アイピーディ®の鼻茸中好酸球浸潤抑制

清水 啓成・高橋 明洋・小口 直彦・石戸谷淳一

Effects of Suplatast Tosilate (IPD®) on Allergic Sinusitis

Hironari Shimizu, Akihiro Takahashi, Naohiko Oguchi and Jun-ichi Ishitoya

(International Medical Center of Japan)

Chronic paranasal sinusitis encompasses a variety of pathologies, and eosinophil infiltration of nasal polyps is characteristic of chronic sinusitis in which allergy is a strong etiologic factor (allergic paranasal sinusitis). Suplatast tosilate is an anti-allergy agent that suppresses production of IgE antibody and inhibits tissue infiltration by eosinophils. In the present study we assessed the efficacy of suplatast tosilate immunohistochemically in surgical specimens of nasal polyps before and after drug therapy to evaluate its efficacy in allergic sinusitis.

The subjects were 8 patients with allergic sinusitis associated with nasal polyps. These patients were treated with suplatast tosilate for about three months. Nasal polyps were collected before and after treatment, and 5- μ m frozen serial sections were prepared and stained with HE and by immunochemical methods. The number of eosinophils and eosinophil activation were assessed by using EG2 antibody, which recognizes secretory type eosinophilic cationic protein (ECP) alone, as the primary antibody, to investigate eosinophil activation.

Infiltration by numerous eosinophils, predominantly in the superficial layer of the lamina propria, was observed in the nasal polyps of allergic rhinitis patients. Significant decreases in the number of eosinophils and the number of EG2-positive cells were observed in the nasal polyps after treatment with suplatast tosilate, and a significant decrease was also observed in the ratio of the number of EG2-positive cells to the number of eosinophils. Thus, suplatast tosilate was shown to have eosinophil tissue infiltration suppressing activity in human nasal polyps, and to also possess inhibitory activity against eosinophil degranulation. Based on these findings, suplatast tosilate suppresses allergic inflammation, which is predominantly manifested by eosinophil infiltration, and was found to be effective in the treatment of allergic paranasal sinusitis.

Key words : suplatast tosilate, allergic paranasal sinusitis, eosinophils, nasal polyps, EG2

はじめに

近年のアレルギー性鼻炎の増加に伴い、鼻アレルギーと慢性副鼻腔炎との関連が注目されている¹⁾。また、マクロライド系抗生物質の少量長期投与(マクロライド療法)や内視鏡手術の進歩により、慢性副鼻腔炎の治癒率は向上してきている。しかし一方では、マクロライド療法の効果が十分に得られない症例にもしばしば遭遇する。

このような症例は、アレルギー性鼻炎や喘息に合併する慢性副鼻腔炎に多く認める²⁾。慢性副鼻腔炎には、種々の病態の存在が示唆されており^{3,4)}、アレルギー要因の有無は重要である。そして、副鼻腔粘膜に浸潤した好酸球は組織障害作用を有し、鼻茸形成に関与するとされている⁵⁾。

トシル酸スプラタスト(アイピーディ®)は肥満細胞か

らのケミカルメディエーター遊離抑制, IgE 抗体産生の抑制, および好酸球の組織浸潤を抑制することが報告されている⁶⁾⁷⁾. これらの作用は, ヘルパー T 細胞からの IL-4 および IL-5 の産生を抑制することと推測されている⁸⁾.

今回我々は, 好酸球の組織浸潤抑制作用を持つトシル酸スプラタストを, アレルギー性鼻炎を有する鼻茸を伴った慢性副鼻腔炎症例(アレルギー性副鼻腔炎)に投与した. そして, 投与前後における臨床症状の変化を調べ, その投与前後の鼻茸切除標本を用いて, 好酸球浸潤の変化を免疫組織化学的に検討した.

