

令和 6 年 4 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09703

研究課題名（和文）好酸球性副鼻腔炎新規治療開発のためのSIRT1活性化剤の基礎的研究

研究課題名（英文）Basic research of SIRT1 activator to treat eosinophilic sinusitis

研究代表者

中丸 裕爾（Nakamaru, Yuji）

北海道大学・医学研究院・准教授

研究者番号：20344509

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）：好酸球性副鼻腔炎の病態におけるSIRT1の役割を調べるため、1.好酸球性副鼻腔炎炎症局所におけるSIRT1発現、2.SIRT1による鼻粘膜上皮バリア機能の変化を評価した。まず好酸球性副鼻腔炎炎症局所のSIRT1の発現を免疫組織化学染色で確認した。結果下鼻甲介粘膜におけるSIRT1の発現は上皮細胞に多く認められた。次に上皮バリア機能を検討するために、鼻腔粘膜上皮の経上皮バリア機能におけるSIRT1の役割を検討した。抑制剤、促進剤のみでは、バリア機能に変化は認められなかった。

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中高年で発症するが、鼻粘膜は生下時から感染やストレスにさらされているにもかかわらず、なぜ中高年で発症するのか不明であった。本研究では老化の保護因子であるSIRT1蛋白に注目し、好酸球性副鼻腔炎鼻粘膜上皮バリア機能障害におけるSIRT1の関与を調べる。SIRT1が関与することが証明されれば、好酸球性副鼻腔炎の病態において最も重要な発症の引き金が解明される。

研究成果の概要（英文）：To investigate the role of SIRT1 in the pathology of eosinophilic sinusitis, we evaluated 1. SIRT1 expression in the inflamed area of eosinophilic sinusitis, and 2. SIRT1-induced changes in nasal mucosal epithelial barrier function. First, the expression of SIRT1 in the inflamed area of eosinophilic sinusitis was confirmed by immunohistochemical staining. SIRT1 expression in the inferior turbinate mucosa was found to be abundant in epithelial cells. Next, to examine epithelial barrier function, we investigated the role of SIRT1 in the transepithelial barrier function of the nasal mucosal epithelium. No change in barrier function was observed with the use of inhibitors and promoter drug alone.

研究分野：アレルギー

キーワード：好酸球性副鼻腔炎 SIRT1 サーチュイン

1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎は増加傾向にあり、現在では全国で推定約2万人の罹患者が存在する。内服治療や外科治療を行っても再燃再発を繰り返す症例が多く、罹患者のQOLを著しく下げているのももちろんのこと、医療経済上も大きな負担となっている。根治を期待できる方法は未だなく、好酸球性副鼻腔炎の病態に則した新規治療標的の開発などの治療戦略上のブレイクスルーが求められている。

好酸球性副鼻腔炎の発症機序は不明であるが、鼻腔上皮の障害が病因の一つであることが示唆されている。好酸球性副鼻腔炎では、上皮のバリア機能が障害されており、外来病原体が容易に上皮内に侵入し、上皮下に炎症が生じる。また、脆弱化した上皮自体に外来微生物が感染することで上皮細胞から放出される TSLP や IL-33 が上皮下に Th2 炎症を惹起し、好酸球の浸潤、ムチンの産生、フィブリンの析出が生じ、好酸球性副鼻腔炎の病態を形成する。しかし、好酸球性副鼻腔炎において発症の引き金となる上皮脆弱化の原因については判明していない。

申請者はこれまで、SIRT1 の炎症性疾患における役割について研究を進めてきた(Nakamaru Y et.al. FASEB J 2009)。SIRT1 はカロリー制限による寿命延長に必須の蛋白でヒストン脱アセチル化による炎症性遺伝子抑制作用を通じ、老化や各種ストレスに対する抵抗性を示す。このため、COPD など加齢により発症する慢性炎症性疾患の治療ターゲットとされている。副鼻腔炎における SIRT1 の役割について、申請者らは鼻茸形成に關与する MMP-9 の産生に SIRT1 の発現低下が關与すると報告している(Suzuki M, Nakamaru Y AJRCMB 2018)。

2. 研究の目的

本研究では、好酸球性副鼻腔炎の発症の引き金となる鼻粘膜上皮バリア機能障害における SIRT1 の関与を調べることを目的とした。

好酸球性副鼻腔炎は中高年で発症するが、鼻粘膜は生下時から感染やストレスにさらされているにもかかわらず、なぜ中高年で発症するのか不明であった。本研究では老化の保護因子である SIRT1 蛋白に注目し、好酸球性副鼻腔炎鼻粘膜上皮バリア機能障害における SIRT1 蛋白の関与を調べる。SIRT1 蛋白が關与することが証明されれば、好酸球性副鼻腔炎の病態において最も重要な発症の引き金が解明される。

すでに SIRT1 活性化剤はポリフェノールの1成分(レスベラトロール)を含め複数存在する。本薬剤の使用で鼻粘膜バリア機能が改善されれば新たな好酸球性副鼻腔炎の治療あるいは予防につながることを期待される。

3. 研究の方法

好酸球性副鼻腔炎炎症局所の病態における SIRT1 の関与を検討するため以下の2つの実験を行った。

A. 好酸球性副鼻腔炎炎症局所における SIRT1 蛋白の局在。

1. 手術時に摘出した好酸球性副鼻腔炎患者鉤状突起粘膜および鼻茸組織および対照として肥厚性鼻炎にて手術した下鼻甲介粘膜より凍結切片を作成した。
2. その切片を抗 SIRT1 抗体を用いて染色を行った。ABC 法にて発色して観察した。
3. 好酸球性副鼻腔炎炎症局所における SIRT1 の局在を検討した。

B. 培養鼻腔上皮細胞における SIRT1 抑制剤、促進剤の鼻粘膜上皮バリア機能に対する影響を検討した。

経上皮電気抵抗の測定

1. 手術時に摘出した下鼻甲介粘膜より鼻腔上皮細胞を単離した。
2. Transwell 上にて3日間培養液中で培養し、その後上層のメディウムを除去し、Air Liquid Interface (ALI) 法で培養した。
3. ALI 法にて28日培養後、SIRT1 の抑制剤(resveratrol)あるいは促進剤(splitomicin)を下層のメディウムに添加。薬剤投与30分後 Poly(I:C)を最終濃度 10 μ g/ml で添加し細胞を刺激する。刺激後 0、4、24、48 時間時点の経上皮電気抵抗を測定した。

4. 研究成果

1. 好酸球性副鼻腔炎炎症局所における SIRT1 蛋白局在の検討

下鼻甲介粘膜を SIRT1 抗体で染色すると、粘膜局所に SIRT1 の発現を認めた。特に粘膜上皮細

胞に SIRT1 が濃染した。粘膜上皮との内部では表層より基底層に強い発現を認めた。

2. 培養鼻腔上皮細胞における経上皮電気抵抗の SIRT1 促進剤、抑制剤の影響
SIRT1 抑制剤、促進剤の投与で鼻腔上皮バリア機能に変化は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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