

一カーとの関連 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京 2008 年 11 月

6) 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:ミニシンポジウム 9 IL-33 によるヒト好塩基球活性化 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京 2008 年 11 月

7) 鈴川真穂、長瀬洋之、足立哲也、山口正雄、大田健:ワークショップ 3 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 東京 2008 年 11 月

8) 長瀬洋之、高野裕久、井上健一郎、原 麻恵、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 14 菌体成分による気道上皮細胞からのサイトカイン産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 東京 2008 年 11 月

9) 長瀬洋之、大田 健:シンポジウム 9 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. 東京 2008 年 6 月

10) 長瀬洋之:イブニングシンポジウム 10-3. 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. 神戸 2008 年 6 月

11) 長瀬洋之、大田 健:ワークショップ 81 呼気ガス 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京 2008 年 11 月

12) 長瀬洋之、大田 健:シンポジウム 1-4 遺伝子型研究とリモデリングから 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京 2008 年 11 月

13) Maho Suzukawa, Motoyasu Iikura, Masao Yamaguchi, Rikiya Koketsu, Akiko Komiya, Hiroyuki Nagase, Tetsuya Adachi, Susumu Nakae, Kenji Matsumoto, Hirohisa Saito, Kouji Matsushima, Kazuhiko Yamamoto, Ken Ohta: An IL-1 cytokine member, IL-33 induces human basophil and

eosinophil activation via ST2 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会 京都 2008 年 12 月

H. 知的財産権の出願・登録状況: 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

(研究課題名)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

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 玉利真由美 理化学研究所ゲノム医科学研究センター  
呼吸器疾患研究チーム

原田通成 理化学研究所ゲノム医科学研究センター  
呼吸器疾患研究チーム

広田朝光 理化学研究所ゲノム医科学研究センター  
呼吸器疾患研究チーム

研究要旨

**A 研究目的** 日本人集団において IL-13 の遺伝子多型について発症や重症度や血清 IgE 等、病態との相関について検討した。さらにステロイド薬の吸入療法は、現在では気管支喘息の管理予防の第一選択薬として広く推奨されている。グルココルチコイドは気道上皮細胞をウイルス感染疑似物質 (polyI:C) で刺激した際、polyI:C により誘導される様々なケモカインやサイトカインを抑制することが知られている。そこで、それらに対する IL-13 の影響についても検討を行なった。

**B 方法** 日本人気管支喘息患者 12 名のゲノムのシーケンスを行ない、IL-13 遺伝子上に Haploview4.1 ソフトウェアにより 4 つの TagSNPs を選出した。成人気管支喘息 726 名、コントロール 727 名において、genotyping を行ない、allele 頻度、genotype 頻度について症例対照相関解析を行った。さらにグルココルチコイド、IL-13 の有無の条件下で培養した気道上皮細胞を polyI:C により刺激し、マイクロアレイを用いて発現遺伝子のパターン比較を行った。

**C 結果** 日本人集団では、これまでに報告のない intron1 に存在する SNP557A>C と喘息発症との間に最も強い相関を認めた ( $P=0.0055$ )。この SNP は末梢血好酸球数とも有意な相関を認めた。R144Q 多型も喘息発症と有意な相関を認め ( $P=0.036$ )、アレルの方向性も一致していた。さらにプロモーターの -1070C>T と喘息重症度との間に相関を認めた。

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。

**D. 考察** 未だ報告のない intron1 の SNP が喘息発症と最も高い相関を示したが、人種を超えて IL-13 の気管支喘息発症における遺伝子要因としての重要性が示唆された。今後、今回同定された疾患感受性 SNP の遺伝子機能に対する影響を明らかにする必要がある。

気管支喘息の難治化要因として注目されている好酸球は、IL-13 の主要な分泌細胞と考えられている。マイクロアレイの結果については他に同様の発現パターンを示した遺伝子群とともに、real-time PCR 等での結果の検証が必要であるが、IL-13 は気管支喘息の治療に汎用されているグルココルチコイドの効果を減弱させる可能性が示唆された。

**D 結論** 日本人集団においても IL-13 の SNPs と成人気管支喘息発症との間に有意な相関を認めた。IL-13 は気道上皮細胞において、ウイルス感染疑似物質による一部の炎症性サイトカインやケモカインの発現誘導を亢進し、グルココルチコイドによるそれらの誘導抑制効果を弱める可能性が示唆された。遺伝子変異が、共通した宿主側の因子として気道の反応性亢進に寄与している可能性が考えられた。

## A. 研究目的

アレルギー疾患の個別化医療を目指し、遺伝子多型を用いた病態解析が国内外で広く行なわれている。IL-13 は気道過敏性、好酸球増多、気道リモデリングにおける重要な役割が注目され、これまでに独立に収集された 10 以上の集団で症例対照相関解析により気管支喘息の病態との相関が報告されている。本研究は日本人集団において IL-13 の遺伝子多型について発症や重症度や血清 IgE 等、病態との相関について検討した。さらにステロイド薬の吸入療法は、現在では気管支喘息の管理予防の第一選択薬として広く推奨されている。グルココルチコイドは気道上皮細胞をウイルス感染疑似物質 (polyI:C) で刺激した際、polyI:C により誘導される様々なケモカインやサイトカインを抑制することが知られている。本研究ではそれらに対する IL-13 の影響についても検討を行なった。

