

**厚生労働科学研究費補助金**

**免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業**

**上気道及び下気道アレルギーの臓器過敏症における**

**臓器特異的免疫基盤の解明と早期診断法の開発**

**平成16年度 総括・分担研究報告書**

**主任研究者 岩本逸夫**

**(千葉大学大学院医学研究院)**

**平成17年(2005年)3月**

## 目 次

I. 総括研究報告	
上気道及び下気道アレルギーの臓器過敏性における臓器特異的 免疫基盤の解明と早期診断法の開発 岩本逸夫	1-6
II. 分担研究報告	
1. 呼気分析（呼気NOおよび呼気凝縮液）による気管支喘息の 早期診断に関する研究 福田 健	7-8
2. ロイコトリエン過剰産生を示す気管支喘息患者の病態 （一上気道と下気道の関連一）に関する研究 谷口正実	9-13
3. 臓器過敏性に関連したアレルギー性鼻炎の鼻粘膜特異的 免疫基盤の解明 岡本 美孝	14-16
4. 3次元CTを用いたヒト気道解析の研究 田村 弦	17-19
5. アレルギー性気道炎症の新たな制御機構の解明 岩本逸夫	20-22
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	23
IV. 研究成果の刊行物・別冊	24-110

## 上気道及び下気道アレルギーの臓器過敏性における臓器特異的免疫基盤の解明と早期診断法の開発

主任研究者 岩本逸夫 (千葉大学医学部アレルギー・膠原病内科 助教授)

### 分担研究者

福田 健 (獨協医科大学呼吸器・アレルギー内科教授)  
田村 弦 (東北大学医学部附属病院感染症・呼吸器内科講師)  
岡本美孝 (千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉・頭頸部腫瘍学教授)  
谷口正実 (国立相模原病院臨床研究センター部長)

### 研究協力者

中島裕史 (千葉大学医学部アレルギー・膠原病内科助手)、加々美新一郎、広瀬晃一、須藤明、鈴木浩太郎、高取宏昌、玉地智宏 (千葉大学医学部アレルギー・膠原病内科)、石井芳樹 (獨協医科大学呼吸器・アレルギー内科助教授)、佐野公仁夫 (東北大学医学研究科内科病態学感染症部門助教授)、菊地正 (東北大学医学部附属病院感染症・呼吸器内科医員)、堀口茂俊、留守卓也 (千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉・頭頸部外科助手)、櫻井大樹 (千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉・頭頸部腫瘍学助手)、花澤豊行 (千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉・頭頸部腫瘍学講師)、秋山一男 (国立相模原病院臨床研究センター長)、三田晴久 (国立相模原病院臨床研究センター室長)、東憲孝、釣木澤尚実、東愛、粒来崇博、西山晃好、豊田信明、大友守、森晶夫、前田裕二、石井豊太 (国立相模原病院臨床研究センター)

### 研究要旨

本研究班は、気管支喘息とアレルギー性鼻炎の気道過敏性の臓器特異的発症機構の解明と早期診断法の開発を目的とし、本年度は以下の重要な研究成果を得た。

- 1) 気管支喘息の気道過敏性と Th2 型気道炎症の間に密接な関連が認められ、咳喘息を含む気管支喘息の気道過敏性の早期診断には、呼気 NO 濃度と EBC 中 LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> 値の測定が極めて有用であることが示唆された。
- 2) 気管支喘息の気道過敏性への上気道アレルギーの影響について、上気道の鼻茸副鼻腔炎 (副鼻腔のアレルギー性炎症) による Cys-LTs 過剰産生が下気道過敏性の獲得に強く影響していることが示された。喘息難治化への関与が示唆される。
- 3) アレルギー性鼻炎の鼻過敏性の発症機構の解析では、アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜では非アレルギー性鼻炎患者に比し Th2 細胞が増加していたが、Th1 細胞には差は認められず、さらに CD152 陽性 CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞も増加しており、鼻過敏性における鼻粘膜の Th2 型気道炎症の関与が示唆される。
- 4) 気道リモデリングによる気道過敏性発症機構を明らかにするため、3次元CTを用いヒト末梢気道の病理形態学的解析をした。その結果、今回の3次元CT撮影と解析方法は、同一気道を連続的に評価することが可能で、内径ほぼ1mmまで観察可能であることを明らかにした。
- 5) アレルギー性気道炎症の新たな制御機構について、Stat5a は Stat6 非依存的に Th2 細胞分化を誘導し、アレルギー性気道炎症を増強することが明らかにされた。そのメカニズムとして Stat5a は、SOCS3 の発現を誘導し、IL-12-Stat4 シグナルを抑制することにより Th1 細胞分化を抑制する。これらの結果は、Stat5a シグナルの制御によるアレルギー性気道疾患治療の可能性を示唆する。

## A. 研究目的

気管支喘息及びアレルギー性鼻炎の有病率は各々5%及び10-20%と最も頻度の高い重要なアレルギー性呼吸器疾患である。しかし、それらの病態の根幹をなす気道過敏性の発症機構、早期診断法とそれを是正する治療法が未だ十分ではなく、それらの開発が急務である。

したがって、本研究班は、気管支喘息とアレルギー性鼻炎の気道過敏性の臓器特異的発症機構の解明と早期診断法の開発を目的とする。それにより効果的な早期治療介入を目指す。すなわち、

- 1) 気管支喘息の気道過敏性と Th2 型気道炎症の発症機構の解明と早期診断法の開発、
- 2) 気管支喘息の気道過敏性への上気道アレルギーの影響、
- 3) アレルギー性鼻炎の鼻過敏性の発症機構の解明と下気道過敏性発症への影響、
- 4) 気道リモデリングによる気道過敏性発症機構の解明と評価法の確立、
- 5) アレルギー性気道炎症の成立機序及びその制御機構の解明、
- 6) 臓器特異的アスピリン過敏症の病態の解明、を主な研究目的とする。

## B. 方法及び C. 結果

1) 呼気分析 (呼気 NO および呼気凝縮液) による気管支喘息の早期診断に関する研究 (福田)

気管支喘息の気道過敏性の早期診断、早期治療を目的として、慢性咳嗽を主徴とし気道過敏性の亢進を認める咳 (cough variant asthma; CVA) と気道過敏性亢進を伴わない irritable cough (IC) (atopic cough) を対象として、呼気 NO を測定し、気道過敏性の鑑別の指標となるか否か検討した。また、呼気凝縮液 (EBC) を採取し LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> や IL-4 などアレルギー性気道炎症において重要な生体活性物質の測定を行った。

慢性咳嗽 39 症例のうち CVA が 13 例、IC が 14 例、気道感染後持続咳嗽 (PIPC) 8 例、その他 4 例であった。対照として健常成人 8 例、気管支喘息 (BA) 6 例も検討した。呼気 NO 濃度は、CVA では、 $90.8 \pm 59.3$  ppb と健常者  $20.8 \pm 5.9$  に比

較し有意に高値を示し、BA とほぼ同等であった。また、IC では、 $37.5 \pm 19.2$  と軽度上昇を認めしたが、CVA と比較すると有意に低値であった。ROC analysis にてカットオフ値 55 と設定するとそれ以上が CVA と診断できた。PIPC では低値であった。呼気 NO 濃度とメサコリン PC20 値は負の相関を示した。CVA 症例は、ロイコトリエン受容体拮抗薬 montelukast が全例で著効したが、IC での有効性は 60% であった。EBC 中 LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> 値は、CVA では、BA と同等に高値であったが、IC では健常者と同等であった。EBC 中 IL-4 値は、いずれの症例においても低濃度であった。

以上より呼気 NO 濃度や EBC 中 LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> 値の測定は、BA 及び CVA のアレルギー性気道炎症による気道過敏性の早期診断と治療法選択にきわめて有用であると考えられた。

2) ロイコトリエン過剰産生を示す気管支喘息患者の上気道及び下気道アレルギーの解析 (谷口)

システニルロイコトリエン (Cys-LTs) は、ヒト喘息の病態に深く関わり、最も重要な最終メディエーターと認識されている。しかしながら、実際の喘息病態にいかに関与しているかは、十分明らかにされてない。今回は喘息の難治化や重症化に関与する可能性のある Cys-LTs 過剰産生と上気道及び下気道アレルギーとの関連を明らかにすることを目的とした。

