

**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**

**気管支喘息の慢性化・難治化の予防を目指す、早期  
介入療法のための早期診断法の確立に関する研究**

**平成16年度 総括・分担研究報告書**

**主任研究者 福田 健**

**(獨協医科大学呼吸器・アレルギー内科)**

**平成17年 (2005年) 3月**

7. 気管支喘息の早期診断 終夜睡眠ポリグラフィ(polysomnography : PSG) による検討 大田 健	30-32
8. アレルギー疾患発症制御における形質細胞様樹状細胞の役割 の解明 岩本逸男	33-35
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	37
IV. 研究成果の刊行物・別冊	39-107

気管支喘息の慢性化・難治化の予防を目指す、早期介入療法のための早期診断法の  
確立に関する研究

主任研究者：福田 健 (獨協医科大学内科学 (呼吸器・アレルギー) 教授)  
分担研究者 足立 満 (昭和大学医学部第1内科教授)  
棟方 満 (福島県立医科大学医学部呼吸器科教授)  
秋山一男 (国立相模原病院臨床研究センター・センター長)  
井上洋西 (岩手医科大学医学部第3内科教授)  
大田 健 (帝京大学医学部内科教授)  
三嶋理晃 (京都大学医学部呼吸器内科教授)  
岩本逸夫 (千葉大学大学院医学研究院細胞治療学)

研究要旨

本研究は、1) 早期診断に役立つ喘息特異的な臨床像が発病初期に認められるかを検討する後ろ向き研究、2) 前向き研究、3) 初期喘息と考えられる咳喘息についての臨床的検討、4) 喘息早期診断に向けた従来の検査法の見直し、及び新しい検査法の開発、5) 早期診断基準の策定の5つのパートからなる。「後ろ向き研究・症例選択基準」を満たす220症例の調査票を解析したところ、喘息発症時の症状は咳嗽 79.5%、喘鳴 65.0%、呼吸困難 44.5%であり、早期診断における咳嗽の重要性が示唆された。一方、発症時に高率に認められた検査値異常は、気道過敏性亢進 91%、%V25 低値 (70%以下) 88%、喀痰中好酸球陽性 84%であった。3) の研究で、アトピー型咳喘息患者に抗原誘発試験を行ったところ、即時型咳反応の咳回数は即時型気道収縮反応の程度と相関し、遅発型咳反応の咳回数は誘発喀痰の好酸球比率と相関した。4) の研究からは、%V25 値、%V50 値、呼気 NO 値、吸気/呼気 HRCT 所見が、初期喘息と他の咳嗽を主訴とする疾患との鑑別に有用である可能性が、昨年度から症例数を増加させての検討で改めて示され、さらに血清 TARC 測定も有用であることも示された。気管支粘膜生検組織の検討では Smad7 発現解析が初期喘息と時間の経過した喘息を見分けられる可能性があること、肥満細胞由来 amphiregulin の気道粘膜内発現の解析も喘息診断に有用であることが示された。また、Churg-Strauss syndrome に伴う喘息の初期臨床像は一般喘息に比し末梢血好酸球比率が高値、気道過敏性の程度は軽度、CD25+CD4+T 細胞数低値であることなどから予知の可能性のあること、さらに喘息患者の終夜睡眠ポリグラフィにおける異常睡眠パターンは睡眠時無呼吸症候群患者 (SAS) と明らかに異なるため、この検査を施行する SAS 患者の中から早期喘息を検知できる可能性があることも示された。また、本年度から参加した岩本班の研究により形質細胞様樹状細胞 (PDCs) のアレルギー疾患発症制御における役割がかなり解明され、個々の患者における末梢血 PDCs 解析が将来的には喘息早期診断に有効である可能性も示された。これらの成果をもとに平成17年度前半に喘息早期診断基準案を作成し、前向き研究で検証した後、同後半に最終案を公表する予定である。

## A. 研究目的

喘息は気道炎症、気道反応性亢進、気流制限を特徴とする慢性の呼吸器疾患であり、適切に診断、治療されない場合には、症状の増悪、寛解を反復しつつ、次第に $\beta$ 2刺激薬に反応しにくい気道閉塞、高度かつ持続性の気道反応性亢進を呈するようになる。その結果、症状増悪が頻繁に起こり、慢性的な呼吸困難を呈するようになる。発作死、緊急入院はこうした慢性患者に多い。喘息の慢性化、難治化を防止する現時点で最も有効な方法は、吸入ステロイド薬を発症早期から用いる早期介入療法である。その効果は発症後間もない程大きいので、発症早期で喘息と診断することが極めて重要である。現在の喘息診断は、発作性呼吸困難、喘鳴の反復、可逆性気道収縮、気道過敏性の存在、アトピー素因の存在、喀痰中および末梢血中好酸球数増加などを目安に行うが、典型的喘息症例の発病時の状態を遡ると上記診断目安を全く満たさないか、満たしても1、2項目であることをしばしば経験する。すなわち、現在の喘息診断目安の欠点は、発病してしばらく経たないと喘息と診断できないことにある。そこで、本研究は、公的な研究グループを組織し、現在より早い段階で喘息と診断できる方法を模索し、最終的に「喘息早期診断基準」を提唱することを目指す。研究は、1) 早期診断に役立つ喘息特異的な臨床像が発病初期にみられるかを検討する後ろ向き研究と前向き研究、2) 喘息へ移行しうる咳喘息についての臨床的検討、3) 喘息早期診断に向けた従来の検査法の見直しおよび新しい検査法の開発、の3つのパートからなる。1) は8人の分担者が共同して行い、2) は足立班を中心に実施する。3) には以下の研究が含まれる。気道過敏性、末

梢気道抵抗、フローボリューム曲線測定の意義(井上班)、Churg-Strauss Syndrome (CSS)に伴う喘息の初期臨床像(秋山班)、呼気一酸化窒素(eNO)および呼気凝縮液各種マーカー測定の意義(棟方班)、気管支粘膜生検組織の免疫組織化学的解析(福田班)、呼気CTの解析(三嶋班)、終夜睡眠ポリグラフィ(polysomnography: PSG)による検討(大田班)、形質細胞様樹状細胞機能解析によるアレルギー性喘息の早期診断の可能性に関する基礎的検討、の7つの研究である。

## B. 研究方法

1) 後ろ向き研究と前向き研究: 昨年度の班会議で決めた症例選択基準を満たす患者の調査データを「後ろ向き研究・組み入れ症例の調査票」と「前向き研究・組み入れ症例の調査票」に記入し、平成16年11月22日の班会議に持ち寄り、組み入れ基準に合致しているか、早期診断に役立つ症状・検査所見は何か、前向き研究の進め方などについて検討した。

2) 咳喘息についての臨床的検討—アトピー型咳喘息患者における抗原吸入負荷試験の影響(足立班): アトピー型咳喘息における咳発現の機序を検討するため、ダニ抗原特異的IgE抗体(+)の9名の咳喘息(cough variant asthma: CVA)にハウスダスト吸入試験を行いその前後で、呼吸機能、咳回数、喀痰中好酸球比率、ヒスタミン気道過敏性(His-PC20)、カプサイシンに対する咳受容体感受性を測定した。

3) 喘息早期診断に向けた従来の検査法の見直しおよび新しい検査法の開発

a. 肺機能検査による気管支喘息の早期診断に関する研究気道過敏性、末梢気道抵抗、フ

ローボリューム曲線測定の意味（井上班）：昨年の研究であった、咳、喘鳴、呼吸困難を呈して岩手医科大学第三内科を受診し、最終診断が気管支喘息、慢性咳症候群および気道感染であった、これまで気管支喘息と診断されたことがない患者群を対象として行った気道過敏性検査および $V_{50}$ 、 $V_{25}$ 測定を本年度は145名まで患者数を増やし、さらに、その一部の症例で Master Screen IOS を用いて末梢気道抵抗を測定した。

b. CSS の早期診断、発症予知に関する研究（秋山班）：CSS 発症前（喘息期）から経過を追跡できた CSS 症例24例の喘息期における重症度、気道過敏性、末梢血好酸球ならびに CSS 発症時の末梢血 CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>細胞数を調べ、一般喘息患者および正常対照群と比較した。

c. 呼気一酸化窒素（eNO）および呼気凝縮液各種マーカー測定の意味（棟方班）：昨年同様、eNO 測定の意味を調べるため、健康診断受診者280名に対して ATS 質問表による喘息症状の有無調査、呼吸機能、血清総 IgE、抗原特異的 IgE、eNO 測定を行い、多変量ロジスティック解析により喘息の可能性のある反復喘鳴群を抽出するために有用な指標を検討した。また、10-12歳の学童234名を対象とし、血清 TARC 値を ELISA 法により測定し、上記マーカーとの関連を検討した。

d. 気管支粘膜生検組織の免疫組織化学的解析（福田班）：TGF- $\beta$ の細胞内シグナル伝達を負に調節する分子である Smad7 の気管支粘膜内発現を、喘息発症1年未満の患者と1年以上10年未満、10年以上の患者間で比較した。また、気道上皮のムチン遺伝子発現に多大な影響を及ぼす可能性があることで最近注目されている肥満細胞由来の amphiregulin

の気道粘膜内発現の検討を行った。

e. 呼気CTを用いた咳喘息患者の末梢気道病変解析（三嶋班）：肺野 HRCT の喘息早期診断における有用性を検討する目的で、咳喘息、健常者、疾患コントロール群を対象に、Low attenuation area% (LAA%)と平均肺野濃度 (MLD) それぞれの呼気位/吸気位での比を評価した。

f. 終夜睡眠ポリグラフィ（polysomnography: PSG）（大田班）：異常睡眠パターンの検知が喘息早期診断に有用であるかを検討するため、昨年度の15例に追加し、総数58例の正常者、睡眠時無呼吸症候群（SAS）患者および喘息患者に PSG を施行、睡眠各指標、呼吸運動、いびき、酸素飽和度、心電図、体位について解析した。

g. 形質細胞様樹状細胞機能解析によるアレルギー性喘息の早期診断の可能性に関する基礎的検討（岩本班）：アレルギー疾患発症制御における形質細胞様樹状細胞（plasmacytoid dendritic cells; PDCs）の役割の解明と PDCs を指標とした早期診断法を目的に、PDCs における IL-4 依存的 IFN- $\gamma$ 産生誘導の分子機構を解析した。

### C. 研究結果

1) 現時点での回収症例は220例で、平均年齢  $46.8 \pm 15.8$  歳、発症時の年齢は  $38.9 \pm 17.5$  歳、罹患年数は  $8.3 \pm 10.0$  年であり、54例（24.5%）に小児喘息の既往を認めた。初発時の自覚症状（複数回答可）では、咳嗽175例（79.5%）、喘鳴143例（65.0%）、呼吸困難98例（44.5%）、痰81例（36.8%）の順であり、最多の組み合わせは、咳嗽、喘鳴、呼吸困難の3つで34例（15.5%）、咳嗽、呼吸困難、痰の3つで23例、喘鳴、呼吸困難

の2つで18例であった。また、咳嗽のみも21例、咳嗽+痰も12例と合わせて15%の症例で、上気道感染症と鑑別が困難な症状のみで発症していた。自覚症状で最多の回答があった咳嗽については、夜間から早朝にかけての増悪が102例(58.3%)に認め、感冒や運動、温度差(11例から21例)と比較し有意に多かった。初診時の他覚症状では、喘鳴は133例(60.5%)に認めたが、74例(33.6%)で他覚所見に異常を認めなかった。初診時の検査所見では、末梢血中の好酸球は、 $7.0 \pm 5.8\%$ で、38%の症例が5%以下であった。血清中の総Ig-Eは、 $658 \pm 1101$  IU/mlであり、約50%の症例で正常値の250 IU/ml以下であった。喀痰中の好酸球数は、71例(66.4%)で10%以上、20例(18.7%)で1-9%、好酸球を認めなかった症例も16例(15.0%)あった。初診時の呼吸機能検査では、%VC  $101.5 \pm 18.0\%$ で、90%の症例で正常値の80%を超えており、%FVCは $85.6 \pm 20.0\%$ で、81%の症例で正常値の80%を超えていた。%FEV1では、 $85.6 \pm 20.0\%$ で、81%の症例で正常値の70%を超えており、FEV1%では $74.2 \pm 13.5\%$ で、70%の症例で正常値の70%を超えていた。末梢気道の評価では、%V50では $51.2 \pm 26.2\%$ で、正常値の70%を超えていたのは25%のみであり、%V25では $41.4 \pm 24.3\%$ で、正常値の70%を超えていたのは12%のみであった。β刺激薬による気道可逆性検査で、67例(60.4%)でFEV1%またはPEFで20%以上の改善、またはFEV1で200ml以上の改善を認めたが、44例(39.6%)では有意な改善を認めなかった。気道過敏性検査では、127例(91.4%)で気道過敏性の亢進を認めた。

2) 全例で即時型気道収縮反応と即時型咳反応が出現した。遅発型気道収縮反応出現例は

なく遅発型咳反応が9例中6例に認められた。喀痰中好酸球比率の増加とヒスタミン気道過敏性の亢進を認めたが、咳受容体感受性の有意な変化は認めなかった。即時型気道収縮の程度と咳回数、および喀痰中好酸球比率の増加と遅発型咳回数の間には有意な正の相関を認めた。

