

令和 6 年 4 月 8 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09639

研究課題名（和文）サイトカイン網羅的解析による好酸球性中耳炎病態の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the Pathogenesis of Eosinophilic Otitis Media through Comprehensive Analysis of Cytokines

研究代表者

高橋 優宏（Takahashi, Masahiro）

国際医療福祉大学・医学部・准教授

研究者番号：50315800

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：好酸球性中耳炎症例の中耳粘膜の遺伝子発現を網羅的に解析した。IL1RL1、IL5RA、IL17Aの遺伝子発現は、好酸球性中耳炎症例では高くなる傾向がみられた。一方、IFNG、IFNGR1、IL10RA、PTGES、PTGS1の発現は、対照症例と比較して低下する傾向がみられた。タイプ2サイトカインをコードする遺伝子には差がみられなかったが、タイプ2炎症の受容体をコードする遺伝子の発現は高値であった。さらに、タイプ2炎症を抑制するためのサイトカインやプロスタグランジンをコードする遺伝子の発現は低下しており、これが好酸球性中耳炎発病機序の一因であると示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性中耳炎は進行性の重度難聴に至る症例もある難治性疾患であり、その病態は十分に解明されていない。本研究において好酸球性中耳粘膜からタイプ2及びタイプ3サイトカインの上昇とタイプ2抑制サイトカインおよびプロスタグランジンの低下が確認され、タイプ2サイトカインが病態に関与していることが示唆された。好酸球性中耳炎病態の一因が解明され、本疾患に特異的な新規診断法および根治的治療法の確立が期待できる。

研究成果の概要（英文）： We conducted exhaustive analysis of gene expression in the middle ear mucosa of cases with eosinophilic otitis media. Gene expressions of IL1RL1, IL5RA, and IL17A tended to be higher in cases with eosinophilic otitis media. On the other hand, expressions of IFNG, IFNGR1, IL10RA, PTGES, and PTGS1 tended to decrease compared to control cases. Although no differences were observed in genes encoding type 2 cytokines, expressions of genes encoding receptors for type 2 inflammation were elevated. Furthermore, expressions of genes encoding cytokines and prostaglandins that suppress type 2 inflammation were reduced, suggesting their involvement in the pathogenesis of eosinophilic otitis media.

研究分野：好酸球性中耳炎

キーワード：好酸球性中耳炎 サイトカイン プロスタグランジン 難聴

1. 研究開始当初の背景

現在、慢性炎症は3つのタイプに大別される。タイプ1はIFN- γ などの1型サイトカインによる炎症、タイプ2はIL-4、IL-5、IL-13などの2型サイトカインによる炎症、タイプ3はIL-17AやIL-22などの3型サイトカインによる炎症である。好酸球性中耳炎は、好酸球の活性化やムチン産生あるいはIgE産生などを特徴とすることから、タイプ2炎症とされる。結核性中耳炎、ANCA関連血管炎性中耳炎と並ぶ難治性中耳炎の代表である。聾を生じるリスクから早期診断法や根治的治療法あるいは予防法の確立は急務であるが、そのベースとなる病態の解明は十分ではない。

申請者は好酸球性中耳炎におけるタイプ2炎症に注目し研究を行っている。例えばIL-4やIL-13によって産生が誘導される抗体であるIgG4に注目し、好酸球性中耳炎の中耳粘膜においてIgG4陽性形質細胞が高発現し、感音難聴の重度化に関与することを世界に先駆けて明らかにした(ORL in revision)。

好酸球性中耳炎の類縁疾患である好酸球性副鼻腔炎では、その発症あるいは増悪に関わる因子として、外的因子としては黄色ブドウ球菌、真菌、ウィルスあるいはバイオフィルムなどが、また内的因子としてアラキドン酸代謝、抗体産生あるいは凝固線溶系の不均衡などが疑われている。鼻副鼻腔粘膜に浸潤する好酸球数は、PGD₂合成酵素 mRNA 量と正の相関を、またPGE₂合成酵素 mRNA 量と負の相関を示すことを報告されており、さらにPGE₂は鼻茸細胞の黄色ブドウ球菌エンテロトキシンB刺激によるIL-5およびIL-13産生を濃度依存性に抑制することが報告されている。

サイトカインおよびPGはいずれも特異的な受容体に結合し、その作用を発揮する。一方、好酸球性中耳炎においてはこれらの受容体発現に関する解析はなされていない。好酸球性中耳炎における2型サイトカイン-PGE₂ネットワークが病態関与について検討することとした。

2. 研究の目的

好酸球性中耳炎は進行性の重度難聴にいたる症例もあるが、その病態は解明されていない。好酸球性中耳炎における 2 型サイトカインと PGE₂ との病態ネットワークが解明されれば、本疾患の成因や増悪機構の理解に役立つだけでなく、すでに市販化されている抗 Ig E 抗体、抗 IL-5 抗体あるいは抗 IL-4 受容体 鎖抗体をターゲットとした生物学的製剤の治療効果を予測するエンドタイピング、あるいは PGE₂ の点耳療法など、本疾患に特異的な新規診断法および根治的治療法の確立が期待できる。

