

図9、ゲル収縮の撮影像と収縮率の算出

まず、既知の収縮物質による気管支平滑筋収縮を評価した。0.01-100 μM の histamine および methacholine を加えて、収縮率を計測した。いずれの場合も、dose-dependent に収縮が観察された(図10)。

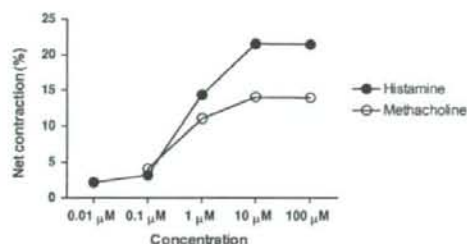


図10、Histamine, methacholine による dose-dependent な培養ヒト気管支平滑筋細胞ゲルの収縮

従来、培養ヒト気管支平滑筋細胞を用いた実験系では、ロイコトリエン (LT) C4, D4 に対する収縮反応を検出することが困難であった。培養条件を検討することで、histamine, methacholine に比較して弱いながらも、有意な収縮を再現性よく観察することができた(図11)。

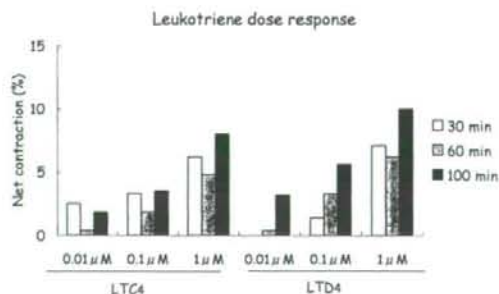


図11、LTC4, LTD4 による培養ヒト気管支平滑筋細胞ゲルの経時的収縮

次に、既知のアンタゴニストの効果を検討した。H1 アンタゴニストの pyrilamine と 30 分 preincubation した後に、Histamine, methacholine を加えて、収縮反応を惹起した。Pyrilamine 1 μM は、histamine 1 μM の収縮を 90%抑制したが、methacholine による収縮反応を抑制せず、拮抗薬の特異性が確認できた(図12)。

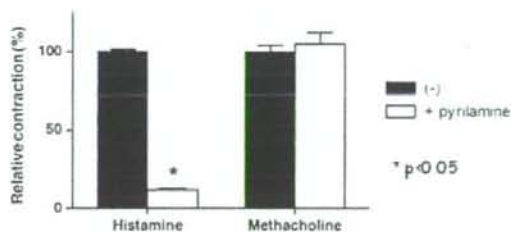


図12、H1 アンタゴニストpyrilamine による収縮反応の抑制

気管支拡張効果を有する薬物の効果についても確認した。いったん histamine, methacholine で収縮させたゲルに、formoterol を加え、弛緩効果を確認した(図13)。

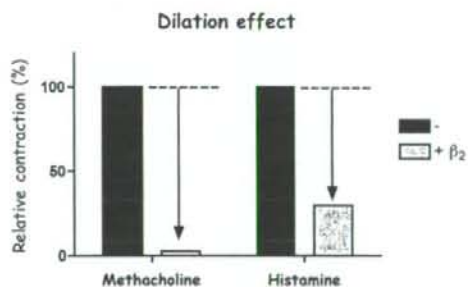


図13、Formoterol 添加による methacholine, histamine 収縮の弛緩

以上の実験結果から、本研究で用いる培養ヒト気管支平滑筋細胞ゲルは、*in vivo* の収縮特性と薬物反応性を反映したモデルと考えられた。そこで、SAP2 に反応した T 細胞 IL-5 産生、および吸入誘発時に isolated LAR の認められる症例から、PBMC を分離し、SAP2 と培養 48 時間後の上清を、濃縮、透析後に、本ゲルにアブライした。SAP2 反応性の LAR

が認められる症例のT細胞培養上清では、平滑筋ゲルの収縮活性が認められた(表1、図14)。

表1. ドナー

Case	SAP2 reactivity	% fall in FEV _{1.0}	
		IAR	LAR
JW	+	0	34
HS	+	0	42
YO	-	0	0



図14. 症例別のSAP2培養上清の収縮活性

さらに、収縮物質の同定を進める目的に、T細胞クローンを樹立し、収縮活性を有するクローンを選択した。

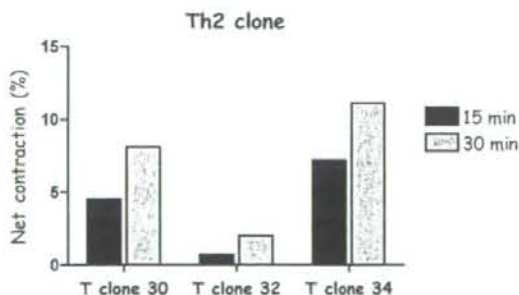


図15. T cell clone 培養上清中の培養ヒト気管支平滑筋細胞ゲルの収縮活性

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

次に、T細胞依存性気流閉塞機序の解明と治療法研究に向けて、T細胞移入モデルを解析した。既に、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(Kaminuma O., et al. Am J Respir Cell Mol Biol. 16:448, 1997, Nakata A., et al. Int Immunol. 13:329, 2001, Kaminuma O., et al. Eur J Immunol. 31:2669, 2001)。今回は、T細胞クローン 1×10^7 cells/head を無処理 BALB/c マウスに経静脈的に移入し、24時間後にOVA経鼻あるいは吸入(噴霧)チャレンジを行い、経時的に気道抵抗を測定した。無拘束呼吸機能解析装置(BUXCO)を用いてPenh (enhanced pause) 値で表示した。また、麻酔下レスピレータ装着下に呼吸機能測定装置(BUXCO社)を用いて、直接呼吸抵抗を測定した。BALF好酸球の解析は、チャレンジ48時間後にBALを施行、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。

図16aに実験スケジュールを示す。D011.10 transgenic mouse からOVA特異的Thクローンを樹立した。Thクローン移入の24hr後にOVAまたは抗原エピトープのp323-339を経鼻的にチャレンジし、40hr後までPenh値を測定したp323-339の場合は、1hr後から、OVAの場合には2hr後から、Penh値が上昇し、40hr後まで持続した(図16b)。

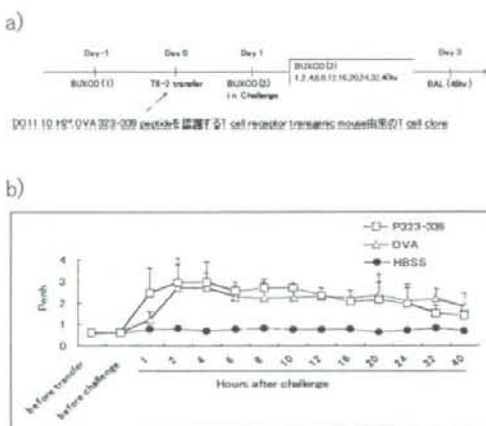


図16. Thクローン移入後のPenhの推移
D011.10 transgenic mouse からOVA特異的Thクローンを樹立した。a) 実験スケジュール Thクローン移入の24hr後にOVAまたは抗原エピトープのp323-339を経鼻的にチャレンジし、40hr後まで

Penh 値を測定した。b) p323-339 の場合は、1 hr 後から、OVA の場合には 2 hr 後から、Penh 値が上昇し、40 hr 後まで持続した。

さらに、麻酔下にレスピレータを装着、拘束下にボディープレチスモグラフィにてダイレクトに気道抵抗値を計測するモデルを実施した。この場合も、約 6 時間後から気道抵抗値 (R_L) の上昇を認めた (data not show)。

気流閉塞は喘息を特徴付ける病態であり、従来は、IgE を介したマスト細胞の活性化によって化学伝達物質が放出されて気道抵抗が上昇する機序だけが知られていたが、今回のわれわれの研究成果から、液性免疫以外に、気流閉塞を生じさせる機構が存在し、Th 細胞がエフェクター細胞であることが、はじめて明らかにされた。

D. 考察

IL-9 は Th2 サイトカインの 1 つで、その遺伝子は 5q31-35 の Th2 サイトカインクラスター中に位置する。主に Th2 細胞、好酸球やマスト細胞などから産生される。気道過敏性亢進に関わる遺伝子の解析から気管支喘息との関係が示唆されている (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:13175-13180, 1997)。IL-9 を気道粘膜に強制発現せしめたトランスジェニックマウスでは喘息様の phenotype がみられることが報告されている (J. Exp. Med. 188:1307-1320, 1998)。また、喘息患者の気管支生検中で IL-9 mRNA+ 細胞数が増加しており、IL-9 mRNA レベルと FEV1、PC20 との相関するとの報告もみられる (J. Allergy Clin. Immunol. 104:108-115, 2000)。アトピー型喘息患者では抗原チャレンジにより BALF 中の IL-9 mRNA 発現が増加し、IL-9 レベルと BALF 中の好酸球数に相関が認められている (J. Allergy Clin. Immunol. 111:1319-1327, 2003)。

