

気管支喘息急性期治療における
薬物の科学的根拠に関する研究

目次

アレルギー部門

気管支喘息急性期治療における薬物の科学的根拠に関する研究	東京都立荏原病院小児科 医長	松井 猛彦	(131)
薬剤レセプター遺伝子解析による喘息治療薬の治療効果予測と客観的判定に関する研究	九州大学大学院医学系研究科小児科学教授	原 寿郎	(136)
気道リモデリング・薬剤レセプターに関する研究	九州大学大学院医学系研究科臨床分子医学講座 教授	濱崎 直孝	(139)
気道リモデリングに関与する細胞遊走に関する研究	国立療養所福岡病院 副院長	庄司 俊輔	(142)
β 2刺激薬MDIと喘息死・LTAに関する全国疫学調査結果	自治医科大学保健科学講座疫学・地域保健学部門 教授	中村 好一	(145)
致死的喘息発作と薬物療法に関する研究	国立療養所福岡病院小児科 医師	西尾 健	(148)
β 2刺激薬に関する薬理学的研究	岐阜薬科大学薬理学教室 教授	永井 博式	(151)
β 2-刺激薬の長期反復曝露の気道過敏性に及ぼす影響	群馬大学医学部小児科 教授	森川 昭廣	(154)
成人気管支喘息における β 刺激薬の使用法に関する研究	国立相模原病院臨床研究部 部長	秋山 一男	(156)
β 2-刺激薬の使用法に関する研究 (小児科)	群馬大学医学部小児科 教授	森川 昭廣	(158)
気管支喘息急性期治療における薬物の科学的根拠に関する研究	同志社大学工学部 教授	高野 頌	(161)
気管支喘息急性期治療におけるテオフィリンの効果に関する研究	帝京大学医学部内科 教授	大田 健	(164)
小児におけるテオフィリンの有効で安全な使用に関する研究	京都大学医学研究科発生発達医学発達小児科 講師	細井 進	(167)
乳幼児のステロイドに関する研究	国立療養所下志津病院 院長	西牟田 敏之	(169)

厚生科学研究費補助金(厚生省感覚器障害及び免疫・アレルギー等研究事業)
総括研究報告書

気管支喘息急性期治療における薬物の科学的根拠に関する研究

主任研究者 松井 猛彦
東京都立荏原病院小児科医長

研究要旨:

喘息急性増悪に対する既存治療法の問題点を解析し、科学的評価に耐える治療法を確立し、急性期治療における薬物療法をより有効で安全なものとして、喘息の増悪・喘息死を減少させ、喘息患者のQOLの改善・治癒の促進を図ることを目的に本研究を行い、本年度は以下の結果を得た。

- 1) 個々の喘息患者について、急性期発作治療薬を、予め、副作用を避け有効な薬剤を選択するため、遺伝子多型と喘息の関連性を検討し、 β_2 adrenergic receptor (27Gln/Glu)、IL4 受容体(50Ile/Val)が小児喘息の疾患感受性を有する遺伝子多型として同定、IL-13 遺伝子が喘息遺伝子であると解析した。
- 2) 喘息死と急性期治療の薬物との関係、特に β_2 刺激薬との関連が問題になっている。5～34歳の喘息死亡例と致死発作救命例(LTA)について全国疫学調査を行い、単変量解析で小児で"fenoterol 以外の吸入 β_2 刺激薬 MDI の使用"が統計学的に有意に喘息死のリスクを上昇させていたが、多変量解析では重症度のみが有意で、薬剤使用と重症度の間で交絡が認められた。喘息死との関連が問題となった fenoterol MDI のオッズ比は有意な上昇はなかったが、小児において、多変量解析 8.49 で、単変量解析 4.00 より上昇した。また、致死発作救命例の検討で、薬物療法で、発作予防薬と発作時治療薬に焦点をしばり検討することで問題点が明らかにされる可能性が示唆された。
- 3) β_2 刺激薬の薬理的検討から、 β_2 刺激薬の頻回使用は気管支拡張作用を減弱させ、アレルギー性気道炎症を増悪させることが示唆された。一方、非感作動物モデルでの β_2 刺激薬の長期吸入療法による気道過敏性の亢進は認められなかった。
- 4) β_2 刺激薬ネブライザー単独吸入効果は、重症発作では、肺機能の改善は小さく、小児・成人とも悪化する例がある。成人喘息発作で、エピネフリン皮下注射は有効だが、 β 刺激薬未使用者で血清カリウムの低下を来しやすい。小児の大発作の症例で、呼吸困難感が低下している症例があり、このような症例でも PEF による判定が有用であった。
- 5) MDI の流体力学的検討で、諸特性評価に薬物粒子径と粒子速度を同時に測定する新たな手法が必要で、下気道では空気力学径を直接測定する新たな手法を評価法に加えるべきことを明らかにした。
- 6) テオフィリンの投与は、小～中発作でも投与前後で肺機能が改善し、血中 ECP・ヒスタミンの低下させ、わが国の喘息ガイドラインの妥当性を科学的に証明すると同時に、急性期治療においても抗炎症効果があることを証明した。
- 7) 小児喘息におけるテオフィリンの使用について、治療域でも痙攣発作・脳症が生じるとの報告が散見され、熱性痙攣の既往や中枢神経疾患罹患児などリスクを有する喘息児ではテオフィリンの使用は慎重おこなう必要がある。
- 8) 乳幼児で急性増悪時にステロイド注射薬は 87%の専門医師が使用していたが、経口薬・吸入ステロイド薬使用率は低く、乳幼児のステロイド使用についての治験が不十分で、これらの問題点を明らかにすると同時に、安全かつ有効な使用のために使用法・評価法の共通基盤を構築する必要性を示した。

分担研究者

原 寿郎 (九州大学大学院医学系研究科生殖
医学専攻成長発達医学部門教授)
濱崎直孝 (九州大学大学院医学系研究科臨床
医学講座教授)
庄司俊輔 (国立療養所南福岡病院副院長)
中村好一 (自治医科大学保健科学講座疫学・
地域保健学部門教授)
西尾 健 (国立療養所南福岡病院小児科医員)

永井博式 ([岐阜薬科大学薬理学教室教授)
森川昭廣 (群馬大学小児科教授)
秋山 一男 (国立相模原病院臨床研究部部長)
高野 頌 (同志社大学工学部教授)
大田 健 (帝京大学医学部内科教授)
細井 進 (京都大学医学研究科発生発達医学
小児科講師)
西牟田敏之 (国立療養所下志津病院院長)

A. 研究目的

喘息急性増悪に対する既存治療法の中で、特に臨床的に問題となっている諸点を多角的に解析し、科学的評価に耐える治療法を確立し、喘息の急性期治療における薬物療法をより有効で安全なものとして、喘息の増悪・喘息死を減少させ、喘息患者のQOLを改善し、治癒の促進を図ることを目的に本研究を行う。

本研究班の構成は、上記の目的から1) 薬剤等への感受性や臨床効果、副作用を、in vitroで予知する事を目標に、遺伝子レベル或いは肺胞洗浄液から検討する研究班、2) β 刺激薬について検討する研究班、3) テオフィリン研究班、4) ステロイド班からなる。

B. 研究方法

1) 喘息の遺伝子多型：アトピー素因を有する小児喘息患者の重症度を規定する既知遺伝子多型、新規遺伝子多型の同定と疾患との関係、喘息の治療反応性を規定する遺伝子を解析する。

2) リモデリングに関する検討：喘息患者のBAL液を用い、培養気道上皮細胞・線維芽細胞に対する遊走実験を行う。

3) 薬物療法と喘息死：疫学的に喘息死と β_2 刺激薬MDI、その他の薬物の関係を検討するため、疫学的手法について検討、可能な研究方法として case-control study が適切と判断し第1次調査として、全国100床以上の病院小児科・内科、呼吸器科など8460診療科に5~34歳の喘息死例、致死発作救命例の調査を行った。第二次調査で80組の解析対象を得、解析する。また、致死発作救命例を、喘息死亡例との比較を行うため、縦断的解析を行う。

4) β_2 刺激薬の薬理的検討： β_2 刺激薬の反復投与による薬理作用を摘出モルモット平滑筋、ヒト培養肥満細胞、抗原感作マウスについて検討する。

5) β_2 刺激薬の長期反復曝露の気道過敏性に及ぼす影響：モルモットにfenoterol、procaterolを長期、反復曝露し、アセチルコリンに対する気道過敏性、病理学的変化を観察する。

7) β_2 刺激薬の使用法に関する臨床的検討

i) 成人：(1)発作時 β_2 刺激薬吸入の肺機能、SpO₂への影響、(2)発作時epinephrine皮下注射の副反応リスク、(3)長期管理における経口薬procaterol、fenoterol、貼付薬tulobuterolの気道過敏性への影響を検討する。

ii) 小児：発作時 β_2 刺激薬・DSCG混合液吸入によるPFR、SpO₂症状の変動を観察する。

8) MDIに関する流体力学的検討：気道局所におけるエアロゾル剤の動力学的特性を、エアロゾル剤の粒

子径と速度の同時測定、粒子径のみの測定、薬物粒子の空気力学径の直接測定を飛行時間法、平均的な薬物粒子沈着率を測定し、上気道および下気道における薬剤粒子の沈着メカニズムを評価、薬剤粒子沈着特性の数値解析には呼吸パターン、保持時間、狭窄の有無や程度、小児および成人における気道形態の差異などを計算因子とし、検討する。

9) テオフィリンの急性効果に関する検討：成人喘息の急性発作に対しテオフィリンの急性効果を評価するため、投与前後の肺機能、血中ECP・ヒスタミンを測定する。

10) 小児気管支喘息におけるテオフィリンの有効で安全な使用に関する検討：テオフィリンの副作用の痙攣発作・脳症について文献、学会報告、メーカー報告例を解析した。

11) 乳幼児におけるステロイド薬に関する検討：急性増悪及び長期管理時のステロイド薬使用法を喘息専門小児科医を対象に調査を行う。

(倫理面への配慮)

患者(保護者)にたいし、研究の目的、生じうる不利益、治験に参加しないことによって不利益を受けないことなどを説明し、十分なインフォームドコンセントを得ることを前提とし、全ての研究を行う。また疫学調査を行う時は、症例・対照ともに生年月日、性別に関するデータは収集するが、個人の氏名、住所など個人の同定を行うことが出来る情報の収集は行わない。

動物実験については動物愛護に充分配慮した上で、これを行う

C. 研究結果

1) 喘息の遺伝子多型：喘息の重症度を規定する既知遺伝子多型でIL-4受容体コドン50 Ile/Valの遺伝子多型のみが、小児アトピー喘息の発症、重症度、発症年齢と有意な関連を認め、喘息の治療反応性を規定する遺伝子の解析で β 2AR遺伝子の2カ所の遺伝子多型で、小児喘息の疾患感受性では27Gln/Gluに有意な関連を認めた。また、IL-13、シグナル伝達分子(STAT6)の遺伝子多型を同定、IL-13遺伝子は喘息遺伝子の一つであると推測され、また、IL-13の非免疫系細胞への直接的な作用による喘息発症への関与も示唆された。

2) リモデリングに関する検討：気道上皮細胞および線維芽細胞に対する細胞遊走活性には健常対照者と有意な差は認められなかった。

3) 薬物療法と喘息死：単変量解析でオッズ比が有意に高かったのは対象全体及び小児の“喘息重症度”と“fenoterol 以外の吸入 β 刺激薬”、“全吸入 β 刺激薬”であった。多変量解析で有意だったのは全体、小児、成人とも“喘息重症度”であった。

fenoterol MDI 吸入のオッズ比は、小児で単変量解析で 4.00、多変量解析で 8.49 で、統計学的に有意でなく、成人では各々 0.43、0.39 であった。

4) 致死発作救命例の解析：症例は喘息死のハイリスクグループといわれる 15～34 歳の年齢層が、約 1/3 を占め、致死発作前 1 年、1 ヶ月前では比較的濃厚な治療が行われ、吸入ステロイドに比し β_2 刺激薬の処方数が多い傾向があった。

5) β_2 刺激薬の薬理的検討：平滑筋弛緩作用は頻回反復で減弱し、ヒト培養肥満細胞からのアレルギー反応によるヒスタミン、ロイコトリエンおよびサイトカイン産生は、単回作用では抑制するが、頻回に作用させると著しく減弱し、この減弱は β 受容体と G タンパクの不連鎖に基づくものであることを明らかにした。数種の β_2 刺激薬の頻回吸入は、マウスのアレルギー性気道炎症 (IL-5 産生および好酸球増多) を増悪させるが気道過敏性への影響は見られず、1 日 2 回にすると気道炎症への影響は見られなくなった。

6) β_2 刺激薬の長期反復曝露の気道過敏性に及ぼす影響：1 日 3 回の β 刺激薬の吸入による長期反復曝露では、モルモットの気道過敏性に影響を与えなかった。

7) β_2 刺激薬の使用法に関する臨床的検討

i) 成人：(1) β_2 刺激薬吸入で悪化する例が約 30% あり、そのような症例は吸入前 SpO_2 が低値傾向であった。(2) エピネフリン皮下注射は全例有効であったが、 β 刺激薬未使用者で血清カリウムの低下を来しやすかった。(3) β_2 刺激薬長期連用の気道過敏性への影響は検討中である。

ii) 小児：PEF 低値 (大発作) の症例では肺機能の改善は小さかった。呼吸困難感が低下している症例があり、PEF による判定が有用であった。さらにフローボリュームカーブへの影響、軽症～中等症患者で、 β_2 刺激薬経口薬の長期投与効果について吸入薬頓用と比較・検討してみたい。

8) MDI に関する流体力学的検討：MDI の薬剤粒子の性状や気道内局所沈着率が吸入器の霧化条件に強く依存し、薬剤沈着特性が吸入条件によって変化し、吸入器の諸特性評価に薬剤粒子径と粒子速度を同時に測定する新たな手法が必要なこと、下気道では空気力学径を直接測定する新たな手法を既存の評価法に加えるべきであることを明らかにした。

9) テオフィリンの急性効果に関する検討：投与前後で肺機能が改善し、血中 ECP・ヒスタミンの低下を認めた。

10) 小児気管支喘息におけるテオフィリンの有効で安全な使用に関する検討：治療域でも痙攣発

作・脳症が生じるとの報告が散見され、熱性痙攣の既往や中枢神経疾患罹患者などリスクを保有する喘息児ではテオフィリンの使用は慎重におこなう必要がある。痙攣発作・脳症と治療域でのテオフィリンの因果関係を断定するにはより広範な疫学調査が必要である。小児でのテオフィリンの急性効果については、議論が多く、検討予定である。

11) 乳幼児におけるステロイド薬に関する検討：ステロイド注射薬は急性増悪時に 87% の医師が使用していたが、ステロイド経口薬使用は調査回答者 302 人中 144 人 (48%) で、経口薬使用は少なかった。長期管理における吸入ステロイド薬は、乳児からの使用は 26%、幼児からの使用は 44% で、この年齢における適切かつ効果的な使用の困難性が表れていた。

D. 考察

遺伝子多型と喘息の関連性が同定され、さらに解析を進めることにより、急性期治療で、個々の患者について、予め副作用を避け、有効な薬剤を選択する“喘息治療におけるオーダーメイドの医療”の実現性があることが示された。

喘息死と薬物に関する全国疫学調査で、単変量解析で“喘息重症度”以外に小児で、“fenoterol 以外の吸入 β_2 刺激薬 MDI の使用”、“全吸入 β 刺激薬”が統計学的に有意にリスクを上昇させていたが、多変量解析では重症度のみが有意となったのは、薬剤使用と重症度の間で交絡が起こっているために生じたと考えられる。fenoterol MDI のオッズ比が小児において、有意ではないものの、多変量解析で単変量解析より上昇したことは注意を要す。さらに、疫学調査結果の多面的な解析と、薬物販売量と喘息死亡率の関係の解析が必要である。

致死発作例でも、15～34 歳の年齢層が重要で、薬物療法で、発作予防薬と発作時治療薬に焦点をしばり検討することで問題点が明らかにされる可能性が示唆され、さらに多施設での詳細な検討が必要と考えられる。

β_2 刺激薬の薬理的検討から、 β_2 刺激薬の頻回使用は気管支拡張作用を減弱させ、アレルギー炎症を増悪させることが示唆され、喘息死・致死発作を防ぐためには、喘息患者、特に重症患者へ β_2 刺激薬 MDI の適正使用の周知徹底と、喘息ガイドラインに沿った適正な日常管理の徹底の重要性が明らかになった。一方、今回の検討からは、非感作動物モデルでの β_2 刺激薬の長期吸入療法では気道過敏性の亢進は認められなかった。今後、 β_2 刺激薬の気管支拡張作用以外の作用の詳細な解析、薬剤間の気管支拡張作用以外の作用の差異に

また、最近導入が進められている脱フロン化に伴う代替フロン、ドライパウダーに関する物理学特性について、これまで明らかになってきたMDIとの比較が緊急の課題になる。

β_2 刺激薬、テオフィリンに関する臨床的検討は、科学的根拠が不十分なまま、経験的に広く行われてきた治療で、見直しにより、より安全かつ効果的な使用指針の作成に貢献すると思われる。乳幼児のステロイド使用についての治験が未だ不十分で、安全かつ有効な使用のために使用法、評価法の共通基盤を構築することが必要である。

E. 結論

1) 個々の喘息患者について、急性期発作治療薬を、予め、副作用を避け有効な薬剤を選択するため、遺伝子多型と喘息の関連性を検討し、 β_2 adrenergic receptor (27Gln/Glu)、IL4 受容体 (50Ile/Val) が小児喘息の疾患感受性を有する遺伝子多型として同定した。さらに IL-13 遺伝子が喘息遺伝子であると解析され、これとシグナル伝達分子 (STAT6) の遺伝子多型との関連を検討中である。

2) 喘息死と急性期治療の薬物との関係、特に β_2 刺激薬との関連が問題になっている。5 ~ 34 歳の喘息死亡例と致死発作救命例 (LTA) について全国疫学調査を行い、単変量解析で小児で "fenoterol 以外の吸入 β_2 刺激薬 MDI の使用" が統計学的に有意に喘息死のリスクを上昇させていたが、多変量解析では重症度のみが有意で、薬剤使用と重症度の間で交絡が認められた。喘息死との関連が問題とされた fenoterol MDI のオッズ比は有意な上昇はなかったが、小児において、多変量解析 8.49 で、単変量解析 4.00 より上昇した。 β_2 刺激薬吸入薬の使用は、喘息のコントロールを悪化させるのか、喘息のコントロールが不十分な状態と解すべきか、その因果関係についてはさらに解析が必要である。さらに疫学調査結果の多面的な解析、薬物販売量と喘息死亡率の関係の解析も必要である。

また、致死発作救命例の検討で、薬物療法で、発作予防薬と発作時治療薬に焦点を絞り検討することで問題点が明らかにされる可能性が示唆された。

3) β_2 刺激薬の薬理学的検討から、 β_2 刺激薬の頻回使用は気管支拡張作用を減弱させ、アレルギー性気道炎症を増悪させることが示唆された。一方、非感作動物モデルでの β_2 刺激薬の長期吸入療法による気道過敏性の亢進は認められなかった。

4) β_2 刺激薬の発作時の有効で安全な利用とその限界について、科学的根拠となる文献は少ない。 β_2 刺激薬ネブライザー単独吸入効果は、重症発作で

は、肺機能の改善は小さく、小児・成人とも悪化する例がある。成人喘息発作で、エピネフリン皮下注射は有効だが、 β 刺激薬未使用者で血清カリウムの低下を来しやすい。小児の大発作の症例で、呼吸困難感が低下している症例があり、このような症例でも PEF による判定が有用であった。

5) MDI の流体力学的検討で、薬剤粒子の性状や気道内局所沈着率が吸入器の霧化条件に強く依存し、薬剤沈着特性が吸入条件によって変化し、吸入器の諸特性評価に薬物粒子径と粒子速度を同時に測定する新たな手法が必要なこと、下気道では空気力学径を直接測定する新たな手法を評価法に加えるべきである。

5) わが国の喘息急性期治療で、テオフィリンの投与は中発作以上で基本的治療の一つになっているが、急性効果を疑問視する報告も最近多く、欧米の喘息ガイドラインでは重症発作で初めて試みる治療となっている。今回、急性期治療で、小～中発作でも、投与前後で肺機能が改善し、血中 ECP・ヒスタミンの低下を認め、わが国の喘息ガイドラインの妥当性を科学的に証明すると同時に、急性期治療においても抗炎症効果があることを証明した。

6) 小児喘息におけるテオフィリンの使用について、治療域でも痙攣発作・脳症が生じるとの報告が散見され、熱性痙攣の既往や中枢神経疾患罹患児などリスクを保有する喘息児ではテオフィリンの使用は慎重おこなう必要がある。

7) 乳幼児で急性増悪時にステロイド注射薬は 87 % の専門医師が使用していたが、経口薬・吸入ステロイド薬使用率は低く、乳幼児のステロイド使用についての治験が不十分で、これらの問題点を明らかにすると同時に、安全かつ有効な使用のために使用法・評価法の共通基盤を構築する必要性を示した。

以上の研究の進展は、わが国の喘息ガイドラインの急性期治療に科学的根拠を与え、喘息の急性期治療における薬物療法をより有効で安全なものとし、喘息の増悪・喘息死を減少させ、喘息患者のQOLを改善し、治癒の促進を図ることが期待できる。

研究協力者

井原健二 (九州大学大学院医学系研究科生殖発達医学専攻成長発達医学部門講師)
出原賢治 (九州大学医学部附属病院検査部助手)
福田 健 (獨協大学アレルギー内科教授)
三河春樹 (関西電力病院院長)
中沢次夫 (群馬大学医学部保健学科教授)

足立 満(昭和大学第1内科教授)
高橋 清(国立療養所南岡山病院院長)
西間三馨(国立療養所南福岡病院院長)
鳥居新平(愛知学泉大学教授)
赤坂 徹(国立療養所盛岡病院臨床研究部長)
中江公裕(獨協医科大学公衆衛生学教授)
稲垣直樹(岐阜薬科大学薬理学助教授)
田中宏幸(岐阜薬科大学薬理学助手)
野間 剛(北里大学小児科講師)
谷口正実(国立相模原病院アレルギー科医長)
富田尚吾(国立相模原病院内科医員)
長谷川真紀(国立相模原病院診療部長)
森 晶夫(国立相模原病院内科医員)
前田祐二(国立相模原病院内科医長)
山本尚美(国立相模原病院内科医員)
徳山研一(群馬大学小児科講師)
加藤政彦(群馬大学小児科助手)
望月博之(群馬大学小児科助手)
井上圭也(群馬大学小児科医員)
荒川浩一(群馬大学小児科助手)
西村秀子(群馬大学小児科医員)
山口公一(同愛記念病院小児科主任)
平田雅昭(福岡大学医学部小児科医員)
伊藤正利(守山小児保健医療センター保健指導部長)
小田嶋 博(国立療養所南福岡病院小児科部長)
井上寿茂(大阪府立羽更野病院アレルギー小児科医長)
向山徳子(同愛記念病院小児科部長)

薬剤レセプター遺伝子解析による喘息治療薬の治療効果予測と客観的判定に関する研究

分担研究者 原寿郎 九州大学大学院医学系研究科小児科学教授

研究要旨

【目的】喘息の重症度及び薬剤感受性を規定する遺伝子多型と症状や重症度・治療反応性との関連を解析した。

【方法】＜対象集団＞アトピー素因を有する気管支喘息で管理中の小児患者。＜喘息の重症度を規定する遺伝子＞IL-4 受容体(50 Ile/Val, 551 Gln/Arg), Fcε受容体 I β (237 Glu/Gly), IL4 (-590C/T), CTLA-4 [-318C/T, 49A/G, 3'(AT)n], CD28 (IVS3+17T/C), ヒスタミン受容体 (type1, 2), ヒスタミン分解酵素, IL-13 受容体 α' <喘息の治療反応性を規定する遺伝子> β2 adrenergic receptor (β2AR) 遺伝子多型 [16 Arg/Gly, 27Gln/Glu]

【結果】IL4 受容体 50 Ile/Val の遺伝子多型が小児アトピー喘息の発症、重症度、発症年齢と有意な関連を認めた。またβ2AR 遺伝子の 27Gln/Glu が小児喘息との疾患感受性で有意な関連を認めた。

【結論】アトピー喘息を規定する遺伝子としてIL4 受容体 50 Ile/Val 遺伝子多型、喘息の治療反応性を規定する遺伝子としてはβ2AR 遺伝子 27Gln/Glu が、日本人小児喘息の疾患感受性に関わる遺伝子と考えられた。

研究協力者

井原健二

九州大学大学院医学系研究科小児科学 助手

出原賢治

九州大学大学院臨床検査医学 助手

楠原浩一

九州大学医学部附属病院周産母子センター講師

中尾太

九州大学医学部附属病院小児科 医員

Saifuddin Ahmed

九州大学大学院成長発達医学 大学院生

佐々木由佳

九州大学大学院成長発達医学 大学院生

西間三馨

国立療養所南福岡病院院長

高林明

国立療養所南福岡病院小児科医師

A. 研究目的： アトピーを規定する遺伝子の検査と気管支喘息治療薬剤の薬剤感受性を規定する遺伝子により治療反応性を予測することを目的として、本研究ではまず既知のアトピー遺伝子に加え喘息の重症度を規定する新規遺伝子多型の同定を目指す。次に、気管支喘息の治療薬剤に対する感受性に関与すると考えられる遺伝子の多型と、症状・重症度・治療反応性との関連を明らかにし、気管支喘息の発症、重症度や治療反応性の予知法を開発する。

B. 研究方法：

＜対象集団＞

アトピー素因を有する気管支喘息で当科および研究協力病院にて管理中で、インフォームドコンセントを得た小児患者。

＜喘息の重症度を規定する既知遺伝子多型の解析＞

インターロイキン(IL)-4 受容体(50 Ile/Val, 551

Gln/Arg), Fcε受容体 I β (237 Glu/Gly), IL4 (-590C/T), CTLA-4 [-318C/T, 49A/G, 3'(AT)n], CD28 (IVS3+17T/C)

<喘息の重症度を規定する新規遺伝子多型の同定と疾患関連解析>

ヒスタミン受容体 (type1, type2), ヒスタミン分解酵素, IL-13 受容体 α'

<喘息の治療反応性を規定する遺伝子の解析>

β2 アドレナリン受容体 (β2AR)

[16 Arg/Gly, 27Gln/Glu]

C. 研究結果:

<喘息の重症度を規定する既知遺伝子多型の解析>

これら遺伝子多型の中では、IL4 受容体コドン 50 Ile/Val の遺伝子多型のみが、小児アトピー喘息の発症、重症度、発症年齢と有意な関連を認めた。それ以外の遺伝子多型に関しては、有意な関連を認めなかった。

<喘息の重症度を規定する新規遺伝子多型の同定と疾患関連解析>

スクリーニングの結果、それぞれの遺伝子において新規の遺伝子多型を同定した。しかし、これらの多型と小児アトピー喘息の疾患関連性は認めなかった。

<喘息の治療反応性を規定する遺伝子の解析>

β2AR 遺伝子の 2 カ所の遺伝子多型の小児喘息との疾患感受性では、27Gln/Glu において有意な関連を認めた。

D. 考察

成人のアレルギー性疾患では遺伝的要因はあまり明らかではないが、小児のアレルギー性疾患では環境要因のみならず少なくとも一部には遺伝的要因が関与していることが指摘されている。遺伝的要因として 10 数個の候補遺伝子が報告されており、近年、特定の遺伝子多型とアトピーとの関連が明らかとなってきた。今回の我々の解析結果では、少なくとも今回解析した遺伝子の中では、IL4 受容体 50 Ile/Val の遺伝子多型が最も重要な遺伝的な背景因子であると考えられた。この多型は、IL4 受容体以降のシグ

ナル伝達において機能的重要性が証明されたことから、臨床的にアトピー素因のスクリーニング検査になりうると思われた。その他の既知のあるいは今回新しく発見された遺伝子多型においては、小児アトピー喘息への疾患感受性は認めなかったが、日本人以外の遺伝的背景を持つ集団においてさらに検討する必要がある。喘息の治療反応性を規定する遺伝子として β2AR 遺伝子多型を調べたところ、疾患感受性に関しては 27Gln/Glu において有意な関連を認めた。今後は、臨床的な β2 刺激剤の反応性や、気道過敏性の生理検査等のパラメーターとの関連をより詳細に検討し、さらには IL4 受容体 50 Ile/Val などの喘息の重症度を規定する遺伝子多型との組み合わせにおいて、治療と病態の関連を詳細に検討する必要がある。

E. 結論:

アトピー素因あるいは小児気管支喘息を規定する遺伝子の中では IL4 受容体 50 Ile/Val 遺伝子多型、喘息の治療反応性を規定する遺伝子としては β2AR 遺伝子 27Gln/Glu が、日本人における小児喘息の疾患感受性に関わる遺伝子多型であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Mitsuyasu H, Yanagihara Y, Mao X-Q, Gao P-S, Arinobu Y, Ihara K, Takabayashi A, Hara T, Enomoto T, Sasaki S, Kawai M, Hamasaki N, Shirakawa T, Hopkin JM, Izuhara K.

Dominant effect of Ile50Val variant of the human interleukin-4 receptor α chain in IgE synthesis.

J Immunol 1999; 162: 1227-1231

Takabayashi A, Ihara A, Sasaki Y, Kusuhara K, Nishima S, Hara T

Novel polymorphism in the 5'-untranslated region of interleukin-4 gene.

J Hum Genet 1999;44: 352-353

Sasaki Y, Ihara K, Ahmed S, Yamawaki K,

Kusuhara K, Nakayama H, Nishima S, Hara T なし
 Lack of association between atopic asthma and 2. 実用新案登録
 polymorphisms of the histamine H1 receptor, なし
 histamine H2 receptor and histamine N- 3. その他
 methyltransferase genes. なし
 Immunogenet (in press)

Takabayashi A, Ihara K, Sasaki Y, Suzuki Y,
 Nishima S, Izuhara K, Hamasaki N, Hara T
 Childhood atopic asthma showed a positive
 association with a polymorphism of Interleukin-4
 receptor a gene but not with that of Interleukin-4
 promoter or Fc ε receptor I b gene.
 Exp Clin Immunogenet (in press)

Nakao F, Ihara K, Sasaki Y, Ahmed S, Kusuhara K,
 Nishima S, Takabayashi A, Hara T.
 Lack of association between CD28/CTLA-4 gene
 polymorphisms and atopic asthma in Japanese
 population
 Exp Clin Immunogenet (in press)

Ahmed S, Ihara K, Sasaki Y, Nakao F, Nishima S,
 Fujino T, Hara T.
 Novel polymorphism in the coding region of IL-13
 receptor α' gene: Association study with atopic
 asthma in the Japanese population
 Exp Clin Immunogenet (in press)

2. 学会発表

Takabayashi A, Sasaki Y, Ihara K, Izuhara K,
 Suzuki Y, Nishima S, Hara T. Association between
 childhood atopic asthma and polymorphisms of the
 three candidate genes: Interleukin-4 receptor,
 Interleukin-4 promotor and Fc ε receptor genes.
 (Abstract) 9th Congress of interasma Japan/ North
 Asia, Tokyo, 1999

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

気管支喘息急性期治療における薬物の科学的根拠に関する研究

気道リモデリング・薬剤レセプターに関する研究班

分担研究者

濱崎直孝

九州大学大学院医学系研究科臨床分子医学講座教授

研究要旨 気管支喘息の治療に対する反応性、副作用の出現における遺伝的素因を明らかにするために、まず気管支喘息の発症、病態に関与する遺伝子の同定を試みた。IL-13遺伝子とSTAT6遺伝子上における遺伝的多型を同定して、遺伝学的に気管支喘息の発症と相関する多型を同定した。IL-13レセプターは気道組織においては気道上皮細胞と気管支平滑筋に高発現しており、IL-13はこれらの細胞に直接作用することにより、気管支喘息の発症に関与しているのではないかと考えられた。STAT6遺伝子の遺伝的多型に関しては、両者の発現量に差は認められなかった。

研究協力者

出原賢治

九州大学医学部附属病院検査部助手

A. 研究目的

わが国での一般的な気管支喘息に対する治療であるβ2刺激薬、テオフィリン薬の投与に対する反応性、副作用の出現頻度の個人間、あるいは人種間による違いが何らかの遺伝的素因により規定されているかどうか明らかにすることを目的とした。それにより、喘息の重症度、治療反応性を予知することができるようになり、その結果個々の患者に合った治療を行うことができるようになると期待される。

B. 研究方法

今年度はまず気管支喘息の発症、病態に関与する候補遺伝子の同定を行うことを目指し、その候補遺伝子としてサイトカインのリガンドであるIL-13遺伝子とサイトカインのシグナル伝達分子であるSTAT6遺伝子の二つを選び出した。そして、それらの遺伝子上における遺伝的多型の有無をSSCP法、シーケンス法で同定した。

次に、日本人とイギリス人という二つの人種において、症状の重症度あるいはアトピー性、非アトピー性にグループ別した気管支喘息患者、正常者のDNAにおけるこれらの遺伝的多型の出現頻度を解析して、遺伝学的に有意に相関する多型が存在するかどうか解析した。

遺伝学的に気管支喘息と相関する同定された遺伝

的多型についてはさらに機能的解析を進めた。第一に、正常型、アレルギー型の配列を持った蛋白質を作製して、その機能に差異があるか解析を行っている。第二に、正常型、アレルギー型の配列を持った個人由来の細胞を用いて、その機能に差異があるか解析を行った。

C. 研究結果

①IL-13遺伝子

SSCP法によりIL-13遺伝子上で成熟蛋白質の開始点より110番目のアミノ酸がアルギニンからグルタミンに置換される遺伝的多型が存在することを同定した。日本人、イギリス人のどちらのグループにおいてもアトピー性、非アトピー性に関わらず、喘息患者においてグルタミンの頻度がオッズ比で約2倍高くなっていた。また血中IL-13値も、グルタミン型においてアルギニン型に比べて高かった。これらの結果より、グルタミン型のIL-13遺伝子は遺伝学的に喘息の原因遺伝子であると考えられた。

コンピューターモデリングにより両者の立体構造は異なり、レセプターとの結合に差を生ずるのではないかと予想された。

遺伝学的解析よりIL-13は直接肺組織に作用することにより、気管支喘息の発症に関与しているのではないかと考えられた。気道組織におけるIL-13の標的細胞を同定するために、IL-13レセプターα鎖1(IL-13Rα1)に対するモノクローナル抗体を作製して、免疫染色を行った。その結果、IL-13Rの構成成分であるIL-13Rα1とIL-4レセプターα鎖は、ともに気道組

織においては気道上皮細胞と気管支平滑筋に高発現していることが判明した。

②STAT6遺伝子

SSCP法によりSTAT6遺伝子の3'非翻訳領域における2964番目の塩基がAからGへと置換する遺伝的多型を同定した。日本人のグループ内の軽中症の成人アトピー性喘息患者においてGのホモ接合型が多かった。しかしイギリス人においては相関は認められなかった。

この遺伝的多型がSTAT6蛋白質の発現調節に関与しているか解析するために、2964番目の塩基がAのホモ接合型、あるいはGのホモ接合型の正常者由来のB細胞、T細胞における刺激時、非刺激時のSTAT6の発現量を比較した。しかし、遺伝的多型によるSTAT6の発現量に差は認められなかった。

D. 考察

IL-13遺伝子に関しては、アルギニン型とグルタミン型の2つのタイプにおいて機能的な差があるのか、現在解析を進めているところである。もし差が認められれば、IL-13遺伝子は喘息遺伝子の一つであることが証明される。今後はまずこの遺伝的多型が機能的に差異があるかどうかを確定し、さらに気管支喘息の患者の治療反応性、薬剤に対する副作用の出現においてこの遺伝的多型が関連するかどうか解析を進める必要があると考えられた。

STAT6遺伝子の遺伝的多型に関しては、遺伝学的には喘息の発症と関連は認められたが、機能的には差異は認められなかった。今後は、今回見つけられた遺伝的多型と連鎖不均衡の関係にあるか、機能的に違いを生ずるこれ以外の遺伝的多型の同定を行っていく必要があると考えられた。その上でどの遺伝的多型が気管支喘息の患者の治療反応性、薬剤に対する副作用の出現と関連についての解析を考慮する必要があると考えられた。

E. 結論

1) IL-13遺伝子上で110番目のアミノ酸がアルギニンからグルタミンに置換される遺伝的多型が存在し、グルタミン型のIL-13遺伝子は遺伝学的に喘息と相関

が認められた。IL-13Rの構成成分であるIL-13R α 1とIL-4R α は、ともに気道組織においては気道上皮細胞と気管支平滑筋に高発現しており、IL-13はこれらの細胞に作用することにより、気管支喘息の発症に関与しているのではないかと考えられた。

2) STAT6遺伝子の3'非翻訳領域における2964番目の塩基がAからGへと置換する遺伝的多型を同定し、日本人においてはGのホモ接合型とアトピー性喘息の間に相関を認めた。しかし、この遺伝的多型によるSTAT6の発現量に差は認められなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanai N, Yanai F, Hirose S, Nibu K, Izuhara K, Tani T, Kubota T, and Mitsudome A: A "G" to "A" Transition at the Last Nucleotide Mutation of Exon 6 of the γ c Gene (868G \rightarrow A) May Result in Either a Splice or Missense Mutation in Patients with X-Linked Severe Combined Immunodeficiency. *Hum. Genet.* 104, 36-42, 1999
- 2) Mitsuyasu H, Yanagihara Y, Mao X-Q, Gao P-S, Arinobu Y, Ihara K, Takabayashi A, Hara T, Enomoto T, Sasaki S, Kawai M, Hamasaki N, Shirakawa T, Hopkin JM, and Izuhara K: Dominant Effect of Ile50Val Variant of the Human Interleukin-4 Receptor α Chain in IgE Synthesis. *J. Immunol.* 162, 1227-1231, 1999
- 3) Arinobu Y, Atamas SP, Otsuka T, Niino H, Yamaoka K, Mitsuyasu H, Niho Y, Hamasaki N, White B, Izuhara K: Antagonistic Effects of an Alternative Splice Variant of Human IL-4, IL-4 δ 2, on IL-4 Activities in Human Monocytes and B Cells. *Cell. Immunol.* 191, 161-167, 1999
- 4) Izuhara K, Arinobu Y, Sumimoto H, Nunoi N, Takeya R, Higuchi K, Takeshige K, Hamasaki N, Harada N: Association of the Interleukin-4 Receptor α Chain with p47^{phox}, an Activator of the Phagocyte NADPH Oxidase in B cells. *Mol. Immunol.* 36, 45-52, 1999
- 5) Akaiwa M, Yae Y, Sugimoto R, Suzuki SO, Iwaki T, Izuhara K, and Hamasaki N: Hakata Antigen, a New Member of the Ficolin/Opsonin p35 Family, Is a Novel Human Lectin Secreted into Bronchus/Alveolus and Bile. *J. Histochem. Cytochem.* 47, 777-786, 1999
- 6) Yamaoka K, Otsuka T, Niino N, Nakashima H, Tanaka Y, Nagano S, Ogami E, Niho Y, Hamasaki N, Izuhara K: Selective DNA-Binding Activity of IL-10-Stimulated STAT Molecules in Human Monocytes. *J. Interferon Cytokine Res.* 19, 679-685, 1999

7)Nemoto Y, Otsuka T, Niuro K, Izuhara K, Yamaoka H, Nakashima H, Niho Y:

Differential Effects of Interleukin-4 and Interleukin-10 on Nitric Oxide Production by Murine Macrophages. Inflammation Research, 48, 643-650, 1999

8)Izuhara K, Hamasaki N, Adra CN, Shirakawa T, Hopkin JM:

Emerging Therapeutic Targets in Allergy: IL-4R α and Stat6.

Emerging therapeutic targets 3: 381-389, 1999

9)Heinzmann A, Mao X-Q, Akaiwa M, Kreomer RT, Gao P-S, Ohshima K, Umeshita R, Abe Y, Braun S, Yamashita T, Roberts MH, Sugimoto R, Arima K, Arinobu Y, Yu B, Kruse S, Enomoto T, Dake Y, Kawai M, Shimazu S, Sasaki S, Adra CN, Kitaichi M, Inoue H, Yamauchi K, Tomichi N, Kurimoto F, Hamasaki N, Hopkin JM, Izuhara K, Shirakawa T, Deichmann KA: Genetic Variants of IL-13 Signalling and Human Asthma and Atopy.

Hum. Mol. Genet. 9, 549-559, 2000

10)Shirakawa T, Deichman KA, Izuhara K, Mao X-Q, Adra CN, Hopkin JM:

Atopy and Asthma: Genetic Variants of IL-4 and IL-13 Signalling.

Immunol. Today 21: 60-64, 2000

11)Kojima M, Morisaki T, Izuhara K, Uchiyama A, Matsunari M, Katano M, Tanaka M:

Direct Effect of Lipopolysaccharide on Prostaglandin E2 Production by Colon Carcinoma through Nuclear Factor- κ B Activation and Cyclooxygenase-2 Induction.

Oncogene, in press

12)Takabayashi A, Ihara K, Sasaki Y, Izuhara K, Hamasaki N, Suzuki Y, Nishima S, and Hara T:

Association between Childhood Atopic Asthma and Polymorphisms of Three Candidate Genes: Interleukin-4 Receptor, Interleukin-4 Promoter and Fc ϵ Receptor Genes.

Exp. Clin. Immunogenet. in press

13)Gao P-S, Mao X-Q, Arinobu Y, Izuhara K, Roberts MH, Deichmann KA, Adra CN, Hamasaki N, Shirakawa T, Hopkin JM:

Stat6 and atopic asthma.

J. Med. Genet. in press

14)Izuhara K, Umeshita R, Akaiwa M, Shirakawa T, Deichmann KA, Arima K, Yu B, Hamasaki N, Hopkin JM:

Recent advances in understanding how interleukin-13 signals are involved in the pathogenesis of bronchial asthma.

Arch. Immunol. Therap. Exp. in press

15)Izuhara K, Yanagihara Y, Mitsuyasu H, Arinobu Y, Hamasaki N, Shirakawa T, and Hopkin, JM:

Atopy and the Human Interleukin-4 Receptor α Chain. J. Allergy Clin. Immunol. in press

2. 学会発表

1)Izuhara K:

The Role of Interleukin-4 receptor in Atopy. 17th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 1999, Firenze, Italy (Round Table)

2)出原賢治、白川太郎、柳原行義:

アトピーの遺伝子レベルでの予知—IL-4レセプターを中心として—.

第11回日本アレルギー学会春季臨床大会.

1999年, 大阪

(シンポジウム)

3)出原賢治:

IL-13レセプターの発現調節機構とシグナル伝達.

第49回日本アレルギー学会. 1999年, 広島

(シンポジウム)

4)赤岩美奈、大島孝一、梅下律子、北市正則、富地信和、井上洋西、杉本理恵、有信洋二郎、有馬和彦、于彬、Xiao-Quan Mao、濱崎直孝、Julian M Hopkin、白川太郎、出原賢治:

肺組織におけるIL-13レセプター α 1とIL-4レセプター α の局在について.

第9回日本免疫学会. 1999年, 京都

(一般演題)

5)関則靖、有馬和彦、林克彦、杉本理恵、出原賢治、久保允人:

ヒトIL-4レセプター α 鎖トランスジェニックマウスを用いたT細胞機能分化決定機構の解析.

第9回日本免疫学会. 1999年, 京都

(一般演題)

6)有信洋二郎、杉本理恵、赤岩美奈、有馬和彦、梅下律子、于彬、大塚毅、仁保喜之、濱崎直孝、出原賢治:

活性化B細胞、T細胞におけるStat6の発現増強について.

第9回日本免疫学会. 1999年, 京都

(一般演題)

7)梅下律子、杉本理恵、有馬和彦、有信洋二郎、赤岩美奈、于彬、和田守正、桑野信彦、濱崎直孝、出原賢治:

IL-13、IL-4シグナル伝達におけるヒトIL-13受容体 α 1鎖細胞内領域の機能解析.

第9回日本免疫学会. 1999年, 京都

(一般演題)

8)松田正、山本哲也、孫榮華、十二町明、吉村昭彦、出原賢治、川畑正博、宮園浩、平村口篤:

再構成系におけるJAK-STAT経路とTGF- β のシグナル伝達系のクロストーク.

第9回日本免疫学会. 1999年, 京都

(一般演題)

G. 知的所有権の取得状況

特に記載すべき事なし

気道リモデリングに関与する細胞遊走に関する研究

分担研究者 庄 司 俊 輔

国立療養所南福岡病院 副院長

研究要旨

気管支喘息患者の気道粘膜に生じる構造変化である「気道のリモデリング」における線維芽細胞、気道上皮細胞および血管内皮細胞の細胞遊走の役割を検討した。これらの細胞は喘息患者から得られた気道洗浄液に対しては反応しなかったが、主要な細胞外基質因子のひとつであるコラーゲンのうち、特にⅠ型とⅣ型コラーゲンに対し遊走し、Ⅲ型コラーゲンには反応しなかった。これは気道リモデリングにおけるコラーゲンの型による違いを表し、それぞれの結合織中での働きを示唆していると考えられる。

研究協力者

福 田 健

獨協医科大学アレルギー・呼吸器科
教授

細胞、上皮組織における気道上皮細胞、および血管内皮細胞の遊走について検討するのが主たる目的である。研究の方向は大きく分けて二通りであり、ひとつは気管支喘息患者の末梢血、喀痰、および気道洗浄液などを検体として用い、気管支喘息患者より採取された検体と健常人から得られた検体の有する細胞遊走活性を比較検討することであり、もうひとつは、気道の修復やリモデリングで重要とされている細胞外基質(ECM)因子の代表であるコラーゲン分子をはじめとする種々の活性物質を用いた。

A. 研究目的

喘息患者の気道粘膜において組織の構造変化である「気道のリモデリング」は組織が傷害から修復へ向かう過程でのひとつの病態であり、組織を構成する上皮細胞、内皮細胞および血管内皮細胞などがすべて活性化され、傷害組織に遊走し、増殖しながら、かつ自らも種々の遊走因子やサイトカインを産生・放出して気道の修復やリモデリングに関与するものと考えられる。今回の研究では、培養細胞を用いた *in vitro* での実験により、結合織における線維芽

B. 研究方法

気管支患者および健常者コントロールからの検体としては、末梢血

由来の血清、排出喀痰、気管支肺胞洗浄(BAL)液などが考えられるが、初年度は最も直接的に気道粘膜の情報を提供しうると考えられるBAL液を用いて検討を行った。細胞はすべて培養細胞を用い、気道上皮細胞にはウシ肺より得られた正常初代気管支上皮細胞を、線維芽細胞にはヒト胎児肺より得られた二倍体線維芽細胞株であるHFL-I細胞を、そして、血管内皮細胞にはウシ肺動脈より単離された血管内皮細胞を用いた。細胞遊走実験には、48穴の改良型ポイデンチャンバーを使用した。BAL液は安定している気管支喘息患者と、健常人（実際には肺ガン患者切除肺の健常部）より採取し、その中に存在するそれぞれに対する遊走活性を測定した。

コラーゲンは、主として線維芽細胞より産生され基底膜の主要構成成分となるIV型コラーゲン、結合織中のコラーゲンの大半を占めるI型コラーゲン、および、気道リモデリングの特徴ともいえる基底膜（下）肥厚の主成分であるIII型コラーゲンを培養液に溶解し、それぞれの有する細胞遊走活性を測定した。

C. 研究結果

(1) 気管支喘息患者気道より得られたBAL液と健常人（肺癌患者切除

肺の健常部）気道より得られたBAL液の間には、気道上皮細胞、線維芽細胞および血管内皮細胞に対する細胞遊走活性に関しての有意な差は認められなかった。

(2) 気道上皮細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞の何れもが、IV型コラーゲンに対して有意な遊走を行ったが、これに対して、III型コラーゲンに対しては全く遊走しなかった。I型コラーゲンに対しては、気道上皮細胞と線維芽細胞は遊走したが、血管内皮細胞は有意な細胞遊走を行わなかった。

D. 考察

今回気管支喘息患者と健常者間で有意な細胞遊走活性が認められなかったことの原因としてBAL液の希釈に原因がある可能性もある。濃縮して高い濃度の蛋白を生成し、再度遊走実験を行う必要があると思われる。

IV型コラーゲンに対して気道上皮細胞、線維芽細胞および血管内皮細胞が有意な遊走を示したことは、正常な基底膜の構築が行われることが気道粘膜の修復を進める上で重要であることを示唆し、これに対し、III型コラーゲンが各種細胞に対して全く遊走活性を示さなかったことは、気道リモデリングの際のIII型コラー

ゲンの大量沈着を来す病態においてはそれらの細胞遊走が妨げられ、ひいては気道粘膜の修復が阻害されることを想像させる。

E. 結論

(1) 寛解期にある気管支喘息患者より得られた気管支肺胞洗浄液は生理食塩水により希釈された採取状態の濃度では線維芽細胞、気道上皮細胞および血管内皮細胞に対する細胞遊走活性を有しなかった。

(2) 結合織中に存在する主たる細胞外基質蛋白であるコラーゲンを用いた細胞遊走実験では、上記の線維芽細胞、気道上皮細胞ならびに血管内皮細胞は、I型コラーゲンとIV型コラーゲンに対しては遊走したが、III型コラーゲンに対しては遊走しなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 庄司俊輔：

気管支喘息の up-to-date 気道粘膜の修復とリモデリング。

医療 53：239-245, 1999.

2) 庄司俊輔：

気道修復とサイトカイン フィブロネクチンを中心に。

呼吸 18：542-548, 1999.

3) 庄司俊輔：

〔アレルギー疾患の現状〕概念と病態の今日的理解 気管支喘息。

カレントセラピー 17：418-425, 1999.

4) 庄司俊輔：

〔アレルギー疾患-病態と診断の進歩〕アレルギーの病態 気道のリモデリング。

診断と治療 87：233-238, 1999.

5) 庄司俊輔：

気道炎症とリモデリング。

Progress in Medicine 19：2713-2718, 1999.

2. 学会発表

1) 庄司俊輔：

気管支喘息でのリモデリングにおける結合織病変成立の機序。

アレルギー 48：230, 1999.

2) 庄司俊輔、枝富貴子、森田寛、川本雅史、西間三馨：

気管支喘息でのリモデリングにおける血管新生の意義と血管内皮細胞遊走実験による検討。

呼吸 18(Suppl)：S21-S22, 1999.

β₂刺激薬MDIと喘息死・LTAに関する全国疫学調査結果

分担研究者 中村好一（自治医科大学保健科学講座 疫学・地域保健学部門）

β₂刺激薬MDIと喘息死及びLTAの関連を検討するために、症例対照研究を実施した。症例：対照を1：1で選択し、80組（小児48組、成人32組）が解析対象（死亡24組、LTA56組）となった。単変量解析ではfenoterol以外の吸入β₂刺激薬MDIが有意にリスクを上昇させていたが、多変量解析では重症度のみが有意であった。薬剤使用と喘息死・LTAの関連を検討するには重症度を考慮することが必須である。

キーワード：β₂刺激薬MDI、喘息死、重症度、症例対照研究

研究協力者：

谷原真一（自治医大保健科学疫学・講師）

三河春樹（関西電力病院・院長）

中沢次夫（群馬大学保健学科・教授）

足達 満（昭和大学第1内科・教授）

高橋 清（国立療養所南岡山病院・病院長）

西間三馨（国立療養所南福岡病院・病院長）

鳥井新平（愛知学泉大学・教授）

赤坂 徹（国立療養所盛岡病院・
臨床研究部部長）

中江公裕（獨協大学公衆衛生・教授）

永井博式（岐阜薬科大学薬理学・教授）

松井猛彦（都立荏原病院小児科・医長）

・LTAに性・年齢を一致させたコントロールを1:1で選択し、治療状況、重症度、発作頻度、薬剤使用歴などの情報を調査票にて収集した。死亡・LTAと使用薬物の関係を多重ロジスティックモデルで喘息の重症度を調整した上で検討した。小児（19歳以下）の場合は喘息死前1年間に大発作の経験がある者、成人（20歳以上）の場合は日常生活がしばしば、もしくはそれ以上障害される者を重症とした。使用薬物については喘息死・LTAの発生日より1月前の期間、常用または頓用に関わらず、キサンチン誘導体、内服β刺激薬、抗アレルギー剤内服、経口ステロイド、吸入ステロイド、fenoterol吸入、fenoterol以外の吸入β₂刺激薬MDIの有無を検討した。また年齢の交互作用を検討するため、全体、小児のみ、成人のみ、の3通りの分析を行った。統計学的分析にはPC-SAS（ver6.12）を使用した。

A. 研究目的

重症度を考慮した上でβ₂刺激薬MDIと喘息死及び致死的高度発作救命例(LTA)の関連を検討する。

B. 研究方法

「喘息死と薬物に関する研究班」の第1次調査結果をもとに1994（平成6）年から1996（平成8）年に35歳未満の喘息死・LTAを経験した医療機関より、死亡例

C. 研究結果

80組（小児48組、成人32組）が解析

対象（死亡 24 組、LTA56 組）となった。全体の分析では単変量解析の場合（表 1）、fenoterol 以外の吸入 β_2 刺激薬 MDI 使用（オッズ比（以下 OR）=4.5）、吸入 β_2 刺激薬 MDI 使用（OR=4.25）及び重症度（OR=9.3）が統計学的有意（ $P < 0.05$ ，以下同様）に喘息死・LTA のリスクを上昇させていた。多変量解析の結果は（表 2）、重症度（OR=10.9）のみが統計学的に有意にリスクを上昇させていた。

小児の場合、単変量（表 3）では全体と同様、fenoterol 以外の吸入 β_2 刺激薬 MDI 使用（OR=5.5）、吸入 β_2 刺激薬 MDI 使用（OR=3.7）及び重症度（OR=13.0）が統計学的有意に喘息死・LTA のリスクを上昇させていた。多変量解析の結果（表 4）も全体と同様、重症度（OR=13.5）のみが統計学的に有意にリスクを上昇させていた。

成人の場合、単変量（表 5）では、fenoterol 以外の吸入 β_2 刺激薬 MDI 使用（OR=3.5）、吸入 β_2 刺激薬 MDI 使用（OR=6.0）は 1 より大きいオッズ比が観測されたが、統計学的に有意ではなかった。重症度（OR=7.5）はこれまでと同様、統計学的に有意に喘息死・LTA のリスクを上昇させていた。多変量解析の結果（表 6）、重症度（OR=23.8）のみが統計学的に有意にリスクを上昇させていた。統計学的に有意ではなかったが、吸入ステロイドの使用（OR=0.15）はリスクを大きく減少させていた点は、小児と異なっていた。

また、全体、小児、成人ともに統計学的に有意でなかったが、多変量解析で fenoterol 以外の吸入 β_2 刺激薬 MDI 使用のオッズ比（全体 2.3、小児 2.3、成人 1.3）は 1 以上であった。

D. 考察

吸入ステロイドの使用の喘息死・LTA 発生リスクへの影響は年齢階級で異なっ

ていた。小児では吸入ステロイドの使用がまれであるため、偶然誤差による結果と考えられる。その他の変数では年齢によってリスクへの影響が大きく変化するものは存在しなかった。単変量解析で fenoterol 以外の吸入 β_2 刺激薬 MDI の使用が統計学的に有意にリスクを上昇させていたが、多変量解析では重症度のみが有意となったことは、薬剤使用と重症度の間で交絡が起こっているために生じたと考えられる。

小児と成人では重症度の定義が異なる、小児と成人を分類する年齢が高すぎる可能性の存在、等の問題は今後の課題である。

E. 結論

薬剤使用と喘息死・LTA の関連を検討するには重症度を考慮することが必須である。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当事項なし

2. 学会発表

1：谷原真一、大木いずみ、尾島俊之、中村好一、喘息死亡の年次推移に関する 1 考察、第 10 回日本疫学会総会、米子市、2000 年 1 月 27 日。（J Epidemiol (suppl) 10(1):89,2000.）

表1・治療内容及び重症度が喘息死・LTAIに与える影響(全体・単変量)

項目	暴露/非暴露	オッズ比	(95%信頼区間)
キサンチン誘導体	あり/なし	0.61	(0.29 - 1.29)
β刺激薬内服	あり/なし	0.80	(0.37 - 1.71)
抗アレルギー剤内服	あり/なし	1.06	(0.55 - 2.01)
fenoterol吸入	あり/なし	0.88	(0.32 - 2.41)
それ以外の吸入β薬	あり/なし	4.50**	(1.52 - 13.30)
全吸入β刺激薬	あり/なし	4.25**	(1.43 - 12.63)
重症度	重症/軽症	9.33**	(2.84 - 30.70)
吸入ステロイド	あり/なし	0.88	(0.44 - 1.77)
経口ステロイド	あり/なし	2.00	(0.68 - 5.85)

注:交絡因子の調整は多重ロジスティックモデルによる。 (**p<0.01, *p<0.05)

表2・治療内容及び重症度が喘息死・LTAIに与える影響(全体・多変量)

項目	暴露/非暴露	オッズ比	(95%信頼区間)
キサンチン誘導体	あり/なし	0.61	(0.22 - 1.72)
β刺激薬内服	あり/なし	0.68	(0.24 - 1.95)
抗アレルギー剤内服	あり/なし	0.95	(0.42 - 2.15)
fenoterol吸入	あり/なし	1.36	(0.24 - 7.70)
それ以外の吸入β薬	あり/なし	2.34	(0.66 - 8.27)
重症度	重症/軽症	10.90**	(2.42 - 49.13)
吸入ステロイド	あり/なし	0.69	(0.27 - 1.80)
経口ステロイド	あり/なし	0.73	(0.14 - 3.81)

注:交絡因子の調整は多重ロジスティックモデルによる。 (**p<0.01, *p<0.05)

表3・治療内容及び重症度が喘息死・LTAIに与える影響(小児・単変量)

項目	暴露/非暴露	オッズ比	(95%信頼区間)
キサンチン誘導体	あり/なし	0.73	(0.29 - 1.81)
β刺激薬内服	あり/なし	1.14	(0.41 - 3.15)
抗アレルギー剤内服	あり/なし	1.22	(0.51 - 2.95)
fenoterol吸入	あり/なし	4.00	(0.45 - 35.79)
それ以外の吸入β薬	あり/なし	5.50*	(1.22 - 24.81)
全吸入β刺激薬	あり/なし	3.67*	(1.02 - 13.14)
重症度	重症/軽症	13.00*	(1.70 - 99.38)
吸入ステロイド	あり/なし	2.50	(0.78 - 7.97)
経口ステロイド	あり/なし	1.00	(0.14 - 7.10)

注:交絡因子の調整は多重ロジスティックモデルによる。 (**p<0.01, *p<0.05)

表4・治療内容及び重症度が喘息死・LTAIに与える影響(小児・多変量)

項目	暴露/非暴露	オッズ比	(95%信頼区間)
キサンチン誘導体	あり/なし	0.38	(0.10 - 1.49)
β刺激薬内服	あり/なし	1.61	(0.38 - 6.79)
抗アレルギー剤内服	あり/なし	1.60	(0.53 - 4.78)
fenoterol吸入	あり/なし	8.49	(0.29 - 246.34)
それ以外の吸入β薬	あり/なし	2.31	(0.36 - 15.00)
重症度	重症/軽症	13.54*	(1.07 - 172.12)
吸入ステロイド	あり/なし	3.05	(0.61 - 15.27)
経口ステロイド	あり/なし	0.23	(0.01 - 4.50)

注:交絡因子の調整は多重ロジスティックモデルによる。 (**p<0.01, *p<0.05)

表5・治療内容及び重症度が喘息死・LTAIに与える影響(成人・単変量)

項目	暴露/非暴露	オッズ比	(95%信頼区間)
キサンチン誘導体	あり/なし	0.43	(0.11 - 1.66)
β刺激薬内服	あり/なし	0.50	(0.15 - 1.66)
抗アレルギー剤内服	あり/なし	0.89	(0.34 - 2.30)
fenoterol吸入	あり/なし	0.43	(0.11 - 1.66)
それ以外の吸入β薬	あり/なし	3.50	(0.73 - 16.85)
全吸入β刺激薬	あり/なし	6.00	(0.72 - 49.84)
重症度	重症/軽症	7.50**	(1.72 - 32.80)
吸入ステロイド	あり/なし	0.39	(0.14 - 1.08)
経口ステロイド	あり/なし	2.67	(0.71 - 10.05)

注:交絡因子の調整は多重ロジスティックモデルによる。 (**p<0.01, *p<0.05)

表6・治療内容及び重症度が喘息死・LTAIに与える影響(成人・多変量)

項目	暴露/非暴露	オッズ比	(95%信頼区間)
キサンチン誘導体	あり/なし	2.02	(0.10 - 42.94)
β刺激薬内服	あり/なし	0.10	(0.01 - 1.18)
抗アレルギー剤内服	あり/なし	0.33	(0.06 - 1.91)
fenoterol吸入	あり/なし	0.39	(0.02 - 9.12)
それ以外の吸入β薬	あり/なし	1.26	(0.09 - 18.20)
重症度	重症/軽症	23.83*	(1.32 - 430.89)
吸入ステロイド	あり/なし	0.15	(0.02 - 1.02)
経口ステロイド	あり/なし	1.32	(0.08 - 22.71)

注:交絡因子の調整は多重ロジスティックモデルによる。 (**p<0.01, *p<0.05)

研究課題名：気管支喘息急性期治療における薬物の科学的根拠に関する研究

分担課題名：致命的喘息発作と薬物療法に関する研究

分担研究者：西尾 健

国立療養所南福岡病院 小児科

研究要旨：

喘息死の変動が問題となり、さまざまな角度で検討されてきた。予期せざる急死という喘息死の特徴上、分析には限界がある。その点から、致命的喘息発作例は、喘息死群に原因ならびに交絡因子が酷似し、喘息死のより適確なリスクファクターを検討できうる。15～34歳の年齢層は、ハイリスクグループとして、最近問題となっており、この年齢層を対象として、中でも小児期発症の喘息を中心に詳しく検討することは、致命的喘息発作例の問題点を明らかにする意味で、極めて重要と考えられる。

更に、その問題点を個別に経年的に詳細な分析を行い、複数の喘息専門施設の症例で薬物治療などの問題点を確認することにより、適切な喘息治療管理につながる成果を得る。

研究協力者

山口公一 同愛記念病院小児科 小児科主任
平田雅昭 福岡大学医学部小児科助手

A. 研究目的

喘息死が現在、国内においてもまた海外においても大きな問題になっている。とくに日本では喘息罹患率に比して相対的に喘息死亡率が高いのが問題であ

る。しかし、疫学調査や薬理学的な研究などによっても必ずしも明快な確証が得られないのが現状である。一方、致命的喘息発作例は、喘息死例に原因ならびに交絡因子が類似し、喘息死のリスクファクターをより適確に検討できるといわれている。そこで、致命的喘息発作例と薬物療法の関係は、喘息死例を把握し、減少させる意味において重要である。喘息死の年齢層に関しては、15～34歳の死亡率が近年増加し、ハイリスクグループとして、とくに問題となっていた。この年代は、致命的喘息発作例でも同一のグループであり、社会的、経済的、精神的な問題も薬物療法と複雑に絡み、難治化を助長し

ている。

本研究は致命的喘息発作例と薬物療法との関連を究明することで、難治化の予防および、致命的喘息発作の再発の防止によって、喘息死の減少をきたすことを目的とする。

B. 研究方法

致命的喘息発作例を、以下の方法で検討する。まず、一専門施設における1990年～1997年の致命的喘息発作例を対象とした。その対象例で、症例数の年次的推移、年齢構成、男女比、罹病期間、外来受診回数、入院回数を検討する。それらに関して、特に喘息死で問題となる、15～34歳のハイリスクグループでの薬物療法の問題点を明らかにするため、投与薬剤の種類や薬剤量との関係を検討する。

また、今回の致命的喘息発作は、agitationを含めた意識混濁のみられた症例を対象とした。

C. 結果

一専門施設における1990年～1997年の致命的喘息発作例は、68例みられた。全喘息入院患者に対して、占める割合は0.98%であった。15歳以上