

平成 21 年 4 月 17 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007-2008

課題番号：19591955

研究課題名(和文) アレルギー性鼻炎のステロイド耐性化機構の解明と関与分子を標的とした治療法の開発

研究課題名(英文) Steroids in nasal allergy: its efficacy and resistance.

研究代表者

太田 伸男(OHTA NOBUO)

山形大学・医学部・講師

研究者番号:20282212

研究成果の概要：ステロイドはアレルギー性鼻炎の治療において重要な薬剤である。しかし、本剤が奏功せず手術治療を選択せざるを得ない症例も存在する。このステロイド耐性化は、NF-kB の過剰発現によるものではなく、ステロイド受容体ベータの発現が関与している可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：アレルギー性鼻炎、ステロイド、耐性化

1. 研究開始当初の背景

近年スギ花粉症をはじめアレルギー性鼻炎の症例数が増加しているだけでなく重症

化傾向が認められる。診療ガイドライン上も鼻噴霧ステロイド薬が有効で重要な位置を占めている。しかし、本剤が奏功しない症例

の取り扱いが問題となる。ステロイド剤は細胞質に存在する受容体と結合し細胞の核内に侵入し、DNA と結合し遺伝子の転写活性を調節し、蛋白合成を制御しその作用を発現する。近年、ステロイド受容体は多くの炎症性サイトカインを誘導する activator protein-1(AP-1)や炎症性サイトカインによって誘導される NFkB などの転写因子に直接的に反応することが明らかになってきた。また、ステロイド受容体には α と β があり、splicing variant である β 受容体の発現が増加すると dominant negative に α 受容体との結合を阻害し、ステロイドが受容体に結合しても機能できなくなる可能性が示唆されている。さらに、ステロイドの作用発現には p38MAP kinase や histone proteins なども重要な役割を果たしており、これらが耐性化に関与している可能性がある。しかし、アレルギー性鼻炎におけるステロイド耐性化機構に関する研究は行われておらず、本研究では、アレルギー性鼻炎でステロイド感受性の高い症例と耐性化した症例の鼻粘膜を採取し、組織中の炎症性細胞や気道上皮細胞のステロイド受容体、AP-1、NFkB、Ik-B などの発現を検討すること、また、耐性化に関与する分子を標的とした治療法を開発するために、これら分子の発現の程度とステロイドの効果の関連について検討することが目的である。ステロイド剤は細胞質に存在する受容体と結合し細胞の核内に侵入し、DNA と結合し遺伝子の転写活性を調節し、蛋白合成を制御しその作用を発現する。近年、ステロイド受容体は多くの炎症性サイトカインを誘導する activator protein-1(AP-1)や炎症性サイトカインによって誘導される NFkB などの転写因子に直接的に反応することが明らかになってきた。また、ステロイド受容体には α と β があり、splicing variant である

受容体の発現が増加すると dominant negative に α 受容体との結合を阻害し、ステロイドが受容体に結合しても機能できなくなる可能性が示唆されている。さらに、ステロイドの作用発現には p38MAP kinase や histone proteins なども重要な役割を果たしており、これらが耐性化に関与している可能性がある。

2. 研究の目的

近年、アレルギー性鼻炎患者が急増している。本州は山林にスギが多いという植生から、春のスギ花粉症患者が多いことは勿論、ダニやハウスダストなど通年性アレルギー性鼻炎患者数も極めて多く、かつ発症も低年齢化している。アレルギー性鼻炎の治療としては、薬物治療が主体で抗ヒスタミン剤、遊離抑制剤など各種の薬物が使用されている。しかし、患者の QOL を低下させる鼻閉型や重症な症例ではステロイドホルモンが切り札となっている。ステロイドホルモンはアレルギー性鼻炎において臨床的に高い有効性が認められているが、ステロイドに耐性化を示し効果が減弱する症例も少なからず存在し、くしゃみ、鼻漏、鼻閉などの鼻症状が増悪するだけでなく QOL も低下し患者の日常生活の大きな障害となっている。このステロイド剤に対する薬物耐性化機構を解明し、この耐性化に関与する分子を標的とした治療法を開発することは、アレルギー性鼻炎患者の新たな治療の展開に道を開くものと考えられる。さらに、耐性化を回避しステロイドの使用用量を減らすことで、現在問題となっているステロイドの様々な副作用もできる限り減少させる可能性がある点でも興味深い。アレルギー性鼻炎におけるステロイド耐性化機構の解明と関与分子を標的とした治療法が開発が本研究の目的である。