## B. 研究方法

日本人気管支喘息患者 12 名のゲノムのシーケンスを行ない、IL-13 遺伝子上に 14 個の遺伝子多型を同定した。Haploview4.1 ソフトウェアにより 4 つの TagSNPs を選出した。成人気管支喘息 726 名、コントロール 727 名において、TaqMan 法を用いて genotyping を行ない、allele 頻度、genotype 頻度について症例対照相関解析を行った。さらにグルココルチコイド、IL-13 の有無の条件下で培養した気道上皮細胞を polyI:C により刺激し、マイクロアレイを用いて発現遺伝子のパターン比較を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究は「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」に基づき、理化学研究所研究倫理委員会の承認のもと行なわれた。

## C. 研究結果

これまで気管支喘息発症との相関については白人

集団で多くの報告があり、promoter 領域にある -1070C>T、アミノ酸変異を伴う R144Q 多型が互いに強い連鎖不平衡にありそれぞれが機能亢進に働くことが示されている。今回の検討において、日本人集団ではその 2 つの SNPs 間では連鎖不平衡が弱く ( $r^2 = 0.02$ )、これまでに報告のない intron1 に存在する SNP557A>C と喘息発症との間に最も強い相関を認めた ( $P=0.0055$ )。この SNP は末梢血好酸球数とも有意な相関を認めた。R144Q 多型も喘息発症と有意な相関を認め ( $P=0.036$ )、アレルの方向性も一致していた。さらにプロモーターの -1070C>T と喘息重症度との間に相関を認めた。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。

## D. 考察

当研究においては、未だ報告のない intron1 の SNP が喘息発症と最も高い相関を示したが、人種を超えて IL-13 の気管支喘息発症における遺伝要因としての重要性が示唆された。今後、今回同定された疾患感受性 SNP の遺伝子機能に対する影響を明らかにする必要がある。

気管支喘息の難治化要因として、気道における好酸球の役割が注目されているが、好酸球は IL-13 の主要な分泌細胞と考えられている。マイクロアレイの結果については他に同様の発現パターンを示した遺伝子群とともに、real-time PCR 等での結果の検証が必要であるが、IL-13 は気管支喘息の治療に汎用されているグルココルチコイドの効果を減弱させる可能性が示唆された。

#### D. 結論

関連のある SNPs や連鎖不平衡に人種間差があるものの、日本人集団においても IL-13 の SNPs と成人気管支喘息発症との間に有意な相関を認めた。IL-13 は気道上皮細胞において、ウイルス感染疑似物質による一部の炎症性サイトカインやケモカインの発現誘導を亢進し、グルココルチコイドによるそれらの誘導抑制効果を弱める可能性が示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表 10 件  
原著論文による発表 0 件  
それ以外 (レビュー等) の発表 3 件  
そのうち主なもの

##### 口頭発表

1. 玉利真由美、広田朝光、原田通成：中国地区上気道アレルギー研究会 特別講演 アレルギー疾患と感染症 2008 年 2 月 リーガロイヤルホテル広島

2. 玉利真由美、広田朝光、原田通成：第 26 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 スポンサーレクチャー 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析 2008 年 2 月 大阪、ホテル阪神

3. 玉利真由美、広田朝光、原田通成：日本アレルギー協会 アレルギー研修会 2008 トピックス アレルギー関連遺伝子研究と創薬 2008 年 3 月 市ヶ谷私学会館

4. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2008 年 6 月

(1) シンポジウム 3 ウイルス感染とアレルギー

TSLP 遺伝子多型とウイルス感染による気管支喘息発症への関与機構 原田通成、広田朝光、玉利真由美

(2) シンポジウム 9 アレルギー疾患の遺伝子と分子生物学 遺伝子多型を用いた病態解析 (気管支喘息を中心に) 玉利真由美、原田通成、広田朝光

5. 玉利真由美 原田通成 広田朝光 第 8 回喘息 Early Intervention 研究会 遺伝子多型-最近の話題 2008 年 6 月 東京ドームホテル

6. 玉利真由美 原田通成 広田朝光 第 73 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 / 第 19 回日本生体防御学会学術総会 / 第 45 回補体シンポジウム シンポジウム 6 自然免疫と臨床疾患 II 成人気管支喘息重症度と IL-18 遺伝子多型の相関解析 2008 年 7 月 北海道大学学術交流会館

7. 玉利真由美 原田通成 広田朝光 日本薬学会東海支部 特別講演 アレルギー体質の研究 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析 適切な薬剤選択をめざして 2008 年 7 月 岐阜薬科大学 大学院講義室

8. 第 53 回日本人類遺伝学会 2008 年 9 月 パシフィコ横浜

一般演題 24. 多型 (多因子病)

(1) IL-18 遺伝子多型の成人気管支喘息における相関解析

玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基

9. 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基 第 9 回愛宕小児アレルギー研究会 2008 年 10 月 東京慈恵会医科大学 感染症と気管支喘息、遺伝素因との

関連

10. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008 年 11 月 東京国際フォーラム

(1) 教育講演 8 気管支喘息の病態と自然免疫関連遺伝子 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基

(2) 特別シンポジウム アレルギー疾患に関連する遺伝子の解明 SS5-4 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基

それ以外 (レビュー等) の発表

1. 玉利真由美, 広田朝光, 原田通成: 小児気管支喘息の遺伝子多型. 喘息, 21:35-39, 2008.

2. 玉利真由美 ゲノム医学の進歩とアレルギー疾患の解明 アレルギー免疫, 15:881-883, 2008.

2) 海外

口頭発表 2 件

原著論文による発表 8 件

それ以外 (レビュー等) の発表 2 件

そのうち主なもの

口頭発表

23. ATS 2008 The American Thoracic Society's International Conference,

Poster Discussion Session, [C101] GENETIC ASSOCIATION AND NOVEL POLYMORPHISMS IN CHILDHOOD AND ADULT OBSTRUCTIVE LUNG DISEASES.

2008 年 3 月 Metro Toronto Convention Centre

(1) Functional SNP in Promoter of TSLP Gene Is

Associated with Susceptibility to Childhood Atopic Asthma, Harada M, Hirota T, Jodo AI, Ziegler SF, Tamari M.

(2) Polymorphisms in the IL-18 Gene Are Associated with Severity of Adult Asthma, Tamari M, Harada M, Hirota T, Miyatake A, Fujita K, Nakanishi K, Yoshimoto T, Nakamura Y.

論文発表

原著論文による発表

1. 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 Effect of intratracheal treatment of fluticasone propionate. *Eur J Pharmacol.* 2008; 578: 87-96.

2. Hirota T, Harada M, Sakashita M, Doi S, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Ebisawa M, Yoshihara S, Noguchi E, Saito H, Nakamura Y, Tamari M. Genetic polymorphism regulating ORM1-like 3 (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma in a Japanese population. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 769-770.

3. 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.

4. Enomoto H, Hirata K, Otsuka K, Kawai T, Takahashi T, Hirota T, Suzuki Y, Tamari M, Otsuka F, Fujieda S, Arinami T, Noguchi E. Filaggrin null mutations are associated with atopic dermatitis and elevated levels of IgE in the Japanese population: a family and case-control study. *J Hum Genet.* 2008;53:615-21.

5. Inoue H, Mashimo Y, Funamizu M, Shimojo N, Hasegawa K, Hirota T, Doi S, Kameda M, Miyatake A, Kohno Y, Okamoto Y, Tamari M, Hata A, Suzuki Y. Association study of the C3 gene with adult and childhood asthma. *J Hum Genet.* 2008;53:728-38.

6. Sakashita M, Yoshimoto T, Hirota T, Harada M, Ohkubo K, Osawa Y, Fujieda S, Nakamura Y, Yasuda K, Nakanishi K, Tamari M. Association of serum IL-33 level and the IL-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. *Clin Exp Allergy* in press

7. Harada M, Hirota T, Jodo AI, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Yoshihara S, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M. Functional analysis of the polymorphisms of the TSLP gene in human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* in press

8. Shimokawa N, Nishiyama C, Hirota T, Tamari M, Hara M, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H. Functional

analysis of a polymorphism in the promoter region of the IL-12/23p40 gene. *Clin Exp Allergy* in press

それ以外（レビュー等）の発表

1. Matsumoto K, Tamari M, Saito H. Involvement of eosinophils in the onset of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121: 26-27.

2. Tamari M, Harada M, Hirota T, Nakamura Y. Host defense molecular mechanisms against *Chlamydomyces pneumoniae* and genetic studies of immune-response-related genes in asthma. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery* in press

#### G. 知的財産権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 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

研究課題：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

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：筑波大学人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 呼吸病態医学教授 檜澤伸之

### 研究要旨

**A 研究目的** 気管支喘息と COPD は一般にその病因、病態、臨床像は異なるが、実際の臨床の場では両者の徴候がオーバーラップした鑑別の困難な患者が存在する。種々の外来因子（アレルギー、喫煙、ウイルスなど）に肺組織が過剰に反応する病態としての、喘息と COPD に共通の分子病態を解明する。

**B 方法** 気管支喘息患者（約 400 名）、COPD 患者（約 300 名）と健常人（約 400 名）を対象とし、各群での CCL5 (RANTES) -28C/G 多型と IL-17F Arg161His 多型の頻度をそれぞれ検討し、その遺伝的意義について検討する。

**C 結果と考察** CCL5 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。同対立遺伝子と肺気腫病変との間にも強い逆相関が認められ、CCL5 過剰産生が喘息と COPD とに共通した末梢気道病変の形成に影響することが推測された。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 は細胞内 MAP キナーゼを活性化できず、気道上皮細胞 (BEAS-2B) からのメディエーター誘導能も大きく低下していた。この 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。

**D 結論** 喘息にはアレルギー吸入が、COPD には喫煙が最大のリスク因子であるが、CCL5 や IL-17F の遺伝子変異が、共通した宿主側の因子として気道の反応性亢進に寄与している可能性が考えられた。

### A. 研究目的

気管支喘息と COPD は一般にその病因、病態、臨床像は異なるが、実際の臨床の場では両者の徴候がオーバーラップした鑑別の困難な患者が存在する。種々の外来因子（アレルギー、喫煙、ウイルスなど）に肺組織が過剰に反応する病態としての、喘息と COPD に共通の分子病態を解明する。

### B. 研究方法

気管支喘息患者（約 400 名）、COPD 患者（約 300 名）と健常人（約 400 名）を対象とし、各群での CCL5 (RANTES) -28C/G 多型と IL-17F Arg161His 多型の頻度をそれぞれ

検討し、その遺伝的意義について検討する。それぞれの遺伝子型は対立遺伝子特異的な PCR プライマーを用いて判定した。統計解析は、年齢、性別、喫煙歴やアトピーの有無を考慮した多変量解析を用いて行った。

倫理面への配慮：本研究はヒトの遺伝子解析を主要課題として実施された。資料の提供者、その家族と血縁者、その他関係者の人権及び利益保護のために、三省合同で作成された「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき、説明書と同意書を作成した。北海道大学および筑波大学「医の倫理委員会」に「アレルギー疾患の発症及び悪化に影響する因子の解析」として審査を申請し、既に承認されている。

### C. 研究結果及び考察

CCL5 遺伝子プロモーター領域の-28C/G 多型は、対立遺伝子-28G が CCL5 遺伝子の転写活性亢進や、血中 CCL5 蛋白レベル上昇と関連することが知られているが、我々の検討によると対立遺伝子-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 COPD 患者で対立遺伝子-28G がもたらす影響を検討したところ、同対立遺伝子と肺気腫病変との間に強い逆相関が認められ、遺伝的に規定された CCL5 過剰産生が喘息と COPD とに共通した末梢気道病変の形成に影響することが推測された。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 型と H 型の組換え蛋白をそれぞれ作成し、気道上皮細胞における IL-17F 刺激によるシグナル伝達経路の活性化や、それに引き続くメディエーター産生を比較したところ、R 型 IL-17F は細胞内 MAP キナーゼを活性化できず、気道上皮細胞 (BEAS-2B) からのメディエーター誘導能も大きく低下していた。この 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。

#### D. 結論

喘息にはアレルゲン吸入が、COPD には喫煙が最大のリスク因子であるが、CCL5 や IL-17F の遺伝子変異が、共通した宿主側の因子として気道の反応性亢進に寄与している可能性が考えられた。

## 成人喘息の早期治療指針の作成と評価、

### 環境中アレルゲン同定、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ゲンの同定、モニタリングの有用性の検証

研究分担者 秋山一男 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 センター長

研究協力者 釣木澤尚実、斎藤明美、安枝 浩、押方智也子、粒来崇博、福富友馬、谷本英則、

小野恵美子、関谷潔史、谷口正実、大友守、前田裕二、中澤卓也、長谷川真紀

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

#### 研究要旨

成人喘息ではこれまでの新規薬剤の開発により、気道炎症や気道過敏性の明らかな改善効果が検証され、近年の研究により成人喘息においては早期診断・早期治療介入による気道炎症の改善とリモデリングの予防が重要であることが明らかとなってきた。しかし、成人喘息の長期予後に関する報告は少なく、気道リモデリングは予防できるのか、改善させることができるのかについては解明されていない。本年度の研究では成人喘息を対象として気管支粘膜生検を施行し、平滑筋(ASM)厚、基底膜(BM)厚を測定し、呼吸機能や気道過敏性と比較し日常臨床における気道リモデリングの指標として適したパラメーターの検索を行った。またICS早期介入の有無によりリモデリングを改善するかについて、呼吸機能や気道過敏性と治療内容を比較検討し、一般臨床に還元できるパラメーターを検索した。さらに薬物治療介入を前提として環境中アレルゲンの同定、暴露量のモニタリング法を用いて喘息患者の環境調整・整備の有用性を検討し、早期介入による指針の妥当性について検証した。結果、罹病期間(年)とASM厚は正の相関を示し( $r=0.39, p<0.01$ )、ASM厚はHistPC<sub>20</sub>が負の相関を示した( $r=-0.38, p<0.01$ )。成人喘息ではICS早期介入あり群はなし群と比較して治療後HistPC<sub>20</sub>およびHistPC<sub>25</sub>の改善率が高値であった( $p<0.01$ )。環境中アレルゲンの同定、暴露量のモニタリングは40症例がエントリー済みであり抗原量を解析中である。成人喘息においては日常臨床における気道リモデリングの指標としてはHist気道過敏性が有用であること、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があると考えられる。

#### A. 研究目的

成人喘息においてはこれまでの新規薬剤の開発により、気道炎症や気道過敏性の明らかな改善効果が検証され、近年の研究により成人喘息においては早期診断・早期治療介入による気道炎症の改善とリモデリングの予防が重要であることが明らかとなってきた。しかし、成人喘息の長期予後に関する報告は少なく、気道リモデリングを予防できるのか、改善させることができるのかについては解明されていない。昨年度の研究では喘息の早期治療介入の前提である早期診断としての咳喘息診断における呼気一酸化窒素(eNO)の有用性の検証を行い、慢性咳嗽における咳喘息の鑑別にはeNO測定が有用で

あることが明らかとなった。

早期治療介入により気道リモデリングの予防を可能にするかについては、どのような指標を用いて評価するのが良いのかについては結論がでていない。本年度の研究では成人喘息を対象として気管支粘膜生検を施行し平滑筋(ASM)厚、基底膜(BM)厚を測定し、呼吸機能や気道過敏性と比較し日常臨床における気道リモデリングの指標として適したパラメーターの検討を行い、またICS早期介入の有無によりリモデリングが改善するかについて、呼吸機能や気道過敏性と治療内容を比較検討し、一般臨床に還元できるパラメーターを検索した。さらに薬物治療介入を前提として環境中アレルゲンの同定、暴

露量のモニタリング法を用いて喘息患者の環境調整・整備の有用性を検討し、早期介入による指針の妥当性について検証した。

#### B. 研究方法・研究1(1) 日常臨床における気道リモデリングの指標の検討。

対象：当院の成人喘息患者で気管支粘膜生検を施行した60症例。方法：生検と同時期に呼吸機能(%FEV1, %V50, %V25)、およびアセチルコリン(Ach)、ヒスタミン(Hist)気道過敏性検査を行った。気管支生検組織はパラフィン固定後HE染色を行い、基底膜(BM)厚、平滑筋(ASM)厚を測定し、各種パラメーター(BF時、%FEV1, %V50, AchPC<sub>20</sub>, HistPC<sub>20</sub>)と比較しリモデリングを反映する因子について多変量解析を行った。

#### 研究1(2)・ICS早期介入の有無により成人喘息の予後、リモデリングを改善するかについての検討。

対象：当院外来通院中の成人喘息患者で初診が平成5年以前のICS早期介入がない66症例と平成10年以降のICS早期介入がある85症例。方法：治療前後にAch, Hist気道過敏性検査を行い、初診時の患者背景因子各種パラメーターと治療内容を比較検討した。

#### 研究2・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。

対象：当院通院中の成人喘息患者でダニアレルゲン感作症例。方法：当センターで開発したテープ法によるダニアレルゲン個人暴露量を経時的に(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。またこれらの暴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)の変化を対比検討する。またモニタリング中の喘息治療内容は変更せず施行した。

倫理面への配慮—いずれの研究も研究対象者に対する不利益、危険性を排除し、同意を得た。また当院の倫理委員会の承認を得た。

#### C. 研究結果

研究1(1)・罹病期間とASM厚は正の相関を示した( $r=0.39, p<0.01$ )。さらに罹病期間5年以下と10年以上の2群に分類し、罹病期間の長さに影響を及ぼす因子の多変量解析ではASMが有意に相関した( $p=0.01$ )がBM、%FEV1、%V50、%V25、AchPC<sub>20</sub>、HistPC<sub>20</sub>は相関しなかった。ASM厚と相関するパラメーターの検討(回帰解析)ではHistPC<sub>20</sub>が負の相関を示した( $r=-0.38, p<0.01$ )がAchPC<sub>20</sub>、%FEV1、%V50、%V25は相関しなかった。

研究1(2)・喘息初診後ICS導入までの期間は早期介入あり群は $0.9\pm 3.4$ (年)、なし群は $11.5\pm 6.7$ (年)であった( $p<0.01$ )。早期介入あり群はなし群と比較して、発症年齢、初診までの期間、喫煙歴、病型、初診時末梢血、喀痰中の好酸球数、血清総IgE値、%FEV1、%V50、AchPC<sub>20</sub>、HistPC<sub>20</sub>、ICS一日治療量に差は認めないが、早期介入なし群のICS治療年数が長かった(あり群： $3.3\pm 2.5$ (年) vs なし群： $7.5\pm 3.5$ (年)、 $p<0.01$ )。治療後AchPC<sub>20</sub>の改善度および改善率には有意差は認めないが、治療後HistPC<sub>20</sub>は早期介入あり群で有意に改善し( $p<0.01$ )、かつ早期介入あり群ではHistPC<sub>20</sub>の改善率(postHistPC<sub>20</sub>/preHistPC<sub>20</sub>)が高値であった(あり群： $12.5\pm 19.0$ (倍) vs なし群： $6.1\pm 10.2$ (倍)、 $p<0.01$ )。

研究2・進行状況：現在40症例がエントリー済みであり、ダニアレルゲンを定量中である。

#### D. 考察

成人喘息において早期診断・早期治療介入によって気道リモデリングの予防が可能であるかどうか、またそれを一般臨床にどう還元できるかについてはまだ確立されていない。喘息の基本的病態は気道の慢性炎症とそれによってもたらされる気道再構築(リモデリング)である。気道リモデリングの特徴は基底膜下の線維化、平滑筋の増生、肥厚、杯細胞の過形成、粘液腺の増加、血管新生などが挙げられる。リモデリングは病理組織像から

得られる所見であるが、気管支粘膜生検は日常臨床では容易に行うことは難しいため、より臨床に基づいた簡便な指標が作られることが理想である。過去に我々の研究ではAch気道過敏性の亢進はHist気道過敏性と比較して血清中ECPや喀痰中の好酸球数と相関し、吸入ステロイドの治療反応性がより良好であることから好酸球性炎症を反映すること、Hist気道過敏性はAch気道過敏性と比較して喘息罹病期間、ASM厚と相関を認めると報告した(Tsurikisawa N, et al. 2007: Am J Resp Crit Care Med 175: A350)。今回の研究からも一般臨床に還元できる呼吸機能の指標としては、%FEV1、%V50、%V25よりも気道過敏性、特にHistPC<sub>20</sub>とASM厚が有意な相関を得たことより、Hist気道過敏性測定が日常臨床においてリモデリングの指標になりうることを示している。我々の過去の研究から同時期に施行した同一症例のAch気道過敏性とHist気道過敏性にはheterogeneityがあること、長期罹病期間を有する症例ではAch気道過敏性が正常化した後もHist気道過敏性が残存する症例が多いことが明らかとなっている。かつてのCFC-BDP使用時代では治療後Ach気道過敏性は改善してもHist気道過敏性は有意に改善しなかったが、FP、BUDなどのICSではAch気道過敏性だけでなく、Hist気道過敏性も改善する症例も増加してきた。今回の結果からもICS早期導入はHist気道過敏性を有意に改善させるという結果であり、十分なICSを早期に導入することが、将来の気道リモデリングを予防する可能性を示唆している。喘息発症、増悪の原因として、薬物治療だけではなく、環境中アレルゲンの回避はアトピー型喘息にとって重要な問題である。成人喘息では薬物治療介入を前提としているため、その上で環境中アレルゲンの同定、暴露量のモニタリングを行い、喘息患者の環境調整・整備が早期介入の指針になりうるかどうか検討中である。2009年度中に結果報告が可能である。

#### D. 結論

気管支粘膜生検組織から日常臨床に還元できる気道リモデリングの指標について検討した。長期罹病期間は気道平滑筋細胞肥大と関連し、一般臨床における気道リモデリングの指標としてはHist気道過敏性が有用であることが明らかとなった。また成人喘息ではICS早期介入によってHist気道過敏性が有意に改善されることが明らかとなった。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予防する可能性を示唆している。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1・論文発表

1・Tsurikisawa N, Tsuburai T, Akiyama K, et al. Prognosis of adult asthma after normalization of bronchial hyperresponsiveness by inhaled corticosteroid therapy. J Asthma, 45: 445-451, 2008

##### 2・学会発表

1・Tsurikisawa N, Tsuburai T, Oshikata C, Kazuo Akiyama, et al. Bronchial reactivity to histamine correlates with airway remodeling more than to acetylcholine in the airways of adult asthmatics. Am J Resp Crit Care Med 177: A499, 2008

2・釣木澤尚実、秋山一男、他。成人喘息において気道リモデリングは改善するか？—気管支粘膜生検を2回施行した重症例の検討—。アレルギー57:368, 2008

3・釣木澤尚実、秋山一男、他。吸入ステロイド(ICS)治療後Ach気道過敏性が正常化した成人喘息患者の予後を規定する因子の検討。日呼学会誌46:304, 2008

4・釣木澤尚実、秋山一男、他。気道過敏性測定と今後の展望(成人)。アレルギー57:1324, 2008

5・釣木澤尚実、松井永子、近藤直実、秋山一男、他。成人喘息の長期寛解に対するIL12BC3757Tの遺伝子多

型の検討。アレルギー57:1398, 2008

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

アレルギー疾患の自己管理と個別化医療を目指した早期診断基準と早期治療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

研究分担者 足立 満 昭和大学呼吸器アレルギー内科 教授  
横江琢也 昭和大学呼吸器アレルギー内科 助教

研究要旨 気管支喘息の基本病態は慢性の気道炎症であるため、現在の喘息治療は吸入ステロイド薬を中心に組み立てられている。ここ数年間で、喘息予防管理ガイドラインが普及したと同時に吸入ステロイド薬の使用率も増加したが、喘息治療目標は完全には到達されていない。そこで、1年以上吸入ステロイド薬とその他の慢性管理薬で治療されている患者を対象に、様々な社会生活上の諸活動に喘息が与える悪影響について調査した。喘息コントロールテスト（Asthma Control Test；ACT）は米国 Quality Metric 社が開発した質問票であり、患者自身が最近4週間の喘息コントロール状態に関する簡単な5つの質問に答えるだけで現在の喘息状態を短時間で自己評価可能である。即ち、病院やクリニックでの簡便な問診票として待ち時間でも記入が可能であることが特長である。多くの報告からその臨床的有用性はGINA（Global Initiative for Asthma・国際喘息管理指針）などに記載されている。このACTとGINAのコントロールレベルについて検討した。さらに、高用量の吸入ステロイド薬、気管支拡張薬、ロイコトリエン拮抗薬など十分な喘息治療を行ったにもかかわらず、経口ステロイド治療が必要な喘息を難治性喘息と定義される。難治性喘息の病態は多岐にわたっており、その詳細はいまだに完全には解明されていない。そこで非侵襲的な気道炎症モニタリングとして用いられてきている呼気凝縮液と喀痰中の細胞分画を用いて、難治性喘息の気道炎症を検討した。

#### A. 研究目的

1、気管支喘息の基本病態は慢性の気道炎症であるため、喘息治療は吸入ステロイド薬を中心に組み立てられている。しかし、2005年の電話回線を利用した我が国の喘息コントロールの現状の調査（Asthma Insights & Reality in Japan: AIRJ）結果では、成人喘息患者における吸入ステロイド薬の使用は、わずか18%でありガイドラインが完全に広く普及され、利用されているとは言えないのが現状である。そこで、患者の重症度に応じ喘息予防管理ガイドラインが推奨する吸入ステロイド薬の用量で1年間以上治療しており、さらに服薬アドヒアランスが良好の喘息患者では、喘息のコントロールが向上しているか否か、喘息治療ガイドラインの治療目標は達成されているか否かについて検討した。

2、喘息コントロールテスト（Asthma Control Test；ACT）は患者自身が最近4週間の喘息コントロール状態に関する簡単な5つの質問に答えるだけで現在の喘息状態を短時間で自己評価可能である。多くの報告からその臨床的有用性はGINA（Global Initiative for Asthma・国際喘息管理指針）などに記載されている。今回、このACTを用いて当院の喘息患者自身が自らの病状をどのように捉えているか、その実態を調査した。

3、重症喘息の中で、喘息症状を最小限にするために吸入ステロイド薬の最高用量の吸入と経口ステロイド薬（プレドニゾン換算10mg/日以上）を長期（1年以上）にわたり維持量として使用することが必要な症例を難治性喘息という。難治性喘息の病態は多岐にわたっており、その詳細はいまだに完全には解

明されていない。そこで非侵襲的な気道炎症モニタリングである呼気凝縮液と喀痰中の細胞分画を用いて、患者の重症度に応じ喘息予防管理ガイドラインが推奨する吸入ステロイド薬の用量で1年間以上治療しており、病状が落ち着いている軽症患者と、難治性喘息患者における気道炎症を検討した。

## B. 研究方法

1、昭和大学呼吸器アレルギー内科および関連施設において、気管支喘息と診断されかつ、1年以上吸入ステロイド薬とその他の慢性管理薬で治療されている患者を対象とした。さらに、患者の服薬アドヒアランスが良好な109名の患者（年間90%以上定期的に通院しかつ処方箋を受け取っている患者）を対象とした。AIRJにおいて質問された数項目を選択し、患者に記載してもらう形式で回答を得た。質問項目は、最近1ヶ月間の喘息症状の有無、最近1年間の喘息症状の有無、最近1年間の入院歴の有無や予定外受診さらに欠勤や欠席の有無、様々な社会生活上の諸活動に喘息が与える悪影響について質問した。さらに、スパイロメトリーによる肺機能についても検討した。

2、対象者は平成20年4月以降に当院外来受診した日本アレルギー学会重症度分類 Step2以上の66名の気管支喘息患者である。患者の使用吸入ステロイド薬の種類と用量、罹病期間、吸入ステロイド薬が導入されるまでの期間を問診し、肺機能検査を行い、ACT、GINAのコントロールレベルを検討した。

3、当院において、気管支喘息と診断されかつ、1年以上吸入ステロイド薬とその他の慢性管理薬で治療されている患者を対象とした。さらに、患者の服薬アドヒアランスが良好な7名の軽症喘息患者と14名の難治性喘息患者（年間90%以上定期的に通院しかつ処方箋を受け取っている患者）を対象とした。難治性喘息患者の定義についてはアメリカ胸部疾患学会（American Thoracic Society）の定義に準じて患者を選択した。すなわち、1、1年の半分以上の期間経口ステロイド薬治療が必

要である。2、高用量の吸入ステロイド薬治療が必要である、の主要な条件のほか、長時間作用型 $\beta_2$ 刺激薬、テオフィリン徐法製剤、ロイコトリエン受容体拮抗薬の常時使用、短時間作用型 $\beta_2$ 刺激薬のほぼ毎日の使用、予測1秒量が吸入80%以下やピークフローの変動率が20%以上である、1年に1回以上の救急外来受診、1年に3回以上の急性増悪に対する全身性ステロイド治療が行われる、25%以下の経口または吸入ステロイド薬の減量による病状の速やかな悪化、喘息死に近い病状の悪化の既往がある患者、の7つの条件のうち2つ以上を満たした場合に難治性喘息と判断した。全患者から自発喀痰を採取し、喀痰中の細胞分画を検討した。また、呼気凝縮液を採取し、マイクロアレイ法を用いて呼気凝縮液中の各種炎症性サイトカイン、ケモカインの発現も検討した。

## C. 研究結果

1、患者背景は、54名の男性と55名の女性であり、軽症患者27名、中等症患者56名、重症患者26名であった。病型はアトピー型76名、非アトピー型33名であった。最近1ヶ月間に喘息症状がなかった率は、軽症患者92.6%、中等症患者83.9%、重症患者69.2%であった。また、最近1年間に喘息症状がなかった率は、軽症患者81.5%、中等症患者60.7%、重症患者50.0%であった。最近1年間の入院歴は1%、予定外受診は15%、さらに欠勤や欠席は7%であった。しかし、ここに呼吸機能（1秒量は予測値の80%以上）を加味すると、最近1年間に喘息症状がなく、さらに呼吸機能も正常である確率は軽症患者55.6%、中等症患者44.6%、重症患者7.7%であった。さらに、様々な社会生活上の諸活動に喘息が与える悪影響については、AIRJ2005と比較して、全ての項目において改善されていた。

2、ACTの結果は全患者の81.8%（54名）が総合点20点以上の良好な結果であった。又、主治医がACTの結果を見ないで国際的喘息ガイドラインであるGINAの治療達成目標（コントロールレベル）に基づき、コントロール良

好、コントロール不十分、コントロール不良の3群に患者を分類した。ACTの点数とGINA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。

ACT総合点で20点以上の、医師によるGINAのコントロールレベルによる評価でコントロールを良好～不十分と判定された49名と、同じ様にコントロール不良と判断された患者群の中で、ACT総合点で20点以上であると自己評価した喘息過小評価群5名の罹病期間、吸入ステロイド薬導入までの期間、肺機能を検討した。喘息過小評価群は罹病期間、吸入ステロイド薬導入までの期間が有意に長く、肺機能も有意に低下していた。

3、患者背景は、9名の男性と12名の女性であり、軽症患者7名、難治性喘息患者14名であった。病型はアトピー型3名、非アトピー型18名であった。喀痰中細胞分画の結果により難治性喘息患者14名を好酸球数の多い好酸球優位群7名と好中球数の多い好中球優位群7名に分けた。軽症喘息患者群、好酸球優位患者群、好中球優位患者群の順に平均年齢は52歳、58歳、61歳であったが有意差はなかった。吸入ステロイド薬使用量は120 $\mu$ g/日、667 $\mu$ g/日、600 $\mu$ g/日と難治性喘息患者のほうが軽症喘息患者に比して優位に多かった。罹病期間も3.8年、14.2年、13.7年と難治性喘息患者のほうが長かった。呼気凝縮液中の様々な炎症性サイトカイン、ケモカインの発現を検討したところ軽症喘息患者に比して難治性喘息患者では複数のサイトカイン、ケモカインが有意に増加していた。好酸球優位群で検討したところ好酸球遊走因子であるEotaxinやRANTESが軽症喘息患者や好中球優位群に比して有意に増加していた。好中球優位群では好中球関連因子であるTNF- $\alpha$ 、MIP-1 $\alpha$ 、MCP-1、IL-17が軽症喘息患者や好酸球優位群に比して有意に増加していた。

#### D. 考察

今回の結果から、全症例に吸入ステロイド薬を中心とした治療をガイドラインに従い施行し、服薬アドヒアランスが良好である患者に

おいては、多くの症例で喘息症状がなく喘息が長期にわたりコントロールできることが示唆された。ガイドラインに準じかつ重症度に応じた吸入ステロイド薬量で患者を慢性管理すると、2005年に施行されたAIRJよりも喘息コントロールがさらに向上する結果が得られた。しかし、ACTとGINAガイドラインのコントロールレベルの検討では少数例においてACTの点数は20点以上でもコントロールの不良例が存在することが判明した。