対象と方法

(1) 対 象

1996年1月から1997年3月までに, 国立国際医療センター耳鼻咽喉科にて治療した鼻茸を有するアレルギー性副鼻腔炎症例 8 例を対象とした. 男性 4 例, 女性 4 例, 年齢は男性が20歳から63歳, 女性が26歳から63歳であった. 対象のアレルギー性副鼻腔炎患者は, 鼻茸を有し, X線にて副鼻腔陰影を認め, かつ通年性のアレルギー性鼻炎を認めるものとした⁹⁾. この通年性アレルギー性鼻炎の診断には鼻汁中に好酸球を認め, RAST によりダニまたはハウスダストの抗原が同定できたものとした. 膿性鼻汁など急性感染症を疑う症例とアスピリン喘息症例は除外した.

(2) トシル酸スプラタストの臨床効果

トシル酸スプラタスト(100 mg カプセル)を1日3回3カ月間以上投与した. なお, 投与中は他の経口薬および点鼻薬の併用はせず, トシル酸スプラタスト単独投与とした. 臨床症状の変化については, トシル酸スプラタスト投与前後に表1の基準¹⁰⁾で評価した.

(3) トシル酸スプラタスト投与前後の鼻茸の組織学的検討

トシル酸スプラタスト投与前の鼻茸切除は初診の時点, あるいは少なくとも2週間以上アレルギー性鼻炎に対して投薬および点鼻薬等治療を行っていない時点で行った. 3カ月間投与後に鼻茸を同一部位より再度切除した. 採取した鼻茸はただちに OCT コンパウンドで包埋し, -80°C に凍結保存した. 凍結標本から $5\mu\text{m}$ の連続切片を作製し, それぞれをヘマトキシリン・エオジン染色, 免疫組織化学染色に使用した. 免疫組織化学染色は, アセトン固定後 Vectastain ABC キットを用いて行った.

表1 自覚症状, 他覚所見の評価項目と効果判定基準¹⁰⁾

自覚症状の評価				
点数	鼻漏	鼻閉	くしゃみ	後鼻漏
3	10回以上	不通	10回以上	常にある
2	9~5回	よくつまる	9~5回	よくある
1	4回以下	時々つまる	4回以下	時々ある
0	0	なし	0	なし

他覚所見の評価

点数	鼻汁量	鼻汁性状	鼻粘膜腫脹	鼻茸の大きさ
3	充满	膿性	高度	総鼻道に及ぶ
2	3と2の間	粘性	中等度	中鼻道に限局
1	付着程度	水性	軽度	中鼻道狭窄
0	なし	なし	なし	なし

効果判定基準

1. 著明改善: 点数が0になった場合 (3→0 2→0 1→0)
2. 改 善: 点数が2段階軽減しても0にならなかった場合 (3→1)
3. やや改善: 点数が1段階軽減しても0にならなかった場合 (3→2 2→1)
4. 不 変: 点数が変化しなかった場合
5. 悪 化: 点数が増加した場合

一次抗体は, 好酸球の活性化状態を調べるために, 分泌型 eosinophilic cationic protein (ECP) のみを認識する EG2 抗体 (Pharmacia, 1 : 1000) を用い, 4°C で一晩反応させた. アルカリフォスファターゼ基質にて発色させ, ヘマトキシリンにて核染色を行い AQUATEX (SHANDON) にて封入し, 光学顕微鏡下に観察した.

炎症性細胞が多数分布する 5 カ所を400倍の視野で, 好酸球数と EG2 陽性細胞数を計測し, その総数を投与前後で比較した. 更に, 鼻茸の連続切片の全視野においての全好酸球数と全 EG2 陽性細胞数を計測し, “EG2 陽性細胞数/好酸球数” を算出して投与前後において比較した.

(4) トシル酸スプラタスト投与前後における末梢血液中の好酸球数(%)の変化

トシル酸スプラタスト投与前後に静脈採血を行い比較した.

なお, 鼻茸切除については事前に患者に十分説明を行い承諾を得たあとに施行した. また, 統計的分析は t 検定にて行い, 計測値は平均±標準誤差で表わした.

