

200/0798

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

気管支喘息の発症や喘息症状の憎悪に及ぼすウイルス
感染の影響と治療の効果に関する研究

平成13年度研究報告書

平成14年3月

主任研究者 飯 倉 洋 治

目次

| | |
|--|----|
| I. はじめに | 3 |
| II. 総括研究報告 | |
| 気管支喘息の発症や喘息症状の増悪に及ぼすウイルス感染の影響と治療の効果に関する研究 | |
| 飯倉洋治 (昭和大学医学部小児科) | 5 |
| III. 分担研究報告 | |
| 1. ウイルス感染による気管支喘息の発症と増悪の機序解明に関する研究 | |
| 飯倉洋治 (昭和大学医学部小児科) | 9 |
| 2. 成人喘息の発症及び難治化に及ぼすウイルス感染の影響に関する研究 —動物モデルによるウイルス感染の経気道感作への影響について— | |
| 秋山一男 (国立相模原病院臨床研究センター) | 12 |
| 3. 気管支喘息の発症変動因子としての感染の研究 | |
| 足立 満 (昭和大学医学部第一内科) | 15 |
| 4. 喘息急性大発作におけるウイルス感染 (特にRSウイルス感染) の関与 | |
| 勝沼俊雄 (東京慈恵会医科大学小児科) | 17 |
| 5. ウイルス感染と気道過敏性に関する研究 | |
| 海老澤元宏 (国立相模原病院臨床研究センター) | 18 |
| 6. ウイルス疾患の月別流行の経年的推移 | |
| 岡部信彦 (国立感染症研究所感染症情報センター) | 21 |
| 7. ウイルス感染等による喘息を含めた呼吸器疾患の増悪に関する研究 | |
| 田島 剛 (博慈会記念総合病院小児科) | 24 |
| 8. 気管支喘息モデルによるウイルス感染の影響の基礎的知識 | |
| 永井博弐 (岐阜薬科大学薬理学教室) | 26 |
| 9. 成人喘息におけるウイルス感染による喘息症状増悪と呼吸機能の相関 および吸入ステロイドの影響に関する研究 | |
| 工藤宏一郎 (国立国際医療センター) | 28 |
| 10. 成人喘息におけるウイルス感染の日常生活障害 (経済的負担も含めて) 及び予後に及ぼす影響に関する研究 | |
| 佐野靖之 (同愛記念病院アレルギー・呼吸器科) | 31 |
| 11. 小児気管支喘息とウイルス感染の臨床的検討 | |
| 小田島安平 (昭和大学医学部小児科) | 33 |
| IV. おわり | 35 |

はじめに

気管支喘息の発症や喘息症状の増悪に及ぼすウイルス感染の影響は、多くの研究者の意識するところである。しかし、まとまってこの問題を研究する機会が少なかったのか、小児と成人の簡潔な研究報告はない。今回小児と成人の喘息研究者と一緒に討論し、検討していく機会を得たことで、この重要な問題を討議し、一般的な意見をまとめてみたい。今回はこの重要なウイルス感染の問題を、小児と成人喘息について調査し、治療と予防の面にも検討を加えていく。

初年度は喘息悪化要因の一つとされる感染が、実際どの程度喘息患者に影響しているのかの調査を、小児喘息・成人喘息の両面について行い、ウイルス感染と症状悪化の頻度を検討した。また小児の場合、喘息の初発喘鳴の引き金にウイルス感染が関与することが多いと言われるが、その実際もはっきりしていない。重要なことは、多くの患者、研究者がその事実を「なんとなく」知っていたが、その実態がはっきりしていなかったということである。この問題も今回の研究の大きなポイントで、実際に小児の初発喘鳴が喘息に移行するかの調査を行い、その結果から予防的にどう対応するかを考えをまとめる基礎を作る。小児の初発喘鳴に関しては、発育が十分でないために気管支が脆弱で「ゼロゼロする」と、余り重要視されていなかった。しかし、今回の調査でウイルス感染と喘鳴の関係がはっきりすると、小児喘息の発症予防の新しい試みが可能と考えられ、今後の研究の進展が期待される。

成人喘息とウイルス感染の問題も重要で、成人喘息のウイルス感染による症状の悪化の頻度がはっきりすると、感染時の対策や治療の工夫や、日常診療に重要な情報の提供ができると考えられ、高齢者の喘息死亡の予防にも繋がると言える。成人喘息のインフルエンザ感染は重篤な肺炎に移行し、高齢者の喘息患者の死亡の原因の一つでもある。そこで、この研究班では①ウイルス感染による症状悪化の頻度 ②どのようにして症状が悪くなるのか ③どのような患者背景の者が悪くなるのか 等の検討を行っていくことが重要である。

初年度は実態調査から、問題点を探り、臨床との関係を検討すると同時に、基礎研究

も行なってみました。何故ウイルス感染が喘息患者に悪い影響を及ぼすのかを実際を知る必要がある。特にこの問題をしっかりと把握しておかないと、治療面での検討を考えた時に進展が期待できないといえる。また、治療の面での新しい対応も必要で、基礎的ではあるが治療の新しい試みを気道の炎症反応を予防する意味で検討を行った。

もう一つの重要な問題は、喘息患者のウイルス感染予防対策である。この方法の一つにワクチンがある。インフルエンザワクチンは、いろいろ問題があるように言われるが、実際接種を受けた人の罹患率、症状の軽減は多くの人に認められ、インフルエンザワクチンの効果は再認識されてきた。ところが、最近は如何に接種を受けるかが問題になっている。特にワクチン作製の過程で、孵化鶏卵を使用することから、アレルギー児の摂取にブレーキがかかり、小児では接種したくても接種できない患児がいることが現状である。この問題に関しても今後検討していく予定である。

気管支喘息の発症や喘息症状の増悪に及ぼすウイルス感染の影響と
治療の効果に関する研究

主任研究者 飯倉 洋 治
昭和大学医学部小児科教授

研究要旨

本研究は気管支喘息患者にとって発作の悪化とつながる重要な問題であるウイルス感染との関係の研究である。特に小児喘息ではウイルス感染が症状の悪化のみでなく、喘息の初発喘鳴に誘因になっているとの指摘が多いがその実際を検討することも重要である。またウイルス感染の予防対策、治療の検討も重要で小児科、内科医、基礎学者と合同で研究を行った。その結果、成人では喘息患者の31%が感冒で喘息症状の悪化を訴え、しかも重症患者ほど末梢気道の影響が強く残った、小児は入院する患児の14%にウイルスが同定され、中でもRSVが頻度が多かった。また、初発の喘鳴誘因にRSVが関与していることも多く、再感染で殆どが喘息移行になっていた。

