

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 2 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461051

研究課題名(和文)心サルコイドーシスの診断における特異的アクネ菌抗体を用いた免疫組織染色の有用性

研究課題名(英文) Immunohistochemical identification of Propionibacterium acnes in granuloma and inflammatory cells of myocardial tissues obtained from cardiac sarcoidosis patients

研究代表者

榊原 守 (Mamoru, Sakakibara)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：90349366

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、P. acnesに対する特異抗体であるPAB抗体を用いた免疫染色により、心サ症群、炎症性心疾患(I)群および非炎症性心疾患(NI)群において比較検討した。心サ症群26例、I群15例、NI群39例全例に、HE染色・PAB抗体による免疫染色を行った。結果、心サ症群の類上皮細胞肉芽腫病巣内の免疫染色による陽性率は63%であった。一方、HE染色における炎症細胞巣の陽性率は、心サ症群62%、I群10%、NI群3%に認めたものの、その炎症細胞巣における免疫染色の陽性率は、心サ症群63%であるのに対し、その他の群では、全て陰性であった。免疫染色は、心サ症の確定診断の補助的役割が示唆された。

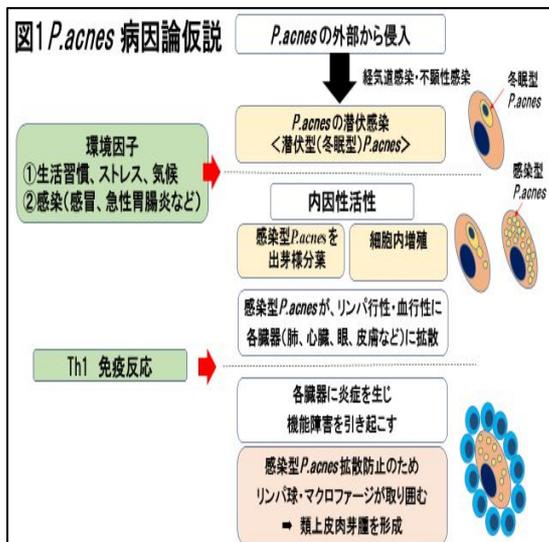
研究成果の概要(英文)：In cardiac sarcoidosis, early diagnosis and intervention are essential, pathological diagnosis is limited. Propionibacterium acnes is a implicated aetiologic agent of sarcoidosis We examined myocardial tissues obtained from patients with CS (n=26; CS-group), myocarditis (n=15; M-group), or other cardiomyopathies (n=39; CM-group) using immunohistochemistry (IHC) with a P. acnes antibody. We found granulomas in 16 (62%) CS-group samples. Massive (>13 inflammatory cells) and minimal (<12) inflammatory foci, were detected in 16 (62%) and 11 (42%) of the CS-group samples, 10 (67%) and 10 (67%) of the M-group samples, and 1 (3%) and 18 (46%) of the CM-group samples. P. acnes-positive reactivity in granulomas, massive and minimal inflammatory foci were detected in 10 (63%), 10 (63%), and 8 (73%) of the CS-group samples, in none of the other samples. IHC detection of P. acnes in inflammatory foci of myocardial samples without granulomas may be useful for differentiating sarcoidosis from others.

研究分野：循環器内科

キーワード：心サルコイドーシス P. acnes 心筋生検

1. 研究開始当初の背景

心サルコイドーシスに合併する心機能低下や致死的不整脈の抑制には、早期診断・早期介入が必要である、しかし、心サルコイドーシスは、特徴的な症状を呈さないため、臨床診断が困難であり、さらに心内膜心筋生検での組織学的診断率も低い。近年、サルコイドーシス患者の約8割において、肺、リンパ節の病変内にアクネ菌が存在していることが、*Propionibacterium acnes* 特異的クローン抗体 (PAB 抗体) を用いた免疫組織染色により証明され、サルコイドーシスの原因として、アクネ菌説が提唱されている(図1)。



2. 研究の目的

本研究は、心サルコイドーシス患者において、心内膜心筋生検により採取した心筋組織における PAB 抗体の陽性率を検討し、組織診断の有用性を明らかにすることによって診断率の向上を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

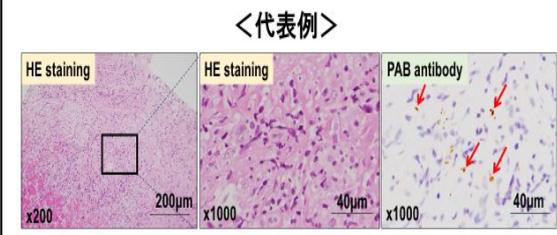
我々は、*P. acnes* に対する特異抗体である PAB 抗体を用いた免疫染色により、心サ症群、炎症性心疾患群および非炎症性心疾患群において、肉芽腫、炎症巣での陽性率を、7つの本邦多施設(北海道大学病院、国立循環器

病研究センター、和歌山県立医大病院、藤田保健衛生大学病院、東京女子医科大学病院、葉山ハートセンター、市立札幌病院)より EMB 標本および外科切除・剖検標本を集め、それぞれ評価した。また、臨床徴候・経過、各種画像診断および通常の組織診断を含んだ総合的な判断により、心サ症群、炎症性心疾患群(リンパ球性心筋炎など)、非炎症性心疾患群(拡張型心筋症、肥大型心筋症など)の3つの群に分類し、さらに、外科切除/剖検標本・EMB 標本それぞれにおいて評価した。

