

令和元年6月24日現在

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20230

研究課題名(和文) 鼻腔内細菌コミュニティが通年性アレルギー性鼻炎に及ぼす影響

研究課題名(英文) Can microbial community in the nasal cavity affect the disease state of patients with perennial allergic rhinitis?

研究代表者

渡邊 荘 (WATANABE, SO)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・耳鼻いんこう科医長

研究者番号：20439491

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年では生活様式の変化や環境の変化に伴ってアレルギー性疾患が増加し、アレルギー性鼻炎の有病率が年々増加しており、症状が悪化すると日常生活の質が著しく損なわれる。本研究では健常者とアレルギー性鼻炎患者より採取した細菌よりDNAを抽出してDNAシーケンスを用い細菌種を同定し、鼻腔の細菌コミュニティが鼻炎・発症予防に関わるであろう因子を検出することを目的とする。本研究で得られたDNAレベルでの鼻腔内細菌叢は、患者群と健常者群で比較して属レベルで変化することはなかった。細かい菌種レベルでの違いについては今後も検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の検討では検出された鼻腔内細菌の総数は患者群と健常者群で変化がなく、これはアレルギー性鼻炎により血中Th2サイトカインが高値であっても、少なくとも細菌の属のレベルにはあまり影響が生じないものと推測された。残念ながら菌種レベルでの比較検討がまだ完了しておらず、得られたデータを元にさらに解析を行うことが必要と考えられた。おそらくは菌種レベルでの健常者との違いが見いだせると予想され、ここで見られるであろう菌種の差が今後のアレルギー性鼻炎の新たな治療の鍵になるのではないかと期待される。

研究成果の概要(英文)：Both microbes and allergens can stimulate the nasal mucosa, potentially affecting the disease state of allergic rhinitis (PAR). We hypothesized that sinonasal microbiome of PAR patients can differ from the one of normal control. Microbiota specimens were obtained by nasal endoscopy from the nasal cavity of both PAR patients and normal controls. Samples were analyzed by next-generation sequencing. Serum samples were collected simultaneously and cytokine protein levels were analyzed by ELISA. Operational Taxonomic Unit (OTU) of PAR patients were not significantly different from the one of controls, though cytokine levels were significantly higher in patients group. Comparison of the genus level has not been completed yet, so further evaluation should be needed.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：アレルギー性鼻炎 マイクロバイオーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

アレルギー性鼻炎は鼻閉・水様性鼻漏・くしゃみを主徴とし、スギ抗原などによる花粉症においては眼の掻痒感も伴う。病理組織学的には好酸球浸潤が主体の炎症像がみられる。近年では生活様式の変化や環境の変化に伴ってアレルギー性疾患が増加し、アレルギー性鼻炎の有病率が年々増加しており、症状が悪化すると日常生活の質が著しく損なわれる。抗アレルギー薬、副腎皮質ステロイド薬の投与もしくはアレルゲンによる免疫療法により改善が見込まれるが、難治性の症例に対しては手術的治療が選択される。

我々はこれまでに鼻・副鼻腔炎の遷延化因子として、解剖学的・病理組織学的・生化学的なアプローチにより、鼻・副鼻腔粘膜への炎症細胞浸潤の時代に伴う変化、ウイルス・細菌・真菌の副鼻腔粘膜への影響、Toll-like Receptor の副鼻腔粘膜上皮や鼻茸上皮への過剰発現、日本人における鼻・副鼻腔の解剖学的変異、鼻・副鼻腔炎と HLA 抗原との関わり、気管支喘息の鼻・副鼻腔炎に及ぼす影響、各種サイトカインやケモカインに関する検討、鼻・副鼻腔粘膜のリモデリング、抗アレルギー薬をはじめとする各種薬剤の副鼻腔炎に対する効果などを明らかにしてきた。しかしながらアレルギー性鼻炎の発症、特に早期発見や予防に関わる因子についてはこれまでほとんど検討されてこなかった。

