

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K11368

研究課題名(和文) 上皮バリア機能からみたドライノーズの物質的基盤の解明と先制医療への応用

研究課題名(英文) Dry nose as a nasal epithelial barrier disorder and application to preemptive medicine

研究代表者

三輪 正人(miwa, masato)

順天堂大学・医学部・客員教授

研究者番号：80247650

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：鼻粘膜上皮バリア機能障害の発現に、ドライノーズがどのように関与しているかを解明するのが本研究の目的である。自覚症状の調査および鼻シルマーテストにより、鼻汁分泌正常型あるいは過分泌型ドライノーズの存在が初めて示された。ドライノーズ群では異なった細菌叢を示し、マイクロバイオームが病態形成の関与の可能性が示唆された。高浸透圧のモデルとして高調食塩水による鼻粘膜誘発試験をおこなった結果、鼻粘膜バリア機能の低下、鼻呼吸凝集液の過酸化水素濃度の増加、糖鎖の変化を認めバリア機能障害が生じていることが示唆された。ドライノーズはアレルギー性鼻炎などの上気道疾患発症の上流に位置する病態であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年増加しているドライシンドロームのなかでも、ドライスキン、ドライアイ、ドライマウスなどと異なり、ドライノーズの病態は全く明らかにされていなかった。本研究で鼻汁分泌正常型あるいは過分泌型ドライノーズの存在が示唆された。また、ドライの状態を引き起こす高浸透圧が、鼻粘膜上皮バリア機能の低下、過酸化などの病態を生じさせることを証明し、ドライノーズが鼻粘膜上皮機能障害の上流に位置する病態である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have evaluated the majority of patients might have the subjective symptom of dry nose. The nasal Schirmer test, that we have developed at the first time in Japan, demonstrated the existence of the dry nose syndrome with normal nasal secretion. Surface bacterial flora between normal and dry nose showed different pattern. After nasal provocation of hypertonic saline, that might cause dry eye syndrome, elevation of nasal transepithelial water loss, decrease of nasal potential differences and increase of nasal H₂O₂ in nasal exhaled breath condensate. Through this study, we speculated that dry nose might be upstream of various disorders of upper airway.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：ドライノーズ 鼻粘膜バリア機能 鼻腔細菌叢 高調食塩水 鼻呼吸凝集液 音楽療法 鼻シルマーテスト 糖鎖解析

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地球温暖化に伴い我々を取り巻く環境は急激に変化している。日本は島国でもあり、ヒートアイランド現象もより顕著になっている。その結果として屋内外の湿度が低下する傾向にある。それに伴い、ドライアイ、ドライスキン、ドライマウスなどのドライシンドロームが増加している。

一方、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、炎症性腸疾患をはじめとする様々な疾患の病態形成の基盤に、上皮バリア機能異常が存在している事実が蓄積されはじめている。上皮バリア機能異常は、様々な慢性炎症性疾患の上流と考えられはじめているが、生体のフロントラインとして大気温度、湿度、気圧、呼吸気流の変化などにより影響される上気道粘膜上皮のバリア機能は、特に重要であると考えられる。上皮バリアが損なわれた状態「leaky epithelium」は、アレルギー性鼻炎や難治性副鼻腔疾患の代表である好酸球性副鼻腔炎など鼻疾患にもみられることが証明されている。

アトピー性皮膚炎の前段階としてドライスキンは必ず存在することは周知の事実となっているが、気道については生体全体に及ぼすドライノーズの影響に関しては何一つ知られていない。

ドライアイ、ドライスキン、ドライマウスなどのドライシンドロームのなかでも最も解明が遅れているドライノーズの病態を探ることは喫緊の医学的課題であると思われる。

2. 研究の目的

近年関心が高まっているドライシンドロームの中でも最も未知の領域の多いドライノーズの本態を、バリア機能障害としての側面から明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 花粉症患者の鼻乾燥症状の調査

2018年2月から4月に日本医科大学付属病院耳鼻咽喉科外来を受診したスギ花粉症患者50名を対象として、問診票により花粉症患者の鼻乾燥症状の調査をおこない、また抗ヒスタミン薬および鼻噴霧用ステロイドによる治療により症状の推移を観察した。鼻内乾燥感の評価には問診票を用い、Grade 1：なし Grade 2：少し乾燥している Grade 3：乾燥している Grade 4：痛いほど乾燥している Grade 5：かさぶたができて血が出たりするに分類し Grade 2～5をドライノーズと評価した。

