

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

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岩本逸夫

(国保旭中央病院アレルギー・リウマチセンター)

平成18年(2006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 1-6  
岩本逸夫

### 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 7-8  
福田 健
2. NSAIDs 過敏喘息の気道過敏性、アスピリン感受性に及ぼす副鼻腔病変  
の影響 9-12  
谷口正実
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 13-15  
岡本美孝
4. マルチスライスCTを用いたヒト気道解析の研究 16-19  
田村 弦
5. アレルギー性気道炎症の新たな制御機構の解明 20-22  
岩本逸夫

### 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 24-122

## 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（国保旭中央病院アレルギー・リウマチセンター センター長）

### 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、加々美新一郎、広瀬晃一、渡邊紀彦、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）、須田祐司（東北大学医学部附属病院感染症・呼吸器内科）、堀口茂俊、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）、留守卓也（千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉・頭頸部外科）、工藤典代（千葉県こども病院耳鼻咽喉科）、秋山一男、東憲孝、押方智也子、小野恵美子、竹内保雄、粒来崇博、釣木澤尚実、大友守、森晶夫、前田裕二、長谷川眞紀、伊藤伊津子、三田晴久（国立相模原病院臨床研究センター）石井豊太、山本一博（国立相模原病院耳鼻科）

### 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) 気管支喘息の早期病態と考えられる咳喘息(CVA)では、ロイコトリエン受容体拮抗薬は呼気NO濃度を低下させず、吸入ステロイドにより呼気NO濃度が低下した。CVAの気道過敏性の発症にはアレルギー性気道炎症が深く関与し、呼気NO濃度の測定は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) アスピリン喘息(AIA)の気道過敏性、アスピリン感受性には、鼻茸好酸球形副鼻腔炎(NPES)によるCys-LTs過剰産生が大きく関与していることを明らかにした。さらにNPES手術後に、多くの症例でアスピリン感受性が改善し、気道過敏性と喘息症状が改善することから、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) 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、上気道の粘膜リンパ組織である扁桃は、アレルゲン特異的Th2細胞の活性化に重要で、アレルギー性鼻炎の病態形成のみならず、気管支喘息の下気道過敏性の発症にも重要な役割を演じていると考えられる。
- 4) 気道リモデリングによる過敏性発症機構を明らかにするため、3次元CT装置を用い、ヒトの同一気道を連続的かつ自動的に評価する方法を確立した。これにより、肺局所における気道系の形態や機能、とくに末梢気道の力学的状態を解析する技術の開発に繋がると考える。
- 5) アレルギー性気道炎症の新たな制御機構について、IL-25はアレルギー性気道炎症の局所で産生され、その発現はTh2細胞依存的にアレルギー性気道炎症を増強していることが明らかにされた。これらの結果は、IL-25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) 気管支喘息の気道過敏性の発症機構と早期診断に関する研究 (福田)

気管支喘息の気道過敏性の発症機構と早期診断を目的として、気管支喘息の早期病態と考えられる咳喘息(cough variant asthma; CVA)を対象として、気道炎症のマーカーとして呼気 NO 濃度の推移、咳症状の再燃、その後の気管支喘息への移行の有無を検討した。

CVA13 例に対し初期治療としてロイコトリエン受容体拮抗薬(LTRA)montelukast が使用された。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、LTRA 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、呼気 NO 濃度は治療前後で有意な低下は認めなかった。これらの症例を2群に分け、LTRA 群は montelukast をそのまま継続し、吸入ステロイド(ICS)群は montelukast に替えて fluticasone 400 µg/日吸入を行った。その後の経時的呼気 NO 測定において LTRA 群では、呼気 NO 濃度の低下が見られなかったが、ICS 群では有意な減少が認められた。症状の再燃や喘息への移行の有無については現在経過観察中である。

以上より、CVA では LTRA は咳嗽の症状改善には有効であったものの、呼気 NO 濃度低下は認めず、呼気 NO 濃度低下については ICS が必要であった。呼気 NO 濃度の測定は、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) アスピリン喘息の気道過敏性、アスピリン感受性に及ぼす上気道アレルギーの解析 (谷口)

アスピリン喘息(AIA)の最も特徴的病態として、鼻茸を伴う好酸球性副鼻腔炎(NPES)がある。ほとんどのAIAがNPESを合併し約70%で尿中LTE4高値を呈するが、AIAの気道過敏性との関連は不明である。そこで今回は、NPESがAIAの気道過敏性、喘息症状、アスピリン感受性にいかなる影響を与えるかを検討した。さらにアスピリン感受性の持続性についても検討した。

AIAのNPES手術後に、尿中LTE4値は、全例で1/2以下となり、多くの例で正常化した。さらに驚くべきことに、手術後のアスピリン閾値負荷試験では、肺機能は低下せず、尿中LTE4の上昇も著しく抑制された。また気道過敏性(AchPC20)や、術後6ヶ月間の喘息症状も有意に改善した。さらにアスピリン全身負荷試験においてAIAと確定診断された51症例に、数年後再度、負荷試験を行い、アスピリン感受性の変化を検討した。平均4年後に2度目のアスピリン全身負荷試験を行ったところ、9%の症例でアスピリン最大負荷でも肺機能が低下しなかった。しかし、同時に測定した尿中LTE4は増加していた。それらアスピリン感受性消失例においては、日常の喘息症状はきわめて安定しており、LTD4気管支吸入試験でのCys-LTs感受性低下が確認された。

今回の検討で、AIAでのCys-LTs過剰産生に副鼻腔のアレルギー性炎症であるNPESが大きく関与していることが判明した。さらにNPES手術後に、多くの症例でアスピリン感受性が改善し、気道過敏性と喘息症状が改善することから、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過敏症の背景にある免疫基盤の解明を目的として、鼻粘膜の免疫担当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、喘息小児の扁桃摘出後の喘息症状について調査、検討を行った。

その結果、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜上皮固有層には CD3 陽性 T 細胞の集簇がみられ、その中に CD25 陽性 T 細胞も多数検出されたが、非アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜にも同様に認められた。鼻腔洗浄液中には可溶性 CD25 抗原が血液中と比較して高濃度に検出されたが、正常者、アレルギー性鼻炎患者、非アレルギー性鼻炎患者で差は認められなかった。アレルギー性鼻炎を合併する小児では扁桃中に末梢血に比較して数十～数百倍の程度でダニやスギ花粉に対する特異的 IL-4, IL-5 産生 T 細胞が認められた。さらに扁桃摘出を受け、6 ヶ月～18 ヶ月経過した喘息小児 32 名では喘息症状の 1 年以内の改善が 80%、不変 10%、悪化 10%であった。

以上から、上気道の粘膜リンパ組織である扁桃は、アレルギー特異的 Th2 細胞の活性化に重要で、アレルギー性鼻炎の病態形成のみならず、気管支喘息の下気道過敏性の発症にも重要な役割を演じていると考えられる。

#### 4) 気道モデリングによる過敏性発症機構の解明のための 3 次元 CT を用いたヒト気道の解析 (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。前年度の研究により、新たに開発した 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。

そこで本研究では、3 次元 CT 撮影による気道の 3 次元構造のボクセルデータから気道のトポロジーを認識し、その情報を元のボクセルデータに還元し、注目した世代の気道の形態情報を容易に取り出す方法を提案する。今年度の研

究で、3 次元 CT 撮影によって得られた連続スライス画像から、自動的に気道を追跡し、その形態を計測するプログラムを作成した。その結果、連続的な気道のトポロジーの抽出は、気道壁を判定する画素の閾値の設定等に左右されるが、おおむね第 5～8 世代の気道までを自動的に抽出することができた。これは、直径が 2～3 mm の気道に相当する。これに要した実質的な計算時間は 30 分程度で、パラメタの設定を含めても 1 時間以内の作業により、連続した気道の形態情報を得ることができた。上葉の第 3～6 世代の連続した気道において、気管支拡張剤の投薬前後における気道の直径の変化を計測した結果、いずれの世代においても気道の直径が増加していることが確認できた。

本研究により、3 次元 CT 装置を用いて、同一気道を連続的かつ自動的に評価する方法を確立できた。これにより、肺局所における気道系の形態や機能、とくに末梢気道の力学的状態を解析する技術の開発に繋がると考える。

