

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592518

研究課題名(和文)扁桃病巣疾患における病態解明と扁桃摘出術の有用性に関する基礎的エビデンス

研究課題名(英文) Fundamental study evidencing relationship between tonsillar focal diseases and palatine tonsils

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) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：IgA腎症はその20%が透析に陥る予後不良の慢性糸球体腎炎である。以前より本疾患は扁桃病巣疾患の代表的疾患とされ、扁桃摘出術で尿所見が改善する。しかし、本疾患概念は他科の医師にはあまり浸透していない。我々はIgA腎症と口蓋扁桃の関連を基礎的に証明し、他科医師への疾患概念の啓蒙、扁桃摘出の有効性を予測する因子の解明を目指している。

今回の検討ではIgA腎症扁桃から産生されるAPRILが本疾患の病因となるIgAの過剰産生に寄与していること、扁桃T細胞がCXCR3と言うケモカインを介して直接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。今後もさらなる検討を進めるつもりである。

研究成果の概要(英文)：IgA nephropathy (IgAN) has a poor prognosis because of progress to end-stage renal failure over a period of 20 years. IgAN is famous for typical tonsillar focal diseases, and tonsillectomy has been reported to be effective for inhibition of the progression. Unfortunately, this fact was not widely known. We try to establish fundamental relationship between IgAN and palatine tonsils by immunological technique in order to enlighten other doctors about the effectiveness of tonsillectomy and clarify a factor which predict the effectiveness.

In this series of examination, we found that APRIL(a proliferation-inducing ligand) was involved in hyper-production of IgA from the tonsils of IgAN patients, and that chemokine receptor CXCR3 on tonsillar T-cells was related to homing of T-cells to the lesions of glomerulus. These results indicate that tonsils are related to not only abnormality of IgA, but also T-cell homing. We will continue to study for further understanding of the relationships.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 耳鼻咽喉科学

キーワード：扁桃病巣疾患 IgA腎症 APRIL CXCR3

1. 研究開始当初の背景

扁桃病巣疾患は扁桃に症状がないか軽微なものにもかかわらず、扁桃が原因となって全身に症状を起こす疾患である。その二次疾患にはIgA腎症、掌蹠膿疱症、胸肋鎖骨過形成症などが挙げられる。これらの疾患は原因不明で有効な治療法が少なく、慢性難治性疾患とされている。特にIgA腎症においては日本の末期腎不全による腎透析患者20万人中約7万人の原因疾患とされ、年間3500億円の医療費が必要とされている。よってIgA腎症の発症機序の解明と腎不全を阻止する治療法を開発することは、患者はもとより、本邦における医療経済学的な側面からも極めて重要かつ緊急の課題である。耳鼻咽喉科領域では以前から扁桃摘出術(以下扁桃摘)がIgA腎症の予後の改善に寄与することが報告されてきた。上述した背景もあり、最近になり腎臓内科でも扁桃摘出術+ステロイドパルス療法の効果が注目を浴びている。しかし、扁桃摘の効果を疑問視する意見も多く、その効果も報告によりさまざまで一定していない。

IgA腎症と口蓋扁桃を結びつける基礎的メカニズムはほとんど解明されていなかった。従って、当教室では平成18-19年、平成20-22年度基盤研究(C)を用いて「扁桃病巣感染症における病態解明」との課題名で精力的に研究を行い、扁桃摘出術の有効性を示す臨床的データと、それを裏付ける基礎的データを蓄積し、種々の学会や論文にて報告してきた。さらに研究を進展させることによりIgA腎症を初めとした扁桃病巣疾患の病態解明を行なう。解明することにより、その効果を疑問視する腎臓内科医の説得力のある啓蒙、扁桃摘効果を予測する因子の解明、新たな治療法の開発に繋げていきたいと考えている。

2. 研究の目的

(1) IgA腎症扁桃におけるIgA過剰産生

IgA腎症の発症にはIgAの糸球体沈着が不可欠であり、血清IgAの量的、質的異常が病態に密接に関連する。以前からIgA腎症患者の口蓋扁桃はIgA産生能力が高く、扁桃摘後血清IgA値が減少するため、血清IgAの供給源の一つが扁桃である可能性が示唆されてきた。しかし、その過剰産生の機序は不明である。当教室では細菌由来DNA(CpG-ODN)の刺激にてBAFF(B-cell-activation factor)がIgA腎症扁桃から過剰産生され、IgA過剰産生に寄与していることを報告した(あ)。しかし、近年、より選択的にIgAの産生を促すAPRIL(a proliferation-inducing ligand)が同定された。しかし、IgA腎症扁桃におけるAPRILを検討した報告はない。APRILの発現、過剰発現させている因子、特にサイトカイン、CpG-ODNの刺激でどのように変化するかを検討する。

