

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

- 1 Tanaka A, Minoguchi K, Samson KT, Oda N, Yokoe T, Tazaki T, Yamamoto Y, Yamamoto M, Ohta S, Adachi M. Inhibitory effects of suplatast tosilate on the differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells from patients with asthma. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:1083-9.
- 2 Matsukura S, Kawaguchi M, Adachi M. The present situation and problems of asthma treatment. *日本薬理学雑誌* 2008;131:120-5.
- 3 Kawaguchi M, Adachi M. Side effects of inhaled corticosteroids *日本臨床* 2007;65:254-8.
- 4 Suzuki S, Kokubu F, Kawaguchi M, Homma T, Odaka M, Watanabe S, Ieki K, Matsukura S, Kurokawa M, Takeuchi H, Sasaki Y, Huang SK, Adachi M, Ota H. Expression of interleukin-17F in a mouse model of allergic asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;143:89-94.

- 5 Odaka M, Matsukura S, Kuga H, Kokubu F, Kasama T, Kurokawa M, Kawaguchi M, Ieki K, Suzuki S, Watanabe S, Homma T, Takeuchi H, Nohtomi K, Schleimer RP, Adachi M. Differential regulation of chemokine expression by Th1 and Th2 cytokines and mechanisms of eotaxin/CCL-11 expression in human airway smooth muscle cells. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;143:84-8.
- 6 Matsukura S, Kokubu F, Kurokawa M, Kawaguchi M, Ieki K, Kuga H, Odaka M, Suzuki S, Watanabe S, Homma T, Takeuchi H, Nohtomi K, Adachi M. Role of RIG-I, MDA-5, and PKR on the expression of inflammatory chemokines induced by synthetic dsRNA in airway epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;143:80-3.
- 7 Kawaguchi M, Kokubu F, Huang SK, Homma T, Odaka M, Watanabe S, Suzuki S, Ieki K, Matsukura S, Kurokawa M, Adachi M. The IL-17F signaling pathway is involved in the induction of IFN-gamma-inducible protein 10 in bronchial epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119:1408-14.

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

アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療の確立
及びその有効性と有害事象の評価に関する研究

分担研究者	棟方 充	福島県立医科大学医学部呼吸器内科学講座 教授
研究協力者	斉藤純平	同 助教
	佐藤 俊	同 助教
	谷野功典	同 助教
	石井妙子	同 大学院研究生
	仲川奈緒子	同 大学院研究生
	福原敦朗	同 大学院研究生
	猪腰弥生	同 大学院研究生
	斉藤香恵	同 大学院研究生

研究要旨

遷延性咳嗽を主訴とする外来受診患者 71 例を対象とし、身体所見を採取後、胸部 XP・呼吸機能・非特異的気道過敏性・誘発喀痰中炎症細胞分画を測定した。胸部 XP に異常なく、誘発喀痰中好酸球分画が 3%以上であり、かつ、可逆性気流閉塞あるいは非特異的気道過敏性を有し、他疾患が除外可能な患者を気管支喘息と診断した。同時に、総 IgE・抗原特異的 IgE・呼気 NO 測定を行い、気管支喘息群とそれ以外の群で各指標の比較を行った。各群の内訳は、気管支喘息群 48 例、非喘息群 23 例であった。喘息群は非喘息群と比較し、総 IgE、ダニ特異的 IgE が高値、%FVC と FEV1% が有意に低値であった。呼気 NO は喘息群 70ppb、非喘息群 19ppb と喘息群で有意に高値であった。多変量解析では両群の鑑別には呼気 NO が最も有用な使用であった。以上の結果から、気管支喘息の早期診断には呼気 NO が有用であり、これを喘息の診断基準に取り入れることにより喘息診断がより簡便で正確になる可能性が示唆された。

A. 研究目的

我々は、先の厚生労働省科学研究費補助金事業「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」にて、気管支喘息と確定診断された患者において、初発時症状と確定診断時症状とを比較検討した結果、咳嗽が初発時 307 例、確定時 314 例と最も一致率が高い事を見出した。本研究では、この結果に着目し、早期の気管支患者は遷延性咳嗽を訴える患者の中に存在すると考えた。このため、3 週間以上持続する咳嗽（遷延性咳嗽）を主訴に来院した患者を対象とし、呼吸機能、気道過敏性、誘発喀痰中好酸球、呼気 NO 等を測定し、喘息早期診断における呼気 NO の有用性を検討した。

B. 研究方法

1) 対象

3 週間以上続く遷延性咳嗽を主訴として当院外来を受診した患者で、本研究への参加へのインフォームドコンセントを頂けた 71 例（男性 39 例、女性 32 例）を対象とした。

2) 方法

外来にて、胸部聴診、胸部 XP、呼吸機能検査（スパイログラム：%FVC、FEV1%）、気道過敏性検査（アストグラフ法）、誘発喀痰（5%生理食塩水吸入）検査、血液検査（末梢血好酸球、総 IgE、特異的 IgE）等を行い、更に、呼気 NO を on-line 法（chemiluminescence NO analyzer、紀本工業、大阪）にて測定した。喀痰中好酸球増多（3%以上）を認め、呼吸機能検査にて可逆性気流閉塞（FEV1 の 12%以上の改善）あるいは気道過敏性亢進（ $D_{min} > 12.5$ ）を認める患者の内、他疾患（合併を含め）を除外可能であった患者を気管支喘息と診断し、喘息

群とした。それ以外の患者を非喘息群とし、両群間での呼気 NO の比較、ならびに両群を判別するために有用な指標を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は福島県立医科大学倫理委員会において承認され、本研究に参加したすべての患者からインフォームドコンセントを頂いた。

C. 研究結果

71 例の内訳は、喘息群 48 例、非喘息群 23 例であった。各指標の比較を表 1 に示す。喘息群は非喘息群と比較し、総 IgE、ダニ特異的 IgE が高値であり、%FVC と FEV1% が有意に低値であった。呼気 NO は喘息群 70ppb、非喘息群 19ppb と喘息群で有意に高値であった。

<表 1>

	喘息群 (n=48)	非喘息群 (n=23)	p-value
年齢(歳)	53 (47-58)	52(46-58)	0.85
性別(M/F)	27/21	12/11	0.75
身長 (cm)	161(158-164)	160(157-164)	0.71
体重 (kg)	63 (58-69)	67(61-72)	0.48
喫煙/非喫煙	11/37	6/17	0.77
FeNO (ppb)	70* (58-90)	19 (15-25)	<0.01
末血 Eo(/ μ l)	185 (101-341)	82 (41-163)	0.10
IgE (IU/ml)	140* (81-241)	53 (29-96)	0.03
IgE(ダニ)	1.3* (0.7-2.4)	0.4 (0.3-0.5)	<0.01
IgE(ネコ)	0.5 (0.3-0.7)	0.4 (0.3-0.4)	0.11
IgE(イヌ)	0.4(0.3-0.6)	0.4 (0.3-0.4)	0.36
IgE(スギ)	1.3(0.8-2.3)	1.6 (0.7-4.0)	0.67
%FVC	97.8+/-2.7*	109.6+/-4.7	0.02
FEV ₁ %	72.6+/-1.6*	80.0+/-2.0	0.01

Mean \pm /SE or (95% CI)

また、上記解析にて有意差を認めた指標を用いた multiple regression analysis では、呼気 NO が喘息群・非喘息群の鑑別に最も有用な指標として抽出された (OR 1535, $p < 0.002$)。また、ROC カーブから、喘息群・非喘息群を区別するための呼気 NO のカットオフ値は 38.8ppb であり、感度 79.2%、特異度 91.3%であった。

D. 考察

これまでの我々の一般学童 278 名ならびに一般成人 280 名における検討では、呼気 NO は総 IgE やダニ特異的 IgE と正の相関を示し、一秒率 (FEV1%) とは負の相関を示した。この結果から、呼気 NO はアレルギー性気道炎症の良い指標となること考えられる。今回、先の厚生労働省科学研究費補助金事業「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」にて、気管支喘息の初発症状として遷延性咳嗽が最も重要であることが判明したため、遷

延性咳嗽を主訴とする患者の中から、早期気管支喘息患者を抽出するために呼気 NO 測定が有用か否かを検討した。今回の検討では、まず、喀痰好酸球増多と可逆性気流閉塞あるいは気道過敏性を有する患者を喘息と定義し、喘息群と非喘息群を鑑別する最も有用な臨床指標を解析した。2 群間比較では、呼気 NO、総 IgE、ダニ特異的 IgE、%FVC、FEV1%などに有意差が認められ、末梢血好酸球は喘息群で高い傾向を認めた。しかし、多変量解析では呼気 NO が両群を鑑別する最も有用な指標として抽出された ($p < 0.002$)。また、ROC カーブから、喘息群・非喘息群を区別するための呼気 NO のカットオフ値は 38.8ppb であった。この値は、一般学童でアレルギー性気道炎症の有無を鑑別するための呼気 NO のカットオフ値 37.0ppb (感度 81.0%、特異度 64.6%)、一般成人での同様のカットオフ値 38.8ppb (感度 81.8%、特異度 85.7%) とほぼ同値であり、呼気 NO 40ppb 付近で喘息群、非喘息群が判別可能となるのではないかと考えられた。

