

図5 エラスターゼによる好酸球からのケモカイン産生

それぞれ蛋白が検出されたサイトカイン・ケモカインについては定量的PCR法にて遺伝子発現も確認した。

以上、エラスターゼは好酸球から主に炎症性サイトカインと好中球及び単核球遊走を誘導するケモカインの産生を誘導することが明らかとなった。

D. 考察

本年度の研究においては、第一に好中球由来エラスターゼが好酸球の主要なエフェクター機能の一つである活性酸素の産生を誘導することを明らかとした。活性酸素は好酸球の組織傷害性メディエーターの中でもっとも重要なものであり、顆粒蛋白のEosinophil peroxidase (EPO)と共同して、蛋白、脂質、核酸などの変性をおこし、細胞機能を障害する。これまでの報告では、IL-5、GM-CSF、固相化IgG、固相化IgAなどが好酸球からの活性酸素産生をおこすとされてきたが、好中球由来メディエーターとくにエラスターゼによる誘導については我々が初めて観察した。これまで認められたTh2サイトカイン環境下だけではなく、好中球浸潤を招くTh1環境によっても好酸球が活性化を受け、組織傷害に関与することが考えられた。

第二には、エラスターゼが好酸球から様々のサイ

トカイン・ケモカインの産生を誘導することを明らかとした。我々はこれまでの研究でダニ抗原が好酸球に直接作用してIL-9産生を誘導することを報告したが、好酸球がエフェクターとして機能するだけでなく、サイトカイン・ケモカインを産生して、免疫反応の修飾にも関わることの根拠となった。今回の研究では、さらに好中球性炎症の環境下においては、好酸球がエラスターゼを介して炎症性のサイトカイン(TNF- α 、IL-6、IL-1 β)と好中球浸潤に関わるケモカイン(IL-8、GRO- α)を産生する能力を持つことを明らかにした。いずれも好中球性炎症をさらに増強する因子であり、難治性炎症の病態に強く関わると考えられた。

これらエラスターゼの好酸球に対する多彩な作用を考慮すると、ステロイド不応性の難治性喘息ではエラスターゼをターゲットとした治療を検討すべきと考えられる。現在、臨床で用いることができるエラスターゼ阻害薬 *sivelestat sodium hydrate* は全身性炎症反応症候群に伴う急性肺障害のみの適応であるが、重症喘息の補助的薬剤としての効果も大いに期待できるかもしれない。好中球をターゲットとした治療では、すでに抗TNF- α 療法がステロイド依存性の重症喘息に有効であると報告されている。しかし、この治療では著しい臨床効果とともに、結核の再燃など重篤な副作用も観察されている。TNF- α は感染防御にも機能するサイトカインであるため、副作用としての易感染性誘発をどうしても避けられないのであろう。それに比べて、単一メディエーターたるエラスターゼを標的とする治療であれば、副作用発症の可能性を大いに減らすことが可能である。今後の臨床研究が待たれるところである。

E. 結論

好中球由来エラスターゼの好酸球機能に対する作用の解析を行い、難治性喘息の特徴である好中球浸潤と好酸球との関連について検討した。エラスターゼは好酸球からの活性酸素産生とともに、好中球性炎症増強に関与するサイトカイン・ケモカインの産生も誘導した。好酸球と好中球の複合的炎症が喘息難治化機序のひとつである可能性は高い。今後、

好中球由来エラスターゼを標的とした治療についても検討を進めるべきと考えられた。

Academy of Allergy, Asthma and Immunology,
Miami Beach, USA, March 3-7, 2006

F. 研究発表

1. 論文

- 1) 藤澤隆夫: シスチニルロイコトリエンによる好酸球からの TGF- β 産生誘導炎症と免疫 14(1):25-30, 2006
- 2) 藤澤隆夫: アレルギー性鼻炎のプレーヤーたち 好酸球. 鼻アレルギーフロンティア 6(1):40-46, 2006
- 3) 藤澤隆夫: 学童期・病態「喘息の病態と治療からみた世代的(年齢的)特徴 第25回六甲カンファレンス p32-36, 小林節雄、宮本昭正、中島重徳編 ライフサイエンス出版 2006
- 4) 藤澤隆夫: 乳幼児のケモカイン-アレルギー疾患発症メカニズムとのかかわり アレルギー科 21(6):612-616, 2006
- 5) 藤澤隆夫: 免疫調節細胞としての好酸球 臨床免疫 45(6):607-613, 2006
- 6) 藤澤隆夫: 好酸球の2つの側面: アレルギー性炎症のエフェクター・レギュレーター 皮膚アレルギーフロンティア 4:7-12, 2006
- 7) 藤澤隆夫: 小児アレルギー学の新しい展開 好酸球研究の進歩 小児科臨床 59:1215-1222, 2006
- 8) 藤澤隆夫: 気管支喘息における好酸球性炎症: その再評価 日本内科学会雑誌 95(8):1564-1571, 2006
- 9) 藤澤隆夫: 好酸球研究アップデート 耳鼻免疫アレルギー 24(3):11-18, 2006
- 10) Tamaki K, Kakinuma T, Saeki H, Horikawa T, Kataoka Y, Fujisawa T, et al. Serum levels of CCL17/TARC in various skin diseases. J Dermatol 2006; 33:300-2.

2. 学会発表

- 1) M. Nagao, R. Tokuda, Y. Noma, S. Nakayama, T. Fujisawa. Novel in vitro method for diagnosis of food allergy in children: utilization of CD203c expression in basophils. 2006 Annual Meeting of American

- 2) H. Katsumata, Y. Kato, T. Fujisawa. House dust mite extract induces interleukin-9 expression in human eosinophils. 2006 Annual Meeting of American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, Miami Beach, USA, March 3-7, 2006
- 3) 藤澤隆夫 イブニングシンポジウム「気管支喘息治療における併用療法の展望」小児科の立場から 第46回日本呼吸器学会学術講演会 2006.6.2 (東京)
- 4) 藤澤隆夫 シンポジウム「好酸球:基礎と臨床のアップデート」好酸球性炎症の臨床 第56回日本アレルギー学会秋期学術大会 2006.11.2-4 (東京)

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

研究協力者

野間雪子 (国立病院機構三重病院臨床研究部)
長尾みづほ (国立病院機構三重病院臨床研究部)

厚生労働科学研究補助金（研究事業）

分担研究報告書

気管支喘息の難治化の病態・機序の解明と難治化の予防・治療法の開発に関する研究
—難治性喘息に対する治療法の開発に関する研究—

分担研究者	相澤久道	久留米大学呼吸器・神経・膠原病内科教授
研究協力者	星野友昭	久留米大学呼吸器・神経・膠原病内科講師
	川山智隆	久留米大学呼吸器・神経・膠原病内科講師
	井上博雅	九州大学大学院胸部疾患研究施設講師

