

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592511

研究課題名(和文)好酸球性副鼻腔炎の病態形成におけるサイトカインネットワークの解明と創薬展開

研究課題名(英文)Elucidation and innovative drug development development of the cytokine network in the condition of a patient formation of acidophile-related sinusitis

研究代表者

岡野 光博 (Okano, Mitsuhiro)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・准教授

研究者番号：60304359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：好酸球性副鼻腔炎の病態形成におけるサイトカインネットワークの解明として、鼻副鼻腔粘膜におけるサイトカインの発現、好酸球性副鼻腔炎の外的因子とされる黄色ブドウ球菌外毒素や真菌抗原に対するサイトカイン産生、サイトカイン産生を制御する微生物コンポーネントやプロスタグランジンの解析を行った。黄色ブドウ球菌の外毒素、真菌抗原、TLRアゴニスト、プロテアーゼなどの微生物コンポーネントはサイトカインネットワークを活性化し、鼻茸の形成や難治化に関与することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：We sought to determine the extrinsic and intrinsic factors involving the pathogenesis of eosinophilic rhinosinusitis. We found that microbial components including exotoxins in *Staphylococcus aureus*, fungal antigens, TLR agonists and proteases regulates cytokine networks including IL-5, IL-13, IFN-gamma, IL-17A, IL-18, IL-33, IL-22 and IL-10, and involved in the pathogenesis of eosinophilic rhinosinusitis including nasal polyp formation, eosinophil infiltration into nasal polyps, radiological severity of rhinosinusitis, and lower airway obstruction.

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：サイトカイン 副鼻腔炎 好酸球 黄色ブドウ球菌 真菌 プロテアーゼ プロスタグランジン 衛生仮説

## 1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎の増悪因子として、外的因子としては黄色ブドウ球菌の菌体外毒素であるエンテロトキシン、真菌、ウイルスおよびバイオフィームなどが、また内的因子としてはアスピリン喘息合併例で示されるようにアラキドン酸代謝異常が疑われているが、詳細は不明である。

## 2. 研究の目的

好酸球性副鼻腔炎の病態形成におけるサイトカインネットワークの解明として、鼻副鼻腔粘膜におけるサイトカインの発現、好酸球性副鼻腔炎の外的因子とされる黄色ブドウ球菌外毒素や真菌抗原に対するサイトカイン産生、サイトカイン産生を制御する微生物コンポーネントやプロスタグランジンの解析を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 副鼻腔粘膜におけるサイトカインの発現

鼻茸および鉤状突起における IL-10、IL-22、IL-18 や IL-33 の発現を免疫染色にて観察した。

### (2) 鼻茸細胞の微生物成分に対するサイトカイン産生

好酸球性副鼻腔炎患者の手術時に鼻茸を採取した。酵素処理にて鼻茸分離細胞 (Dispersed Nasal Polyp Cells: DNPCs) を作製した。DNPCs の黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B、トキシン、アルテルナリア抗原、プロテイン A、アスペルギルス抗原、カンジダ抗原、プロテアーゼ、TLR4 アゴニスト (LPS)、TLR3 アゴニスト (Poly-IC) などに対するサイトカイン (IL-5、IL-10、IL-13、IL-17A、IL-18、IL-22、IL-33、IFN- $\gamma$ ) 産生を ELISA にて測定した。また DNPCs を COX 阻害薬であるジクロフェナックにて処置し、COX 阻害効果を検討した。さらに PGE2 などのプロスタグランジンの制御効果を検討した。

