

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 元年 6 月 26 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11218

研究課題名(和文)好酸球性副鼻腔炎の自己免疫異常からみた病態解明とモデルマウスの作成

研究課題名(英文)Clarification of etiology elucidation of eosinophilic chronic sinitis and making of the model mouse

研究代表者

太田 康(OTA, Yasushi)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：40251285

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：今回難治性慢性鼻副鼻腔炎症例において、デスモグレイン3に対する自己抗体IgG4を証明した。また、難治性鼻副鼻腔炎症例の6例において、副鼻腔粘膜上皮におけるIgG4の存在部位は主に上皮細胞の細胞間隙であった。このIgG4は抗原に反応した抗体であり、細胞間隙に自己抗原が存在すると考えられた。代表的な細胞間隙タンパク質であるデスモグレイン3も、副鼻腔粘膜の上皮細胞間隙に存在した。このことから、副鼻腔粘膜上皮に浸潤するIgG4の自己抗原の一つとしてデスモグレイン3が考えられた。このことから、デスモグレイン3に対する自己抗体IgG4が難治性慢性鼻副鼻腔炎の原因の一つであることが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性鼻副鼻腔炎に代表される難治性鼻副鼻腔炎は、いまだ難治性慢性炎症がおこるその機序が不明であり、根本的な治療方法も確立されていない。最近患者数も増加しており、その治療方法を確立することは急務である。今回難治性鼻副鼻腔炎の原因の一つにデスモグレイン3に対する自己抗体IgG4が関与していることが判明した。さらなる研究が必要であると同時に、治療方法の確立に結び付く可能性がある。

研究成果の概要(英文)：I proved autoantibody IgG4 for desmoglein 3 in an intractable chronic rhinosinusitis case. In addition, in six cases of the intractable rhinosinusitis cases, the existence part of IgG4 in the paranasal sinus mucosal epithelium was intercellular space of the epithelium cell. This IgG4 was thought to an antibody in response to a selfantigen. Desmoglein 3 which was representative intercellular space protein existed in the epithelium intercellular space of the paranasal sinus mucosal epithelium. From this, desmoglein 3 was thought to one of the self-antigen of IgG4 which infiltrated a paranasal sinus mucosal epithelium. From this, it was thought that autoantibody IgG4 for desmoglein 3 was one of the causes of intractable chronic rhinosinusitis.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：難治性慢性炎症 慢性副鼻腔炎 IgG4 デスモグレイン3 自己抗体 自己抗原

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

好酸球性鼻副鼻腔炎に代表される難治性鼻副鼻腔炎は、いまだ難治性慢性炎症がおこるその機序が不明であり、根本的な治療方法も確立されていない。最近難治性鼻副鼻腔炎の中には、IgG4関連の慢性鼻副鼻腔炎症例の報告も散見される。難治性慢性鼻副鼻腔炎におけるIgG4の関与も指摘されている。

デスマグレイン3に対する自己抗体IgG4が認められた難治性慢性鼻副鼻腔炎症例

1) 症例

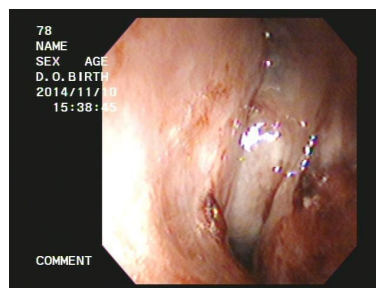
症例は42歳男性。両側鼻閉、両側顎下部の腫脹で東邦大学医療センター佐倉病院耳鼻咽喉科を受診した。初診時両側鼻腔に鼻茸が認められ、両側の顎下部、眼窩外側部の腫脹も認められた。CTでは両側の汎副鼻腔炎、両側顎下腺、涙腺の腫脹が認められた。血液検査では、血清総IgE 380 IU/mL、IgG 4 383 mg/dL、と高値を示し、血中好酸球は6.3%と正常範囲内であった。血清抗デスマグレイン3抗体は4390U/mlと非常に高値を示した。

全身麻酔下で鼻内視鏡下鼻副鼻腔手術、左顎下腺生検術を施行した。病理組織標本において、鼻副鼻腔粘膜固有層には多数のIgG4陽性細胞の浸潤が認められた。顎下腺にも多数のIgG4陽性細胞の浸潤が認められ、どちらもIgG4陽性細胞数/IgG陽性細胞数 > 50%であった。

術後は、抗ロイコトリエン薬、ステロイド鼻噴霧薬で経過をみているが、手術後3年現在、鼻粘膜に癒着性腫脹が認められたが、鼻症状は良好である。

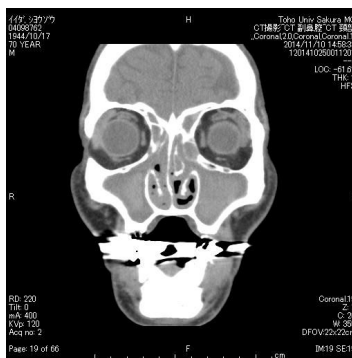
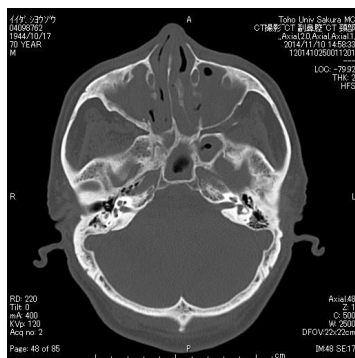


初診時鼻腔所見 右



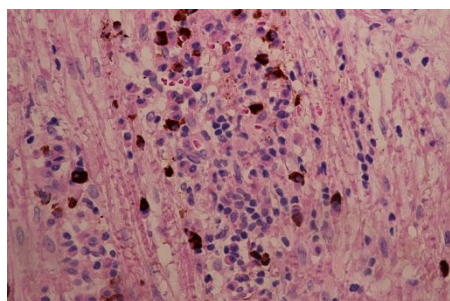
初診時鼻腔所見 左

左右とも中程度の鼻茸がみられた

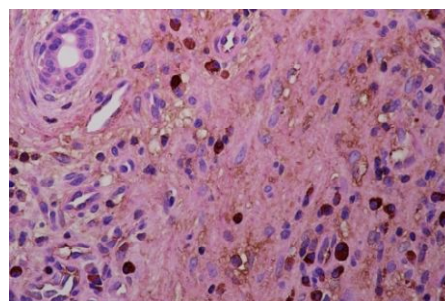


初診時副鼻腔CT 汎副鼻腔炎の状態である 涙腺の腫脹も認められた

IgG4 染色病理組織標本



副鼻腔粘膜

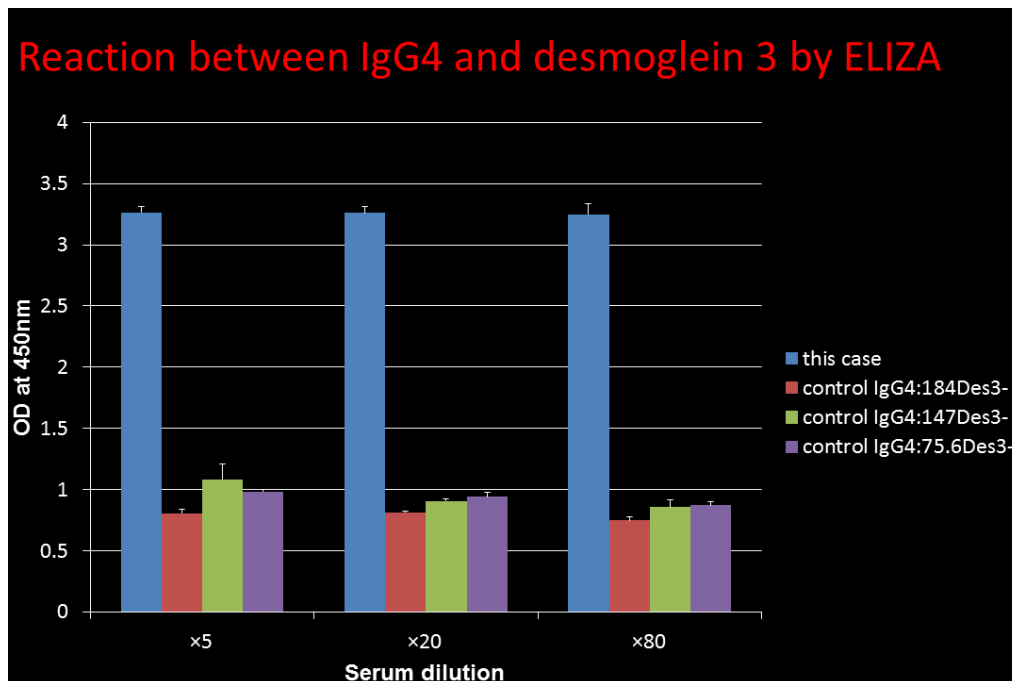


顎下腺組織

どちらもIgG4陽性細胞が多数認められた

2) エライザー

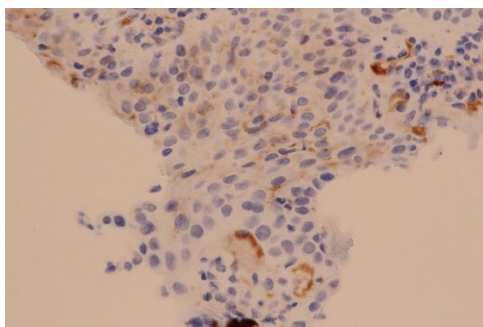
デスモグレイン3とIgG4との関係を調べる為にエライザーを施行した。抗Dsg3抗体ELISA「コスミック」のELISAキットを用い測定した。キットに患者血清を反応させ、ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgG4抗体(SBA, Southern Biotechnology Associates Inc.)で検出した。基質液はKPL社のTMB microwell peroxydase(ELISA基質液)を用い、450nmでの吸光度測定を行った。コントロールとしてデスモグレイン3抗体陰性で血清IgG4正常な慢性副鼻腔炎症例、デスモグレイン3抗体陰性で血清IgG4高値の慢性副鼻腔炎症例の血清を用いて、同様な測定を行った。その結果、本症例の血清のみ反応が認められ、コントロール症例は反応が認められなかった。



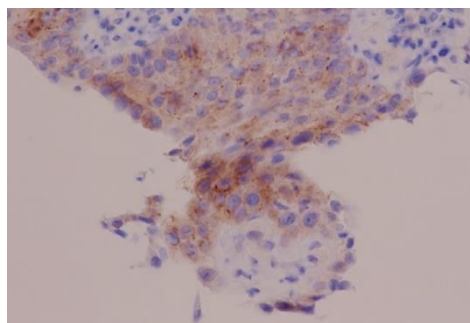
3) 免疫染色病理組織学的検討

同症例のIgG4染色病理組織標本において、副鼻腔粘膜上皮細胞の細胞間隙に沿ってIgG4の染色が認められた。デスモグレイン3でも染色してみると、やはり同様に上皮細胞の細胞間隙に沿ってデスモグレイン3が存在していた。このことから、IgG4が副鼻腔粘膜上皮間隙に存在するデスモグレイン3に自己抗体として反応していると推測した。この症例においては、慢性副鼻腔炎における難治性の炎症性病変の原因にデスモグレイン3に対する自己抗体IgG4が関与していると考えられた。

副鼻腔粘膜上皮



IgG4染色病理組織標本



抗デスモグレイン3染色病理組織標本

どちらも粘膜上皮の細胞間隙を中心に染色が認められた

4) 考察

エライザーから、この症例におけるIgG4はデスモグレイン3に対する自己抗体であることが判明した。免疫染色からIgG4、デスモグレイン3ともに副鼻腔粘膜上皮の細胞間隙に集積が認められ、副鼻腔粘膜上皮に存在するIgG4はデスモグレイン3抗原と結合したものであることが推測された。同時に多数のIgG4陽性形質細胞が認められ、副鼻腔粘膜形質細胞で産生された自己抗体IgG4が副鼻腔粘膜上皮細胞で結合していることが考えられた。副鼻腔粘膜においては、IgG4は局所の自己免疫反応を引き起こしている可能性が有る。

2. 研究の目的

この症例から I g G 4 が鼻副鼻腔に慢性炎症を引き起こすことが判明した。そこで当科で経験した鼻副鼻腔炎症例から副鼻腔粘膜に I g G 4 が認められる症例を抽出し、難治性鼻副鼻腔炎と I g G 4 との関係を調べた。

3. 研究の方法

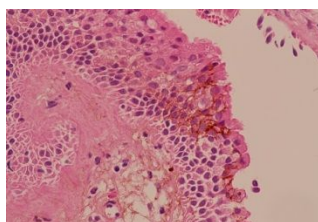
2013年4月から2015年3月までに当科を受診し副鼻腔粘膜の病理組織を得ることができ、I g G 4 に対する免疫化学染色を施行しえた慢性鼻副鼻腔炎症例は 69 例であった。そのうち副鼻腔粘膜に I g G 4 陽性細胞が認められたのは 44 例、さらに副鼻腔粘膜上皮に I g G 4 陽性細胞が認められたのは 6 例であった。この 6 症例において副鼻腔粘膜上皮における染色部位は主に上皮細胞の細胞間隙であり、抗体産生細胞である形質細胞やリンパ球の浸潤は認められなかった。この 6 症例の副鼻腔粘膜に対して、代表的な細胞間隙タンパク質であるデスマグレイン 3、デスマグレイン 1、フィラグリンを免疫組織学的に染色した。6 症例の染色部位を IgG4、デスマグレイン 3、デスマグレイン 1、フィラグリンで比較した。

副鼻腔粘膜上皮に I g G 4 陽性細胞が認められたのは 6 症例

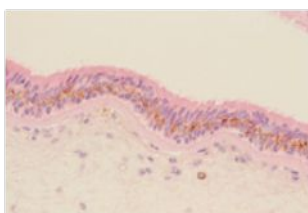
Case	Lund-Mackey score	Serum IgG4 (mg/dl)	Blood eosinophils (%)	serum IgE (IU/ml)	IgG4-positive cells	VAS of smell	Therapy	Prognosis
1	16	32	8.3	390	52	0	ESS+medication	recurrence
2	17	39.2	3.7	65	41	100	ESS+medication	good
3	23	858	2.1	610	78	0	ESS+medication	good
4	17	93	8	33	52	70	medication	no change
5		131	6.9	530	95	10	ESS+prednisolon	no change
6	22		17	150	27	0	ESS+medication	recurrence

4. 研究成果

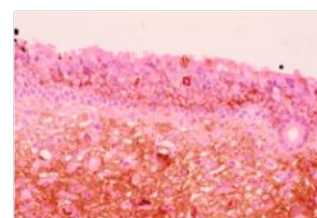
副鼻腔粘膜上皮 IgG4 染色病理組織標本



Case1



Case 2

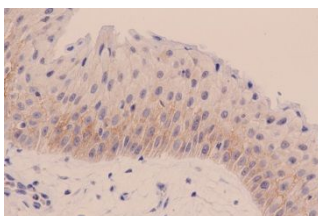


Case 3

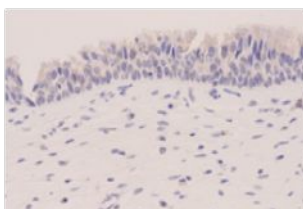
6 症例とも、副鼻腔粘膜上皮の細胞間隙を中心に染色が認められた

デスマグレイン 3 は副鼻腔粘膜上皮細胞の細胞間隙に染色され、デスマグレイン 1 は細胞間隙と細胞質に染色が認められた。フィラグリンは上皮細胞の先端に染色が認められた。これら 3 つの細胞間隙タンパク質のうち、I g G 4 と最も染色部位が一致したのはデスマグレイン 3 であった。

デスマグレイン 3



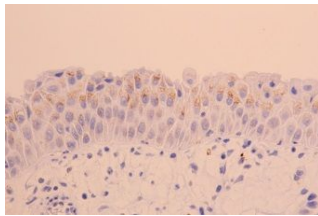
Case1



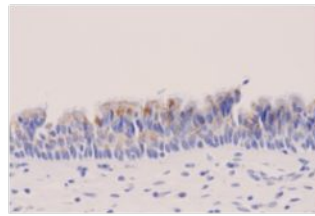
Case2

副鼻腔粘膜上皮細胞の細胞間隙に染色された

デスマグレイン 1



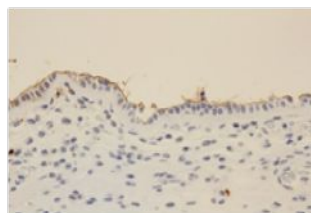
Case 1



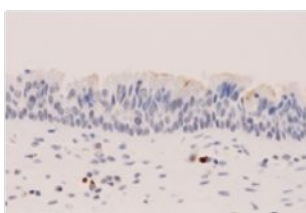
Case 2

副鼻腔粘膜上皮細胞の細胞間隙と細胞質に染色が認められた

フィラグリン



Case 1



Case 2

染色結果

Case	IgG4-positive cells	IgG4上皮内染色	デスモグレイン3染色	デスモグレイン1染色	フィラグリン
1	52	細胞間隙	細胞間隙	細胞間隙、細胞質	上皮層先端
2	41	細胞間隙	細胞間隙	細胞間隙、細胞質	上皮層先端
3	78	細胞間隙	細胞間隙	細胞間隙、細胞質	上皮層先端
4	52	細胞間隙	細胞間隙	細胞間隙、細胞質	上皮層先端
5	95	細胞間隙			
6	27	細胞間隙			

副鼻腔粘膜上皮に I g G 4 陽性細胞が認められた 6 症例において、副鼻腔粘膜上皮における染色部位は、主に上皮細胞の細胞間隙であった。また抗体産生細胞である形質細胞やリンパ球の浸潤は、副鼻腔粘膜上皮には認められなかった。この 6 症例においても、副鼻腔粘膜上皮の細胞間隙に存在する I g G 4 は抗原に反応した I g G 4 であり、細胞間隙に自己抗原が存在すると考えた。

この 6 症例においては副鼻腔粘膜下組織に I g G 4 陽性の形質細胞を多数認められた。これらのことから、副鼻腔粘膜下組織で産生された自己抗体 I g G 4 が、副鼻腔粘膜上皮の細胞間隙に存在する自己抗原に反応し、集積していると考えられた。また、この抗原抗体反応は、副鼻腔の難治性炎症に関与していると推測された。

次にこの自己抗原を同定するため、代表的な細胞間隙タンパク質であるデスモグレイン 3、デスモグレイン 1、フィラグリンを免疫組織学的に染色したところ、I g G 4 と最も染色部位が一致したのはデスモグレイン 3 であった。このことから、副鼻腔粘膜上皮に浸潤する I g G 4 に対する自己抗原の一つとしてデスモグレイン 3 が考えられた。またこれらのことは、前述した我々の経験した、デスモグレイン 3 に対する自己抗体 I g G 4 による慢性鼻副鼻腔炎を合併するミクリッツ病の 1 症例の結果とも一致する。

このように今回の検討によって、IgG4 浸潤を認めた慢性鼻副鼻腔炎症例においては、副鼻腔粘膜上皮の細胞間隙に存在するデスモグレイン 3 に対する自己抗体 I g G 4 が存在し、その免疫反応が炎症の難治化に関与している可能性が示唆された。また、副鼻腔粘膜上皮 IgG4 染色部位が、上皮組織だけではなく粘膜固有層にも多数認められることから、自己抗原はデスモグレイン 3 だけではなく、他にも多数の物質が抗原になっている可能性が有り、今後のさらなる検討が必要である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

Ota Y, Ishikawa F, Sato T, Hiruta N, Kitamura M, Yokota H, Ikemiyagi Y, Bujo H, Fujiwara M, Suzuki M, A case of refractory chronic rhinosinusitis with anti-desmoglein 3 IgG4 autoantibody. Allergol Int. 2017 Oct;66(4):634-636. 査読あり
<https://doi.org/10.1016/j.alit.2017.04.009>

太田 康,【鼻副鼻腔における免疫アレルギー疾患への対応】 難治性慢性鼻副鼻腔炎とIgG4(解説/特集): アレルギーの臨床 12号 Page1133-1136(2018.11), 査読なし

[学会発表](計 2件)

谷口 賢新, 太田 康, 鈴木 光也, 蛭田 啓之, 北村 真. IgG4に関連すると思われた慢性鼻副鼻腔炎の2症例: 第57回日本鼻科学会 2018年

太田 康, 石川 文雄, 鈴木 光也. ミクリッツ病における鼻副鼻腔病変の検討
第119回日本耳鼻咽喉科学会 2018年

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 石川 文雄
ローマ字氏名: (ISHIKAWA, Fumio)
所属研究機関名: 東邦大学
部局名: 医学部
職名: 講師
研究者番号(8桁): 10130345

研究分担者氏名: 鈴木 光也
ローマ字氏名: (SUZUKI, Mitsuya)
所属研究機関名: 東邦大学
部局名: 医学部
職名: 教授
研究者番号(8桁): 50302724

研究分担者氏名: 池宮城 慶寛
ローマ字氏名: (IKEMIYAGI, Yoshihiro)
所属研究機関名: 東邦大学
部局名: 医学部
職名: 助教
研究者番号(8桁): 50439931

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。