

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09906

研究課題名(和文)好酸球性副鼻腔炎におけるトリプトファン代謝機構の解明と新規治療法の創製

研究課題名(英文)Elucidation of tryptophan metabolism in eosinophilic sinusitis and development of new therapeutic methods

研究代表者

石川 竜司 (Ishikawa, Ryuji)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号：90436931

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)：新型コロナウイルス感染症による研究制限などがあり、研究は遅延したが、浜松医科大学附属病院での好酸球性副鼻腔炎手術症例数は大きな減少はなく、予定症例数を上回る38症例の血漿ならびに鼻腔ポリープ組織を収集することができた。血漿トリプトファン代謝物解析の結果は、重症ECRS群においてTryptophan、5-Hydroxyindoleacetic acid、Kynurenic acid、Quinaldic acid、Xanthurenic acidが低値になっており、トリプトファン代謝酵素で、次の化学反応を触媒する酸化還元酵素であるIDO1などの酵素が活性化されていることが予想された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血漿トリプトファン代謝物解析の結果は、Tryptophanは、コントロール群と比べて重症ECRS群、中等・軽症ECRS群、非ECRS群のすべてでコントロール群が有意に高値を示した。5-Hydroxyindoleacetic acidは、コントロール群と比べて重症ECRS群が有意に低値を示した。同じくKynurenic acidとQuinaldic acidとXanthurenic acidも、コントロール群と比べて重症ECRS群が有意に低値を示した。好酸球副鼻腔炎患者において、トリプトファン代謝異常が症状の増悪に関連していると予想され、今後新規治療ターゲットとなる酵素異常の解析をすすめていく。

研究成果の概要(英文)：Although the research was delayed due to research restrictions due to the new corona infection, there was no significant decrease in the number of eosinophilic sinus surgery cases at Hamamatsu University Hospital. Nasal polyp tissue could be collected. The results of plasma tryptophan metabolite analysis showed that tryptophan, 5-hydroxyindoleacetic acid, kynurenic acid, quinaldic acid, and xanthurenic acid were low in the severe ECRS group. Enzymes such as the enzyme IDO1 were expected to be activated.

研究分野：副鼻腔疾患の治療

キーワード：トリプトファン代謝 好酸球性副鼻腔炎 JESERECスコア 高速液体クロマトグラフ質量分析計 インドールアミン酸素

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦では約 20 万人が鼻茸のある慢性副鼻腔炎に罹患しており、また約 2 万人が好酸球性副鼻腔炎中等症以上と考えられている。1994 年に Newman らは、末梢血の好酸球の増多と高度な副鼻腔病変が関連することを最初に報告し、その後多くの研究で血中の好酸球数や副鼻腔の病的粘膜炎の好酸球浸潤の増加などの臨床像が病変の重症度や術後の予後不良に相関することが明らかになった。近年、気管支喘息では分子標的薬による治療が開始され、好酸球性副鼻腔炎においてもバイオマーカーの研究は始まっているが、鼻茸などの臨床像や予後に関連する分子学的な解析はいまだ十分にすすんでおらず、好酸球性副鼻腔炎における分子学的病態解明は急務である。

最近、トリプトファン(Trp)代謝に関わる酵素の活性、中間代謝物、生成物の不均衡と、さまざまな難治性疾患との関連が研究されている。Trp は、ヒトにおける 9 つの必須アミノ酸の 1 つである。Trp は、ヒトの体内において、概日リズムと関連するセロトニンやメラトニンに代謝される(セロトニン経路)。キヌレニン経路は、免疫、炎症、神経疾患に関連し、人体で摂取された Trp の大部分はキヌレニン経路により代謝されている。キヌレニン経路の律速酵素はインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ 1(IDO1)で、Trp をキヌレニンに代謝する。1980 年代には、健康食品として多量摂取された Trp により、好酸球増多筋痛症候群が発生するという食中毒事件が米国で発生した。近年は、IDO1 は免疫系に作用することなどから、腫瘍細胞の免疫逃避機構において重要な役割を担っている分子であると考えられ、腫瘍での発現量と予後との関係で注目されている。