高 LT 尿症を、アスピリン喘息の約 70%、非アスピリン喘息の約 20% に認めた。しかし花粉症患者や健常人では 1 例も認めなかった。安定期においても U-LTE<sub>4</sub> 高値を呈する患者の病態として 4 つの特徴があることが今回判明した。すなわち、①重症喘息、②アスピリン過敏だけでなく、③鼻茸副鼻腔炎合併、④Churg Strauss 症候群 (CSS) 合併がそれぞれ独立して、U-LTE<sub>4</sub> 高値に関与していた。4 つの因子の中でも、重症度に関与は少なく、②③④、特に③④の関与が大きいことが判明した。さらに鼻茸副鼻腔炎合併患者では、アスピリン過敏の有無に関わらず、副鼻腔内視鏡手術後に U-LTE<sub>4</sub> が正常レベルまで低下することを確認した。

今回の検討で、鼻茸副鼻腔炎合併、CSS ともに Cys-LTs 過剰産生を伴うことが明らかとなり、Cys-LTs 過剰産生が喘息難治化に関連している可能性がある。喘息での Cys-LTs 過剰産生の機序としてまず副鼻腔のアレルギー性炎症の関与が大きいことが今回判明した。さらに副鼻腔手術後に、多くの例では気道過敏性や喘息症状が改善するのを確認したことから、上気道における Cys-LTs 過剰産生が下気道過敏性に影響していることが示された。

### 3) 臓器過敏性に関連したアレルギー性鼻炎の鼻粘膜特異的免疫基盤の解明 (岡本)

アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜で見られる鼻粘膜過敏性の背景にある免疫基盤の解明を目的として、T 細胞の subpopulation, CD23 陽性 B 細胞の検討を試みた。また、上気道の扁桃は近年粘膜リンパ組織の誘導組織としての機能が注目されており、下気道との関連を考える上でもその機能の解明は重要であり、インフルエンザウイルスに対する T 細胞 subpopulation の解明を行った。

通年性アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜と非アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜中の CD4 陽性 T 細胞のうち、CCR4 陽性 T 細胞はアレルギー性鼻炎で多かったが、CXCR3 陽性 T 細胞はアレルギー性鼻炎と非アレルギー性鼻炎で全く差はみられなかった。末梢血中の CD4 陽性細胞は、アレルギー性鼻炎と非アレルギー性鼻炎で CXCR3 陽性細胞、CCR4 陽性細胞の割合に差は見られなかった。一方、CD152 陽性 CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞はアレルギー性鼻炎の鼻粘膜においてのみ明らかで、末梢血や非アレルギー性鼻炎鼻粘膜では明らかではなかった。鼻粘膜中の CD23 陽性細胞の大半は B 細胞でありアレルギー性鼻炎鼻粘膜で多いが、CCR4 陽性 T 細胞との相関はみられなかった。以上から、アレルギー性鼻炎鼻粘膜には Th2 細胞が非アレルギー性鼻炎よりも高い割合で認められたが、Th1 細胞には差は認められず、末梢血では Th1 細胞、Th2 細胞いずれもアレルギー性鼻炎、非アレルギー性鼻炎で差は認めなかった。一方、鼻粘膜には CD152 陽性 CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞が存在しており、特にアレルギー性

鼻炎で多いことから何らかのアレルギー反応の抑制に作用している可能性が示唆された。

扁桃 CD8T 細胞には末梢血よりも高い割合でインフルエンザウイルス特異的な Tc1 細胞が認められた。一方、インフルエンザウイルス特異的な調節性 T 細胞も多数認められたが、Tc2 細胞は検出されなかった。

### 4) 3次元CTを用いたヒト気道解析の研究(田村)

気管支喘息の気道炎症は中枢気道のみならず末梢気道、そして肺胞にまで及んでいることが示唆されており、気道過敏性の病理形態学的検索のためには、中枢気道のみならず末梢気道の解析が重要である。これまで気道系の評価は主に肺機能検査で行われてきたが、本検査の特性上、生体における中枢気道と末梢気道を分離して解析することは不可能である。また HRCT による非侵襲的な評価も試みられているが、十分な成果は得られていない。今回、我々は、3次元 CT 撮影を用い、中枢気道から末梢気道までを3次元的に連続的評価を行い、内径何ミリメートルまで解析可能であるかを検討した。

その結果、今回の3次元CT撮影と解析方法は、気道を連続的に評価することが可能で、内径ほぼ1mmまで観察可能であることを明らかにした。健常者の気道は、第10次分岐付近で内径1mmになっていたが、重症喘息患者の気道は、中枢気道より徐々に狭くなり、第4次ないし第5次分岐付近で内径1mmとなっていた。また、肺気腫患者でも、ほぼ同様に第4次ないし第5次分岐付近で内径1mmとなっていた。喘息患者のサルブタモール吸入前後で同一気道の内径を比較すると、吸入後は著明に可視範囲の全ての気道が拡張したが、それでも第8次分岐付近で内径が1mm程度となっていた。本研究により、3次元CTを用いて、同一気道を連続的に評価する方法を確立できた。

### 5) アレルギー性気道炎症の新たな制御機構の解明 (岩本)

気管支喘息はアレルギー性気道炎症を病態とし、その結果気道過敏性の亢進が惹起される。

これまで我々は、IL-2をはじめ多くのサイトカインにより活性化される Stat5a がアレルギー性気道炎症の惹起に必須であること、さらに Stat5a が Th2 細胞分化に関与する転写因子であることを直接的に明らかにした (Blood 2001)。本研究では、1) Stat6 非依存性 Th2 細胞分化における Stat5a の役割、及び 2) Stat5a による SOCS3 発現誘導を介した Th1 細胞分化抑制機構を明らかにした。

a) Stat5a による Stat6 非依存性 Th2 細胞分化機構の解析：Stat5a/Stat6 ダブル欠損マウスを作製し、脾臓 T 細胞の T 細胞分化、サイトカイン産生を ELISA 法及び細胞内サイトカイン染色法を用いて解析した。Stat5a/Stat6 ダブル欠損 T 細胞では、Stat6 欠損 T 細胞よりも強い Th2 細胞分化障害が認められた。T 細胞増殖能については、各マウス間で有意な差が認められなかった。持続活性型 Stat5a を Stat6 欠損 T 細胞に過剰発現させても Th2 細胞分化は回復しなかった。Stat5a/Stat6 ダブル欠損マウスにおける抗原誘発気道好酸球及びリンパ球浸潤は、Stat6 欠損マウスよりも著明に減弱していた。

b) Stat5a による Th1 細胞分化抑制機構の解析：野生型及び Stat5a<sup>-/-</sup> CD4 陽性 T 細胞における IL-12 依存性 Th1 細胞分化、IL-12 刺激による Stat4 のリン酸化、及び IL-12/Stat4 シグナルの抑制分子である SOCS3 の発現を比較検討した。Stat5a<sup>-/-</sup> CD4 陽性 T 細胞の Th1/Th2 分化に対する SOCS3 発現の効果を検討した。その結果、Stat5a<sup>-/-</sup> CD4 陽性 T 細胞では、野生型 CD4 陽性 T 細胞に比して IL-12 刺激による Stat4 リン酸化及び Th1 細胞分化が亢進していた。さらに、Stat5a<sup>-/-</sup> CD4 陽性 T 細胞では、SOCS3 の発現が低下していた。そして、持続活性型 Stat5a は SOCS3 promoter を活性化した。Stat5a<sup>-/-</sup> CD4 陽性 T 細胞に SOCS3 を発現させると Th1 細胞分化が抑制され Th2 細胞分化は増強された。

#### 倫理面への配慮

本研究を遂行するにあたり、対象とする喘息患者から提供される検体の取得に際しては、担当医師から研究の方法、必要性、危険性及び有

用性、個人情報の保護、さらに拒否しても不利益にならないことを十分に説明した後、同意が得られた場合のみ行った。また実験動物を用いた研究は、動物愛護に配慮し、実験は実験動物委員会の規定に従い遂行した。

#### D. 考察及び E. 結論

本年度の研究により、気管支喘息とアレルギー性鼻炎の気道過敏性の臓器特異的発症機構の解明と早期診断法の開発に重要な多くの研究成果が得られた。

1) 気管支喘息の気道過敏性と Th2 型気道炎症の間に密接な関連が認められ、咳喘息を含む気管支喘息の気道過敏性の早期診断には、呼気 NO 濃度と EBC 中 LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> 値の測定が極めて有用であることが示唆された。

2) 気管支喘息の気道過敏性への上気道アレルギーの影響について、上気道の鼻茸副鼻腔炎(副鼻腔のアレルギー性炎症)による Cys-LTs 過剰産生が下気道過敏性の獲得に強く影響していることが示された。喘息難治化への関与が示唆される。