研究要旨

難治性喘息に対する治療法の開発のため以下の①基礎的、②臨床的検討を行った。①IL-13誘導性喘息に対する CLCA 阻害薬(Niflumic acid)の効果の検討、②高用量の吸入ステロイドとテオフィリンの併用の喘息患者における salmeterol の add-on 効果の検討。その結果①Niflumic acid は気管支喘息における IL-13 誘導性の気道過敏性、気道炎症。気道分泌を抑制し、その過程の一部は JAK2/STAT6 系のリン酸化の抑制によるものと考えられた。②(1)高用量吸入ステロイド+テオフィリンを服用している喘息患者において、salmeterol の単回投与はプラセボと比較して FEV₁, FVC, PEF を改善させた。(2)12 週間の Salmeterol (Open-label) は、FEV₁, FVC, 朝晩の PEF 値を改善し、症状スコア、SABA の使用頻度を減少させた。これらの結果より、①CLCA 阻害薬は気管支喘息に対する新しい治療薬として有望と考えられた。②高用量の吸入ステロイドとテオフィリンの併用療法でもコントロール不十分な喘息患者において、LABA 追加投与は有用かつ安全であると考えられた。

A.研究目的

難治性喘息に対する治療法の開発のため以下の①基礎的、②臨床的検討を行った。

①IL-13 誘導性喘息に対する CLCA 阻害薬(Niflumic acid)の効果の検討：難治化の共通した原因としては、ステロイドに対する抵抗性があげられる。すなわち、高用量のステロイ

ドを用いても気道炎症の改善が十分でない、気道過敏性が低下しない、気道狭窄が完全には改善しないなどの症例では難治化が進行すると考えられる。IL-13 は気管支喘息患者の気道での発現が亢進しており、好酸球浸潤、気道過敏性亢進、粘液分泌増加などの作用を有するサイトカインであり、気管支喘息の病

態生理異常に重要な役割を担っていると考えられる。我々は IL-13 によって引き起こされるマウス喘息モデルにおいて、ステロイドは気道炎症を抑制するにもかかわらず、気道過敏性に影響しなかったことを見出し、IL-13 が喘息難治化の重要な因子となっている可能性を報告した。今回、IL-13 による気道過敏性亢進の機序の解明とそれに対する制御について検討した。

②高用量の吸入ステロイドとテオフィリンの併用の喘息患者における salmeterol の add-on 効果の検討；高用量の吸入ステロイドと長時間作用性 β_2 刺激薬(LABA)の併用に加え、テオフィリンやロイコトリエン受容体拮抗薬の追加は、重症喘息の治療に用いられる。しかし、2種類以上の add-on 薬を組み合わせた治療法の有効性はいまだ明らかではない。近年テオフィリンは気管支拡張作用とともに、抗炎症作用を有することが注目されている。そこで、高用量吸入ステロイド+テオフィリンの併用療法でもコントロール不十分な喘息患者における、LABA 追加投与の有用性と安全性について検討した。

B.方法

①6週令の A/J マウスに $50\mu\text{l}$ のリコンビナント IL-13 あるいはビークルを 1,3,5 日に気管内投与した。デキサメサゾン 0.5mg/kg を最初の IL-13 (またはビークル) 投与 24 時間後より 4 日間投与した。気道過敏性、気管支肺胞洗浄(BAL)、組織学的検査、肺組織からの RNA 定量を最終の IL-13 投与より 24 時間後の 6 日目に行った。次に、CLCA(calcium-activated chloride channel)の阻害薬は、IL-13 による粘液産生や気道過敏性に対する治療薬として有効ではないかと考え、CLCA に選択

性の高い Cl⁻チャンネル阻害薬である Niflumic acid を用いて、IL-13 誘導性喘息における効果について検討した。

②今回我々は、高用量吸入ステロイド+テオフィリンの併用療法でもコントロール不十分な喘息患者における、LABA 追加投与の有用性と安全性について検討した。

患者選択基準：外来通院中の喘息患者

・高用量吸入ステロイド (BDP $1000\mu\text{g/day}$ 以上) + 徐放性テオフィリン製剤を使用している (ロイコトリエン受容体拮抗薬内服は問わず)

・喘息症状 (咳、喘鳴、労作時呼吸困難) を呈する

・%pred FEV₁ $\geq 40\%$

除外基準：

・心、肝、腎臓の疾患や代謝性疾患の合併

・ β -blocker の使用

・過去 6 ヶ月以内の喘息発作での入院、もしくは 4 週以内に上/下気道感染の既往

Study Design

1) Single dose of inhaled salmeterol

Placebo or Salmeterol $50\mu\text{g}$

FEV₁, FVC, PEFR, SpO₂, PR, BP を、薬剤吸入前から吸入後 3 時間まで測定

2) Three months of open-label salmeterol treatment

Salmeterol $50\mu\text{g bid}$, 12 weeks

喘息日誌：症状、朝晩の PEF 値、SABA の使用を記入

Salmeterol 前と 12 週後に肺機能検査を行った。

C.結果

①Niflumic acid は気管支喘息における IL-13

誘導性の気道過敏性、気道炎症。気道分泌を抑制し、その過程の一部は JAK2/STAT6 系のリン酸化の抑制によるものと考えられた。

図 1. IL-13 気道内投与による喘息モデルにおいて、CLCA 阻害薬である niflumic acid を投与すると、IL-13 による気道過敏性の亢進が抑制された。

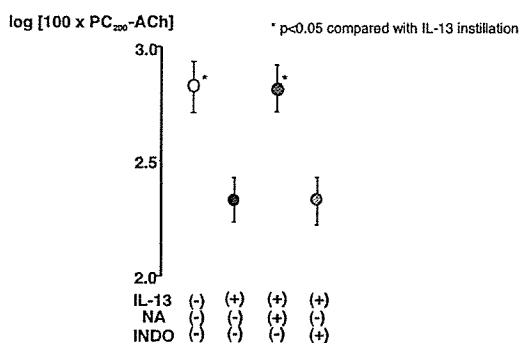
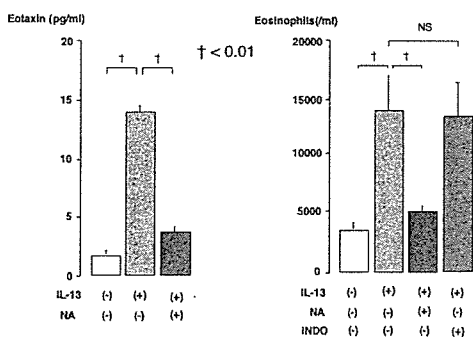


図 2. IL-13 気道内投与による喘息モデルにおいて、CLCA 阻害薬である niflumic acid を投与すると、eotaxin 産生や好酸球浸潤が著明に抑制された。



②図 3.高用量吸入ステロイド+テオフィリンを服用している喘息患者において、salmeterol の単回投与はプラセボと比較してFEV₁, FVC, PEFR を改善させた。

