

井)

3) 鈴木僚子、荒川浩一他：正常ヒト肺線維芽細胞における Eotaxin 発現に対するデキサメサゾンの影響とその分子メカニズムの検討（第2報）、第55回日本アレルギー学会 2005.11（盛岡）

4) Arakawa-H, Suzuki-T et al. Dexamethasone exhibits dual response to expression and production of eotaxin in the lung fibroblast. Eur Respir S 2005.9 (Copenhagen)

論文発表

1) 村松礼子、荒川浩一、小児アトピー性皮膚

炎、アレルギー科、20:142-147, 2005.

2) 荒川浩一、森川昭廣、乳幼児喘息と学童喘息の病態、およびその差異、アレルギー科、19:106-112, 2005

G. 知的財産権の出願・登録状況

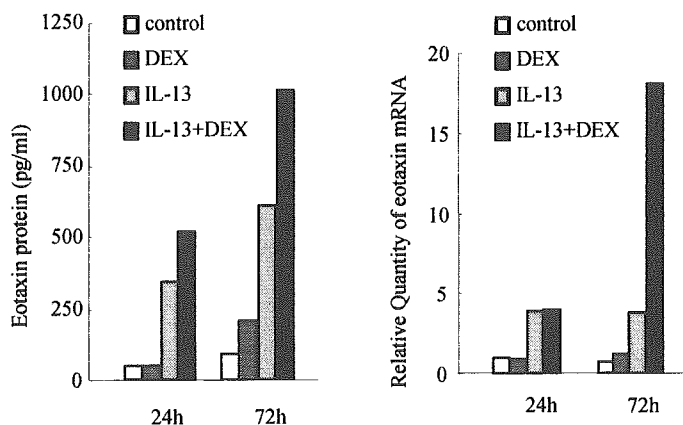
1、特許取得

特になし

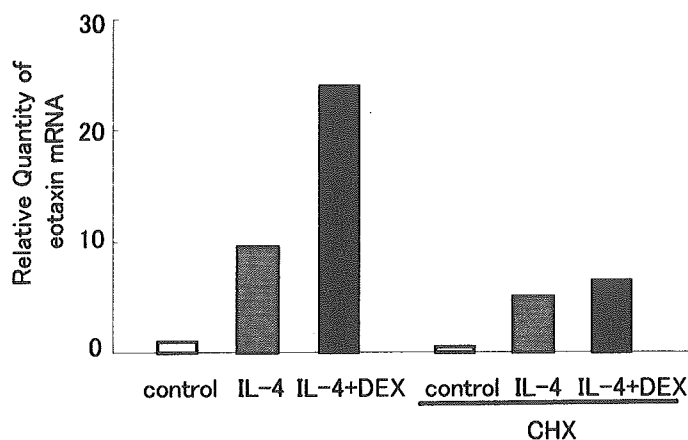
2、実用新案登録

特になし

Effect of dexamethasone and IL-13 on production of eotaxin protein and mRNA in the NHLF



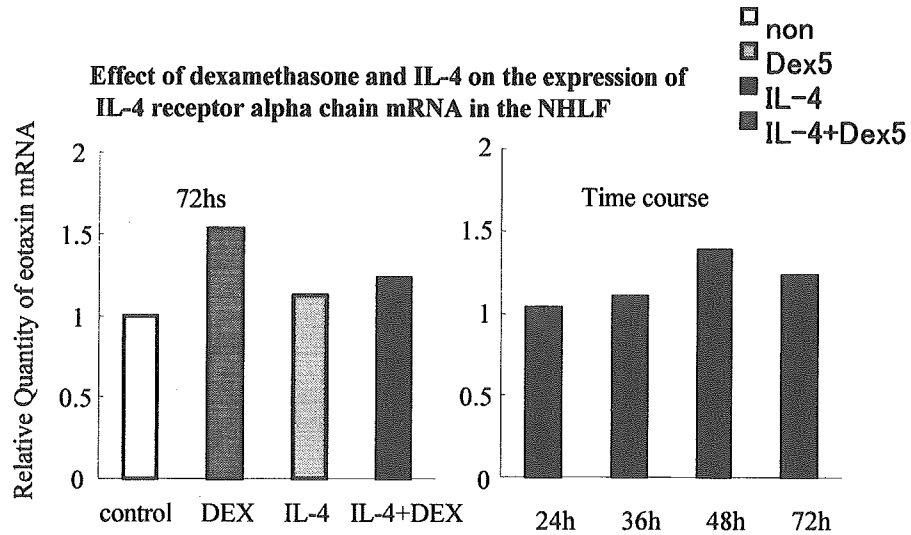
Effect of cycloheximide on IL-4-induced eotaxin mRNA 72 hs after IL-4 and dexamethasone .



Kinetics of cytokine secretion in the supernatant of NHLF cells

	24 h				72 h			
	control	DEX	IL-4	IL-4+DEX	control	DEX	IL-4	IL-4+DEX
IL-2	0.58	0.54	2.37	2.77	0.95	1.05	2.60	2.81
IL-4	0.65	0.80	834.49	>3200	0.83	1.31	757.65	>3200
IL-6	>3200	2520.9	>3200	>3200	>3200	>3200	>3200	>3200
IL-8	16.25	17.14	14.05	12.78	39.51	245.42	19.08	45.93
IL-10	0.85	0.80	6.36	6.27	1.10	1.23	6.19	6.63
GM-CSF	16.07	12.51	114.99	122.52	25.15	27.87	133.45	137.41
IFN- γ	3.23	1.75	9.43	11.72	4.05	3.67	12.99	15.01
TNF- α	0.2>	0.2>	1.48	1.35	0.40	0.40	1.60	1.84
IL-1 β	0.2>	0.2>	0.44	0.52	0.2>	0.2>	0.75	0.69
IL-5	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>
IL-7	0.2>	0.2>	0.2>	0.28	0.99	0.60	1.02	0.82
IL-12	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>
IL-13	0.2>	0.2>	0.2>	0.25	0.2>	0.2>	0.26	0.34
IL-17	1.82	1.57	1.89	2.60	2.44	2.51	2.36	2.16
G-CSF	1.38	0.86	3.48	3.23	1.94	2.45	2.88	3.32
MCP-1	701.86	557.38	669.84	>3200	720.05	>3200	699.66	>3200
MIP-1 β	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.2>	0.31	0.54

pg/ml



平成 17 年度 厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

免疫アレルギー疾患に係わる胎内・胎外因子の同定に関する研究

(課題名) 周産期に起因する呼吸障害と乳児喘息

分担研究者 本間洋子 自治医科大学小児科 助教授

研究要旨:

早産児の慢性呼吸障害(CLD)に関連する胎内因子の関与について検討した。胎内感染の指標として臍帯血サイトカイン(IL-6、IL-8、IL-1 β 、TNF- α)を測定したが、感染型 CLD と非感染型 CLD の間に IL-8 の値に有意差がみられた。そのため、胎内感染の胎児の全身性反応の指標として IL-8 を選択し、他の周産期因子とともに、CLD 発症との関連性を検討した。IL-8 は CAM 例で有意に高値であったが、CLD(感染型非感染型を含めた)発症は、前期破水、分娩方法、IL-8 の値などに関連せず、新生児の *Ureaplasma* 保菌に関連していた。次に、このような CLD と乳児喘息の発症について、在胎 32 週以下の早産児を対象にアンケート調査を行った。アンケート調査送付時の対象者は 4-9 歳で、325 名の対象者のうち、返答があったのは 194 名(回収率 60%)であった。3 歳までの 2 回以上の wheezing の有無、調査時点までに医師から喘息と診断されたことがあるかを従属変数として、CLD、アレルギー素因、集団保育、受動喫煙などを独立変数として多変量解析を行った。3 歳までの wheezing(乳児喘息)は CLD とのみ関連、喘息の診断は、CLD とアレルギー素因に関連していた。3 番目として、極低出生体重児の就学前後の健診(6 歳時)で行っている肺機能検査(PFT)の結果を検討した。CLD(-)群と CLD(+)群では、FVC、large airway、small airway の PFT に有意差は認められなかったが、small airway の閉塞に関連する maximal mid-expiratory flow rate (MMF)、%V50、%V25 は CLD で低値をとる傾向がみられた。これは、生後 6 年以上経過しても乳児期早期の変化が残存していることを示しているといえる。

研究協力者:

大木丈弘 自治医科大学大学院生
矢田ゆかり 自治医科大学小児科助手

近年、非常に幼若な早産児が生存するようになり、早産児の慢性肺疾患(Chronic lung disease; CLD)の概念は変化し、酸素、陽圧などによる生後の炎症性変化と同時に出生前の胎内感染による炎症性変化がその原因

