

好酸球性副鼻腔炎におけるバイオマーカー、上下気道病態の関連性、手術療法に関する研究

研究分担者	竹野幸夫	広島大学	大学院医歯薬保健学研究科	教授
研究協力者	石野岳志	広島大学病院	耳鼻咽喉科・頭頸部外科	講師
	堀部裕一郎	広島大学病院	耳鼻咽喉科・頭頸部外科	助教
	高原 大輔	広島大学病院	耳鼻咽喉科・頭頸部外科	医科診療医
	西田 学	広島大学病院	耳鼻咽喉科・頭頸部外科	医科診療医
	竹本 浩太	広島大学病院	耳鼻咽喉科・頭頸部外科	医科診療医
	川住 知広	広島大学病院	耳鼻咽喉科・頭頸部外科	医科診療医

研究要旨

副鼻腔炎症例の臨床データ収集を行ない、JESREC study により確立した診断基準の妥当性について検討した。また基礎的研究として、1) 鼻副鼻腔における一酸化窒素 (NO) 産生とレドックス制御からみた粘膜組織障害に関する研究、2) NO 合成酵素 (NOS) の遺伝子多型と関連遺伝子発現、副鼻腔炎表現型 (phenotype) と病態型 (endotype) との関連性の検討。臨床研究として、3) ECRS に対する標準術式の確立と再発予防目的とした術式の検討、4) 下気道病変から見た ECRS 病態と抗体製薬の有用性について検討した。

A. 研究目的

好酸球性副鼻腔炎 (ECRS) の疾患概念が提唱され、JESREC スコアをもとにした診断基準と重症度分類が確立されている。この概念は病態と臨床予後に密な関連性が検証され、国際的にも認知が進んでいる。しかしながら実地臨床では、本疾患は極めて薬剤抵抗性で難治であり、内視鏡下副鼻腔手術 (ESS) の術後再発も高頻度である。また診断基準作成から間もないため、疫学調査と臨床データの集積も十分ではない。また、新規に抗体製薬の保険適応承認が昨年より得られており、ステロイド内服にかわる保存治療として期待が持たれている。これらに関して、本年度も引き続き臨床背景と治療予後に関するデータ収集を行なった。

基礎的研究として、1) 鼻副鼻腔における一酸化窒素 (NO) 産生とレドックス制御からみた副鼻腔炎粘膜における組織障害に関する研究、2) NO 合成酵素 (NOS) の遺伝子多型と関連遺伝子発現、副鼻腔炎表現型 (phenotype) と病態型 (endotype) との関連性の検討。

臨床研究として、3) ECRS に対する標準術式の確立と再発予防目的とした術式の検討、4) 下気道病変から見た ECRS 病態と抗体製薬の有用性について検討した。

B. 研究方法

基礎的研究

1) 標的 SRs の遺伝子 (MSR1, SCARB1, LOX-1) 発現、産生と局在を real-time RT-PCR 法、ELISA 法、免疫組織染色にて検討した。また臨床背景と副鼻腔炎重症度との関連性を検討した。さらに ROS 産生による粘膜下炎症細胞の活性化を CD68 陽性マクロファージを指標として検討した。

2) NOS isoform と関連サイトカインの発現を RT-PCR 法により検討し、Type1 と Type2 炎症へのバイアスの程度を解析した。また、NOS2 のマイクロサテライトを標的としたプライマーを用いて PCR を行い、PCR 産物をフラグメント解析し、genotype との関連性を解析した。

3) ECRS に適した手術療法の確立

難治性前頭洞病変に対する単洞化手術と下鼻甲介遊離粘膜弁の臨床効果について、排泄路の温存性、FeNO などのバイオマーカーの変動、抗体製薬の有用性について検討した。

4) 呼吸器内科で加療中の気管支喘息患者を対象に、各種抗体製薬の上気道病変 (ECRS、EOM) に対する有効性を検討した。

(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、広島大学倫理委員会にて、「上気道炎症疾患の遺伝子解析と炎症誘導因子の解析に関する研究」(許可番号 ヒ-136号)、「好酸球性副鼻腔炎に対する手術治療および保存的治療の予後調査」(許可番号 第 E-996号)、「気管支喘息などの慢性下気道疾患が好酸球性・アレルギー性鼻副鼻腔疾患病態に及ぼす影響の研究」(許可番号 第 E-2033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

1) 鼻副鼻腔における一酸化窒素 (NO) 産生とレドックス制御からみた副鼻腔炎粘膜における組織障害に関する研究

標的 SRs の中でも、LOX-1 遺伝子が対照群に比較して、ECRS の鼻茸・篩骨洞粘膜で有意に発現亢進を認めた。同時に組織中の蛋白レベルでも有意差が存在していた。免疫組織化学染色では、マクロファージのマーカーである CD68 陽性の炎症細胞、並びに血管内皮に LOX-1 発現所見を認めた。また LOX 発現と臨床重症度 (CT スコアなど) には有意な正の相関が見られた。一方で、患者血清中 LOX-1 値は群間で差異を認めなかった。

