨, 骨を破壊し関節の破壊を引き起こす), 最終的には関節の変形をきたす(図1a)。一般にはX線の変化にしたがって, stage 1~4 に分類されるが, stage 1 は滑膜の炎症, stage 2 は軟骨の破壊, stage 3 は軟骨の消失, stage 4 は関節の強直である(図1b 参照)。

組織所見:

- ① RA の炎症の特徴は, 1) 滑膜組織の絨毛性増殖と表層細胞の多層化(図1c 参照), 2) 血管の新生, 3) リンパ球を主体とする炎症性細胞の浸潤, 4) 軟骨, 骨の破壊(図1d)を特徴とする。このなかで, RA では特に「パンヌス pannus」という言葉が重要である。パンヌスとは RA にみられる軟骨, 骨を破壊する炎症性の肉芽組織であり, このパンヌスの中に多彩な炎症性細胞とそれが産生する様々なサイトカインや蛋白分解酵素がみとめられる。なお, 骨破壊については破骨細胞はもちろんであるが, そのほかに単核細胞, 紡錘形の滑膜線維芽細胞なども関与していることが明らかになった(図2)。
- ② RA で血管炎や全身症状の強く現れる状態を悪性関節リウマチ malignant rheumatoid arthritis (MRA) とよぶ(次項参照)。
- ③ RA を特徴づける組織変化は, リウマチ結節で

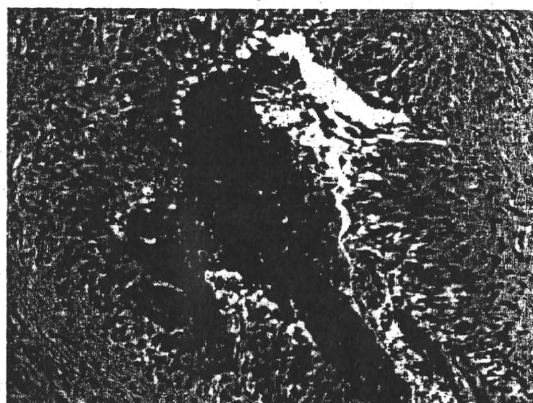


図3 リウマチ結節 (HE染色, 中倍率)
69歳, 男性。リウマチ関節炎で治療中に右前腕皮下に腫瘤が出現。腫瘤はリウマチ結節で, 壊死物質を中心に柵状に配列するマクロファージと周辺の線維の増生から構築されている。
[図: 長岡中央総合病院のご協力による]

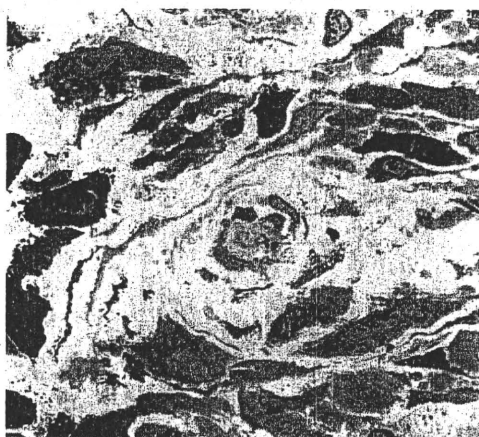


図4 電子顕微鏡像 (×1,000)

ある。リウマチ結節は肘, 後頭部などの物理的に刺激を受けやすいところにできる。組織学的には中心部に壊死を有し, 周囲を組織球性細胞が取り囲む(図3)。一見, 結核の肉芽腫に類似するが, リウマチ結節は中心部に免疫グロブリンや補体の沈着を示す。

電顕所見: 滑膜組織には紡錘形の形をとる線維芽細胞様滑膜細胞(図4)がみられるが, この細胞は形, 機能ともに多彩である。

X線所見: 膝の関節腔は消失し, 上下の骨がじかに接するようになり, 刺激によって反応性の骨形成がみられる(図1b)。

(澤井高志)

症例 156 発熱，末梢神経障害，血行障害

61 歳，男性。約 30 年前に関節リウマチを発症し加療されてきたが，熱発とともに四肢末端の知覚鈍麻と運動障害が出現し，両下腿後面に潰瘍を形成した。肺炎を併発して死亡した。剖検の結果，全身の臓器に図 1a~c のような所見がみとめられた。

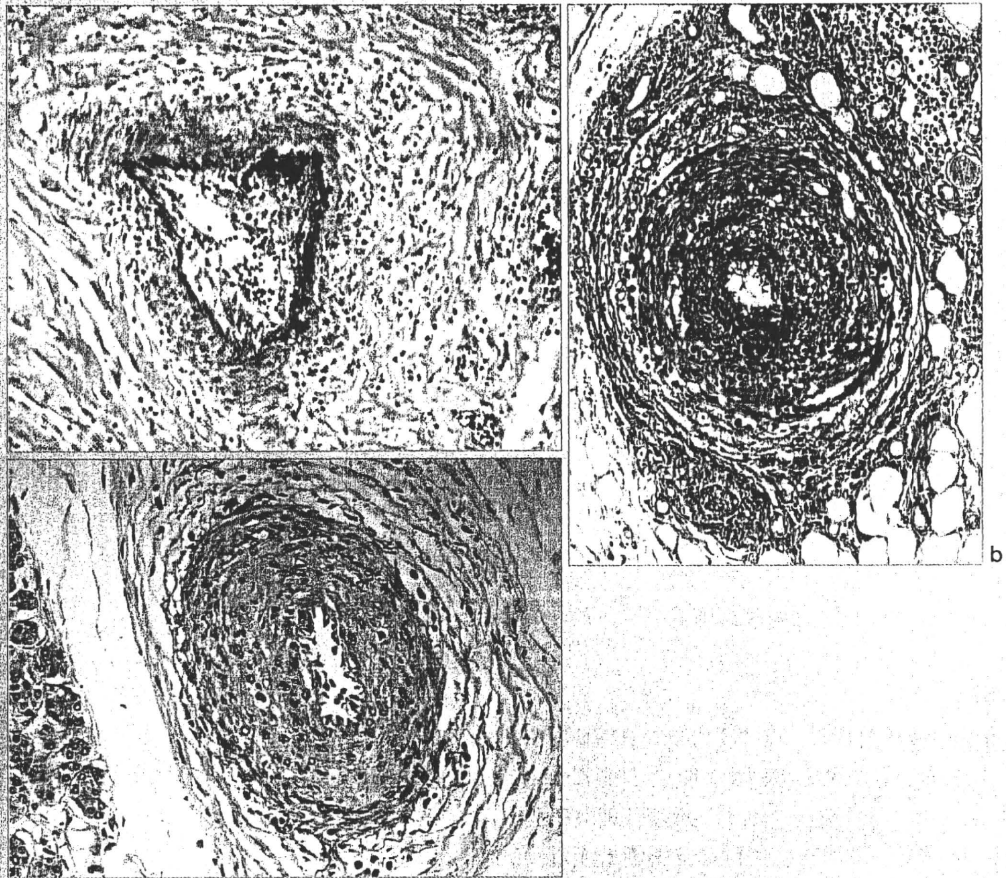


図 1
a 脾間質内のフィブリノイド型動脈炎(エラスチカ Goldner 染色，中倍率)
b 関節周囲筋組織内の汎動脈炎(HE 染色，中倍率)
c 顎下腺組織内の陳旧性の動脈炎(エラスチカ Goldner 染色，中倍率)

■ 診断

悪性関節リウマチ

malignant rheumatoid arthritis(MRA)

■ 定義・分類

血管炎を伴う関節リウマチ rheumatoid arthritis(RA)には，欧米では rheumatic vasculitis(RV)という用語が用いられている。この概念には，①

皮膚に微小血管炎を呈する場合，②多臓器にわたる関節外症状を示す全身性の系統的動脈炎を示し，生命予後の悪い場合，③四肢末端，皮膚の末梢性動脈炎を示し，多発性神経炎，皮膚潰瘍，指趾壊疽を示すものの生命予後は全体として良好な場合，が含まれている。このうち②，③について，日本では悪性関節リウマチ(MRA)の用語が一般化している。

