

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16880

研究課題名（和文）好酸球性副鼻腔炎におけるペリオスチンの重要性を検討する研究

研究課題名（英文）A role of periostin in eosinophilic chronic rhinosinusitis

研究代表者

二之宮 貴裕（Ninomiya, Takahiro）

福井大学・学術研究院医学系部門・特別研究員

研究者番号：30796199

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、好酸球性副鼻腔炎の難治症例において、ペリオスチンの発現について検討し、特にそのアイソフォームに注目して、好酸球性副鼻腔炎の難治化メカニズムを解明するものである。好酸球性副鼻腔炎を含む、慢性副鼻腔炎鼻茸組織、および鼻茸から抽出したtotal RNAを用いて、アイソフォームの発現の検討を行った。鼻茸組織においては、全例でisoform 5が最も発現量が高く認められた。NHLF細胞とはisoformの発現のパターンが異なっており、鼻茸での組織特異性があると考えられる。このことから、isoform5は副鼻腔炎の難治化のメカニズムより、鼻茸の形成そのものに関連している可能性が考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、手術前後のペリオスチンの変化を見ることで、バイオマーカーとしての有用性が向上することが示唆され、鼻副鼻腔由来のペリオスチンを特異性が高く測定できることが重要であると考えられた。慢性副鼻腔炎鼻茸におけるペリオスチンアイソフォームは、副鼻腔炎の重症度にかかわらず、全症例でisoform 5が最も強く発現しており、鼻副鼻腔組織での組織特異性があると考えられる。血清中のペリオスチンisoform 5を測定することで、より有用性の高い好酸球性副鼻腔炎のバイオマーカーとして使用できる可能性が考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigate the expression of periostin and its isoforms in refractory cases of eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS) to elucidate the refractory mechanism of ECRS.

The expression of isoforms was investigated using total RNA extracted from polyp tissue of ECRS. In the nasal polyp tissue, isoform 5 had the highest expression level in all cases. The isoform expression pattern is different from that of NHLF cells, and it is considered that there is tissue specificity in nasal polyps. This suggests that isoform 5 may be involved in the formation of nasal polyps, rather than the mechanism of refractory sinusitis.

研究分野：好酸球性副鼻腔炎

キーワード：ペリオスチン アイソフォーム 好酸球性副鼻腔炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎は、嗅覚障害、多発する鼻茸を認め、気管支喘息の合併が多いことが特徴とされる、難治性・再発性の高い副鼻腔炎であり、JESREC の診断基準により診断される。この診断基準で中等症以上と診断される好酸球性副鼻腔炎は、術後 6 年で 50%以上の再発を認めることが分かっているが、同時に軽症の好酸球性副鼻腔炎や非好酸球性副鼻腔炎も術後再発する症例が少なからず存在する。現在の診断基準では軽症と診断される症例の中で、術後再発のリスクが高い症例を見出し、難治化に関わるメカニズムを解明することが今後の最大の課題と考えられる。

研究代表者は、慢性副鼻腔炎鼻茸を使用したトータル RNA シークエンス(RNA-seq)の結果から、鼻茸で最も高く発現していたペリオスチン遺伝子に着目した。ペリオスチンは線維芽細胞や骨芽細胞から産生される細胞外マトリックスタンパクである。IL-4 や IL-13 の刺激により産生され、好酸球の活性化や遊走を促し、また線維芽細胞自身に働き組織の線維化を亢進させることが報告されている。気管支喘息やアトピー性皮膚炎などにおいて、Th2 型炎症のバイオマーカーとしての臨床応用が進んでいる。研究代表者は慢性副鼻腔炎患者の鼻茸組織中、および血清のペリオスチンタンパク発現を測定し、重症副鼻腔炎ほど発現が強度であることを見出し、術前の血清ペリオスチン値が、術後再発に対してのバイオマーカーとして有用であることを発見した。

現在ペリオスチンは C 末端側に存在する選択的 splicing 領域の違いにより、8 種類の isoform が報告されている。しかしながら、鼻副鼻腔領域でヒトサンプルを用いてのペリオスチン isoform の解析報告はなく、isoform の機能や、臓器特異性・疾患特異性などについては全くわかっていない。

2. 研究の目的

本研究は、ペリオスチンが好酸球性副鼻腔炎において、どのように難治化にかかわっているかについて検討を行うことを目的としている。本研究では鼻副鼻腔領域では現在報告されていないペリオスチンの isoform を用いて、特にどの isoform が好酸球性副鼻腔炎に重要であるかを検討する。それにより、難治化にかかわるメカニズムの解明のみならず、バイオマーカーとしての特異性を向上させる可能性が考えられる。

3. 研究の方法

(1) 代表研究者が以前に行った 369 症例の慢性副鼻腔炎手術症例のうち、術後の血清が保存されていた 46 症例(非好酸球性副鼻腔炎 19 例、軽症好酸球性副鼻腔炎 13 例、中等症好酸球性副鼻腔炎 9 例、重症好酸球性副鼻腔炎 5 例)を用いて、同 ELISA キットを用いて術後血清ペリオスチンの定量を行った。術後血清ペリオスチン値と様々な臨床情報との検討を行った。

(2) 92 症例の慢性副鼻腔炎鼻茸(非好酸球性副鼻腔炎 43 例、軽症好酸球性副鼻腔炎 13 例、中等症好酸球性副鼻腔炎 25 例、重症好酸球性副鼻腔炎 11 例)を使用し、免疫組織化学で isoform の検討を行った。選択的 Splicing により deletion となる exon の前後を標識する抗体を 3 種類設計し、その染色強度から 4 種類の isoform (isoform 1; NP_006466.2、isoform 2; NP_001129406.1、isoform 4; NP_001273594.1、isoform 8; NP_001317446.1)の判定を行った。