2) NO 合成酵素 (NOS) の遺伝子多型と関連遺伝子発現、副鼻腔炎表現型 (phenotype) と病態型 (endotype) との関連性の検討

NOS isoform の genotype の相違に対応して、副鼻腔炎症例における mRNA 発現が異なる傾向を認めた。すなわち NOS2 のプロモーター領域を PCR で増幅させ、解析ソフト (Peak Scanner) を使用し CCTTT 反復数を同定した。反復数 14 回以下を S, 15 回以上を L と定義し、L/L もしくは L/S 群と S/S 群で比較を行った。

その結果 L 群と S 群の間で、気管支喘息や末梢血好酸球、総 IgE, CT スコア、口呼吸 NO は有意差を認めなかった。Non-ECRS 群と比較して ECRS 群では下鼻甲介における NOS2 発現が有意に上昇していた。また篩骨洞粘膜とポリープにおける NOS2 発現を L 群と S 群で比較したところ、ECRS と AR において相違が認められた。

3) ECRS に対する標準術式の確立と再発予防目

的とした術式の検討

昨年に引き続き、前頭洞病変の処理と下鼻甲介遊離粘膜弁の狭窄予防効果を検討すると同時に、neo-ostium での鼻茸再発の有無と抗体製剤による開存性の変化を観察した。graft からの鼻茸再発は認められなかったが neo-ostium の形態と開存性は残存粘膜から発生した鼻茸により変化し、閉塞しうることが判明した。開存度合いを大きくし、ステロイド添加鼻洗浄での管理が有効な場合と有効でない場合があり、後者の場合は抗体製剤の使用で状態の改善が得られることが認められた。

4) 下気道病変から見た ECRS 病態と抗体製薬の有用性

現在までの解析症例における、抗体製剤の種類別の ECRS における有効性の評価を記載する。当院呼吸器内科での投薬実績をもとに、抗 IL-5、IL-5R 抗体製剤と抗 IL-4/13 抗体製剤の有効性の違いについて検討を行った。抗 IL-5 系抗体製剤では組織中好酸球数を著明に減少させる効果が認められたが、重症 ECRS 症例においては無効症例も存在した。また有効性が発揮される場合でも半年程度の時間軸で評価を行う必要例も認められた。これに対して、抗 IL-4/13 抗体製剤では有効性の割合が高く、効果反映までの時間も短縮する傾向が認められている。

D. 考察

1) 鼻副鼻腔におけるレドックス制御機構と NO 産生・代謝の関連性について、一連のスカベンジャー受容体 (SR) のゲノム解析と遺伝子レベルでの発現を検討した。その結果、SRs の一種で生体内の酸化ストレスによって生じる酸化 LDL の受容体である LOX-1 の機能的役割の発見につながった。Ox-LDL が取り込まれることで、内皮細胞機能不全や NO バイオアベイラビリティの低下を引き起こすことが知られている。今回の成果は慢性副鼻腔炎における虚血状態に由来する炎症反応における LOX-1 の機能的役割を示唆しているものと推察される。

2) NOS2 遺伝子多型に関しては、下気道の喘息病態において NOS2 が高いほど FeNO が高いという報告や、S 群よりも L 群のほうが FeNO が高かったという報告、また ECRS は non-ECRS と比較して FeNO が高く、篩骨洞粘膜の NOS2 が亢進していたという報告があるように、NO は好酸球性炎症を反映していると考えられる。今回の検討で下鼻甲介における NOS2 が ECRS において特に亢進していること、好酸球性炎症と関連して

いる疾患である ECRS と AR において L 群のほうが有意に NOS2 が発現していたという興味深い結果を得ることができた。このことは、NOS2 遺伝子における CCTTT 反復数は ECRS と喘息の共通の遺伝的危険因子の 1 つであり、NO 濃度自体に加えて好酸球性疾患の診断や分類に役立つ可能性がある」と推察される。

3) 拡大前頭洞手術において neo-ostium の狭窄は癒痕形成、傷癒着、骨増生が長期的な狭窄を誘導する因子となるために、これを予防することが良好な鼻腔形態の維持に重要である。また遊離 graft の厚さ自体により狭窄することも報告されており、より良い形態の維持にはできるだけ薄い粘膜を選択する必要がある。我々が考案した Free IT graft は鼻中隔粘膜と比較し骨膜および軟骨膜が付着しておらず、厚さ 1mm 以下の非常に薄い graft を容易に作成できるため、neo-ostium の形態維持に有効であることが想定される。

また ECRS の再発は前頭洞の病状悪化から徐々に進展していくことが知られており、その前頭洞病変の制御のためには適宜ステロイド内服や鼻洗浄などで前頭洞排泄路の維持を行い、鼻汁の貯留を抑制することが長期の病態安定に重要であると考えられる。

4) One airway one disease の概念の元、上気道と下気道の病態を包括的に俯瞰することにより、ECRS の治療戦略においても気管支喘息への対応が密接に関与することが想定される。

近年、Type2 炎症あるいは好酸球性炎症を標的とした各種抗体医薬品の臨床応用が進んでいる。一方で気管支喘息と異なり、ECRS における鼻茸形成とサイズ維持における好酸球浸潤以外の複合的な要因が関与していることと、また症状改善のため機能手術介入 (ESS) が重要であることが知られている。

しかしながら、各種抗体製薬投与前後の鼻茸組織中における好酸球関連サイトカインの変化についての報告は、いまだほとんど認められていない。今回の検討からも、生物学的製剤の適切な使用と普及には、下気道とは異なったエンドタイプ分類の発展とともに著効例を予測できるバイオマーカーの探索も必須であると言える。

E. 結論

本年度も ECRS の病態と治療に関して基礎的研究と臨床研究として抗体製薬の適応と手術療法の治療効果についてデータ収集を行なった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishida M, Takeno S, Takemoto K, Takahara D, Hamamoto T, Ishino T, Kawasumi T: Increased Tissue Expression of Lectin-Like Oxidized LDL Receptor-1 (LOX-1) Is Associated with Disease Severity in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Diagnostics* 2020, 10(4), 246; <https://doi.org/10.3390/diagnostics10040246>

堀部裕一郎、竹野幸夫：「鼻腔生理とはなづまりの病態」特集主題：“はなづまり”を診る。Monthly Book ENTONI 241, 1-8, 2020.

竹本浩太、西田 学、築家伸幸、石野岳志、竹野幸夫：誘導型一酸化窒素合成酵素 (NOS2) の遺伝子多型と副鼻腔炎・アレルギー性鼻炎との関連性について。耳鼻免疫アレルギー (JJIAO) 38 (4) : 149-150, 2020

竹野幸夫、川住知弘：1. 慢性副鼻腔炎 overview —その現状とデュピルマブ登場の意義— 特集：慢性副鼻腔炎治療の新展開 Prog Med 40, 673-678, 2020.

伊藤 周、堀部裕一郎、竹野幸夫、高原大輔、竹本浩太、佐々木淳、河野崇志、樽谷貴之、石野岳志、濱本隆夫、上田 勉、川住知弘、西田 学、園山 徹：広島におけるスギ・ヒノキ花粉の飛散状況と患者の抗原感作の経年的変化 一過去 23 年間の解析結果— 耳鼻臨床 113(8): 481-486, 2020.

隅田良介、堀部裕一郎、竹野幸夫、小田尊志、川住知弘、竹本浩太、西田 学、石野岳志：ベンラリズマブ投与中に内視鏡下副鼻腔手術を施行した重症好酸球性副鼻腔炎例。広島医学 73 (8) : 482-486, 2020.

2. 学会発表

竹野幸夫：第 59 回 日本鼻科学会 シンポジウム 「副鼻腔炎治療の EBM：鼻洗浄、ネブライザー」 (令和 2 年 10 月 10・11 日、東京、2020)

竹野幸夫：第 1 回 日本耳鼻咽喉科学会秋季大会 領域講習 3 「好酸球性上気道炎の診断と治療」 「好酸球性副鼻腔炎」 (令和 2 年 11 月 7 日、大阪市、2020)

竹野幸夫：第 3 回日本アレルギー学会中国・四

国地方会 教育講演「鼻腔生理とスギ・ヒノキ花粉症」
(2021年3月13日、岡山市、2021)

竹野幸夫：Total Airway Inflammation Management summit in HIROSHIMA 「耳鼻科医からみた One Airway One Disease」(2020年10月24日、広島市、2020)

石野岳志：第59回日本鼻科学会 パネルディスカッション3 「バイオ製剤の bench-to-bedside」
(令和2年10月10・11日、東京、2020)

高原大輔、竹野幸夫、石野岳志、竹本浩太、川住知弘、堀部裕一郎、上田 勉：重症アレルギー性鼻炎に対する内視鏡下での後鼻神経切断における APLN の管理。第59回日本鼻科学会 (令和2年10月10・11日、東京)

高原大輔、竹野幸夫、上田 勉、石野岳志、濱本隆夫、樽谷貴之、河野崇志、堀部裕一郎、園山 徹：後鼻神経切断術の術後成績と accessory posterolateral nerves (APLN) の機能的役割。第82回耳鼻臨床学会 (令和2年12月24・25日、京都)

小田尊志、竹野幸夫、竹本浩太、西田 学、築家伸幸、石野岳志：Benralizumab 投与前後における鼻茸の組織学的変化 —喘息・中耳炎合併の重症好酸球性副鼻腔炎例の経験—。第38回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 (令和2年9月15-16日、横浜)

竹本浩太、西田 学、築家伸幸、竹野幸夫：誘導型一酸化窒素合成酵素 (NOS2) の遺伝子多型と副鼻腔炎との関連性について。第38回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 (令和2年9月15-16日、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