

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：32203
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2018～2020
課題番号：18K09385
研究課題名（和文）酸化・窒素化ストレスによる嗅粘膜分泌異常への関与 気道リモデリングの嗅粘膜障害

研究課題名（英文）Effect of oxidative and nitritive stress on secretion abnormality in the olfactory mucosa

研究代表者
春名 眞一（Haruna, Shinichi）
獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：60198934
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：喘息合併好酸球性副鼻腔炎（ECRS）では、従来の慢性副鼻腔炎とは異なり、早期から後部副鼻腔及び嗅裂部に好酸球性病変が生じて嗅覚障害を訴える。ECRSの呼吸粘膜と嗅粘膜を組織学的に検討すると、鼻腔後部粘膜で有意に好酸球浸潤と窒素化ストレスのマーカーであるニトロチロシン（3-NT）の発現を認めた。従って、下気道粘膜から鼻腔後部へNOが多量に流入し、酸化・窒素化ストレスを形成し、鼻副鼻腔と嗅粘膜に好酸球炎症を惹起し、嗅粘膜分泌異常をきたしている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喘息合併好酸球性副鼻腔炎では、上気道からの治療だけでなく、喘息のコントロールを維持することで下気道リモデリングにより生じる過剰なガス状メディエーター、特に鼻副鼻腔へのNOの流入を減少させ、鼻副鼻腔と嗅粘膜の好酸球炎症を抑制し、嗅覚障害を改善させることができる。

研究成果の概要（英文）：Patient with eosinophilic chronic sinusitis, which is different from usual chronic sinusitis, has easily complained olfactory loss due to eosinophilic pathological condition in the posterior nasal cavity, sinus and olfactory cleft. The respiratory mucosa and olfactory mucosa are obtained during the surgery and investigated about eosinophil infiltrations and nitrotyrosine (3-NT) of nitritive stress marker. Both maker were significantly increased in the posterior nasal cavity and sinus mucosa, and these results suggest that secretion abnormality in the sinus and olfactory mucosa due to oxidative and nitritive stress are caused by large amount of NO inflowed into posterior nasal cavity from inferior respiratory tract.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：嗅覚障害 嗅粘膜 NO 酸化・窒素化ストレス ガス状メディエーター 好酸球性副鼻腔炎

1. 研究開始当初の背景

喘息を多く合併する好酸球性副鼻腔炎(以下、ECRSと略す)の臨床症状で病態の早期から嗅覚障害が必発し、その病態の把握と治療は大きな課題となっている(Haruna S. ANL,2006)。

これまでの研究で、ECRSでは副鼻腔粘膜同様に嗅粘膜にも多数の好酸球浸潤がみられ、活性好酸球の組織障害蛋白による呼吸粘膜の上皮細胞障害は著明だが、隣接する嗅粘膜上皮の剥奪も観察され、嗅粘膜障害が生じている(Kashiwagi T, Haruna S. Acta Otolaryngol.2019.)。同時に、嗅覚の化学情報伝達に關与する上皮下に存在するボーマン腺は著明な増殖・拡大が認められることが確認され、嗅粘膜上に過度の分泌異常が生じていることが考えられた(Haruna S.投稿中)。気道系ではNOなどのガス状メディエーターが多量に産生される。炎症時には多量のガス状メディエーターであるスーパーオキシドとNOが反応し、ONOO⁻を形成し(酸化・窒素化ストレス)、粘膜線毛障害や粘液異常分泌と關与している(Yoshimura T, Haruna S. Allergo Int. 2008)。喘息においては酸化・窒素化は血管透過性亢進、好酸球浸潤促進や繊維化などの重症化との關連が指摘されている(Furukawa. Respir RES 2011)。喘息起動で産生された多量のガス状メディエーターは気管支のみならず、後鼻孔から鼻副鼻腔にも流入し、酸化・窒素化ストレスを形成し、鼻腔後部から好酸球炎症を惹起していると予想される。実際、軽症～中等症のECRSのCTおよび内視鏡所見を観察すると、副鼻腔陰影およびポリープ形成は鼻部副鼻腔と嗅裂の後部から進展している(春名眞一.日鼻誌53,2014)。またECRSでは、前副鼻腔粘膜に比べ有意に後部篩骨洞粘膜に好酸球数が多い(Samura Y. ANL 38,2011)と報告されている。したがってECRSでは、上気道自体のみならず下気道の好酸球性炎症産物によって副鼻腔粘膜および嗅粘膜において、呼吸粘膜障害や過剰分泌が発症していると予想される。また、治療面においても喘息治療の吸入ステロイド薬を後鼻孔から呼出させることでECRSが改善したとの報告もある(Kobayashi Y. Int J Clin Pharmacol Ther. 2014)。さらに、ECRSの術後の再燃時に、嗅裂部と副鼻腔にサージセル綿を挿入し呼気流を遮断しケナコルトを添加すると、粘膜浮腫と分泌過多が著明抑制され、嗅覚障害を改善したと報告した(今野渉、春名眞一.日鼻誌 2017)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、なぜ、喘息合併好酸球性副鼻腔炎では病態の早期から後部副鼻腔及び嗅裂部に病変が生じ嗅覚異常が生じるのか、同時に、なぜ、嗅粘膜上皮剥奪や嗅粘膜分泌異常を起しているのかを、上気道のみならず下気道リモデリングにより生じる過剰なガス状メディエーターに注目して、酸化・窒素化ストレスと嗅粘膜の複合糖質の変化とを關連づけ、好酸球性副鼻腔炎の嗅粘膜分泌異常の因子を解明する。

