

好酸球性副鼻腔炎における CST1 の発現と機能的解析

加藤 幸宣¹, 高林 哲司¹, 坂下 雅文¹, 意元 義政¹, 徳永 貴広¹,
二之宮貴裕¹, 森川 太洋¹, 吉田加奈子¹, 野口恵美子², 藤枝 重治¹

¹ 福井大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科

² 筑波大学医療医学系遺伝医学

好酸球性副鼻腔炎 (ECRS) は、鼻腔内に多発性鼻茸を有し、鼻茸・末梢血中に好酸球増加を伴う難治性副鼻腔炎である。次世代シーケンサーを用いた、鼻茸の RNA-sequencing における transcriptome 解析では、ECRS 患者の鼻茸で CST1 の発現が高い傾向にあった。我々は CST1 が ECRS の病態に関与していると考え、ECRS の鼻茸内での CST1 の発現や働きについて詳細な検討を行った。CRSwNP 患者の鼻茸内における CST1 の発現に関して、real-time PCR を用いた mRNA の発現・免疫組織化学を用いた解析では、non-ECRS 患者群に比べて、ECRS 患者群で CST1 が有意に高発現していた。特に CST1 は severe ECRS の鼻茸上皮で強い発現を示していた。つまり、CST1 の発現は、ECRS の難治性や再発性と関連する。ECRS 由来の鼻茸上皮細胞を精製し、IL-4+dsRNA+CST1 で刺激すると、IL-4+dsRNA で刺激した時に比べて、TSLP の発現が有意に上昇した。鼻茸上皮細胞への TSLP あるいは IL-33 の刺激は、CST1 の発現を誘導した。また、ECRS 由来の鼻茸線維芽細胞に対する CST1 の刺激は、CCL11 と periostin の発現を誘導した。CST1 は鼻茸内において、ECRS の鼻茸形成・増悪に関わる様々な因子と相互作用することにより、Th2/好酸球性炎症として作用し、鼻茸の重症化、難治性、再発に関わる。ECRS の鼻茸に対して、CST1 を target とした治療戦略が有用となる可能性がある。本稿では、CST1 の ECRS における役割を中心に解説する。

キーワード：CST1, 好酸球性副鼻腔炎, 鼻茸, プロテアーゼインヒビター, TSLP

略語：CRSsNP, chronic rhinosinusitis without nasal polyps; CRSwNP, chronic rhinosinusitis with nasal polyps; ECRS, eosinophilic chronic rhinosinusitis; ESS, endoscopic sinus surgery; TSLP, thymic stromal lymphopoietin; ILC2s, type 2 innate lymphoid cells; JESREC, the Japanese Epidemiological Survey of Refractory Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis; NHBE, normal human bronchial epithelial cells; CRLF2, cytokine receptor-like factor 2; ST2, IL1RL1, interleukin (IL)-1 receptor-like 1; CCL11 (eotaxin-1), CC chemokine ligand 11

はじめに

慢性副鼻腔炎は、鼻茸を有さない慢性副鼻腔炎 (chronic rhinosinusitis without nasal polyps: CRSsNP) と鼻茸を有する慢性副鼻腔炎 (chronic rhinosinusitis with nasal polyps: CRSwNP) の2つに大別される¹⁾。14 員環マクロライド系抗菌薬による少量長期療法や内視鏡下鼻副鼻腔手術 (endoscopic sinus surgery: ESS) の進歩により、CRSwNP に対する治療率は大きく向上した。しかし近年、ESS 施行後すぐに鼻茸が再発し、再手術を必要とする、治療抵抗性の難治性 CRSwNP

が増加してきた。これら難治性副鼻腔炎の鼻茸を組織学的に調べると、多数の好酸球浸潤を認めていた。そのため、CRSwNP の中でも難治性で好酸球浸潤が著しいタイプを好酸球性副鼻腔炎 (eosinophilic chronic rhinosinusitis: ECRS) と呼ぶようになった²⁾。ECRS に対する明確な診断基準を作成するため、Japanese Epidemiological Survey of Refractory Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis (JESREC) study が発足され、多施設共同大規模疫学研究が行われた³⁾。本研究により、鼻茸中の好酸球数が 70 個/HPF 以上の症例で有意に再発率が高くなることが判明し、この条件を満たす CRSwNP を、好酸球性副鼻腔炎と定義した。また、両側性病変、鼻茸の存在、CT で篩骨洞優位の陰影、末梢血中の好酸球率から臨床スコアを計算することによって、ESS 施行前でも ECRS を診断できるようになった。気管支喘息、アスピリン不耐症、NSAIDs 不耐症の合併は、ECRS の中でも特に難治性で、重症度が増す。JESREC study によって、ECRS

