

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）
アレルギー疾患に係わる胎内・胎外因子の同定に関する研究

研究課題名 “サイトカインと胎内因子”
-新生仔マウスのアレルギー性気道炎症の特徴とサイトカインの役割-

分担研究者 徳山研一 群馬大学医学部小児科講師

研究要旨：アレルギー性気道炎症におけるサイトカインの役割の年齢による差異を検討するため、幼若マウスの喘息モデルの確立を行なった。即ち、新生仔（日齢3）および成熟（8週齢）BALB/Cマウスに、少量（10 μ g）または大量（1000 μ g）の卵白アルブミン（OVA）を週1回ごと計3回腹腔内投与して感作した。次いで2.5%OA溶液を6日間連日吸入チャレンジし、最終チャレンジの2日後にメサコリンを吸入させ、enhanced pause (penh)の測定により気道過敏性を測定した。気道過敏性はpenhが初期値の2倍となるのに要するメサコリン濃度（PC200）、用量反応曲線のシフト、最終濃度である25 mg/mlのメサコリンを投与した際のpenhの絶対値（MaxR）、の3つのパラメータを用いて評価した。気道過敏性測定後、血中OA特異IgE、IgG2抗体価を測定した。その結果、成熟マウスと同様に新生仔マウスでも、少量のOVA投与はコントロールマウスに比べ、左方シフト、PC200の有意な低下、MaxRの有意な亢進を認めた。一方、大量投与でも用量反応曲線の左方シフト、MaxRなどの気道過敏性の指標は亢進していた。OA特異IgE抗体価の上昇は成熟マウス少量投与群>幼若マウス少量投与群 \approx 成熟マウス大量投与群 \gg 幼若マウス大量投与群の順であった。IgG2抗体価は成熟マウス大量投与群でのみ上昇を認めた。今回の検討で成熟マウスと同様、幼若マウスにおいてもOA特異IgE抗体価の上昇と気道過敏性の亢進が認められ、幼若動物の1喘息モデルが確立されたと考えられた。

研究協力者

大木康史	群馬大学小児科教務員
西村秀子	原町赤十字病院小児科 医長
佐藤 哲	群馬中央総合病院小児科 医長

築（リモデリング）が認められ、その成立にはGM-CSF、TGF- β などのサイトカイン、増殖因子が関与することが判明し、成人喘息は永続的な気道リモデリングをともなう慢性的な気道の炎症性疾患と認識されるに至った。一方、小児喘息では疫学的に寛解例が多いこともあり、アレルギー性炎症による気道リモデリングの進展とその修復機転は成人と異なる可能性がある。その原因としてGM-CSF、TGF- β などのサイトカインや増殖因子の役割が小児では異なっており、その結果生じる気道リモデリングの状態が異なっている可能性がある。しかしながら、慢性的な炎症の結果生じる気道リモデリングに年齢による差異があるのか、あるとすれ

A. 研究目的

成人喘息では軽症例であっても慢性的アレルギー性炎症に伴う気道構造の再構

ばどのような点の特徴であるのか、など明らかではない。我々は気道におけるサイトカインの役割の年齢による差異を検討することが小児喘息が成人喘息と大きく違う点、即ち寛解が存在するという点についてそのメカニズムを知るうえで重要と考えている。

今年度我々は、アレルギー性気道炎症におけるサイトカインの役割の年齢による差異を検討するため、幼若マウスの喘息モデルの確立を行なった。現在まで諸外国においても幼若マウスの気道反応の特徴を検討した報告は極めて少ない。

B. 研究方法

1. プロトコール

新生仔(日齢3)および成熟(8週齢) BALB/C マウスに、少量(10 μ g)または大量

(1000 μ g)の卵白アルブミン(OVA)を週1回ごと計3回腹腔内投与して感作した。次いで2.5%OA溶液を6日間連日吸入チャレンジし、最終チャレンジの2日後にメサコリンを吸入させ、enhanced pause(penh)の測定により気道過敏性を測定した。気道過敏性の指標として、penhが前値の200%を越えたメサコリン濃度を気道感受性

(sensitivity)とし、メサコリン最終濃度におけるpenhの絶対値を気道反応性

(reactivity)とした。過敏性測定後、血中OA特異IgE、IgG2抗体価を測定した。

2. 気道過敏性の測定

気道過敏性は無拘束マウスに対し、霧化した2倍希釈系列のメサコリンを薄い濃度から順次吸入させることにより評価した。即ち、マウスをbarometric plethysmographic chamber(Buxco electronics, Sharon, CT, USA)に入れ、連続的にpressure-time waveを測定した。気道閉塞の指標としてはenhanced pause(Penh)を用いた。Penhは気道抵抗と高い相関性を有することが知られている。メサコリン吸入は超音波ネブライザー(NE-U12, Omron)にて行ない、呼吸状態は各

濃度のメサコリン吸入ごとに3分間記録し、平均値を求めた。気道過敏性は3つのパラメータを用いて評価した。即ち、penhが初期値の2倍となるのに要するメサコリン濃度(PC200)、用量反応曲線のシフト、最終濃度である25mg/mlのメサコリンを投与した際のpenhの絶対値(MaxR)である。

3. OVA 特異的 IgE、IgG2 抗体の測定

OVA 特異的 IgE 値の測定はELISAで測定した。OVA(grade V, Sigma)を96穴ウエル(DYNEX)に200 μ g/mlの濃度でコーティングし、更に非特異的結合を防ぐためにウシ血清アルブミンで37 $^{\circ}$ Cで2時間インキュベートした。Washing buffer(Sigma)で5回洗浄したのちこのウエルに連続希釈した100 μ lのマウス血清を37 $^{\circ}$ Cで2時間インキュベートした。プレートを300 μ lのwashing buffer(Sigma)で洗浄したのち、1:800に希釈した100 μ lのラット抗マウスIgEモノクローナル抗体(BIOSOURCE International, CA, USA)を添加した。37 $^{\circ}$ Cで2時間インキュベーションしたのち、プレートを洗浄した。更にFAST(Sigma)により反応させた。硫酸にて反応停止後、プレートを490と620nmの波長のmultiplate readerで測定した。陽性コントロールとしてはOVAにて感作し経気道的にチャレンジした成熟マウスのプール血清を用いた。OVA特異的IgE抗体価は陽性となる最も希釈した値として決定した。OVA特異的IgG2抗体価も同様に測定した。

C. 研究結果

1. 新生仔および成熟マウスの気道過敏性:

成熟マウスでは少量(10 μ g)のOVA投与群で気道過敏性の顕著な左方シフトが認められ、PC200はコントロールに比べ有意に低下していた。MaxRは非免疫動物に比べ有意に高かった。大量(1000 μ g)投与では、左方シフト、PC200、MaxRなどの気道過敏性の指標はすべて抑制されていた。

新生仔マウスでも、少量 (10 μ g) のOVA投与はコントロールマウスに比べ、左方シフト、PC200の有意な低下、MaxRの有意な亢進を認めた。一方、大量 (1000 μ g) 投与では、PC200は少量投与よりも亢進程度は抑制されていたものの、成熟マウスとは対照的に、左方シフト、MaxRなどの気道過敏性の指標は少量投与と同程度に亢進を認めた。

