

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 10 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10777

研究課題名(和文)慢性副鼻腔炎に対する新規治療法の開発

研究課題名(英文)Development of new treatments for chronic rhinosinusitis

研究代表者

石田 晃弘 (Ishida, Akihiro)

山形大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：00361246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：アレルギー性鼻炎や慢性副鼻腔炎を代表とする鼻粘膜における炎症性疾患の病態として過剰な鼻汁産生と粘膜浮腫があり様々な分子が関与しているが、今回はペリオスチンについて解析を行った。ペリオスチンの発現量と線維化、およびアレルギー性炎症との関連を検討するために好酸球性副鼻腔炎患者における鼻ポリープ組織に対し免疫組織化学染色を施行した。その結果、鼻ポリープ組織の繊毛上皮下間質中にびまん性にペリオスチンの発現を認めたと比較して明らかな差異は認められなかった。ペリオスチンはアレルギー性/非アレルギー性によらず、鼻ポリープ組織の上皮下間質層に発現することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Several factors contribute to pathologies such as excessive mucus production and mucosal edema, leading to nasal discharge and obstruction in inflammatory nasal disorders. To assess the correlation between expression level of periostin and allergic inflammation, we investigated nasal polyps of eosinophilic chronic rhinosinusitis patients by immunohistochemistry. It was revealed that periostin expressed in subepithelial stroma layer of nasal polyp regardless of allergic inflammation or not.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：ペリオスチン 慢性副鼻腔炎 鼻ポリープ

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性鼻炎、慢性副鼻腔炎などの鼻副鼻腔疾患は、鼻汁や鼻閉が主症状となりQOLを低下させ日常生活の支障となりうる。これ鼻粘膜における慢性炎症の病態として過剰な鼻汁酸性と粘膜浮腫があり様々な分子が関与しているが、近年注目されている分子としてペリオスチンが挙げられる。

(1) ペリオスチンについて

ペリオスチンは骨膜や歯根膜に特異的に発現し、骨芽細胞株により単離された細胞外マトリックス蛋白である¹⁾。ペリオスチンは線維化とコラーゲン沈着の調節因子であり、心筋梗塞後の心筋修復に重要役割を果たしていることでも注目されているが²⁾、IL-4やIL-13により誘導され気道上皮の線維化を引き起こすことも明らかになっており、気管支喘息の病態形成に関与する分子として注目されている³⁻⁴⁾。

(2) ペリオスチンと慢性副鼻腔炎との関連

気管支喘息などの下気道におけるアレルギー性炎症疾患は、上気道におけるアレルギー疾患であるアレルギー性鼻炎や近年注目されている好酸球性副鼻腔炎と密接に関連しており、各々が発症の危険因子であり増悪因子でもあることが知られている⁵⁾。これらの疾患は病態的にも類似する点が多いと推測されるため⁶⁾、我々は上気道における慢性炎症性疾患治療の新規標的分子の一つとしてペリオスチンに着目し、アレルギー性鼻炎及び慢性副鼻腔炎患者における鼻粘膜でのペリオスチン発現解析を行った。

鼻粘膜組織におけるペリオスチンの発現を検討するため抗ペリオスチン抗体を用いて免疫染色を行うと正常鼻粘膜組織においてペリオスチンは鼻粘膜上皮下に弱い陽性像を認めた。アレルギー性鼻炎でも同様の局在を示すがその陽性像は正常鼻粘膜と比較してより深部まで認められた。慢性副鼻腔炎において特にポリープ組織で粘膜上皮下の間質すべての領域に発現を認めた(図1)。

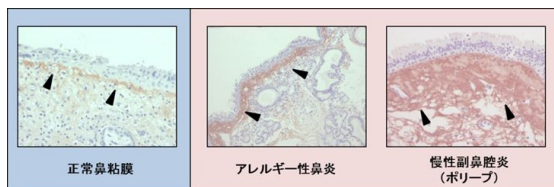


図1 鼻粘膜におけるペリオスチンの発現

また、慢性副鼻腔炎患者における血清ペリオスチン濃度について、健常者との比較からカットオフ値を95ng/mLに設定したところ、感度68.2%、特異度98.5%となった。この値を基準として血中ペリオスチン濃度を検討した結果、慢性副鼻腔炎患者ではペリオスチン濃度が有意に上昇していた(図2)。

