

好酸球性副鼻腔炎における手術治療および抗体治療患者の QOL 評価と重症化予防に関する研究

研究代表者 藤枝 重治 福井大学 教授

研究要旨

生物学的製剤のデュピルマブは日本人の好酸球性副鼻腔炎にも有用であるが、実際にはどのような患者に使用されているか調べると、治験時の適応条件（SINUS-24, 52）よりも軽症の症例に使用されていたが、欧米で使用されている患者よりも重症であった。治療前の QOL も日本人症例は重症であった。好酸球性副鼻腔炎患者の鼻腔では、*Fusobacterium* 菌の一種である *Fusobacterium nucleatum* が減少しており、この菌の LPS は上皮細胞由来好酸球遊走因子の産生を抑制していた。また細菌叢全体では、LPS の産生酵素が減少し、LPS 代謝酵素が促進している状態であった。副鼻腔炎 CT を自動で読影し、診断するシステムが順調に開発でき、実用化のめどが立ってきた。

A. 研究目的

好酸球性副鼻腔炎（eCRS）のコントロールに関してステロイド使用は、長期予後の悪化を考慮して国際的には使用抑制の機運がある。その背景には eCRS に対して保険適応となった生物学的製剤の使用がある。これらの難治性副鼻腔炎治療に関する国際的な変化の中にあつて、国内の現況を適切に捉えた調査は重要である。JESREC スタディ報告以後の予後調査では、術後管理の全国の現況を調査解析する。

令和 2 年 4 月から抗体薬（dupilumab）が、好酸球性副鼻腔炎を含む鼻茸を有する慢性副鼻腔炎に保険適応となった。抗体薬使用には適正使用ガイドラインに従うことが必須であるが、その治療効果は、これまで類を見ない程著効する症例が多い。かなり dupilumab が使用されるようになってきたが、現在どのような臨床背景を持つ患者に使用されているかは不明である。そのため本研究では、抗体治療を行った患者を登録し、臨床背景、臨床データを登録しその特徴を解析するとともに、新規投与患者では投与前後の SNOT-22 による QOL 評価を行う。

好酸球性副鼻腔炎の病態解明は、極めて重要である。アトピー性皮膚炎においては、便の細菌叢に多様性が少ないとの報告がなされている。好酸球性副鼻腔炎においては、まだ細菌叢の検討は行われていない。そこで鼻腔、口腔、便の細菌叢を次世代シーケンサーを用いたマイクロバイーム解析で明らかにし、好酸球性副鼻腔炎、非好酸球性副鼻腔炎、健康人との違いを解析する。

慢性副鼻腔炎鼻茸には、浸潤している細胞や上皮細胞、線維芽細胞の種類によって、エンドタイプが異なる。ほとんどの鼻茸は、内視鏡下鼻副鼻腔炎手術によ

って摘出される。そこで摘出された鼻茸組織から RNA を抽出し、RNAseq によって遺伝子を解析し、内視鏡下鼻副鼻腔炎手術予後との関連を求める。

好酸球性副鼻腔炎は、専門医には容易に診断がつくが、非専門医においては副鼻腔 CT の読影がやや難しく、その読影に確実性が伴わないことが多い。そこで Artificial Intelligence（AI）を用いて、副鼻腔 CT を読影して、好酸球性副鼻腔炎の診断を可能とするシステムを構築すると非常に有用性が高く、医師および患者にとっても公益性のあるプロジェクトと考えられる。

B. 研究方法

ESS 症例を電子登録システム利用により継続して登録する。

市民公開講座、ハンズオンセミナーを日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会、日本鼻科学会にて実施する。

2022 年から日本で抗体薬・Dupilumab と投与された症例、同じく米国、イタリア、カナダ、ドイツ、オランダで投与された症例を検討する。検討内容は、年齢、性別、BMI、総 IgE、喘息・NSAID-ERD の合併率、副鼻腔手術の既往歴の結果、抗菌薬の使用歴とする。さらに投与時の鼻閉スコア、嗅覚障害スコア、客観的嗅覚検査、QOL 評価（SNOT-22）を調べる。

内視鏡下鼻副鼻腔の手術を受けた（好酸球性副鼻腔炎、非好酸球性副鼻腔炎）を対象に鼻ぬぐい液、唾液、便サンプル中に含まれる細菌性 DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて 16S リボゾーム RNA を増幅しマイクロバイーム解析した。

好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎の内視鏡下鼻副鼻腔手術時採取した鼻茸病理検体（FFPE）250 例

から、RNeasy FFPE kit を用いて RNA を抽出し、nCounter® SPRINT により、FKN-panel を用いて約 600 遺伝子の発現量を測定した。

診断支援システム・診断判定処理装置の試作品を作成した。CT 画像のアノテーション、疾患 CT 画像の病変部濃淡パターンの数値化（重症度スコア）、副鼻腔の骨が受ける疾患変化の数値化、(iv) 対応する疾患データ入力の 4 つの行程から教師データを作成し、CT 画像と鼻・副鼻腔疾患との関係を学習させ、診断疾患名を提示するようにした。