結 果

(1) 臨床症状の変化

トシル酸スプラタストの平均投与期間は 109.8 ± 45.3 日であった。投与後鼻茸採取時の自覚症状、他覚所見の改善を表2に示す。自覚症状に対するトシル酸スプラタストの効果では、鼻漏の改善(やや改善以上、以下同様)が75.0%(8例中6例、以下同様)に認められた。他覚所見では鼻汁量の改善が75.0%、鼻汁性状の改善が62.5%、鼻粘膜腫脹の改善が50.0%に認められた。

(2) 鼻茸中の好酸球数およびEG2陽性細胞数の変化、EG2陽性細胞数/好酸球数の比の変化(400倍5視野での総細胞数)

トシル酸スプラタスト投与前後の好酸球数およびEG2陽性細胞数の変化を図1, 2に示した。投与前の好酸球数は 102.8 ± 40.9 個, EG2陽性細胞数 46.9 ± 20.4 個であった。投与後の好酸球数は 66.1 ± 42.9 個, EG2陽性細胞数は 22.0 ± 14.8 個であった。投与前後において好酸球数およびEG2陽性細胞数とも有意な減少を認めた(好酸球: $p < 0.05$, EG2: $p < 0.01$)。

更に、EG2陽性細胞数/好酸球数の比を投与前後において算出すると、その比も有意に減少していた($p < 0.05$) (図3)。

(3) 鼻茸中のEG2陽性細胞数/好酸球数の比の変化(全視野での総細胞数の比)

全視野におけるトシル酸スプラタスト投与前後のEG2

表2 自覚症状、他覚所見の項目別改善度

自覚症状の改善度					
	著明改善	改善	やや改善	不変	悪化
鼻漏	2	1	3	2	0
鼻閉	1	1	2	4	0
くしゃみ	0	0	1	2	0
後鼻漏	4	0	0	3	0

他覚所見の改善度

	著明改善	改善	やや改善	不変	悪化
鼻汁量	2	1	3	2	0
鼻汁性状	1	0	4	3	0
鼻粘膜腫脹	0	0	4	4	0
鼻茸の大きさ	0	0	2	6	0

図1 トシル酸スプラタスト投与前後における鼻茸中の好酸球数の変化(400倍5視野での総細胞数)

図2 トシル酸スプラタスト投与前後における鼻茸中のEG2陽性細胞数の変化(400倍5視野での総細胞数)

陽性細胞数/好酸球数の変化を図4に示した。全視野においてもEG2陽性細胞数/好酸球数の比は投与前後において有意な減少を認めた($p < 0.05$)。

(4) 末梢血液中好酸球数(%)の変化

末梢血液中好酸球数の変化を図5に示す。投与前後において好酸球数の変化に有意な減少は認めなかった。

なお、全症例においてトシル酸スプラタストの投与により、副作用の出現、臨床検査値における異常は認めな

図3 トシル酸スプラタスト投与前後における鼻茸中のEG2陽性細胞数/好酸球数の変化(400倍5視野での総細胞数)

図5 トシル酸スプラタスト投与前後における末梢血液中好酸球数(%)の変化

図4 トシル酸スプラタスト投与前後における鼻茸中のEG2陽性細胞数/好酸球数の変化(全視野での総細胞数の比)

かった。

考 察

慢性副鼻腔炎の成因, 病態は複雑であり, 種々の病態による慢性副鼻腔炎の存在が示唆されている³⁾⁴⁾。これらの要因の1つとしてアレルギー要因の有無が重要である。

アレルギー性鼻炎が存在し, 発症にアレルギーの関与

が考えられる慢性副鼻腔炎はアレルギー性副鼻腔炎とされ, 従来の慢性化膿性副鼻腔炎(非アレルギー性副鼻腔炎)とは炎症病態が異なると考えられている⁹⁾。また, 慢性副鼻腔炎が下気道病変を合併することが知られているが¹¹⁾, 気管支喘息に合併する慢性副鼻腔炎と副鼻腔気管支症候群の慢性副鼻腔炎では, その慢性副鼻腔炎の臨床像も異なり, 前者はアレルギー性副鼻腔炎, 後者は非アレルギー性副鼻腔炎の範ちゅうに入る¹²⁾。

