

図 7-8 好酸球遊走に対する TAT-PTEN の効果

次に、好酸球遊走に対する TAT-PTEN の効果を検討した。好酸球を TAT-PTEN と培養した後、eotaxin に対する遊走を Boyden chamber 法を用いて検討した。TAT-PTEN は好酸球の遊走を有意に抑制したのに対し、TAT-GFP ではその効果を認めなかった(図 7-9)。この遊走の系では、好酸球のドナーとの関連は認めなかった。

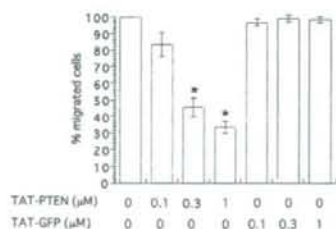


図 7-9 好酸球遊走に対する TAT-PTEN の効果

In vivo での PTEN の役割を検討するために、喘息モデルマウスにおける TAT-PTEN の効果を検討した。OA 感作したマウスに TAT-PTEN を点鼻にて前投与し、OA 曝露後に BALF を採取した。OA 曝露したマウスで認めた BALF 中の総細胞数と好酸球数の増加は、TAT-PTEN の前投与により有意に抑制された(図 7-10)。TAT-GFP の前投与では、その効果は認められなかった。

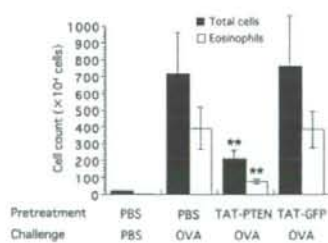


図 7-10 BALF 中細胞分画に対する TAT-PTEN の効果

肺組織の HE 染色では、コントロールである PBS 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、TAT-PTEN 前投与により明らかに抑制された(図 7-11)。一方 TAT-GFP の前投与では、その効果は認められなかった。

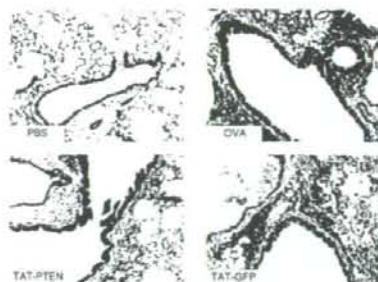


図 7-11 HE 染色

AB-PAS 二重染色では、PBS 群と比して OA 群において有意に粘液産出細胞の増生を認めた。TAT-PTEN 前投与により、粘液産出細胞の陽性率は明らかに抑制された(図 7-12)。一方 TAT-GFP の前投与では、その効果は認められなかった。

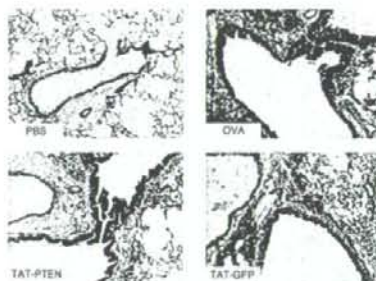
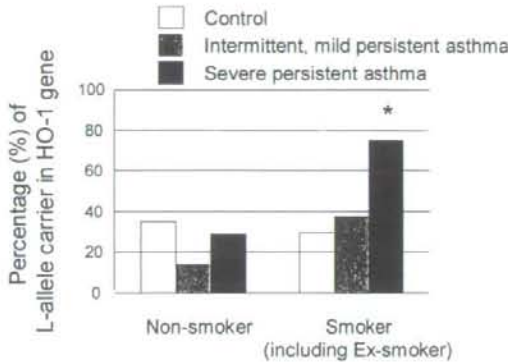


図 7-12 AB-PAS 二重染色

8) 重症喘息の遺伝子多型 (鳥帽子田ら)

CCL 遺伝子についての相関解析の結果、有意な関係が認められたのは、CCL26 の T2497C と T2563C であった。重症群の T2497C の T と T2563C の C の多型頻度が、軽症群のそれに比べ、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、軽症群と健常群では有意な差は認められなかった。MCP-1 遺伝子多型については 3 群間で T901C と C1543T の多型頻度には有意な差はなかったが、重症群の A-2518G における G の Allele 頻度 80.6% は、健常群の 55.0% に比し有意に高いことが認められた。重症群と軽症群は、いずれも健常群と比較して有意に低い血清 MCP-1 値を認めた。A-2518G の GG および A/G を呈する人の血清 MCP-1 値は、A/A の人のそれより有意に低い値であることも認められた。HO-1 遺伝子多型の相関解析によって、喫煙者あるいは過去の喫煙者において GT 反復配列の長い HO-1 の遺伝子多型の頻度が、重症化した人が有意に高くなった。非喫煙者においては、その関係は認められなかった(図 8-1)。アトピー性皮膚炎とスギ花粉症の分子疫学ではプロモーター領域の変異によ

って生じる IL-4 可溶性蛋白の活性低下が、アレルギー重症化をもたらすと推測された。気管支喘息とスギ花粉症の分子疫学ではプロモーター領域のいかなる領域においても、有意な相関は認められなかった。



Statistically significant difference as compared to the value of control: * $p < 0.05$

図 8-1 重症群、軽症群、健常群における喫煙別の HO-1 遺伝子アレルキャリアの頻度

9) 新規環境フィルター (中村ら)

水道水抽出物は、有意に IL-1 誘導 MCP-1 産生を抑制した。一方、水道水を活性炭処理すると、MCF-7 細胞における IL-1 誘導 MCP-1 産生が有意に回復した。一方、DEP 存在下 2 日間培養後上清中へ産生されたサイトカインを RayBio Human Cytokine Array III kit で測定したところ、IL-8 と MCP-1 の産生を増加させることが判明した。

ダニ抗原で感作されたマウス脾臓細胞を *in vitro* で抗原刺激したところ、DEP によって脾臓細胞からの IL-5、IL-13 および MCP-1 の産生量が増加したが、フィルター処理によって有意に抑制された。*In vivo* では、DEP 投与によって杯細胞の過増生・浮腫部位への好酸球浸潤が著しく観察されるが、フィルター処理によって杯細胞の過増生の抑制、好酸球浸潤、好中球浸潤も抑制され、肺の炎症が抑制されていることがわかった。ダニ抗原特異的 IgG1 抗体価も有意に下がった (図 9-2)。これらの結果、DEP によって生じるダニ抽出物誘導の感作・肺病への好酸球浸潤・脾臓細胞からの抗原誘導 Th2 サイトカイン産生の増加が、有意に抑制され、本フィルターの抗アレルギー効果が実証された。

マウス: Balb/c (オス) 各 6 匹
 抗原: ダニ抗原 4 μ g
 アレルギー促進物質: DEP: 62.5 μ g
 予防: 除去フィルター

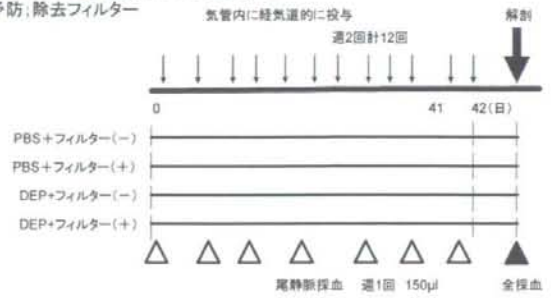


図9-1、DEPによる喘息増悪と化学物質除去フィルターによる抑制作用を検証するダニ抗原誘発マウスモデル

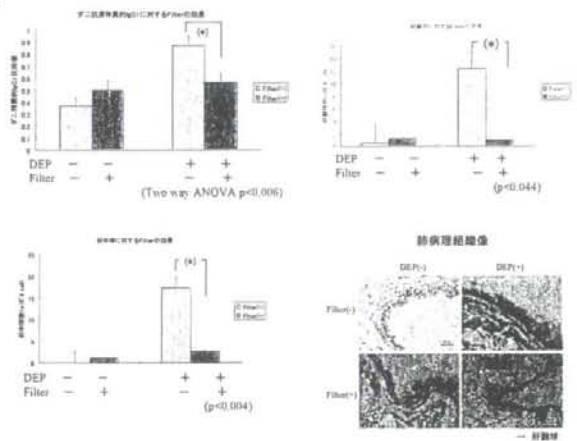


図9-2、ダニ抗原およびDEPによるダニ抗原特異的IgG1抗体価と、肺組織における好酸球浸潤(b)、好中球浸潤、肺病理への影響

E. 結論

本研究班によって抗原レベル、免疫細胞レベル、好酸球レベル、リモデリング、遺伝子多型の諸要因が総合的に解析された結果、1) 難治性喘息の特徴である T 細胞レベルのステロイド抵抗性は、T 細胞の存在する微小環境 (microenvironment) 中の costimulatory signal (補助刺激シグナル) およびサイトカインシグナルによって誘導されること、costimulatory signal の障害、シグナル伝達制御によりステロイド感受性が回復可能であることが、*in vitro*, *in vivo* の両レベルで明らかになった。2) 重症喘息の大部分を占める非アトピー型喘息の気流閉塞を説明する IgE 非依存性、T 細胞依存性の気管支平滑筋収縮メカニズムは、ヒスタミン、ロイコトリエン、プロスタグランジンと異なる、T 細胞由来の新たなメディエータが担うこと、3) PSL 5 mg/day 以上を要する Step

4b 群でそれ以下の重症度の喘息群と区別すると、画像データ、呼気水など様々な臨床指標が重症度と関連すること、4) 好塩基球が IL-16、M-CSF を産生し、ステロイド抵抗性の病態に関連すること、5) CLCA 阻害薬が、ステロイド抵抗性の気道炎症、過敏性治療薬となること、6) COPD、鼻炎合併重症喘息が、これらの増悪因子の治療により改善すること、7) TSLP は好酸球を直接活性化し、ステロイド抵抗性の重症好酸球性炎症惹起に働くこと、8) 気管支平滑筋細胞は自ら産生するフィブロネクチンの作用で遊走し、種々の α , β インテグリンおよびそのリガンドを発現すること、9) EGF 受容体シグナル伝達抑制により、気道リモデリングが抑制されること、10) フォスファターゼ PTEN は、強力な抗炎症、リモデリング抑制物質であること、11) MCP-1、HO-1 遺伝子多型が、重症喘息と関連すること、12) 新たに開発した非晶鉄および活性炭を含む除去フィルターは、環境汚染物質を除去し MCP-1 産生を制御し、*in vivo* でアレルギー制御に有効であること、が明らかになった。これらの新規の知見は、世界に先駆けて喘息の難治化、重症化を早期診断、予知、予防、治療する目的に、きわめて価値の高い評価がされる。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表 (各総合研究報告書参照)

1) 国内

口頭発表	125 件
原著論文による発表	19 件
それ以外 (レビュー等) の発表	108 件
その内主なもの	

論文発表

- 森 晶夫: 遅発型アレルギー反応と T 細胞、臨床免疫; 45(1):101-106, 2006.
- 森 晶夫: 新しい治療薬への期待、内科; 97(2):329-334, 2006.
- 森 晶夫: アレルギーの分子標的薬開発の現況 2. 抗 IL-5 抗体、アレルギー科; 21(3):215-222, 2006.
- 梶山雄一郎、森 晶夫: アレルギー検査、アレルギー科; 21(6):641-646, 2006.
- 粒来崇博、釣木澤尚美、森田園子、押方智也子、小野恵美子、大友 守、前田裕二、森 晶夫、池原邦彦、谷口正実、秋山一男: 気管支喘息患者における、抗原吸入試験の即時反応に伴う呼気一酸化窒素濃度 (Exhaled Nitric Oxide) の変化、アレルギー 56(5):470-476, 2007.
- 小野恵美子、前田裕二、森 晶夫、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、粒来 嵩博、釣

木澤尚実、大友守、谷口正実、長谷川真紀、宮崎英士、熊本俊秀、秋山一男: 夏型過敏性肺炎—家族内発症例における、発症例と非発症例の免疫学的検討、日呼吸会誌 45(7):566-571, 2007.

