

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16920

研究課題名(和文) IgG4による好酸球性副鼻腔炎の病態制御機構の解明

研究課題名(英文) Role of IgG4 in the pathogenesis of eosinophilic chronic rhinosinusitis

研究代表者

小山 貴久 (KOYAMA, TAKAHISA)

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：90795270

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)：背景：好酸球性副鼻腔炎の副鼻腔組織においてIgG4陽性細胞の病態生理学的特徴を検索した。方法：鉤状突起と鼻ポリープにおいてIgG4免疫染色を行った。結果：IgG4は主に形質細胞や形質細胞様細胞の浸潤において表現された。IgG4陽性細胞数は鉤状突起に比べて好酸球性副鼻腔炎の鼻ポリープにおいて有意に高値であった。血中好酸球数、組織好酸球浸潤数、CTスコア、血清総IgE値でも有意に正の相関を示した。結論：我々の結果はIgG4の組織局在が術後治療も含めて慢性副鼻腔炎の病態生理に影響するバイオマーカーとして用いられる可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性副鼻腔炎における IgG4 の病態的意義を発現および機能の面から統合的に解析するものである。特に機能解析については、独自に開発し運用している副鼻腔炎解析モデルを用いることにより、多くの新知見を見出すことが期待できる。これは鼻副鼻腔粘膜細胞に各種菌体成分や化合物を添加することで IL-5 などのバイオマーカーを指標に好酸球性炎症への影響を評価するモデルである。好酸球性副鼻腔炎においてもマスト細胞による IgG4 産生制御機構を世界に先駆けて解明できると思われる。

研究成果の概要(英文)：Background: IgG4 production is regulated by type 2 (IL-4 and IL-13) and regulatory (IL-10) cytokines involved in the pathophysiology of chronic rhinosinusitis (CRS). We sought to determine the patho-physiological characteristics of IgG4-positive cells in sinonasal tissues in CRS, especially eosinophilic CRS (ECRS). Methods: IgG4-positive cells in uncinate tissues (UT) and nasal polyps (NP) were examined by immunohistochemistry. Associations between the number of IgG4-positive cells and clinicopathological factors were analyzed. Results: IgG4 was mainly expressed in infiltrating plasma and plasmacytoid cells, and the number of IgG4-positive cells was significantly higher in NP, especially those from severe ECRS patients, than in UT. In CRS patients, the number of IgG4-positive cells significantly and positively correlated with blood and tissue eosinophilia, radiological severity, and serum level of total IgE.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：好酸球性副鼻腔炎 IgG4 予後 鼻茸

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

慢性副鼻腔炎のうち、好酸球性副鼻腔炎は、好酸球の活性化やムチン産生あるいは IgE 産生などの 2 型(Type 2)炎症反応の誘導および遷延化を特徴とする炎症疾患である。難治性副鼻腔炎の代表であり、中等症以上の好酸球性副鼻腔炎は昨年より指定難病となった。疾患特異的な診断法および根治的治療法を確立するため、病態の解明は急務である。

好酸球性副鼻腔炎の発症あるいは増悪に関わる因子として、外的因子としては黄色ブドウ球菌、真菌、ウイルスあるいはバイオフィームなどが、また内的因子としてアラキドン酸代謝偏倚や抗体産生異常あるいは凝固線溶系の不均衡などが疑われている。特に鼻茸中には IgG が多く含まれる(Tan et al. JACI 2011)が、その病態的意義は未解明である。

IgG4 は IgG サブクラスのひとつであり、補体結合性を欠くなどユニークな性格を有する。近年、IgG4 が慢性炎症、特に好酸球やマスト細胞の活性化を示す 2 型炎症に関与することを示す知見が集まりつつある。IgG4 は IgE と同様に IL-4 などの 2 型サイトカインや CD40-CD40L などの共シグナル刺激により B 細胞から産生され、さらに IL-10 や VEGF などが産生の調節に関わる。これらの分子はいずれも好酸球性副鼻腔炎の病態への関与が報告されている。本疾患の病態形成に関わる因子としてサイトカインに注目し研究を進めている。これまでに、Toll-like 受容体 3(TLR3)を介するシグナルは IL-10 産生の亢進を介して鼻茸細胞の黄色ブドウ球菌エンテロトキシンに対する 2 型サイトカイン(IL-5 や IL-13 など)の産生を制御することなどを報告してきた。