■ 発症機序・病態生理

系統的動脈炎と同様、現在でも不明である。

■ 病理

肉眼所見：皮膚の血管炎はRA患者の1~5%の頻度で見られ、肉眼的には紫斑や紅斑を示す。一方、全身性動脈炎の大部分は、古典的な結節性多発動脈炎 polyarteritis nodosa (PN) とほとんど区別できない壊死性動脈炎を示す。PNと同様、中小の筋性動脈が標的となるが、PNよりは多少小型の動脈が侵される場合が多く、またPNと異なり、腎の動脈はそれほど障害されない。

組織所見：皮下組織内の小動脈、細動脈および細静脈、小静脈の小血管レベルでの壊死性血管炎の像を示す。ここでは、白血球破碎性血管炎 leukocytoclastic vasculitis として壊死性静脈炎の像や、フィブリノイド型の汎動脈炎として皮膚の

PNと区別できない像をとる。

一方、全身性動脈炎の病理組織像は、フィブリノイド壊死が顕著な血管炎(図1a)や、フィブリンの析出は少ないものの、炎症細胞浸潤が著しく、壁構造の破壊を伴う全層性の汎動脈炎(図1b)といった新鮮な血管炎の像、および陳旧化した血管炎の像として、壁構造の破壊とそれに引き続く線維化を示す像(図1c)や高度の内膜肥厚を呈し、器質化した血栓による閉塞を示す血栓性動脈炎がみとめられる。末梢性動脈炎は皮膚や筋の中にある小動脈の血栓性肉芽腫性動脈炎で始まり、次第に中、またはより太い動脈の血栓形成へと移っていく。この型が全身性動脈炎に移行することは少ない。

(菅野祐幸)



Box 2-1

薬剤アレルギー

■ 定義

薬剤性臓器障害の中には、直接細胞傷害を引き起こすものと薬剤あるいはその成分の一部が抗原となって、それに対する抗体がつけられ、次に薬剤が与えられたときに抗原抗体反応を起こし、その結果として生体に不利な反応が起こることをいう。後者の場合を薬剤アレルギーというが、鑑別は必ずしも容易ではない。

■ 症状と薬剤の関係

① 一般的な場合

薬剤アレルギーの場合、臓器としては、一般に皮膚を標的とすることが多いが、皮膚だけでなく全身臓器で見られる。ここでは以下に主なものとその特徴を列挙する。

- 肝臓：肝臓は胆汁うっ滞型と肝細胞傷害型に分けられる。
- 腎臓：急性間質性腎炎が主であり、発熱、発疹、好酸球増多症をみとめる。メチシリンは最も頻度が高い。病理学的には尿細管・間質に病変の主座があり、間質の浮腫や多核白血球・リンパ球・マクロファージなどの浸潤と、尿細管細胞の変性、脱落および尿細管の拡張や萎縮を呈する。
- 肺：喘息および浸潤反応をみとめる。好酸球性肺炎から急性肺浮腫まで組織は様々である。免疫学的機序による薬剤性肺炎は、抗原抗体反応による過敏性肺炎の様相が強い。
- 脳：全身痙攣発作、無菌性髄膜炎、視神経炎、末梢神経障害が起こる。
- 血管：薬剤性アレルギーで知られているのは毛細血管および細動脈、細静脈における白

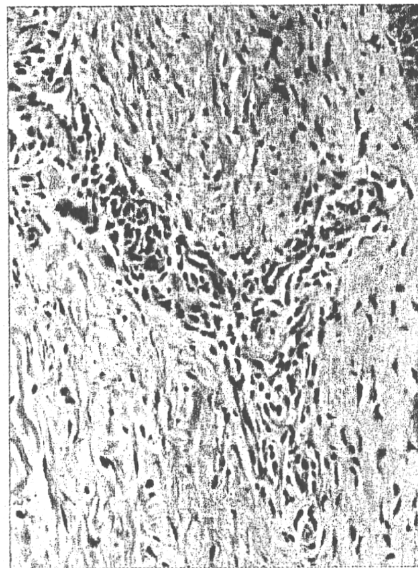


図1 白血球破碎性血管炎 (HE染色, 中倍率) 皮膚の小静脈にみられた例。

血球破碎性血管炎 leukocytoclastic vasculitis であり、過敏性あるいはアレルギー性血管炎の範疇に入る。

② 特殊な場合(薬剤性ループス)

プロカインアミドやヒドラジンのような薬物を長期にわたって投与すると、ループスのような症状が生じる。特にプロカインアミドを約6ヵ月以上にわたって投与されると、ほとんどの患者で抗核抗体が産生され、20%の患者でSLE様の症状を発症する。

■ 発症機序

薬剤によるアレルギー反応は Coombs & Gell により I～IV型に分類されているが、薬物アレ

ルギーの機序もこれに従って分けられる。その中で特に知られているのは、以下の3つである。

1. ペニシリンなどは、ハプテンとして血球表面に非特異的に反応して完全抗原になり、これに抗体が反応する場合がある。
2. キニン、フェナセチンは、抗体と反応して複合体をつくり、赤血球とは補体レセプターで結合してⅢ型アレルギー反応による溶血を起こす場合がある。
3. プロカインアミドなどのように核酸が傷害

されて放出され、それに抗体が形成され、免疫複合体を形成する場合もある。

■ 組織所見

白血球破砕性血管炎：薬剤性アレルギーでしばしばみられる。小さな血管(後毛細管小静脈)を中心として核の破片を伴う白血球の浸潤がみられる(図1)。

(澤井高志)



症例 353 Raynaud 現象

43 歳，女性。レイノー Raynaud 現象で発症，血清中の抗 U1-RNP 抗体高値，抗 Sm 抗体陰性。皮膚は硬化性浮腫の状態が持続し(図 1)，生検では図 1b に示すような所見を呈した。症状はあまり改善せず，嚥下障害もみられ，筋電図でも軽度の異常を指摘された。発症 8 年目ぐらいで動悸，息切れが出現，肺高血圧症と診断され，免疫抑制剤，ステロイド剤などの治療を試みたが，心不全にて死亡。

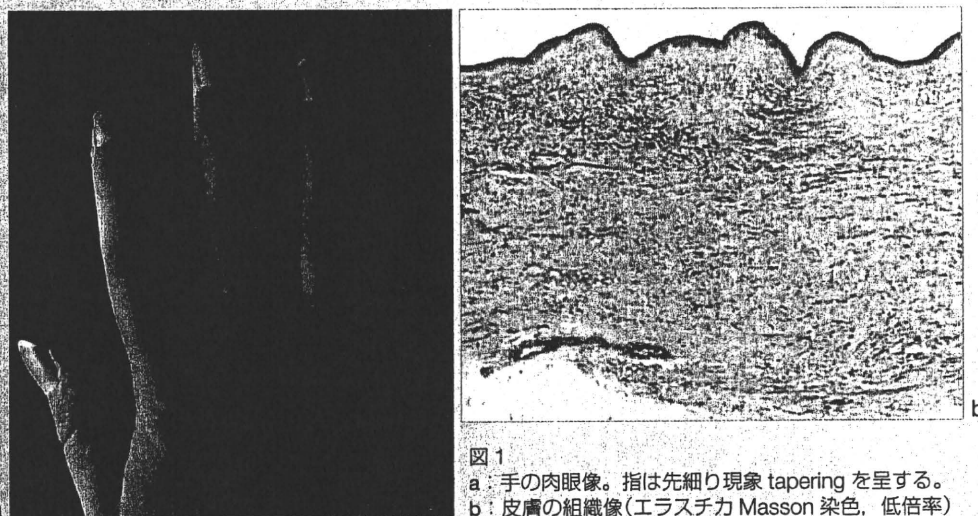


図 1
a: 手の肉眼像。指は先細り現象 tapering を呈する。
b: 皮膚の組織像(エラスチカ Masson 染色，低倍率)

■ 診断

混合性結合組織病

mixed connective tissue disease(MCTD)