3) アレルギー性鼻炎の鼻過敏性の発症機構の解析では、アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜では非アレルギー性鼻炎患者に比し Th2 細胞が増加していたが、Th1 細胞には差は認められず、さらに CD152 陽性 CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞も増加しており、鼻過敏性における鼻粘膜の Th2 型気道炎症の関与が示唆される。

4) 気道リモデリングによる気道過敏性発症機構を明らかにするため、3次元 CT を用いヒト末梢気道の病理形態学的解析をした。その結果、今回の 3次元 CT 撮影と解析方法は、同一気道を連続的に評価することが可能で、内径ほぼ 1mm まで観察可能であることを明らかにした。

5) アレルギー性気道炎症の新たな制御機構について、Stat5a は Stat6 非依存的に Th2 細胞分化を誘導し、アレルギー性気道炎症を増強することが明らかにされた。そのメカニズムとして Stat5a は、SOCS3 の発現を誘導し、IL-12-Stat4 シグナルを抑制することにより Th1 細胞分化を抑制する。これらの結果は、Stat5a シグナルの制御によるアレルギー性気道疾患治療の可能性

を示唆する。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Higashi N, Taniguchi M, Mita H, et al. Clinical features of asthmatic patients with increased urinary leukotriene E4 excretion. *J Allergy Clin Immunol.* 113:277-283, 2004.
- 2) Higashi N, Mita H, Taniguchi M, et al. Urinary eicosanoid and tyrosine derivative concentrations in patients with vasculitides. *J Allergy Clin Immunol.* 114:1353-8, 2004.
- 3) Mita H, Higashi N, Taniguchi M, Higashi A, Akiyama K. Increase in urinary leukotriene B4 glucuronide concentration in patients with aspirin-intolerant asthma after intravenous aspirin challenge. *Clin Exp Allergy.* 34:1262-9, 2004.
- 4) Mita H, Higashi N, Taniguchi M, Higashi A, Kawagishi Y, Akiyama K. Urinary 3-bromotyrosine and 3-chlorotyrosine concentrations in asthmatic patients: lack of increase in 3-bromotyrosine concentration in urine and plasma proteins in aspirin-induced asthma after intravenous aspirin challenge. *Clin Exp Allergy.* 34:931-8, 2004.
- 5) Horiguchi S, Okamoto Y, Chazono Z, Sakurai D, Kobayashi K. Expression of membrane-bound CD23 in nasal mucosal B cells from patients with perennial allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 95:286-291, 2005.
- 6) Tamura G, Suda Y. Airway dilatation after inhalation of short-acting  $\beta$ -agonist. *N Engl J Med.* (in press)
- 7) Maezawa Y, Nakajima H, Seto Y, Suto A, Kumano K, Kubo S, Karasuyama H, Saito Y, Iwamoto I. IgE-dependent enhancement of Th2 cell-mediated allergic inflammation in the airways. *Clin. Exp. Immunol.* 135:12-18, 2004.
- 8) Mori Y, Hirose K, Suzuki K, Nakajima H, Seto Y, Ikeda K, Shimoda K, Nakayama K, Saito

Y, Iwamoto I. Tyk2 is essential for IFN- $\alpha$ -induced gene expression in mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 134:25-29, 2004.

- 9) Takatori H, Nakajima H, Hirose K, Kagami S-i, Tamachi T, Suto A, Suzuki K, Saito Y, Iwamoto I. Indispensable role of Stat5a in Stat6-independent Th2 cell differentiation and allergic airway inflammation. *J. Immunol.* 174:3734-3740, 2005.
- 10) Takatori H, Nakajima H, Kagami S-i, Hirose K, Suto A, Suzuki K, Kubo M, Yoshimura A, Saito Y, Iwamoto I. Stat5a inhibits IL-12-induced Th1 cell differentiation through the induction of SOCS3 expression. *J. Immunol.* 174:4105-4112, 2005
- 11) Ikeda K, Nakajima H, Suzuki K, Watanabe N, Kagami S-i, Iwamoto I. Stat5a is essential for the proliferation and survival of murine mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (in press)

### 2. 学会発表

- 1) Ishii Y, Fukuda T.: Assessment of airway inflammation using nitric oxide. The 6th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology (Main Symposium). Tokyo. 2004, 10.
- 2) Ishii Y, Okazaki K, Fukuda T. Exhaled nitric oxide is a useful marker of airway hyperreactivity in patients with chronic cough. European Respiratory Society Annual Congress. Copenhagen, 2005. 9.
- 3) Taniguchi M, Higashi N, Mita H, Akiyama K. : Satellite Symposium 1, Advance in our understanding and treatment of aspirin-induced asthma Characteristics in patients with aspirin-intolerant asthma The 6th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology. Tokyo, 2004. 10.
- 4) Taniguchi M : Inhibition of aspirin-induced bronchoconstriction by inhaled heparin. 4th World Asthma Meeting. Bangkok, Thailand, 2004. 2.
- 5) Taniguchi M : Systemic manifestations of

Japanese patients with aspirin-intolerant asthma. 4th World Asthma Meeting. Bangkok, Thailand. 2004. 2.

6) H. Nakajima, S-i. Kagami, H. Takatori, I. Iwamoto.: Cytokine signaling in airway inflammation. The 6th Asia-Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology, Tokyo, 2004. 10.

7) 石井芳樹, 福田健: 呼気分析 (呼気 NO および呼気凝縮液) による呼吸器疾患の早期診断. 第 41 回日本臨床生理学会総会 (シンポジウム), 宇都宮, 2004. 11.

8) 谷口正実, 東憲孝, 三田晴久, 石井豊太, 秋山一男: 教育セミナー12, NSAIDs で増悪するアレルギー疾患 第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 群馬, 2004. 5.

9) 谷口正実, 石井豊太, 山本一博, 都川知之, 東憲孝, 河岸由紀男, 三田晴久, 秋山一男: シンポジウム I, アスピリン喘息の病態と治療 第 43 回日本鼻科学会, 東京, 2004. 9.

10) 谷口正実, 東憲孝, 河岸由紀男, 石井豊太, 三田晴久, 秋山一男: イブニングシンポジウム 8, アスピリン喘息の特徴的病態と治療 第 54 回日本アレルギー学会総会, 横浜, 2004. 11.

11) 谷口正実, 榊原博樹, 末次勸, 柏木秀雄, 東憲孝, 東愛, 竹内保雄, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 森田園子, 他: アスピリン喘息患者における NSAID 誤使用の実態とその対策 第 44 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2004. 4.

12) 谷口正実, 妹川史朗, 竹内保雄, 東憲孝, 東愛, 粒来崇博, 西山晃好, 森田園子, 釣木澤尚美, 大友守, 他: インタール吸入液による気道刺激 - 低浸透圧液と等張液の比較 - 第 44 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京 2004. 4.

13) 谷口正実, 東憲孝, 東愛, 榊原博樹, 竹内保雄, 釣木澤尚美, 前田裕二, 斉藤博士, 森晶夫, 三田晴久, 秋山一男: アスピリン喘息患者における NSAID 過敏体質は永続的か? 第 44 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2004. 4.

14) 谷口正実, 白井敏博, 豊嶋幹生, 榊原博樹, 石井豊太, 安達献, 東憲孝, 東愛, 竹内保雄, 豊田信明, 他: アスピリン喘息患者の臨床像の変化 - フルチカゾン吸入による影響 - 第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 群馬, 2004. 5.

15) 谷口正実, 東憲孝, 三田晴久, 東愛, 竹内保雄, 石井豊太, 粒来崇博, 西山晃好, 豊田信明, 釣木澤尚美, 他: アスピリン喘息におけるロイコトリエン過剰産生 第 53 回臨床アレルギー研究会, 東京, 2004. 6.

16) 谷口正実, 東憲孝, 三田晴久, 河岸由紀男, 石井豊太, 秋山一男: アスピリン不耐症はロイコトリエン過剰産生体質である 第 25 回日本炎症再生学会, 東京, 2004. 7.

17) 谷口正実, 東憲孝, 東愛, 竹内保雄, 粒来崇博, 西山晃好, 豊田信明, 釣木澤尚美, 森田園子, 大友守, 他: アスピリン喘息診断の問題点 - 問診と気管支負荷試験の限界 - 第 54 回日本アレルギー学会総会, 横浜, 2004. 11.

18) 岡本美孝: 教育講演「鼻アレルギー研究の最近の進歩」第 52 回日本アレルギー学会総会, 横浜, 2004. 11.

19) 堀口茂俊: 教育講演「Th1/Th2 バランスからみた鼻アレルギー」第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 群馬, 2004. 6.

