

道上皮細胞から誘導される Th2 炎症を誘導するサイトカインである。副鼻腔炎はウイルス感染により急性増悪することから興味深い。今後、鼻茸の有無や好酸球数等、臨床病態による層別化解析も行っていく。さらに独立に収集した副鼻腔炎症例、コントロール集団についても検討を行っていく。

E. 結論

GWAS で同定された気管支喘息とアレルギー性鼻炎関連領域の遺伝子多型についてタイピングを行い、424 例の副鼻腔炎症例とコントロール 901 例にて症例対照関連解析を行っている。TSLP の遺伝子多型と副鼻腔炎発症との間に強い関連を認めた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Park HW, Dahlin A, Tse S, Duan QL, Schuemann B, Martinez FD, Peters SP, Szeffler SJ, Lima JJ, Kubo M, Tamari M, Tantisira KG. Genetic predictors associated with improvement of asthma symptoms in response to inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:664-669.

2) Hayashi M, Hirota T, Saeki H, Nakagawa H, Ishiuchi Y, Matsuzaki H, Tsunemi Y, Kato T, Shibata S, Sugaya M, Sato S, Tada Y, Doi S, Miyatake A, Ebe K, Noguchi E, Ebihara T, Amagai M, Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Tamari M. Genetic polymorphism in the TRAF3IP2 gene is associated with psoriasis vulgaris in a Japanese population. *J Dermatol Sci*. 2014;73:264-5.

3) Wu AC, Himes BE, Lasky-Su J, Litonjua A, Peters SP, Lima J, Kubo M, Tamari M, Nakamura Y, Qiu W, Weiss ST, Tantisira K. Inhaled corticosteroid treatment modulates ZNF432 gene variant's effect on bronchodilator response in asthmatics. *J Allergy Clin Immunol*.

2014;133:723-728.

4) 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*. 2014;63:27-35.

5) Tamari M, Saeki H, Hayashi M, Umezawa Y, Ito T, Fukuchi O, Nobeyama Y, Yanaba K, Nakagawa H, Tsunemi Y, Kato T, Shibata S, Sugaya M, Sato S, Tada Y, Doi S, Miyatake A, Ebe K, Noguchi E, Fujieda S, Ebihara T, Amagai M, Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Hirota T. An association study of 36 psoriasis susceptibility loci for psoriasis vulgaris and atopic dermatitis in a Japanese population. *J Dermatol Sci*. 2014;76:156-7.

6) Izuhara Y, Matsumoto H, Kanemitsu Y, Izuhara K, Tohda Y, Horiguchi T, Kita H, Kuwabara K, Tomii K, Otsuka K, Fujimura M, Ohkura N, Tomita K, Yokoyama A, Ohnishi H, Nakano Y, Oguma T, Hozawa S, Nagasaki T, Ito I, Oguma T, Inoue H, Tajiri T, Iwata T, Ono J, Ohta S, Tamari M, Hirota T, Yokoyama T, Niimi A, Mishima M. GLCCI1 variant accelerates pulmonary function decline in patients with asthma receiving inhaled corticosteroids. *Allergy*. 2014;69:668-73.

7) Yatagai Y, Sakamoto T, Yamada H, Masuko H, Kaneko Y, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Konno S, Nishimura M, Hizawa N. Genomewide association study identifies HAS2 as a novel susceptibility gene for adult asthma in a Japanese population. *Clin Exp Allergy*. 2014;44:1327-34.

8) Tanaka S, Tamari M, Nakayama T, Ishii H, Hatsushika K, Hayashi A, Watanabe H, Kanai M, Osano M, Yonaga T, Tomita K, Fujieda S,

Sakuma Y, Shiono O, Ishitoya J, Masuyama K, Hirota T. Synergistic suppression of poly(I:C)-induced CCL3 by a corticosteroid and a long acting β 2 agonist in nasal epithelial cells. Allergol Int. 2014 in press

英文総説

1) Tamari M, Hirota T. Genome-wide association studies of atopic dermatitis. J Dermatology. 2014;41:213-20.

日本語総説

1) 玉利真由美、広田朝光:アレルギー疾患の実地診療 セミナー アレルギー疾患の整理・臨床研究の現状と展望—一般実地医家の理解と日常診療の向上のために「アレルギー疾患の遺伝子解析—現状と展望」Medical Practice 31(2), 221-224, 2014

2) 広田 朝光, 玉利真由美:エピジェネティクスからみたアレルギー疾患の発症予防と治療の可能性 アレルギー・免疫 21(12),88-95,2014

3) 広田 朝光, 中山 次久, 玉利真由美:メインテーマ:ヒト免疫学の新機軸、アレルギー疾患のゲノム解析 医学のあゆみ 252(1),25-31,2015 (医歯薬出版株式会社)

2.学会発表

1) 玉利真由美:アレルギー疾患におけるゲノムワイド関連解析, 第 79 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 シンポジウム アレルギー・喘息とサイトカインシグナル 2014, 札幌

2) 玉利真由美:アレルギー疾患のメカニズム - 遺伝子と環境のクロストーク-, 第31回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会教育講演 2014, 名古屋

3) Mayumi Tamari :Genome-Wide Association Studies of Allergic Diseases, The 24th Congress of Interasma Japan / North Asia 2014, 名古屋

4) 玉利真由美:アレルギー疾患関連遺伝子 ゲノムワイド関連解析によるアレルギー疾患関連遺伝子の同定, 日本アレルギー学会 第一回総合アレルギー講習会 2014, 横浜

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

好酸球性中耳炎の聴力推移と中耳粘膜に関する研究

担当責任者 飯野 ゆき子 自治医科大学附属さいたま医療センター耳鼻咽喉科 教授
研究協力者 吉田 尚弘 自治医科大学附属さいたま医療センター耳鼻咽喉科 准教授
研究協力者 金沢 弘美 さいたま市民医療センター耳鼻咽喉科 科長

研究要旨

好酸球性副鼻腔炎の合併症の1つである好酸球性中耳炎における、聴力と中耳粘膜肥厚の関係について評価を行なった。聴力は初診時と最終受診時の骨導聴力を用いた。中耳粘膜肥厚については、我々が定義した中耳粘膜肥厚 Grade(G)分類*を用いた(*G1:粘膜肥厚がほとんどみられない、G2:粘膜肥厚がみられるが中鼓室内に局限している。G3:粘膜肥厚が外耳道側へ張り出している)。また、アレルギー性疾患の慢性炎症の増幅の形成に関与するペリオスチンの病理組織所見についても、粘膜肥厚 Grade 分類別に評価を行なった。この結果、骨導維持群と骨導悪化群の間にて初診時平均骨導、4k 骨導において有意差(Mann-Whitney's U-test, $p<0.01$)がみられた。中耳粘膜肥厚は、骨導悪化群の最終受診時骨導においても、順位相関を認めた(ケンドール順位相関法, $p<0.01$)。一方ペリオスチンはG1症例では上皮直下に発現し、粘膜肥厚の進展に従い(G2→G3)粘膜固有層へ広がりを見せていた。中耳粘膜肥厚の強い症例では骨導閾値が有意に上昇しており、ペリオスチンの高度の発現を認めていた。これより、ペリオスチンそのものが好酸球性炎症の増悪サイクルに関わり、内耳障害を引き起こしている可能性を考えた。

A. 研究目的

- ①好酸球性中耳炎症例における長期間による聴力推移を調べ、特に骨導閾値上昇群における臨床的特徴の解析を試みる。
- ②気管支喘息のリモデリングに関与する細胞外分泌蛋白として知られるペリオスチンの中耳粘膜組織中の発現を、中耳粘膜肥厚の程度で比較する。

B. 研究方法

- ①好酸球性中耳炎の診断基準を満たし、ステロイド鼓室内投与を施行し、5年以上経過を観察しており、両側病変がある 28 症例(56 耳)を対象とした。これらの聴力(初診時、最終受診時)、重症度指数(耳漏の有無(左右)、中耳粘膜肥厚 Grade 分類*(左右)、ステロイド鼓室内投与の有無(左右)、抗菌薬使用の有無、ステロイド内服の有無))について調べた。*中耳粘膜肥厚 Grade(G)分類:G1:粘膜肥厚がほとんどみられない、G2:粘膜肥厚がみられるが中鼓室内に局限している。G3:〃が外耳道側へ張り出している。

- ②中耳粘膜肥厚 Grade 分類別にペリオスチンの発現について、病理組織学的に評価を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究を行うにあたっては、予め個人情報を守られることを明記した説明文書を作成の上、同意を得たものに対してのみ行なわれた。この件に関しては自治医科大学附属さいたま医療センターの臨床研究倫理委員会に計り許可を得た。

C. 研究結果

- ①骨導維持群と骨導悪化群の間にて初診時平均骨導、4k 骨導において有意差(Mann-Whitney's U-test, $p<0.01$)がみられた。中耳粘膜肥厚も骨導悪化群の最終受診時骨導において、順位相関を認めた(ケンドール順位相関法, $p<0.01$)。
- ②ペリオスチンはG1症例では上皮直下に発現し、粘膜肥厚の進展に従い粘膜固有層へ広がりを見せていた。

D. 考察

骨導閾値上昇例は治療抵抗性であり、有意に粘膜肥厚を認め、最終受診時骨導と粘膜肥厚の強さに順位相関を認めた。また、ペリオスチンも粘膜肥厚の進展に従い粘膜固有層へ広がりを見せており、慢性炎症の増幅過程の形成が好酸球性中耳炎においてもみられることが分かった。またそれは骨導閾値上昇とも関連していることが示唆された。

E. 結論

中耳粘膜肥厚の強い症例では骨導閾値が有意に上昇しており、またペリオスチンの高度の発現を認めていた。ペリオスチンそのものが好酸球性炎症の増悪サイクルに関わり、内耳障害を引き起こしている可能性を統計学的に示した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kanazawa H, Yamamoto H, Hara M, Hasegawa M, Matsuzawa S, Shinnabe A, Yoshida N, Iino Y. Risk factors associated with severity of eosinophilic otitis media. *Auris Nasas Larynx* 41(6);513-517, 2014.

2) Kanazawa H, Shinnabe A, Yoshida N, Iino Y. Antigen-specific IgE in middle ear effusion of patients with eosinophilic otitis media. *Ann Allerg Asthma & Immunol.* 113:88-92,2014.

3) Yoshida N, Iino Y. Pathogenesis and Diagnosis of Otitis Media with ANCA-Associated Vasculitis. *Allergol Int.*63(4):523-532,2014.

4) Yoshida N, Kodama K, Iino Y. Sublingual epidermoid cyst presenting with distinctive magnetic resonance imaging findings. *Clin Pract.*21;4(2):664,2014.

5) 松澤真吾、長谷川雅世、原 真理子、新鍋晶浩、金沢弘美、吉田尚弘、飯野ゆき子. :IgG4 関連疾患 5 例の検討. *耳鼻臨床* 107(7),547-551,2014.

6) Shinnabe A, Yamamoto H, Hara M, Hasegawa M, Matsuzawa S, Kanazawa H, Yoshida N, and Iino Y. :A comparison of Preoperative Characteristics of Chronic Otitis Media in Down and Non-Down Syndrome. *Otol Neurotol*,35(6):972- 975,2014.

7) Iino Y, Hara M, Hasegawa M, Matsuzawa S, Shinnabe A, Kanazawa H, Yoshida N. :Effect of omalizumab on biomarkers in middle ear effusion in patients with eosinophilic otitis media. *Acta Otolaryngol*,134(4):366-372,2014.

8) Yamanaka N, Iino Y, Uno F, Kudo F, Kurono Y, Suzuki H, Haruna S, Hotomi M, Horiguchi S, Mashima Y, Matsubara S, Nakayama T, Hirakawa K, Okamoto Y. ;on behalf of Drafting Committee for Acute Rhinosinusitis Management Guideline, the Japanese Rhinologic Society. :Practical guideline for management of acute rhinosinusitis in Japan. *Auris Nasus Larynx* 42(1);1-7,2015.

9) 金沢弘美、飯野ゆき子: 好酸球性副鼻腔炎と周辺疾患. VI. 好酸球性中耳炎. *アレルギー・免疫*, 22:54-63,2015.

2. 学会発表

1) 金沢弘美、吉田尚弘、飯野ゆき子: 好酸球性中耳炎における中耳貯留液内の特異的 IgE 抗体について. 第 32 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、pp128、2014 年 2 月 8 日、徳島

2) Iino Y. :Symposium1-Allergy and Asthma Related Otitis Media. 15th KOREA JAPAN Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Seoul, April 3-5, 2014, pp45.

3) Hasegawa M. :Clinical Characteristics of Chronic Otitis Media in Adult without Cholesteatoma. 15th KOREA JAPAN Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Seoul, April 3-5, 2014, pp139.

4) Iino Y. :Symposium 3: Clinical Characteristics of Secondary Acquired Cholesteatoma. The 4th East Asian Symposium on Otology, Shanghai, May 8-10, 2014, pp40-41.

5) Iino Y. :Symposium 4: Pediatric Otology & Hearing Screening. Chronic otitis media with perforation in children. The 4th East Asian Symposium on Otology, Shanghai, May 8-10, 2014, pp43.

6) 吉田尚弘、山本大喜、原 真理子、長谷川雅世、松澤真吾、新鍋晶浩、金沢弘美、飯野ゆき子: 好酸球性多発血管炎性肉芽腫症(EGPA)による中耳炎の臨床像. 第 115 回日本耳鼻咽喉科学会総会ならびに学術講演会、予稿集 p548、2014 年 5 月 14-17 日、福岡

7) 吉田尚弘: パネルディスカッション 2「ANCA 関連血管炎性中耳炎(OMAAV)の診断と治療を考える」第 24 回日本耳科学会学術講演会、抄録集 Otol Jpn24(4):329、2014 年 10 月 15-18 日、新潟

8) 江洲欣彦、飯野ゆき子、吉田尚弘、金沢弘美: 好酸球性中耳炎症例の聴力推移と中耳粘膜病態. 第 33 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、pp19、2015 年 2 月 26 日、東京

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

重症好酸球性副鼻腔炎の診断に関する研究

担当責任者 佐久間 康德 横浜市大 市民総合医療センター耳鼻咽喉科 講師

研究要旨

鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎のなかで好酸球浸潤が著明で難治性である好酸球性副鼻腔炎の割合は近年増加傾向にある。しかし、これまで単一施設からの診断基準案は示されていたが、JESREC study として診断基準案が示されるにいった。

A. 研究目的

好酸球性副鼻腔炎はマクロライド療法や内視鏡下副鼻腔手術を用いても易再発性の難治性副鼻腔炎として臨床的に確立されてきた疾患概念である。そして、JESREC study として統一した好酸球性副鼻腔炎の診断基準が示された。また、再発性・難治性による重症度の重症度に応じた治療方法が提唱された。一方、これまでに我々も典型的な好酸球性副鼻腔炎の診断基準を提示し、運用してきた。そこで、2つの診断基準を用いた好酸球性副鼻腔炎の診断を行い、それぞれの診断基準による症例の臨床的特徴の相違に関する検討を行い、再発・難治の症例(典型的な ECRS)をどの程度抽出できるかを検討した。

B. 研究方法

2011 年 4 月から 2014 年 3 月までの間に慢性副鼻腔炎の診断で手術を行い、かつ「好酸球性副鼻腔炎の疫学、診断基準作成等に関する研究」への登録症例 104 例を対象とした。まず、それぞれの診断基準で好酸球性副鼻腔炎を診断し、さらに術後 6 か月以上の症状経過期間中の鼻茸再発、治療経過などから総合的に好酸球性副鼻腔炎の確定診断をおこなった。それぞれの診断基準で判断した好酸球性副鼻腔炎の臨床的特徴の違いや経過などを比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は対象者に対し、研究参加のインフォームドコンセントを取得している。また、個人情報匿名化し厳重に保管しており、対象者に不利益が生じな

いよう対応している。

C. 研究結果

JESREC study による診断基準では、非好酸球性副鼻腔炎 43 例(41.3%)好酸球性副鼻腔炎 60 例(58.3%)であった。内訳として、低リスク群 13 例(12.6%)、中等度リスク群 31 例(30.1%)、高リスク群 16 例(15.5%)JESREC study による大規模共同研究とほぼ同様の比率であった。一方、これまで我々が用いてきた診断基準では、非好酸球性副鼻腔炎 86 例(83.5%)好酸球性副鼻腔炎 15 例(14.6%)であった。

再発性・難治性に関する感度および特異度は、JESREC study の基準を用いた診断では、感度 90.3%、特異度 55.6%であった。我々の診断では、感度 38.7%、特異度 95.8%であった。また、陽性的中率、陰性的中率は、JESREC study の基準を用いた診断では、陽性的中率 46.7%、陰性的中率 93.0%、我々の基準では、陽性的中率 80.0%、陰性的中率 78.4%であった。

D. 考察

慢性副鼻腔炎には、多様な病態が複雑に絡み合っており、好酸球性副鼻腔炎を明確に診断することは困難である。JESREC study による好酸球性副鼻腔炎の診断基準は、感度が高くスクリーニングとして有用で、我々の診断基準は、陽性的中率が高く、重症例の抽出には有用である。好酸球性副鼻腔炎の診断と治療は、これらの診断基準を基に臨床情報を併せて総合的に判断することで、最適な治療法を選択

できると考えられる。

E. 結論

好酸球性副鼻腔炎の治療前段階での確定診断は困難であるが、診断基準に加え臨床情報を併せることで診断の精度があがると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

1) Shiono O, Sakuma Y, Komatsu M, Hirama M, Yamashita Y, Ishitoya J, Oridate N. :Differential expression of periostin in the nasal polyp may represent distinct histological features of chronic rhinosinusitis. Auris Nasus Larynx. 2014 Sep 27. In Press.

2) 石戸谷 淳一, 佐久間 康德. 【喘息の周辺疾患】
好酸球性副鼻腔炎・好酸球性中耳炎(解説/特集)
アレルギー・免疫 (1344-6932)21 巻 4 号
Page595-601(2014.03)

2.学会発表

1) 佐久間康德、山下ゆき子、湯田恵子、玉木望:好酸球性副鼻腔炎診断基準案に関する検討. 第 53 回日本鼻科学会総会, 大阪, 2014.

2) 湯田恵子、佐久間康德、山下ゆき子、折館伸彦:ケナコルトA®の鼓室内注入によりアナフィラキシー様症状を起こした好酸球性中耳炎の一例. 第 24 回日本耳科学会総会, 新潟, 2014.

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

好酸球性副鼻腔炎はなぜ両側性病変を呈するか

担当責任者 春名 眞一 獨協医科大学耳鼻咽喉・頭頸部外科 教授
研究協力者 吉田 拓人 獨協医科大学耳鼻咽喉・頭頸部外科 講師

研究要旨

通常、副鼻腔炎の成因には鼻中隔彎曲による鼻腔形態異常とウイルスや細菌感染などの慢性感染の結果、副鼻腔炎は左右非対称性に発症することが多い。本研究では、CT、内視鏡所見、FeNO を比較検討し、好酸球性副鼻腔炎の両側性病変の発症について考察した。非好酸球性副鼻腔炎に比べ、好酸球性副鼻腔炎の篩骨洞 CT 陰影は、左右対称で後篩骨洞陰影が優位であった。また内視鏡所見で後鼻内視鏡所見が優位で、左右対称な所見を認めた。FeNO を両群で比較すると好酸球性副鼻腔炎では有意に呼気 NO 濃度は高値を示した。以上より、好酸球性副鼻腔炎が両側性病変をきたすのは、呼気流によって種々の炎症起炎物質が後鼻孔から後部副鼻腔に流入することが重要であることが想定された。

A. 研究目的

好酸球性副鼻腔炎の診断基準の項目には、鼻内ポリープ、CT での篩骨洞優位像、血中好酸球数と両側性病変が加味されている。通常、副鼻腔炎の成因には鼻中隔彎曲による鼻腔形態異常とウイルスや細菌感染などの慢性感染と位置づけられる。その結果、副鼻腔炎は左右非対称性に発症することが多い。しかしながら、好酸球性副鼻腔炎では左右対称の篩骨洞優位な病変をきたし、従来の副鼻腔炎とは異なる病態が疑われる。本研究は、好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎の CT、内視鏡所見、FeNO を比較検討し、両側性病変の発症について考察した。

B. 研究方法

両群の対象疾患は、既往鼻手術は除き、以下である。

	好酸球性副鼻腔炎	非好酸球性副鼻腔炎 (両側性)
例数	35例70側	27例54側
年齢	34-68	41-68
男女比	23:12	17:10
CT score(片側)	8±1.67	6±2.13
血中好酸球数	平均8.91%	平均5.42%
喘息合併	27例	0例

両群に対して、CT の前・後篩骨洞陰影のスコアの比較、前鼻・後鼻内視鏡所見、FeNO を比較した。副鼻腔陰影スコアは Lund & Mackey を用い、後鼻内視鏡所見は軽症、中等症、重症と3段階に分類した(春名眞一、耳鼻と臨床 1998)。FeNO は携帯型 NO 測定器(Nobreath, Bedfont 社)用いた。

(倫理面への配慮)

2. 患者には以下の内容を説明する。

- ①CT、内視鏡所見は患者の臨床診断するために施行されたもので患者への不利益はない。
- ②NO 測定は非侵襲性であり、患者の負担は少ない。
- ③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

