

令和 5 年 6 月 18 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09686

研究課題名（和文）線溶系制御による好酸球性副鼻腔炎に対する新規治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel treatment for eosinophilic sinusitis by controlling the fibrinolytic system.

研究代表者

高林 哲司（Takabayashi, Tetsuji）

福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・講師

研究者番号：70397272

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）：好酸球性副鼻腔炎において鼻茸の形成メカニズムを解明することは非常に重要であるが我々はこれまでの研究で浮腫の遷延化には鼻副鼻腔粘膜におけるフィブリン網の過剰な形成が関与していることを明らかにしてきた。本研究では凝固系亢進に関して鼻副鼻腔粘膜に浸潤したM2マクロファージの関与を明らかにした。さらにNasal NOは好酸球性副鼻腔炎で有意に低下しており病態を反映するバイオマーカーになり得ること、またはバイオ製剤使用において継続、減量の判断に際して内視鏡所見よりより有用な情報となり得ることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性副鼻腔炎は難治性の疾患で指定難病にも登録されている。鼻副鼻腔粘膜の浮腫の遷延によって形成される鼻茸は鼻腔に特徴的な病変で同じ気道の2型炎症性疾患である気管支喘息やアトピー性皮膚炎患者においてこのような病変の局所での形成は認められない。好酸球性副鼻腔炎において鼻茸の形成メカニズムを解明することは非常に重要であるが、本結果は凝固線溶系の不均衡を解除し新規治療法の開発に有用であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In eosinophilic sinusitis, it is of great importance to understand the mechanism of nasal mushroom formation, and our previous studies have shown that excessive fibrin network formation in the nasal sinus mucosa is responsible for the prolonged oedema. In the present study, we have demonstrated the involvement of M2 macrophages infiltrating the nasal sinus mucosa in the enhancement of the coagulation system. Furthermore, Nasal NO was significantly decreased in eosinophilic sinusitis and could be a biomarker for the condition, or could provide more useful information than endoscopic findings when deciding whether to continue or reduce the use of biologics.

研究分野：上気道アレルギー疾患

キーワード：好酸球性副鼻腔炎 フィブリン 組織型プラスミノゲンアクチベーター 好酸球 M2マクロファージ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎は近年我が国において増加傾向にある難治性の疾患である。重症例に対して手術が行われるが、病的粘膜が副鼻腔を充満するため、予期せぬ出血や頭蓋内、眼窩内の損傷を来すこともある。ステロイドの投与が奏功するが、長期投与を余儀なくされ、副作用が問題になる。近年好酸球や Th2 サイトカインを標的とした分子標的治療薬の治療成績の報告もあるが効果発現のメカニズムは不明な点もあり、更なる病態の解明が必要である。

好酸球性副鼻腔炎の病態メカニズムと課題：

頑固な嗅覚障害や気管支喘息の合併は好酸球性副鼻腔炎の重要な特徴であるが、治療の主なターゲットは中鼻道周囲や嗅裂、副鼻腔、特に篩骨洞粘膜の浮腫性病変から形成される鼻茸である。鼻茸を含めた副鼻腔の浮腫性病変はシステインルロイコトリエン (CysLT) など炎症性メディエーターのリザーバーとして機能するため、気管支喘息など合併疾患の増悪にも関与する。鼻茸は鼻・副鼻腔粘膜の高度の炎症によって末梢血管の透過性が亢進し、血漿蛋白が組織中に漏出することで過度な浮腫が生じ、これが何らかの理由で遷延化し、鼻茸が形成されると考えられる。しかし鼻茸の形成メカニズムについては不明な点が多い。

申請者はこれまでに鼻粘膜内に形成された過剰なフィブリン網の分解障害が浮腫の遷延化の原因であることを発見し、フィブリン網の分解を担う線溶系のキープレイヤーである組織型プラスミノゲアクチベーター (t-PA) が鼻茸において著しく抑制されていることを報告した。エピジェネティクスの検討でも鼻茸において t-PA のプロモーター領域のメチル化が t-PA の発現低下の原因であることも発見した。このように鼻粘膜における t-PA の発現は鼻茸形成メカニズムの中心であると考えられるが、t-PA の制御機構については良く分かっていない。