20) 堀口茂俊: 「鼻アレルギー病態形成因子と治療戦略」第 43 回日本鼻科学会総会基礎問題シンポジウム.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



## 呼気分析（呼気 NO および呼気凝縮液）による気管支喘息の早期診断に関する研究

分担研究者 福田 健 獨協医科大学 呼吸器・アレルギー内科 教授  
研究協力者 石井芳樹 獨協医科大学 呼吸器・アレルギー内科 助教授

**研究要旨：**慢性咳嗽の鑑別診断における呼気 NO 測定の有用性を検討した。好酸球性気管支炎のうち気道過敏性亢進を示した咳喘息(CVA)では、気道過敏性亢進を認めない irritable cough; IC (または atopic cough)に比較し、呼気 NO 濃度が有意に高値であった。咳に対するロイコトリエン受容体拮抗薬の効果を検討したところ CVA では 100%の症例に有効であったが、IC では、有効性は 60%であった。呼気凝縮液中システイニルロイコトリエン濃度を測定したところ CVA で増加していたが、IC では増加を認めなかった。呼気 NO 分析や呼気凝縮液分析など呼気分析は、喘息の早期病態と考えられる CVA の鑑別診断や病態の把握、治療の選択にきわめて有用性の高い方法であると考えられた。

### A. 研究目的

アレルギー性気管支炎には、喘息のほか慢性咳嗽を主徴とし気道過敏性の亢進を認める咳(cough variant asthma:CVA)と気道過敏性亢進を伴わない irritable cough; IC (または atopic cough)がある。後者は、喘息へ移行することはないが、CVA は吸入ステロイド治療を行わないと約 3 割が喘息へ移行するという。従って、慢性咳嗽の原因を正しく把握して、鑑別することは喘息の早期診断、早期治療という観点から極めて重要である。さらに、この 2 つの疾患における気道炎症の差異を明らかにすることにより下気道の気道過敏性獲得の要因を知ることができる可能性がある。そこで、CVA 症例および IC 症例を対象として、呼気 NO を測定し、鑑別の指標となりうるか否か検討した。また、呼気凝縮液を採取し Cysteinyl leukotrienes (LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)や IL-4 などアレルギー性気道炎症において重要な役割を演じる生体活性物質の測定を行った。さらに咳の治療としてロイコトリエン受容体拮抗薬である montelukast の効果を検討した。

### B. 方法

3 週間以上持続する乾性咳嗽を訴える症例で喘鳴や呼吸困難を認めず、呼吸機能検査で閉塞性障害を示さないものを対象とした。気道過敏性試験はアセチルコリン吸入による標準法によって PC<sub>20</sub><10mg/ml を陽性と判

定した。呼気 NO は、Severs 社の analyzer を用いて ATS の recommendation に従って測定した。呼気凝縮液は Eco screen を用いて採取した。呼気凝縮液中の LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> および IL-4 は ELISA kit を用いて測定した。慢性咳嗽を呈する症例のうちアトピー素因が陽性(喘息以外のアトピー疾患の既往あり、喀痰中の好酸球比率>2.5%, 血中好酸球数>400/ $\mu$ l, 血清 IgE 値>256 IU/ $m$ l のいずれかを認めるもの)であり、他の慢性咳嗽の原因が除外されるもののうち気道過敏性試験が陽性のものを CVA, 陰性のものを IC と分類した。

研究の実施にあつては、臨床検体の採取やその利用について患者に十分な説明をしたのち文書による承諾を得た。

### C. 結果

慢性咳嗽 39 症例のうち CVA が 13 例、IC が 14 例、先行する気道感染に伴って出現した気道感染後持続咳嗽(PIPC) 8 例、後鼻漏、胃食道逆流症などのその他が 4 例であった。対照として健常成人 8 例、気管支喘息 (BA) 6 例も検討した。呼気 NO 濃度は、CVA では、 $90.8 \pm 59.3$  ppb と健常者  $20.8 \pm 5.9$  ppb に比較し有意に高値を示し、BA ( $98.3 \pm 28.4$  ppb) とほぼ同等であった。また、IC では、 $37.5 \pm 19.2$  ppb と軽度に上昇を認めたが、CVA と比較すると有意に低値であった。ROC analysis にてカットオフ値 55 と設定するとそれ以上が CVA と診

断できた。PIPCでは18.3±4.2 ppbと低値であった。呼気NO濃度とメサコリンPC20値は負の相関を示した。咳に対する治療効果をvisual analog scaleを用い治療前最大値を100としたとき20%以下への減少を有効と判定したところ、CVA症例は、ロイコトリエン受容体拮抗薬montelukastが全例で有効であり、咳嗽は治療前の20%以下に減少した。しかし、ICでの有効性は60%であった。CVAでは、咳の発現にロイコトリエンの関与が推定されるため、EBC中LTC4/D4/E4値を測定したところ、CVAでは、BAと同等に高値であったが、ICでは健常者と同等であった。EBC中IL-4値は、いずれの症例においても低濃度であった。

#### D. 考察

これまで慢性咳嗽の鑑別診断においては、喀痰中の好酸球比率が増加している場合、喘息、CVA、ICなどのアレルギー性気管支炎の存在を疑い、さらに、気道過敏性の有無によってCVAとICを鑑別していた。これらの検査ができない場合は、気管支拡張薬投与による治療的診断をおこない、気管支拡張薬で咳が改善する場合はCVAとし改善しない場合は、atopic coughと診断されてきた。これらの咳は、乾性咳嗽が多く、喀痰が採取できないことも多く、高張食塩水吸入による誘発喀痰をおこなっても喀痰を採取できない場合が多かった。また、アセチルコリン吸入などによる気道過敏性試験も簡便におこなうことができず、慢性咳嗽の鑑別に有用な迅速、簡便なマーカーが求められていた。今回、検討した呼気NO測定は、機械は高価であるものの、数分の測定でリアルタイムに結果が得られ、外来での慢性咳嗽の鑑別診断にきわめて簡便で再現性も高い検査法であることがわかった。

CVAでは、ICに比較し呼気NO濃度が有意に高値を示し、慢性咳嗽を鑑別するうえで呼気NO測定は簡便迅速できわめて有効であった。呼気NO濃度は、喘息やCVAといった気道過敏性が亢進している病態で高値を示しており、PC20と相関を示したことより、気道過敏性亢

進を反映するマーカーである可能性が示唆された。CVAでは、喘息へ進展することが多く、喘息の早期診断といった観点からも呼気NO濃度測定は有用であると考えられた。

また、CVAの病態には喘息と同様にロイコトリエンが大きく関与していると考えられ、montelukastが著効を示し、EBCのLTC4/D4/E4濃度が高値であった。

なお、慢性咳嗽の原因となる好酸球性気管支炎を呈する病態のうち、気管支拡張薬に反応せず、咳受容体の感受性亢進が原因にあると考えられるものはatopic coughと呼ばれているが、病名が適切でないとの意見も多いことや、今回、気管支拡張薬に対する反応性を検討していないことからatopic coughの代わりに咳受容体の刺激性亢進を反映するirritable coughという呼称を提唱し、分類した。

#### E. 結論

以上の結果より呼気NO濃度測定やEBC中のmediator解析は、アレルギー性気道炎症の診断や病態解明のほか、治療法選択にもきわめて有用な方法であると考えられた。

#### G. 研究発表

##### 2. 学会発表

- 1) Ishii Y, Fukuda T: Assessment of airway inflammation using nitric oxide. The 6th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology (Main Symposium), Tokyo, 2004, 10.
- 2) 石井芳樹, 福田健: 呼気分析(呼気NOおよび呼気凝縮液)による呼吸器疾患の早期診断. 第41回日本臨床生理学会総会(シンポジウム), 宇都宮, 2004, 11.
- 3) Ishii Y, Okazaki K, Fukuda T: Exhaled nitric oxide is a useful marker of airway hyperreactivity in patients with chronic cough. European Respiratory Society Annual Congress. Copenhagen, 2005,

## ロイコトリエン過剰産生を示す気管支喘息患者の病態（—上気道と下気道の関連—） に関する研究

分担研究者 谷口正実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 共同研究部部長

研究協力者 秋山一男(国立病院機構相模原病院臨床研究センター センター長)、  
東 憲孝、東 愛、竹内保雄、粒来崇博、釣木澤尚実、前田裕二、大友 守、森 晶夫、長谷川眞  
紀(国立病院機構相模原病院 アレルギー科)石井豊太(国立病院機構相模原病院 耳鼻科)三  
田晴久(国立病院機構相模原病院臨床研究センター 分子生物学研究室長)

