

平成21年 5月 12日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591971

研究課題名（和文）

上気道アレルギーにおけるプロスタグランジン代謝の解析と新規診断・治療法の開発

研究課題名（英文） Roles of prostaglandin metabolism in the pathogenesis of upper airway allergic inflammation and development of novel therapeutic approaches

研究代表者

岡野 光博（OKANO MITSUHIRO）

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：60304359

研究成果の概要：

アレルギー性鼻炎や好酸球性副鼻腔炎はアレルギーが関与する代表的な上気道の炎症性疾患である。今回我々は、これらの疾患の病態にプロスタグランジン（PG）代謝が関与するのか検討した。その結果、アレルギー性鼻炎や好酸球性副鼻腔炎の病態には、PGD2やPGE2がそれぞれ促進的および抑制的に働くことを明らかにした。従ってこれら上気道アレルギー疾患の新規治療法として、PGD2とその受容体を阻害する系、あるいはPGE2とその受容体を活性化する系の開発が有望であることが示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：耳鼻咽喉科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉学

キーワード：アレルギー性鼻炎、好酸球性副鼻腔炎、プロスタグランジン、サイトカイン、鼻茸、DP、CRTH2、EP

1. 研究開始当初の背景

プロスタグランジン（PG）はさまざまな炎症に関わる脂質メディエーターである。PGの合成酵素や受容体のクローニングが進んだことにより、その代謝経路を介した各種病態への関与が明らかとなりつつある。しかしながら、アレルギー性鼻炎や慢性（好酸球性）副鼻腔

炎などの上気道アレルギー疾患においては未明な点が多い。我々のグループはPGのうちPGD2およびPGE2に注目し、これらの合成酵素や受容体がアレルギー性鼻炎や慢性副鼻腔炎の病態に関与することを報告した（Okano M, et al. Clinical and Experimental Allergy 36: 1028, 2006、Okano M, et al. Immunology

118: 343, 2006、Okano M, et al. American Journal of Rhinology 20: 342, 2006)。

2. 研究の目的

今回の研究ではアレルギー性鼻炎および好酸球性副鼻腔炎を対象疾患として以下の点を明らかにする。

- (1) 鼻粘膜および副鼻腔（鼻茸）粘膜におけるサイトカイン・ケモカイン・IgE産生におよぼすPGD2およびPGE2の作用について、受容体特異性を含め解析を行い、*in vitro*におけるPGD2/PGE2代謝の上気道アレルギー病態への関与について検討する。
- (2) PGD2およびPGE2代謝に関与する遺伝子を改変したマウスにおけるアレルギー性鼻炎の病態変化を解析し、*in vivo*におけるPGD2/PGE2代謝の上気道アレルギー病態への関与について検討する。
- (3) PGD2/PGE2以外のプロスタノイド（TXA2、PGI2、PGF2 α ）代謝に関する合成酵素および受容体の発現量および分布を解析し、鼻粘膜および副鼻腔粘膜における全てのプロスタグランジン代謝経路を明らかにし、上気道アレルギー病態との関連を検討する。

3. 研究の方法

(1) 鼻・副鼻腔粘膜におけるサイトカイン・ケモカイン産生におよぼすPGD2 およびPGE2の *in vitro* 作用

手術時に採取した鼻・副鼻腔（鼻茸）粘膜から酵素処理にて鼻茸細胞を単離する。鼻茸細胞をブドウ球菌エンテロトキシン（SE）にて刺激し、サイトカイン（IL-4、IL-5、IL-13 など）、ケモカイン（RANTES、Eotaxin など）などを測定する。

SE 刺激前に PGD2 および PGE2 にて前処置し、これらサイトカイン・ケモカイン・IgE の産生に影響を与えるのか検討する。さらに COX 阻害薬や受容体（DP、CRTH2、EP1-EP4）に選択的なアゴニストを添加し、受容体特異性について検討する。

(2) マウスモデルを用いたアレルギー性鼻炎におけるPGD2 およびPGE2の *in vivo* 作用

我々が樹立したマウスアレルギー性鼻炎モデルにおいて、CRTH2 ノックアウトマウスにおけるアレルギー炎症（鼻粘膜内好酸球浸潤、抗原特異的 IgE/IgG1/IgG2a 産生、鼻粘膜単核細胞のサイトカイン産生、くしゃみ発作など）の病態が野生型と有意な差を示すのか検討する。さらに CRTH2 アゴニストおよびアンタゴニストの投与（経口、皮下、点鼻など）によってこれらの炎症動態が変化するか検討する。