今回の検討から、呼気 NO は発症初期の軽症気管支喘息患者でも有意な上昇が認められ、喘息早期診断において非常に有用な指標となりうることが示唆された。つまり、咳嗽・喘鳴・呼吸困難などの自覚症状を持つ患者で呼気 NO が上昇している場合は、初期の気管支喘息である可能性が高いと推測される。このため来年度は、自覚症状と呼気 NO を組み合わせた喘息早期診断基準を作成し、臨床的な喘息診断に応用した場合の有用性を評価する等の検討が必要になると考えられた。

E. 結論

気管支喘息の早期診断には呼気 NO が有用であり、呼気 NO 値を喘息の診断基準に取り入れることにより喘息の早期診断がより簡便かつ正確になる可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wang, X., Y. Ohtsuka, K. Kimura, H. Kaji, J. Saito, Y. Tanino, T. Ishida, and M. Munakata. 2008. Mannose-binding lectin gene polymorphisms and the development of coal worker's pneumoconiosis. *Am J Ind Med* (in press)
- 2) Inoue, K., X. Wang, J. Saito, Y. Tanino, T. Ishida, D. Iwaki, T. Fujita, S. Kimura, and M. Munakata. 2008. Plasma UGRP1 Levels Associate with Promoter G-112A Polymorphism and the Severity of Asthma. *Allergol Int* 57(1): 1-20.
- 3) Wang, X., J. Saito, Y. Tanino, T. Ishida, T. Fujita, and M. Munakata. 2007. Mannose binding lectin gene polymorphisms and asthma. *Clin Exp Allergy* 37(9): 1334-9.
- 4) Takahashi, T., I. Wada, Y. Ohtsuka, M. Munakata, Y. Homma, and Y. Kuroki. 2007. Autoantibody to alanyl-tRNA synthetase in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology* 12(5):642-53.
- 5) Saito, J., S. Sato, H. Hasunuma, Y. Ishimaru, H. Kanegae, S. Kudo, and M. Munakata. 2007. Off-line fractional exhaled nitric oxide measurement is useful to screen allergic airway inflammation in an adult population. *J Asthma* 44(10):805-10.
- 6) Kabuyama, Y., K. Oshima, T. Kitamura, M. Homma, J. Yamaki, M. Munakata, and Y. Homma. 2007. Involvement of selenoprotein P in the regulation of redox balance and myofibroblast viability in idiopathic pulmonary fibrosis. *Genes Cells* 12(11):1235-44.
- 7) Ishikawa, K., H. Kaneko, M. Oikawa, T. Ishii, M. Yoshikawa, O. Yamaguchi, S. Ishikawa, M.

Mitsugi, M. Munakata, and Y. Maruyama. 2007. Pulmonary capillary bleeding in a patient with severe left ventricular failure after acute myocardial infarction under anti-thrombotic therapy. *Intern Med* 46(11):721-6.

8) 石田 卓、棟方 充：アレルギー性気管支肺真菌症。 ”呼吸器疾患の最新の治療法 2007-2009” (工藤翔二他編)、南江堂、東京、p 332~334、2007.

9) 斎藤純平、棟方 充：気管支喘息診断と管理における呼気一酸化窒素測定の意義。呼吸器科、11 (5)、575-586、2007.

棟方 充：発症要因-喘息感受性遺伝子検索。喘息、20 (4)、4~8、2007.

2. 学会発表

1) Sato S, Saito J, Sato Y, Ishii T, Muroi M, Wang X, Tanino Y, Ishida T, Munakata M. : FeNO may be a useful marker to distinguish cough variant asthma from eosinophilic bronchitis without asthma. World Asthma Meeting. Istanbul, 2007.

2) 谷野功典、KAJIKAWA Osamu¹⁾、王 新涛、佐藤 俊、石井妙子、福原敦朗、斎藤香恵、猪腰弥生、斎藤純平、石田 卓、棟方 充、T.R.Martin、C.W.Frevert. 肺への好中球遊走に対する CXC-Chemokine と glycosaminoglycan の結合の役割. 第11回 Acute Lung Injury 研究会、東京、2007.

3) 佐藤 俊、斎藤純平、佐藤康子、石井妙子、室井美穂、王新涛、谷野功典、石田 卓、棟方 充：呼気 NO で咳喘息と非喘息性好酸球性気管支炎の鑑別が可能か？. 第3回呼吸器バイオマーカー研究会、東京、2007.

4) 谷野功典、Osamu Kajikawa¹⁾、王 新涛、佐藤 俊、斎藤純平、石田 卓、Thomas Martin、Charles Frevert、棟方 充. IL-8 のヘパリン結合能を増強すると肺への好中球遊走能は減弱する. 第10回間質性肺炎細胞分子病態研究会、東京、2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療の
確立及びその有効性と有害事象の評価に関する研究

分担研究者 森川 昭廣（群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学分野 教授）
研究協力者 望月 博之（群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学分野 講師）
荒川 浩一（群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学分野 講師）
水野 隆久（群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学分野 医員）
只木 弘美（群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学分野、
横浜市立大学大学院医学研究科発生成育小児医療学 大学院生）

研究要旨

小児気管支喘息治療の目標は健康な子ども達と同じ生活を送れることとされる。そのため、自己管理と個別化医療を行う上で重症度判定は必須である。しかし、問診や喘息手帳による保護者の評価は必ずしも適切ではなく、喘息重症度やコントロールの状態が医師に正しく伝わっていない場合が多い。そこで、本研究では児ならびに保護者に容易にかつ適切にそれらが取られているような喘息に関するチェック項目を作成し、質問用紙による判定が正確であるかを検討した。また客観的指標として呼気凝集液中のサイトカインや呼気NOが有用であるかを検討した。

A. 研究目的

小児気管支喘息の重症度を決定することは疾患の自己管理の上でも、個別に患者の特徴を決めて医療を行う上でも重要である。さらに、それらの結果は早期治療施行の判断材料となる。昨年度において、我々は、喘息の重症度や喘息コントロールの程度を正しく医師に伝える手段として児ならびに保護者に喘息に関する8つのチェック項目を用いて点数により喘息の重症度や治療ステップを把握する「小児気管支喘息判定のための問診表」を作成し検討した。本年はこれらを医療の現場で使用し患者自身と担当医師の両者に行いその差異について検討した。また、重症度判定の客観的指標として呼気凝集液中のサイトカイン量や呼気中NOの測定を行った。

B. 研究方法

- 1) 小児喘息重症度のための問診票
昨年度作成した重症度判定問診表（2歳以上）（表1）を保護者ならびに担当医に答えてもらい判定した。
- 2) 呼気凝集液中のサイトカイン測定と

呼気中NO

また、エコスクリーンを用いて呼気中水蒸気を収集し液中のサイトカインさらに呼気中のNOについて測定した。

C. 研究結果

1) 小児喘息重症度判定の問診表

現段階では発作のある季節に到達せずまだ十分な数は集められていないが、
i) いまだ喘息症状が十分にコントロールされていない患児が存在すること
ii) 日常生活や運動に支障を来している患児が存在すること
iii) 医師と喘息児の保護者でその判定に差異が認められた

2) 呼気凝集液中のサイトカイン測定と呼気中NO

i) 呼気凝集液中の炎症性サイトカイン
重症度判定の客観的指標として呼気凝集液中のサイトカイン量を検討した。学童以上では15分程度の安静呼気で十分量の凝集液採取が可能であった。しかし、乳幼児では検索の協力が得にくく、採血時の体位や鎮静について検討中である。

ii) 呼気中のNO

Chemiluminescence analyzer(Sievers Instrument)による on line 法と off line 法で eNO を測定しその間に明らかな相関関係が得られる方法を考案した (図)。

D. 考察

重症度の主観的指標であるアンケート、気道炎症の客観的指標である呼気凝集液中のサイトカイン測定、呼気中のNOの検討を行った。保護者と医師のアンケート調査では必ずしも一致率はよくなく更なる検討が必要と考えられた。すでに国際的にも Asthma Control Test (ACT) などが考えられており、これらを日本人にマッチするよう、または今回のアンケートを組み合わせる方法を使用する方法を考える必要がある。一方、客観的指標である後2者について、前者は必ずしも低年齢児では協力が得にくくまた十分なサンプルの採取が困難なことから、また凝集液中のサイトカイン量が少なく濃縮の必要があることが判明した。一方、呼気NOは気道炎症の良い指標であることが報告されており、我々の成績でも喘息と他の喘鳴性疾患の鑑別に有用であった。また、吸入ステロイド使用により明らかに減少することから治療の指標になることも考えられる。

E. 結論

重症度判定のさらなる改善と小児における客観的指標の確立は急務である。

病院名

記入年月日 年 月 日
記入者 (患者保護者、担当医)

小児喘息重症度判定のための問診表 (2歳以上)

1. 最近1ヶ月間における喘息症状がありますか?

