

た（図省略）。さらに血小板と好酸球などの顆粒球との付着も有意に増加していることが確認できた（図省略）。さらに液性因子での血小板活性化も証明できた（図2）ことから、また非 AIA と健常人とは差がなかったことから、AIA では安定期でも特異的に血小板が活性化し、好酸球などと付着も多く、両者のクロストークにより、CysLT などの産生亢進、病態形成に関与していると推定された。しかしアスピリン負荷時には、その変動は明らかでなかったこと（図省略）から、アスピリン誘発への直接の関与は不明であった。

### 3. その他

なし

#### E. 結論

アスピリン喘息の安定期では特異的に血小板が活性化しており、AIA の基本病態へ関与している可能性が高い。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

「総括研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

##### 2. 学会発表

「総括研究報告書」

G. 研究発表 2. 学会発表 参照のこと

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

## NSAIDs 過敏喘息の病態に好塩基球の関与は認めない

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター病態総合研究部 部長  
研究協力者 三井千尋 国立病院機構相模原病院臨床研究センター病態総合研究部 研究員  
三田晴久 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員  
梶原景一 国立病院機構相模原病院臨床研究センター病態総合研究部 研究員  
小野恵美子 ハーバード大学・ブリガムウィミズホスピタル 研究員  
秋山一男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター センター長

### 研究要旨：

背景：背景：すでに AIA でのマスト細胞活性化（安定期、アスピリン誘発時）を我々は証明した（JACI2012 など）。また好酸球からの CysLTs は少なくともアスピリン誘発時はほとんど生じていないことを、我々（Mita et al CEA 2005）は証明している。その一方で、好塩基球は、その重要性が以前から指摘されながらも、その役割はほとんど不明であった。すでに一般喘息の自然発作時に好塩基球の活性化が生じることを我々は以前に証明したが（JACI 2010）、AIA での関与は不明である。

目的：AIA での好塩基球の関与を安定期と誘発時の末梢血好塩基球活性化指標である CD203 c を用いて明らかにする。

結果・考察：我々はすでに一般喘息では安定期でも好塩基球の活性化があり、発作時にはその活性化が有意に顕著になることを過去に示しているが（JACI 2010、図示なし）、AIA 安定期では、好塩基球の活性化は認めず（図 1）、さらにアスピリン誘発時には活性化好塩基球が減少する可能性が示唆された（図 2）。これらの結果は少なくとも AIA では好塩基球活性化が主病態でないことを示唆している。

結論：アスピリン喘息の安定期やアスピリン誘発時に、明らかな好塩基球の関与は認めない。

アスピリン喘息（AIA）における末梢血血小板上活性化マーカー4種すべてにおいて、非 AIA と比較して有意に高値であり、CysLT 過剰産生と関連していることが判明した。さらに血小板と好酸球などの顆粒球との付着も有意に増加していることが確認できた。さらに液性因子での血小板活性化も証明できたことから、また非 AIA と健常人とは差がなかったことから、AIA では安定期でも特異的に血小板が活性化し、好酸球などと付着も多く、両者のクロストークにより、CysLT などの産生亢進、病態形成に関与していると推定された。しかしアスピリン負荷時には、その変動は明らかでなかったことから、アスピリン誘発への直接の関与は不明であった。

結論：アスピリン喘息の安定期やアスピリン誘発時に、明らかな好塩基球の関与は認めない。

### A. 研究目的

背景：すでに AIA でのマスト細胞活性化（安定期、アスピリン誘発時）を我々は証明した（JACI2012 など）。また好酸球からの CysLTs は少なくともアスピリン誘発時はほとんど生じていないことを、我々（Mita et al CEA 2005）は証明している。その一方で、好塩基球は、その重要性が以前から指摘されながらも、

その役割はほとんど不明であった。すでに一般喘息の自然発作時に好塩基球の活性化が生じることを我々は以前に証明したが（JACI 2010）、AIA での関与は不明である。

目的：AIA での好塩基球の関与を安定期と誘発時の末梢血好塩基球活性化指標である CD203 c を用いて明らかにする。

## B. 研究方法

1)対象：AIA1 4例も追加検討した（安定期と負荷時）。

2)方法：末梢血好塩基球の CD63、CD69、CD203c の各発現を flow cytometry を用いて測定した。また、anti-IgE、Derp1、IL-3、15R-MePGD2 の各刺激に対する反応を測定した。

### （倫理面への配慮）

検査結果や臨床背景は（独）国立病院機構相模原病院における調査はカルテ記載事項からの調査であり、通常の医療行為の範囲である。また検体採取はすべて文書同意を得ている。調査の個人情報情報は暗号化されており、保護には十分配慮した。また本研究内容は倫理委員会での承認済みである。

## C. 研究結果

AIA 安定期では、好塩基球の活性化は認めず（図1）、さらにアスピリン誘発時には活性化好塩基球が減少し、その活性化はなかった（図2）。

Figure 1. CD203c expression on basophils in stable condition

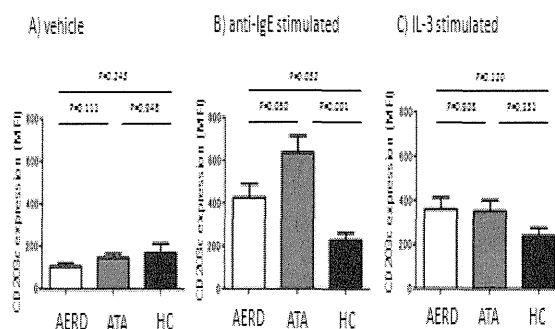
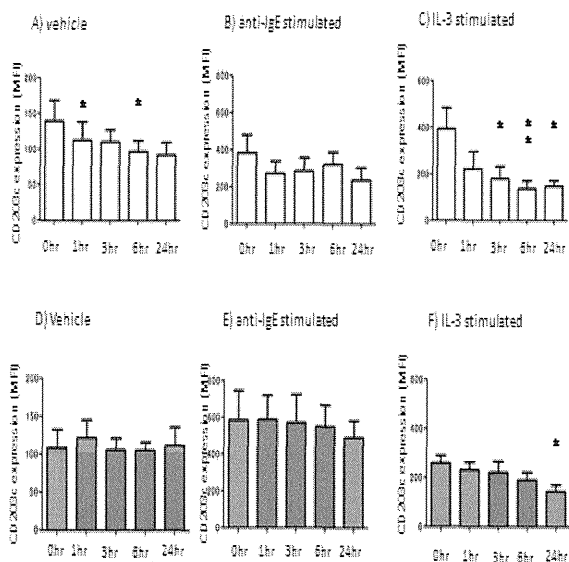


Figure 2. CD203c expression on basophils during aspirin provocation test



## D. 考察

我々はすでに一般喘息では安定期でも好塩

基球の活性化があり、発作時にはその活性化が有意に顕著になることを過去に示しているが（JACI 2010、図示なし）、AIA 安定期では、好塩基球の活性化は認めず（図1）、さらにアスピリン誘発時には活性化好塩基球が減少する可能性が示唆された（図2）。これらの結果は少なくとも AIA では好塩基球活性化が主病態でないことを示唆している。

## E. 結論

アスピリン喘息の安定期やアスピリン誘発時に、明らかな好塩基球の関与は認めない。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

「総括研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

### 2. 学会発表

「総括研究報告書」

G. 研究発表 2. 学会発表 参照のこと

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金  
(難治性疾患等克服研究事業(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 免疫アレルギー研究分野))  
分担研究報告書

シクロオキシゲナーゼ (COX) 2 活性化刺激である喫煙は AIA 発症を抑制するか？

研究代表者 谷 口 正 実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター病態総合研究部 部長  
研究協力者 林 浩 昭 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師  
福 富 友 馬 国立病院機構相模原病院臨床研究センター診断・治療薬研究室 室長  
三 井 千 尋 国立病院機構相模原病院臨床研究センター病態総合研究部 研究員  
関 谷 潔 史 国立病院機構相模原病院 アレルギー科 医師  
秋 山 一 男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター センター長

研究要旨：

背景：AIA の特徴的基本病態として気道での PGE2 産生低下がある。その機序として気道におけるシクロオキシゲナーゼ (COX) 2 活性の低下が推定されている。ヒト気道において、最も気道の COX 2 活性を刺激するものとして、喫煙があげられている。

仮説：AIA 患者では喫煙者が少ない、もしくは喫煙が AIA 発症を抑制する仮説が成立する。

目的：AIA での喫煙の抑制の可能性を考え、疫学的な症例対照研究で AIA における喫煙抑制の可能性を証明する。AIA 確定例 127 例と非 AIA (負荷試験で確定した ATA1=100 例と疫学調査での相模原市における非 AIA=1270 例) の問診から得られた喫煙歴を正確に比較する (症例対照研究)。

結果・考察：今回初めて、AIA に喫煙者が有意に少ない、もしくは過去喫煙から禁煙した割合が多いことを見出した。喫煙はすでに自然界の強い COC2 誘導因子であることが知られており、AIA におけるプロスタグランジン合成系では、気道系の PG バランスからは、真逆の病態を喫煙が形成しうるものが仮説される。今回は、この仮説が間接的に支持された。

結論：喫煙継続 (=COX2 刺激) はアスピリン喘息発症を抑制する可能性がある。

A. 研究目的

背景：AIA の特徴的基本病態として気道での PGE2 産生低下がある。その機序として気道におけるシクロオキシゲナーゼ (COX) 2 活性の低下が推定されている。ヒト気道において、最も気道の COX 2 活性を刺激するものとして、喫煙があげられている。

仮説：AIA 患者では喫煙者が少ない、もしくは喫煙が AIA 発症を抑制する仮説が成立する。

B. 研究方法

AIA 確定例 127 例と非 AIA (負荷試験で確定した ATA1=100 例と疫学調査での相模原市における非 AIA=1270 例) の問診から得られた喫煙歴を正確に比較する (症例対照研究)。

(倫理面への配慮)

検査結果や臨床背景は (独) 国立病院機構相模原病院における調査はカルテ記載事項からの調査であり、通常の医療行為の範囲である。調査の個人情報暗号化されており、保護には十分配慮した。また本研究内容は倫理委員会での承認済みである。

C. 研究結果

図 1: AIA では有意に現喫煙者が少なかった。また AIA では過去喫煙があるも、喘息発症前に禁煙している割合が有意に多かった (図 2)。

図1: AIAでは非AIA (ATA)に比し、有意に喫煙者が少ない

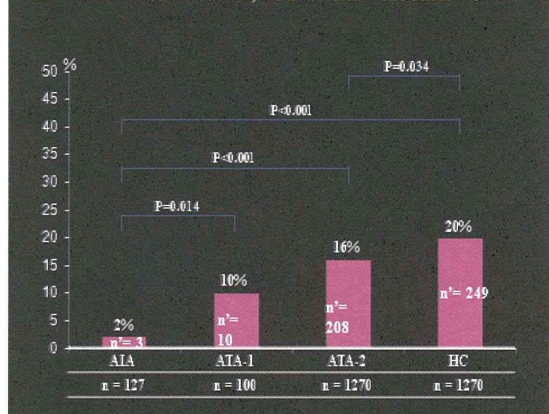
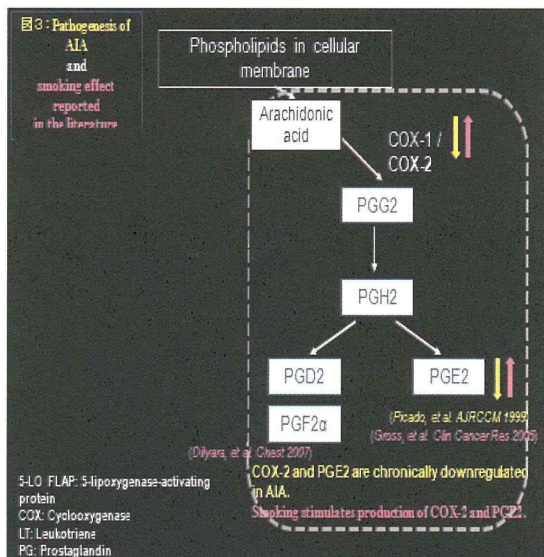
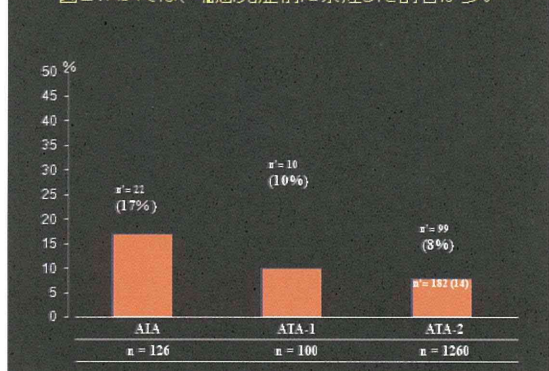


