

慢性副鼻腔炎の難治化因子と
その制御機構に関する研究(要約)

日本大学大学院医学研究科博士課程
外科系耳鼻咽喉科学専攻

馬場 剛士

1. 概要

本研究は、「鼻茸を伴う慢性副鼻腔炎(Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps; CRSwNP)」の病態に「シリカ (二酸化ケイ素: SiO_2)」がどのように関与するかを検討したものである。

近年、シリカは炎症に対して多面的な作用を示すことが報告されている。シリカは食品や医薬品添加物として利用されるのみならず、黄砂の主成分でもあり、我々の日常生活で曝露される機会が多い。しかし慢性副鼻腔炎の病態への関与はまだ不明な点が多い。

本研究で、鼻茸分離細胞(Dispersed Nasal Polyp Cells: DNPCs)を、黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B (Staphylococcal enterotoxin B: SEB) で刺激をする際にシリカを添加したところ、慢性炎症との関連が報告されている IL-17A、IFN- γ の発現量が低下することを示した。

我々の結果は CRSwNP へのシリカの曝露は慢性副鼻腔炎における炎症を制御する作用があることを示し、今後、シリカが慢性副鼻腔炎に対する治療薬となる可能性があり、大きく医療に貢献し得る。

2. 諸言

慢性副鼻腔炎は粘性や膿性鼻汁、鼻閉、頬部痛、歯痛、頭重感、嗅覚障害、後鼻漏などの症状により、Quality of life の低下を招く疾患である。慢性副鼻腔炎の患者は、細菌、ウイルス、真菌への曝露により、鼻粘膜の炎症反応惹起をきっかけとする、鼻腔形態異常により副鼻腔と固有鼻腔の交通が遮断され、副鼻腔の炎症が遷延化することで、病的粘膜の増生が起これ慢性化した病態が形成される。慢性副鼻腔炎には鼻茸を合併することが多く、鼻茸は副鼻腔炎の病態を複雑にする要因となる。欧米では慢性副鼻腔炎を CRSwNP と鼻茸を伴わない慢性副鼻腔炎(chronic rhinosinusitis without nasal polyps; CRSsNP)の2つに分類している。本邦では好酸球性炎症の程度により CRSwNP をさらに好酸球性副鼻腔炎(eosinophilic chronic rhinosinusitis; ECRS)および非好酸球性副鼻腔炎(non-eosinophilic chronic rhinosinusitis; non-ECRS)に分類している。慢性炎症は大きくタイプ1、タイプ2、タイプ3の3種類に分類され、タイプ1炎症には IFN- γ 、タイプ2炎症には IL-4、IL-5、IL-13等、タイプ3炎症には IL-17A や IL-22 が関与する。

CRSwNP の患者は前述の通り、一般的に膿性鼻汁を認め、医療機関を受診することが多い。まずアモキシシリン(AMPC)を処方し、7日~10日で膿性鼻汁が消失したら、クラリスロマイシン(CAM)に変更する。ECRS の患者は粘稠な鼻汁、

嗅覚障害、鼻茸に変化がないので、経口ステロイド(ベタメタゾン d-クロルフェニラミンマレイン酸塩、プレドニゾロン)を処方する。すると粘稠な鼻汁は著減、鼻閉と嗅覚障害も改善する。さらに鼻茸の縮小も認められる。これが典型的な ECRS の治療経過となる。その後、経口ステロイドを漸減し最終的に隔日ないしは、1週間に2日程度の内服とし、約2~3ヶ月間継続する。適宜血中コルチゾールを測定し、異常がないか確認する。症状がほぼ消失すれば経口ステロイド投与を中止する。しかし、一旦軽快した症状は上気道炎などのウイルス感染、細菌感染によって、再度同じ状態に戻ることも多い。このような状態を何度か繰り返すと鼻茸は増大し鼻閉を強く感じるので、内視鏡下鼻副鼻腔手術(Endoscopic sinus surgery: ESS)を行うこととなる。鼻噴霧用ステロイド薬は、ESS後に使用するが、術前での使用はあまり効果がない。最近では、気管支喘息治療薬である吸入ステロイドを吸入し鼻から吐き出すこと(経鼻呼出法)で、後部篩骨洞にステロイドが到達し鼻茸の縮小とCT所見が改善するとの報告もある。

慢性副鼻腔炎患者の中には前述の標準治療に抵抗し、再発を繰り返す難治の症例が存在する。近年 IL-4、IL-5、IL-13、IgE などのタイプ2炎症を惹起するサイトカインに対する分子標的薬が開発され、難治の副鼻腔炎患者に対して

新しい治療選択が可能になった。今後も慢性炎症に関与する分子標的薬が難治の慢性副鼻腔炎に対する新しい治療手段となる可能性が多いに期待できる。

黄色ブドウ球菌は、人の皮膚や鼻腔に生息し、健常人の鼻腔の 20%に存在する。黄色ブドウ球菌はエンテロトキシン(Staphylococcal enterotoxin(SE): SEA や SEB など 20 種類以上にわたる)、Toxic Shock Syndrom toxin-1(TSST-1)、表皮剥脱性毒素、溶血素(ヘモリジン)、ロイコシジンなど多くの外毒素を産生し、毒素のデパートとも称される。黄色ブドウ球菌スーパー抗原の中では、特にエンテロトキシンが皮膚及び気道アレルギー疾患の病態へ共に関与することが知られている。

ECRS では気道粘膜においてもエンテロトキシン産生ブドウ球菌の定着が見られ、IL-4、IL-5、IL-13 などタイプ 2 サイトカインを産生し、ポリクローナルな IgE 産生や好酸球性炎症を惹起する。また岡野らの先行研究により CRSwNP から採取した鼻茸により、鼻茸分離細胞(Dispersed Nasal Polyp Cells: DNPCs)を作製し、黄色ブドウ球菌エンテロトキシン B (Staphylococcal enterotoxin B : SEB) で刺激をすると IL-5, IL-13 といったタイプ 2 サイトカインに加え、タイプ 1 炎症に関与する IFN- γ 、タイプ 3 炎症に関与する IL-17A サイトカインの発現が上昇することが報告されている。

シリカは別名、二酸化ケイ素 (SiO_2) とも呼ばれる。シリカは結晶性シリカと非結晶性シリカに分類される。我々は、石英やその他の鉱物として自然界に存在する結晶性シリカに採掘や建設作業を含む多くの職業で、また黄砂の主成分である結晶性シリカに日常生活で曝露する機会がある。肺においては、シリカが炎症に対して多面的な作用があることが既に報告されている。呼吸により結晶性シリカを肺に吸入することによる、慢性的な結晶性シリカの曝露は、マクロファージから $\text{IL-1}\beta$ を放出し炎症を惹起し、珪肺症の誘因となる。また非結晶性シリカはリポポリサッカライドによって誘導される $\text{TNF-}\alpha$ 、 IL-6 を抑制し、炎症を抑制する働きがある。このようにシリカは炎症に対して炎症を惹起したり、抑制したりという多面的な作用を示す。しかし、慢性副鼻腔炎におけるシリカの炎症に対する作用については未だ報告がなく、不明な点が多い。そこで、我々はシリカが慢性副鼻腔炎に対して炎症を惹起するのか、炎症を制御するのかに着目した。CRSwNP 患者から採取した鼻茸より DNPCs を作成し、SEB で刺激した際にシリカを添加すると IL-5 、 IL-13 、 IL-17A 、 $\text{IFN-}\gamma$ の発現量がどのように変化するかを調べ、シリカの炎症調節作用を検討することで、今後の CRSwNP に関する研究発展および新規治療法の開発に貢献することを本研究の目的とした。

3. 対象と方法

本研究は、日本大学医学部附属板橋病院倫理審査委員会より承認を得て施行した。

3-1 対象

本研究では、CRSwNP と診断され、治療目的に手術を受けた 19 人の患者を対象とした。CRSwNP の患者を Japanese Epidemiological Survey of Refractory Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis Study (: JESREC Study) 診断基準に則りスコアリングを行い、11 点以上の患者を好酸球性副鼻腔炎、11 点未満の患者を非好酸球性副鼻腔炎として診断した。好酸球性副鼻腔炎症例は重症度分類で軽症 2 例、中等症 11 例、重症 4 例であった。

3-2 方法

手術時に摘出した鼻茸を酵素で処理し、37°C で 2 時間培養し分離させ、DNPCs を作成した。DNPCs を 0.1ng/ml の SEB で刺激し、シリカ粒子 30nm, 25mg/ml を 2 μ l, 1 μ l ずつ投与し 37°C で培養した。培養上液を 72 時間後に回収し、IL-5、IL-13、IL-17A および IFN- γ を ELISA 法により測定した。2 群間の検定に Paired t-test を使用した。P<0.05 を統計学的有意差ありとした。

4. 結果

DNPCs を SEB で刺激をする際にシリカを添加すると、IL-5、IL-13、IL-17A、IFN- γ の発現量がどのようになるかを検討するために、異なる濃度の 30nM シリカ (50 μ l/ml, 100 μ l/ml) を SEB で刺激した DNPCs に添加し IL-5、IL-13、IL-17A、IFN- γ の発現量を ELISA 法により測定したところ、シリカの濃度依存的に IL-17A、IFN- γ の発現量が有意に低下していた。IL-5、IL-13 の発現量は不変であった。

5. 考察

本研究は、DNPCs を SEB で刺激をする際にシリカを添加したところ、慢性炎症との関連が報告されている IL-17A、IFN- γ の発現量が低下することを示した。

IL-17A はタイプ 3 炎症に関与する。鉤状突起部位の粘膜と比較して、鼻茸においては IL-17A 陽性細胞数、陽性細胞率ともに有意な発現の増加が報告されており、IL-17A が鼻茸形成に関与する可能性が示唆されている。よって、シリカにより CRSwNP のタイプ 3 炎症を抑制できる可能性があることが本研究で示唆され、シリカは 3 型 CRSwNP の治療薬となり得ることが推察される。

IFN- γ は慢性炎症タイプ 1 に関与する。CRSwNP ではタイプ 1 炎症の占める割合は 17%であったのに対して、鼻茸を伴わない慢性副鼻腔炎 (chronic rhinosinusitis without nasal polyp: CRSsNP) では 21%であったとの報告がある。以前は、CRSsNP で type1 炎症が優位とされていたが、近年、CRSwNP の病態が変貌している可能性が示唆されている。シリカにより CRSwNP のタイプ 1 炎症を抑制できる可能性があることが本研究で示唆され、シリカは 1 型 CRSwNP の治療薬となり得ることが推察される。

今回の研究で DNPCs を SEB で刺激をする際にシリカを添加したところ、IL-17A、IFN- γ の発現量の低下を認めた。その機序として、シリカが芳香族炭化水素受容体 (Aryl Hydrocarbon Receptor ; AhR) に結合し、免疫調節能に作用したと考えている。アレルギー性鼻炎において AhR が IL-17 の産生を制御する上で重要な役割を果たしているのかどうか、AhR がアレルギー性鼻炎の治療標的となりうるのかどうか、アレルギー性鼻炎を治療するために生体内で Th17 反応を抑制できる非毒性の AhR のリガンド (ITE) が存在するのかどうかについての報告があった。Ping Wei らによる研究によれば、AhR のリガンドとなる ITE が in vitro の実験で IL-17 を抑制することを報告しており、無毒性の AhR リガンドである ITE は、アレルギー性鼻炎に関連する炎症反応を抑制する有望な治療候補と思われる。

このような作用機序により、本研究の場合はシリカがリガンド、もしくは他のリガンドに何らかの影響をもたらし、AhR に作用したことにより、免疫調節機能が働き、IL-17A、IFN- γ の発現量が低下したと推察される。

冒頭に記載の通り、シリカは肺において結晶性シリカがマクロファージから IL-1 β を放出し炎症を惹起、非結晶性シリカはリポポリサッカライドによって誘導される TNF- α 、IL-6 を抑制し、炎症を抑制する働きがあることが報告されている。

本研究によって、CRSwNP において、シリカは AhR のリガンドとして、もしくは他のリガンドに何らかの影響をもたらした可能性があり、IL-17A、IFN- γ の発現量を低下させたことから、炎症を制御する働きがあることが示唆された。

そのため、CRSwNP 患者にシリカの適正な濃度などをさらに検討し鼻洗浄液に添加するなどして、CRSwNP のタイプ 1 炎症やタイプ 3 炎症の新規治療法を確立できると考えている。

6. 結論

シリカが炎症に対して多面的な作用があることは注目されていたが、本研究において、DNPCs を SEB で刺激をする際にシリカを添加したところ、慢性炎症との関連が報告されている IL-17A、IFN- γ の発現量がシリカの濃度依存的に低

下することが明らかとなった。つまり CRSwNP においてシリカは濃度依存的に慢性炎症タイプ 1、タイプ 3 を制御する作用があることが示唆された。

鼻洗浄液にシリカを添加するなどして、CRSwNP のタイプ 1 炎症やタイプ 3 炎症の新規治療法を確立できると考えている。