2. OA 特異 IgE、IgG2 抗体価：

OA 特異 IgE 抗体価の上昇は成熟マウス少量投与群 > 幼若マウス少量投与群 = 成熟マウス大量投与群 > 幼若マウス大量投与群の順であった。IgG2 抗体価は成熟マウス大量投与群でのみ上昇を認めた。気道過敏性は4群とも亢進し、sensitivityの亢進は成熟マウス少量投与群 > 幼若マウス少量投与群 = 成熟マウス大量投与群 > 幼若マウス大量投与群の順であったが、reactivityの亢進は成熟マウスでは少量投与群 > 大量投与群なのに対して幼若マウスでは少量投与群と大量投与群は同等であった。

D. 考察と結論

今回の検討では成熟マウスと同様、幼若マウスにおいても OA 特異 IgE 抗体価の上昇と気道過敏性の亢進が認められ、幼若動物の1喘息モデルが確立されたと思われる。今後この系において幼若マウスと成熟マウス間でサイトカインがどのような役割の差異を演じているのか検討していく予定である。

E. 研究発表

1. 論文発表 該当事項なし

2. 学会発表

- 1) 大木康史、徳山研一、佐藤 哲、嵯峨礼子、西村秀子、荒川浩一、加藤政彦、望月博之、森川昭廣：幼若マウスの喘息モデルにおける感作抗原量と気道過敏性獲得との関連の検討. 第37回日本小児アレルギー学会 (日本小児アレルギー学会誌 14:418, 2000)
- 2) 徳山研一：小児喘息における気道炎症の役割—実験動物を用いた検討—、第40回東海小児アレルギー—談話会—オータムセミナー特別講演、2001、清水市

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）

研究課題名：アレルギー疾患に係わる胎内、胎外因子同定に関する研究

分担課題名：遺伝と胎内因子

小児期および成人気管支喘息における STAT6 のエクソン 1 の GT 繰り返し配列の多型解析

分担研究者 荒川 浩一 群馬大学小児科・助手

研究要旨 アレルギー疾患の発症には種々の環境因子と遺伝因子が複雑に関与していると考えられている。我々は、昨年本研究において、Th2 サイトカインである IL-4 および IL-13 の受容体の下流にある細胞内シグナル伝達物質である STAT6 (signal transducers and activators of transcription 6) において、新しい遺伝子多型性を認め、アレルギー疾患患者との関連を検討した。本年は、成人および小児気管支喘息群における STAT6 遺伝子エクソン 1 の GT 繰り返し配列の多型と対象群の多型とを比較検討した。成人アトピー型気管支喘息 66 名、成人非アトピー型気管支喘息 97 名、小児気管支喘息 69 名、コントロール 100 名からゲノム DNA を抽出し、STAT6 遺伝子のエクソン 1 に存在する GT 繰り返し配列を Gene scan 法にて検討した。気管支喘息群およびコントロール群において、GT 繰り返し配列の数に異なった 5 種類の多型が認められた。関西地区および群馬県の小児気管支喘息群では、13 繰り返し配列は、コントロール群と比較し有意に多く、15 ではコントロール群に多かった。Genotype では 13/15 は、小児気管支喘息群に多く、15/15 ではコントロール群に多かった。一方、成人喘息群の比較では、アトピー型、非アトピー型、コントロールの各群で STAT6 のエクソン 1 のアレルおよび遺伝子型に差はなかった。以上より、STAT6 遺伝子エクソン 1 に存在する GT 繰り返し配列は、小児気管支喘息の候補遺伝子である可能性が示唆された。今後、STAT6 の発現、および機能解析を行っていく予定である。

鈴木道子 群馬大学小児科大学院
田村一志 群馬大学小児科大学院
小林靖子 群馬大学小児科医員
鈴木幸代 群馬県立がんセンター小児科

胞膜上に発現した受容体に、リガンドが結合することにより受容体がヘテロ二量体を形成し、Jak-STAT (signal transducers and activators of transcription) 経路を活性化する。IL-4、IL-13 では、STAT6 がリン酸化されホモ二量体を形成し核内に移行して、種々の遺伝子転写を増強する。

A. 研究目的

アレルギー疾患の発症には、種々の環境因子（胎外因子）と遺伝因子（胎内因子）が複雑に関与している。その発症メカニズムには、Th2 サイトカインである IL-4 や IL-13 が重要な役割を果たしていると考えられている。すなわち、これら Th2 サイトカインは、B 細胞に作用し IgE へのクラススイッチを誘導して IgE 産生を促す。また、T 細胞に対して Th2 細胞への分化を誘導するほか、マスト細胞の活性化や、気道粘膜組織へ直接作用することで、気管支喘息の発症に関与すると考えられている。

IL-4、IL-13 のシグナル伝達機構は、細

我々は、昨年度の本研究事業において、細胞内シグナル伝達物質である STAT6 において、新しい遺伝子多型性を認め、アレルギー疾患患者との関連を検討した。すなわち、STAT6 のエクソン 1 に存在するマイクロサテライト (GT 繰り返し配列) の繰り返し数に多型が存在し、その多型とアトピー疾患が関連することを報告した。今回、アレルギー疾患として気管支喘息に焦点をしばり、小児期における遺伝子多型と成人の気管支喘息と相違があるかを検討した。

B. 研究方法

対象は、関西地区在住の小児気管支喘息 68 名、群馬小児気管支喘息 69 名、コントロール 66 名、成人アトピー型気管支喘息 59 名、成人非アトピー型気管支喘息 99 名、成人コントロール 100 名。方法は、すでに行っている gene scan 法を用いて検討する。すなわち、エクソン 1 と promoter 領域の 2ヶ所のマイクロサテライトを含む領域に対して、それらを挟む primer にて増幅し、Gene scan 法にて繰り返し配列の数の違いを明らかにする。

C. 研究結果

Stat 6 のエクソン 1 には、繰り返しの数により 6 つの多型が存在した。

関西地区在住の小児気管支喘息群と群馬県では、stat 6 のエクソン 1 の多型は同様の傾向を示した。アレルの検討では、13 繰り返し配列は、関西の小児気管支喘息群がコントロール群と比較し有意に多く ($p=0.0296$)、15 繰り返し配列ではコントロール群に多かった (図 1)。群馬県の小児気管支喘息群では、有意差は認めなかったが同様の傾向であった。また、遺伝子型を比較すると 13 と 15 のヘテロ接合型と 15 のホモ接合型について、群馬小児気管支喘息群とコントロール群を比較すると、それぞれアレルギー疾患群 ($p=0.013$)、コントロール群 ($p=0.0242$) に多い結果であった。関西小児気管支喘息群とコントロール群の比較でも、15 ホモ接合型はコントロール群 ($p=0.0281$) に多かった (図 2)。一方、成人喘息群の比較では、アトピー型、非アトピー型、コントロールの各群で STAT6 エクソン 1 のアレルおよび遺伝子型に差はなかった (図 3、4)。