として強調されるようになってきた。本邦においては、厚生省研究班により、CLD を 7 タイプに分類したが、その中でも感染先行型の CLD は、呼吸障害が重症化、遷延化する例があり、NICU 退院後も在宅酸素を必要とし、再入院する例が多く経験されている。昨年度は、CLD 発症に関して 1) 感染型 CLD と *Ureaplasma* 保菌に関連性があるが、2) 新生児期の CLD の重症度は CLD の型に規

定されない。しかしながら、3)退院後に2回以上の wheezing の episode 発症に関連したのは新生児期の酸素投与期間と *Ureaplasma* の新生児保菌であり、非 CLD 群に比較して感染型では2回以上の wheezing の episode 発症例が有意に多いことを示した。

今年度は、1)胎内感染の指標として臍帯血のサイトカインを測定し、生後の CLD 発症との関連性を検討、2)32週以下の早産児を対象に長期の呼吸予後のアンケート調査を行い、乳児期幼児期早期の wheezing 発症、喘息の診断に関連する因子の抽出を試みた。また、3) CLD を発症しやすい極低出生体重児の就学前後の健診(6歳時)で行っている肺機能検査(PFT)の結果を検討した。

1) 臍帯血サイトカインと CLD 発症

① 対象は32週未満の42例で CLD(-)24例、非感染型 CLD10例、感染型 CLD8例である。

感染型と非感染型 CLD の間で、IL-8 (p=0.02)、IL-6(p=0.03)の測定値に Mann-Whitney 検定で有意差がみられた。

表1

	n	GA(W)	IL-6(pg/ml)	IL-8(pg/ml)	IL-1β (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)
CLD(-)	24	29.1 ±1.8	7.5 (0-500)	0 (0-1000)	0 (0-83)	12 (0-27)
非感染型 CLD	10	26.7 ±1.6	10.5 (0-83)	10 (0-70)	0	7.5 (4-16)
感染型 CLD	8	27.1 ±2.0	36 (6-163)	72.5 (0-1000)	0 (0-7)	15 (5-33)

②上記の結果から、胎児の感染に対する全身性の反応性変化の指標として IL-8 を選び、以下の検討を行った。2004.1-2005.4に NICU に入院した32週未満の新生児81

名のうち、同意が得られ臍帯血が採取できた46例(57%)を対象に、IL-8をELISA法で測定し、新生児の *Ureaplasma* 保菌、CLD発症、重症度との関連性を検討した。

<結果>

早期新生児死亡4例中、絨毛膜羊膜(CAM)があり先天感染による敗血症は3例で、*Ps. aeruginosa*が分離同定された敗血症例ではIL-8は572pg/ml、*C. albicans*証明例では589pg/ml、起炎菌は証明されなかった長期破水例は306pg/mlと高値であった。一方、出生直後にairleakで死亡した例は、CAMは認められずIL-8は17.4pg/mlと低値であった。

46例中胎盤検索が行われたのは34例で、そのうちCAM(+)14例のIL-8はmedian 41.1(範囲20-589)、CAM(-)20例では20.2(6.5-90)であり、Mann-Whitney 検定で有意にCAM(+)群が高値であった。新生児の *Ureaplasma* 保菌群と非保菌群の比較検討では保菌群33.5(8.2-153.8)、非保菌群24.8(6.5-589)で有意差はなかった。

非保菌群中胎盤絨毛膜から溶連菌、B群溶連菌(GBS)、大腸菌が分離同定されCAMがみられた症例はいずれもIL-8が338、589、144と高値であった。それらを除いて比較検討したが、新生児の *Ureaplasma* 保菌と

IL-8 値に関連は認められなかった。CLD 発症は 28 週以下の症例に限られていたので、28 週以下の症例を CLD 群(10 例)

表 2 CLD 発症規定因子

と在胎 CLD(-) 群(12 例)に分け、CLD 発症と、CAM の有無、臍帯血の IL-8、IgM、出生時の

	CLD(+)	CLD(-)	p	OR	95%CI
n	10	12			
GA(W)	26.0(2.2)	26.8(1.1)	0.29		
PROM	5/10	5/12	0.70		
C/S	5/10	7/12	0.70		
IL-8	94.4(132)	111.9(184.3)	0.81		
IgM	19.6(22.4)	8.1(6.4)	0.12		
Uu(+)	6/9	2/12	0.02	13.5	1.47-123.8
WBC	8200(13900)	11600(7200)	0.18		

mean(SD)

白血球数、新生児の *Ureaplasma* 保菌の有無について単変量解析を行った。

結果は新生児の *Ureaplasma* 保菌のみが CLD と有意に関連していた。CLD(-) 群の中には、感染型 CLD と関連のある 3 度の CAM+ 臍帯炎があり、新生児 GBS 陽性、IL-8 が 589pg/ml と著明な高値にもかかわらず、*Ureaplasma* が陰性で CLD を発症しなかった児もいた。