- 森 晶夫: 喘息病態における IgE 抗体の関与、アレルギー・免疫; 14(2):46-54, 2007
- 森 晶夫: IL-4, IL-5, IL-13 の喘息における役割、臨床免疫・アレルギー科; 47(6):702-709, 2007
- 森 晶夫: 難治性喘息、日本胸部臨床; 66 増刊号: S121-S127, 2007
- 森 晶夫: One point advice 重積発作とは、気管支喘息のすべて (工藤翔二監修、大田健、一ノ瀬正和編)、文光堂、東京 p. 106-107, 2007
- 森 晶夫: One point advice 難治性喘息とは、気管支喘息のすべて (工藤翔二監修、大田健、一ノ瀬正和編)、文光堂、東京 p. 108-110, 2007
- 森 晶夫、北村紀子、後藤牧子、梶山雄一郎、前田裕二、谷口正実、大友 守、長谷川真紀、秋山一男、神沼 修: 非アトピー型喘息の発症機序—非 IgE 依存症遅発型喘息反応—、The 14th Symposium of Asthma in Tokyo、ライフサイエンス出版、東京 p. 47-53, 2007
- 森 晶夫: ステロイド抵抗性をめぐって、The 15th Symposium of Asthma in Tokyo、ライフサイエンス出版、東京 p. 32-39, 2008
- 森 晶夫: 高 IgE 症候群、Medical Practice; 25(5):904-905, 2008
- 森 晶夫: 喘息の病態—新しい展開、International Review of Asthma; 10(3):82-87, 2008
- 森 晶夫: ステロイド抵抗性の分子機構、呼吸器科; 13(4):568-573, 2008
- 森 晶夫: 非アトピー型喘息反応と真菌アレルギー、アレルギー・免疫; 15(9):1198-1203, 2008
- 森 晶夫: 真菌抗原と IgE 非依存性喘息反応、臨床免疫・アレルギー科; 48, 2008
- 森 晶夫: 難治性喘息・重症喘息の定義について、アレルギーの臨床; 28 10 月増大号 (379号):915-922, 2008
- 森 晶夫: 喘息の病態の分子学的研究 update、Progress in Medicine 2009 印刷中
- 森 晶夫: 最近の喘息研究の動向—非アトピー機序へのフォーカス、アレルギー・免疫 2009 印刷中
- 森 晶夫: 喘息と CD8⁺ 細胞 (CTL)、Annual Review 呼吸器 2009 (工藤翔二、土屋了介、金沢実、大田健編)、中外医学社、東京 2009 印刷中
- 森 晶夫: 細胞性免疫検査、アレルギー診療ゴールドハンドブック (秋山一男監修、前田裕二、

- 谷口正実編)、南江堂、東京 2009 印刷中
24. 森 晶夫:新しい免疫療法、アレルギー診療ゴールドデンハンドブック(秋山一男監修、前田裕二、谷口正実編)、南江堂、東京 2009 印刷中
25. 森 晶夫:抗IgE療法、抗サイトカイン療法など、アレルギー診療ゴールドデンハンドブック(秋山一男監修、前田裕二、谷口正実編)、南江堂、東京 2009 印刷中
26. 高橋 清. 成人喘息発症の予防と難治化対策. アレルギー 55:10-16, 2006.
27. 平野 淳, 高橋 清. 薬剤による喘息とその臨床. Medical Practice 23:254-256, 2006.
28. 足立 満, 井上洋西, 田村 弦, 佐野靖之, 大田 健, 中川武正, 伊藤幸治, 馬場研二, 平田一人, 東田有智, 中島重徳, 高橋 清, 浅井貞宏, 宮本昭正. 成人気管支喘息における感作アレルゲンの全国調査. アレルギー・免疫 13:74-80, 2006.
29. 平野 淳, 高橋 清. 薬剤性喘息患者における喘息治療 —特にアスピリン喘息について—, モダンフィジシャン 26:850, 2006.
30. 高橋 清. 成人喘息治療のpitfalls. アレルギーの臨床 26:501, 2006.
31. 高橋 清. 病態, 発症機序・定義および治療薬剤の奏功機序等について. アレルギー疾患ガイド—発症から予防・治療まで—. 64-74, 2006.
32. 平野 淳, 高橋 清. 喫煙と喘息. 臨床と研究 83:1679-1682, 2006
33. 木村五郎, 高橋 清. アレルギーの疫学. からだの科学 252:6-10, 2007.
34. 高橋 清. 難治性喘息とは. 医療者のための喘息と COPD の知識 100, 2007. 泉 孝英, 中山昌彦, 西村浩一編集, 財医学書院, 東京.
35. 平野 淳, 木村五郎, 岡田千春, 宗田 良, 高橋 清. 医薬品副作用学 —薬剤の安全作用アップデート— III. 副作用各論 —重大な副作用— 呼吸器 喘息. 日本臨床 65 suppl 8:410-414, 2007.
36. 清水薫子, 今野 哲, 清水健一, 伊佐田 朗, 高橋 歩, 服部健史, 前田由起子, 高橋大輔, 高橋 清, 中川武正, 谷口正実, 秋山一男, 赤澤 晃, 檜澤伸之, 西村正治. 北海道土士幌町における成人喘息, アレルギー性鼻炎有病率 —特に喫煙及び肥満との関連について—. アレルギー 57:835-842, 2008.
37. 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.
38. 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. アレルギー一科 21: 542-548: 2006.
39. 田中宏幸, 稲垣直樹, 永井博式. 喘息とトロンボキサンA₂. 喘息 19: 35-40: 2006.
40. 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.
41. 田中宏幸, 永井博式. 気道過敏性. 喘息, 2007; 20: 21-26.
42. 田中宏幸, 稲垣直樹, 永井博式. マウス喘息モデルの有用性とその限界. 喘息, 2007; 20: 32-37.
43. 坂田 孝, 宮本樹美代, 田中宏幸, 稲垣直樹, 永井博式. ダニ抗原誘発気道炎症モデルへのフローサイトメトリー法の適用検討. アレルギーの臨床, 2007; 27: 61-65.
44. Nagai H, Tanaka H, Inagaki N, Teramachi H, Tsuchiya T: Possible role of prostaglandins in allergic inflammation. Clin. Exp. Allergy Rev. 2007; 7: 32-35.
45. 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
46. 藤澤隆夫:吸入ステロイドは喘息を治癒させるか?:2007年の視点. 日本小児アレルギー学会誌 2007;21:169-180
47. 庄司俊輔:全身合併症患者における術前・術後管理 呼吸器疾患(喘息など) 森山寛他編:今日の耳鼻咽喉科・頭頸部科治療指針, 医学書院, 東京 pp570-571, 2008.
48. 庄司俊輔:喘息の難治化とその対策 難治化のメカニズム1) 気道リモデリング アレルギーの臨床 379: 923-939, 2008.
49. 庄司俊輔:難治性喘息治療のコツ 喘息の難治化要因とその対策7) 気道リモデリング 呼吸器科 13: 546-551, 2008.
50. 庄司俊輔:高齢者喘息の治療方針 臨床と研究 9: 127-130, 2008.
51. 庄司俊輔:高齢者喘息と若年者喘息の違い アレルギーの臨床 364: 760-765, 2007.
52. Kimura T, Hayashida K, Araki Y, Morita T, Yamaguchi N, Eboshida A. How Valid Is the Self-Administered Visual Analogue Scale for Assessing the Health Status of Elderly People? Hiroshima J Med Sci 57(3,4): 85-92, 2008.
53. Kimura T, Yokoyama A, Kohno N, Nakamura H, Eboshida A. Perceived stress, severity of asthma, and quality of life in young adults with asthma. Allergol Int, 2009, in press.

学会発表

1. 森 晶夫, 梶山雄一郎, 谷口正実, 大友 守, 前田裕二, 長谷川真紀, 秋山一男:難治性喘息の成因とそのフェノタイプ, 第46回日本呼吸器学会学

- 術講演会シンポジウム 8「難治性喘息の成因と治療」 J. Jap. Respir. Soc. 44 : 40, 2006. 6. 3 (東京)
2. 森 晶夫: 免疫異常 (T細胞サイトカイン産生) からみたアレルギー、フォーラム V. アレルギー・花粉症・シックハウス症候群、フォーラム 2006 衛生薬学・環境トキシコロジー、J. Health Science 52:80, 2006. 10. 30 (東京)
 3. 森 晶夫、梶山雄一郎、前田裕二、谷口正実、大友 守、長谷川眞紀、秋山一男、神沼修: T細胞サイトカイン産生制御と気道好酸球浸潤、過敏性の関連、第56回日本アレルギー学会秋季学術大会シンポジウム2「Th1/Th2パラダイムの再評価—マウスからヒトへ—」、Jpn. J. Allergol. 55: 1010, 2006. 11. 2 (東京)
 4. 森 晶夫、前田裕二、谷口正実、大友 守、長谷川眞紀、秋山一男: 非アトピー型喘息の発症機序—非 IgE 依存性遅発型喘息反応、The 14th Symposium of Asthma in Tokyo、抄録集 p.5, 2006. 12. 16 (東京)
 5. Mori, A., Goto, M., Kajiyama, Y., Kitamura, N., Maeda, Y., Taniguchi, M., Otomo, M., Hasegawa, M., Akiyama, K., Kaminuma, O. Refractory asthma - from an immunological viewpoint. 第47回日本呼吸器学会学術講演会 International symposium 2. Refractory asthma. J. Jpn. Respir. Soc. 45:63. 2007. 5. 11 (東京)
 6. 森 晶夫、神沼 修、前田裕二、谷口正実、大友 守、長谷川眞紀、三田晴久、秋山一男: 非アトピー型喘息反応へのCandida抗原の関与、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会シンポジウム15「難治性アレルギー疾患における真菌の役割」、アレルギー 56: 999, 2007. 11. 3 (横浜)
 7. 森 晶夫、北村紀子、大友隆之、前田裕二、谷口正実、大友 守、長谷川眞紀、秋山一男、神沼修: ステロイド抵抗性をめぐって、The 15th Symposium of Asthma in Tokyo、抄録集 p.8-9, 2007. 12. 22 (東京)
 8. 森 晶夫、北村紀子、大友隆之、前田裕二、谷口正実、大友 守、長谷川眞紀、秋山一男、神沼修: 重症喘息の病態・機序—内科の立場から、アレルギー疾患フォーラム 2008「難治性アレルギー疾患」、抄録集 p. 5, 2008. 4. 19 (東京)
 9. 森 晶夫、北村紀子、大友隆之、前田裕二、谷口正実、大友 守、長谷川眞紀、秋山一男、神沼修: 喘息における寛解と治癒の病態、第20回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム6「アレルギーの寛解から治癒を目指す治療戦略」、アレルギー 57: 301, 2008. 6. 13 (東京)
 10. 森 晶夫: 難治性喘息の疫学 (日本と世界)、第28回六甲カンファレンス「難治性喘息をめぐって」、2008. 8. 2 (京都)
 11. 森 晶夫、北村紀子、大友隆之、谷本秀則、福富友馬、押方智也子、小野恵美子、関谷潔史、前田裕二、谷口正実、大友 守、長谷川眞紀、秋山一男、神沼修: リンパ球、第58回日本アレルギー学会秋季学術大会ワークショップ3「基礎: 炎症細胞の分離と機能解析」、アレルギー 58: 1326, 2008. 11. 27 (東京)
 12. 谷本 安、高橋 清、平野 淳他. 成人喘息の立場から—臨床マーカー—気管支喘息の難治化機構とその対策. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会シンポジウム、東京、2008. 11.
 13. 高橋 清、岡田千春、谷本 安他. 気管支喘息: 成人 アレルギー疾患の自然経過. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会シンポジウム、東京、2008. 11.
 14. 岡田千春、平野 淳、高橋 清他. 気管支喘息患者PBMCと培養気管支上皮細胞の相互反応に対するモンテルカストの抑制効果の検討. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2008. 11.
 15. 足立 満、石原享介、井上洋西、工藤宏一郎、高橋 清、森田 寛、加藤隆一、宮本昭正. 中等症から重症の成人喘息における新規吸入ステロイド「シクレソニド(CIC)」とCFC-ベクロメタゾン(BDP)の有用性比較. 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2006. 11.
 16. 平野 淳、片岡幹男、上野友愛、飯尾耕治、谷本 安、金廣有彦、木村五郎、岡田千春、宗田 良、高橋 清. 気管支喘息患者における呼気凝縮液 (EBC) の炎症性パラメーターの検討. 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2006. 11.
 17. 高橋 清. ガイドラインの到達点と今後の展望—ガイドラインに求められるもの—. 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム、東京、2006. 5.
 18. 谷本 安、岡田千春、宗田 良、高橋 清、谷本光音. 小児から成人へのアレルギー疾患の移行とその阻止—内科の立場から—. 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会、シンポジウム、東京、2006. 5.
 19. 岡田千春、平野 淳、木村五郎、宗田 良、高橋 清. 各世代での喘息症状にどう対応するか—高齢者—. 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム、東京、2006. 5.
 20. 高橋 清. 難治性喘息の成因と治療 難治性喘息の定義・診断基準と臨床分類. 第46回日本呼吸器学会学術講演会シンポジウム、東京、2006. 6.
 21. 平野 淳、金廣有彦、小野勝一郎、谷本 安、