図2: AIAでは、喘息発症前に禁煙した割合が多い



## D. 考察

今回初めて、AIAに喫煙者が有意に少ない、もしくは過去喫煙から禁煙した割合が多いことを見出した。喫煙はすでに自然界の強いCOC2誘導因子であることが知られており、

AIAにおけるプロスタグランジン合成系では、気道系のPGバランスからは、真逆の病態を喫煙が形成しうることが仮説される。今回は、この仮説が間接的に支持された。

## E. 結論

喫煙継続(=COX2刺激)はアスピリン喘息発症を抑制する可能性がある。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

「総括研究報告書」

G. 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

### 2. 学会発表

「総括研究報告書」

G. 研究発表 2. 学会発表 参照のこと

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 次世代シーケンサーを用いた Whole Transcriptome 解析 (RNA-Seq) による アスピリン喘息患者鼻茸の解析

研究分担者 藤 枝 重 治 福井大学耳鼻咽喉科頭頸部外科学 教授  
研究協力者 徳 永 貴 広 福井大学耳鼻咽喉科頭頸部外科学 医員  
高 林 哲 司 福井大学耳鼻咽喉科頭頸部外科学 助教

### 研究要旨：

アスピリン喘息に合併する慢性副鼻腔炎は、易再発性かつ難治性である好酸球性副鼻腔炎の代表として注目されている。好酸球性副鼻腔炎についての遺伝子発現解析は、病態の解明や新たな診断・治療の確立に重要な役割を果たすが、本疾患においては未だ十分な解析がなされていない。我々は 15 の共同研究施設及び協力機関において術後の再発性についての疫学的解析を行い、好酸球性副鼻腔炎の診断基準を作成した。その結果を基に、好酸球性副鼻腔炎を定義し、その鼻茸における Whole transcriptome (RNA-seq) を、次世代シーケンサー(NGS)を用いて行い、新規トランスクリプトを同定した。その結果、アスピリン喘息を合併する好酸球性副鼻腔炎群において特異的に発現量が多く、かつ有意差のあった遺伝子が 112 個同定された。NGS によって、好酸球性副鼻腔炎に関与する遺伝子を検索することができた。

### A. 研究目的

マクロライド療法や内視鏡下副鼻腔手術 (ESS) の発達に伴い、慢性副鼻腔炎に対する治療成績は、近年向上した。しかし、それらの治療によっても治癒しえない易再発性・難治性の慢性副鼻腔炎として、好酸球性副鼻腔炎が注目されている。

我々は厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業: H23-難治一般-080)により、15の共同研究施設及び協力機関において後向きの疫学的解析を行い、好酸球性副鼻腔炎の難治性を術前に評価する診断基準作成を試みた。

その結果、再発性・難治性の因子として、アスピリンアレルギー、NSAIDsアレルギー、気管支喘息の合併が有意に関与していることがわかった。好酸球性副鼻腔炎の難治性と、遺伝子発現との関連を解析することは、病態の解明や新たな診断・治療の確立に重要な役割を果たすが、本疾患においては未だ十分な解析がなされていない。

近年実用化された次世代シーケンサー(NGS)は、大量の塩基配列を一度に解析できる高性能シーケンサーであり、未知の配列も含めた網羅的な解析が可能である。

本研究では、好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸における Whole transcriptome (RNA-seq) を NGSを用いて行い、新規トランスクリプトを同定することを目的とした。

### B. 研究方法

対象は当科で手術を行った症例で、前述の診断基準を用いて、アスピリン喘息合併を含む好酸球性副鼻腔炎(ECRS)と非好酸球性副鼻腔炎(non-ECRS)とに分類した。ECRS 群の鼻茸5例、non-ECRS 群の鼻茸5例と、健常者鼻粘膜擦過細胞(Control)5例を検討した。

鼻茸および擦過細胞から total RNA を抽出し、rRNA を除去し、断片化した cDNA ライブラリーを作成し、SOLiD™ 5500x1 (LifeTechnologies 社)を用いてシーケンスを

行い、Lifescape™ Genomic Analysis Software (LifeTechnologies 社)を用いてゲノムマッピングを行い、Avadis® NGS software (Strand Scientific Intelligence 社)を用いて発現解析を行った。

発現差解析は、マッピングされた全トランスクリプトームから、全てのサンプルで低発現のものを除去し、ECRS と non-ECRS とで発現差が5倍以上のものを抽出し、t 検定および Benjamini-Hochberg FDR 補正を行って有意であるものを抽出した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は福井大学倫理委員会の承認を得て、被験者への説明・同意は文書で実施した。