基礎研究では何故ウイルス感染が喘息症状の悪化につながるかの研究を、喘息マウスを用いて研究した結果、ウイルス感染後、気道に好酸球の浸潤が多く、しかもIL-5の産生も多い結果がえられた。また気道上皮細胞にウイルスを感染させた研究でも好酸球を引き寄せるRANTESが気道上皮細胞にインフルエンザを感染させると増えることから、ウイルス感染は如何なる条件でも喘息の患者には悪い状態をさらに悪化させる結果であった。

予防策に関する研究では、インフルエンザワクチンは有効であり、RSAT値で卵白が6の児は専門医に相談が好ましい結果であった。抗炎症作用および抗ウイルス作用を持つINF-βは抗原曝露による気道への好酸球浸潤を有意に抑制した。このことは今後の予防研究に新しい方向を与えてくれる結果と言える。

分担研究者

| | |
|-------|-----------------|
| 秋山 一男 | 国立相模原病院臨床研究部 |
| 足立 満 | 昭和大学医学部第一内科 |
| 勝沼 俊雄 | 東京慈恵会医科大学小児科 |
| 海老澤元宏 | 国立相模原病院臨床研究部 |
| 岡部 信彦 | 国立感染症研究所 |
| 田島 剛 | 博慈会記念総合病院 |
| 永井 博弼 | 岐阜薬科大学薬理学教室 |
| 工藤宏一郎 | 国立国際医療センター呼吸器科 |
| 佐野 靖之 | 同愛記念病院アレルギー呼吸器科 |
| 小田島安平 | 昭和大学医学部小児科 |

A. 研究目的

喘息患者の症状悪化にウイルス感染が関与することは多くの研究者が知っていることであるが、しかし実際どの程度の頻度で関与し、どうしてウイルス感染が症状を悪化させるのかに関しては十分な意見がない。しかも小児においては喘息のきっかけにウイルス感染が関与する場合もあり、ウイルスの気道感染と喘息はいろいろな面で重要な問題である。今回はこの問題の解決のために、喘息患者とウイルス感染、さらに如

何なる機序で症状の悪化とつながるのか。また、予防策として如何なることが効果的か等について研究し、今後どの様なことが期待されるのかの検討を行う。

B. 研究方法

1) 小児喘息とウイルス感染の関係に関して：3つの異なる施設で実際に入院した小児の喘息患児の原因にウイルスが如何なる関与をしていたかの調査を行ない、実態を調べる。また、入院した児の鼻腔洗浄液によるウイルス検査を行ない、初発喘鳴とウイルス感染の関係を調べた。

2) 成人喘息の感冒と症状悪化の関係：この調査は重要で、成人の喘息は高齢者ほどウイルス感染が危険なことから実態調査を2施設で行った。

3) 基礎研究に関して：喘息患者がウイルス感染にかかると何故悪化するのかの研究を行うことは重要で、マウスの喘息モデルを用いて研究を行った。また、気道上皮細胞にインフルエンザウイルスを感染させたときにどの様なサイトカイン、ケモカインが産生されるのかの検討も行なった。

4) 予防的にはどの様な策があるかに関して：ここでは2つの検討を行った。一つはワクチン接種であり、もう一つは抗炎症作用がありかつ抗ウイルス作用のある INF- β 投与によるアレルギー反応の抑制である。

C. 研究結果

呼吸器疾患の代表である気管支喘息の症状増悪に感染が引き金になっていることは多くの研究者の考えるところであるが、実際に小児、成人での症状増悪の頻度、背景に関しての研究は少ない。また、症状増悪の基礎的研究に関する研究も少なく、今回は臨床・基礎両面からウイルス感染と気管支喘息の問題に関し、結果は次のようになった。

1) 臨床面からの研究結果

①小児喘息に関して：小児喘息の気管支喘息患者の入院する状態にまで発作がひどくなった患者背景をウイルス感染の有無を3つの異なる施設で検討した結果、インフルエンザ流行前で、喘息発作の最も起こる時期とされる10月から11月中旬に喘息発作で入院した患児からウイルス分離が出来た症例は50症例中14%で、その中で最も頻度の高いウイルスはRSVであった。この傾向は他の施設においても同じで、初発喘鳴にRSVの感染が関与している例が多かった。特に低年齢児の喘息発作様症状の誘因にRSV感染が重要と言える。田島らは入院患児271人の検討で、気管支喘息・喘息様気管支炎がある者の下気道炎症既往は56人(31.5%)であったのに対し、喘息の無い者の下気道炎症既往者は93人中10人(10.8%)と非常に少ない結果を得ている。さらに小田島らは喘息があつて症状がひどく入院した患児454人の鼻汁中RSVの検査を行なった結果、166人(36.5%)にRSV陽性を認め、反復感染が認められた19人中、13人は初回の喘鳴がRSV感染であった。そして初回RSV感染で喘鳴を呈した患児は半年の経過で全例気管支喘息に移行していた。岡部らのウイルス感染の流行調査では、インフルエンザも年により流行が異なり、夏になつてもインフルエンザB型が分離されることがあるとの結果で、しかも年齢は小児から成人まで非常に幅広く流行時には多くの方が影響を受けている結果であった。

②成人に関して：成人のウイルス感染で問題になるのはインフルエンザ感染であるが、流行の程度によって症状増悪の程度が異なることから、佐野らは喘息患者310人(男154人、女156人、平均年齢

50.2±15.0 歳)に、症状増悪と感冒罹患の調査を行った結果、31%が大いに関係ありとの調査結果であった。そして、工藤らは感染で症状増悪のみられた外来患者、症状がひどく入院した喘息患者の呼吸機能を測定した結果、感染が引き金となった発作患者の呼吸機能の回復は症状回復より遅く、特に末梢気道の回復が悪く、また入院するような重症な患者の回復はさらに遅かった。

③基礎研究に関して：ウイルス感染が何故気道の回復をおくらせるのかに関する研究の結果、秋山らは喘息マウスを作成し、そこにインフルエンザウイルスを感染させ、インフルエンザ感染後どの時期に抗原感作が経気道的に曝露されると気道に好酸球、リンパ球、マクロファージ等が有意に増加するかの研究を行ない、その結果感染の急性期で樹状細胞が存在する時の抗原曝露が重要なことを証明した。さらに足立らは、気道上皮細胞にインフルエンザ A (H3N2) を感染させ、どのようなサイトカインの産生が増えるのかの検討を行なった。その結果、好酸球を引き寄せる RANTES の産生増加が見られた。

④予防的研究に関して：臨床面では予防接種での喘息患者のインフルエンザからの予防を考え、小児科外来での非アレルギー児と喘息を含むアレルギー児のインフルエンザワクチンの効果、副反応調査の比較を行った。その結果、卵の RAST が最も高い6の児1名がワクチン摂取後局所に腫脹を認めた(0.8%)。効果は2名が罹患(1.7%)、しかし短期の発熱のみであった。このことから、予防接種は重要と言える結果であった。また、永井らは、ウイルス感染予防に、抗ウイルス剤のアシクロビルと、抗ウイルス作用と、抗炎症作用を併せ持つ IFN-β を感作

