

平成 30 年 6 月 16 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20187

研究課題名(和文)好酸球性副鼻腔炎における局所IgE産生のメカニズムと病態生理への関与の解析

研究課題名(英文)Local increase in IgE in nasal polyps in chronic rhinosinusitis

研究代表者

馬場 信太郎 (Baba, Shintaro)

東京大学・医学部附属病院・届出診療員

研究者番号：90553719

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：副鼻腔炎ポリープ中のIgEおよびMast cellの分布について詳細に検討した。ヒトのMast cellはTryptase(T)のみをもつMCTとTryptaseとChymase(C)をもつMCTCとに分類され、両者は各組織に混在している。我々は鼻粘膜組織中のMast cellのサブタイプについても検討した。好酸球性副鼻腔炎症例ではポリープ中の上皮内、腺組織でのMCT増多を認めた。好酸球性副鼻腔炎において上皮での全Mast cellのIgE陽性率は7割強、MCT率は8割強であったため、上皮でのIgEは主にMCTに分布し、作用していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To investigate the distribution, phenotypes, and immunoglobulin E (IgE) positivity of mast cells in these 2 subtypes of Chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP). Expression of tryptase mRNA was significantly increased in nasal polyps from patients with the 2 subtypes of CRSwNP compared with controls. Immunohistochemistry showed increased numbers of tryptase-positive mast cells in the epithelium, glands, and submucosa of ECRS polyps, whereas the number of tryptase- and chymase-positive mast cells was increased in the glands and submucosa of non-ECRS polyps. IgE-positive mast cells were abundant in the epithelial, glandular, and submucosal regions of ECRS polyps but few were detected in non-ECRS polyps. The present study demonstrates that the distribution, subtype population, and IgE positivity of mast cells is different between ECRS and non-ECRS nasal polyps. Our results suggest a role for IgE-mediated mast cell activation in the pathogenesis of ECRS.

研究分野：鼻科学

キーワード：副鼻腔炎 好酸球 IgE マスト細胞

1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎の患者の鼻茸には多数の活性化された好酸球が認められるため、局所への好酸球の遊走と活性化、およびこれによる粘膜傷害の惹起がその病態生理の重要な要素と考えられているが、近年の解析によりこれに局所におけるIgEの産生が関与していると考えられている (Bachert et al. 2003)。すなわち、好酸球性副鼻腔炎では黄色ブドウ球菌の毒素や真菌が superantigen となりB細胞をポリクローナルに刺激し局所でのIgEの産生が促され、これによって好酸球性炎症が引き起こされるという仮説である。申請者らの予備的研究によっても好酸球性副鼻腔炎の鼻茸には同患者の下鼻甲介粘膜や非好酸球性副鼻腔炎のポリープに比べて有意にIgE陽性細胞が多いことが示されている。また近年抗IgE抗体 (omalizumab) の投与が好酸球性副鼻腔炎や成人喘息に治療に有効であったという報告もあり (Bachert et al. 2008)、好酸球性副鼻腔炎の病態形成にIgEが関与していることが強く示唆される。しかしながら、病変におけるIgEの過剰産生が生じる分子メカニズム、またIgEが最終的に好酸球性炎症を引き起こす分子メカニズムについては不明な点が多く残されている。

2. 研究の目的

我々は局所でのIgE産生に関与するサイトカインであるIL-13および ϵ germline gene transcripts (ϵ GLT)が好酸球性副鼻腔炎群ポリープ中で増多していることを報告し、これにより好酸球性副鼻腔炎群症例において局所でのIgEクラススイッチの促進が示唆された2)。Mast cell中のIgE陽性率は好酸球性副鼻腔炎で高率となっており、IgEはMast cellに作用していることが示唆される(Baba S et al, 2014)。

今回我々は副鼻腔炎ポリープ中のIgEおよびMast cellの分布について詳細に検討した。ヒトのMast cellはTryptase(T)のみをもつMCTとTryptaseとChymase(C)をもつMCTCとに分類され、両者は各組織に混在しているが、粘膜表層にはMCTが粘膜深層や皮膚、血管、結合組織にはMCTCが多いとされている。我々は鼻粘膜組織中のMast cellのサブタイプについても検討した。

