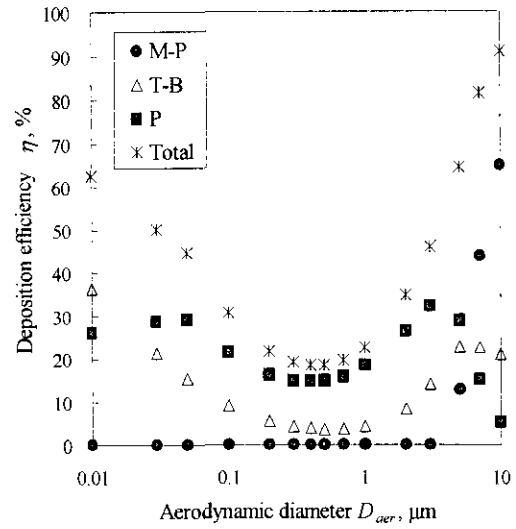
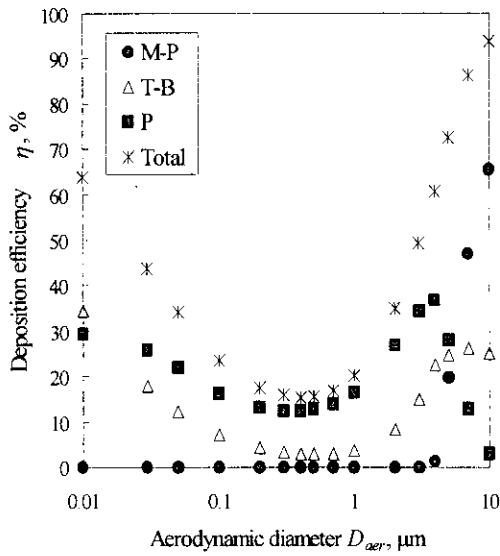


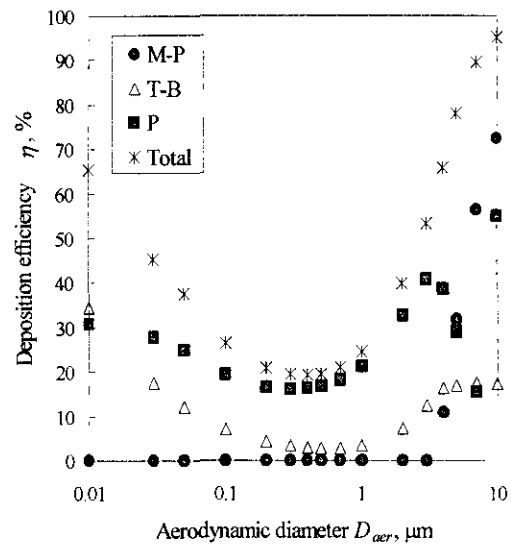
Children: Tidal volume 200ml, particle density 1.0g/cm³, and geometric standard deviation 1.0.



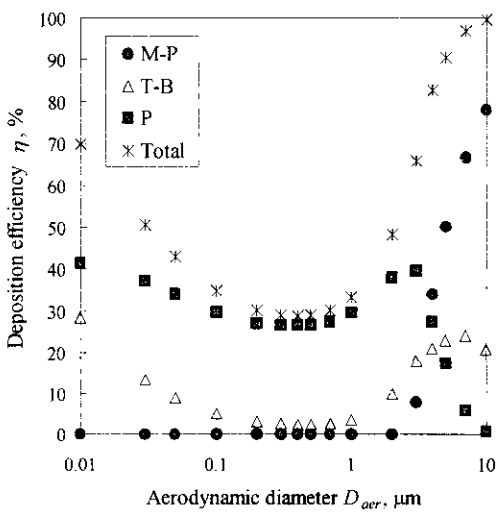
Adults: Tidal volume 500ml, particle density 1.0g/cm³, and geometric standard deviation 1.0.



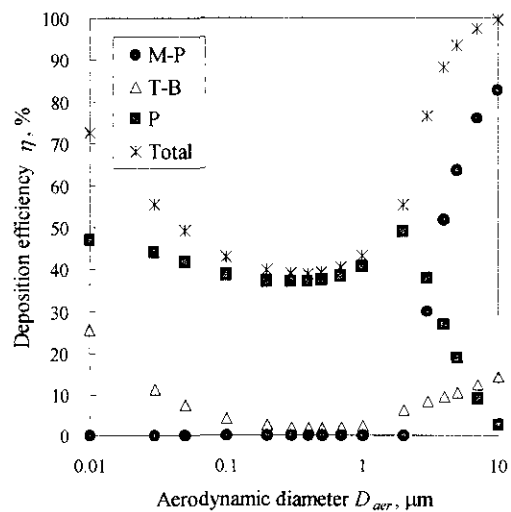
Children: Tidal volume 350ml, particle density 1.0g/cm³, and geometric standard deviation 1.0.



Adults: Tidal volume 750ml, particle density 1.0g/cm³, and geometric standard deviation 1.0.



Children: Tidal volume 750ml, particle density 1.0g/cm³, and geometric standard deviation 1.0.



Adults: Tidal volume 2000ml, particle density 1.0g/cm³, and geometric standard deviation 1.0.

分担研究報告書

薬剤受容体遺伝子解析による喘息治療薬の治療効果の予測と客観的判定に関する研究
「気管支喘息治療におけるステロイド感受性を規定するグルココルチコイド受容体(GR)遺伝子多型の検討
と、 $\alpha \cdot \beta$ アイソフォームの発現量の定量解析」

分担研究者 原寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学 教授

研究要旨

目的：気管支喘息治療薬のステロイド剤の感受性・抵抗性を規定する遺伝的背景因子を明らかにする。

方法：1, グルココルチコイド受容体(GR)遺伝子内のマイクロサテライト多型を検索する。

2, GR 遺伝子の $\alpha \cdot \beta$ アイソフォームの定量系を確立する。

結果：エクソン1内の5'非翻訳領域に(A)n リピート多型(n=10, 11)、イントロン2内に(GT)n リピート多型(n=15-20)が存在した。また、GR α および β アイソフォーム特異的 PCR プライマー・TaqMan probe セットを設定し、それぞれの遺伝子量を定量する事を可能とし、各種ヒトガン細胞株における GR $\alpha \cdot \beta$ の発現量を比較検討した。

考察：今回同定した GR 遺伝子の遺伝子多型と、リンパ球における GR $\alpha \cdot \beta$ 発現比の情報をもとに、ステロイド剤の感受性・抵抗性との関連性が明らかになれば、安全で効果的なステロイド剤の使用のためのマーカーとなる可能性がある。

結論：ヒト GR 遺伝子内のマイクロサテライト遺伝子多型を明らかにした。また GR 遺伝子 mRNA の $\alpha \cdot \beta$ アイソフォーム定量系を確立した。

A. 研究目的：喘息の治療薬の中で、強い抗炎症作用を有するグルココルチコイドは、小児気管支喘息患者への使用にはその効果とともに短期・長期の副作用の問題を常に考慮して使用しなければならない。さらに、ステロイド対する治療反応性が悪い、いわゆるステロイド抵抗性気管支喘息患者も少数ながら存在し、治療上の問題点となっている。

グルココルチコイドの作用は、以下のような機序が考えられている(図1)。グルココルチコイドなどのステロイド剤は脂溶性のため細胞膜を拡散で通過し細胞質にあるグルココルチコイドレセプター(GR)に結合する。GRは、細胞質内でヒートショックタンパクと結合した形で存在するが、グルココルチコイドとの結合により解離しレセプター同士で2量体を形成した後、核内に移行し標的遺伝子のグルココルチコイドレスポンスエレメントに結合して転写が促進される。このような転写能を有するGRは α タイプであり、一部構造が異なる β タイプはグルココルチコイドとの結合はできずに α タイ

プと2量体を形成し核内に移行できるが転写能を持たない。従って、細胞質内の β タイプの受容体は、 α タイプと二量体形成において競合するためドミナントネガティブに働くと考えられている。

GR 遺伝子のゲノム構造と2種類のスプライシングバリエーション $\alpha \cdot \beta$ の生成機構については、以下のように考えられている(図2, 3)。 α β ともエクソン1から8は共通だが、 α タイプは、エクソン9のはじめからスプライシングを受け、777アミノ酸からなる94キロダルトンのタンパクに翻訳される。一方、 β タイプはエクソン9の途中からスプライシングされ742アミノ酸からなる90キロダルトンのタンパクに翻訳される。短くなった部分にはステロイドとの結合に関わる領域を含み、そこを欠失する β タイプはグルココルチコイドとの結合能を欠くと考えられている。

以上の知見をもとに、小児に対する安全な治療法を確立するため、GR 遺伝子多型、およびGR 遺伝子 $\alpha \cdot \beta$ アイソフォームの発現量とステロイド耐性との関連性を明らかにすることを