マウスに10日前から腹腔内投与。その後抗原感作を経気道的に行った結果、IFN-β は気道過敏性の抑制、好酸球浸潤、IL-5 産生抑制が有意に認められた。

D. 考察

今回気管支喘息とウイルス感染の問題に関して、次のような検討を行った。一つはウイルスの影響で喘息患者が如何なる影響を受けるかであり、小児の場合はウイルス感染がきっかけで喘息に移行する児が多いことである。また、ウイルス感染は喘息を悪化させるなら、如何なる機序が働くのかの研究を行った。

これらの研究から、ウイルス感染が喘息患者の症状悪化、遷延の背景がいくらか明らかになってきた。特に成人での感冒罹患と喘息悪化の実体は脅威で、31%の患者が感冒で喘息症状の悪化を訴えていた。このことは、喘息患者管理上重要なことで、感染時は早めにステロイド吸入の増量を進めておく患者が多くいることで、今後の喘息対策に強調すべき点と言える。

また、小児喘息で入院した454人の患者のウイルス分離が出来たケースではRSVが多く、しかも鼻汁からのウイルス抗原検査で36%にRSVが陽性で、その内の19例(11.4%)が反復感染で、しかもこれらの全例が半年以内に喘息に移行していたことは、ウイルス感染の喘鳴対策は重要で、昔は子どもは気管支が弱いからすぐゼロゼロするといっただけ見過ごした喘鳴に新しい対応が必要といえる。

ウイルス感染と基礎研究であるが、秋山らは喘息マウスのモデル実験から、ウイルスの感染の時期で生体の抗原に対する反応が異なることを報告している。このことは、急性期では発作を押せることに注目し、余り気道のリモデリングをその時点で考えなかったが、急性期に好酸球、IL-5の産生が

多いことから、急性期の抗炎症作用治療が重要と言える。

この考え方は、当然のように考えられるが実際の、発作時は多くの人はこちらまで考えていないのが現実で、今回の研究結果は重要と言える。足立らも気道上皮細胞にインフルエンザを感染させ、どのような炎症物質が産生されるかの研究から、好酸球の強い誘導物質である **RANTES** の産生が非常に高い結果を報告していることから、炎症の急性期の考え方に今後は十分注意が必要であるとの結果であった。

予防的対応であるが、まず第一に考えるのはワクチンである。しかし、アレルギー児への接種は敬遠されてきた。その理由はインフルエンザワクチンが孵化鶏卵から作られるからである。今回 **0.8%** と非常に低い副反応結果で、しかも局所の腫脹のみであった。そして、この患児は卵に極めて強い反応を示す患児であった。一般的に極めて強いタマゴアレルギー児以外はインフルエンザワクチンは接種が可能と考える。効果の面からも、今回は接種を受けた児の **2.7%** が感染したが、症状が軽く良好な結果であったことから、喘息患者の多くがアレルギー体質であるが、積極的にワクチンを摂取すべきと考える。

ウイルス疾患の予防と気道の炎症変化を考えると、抗ウイルス作用があり、抗炎症作用を有する **INF- β** の研究で、今回素晴らしい気道の抗炎症作用が証明されたことから、今後はこの種の薬の開発が望まれる。

E. 結論

今回喘息患者のウイルス感染についての検討を臨床面からと、基礎面から検討行ない、大変興味ある結果が得られた。ウイルス感染が喘息患児に多くのマイナス面の影響を与えているばかりでなく、喘息誘発にも関与していることが多い点である。また、急

性期の感染状態は気道に強い炎症変化を与える影響を及ぼしていることがはっきりしたので、急性期に如何に対応するかが、今後の喘息対策の一つであると言える。

また、予防であるがワクチンは重要で、今後インフルエンザ等は積極的に進めるべきであると考え、抗ウイルス作用のある薬のウイルス感染前の投与が期待される。

F. 健康危険情報

際立ての問題は無いが、インフルエンザワクチンは孵化鶏卵を用いて作ることから、卵白アレルギーの人は敬遠されていたが、今回の研究結果から、**RAST** 値が卵 **6** で、臨床症状もひどい人は専門医の指導の元でインフルエンザの接種を行えば可能といえる。

G. 研究発表

分担研究報告書参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

ウイルス感染による気管支喘息の発症と増悪の機序解明に関する研究

分担研究者 飯倉 洋治 昭和大学医学部小児科教授
研究協力者 椿 俊和 千葉県こども病院アレルギー免疫呼吸器科
坂本 泰寿 昭和大学医学部小児科
中川 和子 昭和大学医学部小児科

研究要旨

喘息患者はウイルス感染で症状が悪化するばかりでなく、インフルエンザは気道の過敏性を後進させるため、低年齢時はウイルス感染により症状が惹起されることが多い。しかし、インフルエンザの予防接種は、作る家庭で孵化鶏卵を用いることからアレルギーを背景にもつ喘息児は敬遠されることが非常に多い。そこで、今回は喘息児、食物アレルギー児を含めてインフルエンザ予防接種と副反応、効果について検討した。その結果、116名中、卵の RAST6 の人に軽い副反応がみられたほか副反応はみられなかった。また効果は罹患 2 名と少なく、しかも 2 日の発熱で終わった。このことから、喘息時に積極的にインフルエンザ予防接種を打つべきと言える。但し、卵の RAST6 の人は前もってプリックテストを行い、分割注射を行ってはどうかと考える。

A. 研究目的

気管支喘息発症、増悪にウイルス感染が重要な引き金になっていることは周知の事実である。しかし、このウイルス感染を予防することもまた難しい。インフルエンザの予防接種も一時効果がないとの理由で、製造中止にまでなってしまったが、再度小児に対するインフルエンザの重要性からかなり注目され、多くの患者がインフルエンザの予防接種に期待をもつようになった。実際、筆者らは患者個人個人に注意してインフルエンザの予防接種を行っているが、一般的には孵化鶏卵から作ることを理由に、まだ予防接種に踏み切ることを躊躇する医師も少なくない。

このことは、喘息児のインフルエンザ感染予防に重要な結果をもたらすことから、今回はインフルエンザ予防のために行ったインフルエンザ予防接種を行い、非アレルギー児との比較を副反応、効果

に付いての検討を行った。

B. 研究方法

1) 対象：予防接種はインフルエンザワクチンを平成 13 年 10 月 1 日から平成 14 年の 2 月 1 日までに昭和大学小児科外来を受診した 116 人（男 68 人＝58%、女 48 人＝42%）、平均年齢 7.1 歳児を対象に行った。