3. 研究の方法

東京大学耳鼻咽喉科で内視鏡下鼻内手術を施行した好酸球性副鼻腔炎患者と非好酸球性慢性副鼻腔炎患者、コントロールとしての非副鼻腔炎症例について手術時に採取した炎症性ポリープ、コントロール症例では鉤状突起について組織を摘出後、ホルマリン固定、パラフィン包埋し組織染色、免疫組織化学的に検討した。Mast cell tryptase, chymaseとIgEについて免疫染色(単染色)、及びMast cell tryptase-chymaseとMast cell tryptase-IgEの二重染色を施行、400

倍1視野当たりの陽性細胞数を5か所ずつ鏡検しカウント、平均した。各ポリープ組織からRNAを抽出し、定量PCRにてMast cell tryptase, chymaseのmRNA発現量を検討した。好酸球性副鼻腔炎患者の選別基準はJESREC Studyに基づきポリープの組織中好酸球数が400倍1視野あたり70個以上を満たす症例を好酸球性副鼻腔炎とし、この基準に該当しないポリープ形成を伴った副鼻腔炎を非好酸球性副鼻腔炎とした。また、全ての症例で最低術前1か月以内には経口、点鼻ステロイドを使用していない。

4. 研究成果

IgE陽性細胞の染色パターンはMast cellと類似しており、好酸球性副鼻腔炎においては上皮内と腺細胞に主に滲出していた(図1)。

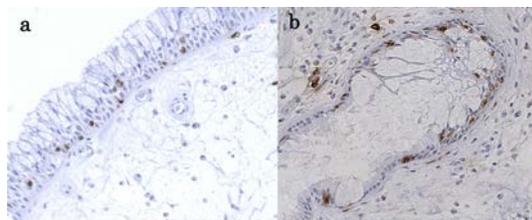


図1. 好酸球性副鼻腔炎ポリープのIgE免疫染色
a) 上皮 b) 腺 陽性細胞はDAB(茶)で着色

IgEとMast cell tryptaseの二重染色を行うと、好酸球性副鼻腔炎ポリープにおいて上皮内、腺組織内に浸潤したTryptase陽性Mast cellの大部分がIgE陽性であった(図2)。

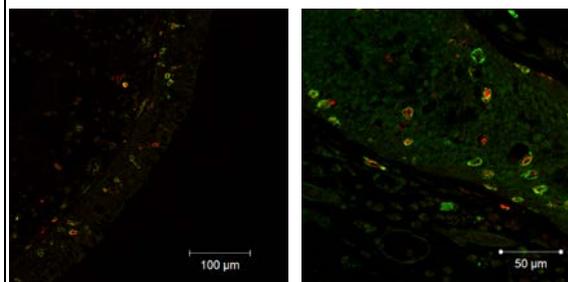


図2. 好酸球性副鼻腔炎ポリープのIgE-Mast cell tryptaseの二重染色
IgEは緑、Tryptaseは赤で染色
左：上皮
右：腺

各群のMast cell subtypeを検索するため、Mast cell chymase、Tryptaseについて酵素抗体法による二重染色と定量PCRで検討した。各群のMast cell chymaseの定量PCRによるmRNA発現は非好酸球性群で好酸球性群より増多していた。Mast cell tryptaseではmRNAレベルで好酸球性群、非好酸球性群ともにコントロールより高発現していた。

二重染色により各群のMCT、MCTCの細胞数

を上皮、腺、粘膜下組織と部位別に検討した。各群のMCT細胞数は上皮、腺、粘膜下組織とも好酸球形群で増多しており、特に上皮と腺での増多が顕著であった。MCTC細胞数は非好酸球形群で腺、粘膜下組織での増多を認めていた(図3)。

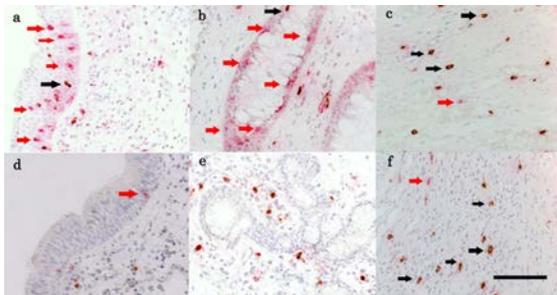


図3 Mast cell tryptase, chymase の酵素抗体法による二重染色像

Tryptase は赤、Chymase は茶色で染色
Tryptase 単陽性は赤矢印で MCT を示し
Tryptase-chymase 二重陽性は黒矢印で MCTC を示す。

