

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861562

研究課題名(和文)黄色ブドウ球菌 毒素およびTh22を介した好酸球性副鼻腔炎の病態機構の解明

研究課題名(英文) Role of Staphylococcus aureus alpha-toxin and IL-22 in the pathogenesis of eosinophilic rhinosinusitis

研究代表者

春名 威範 (Haruna, Takenori)

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：70646182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：副鼻腔炎患者の中鼻道から検出された黄色ブドウ球菌の98.8%は、溶血を示した。トキシンは鼻茸細胞に働き、ICAM-1依存性にIL-5、IL-13、IFN- γ 、IL-10、IL-17Aなどの多彩なサイトカイン産生を誘導した。トキシンはIL-22産生も誘導した。特にIL-22産生不全は好酸球性炎症や下気道狭窄と関連した。またIL-22はIL-22受容体発現量に依存して気道上皮細胞からのMUC1発現を誘導した。

研究成果の概要(英文)：98.8% of Staphylococcus aureus detected in middle meatus of patients with chronic rhinosinusitis showed alpha-hemolysis, suggesting a high presence of alpha-toxin in the nose. Nasal polyp cells produced substantial amounts of IL-5, IL-13, IFN-gamma, IL-10 and IL-17A in response to alpha-toxin in ICAM-1 dependent manner. In addition, the polyp cells produced IL-22 in response to the toxin. Impairment of alpha-toxin-induced IL-10 production was associated with eosinophilic inflammation and lower airway obstruction. Furthermore, IL-22 induced MUC1 expression by nasal epithelial cells which was dependent on IL-22 receptor expression.

研究分野：耳鼻咽喉科学、臨床微生物学、アレルギー学

キーワード：IL-22 好酸球 MUC1 副鼻腔炎 鼻茸 アスピリ不耐 黄色ブドウ球菌 気道炎症

1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎は、マクロライド療法などの薬物療法や内視鏡下鼻内副鼻腔手術などの外科的治療に抵抗する、難治性副鼻腔炎の代表である。疾患特異的な診断法および根治的治療法を確立するため、病態の解明は急務である。

申請者の研究グループでは、慢性副鼻腔炎における難治化や好酸球性炎症の誘導メカニズムに関する研究を進めている。特にスーパー抗原型菌体外毒素である黄色ブドウ球菌エンテロトキシン、あるいは真菌やリポ多糖などの微生物由来抗原が外的制御因子として働くこと、また IL-5 や IL-17A などの Th2 あるいは Th17 型サイトカイン、さらにはプロスタグランジン E2 などのアラキドン酸代謝が内的制御因子として重要であることを明らかにした。

近年、免疫応答を制御する新しい Th サブセットとして IL-22 を産生する Th22 が同定され、慢性炎症疾患との関連が注目されている。これまでに、主に皮膚疾患において IL-22 はリモデリングや組織修復に関与することが報告されている。慢性副鼻腔炎については、IL-22 受容体 mRNA 発現が難治例で低下すること (Ramanathan M, et al. Laryngoscope 2007) および IL-22 受容体の遺伝子多型が重症化と連鎖すること (Endam LM, et al. Otolaryngol Head Neck Surg 2009) が報告されているが、我々の渉猟し得た範囲では IL-22 や Th22 の発現および機能を解析した報告は皆無である。

さらに興味深いことに、Th22 の主要サイトカインである IL-22 は非スーパー抗原型の黄色ブドウ球菌外毒素である毒素によって産生が誘導されることが最近明らかとなった (Niebuhr M, et al. J Allergy Clin Immunol 2010)。毒素は鼻腔常在菌である黄色ブドウ球菌のほとんどが遺伝子発現を示す分子でも関わらず、慢性副鼻腔炎の病態への関与

は未明である。さらに気道炎症において毒素と IL-22 とのクロストークを解析した報告はみられない。

2. 研究の目的

非スーパー抗原性の黄色ブドウ球菌外毒素である毒素、および新しい Th サブセットである Th22 に注目し、これらの因子のクロストークを介した好酸球性副鼻腔炎の病態への関与を解明する。さらに、これらの因子をターゲットとした新規診断・治療法の探索を進める。