目的に研究を行った。

B. 研究方法：

1, GR 遺伝子内のマイクロサテライト多型の検索
NCBI の公的サイトに登録されている遺伝情報をもとにヒト GR 遺伝子のゲノム情報を検索し、1 ないし 2 塩基繰り返し遺伝子多型の候補を選び出した。次に、ダイレクトシークエンス法により多型性のある領域を同定した。

2, GR 遺伝子の α ・ β アイソフォームの定量系の確立

TaqMan プローブを用いたリアルタイム PCR 法による、GR 遺伝子の α ・ β アイソフォームをそれぞれ特異的に検出し定量解析するためのシステムを構築した。そして、活性型 (α アイソフォーム) と不活性型 (β アイソフォーム) の発現量に関して、各種ヒト培養細胞株を用いて検証した。解析を行った細胞株としては、将来的には臨床検体として末梢血リンパ球を用いることから、以下に示すようなリンパ球系の細胞株を主に用いた。

- HeLa (cervical carcinoma)
- Jurkat (T-ALL)
- BV173 (CML blast change)
- U-937 (malignant lymphoma)
- p30/OHK (non-T non-B ALL)
- MOLT-3 (T-ALL)
- CCRF-SB (B-ALL)
- 健常人末梢血単核球

C. 研究結果：

1, GR 遺伝子は 9 つのエキソン 8 つのイントロンからなる。転写後スプライシングによるにエキソン 9 α とエキソン 9 β の選択の結果、活性型 (α アイソフォーム) と不活性型 (β アイソフォーム) が生成する。検索の結果、エキソン 1 内の 5' 非翻訳領域に (A)_n リピート多型 (n=10, 11)、イントロン 2 内に (GT)_n リピート多型 (n=15-20) が存在した (図 4、5)。

Exon 1 (A) _n		
Allele size (bp)	(A) _n	N=96 (%)
170	(A) ₁₀	87 (90.6)
171	(A) ₁₁	9 (9.4)

Intron B- (GT)_n

Allele size (bp)	(GT) _n	N=298	(%)
203	(GT) ₁₅	0	(0)
205	(GT) ₁₆	22	(7.4)
207	(GT) ₁₇	233	(78.2)
209	(GT) ₁₈	30	(10.1)
211	(GT) ₁₉	12	(4)
213	(GT) ₂₀	1	(0.3)

2, GR α アイソフォームおよび β アイソフォーム特異的 PCR プライマー・TaqMan probe セットを設定し、それぞれの遺伝子量を定量する事を可能とした (図 6-11)。各種ヒトガン細胞株における GR α ・ β の発現量を比較検討した結果、子宮頸ガン由来の HeLa 細胞株を基準として、 α は 2 倍以内、 β は 4 倍以内の発現量で健常人の末梢血単核球でも同程度の発現であった。ただし、p30/OHK 株は α の発現が著しく高く、 α ・ β 比も HeLa の 10 倍以上であり、グルココルチコイド感受性を示唆する結果となった (図 12)。

	GR α / GAPDH	GR β / GAPDH
HeLa (cervical ca.)	1.00	1.00
Jurkat (T-ALL)	1.44	3.79
BV173 (CML blast change)	1.89	1.88
U-937 (malig. lymphoma)	1.46	3.77
p30/OHK (non-T non-B ALL)	51.6	3.84
MOLT-3 (T-ALL)	0.72	1.26
CCRF-SB (B-ALL)	1.16	1.06
peripheral MNCs	1.0-4.0	1.0-4.0

D. 考察

ステロイド剤は、 β 刺激剤とともに喘息治療には不可欠な治療薬剤である。しかしながら成長途上にある小児、特に乳幼児に対する使用については、短期・長期的な副作用を常に念頭に置いて使用しなければならない。さらにステロイド剤による治療に抵抗性を示す症例も少なからず存在する。以上より、安全で効果的なステロイド剤の使用のために、今回同定した GR 遺伝子の遺伝子多型と、ステロイド剤の感受性・抵抗性との関連性を明らかにする事を予定している。さらに気管支喘息ステロイド治療抵抗性症例において、リンパ球における GR α ・ β 発現比を検討し、ステロイドによる治療反応性や、副反応出現を予測するパラメーターとしての応用に向けた検討を予定している。

E. 結論：

ヒト GR 遺伝子内のマイクロサテライト遺伝子多型を明らかにした。また GR 遺伝子 mRNA の α ・ β アイソフォーム定量系を確立した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakao F, Ihara K, Kusuhara K, Sasaki Y, Takabayashi A, Nishima S, Hara T:
Childhood atopic asthma showed a positive association with a polymorphism of interferon- γ gene but not with that of interferon- γ receptor α -chain / β -chain and interferon regulatory factor-1 genes.
J Allergy Clin Immunol 107:499-504, 2001
- 2) K Ihara, S Ahmed, F Nakao, N Kinukawa, R Kuromaru, N Matsuura, I Iwata, S Nagafuchi, H Kohno, K Miyako, T. Hara:
Association studies of CTLA-4, CD28 and ICOS gene polymorphisms with type 1 diabetes in the Japanese population.
Immunogenet 53:455-467, 2001.
- 3) Ohga S, Nomura A, Takada H, Ihara K, Kawakami K, Yanai F, Takahata Y, Tanaka T, Kasuga N, Hara T:
Epstein-Barr virus (EBV) load and cytokine gene expression in activated T cells of chronic active EBV infection.
J Infect Dis. 183(1):1-7, 2001.

- 4) Ahmed S, Ihara K, Kanemitsu S, Nakashima H, Otsuka T, Tsuzaka K, Takeuchi T, Hara T:
Association of CTLA-4 but not CD28 gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus in Japanese population.
Rheumatology 40:662-667, 2001.
- 5) Nomura A, Takada H, Jin C, Tanaka T, Ohga S, Hara T:
Functional analyses of cord blood natural killer cells and T cells: a distinctive interleukin-18 response.
Exp Hematol. 29:1169-1176, 2001.
- 6) Takahata Y, Takada H, Nomura A, Ohshima K, Nakayama H, Tsuda T, Nakano H, Hara T:
Interleukin-18 in human milk.
Pediatr Res. 50:268-272, 2001.
- 7) Hikino S, Nakayama H, Yamamoto J, Kinukawa N, Sakamoto M, Hara T:
Food allergy and atopic dermatitis in low birth weight infants during early childhood.
Acta Paediatr 90(8): 850-855, 2001.

2. 学会発表

- 1) 中尾 太 井原健二 佐々木由佳 楠原浩一 原寿郎 高林 明 西間三馨
アトピー喘息における IFN- γ 関連遺伝子群の遺伝子多型の検討。
第 413 回日本小児科学会福岡地方会例会
(平成 13 年 2 月 10 日)
- 2) 井原健二
日本人小児気管支喘息の発症・重症度を規定する遺伝子多型の探求。
第 38 回日本小児アレルギー学会
(平成 13 年 10 月 6-7 日)
- 3) 中尾太
INF- γ 関連遺伝子群とアトピー喘息。
第 51 回日本アレルギー学会
(平成 13 年 10 月 29-30 日)
- 4) 井原健二
小児免疫性疾患の遺伝的背景。
宗像小児科医会
(平成 13 年 10 月 26 日)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