3. 研究の方法

(1) ECRSの前・後副鼻腔粘膜及び嗅粘膜における好酸球浸潤とFeNOとの關係を検討する。

患者に本研究について十分に説明し、登録を行う。喘息合併好酸球性副鼻腔炎にて嗅覚障害を呈する患者の術前にFeNO測定する。NO測定装置(携帯型NO測定器(Nobreath, Bedfont社)を用い、安静座位で同時間帯に測定する。鼻腔からのNO濃度も測定する。

(2) ECRSの前後部副鼻腔粘膜と嗅粘膜で好酸球浸潤と窒素化ストレスのマーカーであるニトロチロシン(3-NT)の発現を免疫組織的検討する。

(3) 嗅粘膜のボーマン腺からの分泌過多および糖蛋白の複合糖質を検討する。

4. 研究成果

(1) ECRS の呼吸粘膜と嗅粘膜における好酸球浸潤

ECRS(n=17)の副鼻腔粘膜と嗅粘膜を手術の際に採取して、好酸球浸潤の程度を比較した。副鼻腔粘膜の好酸球浸潤とともに嗅粘膜にも著明な好酸球浸潤が認められた(図1)。

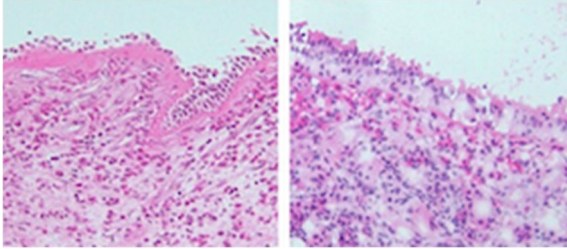


図1. 著明な好酸球浸潤、基底膜肥厚、上皮細胞障害の副鼻腔粘膜(左)と好酸球浸潤と嗅粘膜上皮剥奪の嗅粘膜(右)

副鼻腔粘膜の好酸球浸潤の割合が高くなるにつれて、嗅粘膜での好酸球浸潤も増加した。血中の好酸球数(%)とも正の相関を示した(図2)。

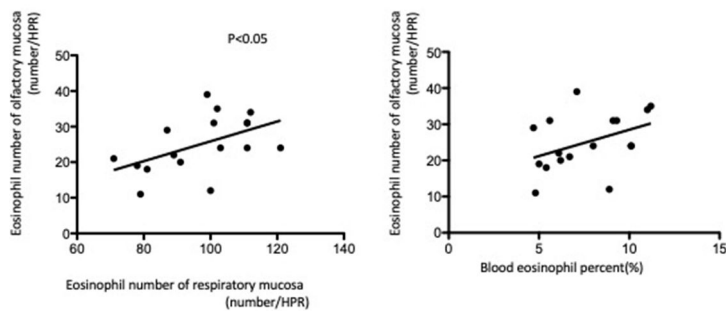


図2 嗅粘膜と呼吸粘膜の好酸球浸潤の比較

(2) FeNO と好酸球浸潤

FeNO は喘息と血中好酸球数と相関を示したが、鼻粘膜の好酸球の指標のMBPとは相関を認めず、喘息の病態を反映すると考えられた(表1)。

	B	SEB	β	p
喘息	64.1	20.3	0.46	0.004
アレルギー性鼻炎	-5.29	23.1	-0.04	NS
血中総IgE値	0.03	0.03	0.15	NS
血中好酸球数	0.07	0.03	0.46	0.009
組織中MBP陽性細胞	-0.14	0.28	-0.08	NS
Polyp score	-4.40	4.20	-0.16	NS
CT score	-1.22	0.81	0.46	NS

表1 呼気NOと好酸球との比較

一方、鼻呼気NOは、喘息と副鼻腔CTスコアと相関を示したが、MBPと相関を示さなかった。喘息や副鼻腔病変との関連は認められたが、好酸球性病変との関連は認めがたかった(表2)。

	B	SEB	β	p
喘息	64.6	16.5	0.58	0.001
アレルギー性鼻炎	-6.03	18.9	-0.05	NS
血中総IgE値	0.01	0.03	-0.03	NS
血中好酸球数	0.03	0.02	0.24	NS
組織中MBP陽性細胞	-0.06	0.23	-0.41	NS
Polyp score	-5.21	3.42	-0.24	NS
CT score	-1.44	0.66	-0.35	0.038