E. 結論

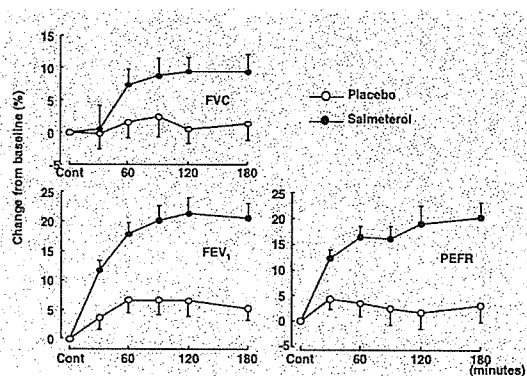
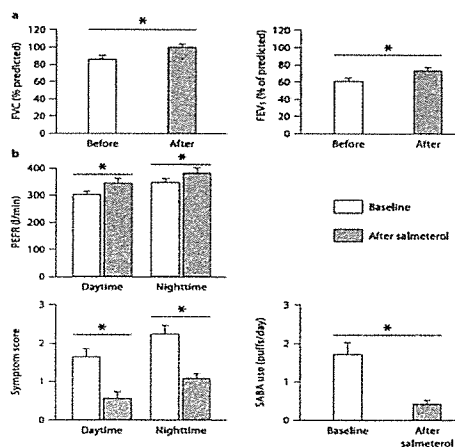


図 4.12 週間の Salmeterol (Open-label) は、FEV₁, FVC, 朝晩の PEF 値を改善し、症状スコア、SABA の使用頻度を減少させた。



D. 考察および結論

①CLCA 阻害薬である Niflumic acid は気管支喘息における IL-13 誘導性の経路を抑制し、その過程の一部は JAK2/STAT6 系のリン酸化の抑制によるものと考えられた。CLCA 阻害薬は気管支喘息に対する新しい治療薬として有望と考えられた。

②高用量の吸入ステロイドとテオフィリンの併用療法でもコントロール不十分な喘息患者において、LABA 追加投与は有用かつ安全であると考えられた。

難治性喘息は、「通常の治療では改善され

ず、ステロイド剤を用いなければ日常生活が出来ない重症、通年性の気管支喘息」と定義される。難治性喘息に対する治療は、現在用いられている薬物を多剤併用し、その患者の最良の状態にし、かつ出来るだけ副作用を少なくするしか現在治療法がなく、難治性喘息に有効な薬剤の開発が望まれる。今回動物実験に用いた Niflumic acid をはじめとする CLCA 阻害薬は、新しい難治性喘息の治療薬となりうると考えられた。また、現在使われている薬剤の併用療法の効果を臨床的に示し、これらの薬物の併用が難治性喘息に有効な治療であることを証明した。

F.健康危険情報

G.研究発表

<原著>

1. T. Koga, K. F., Hisamichi Aizawa (2007). "Effect of smoking on lifestyle interventions to prevent diabetes." *The Lancet* 369: 365.
2. T. Nakano, H. I., S. Fukuyama, K. Matsumoto, M. Matsuyama, M. Tsuda, T. Matsumoto, H. Aizawa, Y. Nakanishi (2006). "Niflumic Acid Suppresses Interleukin-13-induced Asthma Phenotypes." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 173(11): 1216-1221.
3. 古賀丈晴、津田 徹、大盛久光、矢野秀樹、渡辺憲太郎、相澤久道、福岡 COPD 研究会 (2006). "肺機能検査実施の動機が異なる3集団を対象とした潜在的 COPD の疫学調査." *呼吸* 25(8).
4. 福地義之助、相澤久道、平田一人、塩谷隆信、東田有智、藤村正樹、中島光好、鈴木謙二、大脇一郎、井尻章悟、植地泰之、永田 博 (2006). "COPD 患者に対する長時間作動型吸入 β 2 刺激薬キシナホ酸サルメテロールの追加投与の効果-プラセボを対照とした多施設共同二重盲検並行群間比較試験-." *呼吸* 25(2): 186-199.

<総説>

1. 戸田玲子、相澤久道 (2007). "喘息と末梢気道病変." *呼吸と循環* 55(2): 187-192.
2. 相澤久道 (2007). "呼吸機能検査_日常診療で簡単に行えるスパイロメトリー、フローボリューム曲線." *呼吸と循環* 55(1): 97-104.
3. 相澤久道 (2007). "気管支拡張薬." *呼吸器疾患 最新の治療* 2007-2009: 82-85.
4. Takeharu Koga, A. K., Hisamichi Aizawa (2006). "Physical activity and cardiovascular risk in children." *Lancet* 368: 1326-1327.
5. 岡元昌樹、相澤久道 (2006). "喘息発作時の対応." *臨床と研究* 83(11): 17-21.
6. 岩永知秋、相沢久道 (2006). "呼吸器疾患の問診ポイント_自覚症状." *呼吸と循環* 54(8): 875-880.
7. 星野友昭、北里裕彦、今岡治樹、木下 隆、加藤誠也、渡辺健太郎、相沢久道 (2006). "COPD における炎症と新しい治療薬." *呼吸と循環* 54(3): 235-240.
8. 川山智隆、相沢久道 (2006). "呼気凝縮液." *呼吸と循環* 54(6): 599-606.
9. 川山智隆、南方良章、津田 徹、木下正治、松永和人、山縣俊之、一ノ瀬正和、相澤久道 (2006). "日本人を対象とした COPD 質問票の有用性についての検討." *呼吸* 25(11): 1083-1086.
10. 川山智隆、木下 隆、相沢久道 (2006). "抗コリン薬." *COPD FRONTIER* 5(4): 58-

- 66.
11. 相沢久道 (2006). "抗コリン薬." 日本胸部臨床 65(4): 356-362.
 12. 相沢久道 (2006). "COPD の疫学." Mebio 23(5): 32-47.
 13. 相沢久道 (2006). "病診連携を踏まえた COPD 治療と Tiotropium の位置づけ." Progress in Medicine 26(5): 126-129.
 14. 相沢久道 (2006). "ロイコトリエン B4." 喘息 19(3): 41-45.
 15. 相沢久道、野田和人 (2006). "COPD 患者の外来治療・管理のコツとポイント." Medical Practice 23(6): 1021-1030.
 16. 相沢久道、野田和人 (2006). "ICS/LABA 合剤の効果とその機序." 呼吸と循環 54(7): 745-750.
 17. 相澤久道 (2006). "各種薬剤の副作用とその予防対策_喘息治療薬." 臨床と研究 83(9): 47-52.
 18. 相澤久道 (2006). "プライマリケアのための喘息、COPD、アレルギー性鼻炎の診療指針の要点_IPAG ハンドブック_." 日本医事新報(4296): 53-63.
 19. 相澤久道 (2006). "呼吸器疾患患者の海外旅行注意点." 成人病と生活習慣病 36(8): 837-840.
 20. 相澤久道 (2006). "呼吸器疾患の問診のポイント_質問票の利用." 呼吸と循環 54(10): 1111-1116.
 21. 相澤久道 (2006). "ガイドラインによる診断の実際." 総合臨床 55(10): 2445-2449.
 22. 相澤久道 (2006). "慢性呼吸器疾患へのプライマリケアのアプローチ IPAG ハンドブックに基づく診断手順." Medical ASAHI 35(10): 53-55.
 23. 相澤久道 (2006). "プライマリケアのための喘息、COPD、アレルギー性鼻炎の診療指針の要点_IPAG ハンドブック_." 日本医事新報(4296): 53-63.
 24. 相澤久道 (2006). "最新の薬物療法." 日本胸部臨床 65(12): 1090-1098.
 25. 濱田美奈子、相沢久道 (2006). "気道炎症とリモデリングの評価_その臨床的意義_." Medical Practice 23(2): 251-253.
- <症例報告>
1. 松井大作、北里裕彦、本多靖洋、上野敬子、田中篤利、枝國信貴、向野達也、西村宗胤、川山智隆、星野友昭、藤本公則、古賀丈晴、相澤久道 (2007). "器質化肺炎様の多発斑状影を呈した Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis による細菌性肺炎の 1 例." 日本呼吸器学会雑誌 45(1):36-42.
 2. Hiroshi Maruoka, T. K., Yoshikazu Jinnouchi, Seiyo Honda, Masaaki Takeo, Kentaro Yuge, Takaaki Fukuda and Hisamichi Aizawa (2006). "A refractory case of dermatomyositis complicated with multiple brain abscesses." Asia Pacific League of Associations for Rheumatology 9:275-277.
 3. MASAKO NAGAFUCHI, T. K., KAZUHITO TAGUCHI, YOSHIRO NAGAFUCHI, MIKIKO HANADA, AKIRA TAKAGI, HIROYOSHI MIZOTE AND HISAMICHI AIZAWA (2006). "A Young Adult Patient with Septic Pulmonary Emboli of Undetermined Origin." Kurume Medical Journal 53(3,4):99-101.
 4. TAKEHARU KOGA, K. U., MASAYOSHI KAGE, MASAO ICHIKI, TAKAO KITAJIMA, YUKO NARITA, YUSUKE