### C. 研究結果

ECRS 群対 non-ECRS 群の発現差解析において、有意差のある遺伝子を 12 個同定した。ECRS 群で高発現のものは 3 個、反対に non-ECRS 群で高発現のものが 9 個同定された。ECRS 群で高発現の 3 遺伝子の内、過去の報告で末梢血好酸球に発現がない遺伝子が 1 個同定された。これら 12 個の遺伝子のうち既知の遺伝子は 10 遺伝子、新規は 2 遺伝子であった。

また、Control 群を加えた 3 群間の発現差解析では、ECRS 群に有意に高く発現しているが、末梢血好酸球には発現していない遺伝子が 112 個同定された。また non-ECRS 群の中に遺伝子発現プロファイルが異なる 2 群が存在することも示され、Gene ontology 解析にて 2 群間で線毛関連遺伝子 17 個に有意な発現差がみられることがわかった。

しかし、この 2 群間で、症状や再発性・難治性、診断基準スコアに有意な違いは認められなかった。

### D. 考察

今回同定された 112 個の遺伝子は、ECRS で特異的に発現しており、鼻茸に浸潤している好酸球と正常末梢血好酸球との発現の違いを反映しているか、あるいは鼻茸中の好酸球以外の組織での発現を反映していると考えられる。NGS は網羅性や新規配列の発見には優れているが、配列読み取りにバイアスがあるなどの問題点も指摘されており、マイクロアレイなど他の解析法での結果もあわせて検討し、最終的には real-time PCR での追認が必要である。

また、診断基準で non-ECRS と分類された中に、線毛関連遺伝子の発現プロファイルが異なる 2 群が存在することがわかった。線毛機能の障害が副鼻腔炎発症の一因となっていることは以前から知られているが、non-ECRS の中に線毛機能障害の程度や性質が異なるものが存在し、それらが発症機序や病態に関与することが示されれば、遺伝学的な治療へのアプローチができるようになるかもしれない。

本研究で同定された遺伝子発現の違いが、ECRS の難治性・再発性に関与しているか否かについて、さらなる遺伝子機能解析が必要である。

### E. 結論

難治性の好酸球性副鼻腔炎に対して、Whole transcriptome 解析を行い、疾患関連遺伝子の候補を同定した。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Takabayashi T, Kato A, Peters AT, Hulse KE, Suh LA, Carter R, Norton J, Grammer



LC, Tan BK, Chandra RK, Conley DB, Kern RC, Fujieda S, Schleimer RP: Increased expression of factor XIII-A in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Sep;132(3):584-592.e4. doi: 10.1016/j.jaci.2013.02.003. Epub 2013 Mar 28.

2) Takabayashi T, Kato A, Peters AT, Hulse KE, Suh LA, Carter R, Norton J, Grammer LC, Cho SH, Tan BK, Chandra RK, Conley DB, Kern RC, Fujieda S, Schleimer RP: Excessive Fibrin Deposition in Nasal Polyps Caused by Fibrinolytic Impairment through Reduction of t-PA Expression. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Jan 1;187(1):49-57. doi: 10.1164/rccm.201207-1292OC. Epub 2012 Nov 15

3) Tanaka S, Hirota T, Kamijo A, Ishii H, Hatsushika K, Fujieda S, Ishitoya J, Masuyama K, Tamari M: Lung Functions of Japanese Patients with Chronic Rhinosinusitis Who Underwent Endoscopic Sinus Surgery. *Allergol Int*. 2013 Nov 25. [Epub ahead of print]

## 2. 学会発表

1) 徳永貴広、意元義政、坂下雅文、藤枝重治。次世代シーケンサーを用いた Whole transcriptome 解析 (RNA-seq)による好酸球性副鼻腔炎関連遺伝子の同定。第 32 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会。2014.2. 徳島

2) Fujieda S: Diagnosis for eosinophilic chronic rhinosinusitis. The 12<sup>th</sup> Taiwan-Japan conference on otolaryngology-head and neck surgery. Symposium 2013.12. Taipei

3) 高林哲司、加藤 厚、藤枝重治、Schleimer RP: 肥満細胞の多様性と好酸球性副鼻腔炎に関する検討。第 63 回日本アレルギー学会 シンポジウム 2013.11. 東京

4) 高林哲司、加藤 厚、藤枝重治、Schleimer RP: 好酸球性副鼻腔炎の病態形成メカニズム。第 63 回日本アレルギー学会 シンポジウム 2013.11. 東京

5) Tokunaga T, Ninomiya T, Imoto Y, Sakashita M, Takabayashi T, Noguchi E, Arinami T, Fujieda S. Whole Transcriptome using next-generation sequencer (RNA-seq) identifies genes associated with eosinophilic chronic rhinosinusitis. 7th International symposium on recent advances in rhinosinusitis and nasal polyposis. 2013.10. Matsue.

6) 藤枝重治。好酸球性副鼻腔炎診断ガイドライン -好酸球性副鼻腔炎の診断基準-。第 52 回日本鼻科学会総会・学術講演会。2013.9. 福井

7) 藤枝重治：好酸球性副鼻腔炎診断の診断基準。第 52 回日本鼻科学会 シンポジウム 2013.9. 福井

8) 富田かおり、鈴木弟、藤枝重治：アスピリン不耐性喘息関連タンパクの機能解析。第 52 回日本鼻科学会 2013.9. 福井

9) 高林哲司、藤枝重治：線溶系制御異常による慢性副鼻腔炎の病態形成メカニズムに関する検討 第 52 回日本鼻科学会 基礎アップデートセミナー 2013.9. 福井

10) 高林哲司、加藤 厚、藤枝重治、Schleimer RP: 好酸球性副鼻腔炎の病態形成における肥

満細胞の役割 第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会 シンポジウム 2013.5. 横浜

11) 藤枝重治 : 好酸球性副鼻腔炎の取り扱い. 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 ランチョンセミナー2013.5. 札幌

12) Fujieda S: Eosinophilic chronic rhino-sinusitis. The 45<sup>th</sup> annual meeting of Korean Rhinology Society. 2013.3. Soeul

