



## Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1937号
学位記番号	第1367号
氏名	新谷 康広
授与年月日	令和5年3月24日
学位論文の題名	<p>Clinical impact of the pathological quantification of myocardial fibrosis and infiltrating T lymphocytes using an endomyocardial biopsy in patients with hypertrophic cardiomyopathy (肥大型心筋症患者の心筋生検検体において病理学的に定量化された心筋線維化およびTリンパ球浸潤の臨床的意義)</p> <p>Int J Cardiol. 2022 May 31:S0167-5273(22)00815-4</p>
論文審査担当者	主査： 須田 久雄 副査： 山崎 小百合, 高橋 智

## 論文内容の要旨

### 【背景】

肥大型心筋症(HCM)は、原発性の心肥大と拡張能低下を特徴とする疾患である。HCM症例は無症状で経過する例がいる一方で、心不全、脳梗塞、心臓突然死など様々な心血管イベントを合併する症例も少なくなく、その表現型には多様性があるため、予後不良なハイリスク症例の層別化は臨床的に重要な課題である。我々はHCMの病理学的特徴として心筋細胞の肥大、線維化、錯綜配列等が広く知られているものの、これらの病理学的所見と予後との関連は十分に解明されていないことに注目した。さらに、近年、心筋症において心筋への炎症細胞浸潤が予後に関係することが報告されるようになったことから、本研究はHCM症例における病理学的所見、特に心筋線維化や炎症細胞浸潤と予後との関連に注目して、ハイリスク症例の病理学的所見を明らかにすることを目的とした。

### 【対象と方法】

2006年12月から2020年5月までに名古屋市立大学病院で心内膜生検(EBM)を施行し、HCMと診断された連続55症例を解析対象とした。

対象患者のカルテから臨床情報を収集し、カルテおよび電話での予後調査を行った。主要評価項目は心血管系死亡と心不全または心室性不整脈による入院の複合イベントとした。また、対象患者の心筋生検検体を用いて、Masson's Trichrome染色による線維化の同定、抗CD3抗体(Tリンパ球)を用いた特殊免疫染色、およびHE染色による心筋細胞と核の形態学的評価を行い、線維化面積率(CAF)、CD3陽性細胞数および心筋細胞径と核円形率を測定して定量評価を行った。

### 【結果】

対象患者55名の平均年齢は $63 \pm 15$ 歳、男性が67%であった。観察期間[median(IQR)]  
37.2(19.8-54.3)ヵ月において、複合イベント数は12例(22%)認められた。CAFは $11.7 \pm 10.3\%$ 、CD3陽性細胞数(IQR)は $9.2(4.8-12.9)/\text{mm}^2$ 、心筋細胞径は $18.9 \pm 3.4 \mu\text{m}$ 、核円形率は $0.69 \pm 0.05$ であった。Cox比例ハザードモデルでは、血漿BNP値、血清総ビリルビン値、平均肺動脈圧、心係数、CAF、CD3+細胞数が主要評価項目と有意に関連していたが、多変量解析によりCAF [10%増加あたりのハザード比(HR);1.555、95%CI : 1.014-2.367、 $p=0.044$ ] およびCD3陽性細胞数 [10%増加あたりのHR : 1.231、95%CI : 1.011-1.453、 $p=0.041$ ] が主要評価項目の独立規定因子として選択された。心筋細胞径と核円形率は、臨床的主要評価項目との関連は認められなかった。CAF値を8.2%で2群に分けると、高値群( $\geq 8.2\%$ )は低値群に比べ有意に予後不良(log-rank  $p<0.001$ )であった。また、CD3陽性細胞数値を $11/\text{mm}^2$ で2群に分けると、多数群( $\geq 11/\text{mm}^2$ )は少数群に比べ有意に予後不良(log-rank  $p=0.007$ )であった。さらに、CAFとCD3陽性細胞数で3群に分けると、CAF高値かつCD3陽性細胞多数群がもっとも予後不良であった(log-rank  $p<0.001$ )。

### 【考察および結論】

本研究では、HCM症例における心筋生検検体で定量化された心筋線維量と心筋浸潤CD3陽性細胞数の増加が、臨床的予後不良の独立した予測因子であることを示した。

HCMにおいて心筋線維化は予後不良因子と言われているが、今回の知見は、HCM患者の予後を予測する上で、線維化を評価する事の有用性を病理学的観点から支持するものであった。

近年、拡張型心筋症 (DCM) や2次性心筋症において、Tリンパ球浸潤が予後と関連する事が報告されている。心筋炎症に関与するTリンパ球とマクロファージは心筋線維化の進展過程に寄与すると考えられており、HCMにおいても心筋線維化が炎症に基づいて進行することを示唆する報告がある。よって、CD3陽性細胞浸潤はさらなる心筋線維化を惹起する炎症性機転の存在を示唆し、今回の研究で心筋線維化とCD3陽性細胞浸潤を高度に認める症例での予後不良に炎症が中心的な役割を果たしていたのではないかと考えられる。HCMにおける心筋炎症の原因としてウイルスや微小血管機能障害の関与が疑われている。また、DCMで指摘されている自己免疫系の関与や、あるいは心筋ミオシンに関連するHCMの遺伝的基盤は、慢性的な組織損傷を引き起こし、結果として炎症を引き起こしている可能性がある。今後HCM患者の臨床像に寄与する病態生理を明らかにするために、さらなる病理学的研究が必要である。

本研究は、HCM 症例において心筋線維化量と T リンパ球浸潤度合が予後不良の有意な規定因子であることを示し、炎症細胞浸潤が HCM においてもその他の心筋症と同様に悪影響を及ぼしている可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

【背景】肥大型心筋症(HCM)は、原発性の心肥大と拡張能低下を特徴とする疾患である。HCM症例は無症状で経過する例がいる一方で、心不全、脳梗塞、心臓突然死など様々な心血管イベントを合併する症例も少なくなく、その表現型には多様性があるため、予後不良なハイリスク症例の層別化は臨床的に重要な課題である。我々はHCMの病理学的特徴として心筋細胞の肥大、線維化、錯綜配列等が広く知られているものの、これらの病理学的所見と予後との関連は十分に解明されていないことに注目した。さらに、近年、心筋症において心筋への炎症細胞浸潤が予後に関与することが報告されるようになったことから、本研究はHCM症例における病理学的所見、特に心筋線維化や炎症細胞浸潤と予後との関連に注目して、ハイリスク症例の病理学的所見を明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】2006年12月から2020年5月までに名古屋市立大学病院で心内膜生検(EBM)を施行し、HCMと診断された連続55症例を解析対象とした。

対象患者のカルテから臨床情報を収集し、カルテおよび電話での予後調査を行った。主要評価項目は心血管系死亡と心不全または心室性不整脈による入院の複合イベントとした。また、対象患者の心筋生検検体を用いて、Masson's Trichrome染色による線維化の同定、抗CD3抗体(Tリンパ球)を用いた特殊免疫染色、およびHE染色による心筋細胞と核の形態学的評価を行い、線維化面積率(CAF)、CD3陽性細胞数および心筋細胞径と核円形率を測定して定量評価を行った。

【結果】対象患者55名の平均年齢は $63 \pm 15$ 歳、男性が67%であった。観察期間[median(IQR)] 37.2(19.8-54.3)ヵ月において、複合イベント数は12例(22%)認められた。CAFは $11.7 \pm 10.3\%$ 、CD3陽性細胞数(IQR)は $9.2(4.8-12.9)/\text{mm}^2$ 、心筋細胞径は $18.9 \pm 3.4 \mu\text{m}$ 、核円形率は $0.69 \pm 0.05$ であった。Cox比例ハザードモデルでは、血漿BNP値、血清総ビリルビン値、平均肺動脈圧、心係数、CAF、CD3+細胞数が主要評価項目と有意に関連していたが、多変量解析によりCAF [10%増加あたりのハザード比(HR);1.555、95%CI: 1.014-2.367、 $p=0.044$ ] およびCD3陽性細胞数 [10%増加あたりのHR: 1.231、95%CI: 1.011-1.453、 $p=0.041$ ] が主要評価項目の独立規定因子として選択された。心筋細胞径と核円形率は、臨床的主要評価項目との関連は認められなかった。CAF値を8.2%で2群に分けると、高値群( $\geq 8.2\%$ )は低値群に比べ有意に予後不良(log-rank  $p<0.001$ )であった。また、CD3陽性細胞数値を $11/\text{mm}^2$ で2群に分けると、多数群( $\geq 11/\text{mm}^2$ )は少数群に比べ有意に予後不良(log-rank  $p=0.007$ )であった。さらに、CAFとCD3陽性細胞数で3群に分けると、CAF高値かつCD3陽性細胞多数群がもっとも予後不良であった(log-rank  $p<0.001$ )。

【考察および結論】本研究では、HCM症例における心筋生検検体で定量化された心筋線維量と心筋浸潤CD3陽性細胞数の増加が、臨床的予後不良の独立した予測因子であることを示した。

HCMにおいて心筋線維化は予後不良因子と言われているが、今回の知見は、HCM患者の予後を予測する上で、線維化を評価する事の有用性を病理学的観点から支持するものであった。

近年、拡張型心筋症(DCM)や2次性心筋症において、Tリンパ球浸潤が予後と関連する事が報告されている。心筋炎症に関与するTリンパ球とマクロファージは心筋線維化の進展過程に寄与すると考えられており、HCMにおいても心筋線維化が炎症に基づいて進行することを示唆する報告がある。よって、CD3陽性細胞浸潤はさらなる心筋線維化を惹起する炎症性機転の存在を示唆し、今回の研究で心筋線維化とCD3陽性細胞浸潤を高度に認める症例での予後不良に炎症が中心的な役割を果たしていたのではないかと考えられる。HCMにおける心筋炎症の原因としてウイルスや微小血管機能障害の関与が疑われている。また、DCMで指摘されている自己免疫系の関与や、あるいは心筋ミオシンに関連するHCMの遺伝的基盤は、慢性的な組織損傷を引き起こし、結果として炎症を引き起こしている可能性がある。今後HCM患者の臨床像に寄与する病態生理を明らかにするために、さらなる病理学的研究が必要である。

本研究は、HCM症例において心筋線維化量とTリンパ球浸潤度合が予後不良の有意な規定因子であることを示し、炎症細胞浸潤がHCMにおいてもその他の心筋症と同様に悪影響を及ぼしている可能性が示唆された。

【審査の内容】約20分間のプレゼンテーションの後に、第一副査の山崎小百合教授からCD3陽性細胞と線維化の相関の有無、サイトカインの測定の有無、線維化を来すメカニズムの文献的考察などを中心に10項目の質問がなされた。第二副査の高橋智教授から症例の背景の詳細、PAS染色の意義、核円形率の評価方法と意義、活性型線維芽細胞の検討の有無など14項目の質問がなされた。主査の須田久雄教授から予後規定因子の層別化として病理所見と非侵襲的検査の関連の展望、治療介入の具体的方策、今後の研究プランなどを中心に10項目の質問がなされた。質問に対して窮する場面もあったが概ね適切な回答が得られ、学位論文の主旨を十分に理解していると判断した。本研究は、肥大型心筋症患者における心筋生検検体において病理学的に定量化された心筋線維化およびTリンパ球浸潤が、予後規定因子であることを解明した臨床・研究の両面において意義のある結果が得られた研究である。以上をもって、本論文の著者には博士(医学)の称号と与えるに相応しいと判断した。

論文審査担当者 主査 須田 久雄 副査 山崎 小百合、高橋 智