### 研究要旨

成人喘息患者での Cys-LTs 過剰産生は、アスピリン喘息の70%、非アスピリン喘息の20%に認められた。高 LT 尿症の背景因子として、重症喘息やアスピリン喘息だけでなく、好酸球性鼻茸副鼻腔炎やCSSの合併が明らかとなった。鼻茸副鼻腔炎合併例において、その術後に尿中LTE4が著明に減少し、気道過敏性をも改善することを確認したことから、上気道における Cys-LTsの過剰産生が、下気道のアレルギー炎症を悪化させている可能性が示唆された。一方、血管炎合併喘息(Churg Strauss 症候群)だけでなく、喘息のない非好酸球性全身血管炎でも、U-LTE4が著増することを今回見出し、その値が病勢を反映する可能性を示した。

### A. 研究目的

ロイコトリエン(LTs)、なかでもシステイニルロイコトリエン(Cys-LTs)は、ヒト喘息の病態に深く関わり、最も重要な最終メディエーターと現在認識されている。しかしながら、実際の喘息や気道アレルギーの病態にいかに関与しているかは、十分明らかにされてない。すでに我々は、急性発作時や重症喘息患者、さらにアスピリン喘息でその産生が増加することを明らかにしてきた。しかし安定期においてもCys-LTsの産生が亢進している喘息患者は少なくなく、またその機序は不明であった。今回は喘息の難治化や重症化に関与する可能性のあるCys-LTs過剰産生の病態を、上気道と下気道アレルギーの関連も含めて明らかにすることを目的とした。

### B. 方法

十分な説明と同意を経た後に、発作安定期の成人喘息患者の午前中尿を採取し、測定時まで $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した。既報の測定法、すなわちHPLCで分離の後、EIA(カイマン社)でCys-LTs産生の指標としてLTE4(U-LTE4)を測定した。U-LTE4値:mean+2SD(150)以上を高LT尿症と定義し、以下の検討を行った。

1)高LT尿症を呈した成人喘息の解析  
2)1)の結果、好酸球性副鼻腔炎合併の関与が大きいことが判明したため、その手術後の

### U-LTE4と喘息症状の変化を検討

3)1)の結果、血管炎合併喘息(Churg Strauss 症候群、CSS)で、高値を示すことが判明したため、血管炎の病態とCys-LTsの関連を検討(倫理面への配慮):全ての尿検体は、患者に研究内容の十分な説明をし、その同意を経た後に採尿し、保存した。また、各検体はコード番号化し、患者を特定化することができないように、個人情報の保護に十分配慮した。

### C. 結果

1)高LT尿症を呈した成人喘息の病態:図1(文献1より引用)に安定期のU-LTE4を示す。アスピリン喘息(AIA)、非アスピリン喘息(ATA)ともに、喘息が重症であるほど、U-LTE4は高値であった。U-LTE4値:mean+2SD(150)以上を高LT尿症と定義すると、AIAの約70%、ATAの約20%が高LT尿症を認めた。しかし花粉症患者や健常人では1例も認めなかった(図は省略)。さらに、高LT尿症患者を解析すると、その病態として4つの特徴があることが判明した。すなわち、①重症喘息、②アスピリン過敏の2点だけでなく、③好酸球性鼻茸副鼻腔炎合併、④Churg Strauss 症候群(CSS)合併が、今回の検討で重要な因子であることが判明した。4つの因子の中でも、①の重症度の関与は少なく、②③④の関与が大きいことも明らかとなった。図2

(文献1より引用)は、AIA とATAにおける好酸球性鼻茸副鼻腔炎の有無別に U-LTE4を示しているが、ATAにおいても有意に高値であった。

2)さらに鼻茸副鼻腔炎合併患者では、アスピリン過敏の有無に関わらず、副鼻腔内視鏡手術後に U-LTE4が有意に低下することを確認した(図3、文献1より引用)。また多くは、術後に正常 U-LTE4レベルまで低下していた。これらの手術症例を、前向きに気道過敏性を検討した結果、手術後に有意にアセチルコリン気道過敏性が減弱していた(図4、投稿準備中)。

3)慢性喘息から発症するCSSにおいても、U-LTE4が著増し、病勢の安定とともに、低下することが判明した(図5、文献2より改変引用)。非好酸球性血管炎、すなわち CSS 以外の全身血管炎(ベーチェットなど)でも高値を呈することも、見出した(図6、文献2より引用)。

#### D. 考察

従来から、成人喘息に鼻茸副鼻腔炎を合併すると難治であることが知られていた。またCSSの多くは重症喘息例から発症する。今回の検討で、その両者ともに Cys-LTs 過剰産生を伴うことが明らかとなり、Cys-LTs 過剰産生が喘息難治化に関連している可能性が示唆された。また成人喘息での Cys-LTs 過剰産生の機序として、図2、3の結果から、副鼻腔のアレルギー炎症の関与が大きいことが今回判明した。さらに副鼻腔手術後に、多くの例では気道過敏性(図4)や喘息症状が改善する(データは省略)のを確認したことから、上気道における Cys-LTs 過剰産生が下気道症状に強く影響している可能性が示された。

またCSSでも、U-LTE4が著増しており、その病状を反映することが明らかになった(図5)。すでに、CSSは好酸球増多が著明で、副鼻腔炎もともなうことから、それらの病態が Cys-LTs 過剰産生に影響している可能性も考えうる。しかし、副鼻腔炎を合併しない非好酸球性血管炎(ベーチェット、悪性関節リウマチなど)でも U-LTE4高値を認めたことから、好酸球性炎症に起因せず、血管炎症もしくは血管内皮細胞障害で Cys-LTs 産生が生じている可能性が考えられた。

#### E. 結論

成人喘息患者での Cys-LTs 過剰産生の病態因子として、重症喘息やアスピリン喘息だけでなく、好酸球性鼻茸副鼻腔炎やCSSの合併が明らかとなった。それらの Cys-LTs 産生源は下気道以外が主であり、その過剰産生が喘息難治化に関与している可能性が示唆された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Higashi N, Taniguchi M, Mita H et al : Clinical features of asthmatic patients with increased urinary leukotriene E4 excretion *J Allergy Clin Immunol* 113 277-283,2004

2) Higashi N, Mita H, Taniguchi M, et al. : Urinary eicosanoid and tyrosine derivative concentrations in patients with vasculitides. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Dec;114(6):1353-8.

3) 中川武正, 谷口正実, Tak H. Lee. : アスピリン喘息 *喘息 Vol.17 No.1 2004-1:72-78, 2004*

4) 谷口正実, 東憲孝, 東愛, 三田晴久, 秋山一男 : 解熱鎮痛薬(アスピリン)喘息 -ロイコトリエンの重要性- *喘息 Vol.17 No.2 2004-4:54-58, 2004*

5) 谷口正実 : 血管炎と呼吸器疾患 *Annual Review 呼吸器(編集 工藤翔二, ほか.) : pp101-105, 2004 中外医学社 東京*

6) 谷口正実, 東憲孝, 東愛, 伊藤伊津子, 河岸由紀男, 石井豊太, 三田晴久, 秋山一男 : アスピリン(NSAIDs)喘息の病態とロイコトリエン:副鼻腔炎の関与 *Allergy From the Nose to the Lung Vol.2 No.3 2004:3-8, 2004*

7) 谷口正実, 竹内保雄, 東憲孝, 東愛, 秋山一男 ; 成人喘息における短時間, 長時間作用型 $\beta 2$  刺激薬の使用, および吸入ステロイドとの併用効果 *アレルギー科, 17(4):342-350, 2004*

8) 谷口正実 : 気管支喘息と NSAID *クリニカ Vol.31 No.1:74-78, 2004*

9) 谷口正実, 三田晴久, 東憲孝, 秋山一男 : アスピリン喘息・NSAID 過敏症の病態と診断, 治療 *診断と治療 Vol.92-No.8 2004(111):1391-1395, 2004*

10) 谷口正実 : アスピリン喘息における喘息発作の特異性と対策 *アレルギーの臨床 24(9), 2004:(703)49-(705)51, 2004*

11) 谷口正実, 東憲孝, 河岸由紀夫, 竹内靖男, 東愛, 石井豊太, 三田晴久, 秋山一男 : 脂質メディエーターからみた上下気道の関連 *アレルギー科, 18(1):5-9, 2004*