## 4. 研究成果

サイトカインの発現については、自然免疫リンパ球の誘導にも強く関わる IL-18 や IL-33 の鼻茸における発現を免疫染色にて観察した。

IL-18 は主に上皮に発現していたが、浸潤炎症細胞にも発現していた。IL-33 は上皮や浸潤炎

症細胞に加え、血管内皮細胞にも発現していた。IL-18 に関しては浸潤細胞での陽性細胞数と CT スコアおよび鼻茸浸潤好酸球数との間で正の相関を認めた。鼻茸細胞からの IL-18 および IL-33 産生はプロテアーゼ刺激により誘導された。鼻茸細胞は黄色ブドウ球菌エンテロトキシンの刺激により、IL-5 や IL-13 などの Th2 型サイトカインに加え、IFN- $\gamma$  などの Th1 型サイトカイン、さらには IL-17A などの Th17 型サイトカインを産生した。中和抗体によって IL-18 の働きをブロックすると、エンテロトキシンにより誘導される鼻茸細胞からの IL-5、IL-13、IFN- $\gamma$  の産生は有意に抑制されたが、IL-17A の産生に関しては有意な変動を認めなかった。さらにサイトカインネットワーク成立のメカニズムを検討するために、衛生仮説に注目した。TLR4 アゴニストである LPS の前曝露はエンテロトキシンにより誘導される IL-5、IL-13、IFN- $\gamma$ 、IL-17A 産生を全て抑制した。この抑制作用は後曝露ではみられなかった。LPS の抑制作用は PGE2 産生作用を介していた。鼻茸細胞を COX 阻害すると、LPS 単独でも IL-5 および IL-13 産生が誘導された。受容体選択的アゴニストを用いた検討からは、PGE2 の抑制作用は主に EP2 受容体を介していた。さらに黄色ブドウ球菌以外の微生物コンポーネントにも注目した。真菌抗原であるアルテルナリア、アスペルギルス、カンジダは鼻茸細胞に働き、エンテロトキシンと同様に IL-5 および IL-13 産生を誘導した。一方、その産生頻度や産生量はエンテロトキシンに比べ低かった。また黄色ブドウ球菌の主要な非スーパー抗原型外毒素である トキシンはエンテロトキシンと同程度の IL-5 および IL-13 産生を誘導した。

## 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 8 件)

Okano M, Fujiwara T, Kariya S, Higaki

T, Haruna T, Matsushita O, Noda Y, Makihara S, Kanai K, Noyama Y, Taniguchi M, Nishizaki K. Cellular responses to *Staphylococcus aureus* alpha-toxin in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Allergology International 有 2014 in press.  
Kariya S, Okano M, Oto T, Higaki T, Makihara S, Haruna T, Nishizaki K. Pulmonary function in patients with chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis. Journal of Laryngology and Otology 有 vol.128 2014 pp.255-262 10.1017/S0022215114000450.  
Imoto Y, Tokunaga T, Matsumoto Y, Hamada Y, Ono M, Yamada T, Ito Y, Arinami T, Okano M, Noguchi E, Fujieda S. Cystatin SN upregulation in patients with seasonal allergic rhinitis. PLoS One 有 Vol.8 2013 e67057 10.1371/journal.pone.0067057  
Higaki T, Okano M, Kariya S, Fujiwara T, Haruna T, Hirai H, Murai A, Gotoh M, Okubo K, Yonekura S, Okamoto Y, Nishizaki K. Determining minimal clinically important differences in Japanese cedar/cypress pollinosis. Allergology International 有 vol.62 2013 pp.487-493 10.2332/allergolint.13-0A-0570.  
Gotoh M, Yuta A, Okano M, Ohta N, Matsubara A, Okubo K. Severity assessment of Japanese cedar pollinosis using the practical guideline for the management of allergic rhinitis in Japan and the allergic rhinitis and its impact of asthma guideline. Allergology International 有 vol.62 2013

pp.181-189.

10.2332/allergolint.12-0A-0498

Hirai H, Kariya S, Okano M, Fukushima K, Kataoka Y, Maeda Y, Nishizaki K.

Expression of toll-like receptors in chronic otitis media and cholesteatoma. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. 有 vol.77 2013 pp.674-676

10.1016/j.ijporl

Okano M, Fujiwara T, Makihara S, Fujiwara R, Higaki T, Kariya S, Noda Y, Haruna T, Nishizaki K. Characterization of IL-18 expression and release

in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis. International Archives of Allergy and Immunology 有 vol.161 2013 pp.275-286

10.1159/000341668

Kariya S, Okano M, Higaki T, Makihara S, Haruna T, Eguchi M, Nishizaki K.

Neutralizing antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor inhibits inflammatory response in experimental otitis media Laryngoscope. 有 vol.123 2013 pp.1514-1518 10.1002/lary.23795

〔学会発表〕(計 3 件)

岡野光博、Th2 サイトカイン阻害薬の可能性、第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2013 年 11 月 28 日～30 日、東京  
岡野光博、アレルギー性鼻炎における Minimal Persistent Inflammation、第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2013 年 11 月 28 日～30 日、東京  
岡野光博、アレルギー性鼻炎の治療-点鼻ステロイドの利点、第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2013 年 5 月 11 日～12 日、横浜

〔図書〕(計 2 件)

岡野光博(川内秀之編集)、中山書店、風邪症候群のハイリスクグループ. 風邪症候群と関連疾患-そのすべてを知ろう、2013、282

岡野光博(日本鼻下学会報)、日本鼻科学会、舌下免疫療法の適応と禁忌、舌下免疫療法の実際と対応、2013、22

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: IL-10産生促進剤

発明者: 岡野光博

権利者: 岡野光博、西崎和則、藤原田鶴子

種類: 特許

番号: 特願第2013-189897

出願年月日: 25年9月12日

国内外の別: 国内

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

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

假谷 伸 (KARIYA SHIN)

岡山大学・岡山大学病院  
助教

研究者番号: 10274226