最近1ヶ月間では、日中に咳や、胸苦しさ、または胸がゼイゼイ、ヒューヒュー鳴る喘息症状がありましたか。

- 1) 最近1ヶ月はないが、年に数回、季節性にある
- 2) 月に1回はあるか、週に1回未満
- 3) 週に1回以上だが毎日ではない
- 4) 毎日

2. 最近1ヶ月間に喘息により日常生活がうまくいかないことがありますか?

- 1) ない
- 2) 少ない
- 3) 毎日ではない
- 4) 毎日

3. 最近1ヶ月間に運動時に喘息症状が出たことがありますか?

- 1) 週に1回未満
- 2) 週に1回以上だが毎日ではない。
- 3) 毎日

4. 最近1ヶ月間に喘息治療に吸入ステロイド薬を使用していましたか?

- 1) はい
- 2) いいえ

5. 4. はいと答えた方のみ回答して下さい

吸入ステロイド薬の名前は何ですか?
(製品名:)

5' 吸入ステロイドの種類は何ですか?

- ・粉を吸い込むタイプ
- ・シュッと霧で吸い込むタイプ
- ・ネブライザーで液体を吸い込むタイプ

6. 4. はいと答えた方のみ回答して下さい

吸入ステロイドは1日に何吸入されていましたか?

(吸入/日)

- ・使用しているものに○を付けて下さい
(50 µg・100 µg・200 µg)

7. 4. はいと答えた方のみ回答して下さい

吸入ステロイド薬の使用状況についてお答え下さい

- 1) 毎日吸入していた

- 2) 時々吸入していた
- 3) あまり吸入していなかった

8. 最近1ヶ月間の吸入ステロイド薬以外の喘息治療を以下から選択して下さい

- 1) 気管支拡張薬
- 2) 抗アレルギー薬
(製品名:)
- 3) 名前は分からないが内服薬を定期的に使用
- 4) 名前は分からないが吸入薬を苦しい時のみ使用
- 5) 貼付薬を使用している

質問1~3で現在の臨床所見による喘息重症度を判定する
喘息予防・管理ガイドライン p7(表1-4)の長期管理薬の表を参照する

質問4~8から現在の喘息治療のステップを判定する
喘息予防・管理ガイドライン p105(表7-4)の長期管理薬の表を参照する

上記質問1~8から現在までの治療を考慮した喘息重症度を、小児気管支喘息治療・管理ガイドライン 重症度分類表(表2-1、2-3)を参照して決定し、重症度に応じた喘息治療を小児気管支喘息治療・管理ガイドラインの段階的薬物療法

に従い行う。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

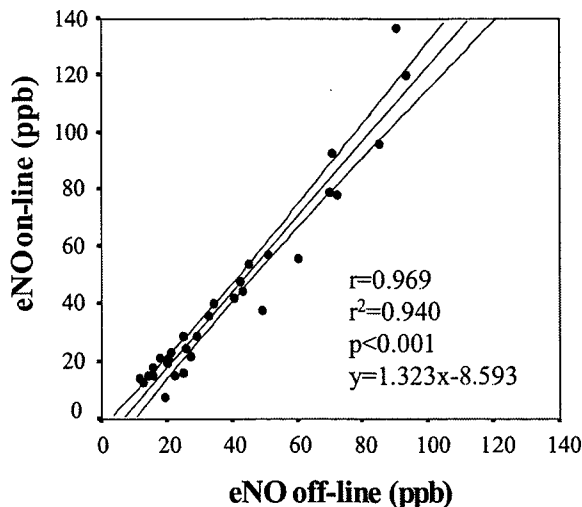
1) Tadaki H, Mochizuki H, Muramatsu R, Hagiwara S, Mizuno T, Arakawa H, Yokota S, Morikawa A. A flow-and pressure-controlled offline method of exhaled nitric oxide measurement in children. Ann Allergy Asthma Immunol.(in press)

2. 学会発表

1) 只木弘美、森川昭廣、望月博之、荒川浩一、水野隆久：小児における呼気中 NO 濃度測定法の検討. 第24回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会、東京、2007年5月26日

2) 只木弘美、森川昭廣、望月博之、荒川浩一、水野隆久：喘息児における呼気中一酸化窒素の検討:off-line法とon-line法の相関. 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、横浜、2007年6月10日

H. 知的財産権の出願・登録
なし



分担研究報告書

アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療法の確立及びその有効性と有害事象の評価に関する研究

分担研究課題名: 小児気管支喘息の早期診断・早期治療の指針の作成と評価および気管支喘息に関する遺伝子解析

分担研究者 近藤 直実 岐阜大学大学院医学系研究科 小児病態学 教授

研究協力者 松井 永子 岐阜大学医学部附属病院 小児科 講師

研究要旨

アレルギー疾患では、疾患のコントロールを得るために患者個々に応じた個別の治療戦略が必要になる。本研究では、小児気管支喘息における早期治療の指針を JPGL 最新版に基づき見直すこと、および小児気管支喘息の早期診断用の遺伝子検索キットを作成することを目的とする。

小児の気管支喘息の早期診断基準、重症度判定基準に基づいて気管支喘息と診断された場合に早期に基本的には小児気管支喘息管理ガイドライン 2005 に準じて治療を開始するが、幾つかの個別のマーカーをも指標とする早期治療指針を作成した。さらに、改訂のための文献収集を行っている。また、アレルギーの早期診断用の遺伝子検索キットは、遺伝子多型候補が明らかになり、その確認ののちプローブ作成をすすめた。

A. 研究目的

アレルギー疾患では、疾患のコントロールを得るために患者個々に応じた個別の治療戦略が必要になる。小児気管支喘息における早期治療の指針を JPGL 最新版に基づき見直すこと、および小児気管支喘息の早期診断用の遺伝子検索キットを作成することを目的とする。

(倫理面への配慮)

研究対象者には本研究の内容、方法および予想される結果について十分に説明し十分な理解(インフォームドコンセント)を得た上で採血が行なわれた。また、倫理面でも、結果による不利益は全く生じないか、または配慮が充分になされることから問題がないと判断された。

B. 研究方法

小児気管支喘息における早期治療の指針は、症状発現の早期に、症状の軽症の期間に治療的介入を行うことに関する文献を収集し、EBMを明らかにする。

アレルギーの早期診断用の遺伝子検索キットの作成は、インベーターアッセイ法を用いて候補となる遺伝子多型をパネル化し、検索を行う。

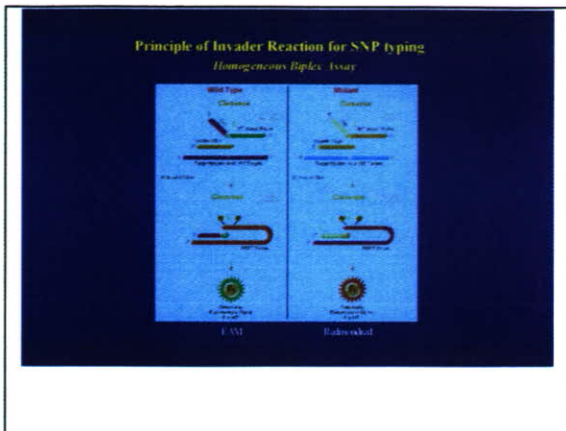
候補とした遺伝子多型は、MIF 1794CATT repeat, EGFR CA repeat, TGF- β 1 -509C/T, Fc ϵ R1 β -109T/C, PAI-1 4G/5G, UGRP1 -122G/A, IL-18 -133C/G, TARC -431C/T, MDC 5C/A である。これらに対し、インベーターアッセイ法を使用できるプローブ作成を試みている。

C. 研究結果

小児の気管支喘息の早期診断基準、重症度判定基準に基づいて気管支喘息と診断された場合に早期に次の方法によって治療(長期管理)を開始する。この場合の重症度は、治療の要素も含まれる。今回、基本的には小児気管支喘息管理ガイドライン 2005 に準じるが、幾つかの個別のマーカーをも指標とする早期治療指針を作成した。さらに、改訂のための文献収集を行っている。

アレルギーの早期診断用の遺伝子検索キットは、遺伝子多型が明らかになり、その確認ののちプローブ作成をすすめた。方法は図1のインベーターアッセイ法を用いる。

図1 インベーターアッセイ法



さらに、SNP 検出感度を確認後、患者のアレルギー歴の詳細が明らかであるDNAを用いて順次解析を進めていく。検討するSNP候補を表1、2に示す。

表1

発症に影響する因子：パネル2	
MIF	-173 G>C と -794 CATT repeat -173C/-794[7-CATT]:アトピー促進 -173G/-794[5-CATT]:防御
EGFR	CA repeat (S:16 ≥, L:16 <) SS & SL:喘息促進 LL:防御
TGF-β	-509 C>T:喘息促進
FcεRIβとPAI1	(-109T/Cと4G/5G) -109TTと5G5G:喘息防禦
UGRP1	-122G>A:アスピリン喘息促進
IL-13	2044A:アトピー促進 (Arg110Gln)
IL-18	-133C>G:アトピー促進

表2

悪化に影響する因子：パネル3	
TARC	-431 C>T -431TT:喘息悪化
MDC	5 C>A 5AA:喘息難治化(ステロイド内服)
TGF-β	-509 C>T -509CC:喘息寛解 -509TT:アトピー性皮膚炎軽症化
IL-18	-133 C>G -133GG:アトピー型喘息軽症化

D. 考察

主なアレルギー疾患には、気管支喘息、花粉症、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーが挙げ

られるが、いずれの疾患も国民の全年齢層にわたって増加傾向がみられ、多くの国民を苦しめている。いずれの疾患も治療する方法は明らかではなく、適切な治療戦略による疾患のコントロールが診療の目標となる。早期診断基準、早期治療指針、治療の有効性、安全性の判定基準が明確となることにより、治療の効率の改善と適正化の推進力となり、アレルギー疾患患者のみならず、その家族の負担を軽減することが可能となると考えられる。

E. 結論

早期診断基準、早期治療指針、治療の有効性、安全性の判定基準が明確となることにより、治療の効率の改善と適正化の推進力となると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Bai CY, Matsui E, Ohnishi H, Kimata K, Kasahara K, Kaneko H, Kato Z, Fukao T, Kondo N. A novel polymorphism in the 5-lipoxygenase gene associated with bronchial asthma in Japanese children. *Int J Mol Med* 21:139-144(2008)

2. 学会発表

近藤直実, 松井永子, 金子英雄, 深尾敏幸, 寺本貴英, 折居建治, 青木美奈子, 船戸道徳, 近藤 應, 小関道夫, 桑原愛美: シンポジウム 1: 小児科における薬物アレルギーの現状と対策. 日本アレルギー学会春季臨床大会 (第19回) (2007年6月10日~12日, 横浜)

川本典生, 深尾敏幸, 櫻井里美, 金子英雄, 新井隆広, 近藤 應, 青木美奈子, 松井永子, 白 春英, 張 改秀, 岩砂眞一, 近藤直実: ミニシンポジウム 3: 出生コホート研究による小児アレルギー疾患の発症に関わる因子の検討. 日本アレルギー学会春季臨床大会 (第19回) (2007年6月10日~12日, 横浜)

森田秀行, 金子英雄, 大西秀典, 松井永子, 近藤 應, 深尾敏幸, 近藤直実: ミニシンポジウム 12: 大豆アレルギー主要抗原 p34 のタンパク構造の解明と臨床応用. 日本アレルギー学会秋季学術大会 (第57回) (2007年11月1日~3日, 横浜)

大西秀典, 加藤善一郎, 李 愛蓮, 名田匡利, 相馬和佳, 松井永子, 金子英雄, 近藤直実, 柘尾豪人, 白川昌弘: シンポジウム 7: 分子生物学的アプローチの臨床へのインパクト IL-18 及びシグナル伝達系タンパク質構造解析に基づく創薬へのアプローチ. 日本小児アレルギー学会 (第44回) (2007年12月8日~9日, 名古屋)

森田秀行, 金子英雄, 大西秀典, 松井永子, 近藤 應, 川本美奈子, 深尾敏幸, 近藤直実: ワークショップ 1: 免疫寛容誘導のための食物アレルギー主要抗原タンパクの構造解明.

日本小児アレルギー学会（第44回）（2007年12月8日～9日、名古屋）

金子英雄、川本典生、深尾敏幸、松井永子、川本美奈子、櫻井里美、寺本貴英、近藤直実 ライフスパンからみたアレルギーの特徴と治療 2. 乳児～幼児期 小児臨床薬理・アレルギー・免疫研究会（第15回）（2007年1月27日～28日、東京）

金子英雄、近藤應、森田秀行、大西秀典、川本典生、深尾敏幸、松井永子、青木美奈子、寺本貴英、名田匡利、篠田紳司、近藤直実「気道アレルギーの評価と診断と治療の至適化」セッション III 治療の至適化 3. 食物アレルギーに対する経口減感作療法小児気道アレルギー研究会（第16回）（2007年3月11日、名古屋）

松井永子、金子英雄、青木美奈子、近藤 應、寺本貴英、篠田紳司、深尾敏幸、近藤直実：抗アレルギー薬のオーダーメイド使用に関する検討。日本小児科学会学術集会（第110回）（2007年4月20日～22日、京都）

新井隆広、金子英雄、川本典生、笠原貴美子、大西秀典、松井永子、近藤直実：温度変化がサイトカイン産生に及ぼす影響。日本小児科学会学術集会（第110回）（2007年4月20日～22日、京都）

櫻井里美、深尾敏幸、川本典生、金子英雄、新井隆広、松井永子、白 春英、張 改秀、岩砂眞一、近藤直実：イヌ・ネコの飼育が小児のアレルギー疾患の発症に与える影響の解析。日本小児科学会学術集会（第110回）（2007年4月20日～22日、京都）

金子英雄、鈴木啓子、金 栄、川本典生、深尾敏幸、松井永子、青木美奈子、新井隆広、名田匡利、近藤直実：IgA欠損症の病態と病因遺伝子の解析。日本小児科学会学術集会（第110回）（2007年4月20日～22日、京都）

金子英雄、松井永子、近藤直実：喘息の増悪化とその対応。増悪の予防 1. 小児 六甲カンファレンス（第27回）（2007年8月4日～5日、京都）

川本美奈子、大西秀典、金子英雄、深尾敏幸、松井永子、寺本貴英、森田秀行、笠原貴美子、近藤直実、白木 誠、岩砂眞一：母乳中のアレルギー発症に関わる因子の同定および解析。日本アレルギー学会秋季学術大会（第57回）（2007年11月1日～3日、横浜）

小関道夫、船戸道徳、大西秀典、松井永子、金子英雄、深尾敏幸、近藤直実：MRP1に対するロイコトリエン受容体拮抗薬の薬理作用と薬剤耐性克服への応用について。日本アレルギー学会秋季学術大会（第57回）（2007年11月1日～3日、横浜）

川本典生、深尾敏幸、櫻井里美、金子英雄、新井隆広、川本美奈子、近藤 應、松井永子、白 春英、岩砂眞一、近藤直実：出生コホート研究による小児アレルギー疾患の発症に関わる因子の検討—環境因子を中心に—。日本アレルギー学会秋季学術大会（第57回）（2007年11月1日～3日、横浜）

松井永子、森本将敬、金子英雄、深尾敏幸、近藤直実：TGF- β 1産生量とアレルギー疾患との関係についての検討。日本アレルギー学会秋季学術大会（第57回）（2007年11月1日～3日、横浜）

大西秀典、加藤善一郎、李 愛蓮、名田匡利、相馬和佳、松井永子、金子英雄、近藤直実、朽尾豪人、白川昌宏：MyD88

タンパク立体構造解析による新規シグナル伝達制御分子の開発。日本アレルギー学会秋季学術大会（第57回）（2007年11月1日～3日、横浜）

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

小児気管支喘息の早期診断・治療指針の作成と評価 に関する研究

分担研究者 眞弓 光文 福井大学医学部
病態制御医学講座小児科学 教授
研究協力者 大嶋 勇成 福井大学医学部
附属病院小児科 講師
塚原 宏一 同上

研究要旨：小児一般診療の場で有用な小児気管支喘息早期診断・治療指針を、日本小児アレルギー学会の小児気管支喘息ガイドライン（JPGL）との整合性を図りながら策定し、その妥当性、有用性を評価するため、JPGLの診断基準あるいは主治医判断により乳児喘息と診断された児116名（2007年9月末時点までで、現在も登録を継続中）を登録した。登録患者のうちJPGLおよび主治医判断の両方で喘息と診断されたのは70%で、一方でのみ診断されたのは15%だった。主治医判断でのみ診断された理由は、全例3回以上エピソードがないことであった。JPGLの診断の参考所見のうち吸入抗原特異的IgE、高IgE血症の有無は、本人に関しても約半数は不明で、家族に関しては情報がほとんど得られていないのが現状であった。次年度の追跡調査により、各診断基準の項目の有用性に応じた重み付けを検討することが、一般小児科診療の現場で有用な診断基準の診断精度を上げる上で重要と考えられた。

A. 研究目的

小児喘息の早期診断・早期治療を行うためには、小児喘息患者の多くが最初に呼吸器症状を呈する乳児期において喘息の診断を適切に行うことが重要となる。一方、発症早期の喘息患者の全てが喘息専門医を受診するわけではなく、その大部分は一般小児科医を受診することになる。そのため、小児気管支喘息の早期診断のためには、一般小児科医にとっても有用な乳児喘息の診断基準を確立することが重要となる。