これまで子供の喘息患者を対象とした報告はあるものの、成人の喘息患者を対象として T 細胞からの IL-9 産生を調べた報告はほとんどみられなかった。ダニ RAST+ の成人アトピー患者の PBMC では SPT-群に比べて HDM 特異的 IL-9 産生量が有意に高い、また、アトピー型喘息患者の PBMC は他のアトピー患者に比べて抗原特異的 IL-9 産生量が有意に高いことが報告されている (Devos S. et. al Clin. Exp. Allergy 36:174-182, 2006)。HDM-SPT+ の幼児の PBMC では SPT-群にくらべて HDM 特異的 IL-9 mRNA 発現が有意に高い (Macaubas C. et. al Clin. Exp. Allergy 29:1223-1231, 1999; Rubin A. et. al. Allergy 56:1042-1048, 2001)。アトピー型喘息の子供の

PBMC では抗原刺激に対してコントロール群より有意に高い IL-9 産生が誘導される (Bottcher M. F. et. al. Pediatric Allergy Immunol. 14:345-350, 2003)。

今回のわれわれの解析では、成人アトピー型喘息患者の PBMC において、PMA+IOM 刺激により誘導される IL-9 産生は、健常コントロール群と比較して有意に高かった。IL-9 産生量は、IL-13 産生量および血中 total IgE 値と正の相関を示した。成人アトピー型喘息患者の PBMC におけるダニアレルゲン応答性 IL-9 産生は、健常コントロール群と比較して有意に高かった。また、ダニアレルゲン応答性 IL-9 産生量は IL-13 および IL-5 産生量、ダニアレルゲン特異的 IgE 値、喀痰中好酸球数と正の相関を示した。IL-9 産生は、IgE 産生や好酸球浸潤との関連が認められたが、気道過敏性と相関はみられなかった。以上の知見から、成人アトピー型喘息における IL-9 の役割が示唆される。

そこで、細胞レベルで IL-9 産生メカニズムを解明することをめざして、アレルゲン特異的ヒト T 細胞クローンのサイトカイン産生を解析した。その結果、成人アトピー型喘息患者由来の *Der f* 特異的 Th クローンにおいて、PMA+IOM、CD3 刺激により IL-9 産生が誘導され、CD3 刺激に CD28 刺激が加わることにより IL-9 産生は約 3 倍に増加した。一部のクローンでは、IL-2 単独の刺激により IL-9 を産生した。CD3 刺激により誘導された IL-9 産生は、抗 IL-2 中和抗体の存在により有意に抑制された。以上の知見から、ヒトのアレルゲン特異的 Th 細胞は、単独で T 細胞レセプターシグナルにตอบสนองして、IL-9 を産生すること、IL-9 産生には Ca^{2+} シグナル、CD28 シグナル、IL-2 レセプターシグナルが重要であることが明らかになった。喘息患者の気道粘膜では、Th2 サイトカインに加え、Th1 サイトカインの IL-2 産生亢進も報告されており、IL-9 産生には、抗原特異的機序と IL-2 (サイトカイン) 依存性機序が存在することが推測される。

T 細胞活性化には T 細胞受容体 (TCR) を介する抗原特異的シグナルと共刺激分子を介する抗原非特異的シグナルが必要である。共刺激分子の 1 つである OX40 リガンド (OX40L) は抗原提示細胞上に発現しており、T 細胞上に発現している OX40 (CD134) と共に T 細胞増殖やサイトカイン産生を増強することが知られている。これまでに *in vitro* の実験から、TCR シグナルのみの活性化と比較して、TCR シグナルと共刺激シグナル両方を活性化するとステロイドに対する抵抗性が高くなる、という結果が得られている。今回得られた知見は、OX40L ノックアウトマウスを用いて、共刺激シグナルとステロイド

抵抗性との関連を *in vivo* で証明するものである。T細胞レベルのステロイド抵抗性は、T細胞に intrinsic な異常でなく、T細胞をとりまく microenvironment 中の costimulatory signal、サイトカインの多寡によってコントロールされているとのコンセプトを支持する (図17)。



図17、T細胞のステロイド感受性は微小環境における活性化シグナル、サイトカインによって規定される可能性がある

喘息には IgE 抗体を特徴とするアトピー型と IgE 抗体の認められない非アトピー型の2型が存在する。成人発症型喘息では IgE 抗体を認めない非アトピー型が多く、IgE 抗体を有するアトピー型がほとんどを占める小児発症型とは、発病の背景が異なり、より環境因子の影響が大きいとされる。いずれのタイプも同様の臨床症状、検査所見を呈することから、IgE 抗体とは異なる喘息共通の病態が存在するとの仮説が提唱されてきた。現在までの国内外の研究結果から、気管支喘息の好酸球性炎症には T 細胞と T 細胞により産生されるサイトカインが重要であることが確立されている。アトピー型喘息においては、ダニアレルゲン反応性 T 細胞が、好酸球活性化因子 IL-5 を過剰産生することによって、気道粘膜において好酸球性炎症が惹起されるものと推測される。非アトピー型喘息においては、抗原非特異的活性化刺激 (PMA+ionomycin) により IL-5 産生が顕著に誘導されるが、好酸球性炎症の成立機序を考える上で、いかなる抗原に反応して IL-5 産生がおこなわれるかが興味深い。前年度までの研究成果より、IL-5 産生誘導抗原は、*in vitro* で T 細胞を活性化するのみならず、*in vivo* で遅発型アレルギー反応を惹起することが明らかになっている。IgE 抗体の存在には関係なく、IL-5 を産生する Th 細胞があれば、好酸球性炎症、喘息反応 (気流閉塞) がおきるという仮説を検証するために、Th 細胞受身移入マウスを用いて検討した。従来の実験喘息モデルは、マウスを抗原で感作した後、抗原を吸入負荷するもので、IgE、IgG、IgA 抗体をはじめとする液性免疫と感作 T 細胞 (細胞性免疫) の関与を分けて解析することが不可

能であった。あらかじめ、Balb/c マウスを卵白アルブミン (OVA) にて感作し、所属リンパ節から、OVA 特異的 T 細胞クローンを樹立した。抗原刺激によって IL-5 を産生する Th クローンを無処置マウスに移入し、その後抗原を吸入させると、著明な気道好酸球性炎症が惹起される。気道粘膜への好酸球浸潤、気道上皮の破壊、杯細胞化生等の喘息患者の病理所見に準じた所見が観察されたが、IL-5 産生能の低いクローンを移入しても炎症所見はみられなかった。抗原負荷によってアセチルコリン (Ach) に対する気道反応性が約 10 倍亢進していた (気道過敏性)。さらに、今回、本モデルによって、液性免疫の関与なしに、Th 細胞の活性化によって喘息を特徴づける気流閉塞が誘導されることがはじめて示された。この報告以前は、T 細胞や IL-5 は好酸球性炎症を発症するための必要条件として認識されていた。すなわち、抗原特異的な T 細胞が存在するだけでは不十分であり、むしろ、IgE 抗体を介したメカニズムによりマスト細胞が活性化され、即時相が生じ、そこで産生されるサイトカイン、ケモカイン、ケミカルメディエータが、後につづく遅発相における主たる effector 細胞である T 細胞、好酸球を局所に集積するのに重要であると捉えられてきたが、本知見は、IL-5 産生性の T 細胞の存在が、好酸球性炎症、気流閉塞の十分条件であることを明確に示している。

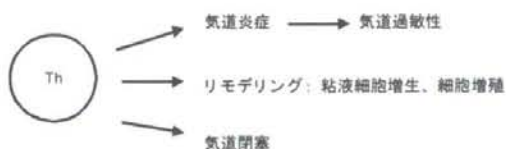


図18、T細胞は、気道炎症、過敏性、リモデリングに加えて、気流閉塞を惹起するエフェクター細胞である

Kay らは、ネコアレルギーの喘息患者を対象に、Fel d 1 の部分ペプチド 3 個からなる混合物 FC 1 P の効果を解析中に、このペプチドの皮内注射に反応して、DRB13 を有する患者では、IAR を欠く LAR が出現することを見出した。ペプチドは IgE とは反応しないことから、この場合も抗原提示細胞と T 細胞との interaction によって LAR が誘導されたと考えられる。皮内投与されたペプチドが、いかにして気道反応を引き起こしうるのか、dendritic cell の関与があるのか、果たして本当に T 細胞の活性化が生じているのかなど、基本的な問題が解決される必要があるが、極めて興味深い現象といえよう。*In vitro*

じているのかなど、基本的な問題が解決される必要があるが、極めて興味深い現象といえよう。*In vitro* IL-5 産生と遅発型アレルギー反応を結びつける機序は重要課題である。今後、メディエータ、炎症細胞を明らかにする必要がある。

そこで、Commercially available な培養ヒト気管支平滑筋細胞を用いた収縮反応測定系を確立した。hBSCM ゲルでは、既知収縮物質 Histamine、Methacholine の濃度依存的な収縮が認められ、気管リングによる収縮での報告とほぼ同等の成績であった。拮抗剤および β_2 作動薬の前処置による収縮抑制を認めた。本実験系のメリットとしては、1. 特別な測定機器を必要とせず、取り扱いが簡便であること、2. 培養細胞を用いることから、実験計画が立てやすいこと、3. 24 well plate での培養であり、サイトカイン等の添加培養に適していること等があげられる。一方、デメリットとしては、現時点では、灌流処理ができないので、測定項目数分の gel の作製が必要になることがあるものの、hBSCM の収縮実験系では、既知の気管支収縮物質の活性が検出でき、新たな収縮要素の同定および新規収縮抑制剤の開発に向けたツールとして有用と考えられる。即時型喘息反応を欠く遅発型反応陽性者の PBMC 培養上清は、気管平滑筋ゲルの収縮を惹起したが、陰性者の培養上清には収縮活性を認めなかった。ヒスタミン、メサコリン、ロイコトリエンなど既知の収縮物質とは、タイムコース、アンタゴニストに対する反応が異なることを明らかにした。さらに、T 細胞受容体を介する活性化に伴って、収縮活性を産生する T 細胞クローンを樹立した。分子量、等電点より、未知の喘息症状発現機序の存在が示唆される。気管支平滑筋収縮活性分子の性状、および産生する T 細胞の characterization (表面マーカー、産生誘導 cytokine など) につき解析中である。加えて、喘息患者 PBMC および mite 特異的 Th2 clone 培養上清で、gel 収縮が認められ、*in vitro* での収縮強度は、*in vivo* での LAR の有無と相関していた。

E. 結論

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が確認されている。新たな治療ターゲットを見出すことが、治療面でのブレイクスルーにとって必須の課題と考えられる。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の解析をクローン化ヒト T 細胞を用いてはじめて実施した。

重症喘息でのステロイド薬効果不全のメカニズムを解明し、ステロイド感受性、ステロイド薬本来の薬効を回復することは重症症例群に対する治療効果を格段に向上させるための鍵である。これまでに、難治性喘息症例においては *in vivo* の T 細胞レベルでステロイド抵抗性を確認している。T 細胞のステロイド抵抗性は、microenvironment 中の costimulatory signal およびサイトカインによって誘導される。本研究では、CD40L ノックアウトマウスを用いて、costimulatory molecule がステロイド感受性を制御していることを *in vivo* ではじめて証明した。

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。今後、喘息患者 T cell での収縮物質の同定および平滑筋細胞への作用の解明に向けて、有力なツールとなる。この気管支平滑筋収縮活性を産生する T 細胞の characterization (表面マーカー、産生誘導 cytokine など) を明らかにしたい。一方、*in vivo* のレベルでは、Th clone 移入による非アトピー型喘息モデルを確立し、T 細胞が気流閉塞を惹起する必要十分な要因であることをはじめて見出した。気流閉塞のメディエータ同定とその産生制御、気流閉塞を生じさせる T 細胞のマーカーは、今後の最重要課題である。T 細胞依存性、IgE 非依存性の喘息メカニズムは、非アトピー型喘息に限らず、感作 T 細胞が存在するアトピー型喘息においても共通に operate している機構と推測される。現行の治療で効果が十分に得られない症例群にとっては、本メカニズムの解明が大いなる福音となることが期待される (図 19)。

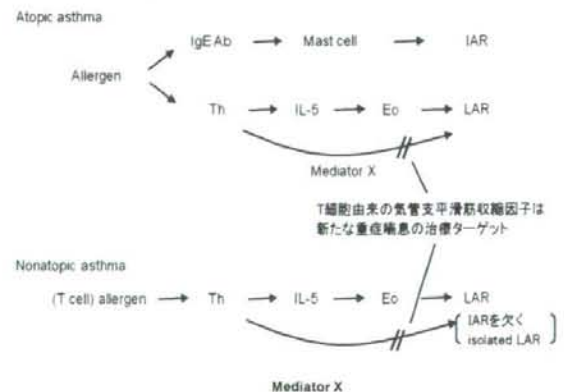


図19、吸入ステロイド、ロイコトリエン拮抗薬、LABAに抵抗性のFixed airflow limitationは、重症喘息の特徴

F. 健康危機情報
該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mori, A., Ogawa, K., Kajiyama, Y., Suko, M., and Kaminuma, O. 2006. Th2 cell-mediated chemokine synthesis is involved in allergic airway inflammation in mice. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 140 (suppl 1):55-58.
2. Hashimoto, T., Kobayashi, N., Kajiyama, Y., Suko, M., Kaminuma, O., and Mori, A. 2006. IL-2-induced IL-13 production by allergen-specific human helper T cell clones. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 140 (suppl 1):51-54.
3. Kitamura, N., Kitamura, F., Kaminuma, O., Miyatake, S., Tatsumi, H., Nemoto, S., and Mori, A. 2007. IL-4 gene transcription in human T cells is suppressed by T-bet. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 143 (suppl 1):68-70.
4. Umezu-Goto, M., Kajiyama, Y., Kobayashi, N., Kaminuma, O., Suko, M., and Mori, A. 2007. IL-9 production by peripheral blood mononuclear cells of atopic asthmatics. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 143 (suppl 1):76-79.
5. Hashimoto, T., Kitamura, N., Kobayashi, N., Suko, M., Kaminuma, O., and Mori, A. 2007. Effect of Formoterol on allergen-induced cytokine synthesis by atopic asthmatics. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 143 (suppl 1):106-109.
6. Kajiyama, Y., Umezu-Goto, M., Kobayashi, N., Takahashi, K., Fukuchi, Y., and Mori, A. 2007. IL-2-induced IL-9 production by allergen-specific human helper T cell clones. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 143 (suppl 1):71-75.
7. Mori, A., Ogawa, K., Someya, K., Kunori, Y., Nagakubo, D., Yoshie, O., Kitamura, F., Hiroi, T., and Kaminuma, O. 2007. Selective suppression of Th2-mediated airway eosinophil infiltration by low-molecular weight CCR3 antagonists. *Int. Immunol.* 19: 913-921.
8. Taniguchi, M., Tsurikisawa, N., Higashi, N., Saito, H., Mita, H., Mori, A., Sakakibara, H., and Akiyama, K. 2007. Treatment for Churg-Strauss syndrome. Induction of remission and efficacy of intravenous immunoglobulin therapy. *Allergology International* 56:97-103.
9. Kitamura, N., Kaminuma, O., and Mori, A. 2008. A contraction assay system using established human bronchial smooth muscle cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 146 (Suppl 1):36-39.
10. Otomo, T., Miyatake, S., Kajiyama, Y., Umezu-Goto, M., Kobayashi, N., Kaminuma, O., and Mori, A. 2008. Airway eosinophilic inflammation is attenuated in conserved noncoding sequence-1 deficient mice. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 146 (Suppl 1):2-6.
11. Suzuki, K., Kaminuma, O., Hiroi, T., Kitamura, F., Miyatake, S., Takaiwa, F., Tatsumi, H., Nemoto, S., Kitamura, N., and Mori, A. 2008. Downregulation of IL-13 gene transcription by T-bet in human T cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 146 (Suppl 1):33-35.
12. 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. 2009. Role of multidrug resistance-associated protein 1 in the pathogenesis of allergic airway inflammation. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 296:L30-L36.
13. 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)
14. 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)
15. 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)
16. 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)
 17. 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)
 18. Kitamura, N., Katagiri, Y., Itagaki, M., Miyagawa, Y., Onda, K., Okita, H., Mori, A., Fujimoto, J., and Kiyokawa, N. 2009. The expression of granulysin in systemic anaplastic large cell lymphoma in childhood. *Leuk. Res.* (in press)
 19. 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.
 20. 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 高博、釣木澤尚美、大友守、谷口正実、長谷川真紀、宮崎英士、熊本俊秀、秋山一男：夏型過敏性肺臓炎一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.
 21. 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.
 22. 森 晶夫：新しい治療薬への期待、内科；97(2)：329-334, 2006.
 23. 森 晶夫：アレルギーの分子標的薬開発の現状 2. 抗IL-5抗体、アレルギー科；21(3)：215-222, 2006.
 24. 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.
 25. 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
 26. 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
 27. 森 晶夫：難治性喘息、日本胸部臨床；66 増刊号：S121-S127, 2007
 28. 森 晶夫：高IgE症候群、Medical Practice；25(5)：904-905, 2008
 29. 森 晶夫：喘息の病態—新しい展開、International Review of Asthma；10(3)：82-87, 2008
 30. 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
 31. 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
 32. 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；50(4)：415-419, 2008
 33. 森 晶夫：Collegium Internationale Allergologica 27th symposium (第27回国際アレルギー学会議シンポジウム) 報告、日本アレルギー協会関東支部だより；4：3-7, 2008
 34. 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
 35. 森 晶夫：喘息の病態の分子学的研究 update、Progress in Medicine；29：41-44, 2009
 36. 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；16(2)：7-8, 2009
 37. 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
 38. 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
 39. 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
 40. 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
 41. 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 p. 84-90, 2009