3) 喘息早期診断に向けた従来の検査法の見直しおよび新しい検査法の開発

a. 症例数を追加しても昨年同様、喘息群の気道過敏性、%V<sub>50</sub>、%V<sub>25</sub>は慢性咳症候群、気道感染患者群に比し有意に低値であった。早期喘息患者(5名)と慢性咳嗽患者(4名)で末梢呼吸抵抗を検討したが、予測値に対する比は、喘息群で変動が大きく、両群間に有意差は認められなかった。

b. CSS発症前の喘息重症度は88%がStep4の重症喘息、アセチルコリン気道過敏性は一般喘息に比し高値であり、喘息初診時の末梢血好酸球数は18.8%と一般喘息群の7.7%と比較して有意に高値であった( $P < 0.01$ )。CSS発症時のCD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞数は一般喘息とは逆に低値であった。

c. 昨年度の児童での結果と同様、反復喘鳴を指標とした多変量解析では、呼気NOと一秒率が有意な指標として選択され、特に呼気NOの関与が大きかった。血清TARC値は喘息群で有意に高値を示し、血清IgE値、末梢血好酸球数、呼気NO値と有意な相関を示した。

d. 発症1年未満喘息患者の気管支粘膜生検組織におけるSmad7蛋白発現は1年以上10年未満、10年以上の患者と比し強かった。気管支喘息患者では中間値30%程度のマスト細胞がamphiregulin陽性で、早期気管支喘息の粘膜生検組織指標として有用である可能性が示唆された。

e. MLD, LAA%の呼気・吸気比が咳喘息で健常者に比し高値の傾向であったが、非喘息性慢性咳嗽群との間には差を認めなかった。

f. 昨年度示唆された喘息による睡眠の生理学的指標の悪化は、本年度症例数を増やした結果、統計的にも明らかなものであることが確認された。肺機能指標との相関をみると気流制限があると AHI の改善傾向を示す可能性があり、逆に気流制限と desaturation に負の相関があることが改めて示された。

g. アレルギー疾患患者及び健常者の末梢血から PDCs を純化し IL-4 で刺激したが、極めて低レベルの IFN- $\gamma$ しか産生されなかった。また、分子機構の解析では、IL-4 依存的 IFN- $\gamma$ 産生が PDCs に特異的であること、PDCs における IL-4 によるサイトカイン産生誘導が IFN- $\gamma$ に特異的であること、PDCs における IFN- $\gamma$ 産生誘導活性が IL-4 に特異的であること、IL-4 は、PDCs において、Stat6 依存的に Stat4 の発現を誘導し、Stat4 を発現した細胞のみが IFN- $\gamma$ 産生能を獲得することが明らかになった。

#### D. 考察およびE. 結論

後ろ向き研究については、最終目標の 1/2 強程度の解析であるが、喘息の初期症状で特徴的な傾向を伺い知ることができた。発症時の症状では、明らかに喘息と分かる喘鳴を伴った症例が存在する一方で、長期間継続する咳発作を主症状とする一群が認められた。来院時の聴診所見でも、発症初期の場合は約 3 割の症例で診察時の聴診所見に異常を認めず、一秒率も約 7 割が正常であった。この理由として、発症初期は軽症であることが多く、特に夜間に症状が増悪するため、日中の診察時には症状を捕らえられない可能性が考えられ

る。しかし、一秒率は正常でも %V50 と %V25 は明らかに低下しており、発症初期の鑑別に有用と考えられた。また、 $\beta$  刺激薬で可逆性を認めた症例が少なかったが、その理由として、発症初期では一秒率正常の症例が多く、更なる拡張がないためと考えられた。一方、発症早期でも気道過敏性亢進は 91.4%の患者で認めていた。以上より、発症初期では聴診や一秒率で有意な所見を認めないため、現行の診断目安では喘息の診断に至らない症例も多数存在するが、このような症例でも %V50 や %V25 の低下および気道過敏性亢進の存在があれば喘息と診断できる可能性が示唆された。この %V50 や %V25 が早期診断に有用である可能性は症例数を増やした井上班ならびに昨年の典型的喘息から咳喘息にまで対象を上げた三嶋班の研究からも確認された。最近注目されている Master Screen IOS による末梢気道抵抗の有用性について今後の課題である。また、棟方班の成人健康診断受診者を対象とした研究からも呼気 NO 測定の有用性が改めて示され、上述した長期間続く咳発作、%V50・%V25 低下、気道過敏性存在と組み合わせれば喘息の早期診断はかなりの確度で可能であることが示唆された。初発症状として最も頻度が高かった咳嗽を早期診断に取り込む場合には、喘息性の咳であることを示す付帯表現が必要となるが、それには足立班の咳喘息に関する研究成果を応用できるであろう。なお、小児期寛解症例の成人再発症例の取り扱いについては、平成 17 年度は小児科医に研究協力者になってもらい検討する予定である。一方、血清 TARC 値、気管支粘膜生検による Smad7 や amphiregulin 発現の有無、末梢血中 PDCs 機能の解析などは、それ自体では喘息と同定できなくとも補助的所見ないし喘息

発症の危険性を有する者の選別に有意義であることが伺われた。また、近年増加の著しい睡眠時無呼吸症候群に合併した早期喘息を発見する場合には PSG 検査が極めて有用であること、後年 CSS を発症する喘息は発症初期から一般喘息と異なる病像を示すことも明らかになった。これら 15, 16 年度で得られた成果より、平成 17 年度前半には喘息早期診断基準案を作成し、その信憑性をみるため可能な限り各施設の前向き研究用症例に当てはめてみて、変更すべき箇所は訂正して 17 年度後半には完成させ公表する予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

後ろ向き研究、前向き研究は未だ進行中であるため、平成 17 年 1 月 31 日～2 月 1 日に開催された本補助金事業の研究報告会のみでしか発表されていない。

また、分担研究者の研究発表については、各分担研究者の報告書に記載されているので、ここでは割愛する。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## アトピー型咳喘息患者における抗原吸入負荷試験の影響

分担研究者 足立 満（昭和大学医学部第一内科教授）

研究協力者 美濃口健治、小田成人、横江琢也、田中明彦、河野泰郎、美濃口秀子  
（昭和大学医学部第一内科）

気管支喘息では、咳受容体感受性は好酸球性気道炎症や気道過敏性には影響されない独立した因子であることを既に報告した。本年度は、アトピー型咳喘息患者における咳受容体感受性が、好酸球性気道炎症や気道過敏性に影響されるか否かについて検討した。9例のアトピー型咳喘息患者に抗原吸入負荷試験を施行したところ、即時型気道収縮反応が誘導され、同時に即時型咳反応が出現した。一方遅発型気道収縮反応は認められなかったが、遅発型咳反応は9例中6例に認められた。抗原吸入負荷後は誘発喀痰中の好酸球比率は増加し、ヒスタミンに対する気道過敏性は亢進したが、カプサイシンに対する咳受容体感受性には有意な変化は認められなかった。即時型気道収縮の程度と即時型咳回数および、誘発喀痰中の好酸球比率の増加と遅発型咳回数の間には有意な正の相関が認められた。以上より、アトピー型咳喘息においても、咳受容体感受性は好酸球性気道炎症や気道過敏性には影響されない独立した因子であり、気道の収縮（攣縮）と好酸球性気道炎症が咳のメカニズムとして重要であることが示唆された。