アスピリン喘息は好酸球性副鼻腔炎の最重症タイプに分類され、合併する鼻茸も極めて難治性で易再発性である。アスピリン喘息の鼻粘膜において t-PA の発現がさらに低下し、その活性自体がほとんど消失していることも分かった。また actin binding protein である L-plastin がアスピリン喘息の鼻茸において増加しており、好酸球を中心とした凝固系の亢進に関与することを明らかにした。アスピリン喘息を含めた好酸球性副鼻腔炎の病態には CysLT の過剰産生が関与しており、実際鼻茸の除去によって血中の CysLT が減少し、喘息の症状を軽減させることが分かっている。しかし鼻粘膜における CysLT を産生メカニズムは分かっていない。申請者は好酸球と血小板が L-plastin を介して結合し、CysLT 産生が誘導されるのではないかと考えている。

2. 研究の目的

本研究の目的は鼻・副鼻腔粘膜において浮腫を遷延化させる過剰なフィブリン網の制御機構の解明、そしてこれらに基づいた好酸球性副鼻腔炎に対する新規治療法の開発である。

(1) 凝固・線溶系異常によるフィブリン網異常沈着メカニズムの解明

手術摘出組織を用いて蛍光免疫組織化学を行い、フィブリン網を産生する主細胞を同定し、培養細胞によるフィブリン網形成のリアルタイム観察を行う。

(2) 鼻茸における CysLT 産生機構の解明

イメージング質量分析による鼻茸組織における CysLT 分布の検討を行う。

(3) 腸内細菌による短鎖脂肪酸産生と鼻粘膜における t-PA 産生

短鎖脂肪酸が鼻粘膜における t-PA 発現を亢進させる (図 1) ため、腸内細菌が鼻粘膜における t-PA 発現に影響し鼻茸の形成に関与している可能性がある。腸内細菌の短鎖脂肪酸産生による t-PA 誘導の鼻茸への関与をマウスを用いて検討する。

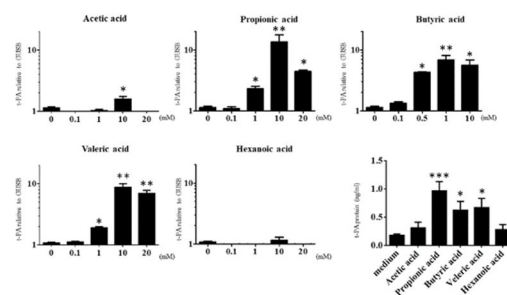


図 1. 短鎖脂肪酸は気道上皮細胞からの t-PA 産生を増加させる
* $P < .05$, ** $P < .01$, *** $P < .001$

3. 研究の方法

(1) 鼻茸中のフィブリン網の定量と臨床データとの関連

フィブリン網の定量には光散乱法、混濁測定など特殊な機器や複雑な計算が必要である。ナットウキナーゼは鼻茸中のフィブリン網をほぼ分解するため、鼻茸をナットウキナーゼで処理し、フィブリン網の分解産物であるd-dimer量を測定することで間接的に定量できると考えている。フィブリン網の量と臨床データ(呼気NO、鼻腔NO)、好酸球数、再発の有無、臨床症状スコア、CT、内臓脂肪量)との相関を検討し病態への関与や再発への影響を調べる。

(2) 鼻粘膜においてフィブリン網の合成に直接関与する細胞の同定:

鼻茸組織におけるフィブリン網は細胞を取り囲むように島状に形成される(図2)。この事から鼻粘膜において、ある特定の細胞が直接フィブリン網の合成に関与していることが予想される。各種細胞に特異的なマーカーを使用し、多重蛍光免疫組織化学にて同定する。

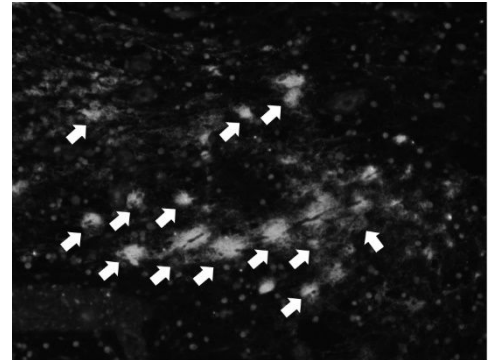


図2. 鼻茸組織におけるフィブリン網の合成(矢印)
特定の細胞の周囲にフィブリン網も合成が認められる。

(3) 鼻茸モデルマウスの作成

好酸球性副鼻腔炎モデルマウスの作成に関する報告はあるが、肝心の鼻茸の形成には至っていない。本研究ではplasminの阻害薬を使う事で線溶系を遮断し、炎症によって形成されたフィブリン網の分解が抑制され鼻茸を形成させる事が出来ると考えている。Plasmin inhibitorは15種類の試薬が市販されておりこれらを試してみる。

(4) 質量分析イメージング法を用いたCysLTの鼻粘膜における分布の検討

脂肪酸代謝によって生理活性物質であるエイコサノイドが生成される。その中でもCysLTは強力な炎症誘導作用によって好酸球性副鼻腔炎の病態に関与し、n-3系脂肪酸由来のものは抗炎症作用がある。これらの脂質メディエーターは分子が小さく免疫組織化学では同定できないため組織内での空間的な動態を観察することは困難であった。本研究では質量分析イメージング法によってエイコサノイドが鼻茸内でどの細胞がどの領域で産生されるのかを明らかにする。

