

## 上咽頭クラミジア感染を合併した成人型封入体結膜炎の1例

—上咽頭生検組織内のクラミジア抗原の証明—(図8)

中川 尚\*・内田 幸男\* (\*東京女子医科大学眼科学教室)  
辻田 直美\*\*・高橋 正紘\*\* (\*\*東京女子医科大学耳鼻咽喉科学教室)Detection of *C. trachomatis* Antigens in the Epipharyngeal Biopsy Specimen of a Case of Adult Inclusion Conjunctivitis Accompanied by an Epipharyngeal InfectionHisashi Nakagawa\*, Yukio Uchida\*, Naomi Tsujita\*\*  
and Masahiro Takahashi\*\*

\*Department of Ophthalmology, Tokyo Women's Medical College

\*\*Department of Otolaryngology, Tokyo Women's Medical College

## 要 約

症例は両眼の充血、眼脂と耳閉感を主訴に来院した27歳の男性で、初診時、両眼の瞼結膜の濾胞形成、乳頭増殖、耳前リンパ節腫脹がみられた。耳鼻科的検査では、上咽頭の granulation tumor、中耳炎、上深頸部リンパ節腫脹を認めた。結膜と上咽頭から *C. trachomatis* が検出され、封入体結膜炎ならびにこれに続発した上咽頭のクラミジア感染と診断した。上咽頭の生検組織は慢性増殖性炎症の像を呈し、上皮および上皮下のリンパ球、プラズマ細胞の浸潤と、上皮下の著明な濾胞形成がみられた。上皮層には封入体が観察され、蛍光抗体法でもクラミジア抗原が証明された。成人型封入体結膜炎では、上咽頭感染を合併する例が少なくないと考えられ、今後注意する必要がある。また、蛍光抗体法 (MicroTrak) による抗原検出法は、病巣擦過物だけでなくパラフィン切片にも利用できることが示された。(日眼 92:811-817, 1988)

キーワード：成人型封入体結膜炎、上咽頭感染、蛍光抗体法 (MicroTrak)、クラミジア抗原、パラフィン切片

## Abstract

A 27-year-old man with redness and discharge in both eyes followed by a plugged up feeling in the ear was found to have follicular conjunctivitis and preauricular lymphadenopathy. Otolaryngological examination revealed a large granulation tumor in the epipharynx and secretory otitis media of the right ear. Tender lymph nodes were also found in the deep cervical chain. *C. trachomatis* was demonstrated in the conjunctival smear by Giemsa staining and immunofluorescence test, and it was isolated in HeLa 229 cells. The positive antigen was also seen by immunofluorescence in the epipharyngeal scrapings. Histological studies of the epipharyngeal biopsy specimens revealed chronic inflammation characterized by the epithelial and subepithelial infiltration of lymphocytes and plasma cells. Marked follicular formation was seen in the submucosa. Paraffin sections of the formaldehyde-fixed biopsy specimen which had been stained with FITC-labeled monoclonal antibody (MicroTrak)

別刷請求先：162 東京都新宿区河田町8-1 東京女子医科大学眼科学教室 中川 尚  
(昭和63年1月18日受付)

Reprint requests to: Hisashi Nakagawa, M.D. Dept. of Ophthalmol., Tokyo Women's Medical College  
8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162, Japan

(Accepted January 18, 1988)

showed a large number of *C. trachomatis* antigens in the form of inclusion bodies and scattered particles. They were localized within the mucosal epithelium. Some chlamydial inclusions could be identified in the sections stained with hematoxylin and eosin. Inclusion conjunctivitis and subsequent epipharyngeal infection seem to be a common clinical feature of ocular chlamydial infection in adults. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 92 : 811—817, 1988)

**Key words:** Adult inclusion conjunctivitis, Epipharyngeal infection, Immunofluorescence (MicroTrak), *Chlamydia trachomatis* antigens, Paraffin-embedded tissue

## I 緒 言

*Chlamydia trachomatis* はトラコーマや封入体結膜炎の病原体として古くから知られているが、最近では子宮頸管炎、尿道炎などの泌尿器感染症や骨盤内炎症性疾患など様々な疾患をおこすことで注目されている<sup>1)2)</sup>。新生児では、クラミジア性器感染を有する母親から生まれた児の3～19%に鼻咽頭感染や肺炎をおこすことから、新生児、乳児の呼吸器感染症の原因の一つとして大きくとりあげられている<sup>2)~4)</sup>。