(3) 鼻・副鼻腔粘膜におけるTXA2、PGI2、PGF2 α 合成酵素および受容体発現の解析

手術時に採取した鼻・副鼻腔粘膜における TXA2 合成酵素、PGI2 合成酵素、PGF2 α 合成酵素 mRNA の発現を RT-PCR およびリアルタイム PCR にて解析する。さらに合成酵素発現細胞については免疫染色にて観察する。これらのデータを基に、アレルギーや喘息の有無、鼻症状の程度、粘膜肥厚の程度、組織所見（好酸球浸潤など）の程度など臨床的・免疫学的な徴候によって、鼻・副鼻腔粘膜における PG 代謝酵素、受容体発現および PG 量に変化を認めるのか解析し、その臨床的意義づけを行う。

4. 研究成果

(1) 鼻・副鼻腔粘膜におけるサイトカイン・

ケモカイン産生におよぼすPGD2 および PGE2 の *in vitro* 作用

(4) 鼻茸細胞は SE 刺激に対して IL-5、IL-13、RANTES の有意な産生を示した。これらの産生は COX 阻害薬による前処置によって有意に増強された。PGE2 の添加は IL-5、IL-13、RANTES 産生を濃度依存性に抑制した。さらに受容体アゴニストを用いた検討で、PGE2 の作用は主に EP2 を介していた。以上の結果より、鼻茸細胞からの好酸球性炎症関連サイトカイン産生の誘導には、COX により代謝が誘導される PGE2 が抑制的に作用する可能性が示唆された。

(2) マウスモデルを用いたアレルギー性鼻炎における PGD2 および PGE2 の *in vivo* 作用

野生型マウスでみられたくしゃみ回数、鼻かき回数、Cry j1 特異的 IgE 産生、鼻粘膜内好酸球浸潤、頸部リンパ節細胞からの IL-4/IL-5 産生は、CRTH2 ノックアウトマウスで有意に抑制された。さらに野生型マウスを CRTH2 アンタゴニストで処理すると、CRTH2 ノックアウトマウスでみられた病態変化と同様な変化を認めた。以上の結果は、スギ花粉症において CRTH2 は Pro-inflammatory な作用を示すことを示唆している。

(3) 鼻・副鼻腔粘膜における TXA2、PGI2、PGF2 α 合成酵素および受容体発現の解析

鼻茸における TXA2、PGI2、PGF2 \cdot 合成酵素の発現を免疫染色にて検討し、さらに mRNA 発現量をリアルタイム PCR にて定量し、臨床徴候 (CT での重症度、好酸球浸潤、喘息の有無など) との関連を解析した。これらの合成酵素は主に浸潤細胞や腺、血管内皮に発現していた。CT での重症度、好酸球浸潤とこれらの合成酵素量は有意

な相関を認めなかったが、喘息患者では PGI2 合成酵素量が有意に低下しており、PGI2 代謝も好酸球性炎症に関与する可能性が示唆された。

(4) 副鼻腔粘膜における PGD2 受容体の発現とその臨床的意義

鼻茸と鉤状突起粘膜における DP および CRTH2 の mRNA の分布と発現量を検討した。さらに IL-5、eotaxin、RANTES、PGD2 合成酵素 (PGDS) 発現量との関係について検討した。DP mRNA は浸潤している炎症細胞のみならず上皮細胞などに広く発現しており、鼻茸において有意に発現が強かった。一方 CRTH2 mRNA は主に炎症細胞や一部の腺細胞に発現しており、鼻茸において有意に発現が低下していた。DP mRNA と eotaxin、PGDS の mRNA 発現量との間には有意な正の相関がみられ、逆に CRTH2 mRNA と IL-5、eotaxin、PGDS の mRNA 発現量との間には有意な負の相関がみられた。以上より DP と CRTH2 の発現は PGDS や好酸球関連のサイトカインによって制御され、これら 2 つの受容体は、鼻茸形成などを含めた慢性副鼻腔炎の病態において異なった役割をしていることが示唆された。

