

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09745

研究課題名(和文) 扁桃病巣疾患の病態解明と臨床的エビデンスの構築

研究課題名(英文) Collection of experimental and clinical evidences for relationship 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) 3,000,000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。扁桃病巣疾患診療の手引き作成委員会委員長として、手引き書をまとめ、発刊した。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CXCR3を介して腎系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

扁桃病巣疾患診療の手引きが作成されたことで、各関連科の医師にも本疾患における扁桃摘出術の有効性が示され、適応患者の耳鼻咽喉科への紹介が多くなり、扁桃摘出術の恩恵を得る患者が増える可能性が示された。また、扁桃と病巣疾患を結びつける基礎的エビデンスが更に肉づけされたことで、本疾患における病態の理解だけにとどまらず、類似の臨床的側面を持つ自己炎症性疾患や炎症性腸疾患の病態にも肉薄できる可能性が示唆された。

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 established and published guidance of clinical management for patients with tonsillar focal disease. 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 CXCR3 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 胸肋鎖骨過形成症

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

扁桃病巣疾患の代表的疾患には IgA 腎症、掌蹠膿疱症、胸肋鎖骨過形成症などが挙げられ扁桃摘出術で症状が改善することが知られている。本分野において、本邦が基礎的、臨床的検討において最先端であることは疑いがないが、海外において、本疾患概念は浸透しているとは言えず、否定的な意見や報告も散見される。また、本邦においても皮膚科、腎臓内科、膠原病内科、整形外科などの関連科のみならず、耳鼻咽喉科においてもその効果を疑問視する意見が根強く残っている。我々は長年にわたり、扁桃摘出術を担う耳鼻咽喉科の特色を生かし、口蓋扁桃を中心とした基礎的検討、関連科医師とのコラボレーションによる臨床的検討を進め、その研究成果を国内外の耳鼻咽喉科を初めとした各科学会で報告し、その効果を伝えてきた。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。掌蹠膿疱症に関しては、扁桃摘出を行った 138 症例における自覚的皮疹改善効果、80 例における皮疹スコアリング (PPP Area and Severity index) による客観的効果、掌蹠膿疱症性関節炎を合併した 50 例における自覚的疼痛改善効果を検討し、その著明な改善効果を英語論文として報告した¹⁾。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、 $\beta 1$ -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²⁻⁴⁾。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⁵⁾。

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) の産生亢進や APRIL (A proliferation-inducing ligand) の受容体発現亢進が関与することを報告した^{6,7)}。また、IgA 腎症の糸球体に浸潤する T 細胞にも着目し、扁桃の TCR V β 6 陽性、CX3CR1 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^{8,9)}。

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確立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

今までの臨床的解析が認められ、日本口腔・咽頭科学会主体で扁桃病巣疾患診療の手引きが作成されることになり、その委員長に任命された。他の委員とともに、掌蹠膿疱症、IgA 腎症、胸肋鎖骨過形成症のみならず、乾癬、IgA 血管炎、PFAPA (periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis)、反応性関節炎などの各扁桃病巣疾患に関する臨床的根拠を我々のデータを含めて集積し、ガイドラインとして 1 冊の書籍にまとめる。本手引き書が耳鼻咽喉科のみならず他科の医師にも読まれ、その疾患概念が浸透し、耳鼻咽喉科を紹介される症例が増えることを期待している。

(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

当教室では上述した様に、いままで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^{2-4,8,9)}。しかし、近年の報告にて、尋常性乾癬の皮膚や IgA 腎症の腎尿細管間質では共通して CXCR3 陽性 T 細胞の浸潤を認めると報告されている。種々扁桃疾患群間の扁桃、末梢血 T 細胞上の CXCR3 発現をフローサイトメトリーにて検討する。さらに、過剰発現させている因子、特に細菌由来 DNA の刺激でどのように変化するかを培養実験にて検討する。末梢血においては扁桃摘出前後で末梢血リンパ球を採取し、その発現差を同様に検討する。さらに扁桃組織、掌蹠膿疱症皮膚、IgA 腎症糸球体の免疫染色を行い、CXCR3 陽性 T 細胞とそのリガンド (IP-10) の局在を解析する。これらのことにより扁桃 CXCR3 陽性 T 細胞の病巣へのホーミングを明らかにする。

(3) 扁桃病巣疾患における扁桃細菌叢の検討

現在までの報告にて、掌蹠膿疱症患者扁桃では α 溶連菌、IgA 腎症患者扁桃ではパラインフルエンザ菌などの検出率が高いことが知られている。しかしこの検査結果は通常のグラム染色や培養検査によるものであり、嫌気性菌などの関与は未だ否定できない。最近新たな細菌同定法としてその DNA を解析する 16s rRNA 菌叢解析の手技が確立された。実際同様に腸内細菌の過剰免疫