■ 定義

1972 年 Gordon Sharp によって提唱された膠原病の 1 つで，SLE，全身性硬化症 systemic sclerosis(SSc)および多発性筋炎/皮膚筋炎 polymyositis/dermatomyositis(PM/DM)の部分症状と Raynaud 現象，さらに血清中の抗 U1-RNP 抗体が高値を示す。この疾患を SSc の亜型として捉え，その独立性について異論をはさむ研究者もいる。なお，1 つの疾患がいくつかの診断基準を満たすときはオーバーラップ症候群 overlap syndrome(OS)，いずれの診断基準も満たさない膠原病の場合は unclassified connective tissue disease(UCTD)とよばれる。

■ 病態生理

原因不明の自己免疫疾患。Raynaud 現象(症例 353 の「Keyword」と「参考」を参照)を特徴として，血清中の抗 U1-RNP 抗体の高値を特徴とし，そのほかに様々な自己抗体が陽性となるが，病態との関係は不明である。死因としては肺血管に高度の病変を伴う肺高血圧症が多い。

■ 病理

肺高血圧症が死因の大きな比重を占めているが，特に線維症がない場合，肺には一見変化が起こっていないようにみえる。直接死因となった肺では血管の線維性肥厚をみとめ(図 2a)，肺高血圧症の存在を示唆している。叢状病変 plexiform lesion をみとめる症例もあるが，まれである。太い肺動脈では高血圧の影響で壁のアテローム硬化が目立つ。食道や消化管には平滑筋の萎縮と線維化をみとめ，臨床的な嚥下障害に一致する像であ

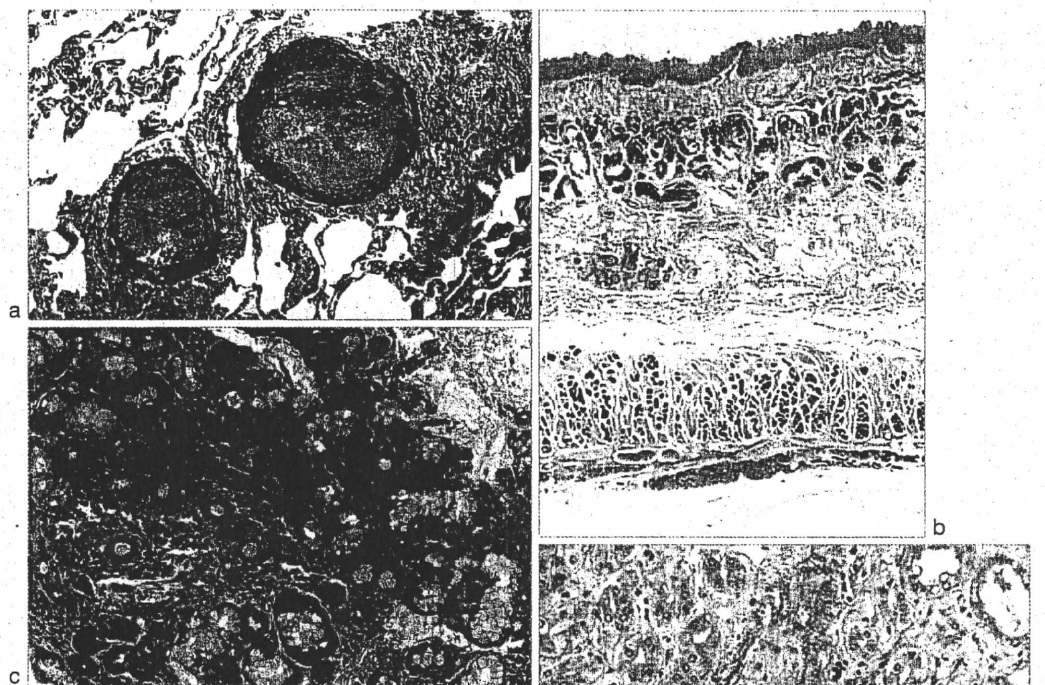


図2 肺中～小動脈の線維性内膜肥厚

- a: 肺: 肺高血圧症を伴う動脈病変。動脈の線維性の内膜肥厚を示す(MCTD では肺高血圧症が死亡の大きな原因となる)(エラスチカ Masson 染色, 中倍率)。
- b: 食道: 嚥下障害を伴う食道病変も本疾患の大きな特徴であり, 平滑筋線維の変性と線維化による食道壁の硬化がみられる(エラスチカ Masson 染色, 低倍率)。
- c: 唾液腺: 唾液腺炎。本疾患ではシェーグレン症候群様の症状がしばしばみられるが, 唾液腺にはリンパ球の浸潤と実質組織の萎縮をみとめる(HE 染色, 低倍率)。
- d: 腎臓: MCTD では比較的腎障害の程度は軽く, 膜性腎症の形をとることが多い。まれに急激に腎機能が悪化して死に至る renal crisis が起こることがあるが, 組織学的には本図のように小葉間動脈の高度の内膜肥厚が急激にみられる(Azan-Mallory 染色, 中倍率)。

る(図2b)。その他, ほとんどの症例で唾液腺は炎症によって高度の萎縮を示している(図2c)。

しかし, よく観察すると太い肺動脈では拡張が認められ, 壁にはアテローム硬化が目立つ。また, 肺の断面では小さな血管の切り口がよく目立つ。肺高血圧症の影響で心臓には右室肥大をみとめ, 肝臓には右心不全の影響によるニクズク肝 nutmeg liver の像をみとめる。食道は硬く, ごわごわした感じであるが, 線維化を反映したものと思われる。また, 唾液腺は萎縮して肉眼的に見分けるのに苦労する場合もある。腎病変は一般に軽度であるが, まれに高度の動脈の内膜肥厚により renal crisis の状態に陥り, 死に至る(図2d)。

■ 鑑別診断

鑑別すべき疾患は全身性硬化症(SSc)である。しかし, 本症の皮膚所見の組織学的な特徴は, SScのように浮腫期, 硬化期, 萎縮期のような変化を示さず, 長期にわたって浮腫性硬化の状態にとどまることである(図1bでは浮腫を伴った線維化もみられる)。また, 死因ともなる, 肺血管病変を伴う肺高血圧症の合併頻度が非常に高い。混合性といわれるとおり, SLE, PM/DM, SScの所見を併せもつものの, 高度なものではなく, 適度にそれぞれの症状を呈しながら, しかも肺高血圧症やU1-RNP抗体高値のように比較的特徴的な所見をも示すというのが本疾患の特徴である。

(澤井高志)

症例 358 発熱，多彩な全身症状

症例 358-1 65 歳，女性。熱発と左側頭部痛で発症。側頭部に触れる索状物を生検したところ、図 1 のような所見がみとめられた。

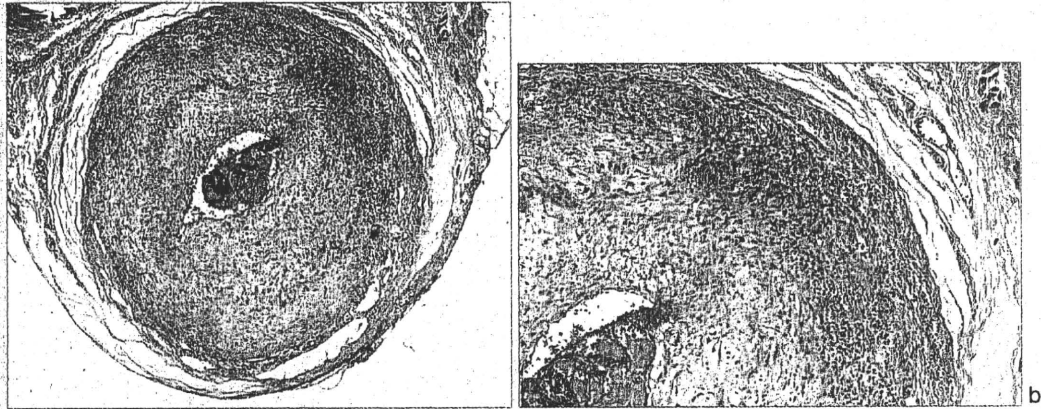


図 1
a：側頭動脈の組織像(HE 染色，低倍率) b：a の中倍率像。巨細胞がみられる。

症例 358-2 55 歳，男性。多彩な神経症状と熱発で発症。ステロイド治療により症状は改善したが、クモ膜下出血にて死亡した。剖検の結果、全身の臓器に図 2 のような所見がみとめられた。

