

機関番号：10107

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592009

研究課題名 (和文) 扁桃病巣疾患の病態解明と扁桃摘出術の有効性の予測法の開発

研究課題名 (英文) Analysis of pathogenesis for tonsil-related diseases and basic evidences of usefulness of tonsillectomy

研究代表者

岸部 幹 (KISHIBE KAN)

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：80447101

研究成果の概要 (和文)：扁桃病巣疾患のひとつに掌蹠膿疱症があり、扁桃摘出術が治療に効果がある。本疾患の原因として、ケモカインである CCR6 を発現した扁桃 T リンパ球が末梢血を介して皮膚に浸潤するメカニズムが考えられた。また、類縁疾患の乾癬では、 $\beta 1$  インテグリンと VCAM-1 を介するホーミングが病因として示唆されている。我々は掌蹠膿疱症においてこの機序を検討したところ、本疾患でも  $\beta 1$  インテグリン—VCAM 1 を介したホーミングが病因として考えられた。

研究成果の概要 (英文)：Pustulosis palmaris et plantaris (PPP) is a tonsil-related disease that can be cured with tonsillectomy. CCR6 and  $\beta 1$  integrin expression on T cells in tonsils and that CCR6 and  $\beta 1$  integrin positive T cells may move to peripheral blood circulation, resulting in recruitment to target skin lesions in PPP patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成20年度	2,300,000	690,000	2,990,000
平成21年度	700,000	210,000	910,000
平成22年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：免疫学

科研費の分科・細目：

キーワード：病巣感染、扁桃病巣疾患、掌蹠膿疱症

## 1. 研究開始当初の背景

扁桃病巣感染症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、一部の糸球体腎炎、掌蹠膿疱症、胸肋鎖骨過形成症、アレルギー性紫斑病、尋常性乾癬、不明熱、関節痛、ベーチェット病などが挙げられている。これら疾患の多く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。

扁桃病巣感染症の病態として扁桃炎の炎

症産物、扁桃で産生される分子、扁桃に存在するリンパ球が血流によって皮膚や腎臓組織に到達、沈着し、炎症を惹起していることが推測される。しかし扁桃病巣感染症の発症機序は明らかになっていない。つまり、扁桃病巣感染症患者の扁桃における免疫学的な異常があるのか否か、扁桃がどのように腎や皮膚、関節に悪影響を及ぼしているか、扁桃を摘出することによる体内の免疫系の変化があるのか、判明していない。これらの基礎的なエビデンスが不足しているため、扁桃病

巣感染症二次疾患に対する扁桃摘出術の有効性を疑問視する意見が国内外で存在する。さらに扁桃摘出術を施行しても扁桃病巣感染症二次疾患の症状が改善しない患者も存在する。それらを見極めるため、術前に扁桃摘出術の有効性が判定できる検査法の開発が望まれる。

## 2. 研究の目的

(1) 掌蹠膿疱症におけるケモカインの役割  
近年多くのケモカインおよびケモカインレセプターが同定されており、乾癬においては CC ケモカインレセプター (CCR) 4、CCR6、CX ケモカインレセプター (CXCR) 3 およびそのリガンドが病態に関与している可能性が報告されているが、これらのケモカインレセプターは掌蹠膿疱症における皮膚ホーミングレセプターである CLA 陽性 T 細胞で多く共発現している。そのため、これらは掌蹠膿疱症においてもその病態に関与している可能性があるが、そのメカニズムは不明である。よって、本疾患におけるケモカインの役割について検討する。

(2) 掌蹠膿疱症における  $\alpha 1$  インテグリンの役割

$\alpha 1$  インテグリンは、そのリガンドである血管細胞接着分子 (VCAM-1) とともに細胞接着因子として同定され、細胞遊走に関与するとされている。乾癬においては  $\alpha 1$  インテグリン陽性 T 細胞の浸潤と血管内皮における VCAM-1 の発現が病変皮膚で亢進していることが報告されている。また  $\alpha 1$  インテグリンは共刺激因子として T 細胞の活性化にも関与するとされ、近年種々の自己免疫疾患においてその関与が指摘されている。しかし、本疾患における扁桃リンパ球での  $\alpha 1$  インテグリンの検討は行われていない。よって、本疾患における  $\alpha 1$  インテグリンの役割について検討する。

