

令和 2 年 5 月 9 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11372

研究課題名(和文) 病巣扁桃疾患における基礎、臨床的エビデンスの構築

研究課題名(英文) Establishment of experimental and clinical evidences for a link between tonsillar focal diseases and palatine tonsil

研究代表者

高原 幹 (Takahara, Miki)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：50322904

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)：掌蹠膿疱症、IgA腎症は典型的な扁桃病巣疾患とされ、扁桃摘出術で症状、所見が改善する。しかし、本疾患概念は他科の医師に広く浸透しているとは言えない。我々は本疾患における扁桃摘出術の有効性を基礎的、臨床的に証明し、他科医師への疾患概念の浸透を目指している。今回の検討にて、掌蹠膿疱症において客観的な皮疹スコアでの評価でもその有効性が証明された。また、IgA腎症においてAPRILが扁桃のIgA過剰産生に寄与していること、扁桃T細胞がCX3CR1を介して腎糸球体へ移行し腎炎を増悪させていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義として今まで主観的評価が主だった掌蹠膿疱症の扁桃摘効果が客観的にも示された。またIgA腎症と扁桃を結びつける基礎的根拠が液性免疫、細胞性免疫両面から示された。社会的意義としてこれらの研究結果の発表や報告を読んで、本疾患群に興味を持ち、概念を理解する医師が増加する可能性がある。更には適応患者の耳鼻咽喉科への紹介、耳鼻咽喉科での手術、その結果、疾患から解放される患者が増加する可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Palmoplantar pustulosis (PPP) and IgA nephropathy (IgAN) are known as typical tonsillar focal diseases, and tonsillectomy has been reported to be effective for improvement of the symptoms and findings. Unfortunately, this disease concept was not widely known. We try to establish experimental and clinical evidence for a link between tonsillar focal diseases and palatine tonsil, and enlighten other doctors on the concept. In this series of studies, we showed the effectiveness of tonsillectomy for PPP skin lesions by objective evaluation. Moreover, we found that APRIL (a proliferation-inducing ligand) was involved in hyper-production of IgA from the IgAN patients tonsils, and that chemokine receptor CX3CR1 was related to homing of tonsillar T-cells to the lesions of glomerulus.

研究分野：扁桃病巣疾患

キーワード：扁桃病巣疾患 掌蹠膿疱症 IgA腎症 APRIL CX3CR1

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ

海外において、掌蹠膿疱症やIgA腎症に対する扁桃摘出術に対し、否定的な意見や報告が多数存在しており、基礎研究はほとんどなされていない。本邦においてその病態を研究している施設は少数あるものの、耳鼻咽喉科の特色を生かした口蓋扁桃を中心とした研究を行っている施設は非常に限られている。われわれは長年にわたり扁桃病巣疾患に対する扁桃摘出術の基礎的・臨床的検討を進め、その結果を国内外の学会で報告し、他科医師に啓蒙してきた。しかし、まだ十分とはいえず、さらなる基礎、臨床的エビデンスの構築が必要と考える。

(2)これまでの研究成果

①扁桃病巣疾患における扁桃摘出術の有用性

当科では扁桃病巣疾患における扁桃摘出術を積極的に施行している。掌蹠膿疱症は100例以上に手術を施行し、90%の症例で術後皮疹の自覚的な改善を得ている。IgA腎症は100例以上に及ぶが、当科では早期に腎臓内科と連携し、扁桃摘出術前後のステロイドパルス療法を行っている。最終結果は透析導入の有無であり、10年以上の経過観察が必要である。当科では2000年から上記治療を導入しており、長期成績が徐々に明らかになりつつある。

②扁桃病巣疾患における発症機序の解明

掌蹠膿疱症は掌蹠皮膚へのT細胞を中心とした炎症細胞の遊走が重要とされる。我々はそのT細胞が口蓋扁桃由来であると考え、皮膚ホーミング受容体とされるCLA (cutaneous lymphocyte antigen)、CCR6、 β 1-インテグリンの扁桃T細胞上の発現を検討し、掌蹠膿疱症群にて高発現していることを報告した¹⁻³⁾。さらにその過剰発現の背景に扁桃常在菌である α レンサ球菌への免疫寛容の破綻による扁桃T細胞の過剰な活性化があることを見いだした。

