

Whipple病の超微形態

An Ultrastructural Study of a Case of Whipple's Disease

瀬野尾 章, 瓜生 恭平*, 儘田 明央**, 岡田 久美子**, 羽山 忠良**

* 八尾徳州会病院

** PCL Japan 電子顕微鏡検査課

要 約

本国では稀な疾患であるWhipple病の1例について、経時的な小腸生検からの組織を電子顕微鏡的に検討したので、その結果に考察を加え報告する。

症例は日本人の男性で、主訴は食欲不振、体重減少と発熱で、平成12年1月からの8か月で12kgの体重減少があり、同年10月、精査目的に八尾徳州会病院を紹介受診し、入院後、高カロリー輸液による栄養管理と抗生物質投与により体重増加が認められ、同年12月に退院となり、以後外来で経過観察された。平成14年5月に小腸生検を行い、光学顕微鏡検索では、小腸粘膜固有層と粘膜下組織に微細顆粒状で灰白色の胞体をもつ多数のfoamy macrophagesが観察され、PAS染色陽性であった。電顕所見では、直径0.2ミクロンで長さが2-3ミクロンの桿菌が細胞外に多数認められた。また、macrophages内では菌体と判明できるものから、電子密度の低い指紋様構造を呈するものまで、様々な消化段階のものが認められた。Whipple病と診断され、抗生物質治療が行われ、約2年後の生検では光顕的には多数のmacrophagesが観察されたが、電顕的には菌体は観察されなかった。さらに5か月後の生検では、光顕的にはfoamy macrophagesがわずかに観察され、電顕的にはその細胞質内に指紋様ないし細線維状構造を示す不定形顆粒が認められた。

キーワード：Whipple病，十二指腸生検，超微形態

はじめに

Whipple病は1907年にJohns Hopkins Hospitalの雑誌に、5年にわたる体重減少、発熱、下痢、腹部症状を呈し、さらに低血圧症、皮膚の色素沈着と貧血を認めた症例として記載されたのが最初であり¹⁾、後に記載者の名前からWhipple病と呼ばれるように成った疾患である。この報告の中で彼は小腸粘膜固有層内に増加したmacrophagesの胞体内に銀染色に染まる桿状の微生物様のものが存在すると述べている。後にこのmacrophagesはperiodic acid Schiff (PAS) 反応陽性であることが判明し、現在でも生検材料の診断に重要な所見として利用されている²⁾。Whipple病の病因に関しては、電子顕微鏡検索にて細胞壁を持つ菌体が観察され³⁻⁶⁾、さらにpolymerase chain reaction (PCR) 法によるWhipple病の病原細菌に対する特異的ribosomal RNA

(rRNA) の検出が可能と成り^{7, 8)}、Whipple病の病原菌としてTropheryma whippeliiが同定された。さらに最近になりこの病原菌はヒト線維芽細胞内で培養が可能となった⁹⁾。

Whipple病の臨床症状としては、下痢、吸収障害、体重減少などの消化器症状の他、関節炎、関節痛、リンパ節腫脹、胸膜炎、気管支拡張症、人格障害や痴呆などの神経症状さらにうっ血性心不全や心外膜炎などが挙げられている。この様にWhipple病は全身性感染性疾患であり、これまで全世界で約700例の報告がある比較的稀な疾患である。その多くは白人の中年男性であり、アジア人についての報告は極めて少ない¹⁰⁾。ヒト組織適合性抗原であるHLA-B27抗原を持つヒトは、持たないヒトの3-4倍Whipple病に罹患しやすいといわれており、これが人種的な罹患率の差に表れていると考えられている¹¹⁾。またHLA-B27は細胞性免疫機

構の異常を招きWhipple病の病原菌に感染し易くなるとの報告もある¹²⁾。

診断には小腸生検の病理組織検査，特にPAS染色陽性のmacrophagesの粘膜固有層への浸潤が重要である。また，最近ではPAS陽性のmacrophageが検出されない症例でも，電子顕微鏡検索で病原菌が確認されたとの報告¹³⁾もあり，*Tropheryma whippelii*の電子顕微鏡的所見の正確な把握は重要である。今回我々はWhipple病の一例について治療前と治療後の十二指腸生検組織を電子顕微鏡的に検索したので，その結果に考察を加え報告する。

症例と検索方法

症例は日本人男性で，主訴は体重減少，全身倦怠感，食欲不振，発熱。平成12年1月（50歳）頃より食欲不振と著しい体重減少（8ヶ月で12kg）があり近医を受信し，精査目的に八尾徳州会病院を紹介され，胃，十二指腸内視鏡検査で潰瘍の跡がみられ，ファンギソン，H2ブロッカー等にて治療され，外来でフォローされていた。しかし体重減少が続くため，同年10月に同病院入院と成った。入院時，身長170cm，体重50kg，血圧105/70mmHgで，入院後も食欲低下が続き，10月18日よりIVHによる栄養管理が開始された。その後，徐々に全身状態は安定し食欲も出てきたが，入院後37度から38度代の発熱が持続し，発熱の原因は不明であったが，CRP4.2mg/dlと炎症所見が見られたため抗生物質（CTR，ISP）の投与が開始された。治療後も発熱は持続したが，食欲が増し，体重も増加したため，平成12年12月16日退院となった。以後外来で経過観察となった。平成14年5月にWhipple病の疑いにて十二指腸生検を行い，病理組織学的にWhipple病と診断された。抗生物質による治療後に，治療効果の判定のため平成16年6月と11月にも十二指腸生検が行われた。以上，3回の生検組織を電子顕微鏡的に検討した。

