

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18753

研究課題名（和文）好酸球性副鼻腔炎の鼻茸における三次リンパ組織形成と局所T/B細胞の病的意義の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the pathological significance of tertiary lymphoid structure formation and local T / B cells in nasal polyps with eosinophilic chronic rhinosinusitis

研究代表者

武田 和也（KAZUYA, TAKEDA）

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：90734054

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸局所での免疫細胞の評価について鼻茸局所B細胞およびヘルパーT細胞サブセットの遺伝子解析を行った。

B細胞の遺伝子解析では胚中心様B細胞サブセットの存在、T細胞の遺伝子解析では病原性Th2細胞およびその前駆細胞と推測される亜集団に加え、濾胞性Th2細胞に該当する細胞集団の拡大を認めた。以上のことから、好酸球性副鼻腔炎における鼻茸中の三次リンパ組織形成とType2炎症誘導による病態への関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸局所での免疫細胞の評価について鼻茸局所B細胞およびヘルパーT細胞サブセットの遺伝子解析を行った。

B細胞の遺伝子解析では胚中心様B細胞サブセットの存在、T細胞の遺伝子解析では病原性Th2細胞およびその前駆細胞と推測される亜集団に加え、濾胞性Th2細胞に該当する細胞集団の拡大を認めた。以上のことから、好酸球性副鼻腔炎における鼻茸中の三次リンパ組織形成とType2炎症誘導による病態への関与が示唆された。

局所における異所性リンパ組織形成、および浸潤リンパ球の病的サブセットの存在は病態形成に関する重要な知見であり、新規治療標的となり得る。

研究成果の概要（英文）：Genetic analysis of polyp-infiltrated B cells and helper T cells was performed in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis.

RNA sequencing revealed the presence of the germinal center-like B cell subset, the follicular Th2 cell subset, and expanded pathogenic Th2 cells and subpopulations presumed to be progenitor cells.

From the above, it was suggested that the formation of tertiary lymphoid structures in nasal polyps, which were related to the pathological condition by induction of Type 2 inflammation in eosinophilic rhinosinusitis.

研究分野：鼻副鼻腔疾患、アレルギー

キーワード：好酸球性副鼻腔炎 T細胞 B細胞 三次リンパ組織 鼻茸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

好酸球性副鼻腔炎における IgE はその病態形成において重要な因子の一つであると考えられている。その IgE の産生源の一つと考えられている鼻茸中の T/B 細胞と三次リンパ組織の存在に注目し、病態形成に関与する特異的な遺伝子発現パターンや免疫細胞サブセットを同定し、好酸球性副鼻腔炎の免疫学的背景を細胞および遺伝子レベルで理解することでより効果的な新規治療の確立を目指す。

2. 研究の目的

好酸球性副鼻腔炎は好酸球浸潤を伴う慢性 Th2 炎症を主体とした原因不明の難治性副鼻腔炎である。好酸球性副鼻腔炎において多発する鼻茸中には好酸球浸潤と共に著明な Th2 サイトカインおよび IgE が存在し、病態形成に大きく関与している。しかし、その産生メカニズムについては未だ不明な点が多い。そのため、さらなる病態の解明と新規治療法の開発が求められている。我々はこれまでに鼻茸中の IgE が鼻茸局所でクラススイッチし産生されることを見出した。本研究では、IgE の産生源の一つである ECRS の鼻茸中の T/B 細胞と三次リンパ組織の存在に注目し、病態形成に関与する特異的な遺伝子発現パターンや免疫細胞サブセットを同定し、ECRS の免疫学的背景を細胞および遺伝子レベルで理解することで、より効率的かつ効果的な新規治療の確立を目指す。

3. 研究の方法

1. 鼻茸中の三次リンパ組織構造の観察：ECRS 患者の鼻茸を免疫染色により観察し、三次リンパ組織形成の存在、部位、構成細胞などについて考察する。
2. 鼻茸中胚中心様 B 細胞の遺伝子発現解析：ECRS 患者の鼻茸中胚中心様 B 細胞をフローサイトメーターにて回収、RNA を抽出し、RNA シーケンシングにより遺伝子発現を解析する。鼻茸中の他サブセットや扁桃の胚中心 B 細胞との差異を比較検討する。
3. 鼻茸中疾患特異的 T 細胞サブセットの同定：鼻茸中リンパ球を分離した後、マスサイトメーターを用いた多パラメーター解析を行う。T 細胞に関する細胞表面マーカーや転写因子を細胞レベルで網羅的に測定することで、濾胞性 T 細胞に類似した細胞群など疾患特異的に存在する細胞亜集団を探索する。万が一解析困難な場合は従来の多重染色法によるフローサイトメトリーによって細胞表面マーカーから特徴的な細胞集団を見出し、その細胞集団を回収し RNA シーケンシングを用いてその遺伝子学的特徴を解析する。

4 . 研究成果

好酸球性副鼻腔炎患者の鼻茸局所での免疫細胞の評価について鼻茸局所 B 細胞サブセットの遺伝子解析を行った。鼻茸に浸潤する B 細胞をフローサイトメーターを用いてメモリー、ナイーブ、胚中心 B 細胞、形質芽細胞サブセットに分類し、サブセット毎に回収し微量 RNA 増幅を行った後、RNA-seq 解析を行った。典型的な二次リンパ組織である扁桃と比較検討したところ、類似した細胞群を形成しており、鼻茸局所における異所性胚中心形成を示唆する所見であった。次に、鼻茸局所 T 細胞サブセットの遺伝子発現解析を行った。フローサイトメーターにて鼻茸中 CD4+T 細胞を採取し、single cell RNA-seq 解析を行った。病原性 Th2 細胞およびその前駆細胞と推測される亜集団に加え、濾胞性 Th2 細胞に該当する細胞集団の拡大を認めた。以上のことから、好酸球性副鼻腔炎における鼻茸中の三次リンパ組織形成と Type2 炎症誘導による病態への関与が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 武田和也
2. 発表標題 若手による鼻科学の臨床と研究の架け橋 好酸球性副鼻腔炎における局所浸潤T細胞の遺伝子発現解析
3. 学会等名 日本鼻科学会会誌
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 武田和也, 端山昌樹, 前田陽平, 津田 武, 小幡 翔, 中谷彩香, 識名 崇, 猪原秀典.
2. 発表標題 鼻茸組織由来モノクローナルIgE抗体作製によるアレルギー性真菌性鼻副鼻腔炎の抗原同定
3. 学会等名 第58回日本鼻科学会学術大会.
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------