IgA腎症は血中のIgAの量的、質的異常が病態の本幹をなす。実際にIgA腎症扁桃リンパ球はIgAを過剰に産生することが知られており、口蓋扁桃はそのIgAの供給源の一つとされる。我々はその過剰産生に細菌由来DNA (CpG-Oligodeoxynucleotides:CpG-ODN)の過剰免疫応答によるT細胞非依存性B細胞活性化因子であるBAFF (B-cell-activation factor)の産生亢進が関与することを報告した⁴⁾。また、IgA腎症の腎糸球体に浸潤するT細胞にも着目し、扁桃のTCR $\nu\beta$ 陽性T細胞がIgA腎症の糸球体にホーミングする可能性を見いだした⁵⁾。

2. 研究の目的

上記の研究結果を進展させ、扁桃病巣疾患の基礎、臨床的エビデンスを構築することにより本疾患概念を確立し、耳鼻咽喉科はもとより皮膚科、腎臓内科等関連科の各医師に浸透させ、扁桃摘出により症状や所見が消失、改善する扁桃病巣疾患症例を増やすことを目的とする。

3. 研究の方法

(1)扁桃病巣疾患における臨床的検討

掌蹠膿疱症における扁桃摘出後の皮疹改善を10段階評価での主観的評価 (n=138) と客観的評価 (PPP Area and Severity index: PPPASI) (n=80) にて経時的に観察し、皮疹消失や80%以上の改善をエンドポイントとしてカプランマイヤー法にて検討した。また、カプランマイヤー法による皮疹消失曲線にて種々の臨床的因子との相関を検討し、皮疹改善度に影響を与える因子を検討した。

(2)ホーミングレセプターを介した病巣へのT細胞の浸潤

当教室ではいままでも幾つかの皮膚ホーミング受容体、腎ホーミング受容体に関して検討し報告してきた^{1-3,5)}。しかし、近年、IgA腎症の腎糸球体浸潤T細胞上にCX3CR1の発現が示され、血尿の程度と末梢血T細胞のCX3CR1発現に相関があったと報告されている。扁桃、扁桃摘出前後の末梢血、腎糸球体におけるCD8+CX3CR1+細胞の発現をフローサイトメトリー、免疫組織染色にて検討した。また、細菌由来DNA (CpG-ODN) 刺激での発現変化と、リガンドであるCX3CL1による遊走能を検討した。

(3) IgA腎症扁桃におけるIgA過剰産生

近年、BAFF⁴⁾と一部相同性を示し、より選択的にIgAの産生を促すAPRIL (a proliferation-inducing ligand) が同定された。扁桃リンパ球、扁桃摘出前後の末梢血におけるAPRILの発現をELISAにて検討し、CpG-ODN刺激でのAPRIL発現とAPRIL受容体 (Transmembrane Activator and Calcium modulator and cyclophilin ligand Interactor:TACI) の変化を検討した。

4. 研究成果

(1)扁桃病巣疾患における臨床的検討

術後1ヶ月から自覚的評価とPPPASIは有意に低下し、術後1年で中央値は0になった。また、カプラン・マイヤー法による検討では、自覚的評価では12ヶ月後で38%、24ヶ月後で66%の症例に皮疹消失を、71%と95%に皮疹改善を認めると算出された。また、他覚的評価では12ヶ月後で44%、24ヶ月後で78%の症例に皮疹消失を、70%と95%に皮疹改善を認めると算出された。このことから、術後2年は皮疹改善の可能性があり、経過観察が必要であると考えられた。また、自覚的評価、他覚的評価の強い相関を認め、自覚的評価も他覚的な皮疹がある程度反映し得ることが示唆された。また、上述したカプラン・マイヤー法を利用して2群でログランク検定を行い、術後の皮疹改善、消失に影響する因子を解析した。その結果、術

前の PPPASI が低い症例、喫煙者で術後禁煙が成功した症例において消失率が有意に高く、PAO 合併症例において改善率が有意に高かった。また多変量解析による検討では、PAO 合併、術後禁煙が独立した皮疹消失を予測する因子であり、PAO 合併のみが独立した皮疹改善を予測する因子であった。本結果を英文雑誌に投稿し、受理された⁶⁾。