我々は、Trp とその代謝物質や代謝酵素が、好酸球性副鼻腔炎の病態にどのように関連するのかを、手術前・後の血漿を使った Trp 一斉解析を行い、再発性・難治性となるメカニズムの解明、新たなバイオマーカーの確立、新規治療法の開発を目指したいと考えた。

2. 研究の目的

増殖細胞では、最大の外敵である免疫系から逃れるため、Trp の代謝物であるキヌレニンをオートクリン、パラクリン様式で分泌し、生存と増殖を可能にする戦略をとることがわかっている。増殖細胞の近傍にいる免疫細胞は Trp 欠乏になり増殖抑制を受ける。キヌレニンは内在性のリガンドとして Ah 受容体(aryl hydrocarbon receptor, 芳香族炭化水素受容体: 別名ダイオキシン受容体)に働き、強力な免疫抑制効果を示す。したがって、Trp の減少とキヌレニンの増加は、増殖細胞の生存、増殖、運動性を上げる一方、免疫細胞には抑制的に働くことがわかっている。今回我々は、重症好酸球性副鼻腔炎の治療抵抗性は、この Trp 代謝に関わる異常を伴っているからではないかと考え研究を進めた。

Trp 代謝産物一斉解析は、高速液体クロマトグラフ質量分析計の発達により可能となった、微量の生体試料分析法である。島津製作所が今回開発した 17 成分の一斉分析が可能な高速高分離用カラム“Shim-pack XR-ODS”を使用し、高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS-8060 にて解析する。この新規カラムでの解析法は、浜松医科大と島津製作所との共同研究で開発されたもので、臨床サンプルを使った解析を、臨床検査科、呼吸器内科、耳鼻咽喉科が共同研究として開始している。好酸球性副鼻腔炎を対象とした Trp 代謝産物解析の報告はこれまでになく、独自性の高いプロジェクトである。

Trp 代謝酵素には、IDO1、キヌレニン-3-モノオキシゲナーゼ(KMO)、キヌレニナーゼ(KYNU)、3-ヒドロキシアントラニル酸-3,4-ジオキシゲナーゼ(3HAO)などがある。これらの酵素の発現解析を行い、Trp 代謝産物 17 成分の一斉分析による解析結果との相関性を確認し、好酸球性副鼻腔炎での Trp 代謝異常を解明する。好酸球性副鼻腔炎への新規治療法開発のための研究は、今後の好酸球性副鼻腔炎の新たな治療戦略にむけた基礎的データになりうるものと考えた。

3. 研究の方法

研究参加に同意を得られた好酸球性副鼻腔炎が疑われる手術症例から、前日午後 9 時以降絶食したのち、手術当日手術室にて末梢血 10ml を採取する。共同研究グループの浜松医科大臨床検査部(前川真人教授)にて遠心分離を行う。凍結血漿 1ml を島津製作所(京都府中京区)に郵送し、研究協力者の増田潤一研究員(島津製作所:ヘルスケアソリューションユニット 副ユニット長)の協力のもと、高速液体クロマトグラフ質量分析計にて Trp 代謝産物の一括測定を行う。浜松医科大学附属病院で治療する患者 38 例を対象とした。Trp 代謝産物量のデータを、好酸球性副鼻腔炎 JESEREC スコアに群分けをおこない解析する。比較正常群として、9 例の副鼻腔疾患を合併しないボランティアを正常コントロールとした。