#### 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。アレルギー性気道炎症は、Th2 細胞により産生される種々のサイトカインの作用により惹起されるが、その詳細は依然不明である。近年、新たな Th2 細胞性サイトカインとして IL-25 が単離された。IL-25 は、未だ同定されていない非 T 非 B 細胞に作用し、IL-4, IL-5, IL-13 など Th2 サイトカインの産生を誘導する非常にユニークなサイトカインである。本研究では、アレルギー性気道炎症の新たな制御機構の解明を目的に、アレルギー性気道炎症における IL-25 の役割を解析した。

a) マウス喘息モデルにおける IL-25 の役割の解明：感作した野生型マウスでは抗原吸入 8 時間後をピークとする気道での IL-25 mRNA の発現が認められた。可溶性 IL-25 受容体の前投与は、抗原吸入による好酸球と CD4 陽性 T 細胞の気道浸潤を有意に抑制した。

b) 肺特異的 IL-25 発現マウスの作製とアレルギー性気道炎症の解析：rat CC10 promoter の制御下

で肺特異的に IL-25 を発現するトランスジェニックマウス (CC10 IL-25 マウス) を作製した。CC10 IL-25 マウスでは、肺特異的な IL-25 の発現が認められたが、抗原非吸入の CC10 IL-25 マウスでは、気道炎症は認められなかった。感作した CC10 IL-25 マウスに抗原を吸入投与すると好酸球と CD4 陽性 T 細胞の気道浸潤、及び気道での Th2 サイトカインの産生が野生型マウスに比して増強された。抗 CD4 抗体の投与は、CC10 IL-25 マウスにおいても抗原吸入による気道好酸球浸潤を強く抑制した。CC10 IL-25 Stat6 欠損マウスでは、Stat6 欠損マウスと同様にアレルギー性気道炎症がほとんど認められなかった。

本年度の研究により、IL-25 はアレルギー性気道炎症の局所で産生され、その発現は Th2 細胞依存的にアレルギー性気道炎症を増強していることが明らかにされた。

#### 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) 気管支喘息の早期病態と考えられる咳喘息 (CVA) では、ロイコトリエン受容体拮抗薬は咳嗽の症状改善には有効であったが、呼気 NO 濃度低下は認めず、吸入ステロイドにより呼気 NO 濃度が低下した。CVA の気道過敏性の発症にはアレルギー性気道炎症が深く関与し、呼気 NO 濃度の測定は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) アスピリン喘息 (AIA) の気道過敏性、アスピリン感受性について、AIA での Cys-LTs 過剰産生に副鼻腔のアレルギー性炎症である鼻茸好酸

球性副鼻腔炎 (NPES) が大きく関与していることが判明した。さらに NPES 手術後に、多くの症例でアスピリン感受性が改善し、気道過敏性と喘息症状が改善することから、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) 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、上気道の粘膜リンパ組織である扁桃は、アレルゲン特異的 Th2 細胞の活性化に重要で、アレルギー性鼻炎の病態形成のみならず、気管支喘息の下気道過敏性の発症にも重要な役割を演じていると考えられる。

4) 気道リモデリングによる過敏性発症機構を明らかにするため、3次元 CT 装置を用い、ヒトの同一気道を連続的かつ自動的に評価する方法を確立した。これにより、肺局所における気道系の形態や機能、とくに末梢気道の力学的状態を解析する技術の開発に繋がると考える。

5) アレルギー性気道炎症の新たな制御機構について、IL-25 はアレルギー性気道炎症の局所で産生され、その発現は Th2 細胞依存的にアレルギー性気道炎症を増強していることが明らかにされた。これらの結果は、IL-25 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) A. Higashi, N. Higashi, T. Tsuburai, Y. Takeuchi, M. Taniguchi, H. Mita, A. Saito, K. Takatori, K. Arimura, K. Akiyama: Involvement of eicosanoids and surfactant protein D in extrinsic allergic alveolitis. *Eur Respir J.* 2005; 26: 1069-1073.

2) M. Akahoshi, K. Obara, T. Hirota, A. Matsuda, K. Hasegawa, N. Takahashi, M. Shimizu, K. Nakashima, L. Cheng, M. Taniguchi, et al.: Functional promoter polymorphism in the TBX21 gene associated with aspirin-induced asthma *Hum Genet.* 2005; 117: 16-26.

3) Okamoto Y, Matsuzaki Z, Matsuoka T, Endo S, Yamamoto H, Chazono H, Horiguchi S, Hanazawa T. Influence of viral infection on the development of nasal hypersensitivity. **Clin Exp Allergy**. 2005;35:679-684.

4) G. Tamura, Y. Suda. Airway Dilatation after Inhalation of short-acting  $\beta$ -agonist. **N Engl J Med**. 2005; 352: e14.

5) Maezawa Y, Nakajima H, Suzuki K, Tamachi T, Ikeda K, Inoue J-i, Saito Y, Iwamoto I. Involvement of TNF receptor-associated factor (TRAF) 6 in IL-25 receptor signaling. **J. Immunol**. 176:1013-1018, 2006.

6) Suto A, Nakajima H, Tokumasa N, Takatori H, Kagami S-i, Suzuki K, Iwamoto I. Murine plasmacytoid dendritic cells produce IFN-g upon IL-4 stimulation and inhibit Th2 cell differentiation. **J. Immunol**. 175:5681-5689, 2005.

7) 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**. 137:45-50, 2005.

8) Nakajima H, Takatori 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.

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) 谷口正実. アスピリン(NSAID)不耐症の病態と治療 日内会誌 95 : 148-157, 2006.

11) 國井直樹、留守卓也. 上気道感染とアレルギー性鼻炎. 医学のあゆみ 216: 401-405, 2006.

12) 留守卓也、堀口茂俊. 上気道感染からみた下気道のアレルギーについて. **Topics in Atopy** 4: 9-13, 2005.

## 2. 学会発表

1) 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.

2) Taniguchi M, Higashi N, Higashi A, Mita H, Akiyama K. The patients with adult asthma with cyteinyl-leukotriene overproduction (hyperleukotrienuria) European asthma network meeting 2005.7.2 Cracow, Poland.

3) Taniguchi M, Higashi N, Takeuchi Y, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Ohtomo M, Maeda Y, Mita H, Toyota I, Akiyama K. Change in clinical features of patients with aspirin-intolerant asthma induced by inhaled corticosteroid American Thoracic Society International Meeting 2005.5.24 San Diego, USA.

4) Taniguchi M, Higashi N, Takeuchi Y, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Ohtomo M, Maeda Y, Hasegawa M, Mita H, Toyota I, Akiyama K. Are all asthma patients with a history of attack symptoms that aggravated after administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs aspirin-intolerant? International Academy of Allergology and Clinical Immunology 2005.6.28 Munich, Germany.

5) Taniguchi M, Higashi N, Takeuchi Y, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Ohtomo M, Maeda Y, Hasegawa M, Mita H, Toyota I, Akiyama K. Suppression of aggravation of seasonal rhinitis in chronic asthma patients on Pranlukast. International Academy of Allergology and Clinical Immunology 2005.6.28 Munich, Germany.

6) Tamachi T, Nakajima H, Maezawa Y, Ikeda K, Hatano M, Tokuhisa T, Yasushi Saito Y, Iwamoto I. Role of IL-25 in allergic airway inflammation in mice. World Allergy Organization Conference 2005.

7) Takatori H, Nakajima H, Hirose K, Kagami S-i, Tamachi T, Suto A, Suzuki K, Iwamoto I. Stat5a plays an indispensable role in

Stat6-independent Th2 cell differentiation and allergic airway inflammation. World Allergy Organization Conference 2005.

8) Tamachi T, Kagami S-i, Maezawa Y, Hatano M, Tokuhisa T, Iwamoto I, Nakajima H. Enforced expression of IL-25 enhances allergic airway inflammation in mice. International Cytokine Society Conference 2005.

9) 石井芳樹、岡崎和美、長島かお里、朝倉琢磨、福田健。慢性咳嗽の鑑別診断における呼気NO測定の有用性とモンテルカストの治療効果。

Airway Club in Sendai. 仙台市、2005. 9.

10) 石井芳樹、岡崎和美、朝倉琢磨、福田健。慢性咳嗽の鑑別診断における呼気NO測定の有用性とモンテルカストの治療効果。第2回呼吸器バイオマーカー研究会。東京、2006. 3.

11) 谷口正実：教育講演 アスピリン不耐症の病態 第46回日本アスピリン喘息研究会 2005. 2. 26 名古屋。

12) 谷口正実：教育講演 NSAIDs 不耐症の病態 臨床アレルギー研究会 2005. 4. 9 大阪。

13) 谷口正実：非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) 過敏症 — 難治性副鼻腔炎と喘息 — 1. メカニズムと診断基準 第32回耳鼻咽喉科アレルギー懇話会 2005. 6. 2 岡山。

14) 谷口正実、山本一博、石井豊太、竹内保雄、三田晴久、秋山一男：教育セミナー10 副鼻腔炎と気管支喘息 第17回日本アレルギー学会春季臨床大会 2005. 6. 4 岡山。

15) 谷口正実：シンポジウム 重症喘息の内視鏡所見 第28回日本呼吸器内視鏡学会総会 2005. 6. 10 東京。

16) 谷口正実：シンポジウム 3 NSAIDs とアトピー喘息と NSAIDs — アスピリン喘息の病態解明はどこまで進んだか — 第35回日本皮膚アレルギー学会総会 2005. 7. 16 神奈川。

17) 谷口正実：喘息の病態と治療からみた世代的 (年齢的) 特徴 IV 成人 / 成人喘息 3. アスピリン喘息など 第25回六甲カンファレンス 2005. 8. 6 京都。

18) 谷口正実、竹内保雄、森晶夫、押方智也子、小野恵美子、粒来崇博、釣木澤尚実、大友守、前田裕二、長谷川眞紀、秋山一男：シンポジウム 5 高齢者喘息の特徴と対策 1. 高齢者喘息

の特徴 第55回日本アレルギー学会総会 2005. 10. 20 盛岡。

19) 谷口正実、竹内保雄、齋藤明美、安枝浩、秋山一男：シンポジウム 8 呼吸器アレルギー疾患の早期検出方法 4. アレルギー性気管支肺アスペルギルス症をいかに早期診断するか 第55回日本アレルギー学会総会 2005. 10. 21 盛岡。

20) 谷口正実：シンポジウム One airway, one disease としての気管支喘息と鼻アレルギー One airway, one disease の視点から見たアスピリン過敏症 The 13th Symposium of Asthma in Tokyo 2005. 12. 10 東京。

21) 谷口正実、三田晴久、東憲孝、東愛、石井豊太、山本一博、伊藤伊津子、竹内保雄、粒来崇博、豊田信明、他：アスピリン喘息において活性化される炎症細胞 — 自験成績と文献報告からの考察 — 第17回日本アレルギー学会春季臨床大会 2005. 6. 2 岡山。

22) 谷口正実、三田晴久、東憲孝、秋山一男：アスピリン喘息における活性化細胞 第26回日本炎症・再生医学会 2005. 7. 13 東京。

23) 渡辺淳子、谷口正実、中村陽一、岡田千春、下田照文、阿蘇真理、伊木宏、秋山一男：健康保険組合の外来レセプトを用いた喘息医療の実態調査平成11年度と15年度の比較 第55回日本アレルギー学会総会 2005. 10. 21 盛岡。

24) 谷口正実、東憲孝、山本一博、石井豊太、押方智也子、小野恵美子、粒来崇博、大友守、前田祐二、伊藤伊津子、三田晴久、秋山一男：アスピリン喘息患者の副鼻腔炎、中耳炎増悪時の尿中ロイコトリエン E4 第55回日本アレルギー学会総会 2005. 10. 22 盛岡。

25) 留守卓也、堀口茂俊、工藤典代、岡本美孝。扁桃摘出が気道アレルギーに及ぼす影響について。第18回日本口腔・咽頭学会。2005年9月、旭川。

26) 須田祐司、田村弦。3次元CTを用いた連続横断面法による気道解析法。第14回 Airway Club in Sendai 研究会 (仙台) 2005年9月。

## 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

### II) cough variant asthma 治療管理マーカーとしての呼気 NO 測定の有用性

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：**気管支喘息の早期病態とも考えられる咳喘息(cough variant asthma; CVA)では、気管支拡張薬で咳嗽症状は改善するものの、吸入ステロイド(ICS)を使用して気道炎症を抑制しないと約3割が気管支喘息に移行するといわれる。subclinical な気道炎症のマーカーとして呼気 NO 測定が有用であるか、さらに呼気 NO 値に基づいた治療の選択が臨床的に有用であるか否かを検討した。CVA13 例に対し初期治療としてロイコトリエン受容体拮抗薬(LTRA) montelukast が使用された。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、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、呼気 NO 値は治療前後で有意な低下は認めなかった ( $98.3 \pm 46.9$  ppb vs  $104.5 \pm 67.9$  ppb)。これらの症例を 2 群に分け、LTRA 群は montelukast をそのまま継続し、ICS 群は LTRA に替えて fluticasone 400  $\mu$ g/日吸入を行った。その後の経時的呼気 NO 測定において LTRA 群では、呼気 NO 値の低下が見られなかったが、ICS 群では有意な減少が認められた ( $127.0 \pm 100.0$  ppb vs.  $63.2 \pm 55.3$  ppb,  $p < 0.01$ )。症状の悪化や喘息への移行についてはさらに時間をおいた経過観察が必要である。最近、呼気 NO をマーカーとした喘息管理の有用性が報告されつつある。CVA においても気道リモデリングが認められるという報告や CVA に対して ICS を使用しないと 30%が喘息へ移行するという報告を考慮すると、症状が消失しても呼気 NO 値を低値に維持するような ICS を用いた継続治療が必要であるかもしれない。

#### A. 研究目的

気管支喘息においては、発作の出現が間歇的で明らかな症状がない時期でも気道の好酸球炎症が存在し、潜在的に気道リモデリングなどの病態が進行し、難治化、重症化につながる危険性がある。このように症状の改善だけを目的とするのではなく、subclinical な気道炎症をモニターして、それに応じた治療を行うことが重要であると考えられる。気管支喘息の早期病態とも考えられる咳喘息(cough variant asthma; CVA)では、気管支拡張薬で咳嗽症状は改善するものの、吸入ステロイドを使用して気道炎症を抑制しないと約3割が気管支喘息に移行するといわれる。subclinical な気道炎症のマーカーとして呼気 NO 測定が有用であるか、さらに呼気 NO 値に基づいた治療の選択が臨床的に有用であるか否かを検討した。すでに前年度の研究で、CVA の診断に呼気 NO 測定が有用である

こと、CVA の咳症状改善にロイコトリエン受容体拮抗薬 montelukast が有用であること、また、その裏付けとして CVA 症例において呼気凝縮液中のシステニルロイコトリエンが増加していることを確認しており、今年度は CVA 症例を対象に montelukast 単独使用群と montelukast に加え吸入ステロイドを使用した群にわけて、呼気 NO の推移と咳症状の再燃やその後の気管支喘息への移行の有無を検討した。

#### 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症例のうちアセチルコリン吸入による気道過敏性試験(標準法)によって  $PC_{20} < 10$  mg/ml で陽性であり CVA と診断された 13 例を対象とした。呼気 NO は、Severs 社の analyzer を用いて ATS の recommendation に従って測定した。

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

CVAが13例に対し初期治療としてロイコトリエン受容体拮抗薬のmontelukastが使用された。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、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、呼気NO値は治療前後で有意な低下は認めなかった(98.3±46.9 ppb vs 104.5±67.9 ppb)。これらの症例を2群に分け、LTRA群はLTRAをそのまま継続し、ICS群はLTRAに替えてfluticasone 400 μg/日吸入を行った。その後の経時的呼気NO測定においてLTRA群では、呼気NO値の低下が見られなかったが、ICS群では有意な減少(127.0±100.0 ppb vs. 63.2±55.3ppb, p<0.01)が認められた。症状の再燃や喘息への移行の有無については現在経過観察中である。

### D/E. 考察/結論

前年度、CVAでは、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ることを報告した。今回の検討では、montelukastは咳嗽の症状改善には有効であったものの呼気NO濃度低下作用は認めず、呼気NO濃度低下についてはICSが必要であった。呼気NOの生理的あるいは病態における役割は十分に解明されていないが、気道炎症のマーカーという観点から見るとmontelukastでは気道炎症の十分な抑制は得られないのかもしれない。症状の悪化や喘息への移行についてはさらに時間をおいた経過観察が必要である。最近、呼気NOをマーカーとした喘息管理の有用性が報告されつつある。CVAにおいても気道リモデリングが認められるという報告やCVAに対してICSを使用しないと30%が喘息へ移行するという報告を考慮すると、症状が消失しても呼気NO値を低値に維持するようなICSを用いた継続治療が必要である可能性が示唆された。

### G. 研究発表

#### 2. 学会発表

- 1) 石井芳樹、岡崎和美、長島かお里、朝倉琢磨、福田 健:慢性咳嗽の鑑別診断における呼気NO測定の有用性とモンテルカストの治療効果. Airway Club in Sendai. 仙台市、2005. 9.
- 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) 石井芳樹、岡崎和美、朝倉琢磨、福田 健:慢性咳嗽の鑑別診断における呼気NO測定の有用性とモンテルカストの治療効果. 第2回呼吸器バイオマーカー研究会. 東京、2006. 3.

# NSAIDs 過敏喘息の気道過敏性、アスピリン感受性に及ぼす副鼻腔病変の影響

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、三田晴久(国立病院機構 相模原病院 臨床研究センター)、押方智也子、小野恵美子、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、山本一博(国立病院機構 相模原病院 耳鼻科)

**研究要旨** : NSAIDs 過敏喘息 (=アスピリン喘息) のほとんどが好酸球性副鼻腔炎を合併することが知られていたが、その意義は長らく不明であった。本研究では、好酸球性副鼻腔炎の内視鏡下手術により、尿中ロイコトリエン E4 の排出量が著明に低下し、喘息発作の減少と気道過敏性の改善をもたらすことをまず明らかにした。さらに、鼻茸副鼻腔組織がアスピリン感受性をも調節している可能性を初めて示した。

アスピリン感受性は、一生つづくと言われていたが、今回の研究で、約 20% の症例で、アスピリン全身負荷に対する気管支反応が経過中に消失し、10% の症例では、アスピリンに対する気管支と鼻症状 (すべて) が消失することが判明した。この機序として、気道局所の Cys-LTs 感受性の低下が推察された。

## A. 研究目的

アスピリン不耐症 (=NSAIDs 過敏) は後天的過敏体質で、成人喘息の約 10% をしめるが、いまだその機序は不明である。アスピリン喘息 (AIA) の最も特徴的病態として、鼻茸を伴う好酸球性副鼻腔炎 (NPES) がある。ほとんどの AIA が NPES を合併するが、両者の関連は不明な点が多い。すでにわれわれは、NPES の手術により、生体内のシステニルロイコトリエン (Cys-LTs) 産生の指標である尿中 LTE4 (U-LTE4) が激減することを見出した (JACI, 2004)。そのため、今回は AIA の副鼻腔炎手術が、気道過敏性 (Ach) や、喘息症状、アスピリン感受性にいかなる影響を与えるかを検討した (研究 1)。さらにアスピリン感受性は一生続くとされている (GINA, ガイドライン 2003) が、その真偽は不明なため、その永続性についても検討した (研究 2)。

## B. 方法

1) AIA の NPES 手術前後で、U-LTE4、Ach 気道過敏性、喘息症状、アスピリン負荷症状を評価し、検討した。  
2) アスピリン全身負荷試験において AIA と確定診断された 59 症例 (方法 1 とは別の対象) に、数年後再度、負荷試験をおこない、アスピリン感受性の変化を検討した。  
尿中ロイコトリエン E4 は、既報の方法、すなわち午前中尿を採取し、測定時まで -20°C で保

存した。HPLC で分離の後、EIA (カイマン社) で Cys-LTs 産生の指標として尿中 LTE4 (U-LTE4) を測定した。

(倫理面への配慮) : 全ての研究は、患者に研究内容の十分な説明をし、その同意を得た後に行った。また、尿検体はコード番号化し、患者を特定できないように、個人情報保護に十分配慮した。

## C. 結果

1) AIA の NPES 術後に、U-LTE4 値は、全例で 1/2 以下となり、多くの例で正常化した (図 1)。また PC-20 (Ach) や、術後 6 ヶ月間の喘息発作受診回数も有意に改善した (図 2)。さらに驚くべきことに、手術後のアスピリン閾値負荷試験では、肺機能は低下せず、U-LTE4 の上昇も著しく抑制された (図 3)。  
2) アスピリン喘息と確定診断した数年後 (平均 4 年) に 2 度目のアスピリン全身負荷試験をおこなったところ、20% の症例でアスピリン最大負荷でも肺機能が低下しなかった (図 4)。またその半数の症例で、鼻症状は残るものの気管支症状は消失していた。しかしながら、同時に測定した U-LTE4 は消失例全例で増加していた (図 5)。それらアスピリン感受性消失例においては、日常の喘息症状はきわめて安定しており、LTD4 気管支吸入試験での Cys-LTs 感受性低下が確認された (図 6)。

## D. 考察

1) AIAにおけるNPESは、Cys-LTsの重要な産生源であるばかりでなく、アスピリン感受性を調節する重要な臓器である可能性が示唆された。さらにNPESの手術を行うと、喘息症状や下気道過敏性は有意に改善したことから、好酸球性副鼻腔炎症は、喘息症状の悪化やアスピリン感受性に密接に関連しており、その機序として、上気道から過剰産生されるCys-LTsが影響している可能性が推察された。

2) 従来アスピリン不耐症は一生続くと考えられていたが(GINAガイドライン2003)、今回気道症状のみ10%、完全消失10%を認め、一部の症例では、NSAIDs感受性は経過中に消失することが初めて判明した。その機序として、Cys-LTs過剰産生体質は残存し、非特異的気道過敏性も低下例が多いことから、気道過敏性改善と、下気道のLT感受性低下がその消失機序として推定された。

## E. 結論

NSAIDs過敏喘息における上気道病変は、Cys-LTs過剰産生に関与するだけでなく、喘息症状悪化やアスピリン感受性亢進に影響していることが明らかとなった。また、NSAIDs過敏性は一部の例で消失し、その機序として、Cys-LTs過剰産生体質は残存するものの、Cys-LTsに対する気道感受性低下による可能性が示唆された。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) A. Higashi, N. Higashi, T. Tsuburai, Y. Takeuchi, M. Taniguchi, H. Mita, A. Saito, K. Takatori, K. Arimura, K. Akiyama: Involvement of eicosanoids and surfactant protein D in extrinsic allergic alveolitis *Eur Respir J* 2005; 26: 1069-1073
- 2) M. Akahoshi, K. Obara, T. Hirota, A. Matsuda, K. Hasegawa, N. Takahashi, M. Shimizu, K. Nakashima, L. Cheng, S. Doi, H. Fujiwara, A. Miyatake, K. Fujita, N. Higashi, M. Taniguchi, T. Enomoto, Xiao-Quan Mao, H. Nakashima, C. N. Adra, Y. Nakamura, M. Tamari, T. Shirakawa: Functional promoter polymorphism in the TBX21 gene associated with aspirin-induced asthma *Hum Genet.* 2005 Jun;117(1):16-26.
- 3) 竹内保雄, 谷口正実, 秋山一男: 3. 高齢者喘息の特徴と治療の問題点 *日本老年医学会雑誌* 第42巻第1号: 31-33, 2005
- 4) 谷口正実, 東憲孝, 石井豊太, 山本一博, 都

- 川知之, 河岸由紀男, 三田晴久, 秋山一男, 栗原里佳: アスピリン喘息の病態—副鼻腔炎の関与— *日本鼻科学会誌* Vol. 44 No. 1: 70-72, 2005
- 5) 谷口正実, 東憲孝, 秋山一男: アスピリン喘息の症例 *治療学* vol. 39 no. 1 2005. 1: 105-108, 2005
  - 6) 谷口正実: アスピリン喘息 *UpDate Progress in Medicine* Vol. 25 No. 3 2005. 3: 919-926, 2005
  - 7) 谷口正実, 東憲孝, 竹内保雄, 秋山一男: アスピリン喘息と運動誘発喘息 *CURRENT THERAPY* Vol. 23 No. 4 2005. 4: 41-45, 2005
  - 8) 谷口正実: シミュレーション内科リウマチ・アレルギー疾患を探る *疾患* 28 中年に発症した喘息患者が歯科処置後の薬を服用後呼吸困難!? (編著: 山本一彦) pp188-193, 永井書店 2005
  - 9) 谷口正実, 竹内保雄, 粒来崇博, 西山晃好, 豊田信明, 釣木澤尚実, 森田園子, 大友守, 前田裕二, 森晶夫, 長谷川真紀, 秋山一男: 副反応で治療が困難な喘息の症例とその対応 *喘息* Vol. 18 No. 2 2005-4: 56-63, 2005
  - 10) 谷口正実: アスピリン喘息の特徴的臨床症状と病態 *日本耳鼻咽喉科学会専門医通信* 第83号 2005年(平成17年)5月: 8-9, 2005
  - 11) 谷口正実: 特集「喘息治療のいま」Q&A 痛み止めを飲んではいけいと言われました。どうしてですか? 「Q&Aでわかるアレルギー疾患」 *Vol. 1 No. 1(通巻1号): 79-81, 2005*
  - 12) 谷口正実, 東憲孝, 竹内保雄, 秋山一男: 特集 気管支喘息診療のコツ *アスピリン喘息診療のコツ 呼吸器科*, 8(2): 107-111, 2005
  - 13) 谷口正実, 押方智也子, 小野恵美子, 東憲孝, 竹内保雄, 渡辺淳子, 粒来崇博, 釣木澤尚実, 大友守, 前田裕二, 森晶夫, 長谷川真紀, 秋山一男: 解説 臨床 喘息治療における落とし穴 *呼吸* 24巻11号: 915-919, 2005
  - 14) 谷口正実: アスピリン過敏症(NSAID不耐症)における解熱鎮痛薬の使い方 *Topics in Atopy* Vol. 4 no. 2 June: 48-49, 2005
  - 15) 谷口正実, 東憲孝, 東愛, 三田晴久, 秋山一男: アスピリン(NSAID)喘息の診断と治療 *Mebio* Vol. 22 No. 9 September: 43-49, 2005
  - 16) 竹内保雄, 谷口正実, 秋山一男: アレルギー性気管支肺アスペルギルス症(ABPA) 副腎皮質ステロイド薬 臨床に直結する呼吸器疾患治療のエビデンス (編集 長瀬隆英, 他): pp51-52, 2005 文光堂
  - 17) 谷口正実, 東憲孝, 岸田由紀男, 三田晴久, 秋山一男: アスピリン(NSAID)喘息の病態と診断治療—最近の話題— *アレルギー科*, 20(2): 186-191, 2005
  - 18) 谷口正実, 東憲孝, 三田晴久, 東愛, 斉藤博

士, 森晶夫, 秋山一男: 特集 アレルギー疾患の病態形成における好酸球性炎症の意義 アスピリン喘息の病態と好酸球 アレルギー科, 20(4): 297-304, 2005

19) 谷口正実: アスピリン(NSAID)不耐症の病態と治療 日内会誌 95: 148-157, 2006

## 2. 学会発表

1) Taniguchi M, Higashi N, Higashi A, Mita H, Akiyama K: The patients with adult asthma with cyteinyll-leukotriene overproduction (hyperleukotrienuria) *European asthma network meeting 2005. 7. 2 Cracow, Poland*

2) Taniguchi M, Higashi N, Takeuchi Y, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Ohtomo M, Maeda Y, Mita H, Toyota I, Akiyama K: Change in clinical features of patients with aspirin-intolerant asthma induced by inhaled corticosteroid *American Thoracic Society (ATS) International Meeting 2005. 5. 24 San Diego, USA*

3) Taniguchi M, Higashi N, Takeuchi Y, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Ohtomo M, Maeda Y, Hasegawa M, Mita H, Toyota I, Akiyama K: Are all asthma patients with a history of attack symptoms that aggravated after administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs aspirin-intolerant? *International Academy of Allergology and Clinical Immunology, European Academy of Allergology and Clinical Immunology 2005. 6. 28 Munich, Germany*

4) Taniguchi M, Higashi N, Takeuchi Y, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Ohtomo M, Maeda Y, Hasegawa M, Mita H, Toyota I, Akiyama K: Suppression of aggravation of seasonal rhinitis in chronic asthma patients on Pranlukast. *International Academy of Allergology and Clinical Immunology, European Academy of Allergology and Clinical Immunology 2005. 6. 28 Munich, Germany*

5) 谷口正実: 教育講演 アスピリン不耐症の病態 第46回日本アスピリン喘息研究会 2005. 2. 26 名古屋

6) 谷口正実: 教育講演 NSAID s 不耐症の病態臨床アレルギー研究会 2005. 4. 9 大阪

7) 谷口正実: 非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)過敏症 -難治性副鼻腔炎と喘息- 1. メカニズムと診断基準 第32回耳鼻咽喉科アレルギー懇話会 2005. 6. 2 岡山

8) 谷口正実, 山本一博, 石井豊太, 竹内保雄, 三田晴久, 秋山一男: 教育セミナー10 副鼻腔炎と気管支喘息 第17回日本アレルギー学会春季臨床大会 2005. 6. 4 岡山

9) 谷口正実: シンポジウム 重症喘息の内視鏡所見 第28回日本呼吸器内視鏡学会総会

2005. 6. 10 東京

10) 谷口正実: シンポジウム3 NSAIDsとアトピー喘息と NSAIDs -アスピリン喘息の病態解明はどこまで進んだか- 第35回日本皮膚アレルギー学会総会 第30回日本接触皮膚炎学会合同学術大会 2005. 7. 16 神奈川

11) 谷口正実: 喘息の病態と治療からみた世代的(年齢的)特徴 IV成人/成人喘息 3. アスピリン喘息など 第25回六甲カンファレンス 2005. 8. 6 京都

12) 谷口正実, 竹内保雄, 森晶夫, 押方智也子, 小野恵美子, 粒来崇博, 釣木澤尚実, 大友守, 前田裕二, 長谷川眞紀, 秋山一男: シンポジウム5 高齢者喘息の特徴と対策 1. 高齢者喘息の特徴 第55回日本アレルギー学会総会 2005. 10. 20 盛岡

13) 谷口正実, 竹内保雄, 齋藤明美, 安枝浩, 秋山一男: シンポジウム8 呼吸器アレルギー疾患の早期検出方法 4. アレルギー性気管支肺アスペルギルス症をいかに早期診断するか 第55回日本アレルギー学会総会 2005. 10. 21 盛岡

14) 谷口正実: シンポジウム One airway, one disease としての気管支喘息と鼻アレルギーOne airway, one disease の視点から見たアスピリン過敏症 *The 13th Symposium of Asthma in Tokyo 2005. 12. 10 東京*

15) 谷口正実, 三田晴久, 東憲孝, 東愛, 石井豊太, 山本一博, 伊藤伊津子, 竹内保雄, 粒来崇博, 豊田信明, 釣木澤尚実, 森田園子, 大友守, 前田祐二, 森晶夫, 長谷川眞紀, 齋藤博士, 秋山一男: アスピリン喘息において活性化される炎症細胞 -自験成績と文献報告からの考察- 第17回日本アレルギー学会春季臨床大会 2005. 6. 2 岡山

16) 谷口正実, 三田晴久, 東憲孝, 秋山一男: アスピリン喘息における活性化細胞 第26回日本炎症・再生医学会 2005. 7. 13 東京

17) 渡辺淳子, 谷口正実, 中村陽一, 岡田千春, 下田照文, 阿蘇真理, 伊木宏, 秋山一男: 健康保険組合の外来レセプトを用いた喘息医療の実態調査平成11年度と15年度の比較 第55回日本アレルギー学会総会 2005. 10. 21 盛岡

18) 谷口正実, 東憲孝, 山本一博, 石井豊太, 押方智也子, 小野恵美子, 粒来崇博, 大友守, 前田祐二, 伊藤伊津子, 三田晴久, 秋山一男: アスピリン喘息患者の副鼻腔炎, 中耳炎増悪時の尿中ロイコトリエンE4 第55回日本アレルギー学会総会 2005. 10. 22 盛岡

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1: 副鼻腔手術前後の尿中ロイコトリエンE4  
(JACI 2004;113:227からさらにデータを追加)

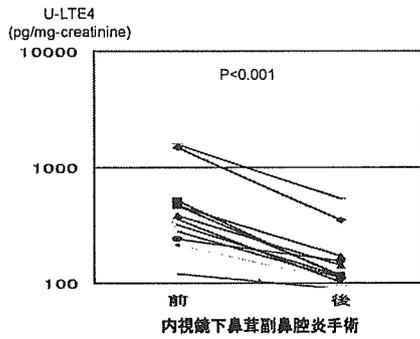


図2: 副鼻腔手術前後の発作受診回数と気道過敏性

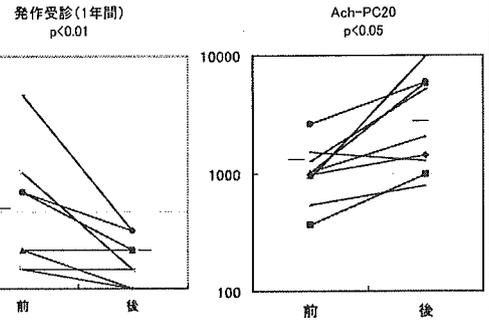


図3: 鼻茸手術前後のアスピリン負荷試験による肺機能低下と尿中LTE4上昇

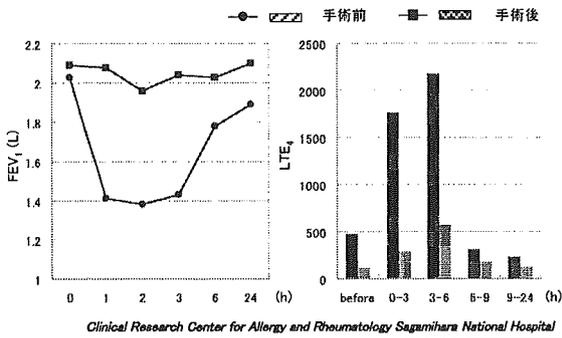


図4: アスピリン過敏性の再確認結果

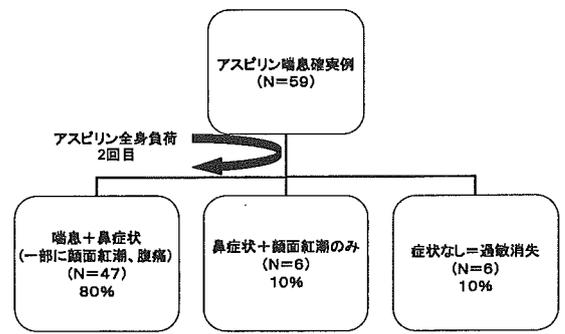


図5: アスピリン過敏消失の機序  
過敏性は消失しても、LT産生亢進体質は残存

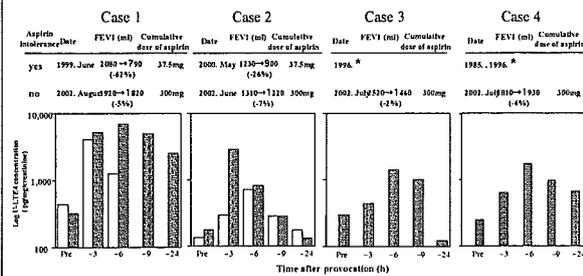
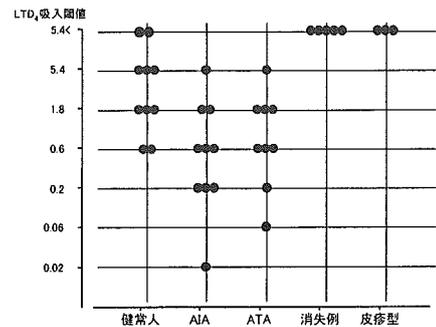


図6: NSAID過敏消失例におけるLTD4気管支吸入閾値



## 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 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学 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

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

工藤 典代 千葉県こども病院耳鼻咽喉科 科長

### 研究要旨

アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜上皮下固有層には CD23 陽性 T 細胞の集簇がみられ、活性化マーカーである CD25 陽性 T 細胞が免疫染色にて多数検出された。可溶性 CD25 抗原 (S-CD25) を用いた解析では、血清中には検出されなかったが、アレルギー性鼻炎患者鼻腔洗浄液中には高い濃度で検出された。しかし、鼻炎の重症度と S-CD25 濃度とには、ECP のような関連は認められなかった。他方、上気道の代表的粘膜リンパ組織で鼻腔に隣接する扁桃を、肥大を主な主訴として摘出術を受けた小児喘息患児では、術後 1 年以内に約 80% の患児で喘息症状の改善がみられた。

### A. 研究目的

上気道と下気道のアレルギー疾患は、互いに合併する率が高いばかりでなく、合併している場合に症状の程度にも関連が見られること、合併していない場合でも、例えばアレルギー性鼻炎は将来喘息の発症の危険因子になるといった指摘から one airway, one disease といった概念が提唱されている。しかし、上気道と下気道には発生学的、解剖学的に違いがあり、また、アレルギー疾患の病態も同じではない。昨年に引き続き、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜でみられる鼻粘膜過敏症の背景にある免疫基盤の解明を目的として鼻粘膜の免疫担当細胞の検討を試みた。また、鼻粘膜に隣接する扁桃は気道の代表的粘膜リンパ組織であるが、昨年度の検討でインフルエンザウイルス特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) が末梢血リンパ球に比べて多数存在し、かつ一方で、末梢血にはみられないインフルエンザウイルス特異的 IL-10 産生 T 細胞が多数存在することも明らかになった。扁桃では感染に対抗する防禦免疫と過度の反応の制御作用とが存在することが考えられた。上気道感染は喘息発作の最大の誘因としてよく知られている。扁桃は、特に小児で過度な肥大や反復性感染を示す場合、摘出されることが少なくない。喘息合併児の扁桃摘出後の喘息の影響について調査、検討も行った。

### B. 方法

(1) 鼻粘膜切除を受けた患者のうち、同意が得られた

患者の切除前の鼻腔洗浄液、鼻粘膜、および血液検体を使用した。鼻粘膜組織は、抗 CD3、抗 CD25 抗体を用いた免疫染色を行った。また、鼻腔洗浄液は回収し、その中に含まれる可溶性 CD25 抗原 (S-CD25) 及び eosinophilic cationic protein (ECP) を ELISA 法により測定した。末梢血の S-CD25 抗原についても同様に測定した。

(2) 鼻粘膜組織中の NKT 細胞活性を測定するための RT-PCR 法の開発を行った。

(3) 2003～2004 年に千葉県こども病院で扁桃摘出を行った小児 104 名にアンケート調査を行い、扁桃摘出後から現在までの喘息症状、発熱回数、かぜ罹患回数、保育園や学校の欠席回数、いびきの状態の変化について調査を行った。

(4) 扁桃中のスギ、ダニ特異ペプチドに対する特異的 IL-4、IL-5 産生 T 細胞を ELISPOT 法により解析した。

(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) アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜上皮下固有層には CD3 陽性 T 細胞の集簇がみられ、その中に CD25 陽性 T 細胞も検出されたが、非アレルギー性の肥厚

性鼻炎患者では少数であった。アレルギー性鼻炎患者のみではなく、非アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜にも同様に認められた。血清中には S-CD25 は検出されなかったが、アレルギー性鼻炎患者の鼻腔洗浄液中には S-CD25 抗原が検出され、非アレルギー性鼻炎患者に比べ高値であった。しかし、アレルギー性鼻炎の重症度と濃度には関連は認められなかった。一方、鼻腔洗浄液中には種々の濃度に ECP が検出され、アレルギー性鼻炎の重症度と濃度に関連が見られた。

(2) 鼻粘膜組織中の NKT 細胞は少数であるためかフローサイトメトリーでの解析は困難であった為 RT-PCR 法を活用した解析法を確立した。

(3) 扁桃摘出を行い、6 ヶ月～18 ヶ月経過した 104 名の小児のうち 72 名でアンケートに対する回答が得られた。発熱回数の減少、いびきの改善、かぜ罹患数の改善、学校、保育園の欠席数減少が 70%以上の小児で認められた。喘息症状については喘息合併 32 名中改善が 80%、不変 10%、悪化 10%であった。