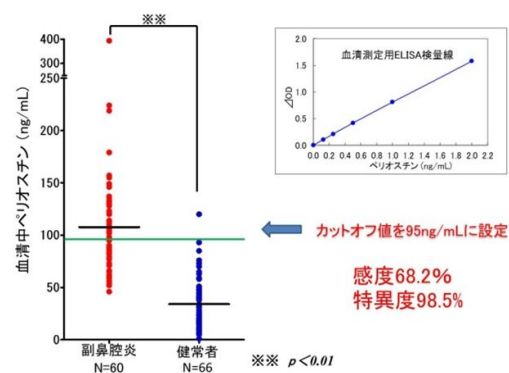


図2 血清中ペリオスチン濃度(健常者との比較)

以上より、ペリオスチンがアレルギー性鼻炎および慢性副鼻腔炎の鼻粘膜組織において過剰に発現し、特にポリープ形成の重要な因子であることが推測された。また、血清中のペリオスチンは慢性副鼻腔炎の疾患活動性や重症度のバイオマーカーとして利用可能であり、治療の標的分子として利用可能であることが明らかになった⁷⁻⁸⁾。

2. 研究の目的

上気道における慢性炎症性疾患治療の新規標的分子として、ペリオスチンが利用可能であることが明らかとなった。ペリオスチンは下気道におけるアレルギー性炎症疾患である気管支喘息の病態形成に関与する分子であることが知られているが、同じく上気道におけるアレルギー性疾患であり近年難治性易再発性疾患として注目されている好酸球性副鼻腔炎の病態形成にも重要な役割を有していることが推測される。好酸球性副鼻腔炎および非好酸球性炎症疾患におけるペリオスチン発現様式を比較検討し、ペリオスチンの機能的役割を解析するのが本研究の目的である。

3. 研究の方法

好酸球性副鼻腔炎および非好酸球性副鼻腔炎例の鼻粘膜組織におけるペリオスチンの発現を免疫組織化学染色にて検出した。抗体による差異の影響を排除するため、免疫組織化学染色にはATLAS社製(HPA012306)とAviva社製(ARP41571-P050)の2種類の抗POSTN抗体を用いて検討した。また、非好酸球性炎症の比較対象として、上鼓室空における慢性炎症の持続や増悪が発症の一因と考えられている中耳真珠腫に対しても免疫組織化学染色を行い、ペリオスチンの発現を検討した。

4. 研究成果

(1) 好酸球性副鼻腔炎症例の鼻粘膜組織におけるペリオスチンの発現

まず抗体間で染色部位に差異が出ないかどうかを検討した。ATLAS社製、Aviva社製ともに上皮下の浮腫状間質層にペリオスチンの発現を認め、抗体間に差異は認められなかった(図3)。

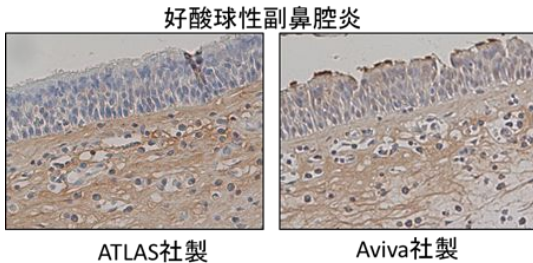


図3 好酸球性副鼻腔炎鼻粘膜におけるペリオスチンの発現

好酸球性副鼻腔炎症例と非好酸球性副鼻腔炎症例で鼻粘膜組織におけるペリオスチン発現の局在について比較検討を行った。好酸球性/非好酸球性症例ともに上皮下の間質組織にペリオスチンの発現を強く認めた。好酸球性症例は間質組織が浮腫状、非好酸球性症例の間質組織は腺組織が多く存在するという違いが認められたが、ペリオスチン発現の局在はほぼ同等であった(図4)。