統計目的: Trp 代謝経路の異常が好酸球性副鼻腔炎の重症度と関連するのかを調べた。

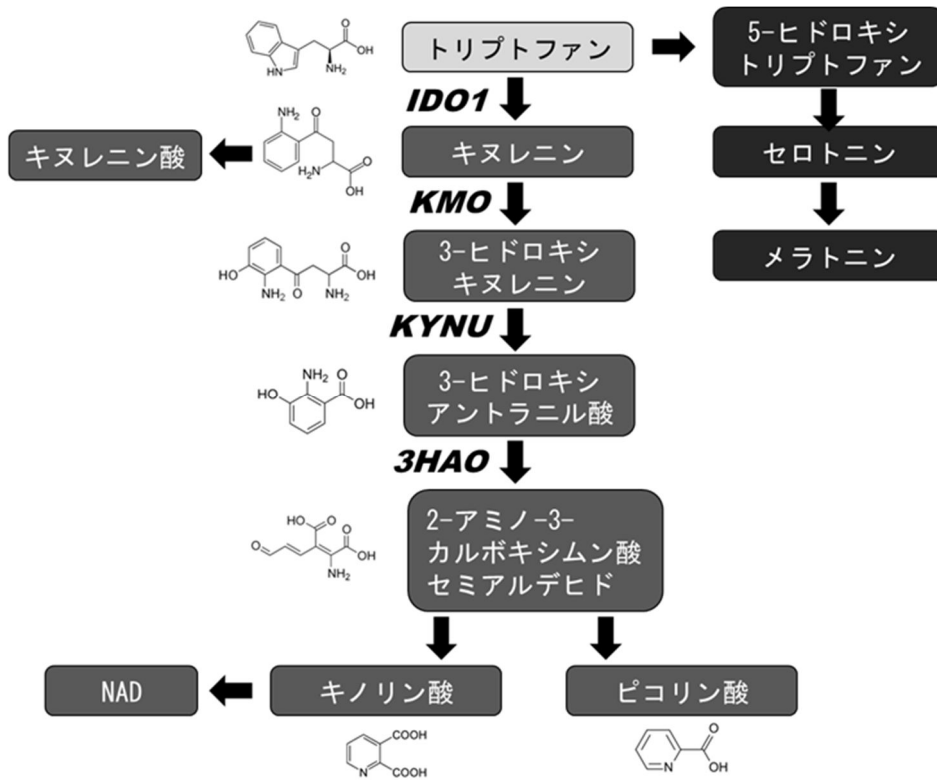
本研究は、浜松医科大学の倫理審査委員会にて承認されている(承認番号: 18-125)。全ての患者より書面で同意を得て研究を行った。

4. 研究成果

新型コロナウイルス感染症による研究協力施設である島津製作所内での研究制限などがあり、研究は

遅延したが、浜松医科大学附属病院での好酸球性副鼻腔炎手術症例数は大きな減少はなく、予定症例数を上回る 38 症例の血漿ならびに鼻腔ポリープ組織を収集することができた。新型コロナウイルス感染症による業務制限が少なくなった 2023 年 2 月に、血漿サンプルを浜松医科大学から島津製作所へ移送し解析作業を開始した。解析データは、2023 年 5 月 21 日に浜松医科大学の方に送られ分析を行った。以下に分析結果を示す。

図 1：トリプトファン代謝経路



- IDO1 : Indoleamine 2,3-dioxygenase-1
- KMO : Kynurenine 3-monooxygenase
- KYNU : Kynureninase
- 3HAO : 3-Hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase

表 1 : 好酸球性副鼻腔炎が疑われた手術症例一覧

	年齢	性別	JESEREC	重症度分類	末梢血 好酸球 (%)	好酸球数 /HPF
ER-1	71	M	15	中等症	5.5	230
ER-2	59	M	15	重症	9.2	178.3
ER-3	70	M	15	非E CRS	7.3	6
ER-4	42	F	17	重症	15.2	158.333
ER-5	51	F	17	中等症	10.2	240
ER-6	70	M	11	軽症	3.9	120
ER-7	73	M	11	軽症	3.3	288.667
ER-8	51	F	17	重症	11.3	111
ER-9	61	F	7	非E CRS	0.9	50
ER-10	59	F	11	中等症	4.2	265.7
ER-11	51	M	5	非E CRS	1	0
ER-12	33	M	11	軽症	4	205
ER-13	69	F	7	非E CRS	0.2	<20
ER-14	48	F	17	重症	11.6	150
ER-15	54	F	15	重症	9.6	138
ER-16	76	F	12	軽症	8	>100
ER-17	61	M	15	中等症	7.7	87
ER-18	65	M	7	非E CRS	1.7	>100
ER-19	48	M	15	非E CRS	14.8	<33
ER-20	35	M	13	中等症	5.5	>100
ER-21	56	F	17	重症	12.9	165
ER-22	41	M	15	中等症	9.3	205
ER-23	45	M	11	軽症	3.8	107
ER-24	67	M	13	非E CRS	7.9	37
ER-25	63	M	15	重症	7.8	104
ER-26	48	M	15	中等症	9.9	128
ER-27	75	M	9	非E CRS	3.1	93
ER-28	52	F	17	重症	10.2	75
ER-29	59	M	13	中等症	5.7	389
ER-30	32	M	15	非E CRS	11.9	55
ER-31	40	M	17	中等症	9.5	>100
ER-32	61	M	17	重症	15	238
ER-33	65	M	17	重症	9.5	150
ER-34	77	F	17	重症	10.6	160
ER-35	51	F	11	中等症	2	222
ER-36	54	F	17	重症	10.2	710
ER-37	63	M	9	非E CRS	3.4	43.3
ER-38	52	F	13	中等症	10.2	72