非好酸球性副鼻腔炎の前・後篩骨洞 CT 陰影を比較すると有意に前篩骨洞方が病変を有した。また、左右の篩骨洞陰影を比較すると有意差が認められ、非好酸球性副鼻腔炎の篩骨洞病変は左右非対称で、かつ前篩骨洞陰影が後篩骨洞陰影に比べ優位であることが示された。一方、好酸球性副鼻腔炎の篩骨洞 CT 陰影は、左右対称で後篩骨洞陰影が優位であった。

内視鏡所見を前鼻内視鏡所見と後鼻内視鏡所見の重症度を比較すると非好酸球性副鼻腔炎では前鼻内視鏡所見の方が優位で、かつ左右非対称であった。一方好酸球性副鼻腔炎では後鼻内視鏡所見の方が優位で、左右対称な所見を認めた。従って、好酸球性副鼻腔炎では、前方より後部副鼻腔に両側性に病変を認めることが示唆された。

FeNO を両群で比較すると、当然、好酸球性副鼻腔炎では有意に呼気 NO 濃度は高値を示した。次に術後、FeNO 値の高い症例(n=7)で呼吸器内科で治療開始し、2ヶ月後に FeNO が低値をしめした。同時に後鼻内視鏡所見は高度病変の2例の改善が認められた。

D. 考察

副鼻腔炎の成因は多因子であり、鼻中隔彎曲を中心とした鼻腔形態異常とウイルスや細菌による感染症などが起因するとされる。通常の慢性化膿性副鼻腔炎では、ostiomeatal complex の病変を呈し、左右非対称で、前部副鼻腔病変を呈する。従って、吸気流の影響が重要となる。一方、好酸球性副鼻腔炎は両側対称性で篩骨洞、嗅裂部位に優位に発症する。従って、吸気流以外の影響が予想される。今回の検討で、好酸球性副鼻腔炎は、前部副鼻腔より後部副鼻腔に強い炎症が考えられた。後鼻腔は左右対称で、嗅裂が開大しており、鼻腔形態の影響を受けずに、嗅裂および上鼻道に病変を波及しやすい。また好酸球性副鼻腔炎では呼気流には多量の NO が流入しており、多量の NO は繊毛機能障害をきたす。以上より、好酸球性副鼻腔炎が両側性病変をきたすのは、呼気流によって種々の炎症起炎物質が後鼻孔から後部副鼻腔に流入することが重要であることが想定された。

E. 結論

好酸球性副鼻腔炎は呼気流中の種々の炎症起炎物質が関与し、両側性病変をきたすと推測される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

春名眞一、吉田拓人.好酸球性副鼻腔炎はなぜ両側性病変をきたすか.日鼻誌 53(8).416,2014.

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

重症好酸球性副鼻腔炎に対する新しい治療戦略

担当責任者	平川 勝洋	広島大学大学院医歯薬保健学研究院	耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学	教授
研究協力者	竹野 幸夫	広島大学大学院医歯薬保健学研究院	耳鼻咽喉科学・頭頸部外科学	准教授
研究協力者	石野 岳志	広島大学病院耳鼻咽喉科	耳鼻咽喉科	助教
研究協力者	佐々木 淳	広島大学病院耳鼻咽喉科	耳鼻咽喉科	医科診療医
研究協力者	久保田 和法	広島大学病院耳鼻咽喉科	耳鼻咽喉科	医科診療医
研究協力者	樽谷 貴之	広島大学病院耳鼻咽喉科	耳鼻咽喉科	医科診療医

研究要旨

前年度より継続して慢性副鼻腔炎症例のデータ収集を行ない、提唱した診断基準の妥当性について実地臨床にて評価した。また基礎的研究として、1) 鼻副鼻腔における NO 産生代謝機構の解析: 内因性の一酸化窒素合成酵素(NOS)阻害物質である Asymmetric dimethylarginine(ADMA)、並びに代謝酵素である DDAH、合成酵素である PRMT の発現の検討と機能的解析の研究。2) 副鼻腔炎と逆流性食道炎(GERD)の関連性を検討するため、培養細胞を用いた人工胃酸刺激モデルの作成実験および臨床検体における GERD と副鼻腔炎との関連性の検討を行った。その結果、NO 産生と代謝機構は、産生酵素である PRMT および分解酵素である DDH が関連しており、これらの間に関連性示唆された。ECRS と non-ECRS との相違については今後の検討課題である。GERD との関連性を検討した in vitro の胃酸刺激モデル研究に関しては、胃酸刺激で細胞障害が生じ、その結果 IL-33 の発現が認められることが判明した。ECRS においても鼻茸に IL-33 が高度に発現していることを確認したことから、GERD が好酸球性炎症誘導に関わることが想定され、ECRS の難治化の原因の一つである可能性も考えられた。

A. 研究目的

好酸球性副鼻腔炎 (ECRS) と好酸球性中耳炎 (EOM) の疾患概念が提唱され、ECRS が臨床的に極めて難治であることが認識されてきている。これらの疾患の相違については、概念の提唱から間もないため、臨床データの集積も十分ではない。またその重要な難治化要因である局所粘膜への好酸球浸潤機序については更なる基礎的研究が必要な状態である。本年度も引き続き慢性副鼻腔炎症例のデータ収集を行なうとともに、基礎的研究として、上気道における一酸化窒素 (NO) の産生・代謝機構に注目して、NO 産生および分解関連酵素の組織内発現の相違を検討した。

また好酸球性副鼻腔炎の特徴として篩骨優位の副鼻腔病変が挙げられており、篩骨洞病変に焦点が当てられている。疫学的に慢性副鼻腔炎と逆流性食道炎 (GERD) の関連性が示唆されていることを考慮し、胃酸暴露頻度が異なると想定される下鼻甲介を

対象として比較研究を行うとともに、ECRS 病態形成における関与を検討するため、培養細胞を用いた人工胃酸刺激モデルを作成し検討を行った。

B. 研究方法

1) NO 濃度測定と NO 産生代謝機構の解析: 呼気中 NO 濃度の測定と手術時に採取した副鼻腔炎粘膜の分子生物学的解析を行った。具体的には口呼気 NO (oral FeNO) と鼻呼気 NO (nasal FeNO) の測定値と副鼻腔炎病態との関連性の検討。副鼻腔粘膜における NO 代謝と Asymmetric dimethylarginine (ADMA)、並びに産生酵素である PRMT および分解酵素である DDH の発現・産生に関する分子生物学的解析研究を行った。

2) 培養細胞を用いた GERD モデルの作成: ヒト気道上皮細胞: BEAS-2B を培養しコンフルエント状態で各規定 pH 調整したペプシン添加 DMEM 培地で刺激した後に cell counting kit (CK01) にて生存細胞数

を計測し、細胞障害性を評価した。さらに各種条件下での気道上皮細胞における IL-33 の発現の検討、鼻茸および下鼻甲介における IL-33 発現の相違および各上皮細胞における胃酸刺激に対する IL-33 発現の相違についても検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究計画の骨子についての倫理的内容については、広島大学医学部倫理委員会にて「慢性副鼻腔炎・気管支喘息に関する実態調査並びに病態の研究」(通知番号 第 459 号)、「アレルギー性鼻炎と副鼻腔炎症例における鼻腔由来の一酸化窒素(NO)濃度の測定と、手術症例で採取した粘膜組織における NO 合成酵素の発現の研究」(通知番号 第・臨 181 号)、「慢性好酸球性疾患の遺伝子解析と蛋白質解析に関する研究」(通知番号 第 ヒ-50 号)にて承諾が得られている。これらの指針に従い、研究対象となる患者様に対しては、あらかじめ説明文書と同意文書にて、本研究の目的と趣旨を説明し、インフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

基礎的研究に関しては以下の結果が得られた。

1) 鼻副鼻腔における NO 産生代謝機構の解析:

Asymmetric dimethylarginine(ADMA)は内因性の一酸化窒素合成酵素(NOS)阻害物質であり、NOS 基質である L-arginine からの NO 遊離を阻害する作用が報告されている。今回、副鼻腔炎患者の鼻副鼻腔粘膜において ADMA 並びに代謝酵素である DDAH、合成酵素である PRMT の発現を免疫組織学的に検討した。DDAH と PRMT に関しては鼻粘膜上皮、漿液腺、粘液腺への発現を確認した。ADMA についても同様に鼻粘膜上皮、漿液腺、粘液腺において存在が確認された。特に ECRS 患者の鼻副鼻腔粘膜上皮については、定性的な観察であるが好酸球浸潤に関連した傾向所見が得られており、現在遺伝子レベルでの定量化実験を継続中である。

2) 気道上皮細胞に対する IL-33 発現と胃酸の影響:培養液の酸性環境が高いほど、高度な細胞障害性が観察され、pH2 以下では細胞生存率は 5%以下(4 時間後)であった。また IL-33 発現への影響を検討したところ、IL-33 の発現は 1 分間の短時間刺激で発現の亢進が認められ、低 pH 環境とペプシン添加

刺激により著明な発現亢進を認めた。また下鼻甲介と鼻茸の IL-33 発現を検討したところ、鼻茸において IL-33 の著明な発現亢進が認められ、下鼻甲介では IL-33 の発現亢進は認められなかった。しかしながら、各上皮細胞を胃酸刺激したところ、その反応は類似する結果であり、上皮における IL-33 の発現は部位による相違ではなく、その環境により影響を受けていることが想定されるとともに、胃酸刺激がその相違を誘導している可能性も考えられた。

D. 考察

好酸球性副鼻腔炎は保存的な薬物療法単独でお完治が困難であり、手術療法が選択されることが多い。しかしながらその難治化の病態形成については好酸球浸潤の観点で検討がなされているものの、現在までその誘導機構は詳細には解明されていない。

今回の研究では NO の産生・代謝誘導の観点で産生酵素および代謝酵素の発現について検討を行った。慢性副鼻腔炎ではしばしば罹患した副鼻腔洞において著明な NO 濃度の低下が認められており、粘膜の機能低下により誘導された結果であることが知られている。これは粘液線毛輸送機能の低下による排泄機能障害が生じていることを示唆している。当科での過去の検討結果で、ECRS 症例では oral FeNO の有意な上昇、non-ECRS 症例では nasal FeNO の有意な低下が観察されている。このように ECRS における NO 産生と代謝機構は non-ECRS のそれと異なっていることが認められている。また ECRS において内視鏡下副鼻腔手術(ESS)を施行することで、その病状は大幅に改善することから、粘膜線毛上皮の再生と修復過程が促進され、副鼻腔の換気機能と排泄路が回復することで、線毛細胞の機能が改善し、粘膜上皮などに局在する iNOS 由来の NO 産生により鼻腔 NO 濃度が上昇する機序が考えられる。今回 NO 代謝機構を検討したところ、産生酵素である PRMT と分解酵素である DDH は正の相関を示すことが認められ、鼻腔 NO 濃度の変化はこれらの酵素発現がともに変化することで誘導されることが想定され、副鼻腔炎からの回復過程においては、生理的に NO が有する線毛運動の賦活作用の誘導はこれら酵素が重要な役割を果たしているものと推察された。

また好酸球性副鼻腔炎と GERD との関連性を指摘する報告が散見される。GERD 自体が直接副鼻腔に

関係するのではないが、過去の鼻腔内胃酸逆流を検討した報告では慢性副鼻腔炎患者の鼻腔内にペプシノゲンが同定されており、胃酸が鼻腔内に逆流することが副鼻腔炎の病態に関与していることが想定される。今回 In vitro の胃酸刺激モデルにおいて (BEAS-2B)、刺激 15 時間後の測定で pH1.5 で 1 分刺激した場合、IL-33 の発現が亢進することが認められ、time-dependent に細胞障害が生じることが IL-33 の発現を誘導することが認められた。また胃酸暴露頻度が異なると想定される下鼻甲介と鼻茸の上皮細胞を比較したところ、下鼻甲介では IL-33 の発現亢進は認めなかったが、ECRS の鼻茸では発現亢進が認められていた。しかし、それぞれの上皮細胞を培養刺激すると、部位による相違認められず、鼻茸と下鼻甲介の上皮の IL-33 発現の相違は外的あるいは内的要因で誘導されていることが想定された。この外的要因として、胃酸刺激が要因の一つでありうることが in-vitro 同定された。IL-33 は細胞のネクロシスに伴い、細胞外に分泌されることが知られていることから、より低 pH の胃酸刺激により上皮のネクロシスが誘導された場合、アレルギー性炎症が誘導される可能性が考えられる。慢性副鼻腔炎患者のうち ECRS は鼻茸により重度鼻閉が生じることが知られており、鼻閉が睡眠時無呼吸を誘導することで GERD を誘導し、最終的に副鼻腔の病状悪化を誘導している可能性が考えられた。

E. 結論

本年度の一連の研究では、基礎的な副鼻腔炎症例における相違を NO 産生および胃酸逆流の観点で検討を行い、病態成立の鍵となる因子の解明を行った。これらの成果は、臨床的に有用な薬物治療法の開発に有用と考えられる EBM の集積に貢献するものと思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takeno S. Nitric oxide is a possible reliable marker for evaluation of nasal allergy and chronic sinusitis. Proceeding of Airway Secretion

Research 14: 25-26, 2014.

- 2) Takeno S, Yoshimura H, Kubota K, Taruya T, Ishino T, Hirakawa K. Comparison of Nasal Nitric Oxide Levels between the Inferior Turbinate Surface and the Middle Meatus in Patients with Symptomatic Allergic Rhinitis. Allergol Int. 2014 Sep; 63(3): 475-83.
doi: 10.2332/allergolint.14-OA-0689