2) 方法：インフルエンザ接種量は規定の指示の如く行った。また、摂取後 30 分後に副反応の検討を行なった。

臨床効果は使用薬、経過をみて、2 月 28 日までの臨床経過で判定した。

C. 研究結果

1) 気支喘息患者に関して：気管支喘息単独患児は 17%、気管支喘息＋食物アレルギー児 10%、気管支喘息＋アトピー性皮膚炎児 8%で、全体の 35%が喘息がらみのアレルギー児であった。その他のアレルギー疾患は食物アレルギー＋アトピ

一性皮膚炎児 9%、アトピー性皮膚児 9%、食物アレルギー 3%、で 56%がアレルギー児で 44%が非アレルギー児であった。

2) 食物アレルギー児の卵に関する検討：食物アレルギー児の卵に関して臨床的に、また検査結果的に陽性と判断される児は 63%であった。

3) 副反応に関して：インフルエンザ予防接種後の副反応は 1 名 (0.8%) であった。その内訳は注射部位の局所腫脹で、全身的な反応はみられなかった。この患児の検査結果は RAST で卵白が 6、牛乳 4、大豆 4 であった。

4) インフルエンザ予防接種の効果：予防接種を行ってもインフルエンザに罹患した患児は 2 名 (1.7%) であったが、2 名とも 2 日で下熱し、痙攣、脳症はみられなかった。

5) アレルギー児のインフルエンザ予防前の抗アレルギー薬の予防投与に関して：アレルギー児 67 人中 22 名 (33%) がインフルエンザ予防接種前に抗アレルギー剤を服用して接種を行っていた。

D. 考察

気管支喘息患者がインフルエンザに罹患すると重篤な肺合併症すなはち重篤な肺炎になると言われ、高齢者の呼吸器疾患患者がインフルエンザで死亡する頻度は毎年かなりの数である。小児でもインフルエンザ対策はいろいろな意味で重要であり、筆者は重症喘息児には毎年必ず接種を行ってきた（製造中止の期間も業者と相談し譲り受け注射を行っていた）。しかし、アレルギー児は副反応が心配との理由で予防接種を受けられない喘息児も多く、副反応の実態を調べる必要があるし、効果の検討を行なう必要もある。今回副反応を示した患児はアレルギーの強い患児で、しかも RAST で卵白が 6 で

あり、極めて感作が強い児であった。このことを考慮に入れると、卵白の RAST 試験結果が極めて高い児に対する予防接種時は前もってプリックテストを行い、その結果で分割接種等の工夫を行えば実施可能と考える。

今回の副反応も局所反応のみであったことから、卵アレルギーのある喘息児全てにインフルエンザ予防接種を中止するのはむしろ慎む方向の意見を強調したい。アメリカアレルギー学会、アメリカ小児科学会では卵アレルギー児に対し、孵化鶏卵を用いているワクチンでも接種の心配無しと通達を出していることから、本邦でもこの問題をもっと掘り下げ、喘息児のインフルエンザ合併による肺炎を未然に防ぐ対策が必要を考える。

効果であるが今回は 2 名罹患してしまっただが発熱が 2 日で治まり、予後は良かった。このことは、今後インフルエンザの予防接種を積極的に進める一つの根拠になるし、今後に実地医家に於けるアレルギー児の摂取に参考になるといえる。

E. 結論

アレルギー児と非アレルギー児にインフルエンザ予防接種を行い、効果と副反応の検討を行なった。その結果 1 名に副反応が認められたが、局所反応のみで軽かった。しかもその患児は RAST で卵白が 6 であったことを考慮すると、今後 RAST6 の人はプリックテストを行いインフルエンザ予防接種を行うと副反応を軽減できると考えられる。臨床的に効果があった結果から、今後はインフルエンザワクチンは喘息児にも積極的に使用していくべきと言える。

F. 健康危険情報

インフルエンザのワクチン接種は孵化鶏

卵からワクチンを作成することから、患者の **RAST6** の人は前もってプリックテストを実施しておくにより安全と考える。

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

成人喘息の発症及び難治化に及ぼすウイルス感染の影響に関する研究
—動物モデルによるウイルス感染の経気道感作への影響について—

分担研究者 秋山一男 (国立相模原病院 臨床研究センター)

研究協力者 釣木澤尚実、谷口正実 (国立相模原病院 臨床研究センター)
鈴木俊介 (横浜市立大学医学部第一内科)

研究要旨

マウスの喘息モデルでは腹腔注、皮下注による全身的感作により、気道過敏性の亢進、血清中の抗原特異的IgE抗体の産生、肺および肺胞洗浄液中の好酸球浸潤を来す報告は数多くあるが、吸入感作により好酸球浸潤を来す喘息モデルはいまだ報告されていない。我々はインフルエンザAウイルス感染急性期(day3-7)に低濃度卵白アルブミン(0.05% OA)で吸入感作を行い、OAチャレンジを5日間連続で繰り返すことによって、肺組織に好酸球浸潤を来す喘息モデルの作成に成功した。さらにインフルエンザAウイルス感染の急性期(感染後3-7日)あるいは回復期(感染後10-14日)に吸入感作を行い、吸入感作の時期が影響するか検討を行った。感染急性期に感作を行うと、その暴露後に気道過敏性の亢進、血清OA-specific IgE、IgG1抗体産生の著明な増加、BALF中にリンパ球、好酸球浸潤、IL-4、IL-5の増加、気道上皮に樹状細胞の出現を認めたが、回復期の感作では気道過敏性は変化なく、肺組織への好酸球浸潤、気道上皮の樹状細胞の出現を認めなかった。以上により、インフルエンザAウイルス感染急性期の吸入感作によって好酸球浸潤を来すマウスの喘息モデルを確立した。感作は感染の回復期では成立せず、急性期においてのみ成立し、感作が成立するメカニズムには樹状細胞が関与していることが明らかとなった。

A. 研究目的

急性気道感染症が気管支喘息の発作誘発や、喘息発症の契機となることは臨床的によく経験される。急性気道感染症の多くはウイルスによるものであり、それは喘息発症・増悪の最も重要な環境要因の一つである。乳児期にウイルスによる細気管支炎に罹患した乳児は、後に気道過敏性を獲得するとの報告は多く、Gurwitzらは細気管支炎に罹患した乳児48人について9-10年後にメサコリン吸入による気道過敏性を検討したところ、27人(57%)に気道過敏性を認めたと報告している。乳児期の細気管支炎の原因ウイルスとしては60%以上がRespiratory syncytial virus (RS virus)であるといわれており、RSウイルスによる細気管支炎に罹患すると抗原感作に対するリスクが大きく、特に両親にアレルギー体質が認められる小児の場合、鼻アレルギーや気管支喘息などのアレルギー疾患の発症頻度が高いと報告されている。一方、学童期?成人ではライノウイルス、インフルエンザウイルス感染が気管支喘息の発作の誘因であるとする報告もある。しかし、ウイルス感染が気管支喘息におけるアレルギー感作をどのように修飾し影響しているのか、詳細なメカニズムについては知られていない。一方、マウスにおける喘息モデルには抗原の腹腔注、皮下注による全身的感作により、気道過敏