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 14 件)

1. Okano M, Fujiwara T, et al. PGE2 suppresses staphylococcal enterotoxin-induced eosinophilia-associated cellular responses dominantly via an EP2-mediated pathway in nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 123; 868-874, 2009. (査読有)

2. Ichihara Y, Okano M, et al. Aging exacerbates restraint stress-induced inhibition of antigen-specific antibody production in mice. *Allergology International* 58; 119-124, 2009. (査読有)
 3. 岡野光博. 好酸球性炎症におけるエンテロトキシンの作用とPGE2による制御. *日鼻誌* 48; 15-17, 2009. (査読無)
 4. 岡野光博. 鼻茸形成の機序とアレルギー、プロスタグランジン代謝. *臨床免疫・アレルギー科* 51; 179-186, 2009. (査読無)
 5. 岡野光博. アレルギー性鼻炎の薬物治療プロスタグランジンD2・トロンボキサンA2受容体拮抗薬. *医薬ジャーナル* 44: 903-909, 2009. (査読無)
 6. 岡野光博. アレルギー性上気道炎. *アレルギーの臨床* 29: 24-30, 2009. (査読無)
 7. Okubo K, Goto M, Okano M, et al. A randomized-double-blind comparative study of sublingual immunotherapy for cedar pollinosis. *Allergology International* 57; 265-275, 2008. (査読有)
 8. Yamamoto M, Okano M, et al. Expression and characterization of PGD2 receptors in chronic rhinosinusitis: Modulation of DP and CRTH2 by PGD2. *International Archives of Allergy and Immunology* 148; 127-136, 2008. (査読有)
 9. Kariya S, Okano M, et al. Expression of inflammatory mediators in the otitis media induced by *Helicobacter pylori* antigen in mice. *Clinical and Experimental Immunology* 154; 134-140, 2008. (査読有)
 10. Okano M. Current status of intranasal glucocorticoids in the management of allergic rhinitis. *Clinical and Experimental Allergy Reviews* 8; 57-62, 2008. (査読有)
 11. Nomiya R, Okano M, et al. CRTH2 plays an essential role in the pathophysiology of Cry j 1-induced pollinosis in mice. *Journal of Immunology* 180; 5680-5688, 2008. (査読有)
 12. 岡野光博. アレルギー性鼻炎の新しい治療薬開発の現状-免疫療法薬を中心に-. *アレルギー・免疫* 15: 358-365, 2008. (査読無)
 13. Hattori H, Okano M, et al. STAT1 is involved in pathogenesis of murine allergic rhinitis. *American Journal of Rhinology* 21; 241-247, 2007. (査読有)
 14. Sugata Y, Okano M, et al. Histamine H4 receptor agonists have more activities than H4 agonism in antigen-specific human T cell responses. *Immunology* 121; 266-275, 2007. (査読有)
- [学会発表] (計7件)
1. 牧原靖一郎、岡野光博ら. PGE2による慢性副鼻腔炎における好酸球性炎症の制御. 第27回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2009/2/14. 千葉
 2. Okano M. The Role of Prostaglandins in the Pathogenesis of Chronic Rhinosinusitis. *KyungHee International Rhinologic Symposium*. 2008/11/8. ソウル (韓国)
 3. 岡野光博. 好酸球性炎症におけるエンテロトキシンの作用とPGE2による制御. 第47回日本鼻科学会. 2008/9/25. 名古屋
 4. 岡野光博ら. エンテロトキシンの作用とPGE2による制御.

鼻茸細胞からのサイトカイン産生とCOX代謝の関与. 第109回日本耳鼻咽喉科学会総会. 2008/5/17. 東京

5. 岡野光博. 鼻茸形成におけるプロスタグランジン合成酵素の関与. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会(シンポジウム9). 2007/11/2. 横浜
6. 岡野光博. 花粉症治療の未来. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会(イブニングシンポジウム11). 2007/11/2. 横浜
7. 岡野光博. マウススギ花粉症モデルにおけるCRTH2の役割. 第46回日本鼻科学会. 2007/9/29. 宇都宮

[図書] (計1件)

1. 岡野光博. 日経メディカル開発. 2009. 621頁(364-372頁) ガイドライン外来診療2009.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡野 光博 (OKANO MITSUHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号: 60304359

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし