

研究代表者 藤枝 重治 福井大学 学術研究院医学系部門 教授

研究要旨

本研究班が開設したホームページにて、手術症例の登録と保存的治療症例の登録を継続した。現在手術症例 470 例が登録された。ハンズオンセミナー・手術手技セミナー・ビデオセミナーは順調に開催され、参加者から好評を得ている。市民講座に関しても、患者およびその家族が出席し講演後の多数の質問を受け、啓蒙活動として成功している。医師用およびコメディカル用に動画をそれぞれ作成した。好酸球性副鼻腔炎の病態には、TSLP 遺伝子多型、NOS2 のプロモーター領域繰り返し配列、血管内皮細胞の糖鎖、線溶系の抑制の関与を見だし、IgG4 とペリオスチンが有力な臨床マーカーである。

A. 研究目的

難治性疾患である好酸球性副鼻腔炎は、本研究班の JESREC スコアなる臨床スコアで 11 点以上という診断基準を作成しえたことで、採血、副鼻腔単純 CT、鼻内視鏡検査によって、受診後早期に診断できるようになった。そのためこれまで様々な保存的治療を行い、最終的に好酸球性副鼻腔炎であると診断され、内視鏡下鼻副鼻腔手術 (ESS) を行っていた症例が、かなり早い段階で手術を行い、嚴重な術後経過観察をとることで鼻茸が再発しても早期かつ容易に外来で摘出できるようになってきた。本研究では、平成 26 年からの内視鏡下鼻副鼻腔手術症例を多施設共同で電子登録し、レジストリーを構築するとともに経過を観察することで、治療成績と症例 (フェノタイプ・エンドタイプ・所見内容・CT 所見) との関連、術式との関係を調査する。日本耳鼻咽喉科学会総会と日本耳鼻咽喉科学会専門医講習会で鼻科手術ハンズオンセミナー (模型を利用した体験型手術手技学習) および手術実技セミナーを開催して耳鼻咽喉科専攻医・専門医を指導し、その技術普及に努める。

平成 30 年からの 3 年間、電子登録システムを使用することで、マクロライド少量長期療法、経口ステロイド、鼻噴霧用ステロイド、抗ロイコトリエン薬の治療効果を検討する。さらに好酸球性副鼻腔炎の治療指針を作成する。

好酸球性副鼻腔炎の病態は、好酸球浸潤が強いということ以外、あまりよくわかっていない。好酸球性副鼻腔炎の病態を解明する。

さらに市民向けには、市民講座を行うとともにオンライン講義用に医師向けおよびコメディカル向けにそれぞれ好酸球性副鼻腔炎の診断、治療、

予後、指定難病に関する動画を作成し、好酸球性副鼻腔炎を啓蒙する。

B. 研究方法

研究代表者および分担者は、JESREC study および厚生労働省難治性疾患等政策研究事業のホームページ「指定難病 306 好酸球性副鼻腔炎に関する研究」において、所属機関で行った手術症例とマクロライド少量長期治療を行った保存的治療症例を登録する。

市民講座、ハンズオンセミナーは学会において共同企画の形で参画する。好酸球性副鼻腔炎に関する動画は、福井大学において作成する。

好酸球性副鼻腔炎患者において、遺伝子的な面から、*Thymic stromal lymphopoietin (TSLP)* の遺伝子多型が好酸球性副鼻腔炎に関連があるのではないかと考えてきた。そこで鼻茸合併慢性副鼻腔炎 (CRSwNP) と慢性副鼻腔炎を伴うアスピリン不耐症 (AERD) 患者の *TSLP* 遺伝子多型を調べた。

鼻腔における一酸化窒素 (nitric oxide; NO) は主に一酸化窒素合成酵素 (nitric oxide synthase 2; NOS2) によって合成され、NOS2 遺伝子には遺伝子多型の 1 つである反復配列多型が存在する。慢性副鼻腔炎患者および好酸球性副鼻腔炎患者において、NOS2 反復配列の回数 GeneMapper software で検討し、術後の再発との関連を調べた。

好酸球性副鼻腔炎の臨床マーカー確立のため、JESREC 研究に参加した 5 つの施設 (福井大学、岡山大学、獨協医科大学、自治医科大学さいたま医療センター、横浜市立大学附属市民総合医療センター) で ESS を受けた慢性副鼻腔炎患者の血清 (n=336) の IgG4 とペリオスチンを測定した。

JESREC基準による分類では、non-ECRSが119例、軽症ECRS が57 例、中等度ECRS が94 例、重症 ECRSが66例であった。

鼻腔洗浄液および鼻腔組織のトロンビン、thrombin anti thrombin Complex (TATc)、Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI)、Eosinophil cationic protein (ECP)をELISAで測定後、鼻腔洗浄液および組織の総タンパク濃度にて補正し、好酸球性副鼻腔炎とコントロールを比較した。

好酸球上のL-selectin と炎症個所に発現するHEV 様血管内皮上の末梢リンパ節アドレシン (PNAd)との関与に着目した。組織中のPNAd の発現、血管内腔に接着する白血球の傾向、好酸球上のL-セレクチン発現、PNAd を発現させたCHO細胞への好酸球接着の相違を解析した。

(倫理面への配慮)

平成 30 年 4 月 1 日から施行された「臨床研究法」に則って、登録システムを作成した。情報管理は万全の体制をとった。患者登録は、各施設において倫理委員会の承認を受けたのちに行うこととした。福井大学において平成 29 年 10 月に倫理委員会の承認を受け、共同研究施設に通知し、順次承認をうけている。実際の登録時には、患者からの同意を文書で得たのち、登録することとした。

C . 研究結果

手術症例は、現在 470 例登録され、保存的治療は 270 例登録された。令和元年 5 月 9 日、10 日に行われた第 120 回日本耳鼻咽喉科学会にて鼻科ハンズオン(48名)を行った。令和元年 7 月 6 日には日本耳鼻咽喉科学会夏期講習会で ESS のビデオセミナー(25名)を開催した。令和元年 10 月 4 日東京で行われた第 58 回日本鼻科学会総会において、「鼻の病気の最新情報：アレルギー性鼻炎と副鼻腔炎 減ったあおばな、増える難治性ちくこのう」の演題名で市民講座を行った。約 120 名の参加者があった。令和元年 11 月 16 日には第 33 回日本耳鼻咽喉科学会専門医講習会で鼻科ハンズオンセミナー(40名)を開催した。いずれも参加者からは好評であり、セミナー後のアンケート調査では手術に対する自信が向上していた。

医師向けおよびコメディカル向けそれぞれに「好酸球性副鼻腔炎の診断・治療」に関する動画(30分)を作成した。令和2年度に JESREC study および厚生労働省難治性疾患等政策研究事業のホームページ「指定難病 306 好酸球性副鼻腔炎に関する研究」に掲載する予定である。

TSLP 遺伝子多型(rs1837253)が好酸球性副鼻腔炎およびアスピリン不耐症患者ともに別集団による2度の解析で、有意な相関を認めた。

NOS2 反復配列の回数が少ないほど鼻茸における NOS2 遺伝子発現量が増加していた。反復配列の回数を、11 回以下をS型、12 回以上をL型と分類したところ、多施設前向きコホートをを用いた慢性副鼻腔炎患者および好酸球性副鼻腔炎患者では、S/S型はS/L型やL/L型と比較して高い術後再発率を示した。

血清IgG4 は、カットオフ値を95 mg/dl とすると、感度39.7%、特異度80.5%で慢性副鼻腔炎のESS後の再発を予測できた。さらに血清ペリオスチン値(カットオフ値115.5 ng/ml)と組み合わせることで、どちらかが陽性であった例は両者が陰性であった例に比べ、オッズ比3.95で術後再発をきたした。

好酸球性副鼻腔炎患者における鼻茸組織と鼻腔洗浄液中のトロンビンとTAFIが健常者と比較して有意に高いこと、特に気管支喘息を合併する患者で高いことを見出した。

好酸球性副鼻腔炎の鼻茸には PNAd が発現した HEV 様血管が有意に誘導されていた。さらに好酸球性副鼻腔炎の HEV 様血管には、好酸球の接着が有意に多く認められた。

D . 考察

手術症例の登録は増加しており、令和2年度集計を行う。ハンズオンセミナー・手術手技セミナー・ビデオセミナーは順調に開催され、参加者から好評を得ている。市民講座に関しても、患者およびその家族が出席し、講演後の多数の質問を受け、啓蒙活動として成功していると感じている。

好酸球性副鼻腔炎において原因となる遺伝子としてTSLPが同定されつつある。今回検討したTSLPの遺伝子多型部位にてCC genotypeはヒト鼻上皮細胞にdsRNAの刺激をした際のTSLP分泌が有意に高いとされ、CC genotypeが病態に関与している。同じように鼻茸中好酸球数との関係を調べるとリスクアレルであるCC genotypeでは、有意に好酸球浸潤数が高いことが判明した。

一方 NOS2 のプロモーター領域において、鼻茸中では、NOS2 反復配列の回数が少ないほど、NOS2 の発現量が多く、再発率が高かった。すなわち、NOS2 反復配列多型は鼻茸における NOS2 発現量と関連しており、術後再発に影響を与える遺伝的要因となる可能性が示唆された。

IgG4 とペリオスチンは好酸球性副鼻腔炎に対する ESS 後の予後を反映することが判明し、術前

での測定は、患者に有用であるとともに、今後術後の変化を追跡調査する必要性があると思われた。

好酸球性副鼻腔炎の鼻茸では、過剰なフィブリン沈着が起こっているが、それは凝固系の亢進と線溶系の低下によって生じており、トロンビンの代謝からも線溶系の抑制機序が証明できた。

好酸球性副鼻腔炎の鼻茸にはHEV 様血管が誘導されており、その血管内腔面に発現するPNAd と好酸球上のL-selectin が結合することで好酸球が血管内皮細胞に接着し、その後ローリングを起こし、好酸球が血管外へ浸潤することが判明した。

E . 結論

好酸球性副鼻腔炎の治療指針は現在最終段階に入っている。好酸球性副鼻腔炎の啓蒙活動に関しては順調に行っていると考えている。好酸球副鼻腔炎は、まだ十分に病態、原因がわかっていないが、遺伝子発現、遺伝子多型、遺伝子繰り返し配列回数、好酸球浸潤機序がわかってきた。新規治療法として、抗体治療も発表されるとともに保険承認もなされ、好酸球性副鼻腔炎患者にも明るい時代を迎えつつある。

F . 健康危険情報

特になし

G . 研究発表

1. 論文発表

1) Melo RCN, Wang H, Silva TP, Imoto Y, Fujieda S, Fukuchi M, Miyabe Y, Hirokawa M, Ueki S, Weller PF. Galectin-10, the protein that forms Charcot-Leyden crystals, is not stored in granules but resides in the peripheral cytoplasm of human eosinophils. *J Leukoc Biol.* 2020 Feb 28. doi: 10.1002/JLB.3AB0220-311R. [Epub ahead of print]

2) Matsunaga K, Katoh N, Fujieda S, Izuhara K, Oishi K. Dupilumab: Basic aspects and applications to allergic diseases. *Allergol Int.* 2020 Apr;69(2):187-196. doi: 10.1016/j.alit.2020.01.002

3) Oka A, Ninomiya T, Fujiwara T, Takao S, Sato Y, Gion Y, Minoura A, Haruna SI, Yoshida N, Sakuma Y, Izuhara K, Ono J, Taniguchi M, Haruna T, Higaki T, Kariya S, Koyama T, Takabayashi T, Imoto Y, Sakashita M, Kidoguchi M, Nishizaki K, Fujieda S, *Allergol Int.* 2020 Jan 14. pii:

S1323-8930(19)30201-1. doi: 10.1016/j.alit.2019.) 12.004. [Epub ahead of print]

4) Imoto Y, Kato A, Takabayashi T, Stevens W, Norton JE, Suh LA, Carter RG, Weibman AR, Hulse KE, Harris KE, Peters AT, Grammer LC, Tan BK, Welch K, Shintani-Smith S, Conley DB, Kern RC, Fujieda S, Schleimer RP. Increased thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor levels in patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 2019 Dec;144(6):1566-1574.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2019.08.040.