(3) 方法(2)で行った免疫組織化学では抗体設計の困難性から、isoform 1,2,4 および 8 以外の isoform の判別が不可能であった。そこで、18 症例(非好酸球性副鼻腔炎 7 例、軽症好酸球性副鼻腔炎 1 例、中等症好酸球性副鼻腔炎 7 例、重症好酸球性副鼻腔炎 3 例)の鼻茸から抽出した total RNA を用いて、リアルタイム PCR を行い、各 isoform の定量を行った。対照として肺線維芽細胞(NHLF 細胞)を用いた。

4. 研究成果

(1) 血清ペリオスチンのカットオフ値を 115.5ng/ml とすると、血清ペリオスチン高値症例は術前の採血では 46 例中 12 例(26.1%)であったが、術後 1 から 3 か月では 36 例中 3 例(8.3%)と優位に減少していた(図 1)。また、術前ペリオスチンと術後ペリオスチンの差はすなわち鼻副鼻腔由来のペリオスチンと推定することができると考え、検討を行った。術前ペリオスチン値と術後ペリオスチン値の差が大きい群(14ng/ml 以上)は、有意に組織中好酸球数が高値であり(p=0.050)、術後 CT スコアも有意に高かった(p=0.038)。

(2) 副鼻腔炎全体では isoform 2 に判定される症例が最も多かった(図 2, 92 例中 39 例; 42.4%)。特に、重症好酸球性副鼻腔炎では isoform 2 に判定される例が最も多く、11 例中 8 例(72.7%)であり、中等症好酸球性副鼻腔炎以下の群(81 例中 31 例, 38.3%)と比較して有意に多かった(p=0.048)。すべての群で isoform 8 と判定される症例は認めなかった。

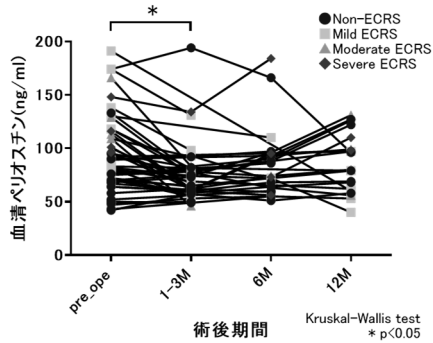


図 1 手術前後における血清ペリオスチン値の推移

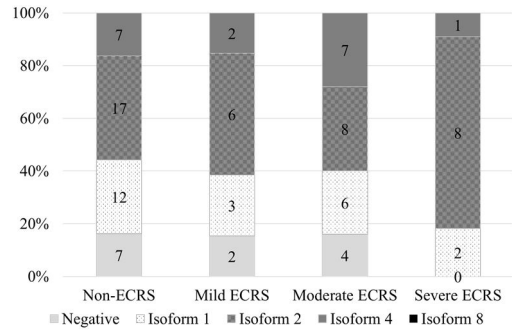


図 2 免疫組織化学による組織中ペリオスチン isoform の判定

(3) 副鼻腔炎の重症度と関係なく、18 症例すべてにおいて、isoform 5 が最も発現量が高く認められた。全体としては isoform 5、2、4、3 の順に多く発現が認められた。isoform の発現比率と副鼻腔炎の重症度との関連性は認められなかった。NHLF 細胞では isoform 3、4、5 の順で発現が高く認められた。

血清ペリオスチン値の術前値と術後値を比較することにより、鼻副鼻腔由来のペリオスチンが推定することが可能と考えられる。本研究により、手術前後のペリオスチンの変化を見ることで、バイオマーカーとしての有用性が向上することが示唆され、鼻副鼻腔由来のペリオスチンを特異性が高く測定できることが重要であると考えられた。慢性副鼻腔炎鼻茸におけるペリオスチンアイソフォームは、副鼻腔炎の重症度にかかわらず、全症例で isoform 5 が最も強く発現していた。NHLF 細胞とは isoform の発現のパターンが異なっており、鼻副鼻腔組織での組織特異性があると考えられる。このことから、血清中のペリオスチン isoform 5 を測定することで、より有用性の高い好酸球性副鼻腔炎のバイオマーカーとして使用できる可能性が考えられる。しかしながら、タンパク質としてのペリオスチン isoform を定量する技術が確立されておらず、今後の重要な検討課題である。

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 Ninomiya T, Noguchi E, Haruna T, Hasegawa M, Yoshida T, Yamashita Y, Okano M, Yoshida N, Haruna S, Sakuma Y, Ohta S, Ono J, Izuhara K, Okada M, Kidoguchi M, Tokunaga T, Okamoto M, Kanno M, Sakashita M, Takabayashi T, Narita N, Fujieda S.	4. 巻 8(1)
2. 論文標題 Periostin as a novel biomarker for postoperative recurrence of chronic rhinosinitis with nasal polyps.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 11450
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-29612-2.	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 二之宮貴裕、加藤幸宣、意元義政、高林哲司、藤枝重治
2. 発表標題 好酸球性副鼻腔炎におけるペリオスチンアイソフォームの検討
3. 学会等名 第57回日本鼻科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 二之宮貴裕、意元義政、高林哲司、坂下雅文、藤枝重治
2. 発表標題 好酸球性副鼻腔炎におけるペリオスチンとアイソフォームの検討
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 二之宮貴裕、吉田加奈子、加藤幸宣、坂下雅文、高林哲司、藤枝重治
2. 発表標題 血清ペリオスチンによる好酸球性副鼻腔炎のエンドタイプニング
3. 学会等名 第68回日本アレルギー学会学術大会
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
--	---------------------------	-----------------------	----