図 1

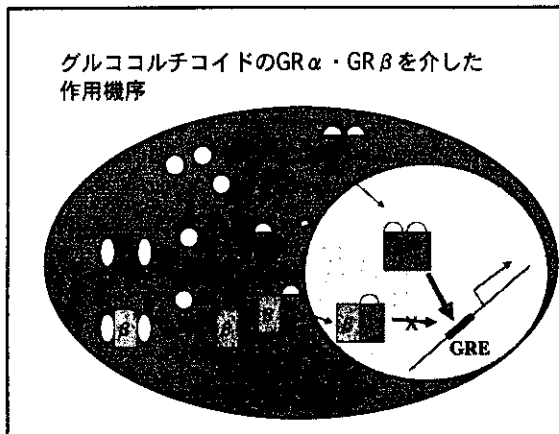


図 2

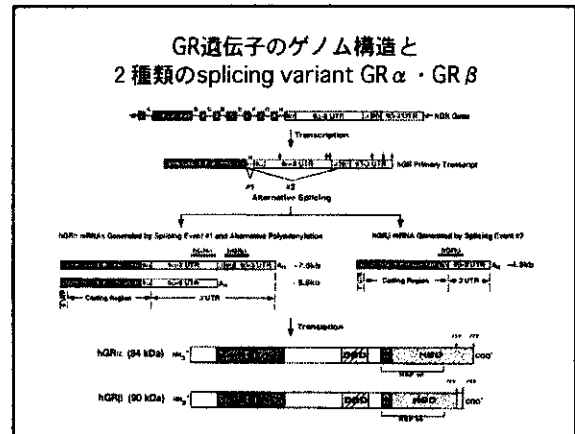


図 3

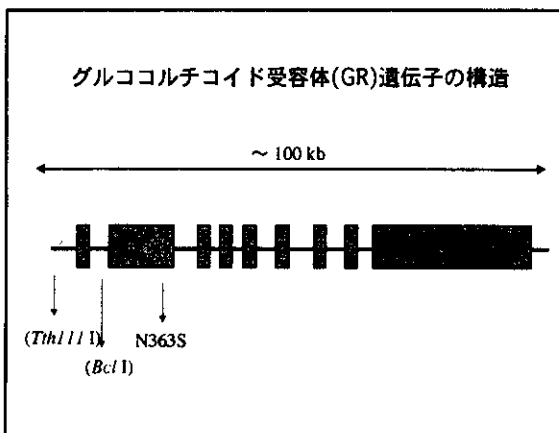


図 4

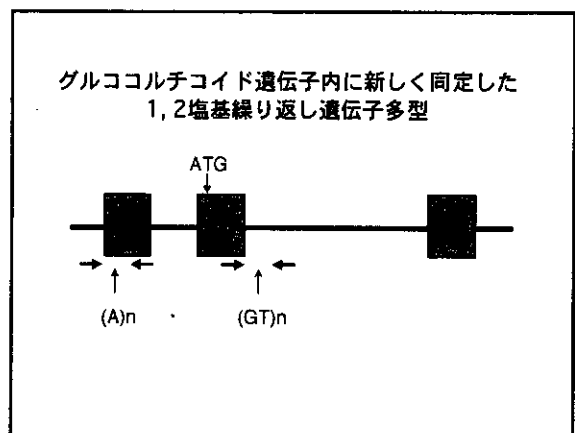


図 5

GR遺伝子の各遺伝子多型のアレル頻度

Exon I (A)n			
Allele size (bp)	(A)n	N=96 (%)	
170	(A) ₁₀	87	(90.6)
171	(A) ₁₁	9	(9.4)
Intron B- (GT)n			
Allele size (bp)	(GT)n	N=298 (%)	
203	(GT) ₁₅	0	(0)
205	(GT) ₁₆	22	(7.4)
207	(GT) ₁₇	233	(78.2)
209	(GT) ₁₈	30	(10.1)
211	(GT) ₁₉	12	(4)
213	(GT) ₂₀	1	(0.3)

図 6

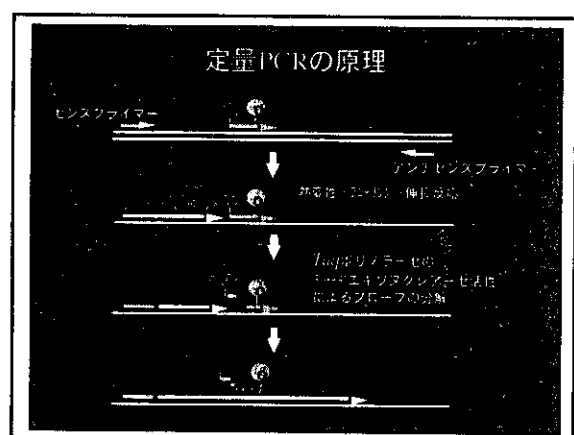


図 7

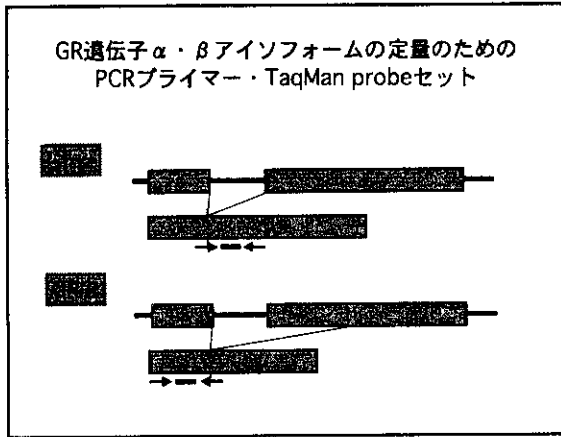


図 8

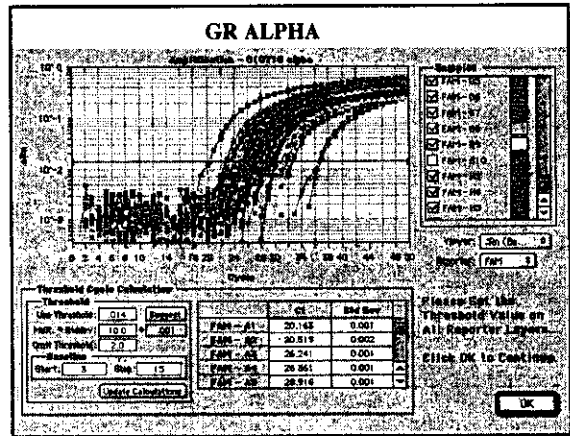


図 9

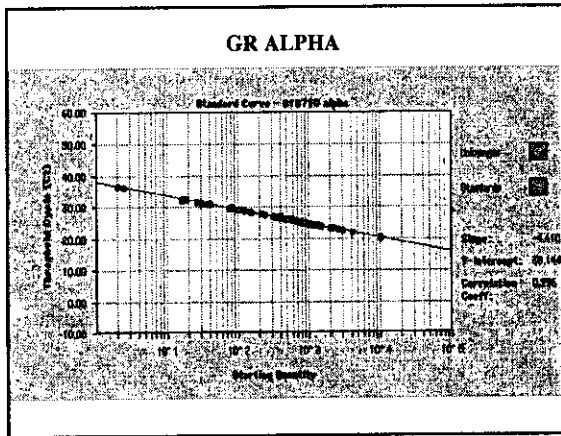


図 10

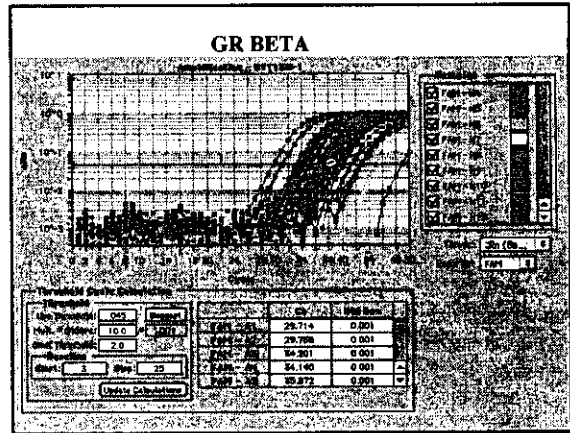


図 11

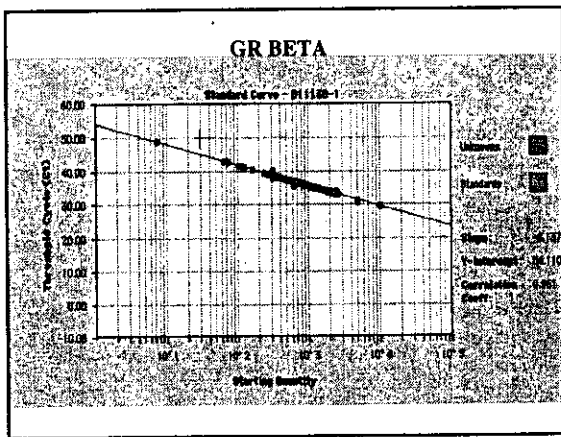


図 12

GR α ・ β 発現量の定量解析の結果

	GR α /GAPDH	GR β /GAPDH	GR α / β
HeLa (cervical ca.)	1.00	1.00	1.00
Jurkat (T-ALL)	1.44	3.79	0.38
BV173 (CML blast change)	1.89	1.88	1.00
U-937 (malig. lymphoma)	1.46	3.77	0.39
p30/OHK (non-T non-B ALL)	51.6	3.84	13.4
MOLT-3 (T-ALL)	0.72	1.26	0.57
CCRF-SB (B-ALL)	1.16	1.06	1.10
peripheral MNCs	1.0-4.0	1.0-4.0	0.48-7.83

(HeLa 細胞の発現量をそれぞれ1.00とした相対値)