3. 研究の方法

マイクロアレイプレートを用いた、中耳粘膜における 2 型サイトカイン、2 型サイトカイン受容体、PGE₂、PGE₂ 受容体の網羅的発現解析を実施した。好酸球性中耳炎患者および対照患者の中耳粘膜を採取し、RNA later に保存した後に mRNA を抽出した。副鼻腔炎研究に開発したタイプ 2 サイトカインおよび受容体、PGE₂ および受容体を含むマイクロアレイプレート (IL-4、IL-4R α 、IL-5、IL-5R、IL-13、COX-1、COX-2、m-PGES-1、EP1、EP2、EP3、EP4 など 29 種類) を利用し、組織に発現する mRNA 量を網羅的に定量した。発現量の相関やクラスタリングを解析し、2 型を含めたサイトカイン-PG ネットワークを構築する。さらに各分子の発現量と重症度 (難聴の程度など) あるいは組織浸潤好酸球数やマスト細胞数などとの相関を解析し、臨床的意義を検討する。

4 研究成果

好酸球性中耳炎 2 例および対照患者 6 例 (人工内耳手術患者) の中耳粘膜におけるタイプ 2 サイトカインおよび受容体、PGE₂ および受容体を含む mRNA の網羅的定量解析を行い、発現遺伝子のパターンと臨床所見の比較を行った (図 1)。結果、好酸球性中耳炎患者の中耳粘膜には IL1RL1(IL-33: 上皮性サイトカインの受容体)、IL5RA(IL-5: 2 型サイトカインの受容体)の発現が高く (図 2)

2 型炎症が誘導されていることが確認され、プロスタグランジン関連酵素 (PTGES, PTGS1)の発現が低下する傾向がみられた。また IL-17RA(IL-17 : 3 型 サイトカイン)の発現が高く (図 3)、3 型炎症の病態への関与が示唆された。

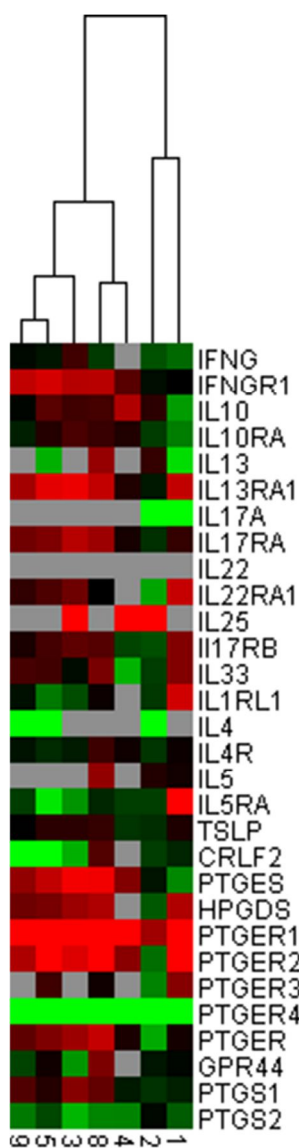


図 1 mRNA クラスター解析

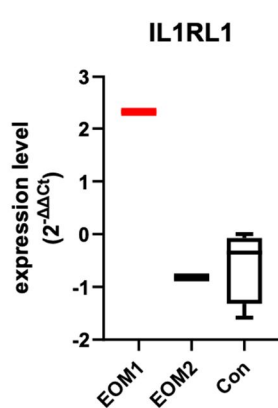


図 2 IL-1 および IL-5 受容体発現

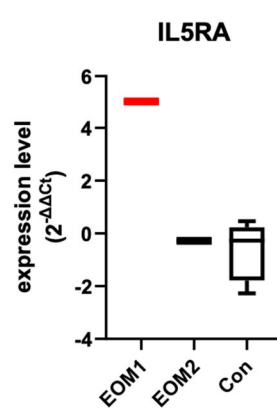
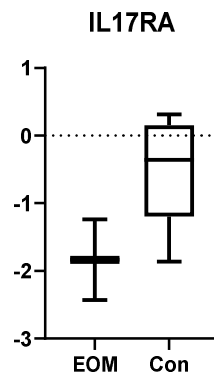


図 3 IL-17 受容体発現



[検討課題]

好酸球性中耳炎におけるタイプ2 サイトカイン及び、今回発現が認められたタイプ3 サイトカイン(IL-17 や IL-33)との関連が検討されれば、エンドタイプングやワクチン開発など、本疾患に特異的な新規診断法や治療法の確立が期待できる。

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 Oka Aiko, Takahashi Masahiro, Nishimura Wataru, Oyamada Shogo, Oka Shinichiro, Iwasaki Satoshi, Kanai Kengo, Okano Mitsuhiro	4. 巻 3
2. 論文標題 Gene expression of cytokines and prostaglandin metabolism?related proteins in eosinophilic otitis media	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology: Global	6. 最初と最後の頁 100237 ~ 100237
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jacig.2024.100237	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡愛子、高橋優宏、金井健吾、岡野光博
2. 発表標題 好酸球性中耳炎の中耳粘膜におけるサイトカイン、プロスタグランジン代謝関連酵素の発現解析
3. 学会等名 第4回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会
4. 発表年 2024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
研究 分 担 者	岡野 光博 (Okano Mitsuhiro) (60304359)	国際医療福祉大学・医学部・教授 (32206)	

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