- 木浦勝行, 片岡幹男, 谷本光音, 岡田千春, 高橋 清. 気道炎症, 気道過敏性および気道リモデリングに対するPirfenidoneの抑制効果の検討. 第46回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2006. 6.
22. 高橋 清. 重症難治性喘息治療の再検討 一成人一. 第26回六甲カンファレンス, 京都, 2006. 8.
23. 岡田千春, 平野 淳, 高橋 清他. 喘息治療薬の選び方と使い方 高齢者喘息. 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会, 横浜, 2007. 6.
24. 岡田千春, 平野 淳, 高橋 清他. 高齢者喘息・COPDの治療戦略と最近の話題 高齢者喘息の治療戦略. 第47回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2007. 6.
25. 岡田千春, 平野 淳, 高橋 清他. 倉敷市における成人喘息の有病率・罹病率及びQOLに関する疫学調査. 第57回日本アレルギー学会総会, 横浜, 2007. 11.
26. 岡田千春, 平野 淳, 木村五郎, 高橋 清他. 難治性アレルギー疾患における真菌の役割 難治性喘息と真菌. 第57回日本アレルギー学会総会, 横浜, 2007. 11.
27. 谷本 安, 高橋 清, 平野 淳他. 重症喘息の現状 重症喘息の現状と将来へのアプローチ. 第57回日本アレルギー学会総会, 横浜, 2007. 11.
28. 平野 淳, 片岡幹男, 高橋 清他. 気管支喘息患者における呼気凝縮液 (EBC) 中炎症性パラメーターと重症度, 肺機能. 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会, 横浜, 2007. 6.
29. 谷本 安, 高橋 清, 谷本光音他. 成人発症喘息における危険因子と発症予防の探索 一第2報一. 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会, 横浜, 2007. 6.
30. 谷本 安, 高橋 清, 平野 淳, 岡田千春, 宗田 良, 谷本光音. 重症喘息の現状 重症喘息の現状と将来へのアプローチ. 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会シンポジウム, 横浜, 2007. 11.
31. 上野友愛, 片岡幹男, 高橋 清他. 気管支喘息患者における呼気凝縮液 (EBC) 中炎症性マーカーと重症度, 肺機能. 第19回中国四国臨床アレルギー研究会, 岡山, 2007. 8.
32. 谷本 安, 瀧本康子, 高橋 清他. 高齢者喘息の管理における喘息コントロールテスト (ACT) の有用性に関する検討. 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム, 2008. 6.
33. 田中宏幸, 稲垣直樹, 永井博之. 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)
34. 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)
35. 橋本末樹子, 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, 永井博之. 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)
36. 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, 永井博之. 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)
37. 柳楽庸史, 田中宏幸, 三好康介, 橋本末樹子, 江崎友哉, 松本次郎, 稲垣直樹, 永井博之. アレルギー性気道炎症におけるprotease-activated receptor (PAR) 2の意義. 第57回日本アレルギー学会総会 ミニシンポジウムMS10-7 (2007年11月, 横浜)
38. 橋本末樹子, 高橋 剛, 田中宏幸, 三好康介, 永平和広, 寺川真紀, 稲垣直樹, 永井博之. SCP200401のアレルギー性気道炎症に及ぼす影響. 第57回日本アレルギー学会総会 一般演題173 (2007年11月, 横浜)
39. 三好康介, 田中宏幸, 橋本末樹子, 江崎友哉, 柳楽庸史, 平井博之, 永田欽也, 中村正孝, 稲垣直樹, 永井博之. ダニ抗原誘発マウス気道炎症におけるCRTH2の意義. 第57回日本アレルギー学会総会 一般演題177 (2007年11月, 横浜)
40. 江崎友哉, 田中宏幸, 三好康介, 橋本末樹子, 柳楽庸史, 平井博之, 永田欽也, 中村正孝, 稲垣直樹, 永井博之. ダニ抗原誘発マウス気道炎症におけるCRTH2の意義. 第57回日本アレルギー学会総会 一般演題178 (2007年11月, 横浜)
41. 田中宏幸, 稲垣直樹, 永井博之. アレルギー性炎症におけるリモデリングのメカニズム. 第58回日本アレルギー学会総会 特別シンポジウム3 (2008年11月, 東京)
42. 田中宏幸, 稲垣直樹, 永井博之. 実験喘息の立場から. 第58回日本アレルギー学会総会 シンポジウム1「気管支喘息の難治化機構とその対策」 (2008年11月, 東京)
43. 柳楽庸史, 田中宏幸, 江崎友哉, 三好康介, 稲垣直樹, 永井博之. ダニ抗原誘発マウス気道炎症の解析 (1) 第58回日本アレルギー学会総会 ミニシンポジウム6-5 (2008年11月, 東京)
44. 梶原 悠, 田中宏幸, 江崎友哉, 柳楽庸史, 村田健司, 三好康介, 稲垣直樹, 永井博之. ダニ抗原

- 誘発マウス気道炎症の解析 (2) 第58回日本アレルギー学会総会 一般演題 43 (2008年11月、東京)
45. 江崎友哉、田中宏幸、柳楽庸史、三好康介、稲垣直樹、永井博之: ダニ抗原誘発マウス気道炎症の解析 (3) 第58回日本アレルギー学会総会 一般演題 178 (2008年11月、東京)
46. 村田健司、田中宏幸、東明香、稲垣直樹、永井博之: マウス骨髄由来肥満細胞 (BMMC) からの IgE 依存性ヒスタミン遊離に及ぼす prostaglandin D₂ (PGD₂) の影響。第58回日本アレルギー学会総会 一般演題 52 (2008年11月、東京)
47. 藤澤隆夫 教育セミナー「小児喘息における末梢気道」第20回日本アレルギー学会春季臨床大会 2008.6.12-14、東京
48. 藤澤隆夫 シンポジウム「気管支喘息の難治化とその対策」小児科の立場から 第回日本アレルギー学会 2008.11.28、東京
49. 西原麻千子、前田衣織、庄司俊輔、下田照文、岡元孝二: 気管支喘息の気道リモデリング形成における気管支平滑筋細胞のフィブロネクチンへの遊走 第38回日本結合組織学会学術大会 2006年5月 前橋
50. 西原麻千子、庄司俊輔、山内絵里、前田衣織、下田照文、西間三馨、岡元孝二: 気管支喘息のリモデリングにおける気管支平滑筋細胞遊走の寄与 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会 2006年11月 東京
51. 山内絵里、庄司俊輔、下田照文、西間三馨: 気道リモデリングでの血管内皮細胞遊走による新生血管形成機序 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会 2006年11月 東京
52. 西原麻千子、庄司俊輔、前田衣織、下田照文、西間三馨、岡元孝二: 気管支喘息のリモデリング形成における平滑筋細胞と線維芽細胞の相互作用 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会 2007年11月 横浜
53. 西原麻千子、庄司俊輔、前田衣織、下田照文、西間三馨、岡元孝二: 気管支喘息でのリモデリング形成における平滑筋細胞遊走とインテグリンの関与 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008年11月 東京
54. 中村裕之、弘田量二、鳥帽子田彰: 環境とアレルギー—環境中化学物質によるアレルギー発症機序の解明と予防—。第58回日本アレルギー学会秋季学術大会、2008年11月、東京
55. 明石真幸、大矢幸弘、小嶋なみ子、二村昌樹、斎藤暁美、青田明子、井上徳浩、秋山一男、高橋清、中川武正、小林章雄、鳥帽子田彰、中村裕之、小田嶋博、足立雄一、赤澤晃: 全国小中学生におけるアレルギー疾患有病率の現状 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会、2006年5月、東京
56. 斎藤暁美、青田明子、大矢幸弘、小嶋なみ子、明石真幸、二村昌樹、井上徳浩、秋山一男、高橋清、中川武正、小林章雄、鳥帽子田彰、中村裕之、小田嶋博、足立雄一、赤澤晃: 電話法による全国全年齢階級別気管支喘息有病率調査。第18回日本アレルギー学会春季臨床大会 2006年5月、東京
57. 二村昌樹、大矢幸弘、小嶋なみ子、明石真幸、青田明子、斎藤暁美、井上徳浩、秋山一男、高橋清、中川武正、小田嶋博、小林章雄、鳥帽子田彰、中村裕之、足立雄一、赤澤晃: アンケート調査によるアレルギー疾患有病率とペット飼育歴についての検討。第18回日本アレルギー学会春季臨床大会、2006年5月、東京
58. 小嶋なみ子、大矢幸弘、二村昌樹、明石真幸、青田明子、斎藤暁美、秋山一男、高橋清、中川武正、小田嶋博、小林章雄、鳥帽子田彰、中村裕之、足立雄一、赤澤晃: 小児のアレルギー疾患別 QOL 調査: 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会、2006年5月、東京
59. 二村昌樹、大矢幸弘、小嶋なみ子、明石真幸、青田明子、斎藤暁美、井上徳浩、秋山一男、高橋清、中川武正、小田嶋博、小林章雄、鳥帽子田彰、中村裕之、足立雄一、赤澤晃: 気管支喘息の屋内水泳歴と症状の関係についての検討。第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、2006年11月、東京
60. 中村裕之、秋丸国広、張達川、弘田量二、中村剛、遠藤朝彦、今井透、本橋豊、松崎一葉、笹原信一朗、荻野景規、小笹晃太郎、八田耕太郎、鳥帽子田彰: スギ花粉症における MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1, CCL2) の遺伝子多型ハプロタイプに関する相関解析。第4回日本予防医学会、2006年12月、さいたま
61. 木村友昭、荒木善光、鳥帽子田彰 広島県 A 町における成人喘息有病率に関する調査 (ポスター発表) 第66回日本公衆衛生学会総会、平成19年10月 (松山)
62. 広島県安芸大田町における成人喘息有病率に関する研究、気管支喘息の有病率・罹患率および QOL に関する全年齢階級別全国調査に関する研究 (平成18年度 総括・分担研究報告書) 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 主任研究者 赤澤晃: 29-30, 2007. 3
63. 木村友昭、横山彰仁、河野修興、中村裕之、鳥帽子田彰 喘息患者における喫煙と関連する要因 (口頭発表) 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会、平成20年6月 (東京)