(2) 鼻粘膜へのシルマーテストの応用

日本医科大学付属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科外来受診初診患者13名を対象とし、通常のシルマーテストで用いる試験紙(シルメル試験紙、あゆみ製薬)を、両側鼻中隔粘膜にそれぞれ5mmの長さで接触するように10分間留置して濡れた長さの両側の合計値を測定した。

(3) 鼻腔細菌叢

2017年12月から2019年2月の期間に日本医科大学付属病院耳鼻咽喉科外来に鼻症状を主訴として受診された初診患者のうち、鼻前庭の細菌検査を施行した105例を対象とした。細菌検査は、カルチャー・スワブプラス BD BBLT (日本ベクトン・ディッキンソン)を用いて鼻前庭を擦過することにより細菌を採取して一般細菌培養検査を施行した。上記の問診票を用い、乾燥感を評価した。

(4) 高調食塩水鼻誘発試験による鼻粘膜上皮バリア機能の変化

スギ花粉非飛散期に5%高張食塩水を点鼻し、その前後で我々が従来から用いている鼻粘膜上皮機能の非侵襲的測定法の中で、経鼻粘膜上皮水分蒸散量(nasal transepithelial water loss, nTEWL)、経

鼻粘膜上皮間電位差(nasal transepithelial resistance, nPD)、鼻汁浸透圧、pH の測定、鼻および口呼気凝集液(nasal exhaled breath condensate, nEBC)の過酸化水素量の定量をおこなった。過酸化水素量の定量の具体的方法は、刺激前、5 分後、2 時間後の鼻及び口呼気凝集液(nEBC、mEBC)を Respiratory Research 社の R-tube で採取し、蛍光比色法アッセイキット Amplex® Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit (Thermo Fisher SCIENTIFIC)を用いておこなった。励起波長は 560 nm、蛍光波長 590 nm を使用した。

あわせて、スギ花粉抗原鼻誘発試験もおこなった。

(5) 鼻粘膜上皮擦過細胞の糖鎖解析

スギ花粉非飛散期に、スギ花粉抗原鼻誘発および 5%高張食塩水点鼻前後に採取した下鼻甲介粘膜擦過細胞を用い、表面糖鎖変化をレクチンドットプロット法により解析した。

(6) 音楽聴取がドライノーズあるいは鼻粘膜上皮機能に及ぼす影響

男女 23 名(男性 11 名、女性 12 名)に対し、音楽聴取前後に経鼻粘膜上皮水分蒸散量(nasal transepithelial water loss, nTEWL)、経鼻粘膜上皮間電位差(nasal transepithelial resistance, nPD)を測定し、乾燥(鼻、目、口、肌)に関する自覚症状の問診をおこなった。音楽はジャズ(ピアノトリオ)などの楽曲を使用し 25 分の聴取をおこなった。

本研究の助成により鼻粘膜上皮間電位差測定のための改良型電極を作製した。

本研究は順天堂大学倫理審査委員会承認されている(課題番号: M21-0018)。

4. 研究成果

(1) 花粉症患者の乾燥感の自覚

本研究の目的であるドライノーズが病態にどのような影響を与えているのかを解明するための第一歩として、鼻乾燥症状が花粉症患者でどの程度あるかを検討したところ、軽度から高度をあわせた鼻の乾燥感ありの患者群が過半数を占めており、花粉症患者でのドライノーズの存在が示唆された。また鼻漏症状との逆相関はなく、鼻乾燥感と鼻汁分泌とは関連性はみられなかった。また、従来からの治療である抗ヒスタミン薬および鼻噴霧ステロイドにより治療をおこなったが、鼻乾燥感の有意な変化はみられなかった。乾燥感の改善には、従来のアレルギー性鼻炎の薬剤治療では不十分であることが示された。

(2) 鼻シルマーテストによる検討

従来涙分泌に用いられてきたシルマーテストを鼻に応用し、鼻汁分泌能機能検査として本邦で初めてその有用性を確認した。鼻汁分泌量と乾燥感の相関はみられず、自覚症状の検討で確認された結果を裏付ける結果となり、鼻汁分泌型(あるいは過分泌型)ドライノーズの存在が初めて示唆された。

(3) 鼻乾燥感と鼻腔細菌叢の関連性

鼻乾燥感と鼻腔細菌叢の関連性について検討した。乾燥感ありの群では、乾燥感なしの群に比べて、細菌叢が異なる傾向を示し、また耐性菌の代表株であるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)は、乾燥感ありの群のみ認められた。

湿度が高いと思われる夏季と湿度が低い冬季での比較もおこなったが、季節により鼻乾燥感の出現率が上昇し、また細菌叢が変動している可能性が示唆された。ドライアイと同様、マイクロバイオーームが病態形成に関与している可能性が示唆された。

