

# Expression of cytokine in patients with chronic sinusitis

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/9929">http://hdl.handle.net/2297/9929</a>

## 慢性副鼻腔炎におけるサイトカイン発現についての検討

金沢大学大学院医学系研究科脳医学専攻感覚運動病態学  
(旧講座名：耳鼻咽喉科学)  
(主任：古川 俊教授)

山 田 和 宏

慢性副鼻腔炎は耳鼻咽喉科の日常診療において頻繁に遭遇する疾患で、鼻閉、鼻漏、嗅覚障害などの原因となり患者の生活の質 (quality of life, QOL) を低下させる。従来の慢性副鼻腔炎の多くは細菌感染が原因と考えられる化膿性副鼻腔炎であったが、近年はアレルギーや好酸球性炎症が発症に関与する新たな副鼻腔炎の病型が増加しており難治化との関係も指摘されている。これまで、慢性副鼻腔炎の病態に関して、鼻副鼻腔粘膜、鼻茸における種々のサイトカインの発現が報告され、炎症反応の調節に深く関与していることが知られている。そこで、副鼻腔炎の病態とサイトカイン発現の関連を調べる目的で以下の研究を行なった。すなわち、手術時に鼻副鼻腔粘膜あるいは鼻茸を採取しRT-PCRをMPCR (multiplex PCR) の手法を用いて施行し種々のサイトカイン遺伝子の発現を解析した。更にPCR産物の半定量化を行い、副鼻腔CTスコア、採取した鼻副鼻腔粘膜、鼻茸における浸潤細胞数との相関について検討した。副鼻腔CTスコアは、術前に施行された副鼻腔CTにおいて各副鼻腔(上顎洞、前頭洞、前・後篩骨洞、蝶形骨洞)とostiomeatal complexの状態を0から2点にスコア化(0:正常所見, 1:部分的陰影, 2:完全な陰影)し、各洞や左右側毎の合計などを算出した。検討した19例において発現が認められたのは、インターロイキン (interleukin, IL)-8 (18例)、IL-14 (13例)、腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$  (7例)であった。発現を認めたサイトカインと副鼻腔CTスコアとの相関の検討では左右ともく上顎洞スコア>-<前・後篩骨洞スコアの合計値>とIL-8との間に正の相関を示した。また、発現を認めたサイトカインと鼻副鼻腔粘膜、鼻茸における浸潤細胞数との相関の検討では好中球数とIL-8との間に正の相関を認めた。以上より、慢性副鼻腔炎患者の鼻副鼻腔粘膜、鼻茸においてはIL-8やTNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインの発現を認め、好中球浸潤を中心とした感染性炎症の成立機序に深く関わっていることが示唆された。また、これら従来型の慢性化膿性副鼻腔炎では上顎洞病変が優位であり、近年問題視されている好酸球性副鼻腔炎では篩骨洞病変が優位とされていることと区別されることが示唆された。

**Key words** chronic sinusitis, neutrophil, interleukin-8, multiplex polymerase chain reaction, computed tomography

慢性副鼻腔炎、鼻茸は耳鼻咽喉科の日常診療において頻繁に遭遇する疾患で、鼻閉、鼻漏、嗅覚障害などの原因となり患者の生活の質 (quality of life, QOL) を低下させる<sup>1)</sup>。従来の慢性副鼻腔炎の大部分は、細菌感染による急性炎症の反復と持続を契機として発症する化膿性副鼻腔炎であったが、近年はこれとは異なる機序、すなわち何らかの形でアレルギーや好酸球性炎症が発症に関与する新たな副鼻腔炎の病型が増加してきていることが指摘されている<sup>2)</sup>。川堀ら<sup>3,4)</sup>によって鼻茸の浸潤細胞タイプから見た時代の相違について検討が行われているが、1980～1982年に比べ1997～1998年の症例で好中球が主なタイプの鼻

茸が減少し、好酸球タイプが明らかに増加していたと報告している。

過去においては治療の対象となる慢性副鼻腔炎は高度病変が中心であり、それゆえ、治療は手術療法が中心であった。かつては上顎洞前壁の犬歯窩の骨開窓を十分に行い、病的上顎洞粘膜を完全に除去し下鼻道に対孔をつくるCaldwell-Luc手術が主流であった<sup>5,6)</sup>。しかし1970年代後半から1980年代になると内視鏡下鼻内手術が導入されるようになり<sup>7,8)</sup>、1990年代に入ると爆発的に世界中に広まっていった。内視鏡下鼻内手術は、ostiomeatal complexを中心として副鼻腔自然孔を開大し、副鼻