- a-c : 好酸球形副鼻腔炎ポリープ
d-e : 非好酸球形副鼻腔炎ポリープ
a, d : 上皮
b, e : 線
c, f : 粘膜下組織

我々の研究では好酸球形副鼻腔炎症例ではポリープ中の上皮内、腺組織でのMCT増多を認めた。好酸球形副鼻腔炎において上皮での全Mast cellのIgE陽性率は7割強(図4)、MCT率は8割強であったため、上皮でのIgEは主にMCTに分布し、作用していることが示唆された。以上より好酸球形副鼻腔炎の病態形成にIgEとMCTが関わっていることが示唆された。

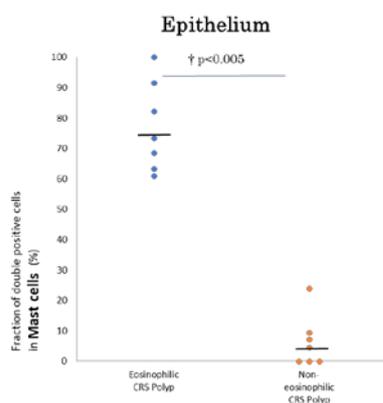


図4. 全Mast cellのIgE陽性率
左：好酸球形副鼻腔炎ポリープ
右：非好酸球形副鼻腔炎ポリープ

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4件)

1) Baba S, Kondo K, Suzukawa M, Ohta K, Yamasoba T

Distribution, subtype population, and IgE positivity of mast cells in chronic rhinosinusitis with nasal polyps
Ann Allergy Asthma Immunol.119,120-128 2017

2) Baba S, Kagoya R, Kondo K, Suzukawa M, Ohta K, Yamasoba T T-cell

phenotypes in chronic rhinosinusitis with nasal polyps in Japanese patients.
Allergy Asthma Clin Immunol.33, 11 2015

3) 馬場 信太郎, 近藤 健二, 山嵜 達也

慢性副鼻腔炎のポリープ中 Mast cell と IgE の分布についての検討 耳鼻咽喉科免疫アレルギー.34, 51-52 2016

4) 馬場信太郎, 近藤健二

【喘息と耳鼻咽喉科疾患】 鼻副鼻腔炎と気管支喘息 ENTONI. 197 全日本病院出版会 18-22 2016

[学会発表] (計5件)

1) 日本アレルギー学会学術大会 2016/6/17-19 東京

慢性副鼻腔炎のポリープ中 Mast cell と IgE の分布についての検討

馬場 信太郎, 近藤 健二, 鈴川 真穂, 大田 健, 山嵜 達也

2) 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 2016/2/4-6 三重

慢性副鼻腔炎のポリープ中 Mast cell と IgE の分布についての検討

馬場 信太郎, 近藤 健二, 山嵜 達也

3) 第116回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 2015.5.20-23 東京

ポリープを伴う慢性副鼻腔炎の組織中T細胞分布についての検討

馬場信太郎, 近藤健二, 籠谷領二, 金谷佳織, 鈴川佳吾, 牛尾宗貴, 平野真希子, 山嵜達也

4) 第64回日本アレルギー学会学術大会 2015.5.26-28 東京

ポリープを伴う慢性副鼻腔炎の組織中T細胞分布についての検討

馬場信太郎, 籠谷領二, 鈴川圭吾, 鈴川真穂, 近藤健二, 大田健, 山嵜達也

5) 第54回日本鼻科学会総会・学術講演会 2015.10.1-3 広島

IgE-Mast cell：好酸球性副鼻腔炎における
IgE局所増多とMast cell（シンポジウム）
馬場信太郎

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場信太郎（BABA, Shintaro）
東京大学・医学部附属病院・届出診療員
研究者番号：90553719

(2) 研究分担者

近藤健二（KONDO, Kenji）
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：40334370

鈴木真穂（SUZUKAWA, Maho）
国立病院機構東京病院
研究者番号：20453699

山嵜達也（YAMASOBA, Tatsuya）
東京大学・医学部附属病院・教授
研究者番号：60251302

(3) 連携研究者

大田健（OTA, Ken）
国立病院機構東京病院・院長
研究者番号：30160500