## 3. 研究の方法

(1) 掌蹠膿疱症におけるケモカインの役割

① 掌蹠膿疱症の扁桃および末梢血リンパ球におけるケモカインレセプターの発現

②  $\alpha$  溶連菌の生体外刺激による掌蹠膿疱症の扁桃 T 細胞におけるケモカインレセプター発現の変化

③ 扁桃 T 細胞のケモカインに対する遊走性

④ 掌蹠膿疱症病変部皮膚におけるケモカインの発現

(2) 掌蹠膿疱症における  $\alpha 1$  インテグリンの役割

① 掌蹠膿疱症の扁桃および術前、術後の末梢血リンパ球における  $\alpha 1$  インテグリンの発現

② 生体外  $\alpha$  溶連菌刺激による掌蹠膿疱症の扁桃 T 細胞における  $\alpha 1$  インテグリン発現の変化

扁桃 T 細胞における  $\alpha 1$  インテグリン発現の変化

③ 扁桃 T 細胞の  $\alpha 1$  インテグリンに対する遊走性

④ 掌蹠膿疱症病変部皮膚における  $\alpha 1$  インテグリンの発現

## 4. 研究成果

(1) 掌蹠膿疱症におけるケモカインの役割  
① 扁桃および末梢血 T 細胞におけるケモカインレセプターの発現解析

掌蹠膿疱症群では習慣性扁桃炎群と比較して扁桃および末梢血 T 細胞における CCR6 の発現が有意に高かった。CCR4 および CXCR3 については、両群間に有意差は認められなかった。

②  $\alpha$  溶連菌刺激による扁桃リンパ球のケモカインレセプター発現解析

掌蹠膿疱症では *S.mitis* 存在下での培養において CCR6 陽性 T 細胞の割合が上昇していたのに対し、習慣性扁桃炎群ではいずれの  $\alpha$  溶連菌刺激に対しても CCR6 陽性 T 細胞の割合は変化しなかった。また、T 細胞の CCR6 発現上昇率については *S.mitis* と *S.salivarius* 存在下での培養において掌蹠膿疱症群の方が習慣性扁桃炎群に比較して優位に高い結果であった。

③ 扁桃リンパ球の細胞遊走性解析

習慣性扁桃炎群の扁桃 T 細胞は CCL20 に対し濃度依存性の遊走性を呈したのに対し、掌蹠膿疱症群の T 細胞はより低濃度の CCL20 に対し高い遊走性を呈した。両群間の比較では、CCL20 濃度が 100ng/ml の時に掌蹠膿疱症群の方が習慣性扁桃炎群に比べて有意に高い遊走性を呈した。

④ 扁桃摘出術前後での末梢血 T 細胞における CCR6 発現の変化

掌蹠膿疱症群では、術前と比較して術後 3 ヶ月の時点での末梢血 T 細胞における CCR6 の発現が有意に低下していた。CCR6 の発現減少率は術後の皮膚症状スコアと有意に関連していた。

⑤ 皮膚における CCR6 陽性細胞の浸潤と CCL20 の発現解析

掌蹠膿疱症の病変皮膚では多くの CD3 陽性細胞の浸潤が確認され、その同一視野で CCR6 陽性細胞が確認されたのに対し、非病変皮膚では CD3 陽性細胞および CCR6 陽性細胞いずれもほとんど確認されなかった。同様に病変皮膚では CCL20 陽性細胞が多く確認されたが、非病変皮膚では CCL20 陽性細胞はほとんど確認されなかった。

本研究では、掌蹠膿疱症の扁桃および末梢血 T 細胞における CCR6 の発現、掌蹠皮膚における CCR6 陽性 T 細胞の存在および CCR6 のリガンドである CCL20 の発現を明らかに

した。これらの結果は扁桃病巣感染症である本疾患の病巣皮膚発症に、扁桃で活性化したT細胞上のCCR6および病巣部位におけるCCL20が重要な役割を担っていることを示唆するものである。本実験系においては皮膚に見いだされたCCR6陽性T細胞は扁桃から移行したものであることを直接的に証明するものではないが、扁桃摘出術により扁桃を除去することで末梢血T細胞におけるCCR6発現が減少したことを考慮すると、CCR6を発現した扁桃T細胞が末梢循環系を經由してCCL20の発現した皮膚へ浸潤しているものと考えられた。また、扁桃T細胞のCCL20に対する遊走性の検討では、習慣性扁桃炎群の扁桃T細胞の遊走性が濃度依存性であったのに対し、掌蹠膿疱症群の扁桃T細胞はより低濃度のCCL20に対し高い遊走能を呈し、掌蹠膿疱症の扁桃T細胞ではCCR6の発現が亢進しているだけでなく、CCL20に対する高い反応性を有している可能性が示唆された。また、 $\alpha$ 溶連菌存在下に掌蹠膿疱症扁桃T細胞を培養することでT細胞上のCCR6の発現亢進が認められた。我々はこれまで掌蹠膿疱症扁桃T細胞を $\alpha$ 溶連菌存在下に培養することでTGF- $\beta$ の産生が亢進することを報告しているが、TGF- $\beta$ はCCR6の発現を上昇させる因子でもあり、掌蹠膿疱症T細胞におけるCCR6の発現亢進に扁桃における $\alpha$ 溶連菌に対する過剰免疫反応が関与している可能性が示唆された。

(2) 掌蹠膿疱症における $\alpha$ 1インテグリンの役割

① 扁桃および末梢血CD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリンの発現

掌蹠膿疱症群では反復性扁桃炎群と比較して扁桃および末梢血CD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリンの発現が有意に高かった(扁桃:中央値:25-75パーセントイル;25.9%:23.5%-35.9% vs. 21.6%:17.8%-22.4%; $P<0.001$ 、末梢血:54.3%:43.5%-65.1% vs. 45.8%:37.7%-49.2%; $P<0.05$ )。また扁桃CD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリンとCLAの発現は掌蹠膿疱症群が反復性扁桃炎群に比較して有意に高かった(32.4%:31.3%-39.4% vs. 19.7%:9.2%-29.9%; $P<0.05$ )。

② $\alpha$ 溶連菌刺激による扁桃CD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリンの発現

掌蹠膿疱症群では*S. sanguinis*、*S. salivarius*刺激により $\alpha$ 1 integrin陽性CD4陽性T細胞の有意な増加を認めた(*S. sanguinis*:1.21:1.17-1.32 vs. 0.98:0.79-1.17; $P<0.01$ 、*S. salivarius*:1.14:0.99-1.26 vs. 1.01:0.88-1.09; $P<0.05$ )が、反復性扁桃炎群ではいずれの $\alpha$ 溶連菌刺激に対しても有意な変化を認めなかった。

③扁桃CD4陽性T細胞の細胞遊走能

掌蹠膿疱症群、反復性扁桃炎群ともにVCAM-1の濃度依存性に遊走能の亢進を認めたが、VCAM-1の濃度が1 $\mu$ g/mlにおいて掌蹠膿疱症群が反復性扁桃炎群に比較し有意に高い遊走能を認めた(1.91:1.54-2.13 vs. 1.31:1.23-1.46; $P<0.05$ )。

④扁桃摘出術前後での末梢血CD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリンの発現変化

掌蹠膿疱症群では、術前と比較して術後3ヶ月の時点での末梢血CD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリンの発現が有意に低下していた( $P<0.01$ )が、反復性扁桃炎群では有意な低下は認めなかった。また、 $\alpha$ 1インテグリンの発現減少率は術後の皮疹スコアと有意な相関を認めた( $P<0.05$ ,  $r=-0.72$ )。

5. 皮膚における $\alpha$ 1インテグリン陽性CD4陽性T細胞の浸潤とVCAM-1の発現

掌蹠膿疱症の病巣皮膚ではCD4陽性T細胞の浸潤が多数認められ、その同一視野で $\alpha$ 1インテグリン陽性細胞が認められたが、健常皮膚ではCD4陽性T細胞および $\alpha$ 1インテグリン陽性細胞いずれもほとんど認められなかった。同様に病巣皮膚ではVCAM-1陽性の血管内皮が多数認められたが、健常皮膚ではほとんど認められなかった。

本研究では、掌蹠膿疱症の扁桃および末梢血CD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリンの発現、皮膚局所における $\alpha$ 1インテグリン陽性CD4陽性T細胞の存在および $\alpha$ 1インテグリンのリガンドであるVCAM-1の発現増強を明らかにした。これらの結果は扁桃病巣疾患である本疾患の発症に、CD4陽性T細胞上の $\alpha$ 1インテグリンおよび病巣部位におけるVCAM-1が重要な役割を担っていることを示唆するものである。また扁桃摘出術によって末梢血CD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリン発現が減少したことを考慮すると、 $\alpha$ 1インテグリンを発現した扁桃CD4陽性T細胞が体循環を經由してVCAM-1の発現した皮膚へ浸潤しているものと考えられた。また、 $\alpha$ 溶連菌刺激にて掌蹠膿疱症扁桃のCD4陽性T細胞における $\alpha$ 1インテグリンの発現亢進が認められたことから、掌蹠膿疱症扁桃リンパ球の常在細菌に対する過剰反応が $\alpha$ 1インテグリンの発現亢進の根幹にある可能性が示唆された。さらに、扁桃CD4陽性T細胞のVCAM-1に対する遊走能の検討では、掌蹠膿疱症群においてVCAM-1に対する高い遊走能が認められ、掌蹠膿疱症の扁桃CD4陽性T細胞では $\alpha$ 1インテグリンの発現が亢進しているだけでなく、VCAM-1に対する高い反応性を有している可能性も示唆された。皮膚局所への遊走について、過去に我々は、CLA、CCR6の関与を明らかにしたが、CLA、CCR6はそれぞれ血管内皮に