性の亢進、血清中の抗原特異的IgE抗体の産生、肺および肺胞洗浄液中のリンパ球、好酸球浸潤を起こす報告は数多くあるが、吸入感作により好酸球浸潤を起こす喘息モデルはいまだ報告されていない。Gelfandらは1%卵白アルブミン(OA)の10日間連続吸入により気道過敏性の亢進及び血清IgE抗体の増加を認めるが、肺組織の細胞浸潤は認めないと報告している。本研究ではインフルエンザAウイルスを経鼻接種後、経気道的に低濃度(0.05%)OAを用いて吸入感作を行い、吸入チャレンジを反復して行うことにより、抗原暴露後に気道過敏性の亢進、血清中OA-specific IgE抗体の増加、肺組織、BALF中に好酸球浸潤をきたすマウスの吸入感作モデルを作成した。またウイルス感染時に経気道感作が成立するメカニズムとして気道上皮に出現する樹状細胞について検討した。ウイルス感染時に樹状細胞は気道上皮に出現しCTLを誘導することはすでに多くの研究からも明らかである。我々はマウスにインフルエンザAウイルスを感染させ樹状細胞の抗原であるMHC class II抗原の発現とCD11c抗原の発現について検討しウイルス感染急性期(3~7日目)に気道上皮に樹状細胞が出現し、感染回復期(10~14日目)には消失するという結果を得た。さらに樹状細胞は特に優れた抗原提示能を持つ抗原提示細胞でもあり、抗原感作の

成立や抗原暴露後にも関与しているという報告が多数散見される。本研究では上述の好酸球浸潤を来すマウスの吸入感作モデルにおいて、インフルエンザ A ウイルス感染急性期の樹状細胞が存在する時期に抗原感作を行うと感作が成立し、樹状細胞が消失する感染回復期に感作を行うと感作は成立しないことを免疫組織化学を用いて証明した。

B. 研究方法

1. 実験動物およびウイルス

6-13 週齢の BALB/c (H-2^d) の雄性マウス (日本 SLC、静岡)、マウス馴化インフルエンザ A/Guizhou-X/H3N2 を用いた。

2. 抗原感作及び吸入チャレンジ (実験プロトコール)

ウイルス接種日を day 0 とし、実験は以下の 5 群について行った。(1) コントロール群: PBS を経鼻接種し、day 3-7 に phosphate buffered saline (PBS) を吸入感作し、day 29-33 に PBS 吸入チャレンジを行った。(2) OA 単独群: PBS を経鼻接種し、day 3-7 に 0.05% OA を吸入感作、day 29-33 に 2% OA 吸入チャレンジを行った。(3) ウイルス感染単独群: ウイルスを経鼻接種し、day 3-7 に PBS を吸入感作、day 29-33 に PBS 吸入チャレンジを行った。(4) 急性期感作群: ウイルスを経鼻接種し、day 3-7 に 0.05% OA を吸入感作、day 29-33 に 2% OA を吸入チャレンジした。(5) 回復期感作群: ウイルスを経鼻接種し、day 10-14 に 0.05% OA を吸入感作、3 週間後の day 36-40 に 2% OA 吸入チャレンジを行った。

ウイルス接種前に気道過敏性の測定を行い、day 0 にウイルスまたは PBS を経鼻接種し、急性期感作群では、ウイルス接種後 3-7 日目に 0.05% OA あるいは PBS のエアロゾルを 5 日間連続で経気道的に吸入感作を行った。OA (Grade V, Sigma) は PBS で 1% に希釈し、alum-adjuvant 溶液等量と混じて 0.05% に調合し、DeVilbiss 646 ネブライザーでエアロゾルを発生させた。アクリル箱内 (23.5 liters) でマウスに 1 日 1 回 30 分間エアロゾルを吸入暴露した。最終感作の 3 週間後の day 29 より 5 日間連続で 2% OA エアロゾルで吸入チャレンジを行った。最終チャレンジの 24 時間後にメサコリン吸入による気道過敏性の測定、48 時間後に気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage, BAL) を行い、心臓より採血後、肺を摘出した。回復期感作群では、day 0 にウイルスを接種し、接種後 10-14 日目に 0.05% OA エアロゾルで吸入感作を行い、最終感作の 3 週間後の day 36 より 5 日間連続で 2% OA エア

ロゾルで吸入チャレンジを行った。

3. 気道過敏性の測定

Methacholine (MCh) 吸入に対する気道過敏性をウイルス感染前、暴露後にそれぞれ測定した。無麻酔、自然呼吸下における気道抵抗 specific airway resistance: sRaw を体プレチスモグラフを用いて測定した。結果から dose-response curve を作成し、baseline の sRaw を 35% 増加するのに要した累積 MCh 濃度 (PD₃₅MCh) を気道過敏性の評価とした。

4. 抗原特異的 IgE 抗体の測定

血清中の抗 OA-specific IgE, IgG1, IgG2a 抗体は Renzらの方法に準じて enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) で測定した。

5. 気管支肺胞洗浄 (Bronchoalveolar lavage: BAL)

動物を pentobarbital sodium (40mg/kg) で麻酔下で、気管を頸部で展開しカニューレーション (20 gauge、ジェルコ針) を行い、PBS 0.8ml で 4 回洗浄し洗浄液 (BALF) を回収した。回収量と細胞数測定を行った後、cytospin を用いて塗沫標本を作成し、Diff-Quik (American Scientific Products 社) で染色し、細胞分画を測定した。

6. 組織学的検討

10% ホルマリン液により肺を経気管支的に注入固定しパラフィン包埋薄切し、Hematoxylin-Eosin (HE) 染色を行い、光学顕微鏡下で観察した。

7. 免疫組織学的検討

2 倍に希釈した Optimal Cutting Temperature compound (OCT; Bayer-Pharma, Zurich, Switzerland) を経気管的に肺に注入し、速やかに液体窒素で凍結した。クリオスタットを用いて凍結切片 (8-10 μm) を作成し、樹状細胞の抗体である CD11c (PharMingen, San Diego, CA) 抗体で染色し、蛍光顕微鏡 (Olympus, LSM-GB200, Tokyo, Japan) で観察した。さらに FITC にラベルした OA を吸入させ、2, 4 時間後のマウスの気道上皮、気管リンパ節を上記と同様に CD11c for DCs (7,17); Mac-2 for macrophages; and B220 for B cells の抗体で染色し、観察した。