応答が病因に関与する炎症性腸疾患では本解析を使い嫌気性菌の関与が注目されている。各扁桃疾患で得られた扁桃組織を用いて本解析を行い、扁桃病巣疾患に関与する細菌を網羅的に検討する。

(4) IgA 腎症扁桃における IgA 過剰産生

IgA 腎症における扁桃の IgA 過剰産生に関与する BAFF⁶⁾、APRIL⁷⁾は、形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cells:pDC) により調節されることが明らかとなっている。pDC は細胞内に細菌由来 DNA の受容体である TLR9 を持つため、我々が提唱する扁桃での IgA 過剰産生のメカニズムの根幹をなす可能性が示唆される。各扁桃疾患群間の扁桃の pDC の細胞数を CD303 を用いてフローサイトメトリーにて検討する。さらに Human Plasmacytoid DC Enrichment Kit (EasySep) にて pDC を分離し、TLR9 の発現をフローサイトメトリーあるいは RT-PCR にて検討する。さらに pDC を CpG-ODN 刺激下で培養し、BAFF、APRIL 産生能を ELISA にて検討し、疾患群間での産生能の差を検討する。これらのことにより IgA 過剰産生のメカニズムを明らかにする。

(5) IgA 腎症扁桃における IgA 過剰産生

近年の研究において IgA 腎症の血清中の IgA の質的異常、つまりヒンジ部糖鎖不全の IgA が増加していることが知られている。扁桃は IgA 腎症における IgA の供給源の一つであり、扁桃由来 IgA が糖鎖不全をきたしている可能性は十分にあり得る。扁桃リンパ球を培養し、産生された IgA の糖鎖を Gd-IgA1 (Galactose-deficient IgA1) Assay KIT にて解析する。また扁桃摘出前後における血清中の糖鎖不全 IgA を解析し、扁桃が血液中の IgA の供給源であるかどうかを検討する。さらに、扁桃リンパ球を CpG-ODN にて刺激し、糖鎖不全 IgA が増加しているかどうかを解析する。

4. 研究成果

(1) 扁桃病巣疾患における臨床的検討

扁桃病巣疾患診療の手引き書を作成し、本年中に発刊されることが決定している。本手引き書では各病巣疾患におけるこれまでの検討結果をもとにした扁桃摘出術の有効性が示されており、日常診療でしばしば診察する本疾患患者に対し、耳鼻咽喉科医が自信を持って手術が勧められるように作成されている。本手引き書により扁桃摘出術の恩恵を受けることができる本疾患患者が増えることが期待される。

(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、CXCR3 では CD3+CXCR3+細胞数の割合が非 IgA 腎症患者と比較して有意に増加していた。また、末梢血の陽性細胞数の測定では、疾患群間での変化はないものの、扁桃摘出前後で IgA 腎症群のみ低下する傾向が認められた。また、低下した症例は有意に扁桃摘出後の臨床的寛解を得る確率が高かった。今後はこれらのデータをまとめ、英文雑誌に投稿する予定である。

(3) 扁桃病巣疾患における扁桃細菌叢の検討

当科で保存している扁桃組織から DNA を抽出、16s rRNA 菌叢解析を外部委託会社と連携し行っている。現在、習慣性扁桃炎、掌蹠膿疱症、IgA 腎症患者からの扁桃組織を各 20 例検討し、データを得ている。解析は和歌山県立医科大学の耳鼻咽喉科と共同で行い、 α 多様性、 β 多様性の変化は疾患群間で認められなかったが、BugBase 解析にてバイオフィーム産生菌の同定率が有意に高い結果を得た。扁桃組織における 16s rRNA 菌叢解析の報告は少なく、これらの結果をまとめ、英文雑誌に投稿する予定である。

(4) IgA 腎症扁桃における IgA 過剰産生

扁桃リンパ球において CD303 の発現をフローサイトにて検討すると 1%にも満たなく、検討は難しいと判断した。従って、扁桃リンパ球 1×10^9 から pDC を分離し、分離細胞数にて検討した。 1×10^6 程の pDC が分離され、現在疾患群間での差を検討している。分離した pDC は RNA-seq に提出し、BAFF、APRIL を含め発現の差を網羅的に検討する予定である。

(5) IgA 腎症における扁桃を中心とした発症機序

IgA 腎症患者の扁桃摘出前後の末梢血における IgA の糖鎖を Gd-IgA1 (Galactose-deficient IgA1) Assay KIT にて解析した。半数に減少を認めたが、残りの半数は増加を認めた。扁桃摘出後、血尿が一時的に増悪することも知られているため、今後は経時的な変化を解析する予定である。

引用文献

- 1) 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 45(7): 812-823, 2018.
- 2) 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* 116(1): 42-53, 2005.

3) 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* 157(1): 71-82, 2009.

4) 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* 30(6): 861-871, 2010.