2. 学会発表

- 1) 石野岳志 竹野幸夫 久保田和法 平川勝洋: 胃酸刺激によるヒト気道上皮細胞由来上皮性サイトカイン発現の検討。第 34 回気道分泌研究会(平成 26 年 4 月 27 日、京都)
- 2) 石野岳志 竹野幸夫 久保田和法、平川勝洋: 咽喉頭酸逆流症による気道上皮細胞障害とアレルギー誘導について。第 64 回日本アレルギー学会(平成 26 年 5 月 9 日～11 日、福井)
- 3) 石野岳志 竹野幸夫 久保田和法 平川勝洋: 胃酸刺激によるヒト気道上皮細胞における IL-33 発現の検討。第 53 回日本鼻科学会(平成 26 年 9 月 25 日～27 日、大阪)
- 4) 久保田和法、竹野幸夫、樽谷貴之、佐々木淳、野田礼彰、平川勝洋: 好酸球性副鼻腔炎症例における前頭洞粘膜のサイトカイン発現の特徴。第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会(平成 26 年 5 月 9～11 日、京都)
- 5) 樽谷貴之、河野崇志、佐々木淳、竹野幸夫、平川勝洋: 慢性副鼻腔炎症例における NO 代謝と Asymmetric dimethylarginine (ADMA) についての検討。第 53 回日本鼻科学会(平成 26 年 9 月 25-27 日、大阪)
- 6) 佐々木淳、竹野幸夫、石野岳志、樽谷貴之、久保田和法、河野崇志、平川勝洋: 呼気中一酸化窒素濃度モニタリングと Arginase-2 の発現からみた副鼻腔炎病態の比較検討。第 53 回日本鼻科学会(平成 26 年 9 月 25-27 日、大阪)

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

ヒト鼻粘膜バリアにおける microRNA の役割に関する研究

担当責任者	氷見 徹夫	札幌医科大学耳鼻咽喉科 教授
研究協力者	高野 賢一	札幌医科大学耳鼻咽喉科 講師
研究協力者	関 伸彦	札幌医科大学耳鼻咽喉科 助教
研究協力者	大國 毅	札幌医科大学耳鼻咽喉科 助教
研究協力者	亀倉 隆太	札幌医科大学耳鼻咽喉科 助教

研究要旨

microRNA は、近年発見されたさまざまな生物学的プロセスに関与する小分子 RNA である。今回われわれは、ヒト鼻粘膜上皮細胞における鼻・副鼻腔粘膜バリア機能への microRNA の影響の検討を行ったのでここに報告する。

A. 研究目的

microRNA(miRNA)は、約 22 塩基から構成される小分子 RNA であり、タンパク質をコードしないにもかかわらず、転写後レベルで標的となる mRNA を分解、翻訳抑制を行うことで、タンパク質生成を制御し、癌をはじめ、さまざまな生物学的プロセスにおいて重要な役割を担っている。

タイト結合は細胞間接着装置に属しており、claudin, occludin, tricellulin, JAM などの分子によって構成され、バリア機能、フェンス機能、シグナル伝達機能などの機能をもつ。

さらに小腸粘膜上皮細胞において、miRNA の発現変化によって、タイト結合分子の発現が低下し、バリア機能が低下することが報告されている。

miRNA の操作による上気道疾患の治療、予防効果の可能性を考え、ヒト鼻粘膜上皮細胞での、炎症に密接な関係のある TLR 経路を介した、上皮バリアおよび炎症性サイトカインの放出における、miRNA の役割の検討を行った。

B. 研究方法

手術で得られた下甲介粘膜から分離、培養したヒト鼻粘膜上皮細胞を用いた。

- ① TLR3 のリガンドである poly(I:C)を刺激に用い、microRNA array で miRNA の発現変化をみた。
- ② miR-146a のシグナルを介した発現メカニズムに

ついて real-time PCR で検証した。

- ③ miR-146a の mimic の導入による過剰発現、および poly(I:C)の同時投与での、タイト結合タンパク、バリア機能、炎症性サイトカイン、TRAF6 の変化を、Western blots, 免疫染色、経上皮電気抵抗(TER), ELISA で検証した。

(倫理面への配慮)

本研究は自主臨床研究として札幌医科大学附属病院に認可されており、所定の説明書を用いて説明した後、同意の得られた患者から同意書を取得して行われた。

C. 研究結果

- ① ヒト鼻粘膜上皮細胞に poly(I:C)を刺激すると、72 種の miRNA が発現上昇し、15 種の miRNA の発現が低下した。特に発現上昇が大きかった中でも、miR-146a は TLR 経路で炎症反応の negative feedback を担い、自然免疫反応において重要な役割が示されているため、miR-146a のヒト鼻粘膜上皮細胞における役割に焦点を当てた。

- ② real-time PCR においても、poly(I:C)投与によって miR-146a の発現上昇が確認された。また、PI3K, JNK, NF- κ B のシグナル伝達阻害剤を用いると、miR-146a の発現は抑制され、poly(I:C)による miR-146a の発現上昇はこれらのシグナル伝達経路

の関与が示された。

③ miR-146a を mimic 導入で過剰発現させると、タイト結合 claudin-1, occludin, JAM-A の発現が上昇し、TER でバリア機能の一時的な上昇も認められた。poly(I:C)刺激でみられたタイト結合分子 claudin-1, occluding, JAM-A の発現低下は、miR-146a の mimic による過剰発現で抑制された。また、poly(I:C)刺激による炎症性サイトカイン IL-8, TNF- α の分泌増加も、miR-146a の mimic による過剰発現で抑制された。さらに、TRAF6 は TLR 経路のアダプター分子としてシグナル伝達を担っており、miR-146a の直接の標的遺伝子として知られてるが、今回の系でも miR-146a の mimic 導入により、TRAF6 の発現低下が認められた。

D. 考察

ヒト鼻粘膜上皮細胞において、TLR3リガンドである poly(I:C)によって発現上昇した miR-146a は、mimic による過剰発現で、poly(I:C)の効果であるタイト結合の発現低下と炎症性サイトカインの発現増加をそれぞれ抑制した。また、miR-146a mimic により TRAF6 の発現低下も認めた。このことから、miR-146a はヒト鼻粘膜上皮の TLR3 経路の negative feedback を担っていることが示唆された。

E. 結論

ヒト鼻粘膜上皮細胞への poly(I:C)刺激により、数十種の miRNA の発現変化が認められ、特に miR-146a は様々なシグナルを介した発現上昇が確認できた。

miR-146a の mimic の導入により、ヒト鼻粘膜上皮細胞のタイト結合分子の発現変化とバリア機能の増加が認められた。

また、miR-146a の mimic の導入により、poly(I:C)処置によるタイト結合分子 claudin-1, occludin, JAM-A の発現低下、炎症性サイトカイン IL-8, TNF- α の分泌亢進をそれぞれ抑制した。

以上より、miR-146a を調節することにより、外来抗原が鼻粘膜に及ぼす影響を軽減でき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) Miyata R, Nomura K, Kakuki T, et al.: Irsogladine Maleate Regulates Gap Junctional Intercellular Communication-Dependent Epithelial Barrier in Human Nasal Epithelial Cells. J Membr Biol. 2015 Feb 5 [Epub ahead of print]

2) Shirasaki H, Yamamoto T, Saikawa E, et al.: A relationship between birch pollen counts and meteorological factors in Sapporo. Nihon Jibiinkoka Gakkai Kaiho. 2014 May;117(5):653-7.