十二指腸生検組織はホルマリン固定，パラフィン包埋を施し，光学顕微鏡で病理組織検索が行われた。このパラフィン包埋ブロックから，戻し電顕法にて電顕ブロックを作製し，超薄切片を作製し電子染色を施し，透過型電子顕微鏡にて観察した。

結 果

平成12年に初めて行われた十二指腸生検では，粘膜上皮には著変は認められなかったが，主として粘膜固有層内に，リンパ球，形質細胞などの炎症細胞と共に微細顆粒状で灰白色の胞体を持つfoamy macrophages

が多数認められた（図1）。このmacrophagesはPAS染色で，び慢性ないし顆粒状に強く染色された。この時の電顕的検索ではfoamy macrophagesの周囲の細胞外スペースに直径約0.2ミクロンの菌体が多数認められた（図2）。この桿菌は強拡大では中等度電子密度の薄い細胞壁を持ち，長さが2-3ミクロンの桿菌として認められた（図3）。また，foamy macrophagesの細胞質内には粘液状の大小不同の顆粒が充満しており，一部の顆粒にはほぼintactの菌体から消化段階の異なる様々な菌体が認められ，菌体はmacrophagesにより貪食，処理されていることを示している（図4）。

治療効果の判定の為に行なわれた初回生検から約2年後の小腸生検材料では，光顕的には小腸粘膜固有層に多数のfoamy macrophagesが観察されたが，電顕的には，foamy macrophagesの細胞質内には大小不同の不定形の粘液状の顆粒を充満しており菌体は全く認められなかった（図5）。また，粘膜固有層内に認められたその他の炎症細胞の細胞質内や細胞外にも菌体は全く観察されなかった（図6）。初回生検から2年6ヶ月後の第3回目の生検材料では，光顕的には，粘膜固有層内に少数のfoamy macrophagesが観察され，電顕的にはこのmacrophagesは電子密度の低い不定形顆粒が認められ，その顆粒は強拡大像で指紋様，細線維状の構造が認められた（図8）。この時期にも第2回目の生検と同様に菌体は全く認められなかった（図7，8）。

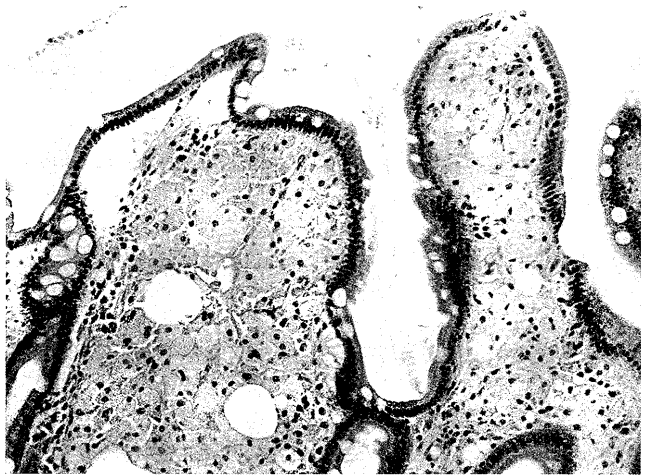


図1. 初回十二指腸生検の光顕像。拡大した粘膜固有層内にfoamy macrophagesと脂肪滴が充満している。

考 察

Whippleの1907年の報告¹⁾によると，①この疾患は脂肪代謝異常による疾患で，intestinal lipodystrophyと呼ぶことを提唱し，また同時に②顕微鏡標本では銀染色に染まるrod-shaped organismが多数認められることも記載している。その後の報告では脂肪代謝異常にの

みこの疾患の興味が偏り、細菌感染症の可能性が示唆されたのは1961年になり電子顕微鏡的検索が行われてからからである^{4, 5)}、そして1991年にpolymerase chain reaction法を用いて、やっと原因菌としてTropheryma whippelliiが同定されるに至っている^{7, 8)}。この間に90年近くも要した珍しい疾患であり、現在でもなお細菌の侵入経路や侵入後の各種の臓器組織への移行経路などに関しては不明のままである。感染部位としては小腸が最も侵されやすく、リンパ節、肝臓、脾臓、心内膜、眼、脊髄、皮膚、関節などで感染が確認されている¹⁴⁾。感染好発部位として知られている小腸においては、foamy macrophagesの粘膜固有層への浸潤が特徴的であるが、このmacrophagesの細胞質内に各段階の消化過程にある菌体が認められるが、intactな菌体が細胞間隙に多数認められることは、むしろmacrophagesの貪食機能の障害の結果と考えられ、これを支持する実験結果もある¹⁵⁾。今回の観察においても小腸の粘膜固有層内の細胞間隙に多数の菌体が観察され、macrophagesの細胞質内には消化の最終段階と考えられる構造物が充満し、食後後早期と考えられる菌体は非常に少なかった。このことはmacrophagesの貪食機能の障害・低下を意味する所見であると考ええる。