本研究では小児一般診療の場で有用な小児気管支喘息早期診断・治療指針を、日本小児アレルギー学会の小児気管支喘息ガイドライン（JPGL）との整合性を図りながら策定し、その妥当性、有用性を評価することにより、一般小児科診療現場における気管支喘息の適切な早期診断・治療の普及を図る。

B. 研究方法

昨年度の本研究においてJPGL2005の乳児喘息の診断基準に加え、一般小児科医が実際に臨床現場で喘息を診断する際に考慮している事項を参考に乳児喘息の診断と治療、およびその予後を調査解析するため策定した研究プロコールに基づき、乳児喘息患者の登録を行う。

登録対象は、一般小児科診療の現場でJPGLの乳児喘息の診断基準あるいは主治医判断により乳児喘息と診断された2歳未満の患者を登録し、その診断根拠と診断時点

での治療内容をデータベース化し、次年度以降に追跡調査を行うことで、診断根拠とした各項目の妥当性と、診断時点での治療内容とその予後との関係を解析する。

（倫理面への配慮）

調査登録は、福井大学および研究協力施設のIRBや倫理委員会の承認を得た上で、研究目的・方法を患者保護者に説明し、同意を文書にて得た上で個人情報の保護に十分留意して実施する。

C. 研究結果

2007年9月末までの中間集計時点までで116名（男児82名、女児34名）の登録を完了した（現在も登録を継続中）。登録患者のうちJPGLおよび主治医判断の両者ともで喘息と診断されたのは81名（70%）で、JPGLのみで診断されたのは18名（15.5%）、主治医判断のみでは17名（14.7%）だった。JPGLと主治医判断の両方で喘息と診断された児のうち17名（21%）はJPGLによる診断時期が主治医判断より遅く、逆に主治医判断による診断がJPGLによる診断より遅いのは8名（10%）だった。診断時の重症度では、両者ともで喘息と診断された群では持続型症例が多いのに対し、JPGLあるいは主治医判断のどちらか一方によってのみ診断された群では間欠型の割合が多い傾向を認めた。

JPGLで喘息とされるが主治医判断で喘息と診断されない理由としては、気道非感染時に喘鳴がない17名（94.4%）、呼吸困難がない9名（50%）、呼気の延長がない

7名(38.9%)、喘鳴の原因が別の疾患と診断される8名(44.4%)があげられた。別の診断名としては、喘息性気管支炎3名、気管支炎4名、肺炎1名であった。一方、主治医判断では喘息と診断されるがJPGLでは診断に至らない理由は、全例3回以上エピソードがない、呼吸性喘鳴があきらかでない1名(5.9%)ことであった。

主治医判断で喘息と診断したエピソードは大発作に相当する症状7名、中発作に相当する症状5名、小発作に相当する症状5名であった。

JPGLでの診断の参考所見として該当するものとしては、家族歴のなかでは兄弟姉妹の喘息が最も陽性率が高く27.5%で、本人の既往歴の中では β 2刺激薬吸入による改善が83.6%、気道感染がないときの喘鳴が48%、アトピー性皮膚炎の既往が26.7%だった。しかし、吸入抗原特異的IgE、高IgE血症の有無は、本人に関してもでも約半数は検査が行われておらず不明で、家族の吸入抗原特異的IgE、高IgE血症の有無に関しては情報がほとんど得られていないのが現状であった。本人の総IgEは検査されているもののうち82.8%は高IgE血症ありと判定されているが、吸入抗原特異的IgE値は測定されているもののうち52%しか陽性になっていなかった。

また、JPGLでのみ診断された症例では、参考所見の陽性項目数が主治医判断のみで診断された症例や両者で診断された症例より少ない傾向を認めた。

D. 考察

JPGL2005の乳児喘息の診断基準で診断に有用な所見として上げられている項目のうち、家族の吸入抗原特異的IgE、高IgE血症は一般小児科臨床の現場ではほとんど確認できておらず、実際の一般小児科の診療現場において診断の参考所見としての有用性は低いと考えられた。

患児自身の吸入抗原特異的IgEや高IgE血症の有無に関しても検査実施率が低く、その原因として、乳児において採血量を多く必要とするIgE検査は軽度の症状しか呈していない場合に実施しにくいことや、保険請求上の診療点数の問題、年少期に実施しても吸入抗原特異的IgEが陽性となりにくい可能性が上げられた。実際に測定された症例においても吸入抗原特異的IgEが陽性となったのは約半分の症例にすぎず、吸入抗原特異的IgEが年少期に陰性であっても経過と共に陽性化しないかどうか、陰性例がその後典型的な喘息患者とならず、経過と共に喘鳴を呈さなくなるような一過性喘鳴患者であったかどうかを追跡調査により明らかにすることで、吸入抗

原特異的IgEを診断の参考と上で有効な採血時期とその妥当性を検証する必要があると考えられた。

JPGLの診断基準でのみ診断された症例は、気道感染に関連した喘鳴患者が多く、実際には診断に有用とされる参考所見の陽性項目数が少なく、「喘鳴のエピソードが3回以上」の項目のみが過大評価されてしまう可能性が考えられた。その一方で、「喘鳴のエピソードが3回以上」を厳密に適応した場合、喘息の診断時期が遅れてしまう症例が21%出てしまうことになり、早期診断の観点からは喘鳴のエピソードの回数にとらわれてしまうことは問題と考えられた。

JPGLで喘息とされるが主治医判断で喘息と診断されない症例において、喘鳴の診断名として喘息性気管支炎が用いられている症例が3名存在していた。喘息性気管支炎の疾患概念自体がかなり曖昧であることから、喘息性気管支炎患者に対し、喘息としての治療を行うことが予後の点で有用か否かを、追跡調査により明らかにしていくことが重要と考えられた。

登録患者の経過追跡により、主治医判断による喘息の診断とJPGLによる診断基準の妥当性を検証することにより診断基準にあげられる各項目の重要性を検証する必要があると考えられた。

E. 結論

乳児喘息の診断基準の妥当性を検証するための患者登録とデータベースを作成した。喘息症状の追跡調査により、各診断基準の項目の有用性に応じた重み付けを検討することが、一般小児科診療の現場で有用な診断基準の診断精度を上げる上で重要と考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohshima Y, Yamada A, Tokuriki S, Yasutomi M, Omata N, Mayumi M. Transmaternal exposure to bisphenol A modulates the development of oral tolerance. *Pediatr Res* 62:60-64(2007)
- 2) Tokuriki S, Ohshima Y, Yamada A, Ohta N, Tsukahara H, Mayumi M, Leukotriene D4 enhances the function of endothelin-1-primed fibroblasts. *Clin Immunol* 125:88-94(2007)

- 3) Kobata R, Tsukahara H, Ohshima Y, Ohta N, Tokuriki S, Tamura S, Mayumi M. High levels of growth factors in human breast milk. *Early Hum Dev*. 84:67-9 (2008)
- 4) Tsukahara H, Mayumi M, et al. Determination of asymmetric dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in umbilical blood. *Metabolism* (in press)
- 5) Omata N, Ohshima Y, Yamada A, Yasutomi M, Tokuriki S, Mayumi M. A case of milk-protein-induced enterocolitis associated with enterotoxigenic E coli and MRSA infections. (in press)
- 6) 眞弓光文 小児喘息の早期診断と治療. *アレルギー* 56: 1498-1501(2007)
- 7) 眞弓光文 喘息治療のエッセンシャルズ 2) 小児(特に学童)喘息について *呼吸器科* 11: 465-473(2007)
- 8) 眞弓光文 小児気管支喘息治療・管理ガイドライン 2005 をどう読むか 第 9 章 乳児喘息の急性発作への対応と長期管理 *日小ア誌* 21: 228-234(2007)
- 9) 大嶋勇成 アレルギー性炎症の発症機序 *日児誌* 111:16-22(2007)
- 10) 大嶋勇成 気道構成細胞と喘息 樹状細胞 喘息 20:17-21(2007)
- 11) 大嶋勇成 小児気管支喘息の急性発作への対応と治療: 救急外来・病院での対応 *Pediatric Allergy for Clinicians* 3:19-21(2007)
- 12) 大嶋勇成 日韓招待講演報告: Roles of dendritic cells in allergic inflammation: A new therapeutic target for bronchial asthma. *日小ア誌* 21:345-352(2007)
- 13) 大嶋勇成 アレルギー疾患に対する免疫療法の現状と展望 *日小ア誌* 21:263-270(2007)
- 14) 大嶋勇成, 眞弓光文 衛生仮説とその検証呼吸器コメンディーズの診療: 気管支喘息のすべて p67-71(2007) 大田健、一ノ瀬正和編文光堂
- 影響第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2007.6.10-12 横浜
- 4) 大嶋勇成, 山田彰子, 徳力周子, 眞弓光文 ロイコトリエン D4 が線維細胞機能におよぼす抑制効果 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2007.11.1-3 横浜
- 5) 山田彰子, 大嶋勇成, 徳力周子, 眞弓光文 CD8+ T 細胞による即時型食物アレルギー症状抑制効果の検討 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2007.11.1-3 横浜
- 6) 足立雄一, 村上巧啓, 中村利美, 谷江内昭宏, 大嶋勇成, 眞弓光文 外来での簡単な問診票を導入することによる喘息ガイドラインに則した治療推進の効果 第 44 回日本小児アレルギー学会 2007/12/8,9 名古屋
- 7) 眞弓光文. 気管支喘息の病態と治療. 栃木県小児アレルギーフォーラム 2007 特別講演. 2007. 7. 26. 宇都宮.
- 8) 眞弓光文. 小児喘息の病態と治療. 第 4 回熊本喘息シンポジウム特別講演. 2007. 9. 21. 熊本.
- 9) 眞弓光文. こどものアレルギー. 第 6 回港北子ども健康フォーラム特別講演. 2007. 9. 29. 横浜.
- 10) 眞弓光文. 小児喘息の病態と治療. 第 25 回大和アレルギー研究会特別講演. 2007. 10. 19. 奈良.
- 11) 眞弓光文. 小児気管支喘息の病態と治療. 第 95 回富山県小児科医会懇話会特別講演. 2007. 11. 25. 富山.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