2. 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., Goto, M., Kajiyama, Y., Kitamura, N., Maeda, Y., Taniguchi, M., Otomo, M., Hasegawa, M., Akiyama, K. and Kaminuma, O. 2007. The 47th Japanese Respiratory Society International Symposium 2 Refractory asthma. Refractory asthma - from an immunological viewpoint. *J. Jpn. Respir. Soc.* 45:S63 (Tokyo) 2007/5/10-12
3. 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
4. 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
5. 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 (CURACAO) 2008/5/1-6
6. 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
7. 森 晶夫, 梶山雄一郎, 谷口正実, 大友 守, 前田裕二, 長谷川眞紀, 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)
8. 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)
9. 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)
10. 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)
11. 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)
12. 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)
13. 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)
14. 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)
15. 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)
16. 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)
 17. 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)
 18. 小野恵美子、谷口正実、三田晴久、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：アナフィラキシー症状の際の尿中ロイコトリエン E4 濃度、第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 55:443, 2006 (東京)
 19. 押方智也子、谷口正実、小野恵美子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、三富弘之、中村万理、小倉高志、秋山一男：ステロイドとシクロフォスファミド抵抗性の著明な上腸間膜動脈狭窄を呈した Churg-Strauss 症候群の一剖検例、第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 55:443, 2006 (東京)
 20. 小野恵美子、前田裕二、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、谷口正実、大友 守、森 晶夫、長谷川眞紀、松野 治、宮崎英士、熊本俊秀、朝比奈昭彦、石井豊太、秋山一男：植物由来食品によるアレルギー症例の検討、第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 55:470, 2006 (東京)
 21. 小野恵美子、前田裕二、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、谷口正実、大友 守、森 晶夫、長谷川眞紀、朝比奈昭彦、石井豊太、秋山一男：植物由来食品によるアナフィラキシー症例の検討、第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 55:471, 2006 (東京)
 22. 谷口正実、東 憲孝、三田晴久、伊藤伊津子、押方智也子、小野恵美子、粒来崇博、釣木澤尚美、東 愛、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：アスピリン喘息患者における自然発作時の尿中ロイコトリエン E4 濃度、第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 55:475, 2006 (東京)
 23. 押方智也子、谷口正実、小野恵美子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：高齢発症非喫煙喘息患者の臨床像、第 46 回日本呼吸器学会学術講演会 日本呼吸器学会雑誌 44:286, 2006 (東京)
 24. 谷口正実、小野恵美子、押方智也子、山本一博、石井豊太、谷本英則、福富友馬、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、三田晴久、秋山一男：喘息患者において鼻ポリープを治療すると尿中ロイコトリエン E4 濃度は低下する、第 57 回臨床アレルギー研究会、アレルギーの臨床 353:92(1068), 2006 (東京)
 25. 後藤牧子、梶山雄一郎、森 晶夫：喘息症例の末梢血 T 細胞における IL-9 産生 1、アレルギー好酸球研究会 2006 抄録集 p. 27, 2006. 6. 24 (東京)
 26. 梶山裕一郎、後藤牧子、森 晶夫：喘息症例の末梢血 T 細胞における IL-9 産生 2、アレルギー好酸球研究会 2006 抄録集 p. 28, 2006. 6. 24 (東京)
 27. 北村紀子、橋本知実、森 晶夫、神沼修：β2 作動薬による T 細胞サイトカイン産生制御、アレルギー好酸球研究会 2006 抄録集 p. 30, 2006. 6. 24 (東京)
 28. 神沼修、北村紀子、森 晶夫：ヒト Th1/Th2 分化における T-bet の機能、アレルギー好酸球研究会 2006 抄録集 p. 11, 2006. 6. 24 (東京)
 29. 神沼修、北村ふじ子、北村紀子、巽英樹、根本壮一、廣井隆親、森 晶夫、宮武昌一郎：アレルギー患者における Th2 シフトに対する特異的転写因子の役割、第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 55:1107, 2006 (東京)
 30. 小野恵美子、谷口正実、東 憲孝、東 愛、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、伊藤伊津子、三田晴久、秋山一男：アナフィラキシー患者における尿中ロイコトリエン E4 とプロスタグランディン D2 代謝産物、第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 55:1142, 2006 (東京)
 31. 福富友馬、前田裕二、谷本英則、押方智也子、小野恵美子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、谷口正実、大友 守、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：当院における抗原吸入気道誘発試験

- の検討、第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 55 : 1179, 2006 (東京)
32. 小野恵美子、前田裕二、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、森 晶夫、長谷川眞紀、三田晴久、秋山一男:夏型過敏性肺臓炎の家族内発症例についての検討、第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 55 : 1185, 2006 (東京)
 33. 谷本英則、谷口正実、関谷潔史、押方智也子、福富友馬、小野恵美子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:高容量ICSや β 刺激薬の吸入で肺機能が改善しない重症喘息例—モデリングといえるのか、第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 55 : 1190, 2006 (東京)
 34. 前田裕二、小野恵美子、福富友馬、谷本英則、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:花粉および果物等植物由来食物抗原とハンノキ花粉とのRAST値の相関について、第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 55 : 1196, 2006 (東京)
 35. 谷口正実、東 憲孝、小野恵美子、東 愛、谷本英則、福富友馬、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、伊藤伊津子、三田晴久、秋山一男:アスピリン不耐皮疹には少なくとも2つの病型がある—ロイコトリエン過剰産生型と非過剰産生型の提唱、第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 55 : 1230, 2006 (東京)
 36. 関谷潔史、谷口正実、東 憲孝、東 愛、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、伊藤伊津子、三田晴久、秋山一男:非アスピリン喘息では、アスピリン投与後に尿中ロイコトリエンE4濃度は低下する、第56回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 55 : 1230, 2006 (東京)
 37. Kitamura N, Nagakubo D, Ogawa K, Kaminuma O, Hiroi T, Yoshie O, Mori A : Multiple chemokines are required for T cell-mediated lung inflammation, 2006 日本免疫学会総会・学術集会記録 第36巻 : 77, 2006 (大阪)
 38. 福富友馬、前田裕二、谷本英則、小野恵美子、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、谷口正実、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:当院におけるHDによる抗原吸入負荷試験の検討、第47回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 45 巻増刊号:207, 2007 (東京)
 39. 関谷潔史、谷口正実、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:咳喘息と誤って診断された非喘息症例の検討、第47回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 45 巻増刊号:253, 2007 (東京)
 40. 谷本英則、谷口正実、関谷潔史、押方智也子、福富友馬、小野恵美子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:高用量ICSでも肺機能低値が持続する重症喘息、全身ステロイドによる気道可逆性、第47回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 45 巻増刊号:207, 2007 (東京)
 41. 小野恵美子、谷口正実、三田晴久、東 憲孝、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:好酸球性肺炎においてもロイコトリエン過剰産生を認める、第47回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 45 増刊号:133, 2007 (東京)
 42. 小野恵美子、粒来崇博、谷口正実、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:咳喘息の鑑別診断に呼気NOは有用か、第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 56:333, 2007.6.10-12 (横浜)
 43. 谷本英則、谷口正実、福富友馬、押方智也子、小野恵美子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:ステロイド抵抗性重症喘息として治療されていた心因性VCDの1例、第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 56:334, 2007.6.10-12 (横浜)
 44. 谷本英則、谷口正実、小野恵美子、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男:インフリキシマブによるアナフィラキシーの1例、第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 56:387, 2007.6.10-12 (横浜)
 45. 福富友馬、前田裕二、森 晶夫、谷本英則、小野恵美子、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、谷口正実、長谷川眞紀、