13) 富田かおり、鈴木弟、藤枝重治 : アスピリン不耐性喘息関連タンパクの機能解析. 第 31 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 2013.2. 倉敷

14) 徳永貴広、意元義政、坂下雅文、藤枝重治. 次世代シーケンサーを用いた Whole transcriptome 解析 (RNA-seq)による好酸球性副鼻腔炎関連遺伝子の同定. 第 31 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2013.2. 倉敷

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

## NSAIDs 過敏副鼻腔炎における芳香族炭化水素受容体 (AhR) の発現に関する研究

研究分担者 岡野光博 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科耳鼻咽喉・頭頸部外科学 准教授  
研究協力者 春名威範 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科耳鼻咽喉・頭頸部外科学 医員  
野山和廉 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科耳鼻咽喉・頭頸部外科学 医員

### 研究要旨：

今回我々は鼻副鼻腔粘膜における芳香族炭化水素受容体 (Aryl hydrocarbon receptor: AhR) の発現を観察し、NSAIDs 過敏の有無による AhR 発現の差異について、免疫染色およびリアルタイム PCR にて検討した。鼻茸および鉤状突起粘膜にはいずれも AhR の発現を認めた。AhR は粘膜上皮および粘膜固有層に広く発現していたが、特に粘膜下の浸潤炎症細胞に強く局在していた。NSAIDs 過敏喘息患者由来鼻茸では NSAIDs 耐性喘息患者由来鼻茸と比較して AhR mRNA 発現量が有意に低下していた。NSAIDs 過敏の発現メカニズムのひとつとして AhR の発現抑制に伴う過剰な免疫応答の惹起が関与する可能性が考えられた。

### A. 研究目的

芳香族炭化水素受容体 (Aryl hydrocarbon receptor: AhR) はダイオキシンやリポキシン、あるいはフラボノイドなどのリガンドにより活性化される転写因子である。近年、AhR は樹状細胞や肥満細胞、あるいは制御性 T 細胞などの免疫担当細胞に働き、粘液産生や細胞浸潤など気道炎症を制御することが知られている。しかしながら、NSAIDs 過敏症における AhR の役割については不明な点が多い。今回我々は鼻副鼻腔粘膜における AhR の発現を観察し、NSAIDs 過敏の有無による AhR 発現の差異について検討した。

### B. 研究方法

内視鏡下副鼻腔手術の際に、NSAIDs 過敏喘息患者および NSAIDs 耐性喘息患者、および非喘息患者から鼻茸を採取した。コントロールとして、副鼻腔炎患者および非副鼻腔炎患者より鉤状突起 (非鼻茸組織) を採取した。免疫染色にてこれらの粘膜組織における AhR タンパクの局在を観察した。また鼻茸および鉤状突起粘膜より mRNA を抽出した。AHR の mRNA

量をリアルタイム PCR にて定量化し、各副鼻腔炎フェノタイプでの AhR mRNA 発現量を比較した。

### (倫理面への配慮)

副鼻腔炎患者からの検体 (鼻茸粘膜) 採取に関しては、学術的な意義について十分な説明を行い、同意・協力が得られた上で採取保存する。本研究は岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・倫理委員会による審査を受け (課題名: 慢性副鼻腔炎およびアレルギー性鼻炎患者の鼻腔・副鼻腔内におけるアラキドン酸代謝関連酵素に関する研究、受付番号 372)、承認されている。

### C. 研究結果

鼻茸および鉤状突起粘膜にはいずれも AhR タンパクの発現を認めた。AhR は粘膜上皮および粘膜固有層に広く発現していたが、特に粘膜下の浸潤炎症細胞に強く局在していた。AhR の mRNA 発現量は鉤状突起粘膜に比較して鼻茸で有意に亢進した。鉤状突起粘膜の間 (副鼻腔炎の有無) では AhR mRNA の発現量に

有意な差を認めなかった。一方、鼻茸の3群間での発現量を比較すると、NSAIDs過敏喘息患者由来鼻茸ではNSAIDs耐性喘息患者由来鼻茸と比較してAhR mRNA発現量が有意に低下していた。

#### D. 考察

今回の検討では、AhRは鼻副鼻腔粘膜に普遍的に発現することが示された。特に浸潤炎症細胞に強く発現がみられたことは、本転写因子がこれらの細胞の機能を調節することにより気道炎症の制御に関与することを示唆した。AhRの鼻副鼻腔炎粘膜における局在に関する報告はみられないが、アデノイドや肺組織などの気道粘膜では炎症細胞などに普遍的に発現することが報告されており(Kubo K, et al. *Auris Nasus Larynx* 2011 など)、今回の結果は他の気道での局在に矛盾しないものであった。

本研究で最も興味深い結果は、NSAIDs過敏喘息患者由来の鼻茸では、他のフェノタイプと比較してAhR mRNA発現量が有意に低下していたことである。AhRは微小環境や刺激条件によって気道炎症に多面的に作用することが知られている(Beamer CA and Sphepherd DM. *Semin Immunopathol* 2013)。最近の報告では、AhRの活性化はTh17細胞の増殖を抑制することやB細胞の免疫グロブリン産生細胞への分化を抑制することが明らかとなっている(Esser C, et al. *Trends Immunol* 2009)。ごく最近、アトピー型の鼻茸では非アトピー型の鼻茸に比較してAhR mRNAの発現量が有意に低下し、AhRとTh17細胞のマスター遺伝子であるRORCのmRNA発現量が有意に逆相関するという報告がなされた(Wei P, et al. *Inflammation* 2013)が、NSAIDs過敏性の有無に着目した検討は今回が初めてであり、NSAIDs過敏の発現メカニズムのひとつとしてAhRの発現抑制に伴う過剰

な免疫応答の惹起が関与する可能性が考えられた。

#### E. 結論

NSAIDs過敏気道疾患の病態にAhRの発現異常が関与する可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 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. *Allergolgy International* 62: 487-493, 2013.

