

令和 2 年 6 月 21 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08736

研究課題名(和文) IgA腎症の扁桃組織におけるエストロゲン・レセプターの発現

研究課題名(英文) Expression of estrogen receptors in tonsillar tissues of IgA nephropathy

研究代表者

山川 光徳 (Yamakawa, Mitsunori)

山形大学・医学部・教授

研究者番号：20183676

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：口蓋扁桃のリンパ上皮共生域(LSA)(リンパ球と扁平上皮が共存する領域)の扁平上皮細胞とリンパ濾胞胚中心の濾胞樹状細胞にエストロゲン・レセプター(ER)-alphaが発現されることを初めて発見した。さらに、IgA腎症(扁桃などの粘膜感染症と関連して腎糸球体に糖鎖修飾異常IgAならびにそれに関連した免疫複合体が沈着する疾患)では、非IgA腎症の扁桃に比べて、LSAにおけるER-alphaの発現が有意に高頻度であった。また、IgA腎症のLSAにおけるER-alpha発現頻度とIgA産生に関連するthymic stromal lymphopoietin(TSLP)の発現に相関性があった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IgA腎症は慢性糸球体腎炎の主要な疾患で、治療にはステロイドパルス療法、免疫抑制薬、口蓋扁桃摘出術(+ステロイドパルス併用療法)などの対象療法があるが、確立された有効な治療法はなく、透析や移植が必要な末期腎不全に至りやすい(成人発症例では20年間で約40%弱)。今回の研究で、扁桃のLSAの扁平上皮におけるER-alphaの発現が有意に高頻度で、IgA産生に関連するTSLPの発現と相関性が認められたことにより、難治性で予後不良な疾患であるIgA腎症に対して、TSLPやER-alphaに対する分子標的薬あるいは乳癌や子宮内膜癌などと同じような抗ホルモン療法が適応できうる可能性が示唆される。

研究成果の概要(英文)：The present study has firstly demonstrated the expression of estrogen receptor (ER)-alpha on squamous epithelial cells in lymphoepithelial symbiosis areas (LSAs), the specific squamous epithelial layer containing lymphocytes, and follicular dendritic cells in follicular germinal centers of palatine tonsils. Furthermore, tonsillar LSAs in patients with IgA nephropathy, in which renal glomerular deposition of aberrantly glycosylated IgA and immune complex containing glycosylated IgA is found related to mucosal and tonsillar infection, more frequently expressed the ER-alpha, compared to those with non-IgA nephropathy. In addition, there was a well correlation between the expression of ER-alpha and thymic stromal lymphopoietin in the tonsillar LSAs, the latter being a positive regulator for IgA production in the follicular germinal centers in the palatine tonsils.

研究分野：病理学

キーワード：IgA腎症 口蓋扁桃 リンパ上皮共生域 濾胞樹状細胞 エストロゲン・レセプター 胸腺間質リンホポイエチン

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) IgA 腎症は難治性疾患克服研究事業の対象疾患である。

IgA 腎症は腎糸球体に糖鎖修飾 IgA が沈着する慢性糸球体腎炎で、日本における慢性糸球体腎炎の原因として最多であり (IgA 腎症が 40%以上)、難治性疾患克服研究事業の対象疾患とされている。さらに予後比較的不良群 (5 年~20 年以内に透析療法に移行する可能性がある) や予後不良群 (5 年以内に透析療法に移行する可能性があるもの) では、透析療法を必要とする可能性が高い疾患である。

(2) Estrogen receptor (ER)には 2 種類存在するが、ER- の生理作用は未だに未知である。

Estrogen receptor (ER)には ER- と ER- の 2 種類があり、estrogen は前者との結合により女性における第二性徴の発現や生殖機能に作用し、ER は乳癌などのホルモン依存性増殖を示す腫瘍の治療法選択、また予後の判定に重要な検査となっている。さらに、estrogen は後者との結合により骨代謝、心血管系の機能調節、また一部に腫瘍の増殖にも重要な役割を果たしている。ER は乳腺、子宮内膜細胞のみならず、血管平滑筋、髄膜細胞などに発現することも知られている。しかし、ER- の生理作用は十分に解明されておらず、その臨床病理学的意義については不明な点が多く、単なる女性の生殖ホルモンとしてではなく、男女両性の生理機能の維持に不可欠な多機能性ホルモンであり、末梢組織に広範に存在する ER- は、全身臓器における estrogen の生理的作用を知る上で重要である。