(2) ホーミングレセプターを介した病巣への T 細胞の浸潤

IgA 腎症扁桃における T リンパ球上のケモカインレセプターについて検討したところ、CCR4、CCR5、CCR6 陽性 T 細胞の割合は習慣性扁桃炎群、IgA 腎症群にて変化は認められなかった。しかし、CX3CR1 の発現は IgA 腎症群にて有意に高い結果となった。IgA 腎症群では扁桃や末梢血の CX3CR1 陽性 CD8 陽性 T 細胞数は他の扁桃疾患にて扁桃摘除を行った群と比較し増加していた。さらに、末梢血での陽性細胞数は扁桃摘後低下を認めた。さらに、免疫染色において IgA 腎症系球体周囲に浸潤した CX3CR1 陽性細胞を確認した。細菌由来 DNA (CpG-ODN) における扁桃単核球の刺激実験では、CX3CR1 陽性 CD8 陽性 T 細胞数の増加を認めた。トランスウェルでのマイグレーション実験では、そのリガンドであるフラクタルカイン (CX3CL1) にて IgA 腎症扁桃単核球では遊走細胞数が増加した。このことから CX3CR1 陽性 CD8 陽性 T 細胞が扁桃よりホーミングし、IgA 腎症の腎炎の惹起や継続に関与する可能性が示唆された。本結果を英文雑誌に投稿し、受理された⁷⁾。

(3) IgA 腎症扁桃における IgA 過剰産生

無刺激下において、IgA 腎症扁桃リンパ球は習慣性扁桃炎扁桃リンパ球と比較して有意に APRIL を過剰に産生していた。しかし、CPG-ODN 刺激下での産生亢進は両疾患群とも認めなかった。次に、扁桃 B 細胞を分離し、CpG-ODN にて刺激したところ APRIL 受容体 (TACI) の発現が IgA 腎症群において有意に増加していた。また、IgA 腎症扁桃 B 細胞にて CpG-ODN と同時に APRIL も追加刺激し、IgA の産生が亢進するのを確認し、さらに IgA 腎症扁桃リンパ球を CpG-ODN と同時に TACI 阻害抗体存在下で培養し、IgA の産生が低下するのを確認した。扁桃 B 細胞の CpG-ODN 受容体 (TLR9) を細胞内染色にて検討したところ、IgA 腎症群において有意に発現が増加していた。末梢血における血清 APRIL を測定し、習慣性扁桃炎群と比較して IgA 腎症群にて有意に値が高く、扁桃摘出術後は有意に低下することを確認した。このことから、IgA 腎症扁桃リンパ球は APRIL の過剰産生、あるいは B 細胞上での TLR9 発現増強による CpG-ODN を介した TACI 発現増強により IgA の産生亢進に関与している可能性が示唆された。本結果を英文雑誌に投稿し、受理された⁸⁾。

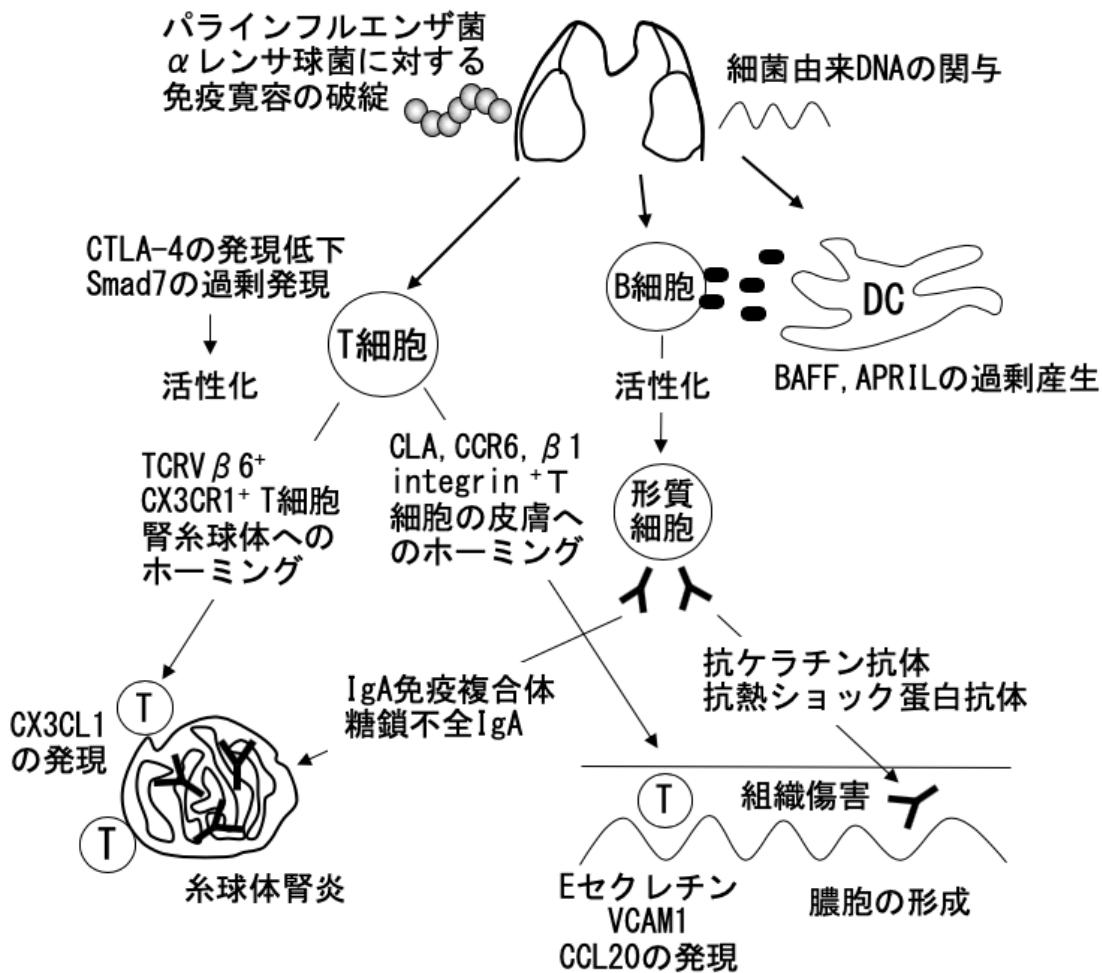
(4) 掌蹠膿疱症における扁桃を中心とした発症機序

掌蹠膿疱症患者では α 溶連菌などの扁桃常在菌に対する免疫寛容機構が破綻しているために、扁桃常在菌に対して過剰免疫応答をする。その結果、扁桃 B 細胞が活性化され、皮膚に共通抗原性のある熱ショック蛋白などに対する抗体産生が誘導される。一方、扁桃 T 細胞も活性化され、上述した皮膚ホーミング受容体を発現し、掌蹠皮膚へ遊走すると思われる。当科での研究結果を含めた扁桃を中心とした発症機序をレビューし、英文雑誌に投稿し受理された⁹⁾。

(5) IgA 腎症における扁桃を中心とした発症機序

IgA 腎症患者では扁桃常在菌であるパラインフルエンザ菌、あるいは細菌由来 DNA (CpG-ODN) に対して免疫寛容の破綻が起きている IgA 腎症患者の扁桃リンパ球では、これらの菌に対して過剰な免疫応答し、活性化する。それによりそれらと共通抗原性をもった糖鎖不全などの異常抗体が産生される。また、上記細菌により活性化を受けた T 細胞がホーミング受容体を発現し、腎系球体に遊走し組織障害をもたらすと考えられる。当科での研究結果を含めた扁桃を中心とした発症機序をレビューし、英文雑誌に投稿し受理された¹⁰⁾。