### A. 研究目的

咳は喘息患者における重要な症状の一つであり、特に喘息の前段階と考えられている咳喘息患者では唯一の自覚症状である。咳喘息における咳の発症機序を解明することは、治療面や患者の QOL の改善からも重要と考えられる。

我々はこれまでに、軽症のアトピー型気管支喘息患者を対象に、咳受容体感受性、気道過敏性、および高張食塩水吸入による誘発喀痰中の好酸球比率について、生理食塩水または抗原吸入負荷試験前後

で比較検討した。生理食塩水投与後は、上記のパラメーターのいずれも変化が認められなかったが、抗原吸入負荷試験後は喀痰中の好酸球比率が増加し、気道過敏性も亢進したが咳受容体感受性には影響が認められなかった。以上より、気管支喘息では、咳受容体感受性は好酸球性気道炎症や気道過敏性には影響されない独立した因子であることが示唆された。そこで、今回はアトピー型咳喘息患者に抗原を吸入負荷し、その前後において咳受容体感受性、気道過敏性、および高張

食塩水吸入による誘発喀痰中の好酸球比率について検討した。

## B. 研究方法

ダニ抗原に対する特異的 IgE 抗体が陽性であるアトピー型咳喘息患者 9 例（男性 3 例、女性 6 例）を対象とした。咳喘息は気道感染がなく 8 週間以上持続する咳症状が存在し、呼吸機能は正常で、気管支拡張薬により咳が改善することで診断した。吸入ステロイド薬を使用していない、咳症状の安定した時期に以下の検査を施行した。初日にカプサイシンに対する咳受容体感受性、ヒスタミンに対する気道過敏性、および高張食塩水吸入による誘発喀痰中の好酸球比率について検討した。24 時間後に生理食塩水を吸入し、8 時間後まで咳回数をカウントした。生理食塩水吸入 24 時間後に上述した検査を施行した。生理食塩水吸入 7 日後に、ハウスダストによる抗原吸入負荷試験を施行し、8 時間後まで咳回数をカウントした。さらにハウスダスト吸入 24 時間後に上述した検査を再度施行した。

## C. 研究結果

アトピー型咳喘息患者に生理食塩水を吸入させても、カプサイシンに対する咳受容体感受性、ヒスタミンに対する気道過敏性、および誘発喀痰中の好酸球比率には有意な変化は認められなかった。抗原吸入負荷試験を施行したところ、即時型気道収縮反応が誘導され、同時に即時

型咳反応が出現した。一方遅発型気道収縮反応は認められなかったが、遅発型咳反応は 9 例中 6 例に認められた。抗原吸入負荷後は誘発喀痰中の好酸球比率は増加し、ヒスタミンに対する気道過敏性は亢進したが、カプサイシンに対する咳受容体感受性には有意な変化は認められなかった。即時型気道収縮の程度と即時型咳回数および、誘発喀痰中の好酸球比率の増加と遅発型咳回数の間には有意な正の相関が認められた。

## D. 考察

喘息の急性増悪期には咳受容体感受性が亢進し、治療により改善することが報告されている。しかし、健常人と気管支喘息患者の咳受容体感受性を比較しても有意差がないことも報告されており、気道の慢性好酸球性炎症や気道過敏性と咳受容体感受性の相関については明らかではなかった。昨年度は、アトピー型気管支喘息に抗原吸入負荷試験を施行することで、好酸球性気道炎症と気道過敏性を増悪させた時点での、咳受容体感受性について検討したところ、抗原吸入後は喀痰中の好酸球数が増加し、気道過敏性も亢進したが、咳受容体感受性には変化が認められなかった。この結果から、喘息では咳受容体感受性は好酸球性気道炎症や気道過敏性には影響されない独立した因子であることが直接的に証明された。

そこで、本年度はアトピー型咳喘息患者に抗原を吸入負荷し、その前後におい

て咳受容体感受性、気道過敏性、および高張食塩水吸入による誘発喀痰中の好酸球比率について検討した。結果は、気管支喘息と同様に咳喘息においても咳受容体感受性は好酸球性気道炎症や気道過敏性には影響されない独立した因子であることが直接的に証明された。以上より、咳喘息の治療には、気道の収縮（攣収）と気道炎症の制御が有効であることが示唆された。

#### E. 結論

咳喘息では、気道の収縮（攣収）と好酸球性気道炎症が咳のメカニズムとして重要であることが示唆された。よって、咳喘息の治療には、抗炎症薬と気管支拡張薬が有効である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Yokoe T, Minoguchi K, Matsuo H, et al., Elevated levels of C-reactive protein and interleukin-6 in patients with obstructive sleep apnea are decreased by nasal

continuous positive airway pressure. *Circulation* 107, 1129-1134, 2003

2. Samson KTR, Chen FH, Miura K, et al. IgE binding to raw and boiled shrimp proteins in atopic and nonatopic patients with adverse reactions to shrimp. *Int Arch Allergy Immunol* 133, 225-232, 2004

3. Tazaki T, Minoguchi K, Yokoe T, et al. Effect of allergen rush immunotherapy on IL-12 production by peripheral blood mononuclear cells in atopic asthma. *Cell Immunol* 228, 20-26, 2004

4. Minoguchi K, Tazaki T, Yokoe T, et al. Elevated levels of TNF- $\alpha$  in patients with obstructive sleep apnea syndrome are decreased by nasal continuous positive airway pressure. *Chest* 126, 1473-1479, 2004

5. Tazaki T, Minoguchi K, Yokoe T, et al. Elevated levels and activity of matrix metalloproteinase-9 in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 170, 1354-1359, 2004

6. Matsuo H, Minoguchi K, Tanaka A, et al. Inhibitory effect of lidocaine on T cells from patients with allergic asthma. *Showa Med J* 2005 (in press)

— 肺機能検査による気管支喘息の早期診断に関する研究 —

分担研究者：井上 洋西（岩手医科大学第三内科 教授）  
研究協力者：小林 仁、山内広平（岩手医科大学第三内科）

研究要旨

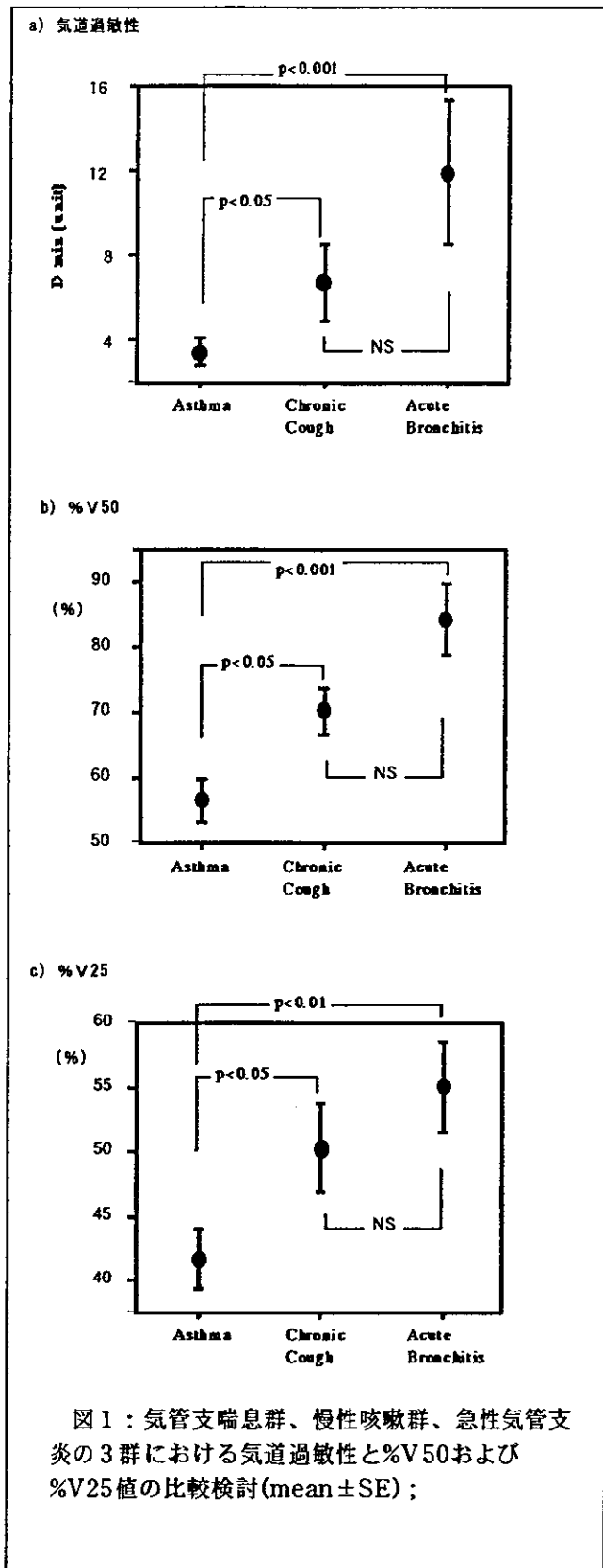
早期喘息患者の末梢気道状態の変化をみる目的で、気道過敏性、肺機能検査のV50、V25 および、末梢気道の呼吸抵抗も検討した。対象患者は咳嗽、喘鳴、呼吸困難で受診した145名（男性70名、女性75名）であった。スパイロメーターを用いて、V50とV25、さらに、V50/V25比を測定した。末梢気道抵抗は、Master Screen IOS (JAEGER社製)を用いて、測定した。肺機能における%V50は、気管支喘息患者群(n=27)：53.7±2.93(mean±SE)、慢性咳患者群(n=11)：68.2±4.1、気道感染患者群(n=13)：84.3±5.5であった。%V25はそれぞれ、気管支喘息群：41.7±2.3(mean±SE)、慢性咳患者群 50.36±3.4、気道感染患者群：55.1±3.6であった。また、V50/V25比は、それぞれ3.15±0.17、3.02±0.25、3.65±0.188であり、気管支喘息群と咳嗽群に有意差はなかった。Master Screen IOSによる末梢呼吸抵抗(R5-R20)では、有意差がみられなかったが、喘息群で高値傾向であった。

A 研究目的；

気管支喘息の治療では、慢性化や難治化や予防するうえで、早期診断による早期治療が重要とされている。しかしながら、気管支喘息の早期診断に有用な指標は未だ確立していない。昨年度、我々は気道過敏性閾値(Dmin)及び%V50、%V25などの肺機能検査値が気管支喘息の早期診断において有用であることを報告した。すなわち、早期喘息患者では、鑑別を最も要すると考えられる慢性咳嗽症候群や急性気管支炎群に比べ、末梢気道閉塞を示すこれらの値が早期から低下し、鑑別に有用であることを見いだした。今回、我々は、早期喘息患者の末梢気道の閉塞状態をみる目的で、気道過敏性、肺機能検査の%V50、%V25について症例を追加するとともに、末梢気道の呼吸抵抗も検討した。

B: 方法；

対象患者はこれまで気管支喘息の既往がなく、発作性の喘鳴や呼吸困難、または持続性咳嗽や喀痰などの症状で岩手医科大学第三内科を受診した145名（男性70名、女性75名）、年齢が16から78歳(46.9±1.57, mean±SE)であった。気道過敏性はアストグラフ法を用いてメサコリンに対するDminを測定した。肺機能はチェスト社製スパイロメーターを用いて、V50とV25、さらに、より安定な指標とされるV50/V25比を測定し検討した。今回、新たに検討した末梢気道抵抗は、Master Screen IOS (JAEGER社製)を用いて、呼吸抵抗を測定し、全呼吸抵抗(R5)と中枢気道抵抗(R20)の差を末梢気道呼吸抵抗として、喘息群および慢性咳嗽患者と急性気道炎症患者との間で比較した。