2. 学会発表

- 1) 眞弓光文. 小児喘息の早期診断と治療. 第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会教育講演. 2007. 6. 11. 横浜.
- 2) 眞弓光文. 小児アレルギー疾患の病態と薬物治療. 日本耳鼻咽喉科学会第 55 回中部地方部会連合会セミナー. 2007. 7. 21. 福井.
- 3) 大嶋勇成, 山田彰子, 徳力周子, 眞弓光文 ミニシンポジウム: 小児気管支喘息の治療・管理 ER型救急診療体制での小児喘息患者の発作時対応の問題点と JPGL2005 の

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

アレルギー性鼻炎の個別化治療を目指した早期診断基準と早期治療法の確立に向けた取り組み

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 米倉 修二 千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉・頭頸部外科 医員
國井 直樹 千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉・頭頸部外科 医員
櫻井 大樹 千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉・頭頸部腫瘍学 助教
井上 寛規 千葉大学大学院医学研究院 公衆衛生学
鈴木 洋一 千葉大学大学院医学研究院 公衆衛生学准教授
下条 直樹 千葉大学大学院医学研究院 小児病態学 講師

研究要旨

小児喘息、アトピー性皮膚炎など他のアレルギー疾患との相互関連を検討するため、これらの疾患にて小児科通院中の患児の継時的な調査からアレルギー性鼻炎の合併、発症について検討を行った。耳鼻咽喉科初診時、喘息患児 45 名中 67% に喘息合併のないアトピー性皮膚炎患児 40 名中 48% にアレルギー性鼻炎の合併がみられた。喘息合併の無かったアトピー性皮膚炎患児のうち 2 年以上経過が追えている 23 名中 6 名でこの間に喘息発症がみられたが、6 名全例でアレルギー性鼻炎の発症が喘息に先行していた。また、アレルギー性鼻炎に関わる遺伝的要因の検討のため、学校検診で同意の得られた小学生児童 150 名から採血を行い、IgE 抗体検査と MMP-9 遺伝子に注目して SNP 解析を行った。スギ花粉症患児では対照とした非アトピー児と比較して intron4 の 2127G/T の GG+GT、exon12 の 5546G/A の GA+AA の割合が有意に GG と比較して低値を示し、MMP-9 遺伝子の多型が小児スギ花粉症の感受性遺伝子であることが示唆された。

研究目的

アレルギー性鼻炎は喘息、アトピー性皮膚炎などとの合併率が高いことが知られているが、従来より通年性アレルギー性鼻炎はアトピー性皮膚炎や喘息の発症後に 10 歳前後で発症することが多いとされていた。しかし、最近アレルギー性鼻炎は患者の増加と共に、通年性アレルギー性鼻炎のより低年齢での発症がみられること、若い成人での発症が中心とされていた花粉症も小児での発症が決して稀ではなくなっている。アレルギー性鼻炎に対する適確な早期診断、早期治療をはかるには、発症時期の検討、喘息やアトピー性皮膚炎など他のアレルギーとの正確な相互関連を明らかにする必要がある。また、アレルギー性鼻炎の発症には様々な遺伝要因、環境要因の関与が想定されるが、個別化医療、早期介入にはこのような様々な要因を明らかにしていく必要がある。

研究方法

1. 千葉大学小児科アレルギー外来に喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーにて通院する全患児の保護者に耳鼻咽喉科受診によるアレルギー性鼻炎の診察と、小児科のみならず耳鼻

咽喉科での定期受診を御願ひした。89 名の患児が耳鼻科を受診し、鼻汁スメア検査を含む診察を受け、以後数ヶ月毎の定期診察を受けて、アレルギー性鼻炎の合併、発症について検討を行った。

2. 山梨県農村部の 4 小学校で本年 6 月～7 月に学校検診を行い、保護者及び本人から同意の得られた児童 150 名から採血を行い、IgE 抗体検査、MMP-9 遺伝子に注目して SNP 解析を行った。喘息患者で指摘されている intron4 の 2127G/T の SNP1、exon12 の 5546G/A の SNP2 について解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究を遂行するにあたり、調査対象者あるいは対象患者から十分な了解を得ることとし、文書による同意を得て行った。特に小児が対象となるため保護者に十分な説明を行い文書による同意を得て行われた。提供される血液、遺伝子解析に際しては、研究の方法、必要性、危険性および有用性、さらに拒否しても不利益にならないことを十分説明した後、保護者から同意の得られた場合にのみ行った。

これらの検討は学内の倫理委員会及び生命倫理委員会に申請し、許可を得て行われた。

C.研究結果

1. 千葉大学耳鼻咽喉科初診時に受診した89名中喘息患児45名(平均5.3歳)中アレルギー性鼻炎の合併は67%に、喘息合併の無いアトピー性皮膚炎あるいは食物アレルギーの患児40名(平均2.8歳)中48%にアレルギー性鼻炎の合併がみられた。喘息合併の無いアトピー性皮膚炎患児のうちこれまで2年以上経過を追えた23例中、この間に6例に喘息の発症がみられたが、この6例は全例喘息発症前にアレルギー性鼻炎の合併がみられていた。一方、耳鼻咽喉科初診時にアレルギー性鼻炎の合併がみられなかった小児喘息あるいはアトピー性皮膚炎患児でやはり2年以上経過を追えた16名中9名にこの間アレルギー性鼻炎の発症がみられたが、この9例全例でハウスダストに対する抗体価の上昇がみられていた。
2. MMP-9とアレルギー性鼻炎との関連をみたところ、スギ花粉症患児では対照とした非アトピー児(検査6項目の抗原に対するCAP-RASTが陰性、症状なし)と比較して、SNP1のGG+GT、SNP2のGA+AAの割合が有意にGGと比較して低値を呈していた。一方、ダニ通年性アレルギー性鼻炎ではこのようなMMP-9との関連は認められなかった。

D.考察

通年性アレルギー性鼻炎は喘息合併のないアトピー性皮膚炎や食物アレルギーの患児の約50%に発症がみられていた。またProspectiveな検討からアレルギー性鼻炎の発症は喘息発症に先行することが認められた。アレルギー性鼻炎に対する早期介入が喘息発症を抑制する可能性もこのようなProspectiveな検討から示唆された。アレルギー性鼻炎の発症には特異IgE抗体価の上昇がみられ、この抑制がアレルギー性鼻炎発症の抑制に働く可能性が示唆される。

一方、MMP-9遺伝子の多型は、小児スギ花粉症の感受性遺伝子であることが示唆されるが、ダニ通年性アレルギー性鼻炎との関連は明らかではなかった。

E.結論

アレルギー性鼻炎が喘息発症に先行することがみ

られ、アレルギー性鼻炎に対する早期介入が喘息発症の抑制に働き、一方アレルギー性鼻炎の発症には特異抗体価の上昇がみられ、IgE抗体価の上昇の抑制が鼻炎発症を抑制する可能性がある。MMP-9遺伝子の多型は小児スギ花粉症の感受性遺伝子であることが示唆される。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1.論文発表

- ・岡本美孝, 米倉修二, 大川徹, 堀口茂俊, 茶菌英明, 國井直樹, 山本陸三朗. 小児アレルギー性鼻炎の疫学調査の問題点(2007). 小児耳鼻咽喉科 27: 62-66, 2006.
- ・岡本美孝. (2007)小児アレルギー性鼻炎治療の今後の展望. JOHNS 23:233-236.

2.学会発表

- ・米倉修二, 大川徹, 吉江うらら, 堀口茂俊, 岡本美孝, 下条直樹: アレルギー性鼻炎と喘息、アトピー性皮膚炎との関連について—検診からの検討—. 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2007年6月, 横浜
- ・米倉修二, 大川徹, 吉江うらら, 堀口茂俊, 岡本美孝, 下条直樹: アレルギー性鼻炎から見た喘息、アトピー性皮膚炎との関連. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2007年11月, 横浜
- ・Yonekura S., Sasaki K., Horiguchi S., Okawa T., Okamoto Y.: Effect of daily intake of Lactobacillus paracasei strain KW3110 on Japanese cedar pollinosis. The 9th 2007 Japan-Taiwan Conference., 2007, November, Sendai.