- 12) 谷口正実, 東憲孝, 川口博史, 三田晴久, 秋山一男 : NSAID で増悪するアレルギー疾患 アレルギー科, 18(4):367-374, 2004
- 13) 谷口正実, 東憲孝, 竹内保雄, 釣木澤尚美, 秋山一男 : Chung-Strauss Syndrome と抗コイトリエン薬 アレルギー・免疫 Vol.11, No.1, 2004:84(1496)-88(1500), 2004
- 14) Mita H, Higashi N, Taniguchi M, Higashi A, Akiyama K. : Increase in urinary leukotriene B4 glucuronide concentration in patients with aspirin-intolerant asthma after intravenous aspirin challenge. *Clin Exp Allergy*. 2004 Aug;34(8):1262-9.
- 15) Mita H, Higashi N, Taniguchi M, Higashi A, Kawagishi Y, Akiyama K. : Urinary 3-bromotyrosine and 3-chlorotyrosine concentrations in asthmatic patients: lack of increase in 3-bromotyrosine concentration in urine and plasma proteins in aspirin-induced asthma after intravenous aspirin challenge. *Clin Exp Allergy*. 2004 Jun;34(6):931-8

## 2. 学会発表

- 1) Taniguchi M, Higashi N, Mita H, Akiyama K : Satellite Symposium 1, Advance in our understanding and treatment of aspirin-induced asthma Characteristics in patients with aspirin-intolerant asthma *The 6th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology* 2004.10.4 Tokyo, Japan
- 2) Taniguchi M : INHIBITION OF ASPIRIN-INDUCED BRONCHOCONSTRICTION BY INHALED HEPARIN 4th WORD ASTHMA MEETING 2004.2.19 Bangkok, Thailand
- 3) Taniguchi M : SYSTEMIC MANIFESTATIONS OF JAPANESE PATIENTS WITH ASPIRIN-INTOLERANT ASTHMA 4th WORD ASTHMA MEETING 2004.2.19 Bangkok, Thailand
- 4) 谷口正実, 東憲孝, 東愛, 竹内保雄, 伊藤伊津子, 三田晴久, 秋山一男 : シンポジウム(1), アスピリン喘息診断の問題点 - 問診と負荷試験の限界- 第45回日本アスピリン喘息研究会 2004.3.6 名古屋
- 5) 谷口正実, 東憲孝, 粒来崇博, 東愛, 竹内保雄, 豊田信明, 西山晃好, 森田園子, 釣木澤尚美, 大友守, 前田裕二, 森晶夫, 長谷川眞紀, 都川知之, 山本一博, 石井豊太, 秋山一男, 榊原博樹 : シンポジウム(2), アスピリン喘息に有効な治療は何か? 第45回日本アスピリン喘息研究会 2004.3.6 名古屋
- 6) 谷口正実, 東憲孝, 三田晴久, 石井豊太, 秋山一男 : 教育セミナー12, NSAIDs で増悪するアレルギー疾患 第16回日本アレルギー学会春季臨床大会 2004.5.13 群馬
- 7) 谷口正実, 石井豊太, 山本一博, 都川知之, 東憲孝, 河岸由紀男, 三田晴久, 秋山一男 : シンポジウム I, アスピリン喘息の病態と治療 第43回日本鼻科学会 2004.9.24 東京
- 8) 谷口正実, 東憲孝, 河岸由紀男, 石井豊太, 三田晴久, 秋山一男 : イブニングシンポジウム 8, アスピリン喘息の特徴的病態と治療 第54回日本アレルギー学会総会 2004.11.5 横浜
- 9) 谷口正実, 榊原博樹, 末次勲, 柏木秀雄, 東憲孝, 東愛, 竹内保雄, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 森田園子, 大友守, 森晶夫, 前田裕二, 長谷川眞紀, 秋山一男 : アスピリン喘息患者における NSAID 誤使用の実態とその対策 第44回日本呼吸器学会学術講演会 2004.4.1 東京
- 10) 谷口正実, 妹川史朗, 竹内保雄, 東憲孝, 東愛, 粒来崇博, 西山晃好, 森田園子, 釣木澤尚美, 大友守, 森晶夫, 前田裕二, 長谷川眞紀, 秋山一男 : インターナル吸入液による気道刺激-低浸透圧液と等張液の比較- 第44回日本呼吸器学会学術講演会 2004.4.1 東京
- 11) 谷口正実, 東憲孝, 東愛, 榊原博樹, 竹内保雄, 釣木澤尚美, 前田裕二, 齊藤博士, 森晶夫, 三田晴久, 秋山一男 : アスピリン喘息患者における NSAID 過敏体質は永続的か? 第44回日本呼吸器学会学術講演会 2004.4.2 東京
- 12) 谷口正実, 白井敏博, 豊嶋幹生, 榊原博樹, 石井豊太, 安達献, 東憲孝, 東愛, 竹内保雄, 豊田信明, 粒来崇博, 西山晃好, 釣木澤尚美, 森田園子, 大友守, 前田裕二, 森晶夫, 長谷川眞紀, 秋山一男 : アスピリン喘息患者の臨床像の変化-フルチカゾン吸入による影響- 第16回日本アレルギー学会春季臨床大会 2004.5.12 群馬
- 13) 谷口正実, 東憲孝, 三田晴久, 東愛, 竹内保雄, 石井豊太, 粒来崇博, 西山晃好, 豊田信明, 釣木澤尚美, 森田園子, 大友守, 前田裕二, 森晶夫, 長谷川眞紀, 秋山一

男：アスピリン喘息におけるロイコトリエン過剰産生 第 53 回臨床アレルギー研究会 2004.6.12 東京

14) 谷口正実, 東憲孝, 三田晴久, 河岸由紀男, 石井豊太, 秋山一男：アスピリン不耐症はロイコトリエン過剰産生体質である 第 25 回日本炎症再生学会 2004.7.13 東京

15) 谷口正実, 東憲孝, 東愛, 竹内保雄, 粒来崇博, 西山晃好, 豊田信明, 釣木澤尚美, 森田園子, 大友守, 前田裕二, 森晶夫, 石井豊太, 伊藤伊津子, 三田晴久, 榊原博樹, 秋山一男：アスピリン喘息診断の問題点-問診と気管支負荷試験の限界- 第 54 回日本アレルギー学会総会 2004.11.4 横浜

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1: AIAと非AIAにおける喘息重症度別の尿中LTE4

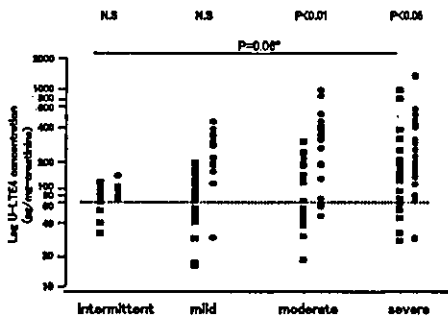


図2: 好酸球性鼻茸副鼻腔炎を合併有無別の尿中LTE4

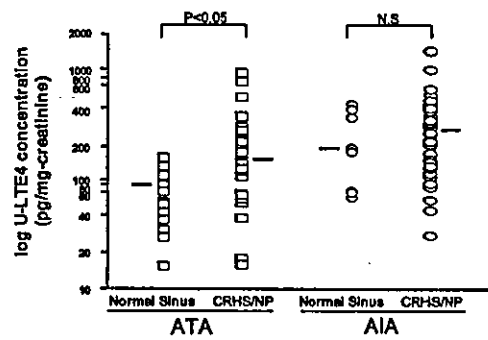


図3: 副鼻腔炎手術前後のU-LTE4

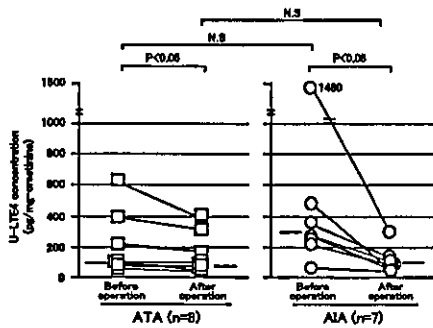


図4: 内視鏡下副鼻腔手術前後の気道過敏性の変化

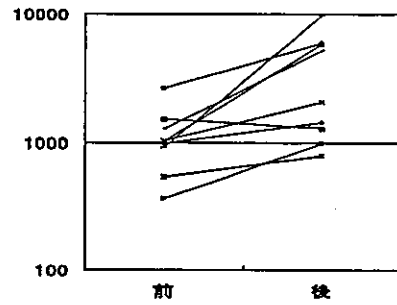


図5: CSS, 非好酸球性血管炎、慢性関節リウマチにおける尿中LTE4とEDN

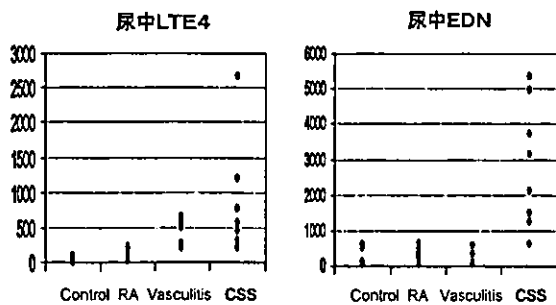
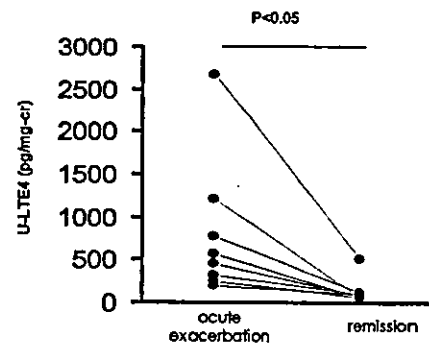