3. 研究の方法

アレルギー性鼻炎症例における鼻粘膜組織中に浸潤した好酸球やリンパ球の細胞内におけるステロイド受容体の局在について蛍光顕微鏡を用いて検討した。さらにNF- κ Bの発現についても同様の検討を行った。アレルギー性鼻炎患者群をステロイド患者（アレルギー性鼻炎、鼻中隔湾曲症および慢性副鼻腔炎）を対象として検討する。アレルギー性鼻炎患者群をステロイド感受性の高い群とステロイド抵抗性で外科的治療を施行された2群に分ける。また、アレルギー炎症のない鼻中隔湾曲症および慢性副鼻腔炎症例を対照とする。これら患者から得られた鼻粘膜組織のホルマリン固定、パラフィン切片を用いて免疫組織化学的に検討する。免疫染色には適切な抗原賦活化前処理を加えたABC法を用いる。抗ステロイド受容体および抗体、抗NF κ B抗体、抗I κ B抗体、抗AP-1抗体を1次抗体として用いる。光学顕微鏡にてこれら抗体の発現を検討する。また、鼻粘膜組織中に浸潤した炎症細胞に焦点を絞り、好酸球やリンパ球の細胞内におけるステロイド受容体の局在について蛍光顕微鏡を用いて検討する。ステロイド受容体の関与の様式であるが、受容体の発現が増加することによってdominant negativeに受容体にステロイドが結合することを阻害し、その結果ステロイドの作用が発現されないと考えられる。受容体は受容体のsplicing variantであり、このスプライシングの機序を解明することがステロイド抵抗性の解決につながる。鼻粘膜局所でのアレルギー炎症の結果、産生された炎症性のサイトカイン（IL-6, TNFなど）がこのスプライシングに影響を与えている可能性がある。この点を明らかにするために、鼻粘膜局所でのこれら炎症

制裁とカインの産生とステロイドの受容体の発現の関連を免疫組織学的に検討する。

4. 研究成果

ステロイド感受性の高い群では鼻粘膜の上皮細胞、粘膜固有層、粘膜下層に浸潤する好酸球やリンパ球などの炎症性細胞にステロイド受容体アルファの発現は認められるものの、ベータ受容体の発現はほとんど認められなかった。一方、ステロイド感受性の低い群ではステロイド受容体アルファとベータの両者の発現が鼻粘膜上皮細胞と粘膜へ浸潤した炎症性細胞に認められたが、両者の発現の程度を比較検討するとベータ受容体の発現が有意に上昇していた。また、ステロイド受容体ベータは鼻粘膜上皮細胞と粘膜下層に浸潤した好酸球、好中球、リンパ球などの炎症性細胞の細胞質と核内の両者に認められた。これらの結果は、ステロイドに抵抗性の気管支喘息の患者について検討した諸外国の結果とほぼ一致した。次に、NF- κ Bの過剰発現がステロイド耐性化機構に関与する可能性について検討するために、NF- κ Bの発現を測定した。NF- κ Bの発現は上皮細胞と粘膜に浸潤した炎症性細胞に認められたが、ステロイド感受性とNF- κ Bの発現との間に有意な相関は認められなかった。AP-1およびI- κ BについてもNF- κ Bと同様にこれら分子の発現について検討を加えた。その結果、AP-1とI- κ Bの発現は、NF- κ Bと同様にステロイドの感受性とは関連性が認められなかった。以上のことから、ステロイド耐性化は、NF- κ B、AP-1、I- κ Bの過剰発現によるものではなく、ステロイド受容体ベータの過剰発現が関与している可能性が示唆された。ステロイドベータ受容体はドミナントネガティブにアルファ受容体がステロイドホルモンと結合することを阻害することによって、ステ