4. 研究成果

最終的に解析できた検体数は、心サ症群 26例(外科切除/剖検標本 18例、EMB 標本 8例)、炎症性心疾患群 15例(外科切除/剖検標本 8例、EMB 標本 7例)、非炎症性心疾患群 39例(外科切除/剖検標本 20例、EMB 標本 19例)であり、全例に Hematoxylin-Eosin (HE) 染色および PAB 抗体による免疫染色をおこなった。その結果、心サ症群の類上皮細胞肉芽腫病巣内の免疫染色による陽性率は 63%であった。図2に代表例を示す。

図2 心サ症患者の類上皮肉芽腫病変における PAB抗体による免疫染色 -EMB標本-



また、その陽性率は、外科切除/剖検標本 50%、EMB 標本 67%と、どちらの採取標本において も変わらなかった ($p = n.s$)。さらに、HE 染色で、炎症細胞巣の陽性率は、心サ症群 62% (外科切除/剖検標本 56%、EMB 標本 75%)、炎症性心疾患群 10%、非炎症性心疾患群 3%に認めたものの、その炎症細胞巣における PAB 抗体による免疫染色の陽性率は、

心サ症群 63%であるのに対し、炎症性心疾患群および非炎症性心疾患群では、全て陰性(0%)であった。

以上より、いままで、臨床的に心サ症が疑われても、EMBによる類上皮細胞を含む特徴的な心サ症を示す病理所見の陽性率は低かったものの、本研究の結果を鑑みると、EMBで一部の炎症細胞巣を採取できた場合、PAB抗体による免疫染色を追加することにより心サ症を確定診断するための補助的役割を果たす可能性が示唆された。また、臨床の現場において、虚血性心疾患は否定され、CMRも非特異的所見でかつEMBにおいても軽度の炎症細胞浸潤(心筋内へのリンパ球およびマクロファージ浸潤<14個/mm²未満)はあるものの病理学的にも非特異的な所見であるため、総合的な判断として、拡張型心筋症と診断される症例は少なくない。そのような患者に、このPAB抗体による免疫染色を追加することで、潜在的な心サ症患者の存在を発見できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

現在、投稿申請中

[学会発表](計8件)

1. 浅川直也、榊原 守、筒井 裕之

Immunohistochemical identification of *Propionibacterium acnes* in granuloma and inflammatory cells of myocardial tissues from patients with cardiac sarcoidosis、日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患(国際学会)、2016年10月7日、東京医科歯科大学(東京都、文京区)

2. 榊原 守、心臓サルコイドーシスの病因論から考えた最新の診断と治療に関して、第2回日本心筋症研究会(招待講演)、2016年5月14日、まつもと市民芸術館(長野県、松本市)

3. Naoya Asakawa, Mamoru Sakakibara, Efficacy of immunohistochemical Diagnosis with *Propionibacterium Acnes*-Specific Monoclonal Antibody、第80回日本循環器学会、2016年3月20日、仙台国際センター(宮城県、仙台市)

4. 浅川 直也、榊原 守、心サルコイドーシスにおける *P. acnes* 特異的モノクロナール抗体の陽性率に関する検討、第37回心筋生検研究会、2015年11月26日、神戸国際会議場(兵庫県、神戸市)

5. 浅川 直也、榊原 守、心サルコイドーシスに対する心内膜心筋生検の有用性に関する検討、第63回日本心臓病学会、2015年9月19日、パシフィコ横浜(神奈川県、横浜市)

6. 浅川 直也、榊原 守、心サルコイドーシスにおける *P. acnes* 特異的モノクロナール抗体の陽性率に関する検討、第1回心筋症研究会、2015年7月4日、一ツ橋大学(東京都、千代田区)

7. 浅川 直也、榊原 守、心サルコイドーシスにおける *P. acnes* 特異的モノクロナール抗体の陽性率に関する検討、第36回心筋生検研究会、2014年11月28日、ウインクあいち(愛知県、名古屋市)

8. 浅川 直也、榊原 守、心サルコイドーシスにおける *P. acnes* 特異的モノクロナール抗体を用いた免疫組織学的診断の有用性に

関する検討、特発性心筋症に関する調査研究
2014年度 総会・研究報告会、2014
年10月30日、国際フォーラム
(東京都、千代田区)

筒井 裕之 (Hiroyuki Tsutsui)
九州大学・医学研究科・教授
研究者番号： 70264017

〔図書〕(計2件)

1. 榊原 守、浅川 直也、医歯薬出版医学
の歩み260巻4号心サルコイドーシス診
療最前線 新たな診療ガイドライン作成後
の新展開「心サルコイドーシスの病因論と免
疫学的組織診断の有用性 P. acnes 病因論に基
づいた臨床応用」2017年発刊、289 -
294

2. 神谷 究、筒井 裕之、医歯薬出版、医
学の歩み252巻10号心サルコイドーシ
ス特集「心筋症 update」2015年発刊、1
093 1100

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榊原 守 (Mamoru Sakakibara)
北海道大学・大学病院・助教
研究者番号： 90349366

(2) 研究分担者

絹川 真太郎 (Shintaro Kinugawa)
北海道大学・医学研究科・講師
研究者番号： 60399871