Whipple病の病原菌の超微形態に関しては多数の報告があり^{3, 6)}、今回の超微形態検索結果も全く同様で、直径約0.2ミクロンで長さが約2ミクロンの桿菌で、薄い細胞壁を持っていた。また、foamy macrophagesの細胞質内には指紋様、細線維状構造の不定形顆粒が多数認められ、PAS染色陽性であることから、この顆粒は菌体の細胞壁の分解産物を多く含むことが示唆される。これら、菌体とmacrophagesの超微形態的所見はWhipple病の電顕診断に極めて重要な知見であると考えられる。さらにWhipple病患者の腸管膜リンパ節の生検材料で、光学顕微鏡的検索にてfoamy macrophagesが認められない病巣に、電子顕微鏡的検索で菌体が検出されたとの報告もあり¹⁶⁾、Whipple病の診断やその治療効果の判定のためには電子顕微鏡的検索が不可欠のものとなってきている。またWhipple病の感染初期段階における確定診断、あるいは定型的組織所見を示さない腸管外の病巣からの診断などにも電子顕微鏡検索は有用であると考えられる。

引用文献

- Whipple G.H.: A hitherto undescribed disease characterized anatomically by deposits of fat and fatty acids in the intestinal and mesenteric lymphatic tissues. Bull. Johns Hopkins Hosp., 18: 382-391, 1907.
- Fleming J.L., Wiesner R.H., Shorter R.G.: Whipple's disease : clinical, biochemical, and histopathologic features and assessment of treatment in 29 patients. Mayo Clin. Proc., 63:539-551, 1988.
- Yardley J.H., Hendrix T.R.: Combined electron and light microscopy in Whipple's disease. Demonstration of bacillary bodies in the intestine. Bull. Johns Hopkins Hosp., 109: 80-98, 1961.
- Chears W.C., Ashworth C.T.: Electron microscopic study of the intestinal mucosa in Whipple's disease. Demonstration of encapsulated bacilliform bodies in the lesion. Gastroenterology, 41: 129-138, 1961.
- Dobbins WO III, Kawanishi H. Bacillary characteristics in Whipple's disease: an electron microscopic study. Gastroenterology, 80: 1468-1475, 1981.
- Silva M.T., Macedo P.M., Moura Nunes J.F.: Ultrastructure of bacilli and the bacillary origin of the macrophagic inclusion in Whipple's disease. J. Gen. Microbiol., 131: 1001-1013, 1985.
- Wilson K.H., Blichington R. et al.: Phylogeny of the Whipple's disease associated bacterium. Lancet, 338: 474-475, 1991.
- Relman D.A., Schmidt T.M, et al.: Identification of the uncultured bacillus of Whipple's disease. N. Eng. J. Med., 327:293-301, 1992.
- Raoult D, Birg M.L. et al. Cultivation of the bacillus of Whipple's disease. N. Eng. J. Med. 342:648-650, 2000.
- Yogi T, Hokama A. et al: Whipple's disease: the first Japanese case diagnosed by electron microscopy and polymerase chain reaction Internal Medicine, 43: 566-570, 2004.
- Canoso J.J., Saini M., Hermos J.A.: Whipple's disease and ankylosing spondylitis: simultaneous occurrence in HLA-B27 positive male. J. Rheumatol., 5: 79-84, 1978.
- Dobbins W.O.: Whipple's disease: an historical perspective. Quarterly J. Med., 56: 523-531, 1985.
- Finzi G., Franzi F. et al.: Ultrastructural evidence of Tropheryma whippellii in PAS-negative granulomatous lymph nodes. Ultrastruct. Pathol., 31: 169-172, 2007.
- Ratnaike, R.N.: Whipple's disease. Postgrad Med. J., 76:

- Whipple G.H.: A hitherto undescribed disease characterized anatomically by deposits of fat and fatty acids in the intestinal and mesenteric lymphatic

760-766, 2000.

- 15) Fredricks D.M., Relman D.A.: Cultivation of Whipples bacillus: the irony and ecstasy. *Lancet*, 350:1262-1263, 1997.
- 16) Finzi G., Franzi F. et al.: Ultrastructural evidence of Tropheryma whipplii in PAS-negative granulomatous lymph nodes. *Ultrastruct. Pathol.*, 31: 169-172, 2007.

An Ultrastructural Study of a Case of Whipple's Disease

Akira Senoo, Kyohei Uryu*, Akio Mamada**, Kumiko Okada**, Tadayoshi Hayama**

* Yao Tokusyuukai General Hospital

** Division of Electron Microscopy, PCL Japan

Abstract

The biopsied specimens taken from the small intestine of a patient with Whipple's disease which is rare in Japan were examined by electron microscopy. The result of the examination along with discussions are presented in this paper. This case involves a Japanese male whose chief complaints were appetite loss, weight loss and fever. The patient experienced a weight loss of 12 kg for a period of 8 months from January, 2000, and was admitted to the Yao General Hospital in October of the same year. He was discharged from the hospital in December of the same year after his weight increase was confirmed following the administration of antibiotics and nutritional management by intravenous hyperalimentation. In the first small intestine biopsy in May of 2002, a lot of foamy macrophages with fine granular grayish cytoplasm was observed in a lamina propria of a mucosa. The macrophages were deeply stained by periodic-acid Schiff reaction. By electron microscopic examination, numerous bacilli that measure 0.2 micron in diameter and 2 to 3 micron in length were observed in an extracellular space of the lamina propria, and a variety of digestive stages of bacilli was recognized in the cytoplasm of the macrophages. The patient was diagnosed as Whipple's disease, and was treated by antibiotics. About 2 years later, the bacillus was not observed through electron microscopy, although a lot of foamy macrophages were observed in the biopsied specimen by light microscopy. In the biopsied specimens taken 5 months after, the foamy macrophages were slightly observed. The cytoplasm of macrophage contained irregular-shaped granules which showed fingerprint and/or fibrillar structure, but bacillus was not observed.