2) 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. *Allergolgy International* 62: 181-189, 2013.

3) 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* 77: 674-676, 2013.

4) 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 8: e67057, 2013.

5) 岡野光博. 好酸球性副鼻腔炎の病態と治療. 日医雑誌 141: 2191-2194, 2013.

6) 岡野光博. 鼻噴霧用ステロイド薬の新たな位置付け. アレルギーの臨床 33: 37-41, 2013.

7) 岡野光博. 鼻噴霧用ステロイド薬の初期治療としての可能性. 医薬ジャーナル 49: 75-82, 2013.

8) 岡野光博. 免疫担当細胞とその分化. JOHNS 29: 297-301, 2013.

9) 岡野光博. Q7:アレルギー性鼻炎の治療法は成人と同じでよいですか?. ENTONI 152: 43-50, 2013.

10) 岡野光博、假谷伸. 成人気管支喘息の難治化要因とその対策, 鼻炎や副鼻腔炎の合併. アレルギー・免疫 20: 514-523, 2013.

11) 岡野光博. 気道疾患に対する治療戦略: ステロイド薬の使い方. JOHNS 29: 889-893, 2013.

12) 岡野光博、野山和廉. IL-31 とアレルギー. 臨床免疫・アレルギー科 60: 12-19, 2013.

13) 岡野光博. 検査結果をどう読むか? 鼻汁中好酸球検査. JOHNS 29: 1591-1595, 2013.

14) 岡野光博. 一歩進んだ鼻アレルギー治療: 鼻噴霧用ステロイド薬. アレルギーの臨床 33: 1107-1111, 2013..

## 2. 学会発表

1) 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. 横浜. 2013年(シンポジウム).

2) 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. 東京. 2013年(教育講演).

3) 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. 東京. 2013年(教育セミナー).

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

## 慢性副鼻腔炎における鼻呼気 NO 濃度の意義

研究分担者 春 名 眞 一 獨協医大耳鼻咽喉・頭頸部外科 教授  
研究協力者 中 山 次 久 獨協医大耳鼻咽喉・頭頸部外科 講師

### 研究要旨：

呼気 NO (一酸化窒素) 濃度の測定は、気管支喘息における病態、重症度の判定のみならず、治療評価においてもその有用性は知られている。そこで、慢性副鼻腔炎の術前症例における呼気 NO 濃度を測定し、臨床的評価をおこなった。その結果、鼻呼気 NO 濃度は喘息と CT score に有意な相関を認めしたが、アレルギー性鼻炎、血中総 IgE 値、血中好酸球数、組織中 MBP 陽性細胞数、polyp score とは相関しなかった。

鼻副鼻腔粘膜上皮下の NOS2 陽性細胞数は鼻呼気 NO 値に相関しなかった。一方、MBP 陽性細胞と鼻呼気 NO 値は有意な相関を示した。

上皮下 NOS2 陽性細胞数は好酸球炎症との関連は認められるものの、鼻呼気 NO との関連は認められなかった。従って、慢性副鼻腔炎の術前においては、鼻呼気 NO は、副鼻腔の好酸球性炎症のバイオマーカーとしては適当でない可能性があると考えられた。

### A. 研究目的

呼気 NO (一酸化窒素) 濃度の測定は、気管支喘息における病態、重症度の判定のみならず、治療評価においてもその有用性は知られている。下気道において呼気 NO は、喀痰や血中の好酸球と相関を認めることから、気管支喘息における好酸球性炎症を評価するバイオマーカーである。

一方、上気道においても、好酸球性炎症の評価としてのバイオマーカーとして期待されるが、未だその評価に対しては十分確立されていない。そこで、慢性副鼻腔炎の術前症例における呼気 NO 濃度を測定し、臨床的評価をおこなった。

### B. 研究方法

慢性副鼻腔炎に対して内視鏡下鼻内手術を施行した 33 例を対象とした。除外症例として片側性副鼻腔炎症例、再手術症例、喫煙者、アスピリン喘息症例、完全鼻閉で NO を測定しえなかった症例とした。検討項目は CT

score (Zinreich method), Polyp score (0-4), 血清総 IgE 値, 血中好酸球数, 組織中 MBP 陽性細胞数 (鉤状突起), 気管支喘息, 通年性アレルギー性鼻炎とし、呼気 NO、鼻呼気 NO に影響を与える因子を重回帰分析で解析をした。携帯型 NO 測定器 (Nobreath, Bedfont 社) を用いて oral FeNO (呼気流速 50ml/秒) と nasal FeNO を口を閉じた状態で、呼気流速 50ml/秒で測定した。副鼻腔粘膜における NOS2 の発現を検討するために術中に採取し凍結保存した鉤状突起を用いて iNOS に対する免疫組織染色を施行した。一次抗体として NOS2 (Stanz Cruz Biotechnology, INC) を 400 倍の希釈率で反応させた。粘膜上皮下の NOS2 陽性浸潤細胞数をカウントした。

### (倫理面への配慮)

1. 本研究は大学倫理委員会の認可を得ている。
2. 患者には以下の内容を説明し、同意書を得る。  
①採取組織は、手術時の病的粘膜であり、患者の不利益になることはない。

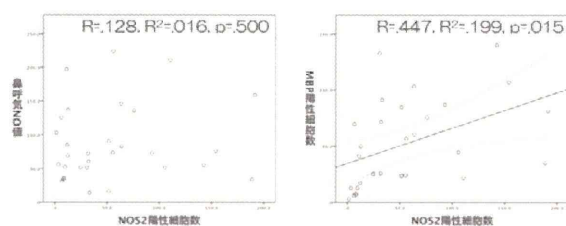
- ②採取した組織は、匿名化番号がつけられ、獨協医大耳鼻咽喉・頭頸部外科教室に保管する。
- ③研究用試料の遺伝子の状態や発現等の遺伝子についての測定ではなく、家系的に遺伝する遺伝子の特徴を見ることもない。
- ④協力に同意されなくても今後の治療や経過観察において、不利益になることはない。