2. 学会発表

1) 宮田 遼, 角木拓也, 野村一顕, 小笠原徳子, 大國 毅, 高野賢一, 金野 匠, 幸野貴之, 澤田典均, 小島 隆, 氷見徹夫: ヒト鼻粘膜上皮における microRNA の役割. 第 103 回日本病理学会総会 平成 26 年 4 月 24-26 日, 広島

2) 宮田 遼, 角木拓也, 野村一顕, 小笠原徳子, 大國 毅, 高野賢一, 金野 匠, 幸野貴之, 澤田典均, 小島 隆, 氷見徹夫: ヒト鼻粘膜上皮における microRNA の役割. 第 66 回日本細胞生物学会大会 平成 26 年 6 月 11-13 日, 奈良

3) 宮田 遼, 角木拓也, 野村一顕, 小笠原徳子, 大國 毅, 高野賢一, 金野 匠, 幸野貴之, 澤田典均, 小島 隆, 氷見徹夫: ヒト鼻粘膜上皮における microRNA の役割. Epithelia: The Building Blocks of Multicellularity 平成 26 年 8 月 27-30 日, Heidelberg, Germany

4) 宮田 遼, 角木拓也, 野村一顕, 小笠原徳子, 大國 毅, 高野賢一, 金野 匠, 幸野貴之, 澤田典均, 小島 隆, 氷見徹夫: ヒト鼻粘膜上皮における microRNA の役割. 第 53 回日本鼻科学会総会・学術講演会 平成 26 年 9 月 25-27 日, 大阪

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

鼻茸線維芽細胞の PGD2 に対する VEGF 産生に関する研究

担当責任者	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
研究協力者	金井 健吾	香川県立中央病院 耳鼻咽喉科 医員

研究要旨

PGD2 による鼻茸線維芽細胞からの VEGF 産生について検討した。PGD2 は濃度依存性に鼻茸線維芽細胞から VEGF 産生を誘導した。VEGF 産生は DP 選択的アゴニストの添加でもみられたが、CRTH2 選択的アゴニストの添加は VEGF 産生を誘導しなかった。さらに PGD2 による VEGF 産生は DP 受容体選択的アゴニストの添加により抑制された。以上の結果より、鼻茸線維芽細胞においては PGD2 は DP 受容体を介し VEGF 産生を誘導させ、副鼻腔炎の病態に関与することが示唆された。

A. 研究目的

Vascular endothelial growth factor (VEGF)は、強力な血管拡張作用や血管新生作用を介して鼻茸形成など慢性副鼻腔炎の病態への関与が疑われる分子である。VEGF の産生細胞のひとつに線維芽細胞がある。我々はこれまでにプロスタグランジン(PG)D2 の慢性副鼻腔炎の病態形成への関与について報告してきた。例えば、鼻茸を伴う副鼻腔炎患者の中鼻道粘液における PGD2 濃度は鼻茸を伴わない副鼻腔炎患者と比較して有意に高値を示す(Yamamoto M, Okano M, et al. Int Arch Allergy Immunol 148: 127, 2009)。今回は、PGD2による鼻茸線維芽細胞からの VEGF 産生について検討した。

B. 研究方法

手術時に得られた鼻茸を細切し、線維芽細胞を単離し、継代培養を行った。種々の濃度の PGD2、PGD2 受容体選択的アゴニストあるいはアンタゴニストを添加した。培養上清中の VEGF を ELISA にて測定した。また線維芽細胞に発現する PGD2 受容体(DP および CRTH2)mRNA 発現量をリアルタイム PCR にて比較検討した。

(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

PGD2は濃度依存性に鼻茸線維芽細胞から VEGF 産生を誘導した。VEGF 産生は DP 選択的アゴニストの添加でもみられた。一方、CRTH2 選択的アゴニストの添加は VEGF 産生を誘導しなかった。さらに PGD2 による鼻茸線維芽細胞からの VEGF 産生は DP 受容体選択的アゴニストの添加により抑制された。CRTH2 受容体選択アゴニストの添加では PGD2 によって誘導される VEGF 産生を抑制しなかった。鼻茸線維芽細胞では CRTH2 に比較して DP の mRNA 発現が有意に高値を示した。

D. 考察

これまでに鼻茸線維芽細胞が PGE2 刺激によって VEGF を産生することが報告されている(Han DY, et al. AAIR 5: 224, 2013)。この報告では、PGE2 の作用は Gs 共役型受容体である EP4 受容体に選択的なアゴニストの添加で抑制され、また細胞内 cAMP 濃度の上昇によって VEGF 産生が誘導されることが示されて

いる。DP 受容体は EP4 受容体と同様に Gs 共役型受容体であり、矛盾しない結果となった。

E. 結論

鼻茸線維芽細胞においては、PGD2 は DP 受容体を介し細胞内 cAMP 濃度を上昇させることにより VEGF 産生を誘導させることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kariya S, Okano M, Oto T, Higaki T, Makihara S, Haruna T, Nishizaki K. Pulmonary function in patients with chronic rhinosinusitis and allergic rhinitis. The Journal of Laryngology and Otology 128: 255-262, 2014.

2) 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 63: 563-573, 2014.

3) Makihara S, Okano M, Fujiwara T, Noda Y, Higaki T, Miyatake T, Kanai K, Haruna T, Kariya S, Nishizaki K. Local expression of IL-17A is correlated with nasal eosinophilia and clinical severity in allergic rhinitis. Allergy and Rhinology 5: 22-27, 2014.

4) Kariya S, Okano M, Higaki T, Noyama T, Haruna T, Ishihara T, Makino T, Onoda T, Nishizaki K. Chronic rhinosinusitis patients have decreased lung function. Int Forum Allergy Rhinol 4: 828-833, 2014.

5) Okano M, Fujiwara T, Kariya S, Haruna T, Higaki T, Noyama Y, Makihara S, Kanai K, Nishizaki K. Staphylococcal protein A-formulated

immune complexes suppress enterotoxin-induced cellular responses in nasal polyps. Journal of Allergy and Clinical Immunology (in press)_

6) 岡野光博. 合併症やスペシャルポピュレーションのアレルギー性鼻炎にどう対応する！？②慢性鼻副鼻腔炎. 薬局 65: 43-49, 2014.

7) 岡野光博. セマフォリン 3A. アレルギー 63: 809-810, 2014.

8) 岡野光博. 耳鼻咽喉科 喘息合併時における鼻アレルギー治療薬の選択. 日本医事新報 4712: 60, 2014.

9) 岡野光博. アレルギー性鼻炎・副鼻腔炎と喘息. 呼吸 33: 982-989.

10) 岡野光博. コホート研究. アレルギー 63: 1273-1274, 2014.

2. 学会発表

1) 岡野光博. 黄色ブドウ球菌コンポーネントによる好酸球性副鼻腔炎の制御. 第 53 回日本鼻科学会. 大阪. 2014 年.

2) 岡野光博. 花粉症とプロバイオティクス. 日本アレルギー学会第 1 回総合アレルギー講習会. 2014 年.