64. 中村裕之：免疫・アレルギーのバイオマーカーと産業保健。第79回日本産業衛生学会、2006年5月、仙台
65. 中村裕之、秋丸国広、弘田量二、大下喜子、江間宏樹、亀井麻依子、小林健太郎、土居麻悠、中嶋安曜、渡部敬之、笹原信一郎、松崎一葉：アレルギー性疾患における代替医療に関するメタアナライシス。第16回体力・栄養免疫学会、2006年8月、東京
66. 秋丸国広、弘田量二、中村剛、張達川、中村裕之：水道水中アレルギー発症物質についての研究。第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、2006年11月、東京
67. 中村裕之、秋丸国広、張達川、弘田量二、中村剛、遠藤朝彦、今井透、本橋豊、松崎一葉、笹原信一郎、荻野景規、小笹晃太郎、八田耕太郎、鳥帽子田彰：スギ花粉症における MCP-1(monocyte chemoattractant protein 1, CCL2)の遺伝子多型ハプロタイプに関する相関解析。第4回日本予防医学会、2006年12月、さいたま
68. 弘田量二、秋丸国広、中村剛、張達川、中村裕之：IL-1誘導 MCP-1産生を指標とした環境化学物質の影響評価。第6回分子予防環境医学研究会、2006年12月、京都
69. 弘田量二、秋丸国広、沢村正義、中村裕之：Citrus 抽出 essential oil の抗アレルギー効果についての検討。第77回日本衛生学会総会、2007年3月、大阪
70. 神林康弘、Nguyen Thanh Binh、人見嘉哲、日比野由利、中村裕之、荻野景規：簡便な血漿総抗酸化能測定法の開発。第29回日本フリーラジカル学会学術集会、日本過酸化脂質・フリーラジカル学会第31回大会合同学会、2007年6月、名古屋
71. 神林康弘、人見嘉哲、日比野由利、中村裕之、荻野景規：好酸球活性化マーカーであるプロモチロシンに対する抗体の作成。第17回体力・栄養・免疫学会、2007年8月、東京
72. 神林康弘、Nguyen Thanh Binh、人見嘉哲、日比野由利、中村裕之、荻野景規：マイクロプレートを用いた血漿総抗酸化能測定系 (TEAC) の開発。第7回分子予防環境医学研究会、2007年10月、北九州
73. 神林康弘、人見嘉哲、日比野由利、中村裕之、荻野景規：好酸球活性化マーカーである (ジ) プロモチロシンを認識する抗体の作成。第5回日本予防医学会学術総会、2007年11月、指宿
74. 中村裕之、弘田量二、秋丸国広、菅沼成文、康峪梅、櫻井克年：環境化学物質によるアレルギー発症を予防する。第6回グリーンサイエンス特別研究プロジェクト公開シンポジウム、2008年3月、高知
75. 中村裕之、弘田量二、鳥帽子田彰：環境とアレルギー環境中化学物質によるアレルギー発症機序の解明と予防。第58回日本アレルギー学会秋季学術大会、2008年11月、東京
- 2) 海外
- | | |
|------------------|-----|
| 口頭発表 | 29件 |
| 原著論文による発表 | 81件 |
| それ以外 (レビュー等) の発表 | 9件 |
| その内主なもの | |
| 論文発表 | |
- Mori, A., Ogawa, K., Kajiyama, Y., Suko, M., and Kaminuma, O. Th2 cell-mediated chemokine synthesis is involved in allergic airway inflammation in mice. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2006;140 (suppl 1):55-58.
 - Hashimoto, T., Kobayashi, N., Kajiyama, Y., Suko, M., Kaminuma, O., and Mori, A. IL-2-induced IL-13 production by allergen-specific human helper T cell clones. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2006;140 (suppl 1):51-54.
 - Kitamura, N., Kitamura, F., Kaminuma, O., Miyatake, S., Tatsumi, H., Nemoto, S., and Mori, A. IL-4 gene transcription in human T cells is suppressed by T-bet. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007;143 (suppl 1):68-70.
 - Umez-Goto, M., Kajiyama, Y., Kobayashi, N., Kaminuma, O., Suko, M., and Mori, A. IL-9 production by peripheral blood mononuclear cells of atopic asthmatics. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007;143 (suppl 1):76-79.
 - Hashimoto, T., Kitamura, N., Kobayashi, N., Suko, M., Kaminuma, O., and Mori, A. Effect of Formoterol on allergen-induced cytokine synthesis by atopic asthmatics. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007;143 (suppl 1):106-109.
 - Kajiyama, Y., Umez-Goto, M., Kobayashi, N., Takahashi, K., Fukuchi, Y., and Mori, A. IL-2-induced IL-9 production by allergen-specific human helper T cell clones. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007;143 (suppl 1):71-75.
 - Mori, A., Ogawa, K., Someya, K., Kunori, Y., Nagakubo, D., Yoshie, O., Kitamura, F., Hiroi, T., and Kaminuma, O. Selective suppression of Th2-mediated airway eosinophil infiltration by

- low-molecular weight CCR3 antagonists. *Int. Immunol.* 2007;19: 913-921.
8. Kitamura, N., Kaminuma, O., and Mori, A. A contraction assay system using established human bronchial smooth muscle cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2008;146 (Suppl 1):36-39.
 9. Otomo, T., Miyatake, S., Kajiyama, Y., Umez-Goto, M., Kobayashi, N., Kaminuma, O., and Mori, A. Airway eosinophilic inflammation is attenuated in conserved noncoding sequence-1 deficient mice. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2008;146 (Suppl 1):2-6.
 10. Suzuki, K., Kaminuma, O., Hiroi, T., Kitamura, F., Miyatake, S., Takaiwa, F., Tatsumi, H., Nemoto, S., Kitamura, N., and Mori, A. Downregulation of IL-13 gene transcription by T-bet in human T cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2008;146 (Suppl 1):33-35.
 11. Yoshioka, M., Sagara, H., Takahashi, F., Harada, N., Nishio, K., Mori, A., Ushio, H., Shimizu, K., Okada, T., Ota, M., Ito, Y., Nagashima, O., Atsuta, R., Suzuki, T., Fukuda, T., Fukuchi, Y., Takahashi, K. Role of multidrug resistance-associated protein 1 in the pathogenesis of allergic airway inflammation. *Am. J. Physiol.: Lung Cell. Mol. Physiol.* 2008;296:L30-L36.
 12. Otomo, T., Kaminuma, O., Kitamura, N., Kobayashi, N., and Mori, A. 2009. Murine Th clones confer late asthmatic response upon antigen challenge. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (in press)
 13. Kitamura, N., Kaminuma, O., and Mori, A. 2009. Evaluation of cysteinyl leukotriene-induced contraction of human cultured bronchial smooth muscle cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (in press)
 14. Suzuki, K., Kaminuma, O., Yang, L., Motoi, Y., Takai, T., Ichikawa, S., Okumura, K., Ogawa, H., Mori, A., Takaiwa, F., and Hiroi, T. 2009. Development of transgenic rice expressing mite allergen for a new concept of immunotherapy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (in press)
 15. Yamaoka, K., Okayama, Y., Kaminuma, O., Katayama, K., Mori, A., Tatsumi, H., Nemoto, S., and Hiroi, T. 2009. Proteomic approach to FcεRI aggregation-initiated signal transduction cascade in human mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (in press)
 16. Kaminuma, O., Kitamura, F., Miyatake, S., Yamaoka, K., Miyoshi, H., Inokuma, S., Tatsumi, H., Nemoto, S., Kitamura, N., Mori, A., and Hiroi, H. 2009. T-bet is responsible for distorted Th2 differentiation in human peripheral CD4⁺ T cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* (in press)
 17. Kitamura, N., Katagiri, Y., Itagaki, M., Miyagawa, Y., Onda, K., Okita, H., Mori, A., Fujimoto, J., and Kiyokawa, N. 2009. The expression of grenulysin in systemic anaplastic large cell lymphoma in childhood. *Leuk. Res.* (in press)
 18. Adachi M, Ishihara K, Inoue H, Kudo K, Takahashi K, Morita Y, Masuda K, Sakai T, Kato R, Miyamoto T. Efficacy and safety of inhaled ciclesonide compared with chlorofluorocarbon beclomethasone dipropionate in adults with moderate to severe persistent asthma. *Respirology* 12:573-580, 2007.
 19. Takigawa N, Tada A, Takahashi S, Kawata N, Shibayama T, Hamada N, Sakaguchi M, Hirano A, Kimura G, Okada C, Takahashi K. Distance and oxygen desaturation in 6-min walk test predict prognosis in COPD patients. *Respiratory Medicine* 101:561-567, 2007
 20. Takigawa N, Tada A, Soda R, Takahashi S, Kawata N, Shibayama T, Matsumoto H, Hamada N, Hirano A, Kimura G, Okada C, Endo S, Yamashita M, Date H, Takahashi K. Comprehensive pulmonary rehabilitation according to severity of COPD. *Respiratory Medicine* 101:326-332, 2007
 21. Ueno T, Kataoka M, Hirano A, IIO K, Tanimoto Y, Kanehiro A, Okada C, Soda R, Takahashi K, Tanimoto M. Inflammatory markers in exhaled breath condensate from patients with asthma. *Respirology* 13: 654-63, 2008.
 22. Adachi M, Ishihara K, Inoue H, Kudo K, Takahashi K, Morita Y, Masuda K, Sasaki S, Kato R, Miyamoto T. Safety and efficacy of inhaled Ciclesonide in long-term administration to adult patients with bronchial asthma. *Ther. Res.* 29:821-832, 2008.
 23. Edakuni N, Ikuta K, Yano S, Nakataki E, Mugaruma H, Uehara H, Tani M, Yokota J, Aizawa H, Sone S. Restored Expression of the MYO18B Gene Suppresses Orthotopic Growth and the Production of Bloody Pleural Effusion by Human Malignant Pleural Mesothelioma Cells in SCID Mice.

Oncology Research 2006, 16:235-243.

24. Ichiki M, Kawasaki M, Takayama K, Aizawa H et al. A multicenter phase II study of carboplatin and paclitaxel with a biweekly schedule in patients with advanced non-small-cell lung cancer: Kyusyu thoracic oncology group trial. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2006, 58:368-73.
25. Koga T, Aizawa H. Pneumonia and tuberculosis as differential diagnosis in community acquired pneumonia. *BMJ* 2006, 332:1214.
26. Koga T, Oshita Y, Kamimura T, Aizawa H et al. Characterisation of patients with frequent exacerbation of asthma. *Respir Med.* 2006, 332:1214.
27. Maruoka H, Honda S, Takeo M, Aizawa H et al. A case of polymyositis complicated with interstitial pneumonitis and pneumomediastinum. *Mod Rheumatol.* 2006, 16:55-57.
28. Maruoka H, Honda S, Takeo M, Aizawa H et al. Tacrolimus treatment for refractory lupus cystitis. *Mod Rheumatol.* 2006, 16:264-6.
29. Morimatsu Y, Ishitake T, Irie K, Aizawa H et al. Acute pulmonary injury due to exposure to a high concentration of trichloroethylene vapor. *J Occup Health* 2006, 48:271-2.
30. Morimatsu Y, Kawano F, Aizawa H. Pneumopericardium following rupture of the oesophagus. *Lancet* 2006, 368:1991.
31. Mukaino T, Koga T, Oshita Y, Aizawa H et al. Exophiala dermatitidis infection in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Respir Med* 2006, 100:2069-71.
32. Nakano T, Inoue H, Fukuyama S, Aizawa H et al. Niflumic acid suppresses interleukin-13-induced asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006, 173:1216-21.
33. Miura S, Kusumoto M, Noda K, Azuma K, Toda R, Honda S, Ayabe M, Aizawa H, Taniwaki T. Bell-shaped sensory impairments of all modalities in a neurosarcoidosis patient. *Clin Neuro Neurosurg.* 2007;109:794-798.
34. Hoshino T, Kato S, Oka N, Imaoka H, Kinoshita T, Takei S, Kitasato Y, Kawayama T, Imaizumi T, Yamada K, Young HA, Aizawa H. Pulmonary inflammation and emphysema: role of the cytokines IL-18 and IL-13. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007, 176(1):49-52.
35. Koga T, Fujimoto K, Aizawa H. Effect of smoking on lifestyle interventions to prevent diabetes. *Lancet.* 2007;369:365; author reply 365-366.
36. Kinoshita T, Hoshino T, Imaoka H, Ichiki H, Okamoto M, Kawayama T, Yodoi J, Kato S, Aizawa H. Thioredoxin prevents the development and progression of elastase-induced emphysema. *Biochim. Biophys. Res Commun.* 2007; 354: 712-719.
37. Aizawa H. COPD: non-pharmacologic treatment. *Internal medicine* (Tokyo, Japan). 2007;46:85-86.
38. Azuma K, Komohara Y, Sasada T, Terazaki Y, Ikeda J, Hoshino T, Itoh K, Yamada A and Aizawa H. Excision repair cross-complementation group 1 predicts progression-free and overall survival in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Sci.* 2007, 1-8.
39. Fujiki R, Kawayama T, Ueyama T, Ichiki M, Aizawa H. The risk factors for mortality of community-acquired pneumonia in Japan. *Infect Chemother.* 2007;13(3):157-165.
40. Imaoka H, Hoshino T, Takei S, Sakazaki Y, Kinoshita T, Okamoto M, Kawayama T, Yodoi J, Kato S, Iwanaga T, Aizawa H. Effects of thioredoxin on established airway remodeling in a chronic antigen exposure asthma model. *Biochim. Biophys. Res Commun.* 2007, 360(3): 525-530.
41. Chen M, Hisatomi Y, Furumoto A, Kawasaki K, Masaki H, Nagatake T, Sueyasu Y, Iwanaga T, Aizawa H, Oishi K. Comparative Immune Responses of Patients with Chronic Pulmonary Diseases during the 2 Year Period after Pneumococcal Vaccination. *Clinical and Vaccine Immunology.* 2007, 14(2):139-145
42. Hoshino T, Kato S, Oka N, Imaoka H, Kinoshita T, Takei S, Kitasato Y, Kawayama T, Imaizumi T, Yamada K, Young HA, Aizawa H. Pulmonary inflammation and emphysema: role of the cytokines IL-18 and IL-13. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176(1):49-62.
43. Kinoshita T, Hoshino T, Imaoka H, Ichiki H, Okamoto M, Kawayama T, Yodoi J, Kato S, Aizawa H. Thioredoxin prevents the development and progression of elastase-induced emphysema. *Biochim. Biophys. Res Commun.* 2007;354:712-719.
44. Azuma K, Komohara Y, Sasada T, Terazaki Y, Ikeda J, Hoshino T, Itoh K, Yamada A and Aizawa H. Excision repair cross-complementation group 1 predicts progression-free and overall survival