### C. 研究結果

呼気 NO 濃度は喘息と血中好酸球数と有意な相関をみたが、アレルギー性鼻炎、血中総 IgE 値組織中 MBP 陽性細胞数、polyp score、CT score とは相関しなかった。一方、鼻呼気 NO 濃度は喘息と CT score に有意な相関を認めたが、アレルギー性鼻炎、血中総 IgE 値、血中好酸球数、組織中 MBP 陽性細胞数、polyp score とは相関しなかった。

	B	SEB	$\beta$	p
喘息	64.1	20.3	0.46	0.004
アレルギー性鼻炎	-5.29	23.1	-0.04	NS
血中総IgE値	0.03	0.03	0.15	NS
血中好酸球数	0.07	0.03	0.46	0.009
組織中MBP陽性細胞	-0.14	0.28	-0.08	NS
Polyp score	-4.40	4.20	-0.16	NS
CT score	-1.22	0.81	0.46	NS

鼻副鼻腔粘膜上皮下の NOS2 陽性細胞数は鼻呼気 NO 値に相関しなかった。一方、MBP 陽性細胞と鼻呼気 NO 値は有意な相関を示した。



### D. 考察

呼気 NO 値に関しては、これまでの報告と

同様に血中好酸球数と喘息の合併が影響していた。慢性副鼻腔炎において、鼻呼気 NO は、CT における重症度や鼻茸の大きさと逆相関の関係にあると報告されている。(Colantonio D, et al. Clin Exp Allergy. 2002 ; 32 : 698 – 701. Ragab SM, et al. Allergy. 2006;61:717–24.) 検討においては、CT スコアだけではなく、喘息も鼻呼気 NO に大きな影響を与えていることが明らかになった。その理由として、副鼻腔自然孔が閉鎖されることにより、副鼻腔からの NO の排泄が阻害されるとされる。

上皮下 NOS2 陽性細胞数は好酸球炎症との関連は認められるものの、鼻呼気 NO との関連は認められなかった。従って、慢性副鼻腔炎の術前においては、鼻呼気 NO は、副鼻腔の好酸球性炎症のバイオマーカーとしては適当でない可能性がある。

### E. 結論

呼気 NO においては、以前の報告と同様に、好酸球炎症との関連が認められた。それに対して、鼻呼気 NO に関しては好酸球炎症との関連は認められなかった。しかし、鼻副鼻腔粘膜における NOS2 陽性細胞と MBP 陽性細胞は関連があることから、副鼻腔自然孔がポリープなどにより閉鎖することが、鼻呼気 NO の低下を来していると考えられた。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Kuboki A, Haruna S. new technique using an enegy-based device versus conventional technique in open thyroidectomy. ANL 40:558-62,2013.

## 2. 学会発表

- 1) 中山次久、春名眞一. 慢性副鼻腔炎における鼻呼気 NO 濃度の意義.第31回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会.倉敷.2013.2

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし



## NSAIDs 不耐症による蕁麻疹患者における凝固系異常の解析

研究分担者 相原道子 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学 教授  
研究協力者 松倉節子 横浜市立大学附属市民総合医療センター 講師  
小森絢子 横浜市立大学医学部皮膚科 診療医

### 研究要旨：

慢性蕁麻疹患者では血液凝固線溶系の異常がみられるとする報告があり、それらの患者では抗ヒスタミン薬による治療抵抗性の場合もヘパリンやトラネキサム酸が有用である可能性が示唆されている。そこで、NSAIDs 不耐症が血液凝固線溶系に及ぼす影響を明らかにする目的で、慢性蕁麻疹患者のうち NSAIDs 不耐症を有する患者と有さない患者の血液凝固系の異常について比較検討を行うとともに、慢性蕁麻疹を有さない NSAIDs 不耐症患者に誘発試験を行って誘発による凝固線溶系の変動をみた。NSAIDs 不耐症患者は治療抵抗性であり、他の蕁麻疹より複数項目の異常が多く、正常化しない項目が多い傾向がみられた。

また、慢性蕁麻疹を伴わない NSAIDs 不耐症で誘発試験を施行した 6 例(男性 1 例、女性 5 例)では誘発前はすべての値は正常であったが誘発後には PT 異常が 3/6、PTT 異常が 4/6 例にみられ、蕁麻疹消褪後の症状出現時から 3 時間後も異常値が持続する症例が多かった。NSAIDs 不耐症に合併する慢性および急性蕁麻疹の病態には血液凝固系の異常が関与している可能性が示唆された。これらの患者においては抗ヒスタミン薬に加えて凝固系に影響を及ぼす薬剤の併用効果が期待される。

### A. 研究目的

慢性蕁麻疹患者では血液凝固線溶系の異常がみられるとする報告がある。しかし、その変動の程度は患者によって異なり、蕁麻疹の臨床型による違いも明らかにされていない。

昨年度に引き続き、慢性蕁麻疹患者のうち、NSAIDs 不耐症による蕁麻疹を有する患者とその他の蕁麻疹患者の血液凝固系の異常の比較検討を行い、NSAIDs 不耐症患者における血液凝固系異常が蕁麻疹の慢性化・難治化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。また、慢性蕁麻疹を合併しない NSAIDs 不耐症患者にアスピリン負荷試験を行い、症状誘発時の凝固系の変動をみることにより、NSAIDs による急性蕁麻疹における凝固系の異常についても検討した。

### B. 研究方法

#### <対象>

平成 23 年 4 月から 25 年 11 月に横浜市大附属病院および市民層合医療センターの 2 病院を受診した慢性蕁麻疹患者で、凝固系に影響を及ぼすような薬剤を投与されていない症例を引き続き観察し、解析した。

また、平成 23 年 4 月から 25 年 11 月に横浜市大附属病院に入院し、アスピリン負荷試験を行なった慢性蕁麻疹を合併しない NSAIDs 不耐症患者とした。