成人喘息に対するβ刺激薬の使用法に関する研究

分担研究者 秋山一男（国立相模原病院 臨床研究センター アレルギー疾患研究部長）

研究協力者 谷口正実、長谷川真紀、釣木澤尚実、森 晶夫、前田裕二、宮崎恵理子

研究要旨

β刺激薬は喘息発作時と慢性期の両時期に広く用いられるにもかかわらず、その適切かつ安全な使用法は、必ずしも明確ではない。これまでのEBMの成績として、現時点で不足していると考えられた喘息治療の3つの状況下でのβ刺激薬の使用法に関して検討してきた。すなわち研究1として、急性発作期のβ刺激薬の効果的かつ安全な使用法、研究2として発作時のエピネフリン注の安全な使用法の検討、研究3として慢性期の経口および貼付β刺激薬長期連用の気道過敏性と気道可逆性への影響を明らかにした。さらに今年度は、研究3での研究成績を補充する目的のため、研究4として、吸入ステロイドとともに経口β刺激薬を数年以上長期に常用している例の気道過敏性の推移を、retrospectiveに多数例で検討し、β刺激薬長期連用の影響を、より明確にすることを試みた。その結果、β刺激薬を数年以上長期に常用しても、吸入ステロイドによる気道過敏性改善効果に影響しないことが明らかとなった。この結果は、より安全かつ効果的なβ刺激薬の使用指針の作成に貢献すると思われる。

A. 研究目的

β2交感神経刺激薬（以下β刺激薬）は、喘息発作に極めて有効であり、発作治療の第一選択薬となる。急性期に用いるβ刺激薬としては、β吸入薬と全身投与のエピネフリン注射薬があるが、前者は逆に低酸素血症を増悪させたり、発作そのものを悪化させる場合が知られている。また後者では循環系などの副作用も多く、まれに死亡例も報告されている。

β刺激薬は喘息治療に広く用いられるにもかかわらず、その使用法、適応に関しては昔からの経験によるもので、必ずしも明確化されていない。その薬理学的特徴から、β刺激薬に副反応はつきものだが、どのように使用すれば安全なのかも十分に明らかにされていない。

本研究では、研究1として、β吸入薬、硫酸サルブタモール通常量吸入がどのような喘息発作に、効果不良や酸素飽和度(SpO₂)の増悪をまねくかを明らかにし、より安全な使用方法を提案した。

また研究2では、重症発作に極めて有効なエピネフリンの皮下注射が、どのような患者背景を有した場合、副反応のリスクが高まるのかを明らかにした。喘息の長期管理時、すなわち慢性期にはβ刺激薬の経口薬や経皮貼付薬が本邦ではよく用いられている。すでにβ刺激薬MDIの連用が気道過敏性の悪化をまねくとの指摘があるが、経口薬や貼付薬は広く用いられているにもかかわらず、その検討はほとんどなされていない。今回は研究3として経口および経皮

吸収型β刺激薬の1年間の長期連用が気道過敏性に与える影響をprospectiveにさらに症例を増やして検討した。

現在の喘息長期管理薬の第一選択薬は吸入ステロイドである。したがって慢性喘息(step2-4)ではほとんどの症例で吸入ステロイドが併用される。すでに長期の吸入ステロイド使用は、気道過敏性を、十分ではないにしろ、有意に改善することが報告されている。そこで研究4として、長期管理薬として、経口β刺激薬が適切か否かを明らかにする目的で、吸入ステロイドとβ刺激薬内服薬を数年以上長期に併用した場合の気道過敏性の変化、すなわち吸入ステロイドの気道過敏性改善効果に与えるβ刺激薬の影響を、多数例でretrospectiveに検討した。

B. 研究方法

以下の検討は患者や健常人ボランティアを対象とするため、十分に主旨を説明し、インフォームドコンセントを得たうえで行った。

研究1：β刺激薬による可逆性が前もって証明されている成人喘息患者121例の発作時（小一中発作）に、通常の喘息治療と同様に、サルブタモール0.5ml＋生理食塩水2mlジェットネブライザー吸入の単独治療を行い、肺機能、SpO₂の変化を測定した。肺気腫合併などの薬効判定が難しい症例は除外した。β刺激薬吸入の効果不良因子を検討した。

研究2：喘息発作時にエピネフリンの通常量(5 μg/

kg)を皮下注射し、その後のSpO₂、肺機能、循環系、血清電解質などを経時的に観察測定し、副反応のリスク因子を検討した。対象は健康人7例、喘息群（発作期）24例とし、それぞれに対する影響を検討した。

研究3：喘息慢性期の管理によく用いられる3つのβ刺激薬、経口薬プロカテロール（国内市場一位のβ経口薬として選択した）と、経皮薬ツロブテロールテープ（唯一の貼付薬のため選択した）をそれぞれ、成人喘息（step2-3）16例、11例に、長期（6-12ヶ月）投与し、気道過敏性への影響を検討した。気道過敏性の評価法は、前者はAch-PC20（日本アレルギー学会標準法）、後者はDmin（アストグラフ法）を用いた。さらに投与前後でβ刺激薬吸入（硫酸サルブタモール）に対する気道可逆性を併せて測定し、気道における耐性が生じないかを検討した。

研究4：当院で過去に気道過敏性検査を複数回受けている症例で、その間に治療内容に大きな変更のない成人喘息患者248例を対象とした。β刺激薬内服薬+吸入ステロイド+テオフィリンの3者併用群101例（βTG群）と、β刺激薬内服薬を併用していない吸入ステロイド+テオフィリンのみの群74例（TG群）、吸入ステロイドのみ使用していた群73例（G群）の3群に分け、気道過敏性の数年間の推移をretrospectiveに検討した。

C. 結果

研究1：β刺激薬吸入後に肺機能（FEV₁）は6-81%（平均31%）改善し、悪化する例は無かった。一方、SpO₂悪化の定義を前値の2%以上の低下とした場合、SpO₂が悪化した例は28%に認めた。それらの多くは吸入前SpO₂が低値傾向（特に94%以下）にあった。さらにSpO₂が92%以下の症例では63%に悪化を認めた。一方、吸入前SpO₂が97%以上の発作例では、悪化例は皆無だった。

研究2：発作時のエピネフリン皮下注射は全例で明かな肺機能改善効果を認めた。副反応の血清K低下はβ刺激薬連用患者では0.5mEq/l以内であったが、β刺激薬非連用患者や健康者では逆に0.5-1.3mEq/lと著明な低下が確認された。さらに循環系への影響として、血圧は有意な変動はないものの、脈拍数増加や手指振戦も、β刺激薬非使用者に有意に多く出現した。肺機能改善効果はβ連用群と非連用群とで、明かな差を認めなかった。

研究3：さらに症例数を追加し検討した結果、ツロ

ブテロール貼付薬およびプロカテロール経口薬の1年間使用は気道過敏性に有意な変化を与えなかった。吸入ステロイドを併用している群、していない群での差も認めなかった。また気道可逆性にも影響しなかった。

研究4：retrospectiveに吸入ステロイド使用中の喘息患者の気道過敏性の推移に長時間作用性経口β刺激薬内服が影響するか否かを検討した結果、βTG群、TG群、G群の3者でAch-PC20、His-PC20の推移に影響は認めなかった。すなわち、吸入ステロイドにβ刺激薬を長期（2年以上）内服併用しても、気道過敏性を悪化させたり、改善抑制することはなかった。

D. 考察

研究1：低酸素傾向にある急性喘息発作にβ吸入療法を単独で行うと、低酸素血症が悪化しやすいことが判明した。その機序として換気血流不均衡が考えられた。このような発作には他の治療を先行させたり、酸素吸入の併用が望ましいと考えられた。また低酸素状態は必ずしも自覚症状と一致しないため、副反応防止のためには、発作時のSpO₂測定は、必須と思われた。

研究2：現在、カテコラミン製剤とエピネフリンの併用は禁忌、もしくは慎重投与とされている。しかし、今回の結果はその逆となった。すなわち、喘息長期治療として何らかのβ刺激薬（経口でも吸入でも）を連用していれば、エピネフリンの副反応はむしろ軽微であった。その機序として、β刺激薬連用者には全身のβ耐性が生じていることが考えられた。一方、β刺激薬未使用者は顕著な副反応（特に血清Kの低下）を認めた。以上の結果は、β刺激薬を吸入も含めて連用している例では、むしろエピネフリン通常量は比較的 safely 使用できるものの、非連用者あるいは未使用者では、危険であることを示している。またβ非使用者では、通常のエピネフリン投与量が過多である可能性も示唆している。

研究3：近年では、短時間作用性βMDI常用は気道炎症や気道過敏性を悪化させることが指摘されている。しかし、今回検討した長時間作用性経口もしくは貼付β刺激薬は、1年間連用しても、気道過敏性や気道可逆性を悪化させないことが判明した。すなわち通常の使用量で連用することに問題がないことが判明した。

研究4：過去にβ刺激薬を連用していた喘息患者を

retrospective に調査した結果、すくなくとも吸入ステロイドを併用していれば、気道過敏性を悪化させることはなかった。この結果は研究3の結果と併せて、長時間作用性経口 β 刺激薬は喘息長期管理薬として問題がないことを示している。

E. 結論

研究1：発作時の β 刺激薬吸入に際しては、SpO₂測定が望ましく、SpO₂が94%以下の症例では、高率に酸素飽和度の悪化をきたすため、積極的に酸素吸入を併用すべきである。

研究2：喘息患者への通常量エピネフリン皮下注は、 β 刺激薬をむしろ使用していない群で副反応(低K血症や振戦、動悸)が顕著であり、危険と考える。 β 非連用者に用いる場合は、減量もしくは他の治療法が望ましい。

研究3： β 刺激薬(プロカテロール経口、ツロブテロール貼付)は1年間使用しても、気道過敏性や気道可逆性に影響しなかったことから、 β MDIと異なり、安全に長期使用可能と思われる。

研究4：長時間作用性経口 β 刺激薬は数年間連用しても、吸入ステロイドの気道過敏性改善効果を抑制しなかったことから、喘息の長期管理薬として問題ないことが判明した。

以上の成績は、いずれも今まで明らかにされていなかった重要かつ新しい知見であり、今後の、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。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 東 憲孝、谷口正実、秋山一男：気管支喘息における β 刺激薬のエビデンス EBM ジャーナル、3(1): 69-74,2002
- 2) 谷口正実：医療事故をおこさないための喘息治療 月刊保団連、733(2):49-52,2002
- 3) 谷口正実、東憲孝、秋山一男：長時間作動型 β 刺激薬—内科—アレルギー科、印刷中,2002

2. 学会発表

谷口正実 第13回日本アレルギー学会臨床大会
イブニングシンポ (2001年5月)

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

β 2 刺激薬の使用法に関する研究〈小児科〉

分担研究者 森川昭廣 群馬大学医学部小児科教授

研究要旨：小児の喘息寛解例には治療状態において様々な亜型の存在示唆される。吸入 β 2 刺激薬を用いた気道可逆性試験は単に患児のある時点の肺機能を評価するのみならず、気管支拡張薬による動的な変化をも把握しうることから、喘息児の気道の状態をより詳細な評価が可能と考えられる。今年度は最低6カ月以上予防的薬物療法を行わず、発作のない喘息児20名(12-17才)を対象として気道可逆性試験を行なった。サルブタモール吸入前後のフローボリュームカーブを測定し、吸入後のV50、V25が20%以上改善した児を改善型、吸入前後の変化が20%未満の児を安定型とした。両群間でアレルギー性鼻炎やアトピー性皮膚炎の合併の有無、過去の喘息最重症度、初発年齢、罹病期間、無発作持続期間などを比較したが明らかな差はみられなかった。今後更に例数を増やして検討していきたい。

研究協力者：

徳山研一	群馬大学医学部小児科講師
前田昇三	群馬県立小児医療センター アレルギー科医長

小児の喘息は半数以上が寛解するとされるが、成人において再燃する例も少なからず存在する。このことは小児の喘息寛解例にはその治療状態において様々な亜型が存在することを示唆している。気道可逆性試験は単に患児のある時点の肺機能を評価するのみならず、気管支拡張薬による動的な変化をも把握しうることから、喘息児の気道の状態をより詳細な評価が可能と考えられる。このような理由から我々は喘息寛解例の亜型の判定、更には寛解例の長期管理指針の指標の1つとして、気道可逆性試験が有用となりうる可能性があると考えた。

A. 研究の概要

喘息の特徴の1つに気管支拡張薬に反応し症状が改善することが挙げられる。 β 2-刺激薬は代表的な気管支拡張薬であり、特に吸入薬は即効性などの利点から喘息の診断目的にも用いられる。即ち、喘息ガイドラインでは気道可逆性試験として推奨されている。本法は β 2刺激薬吸入の前後でフローボリュームカーブなどの肺機能を測定し、喘息の診断に必要な気道閉塞の可逆性の有無を検討する方法である。

B. 研究の目的

本研究の初年度我々はまず、投薬の有無に関わらず無発作状態の維持されている喘息児に気道可逆性試験を行ない、吸入前後でどのようなフローボリュームカーブの変化パターンがあるか検討した。更にPEFが β 2刺激薬吸入前後で20%以上変化しなかった群のうち、V50、V25ともに改

善率 20%未満の群（安定型）、吸入により V50 および V25 がいずれも 20%以上の改善をみた群（末梢気道閉塞改善型）を比較したところ、吸入前の V50、V25 値は末梢気道閉塞改善型では安定型に比べ有意に低値であった。一方、末梢気道閉塞改善型では安定型に比べ過去の BDI 使用経験、重症度判定で重症であった既往が高く、現在も薬物療法を継続している例が多いことが判明した。昨年度は、予防的薬物療法を行わず、最低 1 カ月以上発作のない喘息児 29 名（11-17 才）を対象とした。吸入前の V50 の%予測値が 60%未満の例を末梢気道病変残存群、60%以上の例を末梢気道病変非残存群とし、これら 2 群の児に対し、気道可逆性試験を行なった。その結果、対象のうち末梢気道病変残存群は 11 名、末梢気道病変非残存群は 18 名であった。両群の検査時年齢、男女比、喘息初発年齢、喘息初発からの年数（罹患年数）、過去の喘息重症度のうち最も重症であった程度、発作予防目的で吸入ステロイドを定期的に使用したか否か、無発作期間、について検討したところ、検査時点の喘息罹患年数、無発作期間は末梢気道病変非残存群で残存群に比べ有意に長かったが、両群に $\beta 2$ -刺激薬吸入に対する反応性の差は見られなかった。また、末梢気道病変残存群の $\beta 2$ -刺激薬吸入後の V50 の%予測値は非残存群の吸入前の値よりも低値であった。このことは小児の喘息では無発作状態が続くほど、肺機能は正常に近づく可能性を示唆している。逆に、発作消失後間もない例では、肺機能の改善は充分でなく、再発の可能性を注意しつつ管理していく必要性があることを示唆している。

今年度はこれらの結果を踏まえ、無治療、無発作期間が長期間続く喘息児の $\beta 2$ 刺激薬吸入前後のフローボリュームカーブの特徴を、症例数を増やし検討した。

C. 研究の方法

(1) 気道可逆性試験

$\beta 2$ -刺激薬（サルブタモール）吸入前後の努力性呼出曲線、フローボリュームカ

ーブを Chestac-33（Chest 社）を用いて測定し、吸入前後の PEF あるいは V50、V25 などのパラメーターの改善率を求めた。

(2) 対象：

最低 6 カ月以上予防的薬物療法を行わず、発作のない喘息児 20 名（12-17 才）を対象とした。これらの児に対し、 $\beta 2$ -刺激薬（サルブタモール）吸入前後のフローボリュームカーブを測定し、吸入後の V50、V25 が 20%以上改善した児を改善型、吸入前後の変化が 20%未満の児を安定型とした。

D. 研究の結果

安定型に比べ改善型の吸入前の V25 は有意に低値であった。両群間でアレルギー性鼻炎やアトピー性皮膚炎の合併の有無、過去の喘息最重症度、初発年齢、罹病期間、無発作持続期間などを比較したが明らかな差はみられなかった（表 1）。

E. 考察と結論

小児の喘息は、その過半数が思春期から 20 歳に至るあいだに無治療にても症状が認められなくなり、アウトグローと呼ばれる状態となる。残りの何割かはアウトグロー出来ずに成人まで発作症状を持ち越す。アウトグローした症例の多くは長期的に見ても無発作状態を維持しているとの報告が多い。一方で、いったんアウトグローという寛解状態にあったものが成人になってから再発し、再び治療が必要となる場合もあることが知られる。このことは、小児喘息に特徴的なアウトグローという現象は、真の意味の治癒状態に近い場合から、気道過敏性や気道炎症が存続しているにもかかわらず見かけ上無発作状態が続いている場合、更には実際には発作が持続しているにも関わらず本人あるいは家族が発作と気づいていない場合まで、症例毎に大きく異なっていると考えられる。即ち、小児期に発症し寛解したとされる喘息症

例については、呼吸機能上少なくとも以下のような亜型が存在すると考えられる。即ち、

- ①喘息発作が続いているにもかかわらず、自覚症状がないため見かけ上寛解とみなされている状態
- ②喘息発作はないが、肺機能上気道閉塞所見が認められる
- ③喘息発作はなく肺機能は正常であるが、気道過敏性が存在する
- ④喘息発作はなく肺機能は正常であり、気道過敏性も改善ないしは消失している

このため、思春期前後のアウトグローに近い喘息児の診療にあたっては客観的にその寛解状態を評価することが適切な管理を行なう上で大切である。

今回我々は、無発作状態の続く喘息児のうち、特に無投薬で長期間経過観察している児について注目した。これらの児は臨床的には喘息の治癒・寛解、いわゆるアウトグローに近づいている状態にあり、肺機能学的評価を詳細に検討することは長期管理上重要と思われる。そこで気道可逆性試験で可逆的な末梢気道閉塞の残る児の特徴を解析するため、これらの児におけるアレルギー性鼻炎やアトピー性皮膚炎の合併の有無、過去の喘息最重症度、初発年齢、罹病期間、無発作持続期間などを可逆的な末梢気道閉塞のない群と比較したが明らかな差はみられなかった。今後更に例数を増やして検討していきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 徳山研一：小児喘息のアウトグローについて、アレルギー科 12(1)：36-41, 2001.
- 2) 西村秀子、徳山研一：小児気管支喘息

における呼吸機能評価. 小児アレルギー疾患の診断と治療〈小児科診療特集号〉64(9) 2001.