2018年6月22日受稿, 2018年9月18日受理
別冊請求先: 加藤幸宣
〒910-1193 福井県吉田郡永平寺町松岡下合月 23-3
福井大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科
TEL: 0776-61-8407, FAX: 0776-61-8118
E-mail: ykato@u-fukui.ac.jp

の診断、重症度分類が確立した。しかし、有効な治療法は依然として経口ステロイドのみであり、明確な発症機序・病態の解明、ステロイド以外の治療法の確立が求められている。

RNA-sequencing (RNA-seq) を用いた遺伝子発現の解析は、新規疾患関連遺伝子を同定し、疾患の病態メカニズムを解明するためのスクリーニングとして非常に有用である⁴⁾。我々は、ECRS の病態を解明するために、次世代シーケンサーを用いて、鼻茸の RNA-seq における transcriptome 解析を行った。CRSwNP 患者において、同一患者の鼻茸と下鼻甲介を比較した解析では、実に 3000 以上の遺伝子で有意差を認めた。鼻茸で特に高い発現を示した 10 遺伝子は、periostin, CST1, SERPINB3, CCL18, IGFBP3, TUBB4B, ALOX15, CSTB, SERPINF1, TPPP3 であった。我々は、これらの遺伝子の中で、CST1 という分子に着目した。以前、我々の教室が行った、non-ECRS と ECRS の鼻茸を比較した RNA-seq による解析では、ECRS の鼻茸で CST1 の発現が高い傾向にあった。

Cystatin family は、アミノ酸配列の違いから type 1, type 2, type 3 の 3 つの family に分類され、CST1 (cystatin SN) は type 2 cystatin family に属する分子である。Type 2 cystatin family は、唾液腺や涙腺の外分泌上皮から産生され、唾液や涙液中に含まれることが知られている^{5,6)}。現在では、膀胱や尿管、精巣上皮、また皮膚疾患や炎症性肺疾患など、様々な部位、疾患での発現が報告されている⁷⁻⁹⁾。Cystatin family は protease inhibitor という重要な役割を有するが、その作用の強さは様々である。Type 1 cystatin family や cystatin C, cystatin F は protease inhibitor として強い作用を示すが、一方で cystatin S, cystatin SA, CST1 ではその作用が弱いと言われている^{7,8)}。また、cystatin family は protease inhibitor 以外にも様々な働きが報告されており、炎症や腫瘍形成過程においても重要な役割を果たしている¹⁰⁻¹²⁾。

CRSwNP 患者の鼻茸に対する遺伝子発現解析の結果を踏まえて、我々は CST1 が ECRS の病態に関与していると

考えた。そこで、鼻茸中、特に ECRS の鼻茸における CST1 の発現や、鼻茸内での CST1 の機能について詳細な検討を行った。

好酸球性副鼻腔炎の鼻茸における CST1 の発現

まず、CRSwNP 患者を ECRS と non-ECRS に分類し、CST1 の発現を比較検討した。CRSwNP 患者から採取した鼻茸における、CST1 mRNA の発現を real-time PCR を用いて解析すると、non-ECRS 患者群の鼻茸に比べて、ECRS 患者群の鼻茸で、CST1 mRNA の発現が有意に高値であった。次に免疫組織化学を用いて、鼻茸における CST1 の発現を調べると、やはり non-ECRS 患者の鼻茸に比べて、ECRS 患者の鼻茸で CST1 の強い発現を認めた。免疫組織化学では、CST1 は特に鼻茸上皮細胞に発現していた (図 1)。JESREC の重症度分類³⁾ に応じて鼻茸を non-ECRS, mild ECRS, moderate ECRS, severe ECRS と分類し、上皮に発現する CST1 の半定量分析を行うと、severe ECRS 患者群で最も CST1 の発現が高いことが明らかとなった。CRSwNP 患者の鼻茸内の好酸球数と CST1 mRNA との相関を調べると、これらに正の相関関係を認めた。これらの結果は、CST1 が ECRS の重症度・難治性と関連していることを示唆する。つまり、ECRS の性質を考慮すると、CST1 が鼻茸内において Th2/好酸球性炎症に関与すると考えられた。一方で、Kouzaki らは、cystatin family の一つである cystatin A が ECRS 患者の鼻茸で有意に低値であり、気道上皮において防御的な役割を担っていると報告している¹³⁾。Cystatin family は、少なくとも 17 種類の遺伝子から構成され、3 つの subfamily に分類されている。それぞれの遺伝子が持つ作用は様々で、cystatin A は type 1 cystatin subfamily に属しており、protease inhibitor として強い作用を有する。CST1 は type 2 cystatin subfamily に属しており、protease inhibitor 以外にも、炎症・Th2 環境の upregulation などの作用を有している¹⁴⁻¹⁶⁾。以前我々は、抗原曝露中のアレルギー性鼻炎

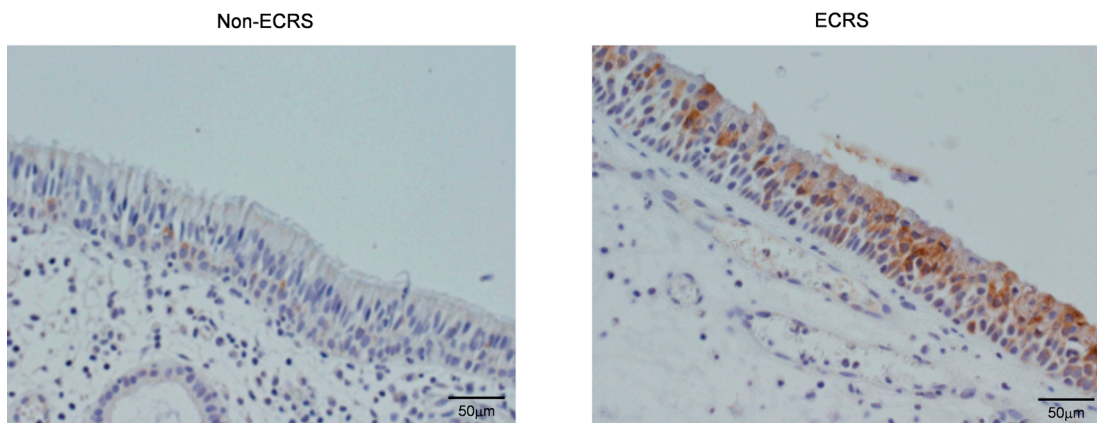


図 1 鼻茸における CST1 の免疫組織化学。CST1 は、ECRS の鼻茸上皮に発現している。

患者の下鼻甲粘膜において、CST1が高発現していることを報告している¹⁷⁾。ECRSの鼻茸でCST1が強い発現を示し、鼻茸の難治性、重症度と相関していることは、CST1が鼻茸増悪因子として作用することを示唆している。

好酸球性副鼻腔炎の鼻茸における CST1の機能的解析

CST1がsevere ECRSの鼻茸で高発現していることが明らかとなった。そこで鼻茸中のCST1の機能について検討した。CST1が鼻茸組織内でどのような分子と関わるかについて、ECRSとの関連が報告されている分子との相関を調べた。すると、CST1 mRNAとTSLP, IL-33, CCL11 (eotaxin-1), periostin mRNAとの間で、正の相関関係が認められた。そこで、ECRS患者の鼻茸組織から精製した鼻茸上皮細胞や、鼻茸線維芽細胞を用いて、これらの関係を検討した。

1. CST1とTSLP・IL-33

TSLPとIL-33は、2型炎症において中心的な役割を担う上皮由来サイトカインである¹⁸⁻²⁰⁾。Th2細胞、肥満細胞、好塩基球、好酸球、ILC2sなど様々な細胞に作用して、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患における2型炎症を活性化させる²¹⁻²³⁾。近年、上皮由来サイトカインと難治性好酸球性副鼻腔炎との関連が注目されている。NagarkarらはTSLP mRNAが好酸球浸潤を伴う鼻茸で有意に高値であり、ECRSにおける2型炎症に重要な役割を担うと報告している²⁴⁾。また、IL-33に関しては、難治性慢性副鼻腔炎の上皮では、治療反応性慢性副鼻腔炎に比べて、IL-33の発現が高値であるとの報告がある²⁵⁾。我々の教室で行った鼻茸のRNA-seqにおけるtranscriptome解析においても、これらのサイトカインの発現は、鼻茸で高い傾向にあった。

ECRS患者の鼻茸を採取して鼻茸上皮細胞を精製し、IL-4, dsRNA, CST1で刺激した後に、TSLPの発現を解析した。IL-4とdsRNAによる共培養でTSLPの発現が上昇することは、ヒト気管支上皮細胞 (normal human bronchial epithelial cells: NHBE) で以前報告されており²⁶⁾、鼻茸上皮細胞でも同様の結果であった。興味深いことに、IL-4+dsRNAによる刺激に比べて、IL-4+dsRNA+CST1による共刺激では、TSLPの発現が更に増強した。つまり、CST1はIL-4やdsRNAと相乗効果を示すことが明らかとなった。2型サイトカインや感染はECRSの病態において、重要な増悪因子である。ECRSは、Th2優位の好酸球浸潤によって特徴づけられ、また感染はTh2環境下で上皮由来サイトカインの放出を介して、Th2炎症を増幅させる作用を有する²⁷⁾。我々は、CST1における好酸球への直接的な効果を調べるために、ヒト好酸球性細胞株 (human eosinophilic cell line: Eo1-1) をCST1で刺激し、好酸球が分泌する顆粒

蛋白であるECPとMBPの発現を解析した。しかし、CST1のEo1-1への直接的な刺激では、ECPとMBPの発現上昇を認めなかった。ECRSの鼻茸では、CST1, IL-4, dsRNAの相乗作用によってTSLPの発現が増強される。鼻茸上皮で上昇したTSLPが、Th2細胞やILC2sの活性化を促し、これらの細胞によって放出される2型サイトカインを介して、好酸球浸潤やTh2炎症が増幅されると考えられる。

次に、CST1の発現におけるTSLPとIL-33の効果を調べるために、ECRS由来の鼻茸上皮細胞をTSLP, あるいはIL-33で刺激し、CST1の発現を解析した。TSLPやIL-33の刺激によって、CST1は、鼻茸上皮細胞からの発現が誘導された。更に、TSLP・IL-33シグナリングとCST1発現誘導との関係を検証するために、TSLP・IL-33に対するレセプターであるCRLF2・ST2を、siRNAを用いてノックダウンさせる実験を行った。CRLF2, あるいはST2に対するsiRNAを鼻茸上皮細胞にtransfectionした後、それぞれTSLP・IL-33で刺激し、CST1の発現を解析した。すると、siRNAをtransfectionした細胞では、negative control siRNAをtransfectionした細胞に比べて、TSLP・IL-33の刺激によるCST1の発現誘導が抑制された。つまり、鼻茸上皮細胞へのTSLP, IL-33による刺激は、それぞれのレセプターのシグナル経路を介して、CST1の発現を誘導する。ECRSの鼻茸内では、CST1とTSLP・IL-33とのpositive feedbackを通して、鼻茸の形成・難治性に関わることが示された。

2. CST1とCCL11・periostin

ECRSの鼻茸におけるTh2炎症の増幅には、好酸球、肥満細胞、好塩基球、樹状細胞、マクロファージ、Th2細胞、B細胞、線維芽細胞など、様々な細胞が関与している。難治性鼻茸の形成に重要な線維芽細胞は、炎症細胞の誘導や炎症反応に関わるextracellular matrix proteinsの重要源である^{28,29)}。鼻茸中のCCL11 (eotaxin-1)におけるCST1の役割を調べるため、ECRSの鼻茸から線維芽細胞を精製し、CST1で刺激した後に、CCL11の発現を解析した。すると、CST1は鼻茸線維芽細胞からのCCL11の発現を誘導した。CCL11やRANTESのようなケモカインの放出は、好酸球に発現しているCCR3を介して好酸球を遊走する。CCL11は鼻茸内における好酸球浸潤に密接に関連している³⁰⁾。次世代シーケンサーを用いた鼻茸のRNA-seqにおけるtranscriptome解析では、CCL11の発現は好酸球浸潤を伴う鼻茸で上昇傾向にある。CST1は、線維芽細胞からCCL11を産生させることで、鼻茸内での好酸球遊走を誘導する。

RNA-seqを用いた解析において、periostinは鼻茸で極めて高い発現を示している。periostinは、主に線維芽細胞で産生されるextracellular matrix proteinである³¹⁾。Th2炎症に関わる重要因子であり、好酸球のエフェクター機能を増強させる作用を有する^{32,33)}。好酸球性副鼻腔炎、気管支喘息、アトピー性皮膚炎など、Th2炎症を主体とする疾患では血清periostin濃度が上昇しており、新規バイオマーカーとし

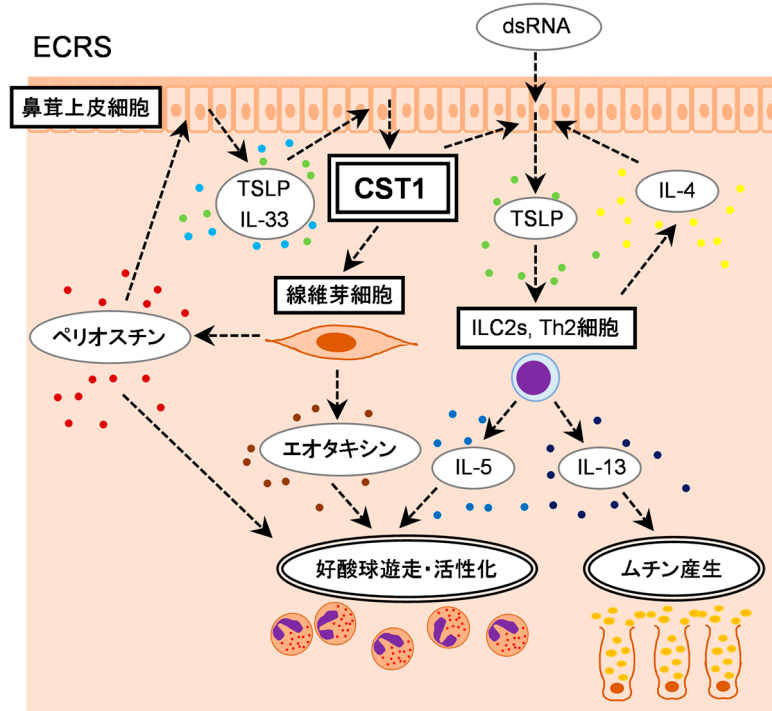


図2 ECRSの鼻茸におけるCST1の役割。文献37より引用改変。

て注目されている³⁴⁻³⁶)。ECRSの鼻茸から精製した線維芽細胞をCST1で刺激すると、periostinの発現が誘導された。つまり、CST1は鼻茸線維芽細胞からのperiostin産生を誘導することで、ECRSの病態に関与する。

ECRS由来の鼻茸から精製した上皮細胞や線維芽細胞を用いた実験により、CST1は上皮細胞のTSLPやIL-33、また線維芽細胞のCCL11やperiostinとの相互作用を介して、鼻茸内の好酸球浸潤やTh2炎症に関わることが示された。

おわりに

ECRSの鼻茸上皮細胞では、CST1が高発現している。特にsevere ECRSにおけるCST1の発現は非常に強く、CST1は鼻茸の重症度、難治性と相関している。TSLPやIL-33は上皮細胞内でのCST1の発現を誘導する。誘導されたCST1は上皮内において、dsRNAやIL-4と協同し、TSLPの発現を増強させる作用を有している。増強されたTSLPは、mDCを介したTh2細胞の活性化やILC2sの働きにより、IL-5やIL-13といった2型サイトカインを放出させる。これにより、好酸球遊走、ムチンの産生が亢進する。更に、CST1は、細胞外において線維芽細胞に作用し、CCL11やperiostinの放出を誘導する。これらもまた、Th2/好酸球性炎症に関わる重要な因子である。CST1は鼻茸内において、このようなメカニズムでTh2/好酸球性炎症として作用し、鼻茸の重症化、難治性、再発に関わる(図2)³⁷)。ECRSに関わる多様な因子とCST1との関係を更に解析することは、ECRSの病態を解明するために、非常に有用である。

ECRSは術後の再発率が高く、鼻茸の制御に難渋する症例が多い。難治性鼻茸の術後再発を防ぐために、CST1をtargetとした治療戦略が有用かもしれない。

本論文の要旨は第36回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会(2018年2月、下関市)において、奨励賞応募演題として発表した。

本論文に関して、開示すべき利益相反状態は存在しない。

文 献

- 1) Fokkens WJ, Lund VJ, et al. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinology*. 2012; 50: 1-12.
- 2) Haruna S, Nakanishi M, et al. Histopathological features of nasal polyps with asthma association: an immunohistochemical study. *Am J Rhinol*. 2004; 18: 165-72.
- 3) Tokunaga T, Sakashita M, et al. Novel scoring system and algorithm for classifying chronic rhinosinusitis: The JESREC Study. *Allergy*. 2015; 70: 995-1003.
- 4) Wang Q, Lu Q, et al. A review of study designs and statistical methods for genomic epidemiology studies using next generation sequencing. *Front Genet*. 2015; 6: 149.
- 5) Isemura S, Saitoh E, et al. Characterization of a new cysteine proteinase inhibitor of human saliva, cystatin SN, which is immunologically related to cystatin S. *FEBS Lett*. 1986; 198: 145-9.
- 6) Dickinson DP, Thiesse M, et al. Expression of type 2 cystatin genes CST1-CST5 in adult human tissues and the developing submandibular gland. *DNA Cell Biol*. 2002; 21: 47-65.

- 7) Ochieng J, Chaudhuri G. Cystatin superfamily. *J Health Care Poor Underserved*. 2010; 21: 51–70.
- 8) Magister S, Kos J. Cystatins in immune system. *J Cancer*. 2013; 4(1): 45–56.
- 9) Werle B, Sauckel K, et al. Cystatins C, E/M and F in human pleural fluids of patients with neoplastic and inflammatory lung disorders. *Biol Chem*. 2003; 384(2): 281–7.
- 10) Dickinson DP. Salivary (SD-type) cystatins: over one billion years in the making—but to what purpose? *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002; 13: 485–508.
- 11) Cao X, Li Y, et al. Expression of Cystatin SN significantly correlates with recurrence, metastasis, and survival duration in surgically resected non-small cell lung cancer patients. *Sci Rep*. 2015; 5: 8230.
- 12) Yoneda K, Iida H, et al. Identification of Cystatin SN as a novel tumor marker for colorectal cancer. *Int J Oncol*. 2009; 35: 33–40.
- 13) Kouzaki H, Matsumoto K, et al. Endogenous protease inhibitors in airway epithelial cells contribute to eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017; 195: 737–47.
- 14) Kim JT, Lee SJ, et al. Cystatin SN neutralizes the inhibitory effect of cystatin C on cathepsin B activity. *Cell Death Dis*. 2013; 4: e974.
- 15) Muslimovic A, Tulumovic D, et al. Serum cystatin C — marker of inflammation and cardiovascular morbidity in chronic kidney disease stages 1–4. *Mater Sociomed*. 2015; 27: 75–8.
- 16) Giovannini-Chami L, Marcet B, et al. Distinct epithelial gene expression phenotypes in childhood respiratory allergy. *Eur Respir J*. 2012; 39: 1197–205.
- 17) Imoto Y, Tokunaga T, et al. Cystatin SN upregulation in patients with seasonal allergic rhinitis. *PLoS One*. 2013; 8: e67057.
- 18) Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin and OX40 ligand pathway in the initiation of dendritic cell-mediated allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 120: 238–44.
- 19) Smith DE. IL-33: A tissue derived cytokine pathway involved in allergic inflammation and asthma. *Clin Exp Allergy*. 2010; 40: 200–8.
- 20) Divekar R, Kita H. Recent advances in epithelium-derived cytokines (IL-33, IL-25, and thymic stromal lymphopoietin) and allergic inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2015; 15: 98–103.
- 21) Licona-Limón P, Kim LK, et al. TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells. *Nat Immunol*. 2013; 14: 536–42.
- 22) Wang YH, Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand, and interleukin-25 in allergic responses. *Clin Exp Allergy*. 2009; 39: 798–806.
- 23) Oboki K, Nakae S, et al. IL-33 and airway inflammation. *Allergy, Asthma Immunol Res*. 2011; 3: 81–8.
- 24) Nagarkar DR, Poposki JA, et al. Thymic stromal lymphopoietin activity is increased in nasal polyps of patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 132: 593–600.
- 25) Reh DD, Wang Y, et al. Treatment-recalcitrant chronic rhinosinusitis with polyps is associated with altered epithelial cell expression of interleukin-33. *Am J Rhinol Allergy*. 2010; 24: 105–9.
- 26) Kato A, Favoreto S, et al. TLR3- and Th2 cytokine-dependent production of thymic stromal lymphopoietin in human airway epithelial cells. *J Immunol*. 2007; 179: 1080–7.
- 27) Lam K, Schleimer R, et al. The etiology and pathogenesis of chronic rhinosinusitis: a review of current hypotheses. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2015; 15.
- 28) Carroll WW, O’Connell BP, et al. Fibroblast levels are increased in chronic rhinosinusitis with nasal polyps and are associated with worse subjective disease severity. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016; 6: 162–8.
- 29) Park SK, Jin YD, et al. IL-25-induced activation of nasal fibroblast and its association with the remodeling of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *PLoS One*. 2017; 12: e0181806.
- 30) Hulse KE, Stevens WW, et al. Pathogenesis of nasal polyposis. *Clin Exp Allergy*. 2015; 45: 328–46.
- 31) Jia G, Erickson RW, et al. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 130: 647–54.
- 32) Kanemitsu Y, Matsumoto H, et al. Factors contributing to an accelerated decline in pulmonary function in asthma. *Allergol Int*. 2014; 63: 181–8.
- 33) Noguchi T, Nakagome K, et al. Periostin upregulates the effector functions of eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*. 2016; 138: 1449–52.
- 34) Asano T, Kanemitsu Y, et al. Serum periostin as a biomarker for comorbid chronic rhinosinusitis in patients with asthma. *Ann Am Thorac Soc*. 2017; 14: 667–75.
- 35) Izuhara K, Matsumoto H, et al. Recent developments regarding periostin in bronchial asthma. *Allergol Int*. 2015; 64 Suppl: S3–10.
- 36) Ninomiya T, Noguchi E, et al. Periostin as a novel biomarker for postoperative recurrence of chronic rhinosinitis with nasal polyps. *Sci Rep*. 2018; 30; 8(1): 11450.
- 37) Kato Y, Takabayashi T, et al. Expression and functional analysis of CST1 in intractable nasal polyps. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2018; 59: 448–57.

The expression and functional analysis of CST1 in intractable nasal polyps

Yukinori Kato¹, Tetsuji Takabayashi¹, Masafumi Sakashita¹, Yoshimasa Imoto¹, Takahiro Tokunaga¹,
Takahiro Ninomiya¹, Taiyo Morikawa¹, Kanako Yoshida¹, Emiko Noguchi², Shigeharu Fujieda¹

¹Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Faculty of Medical Science, University of Fukui

²Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

Abstract

This study found Cystatin SN (CST1), a type 2 cystatin subfamily member, to be highly expressed in nasal polyps from patients with intractable chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP), using a whole transcript analysis with next-generation sequencing. Eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS) involves nasal polyps that are refractory and recurrent immediately after endoscopic sinus surgery (ESS). We hypothesized that CST1 may contribute to the pathogenesis of ECRS. The expression of CST1 in nasal polyps from patients with ECRS was examined by mRNA expression levels, using real-time PCR and immunohistochemistry. CST1 was significantly expressed in the epithelial cells of the nasal polyps from patients with ECRS, compared with patients who did not have ECRS (non-ECRS). Particularly, CST1 showed very strong expression in patients with severe ECRS. The expression of CST1 may be correlated with the recurring and refractory nature of ECRS. We examined the function of CST1 using nasal epithelial cells and nasal fibroblasts. Stimulation by a combination of IL-4 plus dsRNA plus CST1 significantly elevated mRNA expression levels and protein levels of TSLP in nasal epithelial cells. Stimulation by TSLP or IL-33 significantly elevated mRNA expression levels of CST1 in nasal epithelial cells. Stimulation of CST1 significantly elevated mRNA expression levels of CCL11 and periostin in nasal fibroblasts. CST1 could amplify eosinophilic infiltration and Th2 inflammation by interacting with epithelial-derived cytokines and fibroblasts on nasal polyps. CST1 may be involved in the pathogenesis of ECRS, and may contribute to the severity and recurrence of CRSwNP after ESS.

Key words: CST1, eosinophilic chronic rhinosinusitis, nasal polyps, protease inhibitor, TSLP