平成18年 7月25日受付, 平成18年 9月6日受理

Abbreviations: EtBr, ethidium bromide; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ICAM, intercellular adhesion molecule; IFN, interferon; IL, interleukin; MPCR, multiplex PCR; TGF, transforming growth factor; TNF, tumor necrosis factor

腔の換気を改善し膿汁，粘液の排泄を促すことで副鼻腔病的粘膜の回復を図るという概念のもとに行われる<sup>9)</sup>。利点としては，上顎洞粘膜が保存されるため術後性上顎嚢胞の発生が生じないこと，手術治療の年齢制限がないこと，また手術の対象とする副鼻腔病変が軽度のものから高度のものまで広く適応とすることができることである<sup>6)</sup>。また，保存的療法としてはマクロライド少量長期投与療法<sup>10)</sup>，ネブライザー療法<sup>6)</sup>，副鼻腔洗浄療法などが行われてきた。

実際の耳鼻咽喉科の日常診療において，慢性副鼻腔炎の中でもこれらの保存的療法が有効な場合と無効な場合がある。さらに手術療法を行っても術後にポリープが再発する場合や鼻汁が持続する例が見られることもある。慢性副鼻腔炎の診断には鼻内所見の観察，副鼻腔CT，副鼻腔X線検査などの画像診断，鼻汁検査などが行われるが，どのような症例でこれらの治療に抵抗するかは明確ではない。今後は各症例の予後を見越して的確な治療を選択することが求められると予想される。

近年，慢性副鼻腔炎症例の鼻副鼻腔粘膜や鼻茸など炎症局所において，サイトカインが浸潤細胞に及ぼす影響や難治性との関係など多く報告されている<sup>11)12)13)14)</sup>。今回，我々は副鼻腔手術時に鼻副鼻腔粘膜や鼻茸を採取し，RT-PCRを複数のターゲット遺伝子産物を同時に増幅可能なMPCR (multiplex PCR) の手法を用いて施行しサイトカインmRNAの発現を解析した。そして，PCR産物の半定量化を行いCTスコアやHE染色病理標本における浸潤細胞数との相関について検討した。尚，CTスコア法にはLundとMackayによって提唱された方法を用いた。すなわち，術前に施行された副鼻腔CTにおいて各副鼻腔とostiomeatal complexの状態を0から2点にスコア化し，副鼻腔陰影の評価を行なった<sup>15)</sup>。

## 対象および方法

### I. MPCR法による鼻副鼻腔粘膜および鼻茸におけるサイトカイン遺伝子発現の検討

#### 1. 対象

金沢大学医学部附属病院耳鼻咽喉科で鼻内視鏡手術を行った慢性副鼻腔炎患者19名(男性14名，女性5名)である。年齢は8～68歳(平均44.1歳)であった(表1)。手術時に採取した鼻副鼻腔粘膜，鼻茸の一部を材料とした。採取した組織は実験開始まで-80℃のアセトン内で保存した。尚，検体採取にあたり，被験者からは，本研究の目的，趣旨と方法を説明し，書面によるインフォームドコンセントを得た。また，本実験計画の倫理的内容については金沢大学大学院医学系研究科ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会にて承認を得た。(「鼻副鼻腔炎症性疾患の重症度ならびに予後判定のためのDNAチップ開発の基礎研究」第71号 平成16年2月23日承認)

#### 2. RNA抽出とcDNAの作製

保存された組織は，それぞれ20mgをRNeasy<sup>®</sup> mini kit (QIAGEN, 東京) を使用しRNAを抽出した。組織をRNA抽出液に入れ，ホモジェナイズして遠心し，上清を別のチューブに移した。その後70%エタノールを加え攪拌後，それらをカラムに乗せ遠心した。その後DNAの混入を防ぐためにRNase-free DNase Set (QIAGEN, 東京) で処理した。さらに洗浄を3回繰り返して，RNase-free waterにRNAを抽出した。

抽出されたRNAはFirst-strand cDNA Synthesis Kit (Amersham pharmacia biotech, Little Chalfont, UK) にてcDNAに逆転写した。RNA溶液を65℃，10分間で処理した後にBulk first-strand cDNA reaction mixes (Cloned, FPLCpure<sup>™</sup> murine reverse transcriptase, RNA guard<sup>™</sup> (porcine), RNase/DNase