8. 統計処理

データはすべて mean ± SD (standard deviation) で表示した。有意差検定は群全体の比較は分散分析 (ANOVA) を、平均値の比較は unpaired t test 及び paired t test で行い、p < 0.05 をもって有意とした。

C. 研究結果

1. 気道過敏性の変化

急性期感作群においてチャレンジ後に PD₃₅MCh

が著明に低下し($p < 0.05$)、気道過敏性は亢進した。OA単独群、ウイルス感染単独群、また回復期感作群ではPD35MChは有意な変化はなく、気道過敏性は変化しなかった。

2. 抗原特異的 IgE, IgG1, IgG2a 抗体

OA チャレンジ 48 時間後の血清中の抗 OA-specific IgE, IgG1 抗体は、コントロール群、ウイルス感染単独群では検出されなかった。OA 単独群ではわずかに検出されるものもあるが、多くは測定限界以下であった。急性期感作群、回復期感作群では抗 OA-specific IgE, IgG1 抗体は OA 単独群、及びウイルス感染単独群と比べ、著明に増加した($p < 0.01$)。急性期感作群は回復期感作群より有意に高値であった($p < 0.01$)。抗 OA-specific IgG2a 抗体は OA 単独群、急性期感作群、回復期感作群で有意差を認めなかった。

3. 気管支肺胞洗浄液(BALF)の解析

BALF の回収率は平均 87% であった。急性期感作群の総細胞数は、コントロール群に比し著明に増加したが($p < 0.01$)、回復期感作群では変化しなかった。また細胞分画では急性期感作群でマクロファージ、リンパ球及び好酸球が有意に増加した($p < 0.01$)。回復期感作群ではリンパ球が軽度に増加したが($p < 0.05$)、好酸球の増加は認めなかった。OA 単独群、ウイルス感染単独群では細胞分画では変化を認めなかった。

4. 感作時及び抗原チャレンジ時の肺組織学的検討

チャレンジ後の肺組織学的変化を HE 染色で検討した。コントロール群、OA 単独群、ウイルス感染単独群では抗原吸入チャレンジ後に肺組織には細胞浸潤を認めなかった。急性期感作群では吸入チャレンジ後に気管支周囲にリンパ球を主体とした細胞浸潤を認め、好酸球浸潤も認めたが、回復期感作群ではごくわずかの細胞浸潤を気管支周囲に認めるのみであった。また免疫組織化学的検討では急性感作群の抗原暴露後に気道上皮に CD11c すなわち樹状細胞の出現が認められたが、感染回復期群、OA 単独群、ウイルス感染単独群では樹状細胞は認められなかった。さらに FITC ラベルの OA を吸入させると感染急性期群では気道上皮に出現した樹状細胞が OA を貪食し、その 2 時間後には所属リンパ節に移動している結果が得られた。感染回復期群ではわずかなマクロファージが抗原を貪食する結果が得られた。

D. 考察

マウスの喘息モデルには腹腔注や、皮下注のような抗原の全身的感作によるものが多く報告されているが局所感作(経気道感作)で好酸球浸潤を来した報告はな

い。本研究ではウイルス感染急性期の樹状細胞が気道上皮に増加する時期に低濃度の OA 吸入感作を行い、抗原暴露後に気道過敏性の亢進、肺組織、および気管支肺胞洗浄液中に好酸球浸潤をきたすマウスの喘息モデルの作成に成功した。また感作が成立するメカニズムとして樹状細胞が抗原提示細胞として重要であることも示された。感染では樹状細胞は IL-12 を産生し IFN- γ 産生を誘導し、type 1 を誘導する。一方樹状細胞は外来抗原を取り込み type 2 を誘導するとも言われている。今回の結果でも感染急性期群の抗原暴露後に気管支肺胞洗浄液中には IL-4, IL-5 が増加するのに対し、感染回復期に感作を行うと感作は成立せず、気管支肺胞洗浄中に IFN- γ が増加したことからウイルス感染の時期により type 1 または type 2 の誘導が異なることが考えられた。

E. 結論

本研究では、インフルエンザ A ウイルス感染が吸入抗原に対する経気道感作を増強し、吸入チャレンジを繰り返し行うことにより、好酸球浸潤を来す BALB/c マウスの動物モデルを確立した。また抗原吸入による感作はウイルス感染の急性期のみについて成立することを明らかにした。インフルエンザ A ウイルス感染に際して気道上皮に集まる樹状細胞が存在している時期に抗原の吸入感作を行うと免疫学的に type 2 を誘導するが、樹状細胞が存在していない時期に感作を行うと type 1 immunity を誘導することが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Naomi Yamamoto, Shunsuke Suzuki, Yuzo Suzuki, Akira Shirai, Masatoshi Nakazawa, Motoyoshi Suzuki, Tetsuya Takamasu, Yoji Nagashima, Mutsuhiko Minami, and Yoshiaki Ishigatsubo. Immune response induced by airway sensitization after Influenza A virus infection depends on the timing of antigen exposure in mice. *J. Virology*. 2001; 75: 499-505.

気管支喘息の発症変動因子としての感染の研究

分担研究者：足立 満 昭和大学医学部第一内科主任教授

研究協力者：國分二三男 松倉 聡 久賀秀樹 川口未央 家城光志

(昭和大学医学部第一内科)

研究要旨

気管支喘息の増悪因子としてのウイルス感染の関与につき基礎的検討を行った。その結果、気道上皮細胞による産生ケモカインである RANTES、eotaxin などの動態に違いがあることが判明した。その違いはDNAレベルにおける発現調節によりなされている可能性が示唆された。

A. 研究目的

気道炎症の病態を解明する目的にて気道組織構成細胞の一つである気道上皮に着目し研究を実施する。気道内腔表面に存在する気道上皮は外界とのバリアー機能やその線毛運動などによる異物排除機能が研究の対象とされてきたが、近年気道上皮細胞へ種々の刺激を加えることによりサイトカイン、ケモカインなどの生理活性物質の産生放出や ICAM-1 などの接着分子の発現が観察されることが判明した。このことは気道上皮細胞が気道炎症形成にあたり積極的に何らかの役割を演じていることを想定させる。今回我々は *in vitro* における気道上皮細胞培養系を確立し、ウイルス（インフルエンザ）刺激などを行い、サイトカイン、ケモカインなど生理活性物質の産生やその産生機序を解明し、ウイルス感染と喘息病態との関連につき検討を加える。

B. 研究方法

培養気道上皮細胞に influenzaA (H3N2) を感染させることにより RANTES が上皮細胞より発現されるが近年、好酸球、Th2 リンパ球に特異性が高いケモカインとして eotaxin が注目されており、上皮細胞からの eotaxin の発現を influenzaA (H3N2) 接種を含めた様々な状況下で検討する。更に、気道上皮細胞におけるケモカイン発現のメカニズムを分子遺伝学的手法を用いて解析する。