(5) 腸内細菌が鼻粘膜におけるt-PA産生に与える影響の検討

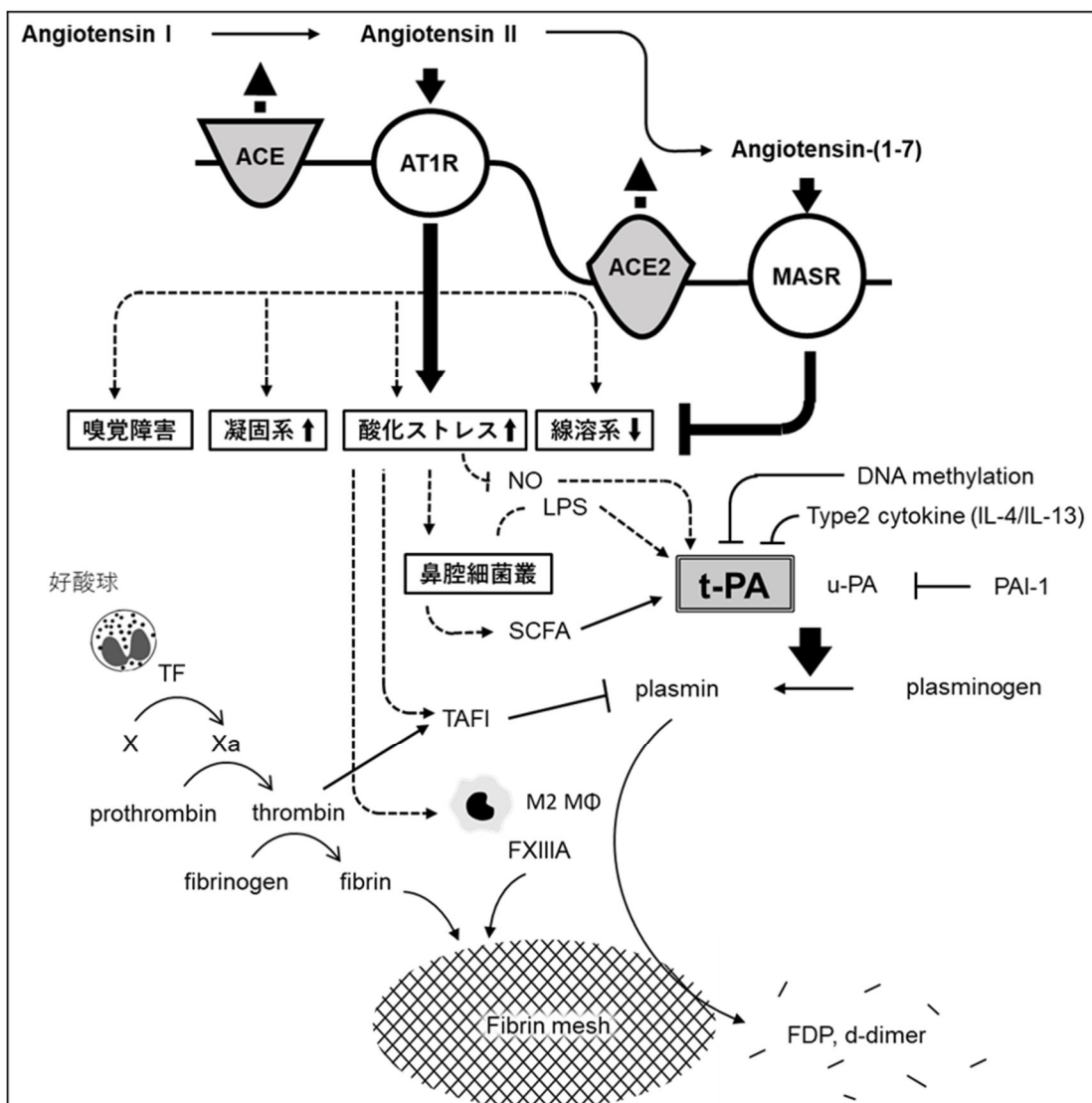
本研究ではマウスに異なる種類の食物繊維(レジスタントスターチ、小麦ふすま、ペクチン、グァーガム、オーツブラン、フラクトオリゴ糖)を与えた後に短鎖脂肪酸、t-PAの産生を検討する(腸内、血中、鼻粘膜)。最も強くt-PAを誘導した組み合わせを用いて鼻茸モデルマウスに投与し、鼻茸の縮小効果を検討する。

4. 研究成果

好酸球性副鼻腔炎は難治性の疾患で指定難病にも登録されている。鼻副鼻腔粘膜の高度の浮腫による高度の鼻閉と嗅覚障害が主な症状であるが気管性喘息や好酸球性中耳炎の合併も多い。鼻副鼻腔粘膜の浮腫の遷延によって形成される鼻茸は鼻腔に特徴的な病変で同じ気道の2型炎症性疾患である気管支喘息やアトピー性皮膚炎患者においてこのような病変の局所での形成は認められない。好酸球性副鼻腔炎において鼻茸の形成メカニズムを解明することは非常に重要であるが我々はこれまでの研究で浮腫の遷延化には鼻副鼻腔粘膜におけるフィブリン網の過剰な形成が関与していることを明らかにしてきた。

鼻副鼻腔粘膜におけるフィブリン網の過剰形成には凝固系と線溶系の不均衡が深く関与している。今回の研究では凝固系亢進に関して鼻副鼻腔粘膜に浸潤したM2マクロファージの関与を明らかにした。またレニンアンジオテンシン系のバランスの不均衡が鼻副鼻腔粘膜における凝固系異常に関与することも明らかにした(下図)。線溶系の異常に関しては副鼻腔由来の一酸化窒素(nasal NO)の関与について研究を進めた。Nasal NOは好酸球性副鼻腔炎で有意に低下しており病態を反映するバイオマーカーになり得ること、またはバイオ製剤使用において継続、減量の判断に際して内視鏡所見よりより有用な情報となり得ることも明らかにした。さらに培養細胞を用いた検討ではNOが気道上皮細胞において線溶系を亢進させる働きがあることを発見した。線溶系において最も重要な組織型プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)の発現が好酸球性副鼻腔炎では低下しておりt-PAの発現誘導は好酸球性副鼻腔炎の治療に極めて有用である。今回短鎖脂肪酸の幾つかで強いt-PAの誘導と鼻腔に存在する細菌にもt-PAを誘導する作用があることが分かった。