Keywords: Whipple's disease, Small intestine biopsy, Ultrastructure

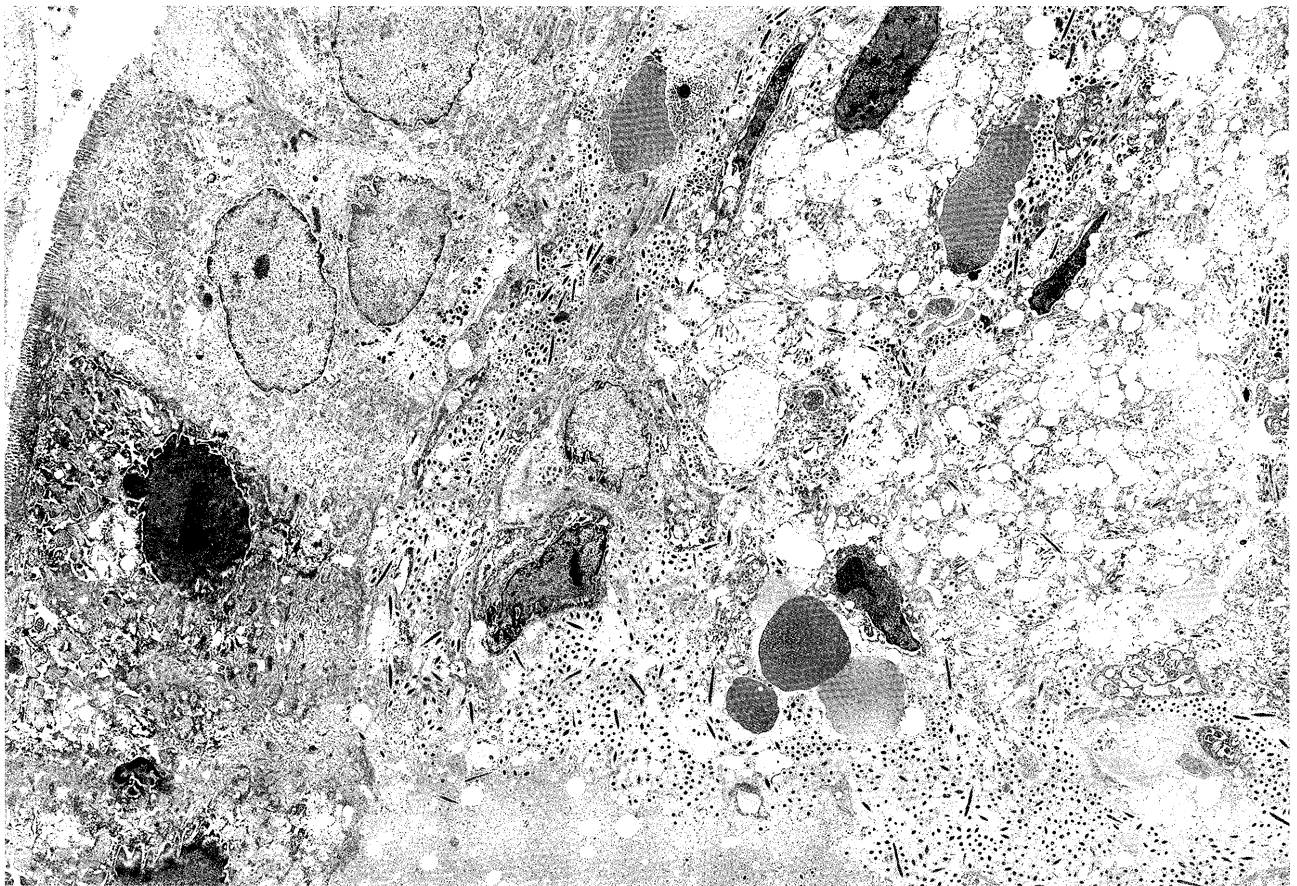


図2. 初回十二指腸生検の電顕像. 粘膜固有層内のfoamy macrophagesの外に多数の菌体が認められる. 十二指腸内腔には菌体は認められない.