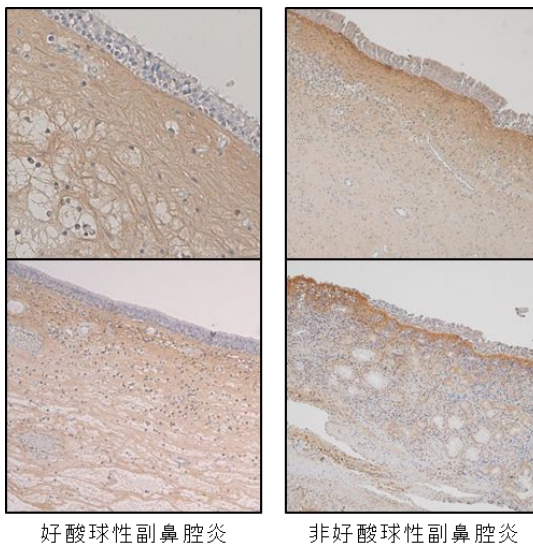


図4 好酸球性および非好酸球性副鼻腔炎におけるペリオスチン発現の比較

非好酸球性炎症の比較対象として、上鼓室空における慢性炎症の持続や増悪が発症の一因と考えられている中耳真珠腫に対しても免疫組織化学染色を行い、ペリオスチンの発現を検討した。中耳真珠腫においても扁平上皮下の間質層内にペリオスチンの強い発現を認めた(図5)。

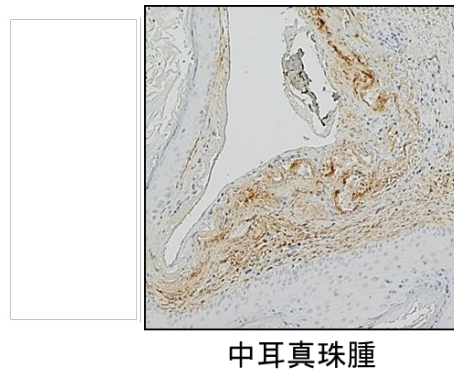


図5 中耳真珠腫におけるペリオスチンの発現

(2) 考察

ペリオスチンは様々な免疫反応に関与しているとされているが、その生理学的意義や病態形成にどの様に関わってくるかはいまだ不明な点が多い。今回我々は、好酸球性副鼻腔炎症例の鼻粘膜組織中において、主に上皮下の間質組織内にペリオスチンが強く発現していることを明らかにした。抗体の信頼性を確かめるために異なる2社の抗POSTN抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、同様の染色パターンを示したため、抗体の信頼性および免疫組織化学染色方法は確かであると考えられた。

TGF- β や IL-4/IL-13 によって誘導されるペリオスチンは気管支喘息において過剰に発現しており、杯細胞化生や粘液の過分泌を制御していることが知られている。アトピー性皮膚炎でも皮膚に大量に沈着することで炎症の遷延化に関与していることが示唆され、また以前の我々の研究ではアレルギー性鼻炎や慢性副鼻腔炎においても粘膜のリモデリングやポリープ形成に重要な役割を示す可能性が示唆されたが、今回の検討では好酸球性炎症のみならず、非好酸球性副鼻腔炎や中耳真珠腫組織中にもペリオスチンの発現が認められた。しかし、以前の検討では血清中のペリオスチン濃度と末梢血好酸球比の間には強い相関関係を認め、やはりペリオスチンはアレルギー性炎症と何らかの関連が強いと考えられる(図6)。

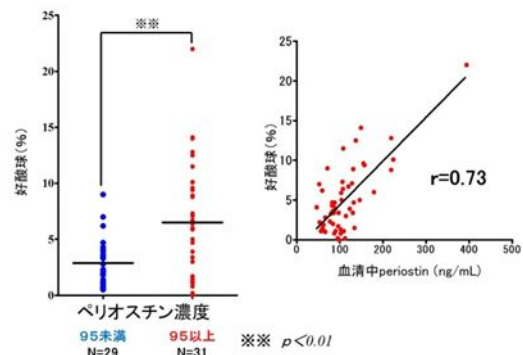


図6 血清中ペリオスチン濃度と末梢血好酸球(%)

今後は組織中のペリオスチン発現パターンや局在のみならず、定量的な解析による比較検討が必要であると考えられる。

<引用文献>

Takeshita. S, Kikuno R, Tezuka K, et al. Osteoblast-specific factor 2: cloning of a putative bone adhesion protein with homology with the insect protein fasciclin I. *Biochem J.* 294: 1993, p271-278.