- MIZOGUCHI, MIKIKO HANADA, RYU EHARA, MUNETSUGU NISHIMURA, SHINZO TAKAMORI AND HISAMICHI AIZAWA (2006). "Pulmonary Metastasis of Endometrial Stromal Sarcoma." *Kurume Medical Journal* 53(3,4):95-97.
5. Yoshitaka Morimatu, N. A., Hiroya Akiyoshi, Taketoshi Kawazu, Yoshinobu Okabe and Hisamichi Aizawa (2006). "A FAMILIAL CASE OF VISCERAL LARVA MIGRANS AFTER INGESTION OF RAW CHICKEN LIVERS: APPEARANCE OF SPECIFIC ANTIBODY IN BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUID OF THE PATIENTS." *Am. J. Trop Med.Hyg.* 75(2):303-306.
6. 吉田有吾、一木昌郎、田口和仁、南 秀和、今井伸恵、古賀英之、相澤久道 (2006). "中縦隔の Carcinoma with sarcomatoid elements の 1 剖検例." *日本呼吸器学会雑誌* 44(7): 499-503.
7. 上村知子、相澤久道 (2006). "気管・気管支結核を合併した難治性喘息の一例." *International Review of Asthma* 8(1):90-96.
8. 上野敬子、川山智隆、枝國信貴、古賀丈晴、相澤久道 (2006). "Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis による膿胸の 1 例." *感染症学会誌* 80(5):527-530.
9. 森松嘉孝、尾上陽子、日高道弘、猿渡功一、相澤久道 (2006). "同種造血幹細胞移植後の慢性呼吸不全に対し、プルモケアが有用であった症例." *Nutrition Support Journal* 7(2):32-33.
10. 川山智隆、今岡治樹、相澤久道 (2006). "ハイドロフルオロアルカン-プロピオン酸ベクロメタゾンの吸入療法が著効した気管支喘息の 1 例." *クリニカル プラクティス* 25(9):99-102.
11. 田尻守拓、森松嘉孝、相澤久道 (2006). "肺癌化学療法時の制吐管理が塩酸グラニセトロンよりも塩酸ラモセトロンの方が有効であった 1 例." *癌の臨床* 52(2):71-75.
- <単行本／著書>
1. 大下祐一、相沢久道 (2006). "かぜ症候群、急性上気道炎." *内科外来診療実践ガイド*: 415-417.
2. 相澤久道 (2006). "閉塞性疾患_気管支炎." *臨床病態学* 1: 300.
3. 加地正英、相沢久道 (2006). "インフルエンザ." *内科外来診療実践ガイド*: 418-421
- H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

厚生労働科学研究補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）
分担研究報告書

気管支喘息の難治化の病態機序の解明と難治化の予防・治療法開発に関する研究
—ダニ抗原誘発喘息モデルにおける Th2 サイトカインの意義—

分担研究者 永井 博弐（岐阜薬科大学 臨床薬理学研究室 教授）

研究要旨 本研究では、昨年度までに確立したダニ抗原誘発喘息モデルにおける特異性を見出すため、Th2 サイトカインの意義を各種遺伝子改変動物を用いて解析した。実験は、当教室のダニ抗原誘発マウス喘息モデルのプロトコルに従った。すなわち、吸入麻酔下にてマウスの気管内に *Dermatophagoides farinae* (Der f) の抽出物を複数回投与して反応を惹起した。最終抗原投与 48 時間後に、アセチルコリンによる気道収縮反応を測定し、その直後に右肺は気管支肺胞洗浄(BAL)を行い、左肺は組織学的検討を行った。ダニ抗原(Der f)をマウスの気管内に頻回投与することにより、アセチルコリンに対する気道過敏性、BAL 液中好酸球増多、Th2 サイトカイン産生および TGF- β 1 産生量の増加ならびに気道上皮および基底膜下において気道リモデリング形成が観察された。これに対し、IL-4 遺伝子欠損(KO)マウスでは、基底膜下の線維化形成以外のいずれのパラメーターも、野生型マウスに比し有意な低下が観察された。一方、IL-5 受容体 α 鎖 KO マウスでは、BAL 液中の好酸球は検出されなかったが、気道過敏性ならびに気道リモデリング形成など、いずれも野生型マウスと差は認められなかった。これに対し、IL-13 KO あるいは IL-4 受容体 α 鎖 KO マウスでは、いずれのパラメーターも有意な低下が観察された。以上の成績より、ダニ抗原反復曝露により生ずる気道過敏性、好酸球性気道炎症ならびに気道リモデリング形成も、これまでに教室において検討を重ねてきた OA 喘息モデルと同様に Th2 依存性の反応であることが明らかとなった。一方、OA モデルでは IL-5 受容体 α 鎖 KO マウスにおいて気道過敏性は全く観察されず、また、好酸球由来の TGF- β 1 が基底膜下の線維化形成に重要であったが、ダニモデルの場合、BAL 液中 TGF- β 1 産生量は野生型と差は認められず、また、基底膜下の線維化形成の程度もほぼ同等であったことから、ダニモデルでは基底膜下の線維化形成における好酸球の意義は小さいと思われる。これに対し、IL-13 ならびにその受容体である IL-4 受容体 α 鎖 KO マウスを用いた検討から、ダニモデルにおいても気道過敏性ならびに気道リモデリング形成など、喘息の重症化と関連する病態形成には IL-13 が特に重要であることが明らかとなった。今後、エンドトキシン・ウィルス・排ガス・カビなどの環境因子による喘息発症リスクファクターとしての意義はもとより、増悪因子としての環境因子の意義を明らかにすることにより、環境因子を含めた難治性喘息の病態解明ならびに治療薬の標的探索に寄与すると思われる。