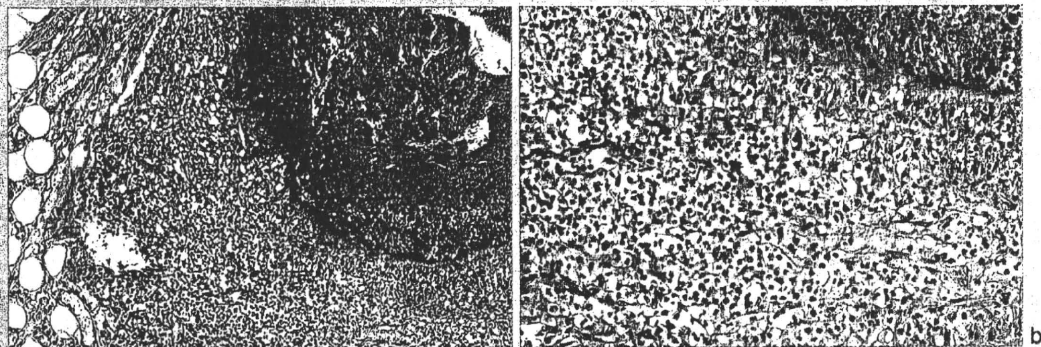


図 2
a：腸間膜内小動脈の組織像(HE 染色，中倍率) b：a の高倍率像。好酸球浸潤が著しい。

■ 診断

症例 358-1 巨細胞性動脈炎 giant cell arteritis

症例 358-2 アレルギー性肉芽腫性血管炎
allergic granulomatous angiitis (AGA)

■ 巨細胞性動脈炎

■ 定義

側頭動脈炎 temporal arteritis, まれに肉芽腫性動脈炎 granulomatous arteritis ともよばれるが、側頭動脈炎は全身性血管病変の部分症との見解から、巨細胞性動脈炎という用語が用いられる。

に至った。

■ 発症機序・病態生理

病因は未だ不明だが、細胞性免疫の関与が示唆されている。家族集積例や人種差が報告されており、HLA-DR4との相関も示されている。特に患者の60%が、HLA-DRB1*0401もしくは*0404/08アロタイプをもつことが報告されている。自己抗体に関しては、抗エラスチン抗体、抗カルジオリピン抗体、ANCAとの関連も想定されているが、確定的な報告はみられない。また発症様式が急性であり、細菌やウイルス感染の関与も想定されるが、ウイルス感染との明らかな相関は知られていない。

■ 病理

肉眼所見：病変の分布は、全身性に中等度径の動脈から大動脈までが侵されうるが、最も傷害を受けるのは、大動脈弓の分枝である。罹患した側頭動脈は、疼痛を伴い赤色で腫脹し、索状物様である。血栓がみられることがあり、しばしば著明な狭窄をみる。大動脈を含む頭蓋外大血管の病変は致死合併症を引き起こしうる。大動脈瘤、解離性大動脈瘤の合併がみられ、病変が大動脈弁輪に波及すると大動脈弁閉鎖不全に至る。

組織所見：高齢者に発症することから動脈硬化病変を伴うことが多く、それゆえ血管病変は多彩である。炎症の時期によっても異なるが、基本形は内弾性板を中心とする肉芽腫性炎症と著しい内膜肥厚ならびに中膜の萎縮である。この肉芽腫性病変は、内弾性板の断裂と、その中膜側に、内弾性板に接して多核巨細胞がみられるのを特徴とする(図1a, b)。これに全周性にびまん性の炎症細胞浸潤が加わる。浸潤細胞は多核巨細胞のほか、T細胞主体であり、B細胞や好中球は基本的にみられない。炎症が鎮静化すると、本病変に特徴的とされる多核巨細胞は必ずしもみとめられない。また、外弾性板の破壊は乏しい。さらに、これらの病変は分節状に分布する(skip lesion)。

免疫染色所見：病変部では、免疫グロブリン、補体の沈着がみとめられる。また病変での浸潤T細胞は大部分がCD4細胞であり、オリゴクローナルな増生がみられ、何らかの抗原に対する特異

的反応の可能性が示唆される。

アレルギー性肉芽腫性血管炎

■ 定義

気管支喘息発作、好酸球増多に加え、組織学的に小～中型血管の全身性壊死性血管炎を伴う疾患である。1951年ChurgとStraussにより報告された後、結節性多発動脈炎、顕微鏡的多発血管炎 microscopic polyangiitis (MPA)、ウェゲナー肉芽腫症 Wegener's granulomatosis (WG) などとは異なる独立した疾患として現在に至る。血管炎症状を加えた臨床所見のみで診断基準を満たすものはChurg-Strauss症候群(CSS)とよばれ、組織学的に好酸球浸潤を伴う血管炎の所見が明らかな場合、アレルギー性肉芽腫性血管炎とよぶ。

■ 発症機序・病態生理

好酸球増多症がみられることより、何らかのアレルギーの機序の関与が想定されているものの、病因は現在のところ不明である。MPAと同様、核周囲性抗好中球細胞質抗体 perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) の陽性率が高く、顆粒球による内皮傷害の関与も想定されている。血管炎症状として、多発性神経炎、中枢神経障害、消化管出血、呼吸器障害、腎障害等、多彩な臨床症状を呈する。

■ 病理

肉眼所見：血管炎の好発臓器は、心、肺、肝、腎、消化管、皮膚等、全身性である。

組織所見：壊死性、肉芽腫性の血管炎で、小～中型の動静脈が主であるが、細動静脈、毛細血管にも起こる。急性期には、好酸球を主体とする炎症性細胞浸潤をみとめ、血管内皮の膨化、血管内膜や血管周囲組織の浮腫、血栓形成をきたし、さらに中膜にフィブリノイド壊死をきたす(図2a, b)。次いで内弾性板の破壊や類上皮細胞、多核巨細胞の出現をみとめ、血管を中心とした肉芽腫の形成期に移行する。癒痕期になると、炎症細胞浸潤は好酸球を含めてほとんどみとめられない。なお腎障害を示す症例では、小葉間動脈の壊死性血管炎に加えて、巣状壊死性糸球体腎炎を呈する。

■ 鑑別診断

ANCA陽性の血管炎症候群として、WG、MPAとの鑑別が問題となる。WGではc-ANCAの陽性率が高く、また壊死性・肉芽腫性血管炎をきたし、好酸球浸潤を伴うこともあるが、高度ではな

く、好酸球壊死はみとめられない。MPAではAGAと同様p-ANCAの陽性率が高いが、血管炎病変での好酸球浸潤は高度ではなく、気管支喘息の既往、アレルギー性鼻炎、好酸球増多などの主症状を参考にすべきである。

血管炎症候群

■ 定義

原発性血管炎の総称。

■ 分類

従来、傷害される血管のサイズ(キャリバー)、病理組織像、考えられる病理発生、臨床所見などにもとづき分類がなされ、歴史的に紆余曲折を経てきたため、現在でも様々なよび方がある。こうした原発性血管炎の系譜を図3に示す。現在で

は、1994年のChapel Hill Conferenceで罹患血管のサイズにもとづきJennetteらにより提唱された分類が汎用されるにいたっている(図4)。このうち、本項で扱った巨細胞性動脈炎、アレルギー性肉芽腫性血管炎のほか、以下の疾患については、本書中の各項目を参照されたい。大動脈炎症候群 aortitis syndrome、結節性多発動脈炎 polyarteritis nodosa(第II章5、症例123)、ウェゲナー肉芽腫症 Wegener's granulomatosis、顕微鏡的多発血管炎 microscopic polyangiitis、ヘノッホシェーンライン紫斑病 Henoch-Schönlein purpura(第II章8、症例223)、本態性クリオグロブ