in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Sci*. 2007;98(9):1336-1343.

45. Inoue H, Komori M, Matsumoto T, Fukuyama S, Matsumura M, Nakano T, Tsuda M, Matsumoto K, Kanaya A, Moriwaki A, Aizawa H, Yoshida M, Nakanishi Y. Effects of Salmeterol in Patients with Persistent Asthma Receiving Inhaled Corticosteroid plus Theophylline. *Respiration*. 2007;74:611-616.
46. Miura S, Kusumoto M, Noda K, Azuma K, Toda R, Honda S, Ayabe M. Aizawa H, Taniwaki T. Bell-shaped sensory impairments of all modalities in a neurosarcoidosis patient. *Clin Neuro Neurosurg*. Inpress.
47. Hoshino T, Okamoto M, Takei S, Sakazaki Y, Iwanaga T, Aizawa H. Redox-Regulated Mechanisms in Asthma. *ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING*. 2008;10(4):769-783
48. Imaoka H, Hoshino T, Takei S, Kinoshita T, Okamoto M, Kawayama T, Kato S, Iwasaki H, Watanabe K, Aizawa H. Interleukin-18 production and pulmonary function in COPD. *European Respiratory Journal* 2008;31(2):287-297.
49. Inoue H, Hiraoka K, Hoshino T, Okamoto M, Iwanaga T, Zenmyo M, Shoda T, Aizawa H, Nagata K. High levels of serum IL-18 promote cartilage loss through suppression of aggrecan synthesis. *Bone* 2008;42(6):1102-1110.
50. Adachi M, Aizawa H, Ishihara K, Ohta K, Sano Y, Taniguchi H, Nakashima M. Comparison of salmeterol/fluticasone propionate (FP) combination with FP+sustained release theophylline in moderate asthma patients. *Respiratory Medicine*. 2008;102(7):1055-1064.
51. Furumoto A, Ohkusa Y, Chen M, Kawakami K, Masaki H, Sueyasu Y, Iwanaga T, Aizawa H, Nagatake T, Oishi K. Additive effect of pneumococcal vaccine and influenza vaccine on acute exacerbation in patients with chronic lung disease. *Vaccine*. 2008;26:4284-4289.
52. Kawayama T, Hoshino T, Ichiki M, Tsuda T, Kinoshita M, Takata S, Koga T, Iwanaga T, Aizawa H, Kurume COPD Study Group. Effect of add-on therapy of tiotropium in COPD treated with theophylline. *INTERNATIONAL JOURNAL OF COPD*. 2008;3(1):137-147.
53. Kawayama T, Minakata Y, Matsunaga K, Yamagata T, Tsuda T, Kinoshita M, Iwanaga T, Ichinose M, Aizawa H. Validation of symptom-based COPD questionnaires in Japanese subjects. *Respirology*. 2008;13(3):420-426.
54. Minakata Y, Iijima H, Takahashi T, Miura M, Ogawa H, Kimura K, Koga T, Kinoshita M, Tsuda T, Aizawa H, Ichinose M. Efficacy and Safety of Formoterol in Japanese Patients with COPD. *Intern Med*. 2008;47(4):217-223.
55. Minami S, Kawayama T, Ichiki M, Nishimura M, Sueyasu Y, Gohara R, Kinoshita M, Koga H, Iwanaga T, Aizawa H. Clinical efficacy of the transdermal tulobuterol patch in patients with chronic obstructive pulmonary disease:a comparison with slow-release theophylline. *Intern Med*. 2008;47(6):503-509.
56. Takeoka H, Koga T, Yano H, Ikeda J, Nishimura M, Kamimura T, Aizawa H. A Hybrid Lesion of Lung Cancer and Aspergillosis. *Clinical Medicine:Oncology*. 2008;2:115-118.
57. Nakao I, Kanaji S, Ohta S, Matsushita H, Arima K, Yuyama N, Yamaya M, Nakayama K, Kubo H, Watanabe M, Sagara H, Sugiyama K, Tanaka H, Toda S, Hayashi H, Inoue H, Hoshino T, Shiraki A, Inoue M, Suzuki K, Aizawa H, Okinami S, Nagai H, Hasegawa M, Fukuda T, Eric D. Green, and Izuhara K. Identification of Pendrin as a Common Mediator for Mucus Production in Bronchial Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *The Journal of Immunology*. 2008;180:6262-6269.
58. Takata S, Washio M, Moriwaki A, Tsuda T, Nakayama H, Iwanaga T, Aizawa H, Arai Y, Nakanishi Y, Inoue H. Burden among Caregivers of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease with Long-Term Oxygen Therapy. *International Medical Journal*. 2008;15(1):53-57.
59. 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
60. 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

61. Okamoto N, Murata T, Tamai H, Tanaka H, Nagai H: Effects of alpha 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
62. Kimata M, Ishizaki M, Tanaka H, Nagai H, Inagaki N: Production of matrix metalloproteinases in human cultures mast cells: involvement of protein kinase C-mitogen activated protein kinase kinase-extracellular signal-regulated kinase pathway. *Allergol Int* 2006; 55: 67-76
63. Akabane H, Murata M, Kubota M, Takashima E, Tanaka H, Inagaki N, Horiba M, Nagai H. Effects of salmeterol xinafoate and fluticasone propionate on immunological activation of human cultured mast cells. *Allergol Int* 2006; 55: 387-393
64. Wakahara K, Tanaka H, Takahashi G, Tamari M, Nasu R, Toyohara T, Takano H, Saito S, Inagaki N, Shimokata K, Nagai H. Repeated instillations of *Dermatophagoides farinae* into the airways can induce Th2-dependent airway hyperresponsiveness, eosinophilia and remodeling in mice. *Eur J Pharmacol* 2008; 578: 87-96
65. Wirotessangthong M, Inagaki N, Tanaka H, Thanakijcharoenpath W, Nagai H. Inhibitory effects of *Piper betle* on production of allergic mediators by bone marrow-derived mast cells and lung epithelial cells. *Int Immunopharmacol* 2008; 8: 453-457
66. Hirose I, Tanaka H, Takahashi G, Wakahara K, Tamari M, Sakamoto T, Kojima S, Inagaki N, Nagai H. Immunomodulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides on house dust mite-induced airway inflammation in mice. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 147: 6-16
67. Nakao I, Kanaji S, Ohta S, Matsushima H, Arima K, Yuyama N, Yamaya M, Nakayama K, Kubo H, Watanabe M, Sagara H, Sugiyama K, Tanaka H, Toda S, Hayashi H, Inoue H, Hoshino T, Nakajima A, Inoue M, Suzuki K, Aizawa H, Okinami S, Nagai H, Hasegawa M, Fukuda T, Green ED, Izuhara K. Identification of pendrin as a common mediator for mucus production in bronchial asthma and chronic obstruction pulmonary disease. *J Immunol* 2008; 80: 6262-6269
68. Ishizaki M, Tanaka H, Kajiwara D, Toyohara T, Wakahara K, Inagaki N, Nagai H. Nafamostat mesilate, a potent serine protease inhibitor, inhibits airway eosinophilic inflammation and airway epithelial remodeling in a murine model of allergic asthma. *J Pharmacol Sci* 2008; 108: 355-363
69. 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.
70. Masuda S, Fujisawa T, Katsumata H, Atsuta J, Iguchi K. High prevalence and young onset of allergic rhinitis in children with bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2008; 19:517-22.
71. Fujisawa T, Katsumata H, Kato Y: House dust mite extract induces interleukin-9 expression in human eosinophils. *Allergol Int* 2008;57:1-6.
72. Hiraguchi Y, Nagao M, Hosoki K, Tokuda R, Fujisawa T. Neutrophil Proteases Activate Eosinophil Function in vitro. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 146:16-21.
73. Nagao M, Hiraguchi Y, Hosoki K, Tokuda R, Usui T, Masuda S, Fujisawa T Allergen-induced basophil CD203c expression as a biomarker for rush immunotherapy in patients with Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 146:47-53.
74. Kawakami A, Koketsu R, Suzukawa M, Nagao M, Hiraguchi Y, Tokuda R, Fujisawa T. Blocking antibody is generated in allergic rhinitis patients during specific immunotherapy using standardized Japanese cedar pollen extract. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 146:54-60.
75. Takayama G., Arima K., Kanaji T., Toda S., Tanaka H., Shoji S., McKenzie A.N., 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.* 118: 98-104, 2006
76. Yamauchi E, Shoji S, Nishihara M, Shimoda T, Nishima S: Contribution of lung fibroblast migration in the fibrotic process of airway remodeling in asthma. *Allergology International* 57: 73-78, 2008.
77. Adachi T, Hanaka S, Yano T, Yamamura K, Yoshihara H, Nagase H, Chihara J, Ohta K. The role of platelet-derived growth factor receptor

