

平成 31 年 4 月 24 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11212

研究課題名(和文)凝固系因子の線維芽細胞や好酸球に対する作用に注目した好酸球性鼻副鼻腔炎の病態解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pathophysiology of eosinophilic chronic rhinosinusitis focusing on the action of coagulation factors on fibroblasts and eosinophils

研究代表者

清水 志乃 (Shimizu, Shino)

滋賀医科大学・医学部・医員

研究者番号：50505592

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)：好酸球性副鼻腔炎は、好酸球浸潤を伴う再発しやすい鼻茸、ニカワ様鼻汁、嗅覚障害を特徴とする難治性疾患である。いまだに原因不明で、治療の効果も限定的である。本研究では、活性化凝固因子であるトロンビンや活性化第10因子が好酸球性副鼻腔炎の鼻茸線維芽細胞に作用して好酸球浸潤や鼻茸形成を誘発することを示した。また、その過程にEGF受容体が関与することが分かった。さらに、好酸球性炎症のラット鼻炎モデルを用いて、EGF受容体インヒビターの全身または鼻腔局所投与が、好酸球性炎症を抑制することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性疾患である好酸球性副鼻腔炎は、ステロイド以外に有効な保存的治療薬がない。どうして鼻茸がすぐに再発するのか、どうしてたくさんの好酸球が粘膜に浸潤するのかいまだに解明されていない。本研究の結果から、鼻茸の形成や好酸球浸潤の機序の一部を明らかにすることができた。このような研究を積み重ねることによって、将来的に新しい治療薬が開発される可能性がある。好酸球性副鼻腔炎患者が、繰り返し手術を受けたり長期にステロイドを服用しなくても済むようになるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：Eosinophilic chronic rhinosinusitis is a refractory disease characterized by recurrent nasal polyps with eosinophil infiltration, sticky rhinorrhea, and olfactory disorder. In this study, we have shown that activated coagulation factors act on the nasal polyp fibroblasts to induce eosinophil infiltration and nasal tissue remodeling. It was found that EGF receptor is involved in the process. In addition, in the rat model, it was shown that systemic or intranasal topical administration of EGF receptor inhibitor suppresses eosinophilic inflammation in upper airways.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：好酸球性副鼻腔炎 血液凝固因子 鼻茸線維芽細胞 フィブロネクチン TGF-beta eotaxin RANTES EGF受容体インヒビター

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

好酸球性鼻副鼻腔炎は、成人発症の気管支喘息やアスピリン喘息に合併することが多い難治性疾患で、著明な鼻茸・耳茸形成と好酸球浸潤、ニカワ状の極めて粘度の高い分泌液が特徴的である。手術を行っても再発しやすいために治療に難渋し、ステロイドの全身・局所投与以外に効果的な薬物療法がない。

我々は、アレルギー性鼻炎や慢性副鼻腔炎では鼻副鼻腔局所で凝固系が活性化することを報告している。特に、好酸球性鼻副鼻腔炎において凝固系は強く活性化され、トロンピンをはじめとする凝固線溶系因子が鼻茸形成や杯細胞化生などの鼻副鼻腔組織リモデリングに関わり、さらに局所に浸潤する好酸球の存在が好酸球性副鼻腔炎の病態形成に重要であると考えてきた。しかしながら、これまで鼻茸形成などの組織リモデリングに直接関わっている線維芽細胞や浸潤する好酸球に対する凝固線溶系因子の作用についてはほとんど検討されてこなかった。