Norris RA, Kern CB, Wessels A, et al. Identification and detection of the periostin gene in cardiac development. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 281: 2004: p1227-1233.

Yuyama N, D.E. Davies, Akaiwa k, et al. Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. *Cytokine.* 19(6): 2002, p287-296.

Takayama G, Arima K, Kanaji T, et al. Periostin: A novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol.* 118; 2006, p98-104.

Frieri M. Interaction between rhinitis and asthma: state of alert. *Allergy Asthma proc.* 24(6): 2003, 385-393.

Rimmer J, Ruhno JW. Rhinitis and asthma: united airway disease. *Med J Aust.* 20; *Clin Exp All Rev.* 2005; 5: 68-71.

Ishida A et al. Expression of Pendrin and Periostin in Various Nasal Disorders. *Allergology Int.* 61(4):2012 Dec; 589-95.

Ohta N, Ishida A et al, Expression and Roles of Periostin in Otolaryngological Diseases. *Allergology Int.* 査読有、63(2): 2014 Jun; 171-80.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

鈴木祐輔 他：スギ花粉症に対するデキサメタゾンシペシル酸エステル(エリザス)単独療法の治療効果に関する検討. *耳鼻咽喉科免疫アレルギー* 査読有 33 : 2015 : 193-200

[学会発表](計 8 件)

鈴木祐輔 他：鼻ポリープ組織中におけるD-アミノ酸の発現様式. 第 36 回日本耳鼻咽喉免疫アレルギー学会 . 2018 年 2 月 ; 下関市

千葉真人 他：暴露時間依存性に前庭障害を調節しうるゲンタマイシン鼓室内投与法の新規開発. 第 76 回日本めまい平衡医学会 . 2017 年 11 月 ; 軽井沢市

千葉真人 他：耳下腺深葉に発生した嚢胞

腺癌の 1 例 . 第 79 回耳鼻咽喉科臨床学会 . 2017 年 7 月 ; 下関市

鈴木祐輔 他：当科における選択的後鼻神経切断術の治療成績 . 第 66 回日本アレルギー学会 . 2017 年 6 月 ; 東京都

鈴木祐輔 他：複数のポールンロボ(自動花粉モニター)によるスギ花粉飛散のシミュレーション . 第 48 回日本職業・環境アレルギー学会 . 2017 年 6 月 ; 福井市

鈴木祐輔 他：スギ花粉舌下免疫療法の睡眠および労働生産性への効果 . 第 35 回日本耳鼻咽喉免疫アレルギー学会 . 2017 年 4 月 ; 旭川市

中島小百合 石田晃弘 他：声帯ポリープと Periostin の関連性についての検討 . 第 33 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 . 2015 年 2 月 ; 東京都

太田伸男 石田晃弘 他：好酸球性中耳炎における Eosinophil extracellular DNA trap cell death(EETosis) . 第 33 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 . 2015 年 2 月 ; 東京都

[図書](計 2 件)

鈴木祐輔 他：医薬ジャーナル社 . アレルギー・免疫 . 2017 24 ; 334-340

太田伸男 石田晃弘 : 東京医学社 . JOHNS . 2016 32 697-700

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 晃弘 (ISHIDA Akihiro)

山形大学・医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座 非常勤講師

研究者番号 : 00361246

(2) 研究分担者

鈴木 祐輔 (YUSUKE Suzuki)

山形大学・医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座 助教

研究者番号 : 50466629

千葉 真人 (MAKOTO Chiba)

山形大学・医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座 医員

研究者番号 : 80594324