- in eotaxin signaling of eosinophils. *Int Arch Allergy Immunol* 140 (Suppl 1): 28-34, 2006.
78. Yamashita N, Tashimo H, Matsuo Y, Ishida H, Yoshiura K, Sato K, Yamashita N, Kakiuchi T, Ohta K. Role of CCL21 and CCL19 in allergic inflammation in the ovalbumin-specific murine asthmatic model. *J Allergy Clin Immunol* 117:1040-6, 2006.
79. Yamashita N, Tashimo H, Ishida H, Matsuo Y, Tamauchi H, Terashima M, Yoshiwara I, Habu S, Ohta K. Involvement of GATA-3-dependent Th2 lymphocyte activation in airway hyperresponsiveness. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 290: L1045-51, 2006.
80. Adachi T, Hanaka S, Masuda T, Yoshihara H, Nagase H, Ohta K. Transduction of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 into eosinophils attenuates survival, chemotaxis, and airway inflammation. *J Immunol* 179: 8105-11, 2007.
81. Suzukawa M, Iikura M, Koketsu R, Nagase H, Tamura C, Komiya A, Nakae S, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M. An IL-1 cytokine member, IL-33, induces human basophil activation via its ST2 receptor. *J Immunol* 181: 5981-9, 2008.
82. Suzukawa M, Koketsu R, Iikura M, Nakae S, Matsumoto K, Nagase H, Saito H, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M. Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. *Lab Invest* 88: 1245-53, 2008.
83. Sekizuka N, Nakamura H, Shimada K, Tabuchi N, Kameda Y, Sasano K, Sakai A. Relationship between sense of coherence in the final stage of pregnancy and post-partum stress reactions. *Environ Health Prevent Med*, 2006; 11(4), 99-205 .
84. Matsuzaki I, Sagara T, Ohshita Y, Nagase H, Ogino K, Eboshida A, Sasahara S, Nakamura H. Psychological factors including sense of coherence and some lifestyles are related to General Health Questionnaire-12 (GHQ-12) in elderly workers in Japan. *Environ Health Prev Med*. 2007; 12(2): 21-27.
85. Nakamura H, Higashikawa F, Nobukuni Y, Miyagawa K, Endo T, Imai T, Hatta K, Ozasa K, Motohashi Y, Matsuzaki I, Sasahara S, Ogino K, Akimaru K, Eboshida A. Genotypes and haplotypes of CCR2 and CCR3 genes in Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;142(4):329-334.
86. Awaya T, Yokosaki Y, Yamane K, Usui H, Kohno N, Eboshida A. "Gene-environment Association of an ITGB2 Sequence Variant With Obesity in Ethnic Japanese" "OBESITY" June 2008
87. Yoshino S, Sasahara S, Maeno T, Kitaoka-Higashiguchi K, Tomotsune Y, Taniguchi K, Tomita E, Usami K, Haoka T, Nakamura H, Matsuzaki I. Relationship between mental health of Japanese residents and the quality of medical service. *J Phys Fit Nutri Immunol*. 2007; 7 (1): 3-11.
88. Hatta K, Miyakawa K, Ota T, Usui C, Nakamura H, Arai H. Maximal response to electroconvulsive therapy for the treatment of catatonic symptoms. *J ECT*. 2007 Dec;23(4):233-235.
89. Hatta K, Shibata N, Ota T, Usui C, Ito M, Nakamura H, Arai H. Association between Physical Restraint and Drug-Induced Liver Injury. *Neuropsychobiology*. 2008 Mar 7;56(4):180-184.
90. Hirota R, Akimaru K, Nakamura H. In vitro toxicity evaluation of diesel exhaust particles on human eosinophilic cell. *Toxicology in Vitro*. 2008 22(4): 988-994.

学会発表

1. Mori A. 2007. Meet the expert "New aspects of pathogenesis of asthma" World Allergy Congress 2007. WAO final program p. 58 Bangkok, Thailand. 2007/12/2-6
2. Mori A, Kitamura N, Hashimoto T, Taniguchi M, Otomo M, Maeda Y, Hasegawa M, Akiyama K. 2007. IL-5 production in response to *Candida albicans* secretory aspartic protease 2 is associated with isolated late-phase bronchial response upon inhalation challenge. 2007 American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology Annual Meeting. *J. Allergy Clin. Immunol.* 119:S44 (San Diego) 2007/2/22-28
3. Mori A, Kitamura N, Otomo, T., Yamaguchi, M., Kajiyama, Y., Taniguchi M, Maeda Y, Otomo M, Mita, H., Hasegawa M, Akiyama K, and Kaminuma, O. 2007. IL-5 production in response to *Candida albicans* secretory aspartic protease 2 is the marker of isolated late-phase bronchial response upon inhalation challenge for nonatopic asthma. World Allergy Congress 2007

- WAO final program p.75 (Bangkok) 2007/12/2-6
4. Mori A, Otomo T, Kitamura N, Kajiyama Y, Goto M, and Kaminuma O. 2008. Adoptive transfer of Th clone conferred asthma phenotypes including airway obstruction. Collegium International Allergologicum 27th SYMPOSIUM. Final program p.63 (CURACA0) 2008/5/1-6
 5. Mori, A. 2008. IgE-independent asthmatic response: a possible cause of nonatopic asthma. The 1st Asthma Meeting in Tokyo. Session 2. Pathophysiology of bronchial asthma. Abstract p.11, Tokyo, Japan. 2008/5/24
 6. Mori A, Otomo T, Kitamura N, Kajiyama Y, Goto M, and Kaminuma O. 2008. Adoptive transfer of Th clone conferred asthma phenotypes including airway obstruction. Collegium International Allergologicum 27th SYMPOSIUM. Final program p.63 (CURACA0) 2008/5/1-6
 7. Adachi M, Ishihara K, Inoue H, Kudo K, Takahashi K, Morita Y, Masuda K, Sakai T, Kato R, Miyamoto T. Equal or superior efficacy of Ciclesonide 320 μ g or 640 μ g as compared with CFC-Beclomethasone dipropionate 800 μ g in the treatment of patients with moderate to severe asthma. American Thoracic Society 2006 International Conference, San Diego, 2006. 5.
 8. Hirano A, Kanehiro A, Ito W, Ono K, Okada C, Takahashi K, Tanimoto Y, Kataoka M, Gelfand EW, Tanimoto M. Pirfenidone modulates allergen-induced airway hyperresponsiveness, inflammation and remodeling. American Thoracic Society 2006 International Conference, San Diego, 2006. 5.
 9. Takahashi K, Okada C, Kimura G, Hirano A, Soda R, Tanimoto Y, Kanehiro A, Tanimoto M. The characteristics and problem of elderly asthmatic patients in Japan. 16th European Respiratory Society Annual Congress, Munich, 2006. 9.
 10. Takahashi K, Hirano A, Okada C, Kimura G, Soda R. A review of definition and diagnostic criteria of severe intractable asthma. XIX World Congress of Asthma, Monte-Carlo, 2008. 11.
 11. Hiraguchi Y, Nagao M, Tokuda R, Hosoki K, Fujisawa T. Neutrophil Proteases Activate Eosinophil Function In Vitro. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, 2008. 3. 14-20, Philadelphia, USA
 12. Fujisawa T. Non-invasive measurement of airway inflammation in asthma: Is it possible to visualize 'invisible' airways? , Special Lecture at 2008 Annual meeting of the Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology, Seoul, 2008. 5. 9.
 13. Fujisawa T. What is new in Eosinophil World: The Eos strikes back! Meet the Professor session at 2008 Annual meeting of the Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology, Seoul, 2008. 5. 9.
 14. Nishihara M, Maeda I, Shoji S, Shimoda T, Okamoto K: Smooth muscle cell migration induced by production of fibronectin and matrix metalloproteinases for the process of airway remodeling in asthma. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress (2006年6月 京都)
 15. Nishihara M, Shoji S, Maeda I, Shimoda T, Nishima S, Okamoto K: Autocrine and paracrine migration of smooth muscle cell in response to fibronectin in airway remodeling. (2008年5月 トロント) Am J Respir Crit Care Med 177: A496, 2008.
 16. Kimura T, Araki Y, Hayashida K, Eboshida A. Subjective health status using visual analogue scale among elderly Japanese. (Poster) ISOQOL 13th Annual Conference, Oct/2006 (Lisbon)
 17. Kimura T, Yokoyama A, Nakamura H, Kohno N, Eboshida A. Perceived Stress and Quality of Life among Japanese Adults with Asthma. (Poster) ISOQOL 14th Annual Conference, Oct/2007 (Toronto)
 18. Kimura T, Tsuda Y, Uchida S, Yamaoka K, Eboshida A. Computer-assisted measurement of quality of life: Visual Analogue Scale, Face Scale, and the 8-Item Short Form Health Survey (SF-8) Japanese version. (Poster) ISOQOL 15th Annual Conference, Oct/2008 (Montevideo)
- H. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

気管支喘息難治・重症化の病因・病態の解明に関する研究

研究代表者 森 晶夫（独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センター先端技術開発研究部長）

研究協力者

秋山一男（独）国立病院機構相模原病院臨床研究センター長 前田裕二（同センター室長）
谷口正実（同センター室長） 大友 守（同センター室長）
後藤牧子（同センターリサーチレジデント） 北村紀子（同センター研究員）
橋本知実（同センター流動研究員） 梶山雄一郎（同センター研究生）
大友隆之（同センターリサーチレジデント） 山口美也子（同センター研究員）
神沼修（東京都臨床医学総合研究所主任研究員）
石井直人（東北大学大学院医学系研究科生体防御学助教授） 菅村和夫（同教授）

研究要旨

これまでのわれわれの調査研究の成果として、難治性喘息症例では高用量吸入ステロイドに加えて経口ステロイド、テオフィリン、抗ロイコトリエン薬、長時間作用型β刺激薬等多種類の治療薬を併用してもなお満足な治療効果が得られていない現状を確認した。難治性喘息の大多数は成人発症型であり、非アトピー型喘息であることが明らかになった。IgE非依存性の喘息発症メカニズム、ステロイド薬効果不全のメカニズムを解明することにより、ステロイドを中心とする現行の抗炎症療法に限界のある難治性喘息の解決が可能となる。われわれは、重症・難治性喘息における *in vivo* の T 細胞レベルでのステロイド抵抗性を確認し、T 細胞のステロイド抵抗性が、microenvironment 中の costimulatory signal およびサイトカインによって誘導されるとのコンセプトを提唱した。治療に向けた取り組みとして、*in vitro* では、CTLA4-Ig、PI-3K インヒビターにより、ステロイド感受性の回復が可能なること、*in vivo* においても、CD40L ノックアウトマウスを用いて、ステロイド感受性が costimulatory molecule によって規定されることをはじめに証明した。また、IL-9 は気道過敏性の原因遺伝子にあげられる重要な Th2 サイトカインであるが、その産生メカニズムにつきクローン化ヒト T 細胞を用いてはじめて解析した。さらに、重症喘息の大部分を占める非アトピー型喘息の気道収縮メカニズムを明らかにするため、*in vitro* のヒト気管支平滑筋収縮モデルを確立し、characterization を行った。また、*in vivo* のレベルで、T 細胞依存性、IgE 非依存性の喘息反応（気道抵抗上昇）メカニズムを解析できるモデルを構築した。非アトピー機序による気流閉塞メカニズムの解明は、既存の治療薬の効果に限界のある重症・難治症例の治療法開発に向けて、大いに役立つものと期待される。

A. 研究目的

喘息診療においては、近年のガイドラインの普及、吸入ステロイドを代表とする薬物療法の進歩により、比較的軽症な症例に対しては十分な予後・QOLの向上がもたらされた。一方、重症患者に対する治療効果は満足な水準に達していないことが、国内のAIRJ、海外のGOAL study等によって明らかにされた。特に、経口ステロイド薬を常時使用するステロイド依存性の重症喘息患者は、喘息死の予備軍とも位置づけられ、必ずしも近年の治療成績向上の恩恵には浴していないこと、頻回の救急受診・長期入院・社会不適応を理由とする直接・間接の医療費に占める比重の高いことが指摘されている。医療経済的には約1割の重症喘息に対する支出が喘息全体

の過半を占めることが解決すべき課題である。喘息の重症化、難治化の病態・発症機序を解明し、治療・予防法を確立することができれば、年間数千人の喘息死を未然に防止するのみならず、喘息を理由に家庭や社会から疎外されている患者、患者家族のQOLを改善し、なお増大しつつある医療費の削減にもつながることが期待される。

われわれは、前年度までの厚生労働科学研究の成果として、難治性喘息の今日的診断基準を提唱し、ステロイド依存性喘息100症例の登録調査の実施によって、現在の我が国における重症喘息の実態、病態、治療内容を把握してきた。同時期の米国NIHの大規模研究SARP (Severe Asthma Research Program) study、欧州12ヵ国共同研究のENFUMOSA

(European Network For Understanding Mechanisms Of Severe Asthma) study が、重症喘息 250 例、163 例を登録しており、ステロイド依存性喘息はそのうちの約 3 割との事実を考慮すると、われわれの調査の意義は大きいものと考えられる。喘息の重症・難治化の要因について、以前は、早期介入の失敗によって長年の間に高度のリモデリングが蓄積された結果と認識されてきたが、この調査によってはじめて、重症喘息の半数が喘息発症 1~2 年以内にステロイド依存状態に陥っており、これら相当数の重症喘息の機序は、発症時から通常の喘息と異なっていることが示唆された。