3) 金井健吾、岡野光博ほか. 鼻茸線維芽細胞の VEGF 産生におけるプロスタグランジン D2 の関与. 第 33 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 東京. 2015 年.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

IL-10 産生促進剤 (PCT/JP2014/73752)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

喘息を合併する慢性副鼻腔炎における組織中 periostin の解析

担当責任者 吉川 衛

東邦大学医学部耳鼻咽喉科学講座 教授

研究要旨

慢性副鼻腔炎の難治症例では喘息を合併している症例が多く、鼻粘膜、鼻腔ポリープに著しい好酸球浸潤を認める。近年、periostin という細胞外マトリックスタンパクが、喘息の病態の増悪に関与すると報告されている。そこで、喘息を合併する慢性副鼻腔炎患者の副鼻腔粘膜および鼻茸組織中における periostin の発現を解析し、病態との関連性について検討した。その結果、鼻茸中の periostin の発現増強を介した経路が、慢性副鼻腔炎の難治化の要因となっている可能性が示唆された。

A. 研究目的

治癒寛解が困難な病態をもつ慢性副鼻腔炎患者の多くには鼻腔ポリープが認められ、手術を行っても再発を繰り返すことが多い。このような難治症例の臨床的な背景を検討したところ、アスピリン喘息を含めた非アトピー性喘息を合併している症例が多く、末梢血中の好酸球増多や鼻粘膜、鼻腔ポリープに著しい好酸球浸潤があることがわかってきた。現在、そのような病態は本邦では好酸球性副鼻腔炎と呼ばれている。また、東京慈恵会医科大学付属病院にて内視鏡下鼻内手術を行った慢性副鼻腔炎患者 223 例を対象としたコホート研究によって、欧米の診断基準において重要視される鼻腔ポリープの有無よりも、粘膜の好酸球浸潤の方が統計学的に術後の予後との相関があることを報告されている。そのため新規治療法を考える場合、重要な標的となるのは著明な好酸球浸潤を制御している因子である。すなわち、予後良好な症例とは異なる難治症例特有の微小環境を制御している因子を解明することによって、著明な好酸球浸潤を認める病態の根本的な治療が可能になると考える。

一方、喘息患者の血清中ではウイルス感染による急性増悪時に IP-10/CXCL10 の発現が有意に増強しており、*in vitro* においてはウイルス感染時に呼吸上皮細胞から発現する IP-10/CXCL10 は、低濃度のデキサメサゾンでは抑制できないと報告されている。ウイルス感染による局所炎症の増悪における線維芽細胞の関与を検討するため、これまで poly I:C 刺激

時の IP-10/CXCL10 発現について解析を行ってきた。その結果、喘息を合併した慢性副鼻腔炎患者由来の線維芽細胞では、poly I:C 刺激による IP-10/CXCL10 の発現が有意に増強していることを報告した(Yoshikawa M, et al. Increased CXCL10 expression in nasal fibroblasts from patients with refractory chronic rhinosinusitis and asthma. Allergol Int. 2013; 62(4): 495-502.)。すなわち、喘息患者においてはウイルス感染に対する線維芽細胞を介した IP-10/CXCL10 の過剰応答反応機構が存在し、病態の増悪に関与することを示唆した。

また、喘息は Th2 型の免疫反応が深く関与するアレルギー疾患の 1 つである。特に IL-13 は気道上皮細胞や平滑筋、線維芽細胞などの非免疫細胞に対して作用することにより、上皮組織の線維化、平滑筋肥大、杯細胞の過形成などを含む気道リモデリングを誘導して気管支喘息の病態形成に寄与していると考えられている。これまで、気道上皮細胞のマイクロアレイ解析により、IL-4 および IL-13 刺激によって誘導される分子として periostin (POSTN) が同定された。喘息患者の組織において POSTN の発現が上昇していること、さらにステロイド投与により POSTN 発現が減少し、その発現減少が肺機能の改善と関連することも報告されている。そこで、今回は喘息を合併する慢性副鼻腔炎患者の副鼻腔粘膜および鼻茸組織中における POSTN と、その発現に関与する IL-13、TSLP の発現を解析し、慢性副鼻腔炎の病態との関連性について検討を行った。

B. 研究方法

慢性副鼻腔炎患者を、①鼻茸のない慢性副鼻腔炎群(control, n=6), ②鼻茸を有する喘息(アスピリン喘息を含む)を合併しない慢性副鼻腔炎群(CRSnA 群, n=9), ③鼻茸を有する喘息(アスピリン喘息を含む)を合併する慢性副鼻腔炎群(CRSwA 群, n=7)に分類し、倫理委員会の承認のもと患者の同意を得たうえで、手術時に各組織を採取した。miRNeasy mini kit (QIAGEN)を用いて total RNA を抽出した。この一部について定量的 PCR を用いて、鈎状突起粘膜および鼻茸組織中における POSTN, IL-13, TSLP 遺伝子の発現変動を解析し、各遺伝子間の相関性についても検討した。遺伝子発現解析後の数値は GAPDH で補正を行った(%GAPDH)。

C. 研究結果

CRSwA 群患者では、他の群に比べて血中好酸球数が有意に高値であったが、総 IgE 値には差が認められなかった。また、今回採取した鼻茸組織においては、組織中の好酸球数および組織中 RNASE2 (EDN) mRNA レベルは、喘息の有無すなわち CRSwA 群と CRSnA 群では有意な差は認められなかった。組織中 POSTN mRNA は、CRSwA 群が CRSnA 群および control 群に比べて有意に高値であった ($p<0.05$; CRSnA 群との比較, $p<0.05$; control 群との比較, 各群の中央値:CRSwA; 94.21, CRSnA; 16.89, control; 10.28)。組織中 IL-13 mRNA は各群において有意な差は認められなかったが、TSLP mRNA は CRSwA において他群と比較して最も高い発現が認められた ($p<0.05$; CRSnA 群との比較, <0.05 ; control 群との比較, 各群の中央値:CRSwA; 0.038, CRSnA; 0.022, control; 0.011)。

全てのサンプルにおける組織中 POSTN mRNA は IL-13 mRNA と相関性が見られた ($r=0.5825$, $p<0.01$)。さらに組織中 TSLP mRNA は POSTN mRNA の発現との相関が確認された ($r=0.5469$, $p<0.01$) が、IL-13 mRNA とは有意な相関が確認できなかった ($r=0.3549$, $p=0.09$)。

D. 考察

喘息を合併する慢性副鼻腔炎の病態においては、POSTN および TSLP が高発現していた。また、POSTN と IL-13 および TSLP の発現は組織中で相関

することから、既報 (Masuoka M, et al. Periostin promotes chronic allergic inflammation in response to Th2 cytokines. J Clin Invest. 2012; 122(7): 2590-600.)にあるように、喘息を合併する患者の組織中においては、IL-13 によって組織構成細胞(線維芽細胞など)から発現誘導された POSTN が TSLP を誘導し、type-2 炎症の増悪を引き起こすサイトカインサイクルが存在することが示唆された。

E. 結論

これらの結果から、喘息を合併した慢性副鼻腔炎患者においては、鼻茸組織などの局所の線維芽細胞や上皮細胞からの POSTN の発現増強を介した経路が、難治化の要因となっている可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1.論文発表

1) 吉川 衛. 好酸球性副鼻腔炎 総論. アレルギー・免疫. 2014;22(1):16-21.

2.学会発表

1) Yoshikawa M, Wada K, Yoshimura T, Asaka D, Moriyama H. Increased IP-10 expressions in nasal fibroblasts from patients with refractory chronic rhinosinusitis and asthma. 2014 American Academy of Allergy, Asthma & Immunology annual meeting, San Diego, USA, 2014. 3

2) 吉川 衛. 副鼻腔真菌症の診断と治療. 第 115 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会, 福岡, 2014.5

3) 吉川 衛. 好酸球性副鼻腔炎の診断基準の作成と病態解明に向けて, 第 65 回関東耳鼻咽喉科アレルギー懇話会, 東京, 2014.9

4) 吉川 衛. 慢性副鼻腔炎の難治化因子の解明にむけて, 第 8 回埼玉上気道疾患研究会, 埼玉, 2015.1