

にくい。

IgA 腎症患者群において特異的血中 IgA 抗体価が *M. pneumoniae* と *C. indologenes* に対して高かったことから、これらの細菌が、IgA 過剰産生の抗原として働く可能性が示唆された。扁桃における細菌遺伝子の解析と血中抗体の解析が、同一人物で行えなかったことから、菌種による抗体価の違いを説明するにはデータが不十分であった。しかしながら、有意差を示さなかった *C. meningosepticum* については、健常人における抗 *C. meningosepticum*-IgA 抗体価が高い事が、統計的に患者群と健常人群の間に差が無かった理由であることから、以下の二つの可能性が考えられる。1) IgA 腎症患者には、健常人に存在しない *M. pneumoniae*, *C. indologenes* の抗原刺激がある。2) IgA 腎症患者の IgA は、非特異的に全ての抗原に反応する。今回、行った、もう一つの抗原である *M. fermentans* GGPL-III に対する IgA 抗体価は、IgA 腎症患者群においても低値であることは、前述の 2) にあげた非特異的反応の可能性を否定しており、1) の可能性がより強く示唆される。

尿中蛋白の解析については、今回行った主要蛋白の解析だけでは、尿中に漏れでてくる細菌抗原等を検出する目的は達成されておらず、微量蛋白解析系の開発が必要となる。具体的には、尿からのアルブミン等の除去、グロブリンの回収といった前処理を加えることで、より微量の蛋白を検出できると考えている。今回の主要蛋白解析の結果で興味深かったことは、アルファ-1B 糖蛋白の存在である。アルファ-1B 糖蛋白が血清中の主要蛋白であることを考えればネフローゼ疾患である IgA 腎症患者の尿中に漏れでてくるのは当然であるかもしれない。アルファ-1B 糖蛋白の有する pIgA レセプターである pIgR ドメインについても、機能的に働いている事は証明されていない為、安易に IgA とのつながりを示唆することは避けたいが、IgA 腎症患者の血中には、普通は単体でしか存在しない IgA が J 鎖を持った二合体 pIgA として存在することが報告されており [11]、pIgA が循環血流に戻る経路や、血液中での動態など、不明な点が多い。今後、尿の例数を増やして検討するにあたり、アルファ-1B 糖蛋白にも注目していきたいと考える。

IgA 腎症における糸球体の病変形成には、免疫複合体が重要であるが、その生成には、これまでの報告から推察すると二つの生成要因が考えられる。一つは、特異的な抗原-抗体の複合体による免疫複合体であり、前述したマイコプラズマ肺炎後の IgA 腎症や、2005 年に中国から報告された B 型肝炎に合併した IgA 腎症が上げられる [12]。中国においては HBe や HBs 抗体陽性者を含むウイルス複製の活発な B 型肝炎患者において、腎からウイルス DNA ならびに B 型肝炎ウイルス抗体が検出され、免疫複合体の腎への沈着による IgA 腎症が示唆されている。現在の我が国においては、HBe 抗体が検出される程の B 型肝炎ウイルス複製の活発な患者が中国よりもはるかに少ないことから、我が国における IgA 腎症の主要原因として B 型肝炎との合併症をあげることは出来ないと予測される。二つ目の免疫複合体の生成過程として考えられるのが、IgA 腎症患者における IgA1 の糖鎖異常によるものである。IgA1 のヒンジ領域のプロリン・セリン・スレオニンからなる長鎖には、O-グリカンの糖鎖が付加されているが、IgA 腎症患者においては、この糖鎖のグリコシレーション不足によるガラクトース (Gal) 欠失 IgA1 が検出される [13,14]。Gal 欠失 IgA1 は、N-アセチルグルコサミン (GalNac) を末端に持つことから、抗グリカン抗体と反応し、また補体とも結合して循環免疫複合体 (CIC) を形成しやすい。IgA1 を含む CIC は、腎糸球体のメサンジウム細胞に [15]、主として、IgA1 選択的レセプターであるトランスフェリンレセプター (TfR) を介して沈着し、メサンジウム細胞の増生を促す [16]。IgA 腎症における TfR の発現増強が報告されている [17]。Gal 欠失 IgA1 の形成要因については、未知の部分が多いが、生成段階に異常があるのか、あるいは、微生物の持つガラクトシデース等によって分解されるのかの二通りの原因が考えられる。後者については、ガラクトシデースの中には、細菌に広く存在する O-glycosyl hydrolase のグループがあるが、今回、調べたところ、ゲノムサイズの小さいマイコプラズマ ペネトランスのゲノム上にも、この遺伝子の枯草菌 *Bacillus subtilis* や *Clostridium acetobutylicum* とのオーソログの存在すること、Pfam 検索による glycosyl hydrolase family ドメインを有することが新たに予想された。マイコプラズマを含む細菌による、Gal 欠失 IgA1 形成能については、今後の検討課題である。

E. 結論

IgA 腎症患者においては、扁桃に(少なくとも)遺伝子が存在する細菌(含、マイコプラズマ)の幾つかに対して、健常人よりも高い特異的IgA 抗体を有する患者があり、これらの細菌の抗原刺激が IgA 過剰産生と関連がある可能性が示された。

謝辞

尿蛋白ならびにマイコプラズマ蛋白のプロテオミクス解析については、以下の方々の御協力(敬称略)を得ました。深謝いたします。大内・新開史子、山河芳夫(細胞化学部・国立感染症研究所)ならびに川上隆雄、西村俊秀(東京医科大学、臨床プロテオームセンター)

参考文献

1. Kodama, S., Suzuki, M., Arita, M. and Mogi, G. (2001) Increase in tonsillar germinal centre B-1 cell numbers in IgA nephropathy (IgAN) patients and reduced susceptibility to Fas-mediated apoptosis. *Clin Exp Immunol* 123, 301-308.
2. Sasaki, T., Nishiyama, T., Shintani, M. and Kenri, T. (1997) Evaluation of a new method for identification of bacteria based on sequence homology of 16S rRNA gene. *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 51, 242-247.
3. Oaks, J. L., Donahoe, S. L., Rurangirwa, F. R., Rideout, B. A., Gilbert, M. and Virani, M. Z. (2004) Identification of a novel mycoplasma species from an Oriental white-backed vulture (*Gyps bengalensis*). *J Clin Microbiol* 42, 5909-5912.
4. Sasaki, Y., Ishikawa, J., Yamashita, A., Oshima, K., Kenri, T., Furuya, K., Yoshino, C., Horino, A., Shiba, T., Sasaki, T. and Hattori, M. (2002) The complete genomic sequence of *Mycoplasma penetrans*, an intracellular bacterial pathogen in humans. *Nucleic Acids Res.* 30, 5293-5300.
5. Gahne, B., Juneja, R. K. and Stratil, A. (1987) Genetic polymorphism of human plasma alpha 1B-glycoprotein: phenotyping by a simple method of 2-D electrophoresis. *Hum Genet* 76, 111-115.
6. Ishioka, N., Takahashi, N. and Putnam, F. W. (1986) Amino acid sequence of human plasma alpha 1B-glycoprotein: Homology to the immunoglobulin supergene family. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 83, 2363-2367.
7. Bonsdorff, M. V., Ponka, A. and Tornroth, T. (1984) *Mycoplasma pneumoniae* associated with mesangiocapillary glomerulonephritis type II (dense deposit disease). *Acta Med Scand* 216, 427-429.
8. Kanayama, Y., Shiota, K., Kotumi, K., Ikuno, Y., Yasumoto, R., Ishii, M. and Inoue, T. (1982) *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia associated with IgA nephropathy. *Scand J Infect Dis* 14, 231-233.
9. Westrehenen, R. V., Weening, J. J. and Krediet, R. T. (1998) Pneumonia and glomerulonephritis caused by *Mycoplasma pneumoniae*. *Nephrol Dial Transplant* 13, 3208-3211.
10. Bloch, K. C., Nadarajah, R. and Jacobs, R. (1997) *Chryseobacterium meningosepticum*: an emerging pathogen among immunocompromised adults. Report of 6 cases and literature review. *Medicine* 76, 30-41.
11. Tomana, M., Novak, J., Julian, B. A., Matousovic, K., Konecny, K. and Mestecky, J. (1999) Circulating immune complexes in IgA nephropathy consist of IgA1 with galactose-deficient hinge region and antiglycan antibodies. *J Clin Invest* 104, 73-81.
12. Wang, N.-S., Wu, Z.-L. and Liao, L.-T. (2005) Existence and significance of hepatitis B virus DNA in kidneys of IgA nephropathy. *World J Gastroenterol* 11, 712-716.
13. Allen, A. C., Bailey, E. M., Barratt, J., Buck, K. S. and Feehally, J. (1999) Analysis of IgA1 O-glycans in IgA nephropathy by fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis. *J Am Soc Nephrol* 10, 1763-1771.
14. Yasuda, Y., Horie, A., Odani, H., Iwase, H. and Hiki, Y. (2004) Application of mass spectrometry to IgA nephropathy: Structural and biological analyses of underglycosylated IgA1 molecules., in *Proteomics in nephrology*. (Klein, T. V. ed. Karger, Basel, Vol. 141, pp. 170-188.
15. Wang, Y., Zhao, M.-H., Zhang, Y.-K., Li, X.-M. and Wang, H.-Y. (2004) Binding capacity and pathophysiological effects of IgA1 from patients with IgA nephropathy on human glomerular mesangial cells. *Clin Exp Immunol* 136, 168-175.
16. Novak, J., Tomana, M., Matousovic, K.,

Brown, R., Hall, S., Novak, L., Julian, B. A., Wyatt, R. J. and Mestecky, J. (2005) IgA1-containing immune complexes in IgA nephropathy differentially affect proliferation of mesangial cells. *Kidney International* 67, 504-513.

17. Moura, I. C., Centelles, M. N., Arcos-Fajardo, M., Malheiros, D. M., Collawn, J. F., Cooper, M. D. and Monteiro, R. C. (2001) Identification of the transferrin receptor as a novel immunoglobulin (Ig) A1 receptor and its enhanced expression on mesangial cells in IgA nephropathy. *J Exp Med* 194, 417-425.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 佐々木裕子、マイコプラズマのゲノム解析、臨床と微生物：特集マイコプラズマ感染症の基礎と臨床、30（1）：9-13、2003

2. 学会発表

1. Y. Sasaki, F. Shinkai-Ouchi, Y. Yamakawa, T. Kenri, A. Horino and T. Sasaki. Analysis of major antigens of *Mycoplasma penetrans* by using proteomics: development of a new ELISA system for diagnosis. Joint Congress of the 1st meeting of the Asian Organization for Mycoplasmaology and the 31st meeting of Japanese Society of Mycoplasmaology. Tokyo, Japan, Sep 30-Oct 2, 2004
2. Y. Sasaki, T. Kawakami, T. Nishimura, T. Kenri, A. Horino, Y. Arakawa and T. Sasaki. Pyruvate dehydrogenase E2 component as a major antigen of *Mycoplasma penetrans*, a new ELISA system using recombinant PDH-E2. 15th Congress of International Organization for Mycoplasmaology, Athens, Georgia, USA. July 11-16, 2004
3. 佐々木裕子、永田典代、網 康至、須崎百合子、佐々木次雄、荒川宜親、*Mycoplasma fermentans*は、リンパ球にアポトーシスを誘発し血管内皮細胞と腎糸球体に感染する、第77回日本細菌学会総会、2004年4月1日-3日、大阪

表 1 IgA 腎症患者の治療用摘出扁桃由来 DNA を鋳型に細菌 16S rRNA 遺伝子に対する PCR で増幅した遺伝子断片の配列から検索した細菌の種名

Tonsil 11	3	Flavobacterium breve 16SrRNA	low score	40
Tonsil 12	4	undetermined	no hit	
Tonsil 13	5	Chryseobacterium meningosepticum 16SrRNA		394
Tonsil 14	6	Chryseobacterium meningosepticum 16SrRNA		605
Tonsil 15	7	Chryseobacterium meningosepticum 16SrRNA		648
Tonsil 16	8	Chryseobacterium joostei 16SrRNA		82
Tonsil 17	9	Chryseobacterium meningosepticum		397
Tonsil 18	10	uncultured bacteria 16SrRNA	low score	48
Tonsil 19	11	Chryseobacterium meningosepticum 16SrRNA		111
Tonsil 20	12	Chryseobacterium meningosepticum 16SrRNA		180
Tonsil 21	13	Chryseobacterium meningosepticum 16SrRNA		285
Tonsil 22	14	Chryseobacterium meningosepticum 16SrRNA		488
Tonsil 23	15	Chryseobacterium indologenes 16SrRNA		244



図 1 IgA 腎症患者の治療用摘出扁桃由来 DNA を鋳型に細菌 16S rRNA 遺伝子に対する PCR で増幅した遺伝子断片

左からレーン 1 分子量マーカー、レーン 2 微生物抽出 DNA を鋳型にした 1 回目の PCR 産物、レーン 3 扁桃抽出 DNA を鋳型にした 1 回目の PCR 産物、レーン 4-16 扁桃抽出 DNA を鋳型にした 2 回目の PCR 産物

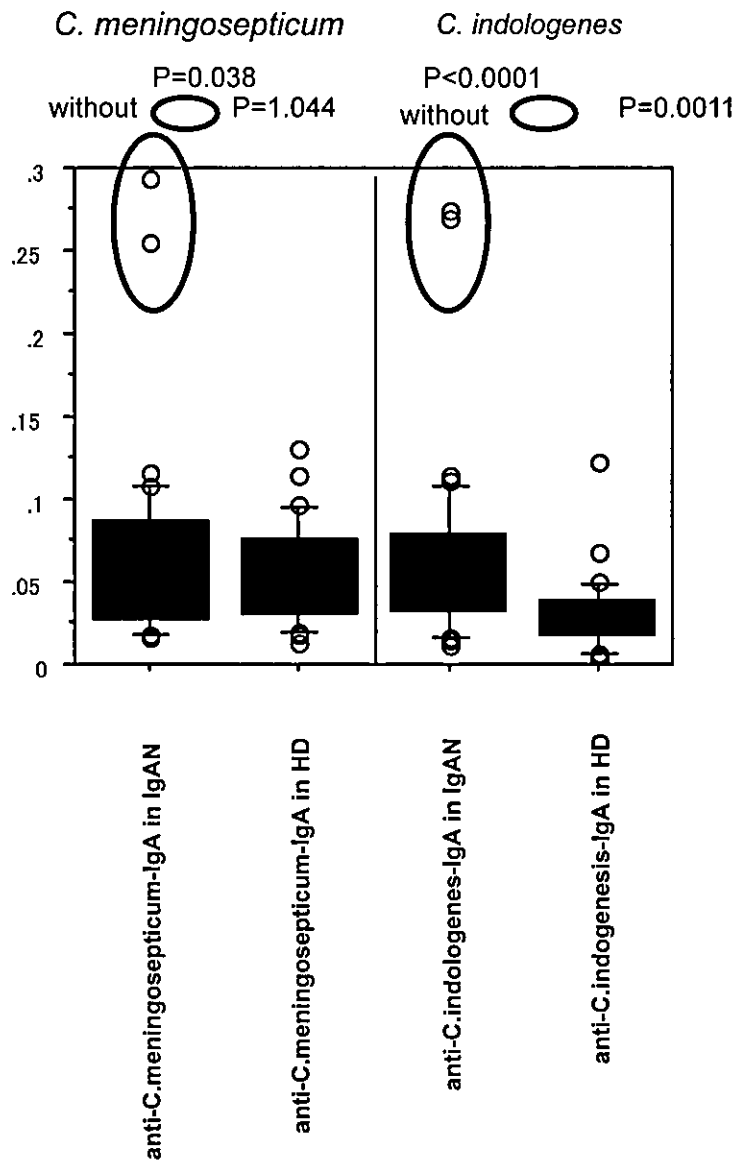


図 2- A クリセオバクテリウム 2 種に対する血中抗体価

左から IgA 腎症患者群、健常人群

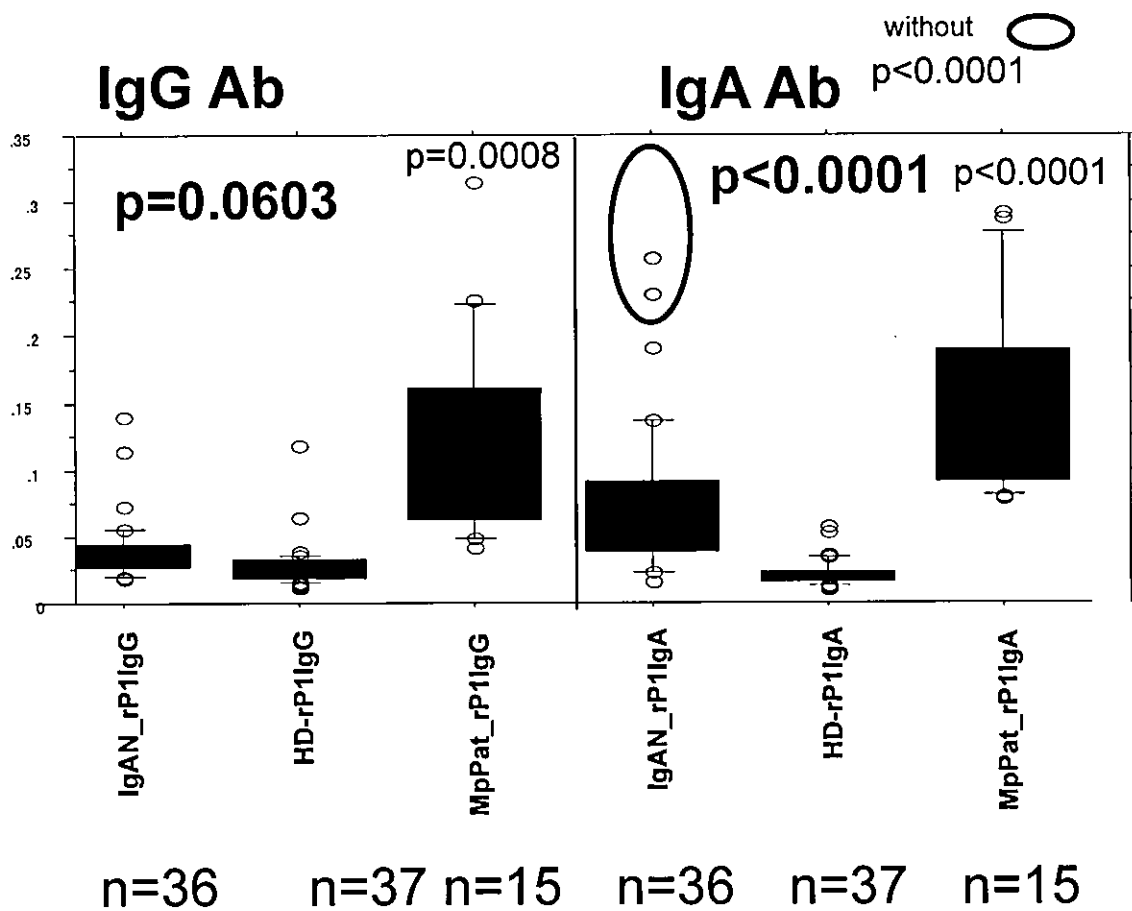


図 2-B *M. pneumoniae*/*M. genitalium* 特異抗原 rP1-8 に対する血中抗体価

左から IgA 腎症患者群、健常人群、マイコプラズマ肺炎患者群

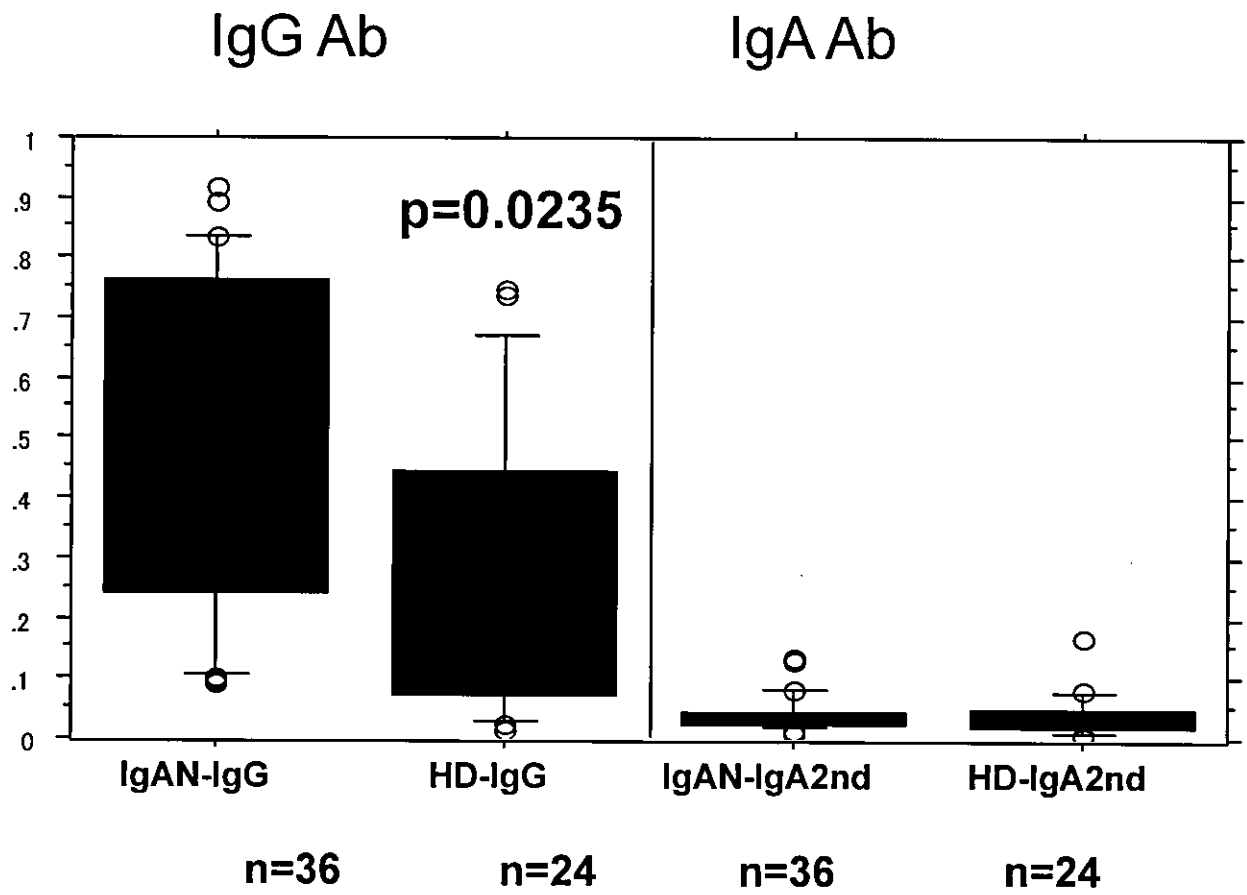
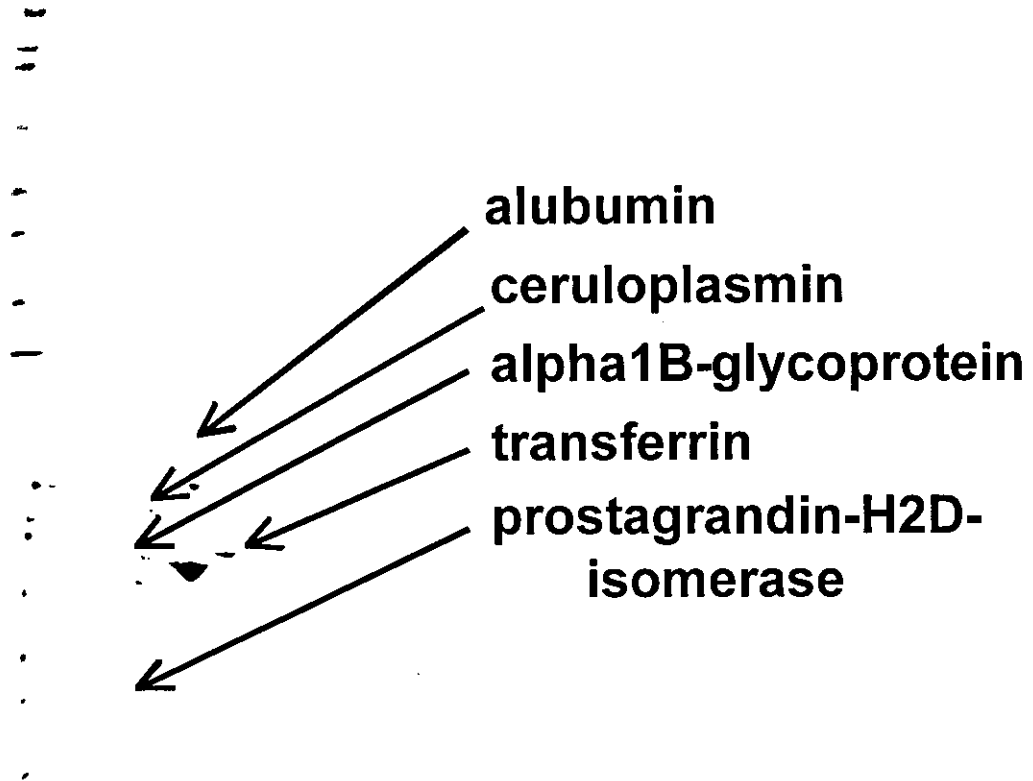


図 2-C *M. fermentans* 特異抗原 GGPL-III に対する血中抗体価

左から IgA 腎症患者群、健常人群

Urinary protein from
a healthy donor



Urinary protein from
a patient with IgAN

図3 IgA腎症患者の尿中主要蛋白のプロテオーム解析の結果

3. 神経変性疾患とボルナ病ウイルス感染との関連性に関する研究

分担研究者 生田 和良 (大阪大学微生物病研究所ウイルス免疫分野教授)

研究要旨 ボルナ病ウイルス (BDV) は、ウマやヒツジに脳炎を引き起こす原因ウイルスとして分離された、マイナス鎖、一本鎖の RNA を持つ好神経性ウイルスであり、疫学的研究から精神疾患との関連性が示唆されている。私達は、BDV 持続感染と神経変性疾患との関連性について検討している。これまでに、パーキンソン病やアルツハイマー病患者の剖検脳内に BDV RNA が RT-PCR 法および *in situ* hybridization 法により検出できる例があること、対照剖検脳よりもその陽性率が高いことを報告してきた。本年度は、BDV の持続感染が引き起こす脳内病態の機序を明らかにするために、各種モデル系における BDV 感染病態について検討した。その結果、BDV 持続感染モデル動物の脳内における神経系細胞のアポトーシス誘導が観察され、また、BDV の持続感染状態において、神経系細胞のストレス応答能力の低下が認められた。

A. 研究目的

ボルナ病は、ウマに脳脊髄炎をもたらす疾患で、ボルナ病ウイルス (Borna Disease virus; BDV) の中枢神経系への感染が原因で引き起こされる。BDV は、ウマの他にヒツジ、ウシ、ネコ、イヌ、ダチョウなどの動物にも自然感染が認められている。しかし、その多くは不顕性感染である。ウマやヒツジにおける脳炎発症の原因は、急激な炎症による神経細胞の破壊であると考えられている。一方、自然感染例 (ウマの運動器障害など) や実験感染例 (ラットやスナネズミ) では、BDV の脳内持続感染により引き起こされる神経細胞の機能障害も認められることが明らかとなっている。

私たちは、「神経変性疾患」であるパーキンソン病、アルツハイマー病と BDV との関連性について検討を行ってきた。パーキンソン病患者ならびにアルツハイマー病患者由来剖検脳において、BDV RNA が対照群と比較して高率に検出できることをこれまでに確認した。

そこで、BDV 感染が脳内で引き起こす病態機序について培養細胞およびモデル動物を用い

て明らかにしようとしている。これまでに、BDV p24 リン酸化蛋白質 (P 蛋白質) が、神経突起伸長や神経細胞の生存維持に重要な役割をもつ宿主の多機能因子 (HMGB1) と特異的に結合し、その機能を強く阻害していることを明らかにしてきた。また、モデル動物として BDV P 蛋白質を脳内に発現するトランスジェニックマウス (P-Tg) を作成し、神経栄養因子である BDNF やシナプスのマーカーであるシナプトフィジン発現の低下、セロトニンレセプターの不均衡と、それに伴う攻撃性の亢進、記憶・学習能力の低下が観察されることも報告してきた。一方、BDV 持続感染ラットにストレス (LPS の腹腔内投与) を負荷し、ストレス応答能の検討を行ったところ、ストレス後 BDV 持続感染ラットのみが神経症状を誘発し、中脳における神経細胞死が認められることを明らかにした。今回、この病態機序に関する詳細な解析を目的として、ストレス負荷状態での BDV 持続感染細胞に現れる脆弱性について引き続き検討を加えた。

B. 研究方法

C6 (ラット由来グリア系)、OL (ヒト由来オリゴデンドロサイト系)、SK-N-SH (ヒト由来ニューロblastoma系) 細胞、初代培養グリア細胞の非感染およびBDV持続感染細胞に、各種ストレス (熱ストレス、酸化ストレスなど) を負荷した。その後、復帰培養を行い経時的に各細胞を回収し、ストレス蛋白質 (HSP70、HSP90 など) とストレス関連細胞内シグナルの動態について、ウェスタンブロット法による解析を行った。また、ストレスに伴う細胞の形態変化と生存率の定量についても検討を行った。

C & D. 研究結果及び考察

通常の培養条件下において、BDV 持続感染細胞の増殖率、生存率、形態ならびにストレス蛋白質の発現に非感染細胞との違いは認められなかった。しかしながら、BDV 持続感染細胞では、ストレス負荷により、顕著な細胞の円形化と培養プレートからの剥離が観察された。免疫抗体法による解析により、これはBDV持続感染による細胞骨格・接着維持能力の低下によるものであることが明らかとなった。また、ストレスにより誘導されるHSP70のmRNAおよび蛋白質の発現量に顕著な低下が認められた。さらに、HSP70 mRNAの安定化に必要とされるPKRの発現量について検討を行ったところ、BDV持続感染細胞において恒常的なPKRの活性化が認められた。

BDVは容易に持続感染を成立する、いわゆる細胞障害性を伴わない感染複製を行うことが特徴で、従って容易に持続感染を成立させる。しかし、今回の結果から、そのようなBDV持続感染細胞であっても、ストレス誘導性の細胞障害の出現が観察され、この障害性はHSP70の誘導発現の低下と相関していると考えられた。

HSP70は、神経細胞の保護、シナプス活性の保護、抗アポトーシス作用などの機能を発揮する。HSP70は蛋白質のフォールディング作用を持ち、フォールディング異常病とされる神経変性疾患との関与も示唆されている (パーキン蛋白質と結合し、その働きを助ける)。また、最近の報告からPKRの活性化が、アルツハイマー

病患者脳細胞死に対して促進的に働くということが示唆されている。これらのことから、BDV持続感染によるHSP70の誘導発現の低下やPKRの恒常的活性化が、ストレス負荷時における神経細胞死へとつながることが考えられ、この点における今後の検討が必要である。

E. 結論

疫学的に神経変性疾患との関連性が認められたBDVについて、その病態機序への関与の可能性を検討するため、モデル系を用いた解析を行った。その結果、BDVが神経系細胞のストレス応答能を低下させることで、神経変性疾患を含めたさまざまな疾患の病態に関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamashita M, Kamitani W, Yanai H, Ohtaki N, Watanabe Y, Lee BJ, Tsuji S, Kobayashi T, Ikuta K, Tomonaga K. Persistent Borna disease virus infection confers instability of HSP70 mRNA in glial cells during heat stress. *J. Virol.* 79, 2033-41, 2005.
2. Tomonaga K. Virus-induced neurobehavioral disorders: mechanisms and implications. *Trends in Molecular Medicine.* Vol. 10 No. 2 February 2004.

2. 学会発表

1. 朝長啓造、矢内英之、神谷亘、李丙載、大滝尚広、渡邊洋平、生田和良：BDV vRNPの分裂期クロマチンへの局在と持続感染への意義。第52回日本ウイルス学会学術集会。2004.
2. 大滝尚広、渡邊洋平、矢内英之、神谷亘、李丙載、山下真紀子、笹尾芙蓉子、朝長啓造、生田和良：ウイルス持続感染における脳内RAGE発現の意義。第52回日本ウイルス学会学術集会。2004.
3. 渡邊洋平、神谷亘、李丙載、山下真紀子、

- 矢内英之、大滝尚広、笹尾芙蓉子、岡本実、谷山弘行、萩原克郎、朝長啓造、生田和良：複製効率の異なる BDV 株間における病原性および感染性粒子形成能の比較. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会. 2004.
4. 矢内英之、渡邊洋平、大滝尚広、神谷亘、山下真紀子、笹尾芙蓉子、朝長啓造、生田和良：BDV 持続感染に見られる核内ドット状期におけるボルナ病ウイルスの細胞内局在とゲノム複製機構の解析. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会. 2004.
5. Madiha S. Ibrahim、李永剛、辻祥太郎、生田和良：Characterization of the prion protein expression in Borna disease virus-infected cells. 第 52 回日本ウイルス学会学術集会. 2004.
6. Ikuta K. Persistent Borna disease virus infection of the CNS: Sequelae and risk of neurobehavioral disorders. American Society for Virology Medical Virology Club Satellite Meeting, July 2004, McGill University in Montreal, Canada.
7. Ikuta K, Kamitani W, Yamashita M, Ibrahim MS, Yanai H, Ohtaki N, Watanabe Y, Tomonaga K. Possible association of persistent Borna disease virus infection in the CNS with chronic fatigue syndrome. International Conference on Fatigue Science 2005. February 2005, Karuizawa, Japan.

H. 知的財産権の出願・登録状況

出願番号： 特願 2004-329249

特許出願人：財団法人新産業創造研究機構・国立大学法人大阪大学

発明名称： HIV 等のウイルス感染の有無、又はプリオン感染の有無を近赤外線分光法により検査・判定する方法、及び同方法に使用する装置.

4. サルコイドーシス病変部における抗酸性で細胞壁欠失型の *P. acnes* 菌体の同定とその内因性活性化現象に関する研究

分担研究者 江石 義信 (東京医科歯科大学大学院人体病理学助教授)

研究要旨 サルコイドーシス病変部リンパ節に認められる抗酸性を呈する細胞内封入体 Hamazaki-Wesenberg (HW)小体は、その形態学的な特徴から Cell wall deficient (CWD)型マイコバクテリアであると考えられてきた。他方、病変部からは *Propionibacterium acnes* DNA のみが多量に検出されマイコバクテリア DNA はほとんど検出されていない。本研究では2種類の *P. acnes* 特異抗体を用いて HW 小体の実体に関する検討を行った。本症病変部リンパ節 30 症例、対照群として結核性リンパ節炎 15 症例、反応性リンパ節炎 23 症例、壊死性リンパ節炎 14 症例、肺癌所属リンパ節 22 症例、大腸癌所属リンパ節 16 症例を用いた。ギムザ染色により HW 小体の有無を確認した。*P. acnes* 細胞膜抗原であるリポテイコ酸に対する抗体(PAB 抗体)と、*P. acnes* 細胞内抗原であるトリガーファクター蛋白に対する抗体(TIG 抗体)を用いて免疫染色した。また、免疫電顕を行いその抗原の局在を電顕レベルで検討した。その結果、サルコイドーシス病変部に特徴的な HW 小体が CWD 型の *P. acnes* 菌体そのものであることを、菌体細胞膜から細胞壁を貫いて分布するリポテイコ酸に対する抗体 (PAB 抗体) と、細胞質内に多量に存在するリボゾーム結合性のシャペロン蛋白であるトリガーファクター蛋白に対する抗体 (TIG 抗体) を用いた免疫電顕解析にて明らかにした。PAB 抗体、TIG 抗体はいずれも *P. acnes* と特異的に反応する抗体であり、これを用いてサルコイドーシスリンパ節を免疫染色すると、ギムザ染色で同定しうる HW 小体はすべて両抗体で陽性となり、サルコイドーシスの成因と細胞欠失型の *P. acnes* との密接な関連が示唆された。また、PAB 抗体は症例の約 80%において HW 小体だけでなく肉芽腫内にも陽性像を呈することから、サルコイドーシス肉芽腫形成の原因細菌が *P. acnes* であることはほぼ確実と考えられた。病変部免疫染色所見の詳細な観察から、リンパ洞内に出現する HW 小体は本菌が体内で不顕性感染している状態 (dormant phase) を示しており、肉芽腫が形成されるリンパ節傍皮質領域に集簇する腫大マクロファージの細胞質内に多数認められる円形小型の PAB 抗体陽性像は、*P. acnes* L型菌が内因性活性化され細胞内増殖した状態 (infective phase) を示すものと考えられた。本研究により、細胞内に不顕性感染した細胞壁欠失型の *P. acnes* が、内因性活性化を契機にマクロファージ細胞内で異常増殖することが発症の契機となることを病理形態学的な観点から明らかにすることができた。従って、細胞内細菌に感受性のある抗生物質の投与は、新たな細胞内増殖を防止する観点から肉芽腫形成の予防に有効である可能性が高い。また、本症からの完全緩解を目指すためには、active phase にある菌を抑制するだけではなく、代謝活性を低下させて生き残りを図る dormant phase の菌も含めて除菌する必要がある。

A. 研究目的

サルコイドーシス（サ症）リンパ節の顕微鏡標本では、その過形成リンパ洞内に HE 染色で黄褐色調を呈する小体を多数認めることが多い。病理診断の現場では肉芽腫の存在に気を取られ見過ごされることも多く、また鉄色素や消耗色素などとして無視される場合もある。文献的には、acid-fast spindle-shaped corpuscles, yeast-like acid-fast structures, unidentified yellow bodies などこれまで種々の呼び名があり、ギムザ染色で深緑色、カルボールフクシン染色で抗酸性を呈する。外科病理学書には Hamazaki-Wesenberg (HW)小体として記載されている。

HW 小体は、1938 年に日本の浜崎により初めて報告され、1966 年ドイツの Wesenberg がサ症リンパ節に高率・多量に認められることを指摘して以来、サ症の病因との関連性が現在に至るまで議論されている。電顕像で見るとような独特の形態像から、藻類プロトプラスト、結核菌の溶原性変異体、巨大ライソゾーム、セロイド様物質、特殊なリポ多糖、マイコプラズマ L 型菌など、これまで数多くの可能性が提唱されてきた。

本研究では、*P. acnes* 菌体の細胞膜抗原および細胞質抗原に対する 2 種類のモノクローナル抗体を用いて HW 小体が *P. acnes* に由来している可能性を検証するとともに、これが CWD 型菌そのものである可能性についても電顕レベルでの観察から追求した。

B. 研究方法

サ症リンパ節検体について

リンパ節生検にてサルコイドーシスと確定診断された 30 症例を用いた。部位別には、頸部リンパ節 15 例、鎖骨上リンパ節 6 例、鼠径部リンパ節 3 例、縦隔リンパ節 6 例であった。

対照リンパ節検体について

リンパ節生検にて結核性リンパ節炎と診断された 15 症例、反応性リンパ節炎と診断された 23 症例、壊死性リンパ節炎と診断された 14 症例を用いた。部位別には頸部リンパ節 28 例、鎖骨上リンパ節 14 例、鼠径部リンパ節 10 例、

縦隔リンパ節 6 例、後腹膜リンパ節 4 例であった。また、手術時に採取された転移のない肺癌所属リンパ節（縦隔リンパ節）22 症例、大腸癌所属リンパ節（腹腔内リンパ節）16 症例も用いた。

HW 小体の検出法について

HW 小体はギムザ染色にて深緑色、あるいはカルボールフクシン染色にて抗酸性に染まる紡錘形あるいは酵母様の形をしたもので、リンパ洞内マクロファージの細胞質内に認められるものと定義してその検出頻度を求めた（図 1）。

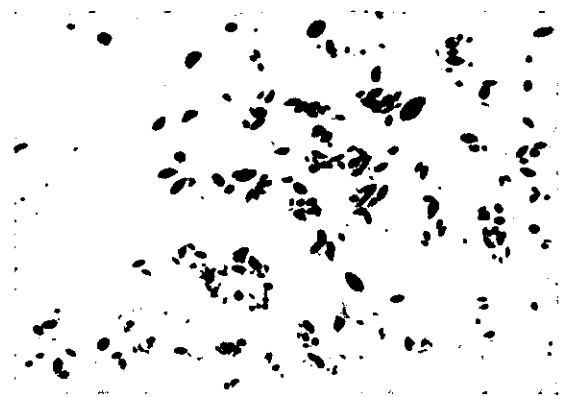


図 1：サ症リンパ節の HW 小体（抗酸菌染色）

2 種類の *P. acnes* 特異抗体について

PAB 抗体は *P. acnes* 菌体浮遊液を超音波破碎したものをマウスに免疫して作製したもので、*P. acnes* 菌体のリポテイコ酸と特異的に反応することが知られている（表 1）。TIG 抗体は *P. acnes* の Trigger factor 遺伝子から作製したリコンビナント蛋白をマウスに免疫して作製したもので、*P. acnes* 特異的な反応を示し、結核菌および他菌とは反応しないことが判明している。

表 1：PAB 抗体の菌種特異性に関する検討結果

Propionibacteria	Western blot	ELISA	Other bacteria	Western blot	ELISA
Cutaneous			<i>Mycobacterium bovis</i> BCG	-	-
<i>P. acnes</i>	+	+	<i>Corynebacterium pyogenes</i>	-	-
<i>P. granulosum</i>	-	-	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	-	-
<i>P. avidum</i>	-	-	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-
<i>P. lymphophilum</i>	-	-	<i>Acetomyces israelii</i>	-	-
<i>P. propionum</i>	-	-	<i>Eubacterium fragilis</i>	-	-
Classical or dairy			<i>Fusobacterium nucleatum</i>	-	-
<i>P. freudenreichii</i>	-	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-
<i>P. jensenii</i>	-	-	<i>Nocardia asteroides</i>	-	-
<i>P. thoenii</i>	-	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
<i>P. acidipropionis</i>	-	-	<i>Escherichia coli</i>	-	-
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
			<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-

免疫染色法（光顕・電顕）について

ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片を用いて、共通のプロトコールにて免疫染色を施行後、光顕および電顕標本を作製した。

C. 研究結果

1) HW 小体の頻度および抗体反応性

ギムザ染色による HW 小体の出現頻度はサルコイドーシスにて 30 例中 16 例 (53%) に認められたが、対照として用いたリンパ節生検症例 52 症例では、結核症例を含めて陽性所見は認められなかったが、肺癌所属リンパ節 1 例 (5%) および大腸癌所属リンパ節 1 例 (6%) に少数の HW 小体の出現をみた。HW 小体はとくに辺縁洞に高率に認められた。その量はサ症例でまちまちなるも、多いものでは、肉芽腫間に存在する過形成リンパ洞に無数の HW 小体を認めた。

表 2：各種リンパ節検体における抗体の陽性率

Disease	n	Intra granulomas		H-W bodies		
		PAB	TIG	Giemsa	PAB	TIG
サルコイドーシス	30	24 (80%)	0	16 (53%)	16 (53%)	16 (53%)
結核性リンパ節炎	15	0	0	0	0	0
反応性リンパ節炎	23	—	—	0	0	0
壊死性リンパ節炎	14	—	—	0	0	0
肺癌リンパ節	22	—	—	1 (5%)	1 (5%)	1 (5%)
大腸癌リンパ節	16	—	—	1 (6%)	0	0

PAB 抗体は、ギムザ染色にて HW 小体が認められた 16 例すべてにおいて、HW 小体に陽性となった (図 3)。また、PAB 抗体は HW 小体だけでなく、肉芽腫を構成する類上皮細胞やラングハンス巨細胞内にも細顆粒状の陽性所見を呈し (図 2)、その頻度は 30 例中 24 例 (80%) であった。PAB 抗体はとくに HW 小体の辺縁に強く染まる傾向が見られた。

TIG 抗体も、ギムザ染色にて HW 小体が認められた 16 例すべてにおいて HW 小体に陽性となった (図 3)。すべてのサ症例において肉芽腫内に TIG 抗体の陽性所見は認められなかった。TIG 抗体はとくに HW 小体全体に陽性で小体辺縁に強い傾向は認められなかった。

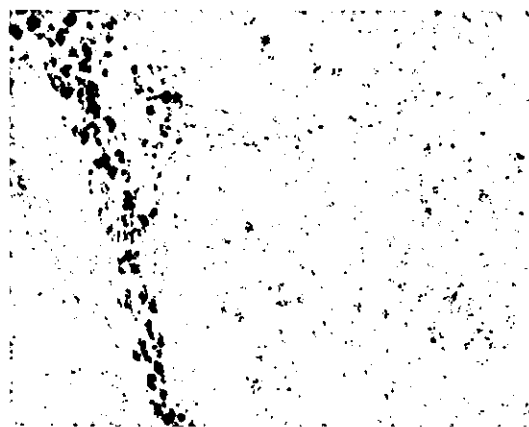


図 2： PAB 抗体で陽性を呈する HW 小体(左)と肉芽腫内(右)での PAB 抗体陽性像

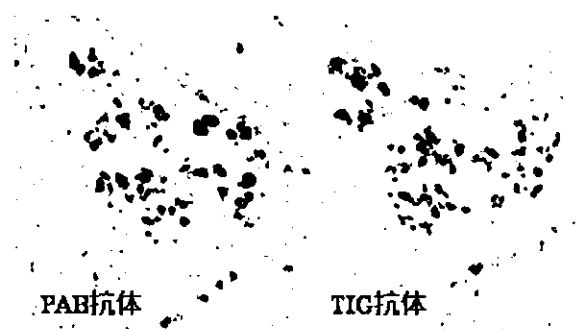


図 3： PAB 抗体と TIG 抗体で陽性を呈する HW 小体

2) HW 小体の電顕・免疫電顕所見

HW 小体が多数認められた 1 症例のホルマリン固定組織から通常の電顕用標本を作製し HW 小体を観察した。HW 小体の基本像は、大きさ 1-5 マイクロン大の紡錘形あるいは楕円形の単体構造にて、その周囲には比較的厚みの一定した低電子密度領域があり、その内側中心部領域は高電子密度となっていた (図 4A)。HW 小体内部の高電子密度領域では、ときにその中心部が低電子密度化 (図 4B) あるいは空胞化 (図 4C) しているものがあつた。HW 小体の中には、通常の細菌類のような 2 分裂パターンとは異なり出芽様分裂像を呈しているものが観察された (図 4D と図 5)。



図4：電顕写真におけるHW小体の種々の形態像

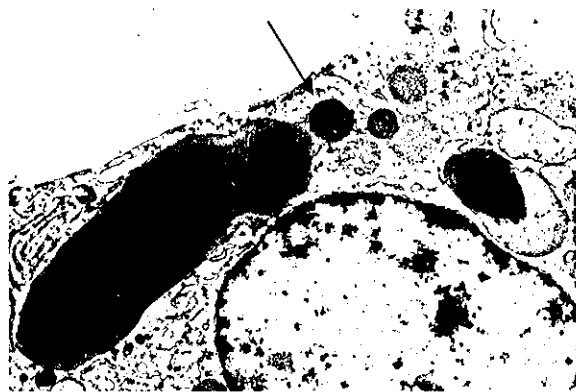


図5：HW小体に観察される出芽様分裂像(矢印)

PAB抗体による陽性産物はHW小体外周の低電子密度領域に局在していた(図5)。概して外周を取り囲むように陽性となるが、完全な全周性に陽性を呈するものはほとんど認められなかった。



図5:HW小体におけるPAB抗体陽性像の局在



図6:HW小体におけるTIG抗体陽性像の局在

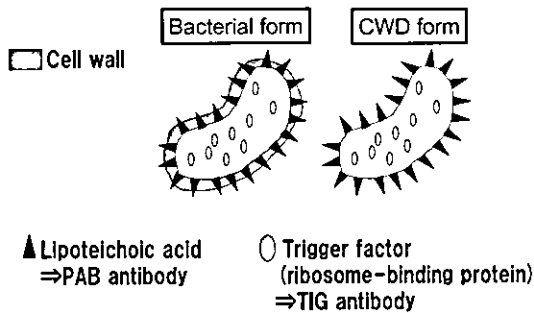
D. 考察

サ症は一般的には原因不明疾患と考えられている。しかし、サ症がCWD型(L型)菌と関係した微生物感染症であることを示唆する多数の文献報告が存在する。サ症リンパ節の過形成リンパ洞に高率・多量に出現するHW小体に関して、1978年MoscovicはこれがマイコバクテリアのL formsであり、サ症の病因と密接に関係した細胞内封入体であると指摘した。その後1996年になって彼らのグループは結核菌に対する抗体を使用した免疫染色によりこれが結核菌のcell-wall-deficient formsすなわち細胞壁を欠如した菌体そのものであると報告した。同年、Almenoffらはサ症患者20名の末梢血からその19例においてL forms様の微生物を検出し、これが結核菌のモノクローナル抗体と反応したことから、サ症病因におけるCWD型結核菌の重要性を強調した。彼らの研究では対照として用いた20名の健常人ではこれらの微生物は検出されなかったと報告されたが、2003年に発表された米国サ症病因追求研究グループ(ACCESS: A Case Control Etiologic Study of Sarcoidosis)の報告では、サ症および対照群における検出率はいずれも4割程度であり両者に有意な検出率の差は見出せないとしてその重要性は否定されてたままとなっている。

我々の研究室では、サ症病変部から培養される唯一の微生物が*P. acnes*であることや、病変部に多量の本菌DNAを検出したことなどから、HW小体が*P. acnes*由来である可能性を疑ってきた。PAB抗体は*P. acnes*特異的であり、菌体細胞膜から細胞壁を貫いて多量に分布するリ

ポテイコ酸と反応する。また、TIG 抗体も *P. acnes* 特異的で、細胞質内に多量に存在するリボゾーム結合性のシャペロン蛋白である trigger factor 蛋白と反応する。サ症リンパ節に認められた HW 小体のすべてがこの 2 種類の *P. acnes* 特異的抗体に反応したことから、HW 小体がこれまで言われてきたような結核菌由来ではなく *P. acnes* に由来する構造体であるという結論に達した。また電顕レベルで得られた細胞膜抗原と細胞質抗原の HW 小体における局在様式は、これが巨大化した CWD 型の *P. acnes* 菌そのものである可能性を強く示唆するものである。

Bacterial and cell-wall-deficient (CWD) forms of gram-positive bacteria



我々の研究室では、1990 年初頭、WHO から供与された結核菌に対するモノクローナル抗体 (IT27) を使用して HW 小体に強い陽性反応を認めたが、その後の免疫反応性に関する詳細な解析からは、これが *P. acnes* と 100% の交差反応性を有していることが判明した。従って、Moscovic らが用いた結核菌に対する抗体も *P. acnes* との交差反応性を検定する必要がある。本研究に用いた 2 種類の抗体が結核菌 (BCG) と反応しないことは既に確認しているが、今後結核菌 Trigger factor 蛋白に対する抗体を TIG 抗体と同様な方法で作製し、これが HW 小体には陰性であることを同時に証明する必要がある。

これまで、サ症病変部から多量に *P. acnes* が培養されるにもかかわらず、病変部に通常のグラム陽性細菌を同定することができなかった理由を今回明らかにすることができた。病変部における本菌の局在はすべて細胞内でありこれらはすべて L 型菌として存在しているものと考えられる (図 7)。従って、その形態や大き

さは通常細菌とはまったく異なっており、しかも細菌であると同定するための重要な指標となる細菌細胞壁を欠如していることから、形態学的にこれを菌と同定することは困難であった。

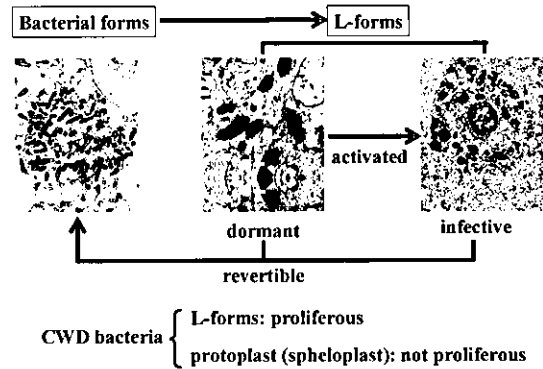


図 7 : *P. acnes* L 型菌の通常細菌型への形質転換

病変部から培養系に移された菌体は、培地における豊富な栄養を与えられ、培養直後から通常の細胞壁を有する細菌型に形質転換するものを考えられる。実際、L 型菌に適した高浸透圧培地にて病変部組織を細菌培養することにより、高率かつ多量に *P. acnes* が培養しうることが経験的に知られている。このような改良型培地を用いることで、最盛期にあるサ症リンパ節症例からはほぼ 100% に本菌が培養可能であると言われている。

今回の研究では、サルコイドーシス病変部に特徴的な Hamazaki-Wesenberg (HW) 小体が cell-wall deficient 型の *P. acnes* 菌体そのものであることを、菌体細胞膜から細胞壁を貫いて分布するリボタイコ酸に対する抗体 (PAB 抗体) と、細胞質内に多量に存在するリボゾーム結合性のシャペロン蛋白であるトリガーファクター蛋白に対する抗体 (TIG 抗体) を用いた免疫電顕解析にて明らかにした。PAB 抗体、TIG 抗体はいずれも *P. acnes* と特異的に反応する抗体であり、これを用いてサルコイドーシスリンパ節を免疫染色すると、ギムザ染色で同定しうる HW 小体はすべて両抗体で陽性となり、サルコイドーシスの成因と細胞欠失型の *P. acnes* との密接な関連が示唆された。また、PAB 抗体は症例の約 80% において HW 小体だけでなく肉芽腫内にも陽性像を呈することから、サルコイ

ドーシス肉芽腫形成の原因細菌が *P. acnes* であることはほぼ確実と考えられた。

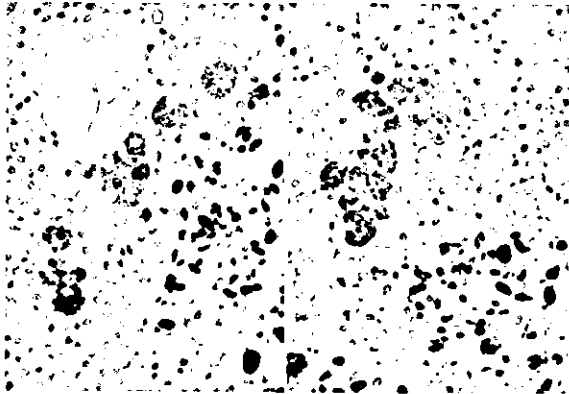


図 8：マクロファージ細胞内の菌増殖（PAB 免疫染色）

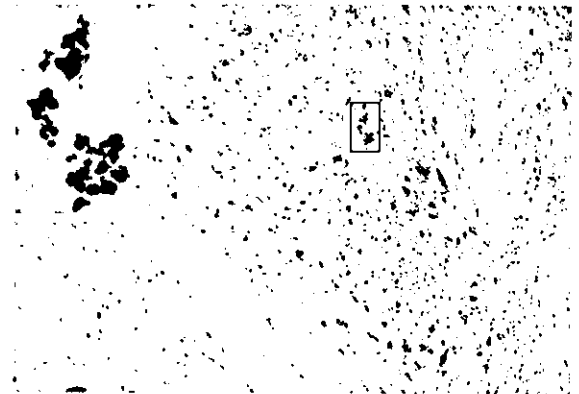


図 10：心臓サルコイドーシスの PAB 免疫染色

病変部免疫染色所見（図 8）において、リンパ洞内に出現する HW 小体は本菌が体内で不顕性感染している状態（dormant phase）を示すもので、肉芽腫が形成されるリンパ節傍皮質領域に集簇する腫大したマクロファージの細胞質内に多数認められる円形小型の PAB 抗体陽性像は、宿主へのストレス等環境要因を背景に、*P. acnes* の L 型菌が内因性活性化され細胞内増殖をはじめた所見（infective phase）と考えられる。細胞内における本菌の細胞内増殖所見はリンパ節に限らず、他臓器のサ症肉芽腫性炎症病変においても高頻度に認められる（図 9, 10, 11）。

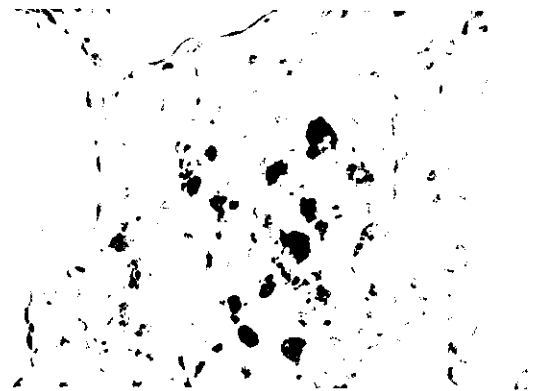


図 11：肺サルコイドーシスの PAB 免疫染色

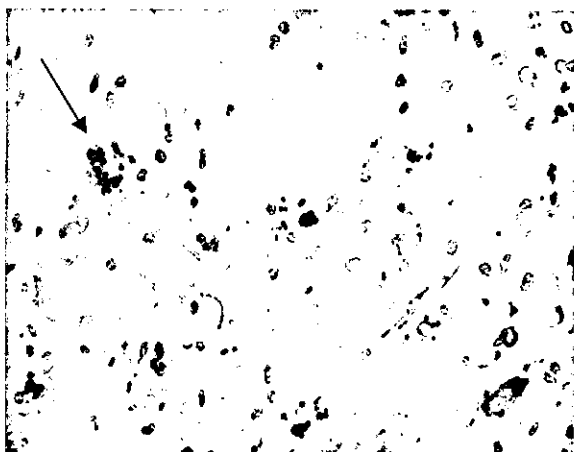


図 9：脾臓サルコイドーシスの PAB 抗体免疫染色

このような活性化の状態にあっても健常人では Th1 反応においてなんらかの免疫寛容が誘導されており肉芽腫形成反応は起こらないか、かりに起こったとしても一過性の反応（いわゆるサルコイド反応）に終わり早晩消褪する。ところが本菌との共生関係がうまくいかず本菌に対してなんらかの過敏性免疫反応の素因を有する患者では、細胞内で増殖した L 型菌に対して激しい Th1 免疫反応が起こり慢性的な肉芽腫性炎症反応が誘導されるものと考えられる（図 12）。

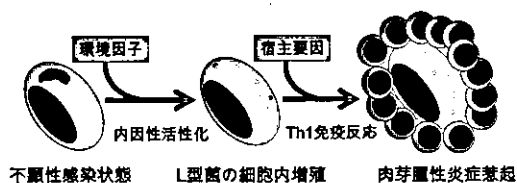


図 12：細胞内 L 型アクネ菌の内因性活性化と肉芽腫形成との関連性

細胞内に不顕性感染したアクネ菌は、細胞壁を欠失した L 型菌として細胞内に潜在感染することで宿主との共生関係が維持されているものと考えられる。潜在感染したアクネ菌がなんらかの環境要因を契機に活性化され、感染局所で増殖しはじめることが発症をトリガーしている可能性がある。

サ症の原因についてはこれまで、経気道的にせよ血行性にせよ何らかのルートで原因微生物が外界から侵入し疾患を引き起こすものと推測されていたが、これからは全く違った考え方をする必要がでてきた。健康人の肺やリンパ節に既にアクネ菌が常在性に不顕性感染しているとなると、サ症という病気は菌が外から侵入して発病するのではなく、「宿主のアレルギー反応がある閾値を超えて始動すると、菌がもともと存在する局所を中心にあたかも花が咲くようにぼつぼつと肉芽腫ができてくる」と考えたほうが自然なのかもしれない。このような考え方は、サ症患者で肺や肺門部リンパ節の病変が高頻度である理由や、びまん性粒状影を呈する肺野病変の成り立ちなどを説明するうえで好都合かもしれない (図 13)。

アクネ菌に関しては「共生」という言葉がよく使われる。常在菌はヒトの身体のなかに共存している必要があり、種々の手段を用いて波風立てないように静かにしており、時には我々にとってメリットのあることをしているのかも知れない。アクネ菌との共生がうまくいく宿主環境を有する健康人が多い中で、一部には共生がうまくいかず、本菌が保有するなんらかの抗原物質に対する遅延型アレルギー体質を有する人が存在する。このような疾病素因を有する人では、ストレス等の環境要因を契機にアクネ菌の異常増殖が起こり、サ症が発症してくるものと考えられる (図 14)。

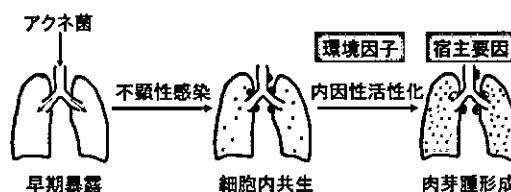


図 13：サルコイドーシスにおける肺野・肺門部リンパ節病変の成り立ち

我々の皮膚表面を主体に常在菌として環境中に多量に存在するアクネ菌は、思春期前後のはやい時期に経気道的に肺に不顕性感染し、末梢肺組織やその所属リンパ節である肺門部 (縦隔) リンパ節に潜在性に細胞内感染している。宿主要因としてアクネ菌に対して Th1 タイプの過敏性免疫反応を有する人では、なんらかの環境要因を契機に局所で異常増殖する菌を標的として肉芽腫形成が引き起こされるとする新しい考え方を仮説として示した。

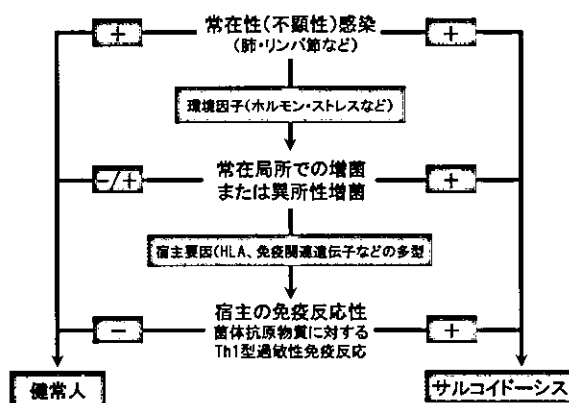


図 14：アクネ菌を原因とするサルコイドーシスの病因論まとめ

多くのヒトでは、肺やリンパ節などの深部組織にアクネ菌が共生状態を保ちながら常在性に不顕性感染している。宿主にストレスやホルモン環境・生活習慣の変調など環境要因が加わることで、組織の細胞内に潜在性感染していたアクネ菌が、常在局所あるいは異所性に異常増殖するような状態が起こる。このような状態はサ症患者以外でも起こりうる可能性を现阶段では否定できないが、HLA や Nod/TLRs など免疫関連遺伝子の遺伝子多型に起因する宿主要因を有するヒトでは、アクネ菌の保有するなんらかの菌体抗原物質に対して強い Th1 型過敏性免疫反応が持続することからサ症肉芽腫が形成されてくるものと考えられる。

今回の研究により、病変部における細胞壁欠失型の *P. acnes* (L型菌) の存在が明らかとなり、これが内因性活性化することが発症の契機となることが示唆されたことから、臨床研究班（貫和班）における抗生剤治療計画を基礎研究面からサポートしうる成果を挙げることができた。また、本研究による知見から、将来使用すべき抗生剤の種類や投与期間に関する重要な情報が得られた。

細胞内細菌に感受性のある抗生物質の投与は、新たな細胞内増菌を防止する観点から肉芽腫形成の予防に有効である可能性が高い。また、本症からの完全緩解を目指すためには、active phaseにある菌を抑制するだけではなく、代謝活性を低下させて生き残りを図る dormant phaseの菌も含めて除菌する必要がある。その観点からは、最終的な本症の抗生剤治療のレジメは、結核症に対する治療と同様な多剤併用による長期投与を理想とするべきであろう。ただし、単剤（ミノマイシン）による1年投与により本症患者の9割以上が症状の改善あるいは完全寛解をみたとするフランスやアメリカからの報告は、標的とする原因菌を特定しない段階での試みではあるが、今後日本にて治療開発に取り組む上では、十分に考慮しておくべきである。

びまん性肺疾患研究班（貫和班）において、サルコイドーシスの抗生物質投与による治療効果判定のプロジェクトが進行中である。アンケート調査による解析結果では、現在までに約80人ほどが抗生剤（多くはミノマイシン単剤投与）による治療が行われており、その約半数で効果が認められている。効果が認められた症例では、その投与が6ヶ月以上のものが多く、単剤でも長期投与が本症治療に必要であることが示唆されている。

本研究内容を基盤に、サルコイドーシスにおける抗生剤治療が計画されている。しかしながら、治験レベルでの研究計画は、製薬会社の協力が得られずまだスタートできておらず、今年度は上記アンケート調査の解析が主体となった。現在、諸外国でも抗生剤投与による研究が計画されつつあると聞く。日本主導型でサルコイドーシスの病因および治療までをリードするためには、「サルコイドーシス患者の抗生剤治療による効果判定」を目的とした独立した研究チ

ームを編成し、十分な予算（特に治験用抗生剤の購入費）を背景にこの問題に早急なる結論をだす必要がある。

E. 結論

細胞内に不顕性感染した細胞壁欠失型の *P. acnes* が、内因性活性化を契機にマクロファージ細胞内で異常増殖することが発症の契機となることを病理形態学的な観点から明らかにすることができた。従って、細胞内細菌に感受性のある抗生物質の投与は、新たな細胞内増菌を防止する観点から肉芽腫形成の予防に有効である可能性が高い。また、本症からの完全緩解を目指すためには、active phaseにある菌を抑制するだけではなく、代謝活性を低下させて生き残りを図る dormant phaseの菌も含めて除菌する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Eishi Y. Propionibacteria as a cause of sarcoidosis. In "Sarcoidosis", ed. by Baughman R. Marcel Dekker, New York, 2005 (in print).
2. Hagiwara S, Ohi H, Eishi Y, Kodama F, Tashiro K, Makita Y, Suzuki Y, Maeda K, Fukui M, Horikoshi S, Tomino Y. A case of renal sarcoidosis with complement activation via the lectin pathway. Am J Kid Dis, 2005 (in press)
3. Ishige I, Eishi Y, Takemura T, Kobayashi I, Nakata K, Tanaka I, Nagaoka S, Iwai K, Watanabe K, Takizawa T, Koike M. *Propionibacterium acnes* as the most common bacterium commensal in peripheral lung tissue and mediastinal lymph nodes from subjects without sarcoidosis. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis (in print).
4. Miura Y, Eishi Y, Ishige I, Koike M. Quantitative PCR of *Propionibacterium acnes* DNA in samples aspirated from sebaceous follicles on the normal skin of subjects with or without acne. J Invest Dermatol (in

- submission).
5. Nishiwaki T, Yoneyama H, Eishi Y, Matsuo N, Tatsumi K, Kimura H, Kuriyama T, Matsushima K. Indigenous pulmonary *Propionibacterium acnes* primes the host in the development of sarcoid-like pulmonary granulomatosis in mice. *Am J Pathol* 2004; 165: 631-639.
 6. Uchida K, Nakata K, Trapnell BC, Terakawa T, Hamano E, Mikami A, Matsushita I, Seymour JF, Oh-Eda M, Ishige I, Eishi Y, Kitamura T, Yamada Y, Hanaoka K, Keicho N. High affinity autoantibodies specifically eliminate granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activity in the lungs of patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. *Blood* 2004; 103: 1089-1098.
 7. Sakai H, Eishi Y, Li X-L, Akiyama Y, Miyake S, Takizawa T, Konishi N, Tatematsu M, Koike M, Yuasa Y. PDX1 homeobox protein expression in pseudopyloric glands and gastric carcinomas. *Gut* 2004; 53: 323-330.
 8. Ishizu H, Kumagai J, Eishi Y, Takizawa T, Koike M. Mucin core protein expression by colorectal mucinous carcinomas with or without mucus hyperplasia. *J Gastroenterol* 2004; 39: 125-132.
 9. Taruishi M, Terashima K, Dewan MZ, Yamamoto N, Ikeda S, Kobayashi D, Eishi Y, Yamazaki M, Furusaka T, Sugimoto M, Ishii M, Kitamura K, Yamamoto N. Role of follicular dendritic cells in the early HIV-1 infection: In vitro model without specific antibody. *Microbiol Immunol* 2004; 48(9): 693-702.
 10. Li X-L, Eishi Y, Bai Y-Q, Sakai H, Akiyama Y, Tani M, Takizawa T, Koike M, Yuasa Y. Expression of the SRY-related HMG box protein SOX2 in human gastric carcinoma. *Int J Oncol* 2004; 24: 257-263.
 11. Miyanaga M, Kiyosawa M, Takase H, Eishi Y, Shen DF, Chan CC, Mochizuki M. Microdissection and gene rearrangement analysis of paraffin-embedded specimens of orbital malignant lymphoma. *Jpn J Ophthalmol* 2004; 48: 123-127.
 12. Tanabe H, Akashi T, Kawachi H, Andou N, Eishi Y, Takizawa T, Koike M, Ichinose S. Identification of hydroxyapatite deposits in the smooth muscle cells and ganglion cells of autopsied small intestines. *J Med. Dent Sci* 2004; 51: 129-138.
 13. 江石義信、サルコイドーシスの治療、ドクターサロン (杏文堂) 48 巻 2 月号、107-111 頁、2004 年
 14. 江石義信、サルコイドーシス：新しい病因

の話題と診療の基本、原因としてのアクネ菌、月刊『Mebio』(メジカルビュー社) Vol.21 No.7: 62-71, 2004.

2. 学会発表

1. 江石義信、サルコイドーシスの病因論 (招待講演)、第 2 回東海心臓病理研究会、藤田保健衛生大学病院、平成 16 年 6 月 25 日 (大日本製薬共催)
2. 江石義信、招待講演「サルコイドーシスの病因について」、第 31 回秋田呼吸器疾患フォーラム (主催：秋田大学医学部内科学講座、第一製薬)、平成 16 年 7 月 29 日、秋田キャスルホテル。
3. 江石義信、「感染症とは何かを知ろう：コッホの原則では説明できない?」、日本女子大人間生活科学研究センターシンポジウム、平成 16 年 10 月 23 日
4. 江石義信 (招待講演)、内因性感染症—Sarcoidosis を中心に—、第 3 回 Kazusa Academia Respiratory Forum (KARF)「感染症の将来展望—Translational Research から臨床まで—」、2004 年 9 月 18 日、かずさアカデミアセンター (千葉)
5. 江石義信、シンポジウム「サルコイドーシスの病因をめぐって」サルコイドーシスとアクネ菌：疾病発生機構の考察、第 24 回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会雑誌 (vol. 24; 31, 2004)、2004 年 10 月 30 日 (京都、国際交流会館)
6. 江石義信、(第一回千葉・本間記念賞受賞講演)サルコイドーシス原因細菌としての *Propionibacterium acnes* の検証と疾病発生機構に関する研究、第 24 回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会雑誌 (vo.24; 20, 2004)、2004 年 10 月 31 日 (京都、国際交流会館)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし