

200832009A

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

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

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大田 健

平成21年(2009)年3月

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

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

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大田 健

平成21年(2009)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

- アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療法の確立及びその有効性と有害事象の評価に関する総合的研究
大田 健・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1

II. 分担研究報告

1. アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療法の確立及びその有効性と有害事象の評価に関する研究
大田 健・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・13
2. 個別化医療を目指した遺伝子多型による気管支喘息の病態解析
玉利真由美・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・18
3. 喘息とCOPDとの共通病態の解明 - 分子病態に基づく新たな分類を目指して
檜澤伸之・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・23
4. 成人喘息の早期治療指針の作成と評価、環境中アレルギー同定、モニタリング法の開発に関する研究
(1) 成人喘息の早期診断基準に則した各種早期治療法介入の効果の検証
(2) 成人喘息患者における環境中アレルギーの同定、モニタリングの有用性の検証
秋山一男・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・25
5. アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療法の確立及びその有効性と有害事象の評価に関する研究
足立 満・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・29
6. アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療法の確立及びその有効性と有害事象の評価に関する研究
棟方 充・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・33
7. 小児気管支喘息の重症度判定基準の作成と評価
森川昭廣・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・37
8. 小児気管支喘息の早期診断・早期治療の指針の作成と評価および気管支喘息に関連する遺伝子解析
近藤直実・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・41
9. アレルギー性鼻炎の個別化治療を目指した早期診断基準と早期治療法の確立に向けた取り組み
岡本美孝・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・44

10.	アトピー性皮膚炎患者の悪化因子に関する研究 -表皮の神経成長因子産生および精神心理的要因について 池澤善郎	47
11.	乳児期発症食物アレルギー患者の検討 海老澤元宏	50
12.	小児気管支喘息の早期診断・治療指針の作成と評価に関する研究 眞弓光文	54
13.	アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療の確立及びその有効性と有害事象の評価に関する研究 山口正雄	57
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	61
IV.	研究成果の刊行物	75
1.	アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診断指針	76
2.	気管支喘息の診療のための病診連携の実行指針	142

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

研究代表者 大田 健

帝京大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科 教授

研究要旨

「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」と題した指針を作成し研究結果を踏まえて改訂した。成人喘息の早期診断基準では、呼気一酸化窒素（fractional exhaled NO: FeNO）の上昇（ ≥ 40 ppb）と自覚症状（反復する咳嗽 or 喘鳴 or 呼吸困難）とを組み合わせることで早期診断指標となることが示唆された。小児気管支喘息では、とくに乳児喘息で、全身ステロイド投与による症状改善効果が診断精度を上げることが明らかとなった。成人喘息の重症度の判定では、喘息コントロールテスト（asthma control test: ACT）の点数が 20 点以上でも最新の国際ガイドライン（Global Initiative for Asthma: GINA2006）の評価法でコントロール不良となることが明らかとなり、呼吸機能検査や長期的観察も組み合わせて評価することの必要性が明らかとなった。成人喘息の検討では、罹病期間と気道平滑筋の厚さとの正の相関を示し、ヒスタミンに対する気道過敏性（HistPC20）が負の相関を示し気道リモデリングの指標となることが明らかとなった。そして吸入ステロイド（inhaled corticosteroids: ICS）の早期治療への導入が HistPC20 を改善することから、ICS の早期介入（early intervention）は、症状の改善とともに気道リモデリングも改善することを示唆した。花粉症（アレルギー性鼻炎）の発症には抗原特異 IgE 抗体価の上昇が先行することから、一次予防の重要性が確認された。また花粉症への早期介入は、その後続く喘息発症を抑制することが期待される。アトピー性皮膚炎の状態を評価するバイオマーカーとして皮膚角層の NGF（nerve growth factor）が有用であることが明らかとなった。食物等アレルギーでは、即時型を呈していない乳児期に湿疹で発症した症例は、皮膚病変への適切な対応と原因抗原の除去を早期に開始することにより早期に寛解導入できることが示唆された。

「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」の実行にはハードルがあるが、その克服への対策として、本作戰に関する学会での講演、本研究班班員による啓発活動、推進委員による行政への働きかけ、積極的な資料の配布などが継続的に実行されている。その成果の現れは、喘息死の経年的な減少であり、2005 年（平成 17 年）に 3198 名であったのが、2006 年 2778 名、2007 年 2540 名と減少していることである。

体質で表現される遺伝的背景の把握をめざして、遺伝子多型のパネル化が行われたが、結論を得るにはさらに検討を要する。環境中のアレルゲン量を測定し、環境整備の評価と臨床効果を検討している。アレルゲンを同定する方法として、免疫不全マウスを用いた抗原誘発試験を施行する方法を考案した。以上の基礎研究は、適切で精度の高い早期診断、重症度や予後の判定、早期治療などの実現をもたらすことに寄与するものと期待される。

E. 結論

申請したプロジェクト研究計画に沿って、各班員が精力的に研究を進めてきた。研究班の成果として、「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」、EAP、ACT、「喘息日記」、「ぜん息カード」などの資料の選定や作成、「病診連携の実行指針」、そして「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」を完成した。厚生労働省の調査結果では喘息死が経年的に減少しており、本研究プロジェクトが実地医療の改善に少なからず寄与していることが示唆された。喘息死がさらにゼロに近づくためには、医療担当者間での協力とともに、行政と医療担当者とのさらに強い協力体制の推進が必要と考えられる。

研究分担者

秋山一男

独) 国立病院機構相模原病院 副院長

足立 満

昭和大学医学部呼吸器アレルギー内科 教授

棟方 充

福島県立医科大学呼吸器内科 教授

森川昭廣

社会福祉法人 希望の家附属北関東アレルギー
研究所 所長

近藤直実

岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授

岡本美孝

千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉科・頭頸
部腫瘍学 教授

池澤善郎

横浜市立大学医学研究科環境免疫病態皮膚科学
教授

海老澤元宏

独) 国立病院機構相模原病院臨床センターア
レルギー性疾患研究部 部長

眞弓光文

福井大学医学部病態制御医学講座小児科学
教授

山口正雄

東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科
講師

A. 研究目的

主なアレルギー性疾患には、喘息、花粉症（アレルギー性鼻炎）、アトピー性皮膚炎、食物等アレルギーが挙げられるが、いずれの疾患も増加傾向がみられ多くの国民を苦しめている。アレルギー疾患では、疾患のコントロールが診療の目標となり、アレルゲンの同定と回避が、薬物療法とともに治療において重要である。また医師と患者との連携が特に重要であり、患者個々のアレルゲンおよび重症度に応じた個別の治療戦略と自己管理による毎日の実行が治療の成功の鍵となる。さらに診断や治療に苦慮する場合には、円滑な病診連携、専門医と一般医との連携が重要である。そして、治療の実行に当たっては、その有効性と安全性を適切に評価することが必要である。以上のようなアレルギー疾患の診療を実現するために、本研究では、各疾患の早期診断と早期治療を目指して、診断基準、

重症度の判定基準、そして重症度に合わせた早期治療の指針を作成する。本研究では、とくに喘息を主たる対象疾患として、自己管理による疾患のコントロールを可能にすることを目指す。さらに、診断や治療における病診連携、及び専門医と一般医との連携についても、指針の中で具体的に提言し、適切な連携を推進する。

本研究におけるもう一つの課題として、喘息死ゼロ作戦を実行するための指針の作成が重要な位置を占めている。上述の喘息の自己管理による疾患のコントロール、診断や治療における病診連携、及び専門医と一般医との連携についての指針の作成と整合性を保つことで、課題相互の情報交換が内容の充実につながることを期待できる。そのような視点を保ちながら、「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」を作成し、ガイドラインに沿った喘息の診療が現実の医療に即して実行される方策の確立を目指し、喘息死が限りなくゼロに近づくための治療戦略を本研究の課題全体を通じて提言することを目指す。