### 2. 研究の目的

好酸球性鼻副鼻腔炎の組織リモデリングに直接関わる線維芽細胞の役割に注目し、活性化凝固因子であるトロンピンや活性化第 X 因子などの刺激による、線維芽細胞の増殖や、線維芽細胞からの PDGF、VEGF、TGF-beta、フィブロネクチンなど組織リモデリングに直接関わるサイトカイン産生への影響について明らかにすることが目的であった。そして、鼻粘膜線維芽細胞からの Eotaxin や RANTES などの好酸球遊走因子産生への活性化凝固因子の影響を検討し、好酸球浸潤における線維芽細胞の役割を明らかにすることも目標とした。このように活性化凝固因子の鼻粘膜線維芽細胞や好酸球に対する作用を明らかにすることで、好酸球性鼻副鼻腔炎に特徴的な鼻茸形成などの組織リモデリングや好酸球浸潤の機序を解明し、動物モデルを用いて抗凝固因子などによる炎症抑制効果を検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 鼻茸組織から分離した線維芽細胞と上皮細胞を培養し、トロンピンや活性化第 X 因子などの活性化凝固因子による各種の成長因子、細胞外基質、サイトカイン産生に対する影響を検討する。さらに活性化凝固因子に対する細胞側の受容体を同定し、受容体のアゴニストを用いた刺激での効果を見る。

(2) 凝固因子刺激による鼻茸線維芽細胞あるいは上皮細胞からのサイトカイン・産生の機序について検討し、抑制効果を持つ物質を探索する。

(3) 最後に、(2)の結果から見出した物質の疾患モデルへの効果を検討する。ラット鼻炎モデルを用いて、全身投与または局所点鼻投与による抗炎症作用について検討する。

### 4. 研究成果

(1) 好酸球性鼻副鼻腔炎患者の鼻茸から分離した線維芽細胞は Protease-activated receptors (PARs) の PAR-1、2、3、4 のすべてを発現していることを RT-PCR と蛍光免疫染色で確認した。トロンピンや活性化第 10 因子などの凝固因子はこれらの受容体を介して鼻茸線維芽細胞に作用すると考えられた。

(2) トロンピンあるいは活性化第 10 因子で鼻茸線維芽細胞を刺激すると、上清中の TGF-beta、フィブロネクチン、eotaxin-1、

RANTES、IL-6、IL-8 の濃度が濃度依存性に上昇した。PAR-1、PAR-2、または PAR-3 のアゴニストの刺激でもそれらの因子の濃度は上昇した(図 1)。これらの結果から、トロンピンなどの凝固因子が鼻茸線維芽細胞からの TGF-beta、フィブロネクチン、eotaxin-1、RANTES、IL-6、IL-8 産生を刺激し、鼻茸形成などの組織リモデリングや好酸球浸潤に関与することが明らかとなった。

(3) また、鼻茸から分離培養した上皮細胞もトロンピンあるいは活性化第 10 因子の刺激で GM-CSF 産生が亢進した。PAR-1 または PAR-2 のアゴニストの刺激でも GM-CSF 濃度は上昇した。凝固因子の刺激によって好酸球の分化・生存に関わる GM-CSF 濃度が上昇することが明らかとなった。