研究協力者

稲垣直樹（岐阜薬科大学薬理学教室・教授）
田中宏幸（岐阜薬科大学薬理学教室・助教授）

A. 研究目的

従来、気管支喘息の発症・難治化・重症化の基礎研究には、in vitro 細胞培養実験および in vivo

動物モデルを用いた解析が行われてきた。このうち、代表的な in vivo 動物モデルとして知られているマウス喘息モデルは、卵白アルブミン(OA)と水酸化アルミニウムゲル(アラム)を用いて全身的に感作し、その後、抗原を反復曝露することにより喘息様病態形成が認められることを特徴としている。これらのモデルは、いわゆる Th2

依存性の免疫反応の解明などに大きく寄与してきたが、近年の喘息患者数の増加およびその病態の難治化・重症化を解明する上で、臨床をより反映する動物モデルの確立が急務であると思われる。特に、感染や大気汚染などの喘息の難治化・重症化の原因を解明する上で、抗原性、抗原感作部位、アジュバントの使用などを考慮したモデル作成が重要である。

以上を鑑み、近年、当講座ではマウス気管内にダニ抗原 (Der f) の抽出物を頻回投与することによりマウス喘息モデルを確立した。すなわち、アラムなどのアジュバントを使用せず、喘息の主要抗原であるダニ抗原を気道内に反復投与することにより喘息様病態形成が生ずることから、従来のモデルに比し臨床に近いモデルであると思われる。

一方、当講座では上述の OA モデルを用いた検討から、気道リモデリング形成、特に基底膜下の膠原線維の沈着には好酸球由来の TGF- β 1 産生が重要であることを見出している。しかし、この OA モデルを用いた知見に普遍性があるか否かは不明である。また、ダニ抗原の気管内投与により生ずる喘息様病態形成の詳細は不明である。そこで本研究では、ダニ抗原誘発喘息モデルにおける特異性を見出すため、Th2 サイトカインの意義を各種遺伝子改変動物を用いて解析した。

B. 研究方法

実験は、当教室のダニ抗原誘発マウス喘息モデルのプロトコールに従った。すなわち、吸入麻酔下にてマウスの気管内に *Dermatophagoides farinae* (Der f) の抽出物を複数回投与して反応を惹起した。最終抗原投与 48 時間後に、アセチルコリンによる気道収縮反応を測定し、その直後に右肺は気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、左肺は組織学的検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究における実験動物の取り扱いならびに実験方法に関しては、本学バイオセーフティー委員会の承認を受け、その規約を遵守した。

C. 研究結果

ダニ抗原 (Der f) をマウスの気管内に頻回投与することにより、アセチルコリンに対する気道過

敏性、BAL 液中好酸球増多、Th2 サイトカイン産生および TGF- β 1 産生量の増加ならびに気道上皮および基底膜下において気道リモデリング形成が観察された。これに対し、IL-4 遺伝子欠損 (KO) マウスでは、基底膜下の線維化形成以外のいずれのパラメーターも、野生型マウスに比し有意な低下が観察された。一方、IL-5 受容体 α 鎖 KO マウスでは、BAL 液中の好酸球は検出されなかったが、気道過敏性ならびに気道リモデリング形成など、いずれも野生型マウスと差は認められなかった。これに対し、IL-13 KO あるいは IL-4 受容体 α 鎖 KO マウスでは、いずれのパラメーターも有意な低下が観察された。

D. 考察

吸入ステロイド薬ならびに長時間作動性吸入 β 2 刺激薬の普及に伴い、気管支喘息患者の症状のコントロールにおいて、ある程度それらの効果が認められているにもかかわらず、気管支喘息患者を含め、アレルギー疾患患者数は増加の一途を辿っている。この主要な原因として、遺伝的要因以上に環境要因が重要であると考えられており、特に室内環境抗原であるダニ抗原の重要性が指摘されている。

ダニ抗原については、これまでに *in vitro* の実験による解析により、その抗原性ならびに各種細胞に対する作用機序の一端が明らかにされてきたが、*in vivo* での検討は世界的にも十分に行われているとは言い難い。従来のモデル動物では、OA などの外来タンパク抗原とアラムのような、いわゆる Th2 誘導性のアジュバントを用いて全身感作し、その後、抗原を局所的に曝露する方法がとられ、この方法によってアレルギー反応の根底にある免疫反応の理解が進んだと思われる。しかし、実生活における抗原を用いた、より臨床に近いモデルによる検討は十分に行われていないのが現状である。そこで、本年度はダニ抗原をマウスの気管内に反復投与した際の変化を、特に Th2 サイトカインの意義を中心に解析し、これまでの OA を用いたマウス気道リモデリングモデルとの比較を試みた。

その結果、ダニ抗原反復曝露により生ずる気道過敏性、好酸球性気道炎症ならびに気道リモデリング形成も、OA 喘息モデルと同様に Th2 依存性

の反応であることが明らかとなった。一方、OAモデルではIL-5受容体 α 鎖KOマウスにおいて気道過敏性は全く観察されず、また、好酸球由来のTGF- β 1が基底膜下の線維化形成に重要であったが、ダニモデルの場合、BAL液中TGF- β 1産生量は野生型と差は認められず、また、基底膜下の線維化形成の程度もほぼ同等であったことから、ダニモデルでは好酸球の基底膜下の線維化形成における意義も小さいと思われる。これに対し、IL-13ならびにその受容体であるIL-4受容体 α 鎖KOマウスを用いた検討から、ダニモデルにおいても気道過敏性ならびに気道リモデリング形成など、喘息の重症化と関連する病態形成にはIL-13が特に重要であることが明らかとなった。

今後、エンドトキシン・ウィルス・排ガス・カビなどの環境因子による喘息の発症リスクファクターとしての意義はもとより、増悪因子として環境因子の意義を明らかにすることにより、環境因子を含めた難治性喘息の病態解明ならびに治療薬の標的探索に寄与すると思われる。

E. 結論

代表的な室内抗原であるダニ抗原を用いて、気管支喘息の難治化・重症化の一因である気道過敏性ならびに気道リモデリング形成におけるTh2サイトカインの意義を遺伝子改変マウスを用いて解析した。その結果、ダニ抗原(*Der p*1)の気管内投与により生ずる気道過敏性、好酸球性気道炎症ならびに気道リモデリング形成は、いずれもTh2依存性の反応であることが示唆された。一方、本モデルにおいては、IL-5は気道内好酸球増多には重要であるが、気道過敏性ならびに気道リモデリング形成にはその関与は少ないものと思われた。これに対し、ダニモデルにおいても、従来のOAモデルと同様に、気道過敏性ならびに気道リモデリング形成など、喘息の重症化と関連する病態形成にはIL-13が特に重要であることが明らかとなった。

F. 健康危惧情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文

- 1) Kawakami Y, Inagaki N, Salek-Ardakani S, Kitaura J, Tanaka H, Nagao K, Kawakami Y, Xiao W, Nagai H, Croft M, Kawakami T. Regulation of dendritic cell maturation and function by Bruton's Tyrosine Kinase via IL-10 and Stat3. Proc Natl Acad Sci USA. 2006; 103: 153-158.
- 2) Takayama G, Arima K, Kanaji T, Toda S, Tanaka H, Shoji S, McKenzie AN, Nagai H, Hotokebuchi T, Izuhara K. Periostin: a novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. J Allergy Clin Immunol. 2006; 118: 98-104.
- 3) Okamoto N, Murata T, Tamai H, Tanaka H, Nagai H. Effects of a tocopherol and probucol supplements on allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in a mouse model of allergic asthma. Int Arch Allergy Immunol. 2006; 141: 172-180.

2. 総説

- 1) 田中宏幸、稲垣直樹、永井博式: 気道リモデリングと好酸球-マウスモデルを用いた検討-。炎症と免疫 14; 31-37: 2006.
- 2) 田中宏幸、稲垣直樹、永井博式: マウス喘息モデルによる気道リモデリングの解析。アレルギー科 21; 542-548: 2006.
- 3) 田中宏幸、稲垣直樹、永井博式: 喘息とトロロンボキサンA₂。喘息 19; 35-40: 2006.
- 4) 田中宏幸、稲垣直樹、永井博式: 脂質メディエーターと気管支喘息。呼吸 25; 944-949: 2006.

3. 学会発表

- 1) 田中宏幸、稲垣直樹、永井博式: マウス喘息モデルを用いた気道リモデリング発症機序の解析。第56回日本アレルギー学会総会 イブニングシンポジウム8 (2006年11月、東京)
- 2) Tanaka H: House dust mite-induced airway inflammation, hyperresponsiveness and remodeling in mice。第56回日本アレルギー学会総会 Young Seminar 4 (2006年11月、東京)
- 3) 橋本未樹子、田中宏幸、高橋 剛、若原恵子、那須礼史、広瀬 泉、高津聖志、稲垣直樹、永井博式: ダニ抗原誘発マウス気道炎症におけるTh2

サイトカインの意義 (1). 第56回日本アレルギー学会総会 一般演題 385 (2006年11月、東京)

4) 三好康介、田中宏幸、高橋 剛、若原恵子、那須礼史、広瀬 泉、出原賢治、McKenzie ANJ、稲垣直樹、永井博式：ダニ抗原誘発マウス気道炎症における Th2 サイトカインの意義 (2). 第56回日本アレルギー学会総会 一般演題 386 (2006年11月、東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

難治性喘息の治療のターゲットとしての増殖因子の検討

分担研究者: 大田 健(帝京大学医学部内科教授)

研究協力者: 足立哲也(帝京大学医学部内科講師)、長瀬洋之(帝京大学医学部講師)

研究要旨 気管支喘息の病態は気道の慢性炎症であり、好酸球・リンパ球を中心とする炎症細胞の浸潤が重症度を規定する要因と考えられている。好酸球などの炎症細胞が浸潤すると気道上皮が傷害され、その後の修復課程で生じるリモデリングにより非可逆的な気道過敏性が惹起される。Epidermal growth factor (EGF) や Platelet-derived growth factor (PDGF) は気道上皮の増殖因子であり、リモデリングに際し重要な役割を担うと考えられている。そのレセプター (EGFR, PDGFR) はチロシンキナーゼであり、それらを標的にした治療が肺癌や白血病の治療で臨床応用されている。本研究では喘息におけるこれら増殖因子レセプターの役割を模索するため、リモデリングマウスにおける EGFR阻害薬 (AG1478) あるいはPDGFR阻害薬 (AG1295) の効果を検討した。A/Jマウスを卵白アルブミン(OA)と Alumで免疫後、OAで14日間反復吸入させることにより、喘息リモデリングマウスを作製した。増殖因子レセプターの役割を検討するために、一部のマウスで連日の吸入2時間前に AG1478あるいはAG1295を点鼻投与した。吸入開始後15日目にBALと肺組織の採取を施行し、好酸球浸潤、基底膜の肥厚、粘液産生細胞の増生などの変化を検討した。OA誘発性喘息モデルマウスBALF中の好酸球集積は、AG1478により有意に抑制された。AG1295投与群でも抑制傾向を認めたものの、有意ではなかった。肺病理の結果では、OAによりそれぞれ惹起された炎症細胞浸潤・基底膜下肥厚・粘液産生細胞増生は、AG1478により明らかな抑制が認められた。AG1295投与群でも、部分的な効果が認められた。これらの結果から、増殖因子レセプターを標的にした治療は難治性喘息に対する新しい戦略として有望であると考えられる。

A. 目的

喘息の病態は炎症細胞である好酸球・リンパ球の浸潤による気道狭窄が主体であり、炎症の消失とともに閉塞性障害も軽快する。ところが気道炎症が慢性的に持続すると気道上皮の傷害・修復による再構築(リモデリング)がおこり、非発作時でも気道過敏性の亢進がみられるようになる。組織学的な経過としては炎症細胞による気道上皮の傷害・

剥離から始まり、次に修復過程により剥離した部位に向かって分化能力のある基底細

胞・杯細胞などが遊走して、上皮細胞の増生が起こる。さらに、気管支平滑筋の肥大、基底膜部の繊維化と肥厚、粘液下腺の拡大が起こる。この慢性持続的な気道上皮の傷害・修復の結果とされているリモデリングは非可逆的な変化であり、喘息難治化の機序の一つと考えられている。それゆえリモデリングを予防する治療法の確立は、喘息

の治療戦略として非常に意義が大きい。リモデリングに関わる因子として、様々な増殖因子が候補にあげられている。例えば transforming growth factor- β (TGF- β), platelet-derived growth factor (PDGF), insulin-like growth factor-I (IGF-I)などがその主なものであるが、これらは細胞外基質の沈着や線維芽細胞の増殖など様々な機能に関与している。我々は以前、喘息リモデリングマウスの系においてこれらの増殖因子が重要な役割を担っていることを報告した。一方これらの増殖因子のレセプター阻害薬が、近年肺癌や白血病などで臨床応用されている。そこで本研究ではEGFR阻害薬(AG1478)あるいはPDGFR阻害薬(AG1295)を喘息リモデリングマウスに投与することで、その効果を検討することを目的とする。

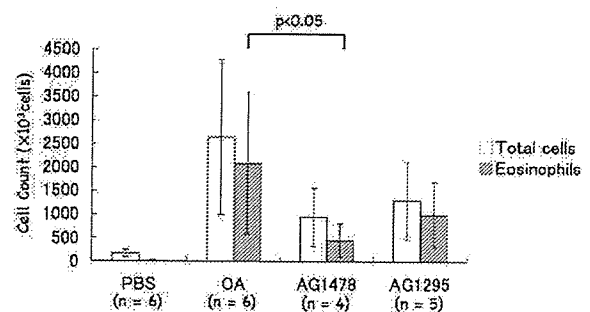
B. 方法

A/Jマウスを卵白アルブミン(OA)とAlumで免疫後、OAで14日間反復吸入させることにより、喘息リモデリングマウスを作製した。増殖因子レセプターの役割を検討するために、連日の吸入2時間前にAG1478あるいはDMSOを点鼻投与し、1) DMSO点鼻/生食吸入、2) DMSO点鼻/OA吸入、3) AG1478点鼻/OA吸入、4) AG1295点鼻/OA吸入の3群に分類した。吸入開始後15日目に気管支肺胞洗浄を行い、洗浄液(BALF)中の細胞数と細胞分画をカウントした。採取した肺組織をhematoxylin-eosin (HE), elastica van Gieson (EVG), alcian blue/periodic acid-schiff (AB-PAS)にて染色し、好酸球浸潤、基底膜の肥厚、粘液産生細胞の増生などの変化を検討した。

C. 結果

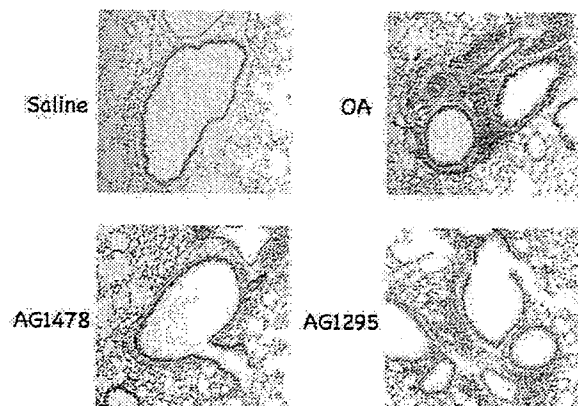
PBS群と比してOA群では好酸球を中心とした総細胞数の著明な増加を認めた。OA群、AG1478投与群、AG1295投与群における総細胞数はそれぞれ 264 ± 164 、 95 ± 62 、 130 ± 83 ($\times 10^4$ cells)であり、阻害薬投与群で減少傾向を認めるものの有意ではなかった。一方それぞれの群における好酸球数は 209 ± 151 、 46 ± 36 、 100 ± 70 ($\times 10^4$ cells)であり、OA群とAG1478群との間で有意差を認めた(図1)。

図1 BALFでの細胞分画



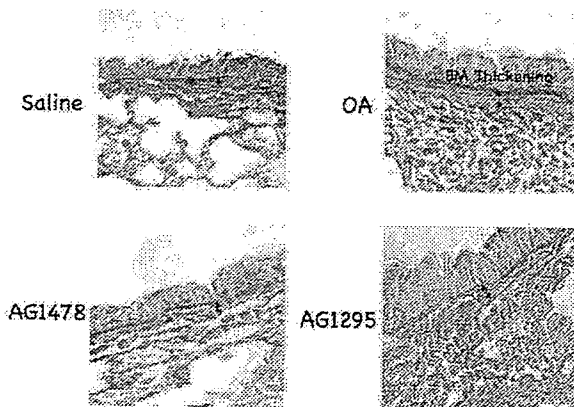
HE染色では、コントロールである生食群と比してOA群において有意に傍気道組織への炎症細胞浸潤を認めた。この炎症細胞浸潤は、AG1478前投与により明らかに抑制された。またAG1295投与群でも、同様な抑制効果を認めた(図2)。

図2 HE染色



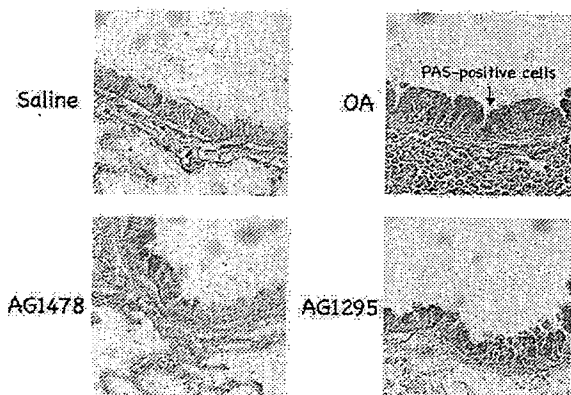
リモデリングの指標とされる気道壁の肥厚を、EVG染色により検討した。生食群と比してOA群では基底膜下の肥厚を認め、ピンク色に染色されるエラスチンの沈着が著明であった。この現象は、AG1478により明らかに抑制された。一方AG1295の抑制効果は、部分的であった(図3)。

図3 EVG染色



慢性持続性喘息では、杯細胞などによる粘液の産生が亢進する。そこでAB-PAS二重染色を行い、粘液産出に対するAG1478の効果を検討した。生食群と比してOA群では、有意に粘液産出細胞の増生を認めた。AG1478により、粘液産出細胞の陽性率は明らかに抑制された。一方AG1295の抑制効果は、部分的であった(図4)。

図4 AB-PAS二重染色



D. 考察

EGFやPDGFは気道上皮の増殖因子であり、さまざまな機能に関わっている。そのレセプターはチロシンキナーゼであり、リガンドが結合することにより活性化し、その下流にシグナルを伝達する。EGFRやPDGFRは他のレセプター刺激、例えばIL-13RなどのサイトカインレセプターやGタンパク共役型レセプターからの刺激でリガンド非依存性に活性化されることが報告されている。OA短期曝露によるAG1478の効果に関しては報告があり、気道過敏性と好酸球浸潤を抑制するとされている(AJPLCMP 285: L808-18, 2003)。今回の我々の系では、14日間連日のOA長期曝露により基底膜下肥厚と粘液産生が有意に抑制され、EGFRがリモデリングに深く関与することを示唆する。一方PDGFに関しては、OA感作ではなくDEP曝露のマウスモデルにおいて気道過敏性に関与することを報告した(JACI 107: 135-42, 2001)。今回のPDGFRの阻害ではOA曝露による現象を部分的に抑制したことから、AG1295のPDGFR以外の抑制効果も示唆される。

E. 結論

喘息リモデリングマウスにおいて、EGFRあるいはPDGFR阻害薬は抑制効果を認めた。本研究は喘息治療における増殖因子阻害薬の適応を模索するものであり、今回の結果は新しい治療戦略につながることを期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yamashita N et al. Role of CCL21 and CCL19 in allergic inflammation in the OA-specific murine asthmatic model. JACI 117: 1040-6, 2006.

Yamashita N et al. Involvement of GATA-3-dependent Th2 lymphocyte activation in airway hyper-responsiveness. AJPLCMP 290: L1045-51, 2006.

2・学会発表

なし

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）

分担研究報告書

気管支喘息症の重症度に関連する好酸球関連蛋白の機能とその遺伝子多型

分担研究者 鳥帽子田 彰 広島大学大学院医歯薬総合研究科公衆衛生学教授

研究協力者 中村 裕之 金沢大学大学院医学系研究科公衆衛生学教授

研究要旨:気管支喘息の重症化に関与する遺伝子を見いだすために、CCR2, CCR3, CCR5, Eotaxin/CCL11, Eotaxin-2/CCL24, Eotaxin-3/CCL26の遺伝子多型を、非難治化喘息症および健常人と比較した。対象は、難治群としてJGL98で規定されたStep 4の最重症の8例、非難治群としてStep 1-2の軽・中等症の16例、これらの対照としての健常人24例であり、これら3群において相関解析を実施した。その結果、CCR family 遺伝子多型とBAとの間に有意な関連が認められたのは、CCR3のT51Cであり、非難治型の51Cの頻度が、対照群に比し有意な高値を示したが、難治群と非難治群の間には有意な差は認められなかった。また CCL遺伝子について有意な関係が認められたのは、CCL26のT2497CとT2563Cであった。難治群のT2497CのTとT2563CのCの多型頻度が、非難治群のそれに比べ、有意に高いことが認められた。これらの対立遺伝子の多型頻度は、非難治群と対照群では有意な差は認められなかった。CCR3のT51CとCCL26のT2563Cを単独で用いたときの遺伝子診断を、組み合わせて用いたときの遺伝子診断と感度、特異度について比較した。CCR3の遺伝子多型T51Cは喘息症の発症との関係が、CCL26の遺伝子多型T2563Cは喘息症の難治化との関係が示唆された。喘息の難治化の発症機序には、CCR3遺伝子とCCL26遺伝子の相互作用によって引き起こされる可能性が示唆された。CCR3とCCL26のReceptor-ligandの関係を中心とした喘息症における機能解析が今後の課題である。

A. 研究目的

気管支喘息症(BA)の発症および難治化に関わる遺伝子を同定することで、難治性喘息症の診断法を確立し、予防法および治療法の開発、特に Tailer-made 医療の実現の礎を築くことを目的とした。これまで、我々は、CC chemokine receptor (CCR) family 遺伝子である CCR3 の T51C 多型と BA との間に有意な関連を認めたが、難治群と非難治群の間の差は認めることができなかった。本年度は、CCR の Ligand でもある CC chemokine ligand (CCL)

遺伝子多型を、非難治化喘息症および健常人と比較し、さらには CCR と CCL の遺伝子相互作用が喘息症の重症化に及ぼす影響の解明をも目的とした。

B 研究方法

東京都品川区五反田地区、京都市、山梨県牧丘町地区、金沢地区、富山地区において行われたアレルギー検診および病院研究によって、以下の対象者をリクルートし、患者対照研究を実施した。対象は、難治群として JGL98 で規定された Step 4

の最重症の8例(53.9±4.67歳、平均値±標準誤差)、非難治群としてStep 1-2の軽・中等症の16例(48.8±2.85歳)、これらの対照として、健常人24例(50.8±2.56歳)である。これらの3群の間に年齢差、調べた遺伝子は、CCR2, CCR3, CCR5、Eotaxin/CCL11, Eotaxin-2/CCL24、Eotaxin-3/CCL26

性差はなく、また難治群と非難治群の総IgE値(RIST)は、対照群に比べ有意な高値を示したが、難治群と非難治群の間には有意な差は認められなかった(表1)。

表1 対象の特性

群	人数	(平均値±標準誤差、歳)			合併症#
		年齢	(RIST, U/ml)	男女(比)	
対照	24人	50.8±2.56	74.0±10.7	11:13	(-)
非難治群	16人	48.8±2.85	482±135	7:9	(-)
難治群	8人	53.9±4.67	447±144	4:0	(-)

#花粉症、アトピー性皮膚炎、**p<0.01(対照群と比較したとき)

C 研究結果と考察

CCR family遺伝子多型とBAとの間に有意な関連が認められたのは、CCR3のT51Cであり、非難治型の51Cの頻度が、対照群に比し有意な高値を示したが、難治群と非難治群の間には有意な差は認められなかった(表2)。またCCL遺伝子について有意な関係が認められたのは、CCL26のT2497CとT2563Cであった。難治群のT2497CのTとT2563CのCの多型頻度が、非難治群のそれに比べ、有意に高いことが認められた。これらの対立遺伝子の多型頻度は、非難治群と対照群では有意な差は認められなかった(表3)。

重症化に対するCCR3とCCL26の相互作用を調べるために、CCR3のT51CとCCL26のT2563Cの組み合わせについて、人数分布を算出した(表4)。この際、CCR3のT51CではT51Tを正常、T51CあるいはC51Cのときを異常とし、CCL26のT2563Cでは、T2563Tのときを正常、T2563CあるいはC2563Cのときを異常とした。これを元に、CCR3のT51Cと

CCL26のT2563Cを単独で用いたときの遺伝子診断を、組み合わせて用いたときの遺伝子診断と比較した(表5)。感度についてはいずれも低いですが、喘息の診断のためには、CCR3のT51Cが比較的高く、CCL26のT2563Cを併せても用いてもそれほど変わらなかった。一方、重症化については、CCR3のT51Cを単独で用いたときより、CCL26のT2563Cを併せて用いた時の方の感度が25%から37.5%と低いながらも、かなり上昇が見られた。したがって、CCR3の遺伝子多型T51Cは喘息症の発症との関係が、CCL26の遺伝子多型T2563Cは喘息症の難治化との関係が示唆された。

D 結論

喘息の難治化の発症機序には、CCR3遺伝子とCCL26遺伝子の相互作用によって引き起こされる可能性が示唆された。CCR3とCCL26のReceptor-ligandの関係を中心とした喘息症における機能解析が今後の課題である。

表2 難治性喘息群、非難治性喘息群、対照群におけるCCR遺伝子群多型についての相関解析

Gene	Allele	Control (N=24)		Slight Asthma (N=16)		Severe Asthma (N=8)	
		Number	Frequency ¹⁾	Number	Frequency ¹⁾	Number	Frequency ¹⁾
CCR2	V64V	17	18.8	6	34.4	4	25.0
	V64I	5		9		4	
	I164I	2		1		0	
CCR2	T860T	15	18.8	9	21.9	4	25.0
	T860C	9		7		4	
	C860C	0		0		0	
CCR3	T51T	24	0	12	12.5*	6	12.5
	T51C	0		4		2	
	C51C	0		0		0	
CCR5	R223R	22	4.17	13	9.38	7	6.25
	R223Q	2		3		1	
	Q223Q	0		0		0	

1) Frequency of minor allele (%), Statistical significance in odds ratio compared to that in control, *p<0.05.

表3 難治性喘息群、非難治性喘息群、対照群におけるCCL遺伝子群多型についての相関解析

Gene	Allele	Control (N=24)		Slight Asthma (N=16)		Severe Asthma (N=8)	
		Number	Frequency ¹⁾	Number	Frequency ¹⁾	Number	Frequency ¹⁾
CCL11	Ala23Ala	19	12.5	11	15.6	7	6.3
	Ala23Thr	4		5		1	
	Thr23Thr	1		0		0	
CCL24	Ile29Ile	4	58.3	3	56.3	1	62.5
	Ile29Leu	12		8		4	
	Leu29Leu	8		5		3	
	G1387G	18	16.7	10	18.8	6	12.5
	G1387A	4		6		2	

	A1387A	2		0		0	
	G1520G	17	16.7	10	21.9	6	12.5
	G1520A	6		5		2	
	A1520A	1		1		0	
	C1923C	1	87.5	1	81.3	0	87.5
	C1923A	4		4		2	
	A1923A	19		11		6	
	G1926G	1	87.5	1	81.3	0	87.5
	G1926A	4		4		2	
	A1926A	19		11		6	
CCL26	G-57G	22	4.2	15	3.1	8	6.3
	G-57A	2		1		0	
	A-57A	0		0		0	
	C77C	11	31.3	7	31.3	4	25
	C77T	11		8		4	
	T77T	2		1		0	
	G140G	23	2.08	16	0	8	0
	G140A	1		0		0	
	A140A	0		0		0	
	T2497T	18	14.6	12	12.5	8	0*
	T2497G	5		4		0	
	G2497G	1		0		0	
	T2563T	23	2.08	16	0	5	25.0*
	T2563C	1		0		2	
	C2563C	0		0		1	

1) Frequency of minor allele (%), Statistical significance in odds ratio compared to that in control, *p<0.05.