- 秋山一男：ダニアレルギーとHDアレルギー気管支吸入による喘息反応の差異、第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 56:398, 2007.6.10-12 (横浜)
46. 押方智也子、釣木澤尚美、齋藤明美、粒来崇博、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、関谷潔史、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、谷口正実、安枝 浩、秋山一男：当センターにおける免疫学的血清診断法—沈降抗体反応—373 症例の臨床的検討、第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 56:314, 2007.6.10-12 (横浜)
47. 関谷潔史、谷口正実、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：自覚症状による分類がステップ1の成人喘息は軽症といえるのか、第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 56:318, 2007.6.10-12 (横浜)
48. 小野恵美子、谷口正実、東 憲孝、東 愛、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、伊藤伊津子、三田晴久、秋山一男：アナフィラキシー患者における尿中ロイコトリエン E4 とプロスタグランディン D2 代謝産物、第59回臨床アレルギー研究会、2007.6.23 (東京)
49. 梶山雄一郎、大友隆之、宮武昌一郎、森 晶夫：喘息モデルマウスにおける Conserved noncoding sequence (CNS-1) の解析、アレルギー好酸球研究会 2007 抄録集 p. 8, 2007.6.30 (東京)
50. 神沼 修、森 晶夫、北村紀子、巽 英樹、根本莊一、北村ふじ子、宮武昌一郎、廣井隆親：ヒト末梢血T細胞におけるTh1/Th2分化の不完全性とその要因、アレルギー好酸球研究会 2007 抄録集 p. 23, 2007.6.30 (東京)
51. 北村紀子、森 晶夫：ヒト気管支平滑筋細胞の包埋培養コラーゲンをを用いた収縮実験系の確立、アレルギー好酸球研究会 2007 抄録集 p. 8, 2007.6.30 (東京)
52. 谷本英則、谷口正実、粒来崇博、福富友馬、押方智也子、小野恵美子、関谷潔史、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：喘息として加療されていた、気道病変主体の再発性多発性軟骨炎の1例、第175回日本呼吸器学会関東地方会、2007.07.21 (東京)
53. 関谷潔史、谷口正実、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：慢性咳嗽における咳喘息の誤診断症例の臨床的検討、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 56:1087, 2007.11.1 (横浜)
54. 谷本英則、竹内保雄、谷口正実、関谷潔史、福富友馬、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、齋藤明美、安枝 浩、秋山一男：ABPA におけるリモデリング、気道過敏性と気道可逆性の特徴、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 56:1089, 2007.11.1 (横浜)
55. 神沼 修、北村ふじ子、宮武昌一郎、巽 英樹、根本莊一、北村紀子、森 晶夫、廣井隆親：T-bet はT細胞のIL-13産生を遺伝子転写レベルで制御する、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 56:1103, 2007.11.1 (横浜)
56. 小野恵美子、三田晴久、粒来崇博、谷口正実、東 憲孝、梶原景一、伊藤伊津子、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、釣木澤尚美、大友 守、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：呼気凝縮液と肺胞洗浄液の比較、ロイコトリエン濃度を用いた検討、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 56:1123, 2007.11.2 (横浜)
57. 福富友馬、谷口正実、谷本英則、押方智也子、小野恵美子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：成人アナフィラキシー63例の臨床的検討、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 56:1135, 2007.11.2 (横浜)
58. 押方智也子、釣木澤尚美、齋藤明美、粒来崇博、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、関谷潔史、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、谷口正実、安枝 浩、秋山一男：アレルギー性気管支肺真菌症と真菌感作された成人喘息の比較検討、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 56:1145, 2007.11.2 (横浜)
59. 谷口正実、東 憲孝、小野恵美子、関谷潔史、大友 守、谷本英則、福富友馬、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、山本一博、石井豊太、三田晴久、秋山一男：NSAIDs 過敏喘息におけるアスピリ

- ン負荷時と安定期の症状比較、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、アレルギー 56: 1184, 2007. 11. 3 (横浜)
60. Yamaoka, K., Okayama, Y., Kaminuma, O., Katayama, N., Mori, A., and Hiroi, T.: A proteomic approach to study signal transduction of mast cell activation by FcεRI aggregation. 第37回日本免疫学会総会、Proc. Jap. Soc. Immunol. 37: 193, 2007. 11. 21 (東京)
61. Kaminuma, O., Kitamura, F., Miyatake, S., Kitamura, N., Mori, A., and Hiroi, T.: ヒト末梢血T細胞におけるTh1/Th2分化の不完全性、第37回日本免疫学会総会、Proc. Jap. Soc. Immunol. 37: 240, 2007. 11. 21 (東京)
62. 北村紀子, 清河信敬, 片桐洋子, 板垣光子, 宮川世志幸, 大喜多肇, 森 晶夫, 藤本純一郎: 小児悪性リンパ腫におけるGranulysin発現の解析、第49回小児血液学会抄録集 p. 289, 2007. 12. 14 (仙台)
63. 関谷潔史, 谷口正実, 福富友馬, 谷本英則, 押方智也子, 小野恵美子, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 大友 守, 森 晶夫, 前田裕二, 長谷川眞紀, 秋山一男: 薬剤過敏症における不可試験症例の臨床的検討、第20回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 57: 367, 2008. 6. 13 (東京)
64. 谷口正実, 東 憲孝, 小野恵美子, 関谷潔史, 石井豊太, 山本一博, 伊藤伊津子, 梶原景一, 谷本英則, 福富友馬, 押方智也子, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 大友 守, 前田裕二, 森 晶夫, 長谷川眞紀, 三田晴久, 秋山一男: アスピリン喘息と非アスピリン喘息は明確に区別できる疾患か、第20回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 57: 387, 2008. 6. 12 (東京)
65. 谷本英則, 竹内保雄, 谷口正実, 福富友馬, 小野恵美子, 関谷潔史, 押方智也子, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 大友 守, 前田裕二, 森 晶夫, 長谷川眞紀, 齋藤明美, 安枝 浩, 秋山一男: ABPAは早期からリモデリングをきたしやすい、第20回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 57: 443, 2008. 6. 13 (東京)
66. 谷本英則, 竹内保雄, 谷口正実, 福富友馬, 小野恵美子, 関谷潔史, 押方智也子, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 大友 守, 前田裕二, 森 晶夫, 長谷川眞紀, 齋藤明美, 安枝 浩, 秋山一男: ABPAにおけるリモデリング、気道の可逆性と過敏性の特徴から検討する、第48回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 46: 146, 2008. 6. 15 (神戸)
67. 押方智也子, 竹内保雄, 釣木澤尚美, 齋藤明美, 粒来崇博, 谷本英則, 福富友馬, 小野恵美子, 関谷潔史, 大友 守, 前田裕二, 森 晶夫, 長谷川眞紀, 谷口正実, 安枝 浩, 秋山一男: アレルギー性気管支肺真菌症と真菌感作された成人喘息におけるIgE抗体産生の比較検討、第48回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 46: 230, 2008. 6. 16 (神戸)
68. 関谷潔史, 谷口正実, 福富友馬, 谷本英則, 小野恵美子, 押方智也子, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 大友 守, 森 晶夫, 前田裕二, 長谷川眞紀, 秋山一男: 若年成人における喘息大発作症例の臨床的検討、第48回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 46: 307, 2008. 6. 17 (神戸)
69. 前田裕二, 福富友馬, 小野恵美子, 谷本英則, 押方智也子, 関谷潔史, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 森 晶夫, 大友 守, 谷口正実, 長谷川眞紀, 秋山一男: 低肺機能、“潜行型”喘息について—その頻度と背景について—、第48回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 46: 308, 2008. 6. 17 (神戸)
70. 大友隆之, 神沼 修, 北村紀子, 梶山雄一郎, 後藤牧子, 森 晶夫: Th クロウン移入モデルにおける抗原吸入誘発喘息反応の解析、アレルギー・好酸球研究会 2008、抄録集 p. 11, 2008. 6. 21 (東京)
71. 北村紀子, 神沼 修, 大友隆之, 森 晶夫: ヒト培養気管支平滑筋細胞ゲルを用いた収縮・弛緩反応、アレルギー・好酸球研究会 2008、抄録集 p. 28, 2008. 6. 21 (東京)
72. 鈴木一矢, 神沼 修, 揚 麗軍, 高井敏郎, 野田攸子, 大町 康, 後藤牧子, 森 晶夫, 高岩文雄, 廣井隆親: 形質転換イネを用いたダニアレルギー緩和剤の開発、アレルギー・好酸球研究会 2008、抄録集 p. 15, 2008. 6. 21 (東京)
73. 山岡和子, 岡山吉道, 神沼 修, 形山和史, 森 晶夫, 巽 英樹, 根本荘一, 廣井隆親: ヒトマスト細胞の活性化に伴うチロシンリン酸化変動たんぱく質の解析、アレルギー・好酸球研究会 2008、抄録集 p. 26, 2008. 6. 21 (東京)
74. 関谷潔史, 谷口正実, 福富友馬, 龍野清香, 谷本英則, 押方智也子, 小野恵美子, 粒来崇博, 釣木澤尚美, 大友 守, 前田裕二, 森 晶夫, 長谷川眞紀, 秋山一男: 自覚症状による分類がステップ1の成人喘息は軽症といえるのか、第

- 61 回臨床アレルギー研究会、アレルギーの臨床 28(10):97(893), 2008. 7. 5 (東京)
75. 関谷潔史、谷口正実、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男: 咳喘息と誤って診断された非喘息症例の臨床的検討、第 18 回国際喘息学会日本北アジア部会、抄録集 p. 63, 2008. 7. 12 (大阪)
76. 福富友馬、谷口正実、粒来崇博、東憲孝、谷本英則、押方智也子、小野恵美子、関谷潔史、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男: 性別・年齢階級別の喘息難治化因子に関する検討～IA net 登録症例の解析～、第 18 回国際喘息学会日本北アジア部会、抄録集 p. 64, 2008. 7. 12 (大阪)
77. 谷本英則、谷口正実、関谷潔史、福富友馬、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男: 高用量 ICS でも低肺機能が持続する重症喘息—全身ステロイドによる気道可逆性の評価、第 18 回国際喘息学会日本北アジア部会、抄録集 p. 64, 2008. 7. 12 (大阪)
78. 大友隆之、神沼 修、北村紀子、森 晶夫: T 細胞依存性遅発型喘息反応のモデル解析、第 18 回国際喘息学会日本北アジア部会、抄録集 p. 65, 2008. 7. 12 (大阪)
79. 福富友馬、谷口正実、谷本英則、押方智也子、小野恵美子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男: 成人アナフィラキシー76 例の臨床的検討、第 62 回臨床アレルギー研究会、2008. 11. 15 (東京)
80. 小野恵美子、谷口正実、粒来崇博、東 憲考、龍野清香、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男: 咳喘息とアトピー咳嗽の病態の差は何か、第 58 回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 57:1410, 2008. 11. 28 (東京)
81. 谷本英則、谷口正実、竹内保雄、齋藤明美、龍野清香、福富友馬、小野恵美子、関谷潔史、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、中澤卓也、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、安枝 浩、秋山一男: 中枢性の気管支拡張を認めない ABPA (いわゆる ABPA-Seropositive) の臨床的検討、第 58 回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 57:1411, 2008. 11. 28 (東京)
82. 神沼 修、加藤茂樹、大友隆之、森 晶夫、廣井隆親: T 細胞依存症のアレルギー性気道炎症発症における CD44 の役割、第 58 回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 57:1421, 2008. 11. 28 (東京)
83. 鈴木一矢、神沼 修、高井敏郎、森 晶夫、奥村 康、小川英興、廣井隆親、高岩文雄: ダニ抗原 Derp1 を発現した形質転換イネのアレルギー性気道炎症に対する効果、第 58 回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 57:1422, 2008. 11. 28 (東京)
84. 福富友馬、谷口正実、粒来崇博、龍野清香、谷本英則、押方智也子、小野恵美子、関谷潔史、釣木澤尚美、東 憲考、中澤卓也、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男: 成人喘息患者 455 例における持続的気流閉塞の危険因子、第 58 回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 57:1450, 2008. 11. 27 (東京)
85. 関谷潔史、谷口正実、福富友馬、谷本英則、龍野清香、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、中澤卓也、東 憲考、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男: 自覚症状が軽症間欠型の若年成人喘息における臨床的検討、第 58 回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 57:1451, 2008. 11. 27 (東京)
86. 押方智也子、釣木澤尚美、齋藤明美、粒来崇博、龍野清香、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、関谷潔史、大友 守、前田裕二、齋藤博士、森 晶夫、長谷川眞紀、谷口正実、中澤卓也、安枝 浩、秋山一男: 過敏性肺臓炎 133 例における沈降抗体反応による原因抗原の検討、第 58 回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 57:1514, 2008. 11. 29 (東京)
87. 龍野清香、谷口正実、福富友馬、谷本英則、小野恵美子、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、中澤卓也、安枝 浩、石井豊太、秋山一男: 首都圏のハンノキ特異的 IgE 単独陽性例の検討、第 58 回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 57:1528, 2008. 11. 29 (東京)
- 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

「重症難治性喘息の機序解明と臨床分類に基づく治療法の確立に関する研究」

研究分担者 高橋 清（国立病院機構南岡山医療センター）

研究協力者

宗田 良、岡田千春（国立病院機構南岡山医療センター内科）

木村五郎、平野 淳（国立病院機構南岡山医療センターアレルギー科）

金廣有彦、谷本 安（岡山大学病院血液・腫瘍、呼吸器・アレルギー内科）

片岡幹男（岡山大学大学院保健学研究科）

研究要旨

喘息難治化の要因を解明し予防と治療対策を明らかにする目的で、重症度分類の試案を作成して臨床と基礎の両面から検討した。(1)臨床的検討として、気道の閉塞性換気障害や器質的所見に基づいて、経口PSL5mg/日以上に緩める難治性喘息の新基準案を作成した。それによって患者背景や気道呼気水中の各種炎症性物質を検証し、 H_2O_2 などの重症化抑制の指標や重症度よりも治療薬に影響され易いこと等が示された。(2)基礎的検討として、免疫・アレルギー反応の調節作用も担い、遅発相の気道局所に集積して慢性化・重症化に関与する好塩基球の関与を明確にする目的で、ステロイド薬では抑制できない機能(特に気道リモデリングに関わる分子表現)を担う可能性を検討した。CD4陽性T細胞の遊走活性をもつIL-16の発現と浸潤・活性化、単球・マクロファージの分化・活性化やヒト単球のVEGFの産生、またIgE依存性刺激でヒト好塩基球からM-CSFが遊離しモデリングや血管新生に関与する可能性が判明した。従って、ヒト好塩基球はアレルギー性炎症のエフェクター細胞としての機能以外にも、免疫・アレルギー反応の調節作用も担う可能性が示された。(3)単核球機能を解明する目的で、培養気道上皮細胞との相互関連性やその反応系に及ぼす薬剤Montelukastの抑制効果を検討した。難治性喘息ではリモデリングに関与するMMP-9やTGF- β 1等の産生が亢進し、各種炎症性物質や炎症細胞の相互関係を介して重症難治化する可能性が示唆された。かかる反応系をロイコトリエン受容体拮抗薬が抑制する傾向も認められた。

A. 研究目的

難治性喘息の予防と治療の対策を目的として、臨床と基礎の両面から検討した。(1)臨床的検討としてはJGL2006等の各ガイドラインを参考に、重症・難治性喘息における気道の閉塞性換気障害や器質的所見などの病像・病態に基づいて、治療に直結する重症度分類基準の再検討を行い、臨床的難治性喘息の臨床(重症度)分類の基準を作成することを試みた。次いでかかる難治性喘息の分類に従って、患者背景や気道呼気水中の各種炎症指標を測定し重症度基準との関連を検証した。基礎的検討としては、難治病態に重要な役割を果たす気道の炎症細胞の関与を明確にする目的で、(2)近年アレルギー性炎症のエフェクター細胞としての機能以外に免疫・アレルギー反応の調節作用も担っていることが示唆され、難遅発相の気道

局所に集積してアレルギー性炎症の慢性化・重症化に関与していると考えられる好塩基球に着目して、ステロイド薬で抑制できない機能(特に気道リモデリングに関わる分子表現)を担っている可能性を検討した。まず喘息患者の気管支肺胞洗浄液中に検出されることが報告されているCD4陽性T細胞に対し強力な遊走活性を有するIL-16が好塩基球に発現し、また単球・マクロファージの分化や活性化、並びにヒト単球のVEGF産生を誘導して、リモデリングや血管新生に関与することが知られているM-CSFが好塩基球においても発現するかどうかを検討した。さらに、IgE依存性刺激によるヒト好塩基球からのM-CSFの遊離についても検討した。(3)ステロイド薬に抵抗性を示す難治性喘息患者の末梢血単核球が気道局所でのどのような反応様態を示すかを解明する目的で、培養気道上皮

細胞との相互関連性やその反応系に及ぼす薬剤 Montelukast の抑制効果を検討した。

B. 研究方法

(1)臨床的(重症度)検討: JGL2006で規定されたステップ1~4(症状ステップと現在の治療ステップの組合せて規定された軽症間欠型から最重症を含む重症持続型までの5段階)に重症度区分された84例(従来の難治性喘息8例を含む)を対象に、スパイロメトリーで呼吸機能を、HRCT画像による計測(Okazawa, M. et al. Am J Respir Care Med 1996;154:1557)で気管支壁肥厚を、及び副腎皮質機能を血清コルチゾール値により検討した。また、各重症度別と気道炎症の関係での気道炎症を検討するために、炎症指標を患者呼気水中の各種炎症細胞を採取して測定した。対象には、JGL2006の重症度分類に従う各ステップの喘息患者症例〔軽症間欠型27名、軽症持続型14名、中等症持続型17名、重症持続型(4a: PSL内服量5mg未満)31名と(4b: PSL内服量10mg未満)1名〕の合計90名を対象に、既報の方法(Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. Eur Respir J. 2005; 26: 523-48.)により呼気水を採取した。また、健康者61名、喫煙者7名、上気道感染者9名からも呼気水を採取した(表1)。気道の炎症指標となるpH(アルゴンガスにより呼気中のCO₂を除去する前後の双方で測定)、CRP, Alb, H₂O₂, Nitrite/Nitrate, および各種Cytokineの測定を行い、肺機能との相関や試案の難治基準(経口PSL5mg以上/日)との関連を含めた重症度との比較検討を行った。

