

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 17 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462587

研究課題名(和文) 好酸球性副鼻腔炎における新規バイオマーカーの同定 エンドタイプの確立を目指して

研究課題名(英文) Phenotypes and endotypes of eosinophilic chronic rhinosinusitis

研究代表者

浅香 大也 (asaka, daiya)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：20317928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：慢性副鼻腔炎は重症度、治療効果などが多様であり、症候群としての特徴を有す。本研究では慢性副鼻腔炎患者を対象にアレルギー蛋白測定、2型自然リンパ球の発現同定を行った。そしてクラスター解析を用いてendotype分類を行った。対象症例52例の副鼻腔粘膜組織を採取した。好酸球性副鼻腔炎患者は非好酸球性副鼻腔炎患者と比較して自覚症状スコア、副鼻腔CTスコアが有意に高かった。また、局所粘膜のIL-13、IL-6とILC2の発現も有意に高かった。しかしクラスター解析では有意差を認めず、endotype確率のためには今後症例数の蓄積が必要と考えた。

研究成果の概要(英文)：Chronic rhinosinusitis is a heterogeneous inflammatory disease whose pathophysiology is not fully understood. Recently, cluster analysis has been used to classify the phenotypes and endotypes of asthma and food allergy. The aim of this study was to investigate CRS endotypes using cluster analysis. A total of 52 patients were enrolled in this study. Diagnosis of eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS) was based on JESREC STUDY. The levels of eosinophil in nasal mucosa and sera were significantly elevated in patients with ECRS compared to non ECRS. The levels of IL-13, IL-6 and ILC2 were also significantly elevated in patients with ECRS. Cluster analysis that added measurement of cytokine did not indicate significant difference. So it is important to accumulation of the number of cases of patients in future.

研究分野：rhinology

キーワード：rhinosinusitis IL-33 ILC2 endotype

1. 研究開始当初の背景

慢性副鼻腔炎は症状、重症度、治療効果などが多様であり、いわゆる「症候群」としての臨床的側面を持つ。特に好酸球性副鼻腔炎の病態は不明な点が多く、治療法も統一したものがない。かつては感染を契機として発症する慢性化膿性副鼻腔炎が主体であったが、罹患副鼻腔粘膜の好酸球浸潤を特徴とする好酸球性副鼻腔炎 (ECRS) やアレルギー性真菌性副鼻腔炎といった疾患概念が提唱されてきた。特に好酸球性副鼻腔炎は、マクロライド療法や内視鏡下鼻副鼻腔手術といった従来の治療に抵抗性であり今まで診断基準すら存在しなかった。しかし、藤枝らにより診断基準が作成され (JESREC study)、平成 27 年 7 月から指定難病に位置づけられた。診断基準の作成とアルゴリズムの確立は、慢性副鼻腔炎の治療予後予測を可能としたが、ECRS の治療法は標準化したものがなく、治療反応性も様々である。

欧米では慢性副鼻腔炎の病態はポリープの有無で分類される。これまでに我々は欧米におけるポリープを伴った慢性副鼻腔炎 (CRSwNP) の病態は、本邦における ECRS にほぼ一致することを明らかにしてきた。しかし、ECRS ではない CRSwNP も本邦では半数存在するため欧米の副鼻腔炎の分類は必ずしも一致しない。Bachert らは鼻ポリープ中の IL-5 濃度と *S. aureus* 特異的 IgE 濃度に注目して、ベルギーと中国における副鼻腔炎の病態の違いを報告している。さらにベルギー、ドイツ、日本、中国における慢性副鼻腔炎の違いを ECP/MPO 比を用いて報告している。

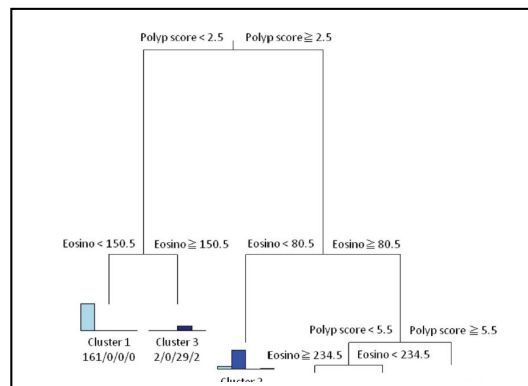
患者の局所での免疫応答においては、好酸球性副鼻腔炎患者は健康者と比較して、優位に Treg 活性が抑制され Th2 活性が増強し、慢性化膿性副鼻腔炎患者では Th17 活性が亢進していることが報告されている¹⁾。しかし Th2 型免疫応答の代表的疾患であるアレルギー性鼻炎と好酸球性副鼻腔炎は異なる病態であり、この獲得免疫応答のみでは説明がつかない。そこで注目するサイトカインとして自然型アレルギー関連サイトカインである IL-33 が挙げられる。マウス Th2 細胞に IL-33 存在下で抗原刺激をすると IL-5、IL-13 産生が増強される一方で IL-4 産生は増強しない。また、IL-33 は Th2 細胞の遊走因子として作用する。また、IL-33 は上皮細胞などが細胞壊死して核内から放出される damage associated molecular patterns (DAMP) としても知られている。よって好酸球性副鼻腔炎患者では副鼻腔粘膜上皮が壊死して IL-33 が多量に放出され、その IL-33 存在下に Th2 細胞が活性化して IL-5 や IL-13 の産生が亢進し、その結果として好酸球炎症と副鼻腔粘液貯留が起こっている可能性があるが、それを実証した報告はない。

また近年、IL-33 受容体である ST2 を高発現する 2 型自然リンパ球 (type2 innate

lymphoid cell: ILC2) が同定された。この細胞は IL-33 の刺激により大量の IL-5、IL-13 を産生する。このように T 細胞や B 細胞といった獲得免疫系を介さない好酸球性炎症のメカニズムが解明されつつあるが、好酸球性副鼻腔炎でそれを実証した報告は少ない。