5) Bachert C, Han JK, Desrosiers M, Hellings PW, Amin N, Lee SE, Mullol J, Greos LS, Bosso JV, Laidlaw TM, Cervin AU, Maspero JF, Hopkins C, Olze H, Canonica GW, Paggiaro P, Cho SH, Fokkens WJ, Fujieda S, Zhang M, Lu X, Fan C, Draikiwicz S, Kamat SA, Khan A, Pirozzi G, Patel N, Graham NMH, Ruddy M, Staudinger H, Weinreich D, Stahl N, Yancopoulos GD, Mannent LP. Efficacy and safety of dupilumab in patients with severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps (LIBERTY NP SINUS-24 and LIBERTY NP SINUS-52): results from two multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase 3 trials. *Lancet.* 2019 Nov 2;394(10209):1638-1650. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31881-1.

6) Fujieda S, Imoto Y, Kato Y, Ninomiya T, Tokunaga T, Tsutsumiuchi T, Yoshida K, Kidoguchi M, Takabayashi T. Eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Allergol Int.* 2019 Oct;68(4):403-412. doi: 10.1016/j.alit.2019.07.002

7) Nakayama T, Hirota T, Asaka D, Sakashita M, Ninomiya T, Morikawa T, Okano M, Haruna S, Yoshida N, Takeno S, Tanaka Y, Yoshikawa M, Ishitoya J, Hizawa N, Isogai S, Mitsui C, Taniguchi M, Kojima H, Fujieda S, Tamari M. A genetic variant near TSLP is associated with chronic rhinosinusitis with nasal polyps and aspirin-exacerbated respiratory disease in Japanese populations. *Allergol Int.* 2020 Jan;69(1):138-140. doi: 10.1016/j.alit.2019.06.007.

8) Miwa T, Ikeda K, Ishibashi T, Kobayashi M, Kondo K, Matsuwaki Y, Ogawa T, Shiga H, Suzuki M, Tsuzuki K, Furuta A, Motoo Y, Fujieda S, Kurono Y. Clinical practice guidelines for the management of

olfactory dysfunction - Secondary publication. *Auris Nasus Larynx*. 2019 Oct;46(5):653-662. doi: 10.1016/j.anl.2019.04.002.

9) Tsutsumiuchi T, Hoshino H, Fujieda S, Kobayashi M. Induction of peripheral lymph node addressin in human nasal mucosa with eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Pathology*. 2019 Apr;51(3):268-273. doi: 10.4103/aja.aja_60_18.

2. 学会発表

1) Chronic rhinosinusitis with nasal polyp: Endotype and clinical marker. 10th EMIRATES otorhinolaryngology audiology and communication disorders congress. Shigeharu Fujieda, Dubai- 2020/1/15, 国外,口頭

2) Increased expression of L-plastin in nasal polyp of patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. Shigeharu Fujieda, Corlas meeting 2019, Bern 2019/8/25, 国外,口頭

3) Treatment of biologics for chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Shigeharu Fujieda 韓国3南鼻科学会 2019/8/17 Busan, 国外,口頭

4) Novel treatment for intractable chronic rhinosinusitis with nasal polyp: strategy for precision medicine. Shigeharu Fujieda EAACI 2019, Lisbon, 2019/6/4 国外,口頭

H . 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許出願「慢性副鼻腔炎の予防剤または治療剤、およびこれらをせいぞうするためのスタチンの使用」特願 2019-101552 国立大学法人福井大学出願 2019.5.30 坂下雅文、高林哲司、藤枝重治

2. 実用新案登録

3. その他