難治性喘息の 8 割以上を非アトピー型喘息が占めること、メカニズムの観点からは、高用量のステロイド使用にもかかわらず、高度の炎症反応が持続していること (T 細胞レベルでのステロイド感受性低下) が明らかになっている。現行の治療法では限界のある重症・難治性喘息患者を対象とする新たな治療法の実現に向けて、IgE 非依存性の気流閉塞がいかなる機序によって生ずるかを解明することは大きな意義を有する。ヒト培養気管支平滑筋細胞のゲル内収縮アッセイ系を樹立したので、T 細胞依存性の気道平滑筋収縮活性の characterization を進めた。また、多数のマウス Th クローンを樹立、スクリーニングし、Th クローンの受身移入によって、IgE 非依存性、T 細胞依存性に、抗原チャレンジ後、遅発型気流閉塞が惹起される喘息モデルを確立した。

Th2 型サイトカインが喘息病態に関与することが明らかになっている。IL-9 は T 細胞、マスト細胞の増殖因子として同定された分子であるが、気道過敏性の候補遺伝子とされ、IL-9 を気管支粘膜に過剰発現させたトランスジェニックマウスでは、血清 IgE 上昇、気道過敏性亢進など喘息の特徴がみられること、喘息患者の気管支粘膜生検中の IL-9 mRNA レベルが健常人に比べて上昇していること、抗原チャレンジで喘息患者の BALF 中の IL-9 レベルが上昇することなど、喘息における役割が集積されつつある。われわれが確立した IL-9 測定系を用いて、アトピー型喘息患者の IL-9 産生について解析を行った。

これまでの研究成果から、難治性喘息では高用量のステロイド薬投与にもかかわらず、気道粘膜の好酸球性炎症が持続する分子的基盤として、costimulatory signal による T 細胞レベルでのステロイド感受性低下を指摘してきた。T 細胞上の costimulatory signal 分子 OX40 につき、そのリガンド OX40L のノックアウトマウスを用いた喘息モデルにおいてステロイド薬の効果を解析し、*in vivo* レベルではじめて costimulatory signal によるス

テロイド感受性の制御を明らかにした。

重症・難治化の分子生物学的要因の解明は、予防、治療への突破口と期待される。

B. 方法

対象症例、臨床検査

国立病院機構相模原病院アレルギー科外来に通院中の成人喘息症例より、インフォームドコンセントを得たうえで対象とした。アセチルコリン、ヒスタミンに対する気道過敏性の測定、および抗原吸入負荷試験は、日本アレルギー学会の標準法によって行った。β 刺激剤、テオフィリン剤、インターール、抗コリン剤、ベクロメサゾン吸入は、12 時間以上、抗ヒスタミン剤、ステロイド剤は 24 時間以上中止した。アトピー型は、吸入アレルゲン 20 種を含む皮膚テストにおいて、一つ以上の陽性を示すものと定義した。非アトピー型は皮膚テスト陰性のものとした。

アレルゲン

粗抗原として用いたダニ、スギ、イヌ、ネコ、カンジダ、アルテルナリア、アスペルギルスなど各種アレルゲン診断用エキスの原末は鳥居薬品より供与された。精製ダニアレルゲン Der f 1、Der f 2 はアサヒビール薬品 (株) より、精製カンジダアレルゲン Secretory aspartic protease 2 (SAP2)、Superoxide dismutase (SOD)、cyclophilin、enolase、mannan A は宝酒造 (株) より購入した。Stock solution として、Hank's buffered saline solution (HBSS) に 2 mg/ml の濃度で溶解し、使用時まで -20°C にて凍結保存した。

細胞培養およびアッセイ

ヘパリン採血の後、Ficoll-paque 比重遠心法にて末梢血単核細胞 (Peripheral blood mononuclear cells: PBMC) を得、 2×10^6 /ml の濃度にて、AIM-V 培地に懸濁した。20 nM の Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) と 1 μ M の ionomycin (IOM) で 24 時間刺激した後、上清をハーベストした。一部の well は、抗 CD3 抗体 (OKT3、10 μ g/ml) で coat し、固相化抗 CD3 抗体刺激に用いた。抗 CD28 抗体は、1 μ g/ml で培養中に添加した。Crude アレルゲンとしてダニアレルゲン、*Candida albicans* 抗原などによる T 細胞からのサイトカイン産生を調べるため *Dermatophagoides farinae* (Der f) extract、*Candida albicans* extract、その他のアレルゲン粗抗原エキス (鳥居薬品) の最終濃度 0.1、1、10 μ g/ml を加えて 6 日間培養し、

上清をハーベストした。サイトカイン産生の評価には、上清中の IL-2、IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、IFN- γ をそれぞれ特異的サンドイッチ ELISA 法にて測定した。リンパ球の増殖反応は 10^5 個の細胞を刺激後 6 日間培養した後、16 時間 ^3H -Thymidine パルスにて測定した。実験によっては、negative selection 法により CD4 細胞を enrich した。アトピー型喘息症例の PBMC を Der f 2 と培養し、得られたリンパ芽球を限界希釈法によりクローニングし、ダニアレルゲン Der f 2 特異的ヘルパー T (Th) 細胞クローンを樹立した。さらに、autologous の PBMC を抗原提示細胞とし、抗原を加えて共培養することで subcloning、増殖せしめ、種々の活性化刺激に应答したサイトカイン産生、遺伝子発現、細胞増殖反応につき測定した。IgE 抗体を介する反応を否定する目的に、白血球分画を分離して、抗原と 5~30 分間インキュベートし、ヒスタミン遊離反応を測定した。

Costimulatory signal とステロイド感受性の解析

既報の如く Balb/c マウスを OVA で感作し、所属リンパ節より感作リンパ球を回収、*in vitro* での抗原刺激、limiting dilution を行って、OVA 特異的 Th clone を樹立した (Kaminuma O. et al. Am J Respir Cell Mol Biol. 16:448, 1997)。Irradiated spleen cell を antigen-presenting cell とし、subcloning、さらに expansion し、細胞移入実験に使用した。5 x 10^6 個の Th clone を OX40L (+/+) または (-/-) マウスに尾静脈より注入し (Day 0)、翌日 OVA を経気道的に抗原チャレンジした。さらに 48 hr 後、BUXCO にて気道抵抗を測定、気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、細胞数、分画を測定した。Day 1、2 に dexamethasone (DEX) 1,3 mg/kg、および vehicle を皮下投与した。

T 細胞依存性気流閉塞メカニズムの解析 (*in vitro*)

Candida albicans acid protease (Secreted aspartic proteinase 2: SAP2) に反応して IgE 非依存性に遅発型喘息反応が惹起される非アトピー型喘息症例より、末梢血単核球 (PBMC) を得、SAP2 と培養し、上清を回収後、濃縮、透析、保存した。ヒト気管支平滑筋細胞 (Cambrex 社) をコンフルエント条件に培養し、コラーゲンゲルに封入アブライした後、サンプルをアブライシ、収縮を経時的に記録、解析した。

T 細胞依存性気流閉塞メカニズムの解析 (*in vivo*)

既報の如く Balb/c マウスを OVA で感作し、所属リンパ節より感作リンパ球を回収、*in vitro* での抗

原刺激、limiting dilution を行って、OVA 特異的 Th clone を樹立した (Kaminuma O. et al. Am J Respir Cell Mol Biol. 16:448, 1997)。OVA 特異的 T 細胞受容体の transgenic である D011.10 マウスからも同様の手法で Th clone を樹立した。Irradiated spleen cell を antigen-presenting cell とし、subcloning を行い、さらに expansion し、細胞移入実験に使用した。5 x 10^6 個の Th clone を無処置マウスに尾静脈より注入し (Day 0)、翌日 OVA あるいは OVA 部分ペプチド (P₃₂₃₋₃₃₆) を経気道的に抗原チャレンジした。経時的に気道抵抗を BUXCO 社製非拘束下呼吸解析装置により測定した。さらに 48 hr 後、BUXCO にてメサコリン気道反応性を測定、気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、細胞数、分画を測定した。実験群によっては、麻酔下にレスピレータ装着し、気道抵抗解析装置にてモニターした。

(倫理面への配慮)

倫理面の配慮として、患者を対象とする調査、検査において、また、ヒト由来の細胞、組織等の試料を用いる場合には、ヘルシンキ宣言を遵守するとともに、わが国のヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)、疫学研究に関する倫理指針 (平成 19 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号)、臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) を遵守した。インフォームドコンセントを徹底するとともに、症例はコード化し、プライバシーの保護に万全を期した。実施に先立って研究者の施設における倫理委員会の承認を得たうえで、倫理規定に従って実施した。実験動物を使用する場合、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 (平成 18 年 6 月 1 日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知) 及び研究者の施設における動物実験に関する倫理規定を遵守した。実験間のばらつきを考慮した上で、統計学的有意性を議論しうる最小例数を算出し、その使用数を決定し、動物を保定、施術および致死させる場合は、最も苦痛を与えない方法を事前に検討した。

C. 結果

(1) アトピー型喘息患者における IL-9 産生の解析

アトピー型喘息患者の PBMC に抗原非特異的的刺激、PMA+IOM、固相化抗 CD3 抗体±抗 CD28 抗体を加えたところ、健常者に比較して有意に高い IL-9 産生の誘導を認めた。次に、Der f extract 刺激により誘

導される PBMC からの IL-9 産生の kinetics について検討を行った。Der f extract 刺激により誘導される IL-9 は、刺激後 2 日目から統計学的に有意な産生増加がみられ、6 日目で最大の産生量を示すことがわかった(図 1)。

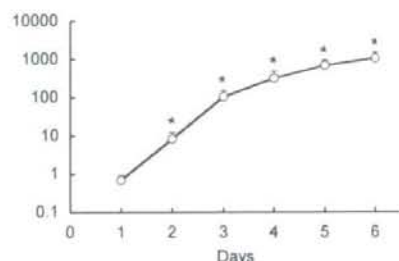


図 1、アトピー型喘息患者由来の PBMC におけるダニアレルゲン誘導 IL-9 産生の経時変化

5 人のアトピー型喘息患者から分離した PBMCs を 10 $\mu\text{g/ml}$ Der f extract と共培養し、いくつかの time point で培養上清を回収した後、培養上清中の IL-9 レベルを測定した。(*: $p < 0.05$)

次に Der f extract 刺激により誘導される IL-9 産生の至適抗原濃度について検討した。アトピー型喘息患者由来の PBMC を種々の濃度 (0.1, 1, 10 $\mu\text{g/ml}$) の Der f extract と 6 日間共培養し、培養上清中の IL-9 を測定した。IL-9 産生は 1 $\mu\text{g/ml}$ Der f extract 刺激から検出可能となり、無刺激コントロールと比較して 10 $\mu\text{g/ml}$ Der f extract 刺激では有意に IL-9 産生が増加することがわかった(図 2)。

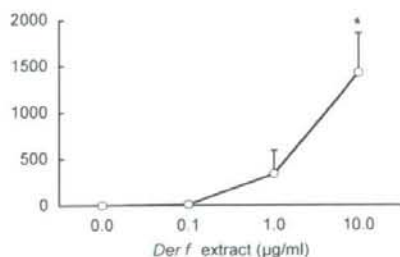


図 2、アトピー型喘息患者 PBMC における Der f extract 応答性 IL-9 産生

9 人のアトピー型喘息患者から分離した PBMC を各濃度の Der f extract と 6 日間共培養し、培養上清中の IL-9 を測定した。(*: $p < 0.05$)

アトピー型喘息患者 PBMC からのアレルゲン応答性 IL-9 産生を担う IL-9 産生細胞を明らかにするた

め、抗 CD2, CD4 あるいは CD8-coupled magnetic beads を用いて CD2⁺細胞-, CD4⁺細胞- あるいは CD8⁺細胞-depleted 画分を作成した。それぞれの depleted 画分を Der f extract (10 $\mu\text{g/ml}$) と 6 日間共培養し、培養上清中の IL-9 を測定した。CD8⁺細胞の depletion は PBMC からの IL-9 産生に影響を与えなかったが、CD2⁺細胞あるいは CD4⁺細胞の depletion により、PBMC からの IL-9 産生は完全に抑制された(図 3)。以上の結果からアトピー型喘息患者 PBMC からの抗原特異的 IL-9 産生は主に CD4⁺T 細胞によることが明らかとなった。

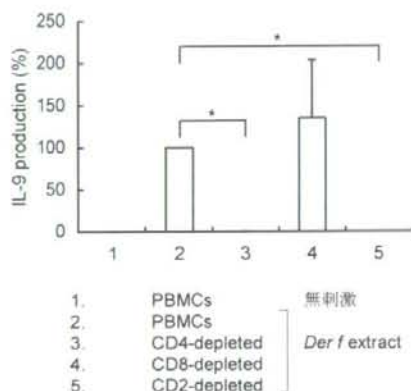


図 3、CD4⁺T 細胞が IL-9 産生細胞である

抗 CD2, CD4 あるいは CD8-coupled magnetic beads を用いて CD2⁺細胞-, CD4⁺細胞- あるいは CD8⁺細胞-depleted 画分を作成した。それぞれの depleted 画分は 10 $\mu\text{g/ml}$ Der f extract と 6 日間共培養し、培養上清中の IL-9 レベルを測定した。(*: $p < 0.05$)

さらに、アトピー型喘息患者 PBMC のアレルゲン応答性 IL-9 産生量と他のサイトカイン産生量、臨床マーカーとの関連について検討した。IL-9 産生量は IL-5, IL-13 産生量、抗原特異的 IgE 値や喀痰中好酸球スコアと正の相関を示すことが明らかになった。

次いで、アトピー型喘息患者の抗原特異的 T 細胞クローンをを用いて種々の刺激に応答する IL-9 産生について検討した。アレルゲン特異的 T 細胞クローンに活性化刺激 (20 nM ホルボールエステル (PMA), 1 μM イオノマイシン (IOM), PMA + IOM, PMA + 1 $\mu\text{g/ml}$ 抗 CD28 抗体, PMA + 100 μM cAMP, 固相化抗 CD3 抗体 (OKT3), OKT3 + 抗 CD28 抗体, 100 U/ml リコンビナント IL-2) を加えて 48 時間培養し、培養上清中のサイトカインを測定した。IL-9 産生は PMA 刺激のみでは誘導されなかったが、IOM 刺激では誘

導され、さらに IOM + PMA 刺激により増強がみられた。いくつかの T 細胞クローンでは PMA + 抗 CD28 抗体および PMA + cAMP 刺激で IL-9 産生がみられた。また IL-9 産生は OKT3 刺激のみでも誘導され、抗 CD28 抗体刺激が加わることにより有意に増加した。さらにリコンビナント IL-2 刺激でも IL-9 産生の誘導がみられた(図4)。これらの結果からヒト T 細胞からの IL-9 産生において Ca^{2+} シグナルや CD28 シグナル、IL-2 受容体シグナルが重要な役割を果たしていることが明らかになった。

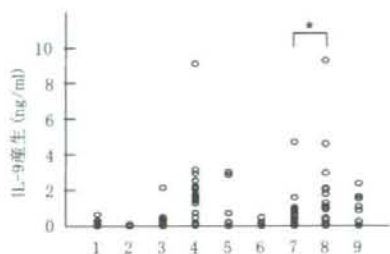


図4、アトピー型喘息患者の抗原特異的 T 細胞クローンの IL-9 産生

無刺激 (lane 1) あるいは PMA (2), IOM (3), PMA + IOM (4), PMA + 抗 CD28 抗体 (5), PMA + cAMP (6), 固相化抗 CD3 抗体 (7), 固相化抗 CD3 抗体 + 抗 CD28 抗体 (8), リコンビナント IL-2 (9) 刺激下で 48 時間、抗原特異的 T 細胞クローンを培養し、培養上清中の IL-9 を測定した。(*: $p < 0.05$)

次に、IL-2 刺激に対する T 細胞クローンからの IL-9 産生について検討した。アトピー型喘息患者由来の T 細胞クローンに種々の濃度 (0.1, 1, 10, 100, 1000 U/ml) のリコンビナント IL-2 を加えて 48 時間培養し、培養上清中の IL-9 レベルを測定した。IL-9 産生は 100 U/ml の IL-2 刺激から著しく誘導され、100 U/ml と 1000 U/ml の IL-2 刺激には大きな違いがなかった(図5)。これはこれまでに報告のある IL-2 誘導 IL-5 および IL-13 産生と同様の結果であった。

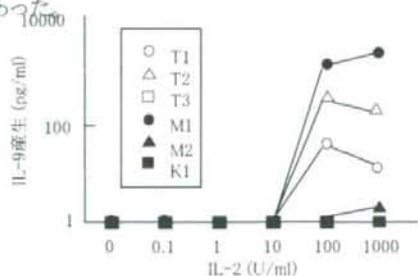


図5、アトピー型喘息患者のアレルゲン特異的 T 細胞クローンの IL-2 による IL-9 産生誘導

アトピー型喘息患者から単離した T 細胞クローンをリコンビナント IL-2 と 48 時間共培養し、培養上清中の IL-9 を測定した。クローン T1, T2, T3 はドナー-T、クローン M1, M2 はドナー-M、クローン K1 はドナー-K 由来。

われわれは、これまでに Th 細胞による IL-5 産生が IL-2 依存的事であることを報告している。そこで、固相化 CD3 抗体刺激により誘導される IL-9 産生の IL-2 依存性について抗 IL-2 中和抗体を用いて検討した。アトピー型喘息患者由来の T 細胞クローンに OKT3 刺激と同時に種々の濃度 (1, 3, 10 $\mu\text{g/ml}$) の抗 IL-2 抗体を加えて 48 時間培養し、培養上清中の IL-9 およびその他の Th2 サイトカインレベルを測定した。また刺激から 48 時間後にトリチウムサイミジンを加え、17 時間後の細胞増殖を測定した。OKT3 刺激により誘導された IL-9 産生は 1 $\mu\text{g/ml}$ の抗 IL-2 抗体により阻害され、3 および 10 $\mu\text{g/ml}$ の抗 IL-2 抗体では OKT3 刺激のみと比較して有意に阻害された。このとき IL-5 産生は IL-9 産生と同様に抗 IL-2 抗体による阻害がみられたが、IL-13 産生および細胞増殖は阻害されなかった(図6)。以上の結果から、T 細胞による IL-9 産生は IL-2 依存的事であることが示された。また抗原特異的 T 細胞からの IL-9 産生は、IL-5 産生と共通のメカニズムにより調節されている可能性が考えられた。

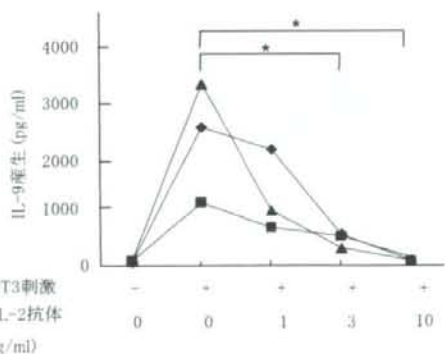


図6、アトピー型喘息患者のアレルゲン特異的 T 細胞クローンの IL-9 産生は IL-2 依存性である

アトピー型喘息患者由来の T 細胞クローンに固相化 CD3 刺激と同時に種々の濃度 (1, 3, 10 $\mu\text{g/ml}$) の抗 IL-2 抗体を加えて 48 時間培養し、培養上清中の IL-9 を測定した。(*: $p < 0.05$)

(2) OX40L ノックアウトマウスを用いたステロイド抵抗性についての検討

我々は、T細胞クローンを無処理マウスに移入、抗原チャレンジを行うことにより、気道過敏性、肺好酸球浸潤を惹起するT細胞依存性喘息モデルを報告してきた。今回は、T細胞クローン 1×10^7 cells/head を OX40L ノックアウトマウスおよび無処理 BALB/c マウスに経静脈的に移入し、24 時間後に OVA 経鼻チャレンジを行い、移入 30 分前および移入 24 時間後に 0 (生理食塩水のみ)、1, 3 mg/kg のデキサメタゾンを皮下投与した。チャレンジ 48 時間後に無拘束呼吸機能解析装置 (BUXCO) を用いて塩化メサコリンによる気道抵抗を測定し、Penh (enhanced pause) 値で表示した。BALF 好酸球の解析は、チャレンジ 48 時間後に BAL を施行し、総細胞数をカウントし、サイトスピンを用いてスライドガラスに接着させ、ギムザ染色を行い、好酸球数をカウントした。

肺好酸球浸潤はデキサメタゾンの用量依存的に抑制され、OX40L ノックアウトマウスではデキサメタゾン 0 mg/kg 群と比較して 3 mg/kg 群で 80% 抑制され統計学的有意差を認めた (図 7)。Wild type では約 50% の抑制にとどまった。以上の結果から共刺激シグナル分子が *in vivo* でステロイド抵抗性に関与することが明らかにされた。気道過敏性は OX40L ノックアウトマウスと BALB/c マウスとで差がみられなかった。

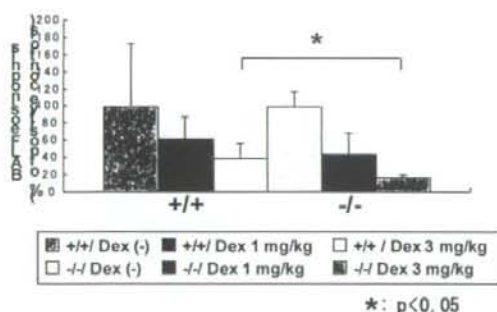


図 7、OX40L -/-マウスでは、ステロイド薬投与による好酸球浸潤抑制が増強される

(3) 非 IgE 依存性、T 細胞依存性喘息反応機序の解明 (*in vitro*)

既述のごとく、重症喘息の大部分は非アトピー型喘息が占める。非アトピー型喘息の原因抗原を同定し、気道閉塞機序を明らかにすることは、喘息病態の解明にかかわる大課題である。われわれは、非アトピー型喘息症例の PBMC を種々のアレルゲンと培養スクリーニングすることで、*Candida albicans* 粗抗原、および精製抗原 SAP2 に反応して IL-5 産生

が誘導される患者群を見出した。IL-5 産生が誘導される症例では、IAR を欠く IAR (isolated IAR) が観察される。皮内に抗原が投与された場合にも、即時型反応を欠く遅発型反応が惹起される。IgE 抗体が関与しないことは、IAR の欠如により、さらに、negative RAST、negative HRT (histamine releasing test) により確認されている。これらの結果から、「T細胞アレルゲン」が、IgE 抗体依存性の即時型アレルギー反応なしに、遅発型アレルギー反応を引き起こすことが明らかになった。

気管支平滑筋の収縮を評価する実験系としては、ウシやモルモット等の気管リングをマウス管に牽引する評価系がよく用いられるが (Beasley et al, J. Appl. Physiol. (1989) 66; 1685, Gosens et al, Br. J. Pharmacol. (2002) 137; 459)、動物種の違いによる収縮差が生じる可能性がある。ヒト気管リングの収縮実験系も報告されているが (Cerrina et al, Prostaglandins (1989) 37; 457, Norel et al, Br. J. Pharmacol. (1999) 126; 867)、手術摘出の気管支を用いることから、入手が困難であり、実験計画を立てにくいなどの問題が多い。われわれは、commercially available なヒト正常気管支平滑筋細胞を用いた、3次元 collagen gel による簡便な収縮測定系を確立した (図 8)。

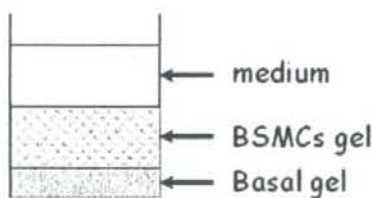


図 8、ヒト正常気管支平滑筋細胞を用いた、3次元 collagen gel

24 well culture plate に、basal gel layer を形成し、さらにヒト正常気管支平滑筋細胞 (BSMC) を封入した gel layer を重層する。6 日間培養した後、medium をアッセイバッファーで置換し、ゲルを well 側壁から剥離して、経時的に収縮を測定する。

収縮物質を添加した後、ImageMaster VDS-CL (Amersham) で gel 画像を撮影し、top gel の面積を算出し、収縮率を計算した (図 9)。