当科での検討結果による扁桃を中心とした掌蹠膿疱症、IgA腎症の発症機序



引用文献

- 1) Nozawa H, Kishibe K, Takahara M, et al. Expression of cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) in tonsillar T-cells and its induction by in vitro stimulation with alpha-streptococci in patients with pustulosis palmaris et plantaris (PPP). *Clin Immunol* 2005;116:42-53.
- 2) Yoshizaki T, Bandoh N, Ueda S, et al. Up-regulation of CC chemokine receptor 6 on tonsillar T cells and its induction by in vitro stimulation with alpha-streptococci in patients with pustulosis palmaris et plantaris. *Clin Exp Immunol* 2009;157:71-82.
- 3) Ueda S, Takahara M, Tohtani T, et al. Up-regulation of ss1 integrin on tonsillar T cells and its induction by in vitro stimulation with alpha-streptococci in patients with pustulosis Palmaris et Plantaris. *J Clin Immunol* 2010;30:861-871.
- 4) Goto T, Bandoh N, Yoshizaki T, et al. Increase in B-cell-activation factor (BAFF) and IFN-gamma productions by tonsillar mononuclear cells stimulated with deoxycytidyl-deoxyguanosine oligodeoxynucleotides (CpG-ODN) in patients with IgA nephropathy. *Clin Immunol* 2008;126:260-269.
- 5) Takahara M, Kishibe K, Nozawa H, et al. T-cell repertoire in the tonsils of patients with IgA nephropathy. *Acta Otolaryngol Suppl* 2004:25-27.
- 6) Takahara M, Hirata Y, Nagato T, et al. Treatment outcome and prognostic factors of tonsillectomy for palmoplantar pustulosis and pustulotic arthro-osteitis: A retrospective subjective and objective quantitative analysis of 138 patients. *The Journal of dermatology* 2018;45:812-823.
- 7) Otaka R, Takahara M, Ueda S, et al. Up-regulation of CX3CR1 on tonsillar CD8-positive cells in patients with IgA nephropathy. *Hum Immunol* 2017;78:375-383.
- 8) Takahara M, Nagato T, Nozaki Y, et al. A proliferation-inducing ligand (APRIL) induced hyper-production of IgA from tonsillar mononuclear cells in patients with IgA nephropathy. *Cell Immunol* 2019;341:103925.
- 9) Harabuchi Y, Takahara M. Pathogenic role of palatine tonsils in palmoplantar pustulosis: A review. *The Journal of dermatology* 2019;46:931-939.
- 10) Harabuchi Y, Takahara M. Recent advances in the immunological understanding of association between tonsil and immunoglobulin A nephropathy as a tonsil-induced autoimmune/inflammatory syndrome. *Immunity, inflammation and disease* 2019;7:86-93.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takahara Miki, et al	4. 巻 45
2. 論文標題 Treatment outcome and prognostic factors of tonsillectomy for palmo-plantar pustulosis and pustulotic arthro-osteitis: A retrospective subjective and objective quantitative analysis of 138 patients.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 812-823
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1111/1346-8138.14348.	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 Harabuchi Yasuaki, Takahara Miki	4. 巻 7
2. 論文標題 Recent advances in the immunological understanding of association between tonsil and immunoglobulin A nephropathy as a tonsil-induced autoimmune/inflammatory syndrome.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immun Inflamm Dis.	6. 最初と最後の頁 86-93
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1002/iid3.248.	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 高原幹	4. 巻 227
2. 論文標題 【小児の反復性症例にどう対応するか】 小児の反復する咽頭・扁桃炎にどう対応するか 反復性扁桃炎 vs. PFAPA	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ENTONI (1346-2067)	6. 最初と最後の頁 43-46
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 Ryuki Otaka, Miki Takahara, et al	4. 巻 78
2. 論文標題 Up-regulation of CX3CR1 on tonsillar CD8-positive cells in patients with IgA nephropathy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Human Immunology	6. 最初と最後の頁 375-383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2017.02.004	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 高原 幹	4. 巻 35
2. 論文標題 扁桃病巣疾患: IgA腎症	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 耳鼻免疫アレルギー	6. 最初と最後の頁 7-10
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 Harabuchi Yasuaki, Takahara Miki	4. 巻 46
2. 論文標題 Pathogenic role of palatine tonsils in palmoplantar pustulosis: A review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 931 ~ 939
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1111/1346-8138.15100	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 Takahara Miki, Nagato Toshihiro, et al	4. 巻 341
2. 論文標題 A proliferation-inducing ligand (APRIL) induced hyper-production of IgA from tonsillar mononuclear cells in patients with IgA nephropathy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cellular Immunology	6. 最初と最後の頁 103925-103925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2019.103925	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7件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 高原幹
2. 発表標題 掌蹠膿疱症、乾癬、アナフィラクトイド紫斑病における扁桃摘出術の効果
3. 学会等名 第26回旭川皮膚免疫研究会 (3.30, 2018, 旭川) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高原幹
2. 発表標題 耳鼻科医から見る掌蹠膿疱症と扁桃摘出術の適応
3. 学会等名 第82回日本皮膚科学会東部支部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高原 幹、他
2. 発表標題 掌蹠膿疱症に対する扁桃摘出術の客観的評価と予後因子の検討
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 高原 幹、他
2. 発表標題 IgA腎症扁桃におけるCX3CR1の検討
3. 学会等名 日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 Miki Takahara, et al
2. 発表標題 Objective evaluation for improvement of skin lesion in patients with Pustulosis palmaris et plantaris (PPP) after tonsillectomy
3. 学会等名 ENT World Congress Paris 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 高原 幹
2. 発表標題 掌蹠膿疱症、乾癬における扁桃摘出術の効果
3. 学会等名 旭川皮膚免疫研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 高原 幹
2. 発表標題 教育セミナー3 扁桃病巣疾患の最近のトピックス
3. 学会等名 第32回 日本口腔・咽頭科学会総会ならびに学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>旭川医科大学 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 研究概要 http://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/oto/contents/study.html</p>

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	長門 利純 (Nagato Toshihiro) (80431419)	旭川医科大学・医学部・講師 (10107)	