従って、CAM は全身性の高サイトカイン血症を惹起するが、CLD 発症には局所的な *Ureaplasma* の保菌が関連しているものと推測された。しかしながら、抑制性のサイトカインの存在も考えられ、マイクロアレイ法を用いて臍帯血中のサイトカイン(IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-17、TNF- α 、INF- γ 、G-CSF、GM-CSF)を測定し、CLD の発症との関連を検討した。

③ 対象は、2004. 3-2005. 10 の間に NICU に入院した 32 週未満の新生児 37 名で、② の対象と一部重複している(感染型

CLD6 名、非感染型 CLD3 名、CLD(-)28 名)。ほとんどの例で IL-2、IL-4 は感度以下であ

ったが、IL-2 が著明高値を示した例が 2 例あり、うち 1 例は原因不明の先天性難聴であった。IL-6 と IL-8 に有意な相関が認められ、IL-1 β は非感染型に比べて感染型 CLD で有意に上昇していた以外は、症例数も少ないため有意差の認められたサイトカインはなかった。症例数を増やしてさらに検討していく予定である。

2) 早産児の呼吸器予後

CLD がその後の喘息発症にどのくらい関与しているのか、環境因子、アレルギー素因などの関与はあるのかを検討するためアンケート調査を行った 1997. 1. 1-2001. 12. 1 の間に NICU に入院した在胎 \leq 32 週児は 400 名、うち生存退院したのは 359 名であった。これらのうち、Down 症候群などの基礎疾患あり(4)、重度の脳性麻痺(17)、外国籍で帰国(6)、RS 抗体投与例(5)、その

他(2)を除外した 325 名を対象として、乳幼児期の呼吸器疾患についてのアンケート調査票送付し、対象者の 60%である 194 名から回答が得られた。主な質問項目は、①3 歳までの間にヒューヒューゼーゼーしたことが 2 回以上あったか(infantile wheezer)、②今までに医師から喘息と診断され、その治療を受けたことがあるか(BA)、③同じ部屋で喫煙する人がいるか(受動喫煙)、④兄弟はいるか、⑤集団保育を経験したか(開始時期が 3 歳未満例)、⑥両親、兄弟の二親等以内にアレルギー素因(アトピー性皮膚炎、アレルギー性結膜炎/鼻炎、花粉症、喘息、食物アレルギー)のある人はいるか(アレルギー素因)について検討した。

<結果>

アンケート調査時対象の児は 9 歳から 4 歳で、194 名中 80 名(41.2%)が infantile wheezer、60 名(30.9%)が BA と診断されていた。3 歳までの wheezing と関連があったのは、新生児期の CLD のみで、アレルギー素因、受動喫煙、3 歳未満に開始された集団保育、兄弟の有無とは関連がなかった(表 3)。

BA 診断と関連のある項目を Logistic 回帰分析でもとめると、単変量解析で関連があったのは、CLD、wheezing、アレルギー素因であった。多変量解析では、wheezing とアレルギー素因が抽出された。

従って、在胎 32 週以下の早産児における 3 歳未満の infantile wheezing は CLD がその原因であり、3 歳を過ぎた年長の時期までその対象を広げた場合、BA と診断された

例では、CLD とアレルギー素因が互いに独立した発症関連因子とすることができる(表 4)。

3) 早産児の 6 歳時の肺機能検査

早産児の長期の呼吸予後を肺機能検査の面から検討した。CLD を発症しやすい極低出生体重児は、就学前後の健診(6 歳時)で、発達検査とともに spirometry を行っており、その結果を検討した。全例 6 歳で CLD(-)34 名、CLD20 名(非感染型;8 名、感染型 12

名)である。CLD(-)群と CLD(+)群では、FVC、large airway、small airway の PFT に有意差は認められなかったが、small airway の閉塞に関連する maximal mid-expiratory flow rate (MMF)、%V50、%V25 は CLD で低値をと

る傾向がみられた。これは、生後 6 年以上経過しても乳児期早期の変化が残存していることを示しているといえる(表 5)。

表 3 幼児期早期の wheezing 関連因子

	OR	95 % CI	p
CLD	2.95	1.45-5.97	0.003
アレルギー	1.50	0.83-2.70	0.18
受動喫煙	1.17	0.65-2.11	0.60
集団保育<3y	1.26	0.65-2.46	0.50
兄弟	0.65	0.32-1.32	0.23

表 4 喘息の診断と関連する因子

	univariate			multivariate		
	OR	95 % CI	p	OR	95 % CI	p
CLD	2.90	1.43-5.87	0.003	2.96	1.43-6.13	0.004
wheezing	7.49	3.76-14.90	<0.0001			
アレルギー	2.59	1.33-5.04	0.005	2.68	1.35-5.31	0.005
受動喫煙	0.93	0.50-1.75	0.82			
集団保育<3y	1.79	0.90-3.56	0.10			
兄弟	0.56	0.27-1.16	0.12			

表 5 早産児の肺機能(6歳時)

	CLD(-) n=34		CLD(+) n=20		p
	mean	SD	mean	SD	
%FVC	92.2	15.9	89.4	14.3	0.65
1秒量	0.96	0.24	0.88	0.22	0.23
1秒率	83.5	10.6	79.7	10.7	0.21
MMF	1.17	0.47	0.94	0.35	0.06
PEFR	1.91	0.62	1.71	0.56	0.24
%PEF	83.2	23.5	75.0	20.8	0.2
V50	1.20	0.51	0.95	0.39	0.06
%V50	74.8	30.9	59.0	23.0	0.053
V25	0.51	0.31	0.37	0.21	0.054
%V25	79.1	48.8	56.7	32.1	0.07

研究成果の刊行に関する一覧

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Mochizuki H, Arakawa H, Tokuyama K, Morikawa A.	Bronchial Sensitivity and Bronchial Reactivity in Children With Cough Variant Asthma	Chest	128	2427-2434	2005
Tatebayashi K, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Kasahara K, Kondo N	IL-12B Promoter Polymorphism Associated with Asthma and IL-12B Transcriptional Activity	Allergology International.	54	451-459	2005
Watanabe S, Hoshiyama Y, Matsukura S, Kokubu F, Kurokawa M, Kuga H, Kawaguchi M, Inoue Y, Ieki K, Odaka M, Suzuki S, Aoki M, Akabane T, Takeuchi H, Adachi M, Kawaguchi T	Prevention of Asthma Exacerbation with Vaccination against Influenza in Winter Season	Allergology International.	54	305-309	2005
Odajima H, Nishio K	Clinical Reality of Asthma Death and Near-fatal Cases, in a Department of Pediatrics of a Japanese Chest Hospital	Allergology International.	54	7-15	2005
Kawano Y, Morikawa M, Watanabe M, Ohshiba A, Noma T, Odajima H	Fetal growth promotion in allergic children	Pediatr Allergy Immunol.	16	354-356	2005
Kawano Y, Morikawa M, Watanabe M, Ohshiba A, Noma T, Odajima H	A Study of the Factors Responsible for the Development of Allergic Diseases in Early Life	Asian Pacific Journal Allergy And Immunology	Of 23	1-6	2005
Ohki Y, Tokuyama K, Mayuzumi H, Sato A, Koyama H, Takizawa T, Arakawa H, Mochizuki H, Morikawa A.	Characteristic Features of Allergic Airway Inflammation in a Murine Model of Infantile Asthma	Int Arch Allergy Immunol.	138	51-58	2005
Koyama H, Tokuyama K, Nishimura H, Mizuno T, Mayuzumi H, Ohki Y, Arakawa H, Mochizuki H, Morikawa A.	Effect of Disodium Cromoglycate on Airway Mucus Secretion during Antigen-Induced Late Asthmatic Responses in a Murine Model of Asthma	Int Arch Allergy Immunol.	138	189-196	2005
小田嶋博	小児気管支喘息の発症パターンと原因・危険因子の多様性	喘息	18(4)	15-20	2005
小田嶋博	喫煙の気管支喘息への影響	日本小児アレルギー学会誌	19(3)	237-246	2005
本間 洋子	Ureaplasma と新生児感染	日本未熟児新生児学会雑誌	17(1)	15-20	2005
荒川浩一、森川昭廣	乳幼児喘息と学童喘息の病態、およびその差異	アレルギー科	19(2)	106-112	2005
村松礼子、荒川浩一、森川昭廣	小児アトピー性皮膚炎	アレルギー科	20(2)	142-147	2005

厚生労働科学研究研究費補助金
免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

免疫アレルギー疾患に係わる
胎内・胎外因子の同定に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

発行 : 平成18年3月
発行者 : 主任研究者 森川 昭廣
印刷 : 有限会社 アール印刷