

氏 名	鈴木 倫雄
(ふりがな)	(すずき のりお)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第1208号
学位審査年月日	令和3年1月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題名	Steroids Inhibit Eosinophil Accumulation and Downregulate Hematopoietic Chemotactic Prostaglandin D₂ Receptor in Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease (アスピリン喘息におけるステロイド薬の好酸球浸潤の抑制、プロスタグランジン D ₂ 受容体発現の減少)
論文審査委員	(主) 教授 朝日 通雄 教授 今川 彰久 教授 高井 真司

学位論文内容の要旨

《背景》

アスピリン喘息 (Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease ; AERD) は、好酸球性炎症が主体であり、好酸球性鼻茸を合併する好酸球性副鼻腔炎を伴うことが知られている。また、AERD の好酸球性炎症、喘息発作はその名称の通りアスピリンやその他の非ステロイド性消炎鎮痛薬 (NSAIDs) によって誘発されることから、病態にはアラキドン酸代謝が強く関与していることが予想される。アスピリンまたは NSAIDs によってシクロオキシゲナーゼ (COX) が阻害されることで、ロイコトリエン (LT) 系代謝が亢進すること、内因性気管拡張型プロスタグランジン (PG) である PGE₂ や PGI₂ の減少することが AERD

の病態といわれているが、詳細は不明である。実地臨床においては好酸球性鼻茸のコントロールが重要であり、その治療には経口ステロイド薬が有効であることが広く知られているが、副作用の観点から長期投与は避けるべきである。そのため、代替薬剤、もしくは既存の治療との組み合わせで経口ステロイド薬の使用頻度を抑制できるような新薬の開発が期待されている。

これまで申請者らのグループは、プロスタグランジン、特に PGD_2 について研究を行っており、副鼻腔炎における好酸球性炎症において、好酸球に造血器型 PGD_2 合成酵素 (HPGDS) が発現していることを報告した。好酸球性炎症において、 PGD_2 は肥満細胞からの産生が中心であるといわれていたが、予備実験の一つで鼻茸中の肥満細胞は 1 視野あたりの数が非常に少なくばらつきが大きかったため、本研究では好酸球における PGD_2 に注目して実験を行った。

《目的》

AERD 患者の好酸球性鼻茸を用いて、経口ステロイド薬の投与・非投与での好酸球における PGD_2 の合成酵素・受容体の発現と局在、好酸球の活性化への影響について比較し、ステロイド薬と PGD_2 の関連性について検討することを目的とした。

《対象と方法》

AERD 症例は、全例アスピリンもしくは NSAIDs による喘息発作をもって AERD と確定診断されている症例を対象とした。

- 1、予備実験として、大阪医科大学耳鼻咽喉科学教室関連病院で内視鏡手術を受けて鼻茸を摘出された AERD 症例 4 例 (37 例からランダムに選択) と大阪医科大学附属病院で手術を受けた非 AERD 症例 4 例 (非好酸球性の通常の慢性副鼻腔炎) から採取した鼻茸を用いて、HE 染色、免疫組織化学 (ペルオキシダーゼ染色法)、ウェスタンブロット法にて、好酸球浸潤の程度、HPGDS の発現について比較した。
- 2、主実験として、AERD 症例 37 例を対象に、内視鏡手術にて採取した鼻茸を検体と

した。術前の内服がなかった 9 例をステロイド薬非投与群とし、術前 8 日間に経口ステロイド薬（ベタメタゾン 0.5mg 4 日間、0.25mg 4 日間）を投与した 28 例をステロイド投与群とした。両群の背景に有意な差は認められなかった。得られた検体を用いて、HE 染色、免疫組織化学（蛍光二重染色法）を行い、好酸球の活性化、HPGDS・DP2 の発現について、それぞれ局在の観察を行い、経口ステロイド薬の非投与群・投与群について比較を行った。蛍光二重染色は、PGD₂ 合成酵素である HPGDS を中心として、HPGDS と活性化好酸球、HPGDS と PGD₂ 受容体 DP2 という組み合わせで染色を行った。

- 3、経口ステロイド薬の非投与群・投与群について、全体の好酸球数とそれぞれ好酸球中の陽性細胞数をカウントし、統計的に比較・解析を行った。

《結 果》

- 1、HE 染色で非 AERD と AERD を比較して、AERD 鼻茸における著明な好酸球浸潤を確認した。また、HPGDS についてペルオキシダーゼ染色を行い、HPGDS が AERD において強く発現しており、ウェスタンブロット法でも HPGDS が AERD において高い濃度で発現していることを確認した。
- 2、蛍光二重染色法の結果、好酸球において HPGDS・活性化好酸球は高度に局在が一致していることがわかり、HPGDS・DP2 でも同様であった。HPGDS と活性化好酸球・受容体 DP2 は、高度な局在の一致を認めた。
- 3、経口ステロイド薬の非投与群と投与群でそれぞれの細胞数を実際にカウントし、グラフ化して解析した。それぞれの陽性細胞数を比較すると、HPGDS・DP2 よりも活性化好酸球の陽性細胞数は少なかった。経口ステロイド薬投与群では、非投与群に比較して、全体の好酸球数、活性化した好酸球数、HPGDS・DP2 の発現する細胞数が減少していた。全体の好酸球数の変化と、それぞれの変化の関係について検討するため、全体の好酸球数を分母とし、それぞれの陽性細胞数を分子として割合を算出して比較したが、活性化好酸球の割合、HPGDS・DP2 の陽性率のすべてが

