

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09869

研究課題名（和文）サイトカインの網羅的解析による好酸球性鼻副鼻腔疾患の病態解析と新規治療法の開発

研究課題名（英文）The expression of inflammatory mediator in eosinophilic upper airway disease

研究代表者

野田 洋平（Noda, Yohei）

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：00587404

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：鼻副鼻腔炎は鼻茸の有無や炎症のタイプによっていくつかのサブタイプに分類される。好酸球性鼻副鼻腔炎はその一つであり、喘息を合併することが多く非常に難治性であるという特徴を持つ。また、アレルギー性鼻炎は非常に患者数が多く、特にスギ花粉症は労働生産性の低下など大きな社会的損失の原因となっている。本研究では、好酸球性鼻副鼻腔炎症例やアレルギー性鼻炎症例を対象に組織中の各種サイトカイン、ケモカイン、各種受容体、およびプロスタグランジン関連因子の発現を遺伝子レベルおよびタンパクレベルで検討を行った。その結果、好酸球性鼻副鼻腔炎症例では、組織中の各種炎症因子の発現が高値であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性鼻副鼻腔炎は副鼻腔炎のサブタイプの一つであり、非常に難治性である。手術を含む集学的を行なった後に再燃することも多い。また、アレルギー性鼻炎は患者数が多い上に、鼻汁、鼻閉、集中力低下などの症状により労働生産性の低下や児童の学習障害の原因となっている。両疾患に対しては根本的な治療法が確立されていない。本研究の結果、好酸球性鼻副鼻腔炎症例やアレルギー性鼻炎症例では鼻副鼻腔組織において各種炎症因子の発現が高度であった。本研究で明らかとなった知見は将来の新規治療法の開発につながる可能性があり、学術的および社会的意義があるものと思われる。

研究成果の概要（英文）：Eosinophilic chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis are intractable diseases and reduces quality of life (QOL). Both are pathologically characterized by increased eosinophil infiltration in the tissue. Type 2 cytokines including interleukin (IL)-4, IL-13, IL-5 produced by CD4+ T helper 2 cells (Th2), eosinophils, mast cells have an important role in the pathogenesis of the diseases. We show in this study that eosinophilic chronic rhinosinusitis is classified into several groups according to the expression patterns of immunological factors. This study provides a new perspective in the management of eosinophilic chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：副鼻腔炎 アレルギー性鼻炎 サイトカイン 炎症 免疫

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性鼻炎は疾患頻度が高く、また、好酸球性鼻副鼻腔炎は非常に難治性である。これらの疾患は患者の生活の質を下げるだけでなく、労働生産性の低下など、社会的にも大きな問題となっている。アレルギー性鼻炎や好酸球性鼻副鼻腔炎は既存の薬剤や外科的治療では対応困難な場合がある。このため、従来とは異なる視点からの治療法の確立が望まれている。

研究代表者はアレルギー性鼻炎や慢性副鼻腔炎などを対象にサイトカインの研究を行ってきた (Allergol Int. 2014;63:563-73.)。サイトカインは多くの種類が存在するうえに、それぞれが複雑な作用機序をもっている。

好酸球性上気道疾患におけるサイトカインを含む各種炎症因子の発現と機能は、十分には解明されていない。また、サイトカインなどを誘導する過程で重要である Toll 様受容体やインフラマソームが好酸球性上気道疾患の病態形成に与える影響は解析が進みつつある途上である。

今回、アレルギー性鼻炎や好酸球性鼻副鼻腔炎において、サイトカインやケモカインをはじめとする各種炎症因子を制御することが、新たな治療選択肢になるのではないかという学術的な問いを明らかにするために本研究を立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、アレルギー性鼻炎や好酸球性鼻副鼻腔炎などの好酸球性上気道疾患において、その病態を解明し、新規治療法を開発することである。

研究代表者と分担研究者は、マクロファージ遊走阻止因子などの炎症因子に着目して研究を行ってきた (Acta Otolaryngol. 2016;136:1011-6.)。本研究の学術的な独自性・独創性は、好酸球性上気道疾患における炎症因子の発現と作用を明らかにする点である。また、サイトカインを中心とした炎症シグナル系に重点をおいた上で、炎症因子を網羅的に解析する点も創造的である。これにより従来は注目されていなかった炎症因子が明らかとなる可能性がある。

本研究を行うことによって、マクロファージ遊走阻止因子をはじめとするサイトカインなどの各種炎症因子が、好酸球性上気道疾患に与える影響を明らかにする。本研究から得られた知見によって、好酸球性上気道疾患に対する新規検査・治療法の開発や創薬展開が期待できる。また、サイトカインが関与する炎症性疾患は多数存在することから、それらの疾患の病態解析へ本研究の成果を展開できる可能性がある。このため、本研究は波及効果が大きく、また、普遍性をもつものである。

3. 研究の方法

ヒトアレルギー性鼻炎症例やヒト好酸球性鼻副鼻腔炎症例を対象に、手術の際に切除した鼻副鼻腔組織をサンプルとして用いる。正常コントロールとして、経鼻的下垂体腫瘍手術の際に採取した炎症所見のない鼻副鼻腔組織を用いる。臨床検体は、治療上の必要性から切除した組織のみを実験に使用し、本研究のために組織採取を行うことはない。マウスでの実験結果を参考に、重要と思われるサイトカインやケモカインおよびその受容体の発現をヒト臨床検体で検討する。具体的には、マクロファージ遊走阻止因子を含む各種因子について、クラスター解析で遺伝子発現を調べ、臨床サンプルをいくつかのグループに分類する。その上で、リアルタイム PCR 法により遺伝子レベルを比較検討するとともに、免疫組織学的にタンパクレベルで検討する。また、臨床データとの関連性を調べ、それらの臨床的意義を解析する。本検討により、ヒトにおいて重要と思われる因子の絞り込みをおこなう。

好酸球性鼻副鼻腔炎患者の鼻茸を採取し、酵素処理により鼻茸細胞を分離する。培養した鼻茸分離細胞を種々の炎症因子で刺激し、24 時間後および 72 時間後に培養上清を回収する。重要と思われた好酸球性炎症に関連するサイトカイン・ケモカインに関して、その産生と、その産生に対する他のサイトカインや中和抗体による制御機構を ELISA 法にて解析する。

4. 研究成果

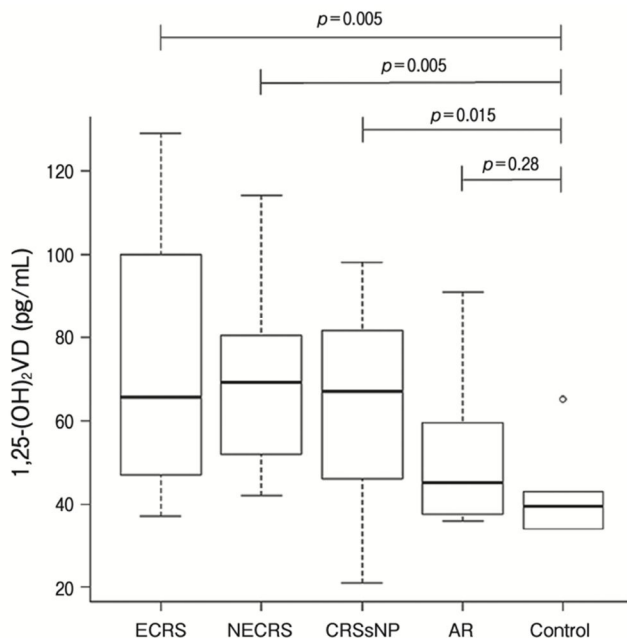
クラスター解析により患者サンプルを 3 群に分類したところ、第一グループは好酸球性鼻副鼻腔炎患者の鼻茸組織が大部分を占めていた。第二グループは非好酸球性鼻副鼻腔炎患者の鼻茸組織と鼻茸のない慢性副鼻腔炎患者の鼻粘膜組織が占めていた。第三グループは慢性副鼻腔炎のない患者の鼻粘膜組織であった。第一グループの遺伝子発現については、2 型ヘルパー T (TH2) 細胞が関与する炎症因子 (インターロイキン 4、インターロイキン 5、インターロイキン 13、胸腺間質性リンパ球新生因子、インターロイキン 1 受容体、プロスタグランジン-D シンターゼ、抗 G-タンパク質共役型レセプター 44 など) が他のグループと比較して有意に高発現していた。第二グループはインターロイキン 17、プロスタグランジン E が他のグループと比較して高

発現していた。第三グループはインターロイキン 25 が他のグループと比較して高発現していた。第一および第二グループは、第三グループと比較してインターロイキン 4 受容体、インターロイキン 10 受容体、胸腺間質性リンパ球新生因子受容体、プロスタグランジン エンドペルオキシドシターゼ 1 が高発現していた。第一グループは第二グループと比較してインターロイキン 10 が高発現していた。

クラスター解析により患者サンプルを 4 群に分類したところ、第一グループは好酸球性鼻副鼻腔炎患者の鼻茸組織が大部分を占めていた。第二グループは非好酸球性鼻副鼻腔炎患者の鼻茸組織が大部分を占めていた。第三グループは鼻茸のない慢性副鼻腔炎患者の鼻腔組織が大部分を占めていた。第四グループは非慢性副鼻腔炎患者の鼻腔組織が大部分を占めていた。第一グループは他のグループと比較してインターロイキン 4、インターロイキン 5、インターロイキン 13、胸腺間質性リンパ球新生因子、インターロイキン 1 受容体、インターロイキン 5 受容体、プロスタグランジン-D シターゼ、抗 G-タンパク質共役型レセプター 44 が高発現していた。第二グループは他のグループと比較してインターロイキン 17 が高発現していた。第三グループは特徴的な遺伝子発現が見られなかった。第三グループはインターロイキン 25 が他のグループと比較して高発現していた。第一、第二、第三グループは第四グループと比較してインターロイキン 5 受容体、インターロイキン 10 受容体、インターロイキン 10、胸腺間質性リンパ球新生因子受容体、プロスタグランジン エンドペルオキシドシターゼ 1 が高発現していた。

サンプルを 3 群に分類したところ、第一グループは主に好酸球性鼻副鼻腔炎患者、第二グループは主に非好酸球性鼻副鼻腔炎患者、第三グループは主に慢性副鼻腔炎のない患者の鼻粘膜組織であったため、この分類で臨床データの比較検討を行なった。その結果、末梢血好酸球数、ルンド・マッケイ・コンピュータ断層撮影スコア、喘息合併率、鼻副鼻腔手術後の再発率が各群間で有意に異なっていた。個別の群間比較においては、第一グループは末梢血好酸球数、組織中好酸球数が第二、第三グループと比較して有意に多かった。第一、第二グループは第三グループと比較してルンド・マッケイ・コンピュータ断層撮影スコアが有意に大きかった。組織中好中球数、血清総免疫グロブリン E、呼吸機能検査における 1 秒率は各群間で有意差を認めなかった。

免疫機能に影響を与えるビタミン D に関して、末梢血中の濃度を検討したところ、好酸球性鼻副鼻腔炎患者およびアレルギー性鼻炎患者のビタミン D 濃度は正常コントロールと比較して有意に高かった (図)。



図：末梢血中のビタミン D 濃度
 ECRS：好酸球性鼻副鼻腔炎
 NECRS：非好酸球性鼻副鼻腔炎
 CRSsNP：鼻茸のない慢性副鼻腔炎
 AR：アレルギー性鼻炎
 Control：正常

本研究課題で得られた成果は、好酸球性鼻副鼻腔炎患者およびアレルギー性鼻炎患者の新たな特徴を明らかにしたものであり、好酸球性鼻副鼻腔炎患者およびアレルギー性鼻炎患者の病態解明や新規治療法の開発につながるものである。好酸球性鼻副鼻腔炎およびアレルギー性鼻炎は罹患者数が多いため、大きなインパクトがある。また、アレルギー性疾患は数多く存在することから、それらの病態の解析に本成果を応用でき、今後の医学の発展に大きく寄与することが見込まれる。

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 Makihara S, Kariya S, Miyamoto S, Uraguchi K, Oka A, Tsumura M, Noda Y, Ando M, Okano M.	4. 巻 76
2. 論文標題 Serum 1,25-dihydroxyvitamin D3 Levels in Patients with Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Med Okayama	6. 最初と最後の頁 527-533
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18926/AMO/64033	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0件

〔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	假谷 伸 (Shin Kariya) (10274226)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授 (15301)	
研究分担者	津村 宗近 (Munechika Tsumura) (20817374)	岡山大学・大学病院・医員 (15301)	

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