

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

NSAIDs 過敏副鼻腔炎の難治化メカニズムに関する研究

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：

NSAIDs 過敏気道疾患では、高率に副鼻腔炎(鼻茸)を合併し、難治である。我々は、NSAIDs 過敏副鼻腔炎の難治化メカニズムに関する以下の研究を行った。TLRを介する微生物曝露による病態の増悪メカニズムにおけるNSAIDsの関与について鼻茸細胞を用いて解析した。その結果、NSAIDsを添加した場合には、鼻茸細胞はTLR4リガンドであるリポ多糖(LPS)の刺激に対して有意なIL-5およびIL-13の産生を示した。この産生はPGE₂の添加により有意に抑制された。以上より、TLRを介した微生物曝露によるNSAIDs過敏気道疾患の増悪メカニズムのひとつに、NSAIDsによるCOX阻害に伴う内因性PGE₂の合成阻害が関与する可能性が示唆された。鼻茸粘膜におけるIL-22の発現と、鼻茸細胞によるIL-22産生のNSAIDsによる調節作用について検討した。その結果、IL-22の発現はNSAIDs過敏の有無で差を認めなかったが、エンテロトキシン刺激に対して誘導される鼻茸細胞からのIL-22産生はNSAIDs添加により有意に抑制されたことから、NSAIDs過敏の発現メカニズムのひとつとしてIL-22の産生抑制作用がある可能性が考えられた。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。その結果、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

アスピリン喘息や好酸球性鼻茸などNSAIDs過敏気道疾患の病因のひとつとして、NSAIDsによるCOX阻害、特に内因性PGE₂の合成阻害による免疫制御機構の破綻が疑われている。今回の検討では、外的因子として微生物曝露、特にTLR4リガンドであるリポ多糖(LPS) 内的因子としてIL-22および芳香族炭化水素受容体(Aryl hydrocarbon receptor: AhR)に注目し、NSAIDs過敏副鼻腔炎における発現や機能的解析を行った。

B．研究方法

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IL-22やAhRの局在を観察し、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発現量を比較した。また手術時に得られた鼻茸を酵素処理し、細胞を分離した。鼻茸細胞をLPSや黄色ブドウ球菌エンテロトキシンにて刺激し、培養上清中のIL-5、IL-13およびIL-22をELISAにて測定した。NSAIDsの影響を検討するために、DNPCsをジクロフェナック(Diclofenac: DIC)にて前処置し、同様の検討を行った。

(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

微生物曝露による病態の増悪メカニズムにおける NSAIDs の関与について

鼻茸細胞を LPS にて刺激をしても、単独では有意な IL-5 および IL-13 の産生は誘導されなかった。一方、NSAIDs 曝露、すなわち DIC で前処置した場合には、鼻茸細胞は LPS の刺激に対しても有意な IL-5 および IL-13 の産生を示した。このサイトカイン産生は PGE₂ の添加により抑制された。

NSAIDs 過敏副鼻腔炎における IL-22 の役割について

鼻茸および鉤状突起粘膜にはいずれも IL-22 の発現を認めた。鼻茸では非副鼻腔炎患者由来の鉤状突起に比較して IL-22mRNA 量が有意に亢進したが、鼻茸間では NSAIDs 過敏の有無では有意な差を認めなかった。鼻茸細胞はエンテロトキシン刺激に対して有意な IL-22 産生を示し、この産生は NSAIDs 添加により有意に抑制された。

NSAIDs 過敏副鼻腔炎における AhR の発現について

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 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。鼻茸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

微生物曝露による病態の増悪メカニズムにおける NSAIDs の関与について

今回の検討からは、鼻茸は TLR を介した微生物曝露による好酸球性炎症の惹起に対して、潜在的に NSAIDs 過敏であることが示唆された。さらに TLR を介した微生物曝露による NSAIDs 過敏に伴う気道好酸球性炎症の増悪メカニズムのひとつとして、内因性 PGE₂ の合成能低下が関与する可能性が考えられた