2. 学会発表

- 1) 西村秀子、徳山研一、戸所 誠、荒川浩一、加藤政彦、望月博之、森川昭廣寛解中の喘息児における末梢気道閉塞の評価と $\beta 2$ 刺激薬吸入による可逆性の検討—初発年齢、罹病期間、喘息重症度との関係を中心に—第14回日本アレルギー学会春季臨床大会（アレルギー51:252A, 2002）

氏名	身長	年齢	性別	鼻炎	皮膚炎	初発 (才)	罹患 年数	重症度 (過去)	BDI (過去)	無治療 期間(月)	無発作 期間(月)	type	V50 (吸入前)	V50前%	V50(後)	V50 改善率	V25 (吸入前)	V25前%	V25(後)	V25 改善率	
安定型																					
S.Y	156	14	F	(+)	(+)	3	11	重	(+)	12	12	1	4.02	109.896118	4.97	19.1	2.17	114.693446	2.59	16.21	
T.S	180	17	M	(+)	(+)	1	16	重	(+)	30	24	1	3.75	70.8884688	3.82	1.9	2.23	79.0780142	2.31	3.6	
Y.O	162	13	M	(+)	(+)	4	9	中		12	30	1	3.84	89.3023256	4.28	1.4	1.93	86.0071301	1.89	-2.1	
Y.C	162	15	M	(+)	(+)	7	7	中		24	24	1	4.28	99.5348837	4.1	-4.39	2.32	103.386809	2.14	-8.4	
S.S	168	14	M	(+)	(+)	6	7	中	(+)	18	24	1	4.58	98.9200864	4.83	5.17	2.58	105.91133	2.68	3.73	
K.K	171	15	M	(+)	(+)	2	13	中		8	20	1	4.38	91.3451512	4.72	7.2	2.26	89.2575039	2.81	19.57	
H.K	177	15	M	(+)	(+)	6	9	中	(+)	12	24	1	4.36	91.3854538	4.83	9.7	2.18	92.6083263	1.41	-54.6	
														93.0389268					95.8489371		
														4.26534772					4.1134692		
改善型																					
H.K	161	12	M	(+)	(+)	1	10	中		29	12	2	3.44	81.0365135	3.68	7	1.45	65.5515371	2.04	40.7	
M.H	160	16	F	(+)	(+)	2	14	中		17	17	3	3.03	78.2945736	4.02	24.6	1.51	76.2626263	2.06	26.7	
S.S	156	13	F	(+)	(+)	6	7	軽		84	84	2	4.04	110.442865	4.26	5.4	1.51	79.8097252	1.87	23.8	
Y.S	165	14	M	(+)	(+)	3	11	中	(+)	6	12	2	3.63	81.2989922	4.38	17.1	1.4	59.8290598	1.82	23.1	
M.K	168	16	M	(+)	(+)	4	12	軽		72	72	3	5.33	115.11879	5.51	3.3	2.56	105.090312	3.23	20.7	
S.K	174	16	M	(+)	(+)	3	13	軽	(+)	84	96	3	5.4	108.870968	6.77	25.4	2.8	112.252664	3.52	19.3	
A.N	163	13	F	(+)	(+)	5	8	中	(+)	7	18	3	3.54	81.2858783	4.88	27.4	1.82	88.9540567	2.69	32.3	
A.S	154	14	F	(+)	(+)	8	5	中	(+)	11	11	2	4	112.612613	4.41	9.29	1.47	79.5454545	1.84	20.1	
H.H	145	12	M	(+)	(+)	7	4	軽		10	10	2	2.63	78.1575037	2.89	8.99	1.27	74.7058824	1.58	20.4	
T.S	148	12	M	(+)	(+)	6	6	中		12	12	2	3.38	95.7507082	3.8	11.05	1.15	64.0311804	2.09	44.9	
K.T	162	14	M	(+)	(+)	5	9	中		22	25	3	3.56	89.5372233	4.6	22.6	1.49	73.6166008	1.91	21.9	
T.S	150	17	F	(+)	(+)	3	14	中		18	36	3	2.74	82.0359281	3.41	19.64	0.9	51.1363636	1.22	26.2	
Y.O	165	13	M	(+)	(+)	6	7	中	(+)	12	12	2	3.48	77.9395297	3.52	1.1	1.16	49.5726496	1.58	-0.6	
														91.721699					75.4121625		
														4.25956659					5.37653094		

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)
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
分担研究報告書

テオフィリンの急性効果に関する研究 (文献による EBM の考察)

分担研究者 大田 健
帝京大学内科科教授

研究要旨：

急性効果を科学的に検討するためにアミノフィリンの点滴またはサルブタモールの吸入を日本の喘息予防・管理ガイドラインに準じて施行した。その治療の前後1時間でPEF, SpO₂, さらにECP, ヒスタミン, トロンボキササンB₂などを測定した。その結果いずれの治療でも臨床的指標は有意に改善し, さらにアミノフィリンにおいてはECP, ヒスタミンなどの炎症性化学伝達物質が抑制されることが示された。従ってアミノフィリンとサルブタモールは急性期の治療として有効であり, アミノフィリンでは一部に抗炎症作用も期待できることが示された。さらに急性期の治療につて373の文献を調査した。アミノフィリンに関連する研究47のうちランダム化比較試験を中心に質の高いものの25の論文, 吸入β₂刺激薬に関連する研究33のうち10の論文について検討した。その結果スライド2に示すように吸入β₂刺激薬についてはすべての文献が評価AまたはBといったその使用を推奨するものであった。一方でアミノフィリンに関する25文献ではスライド3に示すようにA Bの有効性を指示するものが20, 逆にDで指示しないとの研究が3件であった。指示するもの中で急性期の呼吸機能では差がなくとも入院期間の短縮を観察しえたものもあり, 一方で指示しない研究では日本ガイドラインより頻回のβ₂吸入やステロイド薬の使用に対するアミノフィリンの上乗せ効果が無いことを根拠にしているものもあり, EBMの観点ではエンドポイントの設定や治療プロトコールの詳細にも注意が必要と考えられた。以上より急性期におけるアミノフィリン使用は合理的であると考えられる。

研究協力者

中野 純一 帝京大学内科 講師
山下 直美 帝京大学内科 助教授

A 研究目的 本研究でわれわれは急性期におけるアミノフィリンの効果を, 新たな側面より科学的に検討する目的で理学所見とともに SpO₂, ピークフロー (PEF: peak expiratory flow) を測定し, その臨床的な効果について研究を行うとともに化学伝

達物質につて検討した。また最終年度として急性期のアミノフィリンの評価を文献的な考察も含め検討した。

B 研究方法 喘息発作に対しアミノフィリン治療群 10名 (年齢 47.6 ± 4.7 歳)サルブタモールの吸入群 8名 (年齢 47.5 ± 5.2 歳)を対象に日本の喘息予防・管理ガイドライン (1998) に準じて施行した。治療中は自覚症状, 理学所見に加え, SpO₂

と PEF の測定を行った。さらに治療前とその治療開始後 1 時間の時点で採血を行い血清中の ECP (eosinophil cationic protein), ヒスタミン, トロンボキサン B2, セロトニン, ロイコトリエン C4 を測定した。文献的な考察としてテオフィリンに関連する科学論文を National Library of Medicine, Advanced Medline Search より検索し 373 件を抽出し, そのエビデンスの質を I:ランダム化比較試験 II-1:非ランダム化比較試験 II-2:コホート研究または症例対照研究 II-3:時系列研究, 非対照実験研究 III:権威者の意見, 記述疫学と 5 つに分類した。その中で急性期の治療に関するもの 25 件について推奨の強度を A:行うことを強く推奨 B:行うことを中等度推奨 C:中間 (推奨する根拠がはっきりしない) D:行わないことを中等度支持 E:行わないことを強く支持と 5 つに分類し検討した。