D. 考察

今回我々は、Th2 サイトカインである IL-4 および IL-13 の細胞内シグナル伝達物質である STAT6 のエクソン 1 における GT

繰り返し配列であるマイクロサテライトの遺伝子多型と気管支喘息との関連を検討した。その結果、小児喘息においては、エクソン 1 の GT 繰り返し配列数の多型と関連が認められるが、成人喘息においては、関連は全く認められなかった。また、小児喘息においては、関西と群馬で同様の傾向は示しているものの、若干の地域差が認められた。

今回の結果で興味深いことは、小児と成人気管支喘息では、stat 6 エクソン 1 との関連に差が認められたことである。一般的に、日本において、成人喘息の約 20 が小児喘息の持ち越し、ないしは再燃と考えられている。すなわち、残りの 80% は成人発症である。stat 6 エクソン 1 が小児喘息に関与し、成人の喘息とは関連しなかったことは、小児と成人の気管支喘息発症の違いに関連する可能性がある。あるいは別の理由としては、成人喘息では、遺伝要因よりは環境要因が強いために、このような結果になった可能性も考えられる。

E. 結論: 気管支喘息の年齢により、stat 6 エクソン 1 の GT 繰り返し配列数の多型と関連が異なり、発症年齢、重症度や治療反応性などの違いを判定する手がかりとなる可能性が考えられた。今後、さらに症例数を増やして検討を行い、さらに、STAT6 遺伝子の転写調節領域などの他の部位における多型の検討や、STAT6 の発現、および機能解析を行っていく必要があると思われる。

F. 研究発表

論文発表

Tamura K, Arakawa H, Suzuki M, Kobayashi Y, Mochizuki H, Kato M, Tokuyama K, Morikawa A. Novel dinucleotide repeat polymorphism in the first exon of the Stat6 gene is associated with allergic disease. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:1509-14

学会発表

(1) 荒川浩一、鈴木道子、戸所誠、加藤政彦、望月博之、徳山研一、森川昭廣、白川太郎、出原賢治：細胞内シグナル伝達物質 STAT6 遺伝子の exon1 における GT 繰返し配列の多型と気管支喘息との関連、日本小児アレルギー学会(第 38 回) (2001 年 10 月 6 日～10 月 7 日, 山口)

(2) 鈴木道子、荒川浩一、鈴木幸代、戸所 誠、加藤政彦、望月博之、徳山研一、森川昭廣：アトピー性皮膚炎患者におけるアシッドスフィンゴミエリナーゼ (ASM) 遺伝子多型の検討、日本小児アレルギー学会 (第 38 回)

図1

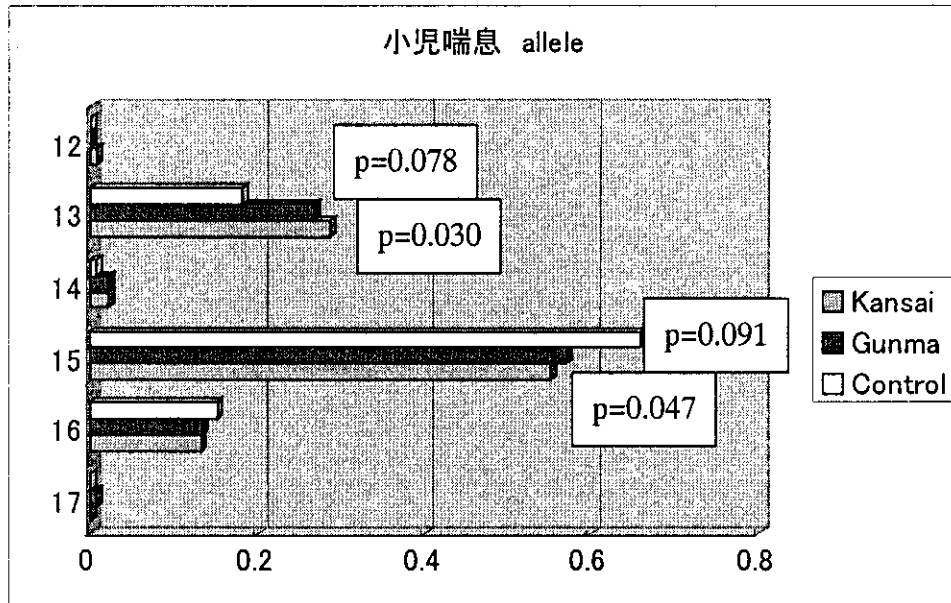


図2

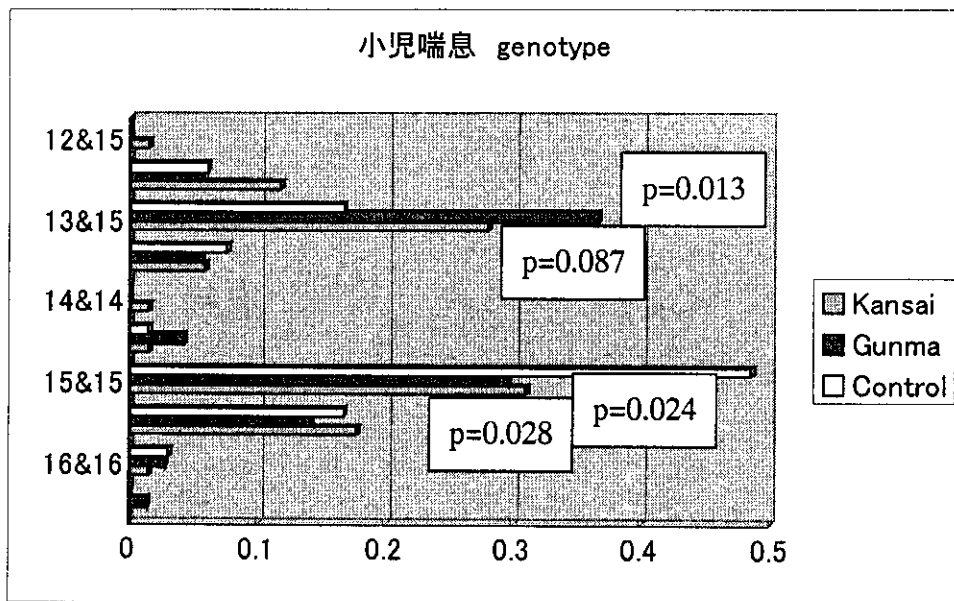


图3

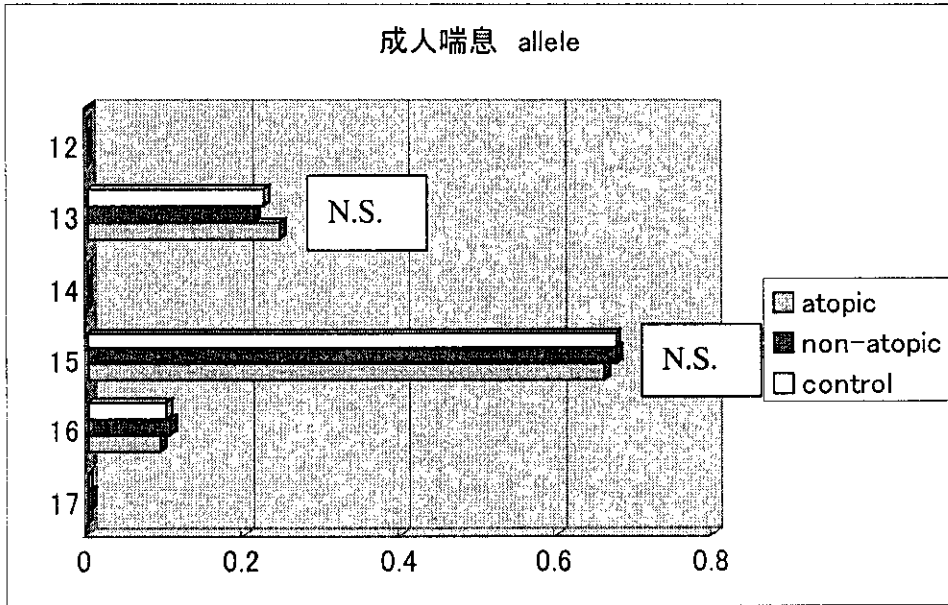
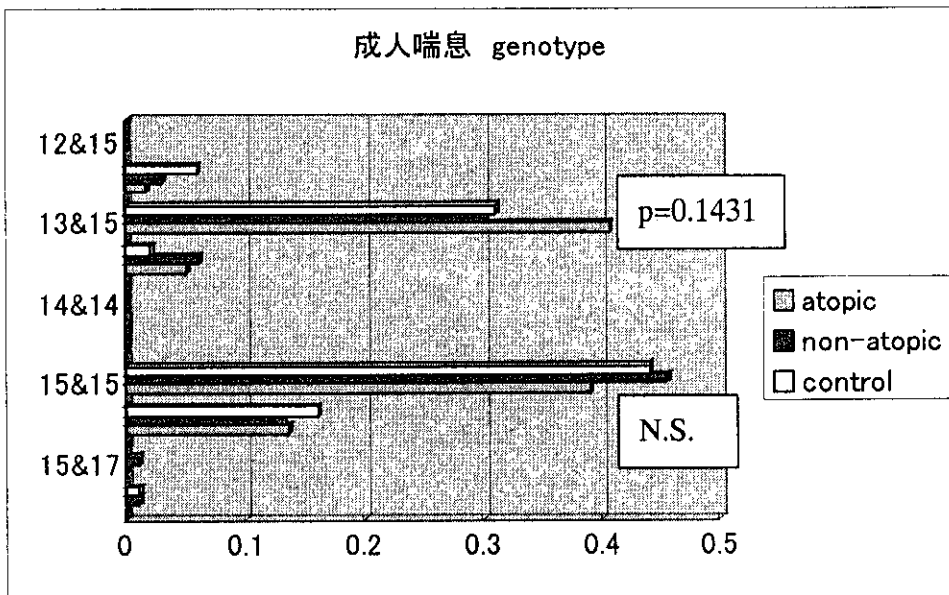


图4



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）

アレルギー疾患に係わる胎内・胎外因子の同定に関する研究

研究課題：神経因子と胎外因子

—乳幼児喘息の気道炎症と気道リモデリングについて—

分担研究者 吉原 重美 獨協医科大学小児科・講師

研究要旨 小児アレルギーの代表的疾患のひとつである気管支喘息において、その気道過敏性亢進に影響を及ぼす胎内・胎外因子に関しては不明な点が多い。そこで今回、発症早期の乳幼児喘息の気道局所・痰中成分を用いて、気道過敏性の獲得・亢進と関連性の高いと考えられる気道炎症による気道リモデリングの成因について検討した。その結果、喘鳴を繰り返している気管支喘息群では、後で乳幼児喘息と診断された児の初回喘鳴群と比較して気道リモデリングに関与する細胞外基質分解酵素のひとつである MMP-9 濃度が高値であった。また、この MMP-9 濃度は、初回喘鳴群において、気道炎症性メディエーターである好酸球由来の ECP や好中球由来の好中球エラスターゼ濃度との間に有意な正の相関を認めた。以上の成績から、すでに乳児期から好酸球のみでなく好中球による気道炎症が気道リモデリングの誘導に関与している可能性が示唆された。

研究協力者：山田 裕美
獨協医科大学小児科・助手

A. 研究目的

小児喘息、特に乳幼児喘息の気道リモデリングに関する報告は少ない。そこで、この時期の気道炎症が気道リモデリングの形成に及ぼす影響を気道局所成分の痰を用いて検討した。乳幼児喘息の気道リモデリングに関与する細胞外基質分解酵素のひとつである MMP-9(matrix metalloproteinase-9)と気道炎症性のメディエーターである好酸球由来の ECP(eosinophil cationic protein)および好中球由来の好中球エラスターゼの濃度を測定し、初回喘鳴群と気管支喘息群で比較検討した。次に、痰中の MMP-9 濃度とそれぞれの炎症性メディエーター濃度との関連性について検討した。

B. 研究方法

後に気管支喘息と診断された初回呼吸性喘鳴患児 8 名（初回喘鳴群；平均月齢 16±5 ヶ月）および気管支喘息患児

21 名（気管支喘息群；平均月齢 34±6 ヶ月、平均罹病期間 19.3±5.8 ヶ月）の両群それぞれの痰中 MMP-9 と ECP および好中球エラスターゼとの関連性について検討した。痰は、自発や喉頭部圧迫による咳嗽誘発法または吸引法により採取した。痰中 MMP-9 は ELISA 法で、痰中 ECP は RIA 法で、痰中好中球エラスターゼはラテックス凝集法で測定した。（倫理面への配慮）

対象患児あるいはその保護者に、本研究の目的等を説明し、理解・同意を得てから痰を採取し研究サンプルとして使用した。

C. 研究結果

1) 表 1 に示すように気管支喘息群では、初回喘鳴群と比較して MMP-9 および ECP の高値を示した。しかし、好中球エラスターゼは両群とも高値を示しほぼ同程度の濃度であった。2) 図 1 に示すように気管支喘息群では、MMP-9 と ECP は相関係数 $r=0.62$ で $P<0.01$ で有意な正の相関を認めた。しかし、好

中球エラストラーゼとは $r=0.24$ で有意な相関を認めなかった。3) 図 2 に示すように初回喘鳴群では、MMP-9 と ECP は相関係数 $r=0.57$ で $P<0.05$ で有意な正の相関を認めた。また、好中球エラストラーゼとも $r=0.72$ で $P<0.05$ で有意な正の相関を認めた。

D. 考察

小児気管支喘息の気道局所痰中において、気道リモデリングに関与する細胞外基質分解酵素のひとつである MMP-9 濃度は、気道炎症の程度、すなわち気道炎症性メディエーターの濃度と相関した。この成績から、少なくとも、小児気管支喘息において、すでに気道炎症が気道リモデリングの誘導に関与していることが示唆された。さらに、特に低年齢児である乳児期の気道リモデリングの誘導においては、好酸球のみでなく活性化された好中球との関連性も示唆された。また、平成 12 年度の研究成績から、乳児喘息において、痰中に気道上皮剥離の集塊であるクレオラ体(Cr B)の陽性率が高く、さらにこの Cr B の出現と IL-8 や好中球エラストラーゼとの正の相関があり、乳児喘息の気道炎症と気道上皮傷害を起こす機序に好中球の関与が示唆された。以上の成績をまとめると、乳児喘息の病態に好中球が重要な働きをしている可能性がある。そこで、アレルギー疾患の代表である喘息に係わる胎外因子として、その発症と関連の深いウイルス感染、特に RS ウイルス下気道感染と喘息と好中球の関連性について痰中成分を中心に現在検討中である。

E. 結論

小児気管支喘息において、すでに乳児期から好酸球のみでなく好中球による気道炎症が気道リモデリングの誘導に関与している可能性が示唆された。また、この進展の程度が、気道過敏性の亢進、小

児喘息の難治化を反映しているのかもしれない。

F. 発表

論文発表

(1) 吉原 重美、山田裕美、有阪 治：小児気管支喘息の気道炎症と気道上皮傷害。日本小児アレルギー学会誌 15、68-76、2001

学会発表

(1) Yamada Y, Yoshihara S, Nishikura K, Ono M, Watanabe M, Fukuda N, Abe T, Arisaka O : Relationship between Creola body and interleukin-8, Neutrophil elastase in sputum with childhood asthma. 97 th American thoracic society , SanFrancisco, USA. Am.J.Resp.Crit.Care Med.163,A848,2001

(2) 山田裕美、吉原重美、小野三佳、渡辺 慎、福田典正、阿部利夫、有阪治：小児気管支喘息患者の痰中 MMP-9 と ECP 濃度との関連性。第 1 3 回日本アレルギー学会春季臨床大会、横浜、2001

(3) 山田裕美、吉原重美、小野三佳、渡辺 慎、福田典正、阿部利夫、有阪治：小児気管支喘息における気道リモデリングに関する検討～気道炎症性メディエーターと痰中 MMP-9 について～。第 38 回日本小児アレルギー学会、北九州、2001

(4) 沼田道生、吉原重美、山田裕美、小野三佳、渡辺 慎、福田典正、阿部利夫、有阪 治：小児気管支喘息の気道リモデリングにおける痰中 MMP-9 と ECP および好中球エラストラーゼとの関連性。第 51 回日本アレルギー学会総会、福岡、2001

表 1. 痰中の MMP-9, ECP, 好中球エラストラーゼ濃度
 - 気管支喘息群と初回喘息群の比較 -

	MMP-9 (ng/ml)	ECP (μ g/L)	好中球エラストラーゼ (μ g/L)
初回喘息群 (n = 8)	256 \pm 73	140 \pm 60	1555 \pm 540
気管支喘息群 (n = 21)	1183 \pm 321	478 \pm 207	1746 \pm 407