E CRS : eosinophilic chronic rhinosinusitis

表2：血漿トリプトファン代謝物解析の結果；正常コントロールと各群との比較

	重症ECRS	中等・軽症ECRS	非ECRS	正常コントロール
Tryptophan	42.39±5.43	39.98±6.17	41.93±6.68	55.90±11.45
p値	0.0019*	0.0001*	0.0043*	
L-5-Hydroxytryptophan	0.0060±0.0019	0.0116±0.0090	0.0123±0.0077	0.0056±0.0008
p値	n.s.	n.s.	0.0193*	
Serotonin HCl	0.0031±0.0080	0.0009±0.0031	0.0012±0.0024	0.0018±0.0045
p値	n.s.	n.s.	n.s.	
Kynurenine	1.200±0.274	1.254±0.392	1.447±0.374	1.329±0.240
p値	n.s.	n.s.	n.s.	
5-Hydroxyindoleacetic acid	0.0064±0.0118	0.0125±0.0265	0.0108±0.0180	0.0285±0.0186
p値	0.0036*	n.s.	n.s.	
Indole-3-acetic acid	0.9387±0.4811	0.9215±0.6884	1.5087±0.7476	1.1745±0.4070
p値	n.s.	n.s.	n.s.	
Anthranilic acid	0.0029±0.0053	0.0063±0.0059	0.0085±0.0063	0.0027±0.0055
p値	n.s.	n.s.	n.s.	
Kynurenic acid	0.0272±0.0100	0.0355±0.0143	0.0365±0.1144	0.0372±0.0103
p値	0.0385*	n.s.	n.s.	
Quinaldic acid	0.0047±0.0018	0.0060±0.0036	0.0058±0.0039	0.0069±0.0019
p値	0.0127*	n.s.	n.s.	
3-Indolebutyric acid	0.0175±0.0108	0.0114±0.0079	0.0186±0.0085	0.0186±0.0061
p値	n.s.	0.0288*	n.s.	
3-Hydroxykynurenine	0.0123±0.0077	0.0156±0.0064	0.0154±0.0037	0.0121±0.0031
p値	n.s.	n.s.	n.s.	
3-hydroxyanthranilic acid	0.0551±0.0204	0.0488±0.0115	0.0470±0.0099	0.0636±0.0131
p値	n.s.	0.0072*	0.0061*	
Xanthurenic acid	0.0046±0.0034	0.0075±0.0038	0.0077±0.0037	0.0082±0.0043
p値	0.0440*	n.s.	n.s.	
Quinolinic acid	0.5333±0.0526	0.5838±0.1598	0.6317±0.1235	0.5492±0.0620
p値	n.s.	n.s.	n.s.	