経口ステロイド投与群で低下していた。経口ステロイド薬は、浸潤する好酸球数を減少させるだけでなく、好酸球の活性化、HPGDS・DP2 の発現を抑制することが示された。

《考 察》

経口ステロイド薬は好酸球浸潤を抑制するにあたって、浸潤する好酸球数を減少させるだけでなく、PGD₂ 合成酵素とその受容体の発現・発現率を抑制し、好酸球の活性化も抑制していることが明らかとなった。

ステロイド薬は、アラキドン酸代謝においてホスホリパーゼ A₂ に作用し、下流の PGs や LTs の産生を包括的に抑制するといわれている。その結果、好酸球の遊走や活性化が抑制される。今回の結果から、ステロイド薬は、好酸球の活性化、HPGDS・DP2 の発現を抑制することが示唆された。

活性化した好酸球には HPGDS・DP2 が高度に発現しており、HPGDS は PGD₂ 合成を促進する。合成された PGD₂ が DP2 に結合することで好酸球を遊走させる上に、活性化させ脱顆粒させることで周囲の細胞を傷害させる。活性化した好酸球には再び HPGDS・DP2 が高度に発現するため、PGD₂ の合成と好酸球の遊走・活性化は互いに増強し合うことが示唆される。PGD₂ 合成経路を選択的に抑え、HPGDS や DP2 の発現を抑えることが、非ステロイド薬での好酸球性炎症制御の一助となる可能性が示唆された。

現状においては、AERD に伴う好酸球性鼻茸にはロイコトリエン拮抗薬・ステロイド点鼻薬を中心とした投薬を行い、鼻茸が増生してくると経口ステロイド薬を投与する。副作用を伴わない PGD₂ に関連した効果の高い薬剤があれば、ロイコトリエン拮抗薬と併用することで、経口ステロイド薬の投与機会を減少もしくは短縮することができる可能性がある。

《結 語》

経口ステロイド薬は浸潤する好酸球数を減少させるだけでなく、PGD₂ 合成酵素とそ

の受容体の発現・発現率を抑制し、好酸球の活性化も抑制することから、PGD₂ が薬効の一端を担っていると考えられる。PGD₂ 関連薬が長期投与の難しい経口ステロイド薬に代わる創薬の一助となる可能性が示唆される。

論文審査結果の要旨

本論文は、アスピリン喘息 (Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease ; AERD) の好酸球性副鼻腔炎に伴う鼻茸を用いて、浸潤する好酸球における好酸球の活性化、PGD₂ 合成酵素 HPGDS と PGD₂ 受容体 DP2 の発現について観察し、経口ステロイド薬投与による影響について比較・検討したものである。

AERD は好酸球性炎症が主体であり、好酸球性鼻茸を合併する好酸球性副鼻腔炎を伴うことが知られている。耳鼻咽喉科領域では、好酸球性鼻茸のコントロールが重要であり、最終的には経口ステロイド薬が有効であることが広く知られているが、副作用の観点から使用頻度を抑制できるような新薬が望まれている。

免疫組織化学 (蛍光二重染色法) の結果、好酸球において HPGDS・活性化好酸球は高度に局在が一致していることがわかり、HPGDS・DP2 でも同様であった。活性化した好酸球には HPGDS・DP2 が高度に発現していることが示された。

これらに対する経口ステロイド薬の影響を明らかにするため、対象患者を術前経口ステロイド投薬の有無で分類し、非投与群と投与群で比較した。経口ステロイド薬投与群では、非投与群に比較して、好酸球の活性化、HPGDS・DP2 の発現する細胞数が減少していた。この結果、経口ステロイド薬の作用により浸潤好酸球数が減少するだけでなく、活性化好酸球の割合、HPGDS・DP2 の発現率自体が抑制されることが初めて示された。

ステロイドの影響により HPGDS・DP2 の発現率が低下することで、結果として PGD₂ 合成が抑制され、好酸球の遊走と活性化・脱顆粒も抑制されることが示唆され、この機構は互いに増強し合うことが示唆された。

経口ステロイド薬の好酸球浸潤への影響、そのメカニズムを解明することで、将来的な治療薬としてより副作用の少ない薬剤、経口ステロイドの投与機会の抑制につながる可能性がある。特に、PGD₂ 合成系についての検討は、HPGDS 阻害薬や DP 受容体阻害薬などの実用化へ寄与すると考えられる。

以上により、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

（主論文公表誌）

Ear, Nose & Throat Journal

145561320902858, in press 〈オンライン公開〉

doi: 10.1177/0145561320902858.