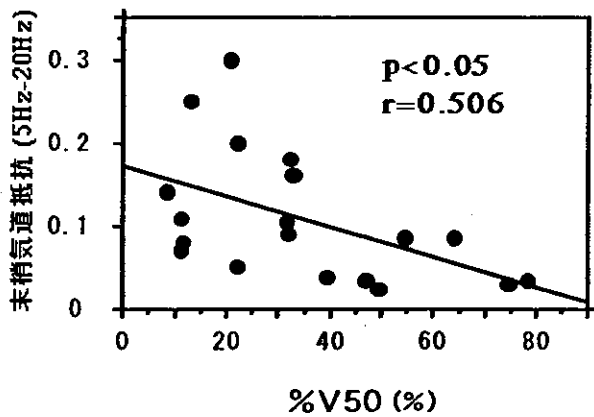


これらは、前回同様、最終的に診断し得た気管支喘息、慢性咳嗽群および急性気管支炎の3つの患者群に分けて上記の結果を比較検討した。

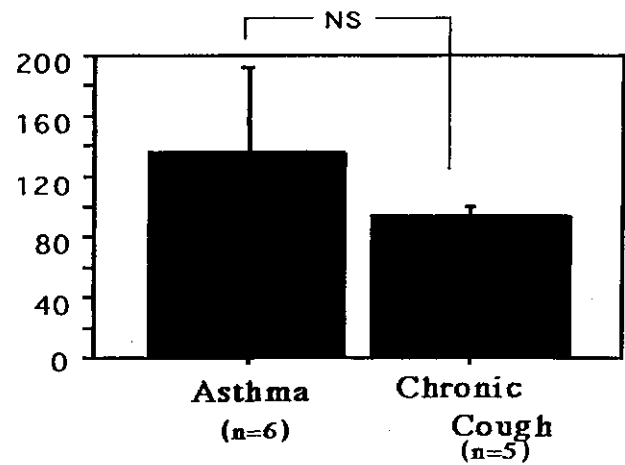
C:結果；

気道過敏性の Dmin (Unit) に関しては、気管支喘息患者群(n=81)：3.43±0.66(mean±SE)、慢性咳嗽群患者群(n=32)：6.72±1.76、および急性気管支炎患者群(n=32)：11.92±3.37であった。気管支喘息群は他の2群に比し有意に低値であった。肺機能における%V50は、気管支喘息患者群(n=27)：53.7±2.93(mean±SE)、慢性咳嗽患者群(n=11)：68.2±4.1、気道感染患者群(n=13)：84.3±5.5であった。%V25はそれぞれ、気管支喘息群：41.7±2.3(mean±SE)、慢性咳嗽患者群 50.36±3.4、気道感染患者群：55.1±3.6であった。%V50および%V25双方とも気管支喘息群は他の2群に比し有意に低値であった。また、V50/V25比は、それぞれ3.15±0.17、3.02±0.25、3.65±0.188であり、気管支喘息群と咳嗽群に有意差はなく、気管支炎群は、喘息群および咳嗽群に対して有意に高値であったが、喘息群と他の2群との鑑別は困難であった。

Master Screen IOSによる末梢呼吸抵抗(R5-R20)では、始めに、既に治療中の気管支喘息患者24名において、V50およびV25値と(R5-R20)との相関を検討したが、これらは有意の相関を示すことが判明した(p<0.05)。そこで、早期喘息患者(5名)と慢性咳嗽患者(4名)で末梢呼吸抵抗を検討した。その結果、(R5-R20)の予測値に対する比



Master Screen IOSによる末梢気道抵抗と  
V50との関連性  
(長期通院喘息患者16名)



Master Screenを用いた末梢気道抵抗値の比較  
(早期気管支喘息群と慢性咳嗽群)

図2 : Master Screen IOSによる末梢気道抵抗とV50との関連性、および  
早期喘息群と慢性咳嗽群との末梢気道抵抗

は、喘息群で  $134 \pm 128\%$ 、咳嗽患者群で  $93 \pm 12.5\%$ と、喘息群で変動が大きく、両群間  
D:考案:

本研究における早期気管支喘息患者の大部分では、気道過敏性の  $D_{min}$  および末梢気道閉塞の指標であるV50およびV25は、他の類似呼吸器疾患に比べ有意に低値であった。したがって上記の指標は、気管支喘息の早期診断に有用であると考えられる。

E:今後:

Master Screen IOSによる末梢呼吸抵抗 (R5-R20) 症例を追加し、末梢気道評価を行うとともに、肺機能検査における%V50 および%V25の値を、慢性咳嗽患者や急性気道感染患者以外、COPD、副鼻腔症候群、後鼻漏、GERD、

でも、検討する予定である。

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. L-M, piao., Ymuchi,K., L-H, Pan., Nakadate,T., Ito, H., Mouri,T., Kobayashi, H., Sawai,T., Nakanishi,T. Takigawa,m., Inoue, H.: Increased levels of CTGT mRNA expression in a murine model of allergic Airway inflammation. Allergology international. 54: 107-115
2. Nakamura, Y., Christodoulopoulos, P., Hamid, Q.: Localization of IL-4 and IL-5 mRNA by in Situ hybridization in bronchial biopsies. Methods in

Molecular Medicine. 44: 211-225 (2005)

線. 49 : 178-184 (2004)

3. Nakamura, Y., Hoshino, M.: TH2 cytokines and associated transcription factors as therapeutic targets in asthma. *Inflammation & Allergy*. 4:89-92 (2005)
4. Sakurai, S., Nishijima, T., Arihara, Z., Takahashi, K.: Plasma orexin-a levels in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrom. *Chest*. 125:1963 (2004)
5. Sakurai, S., Nishijima, T., Takahashi, S., Yamauchi, K., Arihara, Z., Takahashi, K.: Clinical significance of daytime plasma orexin-a-like immunoreactivity concentrations in plasma with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome. *Respiration*. 71:380-384 (2004)
6. Silverman, E. S., Palmer, L.J., Subramaniam, V., Hallock, A., Mathew, S., Vallone, J., Faffe, D.S., Shikanai, T., Raby, B. A., Weiss, S.T., Shore, S.A.: Transforming growth factor- $\beta$  1 promoter polymorphism C-509T is associated with asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 64:836-839 (2004)
7. Nakamura, Y., Esnault, S., Maeda, T., Kelly, E. A.B., Malter, J.S., Jarjour, N.N.: Ets-1 regulates TNF- $\alpha$ -induced matrix metalloproteinase-9 and tenascin expression in primary bronchial fibroblasts. *Journal of Immunology*. 172:1945-1952 (2004)
8. 井上洋西 : 【呼吸器疾患に対する最近の話題】 喘息予防,管理のガイドライン. *医学と薬学*. 51 : 232-244 (2004)
9. 毛利孝、宮本孝行、吉田浩子、星野健、鹿内俊樹、伊藤晴方、谷藤幸夫、小林仁、山内広平、井上洋西 : 農夫肺長期観察例の胸部 CT 所見. *臨床放射*

## 2. 学会発表

1. Tanifuji, Y., Kobayashi, H., Sato, A., Miyamoto, T., Yoshida, T., Yamauchi, K., Inoue, H.: Rapid non-genomic effects of high-dose methylpredonisolone on asthmatics with acute exacerbation. *ATS 2004 Orlando-100th International Conference*. May. Orland.
2. T, Mouri., Miyamoto, T., Yoshida, K., Hoshino, K., Suzuki, J., Ito, H., Shikanai, T., Kobayashi, H., Yamauchi, K., Inoue, H.: Abnormal chest CT findings in long-term observation of cases with acute farmer's lung. *The 9th Congress of the Asisan Pacific Society of Respiriology*. Dec. Hong Kong.
3. Piao, H.M., Yamauchi, K., Nakadate, H., Ito, H., Mouri, T., Kobayashi, H., Inoue, H., Ohtsu, H.: The role of histamine in goblet cell hyperplasia in allergic airway inflammation - analysis of knock-out mouse. *The 9th Congress of the Asisan Pacific Society of Respiriology*. Dec. Hong Kong.
4. Shikanai, T., Yamauchi, K., Mouri, T., Ito, H., Yoshida, K., Kyoda, C., Kobayashi, H., Inoue, H.: Polymorphisms in chloride channel calcium activated 1 precursor (CLCA1) gene in asthmatic population. *ATS 2004 Orlando-100th International Conference*. May. Orland.
5. Sato, A., Miyamoto, T., Yoshida, T., Tanifuji, Y., Kobayashi, H., Yamauchi, K., Inoue, H.:

Effects of proton pump inhibitor on airway hyperresponsiveness in asthmatics with gastroesophageal reflux. ATS 2004 Orlando-100th International Conference. May. Orlando.

6. Nakamura, Y., Hoshino, M., Yamauchi, K., Nakagawa, T., Inoue, H.: Increased angiotensin II and vascular endothelial growth factor expression in asthma. The 6th Asian Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology. Oct. Tokyo.
7. Piao, H.M., Yamauchi, K., Nakadate, T., Ito, H., Mouri, T., Nakamura, Y., Ohtsu, H., Inoue, H.: The role of histamine in goblet cell hyperplasia in allergic airway inflammation -Analysis on HDC knock-out mouse-. The 6th Asian Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology. Oct. Tokyo.



## Churg-Strauss syndrome (CSS)の早期診断、発症予知に関する研究

分担研究者：秋山一男（国立相模原病院臨床研究センター長）

研究協力者：釣木澤尚実、斉藤博士、富田君子、竹内保雄、粒来崇博、豊田信明、森田園子、谷口正実、大友 守、前田裕二（国立病院機構相模原病院臨床研究センター）

### 研究要旨

CSS は喘息経過中に発症する末梢血好酸球増多を伴う全身性壊死性血管炎である。CSS は多彩な血管炎症状を呈し、特に心臓、腎臓、消化管、中枢神経の血管炎を有する症例は予後不良であるため、早期診断、早期治療が重要である。CSS の病因については未だ不明であり、発症予知に関する evidence は存在しない。CSS の発症前の喘息期の臨床像については重症であること、しばし全身ステロイドを必要とすることが知られているが、詳細な臨床像については不明な点が多い。今回、我々は CSS の早期診断、発症予知を試み、早期治療、良好な臨床経過を得ることを目標として血管炎発症前の検査成績が得られた CSS24 症例について末梢血好酸球数と気道過敏性について解析し、CSS と一般の重症喘息における喘息の臨床像に差違があるのかどうかについて検討した。また CSS の炎症の主体である好酸球性炎症を制御しているのは活性化および制御性 T 細胞であり、CSS 発症時と一般喘息の差異について、さらに CSS 発症時、治療後安定期、ステロイド減量後再燃時に追跡した。結果、CSS は喘息初診時から重症であり、末梢血好酸球数は一般喘息と比較して高値であり、一般の重症喘息では重症度に応じて気道過敏性は亢進するのに対し発症前 CSS のアセチルコリン気道過敏性はむしろ軽度であった。一般喘息全体では control と比較して CD25+CD4+T 細胞数が高値であるが、CSS 発症時は CD25+CD4+T 細胞数低値であった。CD25+CD4+T 細胞数は CSS 発症時には低下、治療後安定期には増加、再燃時には低下した。以上のことから CSS 発症前の喘息臨床像は気流制限よりも好酸球性炎症をより強く反映し、CSS 発症時、治療後の経過に制御性 T 細胞が関与していることが示唆された。これらのさらなる解明が早期診断、発症予知、治療薬減量の基準の確立に寄与し、良好な臨床経過が期待されると考えられる。

### A. 研究目的

CSS の多くは気管支喘息またはアレルギー性鼻炎が先行し、その経過中に発症する末梢血好酸球増多を伴う全身性壊死性血管炎である。CSS の血管炎発症前の病態については不明な点が多い。喘息症状は CSS の 96-100%存在し、血管炎症状出現までに平均 3-8 年先行すると報告されている。CSS 発症前の喘息の重症度は重症喘息が多いといわれており、時に全身ステロイドを必要とする。かつては喘息治療の LT 拮抗薬と CSS 発症についての報告が散見されたが、多くの報告より LT 拮抗薬を投与することにより喘息症状が軽減し、経口ステロイドを減量、中止することで潜在化していた CSS の血管炎症状、好酸球増多が出現すると考えられている。CSS の喘息臨床像は重症であること以外はその詳細は未だ不明である。また最近、アレルギー疾患、

自己免疫疾患では制御性 T 細胞である CD25+CD4+ T 細胞が病態の抑制的調節を担っているといわれている。マウスの移入実験では CD25+CD4+T 細胞を移入することで自己免疫疾患の発症を抑制することが示されている。また特に遺伝性疾患である IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome) から制御性 T 細胞が証明されている。

今回、我々は CSS の早期診断、発症予知を試み、また早期診断、早期治療を目標とし CSS 発症前の喘息期の臨床像について、また CSS 発症時の T 細胞レベルの病態メカニズムを解明すべく、血管炎発症前の検査成績が得られた CSS について末梢血好酸球数と気道過敏性について解析し、CSS と一般の重症喘息における喘息の臨床像に差違があるのかどうかについて検討した。また制御性 T 細胞である CD25+CD4+ T 細胞について喘

息重症度別と CSS 症例の発症前の喘息初診時についての比較検討、また CSS の治療経過、すなわち CSS 発症時、ステロイド治療安定期、ステロイド減量再燃時を経時的に比較検討した。