Case ID	Age (M/F)	Sex	Cytokine mRNA			Number of infiltrated cells			
			IL-8	IL-14	TNF- $\alpha$	Eosinophil	Neutrophil	Plasma cell	Lymphocyte
1	31	M	3.11	0	1.28	3	8	21	56.7
2	58	M	0.83	0.28	0				
3	62	M	0.37	0.27	0	95	0.3	26.7	37.3
4	40	M	1.91	0.65	0.6	157.7	2.7	3.3	19.3
5	21	M	3.97	0.72	0.98				
6	31	M	3.71	0	0				
7	53	F	0.94	1.08	0	1	1	6.7	70
8	27	F	3.93	0.69	0	13	17	26	127.7
9	56	F	1.33	0	0	63.3	2.3	11	46.3
10	54	M	2.84	0	0	15.7	1	8.3	34.7
11	68	F	1.62	0	0				
12	20	M	2.48	0.44	0	1.3	32.3	4.3	16
13	55	M	1.44	0.71	0	15.7	2	4	39.7
14	46	F	0.64	0.28	0.26				
15	39	M	1.52	0.46	0.43	17.3	1.7	8.3	45.7
16	8	M	3.18	0	1.27	4.7	12.3	15.3	16.3
17	59	M	0	0.55	0.59	24.7	0	2.3	38.7
18	52	M	3.04	0.76	0	7.7	19.3	13	31
19	58	M	0.71	0.39	0	29.7	0.7	2	13.7
$\bar{X}$	44.1 (14/5)		1.98	0.38	0.28	32.1	7.2	10.9	42.4

F, female; IL, interleukin; M, male; RT-MPCR, reverse transcription-multiplex PCR; TNF, tumor necrosis factor.

Table 1. Characteristics of patients with chronic sinusitis, cytokine mRNA expression (cytokine / GAPDH ratio) in sinus mucosa or nasal polyp by RT-MPCR and number of infiltrated cells ( $\times 400$ )

Paranasal sinus	Rate of sinus shadow(%)	Median score(range)
Anterior ethmoidal sinus	36(94.7)	2(0-2)
Posterior ethmoidal sinus	33(86.8)	1(0-2)
Maxillary sinus	30(78.9)	1(0-2)
Frontal sinus	23(60.5)	1(0-2)
Sphenoidal sinus	22(57.9)	1(0-2)
Ostiomeatal complex	35(92.1)	1(0-2)
Total	38(100)	7.5(1-12)

Table 2. Rate of sinus shadow and median score (range) of sinus CT

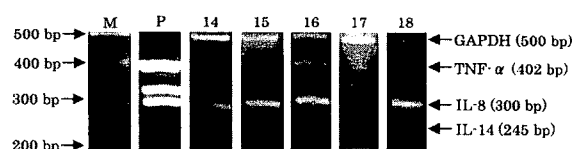


Fig. 1. RT-MPCR analysis for cytokines mRNA in sinus mucosa or nasal polyp. The lanes represent DNA marker (M), positive control from the MPCR kit (P), sinus mucosa or nasal polyp of chronic sinusitis patients (14-18).

free BSA (bovine serum albumin), dATP, dCTP, dGTP, and dTTP in aqueous buffer), DTT (1,4-Dithiothreitol) solution (200 mM aqueous solution), pd(N)<sub>6</sub> primer (Random hexadeoxynucleotides at 0.2 μg/μl) を混合し, さらに37°C, 60分間反応させた. 得られたcDNAは, -20°Cに保存された.

### 3. MPCRとPCR産物の半定量化

合成したcDNAはMPCR Kit for TH1/TH2 Cytokines Set-3 (MBI, So.San Francisco, USA), MPCR Kit for TH1/TH2 Cytokines Set-4 (MBI, So.San Francisco, USA) を用いてPCR反応を行った. 酵素はAmpliTaQ DNA Polymerase (Applied

Biosystems, 東京) を使用した. Set-3においてはグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH), インターロイキン (interleukin, IL)-4, -5, -10, -12, -13, インターフェロン (interferon, IFN)-γ, 変換成長因子 (transforming growth factor, TGF)-β, Set-4においてはGAPDH, IL-2, -5, -8, -10, -14, 腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor, TNF)-α, TGF-βの発現を調べることが可能である. サーマルサイクラーはProgram Temp Control System PC-700 (ASTEC, 福岡) を使用した. キット付属の陽性コントロールで最適な条件の確認を行い, 94°C, 2分間を1サイクル, 94°C, 1分間, 58°C, 1分間, 72°C, 1分間を35サイクル, 68°C, 7分間を1サイクルとするプロトコールに決定した. 次にエチジウムブロマイド (ethidium bromide, EtBr) 入りの1.0% アガロースゲルにて電気泳動し, トランスイルミネーター使用下に電気泳動像をCCDカメラで撮影した. PCR産物の半定量化の方法としてはNIHImageのデントメーターの機能を用い, PCR産物のEtBrの蛍光強度を測定し, これと内因性コントロールであるGAPDHのPCR産物との比を求め, それぞれのmRNA発現状態とした.

## II. CTスコアとサイトカイン遺伝子発現との相関性の検討

CTによる副鼻腔陰影の評価は1993年にLundとMackayによって提唱されたCTスコア法を用いた<sup>15)</sup>. すなわち, 術前に施行された副鼻腔CTにおいて各副鼻腔 (上顎洞, 前頭洞, 前・後篩骨洞, 蝶形骨洞) とostiomeatal complexの状態を0から2点にスコア化 (0: 正常所見, 1: 部分的陰影, 2: 完全な陰影) し, それぞれの洞や左右側毎の合計を求めた. そして上顎洞スコアと前・後篩骨洞スコアの合計値との差をもって上顎洞と篩骨洞における病変の優位性を決定し, サイトカイン発現との相関性について検討した. 統計学的検討にはSpearman順位相関係数 (Rs) の検定法を用い, P<0.05を有意であるとした.

## III. 浸潤細胞とサイトカイン遺伝子発現との相関性の検討

全19例中, 病理組織診断を行った14例について, HE染色病理標本を用い, 顕微鏡 (×400) にて任意の3視野を選び浸潤細胞数 (好中球, 好酸球, 形質細胞, リンパ球) をカウントした. そして浸潤細胞数とサイトカイン発現の相関性について検討した. 統計学的検討にはRsの検定法を用い, P<0.05を有意であるとした.

## 成 績

### I. MPCR法による鼻副鼻腔粘膜および鼻茸におけるサイトカイン遺伝子の発現

検討した19例全てで内因性コントロールのGAPDHの発現を確認した. サイトカイン遺伝子発現としてはIL-8を19例中18例(94.7%)で, IL-14を13例(68.4%)で, TNF-αを7例(36.8%)で認めた (表1). 図1にその結果の一部を示す.

サイトカイン遺伝子の発現状態は内因性コントロールであるGAPDHとの比にて半定量的に算出した (表1). その中央値 (範囲) は, IL-8は1.62 (0-3.97), IL-14は0.39 (0-1.08), TNF-αは0 (0-1.28) であった.

### II. CTスコアとサイトカイン遺伝子発現との相関性の検討

術前に施行された副鼻腔CTにおいて19例全てで両側性に陰

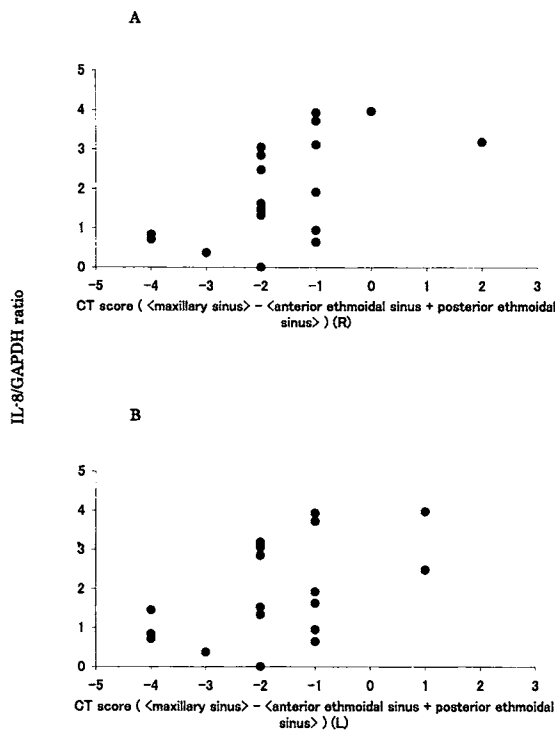


Fig. 2. Relationship between CT score (<maxillary sinus> - <anterior ethmoidal sinus + posterior ethmoidal sinus>) and levels of mRNA for IL-8 in sinus mucosa or nasal polyp. (A) right side, Rs=0.622, P=0.0083 (B) left side, Rs=0.473, P=0.0448 (n=19)

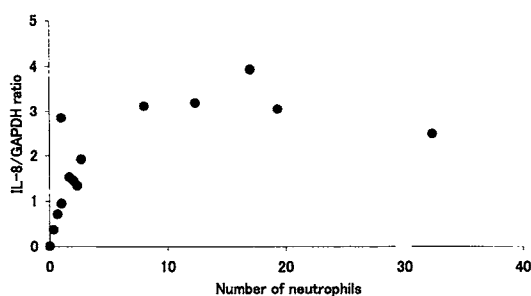


Fig. 3. Relationship between neutrophil infiltration and levels of mRNA for IL-8 in sinus mucosa or nasal polyp. Rs=0.816, P=0.0032 (n=14)

影を認めた。全19例38側において前部篩骨洞は36側(中央値2点)、後部篩骨洞は33側(中央値1点)、上顎洞は30側(中央値1点)、前頭洞は23側(中央値1点)、蝶形骨洞は22側(中央値1点)、ostiomeatal complexは35側(中央値1点)、合計は38側(中央値7.5点)で陰影を認めた(表2)。