本結果は凝固線溶系の不均衡を解除し新規治療法の開発に有用であると考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11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 Takabayashi Tetsuji, Yoshida Kanako, Imoto Yoshimasa, Schleimer Robert P., Fujieda Shigeharu	4. 巻 36
2. 論文標題 Regulation of the Expression of SARS-CoV-2 Receptor Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Nasal Mucosa	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Rhinology & Allergy	6. 最初と最後の頁 115-122
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/19458924211027798	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takabayashi Tetsuji, et. al	4. 巻 35
2. 論文標題 A Phase II, Multicenter, Randomized, Placebo-Controlled Study of Benralizumab, a Humanized Anti-IL-5R Alpha Monoclonal Antibody, in Patients With Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Rhinology & Allergy	6. 最初と最後の頁 861-870
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/19458924211009429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ogi Kazuhiro, Takabayashi Tetsuji, Tomita Kaori, Sakashita Masafumi, Morikawa Taiyo, Ninomiya Takahiro, Okamoto Masayuki, Narita Norihiko, Fujieda Shigeharu	4. 巻 9
2. 論文標題 ORMDL3 overexpression facilitates Fc RI mediated transcription of proinflammatory cytokines and thapsigargin mediated PERK phosphorylation in RBL 2H3 cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Immunity, Inflammation and Disease	6. 最初と最後の頁 1394-1405
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/iid3.489	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshida Kanako, Takabayashi Tetsuji, Kaneko Atsushi, Takiyama Mikina, Sakashita Masafumi, Imoto Yoshimasa, Kato Yukinori, Narita Norihiko, Fujieda Shigeharu	4. 巻 267
2. 論文標題 Baicalin suppresses type 2 immunity through breaking off the interplay between mast cell and airway epithelial cell	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Ethnopharmacology	6. 最初と最後の頁 113492-113492
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jep.2020.113492	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osawa Y, Ito Y, Takahashi N, Sugimoto C, Kohno Y, Mori S, Morikawa T, Kato Y, Okamoto M, Kanno M, Takabayashi T, Fujieda S.	4. 巻 69(2)
2. 論文標題 Epidemiological study of oral allergy syndrome in birch pollen dispersal-free regions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 246-252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2019.09.008	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 Oka A, Ninomiya T, Fujiwara T, Takao S, Sato Y, Gion Y, Minoura A, Haruna SI, Yoshida N, Sakuma Y, Izuhara K, Ono J, Taniguchi M, Haruna T, Higaki T, Kariya S, Koyama T, Takabayashi T, Imoto Y, Sakashita M, Kidoguchi M, Nishizaki K, Fujieda S, Okano M.	4. 巻 69(3)
2. 論文標題 Serum IgG4 as a biomarker reflecting pathophysiology and post-operative recurrence in chronic rhinosinusitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 417-423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2019.12.004.	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 Imoto Y, Takabayashi T, Sakashita M, Kato Y, Yoshida K, Kidoguchi M, Koyama K, Adachi N, Kimura Y, Ogi K, Ito Y, Kanno M, Okamoto M, Narita N, Fujieda S.	4. 巻 18;10(11)
2. 論文標題 Enhanced 15-Lipoxygenase 1 Production is Related to Periostin Expression and Eosinophil Recruitment in Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1568
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10111568.	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 Kidoguchi M, Yoshida K, Noguchi E, Nakamura T, Morii W, Haruna T, Okano M, Yamashita Y, Haruna S, Hasegawa M, Yoshida N, Ninomiya T, Imoto Y, Sakashita M, Takabayashi T, Fujieda S.	4. 巻 69(4)
2. 論文標題 Association between the NOS2 pentanucleotide repeat polymorphism and risk of postoperative recurrence of chronic rhinosinusitis with nasal polyps in a Japanese population.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 619-621