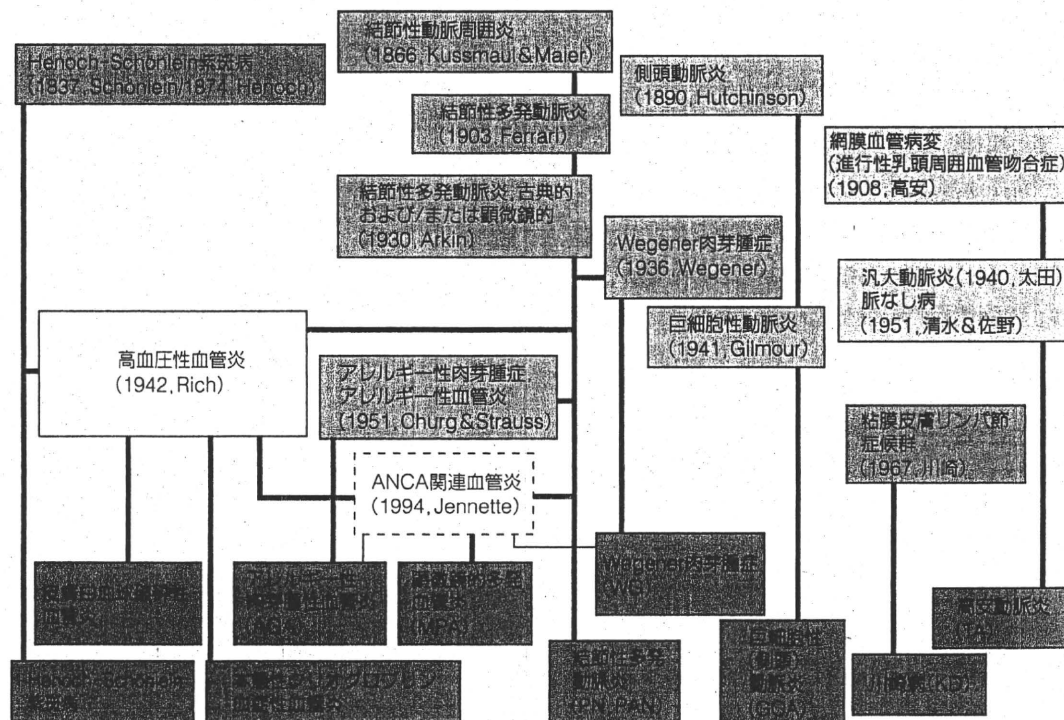


図3 血管炎症候群分類の系譜 (文献1より引用, 一部改変)

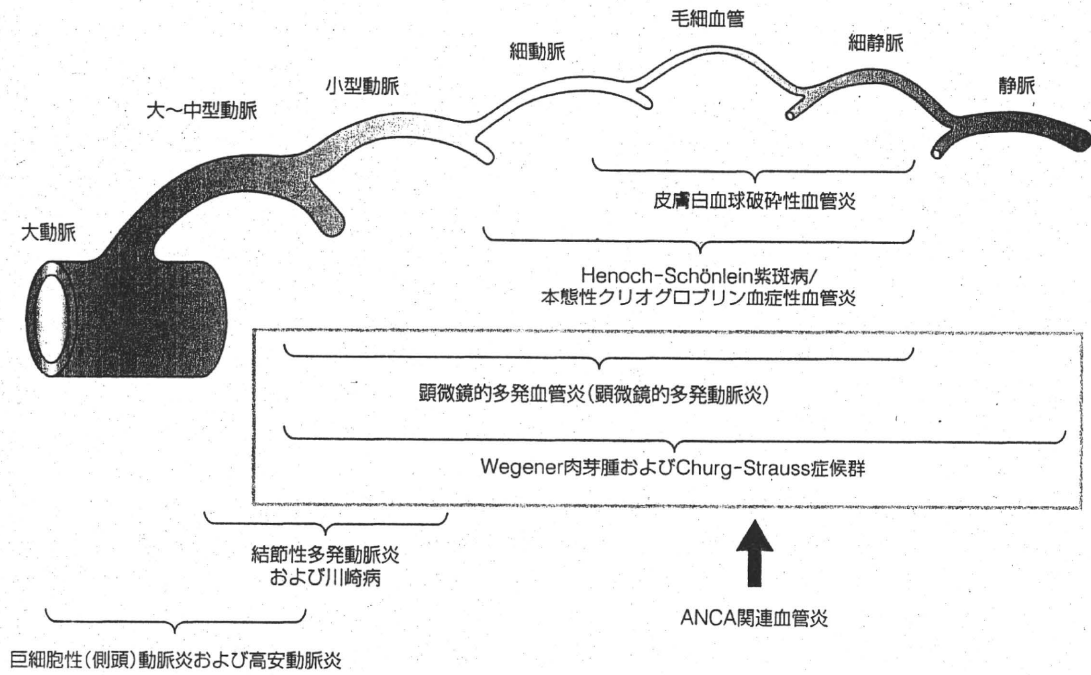


図4 血管炎症候群での罹患血管サイズ (文献2より引用)

リン血症性血管炎 essential cryoglobulinemic vasculitis, 皮膚白血球破碎性血管炎 cutaneous leukocytoclastic vasculitis (第II章8, 症例223), 川崎病 Kawasaki disease (本章, 症例360)。

- 床 16 : 246-248, 1998.
 2) Jennette JC, Falk RJ, et al. : Nomenclature of systemic vasculitides : Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 37 : 187-192, 1994.

■参考文献

- 1) 能勢真人 : 血管炎症候群分類の時空的視点. 病理と臨

(菅野祐幸)

症例 399 口腔粘膜アフタ性潰瘍，皮疹，下血

44 歳，男性。口腔内アフタ，皮疹がみられ，その後下血をきたした。足関節部皮疹(硬結性紅斑)の生検では図 1 のような所見がみとめられた。

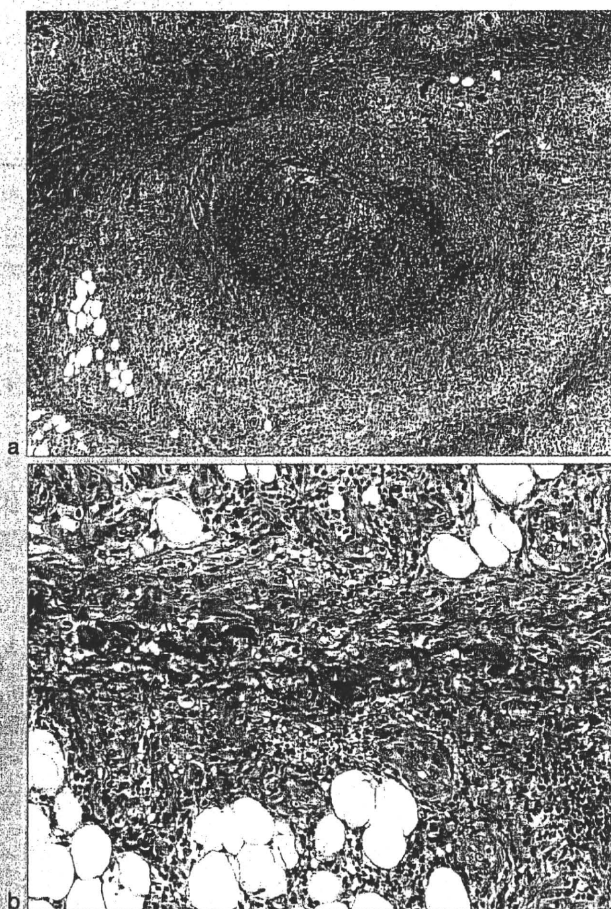


図 1
a: 皮下組織の組織像(HE 染色，低倍率)
b: 皮下組織の組織像(HE 染色，中倍率)

■ 診断

Behçet 病 Behçet disease

■ 定義

1937 年，トルコのベーチェット Behçet により提唱された多臓器侵襲性の難治性疾患。口腔粘膜のアフタ性潰瘍，皮膚症状，眼内炎，外陰部潰瘍を 4 大主症状とする原因不明の炎症性疾患で，全身臓器を障害し，急性の炎症が反復し遷延した

経過をとるのが特徴である。

■ 発症機序・病態生理

原因は不明だが，疾患感受性遺伝子は *HLA-B51*0101* アレル(対立遺伝子)の近傍に絞られている。*HLA-B51* を有する患者の好中球は，生体内で活性化されやすい状態にあることが明らかとなり，*HLA-B51* 遺伝子は好中球の機能制御に関与していることが明らかとなってきた。また，患