3. 研究の方法

IL-22 および IL-22 受容体の鼻副鼻腔粘膜における *In vivo* 発現を検討し、その発現の好酸球性副鼻腔炎における臨床的意義を解析する。

黄色ブドウ球菌毒素の鼻副鼻腔粘膜および粘液における *In vivo* 発現を検討し、毒素検出の好酸球性副鼻腔炎における臨床的意義を解析する。

黄色ブドウ球菌毒素による鼻茸分離細胞 (Dispersed nasal polyp cells: DNPCs) からの IL-22 の産生と制御機構を解析する。

リコンビナント IL-22 の添加による鼻茸分離細胞 (Dispersed nasal polyp cells: DNPCs) からのサイトカインやムチン蛋白 (MUC1 など) 産生の変化を検討する。

4. 研究成果

IL-22/IL-22 の発現について

免疫染色の結果、IL-22 は鼻茸では主に浸潤炎症細胞に発現した。二重免疫染色での検討では CD4 陽性 T 細胞、CD68 陽性マクロファージおよび EG2 陽性好酸球での発現がみられた。IL-22 受容体は主に上皮細胞に発現した。リアルタイム PCR により mRNA 発現量を検討すると、IL-22 は鉤状突起に比較して鼻茸で有意に発現が亢進した。一方、IL-22 受容体

mRNA は鼻茸で発現が低下し、特にアスピリン過敏症群で顕著であった。

黄色ブドウ球菌 毒素の鼻副鼻腔粘液における発現について

副鼻腔炎患者の中鼻道から検出された黄色ブドウ球菌の 98.8%は 溶血を示した。トキシンは非常に高率な検出率を示したため、好酸球浸潤や CT スコアなど病態と検出率との間に関連を見いだすことはなかった。すなわち、中鼻道に存在する大多数の黄色ブドウ球菌は溶血毒を産生することが明らかとなった。

黄色ブドウ球菌 毒素による鼻茸細胞からの IL-22 産生とその臨床的特徴について

トキシンは鼻茸細胞に働き、IL-22 産生も誘導した。IL-22 産生量は鉤状突起細胞と比較し高値であった。特に トキシン刺激で産生される IL-22 量は鼻茸に浸潤する好酸球数と有意な負の相関を示し、逆に一秒率と有意な正の相関を示した。また喘息を合併する患者鼻茸では IL-22 産生量が有意に低値であった。以上の結果から、トキシンは局所粘膜からの IL-22 産生を誘導するが、その産生不全が病態の増悪に関与する可能性が示唆された。

コンビナント IL-22 の添加による鼻茸細胞からのサイトカインやムチン蛋白(MUC1 など) 産生の変化について

リコンビナント IL-22 の添加によって、鼻茸細胞は MUC1mRNA 発現を有意に亢進した。一方、IL-33 や IL-25 など上皮性サイトカイン産生の誘導は見られなかった。MUC1 発現量と鼻茸細胞の IL-22 受容体 mRNA 量は有意な正の相関を示した。すなわち、鼻茸上皮細胞は IL-22 受容体の発現量に応じて IL-22 に反応し MUC1 発現を示すことが示唆された。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

Noyama Y, Okano M, Fujiwara T, Kariya S,

Higaki T, Haruna T, Makihara S, Kanai K, Koyama T, Taniguchi M, Ishitoya J, Kanda A, Kobayashi Y, Asako M, Tomoda K, Nishizaki K. IL-22/IL-22R1 signaling regulates the pathophysiology of chronic rhinosinusitis with nasal polyps via alteration of MUC1 expression.

Allergology International 有 2016

In press

Kanai K, Okano M, Fujiwara T, Kariya S, Haruna T, Omichi R, Makihara S, Hirata Y, Nishizaki K. Effect of prostaglandin D2 on VEGF release by nasal polyp fibroblasts. Allergology International 有 2016 In press

DOI: 10.1016/j.alit.2016.03.003

Kariya S, Okano M, Higaki T, Noyama Y, Haruna T, Nishizaki K. Pulmonary function in never-smoker patients with chronic rhinosinusitis. International Forum of Allergy and Rhinology 有 vol.5 2015 pp.990-995

DOI: 10.1002/alr.21628

Okano M, Fujiwara T, Kariya S, Haruna T, Higaki T, Noyama Y, Makihara S, Kanai K, Nishizaki K. Staphylococcal protein A-formulated immune complexes suppress enterotoxin-induced cellular responses in nasal polyps. Journal of Allergy and Clinical Immunology 有 vol.136 2015 pp.343-350

DOI: 10.1016/j.jaci.2014.10.058

6 . 研究組織

(1)研究代表者

春名 威範 (HARUNA Takenori)
岡山大学病院・耳鼻咽喉科・医員
研究者番号：70646182