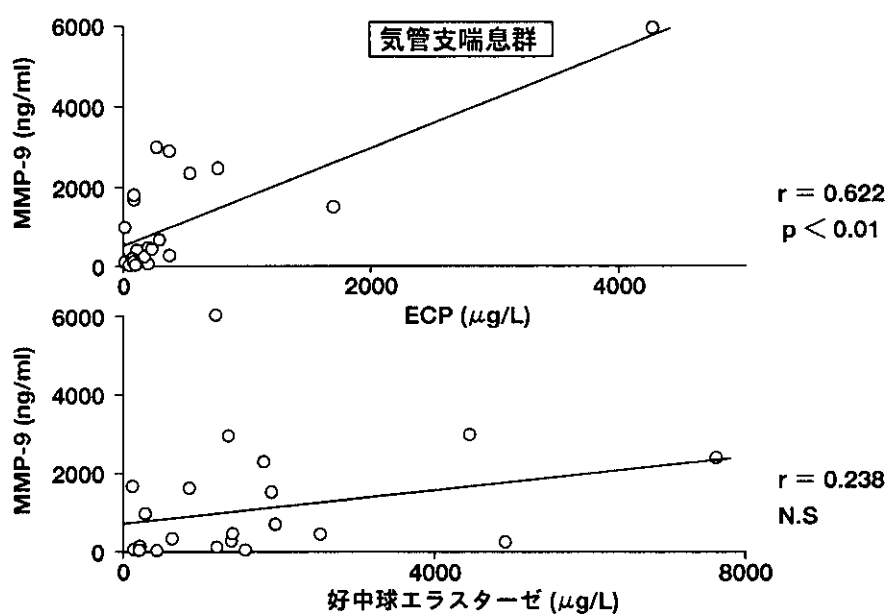


図 1. 気管支喘息群の痰中における MMP-9 と ECP, 好中球エラストラーゼとの関連性

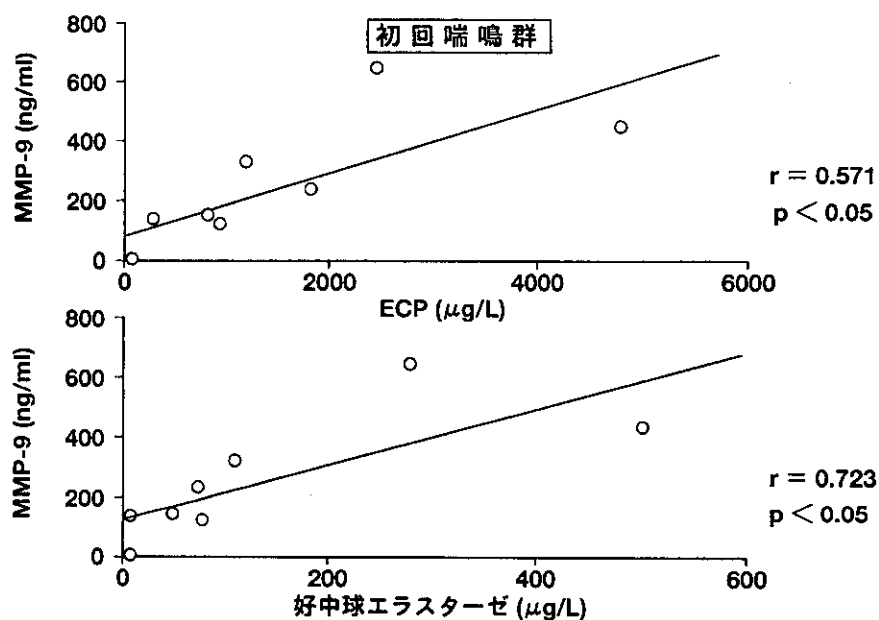


図 2. 初回喘息群の痰中における MMP-9 と ECP, 好中球エラストラーゼとの関連性

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）

アレルギー疾患に係わる胎内・胎外因子の同定に関する研究

アレルギー疾患の予知と予防（感作発症に及ぼす胎内環境因子と体外環境因子）

分担研究者 佐々木 聖（ささきアレルギー科 院長）

研究要旨

- ・アレルギー性鼻炎・気管支喘息・アトピー性皮膚炎患者血漿中 TARC と MDC とは健常者に比較し、有意に高値を示した。 $(p < 0.001)$
- ・総 IgE と TARC の相関性は母体血、臍帯血では認められなかった。また、いずれの疾患群においても認められなかった。
- ・母体血総 IgE と母体血 MDC との間に相関はみられなかった。母体血と臍帯血において MDC は TARC と同様相関は認められなかった。臍帯血における TARC と MDC についての相関も認められなかった。
- ・TARC は血清では有意な高値を示すことから、測定材料は血漿が望ましいと考えられた。
- ・羊水においては IgE、IL-10、IFN- γ 、IL-13 等は検出例があったにも拘らず、TARC、MDC は検出し得なかった。
- ・以上より血漿中 TARC と MDC とはアレルギー疾患の新たなマーカーと考えられ、またその測定はアレルギー疾患の病態解明に有用であると考えられた。

アレルギー疾患の増加がわが国のみならず欧米諸国にも認められ、厚生省アレルギー総合研究事業疫学班の調査でも、わが国のアレルギー疾患有病率は約30%に達するとされている。特に小児アレルギー疾患の増加は、最近の環境因子の変化によりこれまで発症しなかったアトピー素因をもつ児においても発症するようになったのではないかと考えられる。小児アレルギー疾患では母親の胎内環境因子が重要であり、特にアレルギー疾患の予防を考える場合無視しえぬ要因である。胎児は羊水中で発育しこれを1日500ml以上も嚥下しており、羊水の胎児皮膚、消化管に与える影響は大きい。しかし、羊

水が胎児に及ぼす影響を免疫アレルギー学的に検討した研究は内外共に稀有である。羊水中のサイトカインの測定ではアレルギー歴をもつ母の羊水中にIL-13とIL-4を検出される例が多く、一方アレルギー歴のない母体血と臍帯血のIFN- γ 値に高い相関を認めた。母体血・臍帯血、羊水中IL-13とIL-10が共に検出される例に2才までのアレルギー発症が認められ、アレルギー発症予知因子となる成績をえた。

このように出生時に母体血、臍帯血、羊水を採取し、IgE値、IL-4、IL-5、IL-10、IL-13、IFN- γ 、IL-12等を測定した。これらの症例について出生2年後よりATS-

DLT の調査用紙を用いアレルギー疾患の発症を調査し、これらの検査値がアレルギー疾患発症の予知指標となり得るか、検定しつつある。

そしていまだ不明の点が多い、新生児期から乳児期にかけての抗体産生や免疫寛容などの免疫機能の発達について免疫アレルギー学的にさらに検討を加えた。

すなわち免疫系はヘルパー T 細胞の Th₁ と Th₂ のバランスによって調整されており、アレルギー発症は Th₂ 優位の状態によるといわれている。著者はアレルギー発症に係る母体内環境因子をインターロイキンを中心としたネットワークで検討して来たが、これに加えて炎症反応において細胞浸潤の走化性因子であるケモカインがケモカインレセプターと結合し細胞内に特有のシグナルを誘導するといわれていることより、ケモカインネットワークを含めた総合的検討も必要と考えた。そして CC ケモカインの一つである thymus and activation-regulated chemokine (TARC) は胸腺髄質の樹状細胞で産生され、TARC のレセプターである CCR 4 を発現しているのは Th₂ 細胞といわれている。同様に Macrophage-derived chemokine (MDC) もリガンドとして CCR 4 が選択的に発現していることより、母体血、臍帯血、羊水について TARC に続いて MDC についても測定し、アレル

ギー疾患発症を予知する指標の一つとなりえるかを検討した。

対象はアトピー歴陽性の母体血とその羊水および臍帯血の24組である。

測定は human TARC Immunoassay (R & D Systems) と同じく human MDC Immunoassay を用いた。

羊水においては IgE、IL-10、IFN- γ 、IL-13 等は検出例があったにも拘らず、TARC、MDC は検出し得なかった。

母体血では TARC は平均 84.5 pq/ml、臍帯血では平均 332.6 pq/ml で、母体血に比し臍帯血は 3.9 倍の高値を示した (図 1)。MDC は母体血平均 331.8 pq/ml、臍帯血平均 744.5 pq/ml で母体血平均値に比し 2.2 倍の高値を示した。母体血と臍帯血において TARC と MDC についてそれぞれ相関は得られなかった (図 2) (図 3)。母体血において TARC と MDC について相関得られなかった。臍帯血における TARC と MDC についても検討したが相関は得られなかった。母体血総 IgE と母体血 MDC との間にも相関はみられなかった (図 4)。

これらの症例においては IL-4、IL-5、IFN- γ 、IL-13、IgE を測定しており、ATS-DLT を用いたアンケート調査中であり、アレルギー疾患発症との関係について検討する予定である。

研究発表

論文発表

アレルギー疾患の予知と予防と Early Intervention（感作発症に及ぼす母胎内環境因子と体外循環因子）

佐々木 聖、アレルギー 49 : 1 ~ 4, 2000.