各サイトカイン遺伝子発現とCTスコアの相関について検討した。各洞や各側の合計のスコアと各サイトカインの間の相関について検討したが認められなかった。上顎洞と篩骨洞のどちらの陰影がより高度であるかを検討するために上顎洞スコアから前・後篩骨洞スコアの合計値を引いた値と各サイトカインとの間の相関関係を検討したところ、左右ともIL-8との間に正の相関を認めた(右側:  $R_s=0.622$ ,  $P=0.0083$ , 左側:  $R_s=0.473$ ,  $P=0.0448$ ) (図2)。

### Ⅲ. 浸潤細胞とサイトカイン遺伝子発現との相関性の検討

全19例中、病理組織診断を行った14例の浸潤細胞数の中央値(範囲)は、好酸球は15.7(1-157.7)、好中球は2.2(0-32.3)、形質細胞は8.3(2-26.7)、リンパ球は38.0(13.7-127.7)であった(表1)。

各サイトカイン遺伝子発現と各浸潤細胞数の相関について検討した。IL-8と好中球数との間に正の相関を認めた( $R_s=0.816$ ,  $P=0.0032$ ) (図3)。

## 考 察

慢性副鼻腔炎においては局所において種々のサイトカインの発現が認められ、炎症反応の調節に深く関与していることが知られている。これまでの報告でも鼻副鼻腔粘膜や鼻茸、副鼻腔貯留液、鼻腔洗浄液などで検討され種々のサイトカイン発現について論じられている<sup>16)-21)</sup>。

今回、我々は鼻内視鏡手術を行った慢性副鼻腔炎患者19例について、炎症局所における種々のサイトカイン遺伝子の発現状況を調べるために複数のターゲット遺伝子を同時に増幅可能なMPCRの手法を用いて検討した。検討した19例中、IL-8を18例で、IL-14を13例で、TNF- $\alpha$ を7例で認めた。慢性副鼻腔炎患者の鼻副鼻腔粘膜や鼻茸におけるIL-8、TNF- $\alpha$ の遺伝子発現は今回の我々の結果と同様に他にも多くの報告がされている<sup>16)17)19)-21)</sup>が、あらためてこれら炎症性サイトカインが慢性副鼻腔炎の病態に深く関与していることが確認された。また、今回、IL-14の遺伝子発現を13例で認めた。IL-14は正常T細胞、急性Tリンパ性白血病細胞、B細胞リンパ腫細胞などから産生されるサイトカインで、活性化B細胞の増殖を促進する<sup>22)</sup>。他に副鼻腔炎とIL-14の関連についての報告はなく、今後の課題となった。

次に、鼻副鼻腔粘膜、鼻茸でのサイトカインの発現状況についてPCR産物を半定量的に測定し、画像所見との相関性について検討した。その結果、各サイトカイン値と各洞や合計のCTスコアとの間に相関は認められなかった。上田ら<sup>23)</sup>はELISA法にて測定した副鼻腔貯留液中のサイトカイン値と単純X線スコア(両側上顎洞、篩骨洞の陰影をそれぞれ0~3点にスコア化しその合計点で評価。)の相関性について検討しているが、IL-8、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ とX線スコアとの間に正の相関を認め、特にIL-8においては強い相関を認めたと報告している。また、Rhyooら<sup>17)</sup>は副鼻腔粘膜中のIL-8mRNA発現量とCTスコアとの間に相関を認めることを報告している。しかし我々の結

果では、各洞や合計のCTスコアと発現を認めた各サイトカイン測定値との間に明らかな相関関係は認められなかった。これは、副鼻腔粘膜、鼻茸と副鼻腔貯留液といったサイトカイン発現測定材料の違いやCTとX線といった画像診断方法やスコア化の違いなどによると推察される。

近年、好酸球性副鼻腔炎<sup>24)25)</sup>と称し、副鼻腔粘膜に著明に活性好酸球が浸潤した副鼻腔炎が増加している<sup>2)</sup>。従来の細菌感染が原因と考えられる慢性化膿性副鼻腔炎とは異なり、マクロライド系抗生物質の少量長期投与療法や手術療法に対してその治療経過が不良であることが知られている。その他、好酸球性副鼻腔炎の臨床的特徴としては、成人発症、両側の中鼻道あるいは嗅裂または双方の多発性鼻茸、粘稠性分泌物の貯留、気管支喘息やアスピリン喘息の合併、CT画像所見上、上顎洞陰影に比べ前後篩骨洞に強く陰影を呈する傾向があること、などが報告されている<sup>24)25)</sup>。