者ではある種の連鎖球菌に対する遅延型過敏反応がみられ、外因性の発症因子の1つとして想定されている。一方、自己および連鎖球菌由来の熱ショック蛋白 heat shock protein (HSP) に対する免疫異常も重要で、これらと反応するTリンパ球から産生される向炎症性サイトカインや好中球誘導性サイトカインが炎症病態の形成に重要と考えられている。

■ 分類

4大主症状のほかに、重篤な臓器障害をきたしうる特殊病型を含む副症状として、一過性の関節炎、再発性の副睾丸炎、回盲部潰瘍で代表される消化管病変(腸管 Behçet)、静脈系に頻度が高く、大静脈主幹分枝の血栓性閉塞が典型的な血管病変(血管 Behçet)、および急性あるいは慢性の神経病変(神経 Behçet)がみられることがあり、主症状4つが揃う完全型と、主症状の1つあるいは2つを欠く一方、副症状を伴う不全型がある。

■ 病理

肉眼所見：口腔粘膜の再発性アフタ性潰瘍はほぼ

必発で、発赤を伴う境界明瞭で白苔附着を伴う小潰瘍である。皮膚症状としては皮下の血栓性静脈炎(図1a参照)や結節性紅斑様皮疹で組織学的に中隔性脂肪組織炎(図1b参照)を示す場合、また毛嚢炎様ないし座瘡様皮疹を示すものなど、種々の症状がみられる。眼内炎としては、前房蓄膿を呈する虹彩毛様体炎型と眼底の病変を伴う網膜ブドウ膜炎型がある。外陰部潰瘍は陰茎・陰囊・小陰唇・腔壁などに口腔内アフタに類似した潰瘍を生じる。

組織所見：血管 Behçet に加え、皮膚症状、外陰部潰瘍、および消化管病変の潰瘍周辺の粘膜下層および漿膜下層で小血管病変がみとめられる。組織学的には、皮膚病変では血栓性静脈炎に類似した組織像を示し(図1a)、後二者では小血管の内膜肥厚および血管周囲性炎症細胞浸潤がみられ、一部血管壁の破壊を示す血管炎の像を示す。静脈病変が優位である。

蛍光抗体法所見：病変部小静脈の内壁に沿って、IgM の沈着がみとめられることがある。

(菅野祐幸)



症例 360 発熱，発疹，粘膜の発赤，頸部リンパ節腫脹

1 歳，男児。咳，熱発で発症。その後，全身の発疹，口唇の発赤，頸部リンパ節腫脹，眼球結膜の充血がみられた。全経過 51 日で突然の心停止をきたし死亡した。剖検の結果，心臓に図 1a, b のような所見，腎臓に図 1c のような所見がみとめられた。

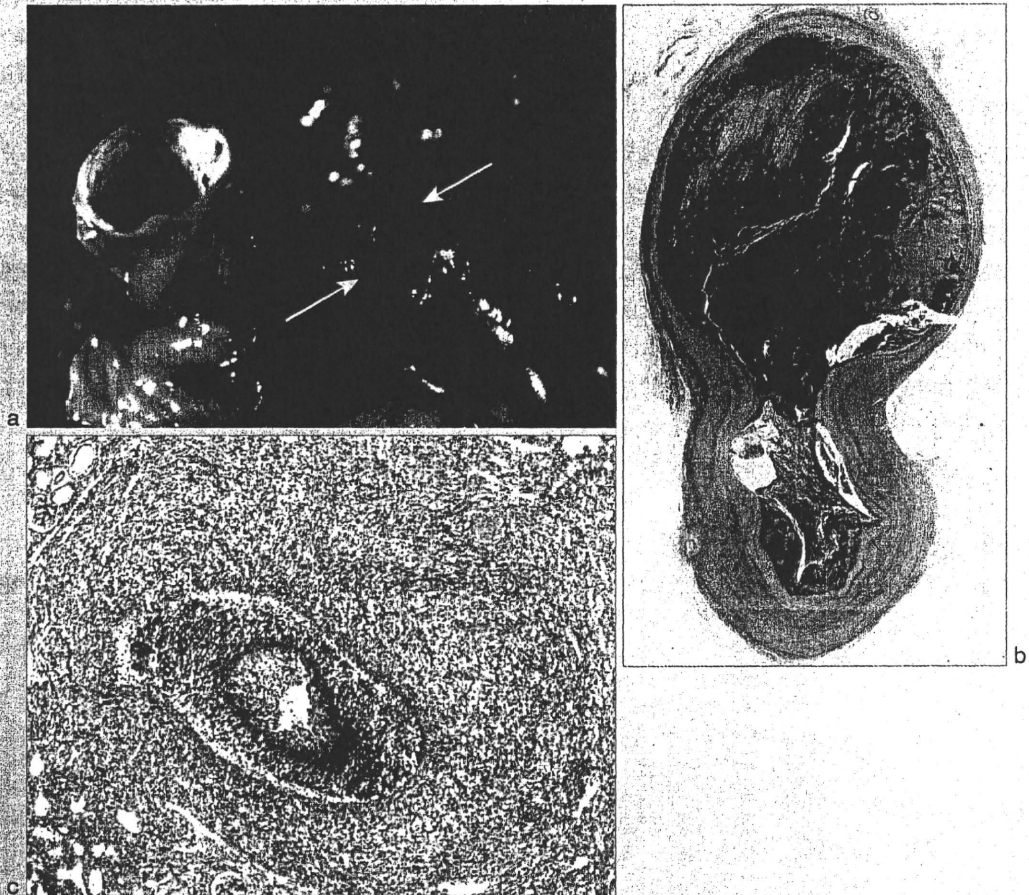


図 1
a: 冠状動脈動脈瘤の肉眼像。病変部を矢印で示す。
b: 冠状動脈動脈瘤のルーペ像(H&E 染色)
c: 腎動脈の組織像(H&E 染色，中倍率)

■ 診断

川崎病 Kawasaki disease

■ 定義

幼児期に好発する急性炎症性動脈炎で，主として冠状動脈が侵される。1967 年，川崎らにより，日本ではじめて 1 つの疾患カテゴリーとして位

置づけられた。口唇・口腔粘膜の発赤，皮膚の硬性浮腫，頸部リンパ節腫脹を示し，粘膜皮膚リンパ節症候群 muco-cutaneous lymph node syndrome (MCLS) ともよばれる。

■ 発症機序・病態生理

病因は不明だが，何らかの感染が契機になるも

のと想定されている。活性化したT細胞およびマクロファージから産生されるサイトカインが血管内皮細胞を活性化するとともに、著増した活性化好中球による血管内皮の傷害により、血管壁での炎症が惹起されると考えられる。冠状動脈壁破壊後に形成された動脈瘤(図1aの矢印)での血栓形成(図1b)に伴う急性心筋梗塞が突然死の原因となる場合がある。

■ 病理

肉眼所見：主として冠状動脈が侵されるが、大動脈ならびに総腸骨動脈等の主要分枝、また腎、肝、脾、消化管等の内臓血管を含める、大～小型動脈の系統的血管炎である。

組織所見：炎症の過程により4期に分けられているが、罹患部位によりまちまちである。

第1期(初期：第1～2病週)では、細動静脈では浮腫、好中球浸潤を伴う急性炎症像がみられ、中～大型動脈では内膜炎、外膜炎を呈する。

第2期(極期：第2～4病週)には、細動静脈病変は消失し、中～大型動脈での炎症が中膜に波及する汎血管炎となる。動脈壁の浮腫、壊死、単核球浸潤が著しく(図1c)、特に冠状動脈では動脈瘤、血栓形成をみる。この時期、心臓では心筋炎、心内膜炎などもみられる。

第3期(肉芽期：第4～7病週)には、中型動脈での肉芽性病変の形成に移行する。

第4期(瘢痕期：第7病週以降)には、動脈壁の瘢痕化、内膜の線維性肥厚、器質化血栓、狭窄など、非特異的血管炎病変を呈する。動脈瘤は残存する。

■ 鑑別診断

当初は小児型の結節性多発動脈炎との鑑別が問題となったが、フィブリノイド壊死がほとんどみとめられない点が異なる。

(菅野祐幸)

