

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	竹本 浩太
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
Nitric oxide synthase-2 (CCTTT)n polymorphism is associated with local gene expression and clinical manifestations in patients with chronic rhinosinusitis (誘導型一酸化窒素合成酵素の(CCTTT)n 多型は慢性副鼻腔炎患者の局所遺伝子発現と臨床症状に関連している)			
論文審査担当者			
主査	教授	武島 幸男	印
審査委員	教授	川上 秀史	
審査委員	講師	岩本 博志	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>一酸化窒素 (NO) は、好酸球性気道炎症の重要なバイオマーカーである。鼻副鼻腔では NO が産生されており、免疫応答に関与していることが知られている。NO には、殺菌活性や粘液線毛クリアランスの調節などの有益な作用がある一方、濃度が高くなると、敗血症性ショックなどの毒性作用を引き起こす可能性があると言われている。したがって、NO 産生の調節は、その生理学的機能を維持し、有害な影響を制御するために重要である。さらに、NO 産生を調節する因子は、好酸球性気道炎症のバイオマーカーとして役立つ可能性がある。NO の基質である L-アルギニンに NO 合成酵素 (NOS) が作用することによって NO は合成される。NOS には NOS1、NOS2、NOS3 の 3 つのアイソフォームがあり、特に NOS2 は細胞内に常に存在するわけではなく、炎症性サイトカインや細菌のリポ多糖によって細胞が刺激された場合にのみ発現する。NOS2 のプロモーター領域には、マイクロサテライトである CCTTT の反復配列が含まれており、そのリピート回数には遺伝子多型が存在すると言われている。この CCTTT リピート回数が増加するにつれて、NOS2 転写活性が増加することが報告されており、慢性鼻副鼻腔炎、とくに好酸球性副鼻腔炎 (ECRS) のさまざまな臨床的特徴に影響を与える可能性がある。過去に、喘息患者において NOS2 による NO 産生は CCTTT リピート回数に依存するという報告があったように、慢性副鼻腔炎でも類似した結果となると仮定し、CCTTT リピート回数が副鼻腔組織の NOS2 発現および臨床症状に関連しているか検討した。</p> <p>2016 年 10 月から 2019 年 8 月の間に広島大学病院で内視鏡下鼻副鼻腔手術を受けた 30 人の ECRS 患者と 28 人の non-ECRS 患者 (男性 31 人と女性 27 人) を対象とした。ECRS は、JESREC スコアに基づいて診断した。すべての患者は手術前に、少量マクロライド療法を含む保存的加療が行われていた。NOS2 のプロモーター領域の CCTTT リピート遺伝子多型を特定するために、すべての患者から末梢血を採取した。対象患者の血液からゲノム DNA を抽出し PCR を行い、Peak Scanner (Applied Biosystems) を用いて対立遺伝子サイズを計算し CCTTT リピート回数を同定した。また、リピート回数が 14 以下の短い対立遺伝子 (S) と 15 以上の長い対立遺伝子 (L) に分け、被験者を L/S + L/L と S/S グループに分類した。粘膜標本を、手術時に篩骨洞、下鼻甲介、および鼻腔ポリープから採取し、RT-PCR を使用して NOS2 の mRNA レベルを測定した。術後再発は、1 か月以上続く鼻腔ポリープもしくは鼻症状と定義し、ECRS 患者の L/S + L/L と S/S グループを比較した。</p> <p>CCTTT リピート回数は 9 から 21 の範囲にあり、遺伝子型 S/S、L/S、L/L の患者数はそれぞれ 35、17、6 であった。副鼻腔炎患者の QOL を測定する質問票である SNOT-22 スコアは、ECRS 患者において S/S グループよりも L/S + L/L グループで有意に高値であった ($p = 0.038$)。ECRS 患者では、鼻腔ポリープと篩骨洞粘膜の</p>			

NOS2 mRNA レベルは、L/S + L/L グループが S/S グループよりも有意に高値であった（中央値はそれぞれ 1.66、0.77）（ $p = 0.044$ ）。一方、non-ECRS 患者においては、鼻腔ポリープと篩骨洞粘膜の NOS2 mRNA レベルは L/S + L/L グループと S/S グループの間で有意差はなかった（ $p = 0.898$ ）。ECRS 患者において術後の再発症例数は、L/S + L/L グループで 12 例中 5 例、S/S グループで 18 例中 11 例であった。L/S + L/L グループと S/S グループの間で術後再発に統計学的有意差はなかった（ $p = 0.135$ ）が、L/S + L/L グループでは術後再発の割合が低い傾向があった。

CCTTT リピート遺伝子多型は、関節リウマチ、心房細動、HIV、喘息、アトピーなどのさまざまな疾患との関連が指摘されている。とくに ECRS は、喘息を合併しやすく、鼻腔ポリープに好酸球浸潤を伴う難治性副鼻腔炎であり、喘息と同様に CCTTT リピート回数が影響を与えうる。CCTTT リピート回数の分布パターンは右に偏っており、(CCTTT) 10、(CCTTT) 11、および (CCTTT) 12 の 3 つが最も一般的な対立遺伝子であった。これは、各国で以前実施された研究と同様のパターンであった。また、より長い CCTTT リピート回数を有する ECRS 患者は、篩骨洞粘膜および鼻腔ポリープにおいて NOS2 mRNA のより高い発現を有することを示した。この結果は、副鼻腔における好酸球性炎症の活動性の指標として NO を使用する場合、NOS2 の鼻内局所発現に影響を与えるであろう CCTTT リピート遺伝子多型の違いを考慮する必要があることを示している。下鼻甲介において NOS2 発現に有意差を認めなかったことは、篩骨洞との解剖学的・生理学的相違によるものと考えられる。Pascual らは、鼻腔ポリープは CCTTT リピート回数の増加と関連することも指摘している。また、L/S + L/L グループでは、術前 SNOT-22 スコアが高値であり、反対に術後再発の割合が低かったという本研究の結果は、CCTTT リピート遺伝子多型が ECRS の術前の臨床症状と術後再発を予測する因子として実臨床で利用できる可能性を示唆していると同時に、慢性副鼻腔炎の難治例といえる ECRS の genotyping を解析するうえで有用な指標の一つとして活用可能と考えられる。今後は、IL-13 などの NOS2 に影響を与える炎症性サイトカインと CCTTT リピート回数との関連についてもさらなる研究が望まれる。

以上の結果から、本論文は、NOS2 のマイクロサテライトである CCTTT リピート遺伝子多型は慢性副鼻腔炎患者の局所遺伝子発現と臨床症状に関連していることを示した。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値のあるものと認めた。