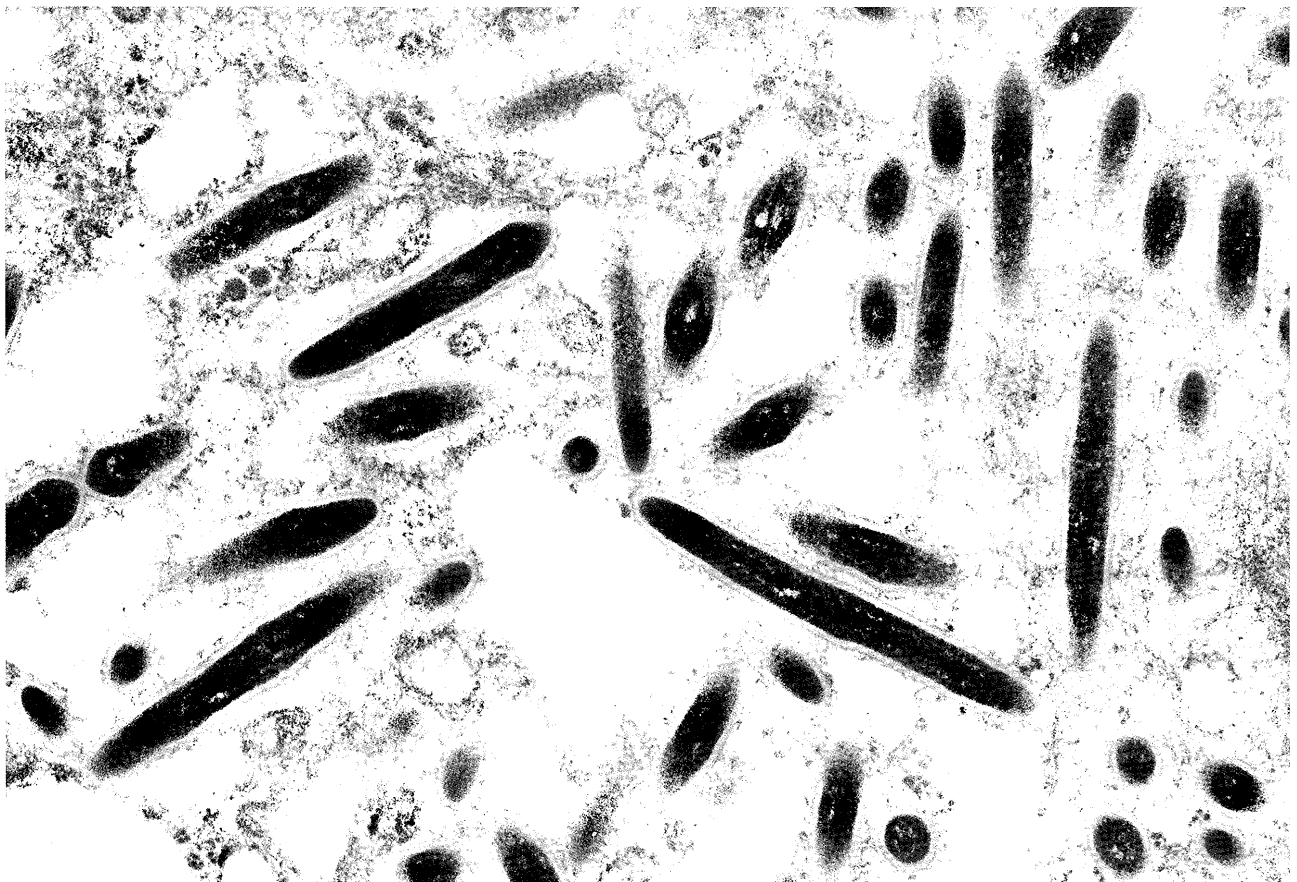


図3. 菌体の強拡大像. 菌は薄い細胞壁をもち、直径0.2ミクロン、長さ2~3ミクロンの桿菌である.

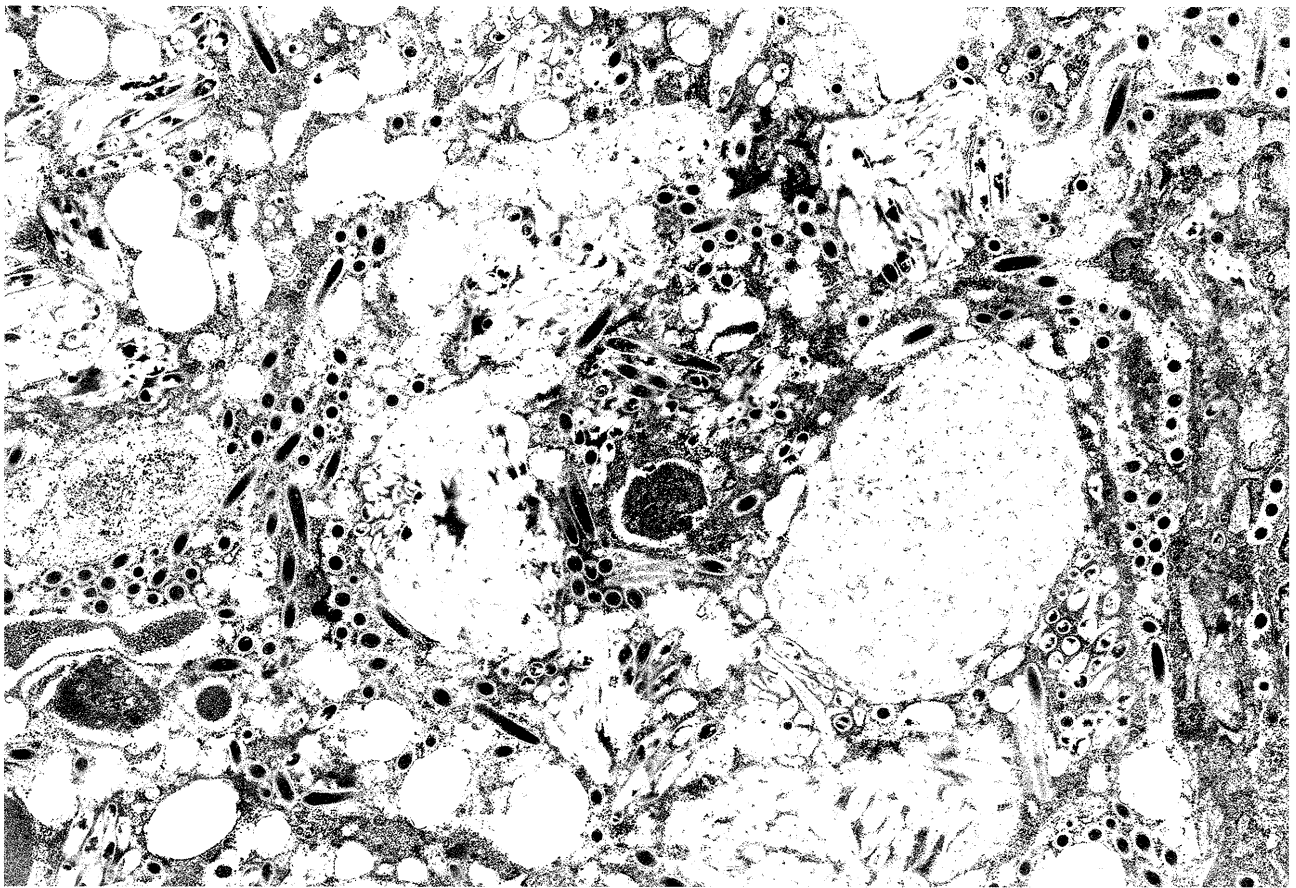


図4. Foamy macrophageの中拡大像。細胞質内に消化段階の異なる菌体やそのghostが認められる。

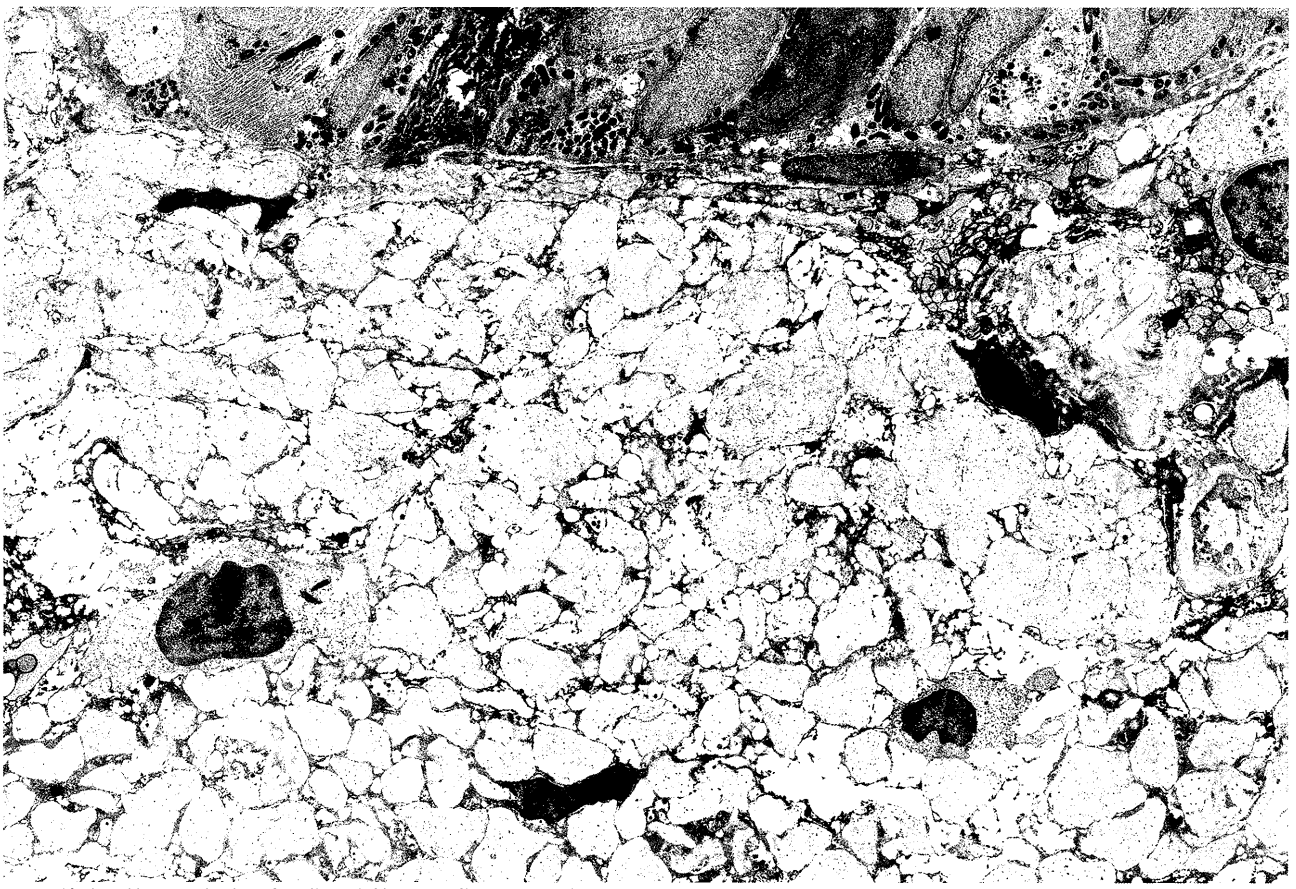


図5. 治療開始から2年後の十二指腸生検の電顕像。粘膜固有層に多数のfoamy macrophagesがみとめられるが、菌体は全く認められない。

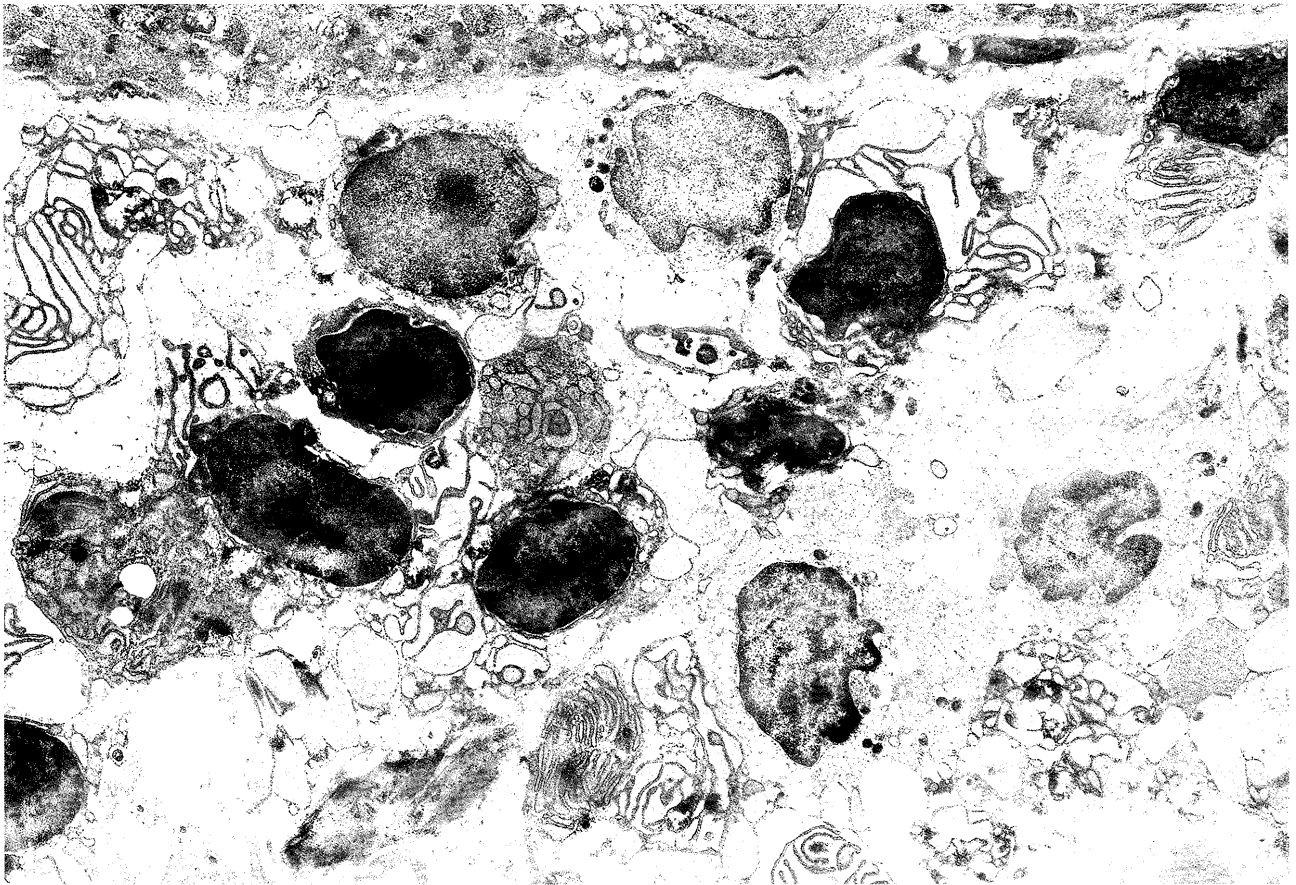


図6. 治療開始から2年後の十二指腸生検の電顕像. Foamy macrophageの認められない部位でも菌体は認められない.