NSAIDs 過敏副鼻腔炎における IL-22 の役割について

鼻茸

IL-22 の発現が特に喘息患者由来鼻茸で亢進していることが示され、NSAIDs 過敏の有無に関わらず IL-22 が Negative Regulator として作用している可能性が考えられた。鼻茸細胞のエンテロトキシン刺激による IL-22 産生は NSAIDs の添加により有意に抑制されたことから、NSAIDs 過敏の発現メカニズムのひとつとして IL-22 の産生抑制作用がある可能性が考えられた。

NSAIDs 過敏副鼻腔炎における AhR の発現について

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)。今回の結果からは、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 過敏副鼻腔炎の病態に、COX 阻害による PGE₂ 産生低下や IL-22 産生抑制が重要であること、AhR の発現抑制に過剰な免疫応答の惹起が関与する可能性が考えられた。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

1) Okano M, Fujiwara T, Haruna T, Kariya S, Makihara S, Higaki T, Nishizaki K. Role of fungal antigens in eosinophilia-associated cellular responses in nasal polyps: comparison with enterotoxin. *Clinical and Experimental Allergy* 41: 171-178, 2011.

2) Okano M, Fujiwara T, Higaki T, Makihara S, Haruna T, Noda Y, Kanai K, Kariya S, Yasueda H, Nishizaki K. Characterization of pollen antigen-induced IL-31 production by peripheral blood mononuclear cells in allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 127: 277-279, 2011.

3) Eguchi M, Kariya S, Okano M, Higaki T, Makihara S, Fujiwara T, Nagata K, Hirai H, Narumiya S, Nakamura M, Nishizaki K. Lipopolysaccharide induces pro-inflammatory cytokines and chemokines in experimental otitis media through the prostaglandin D₂ receptor (DP)-dependent pathway. *Clinical and Experimental Immunology* 163: 260-269, 2011.

4) Hosoya K, Satoh T, Yamamoto Y, Saeki K,

Igawa K, Okano M, Moriya T, Imamura O, Nemoto Y, Yokozeki H. Gene silencing of STAT6 with siRNA ameliorates contact hypersensitivity and allergic rhinitis. *Allergy* 66: 124-31, 2011.

5) Makihara S, Okano M, Fujiwara T, Kimura M, Higaki T, Haruna T, Noda Y, Kanai K, Kariya S, Nishizaki K. Early interventional treatment with intranasal mometasone furoate in Japanese cedar/cypress pollinosis: a randomized placebo-controlled trial. *Allergology International* 61: 295-304, 2012.

6) Higaki T, Okano M, Fujiwara T, Makihara S, Kariya S, Noda Y, Haruna T, Nishizaki K. COX/PGE₂ axis critically regulates effects of LPS on eosinophilia-associated cytokine production in nasal polyps. *Clinical and Experimental Allergy* 42: 1217-1226, 2012.

7) Ohta N, Makihara S, Okano M, Kurakami K, Ishida A, Furukawa T, Suzuki Y, Watanabe T, Kakehata S, Aoyagi M. Roles of IL-17, Th1, and Tc1 cells in patients with IgG4-related sclerosing sialadenitis. *Laryngoscope* 122: 2169-2174, 2012.

8) 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* 160: 275-286, 2012.

9) Higaki T, Okano M, Makihara S, Fujiwara T, Haruna T, Noda Y, Kariya S,

Nishizaki K. Early interventional treatment with intranasal corticosteroids is superior to post-onset treatment in pollinosis. *Annals of Allergy Asthma and Immunology* 109: 458-464, 2012.

10) 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* 62: 487-493, 2013.

11) 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* 62: 181-189, 2013.

12) 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.

13) 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.

2 . 学会発表

1) 岡野光博. 免疫療法の有用性と限界-スギ花粉症治療の救世主となれるか-.第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 千葉. 2011 年

(シンポジウム).

2) 岡野光博. 小児アレルギー性鼻炎における治療のポイント.第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 千葉. 2011 (教育セミナー).

3) 岡野光博. スギ・ヒノキ花粉症に対する免疫療法. 第 24 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 大阪. 2012 年 (シンポジウム).

4) 岡野光博. アレルギー性鼻炎における鼻噴霧用ステロイド薬の位置づけ-早期介入の意義-.第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 大阪. 2012 年 (教育セミナー).

5) 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).

6) 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).

7) 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