

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16871

研究課題名（和文）好酸球性副鼻腔炎におけるSIRT1によるサイトカイン発現制御機序の解明

研究課題名（英文）Regulatory mechanisms of cytokines in ECRS

研究代表者

鈴木 正宣（Suzuki, Masanobu）

北海道大学・医学研究院・助教

研究者番号：70455658

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）：ヒト初代継代鼻粘膜上皮細胞におけるサイトカイン発現・分泌制御機構の解明を行った。TLRの各種アゴニストを投与し、multiplex assayやmicrofluidic qPCR法でサイトカイン発現を検討し、その時間依存性、濃度依存性を検討した。結果、サイトカインのみならず、ウイルス受容体を含めたタンパク質発現がPoly(I:C)によって制御されていることが判明した。一方で、Poly(I:C)以外のTLRアゴニストは、タンパク質の発現に与える影響は限定的であった。このことから、鼻粘膜上皮細胞にはTLR3特異的な自然免疫応答が存在する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

得られた結果からは鼻粘膜上皮細胞は自然免疫応答によってサイトカイン産生を制御していることが判明した。サイトカインは好酸球性副鼻腔炎などの副鼻腔炎症性疾患の発症に関与している。この制御はこれらの疾患の予防・治療などに応用できる可能性が示唆された。

特に、自然免疫受容体のTLR3はdsRNAを特異的に認識するレセプターであること、ウイルス増殖の際にはdsRNAが産生されること、また、急性鼻炎の多くはウイルス感染に起因することをあわせて考えると、この鼻粘膜上皮細胞における特異的な自然免疫応答は、生体において合目的な機構と考えられた。一方で、疾患によってはこの応答が生体にとって不利に働くことも判明した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined the regulatory mechanisms of cytokine expression and secretion in human primary nasal epithelial cells. Our focus has been put especially on TLR3 and NFkB signaling pathway. Multiplex assay and microfluidic qPCR assay were applied to reveal the time- and dose- dependency of the cytokine expression. We found most of cytokines are under control of TLR3 stimulation but other TLR stimulation rarely promoted the cytokines expression.

研究分野：鼻科学

キーワード：好酸球性副鼻腔炎 サイトカイン

## 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、全国で推定約2万人の罹患者がいる。2015年には厚生労働省の指定難病に認定された。内服治療、外科治療を行っても再燃再発を繰り返す症例が多く、根治を期待できる方法は未だ開発されていない。

好酸球性副鼻腔炎の病態には、上皮細胞から分泌される IL-1, IL-33, RANTES, Eotaxin, TSLP や、Th2 細胞、肥満細胞や ILC2s から産生される IL-5, IL-13 などの各種サイトカインが関与している。そのため、これらのサイトカインの制御に関する知見は、好酸球性副鼻腔炎の根本治療の開発に直結する。

近年、DNA と結合しているヒストン蛋白がアセチル化やメチル化などの修飾をうけクロマチンが構造変化する(クロマチンリモデリング)ことで DNA からの転写が調節されていることが判明してきた。この遺伝子制御機構は発生、細胞分化や癌を含む様々な疾患の発症に関与していると推測されている。

クロマチンリモデリングに関わる蛋白質の一つとして SIRT (sirtuin)1 が同定されている。SIRT1 はヒストン脱アセチル化活性を持ち、多数の遺伝子発現を制御していることが報告されている。また、SIRT1 は、カロリー制限による寿命の延長に必須の蛋白としても知られている。カロリー制限では単に寿命が延長するのみでなく、神経変性疾患や自己免疫疾患などの炎症性疾患が抑制されることが知られており、本蛋白の活性化により多くの疾患が治療あるいは予防できる可能性がある。

SIRT1 はポリフェノールの一成分(レスベラトロール)などにより活性化されることが判明しており、これらの薬剤の使用でサイトカインの産生が抑制できれば、好酸球性副鼻腔炎を治療あるいは予防できる可能性があると考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究は「鼻粘膜上皮細胞において、好酸球性副鼻腔炎の病態に関与するサイトカインが、SIRT1 による発現制御を受けているか」を検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

鼻粘膜上皮初代継代細胞に、Poly(I:C)と SIRT1 活性化剤・阻害剤を投与し、qPCR 法と ELISA 法にて MMP9 の発現を確認した。

SIRT1 や Poly(I:C)によるサイトカイン産生制御を、multiplex assay や microfluidic qPCR 法で網羅的に評価した。

Toll-like receptor (TLR)の各種アゴニストを投与し、各種サイトカイン発現を網羅的に検討し、その時間依存性、濃度依存性を検討した。特に TLR3 のアゴニストとして知られる Poly(I:C)については、他の自然免疫制御薬剤との共刺激も検討した。