C. 研究結果

気道上皮細胞はインフルエンザ感染により IL-6、IL-8、RANTES、eotaxin の産生を行った。IgE ds RNA 刺激により RANTES 産生の増加が見られたが、eotaxin 産生についてはそのような増加は見られなかった。この結果はプロモーターアッセイによる実験結果と相

関が見られた。

D. 考察

in vitro 気道上皮細胞培養系における検討は、近年注目されつつある分野であり現在までに気道上皮は IL-6、IL-8、GM-CSF、RANTES などの生理活性物質を産生し気道炎症特にアレルギー性炎症の形成に関与することが明らかとなっている。これらの結果より抗体産生の亢進や好中球、好酸球などの炎症細胞浸潤や活性化が誘導され炎症が増悪することが推定される。また炎症性サイトカインを刺激物質として使用する実験系は内外の比較的多数の研究施設で行われているがウイルス刺激特にインフルエンザウイルスを刺激物質として用いた実験は極めて稀である。また、*in vitro* 実験系におけるウイルス感染モデルとしての ds RNA を用いた実験結果は極めて興味深いものと考えられる。本研究においては培養ヒト気道上皮細胞を用いてデータ蓄積ヒト気道上皮細胞(primary cell)との実験結果の対比を実施することによりその信頼性を高めていく予定である。

E. 結論

気管支喘息の増悪因子として重要と考えられるウイルス感染の関与につき基礎的検討を行い、気道におけるアレルギー性炎症増悪機序へのウイルス感染の関わりを明らかとした。

F. 参考文献

1) Kawaguchi M., Kokubu F., Adachi M. et al; Influenza Virus A stimulates expression of eotaxin by bronchial epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol* 122 ; 44-49 2000

2) Kawaguchi M., Kokubu F., Kuga
H., Tomita T., Matsukura S., Suzuki H., Huang
SK., Adachi M.

Influenza Virus A stimulates expression
of eotxin by nasal epithelial cells, Clin
Exp Allergy; 31(6):873-80. 2001

3) Kawaguchi M., Kokubu F., Kuga
H., Matsukura S., Hoshino H., Ieki K., Imai
T., Adachi M., Huang SK.

Modulation of 1 bronchial epithelial cells
by IL-17. J Allergy Clin Immunol.;
108(5):804-9. 200

ウイルス感染と気道過敏性に関する研究

分担研究者 海老澤 元宏 国立相模原病院臨床研究センター病態総合研究部長
研究協力者 宿谷 明紀 国立相模原病院小児科
田知本 寛 国立相模原病院小児科
池松かおり 国立相模原病院小児科
小松 真紀 国立相模原病院小児科

研究要旨

秋の小児喘息の発作シーズンにどのようなウイルスが増悪因子として関与しているのかを国立相模原病院小児科にて平成13年10月11日から11月15日までに喘息発作にて入院加療となった50名を対象に咽頭ぬぐい液からウイルス分離同定を行った。ウイルスが分離された症例は7例(14%)で、そのうち6例(12%)について同定され、検出されたウイルスの内訳はRSウイルス4例、Rhinoウイルス2例で、残りの1例はPicornavirus科と推定されたものの、細胞に対する感受性低下により同定実施不可能となった。RSウイルスは乳児期に細気管支炎を起こすウイルスとして非常に重要なウイルスであるが、幼児期の小児気管支喘息の誘因・悪化因子としても反復感染を起こし重要な役割を演じている可能性が示唆された。またRhinoウイルスも秋の小児気管支喘息発作の誘因として重要なウイルスであることも示唆された。

A.研究目的

ウイルス感染と喘息症状の悪化・気道過敏性の亢進が密接な関係があるのは臨床では経験的に多くあるが、その関連性に関して十分に科学的なデータがあるとは言い難い。そこで本分担研究において上気道・下気道におけるウイルス感染が喘息症状の悪化・気道過敏性に与える影響を検討することを目的とし以下の研究を行った。当院の小児気管支喘息患者を対象に行った調査では年間を通して喘息の状態が最も悪い季節は秋であり、秋の発作シーズンの入院患者を対象として喘息発作の誘因としてどのようなウイルスが関与しているかを検討した。

B.研究方法

本年度は秋の小児喘息の発作シーズンにどのようなウイルスが増悪因子として関与しているのかを当院に喘息発作で入院した患者の咽頭ぬぐい液からウイルスの分離同定を行い喘息発作との関連性を調べた。国立相模原病院小児科にて平成13年10月11日から11月15日までに喘息発作にて入院加療となった50名を対象に咽頭ぬぐい液からウイルス分離同定を行うとともに対象患者背景とウイルスが検出された患者背景

に関して検討を加えた。対象としたウイルスは上気道および下気道感染症として重要なRhinoウイルス・パラインフルエンザウイルス・アデノ・RS・エコー・レオウイルスである。入院日から3日以内に患者の咽頭から滅菌綿棒で採取し、3種類の培養液(HE・MK・Hnaks'BSS)にて検体を適切に処理した後に、ヒト線維芽細胞・ヒト喉頭ガン細胞・ミドリザル腎細胞などを用いて35℃下で2週間から2ヶ月間培養・観察し分離同定を行った。RSウイルスはHep2による分離後、中和反応により同定した。またRhinoウイルスはHEFによる分離後、酸(pH3.0)で不活化されることを利用して同定した。

C.研究結果

対象患者の50名のうち男32名・女18名で、対象の平均年齢は3.2±0.2才(0.9才~7.8才)であった。病型分類ではアトピー型(ダニ抗原陽性)が50名中42名(84%)で、非アトピー型が8名(16%)で、平均総IgE値は600±99 IU/ml(6~3460 IU/ml)であった。

表1 対象患者背景

対象患者数：50名（男児：32名・女児：18名）

年齢： 3.2±0.2才 （0.9-7.8才）

病型分類： アトピー型 42名（84%）
非アトピー型 8名（16%）

IgE： 600±99 IU/ml （6~3460 IU/ml）

喘息発作入院時のデータでは入院時の有熱者（37.5℃以上）の患者は21名（42%）、CRP陽性者（CRP≥0.5mg/dl）は27名（54%）で、平均CRP値は0.97±0.13mg/dl（0.05~3.2）、平均白血球数は12040±570/mm³（4900~20700）であった。治療としてはβ₂刺激薬吸入療法・ネオフィリン持続点滴療法は全例に行われ速効性ステロイドの投与は11例（22%）、イソプレテノール持続吸入療法は7例（14%）に行われていた。入院治療後の喘鳴消失までの日数は平均3.9日（1日~9日）であった。