図6: Churg Strauss 症候群の活動期と寛解期のU-LTE4



## 臓器過敏性に関連したアレルギー性鼻炎の鼻粘膜特異的免疫基盤の解明

分担研究者：岡本 美孝 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学教授

研究協力者：堀口 茂俊 千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科助手

留守 卓也 千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科助手

櫻井 大樹 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学助手

花澤 豊行 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学講師

### 研究要旨

アレルギー性鼻炎患者でみられる鼻粘膜過敏性の背景にある免疫基盤の解明を目的として鼻粘膜ならびに血中の T 細胞の subpopulation, CD23 陽性 B 細胞の検討を行った。また、鼻に近接し上気道の代表的粘膜リンパ組織である扁桃についてインフルエンザウイルス特異的 T 細胞の解明も併せて行った。アレルギー性鼻炎患者では非アレルギー性鼻炎患者に比較して鼻粘膜中の Th2/CD4 細胞比の増加がみられたが Th1/CD4 細胞比については差はなく、末梢血中ではいずれも全く差が認められず、いわゆる Th1/Th2 細胞の dysregulation は明らかではなかった。一方、アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜には CD4 陽性 CD25 陽性 CD152 陽性の調節性 T 細胞と考えられる細胞が存在していた。扁桃でのインフルエンザウイルス特異的 T 細胞の検討では末梢血に比較して多数の Tc1 細胞と IL-10 産生の調節性 T 細胞が存在した。

### A. 研究目的

気道の入口部に位置する鼻粘膜は常時種々の病原微生物やアレルゲンに暴露されており特異な免疫機構の存在が推察されている。しかし、一方で鼻を含めた上気道感染は喘息発作誘導の大きな原因となること、アレルギー性鼻炎の増悪が喘息症状を増悪させることが知られている。

近年上気道と下気道のアレルギー疾患を one airway, one disease として捕らえる考え方が提唱されている。確かに上気道の代表的アレルギー疾患であるアレルギー性鼻炎と下気道の喘息とは合併する割合も高く、合併している場合には症状の連動がみられることも多い。またその場合、アレルギー性鼻炎の治療が喘息症状の改善を生じること、あるいは合併していない場合でも、アレルギー性鼻炎の存在は将来喘息を発症させる危険因子となり得ること、さらにアレルギー性鼻炎の治療が喘息発症の予防になることも期待されている。しかし、他方で両者の病態には違いも多く、発生学的にも大きな違いがある。

今年度、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜でみられる鼻粘膜過敏性の背景にある免疫基盤の解明を目的として T 細胞の subpopulation, CD23 陽性 B 細胞の検討を試みた。

また、上気道の扁桃は鼻に近接し、近年粘膜リン

パ組織の誘導組織としての機能が注目されているが、ヒトでは扁桃そのものの機能が十分明らかになっていない。下気道との関連を考える上でもその解明は重要であり、今年度はインフルエンザウイルスに対する T 細胞 subpopulation の解明を行った。

### B. 方法

(1) 鼻粘膜切除術を受けた患者うち、同意が得られた患者の鼻粘膜および血液検体を使用した。鼻粘膜からは細切, staining, Ficoll-Hypaque 法により粘膜浸潤リンパ球を分離して、CD3 抗体, CD4 抗体, CD8 抗体, CD25 抗体, CD152 抗体, CXCR3 抗体, CCR4 抗体を用いて免疫染色を行い、flow cytometry により解析を行った。末梢血から単核球を分離して同様に flow cytometry による検討を行った。

(2) 単純扁桃肥大、あるいは習慣性扁桃炎で、手術により扁桃を摘出した患者のうち同意の得られた患者の扁桃から CD8 陽性 T 細胞を分離し、インフルエンザウイルス特異ペプチドを利用した ELISPOT 法によりインフルエンザウイルス特異的 Tc1, Tc2 及び調節性 T 細胞 (Tr) を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究に参加された患者からは鼻粘膜切除、ある



いは扁桃摘出の手術前に研究の目的を十分説明し文書による同意を得た。また、本研究は千葉大学大学院医学研究院内の倫理委員会の許可を得て行われている。

### C. 結果

(1) 通年性アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜と非アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜中の CD4 陽性 T 細胞のうち、CCR4 陽性 T 細胞の割合はアレルギー性鼻炎患者で高かったが、CXCR3 陽性 T 細胞の割合はアレルギー性鼻炎と非アレルギー性鼻炎患者で全く差はみられなかった。いわゆる CXCR3 陽性 T 細胞と CCR4 陽性 T 細胞のシーソー現象は明らかではなかった。末梢血中の CD4 陽性細胞では、CXCR3 陽性細胞の割合が鼻粘膜と比べて著しく高いが、アレルギー性鼻炎患者と非アレルギー性鼻炎患者で CXCR3 陽性細胞、CCR4 陽性細胞の割合に差は全く見られなかった。一方、CD152 陽性 CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞はアレルギー性鼻炎の鼻粘膜においてのみ明らかで、アレルギー性鼻炎患者の末梢血や非アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜では明らかではなかった。鼻粘膜中の CD23 陽性細胞の大半は B 細胞でありアレルギー性鼻炎患者鼻粘膜で多いが、CCR4 陽性 T 細胞数とに相関はみられなかった。

(2) 扁桃 CD8T 細胞には末梢血よりも高い割合でインフルエンザウイルスに対する特異的な Tc1 細胞が認められた。一方、インフルエンザウイルス特異的に IL-10 を産生する調節性 T 細胞も多数認められたが、Tc2 細胞は検出されなかった。

### D. 考察

鼻アレルギー患者鼻粘膜には確かに Th2 細胞の割合が非アレルギー性鼻炎患者よりも高い割合で認められたが、Th1 細胞には差は認められず、Th1 細胞と Th2 細胞のいわゆるシーソー現象は明らかではなかった。末梢血では Th1 細胞、Th2 細胞もアレルギー性鼻炎、非アレルギー性鼻炎患者で差は認められず Th1/Th2 dysregulation は明らかではなかった。一方、鼻粘膜には CD152 陽性 CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞が存在しており、特にアレルギー性鼻炎患者で多いことから何らかのアレルギー反応の抑制に作用している可能性が示唆された。鼻粘膜での CD23 陽性細胞の多くは B 細胞であり、その発現程度は IgE 産生

と関連が考えられるが、Th2 細胞数との相関は明らかではなかった。

扁桃中にはインフルエンザウイルスに対する特異的な Tc1 が多数存在するが、同時に抑制性と考えられる末梢血にはみられない特異的な Tr 細胞も多数存在し扁桃の免疫応答の抑制機能も示唆され、他のウイルスやアレルゲンでの解析も加えて進める必要性が考えられた。

### E. 結論

アレルギー性鼻炎患者の Th1 細胞、Th2 細胞について検討したところ、いわゆるシーソー現象は認められず、末梢血中には非アレルギー性鼻炎患者と比較して全く差は認められず、いわゆる Th1/Th2 細胞の dysregulation は明らかではなかった。一方、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜には調節性 T 細胞の増加が示唆された。上気道の代表的粘膜リンパ組織である扁桃では末梢血と比較して多数のインフルエンザウイルス特異的 Tc1 と同時に調節性 T 細胞も存在し、局所の免疫応答の抑制機能も示唆された。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Horiguchi.S, Okamoto.Y, Chazono.Z., Sakurai.D., Kobayashi.K.. Expression of membrane-bound CD23 in nasal mucosal B cells from patients with perennial allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 95:286-291, 2005.