におけるローリングと遊出に関わっており、それに□1 インテグリンの接着作用が加わることで、本疾患の扁桃 CD4 陽性 T 細胞が皮膚へ浸潤する詳細なメカニズムが明らかとなった。さらに、我々は掌蹠膿疱症扁桃 T 細胞が活性化状態にあることを報告したが、□1 インテグリンの共刺激因子としての作用がこの T 細胞の過剰活性化に関わっている可能性が示唆された。

以上の結果から、掌蹠膿疱症の発症機序として掌蹠膿疱症の扁桃 CD4 陽性 T 細胞では α 溶連菌に対する過剰免疫応答の結果□1 インテグリンの発現が亢進し、それを共刺激因子として更なる活性化をきたし、体循環へ放出され、VCAM-1 を発現した病巣皮膚血管に付着し、病巣内へ浸潤する可能性が示唆された。これにより、□1 インテグリンが病勢を把握するマーカーとして、あるいは治療の標的因子として将来的な開発に応用できるものだと考えられた。

#### 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)

①Seigo Ueda, Miki Takahara, Toshitaka Tohtani, Tomoki Yoshizaki, Kan Kishibe, Yasuaki Harabuchi, Up-regulation of β1 integrin on tonsillar T cells and its induction by in vitro stimulation with α-streptococci in patients with pustulosis Palmaris et Plantaris. J Clin Immunol、査読有り、30、2010、861-871

②原渕保明、岸部 幹、【耳鼻咽喉科外来診療 私の工夫】扁桃処置と上咽頭処置、ENTONI、査読なし、113、2010、91-98

③吉崎智貴、掌蹠膿疱症における扁桃摘出術についてのアンケート調査 耳鼻咽喉科医および皮膚科医からみた考え方、耳鼻咽喉科臨床、査読有り、103、2010、27-33

④Tomoki Yoshizaki, Nobuyuki Bandoh, Seigo Ueda, Hayabusa Nozawa, Takashi Goto, Kan Kishibe, Miki Takahara, Yasuaki Harabuchi, 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、査読有り、157、2009、71-82

⑤高原 幹、扁桃シンポジウム 扁桃病巣皮膚疾患に対する扁桃摘出術の効果と限界 尋常性乾癬、アナフィラクトイド紫斑病、ベー

ジェット病等の扁桃病巣皮膚疾患における扁桃摘出術の有効性、口腔・咽頭科、査読有り、22、2009、43-47

⑥上田征吾, 坂東伸幸, 高原 幹, 吉崎智貴, 原渕保明、扁桃病巣疾患における扁桃細菌叢の検討、日本耳鼻咽喉科誌、査読有り、26、2008、149-152

⑦吉崎智貴、高原 幹, 坂東伸幸, 原渕保明、掌蹠膿疱症における扁桃摘出術の適応をどう考えるか?、JOHNS、24、2008、1557-1561

⑧Takashi Goto, Nobuyuki Bandoh, Tomoki Yoshizaki, Hayabusa Nozawa, Miki Takahara, Seigo Ueda, Tatsuya Hayashi, Yasuaki Harabuchi, Increase in BAFF and IFN-gamma productions by tonsillar mononuclear cells stimulated with CpG-ODN in patients with IgA nephropathy, Clin Immunol、査読有り、126、2008、260-269

[学会発表] (計 2 件)

①Ueda T, Expression of β1 integrin on tonsillar T-cells from the patients with pustulosis palmaris et plantaris (PPP), The 10th Japan-Taiwan Conference in Oto-Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery 2009.10.4, Yilan, Taiwan

②上田征吾, 高原 幹, 吉崎智貴, 坂東伸幸, 原渕保明、掌蹠膿疱症における CD29 の発現、日本口腔・咽頭科学会、2009.9.11、鹿児島市

[図書] (計 2 件)

①上田征吾、医学書院、扁桃病巣感染症 口腔咽頭の臨床、2009

②坂東伸幸, 原渕保明, 高原 幹, 医薬ジャーナル社、咽頭・扁桃炎のマネジメント、2009

[その他]

ホームページ等

<http://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/to/>

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

坂東 伸幸 (Bandoh Nobuyuki)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：60312469

岸部 幹 (Kishibe Kan)  
旭川医科大学・医学部・助教  
研究者番号：80447101  
(H21→H22:研究代表者)

(2)研究分担者

高原 幹 (Takahara Miki)  
旭川医科大学・医学部・助教  
研究者番号：50322904

片山 昭公 (Katayama Akihiro)  
旭川医科大学・医学部・助教  
研究者番号：40374805

石井 秀幸 (Ishii Hideyuki)  
旭川医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90360982

吉崎 智貴 (Yoshizaki Tomoki)  
旭川医科大学・医学部・助教  
研究者番号：60422052

上田 征吾 (Ueda Seigo)  
旭川医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90447102