(3) ER- には多くの splice variant が存在する。

ER- 遺伝子は 14 番染色体長腕上 (14q21-22) に位置し、多様な splice variant (ER- 1, ER- 2 (cx), ER- 3, ER- 4, ER- 5)を有する (Moore JT, et al., Biochem Biophys Res Commun 247:75-78, 1998; Ogawa S, et al., Nucleic Acids Res 26:3505-3512, 1998)。ER- と比較しても、estradiol への親和性はほぼ同じである。しかし、ER- は ER- に比し、転写活性化作用が低いことが知られており、ER- と二量体形成した場合には ER- の活性を抑制する作用がある。また、ER- cx はエストロゲンとの結合能を欠き転写活性化作用をもたず、ER- の機能を完全に抑える dominant negative regulator としての作用を持つ。

(4) リンパ組織に ER- が発現される。

PubMed などで検索し得た限りでは、扁桃組織における ER- を検討した論文は次の 1 個のみである。扁桃組織において ER- は顆粒球に加えリンパ濾胞胚中心と被殻 (マントル) のリンパ球に、ER- は活性化された胚中心リンパ球にのみ発現し、被殻 (マントル) のリンパ球は陰性であり、ER- は成熟リンパ球に発現されやすいと報告されている (Shim GJ, et al, J Pathol 208:408-414, 2006)。ただ、ER- では無く ER の mRNA が扁桃細胞に発現され、estradiol 刺激で ER mRNA が減少するとされている (Evagelatou M & Farrant J. J Mol Endocrinol 14:13-19, 1995)。

(5) Estrogen は IgA 腎症の扁桃上皮細胞での thymic stromal lymphopoietin (TSLP)の発現を亢進させる可能性がある。

Estrogen、ER と IgA 産生についての論文は極めて少ない。その中で、estradiol は ER- や ER- を介して骨髄での B リンパ球産生を減弱させ (Islander U, et al. Immunology 110:149-157, 2003)、estradiol は Toll-like receptor 4 の発現を亢進し、より多くの IgA

を産生し、気道に分泌することで肺炎を予防する (Ali AA, et al. J Trauma Acute Care Surg 72:908-915, 2012)。さらに、estrogenは thymic stromal lymphopoietin (TSLP)を介して子宮内膜間質細胞を量依存性に刺激し、MCP-1とIL-8の分泌亢進とJNKやNF- κ Bを介した子宮内膜間質細胞の増殖を誘導する (Chang KK, et al. Int J Clin Exp Pathol 7:1889-1899, 2014)。

我々が検索し得た範囲では、IgA腎症の扁桃組織におけるTSLP、ERとIgA産生の関連性を示した報告は無い。我々は、予備実験で、扁桃組織にER- α が発現されることを確認している。これらのデータは、IgA腎症の扁桃組織に高発現されるER- α とTSLPが、扁桃における異常IgA分子の産生に関わっている可能性が高いことを示唆している。

2. 研究の目的

IgA腎症の扁桃組織において、どのような細胞がER- α 及びER- β (splice variantを含む)を発現するか、これらの発現とTSLP及びそのレセプター (TSLP receptor [TSLP])やIgA産生に關する因子 (activation-induced cytidine deaminase [AID]、I α -C μ 、transforming growth factor [TGF]- β 1など)の発現との関連性を明らかにし、ER- α 及びER- β がIgA産生を制御する機序を解明する。

3. 研究の方法

ステロイド未治療例のIgA腎症患者および非IgA腎症患者から抽出された扁桃組織で、次の研究手法を用いて検討した。

(1) 免疫組織化学的、*in situ* hybridization及びELISA法にて、ER- α 及びER- β のsplice variant (ER- α 1, ER- α 2 (cx), ER- α 3, ER- α 4, ER- α 5)の蛋白及びmRNAの発現細胞と発現量を検討した。

(2) 免疫組織化学的にIgA産生に關する因子 (TSLP/TSLPR、AID、I α -C μ 、TGF- β 1)の発現や胚中心内IgA産生細胞の局在について検討した。

4. 研究成果

IgA腎症と非IgA腎症患者の扁桃組織におけるER- α 、ER- β splice variantとIgA産生に關する因子 (TSLP/TSLPR、AID、I α -C μ 、TGF- β 1)の発現や胚中心内IgA産生細胞について検討した結果、以下の成果を得た。

(1) IgA腎症の扁桃組織のリンパ上皮共生域 (Lymphoepithelial symbiosis area: LSA)とリンパ濾胞胚中心にER- α が発現されることを初めて発見した (図1 & 2)。

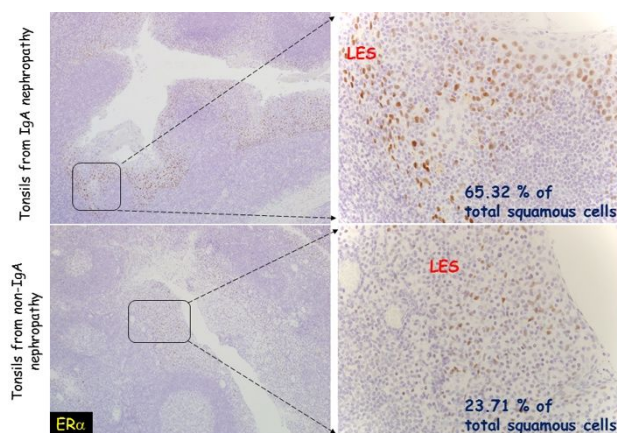


図1. IgA腎症 (上の左右の図) と非IgA腎症 (下の左右の図) の扁桃内LSA (LES)におけるER- α の免疫染色: 双方の疾患でER- α がLSA (LES)の扁平上皮細胞の核に発現しているが、IgA腎症での発現頻度 (陽性細胞数/全扁平上皮細胞の割合) は65.32%で、非IgA腎症での割合 (23.71%) に比べて、有意に高い。

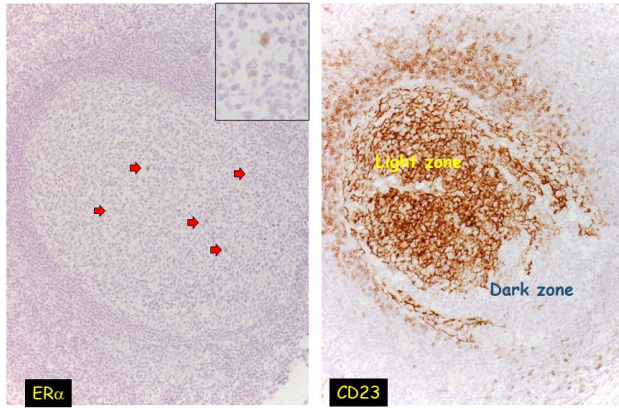


図2. IgA腎症の扁桃内リンパ濾胞胚中心におけるER- とCD23の免疫染色：胚中心では、ER- は少数の濾胞樹状細胞の核に発現している（左図の矢印）（挿入図はその拡大像）。右図は同一の胚中心におけるCD23免疫染色で、胚中心の明調部 light zone（陽性細胞が密に存在）と暗調部 dark zone（陽性細胞が欠如/僅かのみ存在）を区別することができる。

ほとんどのER- 陽性濾胞樹状細胞は明調部に存在する。

(2) IgA腎症と非IgA腎症でER- の発現を免疫染色、RT-PCRと *in situ*-hybridization (ISH)で比較すると、免疫染色では胚中心での発現に両者間で有意差はなかったが、LSAでの発現はIgA腎症で有意に高頻度であった ($p < 0.001$) (Table 1)。RT-PCRでもER- mRNA発現はIgA腎症で高く、ISHでもER- mRNAがLSAに発現していた。

Table 1. Immunostaining of estrogen receptors and progesterone receptor in tonsillitis of both IgA and non-IgA nephropathy

	SqE without lym	SqE with lym	LES *	T cell region	Marginal zone	Mantle zone		Germinal center			
						lym	FDCs	Light zone lym	Light zone FDCs	Dark zone lym	Dark zone FDCs
ER α	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+
ER β 1	+	+	+	+	+	+	?	+	?	+	?
ER β 2	+	+	+	+	+	+	?	+	?	+	?
ER β 3	+	+	+	+	+	+	?	+	?	+	?
ER β 5	+	+	+	+	+	+	?	+	?	+	?
PgR	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

+, positive; -, negative; SqE, squamous epithelial; lym, lymphocytes; LES, lymphoepithelial symbiosis; FDCs, follicular dendritic cells; ER, estrogen receptor; PgR, progesterone receptor, *, ER β 1 positive cells were observed in superficial layer of squamous epithelial, however, the rest of estrogen receptors showed positivity in basal layer of squamous epithelial.

(3) 非IgA腎症の各種リンパ組織（虫垂炎、胆嚢炎、脾臓など）における免疫染色では、いずれの胚中心でもER- が発現していたが、虫垂炎や胆嚢炎での上皮成分に発現はなかった。即ち、扁桃LSAにおけるER- の高発現はIgA腎症に特異的であった。

(4) 免疫二重染色で、扁桃内リンパ濾胞胚中心におけるER- 発現細胞は濾胞樹状細胞で、LSAにおける発現細胞は扁平上皮細胞であることを確認した。

(5) ER- β 1, 2, 3, 5とプロゲステロン・レセプターの発現をIgA腎症と非IgA腎症で比較したが、有意差はなかった。

(6) IgA腎症のLSAにおけるER- とTSLPの発現に相関性がみられた。

(7) 我々は、既に、IgA産生に関与する因子（TSLP/TSLPR、AID、I α -C μ 、TGF- β 1）の検討が

ら、IgA腎症患者の扁桃の扁平上皮細胞や胚中心内濾胞樹状細胞で産生されるTSLPが、IgA産生機序に深く関与することを報告した (Meng HX, et al., *Transl Res* 163:8-18, 2014; Meng HX, et al., *Acta Otolaryngol* 135:264-270, 2015; Meng HX, et al., *Transl Res* 166:281-291, 2015; Meng HX, et al., *Transl Res* 176:1-17, 2016)。

これらのデータは、IgA腎症のLSAに高発現されるER- とTSLPが、扁桃における異常IgA分子の産生に関わっている可能性が高いことを示唆していた。

(8) 尚、我々は濾胞性リンパ腫の背景に存在する濾胞樹状細胞にもER- が発現し、その臨床病理学的な意義について報告した (Ohe R, et al., *Hematol Oncol* 37:151-159, 2019; Ohe R, et al., *Hematol Oncol* 2020 Mar 20. doi: 10.1002/hon.2730)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Ohe R, Aung NY, Shiono Y, Utsunomiya A, Kabasawa T, Tamazawa N, Tamura Y, Kato T, Yamada A, Hasegawa S, Aizawa K, Inokura K, Ito S, Toubai T, Kato Y, Tsunoda T, Onami K, Suzuki T, Ishizawa K, Yamakawa M	4. 巻 58
2. 論文標題 Detection of minimal bone marrow involvement of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplastic cells - CD303 immunostaining as a diagnostic tool	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Clin Exp Hematop	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3960/jslirt.17030	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 -
1. 著者名 Hirai A, Aung NY, Ohe R, Nishida A, Kato T, Meng H, Ishizawa K, Fujii J, Yamakawa M	4. 巻 16
2. 論文標題 Expression of TRPM8 in human reactive lymphoid tissues and mature B cell neoplasms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncol Lett	6. 最初と最後の頁 5930-5938
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2018.9386	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 Ohe R, Meng HX, Ye Aung N, Yamada A, Kabasawa T, Utsunomiya A, Tamazawa N, Tamura Y, Kitaoka T, Hashimoto T, Shibata K, Toubai T, Kimura W, Ishizawa K, Yamakawa M	4. 巻 37
2. 論文標題 Differential expression of estrogen receptor- on follicular dendritic cells from patients with grade 1-2 and grade 3 follicular lymphoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hematol Oncol	6. 最初と最後の頁 151-159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hon.2577	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 樺澤崇允, 大江倫太郎, 山川光徳	4. 巻 85
2. 論文標題 病理診断: 術中迅速診断	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 産科と婦人科	6. 最初と最後の頁 185-189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) -	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 Kimura S, Aung NY, Ohe R, Yano M, Hashimoto T, Fujishima T, Kimura W, Yamakawa M	4. 巻 -
2. 論文標題 Increasing heme oxygenase-1-expressing macrophages indicates a tendency of poor prognosis in advanced colorectal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000500225	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 -

1. 著者名 Miura NO, Aung NY, Yamakawa M	4. 巻 12
2. 論文標題 Effect of cold and hot compress on neutrophilic migration to the site of doxorubicin extravasation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Clin Exp Pathol	6. 最初と最後の頁 1468-1477
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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohe R, Aung NY, Tamura Y, Kabasawa T, Utsunomiya A, Tamazawa N, Kitaoka T, Meng HX, Shibata K, Yamakawa M	4. 巻 35
2. 論文標題 Diagnostic utility of CD205 in breast cancer: Simultaneous detection of myoepithelial cells and dendritic cells in breast tissue by CD205.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Histol Histopathol	6. 最初と最後の頁 481-488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14670/HH-18-164	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 -

1. 著者名 Yang S, Ohe R, Aung NY, Kato T, Kabasawa T, Utsunomiya A, Takakubo Y, Takagi M, Yamakawa M	4. 巻 -
2. 論文標題 Comparative study of H0-1 expressing synovial lining cells between RA and OA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2019.1704976	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 -

1. 著者名 Suzuki K, Ohe R, Kabasawa T, Aung NY, Yano M, Katsumi S, Yanagiya R, Yamamoto M, Toubai T, Ishizawa K, Yamakawa M	4. 巻 15
2. 論文標題 A case of iatrogenic immunodeficiency-associated colonic lymphoma complicating ulcerative colitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagn Pathol	6. 最初と最後の頁 34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-020-00954-8.	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 -

1. 著者名 Ohe R, Meng HX, Yamada A, Ye Aung N, Kabasawa T, Tamura Y, Utsunomiya A, Tamazawa N, Kawamura I, Kitaoka T, Suzuki K, Yanagiya R, Toubai T, Ishizawa K, Yamakawa M	4. 巻 -
2. 論文標題 Good prognosis for follicular lymphoma with estrogen receptor -positive follicular dendritic cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hematol Oncol	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) doi: 10.1002/hon.2730	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5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Ohe R, Meng H, Naing Ye Aung, Yamada A, Kabasawa T, Utsunomiya A, Tamazawa N, Kato T, Ishizawa K, Yamakawa M
2. 発表標題 ER alpha expression of follicular dendritic cell on follicular lymphoma
3. 学会等名 第107回日本病理学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naing Ye Aung, Ohe R, Kabasawa T, Utsunomiya A, Tamazawa N, Kato T, Yamakawa M
2. 発表標題 Comparative study of estrogen receptor alpha expression in between tonsils of IgA and non-IgA nephropathy and other lymphoid tissue
3. 学会等名 第107回日本病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大江倫太郎, 孟宏学, ナイン・イエイ・アウン, 山田茜, 樺澤崇允, 宇都宮文, 玉澤暢之, 加藤智也, 石澤賢一, 山川光徳
2. 発表標題 濾胞性リンパ腫における濾胞性樹状細胞のER 発現
3. 学会等名 第58回日本リンパ網内系学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naing Ye Aung, Ohe R, Kabasawa T, Utsunomiya A, Tamazawa N, Kato T, Yamakawa M
2. 発表標題 Comparative study of estrogen receptors and progesterone receptors expression in tonsils between IgA nephropathy and non-IgA nephropathy
3. 学会等名 第28回日本樹状細胞研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naing YA, Tamazawa N, Utsunomiya A, Kabasawa T, Ohe R, Kato T, Yamakawa M
2. 発表標題 Comparative study of estrogen receptors and progesterone receptors expression in tonsils between IgA nephropathy and non-IgA nephropathy
3. 学会等名 第57回日本リンパ網内系学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 樺澤崇允, 山川光徳	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医薬ジャーナル社	5. 総ページ数 8
3. 書名 WHO血液腫瘍分類 WHO分類2017をうまく活用するために	

1. 著者名 大江倫太郎, 山川光徳	4. 発行年 2018年
2. 出版社 リンパ腫アトラス (第5版)	5. 総ページ数 3
3. 書名 文光堂	

1. 著者名 大江倫太郎, 山川光徳	4. 発行年 2018年
2. 出版社 血液細胞アトラス (第6版)	5. 総ページ数 5
3. 書名 文光堂	

1. 著者名 大江倫太郎, 山川光徳	4. 発行年 2017年
2. 出版社 西村書店	5. 総ページ数 46
3. 書名 カラー・ルーピン病理学	

1. 著者名 大江倫太郎, 山川光徳	4. 発行年 2018年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 4
3. 書名 血液細胞アトラス 第6版	

〔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
---------------------------	-----------------------	----