#### 2. 学会発表

第 52 回日本アレルギー学会 (平成 16 年 11 月) 岡本美孝: 教育講演「鼻アレルギー研究の最近の進歩」

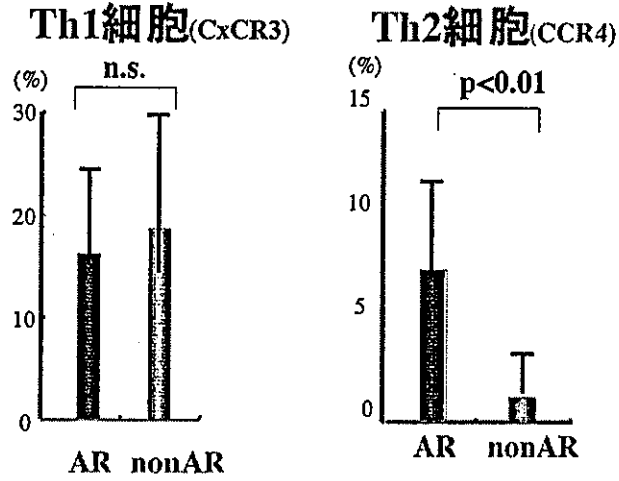
第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会 (平成 16 年 6 月) 堀口茂俊: 教育講演「Th1/Th2 バランスからみた鼻アレルギー」

第 43 回日本鼻科学会総会基礎問題シンポジウム 堀口茂俊: 「鼻アレルギー病態形成因子と治療戦略」

### H. 知的財産権の出願・登録状況

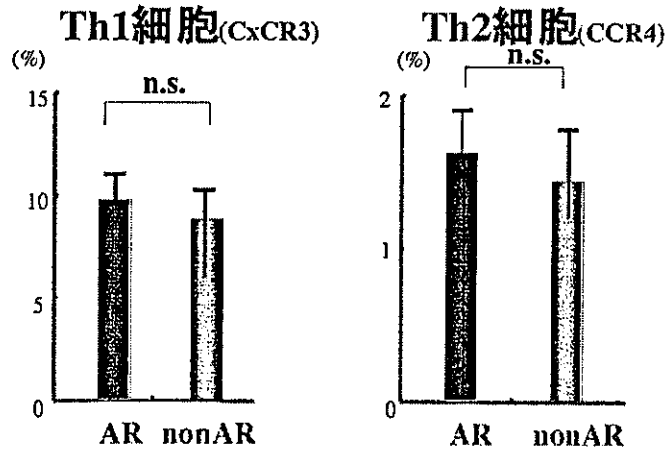
なし

ヒト鼻粘膜中CD4 T細胞中の  
Th1/Th2細胞の占める割合<sub>n=8</sub>



AR: 鼻アレルギー患者 non-AR: 非アレルギー性鼻炎患者

末梢血CD4陽性T細胞中の  
Th1/Th2細胞の占める割合<sub>n=8</sub>



AR: アレルギー性鼻炎患者; non-AR: 非アレルギー性鼻炎患者

## 3次元CTを用いたヒト気道解析の研究

分担研究者 田村 弦 東北大学病院感染症・呼吸器内科講師

### 研究要旨

最近、3次元CT撮影により、気道を3次元的に評価することが可能になり、理論的には、1本の気管支のみならば内径1mm程度までは解析可能と推測される。そこで、3次元CTを用い、中枢気道から末梢気道までCross-Sectionの連続的評価を行い、内径何ミリメートルまで解析可能であるかを検討した。今回の解析により、気道を連続的に評価することは可能で、内径ほぼ1mmまで観察可能である。健常者の気道は、第10次分岐付近で内径1mmになっていたが、重症喘息の気道は、中枢より徐々に狭くなり、第4次ないし第5次分岐付近で内径1mmとなっていた。また、軽症の肺気腫患者でも、ほぼ同様であった。喘息患者のサルブタモール吸入前後で同一気道を比較すると、吸入後は著明に可視範囲の全ての気道が拡張していたが、それでも第8次分岐付近で内径1mm程度となっていた。本研究により、3次元CTを用いれば、気道の分岐を生体において解析できる可能性が示唆された。

### A. 研究目的

気管支喘息(喘息)は気道の炎症性疾患と認識され、これまでの生理学的並びに病理学的な研究によれば、気道炎症は中枢気道のみならず末梢気道、そして肺胞にまで及んでいることが示唆されており、中枢気道のみならず末梢気道の解析が重要視されている。これまで気道系の評価は主に肺機能検査で行われてきたが、本検査の特性上、生体における中枢気道と末梢気道を分離して解析することは不可能である。近年 high resolution computed tomography (HRCT) による非侵襲的な評価も試みられているが、これまでの研究では Axial 方向からのスキャンから得られる気道の Cross-Section を離散的にサンプリングし、不連続的な評価を行っているのみである。最近、3次元CT撮影により、気道を3次元的に評価することが可能になり、理論的には、1本の気

管支のみならば内径1mm程度までは解析可能と推測される。そこで今回、我々は、3次元CT撮影を用い、中枢気道から末梢気道までの Cross-Section の連続的評価を行い、内径何ミリメートルまで解析可能であるかを検討した。

### B. 方法

対象: 2名の喘息患者と1名の肺気腫患者、1名の健常者である。ステップ4の重症喘息患者では、喘鳴を聴取する時点で3次元CT撮影を実施した。もう1名の喘息患者は、常にブデソニド400 $\mu$ g/日をタービューヘラーで吸入し、自覚的には無症状であるが、サルブタモール頓用吸入で明らかな可逆性を示す軽症持続型である。この軽症喘息患者では、サルブタモール吸入前と吸入30分後に3次元CT撮影と肺機能検査を実施した。また、肺気腫患者はFEV1.0%が70%の軽症患者であり、健常者と同様に随時に3次元CT撮影を実施した。

3次元CT撮影と再構成法：右上葉前方区域を0.5mmスライス厚で撮影し、再構成はピッチ0.2mm、関心領域(ROI)は102.5mmとし、拡大処理により0.2mm等方体積素データを得た。

Segment化と任意多断面再構成(MPR)：気道を分岐部でSegmentに切り分け、各々についてCross-SectionでMPRの連続データを得た。MPRのスライス厚は0.5mm、ピッチは0.5mmとした。

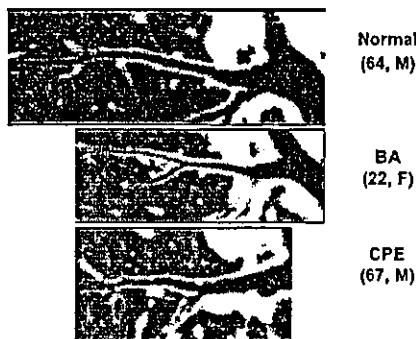
計測：MRPの連続データからCross-Section画像を抽出し、さらにその気道を正接に切断した画像を得た。

(倫理面への配慮)

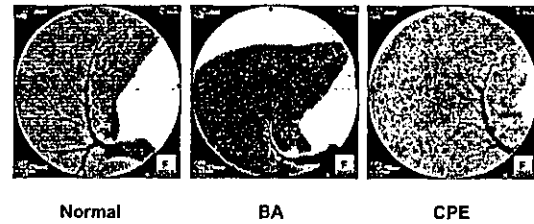
いずれのCT撮影においても、患者に本研究の意義を直接説明し、患者の同意の基で、実施した。

### C. 結果

下の図に示したように、今回の3次元CT撮影と解析方法は、気道を連続的に評価することが可能で、内径ほぼ1mmまで観察可能であることを明らかにした。



右の図はMinimal Intensity Projectionで表示したものであるが、より全体的に気道のイメージを捉えやすくなった。その結果、健常者の気道は、第10次分岐付近で



内径1mmになっていたが、重症喘息患者の気道は、既に中枢気道より狭くなっており、第4次ないし第5次分岐付近で内径1mmとなり、それ以下の分岐は解析不能であった。また、軽症の肺気腫患者でも、ほぼ同様に第4次ないし第5次分岐付近で内径1mmとなっていた。

軽症の喘息患者は、サルブタモール吸入でFEV1.0が1.27Lから1.76Lまで改善した。著作権の関係でここに図を示すことができないが、喘息患者のサルブタモール吸入前後で同一気道の内径を比較すると、吸入後は著明に可視範囲の全ての気道が拡張したが、それでも第8次分岐付近で内径が1mm程度となっていた。

### D. 考察

本研究により、3次元CTを用いて、同一気道を連続的に評価する方法を確立できた。しかしながら、現在の方法では、1被験者の1本の気道を評価するために約2時間を必要とする。したがって、多数の母集団を解析する方法、すなわち3次元CT画像データを自動的に解析するパソコンソフトの開発が来年の研究課題になると考える。この自動解析ソフトが開発できれば、これまで解剖学的な研究で示されてきた気道の