血漿トリプトファン代謝物解析の結果は、多くのトリプトファン代謝物において正常コントロールと ECRS 症例との間で増減を認めた。Tryptophan においては、コントロール群と比べて重症 ECRS 群、中等・軽症 ECRS 群、非 ECRS 群のすべてでコントロール群が有意に高値を示した。5-Hydroxyindoleacetic acid は、コントロール群と比べて重症 ECRS 群が有意に低値を示した。同じく Kynurenic acid と Quinaldic acid と Xanthurenic acid も、コントロール群と比べて重症 ECRS 群が有意に低値を示した。つまり、重症 ECRS 群において Tryptophan、5-Hydroxyindoleacetic acid、Kynurenic acid、Quinaldic acid、Xanthurenic acid が低値になっており、トリプトファン代謝酵素で、次の化学反応を触媒する酸化還元酵素である IDO1 などの酵素が活性化されていることが予想された。今後、この結果を受け好酸球副鼻腔炎患者におけるトリプトファン代謝異常の解析を手術時に採取したポリープ組織を使った mRNA 発現解析、免疫染色解析をすすめていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Ishikawa R, Imai A, Mima M, Yamada S, Takeuchi K, Mochizuki D, Shinmura D, Kita J, Nakagawa T, Kurokawa T, Misawa Y, Nakanishi H, Takizawa Y and Misawa K	4. 巻 46(2)
2. 論文標題 Novel prognostic value and potential utility of opioid receptor gene methylation in liquid biopsy for oral cavity cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Problems in Cancer	6. 最初と最後の頁 100834
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.currprobcancer.2021.100834	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamada S, Misawa K, Mima M, Imai A, Mochizuki D, Yamada T, Shinmura D, Kita J, Ishikawa R, Yamaguchi Y, Misawa Y, Kawasaki H and Mineta H	4. 巻 12(8)
2. 論文標題 Telomere shortening in head and neck cancer: association of DNA demethylation and survival.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2165-2172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.54760	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Misawa K, Imai A, Kanazawa T, Mima M, Yamada S, Misawa Y, Mochizuki D, Yamada T, Shinmura D, Ishikawa R, Kita J, Yamaguchi Y, Misawa Y and Mineta H	4. 巻 8(10)
2. 論文標題 G protein-coupled receptor genes, PTGDR1, PTGDR2, and PTGIR, are candidate epigenetic biomarkers and predictors for treated patients with HPV-associated oropharyngeal cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 1504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms8101504	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Misawa K, Yamada S, Mima M, Nakagawa T, Kurokawa T, Imai A, Mochizuki D, Shinmura D, Yamada T, Kita J, Ishikawa R, Yamaguchi Y, Misawa Y, Kanazawa T, Kawasaki H and Mineta H	4. 巻 8
2. 論文標題 Long interspersed nuclear element 1 hypomethylation has novel prognostic value and potential utility in liquid biopsy for oral cavity cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomarker Research	6. 最初と最後の頁 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40364-020-00235-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 石川 竜司, 細川 誠二, 峯田 周幸	4. 巻 156
2. 論文標題 蝶形骨洞内の病変から診断された肝細胞癌例.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科臨床 補冊	6. 最初と最後の頁 101-104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Misawa K, Yamada S, Mima M, Nakagawa T, Kurokawa T, Imai A, Mochizuki D, Morita K, Ishikawa R, Endo S and Misawa Y	4. 巻 10(21)
2. 論文標題 5-Hydroxymethylcytosine and ten-eleven translocation dioxygenases in head and neck carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 5306-5314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.34806	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Misawa K, Mima M, Yamada S, Imai A, Mochizuki D, Ishikawa R, Kita J, Yamaguchi Y, Endo S, Misawa Y and Mineta H	4. 巻 18(1)
2. 論文標題 Prostanoid receptor genes confer poor prognosis in head and neck squamous cell carcinoma via epigenetic inactivation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12967-020-02214-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Misawa K, Mima M, Yamada S, Misawa Y, Imai A, Mochizuki D, Nakagawa T, Kurokawa T, Oguro M, Ishikawa R, Yamaguchi Y, Endo S, Kawasaki H, Kanazawa Takeharu and Mineta H	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 Neuropeptide receptor genes GHSR and NMUR1 are candidate epigenetic biomarkers and predictors for surgically treated patients with oropharyngeal cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1007
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-57920-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石川竜司
2. 発表標題 当科における頭蓋内進展を伴う嗅神経芽細胞腫の内視鏡下頭蓋底切除症例
3. 学会等名 第60 回日本鼻科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石川 竜司, 山口 裕貴, 峯田 周幸
2. 発表標題 蝶形骨洞内の病変から診断された肝細胞癌の一例
3. 学会等名 第59回 日本鼻科学会 学術講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	三澤 清	浜松医科大学・医学部・教授	
	(Misawa Kiyoshi)		
	(90334979)	(13802)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------