一方成人では、封入体結膜炎に合併してしばしば咽頭痛や上咽頭炎などの上気道感染の症状がみられることが知られていた<sup>5)</sup>。Jawetz ら<sup>6)</sup>はクラミジアの結膜接種実験の中で、上咽頭から *C. trachomatis* を証明、さらに Dawson ら<sup>7)</sup>が3例の成人型封入体結膜炎患者の咽頭から *C. trachomatis* を分離し、成人型封入体結膜炎の合併症の一つとして上咽頭感染の存在が明らかにされた。また1975年に Schachter ら<sup>8)</sup>が咽頭炎患者の咽頭から *C. trachomatis* を分離したのをきっかけに、成人の咽頭炎の原因として *C. trachomatis* 感染が注目されるようになった<sup>9)10)</sup>。

最近われわれは、上咽頭のクラミジア感染を合併した成人型封入体結膜炎の症例を経験し、上咽頭生検組織について組織学的ならびに免疫学的検索を行う機会を得たので報告する。

## II 症 例

症例：M.H.27歳，男性。

初診：昭和61年7月10日。

主訴：両眼の充血と眼脂。

既往歴：特記すべき事項なし。

現病歴：昭和61年4月22日から右眼の充血と眼脂が出現した。5月の中旬になって左眼にも同様の症状がみられ、近くの眼科では、はやり目あるいはアレルギー性結膜炎として治療を受けていた。6月中旬、右の耳

閉感が出現。7月の初旬には左にも耳閉感を自覚するようになった。結膜炎が改善しないため、7月10日当科を受診した。

初診時所見：睑結膜は両眼ともに充血し、下睑結膜には融合傾向を示す大きな充実性の濾胞が多数観察された(図1)。上睑結膜には著明な乳頭増殖がみられ(図2)、上円蓋部にも下睑結膜と同様の大型の濾胞が認められた。球結膜は軽度に充血し、左眼では上方輪部結



図1 症例の下睑結膜所見：大きな充実性の濾胞が多数みられる。



図2 症例の上睑結膜所見：乳頭の増殖と濾胞形成を認める。

膜の軽度の腫脹とこれに接する角膜に淡い浸潤がみられた。両眼とも角膜の上半分を中心に点状上皮性角膜炎があり、一部ではわずかな上皮下浸潤をともなっていた。また、両側の耳前リンパ節の腫脹と圧痛を認めた。以上の臨床所見から封入体結膜炎を疑い、結膜擦過物検査を行った。

結膜擦過物検査：眼結膜の擦過標本を2枚作成した。1枚はアセトン固定後 FITC 標識モノクローナル蛍光抗体 (MicroTrak®: Syva 社, 第一化学) で染色し、蛍光抗体法によるクラミジア抗原の検索を行った。残りの1枚はメタノール固定後、ギムザ染色を施した。擦過物の1部は SPG (sucrose-phosphate-glutamate) transport medium にとり、クラミジア分離用とした。検査の結果、蛍光抗体法で多数のクラミジア抗原を認めた。また、DEAE-dextran 処理 HeLa 229細胞を用いた分離培養法で、*C. trachomatis* が分離された。ギムザ染色標本では、多数の好中球、リンパ球、プラズマ細胞のほか、Leber 細胞もみられ、結膜上皮細胞には細胞質内封入体が観察された(図3)。以上の結果から成人型封入体結膜炎と診断した。

耳鼻科および泌尿器科検査所見：結膜炎発症後に出現した耳閉感の原因精査のため、昭和61年7月11日耳鼻科の検査を行った。上咽頭には腫瘍を思わせる肉芽様の著明な増殖性変化があり、右浸出性中耳炎を認めた。また両側の上深頸部リンパ節腫脹がみられた。以上の所見から、耳鼻科的には上咽頭の悪性腫瘍が疑われたため、同日上咽頭生検が施行された。しかし、臨床経過からクラミジア感染の可能性も考え、上咽頭粘膜炎擦過物を採取し MicroTrak を用いてクラミジア抗原の有無を調べた。その結果、全視野40個程度の *C. trachomatis* 抗原が検出された。上咽頭生検の組織像

は慢性増殖性炎症で悪性所見はみられず、これらのことから上咽頭のクラミジア感染症と診断した。

7月17日に行われた泌尿器科での検査では、臨床的に尿道炎は認められず、蛍光抗体法 (MicroTrak) による検査でも、尿道擦過物中にクラミジア抗原は検出されなかった。

治療および経過：7月11日よりエリスロマイシン、コリスチン混合点眼液 2時間毎、テトラサイクリン眼軟膏就寝前1回の眼局所投与と、ミノサイクリン内服 1日200mg による治療を開始した。約1週間で結膜の充血、眼脂は軽減し、左眼の上方輪部の浸潤も消失した。1週間後の結膜擦過物検査では、蛍光抗体法、分離培養ともに陰性であった。結膜の濾胞は徐々に混濁が減少して、比較的透明、扁平なものになり、4週間後には軽度の濾胞を残すだけになった。上記治療を開始後、上咽頭の変化も徐々に軽減し、1カ月後には増殖性変化はほぼ消失、頸部リンパ節もほとんど触知しなくなったため、内服治療を中止した。治療開始2カ月後、結膜にはごくわずかの濾胞がみられるのみとなり、眼局所投与を中止した。

### III 組織学的検索

#### 1. 病理組織学的所見

採取した上咽頭生検組織は、10%ホルマリン固定後パラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して、光学顕微鏡で観察した。

上咽頭粘膜炎上下には著しい細胞浸潤と、多数の濾胞がみられた。濾胞は中央部に淡明で大型の核を持つ組織球からなる胚中心があり、所々には核分裂像がみられた。その周囲を比較的小型のリンパ球がとりまいて

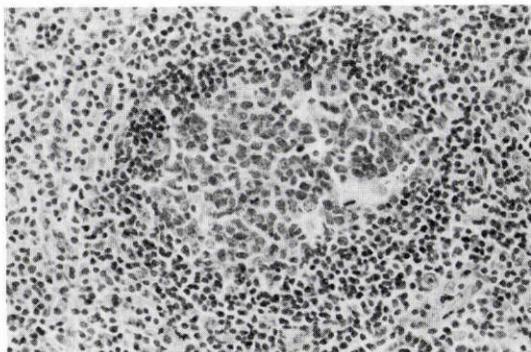


図4 上咽頭粘膜炎上下にみられた濾胞。淡明で大型の核を持つ組織球が胚中心を形成し、その周囲をリンパ球がとりまいている。(H.E.染色, ×100)

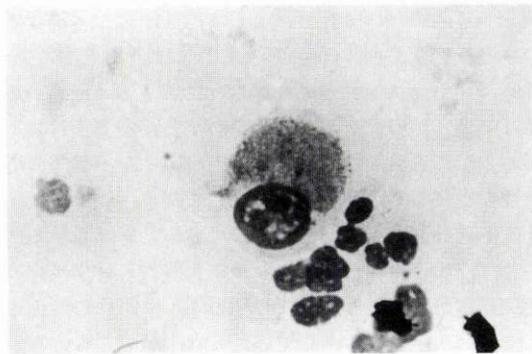


図3 結膜擦過物中にみられた封入体。(ギムザ染色, ×500)

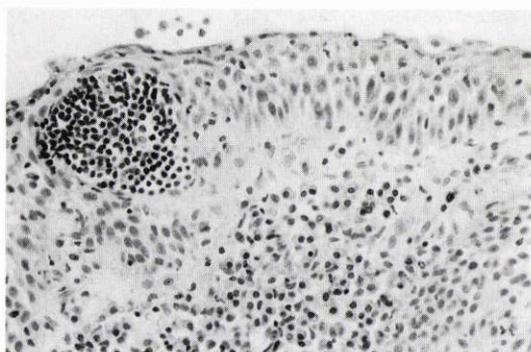


図5 上咽頭粘膜の細胞浸潤。粘膜上皮層にリンパ球、プラズマ細胞を認め、一部ではリンパ球の集団からなる浸潤巣がみられる。上皮下にもリンパ球とプラズマ細胞を主体とする瀰漫性の細胞浸潤を認める。(H.E.染色, ×100)