#### <検討項目>

慢性蕁麻疹の治療前と治療後の血液凝固系の変動をみた。具体的には蕁麻疹の皮疹およびかゆみの程度を観察するとともに、末梢血好酸球数、血小板数、血清 IgE に加えて、FDP、D-ダイマー、血小板第 4 因子、 $\beta$ -トロンボグロブリンを測定し、その治療経過における変動をみ

た。結果は NSAID 不耐症による蕁麻疹患者とそれ以外の蕁麻疹患者で比較検討した。結果は NSAIDs 不耐症による蕁麻疹患者とそれ以外の蕁麻疹患者で比較検討した。また、慢性蕁麻疹を合併しない NSAIDs 不耐症患者にアスピリン 500mg による誘発試験を行い、誘発時の PT, PTT の経時的な凝固系の変動をみた。

#### (倫理面への配慮)

本研究は横浜市立大学倫理委員会の承認(承認番号 B110512028)を得て行ない、所定の説明書と同意書を用いて同意を得た上で行なった。

### C. 研究結果

患者は 50 例であり、全例で FDP, D-ダイマー、血小板第 4 因子、 $\beta$ -トロンボグロブリンのいずれか、または複数が異常値を示した。そのうち経過の追えたものは 37 例(19 歳~76 歳、男性 9 例、女性 28 例)であった。それらの患者の蕁麻疹の分類は、NSAIDs 不耐症に合併する蕁麻疹 7 例、その他 30 例であり、その他の蕁麻疹は特発性蕁麻疹、コリン性蕁麻疹、機械的蕁麻疹であった。測定した患者のすべてが FDP, D-ダイマー、血小板第 4 因子、 $\beta$ -トロンボグロブリンのいずれか、または複数が異常値を示した。特に急性増悪時には異常値を示した項目が多く、その程度も著しかった。いずれの蕁麻疹においても抗アレルギー薬による治療により皮疹の軽快とともにそれらの異常値は正常化ないし軽減した。NSAIDs 不耐症患者は治療抵抗性であり、他の蕁麻疹より複数項目の異常が多く、正常化しない項目が多い傾向がみられた。多くの患者は昨年度に続き経過を追えたが、興味深いことに機械的蕁麻疹やコリン性蕁麻疹の患者を含め、悪化要因に関係なく蕁麻疹の軽快、増悪とともに、凝固系の変動を認めた。抗ヒスタミン薬が有効でない 8 症例の多くは、2 年以上の経過においても凝固系の改善は

見られないものが多かった。これらの患者において、経過中、他の蕁麻疹より症状の割に FDP と d-ダイマーの異常が著しい傾向は変わらなかった。

また、慢性蕁麻疹を伴わない NSAIDs 不耐症で誘発試験を施行した 6 例(男性 1 例、女性 5 例)では誘発前はすべての値は正常であったが誘発後には PT 異常が 3/6、PTT 異常が 4/6 例にみられ、蕁麻疹消褪後の症状出現時から 3 時間後も異常値が持続する症例が多かった。なお、これらの患者は NSAIDs による誘発時に喘息発作や血管性浮腫、アナフィラキシー様反応などの蕁麻疹以外の症状の誘発は見なかった。

### D. 考察

慢性蕁麻疹患者において血液凝固線溶系の異常については異なる報告がある。その違いの原因のひとつは、対象となった患者の慢性蕁麻疹の原因の違いによると思われる。

NSAIDs 不耐症には慢性蕁麻疹を合併するものとそうでないものがある。今回、原因に係わらず慢性蕁麻疹患者全員に何らかの凝固線溶系の異常がみられたことから、難治性蕁麻疹では凝固線溶系の異常が病態に関与することが示唆された。2 年以上にわたる長期観察例においても、その傾向はかわらず、悪化要因にかかわらず蕁麻疹の悪化時には異常の程度が著しくなった。

NSAIDs 不耐症に合併する慢性蕁麻疹では凝固系の程度が著しい傾向がみられた。他の蕁麻疹とことなり持続性に凝固異常がみられたことから、慢性的に摂取される食品中に含まれるサリチル酸化合物が凝固線溶系の異常を介してより難治な蕁麻疹を生じる可能性が考えられた。

また、慢性蕁麻疹を伴わない NSAIDs 不耐症患者のスピリンによる誘発試験において PT, PTT の異常が長時間みられたことから、

NSAIDs 不耐症による急性蕁麻疹においても凝固系の異常が関与することが示唆された

今回、NSAIDs 不耐症に合併する慢性蕁麻疹では凝固系異常の程度が他の慢性蕁麻疹に比べて著しい傾向がみられたことおよび誘発試験における PT, PTT の異常から、NSAIDs がより難治な慢性蕁麻疹や重症の急性蕁麻疹を生じる原因の一つである可能性が考えられた。

## E. 結論

NSAIDs 不耐症に合併する慢性および急性蕁麻疹の病態には血液凝固系の異常が関与している可能性が示唆された。これらの患者においてはコントロール不良の場合は抗ヒスタミン薬に加えて凝固系に影響を及ぼす薬剤の併用効果が期待される。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) 池澤優子, 相原道子: アスピリン不耐症. 皮膚科の臨床 11 月号臨時増刊号 皮膚科 日常診療 レベルアップエッセンス, 55:1686-1689, 2013.

### 2. 学会発表

1) 相原道子: ランチョンセミナー 特別講演 蕁麻疹の最近の話題. 日本皮膚科学会第 125 回山陰・第 21 回島根合同開催地方会, 出雲, 2013,3,3.

2) 相原道子: 教育講演 3-1 蕁麻疹の最近の話題. 第 29 回日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術大会, 名古屋, 2013,4,7.

3) 相原道子: シンポジウム 2 皮膚アレルギーの最新情報 蕁麻疹最新情報. 第 64 回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 名古屋, 2013,11,2.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表