表2 喘息発作入院時データ

有熱者（37.5℃以上）： 21名（42%）

CRP陽性者（CRP≥0.5mg/dl）： 27名（54%）

平均CRP値： 0.97±0.13 mg/dl（0.05~3.2 IU/ml）

平均白血球数： 12040±570 /mm³（4900~20700）

治療：β₂刺激薬吸入療法 50例（100%）
ネオフィリン持続点滴療法 50例（100%）
速効性ステロイド投与 11例（22%）
イソプロテノール持続吸入療法 7例（14%）

治療後喘息消失平均日数： 3.9±0.2日（1~9日）

ウイルスが分離された症例は7例（14%）で、そのうち6例（12%）について同定された。1例はPicornavirus科と推定されたものの、細胞に対する感受性低下により同定実施不可能となった。検出されたウイルスの内訳はRSウイルス4例、Rhinoウイルス2例であった。7例の患者背景を以下の表に示す。

表3 ウイルスが分離された症例

| 症例 | Virus | 性別 | 年齢 (才) | 体温 (℃) | 白血球数 (mm ³) | CRP (mg/dl) | IgE (IU/ml) | ダニRAST | 発症 (才) |
|----|-----------------|----|--------|--------|-------------------------|-------------|-------------|--------|--------|
| 1 | RS | 男 | 3.3 | 37.2 | 7780 | 0.08 | 578 | 5 | 2.4 |
| 2 | RS | 男 | 4.7 | 36.7 | 10280 | 0.39 | 1140 | 6 | 4.7 |
| 3 | Rhino | 男 | 4.5 | 37.4 | 8250 | 0.84 | 1030 | 6 | 0.7 |
| 4 | (Picornavirus科) | 女 | 5.1 | 38.0 | 14530 | 3.20 | 1810 | 6 | 2.0 |
| 5 | RS | 男 | 0.9 | 36.8 | 8630 | 0.05 | 6 | 0 | 0.5 |
| 6 | Rhino | 女 | 3.9 | 37.1 | 10970 | 1.32 | 76 | 0 | 3.0 |
| 7 | RS | 女 | 2.6 | 36.8 | 4900 | 0.20 | 145 | 2 | 2.7 |

D.考察

ウイルス分離例は14%であり、小児気管支喘息の秋の発作シーズンに最も多く検出されたウイルスはRSウイルスであった。さらにRhinoウイルスが2例検出されたことも興味深い。今回の検討は検出感度の問題もあるが症例2のようにアトピー素因を有する児が初回発作を4.7才で起こしさらに重積発作にまで至った例でRSウイルスが検出されたのは非常に重要な知見である。

E.結論

RSウイルスは乳児期に細気管支炎を起こすウイルスとして非常に重要なウイルスであるが、幼児期の小児気管支喘息の誘因・悪化因子としても反復感染を起こし重要な役割を演じている可能性が示唆された。またRhinoウイルスも秋の小児気管支喘息発作の誘因として重要なウイルスであることも示唆された。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1.論文発表

- 1) Nakajima, T., Matsumoto, K., Suto, H., Tanaka, K., Ebisawa, M., Tomita, H., Yuki, K., Katsunuma, T., Akasawa, A., Hashida, R., Sugita, Y., Ogawa, H., Ra, C., and Saito, H. Gene expression screening of human mast cells and eosinophils using high-density oligonucleotide probe arrays: abundant expression of major basic protein in mast cells. BLOOD, Vol.98, No.4: 1127-134, 2001.
- 2) Ebisawa, M., Emoto, Y., Tachimoto, H., Sugizaki, C., Ikura, Y., Saito, H. Adherence of eosinophils to endothelial cells stimulated with human mast cells supernatants. Int Arch Allergy Immunol; 124: 290-291, 2001
- 3) Ikura, Y., Miura, K., Odajima, Y., Imai, T., Sugimoto, H., Ebisawa, M. Efficacy of pranlukast in childhood asthma. Clinical and Experimental Allergy Reviews; 1(3): 287-296, 2001
- 4) 田知本寛、海老澤元宏、斎藤博久、Bochner, B. 肥満細胞と接着分子 喘息 Vol.14, No.2:75-79, 2001 メディカルレビュー社

2.学会発表

- 1) Ebisawa, M., Tachimoto, H., Saito, H. Luncheon Symposium: Human mast cells Induced eosinophil adhesion to endothelial cells. IVth International Symposium on Basic Approach to Allergic Rhinitis, Tokyo, Japan, 2001.2.10-11
- 2) Ebisawa, M., Tachimoto, H., Tashiro, M., Miyazaki, R., Akiyama, K., Iikura, Y. Differences of bronchial hyperresponsiveness (BHR) in adolescent asthma between females and males. The Third Triennial World Asthma Meeting, Chicago, Illinois, 2001.7.13-15
- 3) Ebisawa, M., Tachimoto, H., Tashiro, M., Miyazaki, E., Akiyama, K., Iikura, Y. Difference in natural course of airway hyperresponsiveness (AHR) between females and males during adolescence. AAAAI 58th annual meeting, New York, New York, 2002.3.1-6
- 4) 海老澤元宏、池松かおり、田知本寛 自然寛解機序からみた治療の至適化 第13回日本アレルギー学会春期臨床大会 2001.5.10 横浜
- 5) 田知本寛、海老澤元宏、斎藤博久 Th2 サイトカイン (IL-4) と Th1 サイトカイン (IFN- γ) によるマスト細胞機能調節 第38回日本小児アレルギー学会 2001.10.6 北九州
- 6) 海老澤元宏、池松かおり、田知本寛 思春期喘息の特徴と問題背景：小児科の立場から 第51回日本アレルギー学会総会 2001.10.29 福岡
- 7) 田知本寛、池松かおり、宮崎恵理子、秋山一男、海老澤元宏 小児気管支喘息の予後と気道過敏性に関する検討 第13回日本アレルギー学会春期臨床大会 2001.5.10 横浜
- 8) 飯倉洋治、海老澤元宏、秋山一男、勝沼俊雄、足立満、福田健、三浦克志、杉本日出雄、徳留省悟、星野誠、戸部徹、根来浩治、垂石香苗 気管支喘息の改善・自然寛解機序の解明と遺伝子変化 (SNP) の検討からみた早期診断、早期対応の重要性 第13回日本アレルギー学会春期臨床大会 2001.5.10 横浜
- 9) 海老澤元宏、田知本寛、斎藤博久 ヒトマスト細胞による血管内皮細胞への好酸球接

着 アレルギー・好酸球研究会 2001

2001.6.16 東京

- 10) 田知本寛、海老澤元宏、Bochner, B. 好酸球の接着分子は Eotaxin-2 により β 1-integrin から β 2-integrin へ調節される アレルギー・好酸球研究会 2001 2001.6.16 東京
- 11) 小松真紀、池松かおり、田知本寛、海老澤元宏 乳幼児期に喘息重積発作経験児の予後の検討 第51回日本アレルギー学会総会 2001.10.30 福岡

H.知的財産権の出願・登録状況

特になし