近年、米国を中心として消化管や生殖器、皮膚組織などの microbiome (宿主に生存する微生物コミュニティの構成ゲノムの総称) を検討し、疾患の発生や予防機序に応用する試みが行われており、特に肥満や糖尿病などの代謝疾患で研究が進んでいる。副鼻腔炎においても細菌をはじめとする微生物が発症に関わることは容易に想像がつくが、実際には培養して検出される微生物は地球に生息する全微生物の 1% にも満たない。

## 2. 研究の目的

本研究では健常者とアレルギー性鼻炎患者より採取した細菌より DNA を抽出して DNA シーケンスを用い細菌種を同定し、鼻腔の細菌コミュニティがアレルギー性鼻炎発症にどのように影響するのか解析を行うとともに、健常者およびアレルギー性鼻炎患者との違いからアレルギー性鼻炎の発見・発症予防に関わるであろう因子を検出することを目的とする。

## 3. 研究の方法

通年性アレルギー性鼻炎患者 10 名および健常者 10 名の総鼻道を内視鏡で観察しながら滅菌綿棒で擦過した。DNA の抽出が行われるまでは -80 で綿棒を保存した。同時に血液を 30mL 採取し、得られた血清を用いてサイトカインの測定に用いた。

採取された綿棒に付着した細胞をすべて取り出し、DNA 抽出キットを用いて DNA を精製したのち、PCR に用いられるまで -20 で保存された。

PCR 法を用いて細菌特異的 16s rRNA 遺伝子を増幅し、v3-v4 領域をターゲットとして細菌微生物の解析を行い、アレルギー性鼻炎患者と健常者で違いが見られるか比較を行った。

#### 4 . 研究成果

検出された Operational taxonomic unit (OTU) 数は患者群・健常者群共に約 200 程度であり、有意差は認められなかった。この OUT 数は当初予測された数よりもはるかに低かった。また属レベルでは *Staphylococcus* 属・*Streptococcus* 属・*Corynebacterium* 属が患者群・健常者群共に目立っていた。

採取した血清を用いて IL-4, IL-5, IL-13, IL-17A, IL-33 を ELISA 法にて測定したところ、いずれも患者群で有意に高い値が認められた。

少なくともアレルギー性鼻炎患者にみられる炎症性サイトカインは鼻粘膜局所の細菌叢の菌種数を増やしたり、また減らしたりもしていないのではないかと推測される。これまでの研究結果では患者群と健常者群それぞれで構成する細菌種の違いまでは確認できておらず、さらに細かく比較検討することが今後の課題であると考えられた。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Suzaki I, Kimura Y, Tanaka A, Hirano K, Ishibashi A, Mizuyoshi T, Ando I, Kitajima T, Watanabe S, Hinohira Y, Kobayashi H. Successful treatment of eosinophilic otitis media associated with severe bronchial asthma with an anti-IL-5 monoclonal antibody, mepolizumab. *Auris Nasus Larynx* 46: 141-146, 2019.

渡邊 荘. 昭和大学病院耳鼻咽喉科におけるアレルギー性鼻炎の治療. *昭和学会雑誌* 35(2): 36-37, 2017.

渡邊 荘. 鼻・副鼻腔慢性炎症と microbiome. *アレルギーの臨床* 37(13): 1265-1269, 2017.

〔学会発表〕(計 4 件)

So Watanabe, Lower Airway Resistance in Chronic Rhinosinusitis, 19th Asian Research Symposium in Rhinology / 2nd Indonesian Rhinology Conference, 2018 (招待講演)

So Watanabe, Lower Airway Resistance in Chronic Rhinosinusitis, AAO-HNSF Annual Meeting, 2017 (海外学会口演)

So Watanabe, Micro-organisms and rhinosinusitis, Kyung-Hee International Rhinologic Symposium, 2016 (招待講演)

渡邊 荘, パワンカール ルビー、洲崎 春海、小林 一女、アレルギー曝露が鼻・副鼻腔粘膜上の微生物群に及ぼす影響、第 54 回日本鼻科学会総会・学術講演会、2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6．研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：比野平 恭之

ローマ字氏名：HINOHIRA YASUYUKI

研究協力者氏名：パワンカール ルビー

ローマ字氏名：PAWANKAR RUBY

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、研究者個人に帰属されます。