C 研究結果 テオフィリンとサルブタモールともに SpO₂, PEF が改善し, テオフィリンでは ECP, ヒスタミン, トロンボキサンの低下を認めた。また文献的な検討の結果, 気管支喘息の急性発作に使用した場合のアミノフィリンの有用性・妥当性については 25 文献がレベルとして高く検討した。その内訳は文献の質として I が 18 件, II-1 が 5 件, II-3 が 2 件であった (図 1)。その内 A14 編、

B6 編、C2 編、D3 編であり, 多くの研究でアミノフィリンの有用性を支持 (A および B の評価) するものであった (図 2)。

D 考察 今回の検討によりテオフィリン薬は喘息の長期管理のみならず急性発作の治療においても有効であることが示された。その多くは本薬剤の古典的な薬理作用である気管支拡張作用によると考えられる。しかし今回の急性期における検討で, 長期管理のみならず喘息の急性増悪においてもその効果の少なくとも一部にテオフィリンの抗炎症作用が関与しうると考えられた。文献上もアミノフィリンは急性期に有効と考えられた。

E 結論 アミノフィリンの急性期における効果には気管支拡張作用とともに少なくとも一部抗炎症作用も関与することが示された。喘息の急性発作に対して症例に合わせアミノフィリンとサルブタモールを併用することが合理的であると考えられる。

F 研究発表

2 学会発表

この研究に関連した成果を平成 14 年 3 月の日本アレルギー学会春期臨床大会で発表する予定である。

Treatment of asthma acute exacerbation with aminophylline

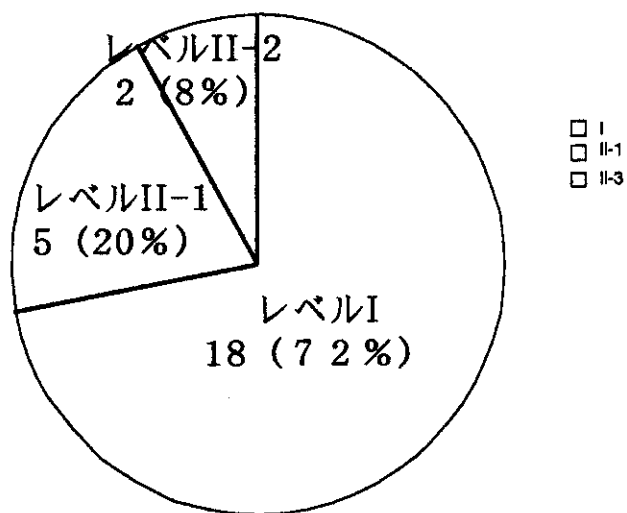


図 1 テオフィリンに関連する文献のレベル

Treatment of acute exacerbation with aminophylline

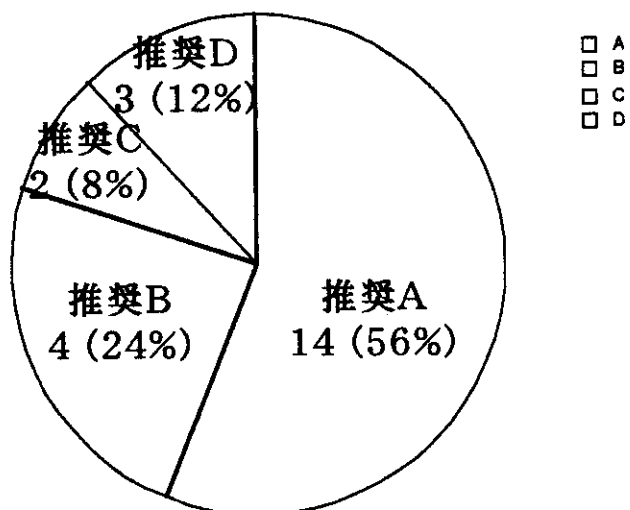


図 2 テオフィリンの推奨度

厚生省科学研究補助金（感覚器障害及び免疫・アレルギー等研究事業）
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

平成13年度分担研究報告書

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

分担研究者氏名 吉田隆實

静岡県立こども病院感染免疫アレルギー科

研究要旨

テオフィリンは気管支喘息の治療に頻用されているがその作用機序はまだ十分明らかにされていない。従来は phosphodiesterase 阻害による気道平滑筋の弛緩作用が薬効の中心と考えられていたが、その後この作用は治療域のテオフィリン濃度では弱いことが明らかになった。最近ではテオフィリンの治療域の血中濃度での薬理作用として抗炎症作用が注目され、好酸球のアポトーシス誘導や接着因子発現の抑制、chemical mediator 放出の抑制などが報告されている。しかし、これらはいずれも炎症のエフェクター相の細胞への作用であり、アレルギー反応を誘導・調節する立場にあるアレルギー特異的 Th2 細胞への作用についてはほとんど知られていない。われわれはこれまで小児気管支喘息を含むアレルギー患者を対象として、ダニ刺激による末梢血単核球からの IL-5、IL-13 などの Th2 サイトカイン産生能について研究してきた。本研究ではこのシステムを用いて気管支喘息患者の Th2 サイトカイン産生に及ぼすテオフィリンの作用を解明することを試みた。その結果、テオフィリンは、20 μ g/ml の濃度で IL-5 産生を 48% (6-54)、IL-13 産生を 41% (6-58) 抑制することが明らかになった。これらの結果から、テオフィリンにはアレルギー刺激による特異的 Th2 細胞からの炎症促進性サイトカインの産生を抑制することにより、気道でのアレルギー性炎症を減弱化させる作用があることが示唆される。このような作用はテオフィリンの臨床使用に明確な根拠を与えるとともに、さらに適切な使用法の開発に向けての指針となるものである。

研究協力者：

木村光明

静岡県立こども病院

感染免疫アレルギー科

医長

A. 研究目的

テオフィリンには cAMP を分解す

る phosphodiesterase (PDE) を阻害し、細胞内 cAMP を上昇させる作用がある。細胞内 cAMP の上昇は気管支平滑筋の弛緩をもたらすことが知られており、テオフィリンの抗喘息作用はかつてはこのような機序によると考えられていた。しかし治療域の濃度でのテオフィリンの気管支拡張作用は β

2 刺激剤より弱いことが明らかになり、この説は次第に省みられなくなった。

代わって浮上しつつあるのが抗炎症作用であり、好酸球などの炎症細胞の活性化抑制や寿命短縮などが報告されている。喘息発作において急性相ではヒスタミン、遅発相ではアレルギー性炎症が気道平滑筋収縮の主要な原因であるが、テオフィリンの気管支平滑筋収縮抑制作用は前者より後方でより明瞭に見られることも、抗炎症作用が注目される理由の一つとなっている。

しかし、これまで報告されたテオフィリンの抗炎症作用はいずれもアレルギー性炎症のエフェクター細胞に対するものであり、炎症を誘導・調節する作用を持つアレルゲン特異的ヘルパー T (Th) 細胞への作用についてはほとんど知られていない。Th 細胞へのテオフィリンの作用の有無は抗喘息薬としてのテオフィリンの位置づけに決定的な影響を与える極めて重要な問題である。

われわれはこれまでに小児気管支喘息患者の末梢血単核球をダニ抗原で刺激する方法で、Th2 サイトカインである IL-5 や IL-13 の産生について研究してきた。IL-5 は好酸球の増殖や活性化を通してアレルギー性炎症の発生に重要な役割を果たしており、IL-13 は直接的に気管支喘息様の気道炎症を引き起こすことが知られている。本研究はこのような *in vitro* の実験系を用いて、テオフィリンのダニ特異的 Th2 細胞機能への作用を解明し、その抗喘息薬としての性格を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1) 対象：平成 12 年 5 月より 13 年 4 月の間に当科を受診した小児気管支喘息患者 24 名を対象とした。ステロイド剤を内服投与されている症例はない。検査は非発作時に行った。対象の年齢は中央値 7 歳 (範囲 1~15 歳)、男：

女 = 15:9、血清 IgE 中央値 355.7IU/ml (5.4-5973.1)、ダニ IgE-RAST 値中央値 85.73UA/ml (0.65-161.80)。

2) 方法：

ヘパリン採血した末梢血から単核球を分離し 1×10^6 /ml に調整して 10% FCS を含む RPMI1640 培養液に浮遊させる。ダニ粗抗原を $50 \mu\text{g/ml}$ の濃度に加え、 37°C 、5% CO_2 の条件下で培養する。培養期間は 6 日間および 2 日間とする。培養終了後、培養上清中の IL-5 および IL-13 量を ELISA キット (Immunotech 社製) で測定する。

テオフィリンの作用を調べるためにダニ粗抗原とともに $5 \sim 20 \mu\text{g/ml}$ のテオフィリンを加えたサンプルを作る。培養終了後、同様にその上清中のサイトカイン量を測定する。

3) 統計

全てのデータは中央値と範囲で示した。サイトカイン産生量の変化は Wilcoxon signed rank-sum test で検定し、p 値が 0.05 未満の時有意とした。

(倫理面への配慮)

採血はルーチン検査と同時に行い、患者に余分な苦痛を与えない。

C. 研究結果

1) IL-5 産生の抑制

喘息患者の末梢血単核球をダニで 6 日間刺激すると 153pg/ml (49-380) の IL-5 が産生された。非刺激サンプルでは 7.5pg/ml (1.2-26) であった。 $20 \mu\text{g/ml}$ のテオフィリンを添加するとダニ特異的 IL-5 産生は 113pg/ml (35-363) まで有意に低下した ($p < 0.01$)。抑制率は 29% (4-43) であった。

6 日間の培養ではリンパ球増殖反応が起きており、それがサイトカイン産生に影響を与えている可能性がある。リンパ球増殖の影響をなくし、また、テオフィリンの早期の作用を明らかにする目的で 48 時間培養後の IL-5 産生への影響について検討した。

48 時間のダニ刺激の結果、末梢血

単核球は 15pg/ml (5.5-62) の IL-5 を産生した。非刺激サンプルでは測定感度以下であった (<1.0pg/ml)。20 μ g/ml のテオフィリンを添加すると IL-5 産生量は 7.1pg/ml (2.6-50) まで有意に減少した ($p<0.02$)。抑制率は 48% (6-54) であった (図 1)。

48 時間培養の系を用いて、テオフィリン濃度 (5-20 μ g/ml) とその IL-5 産生抑制作用との関係について検討した (図 2A)。その結果、テオフィリンは 5 μ g/ml の濃度でも IL-5 産生を抑制することが明らかになった。しかし、抑制率はテオフィリンの濃度が上がるにつれ明瞭に上昇し、20 μ g/ml で最大となった。

2)IL-13 産生の抑制

6 日間のダニ刺激で末梢血単核球は 215pg/ml (29-772) の IL-13 を産生した。非刺激サンプルでは 35pg/ml (4.7-118) であった。20 μ g/ml のテオフィリンを添加すると IL-13 産生は 131pg/ml (18-376) まで有意に低下した ($p<0.01$)。減少率は 36% (9-48) であった。

48 時間のダニ刺激では末梢血単核球は 8.8pg/ml (2.4-53) の IL-13 を産生した。非刺激サンプルでは測定感度以下であった (<1.0pg/ml)。ここに 20 μ g/ml のテオフィリンを加えると IL-13 産生は 5.6pg/ml (1.3-22) まで有意に低下した ($p<0.01$)。抑制率は 41% (6-58) であった (図 1)。

48 時間のダニ刺激系にテオフィリンを 5-20 μ g/ml の範囲で加えたところ、5 μ g/ml の濃度でも IL-13 産生の抑制が認められた (図 2B)。しかし、抑制率はテオフィリンの濃度とともに急速に上昇し、20 μ g/ml で最大となった。

IL-13 産生は 24 時間のダニ刺激でも認められた (2.1pg/ml (1.1-3.0))。20 μ g/ml のテオフィリンにより IL-13 の産生は測定感度以下まで減少した (<1.0pg/ml)。

D. 考察

近年、小児気管支喘息の病態においてもアレルギー性炎症の重要性が広く認められつつある。アレルギー性炎症の発生に中心的な役割を果たしているのは Th2 細胞である。アレルゲン特異的 Th2 細胞は IL-4、IL-5 や IL-13 など Th2 サイトカイン産生によりその機能を発揮する。IL-5 は好酸球の分化・増殖を促進し、また好酸球の活性化や局所での好酸球寿命の延長作用により気道のアレルギー性炎症の発生・持続に不可欠の役割を果たしている。IL-13 は IgE 抗体産生促進とともに直接的に気管組織に作用し、炎症を惹起する。また IL-4 は強力な IgE 抗体産生誘導因子であり、即時型アレルギーの発生に必須の役割を果たしている。即時型アレルギーはヒスタミン遊離による即時反応のみでなく、それに続いて炎症性の遅発反応が起きることは広く知られているところである。IgE 抗体にはまた抗原提示細胞の表面に発現されている IgE レセプターに結合して抗原摂取を促進し、T 細胞への抗原提示を効率化する作用もある。

テオフィリンはかつては PDE 阻害作用により抗喘息作用を発揮すると考えられていた。しかし、治療域の濃度ではそのような作用は顕著に認められないことからテオフィリンの抗喘息作用を疑問視する動きもある。しかし、最近テオフィリンに治療域の濃度で抗炎症作用があることが見出され、そのような観点からテオフィリンの薬効の見直しが進められている。

これまでにテオフィリンの治療濃度域での抗炎症作用については以下のことが知られている。1) 好酸球のアポトーシスを誘導、2) 好酸球からのケミカルメディエーターの放出を抑制、3) 好中球の活性酸素の産生を抑制、4) 好酸球の接着因子の発現を抑制、5) 末梢血単核球からの IFN- γ 産生を抑制、

IL-10 の産生を促進、6) 好酸球やリンパ球の気道組織への浸潤を抑制。これらはほとんど炎症のエフェクター細胞に関するものであり、いわば対症療法的な作用である。

これまでのところアレルギー性炎症の発生や進展をコントロールする役割を担っている Th2 リンパ球へのテオフィリンの作用についてはほとんど知られていない。しかし最近、テオフィリンを服用中の気管支喘息患者では血清中の IL-4 や IL-5 の濃度が低いことが明らかにされ、テオフィリンは治療域の濃度でも Th2 サイトカイン産生を抑制する作用があることが示唆される。Th2 細胞へのテオフィリンの作用の有無は抗喘息薬としてのテオフィリンの位置づけに関わる重要な問題であり、その究明は気管支喘息の診療を適切に行う上で緊要の課題である。

われわれは気管支喘息をはじめとするアレルギー患者の末梢血単核球をダニで刺激する方法を用いてダニ特異的サイトカイン (IL-4、IL-5、IL-13、IFN- γ) 産生について研究を進めてきた。その結果、アトピー性皮膚炎患者と気管支喘息患者とではダニ特異的サイトカイン産生量が明らかに異なること (Kimura M, et al, Clin Exp Immunol 1999 118:192-196)、ダニ特異的 IgE 抗体レベルとダニ特異的 IL-4 産生との間には有意な相関関係が見られることなどを明らかにしてきた (Kimura M, et al, J Allergy Clin Immunol 2000 105:327-332)。

今回はわれわれのシステムを用いてテオフィリンのダニ特異的 Th2 細胞への作用について検討した。これまでダニ特異的 Th2 細胞からのサイトカイン産生を測定し、それに対するテオフィリンの作用を検討した論文はない。本研究でわれわれは小児気管支喘息患者の末梢血単核球をダニで刺激し、Th2 サイトカインである IL-5 や IL-13 産生を誘導して、それに対するテオフィリンの抑制効果を調べた。その結果、

テオフィリンは 5-20 μ g/ml の治療域の濃度で約 40% 程度の明瞭な Th2 サイトカイン産生抑制作用があることが明らかになった。

サイトカイン産生抑制は 6 日間の培養でも明らかに認められるが、2 日間の培養の方がより明瞭であった。ダニは 6 日程度の培養でリンパ球増殖を誘導する作用がある。しかし、2 日間の培養ではリンパ球増殖は全く認められないため、テオフィリンのサイトカイン産生抑制はリンパ球増殖とは独立した現象と考えられる。

サイトカイン産生抑制は IL-13 については 24 時間培養後に既に明らかに認められ、かなり早い時期より作用が発現することが示唆される。これはテオフィリンが単に喘息の長期管理においてのみならず、急性発作の遅発相においても有用性が高いことを示すものである。

本研究の結果でもう一つ注目されるのは、サイトカイン産生およびリンパ球増殖抑制作用が 5-20 μ g/ml の範囲で明瞭に濃度依存性であることである。すなわち 5 μ g/ml 程度の低濃度でも確かに抑制作用は認められるが、それは 10 や 20 μ g/ml の濃度で使用した場合に較べると明らかに弱い。テオフィリンの血中濃度については当初 10-20 μ g/ml 程度の濃度が推奨されていたが、副作用を減らす目的で次第に低い濃度が選択される傾向にある。実際に 5 μ g/ml 程度の濃度での効果を指摘する論文もある。これは本研究で 5 μ g/ml の濃度でサイトカイン産生抑制作用が認められることと合致するものである。しかし、それが十分な効果を得るのに適した濃度であるのかどうかについての検討も必要である。この見地からすると、われわれの研究の結果は、より多くの症例により多くの効果をもたらすためにはなるべく高い濃度で使用する必要があることを示している。安全性との兼ねあわせによりどの程度の濃度で使用するか決定されるべきである