(4) 高張食塩水鼻誘発試験による鼻粘膜上皮バリア機能の変化

ドライアイの成因として、涙液の高浸透圧が考えられている。高浸透圧溶液のモデルとして 5%の高張食塩水の点鼻誘発刺激をおこない高浸透圧溶液のモデルとして高張食塩水の点鼻誘発刺激を実施し、前後の鼻粘膜水分蒸散量、鼻粘膜上皮間電位差、鼻汁浸透圧、鼻および口呼気凝集液の過酸化水素濃度を測定した。高張食塩水点鼻後、鼻粘膜水分蒸散量の増加、鼻粘膜上皮間電位差の低下、鼻汁浸透圧の増

加、鼻呼気凝集液の過酸化水素濃度の増加を認めた。口呼気凝集液の過酸化水素濃度および鼻汁 pH の変化はみられなかった。

あわせておこなったスギ花粉抗原鼻誘発試験後では、鼻汁 pH は高調食塩水鼻誘発とは異なり上昇したが、他は高調食塩水と同様の結果となり、鼻粘膜水分蒸散量の増加、鼻粘膜上皮間電位差の低下、鼻汁浸透圧の増加、鼻呼気凝集液の過酸化水素濃度の増加を認めた。

高調ならびに高浸透圧刺激である高濃度食塩水に鼻粘膜環境を変化させることにより、抗原特異的鼻誘発後とほぼ同様の鼻粘膜上皮機能の変化が観察され、両者の病態の類似性・関連性が示唆された。

(5) 鼻粘膜上皮擦過細胞の糖鎖解析

ABA は、セリンまたはスレオニンに結合した、ガラクトース・N アセチルグルコサミン、シアル酸、N アセチルガラクトサミンに、SSA はシアル酸に、LEA は、N アセチルグルコサミン・シアル酸に特異的に反応するが、ABA と SSA レクチンは被験者全員に反応が確認された。刺激を加えない状態でスギ花粉症群の下鼻甲介粘膜擦過細胞は、非花粉症群よりも細胞表面の SSA レクチンとの反応するシアル酸が増加していた。高張食塩水点鼻後、非スギ花粉症群では SSA との反応に変化がみられなかったのに対し、スギ花粉症群では反応が低下していた。一方、スギ花粉抗原刺激ではどの群も SSA との反応に変化は認められなかった。この結果から、高張食塩水点鼻によってシアリダーゼ活性が上昇した結果、細胞表面よりシアル酸が減少し SSA との反応が低下したと考えられた。

(6) 音楽聴取がドライノーズあるいは鼻粘膜上皮機能に及ぼす影響

聴取前と比較して音楽聴取後の鼻粘膜上皮水分蒸散量が有意に減少し、鼻粘膜上皮間電位差は上昇傾向を認めた。被験者の自覚症状の変化、鼻粘膜所見と合わせて考察をおこなったが、音楽聴取により鼻粘膜上皮機能の亢進が惹起されたことが示唆された。