5) Takahara M, Kishibe K, Nozawa H, et al: Increase of activated T-cells and up-regulation of Smad7 without elevation of TGF-beta expression in tonsils from patients with pustulosis palmaris et plantaris. *Clin Immunol* 115(2): 192-199., 2005.

6) 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* 126(3): 260-269, 2008.

7) 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* 341:103925, 2019.

8) Takahara M, Kishibe K, Nozawa H, et al: T-cell repertoire in the tonsils of patients with IgA nephropathy. *Acta Otolaryngol Suppl* 555: 25-27., 2004.

9) Otaka R, Takahara M, Ueda S, et al: Up-regulation of CX3CR1 on tonsillar CD8-positive cells in patients with IgA nephropathy. *Hum Immunol* 78(4): 375-383, 2017.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 高原幹	4. 巻 257
2. 論文標題 【みみ・はな・のどの外来診療update-知っておきたい達人のコツ26-】扁桃処置のコツと反復性扁桃炎予防	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ENTONI	6. 最初と最後の頁 117-121
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 無
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 37
2. 論文標題 【チャートでみる耳鼻咽喉科診療】診断から治療へ 口腔・咽喉頭・頭部領域 扁桃炎・扁桃周囲膿瘍	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JOHNS	6. 最初と最後の頁 1191-1194
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24479/j01814.2021311666	査読の有無 無
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 79
2. 論文標題 【病巣疾患-診断と治療における最新知見-】口腔・咽喉頭の原因病が関連する疾患 掌蹠膿疱症・掌蹠膿疱症性骨関節炎・SAPHO症候群 扁桃摘出術	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本臨床	6. 最初と最後の頁 1049-1053
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 高原幹	4. 巻 1
2. 論文標題 扁桃病巣疾患における感染免疫 ミステリアスな扁桃の感染（細菌叢）と免疫応答の関連	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会誌	6. 最初と最後の頁 153-156
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24805/jiaio.1.3_153	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 1
2. 論文標題 病巣扁桃疾患における基礎的、臨床的エビデンスの構築	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会誌	6. 最初と最後の頁 129-133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24805/jiaio.1.3_129	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 123
2. 論文標題 扁桃病巣疾患の診断と治療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本耳鼻咽喉科学会会報	6. 最初と最後の頁 1393-1397
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3950/jibi_inkoka.123.1393	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 64
2. 論文標題 掌蹠膿疱症における口蓋扁桃の病因的役割	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 リウマチ科	6. 最初と最後の頁 239-247
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 高原幹	4. 巻 244
2. 論文標題 扁桃病巣感染症・慢性扁桃炎が疑われる場合の問診のポイント	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ENTONI	6. 最初と最後の頁 113-117
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 無
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 115
2. 論文標題 扁桃病巣疾患	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科臨床	6. 最初と最後の頁 1106-1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5631/jibirin.115.1106	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 270
2. 論文標題 扁桃周囲炎、扁桃周囲膿瘍に対する治療	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ENTON1	6. 最初と最後の頁 142-144
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 無
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 38
2. 論文標題 感染症検査の結果を読む治療への活用 咽頭炎・扁桃炎の細菌・ウイルス検査と結果の見方	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JOHNS	6. 最初と最後の頁 373-377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24479/ohns.0000000093	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高原幹
2. 発表標題 新次元！細菌感染症への挑戦（シンポジウム） 感染と免疫の接点：ミステリアスな扁桃の感染（細菌叢）と免疫応答の関連
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高原幹
2. 発表標題 扁桃を巡るガイドラインと今後の展開（教育講演）
3. 学会等名 日本口腔・咽頭科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高原幹
2. 発表標題 病巣扁桃疾患における基礎的、臨床的エビデンスの構築（学会賞受賞講演）
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高原 幹、熊井 琢美、片田 彰博、林 達哉、原淵 保明
2. 発表標題 IgA腎症扁桃におけるAPRIL(A ProlifeRation-Inducing Ligand)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 2020年

1. 発表者名 高原幹
2. 発表標題 パネルディスカッション4 ここまでわかった扁桃病巣疾患;Tonsil-induced autoimmune/inflammatory syndrome(TIAS) 掌蹠膿疱症に対する扁桃摘出術の効果と予後因子の検討
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高原幹
2. 発表標題 扁桃病巣疾患診療の手引きについて（教育講演）
3. 学会等名 日本口腔・咽頭科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高原幹
2. 発表標題 扁桃疾患における扁桃細菌叢の検討
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 高原 幹	4. 発行年 2020年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 317
3. 書名 IgA腎症の病態と治療 病巣疾患	

1. 著者名 高原 幹	4. 発行年 2020年
2. 出版社 株式会社プレジジョン	5. 総ページ数 -
3. 書名 『今日の疾患辞典』デジタル版〔商品名：Current Decision Support (CDS)〕 扁桃病巣疾患	

〔産業財産権〕

〔その他〕

旭川医科大学 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 研究概要医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科ホームページ
<https://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/oto/contents/study.html>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------