

平成 29 年 5 月 12 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462593

研究課題名(和文)扁桃病巣疾患における口蓋扁桃摘出術の基礎・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 tonsillectomy as a treatment of tonsillar focal diseases

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) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：IgA腎症、掌蹠膿疱症、胸肋鎖骨過形成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は浸透していない。我々は扁桃病巣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。

今回の検討では掌蹠膿疱症において客観的な皮疹スコア(PPASI)での評価でもその有効性が証明された。また、APRILが病因となる扁桃のIgA過剰産生に寄与していること、扁桃T細胞がCXCR3、CX3CR1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。

研究成果の概要(英文)：IgA nephropathy (IgAN), pustulosis palmaris et plantaris (PPP), and sternocostoclavicular hyperostosis (SCCH) are famous for typical tonsillar focal diseases, and tonsillectomy has been reported to be effective for improvement of the diseases. Unfortunately, this fact was not widely known. We try to establish experimental and clinical evidences for tonsillectomy as a treatment of tonsillar focal diseases in order to enlighten other doctors on the effectiveness and clarify a factor which predict the effectiveness. In this serious 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 tonsils of IgAN patients, and that chemokine receptor CXCR3 and CX3CR1 on tonsillar T-cells was related to homing of T-cells to the lesions of glomerulus. We will continue to study in order to show more evidences.

研究分野：扁桃病巣疾患

キーワード：扁桃病巣疾患 IgA腎症 掌蹠膿疱症 胸肋鎖骨過形成症 APRIL CXCR3 CX3CR1

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。その代表的疾患には掌蹠膿疱症 (pustulosis palmaris et plantaris : PPP)、IgA 腎症、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。扁桃の有効性を立証する臨床的検討と扁桃と上記疾患を関連づける発症機序の基礎的解明は、上記疾患に悩む患者の福音になるだけではなく、保存的治療による長期治療にかかる莫大な医療コストの削減という点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) が上記病巣疾患の予後の改善に寄与することが知られていた。しかし、主科である皮膚科や腎臓内科ではその効果を疑問視する意見も多く、あまり浸透していないのが現実である。

扁桃病巣疾患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 年度、平成 20-22 年度、平成 23-25 年度、平成 26-28 年度基盤研究 (C) を用いて扁桃病巣疾患における病態の解明を目標に、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扁桃病巣疾患の臨床的、基礎的エビデンスを構築することのより、他科医師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) 扁桃病巣疾患における扁桃摘効果の臨床的検討

掌蹠膿疱症患者においては患者自身の自覚的評価のみならず客観的に皮疹の術後改善度を検討する。IgA 腎症患者においては腎臓内科との提携のもと、扁桃摘出術+ステロイドパルス療法を継続し、その効果を検討する。また、扁桃摘の有効性と種々の臨床的因子との相関を検討し、皮疹、尿所見改善度に影響を与える因子を検討する。

(2) 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 (①)。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。

(3) IgA 腎症腎糸球体への扁桃 T 細胞の浸潤

IgA 腎症での腎糸球体には T 細胞受容体の 20 種ある V β サブファミリーの中で V β 6 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 V β 6 陽性 T 細胞が増加し、扁桃摘後末梢血 V β 6 陽性 T 細胞が減少することを報告した (②)。このことは扁桃 T 細胞が腎糸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、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。また、IgA 腎症の腎糸球体では CX3CR1 陽性細胞の浸潤を認め、血尿の程度と相関があったと報告されている。IgA 腎症扁桃 T 細胞での CXCR3、CX3CR1 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。

3. 研究の方法

(1) 臨床的検討

扁桃病巣疾患患者にて当科にて扁桃摘を施行した症例 (掌蹠膿疱症、IgA 腎症は 100 例以上に及ぶ) をその患者背景、臨床的因子、扁桃摘効果をデータベース化した。掌蹠膿疱症では患者自身の自覚的評価はもとより皮疹スコアリング (PPP Area and Severity index : PPPASI) による客観的評価も用いて検討した。IgA 腎症では扁桃摘出術とステロイドパルス療法を継続し、短期的な尿異常所見消失 (最終的な腎死を予測するサロゲートマーカーとして知られる) と長期的な腎死 (透析導入、腎機能悪化) を検討する。

(2) 実験的検討

当科にて掌蹠膿疱症、IgA 腎症や習慣性扁桃炎患者から扁桃摘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。最終的にそれらの検討で得られた結果を (1) で作成したデータベースに取り込み、それらが扁桃摘効果を予測する因子になり得るか検討する。