ロイド耐性化を誘導すると考えられた。さらに、ベータ受容体の発現が多い症例では、鼻粘膜におけるTNFとIL-6などの炎症性サイトカインが多く認められ、これらサイトカインがベータ受容体の誘導に重要な役割を果たしている可能性が示唆されると考えられた。アルファ受容体のスプライシングバリエーションであるベータ受容体のスプライシングの機序については、ウイルスやスーパーアンチゲンなどの刺激、サイトカインやステロイドの長期使用、喫煙などの生活習慣など様々な要因が関与している可能性が報告されている。今後は、このスプライシングを制御する因子についてのさらなる理解を深める必要があると考えられた。耐性化機構にかかわるステロイド受容体やNF- κ Bの発現を抑制することによって、ステロイド耐性化を回避しアレルギー性鼻炎の治療効果を高めるだけでなく、高濃度のステロイド使用によって懸念される副作用軽減にもつながると考えられる。

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 8件)

Takahashi Y, Aoyama M, Abe E, Aita, T, Ohta N, Sakaguchi M: Development of electron spin resonance radical immunoassay for measurement of airborne orchard grass pollen antigens. *Aerobiologia* 24:53-59, 2008
(査読有)

太田伸男: 副鼻腔手術を極める 内視鏡下副鼻腔手術のための支援機器:レーザー. *JOHNS* 2008; 24(2):161-164
(査読なし)

太田伸男: 花粉症の薬物治療. *アレルギーの臨床*, 2008; 28(1):45-50
(査読なし)

太田伸男: アレルギー性副鼻腔炎. *アレルギーの臨床*, 2008; 28(5):29-31

(査読なし)

太田伸男: 副鼻腔疾患の治療. *ENTON*, 2008; 90:95-101
(査読なし)

太田伸男: 小児とアレルギー性鼻炎 小児に使用できるアレルギー性鼻炎治療薬とその副作用 *JOHNS* 2007;23(2):186-190
(査読なし)

Ohta N, Okazaki S, Fukase,, Aoyagi M, Yamakawa M: Serum concentrations of Eosinophil Cationic Protein and Eosinophils of patients with Kimura's disease. *Allergology Int.*, 2007; 56(1):45-49
(査読有)

Takahashi Y, Aoyama M, Ohta N, Sakaguchi M: Relationship between airborne Cryj1 the onset time of the symptoms of Japanese Cedar pollinosis patients. *Allergology Int.*, 2007; 56(3):277-283
(査読有)

[学会発表](計 4件)

Ohta N, Fukase S, Fuse T, Aoyagi M: Nasal steroids. Its efficacy and resistance in allergic rhinitis. Airways Mucosal Immunology Study-Group (AMIS), Tokyo; February 2. 2008

Ishida A, Ohta N, Aoyagi M: Expression of glucocorticoid receptor-b in glucocorticoid resistant allergic rhinitis. World Allergy Congress, Bangkok; 2007.12.2~6

石田晃弘、太田伸男、青柳優: 鼻疾患における glucocorticoid receptor-b の発現についての検討 第19回日本アレルギー学会春季大会 横浜 2007年6月10日~12日

太田伸男: アレルギー性鼻炎の予防と新しい治療法 ステロイドホルモン. 第12回那須ティーチング, 東京; 2007年7月15日

[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〕

6 . 研究組織

(1)研究代表者

太田 伸男 (OHTA NOBUO)

山形大学・医学部・講師

研究者番号：20282212

(2)研究分担者

石田 晃弘 (ISHIDA AKIHIRO)

山形大学・医学部・助教

研究者番号：00361246

鈴木 祐輔 (SUZUKI YUSUKE)

山形大学・医学部・医員

研究者番号：50466629

(3)連携研究者

なし