## B. 研究方法

- (1) 対象：血管炎発症前（喘息期）から経過を追跡できた CSS 24 症例を対象とし、喘息群は当院外来通院中の成人喘息患者 152 名を対象とした。また健常者 23 名を正常対象群とした (control)。
- (2) 喘息の重症度分類：喘息重症度分類は GINA のガイドラインに参考に、吸入ステロイド (ICS) 使用量を BDP 換算で Step 1 (BDP < 200 $\mu$ g), Step 2 (BDP  $\geq$  200 $\mu$ g), Step 3 (BDP  $\geq$  400 $\mu$ g), Step 4 (BDP  $\geq$  800 $\mu$ g) とし、Step 1, 2 を軽症群、Step 3 を中等症群、Step 4 は ICS 群 (重症、吸入群) と経口ステロイド (OCS) 併用群 (重症、経口併用群) の 2 群に分類した。
- (3) 気道過敏性測定：アセチルコリン、ヒスタミン気道過敏性測定を標準法で行った。Ach 156  $\mu$ g/ml から 20000  $\mu$ g/ml まで 2 倍希釈系列を作成しスパイログラムを用いて FEV1 を測定し、負荷前の FEV1% が 80% 以下に低下するまでの濃度を AchPC<sub>20</sub>、HistPC<sub>20</sub>  $\mu$ g/ml として計算した。
- (4) 末梢血好酸球およびリンパ球の解析：末梢血採血より好酸球数およびリンパ球数を測定した。次に末梢血へパリン採血より、全血から顆粒球、単核球 20  $\mu$ g/10<sup>6</sup> 細胞に FITC ラベルした anti-human CD4 (BD PharMingen San Diego, CA, USA)、PE 標識の anti-human CD25 monoclonal antibody (mAb) (PharMingen) を室

温で 30 分間反応させ、Lyse buffer で赤血球を溶解、除去した。検体を 4<sup>o</sup>C で 5 分間 430 g で遠心し、洗浄し細胞を回収した後 flow cytometry (FACS) Calibur (Nippon Becton Dickinson, Akasaka, Tokyo, Japan) で解析した。

## C. 研究結果

- (1) 喘息臨床像および気道過敏性：CSS 発症前の喘息初診時の重症度は 93% が Step 4 の重症喘息であった。また一般喘息では重症度に比例して AchPC<sub>20</sub> は低下したが、発症前 CSS は AchPC<sub>20</sub> が高値でありアセチルコリン気道過敏性は軽度であった。ヒスタミン気道過敏性は喘息群、CSS 発症前群ともに有意差を認めなかった。
- (2) 末梢血好酸球数 (%)：一般喘息では重症度にかかわらず、初診時の末梢血好酸球数には有意差を認めなかったが、CSS 発症前の喘息初診時の末梢血好酸球数は 18.8% と喘息群の 7.7% と比較して有意に高値であった (P < 0.01)。
- (3) CD25+CD4+T 細胞：一般喘息全体では control と比較して CD25+CD4+T 細胞数が高値であるが、CSS 発症時は CD25+CD4+T 細胞数低値であった (P < 0.01)。
- (4) CSS 治療経過：CSS 発症時には CD25+CD4+T 細胞数低値であるのに対し、治療後安定期には CD25+CD4+T 細胞数増加した。また再燃時には CD25+CD4+T 細胞数低下した。

## D. 考察

CSS の血管炎発症前の喘息期の状態については重症喘息が多く、全身ステロイドを必要とする症例も少ない。しかし一般の重症喘息では重症度に応じて気道過敏性は亢進するのに対し発症前の CSS のアセチル

コリン気道過敏性はむしろ軽度であり、また喘息初診時の末梢血好酸球数は一般喘息と比較してより高値であることから、CSS の喘息の特徴は気流制限の強さより好酸球性炎症が主体であることが考えられる。CSS の好酸球性炎症は喘息期よりすでに潜在化している可能性も示唆される。このことから CSS の喘息臨床像は CSS と独立して存在するのではなく、むしろ血管炎の一症状である可能性も考えられた。また最近の制御性 T 細胞に関する研究はマウスの移入実験や遺伝性疾患である IPEX からも証明されており、自己免疫性疾患やアレルギー性疾患においてもその役割が解明されつつある。CSS についての報告はまだ存在しないが、今回の結果から疾患の発症、鎮静化、増悪のメカニズムに制御性 T 細胞が重要な役割を担っていることは十分に想像されることである。以上のことから、喘息初診時の臨床像、すなわちアセチルコリン気道過敏性や末梢血好酸球、また活性化 T 細胞、制御性 T 細胞の解明が進むことにより、CSS の発症予知、早期診断、治療効果、治療薬減量の基準が確立できる可能性があると考えられる。

#### E・結論

CSS は重症喘息が多いが、喘息初診時より末梢血好酸球数が多く、アセチルコリン気道過敏性は一般の重症喘息と比較して軽度であり喘息が血管炎の一病態である可能性を示唆する。CSS の病態は好酸球性炎症を主体としているがそれを制御しているのは活性化 T 細胞である。病状安定期 CSS では制御性 T 細胞である CD25+CD4+ T 細胞が増加している。CD25+CD4+ T 細胞の増減を追跡することで CSS の免疫学的病態の詳細な把握が可能となり、ステロイド、免疫抑制剤の減量を試みることでより安全にできると考えられる。さらに CSS の病因はいまだ不明であるが CD25+CD4+ T 細胞の免疫学的作用の解明が病因解明に寄与すると考えられる。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1・論文発表

1・Naomi Tsurikisawa, Masami Taniguchi, Hiroshi Saito, Hideo Himeno, Akihiko Ishibashi, Shunsuke Suzuki, Kazuo Akiyama: Treatment of Churg-Strauss syndrome with high-dose intravenous immunoglobulin. *Annals Allergy Asthma Immunol*, 92: 80-87, 2004

##### 2・学会発表

1・Effect and limited response of treatment of Churg-Strauss syndrome with high-dose intravenous immunoglobulin. Naomi Tsurikisawa, Akihiko Ishibashi, Hiroshi Saito, Sonoko Morita, Takahiro Tsuburai, Akiyoshi Nishiyama, Masami Taniguchi, Yoriko Shimotsu, Kazuo Akiyama. *Am J Resp Crit Care Med* 169: A575, 2004.5

2・Churg-Strauss syndrome の末梢神経障害に対する MIBG シンチの意義 釣木澤尚実、石橋章彦、堀口順子、粒来崇博、西山晃好、豊田信明、森田園子、谷口正実、秋山一男  
*アレルギー*、53: 131, 2004

3・Treatment of Churg-Strauss syndrome with high-dose intravenous immunoglobulin. Naomi Tsurikisawa, Masami Taniguchi, Hiroshi Saito, Sonoko Morita, Takahiro Tsuburai, Kazuo Akiyama

*The 6<sup>th</sup> Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology*

4. 喘息経過中に発症する好酸球性肺炎 (EP) と Churg-Strauss syndrome (CSS) 発症のメカニズムに関する検討

釣木澤尚実、斉藤博士、富田君子、粒来崇博、豊田信明、森田園子、谷口正実、秋山一男  
*アレルギー*、53: 893, 2004

5. Churg-Strauss syndrome (CSS)に対する IVIG(intravenous immunoglobulins)療法

釣木澤尚実、谷口正実、斉藤博士、富田君子、粒来崇博、豊田信明、森田園子、秋山一男

アレルギー、53: 818, 2004