(2) IgA腎症腎系球体への扁桃T細胞の浸潤

IgA腎症での腎系球体にはT細胞受容体の20種あるVサブファミリーの中でV6を持つT細胞が選択的に浸潤している。当教室ではIgA腎症患者での扁桃や末梢血においてV6陽性T細胞が増加し、扁桃摘後末梢血V6陽性T細胞が減少することを報告した(い)。このことは扁桃T細胞が腎系球体に遊走し得ることを意味する。遊走の主役をなすのはケモカイン、ケモカイン受容体であり、実際、IgA腎症の腎尿細管間質ではケモカインIP-10とその受容体CXCR3を発現するT細胞の浸潤を認め、その程度と腎機能の低下に相関を認めたと報告されている。IgA腎症扁桃T細胞でのCXCR3発現、サイトカインやCpG-ODN刺激での変化、さらに上記以外のケモカインやケモカインレセプターの検討を行う。

(あ) Goto T, et al. Increase in B-cell activation factor (BAFF) and IFN-gamma productions by tonsillar mononuclear cells stimulated with CpG-ODN in patients with IgA nephropathy. Clin Immunol 126, 260-9 2008.

(い) Nozawa H, et al. Selective expansion of TCR V beta 6 in tonsillar T-cells induced by H. parainfluenzae in patients with IgA nephropathy Clinical and Experimental Immunology 151, 319-322, 2007.

3. 研究の方法

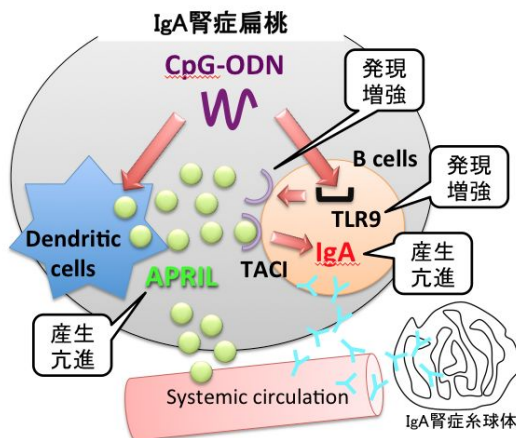
当科にてIgA腎症や習慣性扁桃炎患者から扁桃にて得られた扁桃よりリンパ球を分離した。同様に手術前と術後1ヶ月で採血を行い末梢血からリンパ球と血清を分離した。また残った扁桃を当院病理部に提出しホルマリン固定パラフィン切片を作成して頂いた。腎生検組織も同様に作成して頂いた。扁桃リンパ球は直接、あるいはCpG-ODN刺激下で培養後、フローサイトメトリーにてケモカイン受容体を含む表面抗原、あるいは細胞内蛋白を測定した。さらに培養上清にあるAPRILなどはELISAにて測定した。B細胞の分離にはCD19ダイナビーズを使用した。ケモカインについてはトランスウェルを用いて遊走能を測定した。

4. 研究成果

(1) IgA腎症扁桃におけるIgA過剰産生

T細胞非依存的にIgAの産生を促すAPRIL(a proliferation-inducing ligand)に着目し検討した。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

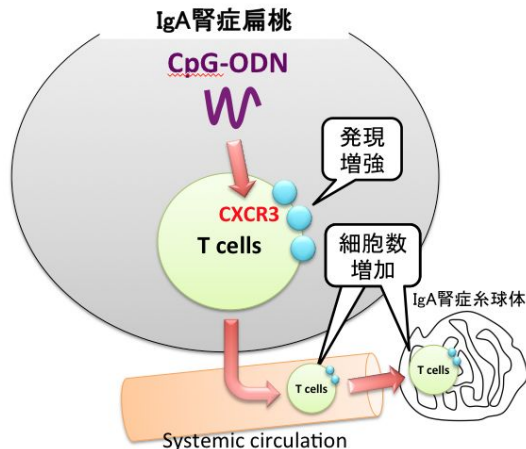
細胞を分離し、CpG-ODNにて刺激したところ APRIL 受容体 (Transmembrane Activator and Calcium modulator and cyclophilin ligand Interactor: TACI) の発現が IgA 腎症群において有意に増加していた。また、IgA 腎症扁桃 B 細胞にて CpG-ODN と同時に APRIL も追加刺激し、IgA の産生が亢進するのを確認し、さらに IgA 腎症扁桃リンパ球を CpG-ODN と同時に TACI 阻害抗体存在下で培養し、IgA の産生が低下するのを確認した。扁桃 B 細胞の CpG-ODN 受容体 (TLR9) 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。(下図まとめ)