(2)好塩基球機能の検討:既報(Tanimoto, Y. et al. Clin Exp Allergy 2003; 33: 1561)の如く、悪性リンパ腫や肺癌の治療において末梢血幹細胞移植の目的で採取された幹細胞を豊富に含む末梢血単核球の一部を、IL-3(5ng/ml)の存在下で3週間培養し、immunomagnetic beads (Basophil Isolation Kit, Miltenyi Biotec)を用いたnegative selectionにより高純度(95%以上)の好塩基球を得た。この培養好塩基球におけるIL-16の発現と産生をRT-PCR, Flow cytometry, Confocal microscopy, Western blotting, ELISAにて検討し

た。またM-CSFのmRNAについてはRT-PCRにより、また蛋白の発現をconfocal microscopyならびにflow cytometryにて検討した。FcεRI架橋刺激によるM-CSFの遊離はELISA法を用いて、細胞表面のM-CSF蛋白をflow cytometryにて検討した。さらに、末梢血単核球から比重遠心とnegative selectionで得た高純度好塩基球もFcεRI架橋刺激によるM-CSFの遊離を検討した。

(3)リンパ球と気道上皮細胞との相互作用の検討: 難治症例において気道炎症に重要な役割を果たす細胞である正常気管支上皮細胞とリンパ球との相互反応を解析し、さらに、難治化に対する治療法を探索する目的でこれらのリンパ球の反応系におけるロイコトリエン拮抗薬(Montelukast)の効果を検討した。培養ヒト正常気管支平滑筋細胞の存在下で、まずリンパ球と気道上皮細胞との相互作用を検討するために、培養気道上皮細胞を図1の実験方法に示すようにセミコンフルエントの状態まで培養し、喘息患者末梢血PBMCと96時間Co-cultureした。リンパ球活性化はFlow Cytometryで、サイトカイン、ケモカイン産生パターンをELISA法で測定することにより、気道炎症の重要細胞である気管支上皮細胞とリンパ球との相互反応を解析した。さらにMMP-9の検討に加えて、気管支喘息の難治化の要因の一つであるリモデリングに関係しているTGF-β1もELISA法で測定した。次いで喘息患者PBMCと気管支上皮細胞の培養上清中のMMP-9, TGF-β1産生をELISA法で測定し、その反応系に及ぼすロイコトリエン受容体拮抗薬Montelukastの抑制効果を検討した。

C. 研究結果

(1)臨床的(重症度)検討: 中枢気道の気流制限(PEF値)(図2)、肺実質の障害(Residual rate)(図3)、気管支壁肥厚(%WA)(図4)、血中コルチゾール値(図5)等の指標については、軽症間欠型、軽症持続型、中等症持続型、および重症持続型のうちの治療ステップ4a(経口PSL0~5mg/日未満)の群間では有意差が認められなかった。しかしそれら各群と重症持続型のうちの4b群(5mg以上~10mg未満)並びに4c群(10mg以上)の間には有意差がみられた。なお末梢気道(V50/V25)は4b群よりも軽症の各群と4c群の間に有意差があった(図5)。当院における喘息患者547例の重症持続型のうち4c群は

1.6%であったが、今回提案した難治性喘息の基準である4b+4c群(経口PSLを5mg/日以上服用)患者の占める比率は4.6%で、難治群に比し非アトピー型が77.8%と高率を占め、罹病期間も非難治の12.2年に比して25.8年と有意に長期であった。

また、呼気水中の各種炎症指標の検討では、喘息患者は健常者に比して

CRP, H₂O₂, Nitrite/Nitrateが上昇しており、有意差はないものの、Albuminは健常者では半数が測定限界以下の値であったのに比し、喘息患者では大半が測定可能で、健常者よりも高い傾向が認められた。また喘息患者における重症度別の比較では、軽症持続型は他の重症度に比し、pHが有意に低く、CRP, H₂O₂, Nitrateが有意に高値であり、Albuminは中等症持続型、軽症持続型が他の重症度より有意に高値であった(図6-a, b, c)。Cytokineについては、Th₂サイトカインをはじめ各種Cytokineの上昇が認められ、軽症持続型あるいは中等症持続型にピークを持つものが多かった(図7-a, b, c, d, e)。またH₂O₂, Nitrite/NitrateはFEV₁/PEFRと有意の負の相関が認められた(図8)。なお、重症持続型、特に難治例(4b)では各種サイトカインはいずれも低値であった。またH₂O₂, Nitrite/NitrateとFEV₁, PEFRは有意な負の相関を示し、重症持続型(難治)ではNOは低値であったが、H₂O₂は認められた。

(2)好塩基球機能の検討:培養好塩基球にはIL-16 mRNAが恒常的に発現していた(図9)。かかるIL-16蛋白は、Flow cytometryでは未刺激の細胞内に検出され(図10)、Confocal microscopyによる検討ではその局在は細胞質であった(図11)。またWestern blottingにより、前駆型IL-16と活性化型IL-16の両蛋白の発現が確認された(図12)。さらにPMA並びにcalcium ionophoreで刺激すると、培養上清中にIL-16蛋白の遊離が認められた(図13)。またGene Chipを用いて培養好塩基球に発現する遺伝子を網羅的に解析した結果、M-CSF遺伝子が恒常的に発現しており、さらにIgE刺激によって発現が増強することが示唆された(図14)。real-time RT-PCRにより培養好塩基球におけるM-CSFのmRNAを定量したところ、その発現が知られている他の細胞株であるfibroblastやKU812と同等あるいはそれ以上の恒常的な発現を認めた。なお、末梢血好塩基球においても同程度の発現が

みられた(図15)。さらにIgE刺激によって培養好塩基球のM-CSF mRNA発現は増強し、そのピークは刺激後2時間であった(図16)。M-CSFには分泌型と膜型のisoformの存在が知られているが、培養好塩基球には分泌型、膜型、いずれのmRNAも恒常的に発現していた(図17)。confocal microscopyによる検討では培養好塩基球にはM-CSF蛋白も発現していることが確認された(図18)。2種類の抗M-CSF抗体を用いたflow cytometryによる検討では、細胞内ならびに細胞表面における蛋白の発現が認められ、分泌型、膜型両者のM-CSF蛋白の存在が示唆された(図19)。さらにFcεRI架橋を刺激することにより培養好塩基球からM-CSFの遊離が認められ、細胞表面のM-CSF発現も増強した。また培養好塩基球には分泌型および膜型のM-CSFのmRNAが恒常的に発現し、FcεRI架橋刺激によりM-CSFのmRNA発現が増強し、細胞内と細胞表面に蛋白の発現も認められた。一方、末梢血好塩基球でも、FcεRI架橋刺激でM-CSF遊離がみられた。

(3)リンパ球と気道上皮細胞との相互作用の検討:正常気管支上皮培養細胞と喘息患者PBMCとの相互作用を検討し、そのMMP-9の産生を難治性喘息群とそれ以外の喘息群とに分けて検討したところ、難治性喘息群ではMMP-9産生がより増加していた(図20)。なお気管支平滑筋細胞とリンパ球の相互反応に関しては、気管支喘息患者において有意な所見は得られなかったが、難治性喘息群以外の症例におけるPBMCからのMMP-9の産生能は、重症度による差があることが判明した。すなわち治療ステップ4の群でもっとも高値を示し、ついで治療ステップ2、3、難治性喘息群の順に低値であった。なお、喘息患者末梢血PBMCに気管支上皮培養細胞を追加し相互作用を検討すると、MMP-9産生の増加率は難治性で最も高値であった(図21)。またTGF-β₁では、治療ステップ4でもっとも産生が高値である点はMMP-9産生とも同様の結果であったが、さらにTGF-β₁では難治性喘息群でも産生が高値であり、気管支上皮培養細胞を追加した際の相互作用は難治群において顕著であった(図22)。さらにMite抗原、Candida抗原に対するリンパ球の反応性に対するロイコトリエン受容体拮抗薬Montelukastの直接抑制効果の検討では、リンパ球活性化には明らかな抑制効果は認められなかった。一方、気道上皮細胞との相互反応によるMMP-9(図

23)並びに TARC の産生能に対しては抑制傾向を示した。

D. 考察

今回改訂された JGL2006 の最重症持続型と従来の難治性喘息では、重症度を規定する目的がそれぞれ異なっていることから、臨床に適した難治性喘息の分類基準を見直す意義は大きい。今回の検討では、経口 PSL5mg/日以上を必要とする症例は 5mg/日未満の症例に比べて、中枢気道の閉塞性換気障害、気道壁の肥厚、末梢気道から肺全領域の障害、血中コーチゾール値の低下等、肺機能検査や HRCT 所見等の臨床検査所見の観点から有意な差が認められた。従って、かかる臨床病態を根拠として、経口 PSL を日 10mg 以上必要とする現在の「難治性喘息」の基準を経口 PSL5mg/日以上に緩めると、当院のような専門特化された施設では難治例が成人喘息患者のうちの 1.6%から 4.6%にまで増加する。まして一般病院や診療所では難治例は 1%以下の稀少患者群となっている為、少しでも多くの重症症例を難治性喘息として位置づけて注意深い観察と治療の対象とすることは意義深いことであり、新基準に変更することを提案したい。

今回気道炎症指標の測定に用いた呼気水は簡便かつ非侵襲的である為に繰り返しの検査が可能なことと (Sont, J.K. et al. Thorax 1996;51:496) (Wong, H.H. et al. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156: 299)、同時に各種炎症指標の測定を行うことが可能な点から、喘息気道病変をモニターする最適な検査法の一つと考えられる。かかる方法を用いて、呼気水による気道の各種炎症指標を喘息重症度別に比較すると、CRP および Albumin, Cytokine は、軽症持続型や中等症持続型が重症持続型 (PSL 投与量が 5mg 未満、10mg 未満の双方で) よりも高値であるものが多かった。また、H₂O₂, Nitrite/Nitrate は FEV₁/PEFR と有意の負の相関が認められたことから、これらの指標は気道閉塞の程度を把握するのに有用であるものと考えられた。今回検討した喘息患者の大半は吸入ステロイド薬を使用しており、特に重症持続型では PSL の内服を併用している患者もいるなど、各種炎症指標の結果には治療の影響が反映されていることが想定される。従って、重症に至る前の段階にある軽症や中等症の症例においては、炎症指標を

基にして症状に惑わされず確実に抑制する抗炎症療法を十分に継続することが、重症化、難治化の予防に最も重要であると考えられた。

一方、難治病態に係わる基礎的検討として、好塩基球とリンパ球の役割について検討を加えた。まず血液マスト細胞と位置づけられ遅発相の気道局所に集積し、アレルギー性炎症の慢性化・重症化に関与していると考えられている好塩基球についてサイトカイン産生の観点から検討した。その結果、末梢血幹細胞培養好塩基球には恒常的に IL-16 が発現し、活性化により IL-16 蛋白が遊離されることが判明した。すなわち、ヒト好塩基球は IL-16 の産生細胞の一つであり、CD₄ 陽性 T 細胞の浸潤、活性化の増強に寄与していることが示唆された。かかる IL-16 蛋白の産生制御により喘息の重症難治化を抑制できるかという視点で今後の検討課題としたい。また、好塩基球が Fc ϵ RI を介する反応で M-CSF を産生し、分泌型および膜型の M-CSF の mRNA が恒常的に発現しており、Fc ϵ RI 架橋刺激により M-CSF の mRNA 発現が増強すること、細胞内ならびに細胞表面に M-CSF 蛋白も発現していることなどが明らかとなった。今後 Fc ϵ RI 架橋刺激によって M-CSF 蛋白の細胞表面への発現増強や細胞外分泌がみられるか否かが課題である。ヒト好塩基球は、IgE を介した免疫・アレルギー反応において M-CSF 産生細胞の一つであると考えられ、単球・マクロファージの関与する免疫・アレルギー反応を調節し、リモデリングや血管新生に関与している可能性が示唆された。また、培養・患者末梢血の好塩基球が Fc ϵ RI を介する反応で M-CSF を産生することから、遅発相の気道局所に集積した好塩基球がアレルギー性炎症の慢性化・重症化に関与しうるなど好塩基球はアレルギー性炎症のエフェクター細胞の一つであるが、免疫・アレルギー反応の調節作用も担っている可能性が考えられ、今後アレルギー性炎症の新たな中心的細胞という視点での見直しが必要である。

気道上皮細胞とリンパ球を主体とした単核球との相互作用として、リモデリングに関与していると考えられる MMP-9 などの検討では、各治療ステップ毎の群間比較で、喘息患者末梢血 PBMC からの MMP-9 産生は治療ステップ 4 で最も高いことが判明した。しかしながら、培養気道上皮との相互反応を検討すると難治性群において MMP-9 の産生増

加率が最も高く、気道炎症局所での相互反応は難治性喘息群でもっとも活性化されていることが示唆された。これは、ステロイドの全身投与により末梢血PBMCの活性化はステップ4の重症群に比較して抑制されているが、気道局所では必ずしも抑制しきれていないことが考えられ、喘息の難治化の一つの要因である可能性がある。同様に、線維化に関与が強いTGF- β 1産生能についても検討結果が一致しており、この推論を強めるものと考えられる。さらにこの産生亢進はロイコトリエン受容体拮抗薬のMontelukastで抑制される傾向が示唆された。これは、Tリンパ球にはCysLT1レセプターが証明されていないため、リンパ球への直接抑制効果は認められないものの、単球・マクロファージ系細胞などには存在することがわかっており、これらの細胞との相互作用をロイコトリエン受容体拮抗薬が抑制することによりMMP-9などによるリモデリングを抑制する可能性が判明した。以上、抗原刺激下で気道上皮細胞とPBMCの相互作用により産生されるMMP-9、TGF- β 1等を介して、重症難治化する機序が想定され、LTRAの抑制効果が期待される。

E. 結論

喘息患者の肺機能や画像、副腎機能などの各種指標、並びに呼気水中の各種炎症指標を基にして難治性喘息の分類基準を見直し、経口PSLを毎日10mg以上必要とする現在の基準から経口PSL5mg/日以上以上の症例に緩める臨床に適した新判定基準案を作成した。なお、経口PSL5mg/日以上以上の難治性喘息患者(試案)は罹病期間が長く、また、治療薬等の影響で抑制される炎症物質の中で気道由来の呼気水中のH₂O₂が重症化抑制指標の一つとなりうることが示唆された。

重症・難治化の機序に関わる炎症細胞機能の解析では、ヒト好塩基球はIL-16の産生細胞の一つであり、CD4陽性T細胞の浸潤、活性化の増強に寄与しており、IgEを介するM-CSF産生によりリモデリングや血管新生に関与する可能性が判明した。従って、ヒト好塩基球はアレルギー性炎症のエフェクター細胞としての機能以外にも、免疫・アレルギー反応の調節作用も担っている可能性が示された。リンパ球に関しては、気道平滑筋細胞との相互作用により難治性喘息ではリモデリング

に関与するMMP-9やTGF- β 1等の産生が亢進し、各種酵素、サイトカイン、ケモカインや多種の炎症細胞の相互関係を介して重症難治化する可能性が示唆された。かかる反応系をロイコトリエン受容体拮抗薬が抑制する傾向も認められた。

以上の成果により、重症難治化の予防・管理と治療への対策の一端が明らかになってきた。

F. 健康危惧情報

特になし。

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表 21件

原著論文による発表 3件

それ以外(レビュー等)の発表 8件

そのうち主なもの

論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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, 株式会社医学書院, 東京.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 平野 淳, 高橋 清. 薬剤による喘息とその臨床. Medical Practice 23:254-256, 2006.
- 7) 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.
- 8) 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.
 - 9) 高橋 清. 成人喘息治療のpitfalls. *アレルギーの臨床* 26:501, 2006.
 - 10) 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.
 - 11) 平野 淳, 高橋 清. 喫煙と喘息. *臨牀と研究* 83:1679-1682, 2006
学会発表
 - 1) 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.
 - 2) 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.
 - 3) 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.
 - 4) 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期臨床大会シンポジウム, 2008. 6.
 - 5) 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.
 - 6) 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.
 - 7) 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.
 - 8) 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.
 - 9) 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.
 - 10) 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.
 - 11) 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 —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.
 - 12) 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.
 - 13) 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.
 - 14) 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.
 - 15) 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.
 - 16) 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.
 - 17) 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.
 - 18) 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.
 - 19) 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.

- 20) 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.
- 21) 高橋 清. 重症難治性喘息治療の再検討 一人一. 第26回六甲カンファレンス, 京都, 2006. 8.

2) 海外

口頭発表	4件
原著論文による発表	5件
それ以外(レビュー等)の発表	0件

そのうち主なもの
論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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

- 5) 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
学会発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし