

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：若手研究（B）
研究期間：2007～2008
課題番号：19791242
研究課題名（和文） 慢性副鼻腔炎に伴う鼻茸の発症機序の解明；
肥満細胞と上皮細胞、繊維芽細胞の相互作用
研究課題名（英文） Detecting the development of nasal polyp with chronic sinusitis；
mutual relationship between mast cell, epithelial cell and
fibroblast
研究代表者 増野聡（MASUNO SATOSHI）
日本医科大学 医学部 助教
研究者番号：30366710

研究成果の概要：

鼻茸、副鼻腔粘膜の肥満細胞における TLR 1、2、3、4 の発現を免疫組織学的に実証した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2007 年度	1,500,000	0	1,500,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総 計	2,900,000	420,000	3,320,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：Toll-like receptor、Nasal polys、Sinusitis

1. 研究開始当初の背景

鼻茸の発祥きじよは明らかではないが、慢性炎症が鼻茸の大きな要因と考えられている。鼻茸の組織浸潤細胞の 60% 以上が好酸球であり、肥満細胞や T 細胞の増加も報告されている。

鼻茸組織においても好酸球の生存や遊走能において重要とされる GM-CSF、IL-5、RANTES、Eotaxin などのサイトカイン・ケモカインが増加している。また、増加している VEGF や TGF- β の働きにより、鼻茸組織の浮腫と血管新生は促進されると考えられる。更に TGF- β は繊維芽細胞の機能に影響を与え、好酸球の浸潤と間質の繊維化を誘発する。鼻茸組織ではアルブミン、ヒスタミンや、IgE、IgG などの免疫タンパクといったメディエーターも増加している。

アトピー患者の鼻茸では、IgE が産生され、IgE-肥満細胞-Fc ϵ R1 カスケードを經由して鼻茸を発生させる。実際、鼻茸に Staphylococcal enterotoxin A、B の特異的 IgE の存在が報告され、この値は好酸球の ECP と相関していた。

肥満細胞は先天免疫および獲得免疫の両方で機能している。鼻茸における肥満細胞活性化のメカニズムはまだ解明されていない。

2. 研究の目的

ヒト Toll-Like Receptor (TLR) は病原体により引き起こされる炎症反応を制御する上で重要かつ興味深い受容体であるが、無菌的炎症の増強にも何らかの役割を果たしている。TLR を介するシグナルは Th1 タイプ

の免疫応答に必要であるが、Th2 タイプの免疫応答の誘導にも必要と考えられている。鼻茸ではそのような Th1 および Th2 両タイプの免疫反応の混在が特徴的に認められる。今回、我々は鼻茸の好酸球性炎症を誘導させる肥満細胞の活性化には細菌特異的 IgE と TLR を介したシグナリングが重要であるという仮説を打ち立てた。また、肥満細胞、T 細胞に由来するメディエーターが上皮細胞や線維芽細胞の機能を亢進させ、鼻茸での好酸球性炎症において重要な役割を果たすという仮説を立てた。今回の研究はこの仮説を証明し、肥満細胞をターゲットにした新しい鼻茸の治療法を模索する事を目標とした。

3. 研究の方法

まず、鼻茸、副鼻腔粘膜、コントロールの組織粘膜の肥満細胞における TLR 1、2、3、4 の発現を確認するために、各検体における TLR 1、2、3、4 の mRNA の発現を RT-PCR にて検索し、また、各検体において抗 CD 3、MBP、トリプターゼ抗体と TLR 1、2、3、4 抗体を用いた二重染色を行い、免疫組織学的な検討を行なった。

この後、鼻茸組織からの肥満細胞を分離培養し、

1. Staphylococcal enterotoxin A、B を加えて刺激し、肥満細胞から分泌されるヒスタミン、トリプターゼ、IL-13、NGF、TGF- β を測定する。
2. LPS を用いて肥満細胞を刺激し、肥満細胞から分泌されるヒスタミン、トリプターゼ、IL-13、TGF- β を測定する。
3. RSV を用いて肥満細胞を刺激し、肥満細胞から分泌されるヒスタミン、トリプターゼ、IL-13、TGF- β を測定する。

という予定を立てていたが、肥満細胞の分離培養が予想以上に困難で培養法を確立できず、そこまでは至っていない。

4. 研究成果

まず最初の目標としていた鼻茸、副鼻腔粘膜における TLR 1、2、3、4 の発現を免疫組織学的に実証された。我々は鼻茸組織及び鼻粘膜での免疫染色における肥満細胞での TLR 1、2、3、4 の発現を確認した。また、これらの組織における TLR 1、2、3、4 の mRNA の発現を RT-PCR にて確認し、抗 CD3、MBP、トリプターゼ抗体と TLR 1、2、3、4 抗体を用い、二重染色し、これらが肥満細胞において発現していることを確認しつつある。これにより、鼻茸、副鼻腔粘膜に TLR 1、2、3、4、が発現している事が裏付け

られる。

更に慢性副鼻腔炎に伴う鼻茸から採取した上皮細胞を分離し単離培養し、Staphylococcal enterotoxin A、B、LPS、RSV で刺激し、上澄みを用いて肥満細胞を刺激する事で、これらの刺激による肥満細胞の TLR2、3、4 の発現をフローサイトメトリーにより確認を行なっている。しかし、平成 20 年度に取り掛かっている予定であった肥満細胞の分離培養が困難であり、現在その培養方法の確立を行なっている段階である。

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)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

増野 聡 (MASUNO SATOSHI)
日本医科大学・医学部・助教
30366710

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者