そこで、上顎洞と前後篩骨洞における病変の優位性を検討するために上顎洞スコアから前後篩骨洞スコアの合計値を引いた値と発現を認めた各サイトカイン測定値との間の相関関係を検討したところ、左右とも上顎洞スコア>-<前・後篩骨洞スコアの合計値>とIL-8の間に正の相関を認めた。また、発現を認めた各サイトカインの半定量的測定値と鼻副鼻腔粘膜、鼻茸における浸潤細胞数の相関について検討したがIL-8と好中球数との間に正の相関を認めた。以上の結果より、IL-8は慢性副鼻腔炎症例の副鼻腔粘膜、鼻茸において好中球の集積に関与しており、また、好中球浸潤を特徴とする従来型の慢性化膿性副鼻腔炎はCT所見上、篩骨洞病変よりも上顎洞病変が優位であり、近年問題視されている好酸球性副鼻腔炎が篩骨洞病変が優位であることとの差が予想された。

正常者の副鼻腔粘膜や粘液中には炎症細胞がほとんど認められないのに対し慢性副鼻腔炎患者には多数の好中球が出現する<sup>11)26)</sup>。炎症細胞が粘膜下組織の微小血管から遊走して炎症局所に集積する過程は血管内皮細胞表面に発現する種々の細胞接着分子によって制御され、好中球の場合にはE-セレクトリンや細胞間接着分子(intercellular adhesion molecule, ICAM)-1が関与することが知られている<sup>27)</sup>。実際にE-セレクトリンとICAM-1は慢性副鼻腔炎の副鼻腔粘膜に発現し<sup>28)-30)</sup>、血管内皮細胞表面にこれらの接着分子を発現させる因子としてIL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ が報告されている<sup>31)32)</sup>。IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ は感染などの刺激により上皮、単球、マクロファージなどから産生され、これらの刺激により、上記の如く血管内皮細胞の接着分子の発現や、浸潤細胞、上皮などからのIL-8産生を誘導すると考えられている<sup>12)23)</sup>。

IL-8は強い好中球遊走作用や好中球活性化作用を有し<sup>33)34)</sup>、持続的な好中球浸潤を伴う慢性炎症の病態形成において重要な役割をなしている<sup>19)</sup>。その主な産生細胞は粘膜上皮細胞、鼻腺細胞、浸潤多核白血球であり<sup>11)35)</sup>、産生されたIL-8により好中球遊走→好中球からのIL-8分泌→好中球のさらなる集積、というpositive feedback機構の存在が考えられる<sup>36)</sup>。そして、血管外へ遊走し集積してきた好中球は蛋白分解酵素や活性酸素を産生し、これにより上皮細胞の繊毛輸送機能が障害され慢性炎症の病態が形成されると考えられている。

今回、我々が行った慢性副鼻腔炎患者の鼻副鼻腔粘膜あるいは鼻茸における種々のサイトカイン遺伝子の発現の検討では、臨床的に明らかな好酸球性副鼻腔炎症例は含まれておらず、これらに特徴的なサイトカイン発現をプロファイルするには到ら

なかったが、上顎洞優位タイプの症例ではIL-8, TNF- $\alpha$ の発現を認め、好中球浸潤を中心とした従来型の慢性副鼻腔炎の成立におけるIL-8やTNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインの関与を示唆する結果が得られた。今後は副鼻腔炎の重症者判別には例えばDNAチップのようなより多数の遺伝子発現のプロファイリングが必要と考えられる。また、今回の実験ではPCR産物の評価をNIHimageを用いて半定量的に行なったが、今後はReal time PCRなどでより正確な定量が望ましいと考えられる。

## 結 論

手術時に慢性副鼻腔炎患者から得られた鼻副鼻腔粘膜、鼻茸におけるサイトカイン遺伝子発現状況をRT-MPCR (reverse transcription-multiplex PCR) 法を用いて調べた。そして、得られたPCR産物の半定量化を行いCTスコアやHE染色病理標本における浸潤細胞数との相関性について検討を行い以下の結果を得た。