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2020.04.005.	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 Sakashita M, Tsutsumiuchi T, Kubo S, Tokunaga T, Takabayashi T, Imoto Y, Kato Y, Yoshida K, Kimura Y, Kato Y, Kanno M, Ogi K, Okamoto M, Narita N, Fujieda S.	4. 巻 70(1)
2. 論文標題 Comparison of sensitization and prevalence of Japanese cedar pollen and mite-induced perennial allergic rhinitis between 2006 and 2016 in hospital workers in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 89-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2020.07.004	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 Yoshida K, Takabayashi T, Imoto Y, Sakashita M, Kato Y, Narita N, Fujieda S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Increased Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor in Response to Sublingual Immunotherapy for Allergic Rhinitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Laryngoscope	6. 最初と最後の頁 2413-2420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lary.29563.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takabayashi T, Asaka D, Okamoto Y, Himi T, Haruna S, Yoshida N, Kondo K, Yoshikawa M, Sakuma Y, Shibata K, Suzuki M, Kobayashi M, Kawata R, Tsuzuki K, Okano M, Higaki T, Takeno S, Kodama S, Yonekura S, Saito H, Nozaki A, Otori N, Fujieda S	4. 巻 11
2. 論文標題 A Phase II, Multicenter, Randomized, Placebo-Controlled Study of Benralizumab, a Humanized Anti-IL-5R Alpha Monoclonal Antibody, in Patients With Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Rhinology & Allergy	6. 最初と最後の頁 861-870
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/19458924211009429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件(うち招待講演 8件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Tetsuji Takabayashi
2. 発表標題 Coagulation and Nasal Polyp Formation
3. 学会等名 2022 AAAAI Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsuji Takabayashi
2. 発表標題 Biologic drugs for the treatment of chronic rhinosinusitis with nasal polyps
3. 学会等名 18th Japan-Korea Joint Meeting of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高林哲司
2. 発表標題 Type 2 炎症をターゲットにした好酸球性副鼻腔炎治療
3. 学会等名 第 6 0 回日本鼻科学会総会・学術講演会、ならびに20th Asian Research Symposium in Rhinology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高林哲司
2. 発表標題 IL-4/13を標的にした好酸球性副鼻腔炎治療の可能性
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高林哲司
2. 発表標題 鼻茸を伴う慢性鼻副鼻腔炎(CRSwNP)における鼻茸スコアおよびType2炎症biomarkerに対するdupilumabの効果
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高林哲司
2. 発表標題 慢性気道炎症性疾患制御に向けた 治療アプローチ
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科学会秋季大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高林哲司
2. 発表標題 デュピルマブによる鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎患者の血液、尿、および鼻汁におけるType2炎症バイオマーカーの抑制：SINUS-52 第3相臨床試験
3. 学会等名 第59回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高林哲司
2. 発表標題 鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎の発症と 病態におけるType 2 炎症の役割
3. 学会等名 第59回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高林哲司
2. 発表標題 増加するアレルギー性鼻炎とその対策
3. 学会等名 富山県呉西地区耳鼻咽喉科症例研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高林哲司
2. 発表標題 好酸性副鼻腔炎の 鼻ポリープ形成メカニズムとその制御の可能性
3. 学会等名 Type2炎症性疾患治療を考える会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 アンジオテンシン変換酵素2の発現抑制剤、および、アンジオテンシン変換酵素2を受容体とするウイルスに対する抗ウイルス剤	発明者 高林哲司、吉田加奈子、意元義政、藤枝重治	権利者 福井大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-146169	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	加藤 幸宣 (Kato Yukinori) (00748981)	福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・助教 (13401)	
研究分担者	吉田 加奈子 (Yoshida Kanako) (00773706)	福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・特命助教 (13401)	
研究分担者	坂下 雅文 (Sakashita Masafumi) (40555455)	福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・講師 (13401)	

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