

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07034

研究課題名(和文) ヒト腸管スピロヘータ症の病態解析

研究課題名(英文) Exploration of the pathogenicity of human intestinal spirochetosis

研究代表者

緒方 衝 (OGATA, Sho)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・臨床検査医学・准教授)

研究者番号：00531435

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト腸管スピロヘータ症(以下HIS)は大腸での細菌感染症である。原因細菌が腸管粘膜に付着する組織像を確認する、顕微鏡での病理学的診断が発見機会となることが多い。抗体で可視化したところ、通常の評価法ではみえなかった粘液中、また粘膜組織中への細菌侵入が確認され、検出率の上昇が得られることを見いだした。また大腸壁全体を評価できる手術材料では、侵入細菌が粘膜内の組織球に貪食され、細菌由来物質がリンパ組織中にもあり、抗体が作成される可能性が考えられた。また粘膜内では好酸球が多く、HISの組織学的特徴の一つである可能性も考えられた。これらの生体防御機能の発動はHISにおける病原性の存在を示唆していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト腸管スピロヘータ症については、発見の機会となる病理学的変化が微細な変化であるため発見がしにくく症例の蓄積が行われていなかったが、蓄積された症例をもとに行った今回の検討で、発見手法の改良とともに、大腸の粘膜内での原因細菌の分布状況、免疫を担当する細胞との関連、それに伴った特徴的な組織像を見いだすことができ、病態解析を進めることができた。従来国内では稀とされたが、一定数が存在すると考えられ、発見手法の改良から他疾患との関与についてさらに評価が進む可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Human intestinal spirochetosis is a bacterial infectious disease involving the large intestine. Microscopic identification of bacterial aggregation on the mucosal surface on pathologic examination is a main route of detecting this disease. Using immunohistochemical methods, we have found high identification rate of the bacteria within the attached mucus (and even in the mucosal tissue) where usual HE histology could not find them. We have also found that invaded bacteria were digested by macrophages and that bacteria-derived fragments were delivered to the lymphoid tissues. It was suggested possible specific antibody production as a host reaction. Furthermore, mucosal eosinophilia was observed as a possible characteristic of human intestinal spirochetosis. These findings revealed the presence of host reaction to bacterial mucosal invasion, and these were also evidences suggesting this bacteria could be pathogenic for human intestine.

研究分野：消化管感染症

キーワード：ヒト腸管スピロヘータ症 ブラキスピラ 免疫組織化学 腸管免疫

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒト腸管スピロヘータ症 (human intestinal spirochetosis, HIS ; 原因菌ブラキスピラ *Brachyspira*) は人獣共通感染症の一部とされる消化管感染症であり、大腸粘膜でのブラキスピラの菌体付着を形態的特徴とする。本邦では稀かつ無害と思われているが、消化器内科医や病理診 医の認識が徐々に得られつつあり、これとともに症例の蓄積が得られ始めている。これらを用いて我々の検討では、1 割程度の HIS 患者に炎症の存在が窺われ、またポリープ形成の可能性もあるなど、少しずつ HIS の病態を評価できるようになってきた。また、ブラキスピラの粘膜内侵入が恒常的に起こっており、粘膜防護の主体となる粘液性状が HIS 感染により変化することも見えてきている。

(2) これまでの一連の研究のなかで、大腸粘膜表面の粘液はブラキスピラと特別な関係があることがみえてきた。大腸粘膜に付着する粘液 (内層) は緻密なため、通常の細菌は通過できない生体防御機構の一部となっているが、ブラキスピラは侵入が可能な特殊な細菌であり、粘液はブラキスピラにとり、他細菌との競合のない“ 聖域 ” となっている。その粘液中のブラキスピラの存在を確認できれば、いままでいわれていた感染率や病原性は過小評価であった可能性がある。即ち、炎症の場において組織診で菌体付着を発見できないが、内腔の粘液中にはブラキスピラが存在しており、菌体付着がないことが炎症の場にブラキスピラがない証明にはならないのである。

2. 研究の目的

本研究の目的は “ HIS は本当に無害なのか明らかにする ” ことである。

3. 研究の方法

(1) ブラキスピラの感染頻度について、大腸粘膜を中心とした内視鏡下採取材料を使って、通常のヘマトキシリン・エオジン染色やギムザ染色、免疫組織化学的手法を比較しつつ検討する。

(2) ブラキスピラの大腸の壁内での分布について、ブラキスピラの発見・同定が容易な免疫組織化学的手法を応用し、大腸壁全層性及び領域リンパ節を含めた手術材料を使って、検討する。

(3) ブラキスピラ感染により、粘膜への侵入経路や防御因子について形態観察を中心に検討する。

4. 研究成果

(1) 抗トレポネーマ・パリダム抗体に対する交差反応を用いた免疫組織化学を積極的に診療に用いることにより、通常行われているヘマトキシリン・エオジン染色での大腸生検検体 (8/140 例 ; 5.7%) よりも高頻度 (10/140 例 ; 7.1%) で粘液中の HIS の原因菌ブラキスピラを検出することができるとともに、ヘマトキシリン・エオジン染色後の補助的使用よりも同等以上の HIS 検出率を示すことができた。この結果を国内学会及び国際学会に発表するとともに英文論文と

してまとめた。

(2) ブラキスピラの腸管壁内分布を HIS 合併の手術症例を用いて検討したところ、ヘマトキシリン・エオジン染色で認識できる粘膜表層上皮の表面付着部分のみではなく、表面に付着粘液中、表層上皮間、杯細胞内、また粘膜固有層部分の間質成分、また粘膜深層から粘膜下層浅層に存在するリンパ濾胞内にもブラキスピラの存在が免疫組織化学的に窺われた。しかしブラキスピラが粘膜を越え、粘膜下層や固有筋層、漿膜下層や外膜での分布は明らかでなかった。但し、大腸壁外のリンパ節中には、抗体に陽性物質の出現がわずかながらみられた。これらの所見からブラキスピラは表層上皮間ないしは杯細胞部分を粘膜侵入経路として粘膜固有層に浸潤しているが、基本的に粘膜固有層に留まっていることが見いだされた。しかしその抗原の一部はリンパ系組織を介して所属リンパ節へと輸送されている可能性が示唆された。またこの過程で、粘膜固有層内の組織球がブラキスピラを貪食する像が認められ、これが細菌の組織侵入に対する生体防護の最前線となっているものと考えられた。この内容を国内学会及び国際学会に発表するとともに英文論文としてまとめた。

(3) HIS の生検材料のうち、上皮増生のない炎症性粘膜と判定された材料を用いて、粘膜固有層での好酸球・好中球・マスト細胞、上皮層での好酸球と好中球の出現を評価したところ、いずれにも好酸球浸潤が目立ってみられた。また上皮層内の好酸球・好中球数が、表層上皮への菌体付着の程度、上皮層内へのブラキスピラ侵入の程度、陰窩粘液中のブラキスピラの存在の程度と相関が認められた。特に好酸球については HIS への粘膜でみられる中心的な炎症細胞の一つと考えられた。これを国内学会及び国際学会で発表するとともに英文論文としてまとめた。

(4) 上述の結果、すなわち、ブラキスピラの粘膜内侵入が確認されること、組織球の貪食からリンパ組織への輸送が窺われ、液性免疫機構の機会があること、粘膜での好酸球の増加とともに上皮層への好酸球・好中球浸潤がブラキスピラの程度と関連が窺われることを考えると、ブラキスピラ感染に対し、宿主であるヒトの組織には生体防御機構が働いており、ヒトに対する病原性が窺われた。ブラキスピラ感染による HIS は無害でない可能性が示唆される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ogata Sho, Shimizu Ken, Tominaga Susumu, Nakanishi Kuniaki	4. 巻 477
2. 論文標題 Histologic characteristics of human intestinal spirochetosis in operatively resected specimens	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 57～63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00428-020-02785-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 緒方 衝	4. 巻 8
2. 論文標題 病理からみたヒト腸管スピロヘータ症	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Brachyspira	6. 最初と最後の頁 30-37
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sho Ogata, Ken Shimizu, Kuniaki Nakanishi	4. 巻 2
2. 論文標題 Immunohistochemistry application as step one for diagnosing human intestinal spirochetosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Digestive System	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15761/DSJ.1000119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Ogata Sho, Shimizu Ken, Tominaga Susumu, Matsukuma Susumu	4. 巻 21
2. 論文標題 Mucosal eosinophilic infiltration may be a characteristic of human intestinal spirochetosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 721
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12879-021-06418-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Sho Ogata, Ken Shimizu, Susumu Tominaga, Susumu Matsukuma
2. 発表標題 Histologic Characteristics of Human Intestinal Spirochetosis in Endoscopically Taken Specimens
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 緒方 衝、清水 健、松熊 晋
2. 発表標題 ヒト腸管スピロヘータ症 における大腸粘膜での好 酸球浸潤に関する検討
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sho Ogata, Ken Shimizu, Susumu Tominaga, Susumu Matsukuma
2. 発表標題 Mucosal eosinophilic infiltration may be a characteristic of human intestinal spirochetosis
3. 学会等名 United States & Canadian Academy of Pathology Annual Meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 緒方 衝 清水 健 中西邦昭
2. 発表標題 大腸内視鏡検体におけるヒト腸管スピロヘータ症診断への免疫組織化学の応用
3. 学会等名 第10回日本ブラキスピラ学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Preceding immunohistochemistry application for diagnosing human intestinal spirochetosis
2. 発表標題 Sho Ogata, Ken Shimizu, Kuniaki Nakanishi
3. 学会等名 United European Gastroenterology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 緒方 衝 清水 健 中西邦昭
2. 発表標題 免疫組織化学的診断から得られたヒト腸管スピロヘータ症に関する知見
3. 学会等名 日本臨床検査医学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	中西 邦昭 (NAKANISHI Kuniaki) (60523115)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、 動物実験施設、共同利用研究・検査部・教授 (82406)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	清水 健 (SHIMIZU Ken)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------