1. 全19例中、IL-8を18例、TNF- $\alpha$ を7例、IL-14を13例で遺伝子発現を認めた。
2. 上顎洞スコアから前・後篩骨洞スコアの合計値を引いた値とIL-8値の間に正の相関関係を認めた。
3. 鼻副鼻腔組織中の好中球数とIL-8値の間に正の相関関係を認めた。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました金沢大学大学院医学系研究科脳医学専攻感覚運動病態学古川仰教授に深甚なる謝意を表します。また、御指導と御校閲を頂きました吉崎智一講師に深く感謝致します。更に、直接の御指導と御教示を頂きました西村俊郎先生に心より感謝致します。最後に本研究に御協力を頂きました同講座の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Radenne F, Lamblin C, Vandezande LM, Tillie-Leblond I, Darras J, Tonnel AB, Wallaert B. Quality of life in nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 104: 79-84, 1999
- 2) 竹野幸夫, 夜陣絃治. 副鼻腔炎の病態の変遷. *JOHNS22*: 5-9, 2006
- 3) 川掘眞一, 植原元晴, 東松琢朗, 本間 裕, 渡邊昭仁, 原測保明. 鼻茸の浸潤細胞—時代の変化とカナダの症例との比較—. *耳鼻免疫アレルギー* 18: 18-23, 2000
- 4) 川掘眞一. 鼻茸と浸潤細胞. *JOHNS20*: 1765-1770, 2004
- 5) 山下公一. ESSの歴史. *JOHNS16(1)*: 5-13, 2000
- 6) 間島雄一. 副鼻腔炎の治療の変遷. *JOHNS22*: 11-14, 2006
- 7) Stammberger H. Endoscopic surgery for mycotic and chronic recurring sinusitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 94(Supple 119): 1-11, 1985
- 8) Kennedy DW, Zinreich SJ, Rosenbaum AE, Johns ME. Functional endoscopic sinus surgery ; Theory and diagnostic evaluation. *Arch Otolaryngol* 111: 576-582, 1985
- 9) 深澤啓二郎, 阪上雅史. 慢性副鼻腔炎の治療戦略—手術的治療—. *JOHNS22*: 27-31, 2006
- 10) 羽柴基之, 洲崎春海, 古田 茂, 柳 清, 大山 勝, 馬

場駿吉. 慢性副鼻腔炎に対するマクロライド療法のガイドライン (試案). *The Japanese Journal of Antibiotics* 51(supple): 86-89, 1997

- 11) Suzuki H, Takahashi Y, Wataya H, Ikeda K, Nakabayashi S, Shimomura A, Takasaka T. Mechanism of neutrophil recruitment induced by IL-8 in chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 98: 659-670, 1996
- 12) 鈴木秀明, 池田勝久, 高坂知節. 耳鼻咽喉科疾患への免疫学的アプローチ. 図説耳鼻咽喉科 NEW APPROACH 4 副鼻腔炎とサイトカインネットワーク (神崎 仁, 茂木五郎編), 第1版, 98-104頁, メディカルビュー社, 東京, 1996
- 13) 間島雄一. 鼻茸研究の動向. *JOHNS20*: 1749-1752, 2004
- 14) 野中 学, 鼻茸と好酸球. *JOHNS20*: 1771-1775, 2004
- 15) Lund VJ, Mackay IS. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology* 31: 183-184, 1993
- 16) 更級則夫, 岡本美孝, 伊藤永子, 松崎全成, 戸川 清. 慢性副鼻腔炎の免疫学的研究—サイトカインの発現と病態への関与—. *耳展* 38 (補冊3): 274-284, 1995
- 17) Rhyoo C, Sanders SP, Leopold DA, Proud D. Sinus mucosal IL-8 gene expression in chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 103: 395-400, 1999
- 18) 山田武千代, 藤枝重治, 森 繁人, 山田満美, 福岡陽子, 小嶋章弘, 斎藤 等. 慢性鼻副鼻腔炎・鼻茸患者におけるマクロライド療法を中心とした保存療法の効果に影響を与える因子について. *耳鼻免疫アレルギー* 18: 24-28, 2000
- 19) Takeuchi K, Yuta A, Sakakura Y. Interleukin-8 gene expression in chronic sinusitis. *Am J Otolaryngol* 16: 98-102, 1995
- 20) Min YG, Lee CH, Rhee CS, Hong SK, Kwon SH. Increased expression of IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-8, and TGF- $\beta$  mRNAs in maxillary mucosa of patients with chronic sinusitis. *Am J Rhinol* 13: 339-343, 1999
- 21) Chen YS, Arab SF, Westhofen M, Lorenzen J. Expression of interleukin-5, interleukin-8, and interleukin-10 mRNA in the osteomeatal complex in nasal polyposis. *Am J Rhinol* 19: 117-123, 2005
- 22) 前田隆浩, 中里未央. インターロイキン-11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 (IL-11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18). *日本臨床* 63 (増刊8): 79-82, 2005
- 23) 上田 勉, 竹野幸夫, 川本浩子, 古城門恭介, 平川勝洋, 夜陣絃治. YAMIKカテーテルを用いた副鼻腔貯留液の解析—鼻アレルギー合併の有無による比較検討—. *耳展* 44 (2): 88-96, 2001
- 24) 春名眞一, 鴻 信義, 柳 清, 森山 寛. 好酸球性副鼻腔炎 (Eosinophilic Sinusitis). *耳展* 44 (3): 195-201, 2001
- 25) 森山 寛. 好酸球性副鼻腔炎. *日本耳鼻咽喉科専門医通信* 70: 8-9, 2002
- 26) Demoly P, Crampette L, Mondain M, Campbell AM, Lequeux N, Enander I, Schwartz LB, Guerrier B, Michel FB, Bousquet J. Assessment of inflammation in noninfectious chronic maxillary sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 94: 95-108, 1994
- 27) Bently AM, Durham SR, Robinson DS, Menz G, Storz C, Cromwell O, Kay AB, Wardlaw AJ. Expression of endothelial and leukocyte adhesion molecules intercellular