小児アレルギーの予知と予防

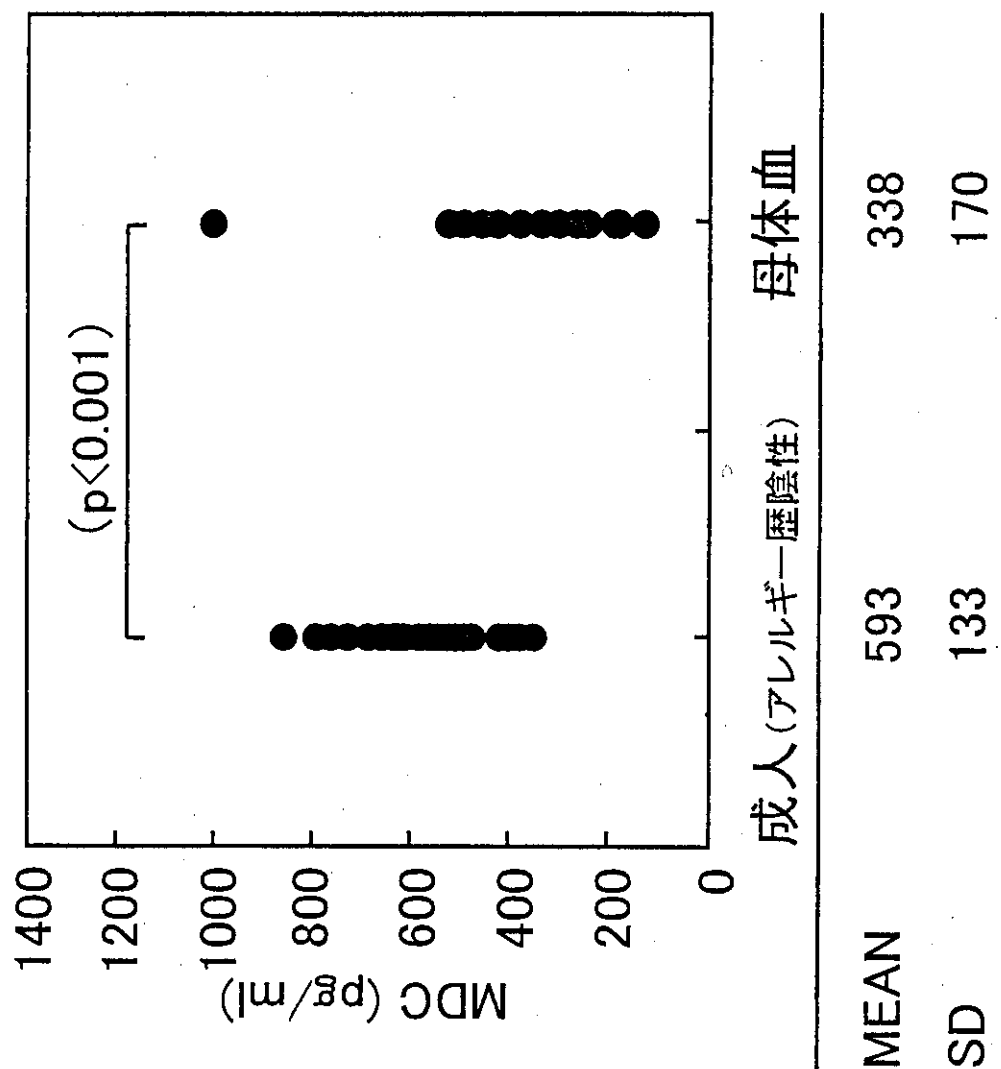
佐々木 聖、アレルギー 50 : 597 ~ 600, 2001.

アレルギーと栄養 —子どもをアレルギーにしないための妊婦への食事指導—

佐々木 聖、周産期医学 31 : 249 ~ 253, 2001.

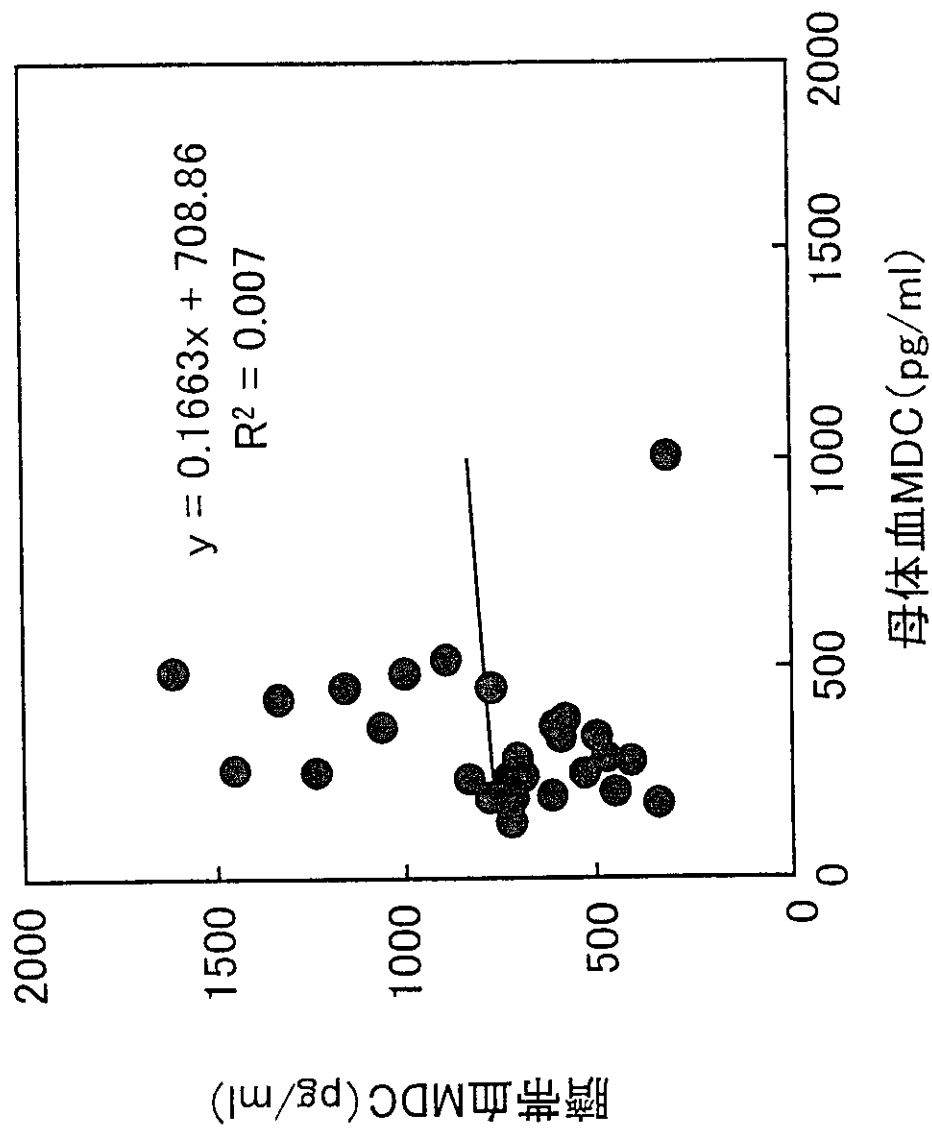
(図1)

成人(アレルギー歴陰性)と 母体血中MDCの比較



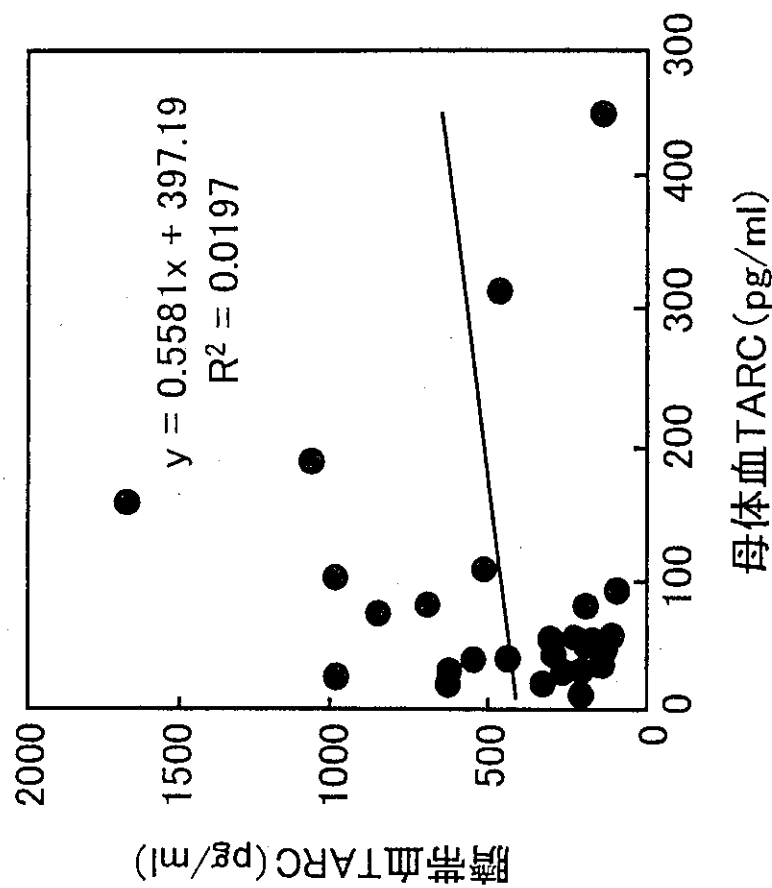
(図2)