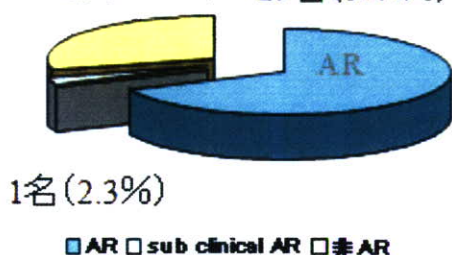
H.知的財産権の出願・登録状況

なし

疾患別アレルギー性鼻炎 (AR) 罹患率

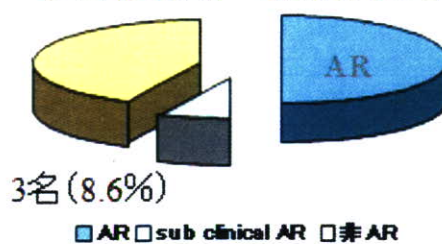
喘息患児

43名 平均年齢 5.3歳
13名 (30.2%) 29名 (67.4%)*



食物アレルギー and/or アトピー性皮膚炎患児 (喘息なし)

35名 平均年齢 2.8歳
13名 (37.1%) 19名 (54.3%)**



喘息合併のなかったアトピー性皮膚炎患児で2年経過を追えた23名のうち6名がこの間に喘息を発症
—6名ともアレルギー性鼻炎の発症が先行

		喘息発症あり	喘息発症なし
アレルギー性鼻炎あり	初診時よりアレルギー性鼻炎あり	3	6
	経過観察中にアレルギー性鼻炎発症	3	6
アレルギー性鼻炎なし		0	5

厚生労働省研究費補助金 (免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業
「アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と
早期治療法の確立及びその有効性と有害事象の評価に関する研究」)
分担研究報告書

アトピー性皮膚炎患者の角層神経成長因子に関する研究

分担研究者 池澤善郎 横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学 教授

研究要旨

乾燥や機械的刺激により表皮ケラチノサイトにより産生された神経成長因子 (NGF) は、真皮上層の神経 c-fiber の表皮内伸長を促し、かゆみの閾値を低下させることが知られている。これまでにアトピー性皮膚炎 (AD) 患者の血液中や皮膚において、NGF の産生亢進が証明されている。本研究では、テープストリッピング法を用いて AD 患者および健康人の角層を採取し、角層中の NGF を測定して AD の重症度と皮膚 NGF 値との関連および治療前後の皮膚 NGF 値の変化について検証した。その結果、AD 患者の角層における NGF は健康人と比較して有意に高値であること、皮膚炎 (紅斑、落屑) の重症度や全身のかゆみの程度、血清 LDH 値、末梢好酸球数と相関すること、治療により NGF 値は有意に低下することが示された。以上より、角層 NGF のテープストリッピング法による測定は、その非侵襲性と皮膚炎やかゆみとの相関性から、今後 AD 治療におけるバイオマーカーとなりうるものと思われた。

A. 研究目的

表皮ケラチノサイトは乾燥や機械的刺激により神経成長因子 (NGF) を産生することが知られている。NGF は真皮上層の神経 c-fiber の表皮内伸長を促し、かゆみの閾値を低下させると推察されている。また、NGF は直接肥満細胞に作用してヒスタミンの遊離を促進するとされる。アトピー性皮膚炎 (AD) 患者では末梢血中や尿中の NGF が高値であることが報告されており、表皮における NGF の産生亢進が免疫組織学的に証明されている。これまでに、皮膚 NGF の簡便な定量法は開発されておらず、AD の重症度やかゆみの強さと皮膚 NGF 値との関係も検討されていない。本研究では、AD 患者および健康人の角層をテープストリッピング法という非侵襲的方法をもちいて採取後 NGF を測定し、皮膚炎の重症度と皮膚 NGF 値との関連および治療前後の皮膚 NGF 値の変化について検証した。

B. 研究方法

1. 対象：AD 患者 33 人 (男性 20 人、女性 13 人、平均年齢 27.9 歳)、および健康人 9 人 (男性 4 人、女性 5 人、平均年齢 34.7 歳) で、本研究に文章で同意を得られたものとした。

2. 角層の採取および皮疹の評価：前腕屈側の皮膚にセロハンテープ (3M) を貼布し、角層を採取した。採取部の皮膚は紅斑、丘疹、落屑/乾燥、糜爛/痂皮、苔癬化についてそれぞれ 0-4 段階で評価した。全身の痒みはかゆみスコアと visual analogue scale (VAS) を用いて評価した。治療前、治療開始 2 週間後および 4 週間後にこれらの評価

と角層の採取および NGF の測定を行った。なお、治療は抗ヒスタミン薬の内服、strong class までのステロイド外用薬および白色ワセリンなどの保湿剤の外用を行った。ステロイド薬の内服や免疫抑制薬の内服・外用は行わなかった。

3. NGF の定量：NGF の定量は角層から蛋白質を抽出し、市販の ELISA キットを用いて以下の方法で行った。

角層を採取した粘着テープを細切し、PBS (-) を加えたのち超音波で処理し、遠心分離 (12000rpm、15 分) 後、上清を回収した。この上清中の NGF を sandwich ELISA キット (Promega, NGF E_{MAX} ImmunoAssay System) で測定した。また上清中の蛋白質の定量を行い、NGF 量を角質蛋白質量で割った値で表した。

なお、本研究は横浜市立大学医学部倫理委員会の承認を受けたものである。

C. 研究結果

1. 患者背景：治療前の AD 患者の末梢好酸球数は $1004 \pm 1207/\mu\text{L}$ 、血清 IgE 値は $6754 \pm 9963 \text{ U/mL}$ 、血清 LDH 値は $300 \pm 94 \text{ U/L}$ であった。角層採取部位の total skin score は 12.7 ± 4.2 であった。

2. AD 患者と健康人との NGF の比較：AD 患者 33 名の角層における NGF は $437.7 \pm 677.4 \text{ pg}/\mu\text{g}$ であり、健康人の値 ($4.4 \pm 5.5 \text{ pg}/\mu\text{g}$) と比較して有意に高値であることが示された ($p < 0.001$, Mann-Whitney U test)。

3. NGF と皮膚所見および検査値との相関：NGF 値は皮膚炎の重症度、紅斑や落屑、全身のかゆみの程度、血清 LDH 値、末梢血好酸球数と相関した。血清総 IgE 値とは相関しなかった (図)。

4. NGF の治療前後における変化: 治療前後で NGF を測定可能であった患者は 26 名であった。治療による皮膚炎の軽快とともに NGF 値は治療開始時の $369.3 \pm 510.9 \text{ pg}/\mu\text{g}$ から 2 週間後には $22.0 \pm 25.9 \text{ pg}/\mu\text{g}$ 、4 週間後には $23.1 \pm 65.5 \text{ pg}/\mu\text{g}$ と有意に低下した。(p<0.01)

D. E. 考察および結論

AD 患者皮膚における表皮内の c-fiber の伸長は痒みの閾値を低下させ、かゆみによる搔破行動を惹起させることにより皮膚炎のさらなる悪化をもたらす。皮膚における NGF の産生亢進は c-fiber の伸長を促進することから、AD における悪化要因のひとつと考えられている。これまで、血液や尿中の NGF は測定されていたが皮膚 NGF の定量は行われていなかった。本研究によって、AD 患者の表皮ケラチノサイトによる NGF の産生亢進が定量的に示された。また、その値は皮膚炎の重症度やかゆみの強さおよび末梢血好酸球数と相関がみられたが血清 IgE 値とは相関しなかったことは、短期間の AD の病勢を反映しているものと思われた。さらに治療とともに 2 週間という早期に NGF 値が低下したことから、角層の NGF 定量は今後 AD 治療におけるバイオマーカーとなりうるものと思われた。特に、今回用いた角層 NGF のテープストリッピング法による測定は、その非侵襲性により頻回に採取測定が可能であることから臨床的有用性が高いものであり、今後の発展が期待される。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表 (平成 19 年度)

1. 論文発表

Kaoru Ohtaki, Michiko Aihara, Hinako Takahashi, Hiroyuki Fujita, Kazuo Takahashi, Toshiya Funabashi, Tsutomu Hirasawa, Zenro Ikezawa: Effects of tributyltin on the emotional behavior of C57BL/6 mice and the development of atopic dermatitis-like lesions in DS-Nh mice, J Dermatol Science, 47:209-216, 2007.

2. 学会発表

1) 山口絢子, 相原道子, 小林雄輔, 池澤善郎: A quantitative analysis of nerve growth factor (NGF) in the horny layer of atopic dermatitis and effects of treatments on NGF. (アトピー性皮

膚炎の経過における角層内神経成長因子の定量的検討と治療の影響). 日本研究皮膚科学会第 32 回年次学術大会・総会, 横浜, 2007,4.