(4) アレルギー性鼻炎を合併する小児では扁桃中に末梢血に比較して数十～数百倍の程度でダニやスギ花粉に対する特異的 IL-4、IL-5 産生 T 細胞が認められた。

#### D. 考察

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鼻粘膜と比較して CD4 陽性 T 細胞のうち、Th2 細胞の増加が認められ、CD25 陽性の活性化 T 細胞も増加していた。鼻腔洗浄液を用いた S-CD25 抗原を指標とした定量的解析でも、非アレルギー性鼻炎患者と比較して高値を呈していた。アレルギー性鼻炎患者では鼻粘膜局所で T 細胞の活性化が生じている。また、近年 NKT 細胞の喘息への関与が注目されているが、鼻粘膜組織中には数が少なく、フリーサイトメトリーによる解析は困難であったため、RT-PCR 法を確立し、現在本法を用いた検討を進めており、アレルギー性鼻炎における作用について明らかにしていきたい。一方、鼻腔に隣接し、上気道の代表的粘膜リンパ組織である扁桃の機能は不明な点が多いが、扁桃にはインフルエンザウイルス特異的 CTL やダニやスギといったアレルゲンに対して特異的 Th2 細胞が末梢血に比較すると非常に高い割合で認められ、感染やアレルギー炎症に深く関わっ

ていると考えられる。今回の検討で扁桃摘出を受けた小児喘息患者の 80%という非常に高い割合で 1 年以内に喘息発作回数の減少がみられていた。詳細な機序について検討を進める必要がある。同じく、60～80%の割合で発熱回数の減少、かぜ罹患の減少、学校、保育園欠席の改善など上気道感染の減少がみられており、扁桃摘出による上気道感染の減少が喘息症状の改善に作用していると考えられる。一方、いびき改善も高率に認められており、鼻呼吸改善が喘息症状の改善に影響している可能性もあり、今後さらに検討を進めたい。

#### E. 結論

アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜には、非アレルギー性肥厚性鼻炎患者と比較して多数の活性化 T 細胞が認められるが、S-CD25 の濃度測定からは臨床的重症度に ECP のような直接的関連は明らかではなかった。一方、扁桃では上気道の感染やアレルギー炎症に深く関与している可能性があるが、扁桃摘出を受けた喘息患児では高率に喘息症状の改善もみられ、この一因に上気道感染罹患の現状が挙げられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Okamoto Y, Matsuzaki Z, Matsuoka T, Endo S, Yamamoto H, Chazono H, Horiguchi S, Hanazawa T. Influence of viral infection on the development of nasal hypersensitivity. Clin Exp Allergy. 2005; 35: 679-684.
- 國井直樹, 留守卓也. 上気道感染とアレルギー性鼻炎. 医学のあゆみ 216: 401-405, 2006.
- 留守卓也, 堀口茂俊. 上気道感染からみた下気道のアレルギーについて. Topics in Atopy 4: 9-13, 2005.

##### 2. 学会発表

- 留守卓也, 堀口茂俊, 工藤典代, 岡本美孝. 扁桃摘出が気道アレルギーに及ぼす影響について. 第 18 回日本口腔・咽頭学会 (2005 年 9 月, 旭川)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 鼻アレルギー粘膜には  
活性化T細胞が認められる

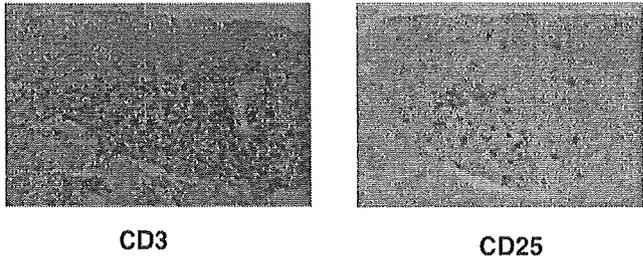


図2 重症度と鼻汁中可溶性CD25には相関関係がない

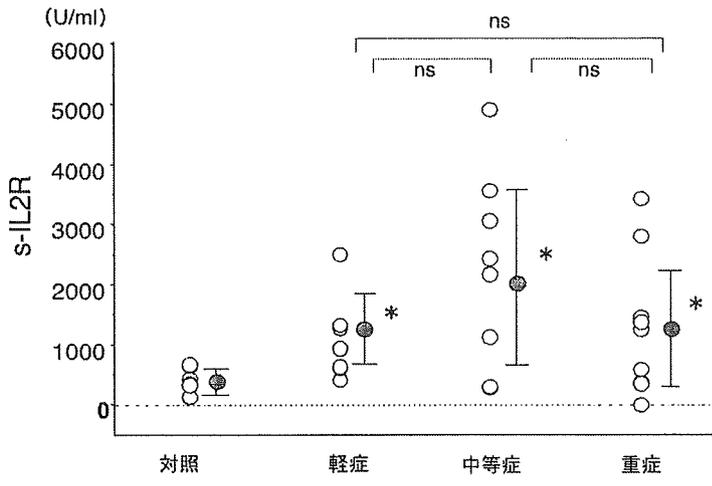
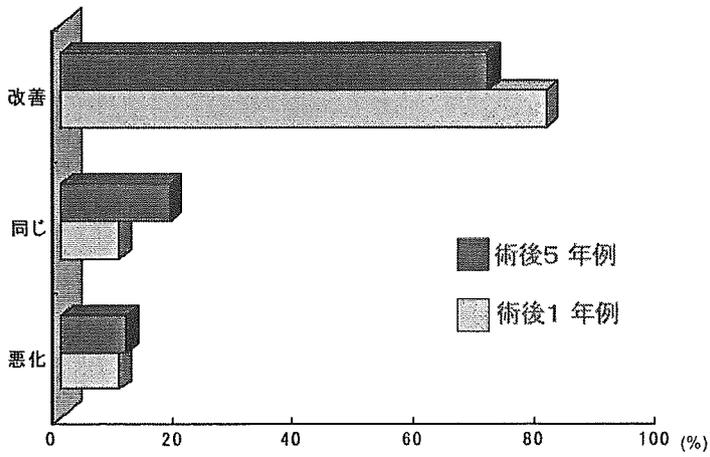


図3 扁桃摘出後の喘息症状の変化



# マルチスライス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：**近年開発されたマルチスライスX線CT装置によって、肺・気道の3次元構造が、ボクセルデータとして取得できるようになってきたが、複雑な分岐構造を有する気道の3次元解析は達成されていない。そこで、本研究では、気道のボクセルデータから気道のトポロジーを認識し、その情報を元のボクセルデータに還元し、気道の形態情報を容易に取り出す方法を検討した。その結果、連続的な気道のトポロジーの抽出は、気道壁を判定する画素の閾値の設定等に左右されるが、おおむね5～8世代の気道までを自動的に抽出することができた。これは、直径が2～3mmの気道に相当する。これに要した実質的な計算時間は30分程度で、パラメータの設定を含めても1時間以内の作業により、連続した気道の形態情報を得ることができた。上葉の第3～6世代の連続した気道において、気管支拡張剤の投薬前後における気道の直径の変化を計測した結果、いずれの世代においても気道の直径が増加していることが確認できた。本研究により、3次元CT装置を用いて、同一気道を連続的かつ自動的に評価する方法を確立できた。

## A. 研究目的

近年開発されたマルチスライスX線CT装置を用いれば、肺気道の3次元構造が、ボクセルデータとして取得できるようになってきた。しかし、分岐構造を有する気道形態の複雑さから、注目している気道が第何世代の気道なのかは、気道の3次元画像から目視によって判断されているのが現状である。臨床においては、投薬前後や、呼吸時と吸気時等において、同一患者で対応する世代の気道の直径や長さの変化などを比較する必要があるが、自動化されていないその作業は極めて煩雑で、マルチスライスCTによる計測データが十分に生かされていない。そこで、本研究では、気道のボクセルデータから気道のトポロジーを認識し、その情報を元のボクセルデータに還元し、注目した世代の気道の形態情報を容易に取り出す方法を提案する。

## B. 方法

### 1. 対象

被験者は37歳女性である。この被験者の2次元CTスライス画像の1枚をFig.1に示す。実際にはこの2次元画像が垂直方向に166枚得られる。Fig.1において白い管に囲まれた灰色の部分が気道である。尚、このデータは縦512×横512ピクセルであり、解像度は5ピクセル/mmである。

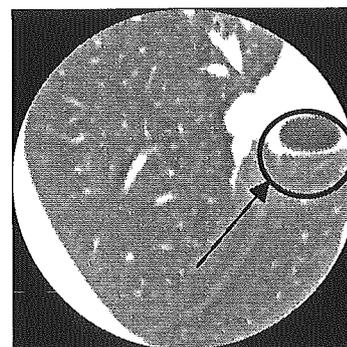


Fig.1 CTスライス画像における気道（矢印）

### 2. 解析アルゴリズム

#### (1) 気道の抽出

気管は、Fig.1に示すような2次元の画像が複数枚重なって3次元的に表される。太い気管内部を開始点とし、上下の画像で気道の断面積が大きく変化しないように画像のグレースケールの閾値を変化させ気道を抽出した。その結果得られた気管支拡張剤投与前の気道外形を次のページのFig.2に示す。また、本研究ではFig.2中の破線で囲まれた領域の細気管支に着目した。気管支拡張剤投与後の気道についても、同様の気道部位について調べた。

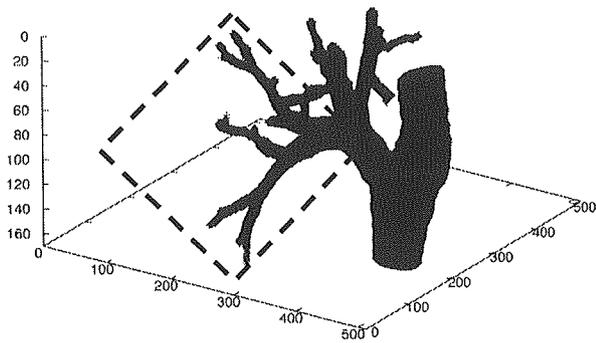


Fig.2 抽出した気道外形と着目した部位

(2) 細線化

気道の分岐点や端点を求めるため Fig.2 の気道を 1 ボクセル幅の中心線で表す。また、それぞれのセルは隣接するセルと面で接することとする。そのアルゴリズムを以下に示す。また 2 次元の例として、Fig.3-1 のようなモデルを考える。

a) 輪郭セルの決定

対象としたモデルにおいて、境界と面で接するボクセルを輪郭セルとする。(Fig.3-2)

b) 輪郭セルの判定

まず、それぞれの輪郭セルを中心とした  $3 \times 3 \times 3$  の立方体を考える。次に、中心セルを消したときに立方体中の対象が分断される場合、そのセルは削除されないものとする。そのセルを Fig.3-3 中に黒色で示す。

c) 輪郭セルの削除

(b) で残った輪郭セルについて、削除可能なセルは逐次消去しながら、同様の作業を行う。

(a)~(c) を、モデルの対象点が無くなるまで繰り返し行う。その結果、(b) でマーキングしたセルをつなぐように中心線を求めることができる。

(Fig.3-4)

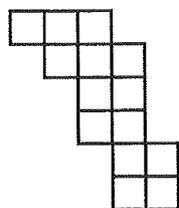


Fig.3-1  
細線化モデル例

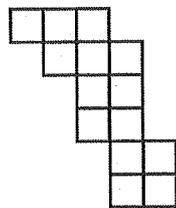


Fig.3-2  
輪郭セルの決定 (灰色)

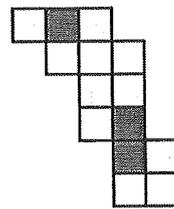


Fig.3-3  
輪郭セルの判定

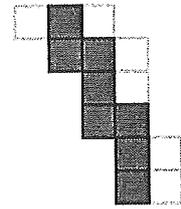


Fig.3-4  
抽出した中心線

(3) 分岐点・端点の決定

細線化した後、あるボクセルに面で接する隣接点数を求め、隣接点が 1 のとき端点、隣接点が 3 以上のとき分岐点とする。それぞれ、Fig.4-1, Fig.4-2 に黒色で示す。



Fig.4-1 端点

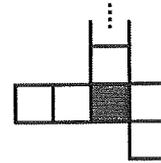


Fig.4-2 分岐点

(4) ID 番号の割り付け

開始点より順に、各気道に ID 番号をつける。分岐点または端点までを同じ ID 番号とし、分岐して新たに生じた娘管は、別の ID 番号とする。

(5) 合流点の削除

細線化する際、一度分岐したあと再び合流するような線が生じることがある(Fig.5-1)。このような場合は、合流点に隣接するセルのうち ID 番号の小さい方を削除する(Fig.5-2)。

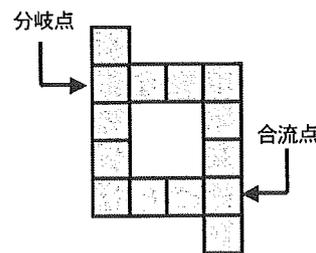


Fig.5-1 合流点の生じる例

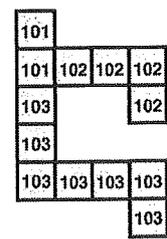


Fig.5-2:合流点の削除

(6) 余分な枝の削除

分岐点と気道世代の端点のある枝において、枝の長さがある閾値未満の枝を削除する。

(7) 体積の導出

(2)~(5)を行い, Fig.6-1 中に灰色で示すような, それぞれに ID 番号のついた細線化した気道が得られる. 次に, 細線化した気道の隣接点に気道と同一の ID 番号を割り付ける. この作業を気道の領域が埋まるまで繰り返し行い, ID 番号のついたセルの個数をその気道の体積とする.

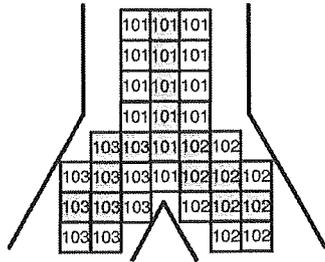


Fig.6-1 体積の導出方

(8) 気道半径の導出

気道を真っ直ぐな円柱とみなし, 以上のように得られた端点・分岐点の座標から気道長を求め, その気道長と体積より気道半径を求める.

C. 結果

気管支拡張薬投与前後において細線化した中心線を Fig.7 に示す. 次に, その気道樹よりそれぞれの世代の気道半径を求めた. 世代別に分けた気道外形を Fig.8 に示す. 着目した部位において, 青, 水, 緑, 黄, 橙, 赤の順に第 0~5 世代である.

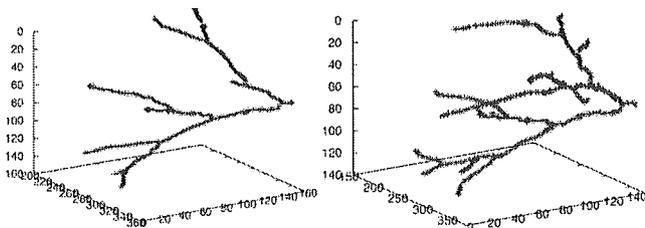


Fig.7 細線化した中心線  
投薬前 (左) および投薬後 (右)



Fig.8 投薬前 (左) および投薬後 (右) の世代別の気道外形

次に, 世代ごとの管半径を Table 1-1, Table 1-2 に示す. 単位は 1 ボクセル長(0.2mm)である.

Table 1-1 投薬前の平均気道半径

世代番号	平均気道半径	標準偏差
3	6.93	0.67
4	4.09	0.38
5	3.11	0.67
6	2.73	1.15

Table 1-2 投薬後の平均気道半径

世代番号	平均気道半径	標準偏差
3	8.51	1.60
4	4.22	1.70
5	4.85	1.19
6	3.12	1.08
7	2.88	0.34

気管支拡張薬投与前後で気道を比較すると, 投与後の方が広範囲に渡ってより下の世代の気道まで求められた. これは気道が広げられたためであり, Table 1-1, Table 1-2 から管半径が大きくなったことが確かめられた.

D. 考察

本研究により, 3次元CT装置を用いて, 同一気道を連続的かつ自動的に評価する方法を確立できた. その結果, これまで Weibel らが解剖学的な研究で示してきたヒト気道の分岐と内径の関係が, 生体内においてどのようになっているのかを世界で初めて観察することが可能となる. さらに,