喘息や食物アレルギーは、慢性副鼻腔炎と同様に症状、重症度、治療薬の効果などが臨床的に多様である。近年その多様性を病因、病態生理に基づいて「phenotype」として分析するクラスター解析の報告が散見される⁶⁾⁷⁾。そこで我々は昨年手術に至った慢性副鼻腔炎患者のうち、データ損値のない症例 496 例を対象にクラスター解析を行った。その結果、慢性副鼻腔炎は 4 つのクラスターに分類された。(図 1) しかし phenotype 決定因子として同定されたものは鼻ポリープの大きさ、粘膜組織の好酸球数のみで従来指摘されている因子しか同定できなかった。よって臨床所見のみならず副鼻腔局所での環境要因や免疫応答の評価を加えた、「endotype」解析が必要である事を痛感した。

図 1



(Am J Rhinol Allergy 2012 26(3))

2. 研究の目的

本研究において手術に至った鼻ポリープを伴う慢性副鼻腔炎 (CRSwNPs) を対象に自覚症状、臨床検査所見、ポリープ再発の有無、副鼻腔局所の獲得型、自然型アレルギー関連サイトカイン (含 IL-18, IL-33) 測定、鼻ポリープにおける ILC2 の発現同定、を行う。そしてクラスター解析を用いて CRSwNPs の多様性を endotype として分類し、慢性副鼻腔炎難治化の病因を明らかにし、さらに治療効果や予後に影響を及ぼすバイオマーカーを同定する。Heterogeneous inflammatory disease とされる慢性副鼻腔炎を臨床的特徴のみならず免疫学的、細菌学的アプローチを加えて endotype に分類することは疾患の理解につながり、今後薬物、手術治療の効果や予後を考慮した新しいテーラーメイド医療の構築につながると考える。

3. 研究の方法

平成 26 年 6 月より東京慈恵会医科大学附属病院耳鼻咽喉科で手術に至った CRSwNPs 症例を前向きに登録形で検討を行った。検討項目は臨床検査所見として自覚症状スコア、副鼻腔 CT スコア (Lund and Mackay score)、鼻ポリープスコア、血中好酸球数、血清総 IgE 値、特異的 IgE 値、組織好酸球浸潤の程度、術後 1 年の経過観察期間におけるポリープ再発の有無を記録した。

自覚症状は以前当教室で作成した、米国アレルギー学会誌の recommendation を参考とした 16 項目からなる自記式アンケート調査を使用してスコア化する。自覚症状として鼻閉、鼻漏、後鼻漏、嗅覚障害、頭痛、鼻の痛み、全身倦怠感、耳閉感、せき、口臭、歯の痛み、発熱、QOL の評価として勉強や仕事への支障、思考力の低下、睡眠障害、その他日常生活への支障と、合計 16 項目について評価した。

鼻ポリープの評価は米国アレルギー学会誌の recommendation に従って評価した。すなわち 0 : ポリープなし、1 : 中鼻道内に限局するポリープ、2 : 中鼻道を充満するポリープ、3 : 中鼻道を越えて伸展するポリープ、4 : 鼻腔に充満するポリープ、の 0 ~ 4 にスコア化した。

採取した副鼻腔粘膜組織中の好酸球浸潤の評価はホルマリン固定し、HE 染色した標本を 400 倍の視野で、上皮下組織の最も好酸球が浸潤している部位を選んでカウントした。

サイトカイン測定は Th1 サイトカイン (IFN-g), Th2 サイトカイン (IL-5, IL-13, IL-25) 自然型アレルギー関連サイトカイン (IL-1b, IL-18, IL33)、炎症性サイトカイン (IL-6, IL-8)、免疫抑制性サイトカイン (IL-10)、Th17 サイトカイン (IL-17A) の蛋白濃度を ELISA 法にて検出し、比較検討した。2 型自然リンパ球 (type2 innate lymphoid cell: ILC2) 発現解析は、IL-1RL1 発現 CD127+CD161+CRTH2+ 細胞を flow cytometry にて測定した。

4 . 研究成果

対象症例 52 例の副鼻腔粘膜組織を採取した。その内訳は好酸球性副鼻腔炎 36 例と非好酸球性副鼻腔炎 16 例であった。平均年齢、性別に有意差を認めず、好酸球性副鼻腔炎患者は血中好酸球数、血清総 IgE 値、鼻茸好酸球数が有意に高かった。

臨床検査結果において好酸球性副鼻腔炎患者は非好酸球性副鼻腔炎患者と比較して自覚症状スコア、副鼻腔 CT スコア、術後再発が有意に高かった。自覚症状においては特に嗅覚障害、後鼻漏、咳のスコアが有意に高かった。また、局所粘膜のアレルギー炎症サイトカイン発現は IL-13、IL-6 と ILC2 の発現も有意に高かった。IL-33 においては両群間に有意差を認めなかった。免疫抑制性サイ

トカンである IL-10 の発現は両群間で有意差を認めなかった。好酸球性副鼻腔炎患者における術後再発とアレルギーサイトカインとの関連性も認めなかった。

また、各種サイトカインを説明変数としたクラスター解析では有意差を認めなかった。従って endotype 確率のためには今後症例数の蓄積が必要と考えた。

5 . 主な発表論文等

特になし

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
特になし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

浅香大也 (Asaka Daiya) 東京慈恵会医科大学耳鼻咽喉科 講師

研究者番号 : 20317928

(2) 研究分担者

和田弘太 (Wada Kota) 東邦大学大森病院耳鼻咽喉科教授

研究者番号 : 20307482

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：

(4)研究協力者
なし()