2) 大瀧 薫, 相原道子, 高橋日奈子, 藤田浩之, 高橋一夫, 船橋利也, 平沢 勉, 五嶋良郎, 池澤善郎: トリブチルスズ経口摂取による C57BL/6 マウスの情動行動の変化と DS-Nh マウスにおけるアトピー性皮膚炎様皮疹への影響. 日本研究皮膚科学会第 32 回年次学術大会・総会, 横浜, 2007,4.

3) 蒲原 毅, 田中良知, 立脇聡子, 中村和子, 田中貴美代, 猪又直子, 池澤善郎: 乳幼児のアトピー性皮膚炎の有症率に関する研究(第 2 報). 第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 横浜, 2007,6.

4) 蒲原 毅, 立脇聡子, 田中良知, 中村和子, 井上雄介, 田中貴美代, 池澤善郎: 乳幼児期アトピー性皮膚炎の有症率に関する研究(第 3 報). 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 横浜, 2007,11.

5) 田中良知, 蒲原 毅, 井上雄介, 立脇聡子, 中村和子, 田中貴美代, 池澤善郎: 地域の乳幼児アトピー性皮膚炎は、本当は増えているのか? 減っているのか?. 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会(ミニシンポジウム), 横浜, 2007,11.

6) 田中良知, 蒲原 毅, 井上雄介, 立脇聡子, 中村和子, 田中貴美代, 池澤善郎: 乳幼児アトピー性皮膚炎における定点調査の有用性の検討. 第 37 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 名古屋, 2007,12.

7) 山根裕美子, 森山佳谷乃, 安田知永, 宮田 智, 相原道子, 宮崎 香, 池澤善郎: アトピー性皮膚炎患者の症状を判定する新規マーカータンパク質の開発. 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会(ミニシンポジウム), 横浜, 2007,11.

1. 特許取得

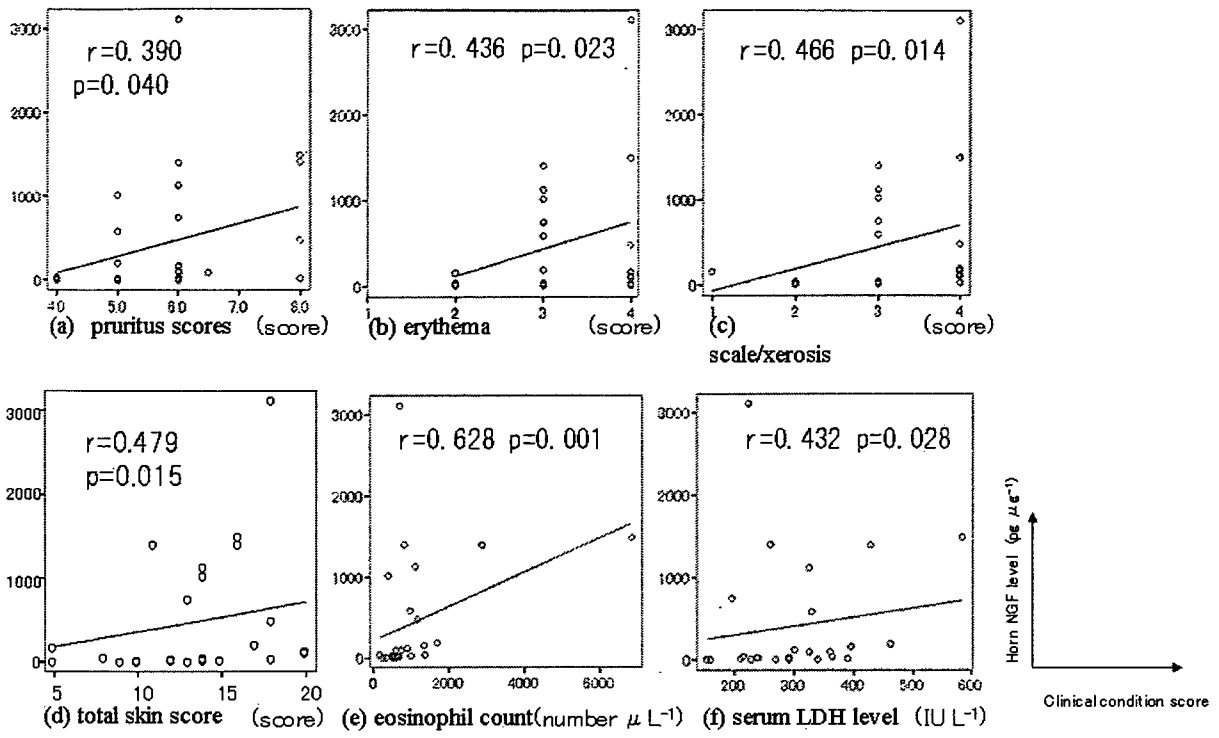
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



☒ Correlations between the horn NGF level and clinical conditions

食物アレルギーにおける早期診断・早期治療に関する研究

乳児期発症食物アレルギー患者の検討

分担研究者 海老澤元宏 国立病院機構相模原病院臨床研究センター アレルギー性疾患研究部部長

研究要旨

食物アレルギーの発症を予防する方策は現状ではなく、発症後に原因食物を確定し除去し誤食を防ぐことが基本治療となる。小児期の食物アレルギーの90%以上は「食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎」型で発症する。発症後に皮疹をコントロールし原因食物の確定と除去を行えば1~2年の短期間で寛解に持ち込めるケースを我々の施設では多数経験する。今回、症状(湿疹等)出現より6カ月未満に適切なスキンケア・外用療法に加え原因食物の除去が開始された群(早期治療群)と当科への初診が遅く6カ月以降に治療が開始された群(非早期治療群)での両群の臨床像を比較分析し、早期診断・治療の効果を明らかにすることを目的とした。その結果、非早期治療群では卵や牛乳などの主要原因抗原の耐性獲得が遅れ、治療開始後の特異的IgE抗体価の低下傾向が認められなかった。その理由として長期に渡るアトピー性皮膚炎のコントロールの不良と原因抗原暴露が続いたことであったと考えられた。「食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎」型の食物アレルギーの乳児期早期に診断・治療することにより食物アレルギーも軽症化させ早期に寛解誘導できる可能性が示唆された。

研究協力者 小俣 貴嗣 国立病院機構相模原病院 小児科医師

A. 研究目的

平成18年度は食物アレルギー(以下FA)の早期診断・治療のための診療指針の概略を作成した。今年度はその診療指針を用いて食物アレルギーの診断確定を行った乳児期発症の食物アレルギー患者の検証を行うことに重点をおいた。幼時期以降発症の食物アレルギーは「即時型発症」が主である。即時型発症の食物アレルギーは現在のところ発症を予防する方策はなく、発症後は原因食品を除去し、誤食を防ぐことが基本治療となる。食物アレルギーの症状の一部は致死的であり、原因食物を食べないようにすること以外には食物アレルギーの症状出現を完全に予防することはできない。即時型発症のタイプは「食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎型(以下FA・AD型)」に比較し、診断までのプロセス、治療に入るまでの期間は指針を用いれば比較的短期間で可能と考える。一方、乳児期発症のFA・AD型は初期診断が非常に難しいが、乳児期の慢性的な湿疹を主訴とする患者に遭遇した段階で我々が考案した指針(質問表・診断のためのフローチャート)をもとに検査、処置を進めていくことで食物の関与にたどり着くことが可能である。我々の科ではFA・AD型で発症し皮疹をコントロールした上で原因食物の除去を行うと1-2年の短期間で寛解に持ち込めるケースを多く経験する。このFA・AD型で発症した患者を対象とし、症状出現より6カ月未満に

適切な軟膏外用療法、原因食物の除去が開始された群と当科への初診が遅れ6カ月以降に開始された群の臨床像を比較分析し、早期診断・治療の効果を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

2004年以降に当科を受診し、湿疹が初発症状で即時型症状の既往が無く、食物除去・負荷試験にてFAが診断された患者を対象とした。湿疹出現から6カ月未満で当科を受診し、診断の上治療が開始された群(早期治療群; 44例、平均3.8カ月)と湿疹出現から6か月を超えて当科を受診し治療が開始された群(非早期治療群; 39例、平均8.9カ月)の2群に分類した。検討した臨床的背景因子は、アレルギー疾患の家族歴、周産期異常の有無、在胎週数、出生体重、入院歴とした。環境因子としてペット飼育歴の有無、住居の環境、母親の妊娠中の除去食品の有無、授乳中の除去食品の有無を検討した。血液検査因子は、末梢血好酸球数、血清総IgE値、特異的IgE値(CAP RAST法)を初診時、治療開始1年、治療開始1年半で比較検討した。また治療開始より1年半時点での耐性獲得状況、喘息発症の有無を比較検討した。

C. 研究結果

早期治療群と非早期治療群間で有意差が認められ