(2) IgA 腎症腎系球体への扁桃 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リ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、CXCR3 の発現は IgA 腎症群にて有意に高い結果となった。次に CpG-ODN 刺激後の扁桃リンパ球における CXCR3 発現の変化を検討したところ、IgA 腎症群にて有意に CXCR3 陽性細胞の割合が増強していた。さらに末梢血における T 細胞上の CXCR3 の発現を検討したところ、習慣性扁桃炎群と比較して IgA 腎症群にて有意に発現が高いことを確認した。またその発現は扁桃摘出術後有意に低下していた。IgA 腎症の腎生検組織では腎系球体浸潤 CXCR3 陽性細胞が存在し、その程度と扁桃での T 細胞上の CXCR3 発現度に相関が認められた。また、リガンドである IP-10 を使用したトランスウェルアッセイでは IgA 腎症扁桃リンパ球にて有意に遊走細胞が増

加していた。(下図まとめ)



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計8件)

高原幹、IgA 腎症の病態における扁桃 T 細胞の役割、口腔咽喉科、査読無、27 巻、25-28、2014。まだインターネット上になし。

高原幹、原淵保明、「耳鼻咽喉科における病巣感染症 update-扁桃・副鼻腔疾患を中心に-」扁桃病巣疾患に対する扁桃摘出術の適応と効果、ENTON1、査読無、146 巻、32-42、2012、<http://ci.nii.ac.jp/naid/120005307974>

高原幹、原淵保明、「掌蹠膿疱症の治療-あの手この手」(Part3)病因と病態 (総説 06) 扁桃と掌蹠膿疱症 耳鼻科の立場から、Visual Dermatology、査読無、11 巻、1042-1047、2012、<http://gakken-mesh.jp/journal/detail/9784780903355.html>

高原幹、「小児の耳鼻咽喉科 108 の疑問」口腔・咽頭疾患 扁桃病巣疾患に口蓋扁桃摘出術は有効か? JOHNS、査読無、28、448-450、2012、<http://www.tokyo-igakusha.co.jp/asset/contents/J0H2803.pdf>

Takahara M、Clinical outcome of tonsillectomy for palmoplantar pustulosis and etiological relationship between palmoplantar pustulosis and tonsils, Adv Otorhinolaryngol、査読有、72 巻、86-88、2011、doi: 10.1159/000324618

高原幹、扁桃の免疫機能と病態 扁桃を中心とした IgA 腎症の病態解明、小児耳鼻咽喉科、査読無、3 巻、233-237、2011、<https://www.jstage.jst.go.jp/article/sh>

高原幹、「基礎医学から」扁桃病巣疾患の発症機序、日本医事新報、査読無、4527 巻、35-38、2011、
<http://www.de-hon.ne.jp/digital/bin/product.asp?sku=1491020205011500100P>
86-88、2011、doi: 10.1159/000324618

高原幹、扁桃病巣感染症研究の最前線 IgA 腎症扁桃における IgA 過剰産生と T 細胞の関与、口腔咽頭科、査読無、24 巻、87-90、2011、
<http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/modules/xoonips/detail.php?id=2011187208>

〔学会発表〕(計 8 件)

高原幹 他、APRIL plays important role in hyper-production of IgA by tonsillar lymphocytes obtained from IgA nephropathy patients. 第 42 回日本免疫学会、2013.12.11-13、千葉県幕張.

高原幹、IgA 腎症の病態における扁桃 T 細胞の役割. 第 26 回日本口腔・咽頭科学会、2012.9.13-14、名古屋市.

Takahara M、et al、Immunologic linkage between tonsil and IgA nephropathy. The 8th International Symposium on Tonsils and Mucosal Barriers of the Upper Airways 2013.7.16-19、Zurich Switzerland.

Takahara M、et al、Treatment outcome of tonsillectomy for patients with pustulotic arthro-osteitis (PAO). The 134rd COSM 2013.4.10-14、Orlando USA .

高原幹 他、重症急性咽頭・扁桃炎におけるレボフロキサシン 1 日 1 回投与の有用性. 第 55 回日本化学療法学会西日本支部総会、2012.11.5-7、福岡市.

高原幹 他、IgA 腎症扁桃における APRIL と CXCR3 の検討. 第 30 回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2012.2.16-18、滋賀県大津市.

高原幹 他、IgA 腎症における APRIL(A ProlifeRation-Inducing Ligand)の役割. 第 54 回日本腎臓学会、2011.6.15-17、横浜.

高原幹、扁桃を中心とした IgA 腎症の病態解明 .IgA 腎症扁桃摘パルス療法セミナー、2011.5.12、旭川.

〔図書〕(計 2 件)

高原幹、ENT 臨床フロンティア「プライマリケアにおける異常への対応」扁桃摘出術の適応は変わったか? 中山書店、62-68、2013.

高原幹、ENT 臨床フロンティア「口腔・咽頭疾患、歯牙疾患の臨床」扁桃病巣感染症の診断と手術適応 .中山書店、148-155、2013.

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ
<http://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/oto/>
当科での業績が記載されています。

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

長門 利純 (NAGATO Toshihiro)

旭川医科大学医学部 助教

研究者番号: 80431419