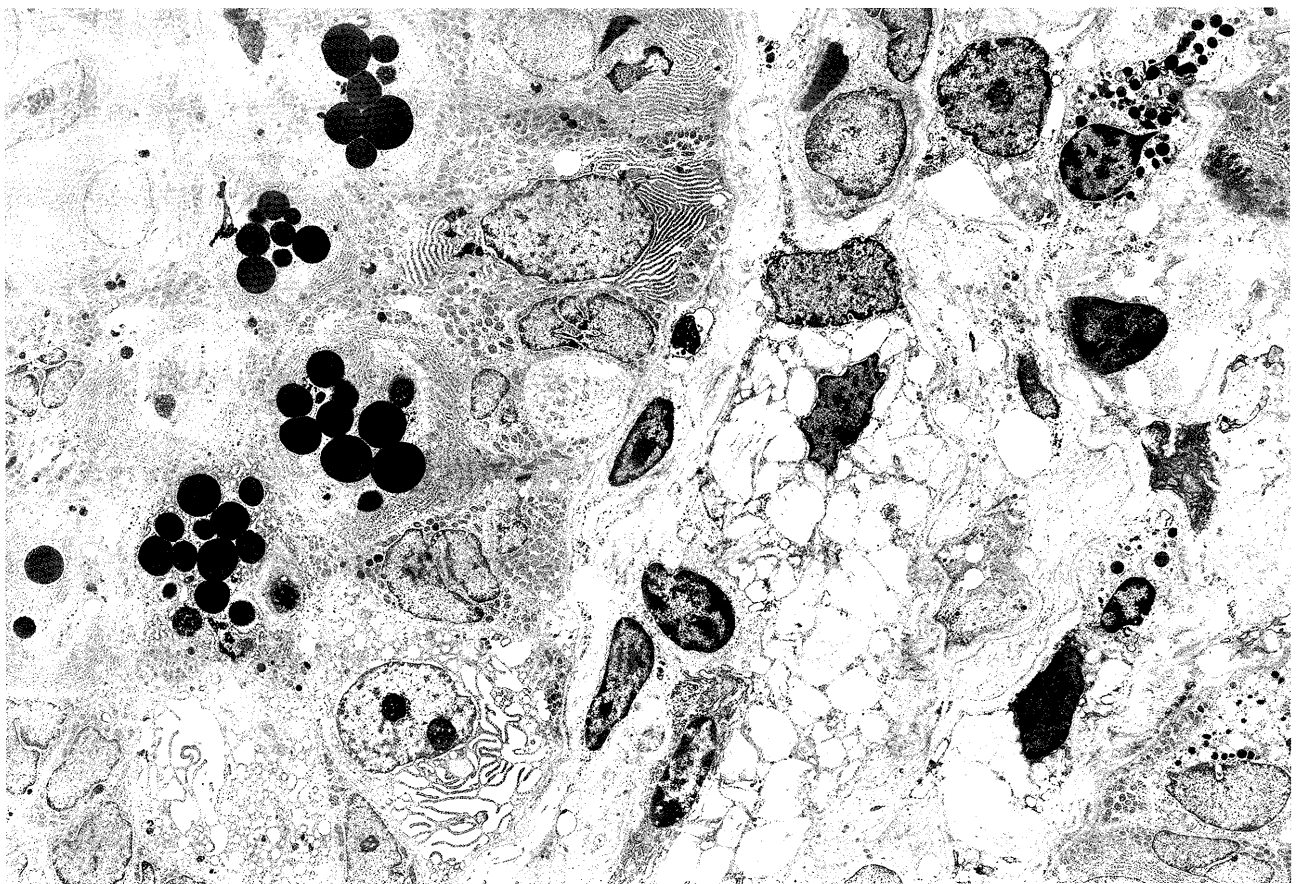


図7. 治療開始から約2年半後の十二指腸生検の電顕像. 少数のfoamy macrophagesとリンパ球浸潤が認められるが、菌体は認められない.

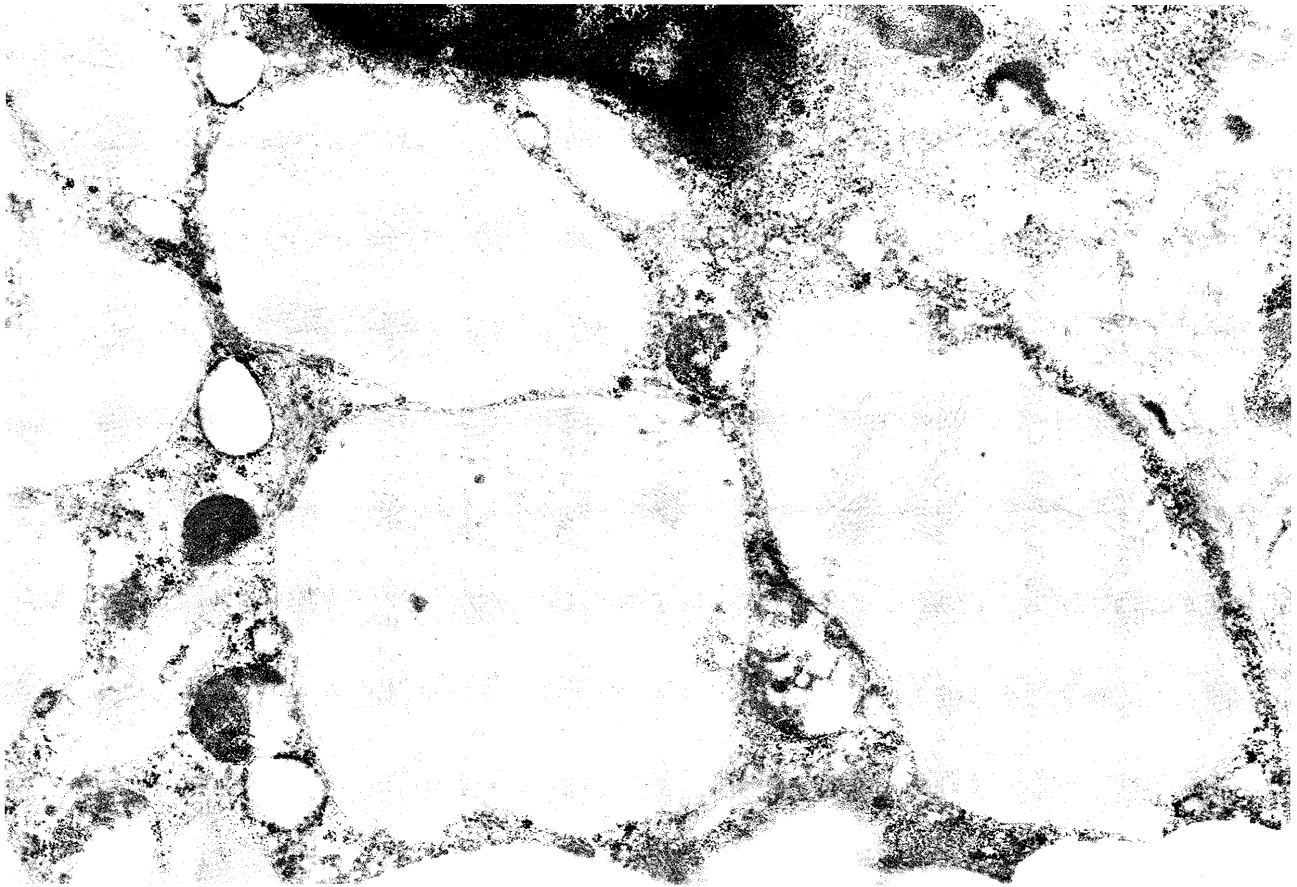


図8. 治療開始から約2年半後の十二指腸生検の電顕像. Foamy macrophageの細胞質内顆粒の拡大像. 顆粒内容は指紋様, 細線維状の特徴的な構造を示している.