



Title	Eosinophil-derived neurotoxin enhances airway remodeling in eosinophilic chronic rhinosinusitis and correlates with disease severity
Author(s)	津田, 武
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76457
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	津田 武
論文題名 Title	Eosinophil-derived neurotoxin enhances airway remodeling in eosinophilic chronic rhinosinusitis and correlates with disease severity (Eosinophil-derived neurotoxinは好酸球性副鼻腔炎におけるリモデリングを促進するとともに病勢と相関する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 好酸球性副鼻腔炎 (Eosinophilic chronic rhinosinusitis:ECRS)は気道上皮細胞や複数の免疫細胞が関わる難治性疾患であるが、病態に関しては未だ不明な点も多い。強い好酸球浸潤を伴う鼻茸形成が特徴として挙げられるが、好酸球が果たす役割についても十分には検討されていない。 好酸球の果たす役割は炎症性サイトカイン産生や生体防御と多岐にわたる。特に生体防御に関しては内部に含まれるmajor basic protein (MBP)、eosinophil cationic protein (ECP)、eosinophil peroxidase(EPO)・eosinophil-derived neurotoxin(EDN)といった抗菌・抗寄生虫作用を持つ顆粒蛋白を外部に放出することによって担っている。しかし、これらの顆粒蛋白は細胞障害性を持つことから、同時に気道炎症との関連が示唆されている。特にEDNに関しては他の顆粒蛋白と比較して細胞障害は少ないものの樹状細胞の活性化といった独自の作用を持ち、アレルギー疾患と密接な関連を持つとされる。 本研究の目的は鼻腔上皮細胞に対するEDNの作用をIn vitroの実験系で評価することによって、ECRSの病態においてEDNが果たす役割について検討することである。 〔方法(Methods)〕 2014年～2018年に大阪大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科を受診した鼻副鼻腔疾患患者の血清EDN濃度を測定した。各疾患群における血清EDN濃度を比較するとともに、ECRS患者では血清EDN濃度と臨床的病勢との相関関係を評価した。組織におけるEDNの発現を評価するため、ECRS患者由来の鼻茸を用いて免疫染色を行った。 In vitroの実験系では好酸球からのEDN脱顆粒を誘導する因子を評価する目的で、健常者静脈血より好酸球を単離しrecombinant Th2サイトカイン蛋白による刺激実験を行った。EDNの鼻腔上皮細胞に対する作用を評価する目的で、鼻腔上皮細胞に対するrecombinant EDN蛋白による刺激実験を行った後、変動遺伝子についてRNA-sequenceによる網羅的解析を行った。また同様の鼻腔上皮細胞刺激実験を行った後、リモデリングマーカー遺伝子の変動についてqRT-PCR法で評価を行った。 〔成績(Results)〕 副鼻腔疾患患者における血清EDN濃度を疾患群別に比較した結果、ECRS患者において他の副鼻腔疾患患者よりも有意に血清EDN濃度は上昇していた。またECRS患者の血清EDN濃度は血中好酸球数やPolyp score、JESREC score、臨床的重症度といった病勢評価項目と正の相関関係を認めた。好酸球からEDNの脱顆粒を誘導する因子を検討した結果、Th2 サイトカインであるIL-5の刺激によって好酸球からEDNの脱顆粒が誘導されることを確認した。ヒト鼻腔上皮細胞を培養しrecombinant EDN蛋白で刺激を行ったところ、刺激により87遺伝子の発現変動を認めた。これらの遺伝子リストを用いてPathway解析を行ったところ最も変動を認めたPathwayは” Regulation of the Epithelial - Mesenchymal Transition Pathway (上皮間葉転換)”であった。またrecombinant EDN蛋白によって鼻腔上皮細胞を刺激した結果、<i>vimentin</i>や<i>Tenascin-c</i>といったリモデリングに関与する遺伝子の発現亢進も認められた。 〔総括(Conclusion)〕 EDNはIL-5の刺激によって好酸球から脱顆粒が誘導される。好酸球から放出されたEDNは鼻腔上皮細胞に作用しMMP-9の産生に寄与するとともに、上皮におけるリモデリングを亢進する傾向を認めた。EDNがECRSにおける難治性鼻茸形成に寄与すると考えられた。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		津田 武
(職)		氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 猪俣 孝典
	副 査	大阪大学特任教授 楠崎 雅司
	副 査	大阪大学教授 竹 田 潔

論文審査の結果の要旨

好酸球性副鼻腔炎は慢性副鼻腔炎の1種であり、鼻茸に著しい好酸球浸潤を認めることから好酸球が病態に寄与することが示唆されてきた。本研究では鼻副鼻腔疾患患者の臨床検体を用いて、EDNが好酸球性副鼻腔炎で果たす役割の検討を行った。

鼻副鼻腔疾患患者の血清EDN濃度を測定したところ、好酸球性副鼻腔炎患者において血清EDN濃度が上昇していた。また好酸球性副鼻腔炎患者の血清EDN濃度は病勢を示すポリープスコアや血中好酸球数、臨床的な重症度と有意に正の相関傾向を認めた。

In vitroの実験系では①好酸球からEDNの脱顆粒を誘導する因子の同定、②鼻腔上皮細胞に対するEDNの機能評価の2点について検討を行った。その結果、IL-5の刺激によって好酸球からEDNの脱顆粒が誘導されること示された。またEDN蛋白によって鼻腔上皮細胞を刺激すると、Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9)の産生が亢進され同時にリモデリングマーカーの遺伝子発現亢進を認めた。

以上よりEDNは鼻腔上皮細胞に作用しMMP-9の産生を介したリモデリングの促進作用を持ち、好酸球性副鼻腔炎における難治性鼻茸形成において重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された。

よって本研究は博士(医学)の学位授与に値するものと認める。