慢性副鼻腔炎の治療は, マクロライド療法と内視鏡下鼻内手術の進歩により, ここ数年著しく向上している。しかし, 慢性副鼻腔炎に対するマクロライド療法の治療経験が増加するに伴い, マクロライド療法によく反応する症例とあまり反応しない症例があることが明らかになってきた。すなわち, アレルギー性副鼻腔炎では非アレルギー性副鼻腔炎に比べマクロライド療法の治療成績が劣るという知見が得られている²⁾。アレルギー性副鼻腔炎の組織学的特徴には, 鼻茸や副鼻腔粘膜への著明な好酸球浸潤がある。そして, これらの好酸球には活性化型好酸球の指標であるEG2陽性細胞が多数認められている。また好酸球は, その組織障害作用によって鼻茸形成に関与するとされている⁵⁾。

トシル酸スプラタストはマウスやヒトのヘルパーT細胞からのIL4(インターロイキン4), IL5産生抑制作用(*in vitro*), ヘルパーT細胞からのクラス特異的IgE抗体産生抑制作用(*in vitro*), マウスでの好酸球浸潤抑制作

用 (*in vivo*), ならびにラット肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用 (*in vitro*) を有することが報告されている⁶⁾⁷⁾¹³⁾¹⁴⁾。しかし, これらはいずれも *in vitro* や動物実験での検討であり, 臨床例ではいまだ検討されていない。今回我々は, アレルギー性副鼻腔炎患者を対象にトシル酸スプラタストの臨床効果, および鼻茸における好酸球の動態を組織レベルで検討した。

トシル酸スプラタストは抗アレルギー剤として確立された薬剤であるが, アレルギー性副鼻腔炎の臨床症状においても鼻漏等アレルギー鼻炎様症状に対し有効であった。

トシル酸スプラタストの投与前後における鼻茸中の好酸球数および EG2 陽性細胞数の変化では, 双方とも有意に減少しており, 好酸球数と EG2 陽性細胞数の比においても有意な減少を認めた。これより, 動物実験のように断定はできないが, ヒト鼻茸においても好酸球の組織浸潤抑制作用があることは十分に考えられた。そして, その EG2 陽性細胞数/好酸球数の比においても有意な減少が認められたことから, 好酸球の活性化抑制の効果が示された。そこで, 更にその結果を確かめるため, 投与前後の連続切片で, その全視野での全好酸球数と全 EG2 陽性細胞数の比を計測してみた。すると, その全視野における EG2 陽性細胞数/好酸球数の比においても有意な減少を認めた。これよりトシル酸スプラタストは, 好酸球の活性化を抑制する作用を持ち, 活性型好酸球の組織浸潤を抑制するということが示唆された。

Pipkorn ら¹⁵⁾ は粘膜中の好酸球数とアレルギー症状との間に相関関係があるとし, Svensson ら¹⁶⁾ も鼻汁中 ECP 濃度とアレルギー症状との間に関連があることを報告している。また, 寺田ら¹⁷⁾ は鼻腔抵抗変化率と活性型好酸球数は有意に相関し, 遅発相を認める症例では, 認めない群と比較し活性型好酸球数および ECP 量の増加傾向を認めることを示した。今回の我々の検討でも, トシル酸スプラタストの投与による EG2 陽性細胞数の減少が臨床症状の改善に寄与していた可能性が考えられた。

末梢血好酸球数(%)の変化では, 投与前後において有意な減少は認めなかった。トシル酸スプラタストの臨床投与試験における末梢血好酸球数の変動では, アレルギー性鼻炎では有意な変動は認めていないが, 投与前の好酸球数が異常値とされる 400 mm^3 を越える症例の検討では, 投与後の有意な減少を認めている¹⁸⁾。今回の我

々の検討では, 投与前に異常値を認めた症例が少なかったが, 個々の症例についてみると鼻茸中への好酸球組織浸潤の程度が強いものが必ずしも末梢血好酸球数(%)に正常値よりも多い値を認めるわけではなかった。これは, アレルギー性副鼻腔炎における好酸球動員には炎症局所の要因が大きいためと考えられた。

最近種々のサイトカイン (特に GM-CSF, IL3, IL5) が好酸球の分化, 増殖, 機能を調節することが明らかとなっている¹⁹⁾。特に IL5 は, 好酸球の選択的な分化誘導因子であるばかりでなく, 成熟好酸球に対しても細胞表面上の受容体を介して, 低比重化や細胞障害性, 遊走活性の増強作用を生じ, 好酸球を活性化すると報告されている^{20)~22)}。鼻茸の成因については十分解明されていないが, 鼻粘膜に対する何らかの組織障害作用が原因となっていることは確かであろう。Hamilos ら²³⁾ は, 気管支喘息に合併する鼻茸において, EG2 陽性細胞数と GM-CSF や IL3 の産生量が相関し, IL5 も非アレルギー性の鼻茸よりも高値であることを報告している。このようなサイトカインネットワークの活性化が, アレルギー性副鼻腔炎でも存在し, 活性化された好酸球から放出された major basic protein (MBP) 等の顆粒蛋白が細胞, 組織障害を引き起こして鼻粘膜の浮腫性変化や鼻茸を生じるプロセスが想定される。

慢性副鼻腔炎の治療には好酸球を中心とした炎症細胞の浸潤とサイトカインネットワークに注目し, 考慮していく必要がある。今回, 抗アレルギー剤のトシル酸スプラタストが, アレルギー性副鼻腔炎の鼻茸において好酸球の活性化を抑制することが示された。これよりトシル酸スプラタストは, 好酸球浸潤を主体とするアレルギー炎症を抑制することが考えられた。今後は更に, 非アレルギー性副鼻腔炎についてもトシル酸スプラタストの効果を検討していく必要がある。

まとめ

トシル酸スプラタストを鼻茸を有するアレルギー性副鼻腔炎患者に投与し, その投与前後における臨床症状の変化および鼻茸中の好酸球数と EG2 陽性細胞数の変化を検討した。

1. 臨床症状におけるトシル酸スプラタストの効果としては, 鼻漏等アレルギー性鼻炎様症状に対し有効であった。

2. トシル酸スプラタスト投与により好酸球数および

EG2 陽性細胞数とも有意な減少を認めた。

3. トシル酸スプラタスト投与により EG2 陽性細胞数/好酸球数の比に有意な減少を認めた。

すなわち、トシル酸スプラタストはヒト鼻茸においても好酸球の組織浸潤抑制作用をもち、更に好酸球の活性化に対しても抑制作用をもつことが示された。

稿を終えるにあたり、終始ご懇篤なるご指導、ご助言ならびにご校閲頂いた東邦大学第一耳鼻咽喉科学教室 小田 恂教授に対し深謝いたします。

なお、本論文の要旨は68. Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie (Nürnberg) ならびに第98回日本耳鼻咽喉科学会総会において発表した。

参考文献

- 1) 夜陣紘治：慢性副鼻腔炎の病態に関する一考察。耳鼻臨床 90:137~143, 1997.
- 2) 石戸谷淳一, 小口直彦, 王 娜亜, 他：マクロライド療法に対する有効例と無効例の免疫組織化学的検討。耳展 39 補1:41~45, 1996.
- 3) 大山 勝：鼻副鼻腔疾患と外的因子。日鼻誌 21:18, 1982.
- 4) 石戸谷淳一, 小口直彦, 王 娜亜, 他：異なった下気道病変に合併する慢性副鼻腔炎の臨床的特徴。日耳鼻 99:675~680, 1996.
- 5) 吉見龍一郎, 高村博光, 高崎賢治, 他：アスピリン喘息鼻茸における浸潤好酸球の免疫組織学的検討。日耳鼻 96:1922~1925, 1993.
- 6) Yamaya H, Basaki Y, Togawa M, et al: Down-regulation of TH2 cell-mediated murine peritoneal eosinophilia by anti-allergic agents. Life Sciences 56:1647~1654, 1995.
- 7) 松浦直資, 森 裕志, 永井博式, 他：Suplatast Tosilate (IPD-1151T) のマウス抗体産生に対する作用。日薬理誌 100:485~493, 1992.
- 8) Yanagihara Y, Kiniwa M, Ikizawa K, et al: Suppression of IgE production by IPD-1151T (suplatast tosilate), a new dimethylsulfonium agent; (1) regulation of murine IgE response. Jpn J Pharmacol 61:23~30, 1993.
- 9) 鮫島靖浩, 増山敬祐, 石川 哮：アレルギー性副鼻腔炎。耳鼻咽喉科疾患への免疫学的アプローチ(茂木五郎編)。93~97頁, メジカルビュー社, 東京, 1996.
- 10) 石戸谷淳一, 増田哲也, 清水啓成, 他：RXM の少量長期療法と鼻粘膜への組織移行。耳鼻臨床 88:535~542, 1995.
- 11) Dutton L: Sinobronchial syndrome complicating atopic asthma in children. Ann Allergy 3:447~450, 1945.
- 12) 石戸谷淳一, 工藤宏一郎：気管支喘息における慢性副鼻腔炎。日胸 55:S186~192, 1996.
- 13) 松浦直資, 森 裕志, 永井博式, 他：Suplatast Tosilate (IPD-1151T) の I-N 型アレルギー反応に対する作用。日薬理誌 100:495~501, 1992.
- 14) Yanagihara Y, Kiniwa M, Ikizawa K, et al: Suppression of IgE production by IPD-1151T (suplatast tosilate), a new dimethylsulfonium agent; (2) regulation of human IgE response. Jpn J Pharmacol 61:31~39, 1993.
- 15) Pipkorn U, Karlsson G and Enerback L: The cellular response of the human allergic mucosa to natural allergen exposure. J Allergy Clin Immunol 82:1046~1054, 1988.
- 16) Svensson C, Anderson M, Persson CGA, et al: Albumin, bradykinins, and eosinophil cationic protein on the nasal mucosal surface in patients with hay fever during natural allergen exposure. J Allergy Clin Immunol 85:828~833, 1990.
- 17) 寺田修久, 伊藤永子, 杉山達郎, 他：鼻アレルギー症例の遅発相における鼻粘膜好酸球浸潤と活性化。アレルギー 40:181~190, 1991.
- 18) 馬場駿吉, 高坂知節, 馬場廣太郎, 他：通年性鼻アレルギーに対する IPD-1151T の長期投与試験。薬理と治療 20:513~529, 1992.
- 19) Lopez A, Sanderson C, Gamble J, et al: Recombinant human interleukin 5 is a selective activator of human eosinophil function. J Exp Med 167:219~224, 1988.
- 20) Sanderson C, O'Garra A, Warren D, et al: Eosinophil differentiation factor also has B-cell growth factor activity; proposed name interleukin 4. Proc Natl Acad Sci USA 83:437~440, 1986.
- 21) Mita S, Harada N, Naomi S, et al: Receptors for T cell replacing factor/interleukin 5. J Exp Med 168:863~878, 1988.
- 22) Rothenberg M, Petersen J, Stevens R, et al: IL-5 dependent conversion of normodense human eosinophils to the hypodense phenotype uses 3T3 fibroblasts for enhanced viability, accelerated hypodensity, and sustained antibody dependent cytotoxicity. J Immunol 143:2311~2316, 1989.
- 23) Hamilos D, Leung D, Wood R, et al: Chronic hyperplastic sinusitis; association of tissue eosinophilia with mRNA expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-3. J Allergy Clin Immunol 92:39~48, 1993.

(原稿受付:平成9年6月18日
原稿採択:平成9年8月27日 急載
別刷請求先:清水啓成
〒213 川崎市高津区溝口74
帝京大学医学部附属溝口病院耳鼻咽喉科)