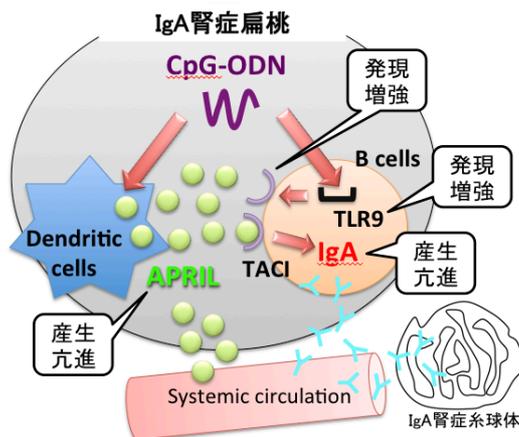
4. 研究成果

(1)扁桃病巣疾患における扁桃効果の臨床的検討

掌蹠膿疱症では自覚的評価、客観的評価においても9割以上の患者に皮疹の改善を認め、IgA腎症ではその6割の患者に尿異常所見の寛解を認めた。また、掌蹠膿疱症における扁桃摘後の皮疹消失に寄与する因子として、術後禁煙の有無がログランク検定にて同定された。

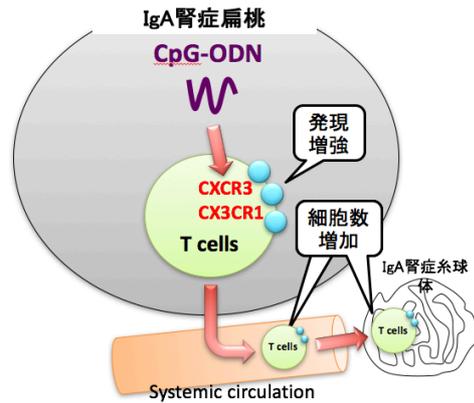
(2) IgA腎症扁桃におけるIgA過剰産生

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)



(3) IgA腎症腎糸球体への扁桃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、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CXCR3陽性CD3陽性T細胞数、CX3CR1陽性CD8陽性T細胞数は他の扁桃疾患にて扁桃摘を施行し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腎症糸球体周囲に浸潤したCXCR3陽性、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、CXCR3陽性CD3陽性T細胞数は増加し、CX3CR1陽性CD8陽性T細胞数は低下を認めなかった。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IP-10、フラクタルカインにて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CXCR3陽性CD3陽性T細胞、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。(下図まとめ)



<引用文献>

- ① 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, 2008, 260-9.
- ② 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, 2007, 319-322.

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5件)

- ① 高原幹 扁桃との関連が明らかになった新たな疾患 SAPHO 症候群 専門医が知っておくべき扁桃病巣疾患の新展開、口腔咽頭科、査読無、29 巻、2016、111-114
https://www.jstage.jst.go.jp/article/stomatopharyngology/29/1/29_111/_pdf
- ② 高原幹 扁桃病巣感染症の発症機序 耳鼻咽喉科と慢性炎症、別冊 Bio Clinica 査読無、5 巻、2016、82-87
- ③ 高原幹 IgA 腎症の病態における扁桃 T 細胞の役割 今、明らかにされた扁桃と IgA 腎症を結びつけるエビデンス 腎臓内科学、病理学、耳鼻咽喉科学のアプローチから、口腔咽頭科、査読無、27 巻、2014、25-28
https://www.jstage.jst.go.jp/article/stomatopharyngology/27/1/27_25/_pdf
- ④ 高原幹 IgA 腎症患者の扁桃摘出術の依頼を受けた こんなときどうする？ JOHNS、査読無、30 巻、2014、1286-88
- ⑤ 高原幹 (4 名中 1 番目) 重症急性咽頭・扁桃炎におけるレボフロキサシン (500mg) 1 日 1 回投与の有用性、日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会会誌、査読有、2 巻、2014、90-93

[学会発表] (計5件)

- ① 高原幹 IgA 腎症扁桃における CX3CR1 の検討、日本腎臓学会学術総会、2016 年 6 月 17 日、横浜
- ② 高原幹 IgA 腎症における口蓋扁桃からの IgA 産生、SCIENCE in Shinaga、2015 年 4 月 18 日、東京 (招待講演)
- ③ 高原幹 扁桃との関連が明らかになった新たな疾患 2) SAPHO 症候群 日本口腔・咽頭科学会総会ならびに学術講演会、2015 年 9 月 11 日、大阪 (シンポジウム)
- ④ 高原幹 IgA 腎症扁桃における CXCR3 の検討、日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2015 年 2 月 26 日、東京
- ⑤ 高原幹 IgA 腎症扁桃における CX3CR1 の検討、日本腎臓学会学術総会、2014 年 7 月 4 日、東京

[図書] (計3件)

- ① 高原幹 他、医学書院、扁桃病巣感染症 口腔咽頭の臨床第 3 版、2015、220 ページ
- ② 高原幹 他、中外医学社、扁桃病巣疾患に関する科学的エビデンスは？ EBM

耳鼻咽喉科・頭頸部外科の治療、2015、688 ページ

- ③ 高原幹 他、全日本病院出版、扁桃は役に立っているのですか？ 小児のみみ・はな・のど診療 II 巻、2015、65 ページ

[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)
旭川医科大学耳鼻咽喉科 講師
研究者番号：50322904

(2) 研究分担者

上田 征吾 (UEDA Seigo)
旭川医科大学耳鼻咽喉科 助教
研究者番号：90447102