母体血と臍体血中のMDCとの相関

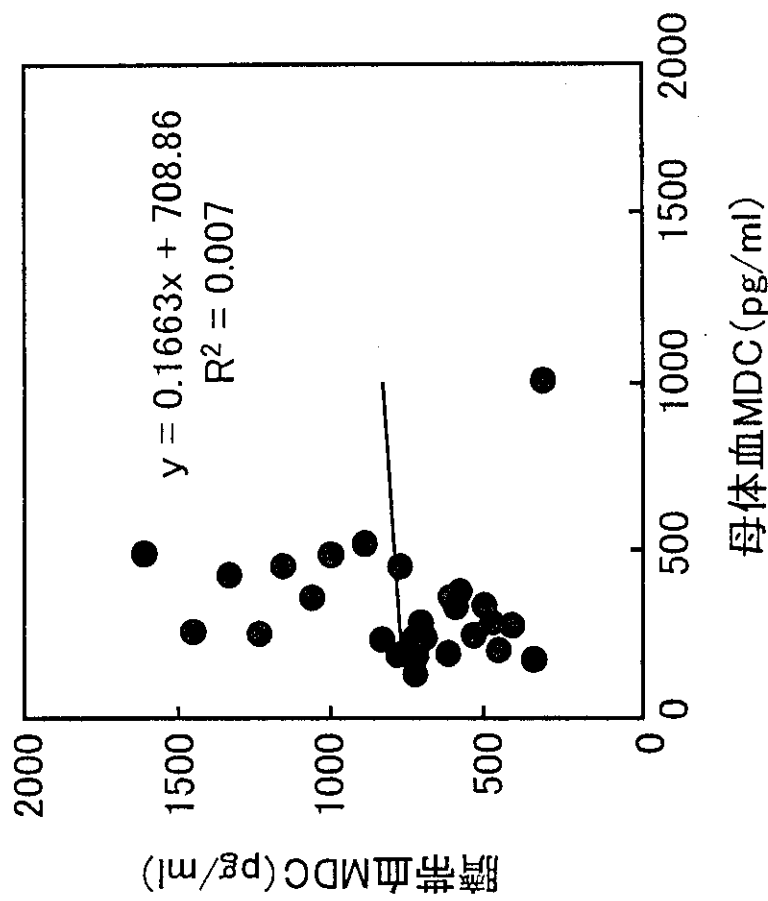


(図3)

母体血と臍体血中の TARCとの相関

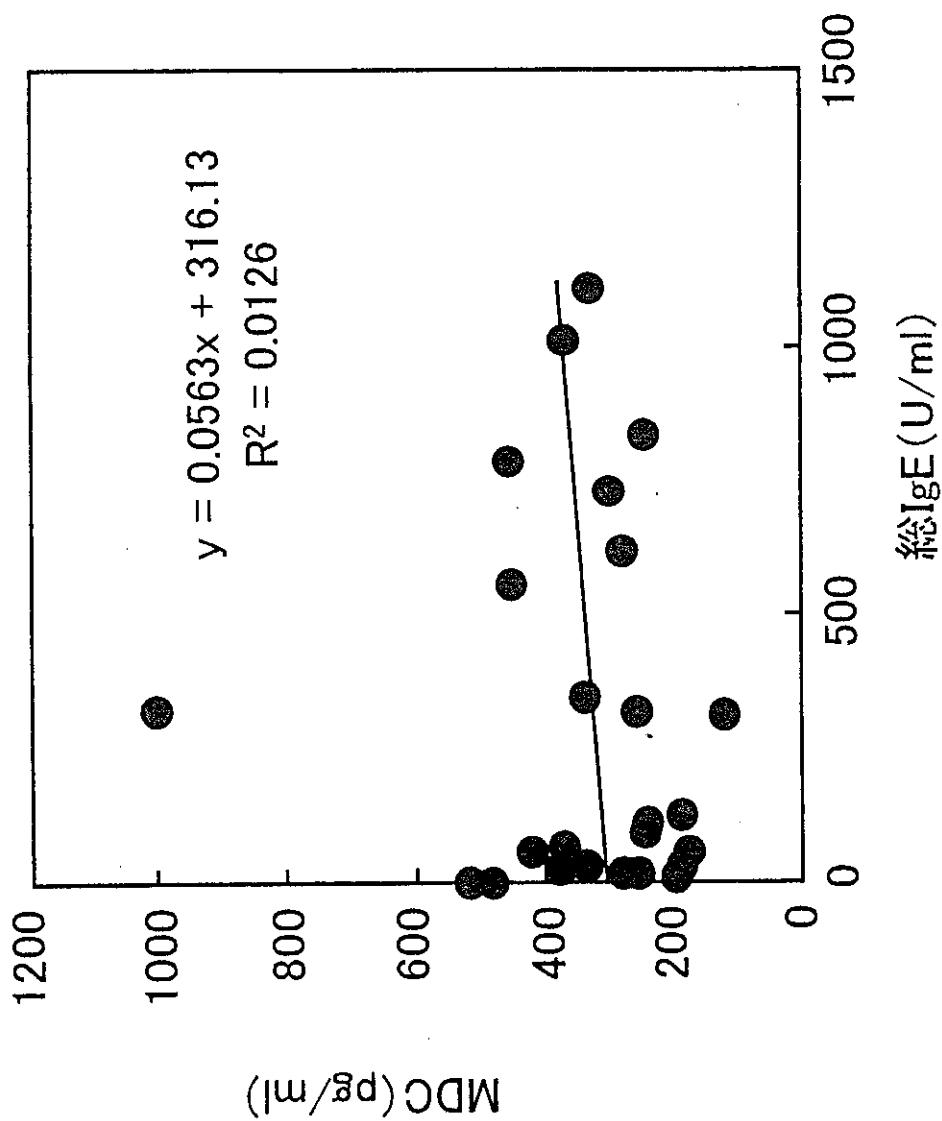


母体血と臍体血中の MDCとの相関



(図4)

母体血清総IgEとMDCとの相関



平成13年度厚生科学研究
厚生労働省感覚器障害及び免疫・アレルギー等の研究事業

アレルギー疾患に係わる
胎内・胎外因子に関する研究

研究報告書

発行 : 平成14年3月
発行者 : 主任研究者 森川 昭廣
印刷 : 有限会社 アール印刷