### 2. 研究の目的

IgG4 については、IgG4 関連疾患を有する患者では副鼻腔病変がみられることが知られている(Takano et al. Ann Otol Rhinol Laryngol 2015 など)が、申請者が渉猟し得た範囲では IgG4 が好酸球性副鼻腔炎の病態に与える影響に関する知見は皆無である。我々はこの点に注目し本研究を開始した。これまでの予備実験で、重症好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸では非好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸と比較して、有意に IgG4 発現細胞が有意に多いことが判明した(左図矢印)。すなわち IgG4 あるいは IgG4 発現細胞が好酸球性副鼻腔炎の病態に何らかの関与を示すことが示唆された。

そこで今回我々は慢性副鼻腔炎、特に好酸球性副鼻腔炎の副鼻腔組織において IgG4 陽性細胞の病態生理学的特徴を検索した。

### 3. 研究の方法

1 鉤状突起と鼻ポリープにおいて IgG4 免疫染色を行った。さらに IgG4 陽性細胞と臨床病理学的な因子の関連について解析を行った。

#### 1) 標本の採取

好酸球性副鼻腔炎患者の手術時検体から鼻茸を採取する。患者は JESREC 基準に従い軽症、中等症および重症に分ける(各群 10 例以上収集)。対照として非好酸球性副鼻腔炎患者由来の鼻茸および鉤状突起、非副鼻腔炎患者(副鼻腔嚢胞や眼窩吹き抜け骨折など)の鉤状突起の採取を行う。

#### 2) IgG4 発現細胞の同定

免疫染色にて 400 倍視野あたりの IgG4 陽性細胞数を計測する。

#### 3) IgG4 発現細胞の臨床的意義の検討

好酸球性副鼻腔炎患者と非好酸球性副鼻腔炎患者での IgG4 陽性細胞数を比較する。さらに IgG4 陽性細胞数が好酸球性副鼻腔炎の重症度や組織浸潤好酸球数、CT スコア、一歩率、喘息合併など臨床徴候と関連するか解析する。

#### 2 好酸球性副鼻腔炎患者粘膜における IgG4 発現細胞の同定に関する解析

##### 1) 標本の採取および二重免疫染色

組織採取は上述(1-1)の通りである。抗 IgG4 抗体と各種細胞マーカー抗体(抗 CD19 抗体、抗 CD38 抗体など)を用いた二重免疫染色を実行し、IgG4 がどの細胞(B 細胞、形質細胞、マクロファージなど)に発現するか検討する。

2) IgG4 発現細胞の疾患特異性の検討 好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎、あるいは好酸球性副鼻腔炎の重症度によって IgG4 を発現する細胞のプロファイルに差を認めるか比較検討する。

#### 3 好酸球性副鼻腔炎の組織抽出物における IgG4 濃度の定量と臨床的意義に関する解析

##### 1) 標本の採取および IgG4 濃度の定量

組織採取は上述(1-1)の通りである。Tissue homogenizer を用いて組織抽出液を作製する。抽出液中の IgG4 濃度を ELISA にて測定する。

##### 2) 組織中 IgG4 濃度の臨床的意義の検討

上述(1-3)と同様の方法で、非好酸球性副鼻腔炎患者との比較、好酸球性副鼻腔炎の重症度

別の比較、CT スコアや浸潤好酸球数など臨床徴候との相関などを行い、組織 IgG4 濃度の臨床的意義を探索する。

#### 4 . 研究成果

IgG4 は主に形質細胞や形質細胞様細胞の浸潤において表現された。IgG4 陽性細胞数は鉤状突起に比べて好酸球性副鼻腔炎の鼻ポリープにおいて有意に高値であった。特に重症好酸球性副鼻腔炎の鼻茸では、他のフェノタイプと比較して IgG4 陽性細胞を多く認めた。また血中好酸球数、組織好酸球浸潤数、CT スコア、血清総 IgE 値でも有意に正の相関を示した。

さらに好酸球性副鼻腔炎における IgG4 あるいは他の IgG サブクラスの意義が解明されれば、本疾患の成因や増悪機構の理解に役立つだけでなく、IgG4 をターゲットとしたエンドタイプイングやワクチン開発など、本疾患に特異的な新規診断法および根治的治療法の確立が期待できる。さらには好酸球性中耳炎や気管支喘息など他の難治性気道炎症における病態の解析に研究を進展できる可能性も秘めており、この意義づけは非常に大きなものであると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Koyama T, Kariya S, Sato Y, Gion Y, Higaki T, Haruna T, Fujiwara T, Takao S, Orita Y, Kanai K, Taniguchi M, Nishizaki K, Okano M	4. 巻 68
2. 論文標題 Significance of IgG4-positive cells in severe eosinophilic chronic rhinosinusitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 216-224
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2018.09.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小山貴久
2. 発表標題 慢性副鼻腔炎におけるIgG4陽性細胞の発現と臨床的意義
3. 学会等名 日本鼻科学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

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