## 4. 研究成果

・鼻粘膜上皮細胞では TLR 刺激のうち、TLR3 刺激によって MMP9 の発現が誘導されることが明らかになった。この MMP9 の発現誘導は SIRT 活性によって制御されるが、その制御には自然免疫の活性化が前提条件として必要であることが判明した。

・MMP9 で見られた TLR3 刺激による発現誘導と同様の制御機構が、他の NFκB 標的遺伝子でも確認された。一方、IFN 下流遺伝子には同様の制御機構は同定できなかった。

・一方で、TLR3 以外の TLR アゴニストは、タンパク質の発現に与える影響は限定的であった。鼻粘膜上皮細胞には TLR3 特異的な自然免疫応答が存在する可能性が考えられた。また、鼻粘膜上皮細胞では、アゴニスト特異的な自然免疫活性化パターンは下気道由来の細胞とは異なることが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Suzuki Masanobu, Cooksley Clare, Suzuki Takayoshi, Ramezanpour Mahnaz, Nakazono Akira, Nakamaru Yuji, Homma Akihiro, Vreugde Sarah	4. 巻 2
2. 論文標題 TLR Signals in Epithelial Cells in the Nasal Cavity and Paranasal Sinuses	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Allergy	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/falgy.2021.780425	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 該当する
1. 著者名 Nakazono Akira, Nakamaru Yuji, Ramezanpour Mahnaz, Kondo Takeshi, Watanabe Masashi, Hatakeyama Shigetsugu, Kimura Shogo, Honma Aya, Wormald P. J., Vreugde Sarah, Suzuki Masanobu, Homma Akihiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Fluticasone Propionate Suppresses Poly(I:C)-Induced ACE2 in Primary Human Nasal Epithelial Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcimb.2021.655666	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 該当する
1. 著者名 Masanobu Suzuki, Yuji Nakamaru, Dai Takagi, Aya Honma, Takayoshi Suzuki, Emi Takakuwa, Shinya Morita, Sarah Vreugde, Akihiro Homma	4. 巻 10
2. 論文標題 Spontaneous regression of swollen submandibular glands in IgG4-related disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergy and Rhinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/2152656718816738	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 該当する
1. 著者名 Li J, Ramezanpour M, Fong SA, Cooksley C, Murphy J, Suzuki M, Psaltis AJ, Wormald PJ, Vreugde S.	4. 巻 9
2. 論文標題 Pseudomonas aeruginosa Exoprotein-Induced Barrier Disruption Correlates With Elastase Activity and Marks Chronic Rhinosinusitis Severity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Cell Infect Microbiol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcimb.2019.00038	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 該当する

1. 著者名 Suzuki Masanobu, Ramezanpour Mahnaz, Cooksley Clare, Li Jian, Nakamaru Yuji, Homma Akihiro, Psaltis Alkis, Wormald Peter-John, Vreugde Sarah	4. 巻 59
2. 論文標題 Sirtuin-1 Controls Poly (I:C)-Dependent Matrix Metalloproteinase 9 Activation in Primary Human Nasal Epithelial Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 500-510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1165/rcmb.2017-04150C	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 該当する

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Masanobu Suzuki
2. 発表標題 Mucosal zinc deficiency characterises nasal polyps and inhibits collagen production in nasal fibroblasts in vitro
3. 学会等名 5th Congress of European ORL-HNS (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masanobu Suzuki, Mahnaz Ramezanpour, Clare Cooksley, Jian Li, Yuji Nakamaru, Akihiro Homma, P.J. Wormald, and Sarah Vreugde
2. 発表標題 MMP9 regulation by SIRT-1 in sinonasal epithelium.
3. 学会等名 第119回日耳鼻総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanobu Suzuki, Yuji Nakamaru, Dai Takagi, Aya Honma, Takayoshi Suzuki, Mahnaz Ramezanpour, Sarah Vreugde, and Akihiro Homma
2. 発表標題 MMP9 regulation in primary human nasal epithelial cells by activated innate immune system
3. 学会等名 第67回日本アレルギー学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masanobu Suzuki, Mahnaz Ramezanzpour, Clare Cooksley, Jian Li, Yuji Nakamaru, Akihiro Homma, P.J. Wormald, and Sarah Vreugde
2. 発表標題 SIRT-1 modifies MMP9 in primary nasal epithelial cells under inflammatory condition.
3. 学会等名 37th Congress of the International Society of Inflammation and Allergy of the Nose (国際学会)
4. 発表年 2018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

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