図6 上咽頭粘膜上皮層にみられた封入体。上皮層に空胞に囲まれた顆粒状物質がみられる(→)。のちに蛍光抗体法により *C. trachomatis* の封入体であることが確認された。(H.E.染色, ×500)

ていた(図4)。上皮層にはリンパ球、プラズマ細胞の浸潤があり、一部ではリンパ球の集団からなる上皮内浸潤巣がみられた(図5)。上皮下にもリンパ球とプラズマ細胞を主体とする細胞浸潤を認めた。粘膜上皮層には多くの空胞がみられ、所々に *C. trachomatis* の封入体と考えられる空胞内の顆粒状物質が観察された(図6)。

## 2. 蛍光抗体法によるクラミジア抗原の検索

次に生検組織内のクラミジア抗原の有無および顆粒状物質とクラミジア抗原の関係を明らかにするため、蛍光抗体法による検索を行った。パラフィン切片を脱パラフィンした後、Phosphate Buffered Saline(PBS)に溶解した0.25%トリプシン溶液で室温で約20分間処

理した。PBS および蒸留水で洗浄後、FITC 標識モノクローナル蛍光抗体 (MicroTrak<sup>®</sup>) で室温30分染色し、蛍光顕微鏡で観察した。

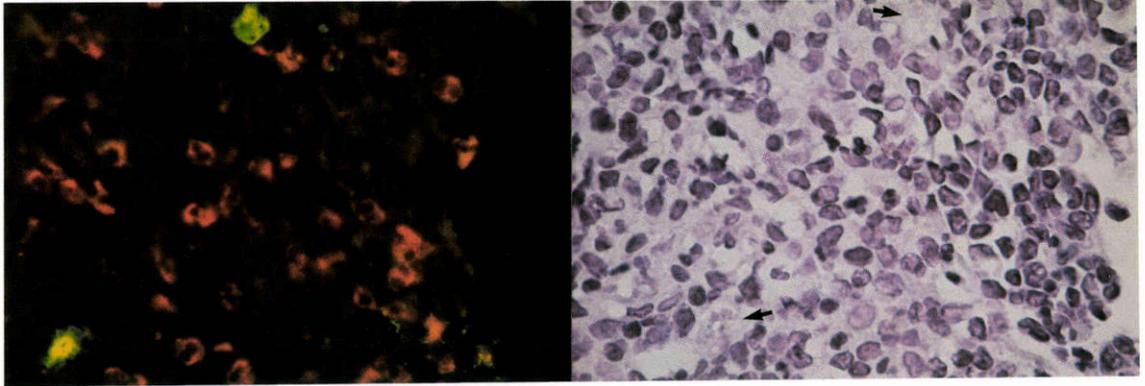
上皮細胞層と思われる組織の表層の部分に、不整形の特異蛍光が観察された(図7A)。採取時に組織が破壊されたと思われる部分では、細胞間にアップルグリーンの点状の特異蛍光が多数認められた(図7A)。観察したかぎりでは蛍光は上皮層に局限し、上皮下には認められなかった。次に、蛍光顕微鏡で観察した後、同一の切片に対してヘマトキシリンによる核染色を行った。

図7A, Bは同一切片の同一の部位で、Aは蛍光染色、Bはヘマトキシリン染色によるものである。7Aにみられる2個の大きな不整形の蛍光は、7Bの顆粒状物質(→)に一致していた。同様に図8Aの蛍光(→)は、8Bの空胞内の顆粒状物質(→)に一致しており、その下方には扁平な核が認められた。このように生検組織でも粘膜上皮層に蛍光抗体法で *C. trachomatis* 抗原が証明され、またH.E染色標本にみられた顆粒状物質が *C. trachomatis* の封入体であることが確認された。

## IV 考 按

本症例は結膜炎発症後に耳閉感を訴え、臨床的に上咽頭の増殖性変化、浸出性中耳炎、上深頭部リンパ節腫脹の3つの特徴的な所見を認めた。蛍光抗体法で上咽頭粘膜にクラミジア抗原が証明されたことから、これらの臨床所見はクラミジアの上咽頭感染によるものと考えられた。

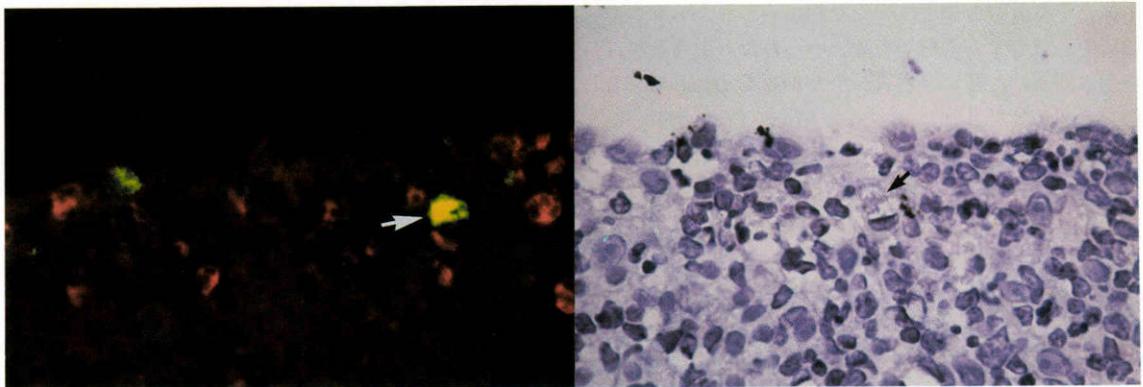
Jawetz ら<sup>6)</sup>はクラミジアの結膜接種実験の中で、10例中3例に上咽頭感染を認め、Dawson ら<sup>11)</sup>は同様の実験で84例中12例に耳閉感などの上咽頭感染の症状が出現したと報告している。彼らが記載した上咽頭感染例をみると<sup>6)7)11)</sup>、自覚症状としては耳閉感や耳痛などの中耳炎症状が多く、臨床所見としては浸出性中耳炎、鼻咽頭の lymphoid hyperplasia、頸部リンパ節腫脹があげられている。これらの所見のうち、中耳炎はおそらく上咽頭感染の結果おこった上咽頭リンパ組織の増殖性変化により、耳管閉塞が生じておこったもので、1次的な病変は上咽頭粘膜感染であると考えられる。Gow ら<sup>12)</sup>は、中耳炎を合併した成人型封入体結膜炎の症例を報告しているが、この例では、中耳炎の原因として上咽頭感染が存在していた可能性が考えられる。また Jones ら<sup>5)</sup>は、クラミジア性結膜炎にはしばしば鼻咽頭炎の合併がみられ、上気道症状の強いときには、



A

B

図7A, B 上咽頭粘膜上皮層の封入体。A：蛍光抗体法(MicroTrak), B：同一標本のヘマトキシリン染色。2個の大きな不整形の特異蛍光と多数の点状の蛍光がみられる(A)。ヘマトキシリン染色標本では、蛍光に相当する部位に顆粒状物質が観察される(B,→)。(A, Bともに, ×200)



A

B

図8A, B 上咽頭粘膜上皮層の封入体。A：蛍光抗体法(MicroTrak), B：同一標本のヘマトキシリン染色。Aでは大小5つの特異蛍光がみられる。矢印→の蛍光はBにみられる空胞内の顆粒状物質に(→)一致しており、これが封入体であることを示している。その下には圧排された核がみられる。(A, B おもに, ×200)

アデノウイルス感染症と誤る危険があることを述べている。

現在の成人のクラミジア感染症は、尿性器感染を主体として尿性器から結膜などの他の部位へ感染してゆくルートが主であり、上咽頭感染も、性行為などによる咽頭への直接接種によるものが多いとされている<sup>9)</sup>。一方、Dawson ら<sup>11)</sup>、Jawetz ら<sup>6)</sup>の結膜接種実験で示されているように、封入体結膜炎にひき続いて上咽頭感染がおこる場合がある。Dawson ら<sup>11)</sup>の報告した上咽頭感染合併例の臨床経過をみると、結膜炎発症

から中耳炎症状出現までの期間は4日から93日(平均36日)で、接種側と同側に症状が出現している。本症例の場合結膜炎発症から耳閉感出現までは約1カ月半で、結膜炎と同様最初に右、次いで左に耳症状が出現しており、Dawson らの実験例と極めて類似した臨床経過を示している。このことは、本症例の上咽頭感染が結膜炎に続発しておこった可能性を示唆している。

封入体結膜炎に続発して上咽頭感染がおこる場合、感染経路としてもっとも考えられるのは涙道を介するルートである。粘膜にクラミジアが感染した場合、そ

のほとんどは涙嚢に続発感染をおこすといわれているが<sup>13)14)</sup>、このことは結膜嚢内の病原体が比較的容易に涙道に侵入して感染することを示しており、病原体は最終的に鼻咽腔に到達すると考えられる。C. trachomatisは粘膜の中でも特に円柱上皮に好んで感染するが、線毛円柱上皮で覆われている上咽頭はこの点で好発部位といえる。また、上咽頭は元来粘膜下リンパ組織の発達している部位であり、炎症により著明なリンパ球浸潤や濾胞形成がおこる。鼻咽腔に達したクラミジアは上咽頭粘膜に感染し、その結果粘膜上皮下に結膜円蓋部などと同様に強い炎症性細胞浸潤や濾胞形成がおこり、著しい場合には今回のような腫瘍を思わせる増殖性変化に至るものと考えられる。

生検によって得られた上咽頭組織は組織学的に慢性増殖性炎症の所見を呈し、従来報告されているトラコーマの組織像<sup>14)15)</sup>と一致するものであった。すなわち、上皮内および上皮下にリンパ球とプラズマ細胞を主体とする著明な瀰慢性細胞浸潤がみられ、上皮下には胚中心を有する濾胞が多数認められた。上皮層には空胞に囲まれた顆粒状物質、すなわちC. trachomatisの封入体が散見された。さらに、MicroTrakを用いた蛍光抗体法により上皮細胞内に封入体が同定され、また個々の粒子の形でも上皮層に多数のクラミジア抗原が観察された。

クラミジア抗原の検出に用いたMicroTrakは、C. trachomatisの主要膜蛋白(major outer membrane protein: MOMP)に対するモノクローナル抗体<sup>16)</sup>にFITCを標識したもので、現在診断用試薬として、病巣擦過物中のクラミジア抗原の検索に広く用いられている。今回上咽頭生検組織のパラフィン切片に対し、このMicroTrakによる抗原検出を試みた。用いた試料は一般光顕用に処理されたものであり、固定法や、処理を行う際の温度など必ずしも蛍光抗体法に適した条件<sup>17)18)</sup>で行われていないが、非常に良好な結果が得られた。このことはC. trachomatisの主要膜蛋白が、ホルマリン固定や加温に対して比較的安定で、その抗原性が良く保たれていたことを示している。また、ホルマリン固定されたパラフィン切片の場合、免疫染色の前に蛋白分解酵素で処理をすると良い結果が得られることが知られており<sup>19)</sup>、トリプシンによる処理をおこなったことも良い結果が得られた一因と考えられる。

最近数多くの抗原に関して、パラフィン切片を用いた蛍光抗体法の有用性が報告されているが<sup>18)~20)</sup>、今回の検索により、C. trachomatisについても蛍光抗体を

用いた抗原検出法がパラフィン切片に充分利用できることが示された。凍結切片に比べパラフィン切片は組織のコントラストに優れているため形態学的な観察がしやすい<sup>17)18)</sup>。また、生検組織や手術材料など広い範囲に利用でき、保存されている組織を対象にretrospectiveな検索も可能である。また、現在組織内のクラミジア抗原の検索法としておこなわれている免疫ペロオキシダーゼ法<sup>21)</sup>に比べ、蛍光抗体法は特異性がより高くコントラストが良いこと、細菌やクラミジアなどの微小抗原の光顕レベルでの観察により適している<sup>22)</sup>など、種々の利点が考えられる。

組織固定液の選択、酵素処理の必要性、染色手技など検討すべき点も多いが、組織内のクラミジア抗原の検索法として、今後幅広く応用される方法と考えられる。

稿を終えるにあたり、クラミジアの分離にご協力頂いた三菱油化メディカルサイエンスの石古博昭博士に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 中川 尚, 内田幸男: クラミジア眼感染症—トラコーマと封入体結膜炎—, 田中直彦編: 眼科Mook, 33, 結膜疾患, 東京, 金原出版, 167—177, 1987.
- 2) 千葉峻三: クラミジア・トラコーマティス感染症の疫学と臨床, ウイルス 36: 43—53, 1986.
- 3) Alexander ER, Harrison HR: Role of Chlamydia trachomatis in perinatal infection. Rev Invest Dis 5: 713—719, 1983.
- 4) 沼崎 啓, 中尾 亨: クラミジア感染症, 乳幼児感染症, 臨床とウイルス 13: 419—423, 1985.
- 5) Jones BR, Al-Hussaini MK, Dunlop EMC, et al: Infection by TRIC agent and other members of the bedsonia group; with a note on Reiter's disease I. Ocular disease in the adult. Trans Ophthalmol Soc UK 86: 291—312, 1966.
- 6) Jawetz E, Rose L, Hanna L, et al: Experimental inclusion conjunctivitis in man. J Am Med Assoc 194: 620—632, 1965.
- 7) Dawson CR, Schachter J: TRIC agent infections of the eye and genital tract. Am J Ophthalmol 63: 1288—1298, 1967.
- 8) Schachter J, Atwood G: Chlamydial pharyngitis? J Am Vener Dis Assoc 2: 12, 1975.
- 9) Jones RB, Rabinovitch RA, Katz BP, et al: Chlamydia trachomatis in the pharynx and rectum of heterosexual patients at risk for genital infection. Ann Int Med 102: 757—762, 1985.

- 10) 中川義久: Chlamydia trachomatis の気道感染に関する研究(第1報). 健康成人と呼吸器感染症患者の Chlamydia trachomatis に対する抗体保有に関する検討. 感染症誌 60: 856—864, 1986.
- 11) Dawson C, Wood TR, Rose L, et al: Experimental inclusion conjunctivitis in man. Arch Ophthalmol 78: 341—349, 1967.
- 12) Gow JA, Ostler HB, Schachter J: Inclusive conjunctivitis with hearing loss. J Am Med Assoc 229: 519—520, 1974.
- 13) 三井幸彦: 涙囊並ニ小涙管「トラコーマ」ニ於ケルプロワツェク氏小体. 日眼会誌 43: 2075—2092, 1939.
- 14) 三井幸彦: トラコーマに関する諸問題. 日眼会誌 57: 973—1003, 1953.
- 15) Duke-Elder S: System of Ophthalmology vol. VIII, Diseases of the Outer Eye Part 1. London, Henry Kimpton, 267—280, 1965.
- 16) Stephens RS, Tan MR, Kuo C-C, et al: Monoclonal antibodies to Chlamydia trachomatis: Antibody specificities and antigen characterization. J Immunol 128: 1083—1089, 1982.
- 17) 川生 明: 図説蛍光抗体法—その原理と技術および応用—. 東京, ソフトサイエンス社, 15—21, 184—187, 1983.
- 18) Dorsett BH, Ioachim HL: A method for the use of immunofluorescence on paraffin-embedded tissues. J Clin Pathol 69: 66—72, 1978.
- 19) Brozman M: Immunohistochemical analysis of formaldehyde- and trypsin- or pepsin-treated material. Acta Histochem 63: 251—260, 1978.
- 20) Brandtzaeg P: Prolonged incubation time in immunohistochemistry: Effects on fluorescence staining of immunoglobulins and epithelial components in ethanol- and formaldehyde-fixed paraffin-embedded tissues. J Histochem Cytochem 29: 1302—1315, 1981.
- 21) Winkler B, Reumann W, Mitao M, et al: Immunoperoxidase localization of chlamydial antigens in acute salpingitis. Am J Obstet Gynecol 152: 275—278, 1985.
- 22) 平野 寛, 川生 明, 横山正夫: マニュアル実験組織化学. 東京, 丸善, 265—277, 1987.