adhesion molecule-1, E-selectin, and vascular cell adhesion molecule-1 in the bronchial mucosa in steady-state and allergen-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 92: 857-868, 1993

28) Lund VJ, Henderson B, Song Y. Involvement of cytokines and vascular adhesion receptors in the pathology of fronto-ethmoidal mucocoeles. *Acta Otolaryngol* 113: 540-546, 1993

29) Tokushige E, Itoh K, Ushikai M, Katahira S, Fukuda K. Localization of IL-1  $\beta$  mRNA and cell adhesion molecules in the maxillary sinus mucosa of patients with chronic sinusitis. *Laryngoscope* 104: 1245-1250, 1994

30) Shimomura A, Ikeda K, Suzuki H, Nakabayashi S, Oshima T, Furukawa M, Takasaka T, Ando N, Ohtani H, Nagura H. Expression of adhesion molecules in nonallergic chronic sinusitis. *Laryngoscope* 107: 1519-1524, 1997

31) Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA, Seed B. Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. *Science* 243: 1160-1165, 1989

32) Bochner BS, Luscinskas FW, Gimbrone MA, Newman

W, Sterbinsky SA, Derse-Anthony CP, Klunk D, Schleimer RP. Adhesion of human basophils, eosinophils, and neutrophils to interleukin 1-activated human vascular endothelial cells: contributions of endothelial cell adhesion molecules. *J Exp Med* 173: 1553-1557, 1991

33) Mukaida N, Shiroo M, Matsushima K. Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8. *J Immunol* 143: 1366-1371, 1989

34) Yuo A, Kitagawa S, Kasahara T, Matsushima K, Saito M, Takaku F. Stimulation and priming of human neutrophils by interleukin-8: cooperation with tumor necrosis factor and colony-stimulating factors. *Blood* 78: 2708-2714, 1991

35) Fujita K, Shimizu T, Majima Y, Sakakura Y. Effects of macrolides on interleukin-8 secretion from human nasal epithelial cells. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 257: 199-204, 2000

36) Suzuki H, Ikeda K. Mode of action of long-term low-dose macrolide therapy for chronic sinusitis in the light of neutrophil recruitment. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 1: 117-126, 2002

**Expression of cytokine in patients with chronic sinusitis** Kazuhiro Yamada, Department of Otorhinolaryngology, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640— *J. Juzen Med. Soc.*, **115**, 120—125 (2006)

**Key words** chronic sinusitis, neutrophil, interleukin-8, multiplex polymerase chain reaction, computed tomography

#### Abstract

Chronic sinusitis is a common disease. It often affects nasal congestion, nasal discharge and olfactory disturbance, and thus, impairs quality of life. Pathogenesis of chronic sinusitis is considered to be composed of bacterial infection, allergic reaction, anatomical variations, and immune response. In this study, we focused on expression of cytokines in sinus mucosa and nasal polyp in patients with chronic sinusitis. Profile of cytokine expression was studied on 19 chronic sinusitis patients using a reverse transcription-multiplex PCR (RT-MPCR). Relationship of cytokine mRNA expression with severity of chronic sinusitis, was evaluated with CT score and microscopic inflammatory cell infiltration. Interleukin (IL) -8 (18/19), IL-14 (13/19) and tumor necrosis factor (TNF) - $\alpha$  (7/19) mRNAs were detected in sinus mucosa or nasal polyp of patients with chronic sinusitis. IL-8 mRNA expression, assessed by RT-MPCR, was significantly correlated with CT score ( <maxillary sinus> - <anterior ethmoidal sinus + posterior ethmoidal sinus> ) and with neutrophil infiltration in sinus mucosa or nasal polyp. Study on CT score revealed that maxillary sinus was more affected than ethmoidal sinus in these patients with inflammatory cytokine expression. These results suggest that IL-8 and TNF- $\alpha$  are expressed as a representative inflammatory cytokine in the sinus mucosa or nasal polyp from patients with chronic sinusitis and play an important role for causing infectious inflammation accompanying with neutrophil infiltration.