本研究の中の基礎研究では、喘息の発症、重症度、予後などに関連する遺伝子の追求、環境中のアレルギーのアレルゲンが定量できる高感度で簡便な方法の開発を行い、臨床に有用な新しい指標として確立する。また新しい抗原曝露試験の確立も目指す。以上の結果は、適切で精度の高い早期診断、重症度や予後の判定、早期治療などの実現をもたらすことに寄与するものと期待される。

B. 研究方法

3年間の集大成として、「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」に基づく喘息治療を実行かつ検証して、完成度をさらに高めた。また、本研究班の成果の1つとして「病診連携の実行指針」を作成し、「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」に沿った作戦の遂行が推進されることを目指した。喘息死ゼロ作戦ではガイドラインに沿った喘息治療の実行を主眼に、喘息コントロールテスト（asthma control test; ACT™）を含むコントロールの客観的評価に基づく自己管理の重要性を明らかにし、実行するための方策を明記している。以上のような指針の作成と実行を通じて、JGL2006に沿った喘息の診療が現実の医療現場で実行されることを目指した。そして指針を通じた介入の効果を喘息

死、臨床的評価の指標（喘息症状、ピークフロー、ACT あるいは Childhood Asthma Control Test; C-ACT）などにより評価し、さらに完成度の高い各種指針の作成や喘息死ゼロを目指す治療戦略の確立を実現することに寄与することを旨とした。

アレルギーの早期診断用および経過予測用の遺伝子検索キットは、短時間で結果を得ることが可能なインベーターアッセイ法を用いて候補となる遺伝子多型をパネル化した。候補とした遺伝子多型は、パネル1として LTC4S -444A/C, LTC4S Glu4Lys, IFN- γ R1 Leu467Pro, IL-13 Arg110Gln, IL-12R β 1 Met365Thr などとした。パネル2として TGF- β 1 -509C/T, Fc ϵ R1 β -109T/C, UGRP1 -122G/A, TARC -431C/T, MDC5C/A などである。検索対象者は、atopic asthma, non-atopic asthma, control とし、SNPの頻度に違いがあるか否か等について検討を加えた（近藤、大田）。

成人喘息患者における環境中アレルゲンの同定、モニタリングの有用性の検証としては、外来通院中の成人喘息患者でダニアレルゲン感作症例を対象とし、テープ法によるダニアレルゲン個人曝露量を経時的（初回→3ヶ月後→6ヶ月後）に寝具および皮膚から採取し、環境中の室内塵（シャーレ法）と比較検討する。またこれらの曝露抗原量の変化と臨床症状（発作頻度、 β -MDI 使用頻度）や呼吸機能（%FEV₁, %PEF）の変化を対比検討した（秋山）。

SCID マウスを用いた抗原曝露誘発試験の検討では、ダニに感作された喘息症例からの単核球、あるいは白血球全体を尾静脈から移入し、ダニ抗原を経気道投与して気管支肺胞洗浄液、病理組織、気道過敏性を評価した。また薬物アレルギーについても単核球の移入と検討する薬物への曝露による検討を進めてきた（大田、山口）。

（倫理面への配慮）

患者からの検体収集は三省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿って行なった。テープによる家庭を中心とする塵埃の収集は、患者の同意を得て、収集の条件を一定にして行なった。患者の採血は倫理規定に基づいて文書で同意を得た上で実行し、動物実験は動物愛護の精神を遵守して全麻下での処置を原則とした。

C. 研究結果

1. アレルギー疾患に関する診断基準、重症度の判定基準、及び重症度に合わせた早期治療の指針

主なアレルギー性疾患である喘息、花粉症（アレルギー性鼻炎）、アトピー性皮膚炎、食物等アレルギーについて、「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」と題した指針を作成した。

a) 喘息

i) 早期診断基準 成人：棟方 充
小児：真弓 光文

ii) 重症度の判定基準
成人：足立 満
小児：森川 昭廣

iii) 早期治療の指針
成人：秋山 一男、大田 健
小児：近藤 直実

b) 花粉症（アレルギー性鼻炎） 岡本 美孝
c) アトピー性皮膚炎 池澤 善郎
d) 食物等アレルギー 食物アレルギー：海老澤 元宏
薬物アレルギー：山口 正雄

以上の分担で作成したものを全員で討議し、最終案をもとに大田 健が監修を行ない完成した。

そして、これまでの研究結果を踏まえて改訂し、本研究班3年間の主な成果の1つと位置付けている。

2) 「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」の改訂に資する最終年度の結果

a) 喘息

i) 早期診断基準

成人喘息では、呼気一酸化窒素（fractional exhaled NO: FeNO）の上昇（ ≥ 40 ppb）と自覚症状（反復する咳嗽または喘鳴または呼吸困難）とを組み合わせることで他疾患の除外を含めて早期診断の指標となることが示唆された。本診断基準は、JGL2006の診断の目安による診断とは有意な相関を認めた（ $p < 0.001$ ）。また本診断基準は、感度80%、特異度94%であった（棟方）。

小児気管支喘息では、小児気管支喘息治療・管理ガイドライン 2005（JPGL2005）のみで乳児喘息と診断した場合、他疾患が40%紛れ込み、主治医のみの診断では一過性喘鳴患者として長期的な喘息管理を要さない患者が30%含まれる

と考えられた。とくに乳児喘息で、全身ステロイド投与による症状改善効果が診断精度を上げることが明らかとなり、診断の際の参考所見として組み込むことが有用と考えられた(真弓)。

ii) 重症度の判定基準

軽症持続型(ステップ2)以上の成人喘息について、喘息コントロールテスト(ACT)を用いて独自に検討したところ、ACTの点数と最新の国際ガイドライン(Global Initiative for Asthma; GINA2006)のコントロールレベルとの間には相関係数 0.588 ($p < 0.01$)の有意な相関を認めた。しかし、一部の患者でACTの点数が20点以上でGINA2006の評価法でコントロール不良となることが明らかとなり、呼吸機能検査や長期的観察を一緒に組み合わせる評価することの必要性が明らかとなった(足立)。

小児気管支喘息においては、C-ACT(Childhood Asthma Control Test)とJPAC(Japan Pediatric Asthma)はともに喘息の重症度判定には有用であるが、次のような改善すべき点がみられた。第一点は、C-ACTにおいて20点をコントロール良好の境界にすると軽症持続型の一部が含まれることが判明したので、何点で区切るのが適切か、検証する余地があることである。また第二点は、C-ACTでは乳幼児に対応できないので、乳幼児向けのACTが必要であり、素案をもとに作成したものを担当する医師に配布し意見を集約している(森川)。

iii) 早期治療の指針

成人喘息における検討で、罹病期間と気道平滑筋の厚さなどが正の相関を示し、ヒスタミンに対する気道過敏性(HistPC20)が負の相関を示し気道リモデリングの指標となることが明らかとなった。また、吸入ステロイド(inhaled corticosteroids: ICS)の早期治療への導入は、HistPC20を改善した(秋山)。

b) 花粉症(アレルギー性鼻炎)

2005年に発行された鼻アレルギー診療ガイドライン第5版を基にした検討では、早期診断には3主徴(くしゃみ、水性鼻漏、鼻閉)と抗原の同定が重要であること、3主徴は重症度の評価の指標となることの重要性が明らかとなった。また、花粉症を含むアレルギー性鼻炎の発症には、抗原特異IgE抗体価の上昇が先行することが示唆された。またMMP-9のSNP(single nucleotide polymorphism)についての検討から、花粉症児と40歳代の成人のスギ花粉症で有意

な結果が得られた(岡本)。

c) アトピー性皮膚炎

アトピー性皮膚炎の状態を評価するバイオマーカーとして皮膚角層のNGFが有用で、状態の改善により低下することが明らかとなった。また夜間の搔痒の一部は心理テストによるうつスコアやNK細胞の数や活性化と相関することが示唆された(池澤)。

d) 食物等アレルギー

食物アレルギーでは、即時型を呈していない乳児期に湿疹で発症した食物アレルギーの症例は、皮膚病変への適切な対応と原因抗原の同定と除去を早期に開始することにより早期に寛解導入できることが示唆された(海老澤)。

薬物アレルギーでは、①医療従事者(医師および看護師)は、アナフィラキシーに対する関心が高く、実際に症例が目前で現れた際の対応方針に対する不安と病態の基礎知識の欲求が極めて高いことが確認された。②アナフィラキシー症例を対象とする診療の中で、問診の重要性和臨床検査として即時型皮膚反応の有用性が明らかとなった。③近年注目されているIL-33の好塩基球への作用を検討し、好塩基球の接着誘導および脱顆粒増強作用があることを見出した(山口)。

3). 医師向け喘息問診票と患者向けコントロール評価のための問診票

a) 医師向け喘息問診票

喘息の診断のための問診票は、今回作成した「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」、ATS-DLDの日本語版問診票をもとに、JGL2006の診断の目安を考慮して作成した。本研究班での検討結果をもとにさらに改訂し、現時点での最終版とした。また、喘息の重症度の評価に用いる問診票は、Easy Asthma Program™(EAP)の日本語版をもとに、JGL2006の重症度の分類(未治療の場合と治療中の場合)を考慮し最終案をまとめた。本研究の参加施設における日常診療において使用されており、その評価は、質問票を介した配布施設からのフィードバックによると、十分に高い。

b) 患者向けコントロール評価のための問診票

すでに海外で作成され科学的評価がなされているACTを用いることに決定し、本研究の参加施設における日常診療でピークフロー(PEF)とともにACTが使用されている。また小児用のACT

として C-ACT も分担研究者の森川を中心にまとめられた。小児では7項目の質問が選定され、4項目は患児に対する質問で3項目は保護者への質問で、小児の ACT は27点満点で評価される。

4) 作成した資料の評価

ACT の点数と PEF の測定値が記入可能になった喘息日記とぜん息カード（患者個人の日常の治療内容、急性増悪時の通常対応と注意点、合併症などの診療情報、かかりつけ医および救急時の受診先などに関する情報などが含まれている）を作成し、研究参加施設に配布した。そして、質問票を介した配布施設からのフィードバックによると、十分に高い評価を得ている。

5) 病診連携のネットワーク構築

本研究班の成果として、実際の日常診療に役立つ治療指針の作成にも寄与する内容となる「病診連携の実行指針」を作成した。その内容は、「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」に基づく診療の実行を促進することと整合性を保つものである。したがって、今後の病診連携の実行に関する評価のフィードバックは、喘息死ゼロ作戦の評価の一端となるものでもある。

6) 「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」

「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」を医学専門家、医師会担当理事、患者会代表者からなる喘息死ゼロ作戦評価委員会と厚生労働省疾病対策課の担当者との協議を通じて完成し配布した。明解、簡便、実行可能ということの特徴とし、本研究班で選定あるいは作成した EAP、ACT、喘息日記、ぜん息カードを使用することを含めた指針となっている。また、本指針の推奨する治療戦略は、本研究班の病診連携を含めた研究参加施設で実行される喘息の診療と整合性が保たれている。「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」の実行にはハードルがあるが、その克服への対策として、本作戦に関する学会での講演、本研究班班員による啓発活動、推進委員による行政への働きかけ、積極的な資料の配布などが継続的に実行されている。その成果の現れは、喘息死の経年的な減少であり、2005年（平成17年）に3198名であったのが、2006年2778名、2007年2540名と順調に減少していることである。

7) 基礎的研究課題

a) 喘息に関連する遺伝的背景の把握

体質で表現される遺伝的背景の把握をめざして、分担研究者の近藤を中心にインベーターアッセイ法により候補となる遺伝子多型のパネル化が行われた。これまでのところでは、パネル1では小児気管支喘息群ではコントロール群と比較した場合、LTC4SでGlu4Lys, およびIFN- γ R1でLeu467Proが、小児気管支喘息群に有意にみとめられた。さらにLTC4Sの-444A/CとTGF- β 1の-509C/Tも重要なリスク因子と考えられた。成人の気管支喘息では、atopic asthma群、non-atopic asthma群、control群の各群と各SNPの頻度との間に現在のところ有意差はみられていないが、LTC4S -444A/CのCC群では非特異的IgEが低く、吸入ステロイド使用量が多い傾向がみられた。さらにパネル2の遺伝子検索キットを中心に、現在検討を進め日常診療への応用をさらに目指している。

また、別の検討からIL-13のSNPsと成人喘息発症との間に有意な相関を認めた。これまでに報告のないintron1に存在するSNP 557A>Cと喘息発症との間に最も強い相関を認めた(p=0.0055)。さらにプロモーターの-1070C>Tと喘息重症度との間にも相関を認めた。マイクロアレイ解析ではIL-6やCCL3が気道上皮細胞においてpolyI:Cにより強く誘導され、グルココルチコイドによりそれらが抑制されることが確認された。さらにIL-13の存在下ではpolyI:Cによるそれらの発現誘導が亢進し、グルココルチコイドのそれらに対する抑制作用が減弱することが示された(玉利、大田)。また、CCL5(RANTES)遺伝子プロモーター領域の-28C/G多型は、対立遺伝子-28Gが40歳以上に発症した高齢発症喘息の危険因子になっていた。さらにIL-17F蛋白の161番アミノ酸に存在するヒスチジン[H]からアルギニン[R]への変異において、

R型IL-17Fは、特にアトピー体質を有する群において喘息とCOPDとの両者を含んだ慢性炎症性肺疾患の発症や重症度に遺伝的な影響を与えていた(檜澤、大田)。

b) 環境中のアレルゲン量の測定

アレルギー疾患においては、原因抗原すなわちアレルゲンへの曝露を回避することが薬物療法とともに重要である。環境中のアレルゲン量をテープ法で測定する系を確立した。引き続き、成人喘息患者のコントロールレベルにおよぼす室内環境アレルゲン(ダニやイヌやネコなどのペット抗原)の曝露および感作状況の影響について検討を加えた。1) 喘息患者78例のコントロールレベル 喘息コントロールテストスコアの中央値は25で、43例(55.1%)でトータルコントロールが達成されていた。コントロールテストスコアはMin%Max PEFと弱い相関($r=0.244$)を示した。2) 室内環境アレルゲンへの感作および曝露状況 ダニ、イヌ、ネコそれぞれのアレルゲンへの感作は、ダニ31例、イヌ13例、ネコ10例で認められた。Der 1 > 2 $\mu\text{g/g dust}$ は70例、Der 1 > 10 $\mu\text{g/g dust}$ は42例、Can f 1 > 10 $\mu\text{g/g dust}$ は11例、Fel d 1 > 10 $\mu\text{g/g dust}$ は8例が満たしていた。3) 室内環境アレルゲンの感作および曝露状況と喘息のコントロールレベルの関連 Der 1 > 10 $\mu\text{g/g dust}$ 、Can f 1 > 10 $\mu\text{g/g dust}$ 、Fel d 1 > 10 $\mu\text{g/g dust}$ の少なくとも1項目を満たす場合を高濃度曝露とありと判定した。この基準により、全症例を高濃度曝露と感作の有無から4群に分類し、喘息のコントロールレベルを比較した。その結果、群間に有意差はみられなかった。また、喘息コントロールテストのスコアが25の群(トータルコントロール群)と24以下の群(コントロール不十分群)に分類し同様の解析を行ったところ、トータルコントロール群は末梢血好酸球数、血清ECP濃度、さらに、吸入ステロイドの投与量が有意に低値を示したが、曝露状況は2群間に有意差を認めなかった。4) ペット飼育患者と非飼育患者の臨床像の比較 飼育群ではFel d 1およびCan f 1が有意に高濃度に検出されたが、Der 1は有意差がなかった。また、吸入ステロイドの投与量は飼育群で高い傾向を認めた。以上より、ダニやイヌ、ネコに代表される室内環境アレルゲンの曝露と感作状況は成人喘息患者のコントロールレベルに影響をおよぼさない

可能性が示唆された。(秋山)。

c) マウスによる抗原曝露誘発試験法の確立

アレルゲンを同定する方法として、患者の抗原曝露試験に代えて、ヒト細胞を移入したSCIDマウスを用いて抗原曝露とその評価ができないかを検討した。1) 気道過敏性の検討 コントロール群とchimeraマウス群との間で、ベースラインでの気道抵抗、アセチルコリンで刺激し測定した気道過敏性に有意差を認めなかった。

2) 気管支肺胞洗浄液(BALF)の解析 5日間点鼻投与を行ったマウス(コントロール6匹とchimeraマウス4匹)において、BALF中総細胞数は、コントロール群 $21.9 \pm 3.9 \times 10^4$ 、chimeraマウス群 $30.7 \pm 7.0 \times 10^4$ で有意差を認めなかった。一方、リンパ球数は、コントロール群 $0.4 \pm 0.1 \times 10^4$ 、chimeraマウス群 $1.3 \pm 4.0 \times 10^4$ ($p < 0.05$)、好中球数は、コントロール群 $0.3 \pm 0.2 \times 10^4$ 、chimeraマウス群 $2.3 \pm 0.7 \times 10^4$ ($p < 0.01$)であり、chimeraマウス群で有意に高値を示した。さらに、2週間点鼻投与を行ったマウス(コントロール3匹、chimeraマウス3匹)においては、BALF総細胞数はコントロール群 $16.3 \pm 6.2 \times 10^4$ 、chimeraマウス群 $20.4 \pm 7.4 \times 10^4$ で有意差を認めなかった。一方、リンパ球数はコントロール群 $0 \pm 0 \times 10^4$ 、chimeraマウス群 $1.5 \pm 0.5 \times 10^4$ ($p < 0.05$)、好酸球数はコントロール群 $0 \pm 0 \times 10^4$ 、chimeraマウス群 $0.9 \pm 0.3 \times 10^4$ ($p < 0.05$)であり、chimeraマウス群で有意に高値を示した。

3) 肺組織の検討 HE染色およびPAS染色にて肺組織を比較したところ、大きな違いを認めなかった。これまでの結果では、移入する細胞は、全白血球が少なくとも喘息モデルでは適切で、曝露期間は2週間を要することが明らかになってきた。すなわち、最初に確立した過敏性肺炎の場合と異なり、顆粒球系の細胞の関与を示唆する結果を得ている。

D. 考察

1) アレルギー疾患に関する診断基準、重症度の判定基準、及び重症度に合わせた早期治療の指針

主なアレルギー性疾患である喘息、花粉症(アレルギー性鼻炎)、アトピー性皮膚炎、食物等アレルギーについて、「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」と題した指針を本研究班で得られた成果も含めて最終版として作

成した。その評価については、今後の検証がさらに必要である。しかし、将来のEBMに基づく指針の完成に向けて、少なくとも基盤として寄与することが期待される。

2) 「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」の改訂に資する結果

a) 喘息

i) 早期診断基準

今回の検討結果から、FeNOは発症初期の軽症気管支喘息患者でも有意な上昇が認められ、喘息早期診断において非常に有用な指標となりうることを示唆された。つまり、咳嗽・喘鳴・呼吸困難などの自覚症状を持つ患者で呼気NOが上昇している場合は、初期の気管支喘息である可能性が高いと推測された。3年間の研究結果から、「自覚症状(反復する咳嗽 or 喘鳴 or 呼吸困難)」+「FeNO \geq 40ppb」+「他疾患の除外」を気管支喘息早期診断基準(案)の有用性が示唆された。ただし、今回の検討では症例数がまだ十分とは言えず、今後多施設で大規模な検討を行う必要があると考えられる。

乳児喘息と診断した時点で β_2 刺激薬吸入の改善効果はほとんどの症例で認められており、喘息を診断する上で重要な所見と言えるが、典型的喘息への移行を予測するには有用とは言えない。典型的喘息への移行を予測する上で診断時の重症度が有用でないのに対し、全身性ステロイドの改善効果は有用であったことから、発作頻度より全身性ステロイド投与を要する様な発作をおこしたか否かが重要と考えられた。今後とも実用的な診断基準の検討が必要と考えられた。

ii) 重症度の判定基準

多くの喘息患者の自己管理において有用とされているACTであるが、GINAのコントロールレベルと比較すると少数例においてACTの点数が20点以上でもコントロールの不良例が存在し、呼吸機能を評価に加えることの必要性が示唆された。

小児気管支喘息の重症度とコントロールの状況を把握する手段としてC-ACT、JPACを用いて検討した。今後さらに年少児(5歳以下)についても、C-ACT、JPACを参考に作成することが必要である。これにより全年齢層において、医師および保護者が共通した基準をもつことになり喘息の重症化と死亡者数を減少しうると考え

られる。

iii) 早期治療の指針

長期罹病期間は気道平滑筋細胞肥大と関連し、日常臨床において気道リモデリングの指標としてはHist気道過敏性が有効である。成人喘息ではICSによる早期治療介入によってHist気道過敏性が有意に改善されることから、ICS早期介入は臨床症状の改善だけではなく、気道リモデリングを改善させる可能性を示唆している。

b) 花粉症(アレルギー性鼻炎)

アレルギー性鼻炎の発症には、特異IgE抗体価の上昇が先行してみられ、この抑制がアレルギー性鼻炎発症の抑制に働く可能性が示唆された。さらにアレルギー性鼻炎発症の抑制は喘息発症の抑制につながることを期待される。また、MMP-9遺伝子多型は小児花粉症の感受性遺伝子であることが示唆されたが、さらに症例を重ねて検討することが必要である。

c) アトピー性皮膚炎

本研究によって、AD患者の表皮ケラチノサイトによるNGFの産生亢進が定量的にされ、その値は皮膚炎の重症度やかゆみの強さおよび末梢血好酸球数と相関を示した。さらに治療による症状の軽快とともに2週間という早期にNGF値が低下したことから、角層のNGF定量は今後AD治療におけるバイオマーカーとなりうることを示された。また、今回の評価ではAD患者では精神心理状態の悪化がIgE産生を亢進し、NK活性と相関することは、新たな発見であり臨床的な検討が待たれる。

d) 食物等アレルギー

早期治療群に比較し、非早期治療群では卵や牛乳などの主要原因抗原の耐性獲得が遅れ、また特異的IgE抗体価は低下傾向が認められなかった。その理由として原因抗原暴露が長期に渡ったこと、適切な処置がなされずアトピー性皮膚炎のコントロールが不良であったことが考えられた。またダニ抗原の暴露もアトピー性皮膚炎のコントロールに影響していた可能性あるいはバリア機能の破綻によりダニ抗原の曝露が増大していた可能性も考えられ、環境要因も、即時型を呈していない乳児期に湿疹で発症した食物アレルギー児では重要な悪化要因であることも示唆された。

薬物アレルギーでは、薬物アレルギーのうちでも生命に直結しうるアナフィラキシーの病態解明や医療従事者への啓発が特に重要とする根

拠を、臨床に即した見地から提示しているものと考えられる。

3). 医師向け喘息問診票と患者向けコントロール評価のための問診票

a) 医師向け喘息問診票

Easy Asthma Program™ (EAP) の日本語版をもとに、JGL2006 の重症度の分類（未治療の場合と治療中の場合）を考慮し最終案をまとめたが、使用した医師からの評価を整理して、より使用しやすく評価の高いものにすることが今後とも必要である。

b) 患者向けコントロール評価のための問診票

すでに海外で作成され科学的評価がなされている ACT を用いた。GINA のコントロール評価との乖離、呼吸機能の評価が不十分な点を承知した上で使用することが必要と考えられる。また、小児用の CACT は、作成そのものが評価に値するが、コントロール良好と不良の境界については、今後検証することが必要と考えられる。

4) 作成した資料の評価

ACT の点数と PEF の測定値が記入可能になった喘息日記とぜん息カード（患者個人の日常の治療内容、急性増悪時の通常対応と注意点、合併症などの診療情報、かかりつけ医および救急時の受診先などに関する情報などが含まれている）については、過去の実績から大きな問題はないものと考えられる。

5) 病診連携のネットワーク構築

本研究班の成果として、実際の日常診療に役立つ治療指針の作成にも寄与する内容となる「病診連携の実行指針」を作成するが、今後指針を実行することによる検証が必要である。

6) 「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」

「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」の評価は、作戦に参加している自治体がまだ少ないので困難である。しかし、本研究班がその内容に沿った喘息の診療を実行しており、その内容は JGL2006 の実行と言う点で共通であることから、本指針の内容についての評価はある程度可能である。ゼロ作戦成功の鍵となるのは、国の支援、平易で単純で実行可能な作戦内容にある。そして、作戦の成否の主要評価項目には、喘息死が挙げられる。喘息死は、2005 年（平成 17 年）に 3198 名であったのが、2006 年 2778 名、2007

年 2540 名と順調に減少している。しかし、ゼロという大きな目標に近づくには、さらに行政を含めた形で作戦が実行されることが必要であろう。ゼロ作戦推進委員の役割は大きいと考えられる。

7) 基礎的研究課題

a) 喘息に関連する遺伝的背景の把握

体質で表現される遺伝的背景と喘息およびその表現型との関係を解明することは、喘息の早期診断、早期治療、寛解や難治化の予測、薬物への反応性の予測などを可能にする。そして、適切な薬物による個別化医療、喘息の予後改善、喘息死の防止の実現に大きく貢献することが期待される。重要なことは、研究者の発見した疾患に関連する遺伝子多型を個別ではなく、共通の検体で同時に解析することである。今回の研究を通じて新たに発見された知見も含めて、さらに遺伝子多型のパネル化を推進し検討を重ねることが今後とも必要である。

b) 環境中のアレルゲン量の測定

アレルギー疾患においては、原因抗原すなわちアレルゲンへの曝露を回避することが薬物療法とともに重要である。そして環境整備の客観化には、整備の対象となるアレルゲン量が環境中で減少することを確認することが必要である。さらに目指すところである、環境整備の結果がどの位臨床的な改善をもたらすかを評価することが必要である。本研究の結果は、室内環境アレルゲンの曝露と感作状況は成人喘息患者のコントロールレベルに影響をおよぼさない可能性を示唆した。その要因のひとつに対象患者のコントロールが非常に良好であったために室内環境アレルゲンの影響を受けなかった可能性が挙げられる。吸入ステロイドを中心とした治療により実に半数以上の患者でトータルコントロールが達成されていた。また、スパイロメトリーやピークフローモニタリング、あるいは、呼気中 NO 濃度に代表される気道炎症に関連したパラメーターも相応に良好であった。トータルコントロール群の吸入ステロイドの投与量がコントロール不十分群と比較して有意に高用量であったことはそれを物語っている。

ペット飼育群と非飼育群の比較でも同様に、Fel d 1 と Can f 1 は有意に飼育群で高値であったが、喘息のコントロールレベルには両群間に有意差はなかった。この結果はペットを飼育

する患者にはある意味朗報ともいえよう。つまり、ペット飼育の中止に消極的な喘息患者に対して、飼育の継続を希望するなら喘息コントロールを達成することが必要であること。そのためには吸入ステロイドを中心とした治療を強化し、服薬とピークフローモニタリングを中心とした自己管理の徹底が不可欠であること。これらを患者教育に活用できる可能性が示唆された。そして、成人喘息患者に対して環境整備が不要であることを意味するものではないことを銘記する必要がある。本研究の成果としてテープによりダニ抗原の定量を可能にしたことは大きな成果であり、環境整備の治療効果への寄与の程度をさらに明らかにするものと期待される。

c) マウスによる抗原曝露誘発試験法の確立

抗原の同定に抗原曝露試験が想起されるが、実際には被験者に苦痛と危険を伴い、汎用されるものではない。しかし、何らかの方法で抗原曝露でアレルギー症状が誘発されることが原因抗原の断定には必要とされる。過敏性肺炎では極めて容易に病変が惹起された方法であるが、喘息や薬物アレルギーでは少し工夫を要する状況にある。

E. 結論

申請したプロジェクト研究計画に沿って、各班員が精力的に研究を進めてきた。研究班の成果として、「アレルギー疾患の早期診断、早期治療のための診療指針」、EAP、ACT、「喘息日記」、「ぜん息カード」などの資料の選定や作成、「病診連携の実行指針」、そして「喘息死ゼロ作戦の実行に関する指針」を完成した。厚生労働省の調査結果では喘息死が経年的に減少しており、本研究プロジェクトが実地医療の改善に少なからず寄与していることが示唆された。喘息死がさらにゼロに近づくためには、医療担当者間での協力とともに、行政と医療担当者とのさらに強い協力体制の推進が必要と考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

- ・論文発表
(英文)

1. Kawakami A, Koketsu R, Suzukawa M, Nagao M, Hiraguchi Y, Tokuda R, Fujisawa

T, Nagase H, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M. Blocking antibody is generated in allergic rhinitis patients during specific immunotherapy using standardized Japanese cedar pollen extract. *Int Arch Allergy Immunol.* 146 Suppl 1:54-60. 2008

2. Kawakami A, Suzukawa M, Koketsu R, Komiya A, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M. Enhancement of basophil apoptosis by olopatadine and theophylline. *Allergy Asthma Proc.* 29(3):322-8. 2008
3. 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. *Respir Med.* 102(7):1055-64. 2008
4. 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(9):5981-9. 2008
5. 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(11):1245-53. 2008

(和文)

1. 足立満, 大林浩幸, 池田賢次, 一ノ瀬正和, 大田 健, 小畑秀登, 國分三三男, 佐野靖之, 田村弦, 東田有智, 平田一人, 藤村直樹, 安場広高: 気管支喘息に対する HFA-BDP と FP の多施設無作為比較試験末梢気道炎症ならびに QOL の変化を中心として. *アレルギー・免疫* 15(8): 1088-1098, 2008
2. 足立満, 大田 健, 森川昭廣, 西間三馨, 徳永章二, Di Santostefano Rachael L: 本邦における喘息のコントロールと管理の変化 2000年度と2005年度の喘息患者実態電話調査(AIRJ)より. *アレルギー* 57(2): 107-120, 2008

・学会発表

(海外)

1. Nagase H, Yoshihara H, Yamana K, Kojima Y, Suzukawa M, Ishida H, Adachi T, Nakano J, Ohta K: The Effect of KGF-expressing Plasmid Vector on Silica-induced Lung Injury. American Thoracic Society Annual Meeting, Toronto, Canada, May, 2008
2. Kojima Y, Nagase H, Yoshihara H, Suzukawa M, Ishida H, Adachi T, Nakano J, Ohta K: Suppression of Lung Inflammation Induced with Silica in Apolipoprotein E-deficient Mice. American Thoracic Society Annual Meeting, Toronto, Canada, May, 2008
3. Adachi T, Hanaka S, Masuda T Yoshihara H, Nagase H and Ohta K: Transduction of PTEN into Eosinophils Attenuates Survival, Chemotaxis, and Eosinophilic Inflammation. American Academy of Allergy Asthma & Immunology. Philadelphia. March 2008
4. Suzukawa M, Iikura M, Koketsu R, Komiya A, Nagase H, Adachi T, Nakae S, Matsumoto K, Saito H, Matsushima K, Yamamoto K, Yamaguchi M, Ohta K: An IL-1 cytokine family member, IL-33, induces human basophil and eosinophil activation via its ST2 receptor. American Academy of Allergy Asthma & Immunology. Philadelphia, USA. March 2008
5. Yamamura K, Adachi T, Masuda T, Nagase H, Ohta K: Phospho-Protein Analysis of Intracellular Signaling Molecules in Eosinophils using Luminex System. Eosinophils. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. Philadelphia, PA, USA. March 14-18, 2008
6. Nagase H, Yoshihara H, Yamana K, Kojima Y, Suzukawa M, Ishida H, Adachi T, Nakano J, Ohta K. The Effect of KGF-expressing Plasmid Vector on Silica-induced Lung Injury. American Thoracic Society Annual Meeting. Toronto, Canada, March 2008
7. Kojima Y, Nagase H, Yoshihara H, Suzukawa M, Ishida H, Adachi T, Nakano J, Ohta K: Suppression of Lung Inflammation Induced with Silica in Apolipoprotein E-deficient Mice. American Thoracic Society Annual Meeting, Toronto, Canada, March 2008

(国内)

1. 大田 健: アレルギー疾患総合ガイドラインの作成に向けて 成人喘息と総合ガイドライン. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム 1. 東京、2008. 6
2. 長瀬洋之, 大田 健: アレルギー疾患の遺伝子と分子生物学 アレルギー疾患の発症, 悪化, 自然経過に関する遺伝子多型の検討. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム 9. 東京、2008. 6
3. 大田 健: 喘息死ゼロ作戦の現状 厚生労働省喘息死 0 作戦の概要. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム 10. 東京、2008. 6
4. 小島康弘, 長瀬洋之, 原 麻恵, 矢野智湖, 鈴木直仁, 大田 健: 気管支喘息 炎症マーカー 喘息患者におけるピーズアレイシステムを用いた呼気凝縮液の検討. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会ミニシンポジウム 10. 東京、2008. 6
5. 原 麻恵, 長瀬洋之, 小島康弘, 鈴木真穂, 石田博文, 中野純一, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健: 気管支喘息 管理 I 重症持続型喘息における胃食道逆流, 睡眠時無呼吸症候群, 心身症合併と QOL との相関. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会ポスターセッション 40. 東京、2008. 6
6. 大田 健: GINA 世界喘息デー2008/日本 (日本アレルギー学会との共同企画) 「喘息死ゼロを目指す治療戦略」喘息死ゼロ作戦の全貌. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会診療ガイドラインセッション 3. 神戸、2008. 6
7. 鈴木直仁, 望月俊男, 村松弘康, 大田 健: 慢性閉塞性肺疾患 疫学 1 東京都城北地域における COPD 疫学調査. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会ポスターセッション 91. 神戸、2008. 6
8. 長瀬洋之, 吉原久直, 小島康弘, 鈴木真穂, 倉持美知雄, 石田博文, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健: アポリポ蛋白 (ApoE) 欠損マウスにおけるシロカ肺障害の減弱. 第 48 回日本呼吸器学会学術

- 講演会. 神戸、2008. 6
9. 小島康弘, 長瀬洋之, 吉原久直, 鈴木真穂, 倉持美知雄, 石田博文, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健: 肺線維化病理・病態生理 2 びまん性肺炎患における気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中液性因子の網羅的検討. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会ミニシンポジウム 283・ポスターセッション 769. 神戸、2008. 6
 10. 山村浩一, 足立哲也, 増田倫子, 長瀬洋之, 鈴木直仁, 大田 健: 免疫・炎症と肺細胞 3 Luminex System を用いた好酸球細胞内タンパク酸化定量とサイトカイン産生における機能解析. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会ポスターセッション 1081. 神戸、2008. 6
 11. 長瀬洋之: 喘息増悪へのトータル・アプローチ 3. 喘息急性増悪の治療体系とそのエビデンス-JGL と GINA の比較. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会イブニングシンポジウム 10. 神戸、2008. 6
 12. 大田 進, 美濃口健治, 小田成人, 横江琢也, 田中明彦, 田崎敏之, 山本義孝, 山本真弓, 渡部良雄, 宮本正秀, 長瀬洋之, 大田 健, 足立 満: 気管支喘息 治療 2: 臭化チオトロピウムのマウス急性及び慢性喘息モデルに対する効果. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会ミニシンポジウム 348・ポスターセッション 946. 神戸、2008. 6
 13. 箱田有亮, 埴平孝夫, 善家義孝, 井上智治, 高尾 匡, 谷貝朋美, 鈴木真穂, 初野健人, 田代晴子, 長瀬洋之, 白藤尚毅, 大田 健, 森 茂郎: 肺癌 その他の腫瘍 多彩な胸部画像所見をきたし判断に苦慮した血管芽急性 T リンパ腫 (anigionimmunoblastic T cell lymphoma, AILT) の一例. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会ポスターセッション 976. 神戸、2008. 6
 14. 大田 健: 喘息の克服を目指して. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会会長講演. 東京、2008. 11
 15. Shin Ohta, Kenji Minoguchi, Naruhio, Oda, Takuya yokoe, Xun Xu, Xiayang Chen, Yoshitaka Yamamoto, Mayumi Yamamoto, Yoshio watanabe, Hiroyuki Nagase, Ken Ohta, Mitsuru Adachi: Effectss of Tiotropium bromide on Chronic murine Asthma Model. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 International Program "English Session" 東京、2008. 11
 16. 鈴木真穂, 山口正雄, 足立哲也, 長瀬洋之, 大田 健: 炎症細胞の分離と機能的解析 好塩基球の分離と機能的解析. 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 3-5 基礎. 東京、2008. 11
 17. 長瀬洋之, 大田 健: 気管支喘息のモニタリングをめぐる呼吸ガス. 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 8-1 臨床. 東京、2008. 11
 18. Ken Ohta: GINA/ GARD/ APAACI Symposium asthma Guidelines and Their Implementation in Asia GGA-3 Implementation of Asthma Guidelines in Japan. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京、2008. 11
 19. 大田 健: ARIA・GINA プレスカンファレンス 喘息と鼻炎の国際ガイドラインと今後の展望 AG-1 喘息と鼻炎の国際ガイドラインと今後の展望. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京、2008. 11
 20. 額満力也, 山口正雄, 川上綾子, 鈴木真穂, 小宮明子, 関谷 剛, 飯倉元保, 長瀬洋之, 山田浩和, 松本健治, 齋藤博久, 羅 智靖, 大田 健, 山本一彦: マスト細胞・好塩基球 MS2-2 低濃度抗 FcεR1 α 抗体によるヒト好塩基球, マスト細胞の活性化制御. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会ミニシンポジウム 2. 東京、2008. 11
 21. 大田 進, 美濃口健治, 小田成人, 横江琢也, 田中明彦, 田崎敏之, 山本義孝, 山本真弓, 渡部良雄, 長瀬洋之, 大田 健, 足立 満: 気管支喘息-動物モデル MS5-6 急性及び慢性喘息モデルマウスに対する臭化チオトロピウムの効果. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会ミニシンポジウム 5. 東京、2008. 11
 22. 小林信之, 工藤宏一郎, 飯倉元保, 大田 健, 長瀬洋之, 永田 真, 上村光弘: 気管支喘息-診断と管理 MS8-6 成人喘息患者における吸入ステロイドの中止基準に関する検討. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会ミニシンポジウム 8. 東京、2008. 11

23. 原 麻恵, 長瀬洋之, 小島康弘, 倉持美知雄, 石田博文, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健: 気管喘息-診断と管理 MS8-9 喘息コントロール状態と気道炎症マーカーとの関連. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会ミニシンポジウム 8. 東京, 2008. 11
24. 鈴川真穂, 飯倉元保, 山口正雄, 額頰力也, 小宮明子, 中江 進, 長瀬洋之, 足立哲也, 松島綱治, 山本一彦, 大田 健: 基礎-サイトカイン/ケモカイン MS9-2 IL-33 によるヒト好塩基球化. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会ミニシンポジウム 9. 東京, 2008. 11
25. 戸田貴子, 足立哲也, 増田倫子, 山村浩一, 長瀬洋之, 大田 健: 基礎: 気道上皮細胞/線維芽細胞/血管内皮細胞 MS14-3 気道上皮細胞内タンパクリン酸化とサイトカイン酸生におけるその機能的役割. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会ミニシンポジウム 14. 東京, 2008. 11
26. 長瀬洋之, 高野裕久, 井上健一郎, 原 麻恵, 小嶋康弘, 倉持美知雄, 石田博文, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健: 基礎: 気道上皮細胞/線維芽細胞/血管内皮細胞 MS14-8 菌体成分による気道上皮細胞からのサイトカイン酸生に及ぼすディーゼル排気微粒子 (DEP) の効果. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会ミニシンポジウム 14. 東京, 2008. 11
27. 植木重治, 木原純子, 田名邊雅子, 平澤裕之, 加藤光里, 竹田正秀, 鎌田由美子, 伊藤 亘, 萱場広之, 増田倫子, 大田 健, 荻原順一: 基礎: 好酸球/好中球 MS16-5 魚油由来の n-3 脂肪酸によるニト好酸球機能の抑制. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会ミニシンポジウム 16. 東京, 2008. 11
28. 大林王司, 小山ひかり, 幸山 正, 山内康宏, 大田 健, 滝澤 始: 中等症以上の気管支喘息患者におけるモンテルカストの臨床的有用性とその気道炎症病態に及ぼす効果の検討. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会一般演題気管支喘息-治療 9 142. 東京, 2008. 11

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

- | | |
|-----------|------|
| 1. 特許出願 | 特になし |
| 2. 実用新案登録 | 特になし |
| 3. その他 | 特になし |

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

研究代表者：大田 健 帝京大学医学部内科学講座 呼吸器アレルギー内科教授
研究協力者：鈴木真穂（同リサーチレジデント）、長瀬洋之（同講師）、原麻恵（同大学院生）

研究要旨

A 研究目的 ヒトにおいてアレルギー性疾患の原因確定のために用いられる皮膚試験および負荷試験は、生体反応を引き起こす可能性があり、常にリスクを伴う。それ故、正確かつ迅速でリスクを伴わない検査方法は、薬剤アレルギーをはじめとしたアレルギー性疾患の原因特定のために有用であると考えられる。そこで本研究では免疫不全マウスをヒト化することにより、アレルギー性疾患の診断に用いることを目的に検討を行った。

B 方法 NOD scid マウスに Der f 感受性ドナーの末梢血から分離した白血球 $13.1 \pm 6.0 \times 10^7$ 個(好中球 $68.3 \pm 7.5\%$, リンパ球 $17 \pm 5.3\%$, 好酸球 $14.5 \pm 2.9\%$)を尾静脈から静注した。コントロール群として、NOD scid マウスに細胞を含まないメEDIUMのみ静注した。その後連日5日間または隔日2週間、両群共に Der f I μg および Der f III μg を点鼻投与した後、アセチルコリン刺激による気道過敏性、気管支肺胞洗浄液の解析を行い、肺組織所見を得た。

C 結果 (1) 気道過敏性

コントロール群、chimera マウス群の間に、ベースラインでの気道抵抗、アセチルコリンで刺激し測定した気道過敏性に有意差を認めなかった。

(2) 気管支肺胞洗浄液(BAL)

5日間点鼻投与を行ったマウス(コントロール6匹、chimera マウス4匹)において、BAL 中総細胞数はコントロール群 $21.9 \pm 3.9 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $30.7 \pm 7.0 \times 10^4$ (NS)で有意差を認めなかった。一方、リンパ球数はコントロール群 $0.4 \pm 0.1 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $1.3 \pm 4.0 \times 10^4$ ($p < 0.05$)、好中球数はコントロール群 $0.3 \pm 0.2 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $2.3 \pm 0.7 \times 10^4$ ($p < 0.01$)であり、chimera マウス群で有意に高値を示した。

2週間点鼻投与を行ったマウス(コントロール3匹、chimera マウス3匹)において、BAL 中総細胞数はコントロール群 $16.3 \pm 6.2 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $20.4 \pm 7.4 \times 10^4$ (NS)で有意差を認めなかった。一方、リンパ球数はコントロール群 $0 \pm 0 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $1.5 \pm 0.5 \times 10^4$ ($p < 0.05$)、好酸球数はコントロール群 $0 \pm 0 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $0.9 \pm 0.3 \times 10^4$ ($p < 0.05$)であり、chimera マウス群で有意に高値を示した。

(3) 肺組織

HE 染色および PAS 染色にて肺組織を比較したところ、大きな違いを認めなかった。

D 考察 ヒト化マウスにアレルゲンを点鼻投与することで、気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞が増加していた。ヒト化マウスを用いることで、ヒトのアレルギー性疾患を再現しえた。

E 結論 ヒト化マウスを用いることで、アレルギー性疾患の診断が安全かつ正確に行える可能性が示唆された。

A. 研究目的

本研究班ではアレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療法の確立を目的としており、本分担研究の目的は新しい抗原曝露誘発試験を開発することである。ヒトにおいてアレルギー性疾患の原因確定のために用いられる抗原負荷試験は、アナフィラキシーなどの生体反応を引き起こす可能性があり、常にリスクを伴う。それ故、正確かつ迅速でリスクの少ない検査方法は、アレルギー性疾患の原因特定のために特に有用であると考えられる。そこで新しい抗原曝露誘発試験の開発を目的に、免疫不全マウスを用いた検討を行った。喘息や薬物アレルギーを対象に患者の末梢白血球を免疫不全マウスに移入し、疑わしい抗原を実際の曝露経路に沿って投与し、アレルギー反応による細胞成分や液性成分の変化および病理像を見るというものである。

B. 研究方法

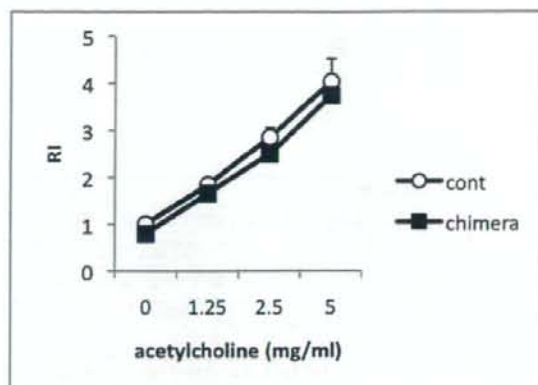
Der f 感受性の喘息患者を対象とし、検討を開始した。NOD scid マウスに Der f I $1\mu\text{g}$ および Der f III $1\mu\text{g}$ を点鼻6時間後に、Der f 感受性喘息患者末梢血から分離した白血球 $13.1 \pm 6.0 \times 10^7$ 個(好中球 $68.3 \pm 7.5\%$, リンパ球 $17 \pm 5.3\%$, 好酸球 $14.5 \pm 2.9\%$)を尾静脈から静注した。コントロール群には、NOD scid マウスに Der f を点鼻6時間後、細胞を含まないメディウムを静注した。翌日から連日5日間または隔日2週間、コントロール群、chimera 群共に Der f I $1\mu\text{g}$ および Der f III $1\mu\text{g}$ を点鼻投与した。終了後全身麻酔下で気道抵抗を測定し、アセチルコリン刺激による気道過敏性を測定、気管支肺胞洗浄液の解析を行った。また、一部のマウスにおいて肺組織所見を得た。

C. 結果

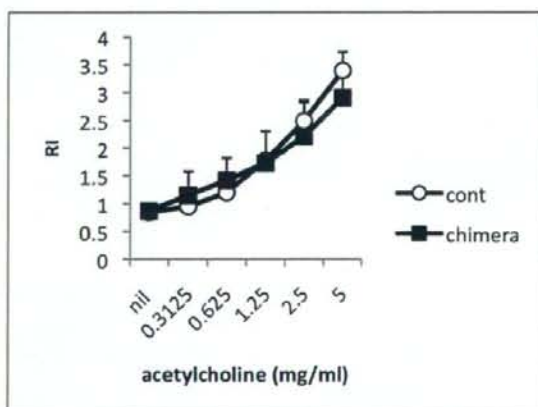
(1) 気道過敏性

チャレンジの点鼻期間が5日間の群、2週間の群ともに、コントロール群、chimera マウス群の間に、ベースラインでの気道抵抗、アセチルコリンで刺激し測定した気道過敏性に有

意差を認めなかった(図1、2)。



(図1) 5日間抗原点鼻による気道過敏性



(図2) 2週間抗原点鼻による気道過敏性

(2) 気管支肺胞洗浄液 (BAL)

5日間点鼻投与を行ったマウス(コントロール6匹、chimera マウス群4匹)において、BAL中総細胞数はコントロール群 $21.9 \pm 3.9 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $30.7 \pm 7.0 \times 10^4$ (NS)で有意差を認めなかった。一方、リンパ球数はコントロール群 $0.4 \pm 0.1 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $1.3 \pm 4.0 \times 10^4$ ($p < 0.05$)、好中球数はコントロール群 $0.3 \pm 0.2 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $2.3 \pm 0.7 \times 10^4$ ($p < 0.01$)であり、chimera マウス群で有意に高値を示した(図3)。

HE 染色および PAS 染色にて肺組織を比較したところ、大きな差異を認めなかった。

D. 考察

今回の検討では、NOD scid マウスをヒト化することにより、感作抗原を解明することを目標とした。Scid マウスでは innate immune system により、ヒト由来細胞が排除される可能性が存在する (Tournoy et al. Clin Exp Immunol 2000;119:231) ため、リンパ球の欠損に加えて NK 細胞およびマクロファージ機能の低下が報告されている NOD-scid マウスを用いた。

今回の検討において、アレルギー性喘息患者からの白血球を NOD scid マウスに移入し、抗原チャレンジをおこなうことにより、BAL のリンパ球数、好中球数、好酸球数が上昇し、ヒトにおける気道炎症を再現しうることが確認された。

一方今回の検討において、ヒト化マウスにおいて、アセチルコリンによる気道過敏性の亢進は認められなかったが、アレルギー性喘息患者からの単核球を移入した後、より長期間 (細胞移入後 35 日) 飼育し carbachol 刺激による気道抵抗が上昇すること (Duez et al. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:200) が報告されていることから、気道過敏性に変化が現れるのは、2週間後以降であることが示唆された。さらにアレルギー性疾患の安全かつ正確な原因物質の同定が困難である、薬剤アレルギーなどにおいても、この手法を用いることで診断可能か検討の余地があると思われる。

E. 結論

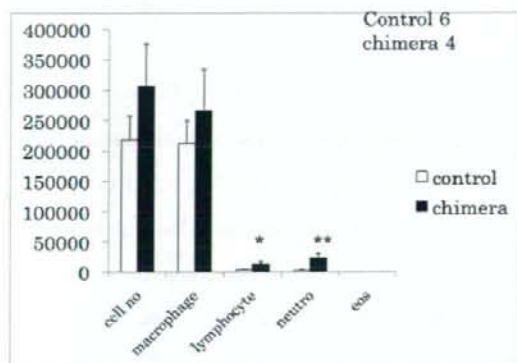
ヒト化マウスを用いることで、ヒトのアレルギー性気道炎症を再現しえた。

この手法によりアレルギー性疾患の原因が安全かつ正確に同定される可能性が示唆された。

F. 健康危険情報 なし

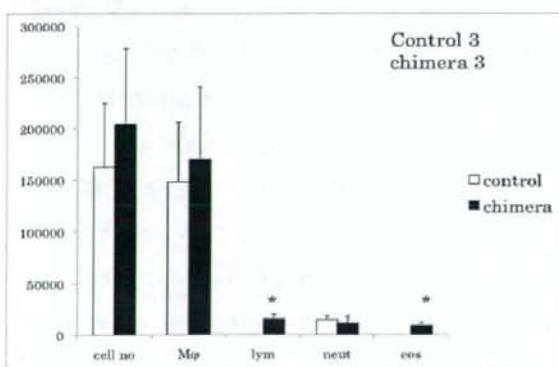
G. 研究発表

1. 論文発表



(図 3)5 日間抗原点鼻による気管支肺胞洗浄液細胞成分

2週間点鼻投与を行ったマウス(コントロール3匹, chimera マウス3匹)において、BAL 中総細胞数はコントロール群 $16.3 \pm 6.2 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $20.4 \pm 7.4 \times 10^4$ (NS) で有意差を認めなかった。一方、リンパ球数はコントロール群 $0 \pm 0 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $1.5 \pm 0.5 \times 10^4$ ($p < 0.05$)、好酸球数はコントロール群 $0 \pm 0 \times 10^4$ 、chimera マウス群 $0.9 \pm 0.3 \times 10^4$ ($p < 0.05$) であり、chimera マウス群で有意に高値を示した(図4)。



(図 4)2 週間抗原点鼻による気管支肺胞洗浄液細胞成分

(3) 肺組織

英文論文

1) An IL-1 cytokine member, IL-33, induces human basophil activation via its ST2 receptor. **Suzukawa M**, Iikura M, Koketsu R, **Nagase H**, Tamura C, Komiya A, Nakae S, Matsushima K, **Ohta K**, Yamamoto K, Yamaguchi M. **J Immunol** 181(9):5981-9, 2008.

2) Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. **Suzukawa M**, Koketsu R, Iikura M, Nakae S, Matsumoto K, **Nagase H**, Saito H, Matsushima K, **Ohta K**, Yamamoto K, Yamaguchi M. **Lab Invest** 88(11):1245-53, 2008.

3) Blocking antibody is generated in allergic rhinitis patients during specific immunotherapy using standardized Japanese cedar pollen extract. Kawakami A, Koketsu R, **Suzukawa M**, Nagao M, Hiraguchi Y, Tokuda R, Fujisawa T, **Nagase H**, **Ohta K**, Yamamoto K, Yamaguchi M. **Int Arch Allergy Immunol**. 2008;146 Suppl 1:54-60.

4) Enhancement of basophil apoptosis by olopatadine and theophylline. Kawakami A, **Suzukawa M**, Koketsu R, Komiya A, **Ohta K**, Yamamoto K, Yamaguchi M. **Allergy Asthma Proc**. 2008 May-Jun;29(3):322-8.

5) Human Basophils and Cytokines/Chemokines. Yamaguchi M, Koketsu R, **Suzukawa M**, Kawakami A, Iikura M. **Allergol Int**. 2009 Jan 25;58(1):1-10.

2. 学会発表

国際学会

1) **Nagase H**, Yoshihara H, Yamana K, Kojima Y, Suzukawa M, Ishida H, Adachi T, Nakano J, **Ohta K**
The Effect of KGF-expressing Plasmid Vector on Silica-induced Lung Injury **American Thoracic Society Annual Meeting**, Toronto, Canada, May, 2008

2) Kojima Y, **Nagase H**, Yoshihara H, Suzukawa M, Ishida H, Adachi T, Nakano J, **Ohta K**. Suppression of Lung

Inflammation Induced with Silica in Apolipoprotein E-deficient Mice **American Thoracic Society Annual Meeting**, Toronto, Canada, May, 2008

3) **Suzukawa M**, Iikura M, Koketsu R, Komiya A, **Nagase H**, Adachi T, Nakae S, Matsumoto K, Saito H, Matsushima K, Yamamoto K, Yamaguchi M, **Ohta K**. An IL-1 cytokine family member, IL-33, induces human basophil and eosinophil activation via its ST2 receptor. **American Thoracic Society Annual Meeting**, Toronto, Canada, May, 2008

国内学会

1) 小島康弘, 長瀬洋之, 原 麻恵, 矢野智湖, 鈴木真穂, 石田博文, 中野純一, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健: ミニシンポジウム 10 喘息患者におけるピーズアレイシステムを用いた呼吸凝縮液の検討. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会 東京 2008 年 6 月

2) 原 麻恵, 長瀬洋之, 小島康弘, 鈴木真穂, 石田博文, 中野純一, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健: ポスターセッション 40 重症持続型喘息における胃食道逆流, 睡眠時無呼吸症候群, 心身症合併と QOL との相関. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会 東京 2008 年 6 月

3) 鈴木真穂, 山口正雄, 瀬藤力也, 飯倉元保, 長瀬洋之, 中江 進, 松本健治, 斉藤博久, 松島綱治, 足立哲也, 大田 健, 山本一彦: IL-33 によるヒト好酸球の活性化 アレルギー・好酸球研究会 2008 東京 2008 年 6 月

4) 小林信之, 工藤宏一郎, 飯倉元保, 大田 健, 長瀬洋之, 永田 眞, 上村光弘: ミニシンポジウム 8 成人喘息患者における吸入ステロイドの中止基準に関する検討 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京 2008 年 11 月

5) 原 麻恵, 長瀬洋之, 小島康弘, 倉持美知雄, 石田博文, 足立哲也, 鈴木直仁, 大田 健: ミニシンポジウム 8 気管支喘息—診断と管理 喘息コントロール状態と気道炎症マ