混合性結合組織病(MCTD)にともなう肺高血圧(PH)に関連する抗内皮細胞抗体(AECA)に関する研究

研究分担者： 澤井 高志 岩手医科大学医学部 病理学講座・教授
研究協力者： 鎌滝 章央 岩手医科大学医学部 病理学講座・助教
佐々木 信人 岩手医科大学医学部 内科学講座・助教
島山 明 東北労災病院 リウマチ膠原病科・部長

研究要旨

混合性結合組織病（MCTD）に合併する肺高血圧症（PH）は、MCTD患者の死因の重要な位置を占めるが、その発症機序はいまだ明らかになっていない。PH発症に至る初期変化として肺微小血管内皮細胞傷害が示されているため、本研究では肺微小血管内皮細胞を傷害する要因として、血清因子の一つである自己抗体、特に抗内皮細胞抗体（anti-endothelial cell antibody, AECA）に焦点をあて、研究を行った。肺微小血管内皮細胞のcDNAライブラリーを構築してSEREX（serological identification of antigens by recombinant expression cloning）により抗原候補蛋白質の探索をおこなった。

A. 研究目的

混合性結合組織病（MCTD）患者では、他の膠原病患者に比べ高率に発症する肺高血圧症（PH）が死因の重要な位置を占めているが、その発症要因は不明である。本研究の目的はMCTDにおけるPHの発症機序の解明である。本研究室での病理組織学的検討から、臨床的にはPHを示していないMCTD患者でも肺の小血管を中心に血管内皮細胞傷害に起因する病変が発生していることが明らかになっており、小血管の傷害から徐々に進行してPH発症に至ることが示唆されている。また、MCTD患者血清が肺微小血管内皮細胞に対して、高い反応性を示すことも明らかになっている。本研究において、我々は、MCTD患者血清中の抗内皮細胞抗体（anti-endothelial cell antibody, AECA）による肺微小血管内皮細胞の傷害や機能変化がPH発症の原因であると考え、MCTD患者血清中のAECAについて解析した。

B. 研究方法

肺微小血管内皮細胞（HMVEC-L）から調製したRNAからcDNAを合成し、ファージに組み込み、cDNAライブラリーを構築した。プレート上に網羅的に組換え蛋白質を発現させ、6名のMCTD患者血清を混合した血清と反応する蛋白質をスクリーニングした

（SEREX、serological identification of antigens by recombinant expression cloning）。得られた候補について、組換え蛋白質を用いたウエスタンブロットで個々の患者の血清の反応性の確認を行った。

（倫理面への配慮）

採血にあたっては、提供者に使用目的やデータ管理について説明し、同意の得られた場合のみサンプルの提供をうけた。提供者のデータ管理については研究中と研究終了後を問わずに厳密に行い、解析時や発表時には検体番号で扱い、個人名が第三者に知られないように配慮した。

C. 研究結果

ライブラリーを用いたイムノスクリーニングにより（図1）、 3×10^5 スクリーニングした時点で細胞膜にも局在する蛋白質や細胞外蛋白質が19個抗原候補としてあがった。RT-PCRでヒト臍帯静脈血管内皮細胞に比べHMVEC-Lで高く発現していることが確認でき（図2）、スクリーニングの際にも高い反応を示した抗原について患者個人毎の血清で反応性を調べたものの、MCTD患者1名でのみ高い反応性が認められた（図3）。

D. 考察

SEREXにより明らかになった抗原蛋白質に細胞外蛋白質などの2Dウェスタンでは検出の難しい蛋白質も含まれていたことから、SEREXの長所が生かされていることが確認できた。抗原候補蛋白質の中にはRNAスプライシングに関連する蛋白質も含まれていた。但し、スクリーニングの結果得られた抗原にUIRNPが含まれなかったため、さらに多くのクローンをスクリーニングする必要があると考えられた。

E. 結論

本研究によりAECAの抗原候補蛋白質を得ることができた。さらなるAECAの抗原探索を行うとともに、これらの蛋白質について詳細に解析することで、PH発症機序の一端の解明につながり新たな治療法や診断法の可能性が開けると期待する。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Yamashita M, Iwama N, Date F, Chiba R, Ebina M, Miki H, Yamauchi K, Sawai T, Nose M, Sato S, Takahashi T, Ono M: Characterization of idiopathic diffuse alveolar damage. Hum Pathol. 40: 542-551. 2009
- 2) Yoshida W, Uzuki M, Nishida J, Shimamura T, Sawai T: Examination of *in vivo* gelatinolytic activity in rheumatoid arthritis synovial tissue using newly developed *in situ* zymography and image analyzer. Clin Exp Rheumatol. 27: 587-593. 2009
- 3) Sato Y, Kurose A, Ogawa A, Ogasawara K, Traganos F, Darzynkiewicz Z and Sawai T: Diversity of DNA damage response of astrocytes and glioblastoma cell lines with various p53 status to treatment with etoposide and temozolomide. Cancer Biol Ther. 8: 1-6(2009)
- 4) 鎌滝章央、佐々木信人、澤井高志：MCTD患者に合併する肺高血圧症の病変とその発症機序の解析。自己抗体と自己免疫2009：31-35. 2009
- 5) 佐々木信人、鎌滝章央、澤井高志：全身性強皮症および類似疾患、肺病理。日本胸部臨床。69: 224-233. 2010

2. 学会発表

- 1) 澤井高志：膠原病にみられる肺高血圧症の病理学的特徴－混合性結合組織病（MCTD）の解析を中心に－。第24回日本臨床リウマチ学会、盛岡、2009年11月
- 2) 鎌滝章央、佐々木信人、畠山 明、澤井高志：混合性結合組織病患者における抗内皮細胞抗体の抗原の探索。第53回日本リウマチ学会総会・学術集会、東京、2009年4月
- 3) 佐々木信人、山内広平、井上洋西、二宮由香里、鎌滝章央、澤井高志：アレルギー性肉芽腫性血管炎肺血管障害マウスモデルにおけるモンテルカストによる炎症の抑制。第53回日本リウマチ学会総会・学術集会、東京、2009年4月

