

### 研究要旨

表皮や粘膜における殺菌作用を始め、多様な免疫調節機能を持つことで注目されている S100A7 が皮膚のバリア機能を調節することが報告された。外界環境からの抗原刺激に対する皮膚バリア機能を制御する filaggrin と S100A7 について、ヒト鼻副鼻腔粘膜について検討した。また、抗菌作用を持つ S100A7 が、ヒト鼻副鼻腔粘膜においてウイルス感染による上皮障害を介した応答に関与するかどうかについても検討した結果、S100A7 は鼻副鼻腔粘膜上皮において皮膚と同様に filaggrin の増強作用を示すことを明らかにした。

### A. 研究目的

フィラグリンは、表皮の顆粒細胞で産生される塩基性タンパク質の一種である。前駆物質であるプロフィラグリンの断片ペプチドは角質層に移行しケラチンフィラメントの凝集効率に関与している。また、分解産物の天然保湿因子も角層中の遊離アミノ酸を供給し保湿と pH の保持を担い、皮膚のバリア機能に重要な役割を果たしている。現在、表皮におけるフィラグリンの発現が乏しいことによるバリア機能低下と、アトピー性疾患の発症の関連は注目されているが、気道上皮での意義は現在のところ明らかになっていない。

我々は鼻粘膜上皮におけるフィラグリンの発現と局在について解析を行ってきた。

一方、表皮や粘膜における殺菌作用を始め、多様な免疫調節機能を持つことで注目されている抗菌物質のひとつである S100A7 が皮膚のバリア機能を調節することが報告された。鼻粘膜ではこれまでに、アレルギー性鼻炎患者の鼻腔洗浄液で健常者に比べ S100A7 が低値であった 2005 年の報告を始め、IL-4 などの Th2 サイトカインやヒスタミンの刺激により S100A7 の産生が抑制されることが明らかとなった。また、健康人の鼻粘膜に LPS 刺激を行うことで S100A7 の産生が増強する報告もある。我々は S100A7 が鼻粘膜上皮においてもバリア機能の制御にいかに関わるかの解析を進めている。

### B. 研究方法

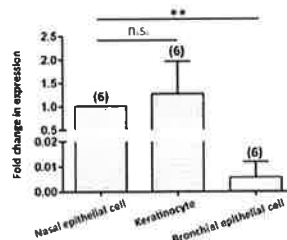
正常ヒト鼻粘膜上皮細胞の培養を行い、リアルタイム PCR 法による mRNA の測定を行いフィラグリンの発現を陽性対象である皮膚、陰性対象である気管上皮細胞との比較を行った。

また、培養ヒト鼻粘膜上皮細胞を、S100A7 で刺激し filaggrin の発現をリアルタイム PCR、western blot で解析した。さらに下垂体手術時に採取した正常蝶形骨洞粘膜における filaggrin および S100A7 の局在について二重蛍光免疫組織化学法で検討した。（倫理面への配慮）

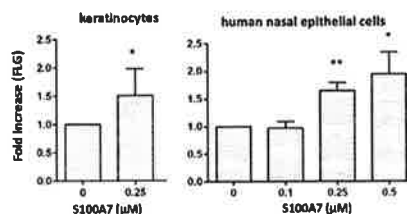
患者へのインフォームドコンセントをとり、研究計画については倫理委員会にて承認を得た。

### C. 研究結果

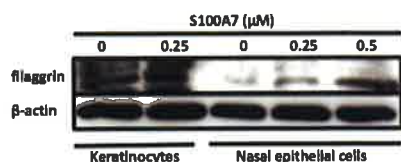
Filaggrin は皮膚と同様に鼻粘膜上皮に認められ、その発現は気管上皮と比べ有意であった。



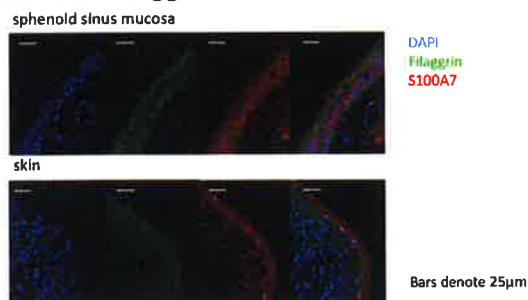
培養した鼻粘膜上皮細胞を S100A7 で刺激すると、鼻粘膜上皮細胞においてケラチノサイトと同様に、有意な filaggrin 発現の増強を認めた。



Western blot でも S100A7 刺激によってタンパク増加を確認した。



免疫組織化学的に蝶形骨洞粘膜の線毛上皮細胞、基底細胞に filaggrin、S100A7 の共局在を認めた。



#### D. 考察

複数の研究で FLG が評価されているにもかかわらず、ヒトの副鼻腔粘膜における FLG の発現と局在は意見が分かれていた。本研究はさらに、ヒト上気道における FLG の存在を再確認し、その上で増強因子を探索した。まず、FLG mRNA が半定量的 RT-PCR によって HNEC の初代培養で発現され、FLG mRNA のレベルが HEK のレベルと同等であることを示した。第二に、FLG タンパク質はウエスタンブロッティングによって HNEC で検出されました。第三に、蛍光抗体法により副鼻腔上皮細胞における FLG の局在と分布を示した。

FLG は表皮細胞の角質化プロセスに関与していますが、この分子は天然の保湿因子およびバリア関連タンパク質としても機能する。FLG は、ヒトの食道粘膜および皮膚の上皮バリア機能に寄与することが知られている。副鼻腔粘膜における FLG のバリア機能はまだ証明されていないが、鼻は呼吸器の防御機構において極めて重要な役割を果たし、より敏感な下気道を保護する。

S100A7 は HNEC における FLG mRNA と FLG タンパク質の両方の発現を有意に増強させた。S100A7 はヒトケラチノサイトで誘導的に発現され、FLG を含むケラチノサイト分化マーカーの発現を調節し、皮膚の密着結合バリアを強化することが報告されている。S100A7 タンパク質に応答する FLG 関連のイベントは、上気道の炎症を治療するための新しい治療標的となる可能性がある。

#### E. 結論

フィラグリンは鼻粘膜上皮に存在し、S100A7 に

より増強されることが示唆された。今後はバリア機能関連タンパクであるフィラグリンが、鼻粘膜においてもバリア機能との関連があるかを検討する必要がある。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Anzai T, Tsunoda A, Saikawa Y, Matsumoto F, Ito S, Ikeda K, Cryosurgical ablation for treatment of common warts on the nasal vestibule, American Journal of Otolaryngology, Vol.41(6), 2020

2. Kenji Suzuki, Yuichi Kurono, Katsuhisa Ikeda, Muneki Hotomi, Hisakazu Yano, Akira Watanabe, Tetsuya Matsumoto, Yoshisaburo, The seventh nationwide surveillance of six otorhinolaryngological infectious diseases and the antimicrobial susceptibility patterns of the isolated pathogens in Japan, journal of infection and chemotherapy, Vol.26(9), 890-899, 2020

3. Ayuko Oba, Shin Ito, Hiroko Okada, Takashi Anzai, Ken Kikuchi, Katsuhisa Ikeda, Early and noninvasive diagnosis using serological antigen biomarkers in chronic invasive fungal rhinosinusitis, Rhinology Online, Vol.3, 117-122, 2020

4. 池田 勝久, 【慢性副鼻腔炎治療の新展開-生物学的製剤デュピルマブの登場-】生物学的製剤の登場デュピルマブの作用機序と臨床効果, Progress in Medicine, 40 巻 7 号, 713-716, 2020

##### 2. 学会発表

・井出 拓磨, 伊沢 久未, 安藤 智暁, 中村 真浩, 北浦 次郎, 池田 勝久, 若手による鼻科学の臨床と研究の架け橋 アレルギー性鼻炎における抑制型受容体 CD300f の役割, 第 59 回日本鼻科学会

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

##### 1. 特許取得

##### 2. 実用新案登録

##### 3. その他