（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

電子登録システムには手術症例 1422 名が登録されている。

2022 年から日本で抗体薬・Dupilumab が処方された 50 例と米国 173 例、イタリア 68 例、カナダ 9 例、ドイツ 2 例、オランダ 1 例の症例、計 303 例に関して検討した。その結果、日本の 50 例では、平均年齢 50 歳、男性 46%、BMI: 22.7、総 IgE: 200、喘息の合併: 86%、NSAID-ERD の合併: 34%、副鼻腔炎手術の既往: 78%、抗菌薬の処方歴: 74%であった。これは外国の症例、BMI: 28.0、喘息の合併: 71%、NSAID-ERD の合併: 26%、副鼻腔炎手術の既往: 62%、抗菌薬の処方歴: 45%に比べると、日本で抗体薬を投与される症例は、より重症の慢性副鼻腔炎であった。しかし日本の症例においても、治験のデータ（SINUS-24 および SINUS-52）と比べると鼻閉スコア、嗅覚障害スコアにおいて、いずれもスコアが低い症例および客観的嗅覚検査、QOL 評価（SNOT-22）において軽度の症例に導入されていた。

内視鏡下鼻副鼻腔の手術を受けた 143 名（好酸球性副鼻腔炎患者 65 名、非好酸球性副鼻腔炎患者 45 名、その他の手術患者 33 名）を対象に、鼻の中のぬぐい液を採取し、細菌由来 DNA を抽出し、次世代シーケンサーにて測定しマイクロバイーム解析した。その結果、好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎は異なる細菌組成であり、好酸球性副鼻腔炎では特定の菌種系統が減少していることが示唆された。そこで、それらを構成する菌種について詳細に分析したところ、好

酸球性副鼻腔炎では *Corynebacterium*、*Staphylococcus*、*Moraxella*、*Propionibacterium* 菌が増加しており、*Fusobacterium*、*Porphyromonas*、*Parvimonas*、*Treponema*、*Prevotella* 菌が減少していた。その中でも、*Fusobacterium* 菌の減少が最も顕著であった。さらに細かな菌種まで確認したところ、*Fusobacterium* 菌の一種である *Fusobacterium nucleatum* であることが判明した。細菌データベースを参考にして細菌機能について予測し、好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎の細菌機能を比較したところ、多数の細菌機能が異なっていることを確認し、その中でも好酸球性副鼻腔炎においてリポ多糖（LPS）生合成の低下が最も顕著であった。*Fusobacterium nucleatum* はリポ多糖（LPS）を生成する菌種として広く知られており、*Fusobacterium nucleatum* 由来の LPS の機能について検証を行った。*Fusobacterium nucleatum* を培養し、精製した LPS を用いてヒト気管上皮細胞へのはたらきについて検討した。*Fusobacterium nucleatum* 由来の LPS を前刺激した場合は、2 型炎症において重要な役割を果たす *ALOX15* 遺伝子の発現を抑制することが確認された。この効果はほかの菌（大腸菌）が産生する LPS では認められなかった。つまり、*Fusobacterium nucleatum* 由来の LPS には保護的な働きがあり、好酸球性副鼻腔炎では *Fusobacterium nucleatum* 由来の LPS が減少していることで保護的な働きが欠落し、発症の原因となっている可能性が示唆された。

nCounter によるエンドタイプの検討については、手術後の再発の状態を比較検討することで、600 遺伝子のうち 15 の遺伝子の発現量で、5 つのエンドタイプに分類できることが判明し、極めて活用性が高いことが解った（論文作成中）。この遺伝子パネルを用いて抗体薬使用患者の鼻茸を解析する予定である。

慢性副鼻腔炎患者の CT を自動で読影して、診断するシステムに関しては、これまで副鼻腔真菌症、上顎癌、内反性乳頭腫など慢性副鼻腔炎と鑑別が必要な疾患、篩骨洞病変から好酸球性副鼻腔炎の診断が可能となった。

D. 考察

研究により得られた成果の今後の活用・提供：抗体薬・Dupilumab が日本および欧米でどのような症例に投与されているのか、判明した。日本においては、最適使用ガイドラインが発表され、専門医はそれを忠実に守っている様子が判明した。しかし一部重症気管支喘息に伴う慢性副鼻腔炎に使用されている症例が存在した。日本と保険制度が異なる欧米では、その使用基準は日本に比べてかなり緩かった。これまで Dupilumab が上市されてから、日本の有効率の方が、