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

特許取得

特になし

実用新案登録

特になし

その他

特になし

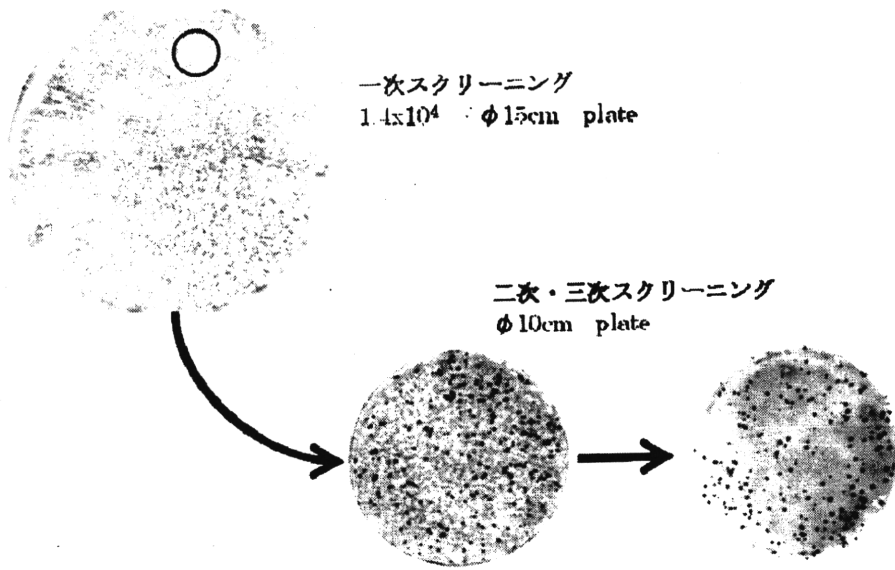


図1. SEREXの概要

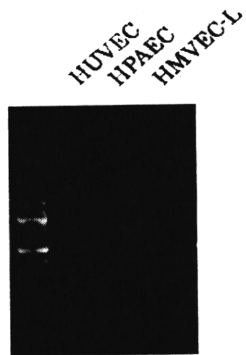


図2. 抗原候補の様々な内皮細胞での発現

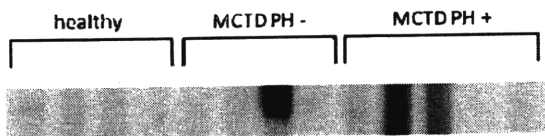


図3. 抗原候補の組換え蛋白質の患者血清との反応性

1. 免疫染色・in situ hybridization

宇月美和、澤井高志

岩手医科大学 病理学第一講座

はじめに

最近では様々な種類の物質に対する抗体の作成が可能になり、免疫組織化学の方法も増感法や賦活化など、感度をあげるために様々な工夫がなされている。そのため、従来はパラフィンブロックでは染色困難とされてきたリッパ球表面マーカーや接着分子の同定も容易になってきた。また、試薬調整の必要ない簡便なキットも市販され、マニュアルに従えば、ある程度の結果は期待できるようになった。こういった免疫組織化学法や *in situ* hybridization (ISH) 法の進歩の中で、エラスチンなどの弾性線維をはじめとする基質成分では他のマトリックステクストの関連や研究者人口が多くないこともあり、応用できる抗体やプローブの種類はまだまだ多くはない。本稿では弾性線維を中心として検体の取り扱いや免疫組織化学および ISH について述べる。

1. 検体の取扱いと染色

1) 採取・切り出し

ヒトの検体の場合は、手術症例や剖検例からの採取となるが、採取後できるだけ早く切り出し、固定することが重要である。動物実験の場合には還流固定などが用いられるため、細胞や組織の変性はほとんど生じないが、ヒトの検体の場合には手術例にせよ、剖検例にせよ、血流が途絶えた状態が短ければ短いほど望ましい。大きな検体の場合には、固定液が浸透しやすいように小さくトリミングすれば、その後の脱脂なども短時間で終了できる。また、固定の際には組織に収縮が起きるが、この収縮率は組織の構成成分によって異なり、固定後に検体がゆがんでしまうため、切り出す際の注意が必要である。特に、膠原線

維に富む組織は、固定による収縮が大きく、変形してしまうため、軽く固定した後、切り出したほうがよい場合もある。また、血管などのように、採取する部位によって性状が異なる可能性がある場合には、採取する部位も厳格に決めておく必要がある。

2) 固定

固定については通常の中性ホルマリンや 4% paraformaldehyde/PBS および PLP などの固定液¹⁾があるが、目的に応じて固定法を選択する。固定さえないか、あるいは、たいいていの免疫組織化学や ISH²⁾で、十分な染色結果が得られる。逆に過固定であったり固定不良の検体ではいろいろな染色法の工夫をしてもうまくいかないことが多いので、まず、固定をしっかりと行うことが何より重要である。筆者らは免疫組織化学での抗原性や ISH での mRNA の保存を良くするため、固定時間はできるだけ短くするようにしている¹⁾⁻⁴⁾。本来は目的とする抗体ごとに、固定の最適条件が一つ一つ異なっており、それをおこなうべきであるが、本稿においては使用頻度の高い固定法を述べる。

(1) 4% Paraformaldehyde/ phosphate buffered saline (4% PFA/PBS)

広く免疫組織化学や ISH に用いられている方法で、筆者らの使用頻度が最も高いのはこの方法である¹⁾⁻⁴⁾。アルデヒドを含んでいるため、形態の保存と蛋白質抗原の保持の両者に優れている。筆者らはこの固定法を用いてサイトカインの免疫組織化学や ISH を行っているが、良好な結果が得られている。固定に際しては 1 cm × 1 cm × 3 mm 程度の大きさに切った組織片を固定液中に浸漬し、室温で 2 ~ 4 時間固定する。このときに、固定用の瓶を回転振盪機に載せて固定すればより固定時間を長くする。本固定法は固定時間が短く、固定作用も 10% ホルマリンに比較して弱いため、ブロックの保存や薄切後の切片の保存も低温 (4℃) で行い、室温には置かない。

(2) periodate l ysine- paraformaldehyde (PLP) 固定^{5), 6)}

一般に、免疫グロブリン、補体、酵素蛋白等の糖を含んだ蛋白は、アルデヒド系固定液により蛋白の部分の抗原決定基が変性しやすい。そのためアルデヒドの濃度が高いと抗原性が失われやすく、逆に低いと組織および細胞の構造の保存や抗原の固定が不良になる。この問題を解決するため糖蛋白の糖の部分の不動態で固定力を補い、その分だけアルデヒドの濃度を下げることが可能にしたのがPLP 固定法である。この固定法は酵素電顕にも応用できる有用な固定法であり、凍結ブロックは-80℃で長期間保存が可能である。

3) 脱脂

パラフィンブロック作成の際は、十分に脱脂することが必要である。脱脂が不十分であると、パラフィンの組織への浸透が悪く、薄切が困難な場合もある。脱脂はエタノールやクロロホルムなどに浸漬して4℃で行うが、回転振盪機上で振盪すると脱脂時間は短縮される。また、マイクロウェーブ照射によって脱脂が早く進むという報告もある。

4) 脱灰^{5), 6)}

硬組織を含む場合には脱灰操作が必要となる。脱灰液は辛酸などの酸の他に、キレート剤のEDTAなどがあるが、抗原決定基を構成する糖蛋白は、酸やアルカリによって変性しやすいため、脱灰には中性領域(pH 7.1~7.4)での脱灰が可能でEDTAがよく、かつ低温で処理するのが望ましい。

5) 免疫組織化学

弾性線維に関する染色でも原則的には通常の組織での免疫組織化学の手順と変わるところはなく、サイトカインや蛋白分解酵素などの免疫組織化学もおこなうことができる。免疫組織化学は前述の固定による影響が大きいため、染色がうまくいくか否かはそれらの条件に左右される。また、細胞密度が少なく、

線維成分を多く含む組織切片は染色中に剥がれる傾向が強く、それを防ぐために薄切時にはシラン・コーティングされたスライドガラスを用い、伸展や乾燥も十分におこなう。また、免疫組織化学の賦活化のためにしばしばオートクレーブ処理をおこなうが、広く用いられている121℃で5分という条件では切片が剥がれやすいため、筆者らはこれを105℃で30分に変えておこなっている。実際に染色性を比較すると、オートクレーブの温度が121℃と105℃とでは、染色性には差は認められず、121℃では部分的に切片が剥がれてしまうことから、免疫組織化学の賦活化のオートクレーブは105℃で30分の方が適していると思われる。このほか、マイクロウェーブを用いる方法や、トリプシンやペプシンなどの蛋白分解酵素で消化反応を行うことも多い。特にエラスチンなどの基質の場合は組織の中では他の基質と絡み合ったり重なっていることにより、抗原と抗体との結合を阻害する可能性もあるため、酵素による消化をおこなうこともある。

6) *in situ* hybridization

エラスチンを含む組織での *in situ* hybridization (ISH) の反応条件や留意点についても通常のISHと変わることではなく、固定時間は短い方がよい。また、反応がうまくいくかどうかは、ISHのプロトコルの特異性に左右されることが多い。近年は免疫組織化学よりもISHの結果を示す論文が多くなっている。原因はさまざまあげられるが、一つには市販の検出キットにより、以前よりもISHが簡便になり、感度もあがったことがあげられる。免疫組織化学では抗原分子が固定によって構造変化を受けやすく、しかもその構造変化は抗原によって異なり、最適な固定法も抗原ごとに異なっている。また、市販されていない抗体は入手しにくく、作成も困難で、業者依頼は非常に高額になる。一方、ISHではmRNAが保存されていれば固定の影響をうけにくいということと、塩基配列が分かれば、オリゴヌクレオチドの合成や標識は可能で、安価におこなえるという利点がある。一般的には蛋白を産生している細胞と、保有、貯蔵している細胞とは分布が同じであるが、基質であるコラーゲンなどの場合にはすでに作られた蛋白の分布