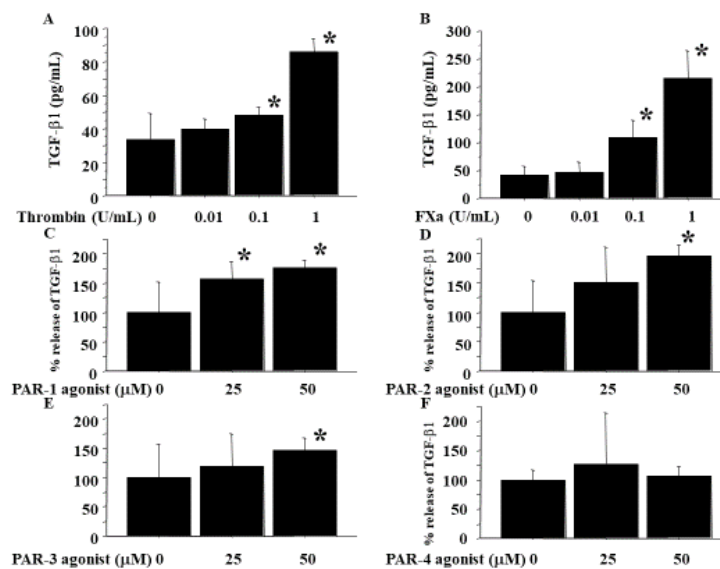


図1 TGF-β1産生

(4) 一方、トロンピン刺激によって生じる上皮細胞からのGM-CSF産生はEGF受容体インヒビターであるAG1478によって抑制されることが分かった。また、トロンピン刺激で誘発される鼻茸線維芽細胞からのeotaxin-1、RANTES産生もAG1478によって抑制されることが分かった。

(5) ラット鼻炎モデルでは、まずAG1478の腹腔内全身投与で鼻腔粘膜の粘液産生、好酸球浸潤、好中球浸潤をそれぞれ抑制することを確認した。さらにAG1478局所点鼻投与でも杯細胞化生、粘液産生を投与したAG1478の濃度に依存して抑制することが分かった。(図2)。鼻粘膜への好酸球、好中球の浸潤も同様に抑制することが分かった(図3)

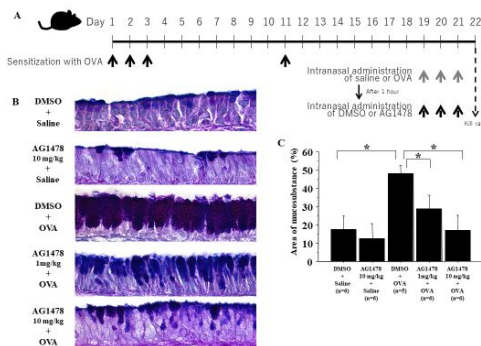


図2 EGF受容体インヒビター (AG1478) の点鼻投与の効果

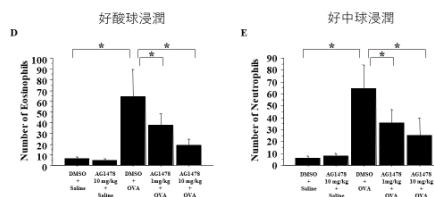


図3 EGF受容体インヒビター (AG1478) の点鼻投与の効果

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

Shimizu S, Tojima I, Takezawa K, Matsumoto K, Kouzaki H, Shimizu T. Thrombin and activated coagulation factor x stimulate the release of cytokines and fibronectin from nasal polyp fibroblasts via protease-activated receptors. *Am Journal of Rhinol Allergy*:31, e13-e18, 2017  
DOI: 10.2500/ajra.2017.31.4400

Liu Z, Kameshima N, Nanjo T, Shiino A, Kato T, Shimizu S, Shimizu T, Tanaka S, Miura K, Tooyama I. Development of a High-Sensitivity Method for the Measurement of Human Nasal A $\beta$  42, Tau, and Phosphorylated Tau. *J Alzheimer's Disease*. 62(2), 737-744, 2018  
DOI: 10.3233/JAD-170962

Shimizu S, Takezawa-Yasuoka K, Ogawa T, Tojima I, Kouzaki H, Shimizu T. The epidermal growth factor receptor inhibitor AG1478 inhibits eosinophilic inflammation in upper airways. *Clinical Immunology*:188, 1-6, 2018  
DOI: 10.1016/j.clim.2017.11.010

〔学会発表〕(計2件)

清水志乃: 上気道炎の組織リモデリングにおける凝固因子と好酸球の役割. 第55回日本鼻科学会総会, 2016年10月13-15日

清水志乃: 上気道炎症にける組織リモデリングとその制御. 第67回日本アレルギー学会学術大会, 2018年6月22日

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

## 6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 清水 猛史

ローマ字氏名: (SHIMIZU, takeshi)

所属研究機関名: 滋賀医科大学

部局名: 耳鼻咽喉科

職名: 教授

研究者番号(8桁): 00206202

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。