欧米の有効率よりも高いことが報告されていたが、適切な患者の選択をしていることが、今回の比較でも判明した。今後は、登録症例の抗体薬効果を調べる。

難治性である好酸球性副鼻腔炎は非好酸球性の副鼻腔炎とは異なるマイクロバイームであることが確認され、鼻腔マイクロバイームを構成する細菌種やその代謝産物が増えることにより難治性副鼻腔炎（好酸球性副鼻腔炎）を発症、増悪する可能性が示された。今後は、鼻腔マイクロバイームを改善させることによる好酸球性副鼻腔炎の治療効果を検証し、生活習慣の予防やプロバイオティクスなど新規治療薬の開発へと繋げたいと考えている。好酸球性副鼻腔炎で減少していた *Fusobacterium* 菌は、主に口腔内に存在する嫌気性菌で、非好酸球性副鼻腔炎の場合に検出されやすくなる。40年前の日本と比較すると非好酸球性副鼻腔炎であろうと考えられる好中球優位の慢性副鼻腔炎は減少するとともに、上顎癌の罹患率も有意に減少した。*Fusobacterium nucleatum* は、大腸癌の原因とも言われており、もしかすると上顎癌とも関連性があるのかもしれない。このような菌の存在が好酸球遊走を抑制していたが、それがなくなることで好酸球浸潤が起こり、好酸球主体の炎症が誘導され、好酸球性副鼻腔炎を起こしている可能性もあると思われる。

副鼻腔 CT における診断支援・診断判定処理システムの有用性は高く、総合診療、内科、鼻科を専門としない耳鼻咽喉科で汎用されると思われる。現在順調に成果を上げ、約 3 年以内に完成できると考えている。

E. 結論

予後調査の症例集積を進めつつ、生物学的製剤の使用に関する臨床情報を集積する。nCounter によるエンドタイプ決定、生物製剤が効果のある症例の選択、RNA 発現とマイクロバイーム解析とのマルチオミックス解析に発展させていく。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Takeuchi K, Abo M, Date H, Gotoh S, Kamijo A, Kaneko T, Keicho N, Kodama S, Koinuma G, Kondo M, Masuda S, Mori E, Morimoto K, Nagao M, Nakano A, Nakatani K, Nishida N, Nishikido T, Ohara H, Okinaka Y, Sakaida H, Shiraiishi K, Suzaki I, Tojima I, Tsunemi Y, Kainuma K, Ota N, Takeno S, Fujieda S. Practical guide for the

diagnosis and management of primary ciliary dyskinesia. *Auris Nasus Larynx*. 2024 Jun;51(3):553-568. doi: 10.1016/j.anl.2024.02.001.

2) Kidoguchi M, Imoto Y, Noguchi E, Nakamura T, Morii W, Adachi N, Ii R, Koyama K, Aoki S, Miyashita K, Hosokawa Y, Omura K, Tanaka Y, Tanaka K, Hida Y, Ninomiya T, Kato Y, Sakashita M, Takabayashi T, Fujieda S. Middle meatus microbiome in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis in a Japanese population. *J Allergy Clin Immunol*. 2023 Dec;152(6):1669-1676.e3. doi: 10.1016/j.jaci.2023.06.029.

3) Tsuda T, Suzuki M, Kato Y, Kidoguchi M, Kumai T, Fujieda S, Sakashita M. The current findings in eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Auris Nasus Larynx*. 2024 Feb;51(1):51-60. doi: 10.1016/j.anl.2023.08.002.

4) Imoto Y, Ueki S, Kato Y, Yoshida K, Morikawa T, Kimura Y, Kidoguchi M, Tsutsumiuchi T, Koyama K, Adachi N, Ito Y, Ogi K, Sakashita M, Yamada T, Schleimer RP, Takabayashi T, Fujieda S. Elevated Serum Leptin Levels in Patients With Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis. *Front Pharmacol*. 2022 3:12:793607. doi: 10.3389/fphar.2021.793607.

5) Saito K, Orimo K, Kubo T, Tamari M, Yamada A, Motomura K, Sugiyama H, Matsuoka R, Nagano N, Hayashi Y, Arae K, Hara M, Ikutani M, Fukuie T, Sudo K, Matsuda A, Ohya Y, Fujieda S, Saito H, Nakae S, Matsumoto K, Akdis CA, Morita H. Laundry detergents and surfactants-induced eosinophilic airway inflammation by increasing IL-33 expression and activating ILC2s. *Allergy*. 2023 Jul;78(7):1878-1892. doi: 10.1111/all.15762.

2. 学会発表

1) Baseline Disease Burden Among Patients with Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps in Global AROMA Registry. Peters AT, Buchheit KM, Shah R, Heffler E, Fujieda S, Xia C (Stats), De Prado Gomez L, Nash S. ACAAI 2023 Anaheim 2023/11/10 国際、口頭

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

副鼻腔疾患判定補助プログラム、副鼻腔疾患判定学習プログラム、情報処理装置、副鼻腔判定補助方法および副鼻腔疾患判定学習法 特願 2022-181463 坂下雅文、張朝、藤枝重治、吉田寿人、扇和弘、足立直人

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他