表 2 鼻呼吸 NO と好酸球との比較

副鼻腔粘膜上皮の NOS2 と好酸球数を比較すると NOS2 陽性細胞数は鼻呼吸 NO 値とは相関しない。しかし、MBP 陽性細胞との関連は認められた (図 3)。

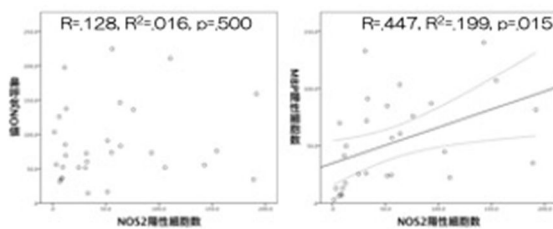


図 3 NOS2 の発現と鼻呼吸 NO との関係

以上のことから、下気道病変の喘息は鼻呼吸 NO に大きな影響を及ぼしていると考えられた。

(3) 人好酸球性副鼻腔炎の嗅粘膜と呼吸粘膜とのニトロチロシン (3-NT) の発現: 呼吸粘膜上では著明な好酸球性浸潤とともに上皮細胞障害、胚細胞増勢が見られ、著明なりモデリングであることが観察された。副鼻腔粘膜前部と後部の好酸球数とを比較すると有意に後部副鼻腔に好酸球数が高かった。同時に、3-NT の発現を比較すると、後部で優位に好酸球数と 3-NT の発現を認めた。しかしながら、嗅粘膜上には 3-NT の発現はごく僅かであった。従って、鼻腔後部へ NO などのガス状メディエーターが多量に産生される。炎症時には多量のガス状メディエーターであるスーパーオキシドと NO が反応し、ONOO-を形成し (酸化・窒素化ストレス) 好酸球炎症をきたしていると考えられた。

(4) 嗅粘膜のボーマン腺からの分泌過多および糖蛋白の変化を AB・PAS 染色すると、ボーマン腺と粘膜上皮に陽性を示した (図 4) 。好酸球浸潤と陽性腺組織の増生との間には明らかな関連は示せなかった。

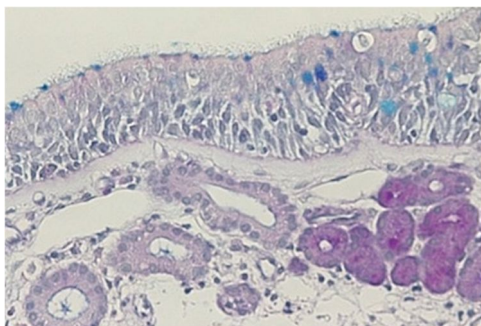


図 4 嗅粘膜の AB・PAS 染色

ボーマン腺、嗅粘膜上皮に要請を認める。好酸球浸潤は軽度。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kashiwagi T, Tsunemi Y, Akutsu M, Nakajima I, Haruna S.	4. 巻 139
2. 論文標題 Postoperative evaluation of olfactory dysfunction in eosinophilic chronic sinusitis-comparison of histopathological and clinical findings.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Otolaryngol	6. 最初と最後の頁 881-889
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.anl.2019.08.007.	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 -

1. 著者名 Nakayama T, Haruna S.	4. 巻 46
2. 論文標題 JESREC score and mucosal eosinophilia can predict endotypes of chronic rhinosinusitis with nasal polyps.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ANL	6. 最初と最後の頁 374-383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.anl.2018.09.004.	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 -

1. 著者名 Konno W, Kashiwagi T, Tsunemi Y, Goto K, Haruna S.	4. 巻 46
2. 論文標題 Long-term postoperative control of eosinophilic chronic rhinosinusitis recurrence by inserting a steroid-eluting, sinus-bioabsorbable device reduces the dosage of oral steroid.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ANL	6. 最初と最後の頁 365-373
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.anl.2018.09.001.	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 -

1. 著者名 Nakayama T, Haruna S	4. 巻 46
2. 論文標題 JESREC score and mucosal eosinophilia can predict entnotypes of chronic rhinosinusitis with nasal polyps	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 374-383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.anl.2018.09.004	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 -

1. 著者名 Kuboki A, Haruna S	4. 巻 41
2. 論文標題 Prognostic value of C-reactive protein/albumin ratio for patients with hypopharyngeal and laryngeal cancer undergoing invasive surgery involving laryngectomy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Head Neck	6. 最初と最後の頁 1342-1350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hed.25565	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2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 春名眞一、柏木隆志、常見泰弘、阿久津誠、後藤一貴
2. 発表標題 好酸球性副鼻腔炎手術後の嗅覚機能の評価
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haruna S
2. 発表標題 Chronic Sinusitis: From "Bench to Clinical Practice" (the JRSECR -Guidelines)
3. 学会等名 the 12th International Symposium on Recent Advances on Rhinosinusitis and Nasal Polyps (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019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
研究分担者	金谷 洋明 (kanaya hiroaki) (40265301)	獨協医科大学・医学部・講師 (32203)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	柏木 隆志 (kashiwagi takashi) (50622982)	獨協医科大学・医学部・助教 (32203)	

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