以上の本研究の成果から、ドライノーズが様々な上気道疾患の上流に位置する病態である可能性が示唆され、また従来の治療では改善されない可能性も示された。ドライノーズを改善する新規の先制医療の開発が必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 三輪正人	4. 巻 36
2. 論文標題 点鼻、噴霧、塗布、洗浄など鼻局所に用いて良い薬物にはどのようなものがありますか?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 JOHNS	6. 最初と最後の頁 1218-1219
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 三輪正人	4. 巻 231
2. 論文標題 鼻前庭炎、ドライノーズに対する内服・外用薬の使い方	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ENTONI	6. 最初と最後の頁 69-72
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 三輪正人	4. 巻 36
2. 論文標題 気管粘膜の生理と薬理	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JOHNS	6. 最初と最後の頁 141-144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 三輪正人, 村上 亮介, 佐藤 一樹, 大久保 由布, 酒主 敦子, 大久保 公裕, 飯島 史朗, 池田 勝久, 奥村 康	4. 巻 33
2. 論文標題 鼻呼気凝集液の臨床的意義	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科ニューロサイエンス	6. 最初と最後の頁 46-50
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 三輪正人	4. 巻 67
2. 論文標題 鼻粘膜上皮バリア機構と免疫・アレルギー	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 アレルギー	6. 最初と最後の頁 725-733
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 三輪 正人	4. 巻 24
2. 論文標題 鼻粘膜バリアとアレルギー	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 アレルギー・免疫	6. 最初と最後の頁 768-776
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 三輪 正人	4. 巻 58
2. 論文標題 咳に関連する喉頭病変 laryngeal hypersensitivity syndromeと喉頭アレルギー	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 小児科	6. 最初と最後の頁 649-652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 三輪 正人	4. 巻 89
2. 論文標題 鼻粘膜誘発テスト	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科・頭頸部外科	6. 最初と最後の頁 219-222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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16件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 三輪 正人, 高橋 天使, 大坪 菜央, 下垣 里河, 飯島 史郎
2. 発表標題 スギ花粉抗原鼻誘発および高張食塩水点鼻前後の鼻粘膜上皮の糖鎖反応性
3. 学会等名 第8回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryosuke Miwa, Masato Miwa
2. 発表標題 Surface bacterial flora in normal and dry mucosa
3. 学会等名 JSA/WAO Joint Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三輪 正人, 下垣 里河, 飯島 史郎, 奥村 康
2. 発表標題 鼻呼気凝集液を用いた高張食塩水点鼻前後の鼻粘膜上皮peroxide toneの解析
3. 学会等名 第59回日本鼻科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋 天使, 大坪 菜央, 下垣 里河, 酒井 伸枝, 三輪 正人, 飯島 史郎
2. 発表標題 呼気凝縮液による鼻粘膜上皮バリア機能変化の解析
3. 学会等名 第30回 生物試料分析学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三輪正人
2. 発表標題 ドライノーズの鼻腔細菌叢と季節による変化
3. 学会等名 第58回日本生気象学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三輪正人
2. 発表標題 病気の上流としてのバリア機能障害
3. 学会等名 第73回関東耳鼻咽喉科アレルギー懇話会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masato Miwa
2. 発表標題 Barrier function alterations in human nasal mucosa after a nasal pollen challenge and the effect of a one-time application of topical corticosteroids
3. 学会等名 欧州アレルギー臨床免疫学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masato Miwa, Atsuko Sakanushi, Yufu Ohkubo, Kazuki Sato, Ryosuke Murakami, Kimihiro Okubo, Shiro Iijima, Ko Okumura
2. 発表標題 Peroxide tone in nasal exhaled breath condensate after nasal provocation
3. 学会等名 第28回欧州呼吸器病学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 酒主敦子 三輪正人 大久保由布 佐藤一樹 村上亮介 大久保公裕 飯島史郎
2. 発表標題 高張食塩水点鼻による鼻および口呼吸凝集液中過酸化水素量の変動
3. 学会等名 第6回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三輪正人 鈴木宏隆 ハウリー亜紀 飯島史朗 大久保公裕 池田勝久 奥村 康
2. 発表標題 Dry nose disease の提言
3. 学会等名 第36回気道分泌研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木宏隆 三輪正人 加藤大星 佐藤一樹 吉岡邦暁 村上亮介 酒主敦子 大久保公裕 池田勝久 奥村 康
2. 発表標題 鼻および口呼吸凝集液の採取とその有用性の検討
3. 学会等名 第35回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤一樹 村上亮介 酒主敦子 三輪正人 大久保公裕
2. 発表標題 鼻シルマーテストの試み
3. 学会等名 第56回日本鼻科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐藤 一樹 三輪 正人 大久保 由布 吉岡 邦暁 鈴木 宏隆 村上 亮介 酒主 敦子 大久保 公裕
2. 発表標題 ドライノーズの鼻腔細菌叢
3. 学会等名 第5回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大久保 由布 三輪 正人 佐藤 一樹 村上 亮介 酒主 敦子 大久保 公裕 ハウリー 亜紀 飯島 史朗
2. 発表標題 高張食塩水点鼻による鼻粘膜上皮機能の変化
3. 学会等名 第5回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三輪正人
2. 発表標題 アレルギー 鼻粘膜上皮バリア機構と免疫・アレルギー
3. 学会等名 日本アレルギー学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三輪 正人 鈴木 宏隆 加藤 大星 村上 亮介 大久保 公裕 奥村 康
2. 発表標題 ドライノーズの病態評価の試み
3. 学会等名 第118回日本耳鼻咽喉科学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 三輪正人	4. 発行年 2017年
2. 出版社 最新医学社	5. 総ページ数 185
3. 書名 最新医学 診断と治療のABC 127 アレルギー性鼻炎の疫学 (大久保公裕編)	

〔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	中山ハウリー 亜紀 (Nakayama Howly Aki) (00599425)	文京学院大学・保健医療学部・助手 (32413)	
研究分担者	大久保 公裕 (Okubo Kimihiro) (10213654)	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授 (32666)	
研究分担者	飯島 史朗 (Iijima Shiro) (30222798)	文京学院大学・保健医療学部・教授 (32413)	
研究分担者	村上 亮介 (Murakami Ryosuke) (60596873)	日本医科大学・医学部・助教 (32666)	

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