難治性喘息患者の喀痰および呼気凝縮液の検討結果から、難治性喘息の病態は、ヨーロッパ呼吸器学会の報告のように好酸球炎症だけでなく、好中球炎症の関与も示された。さらに、気道リモデリングを進展させるTGF- $\beta$ の値も難治性喘息患者の呼気凝縮液中において軽症喘息患者に比して有意に上昇していることから、気道リモデリングも喘息の難治化に関わっていることが示唆された。

#### E. 結論

喘息治療管理ガイドラインに準じて吸入ステロイド薬を中心とした治療を行うと、多くの喘息患者のコントロールは向上するが、一部の症例ではコントロール不良例が存在し、その病態形成には好酸球性気道炎症だけでなく好中球性気道炎症や気道リモデリングなど多岐に渡ることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1、論文発表

Samson KT, Minoguchi K, Tanaka A, Oda N, Yokoe T, Yamamoto Y, Yamamoto M, Ohta S, Adachi M. Inhibitory effects of fluvastatin on cytokine and chemokine production by peripheral blood mononuclear cells in patients with allergic asthma. Clin Exp Allergy. 36:475-82, 2006

Sano Y, Adachi M, Kiuchi T, Miyamoto T.

Effects of nebulized sodium cromoglycate on adult patients with severe refractory asthma. *Respir Med.* 100:420-33, 2006

Adachi M, Ohta K, Morikawa A, Nishima S. Asthma Insights & Reality in Japan 2005. *アレルギー*. 55:1340-3, 2006

Adachi M. Management of bronchial asthma. *アレルギー*. 55:517-21, 2006

Adachi M: Efficacy and safety of inhaled ciclesonide compared with chlorofluorocarbon beclomethasone dipropionate in adults with moderate to severe persistent asthma. *Respirology*. 12(4), 573-580, 2007

Tanaka A, Minoguchi K, Samson KT, Oda N, Yokoe T, Tazaki T, Yamamoto Y, Yamamoto M, Ohta S, Adachi M. Inhibitory effects of suplatast tosilate on the differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells from patients with asthma. *Clin Exp Allergy*. 37:1083-9, 2007

Adachi M: Comparison of salmeterol/fluticasone sustained release theophylline in moderate asthma patients. *Respiratory Med*, 2864, 1-10, 2008

Adachi M: Increase in Reactive Oxygen Metabolite Level in Acute Exacerbations of Asthma. *Int Arch Allergy and Immunology*, 146(1), 67-72, 2008

propionate(FP)combination with FP+  
2、学会発表

Adachi M, Minoguchi K. Adrenal effect of inhaled corticosteroids in adult asthmatic patients. *日本呼吸器学会誌*. 44:151-9, 2006

Ohta S, Minoguchi K, Oda N, Xu X, Chen X, Tanaka A, Tazaki T, Yamamoto Y, Yamamoto M, Watanabe Y, Ohta K, Nagase H, Adachi M. Effects of Tiotropium Bromide on Allergen Induced Airway Inflammation and Remodeling in Murine Model of Asthma. *American Thoracic Society*, A65, 2008

Adachi M. Efficacy and safety of intravenous montelukast in patients with acute exacerbation of bronchial asthma. *European Respiratory Society*, 2008

#### 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。

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

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

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

研究要旨

【目的・方法】本研究は、呼気一酸化窒素(NO)を用いた成人気管支喘息の早期診断指針の作成と、その評価を目的として、3年間で二つの臨床前向き研究を行った。まず、喘息早期診断に呼気NOを応用する場合、そのcut-off値を何処に定めるかを検討した。次に、そのcut-off値を用いた早期診断指針を作成し、それを前向きに外来患者に適用し、従来の診断法との比較を行い、その精度を評価した。

【呼気NOカットオフ値の設定】遷延性咳嗽を主訴とする外来受診患者71例を対象とした前向き研究。身体所見の他、胸部XP・呼吸機能・非特異的気道過敏性・誘発喀痰中炎症細胞分画・血液検査・呼気NOを測定した。胸部XPに異常なく、誘発喀痰中好酸球分画 $\geq 3\%$ 、かつ、可逆性気流閉塞あるいは非特異的気道過敏性を有し、他疾患が除外可能な患者を気管支喘息とした。最終的な患者の内訳は気管支喘息群48例、非喘息群23例であった。呼気NOは喘息群70ppb、非喘息群19ppbと喘息群で有意に高値であった。多変量解析では両群の鑑別に呼気NOが最も有用な指標であり、喘息診断のための呼気NO cut-off値は38.8ppb(感度79.2%、特異度91.3%)であった。

【呼気NOを用いた喘息早期診断指針の作成とその評価】上記の研究結果を踏まえ、早期診断指針を①自覚症状(反復する咳嗽or喘鳴or呼吸困難)、②呼気NO $\geq 40$ ppb、③他疾患の除外とした。17-78歳の反復する咳嗽or喘鳴or呼吸困難を主訴に来院した非喫煙成人36名(男13名、女23名)を対象とした。従来のガイドラインに準じた診断結果と、呼気NOを用いた早期診断指針による診断結果を前向きに比較検討し、呼気NOを用いた喘息診断指針の感度と特異度を検討した。呼気NOを用いた喘息診断は従来のガイドラインによる喘息診断との一致率が高く、感度80%、特異度94%、LR+: 12.8、LR-: 0.21と良好な結果であった。

【結語】以上の結果から、「自覚症状(反復する咳嗽or喘鳴or呼吸困難)+「FeNO $\geq 40$ ppb」を成人気管支喘息の早期診断指標と出来る可能性が示唆された。

A. 研究目的

気管支喘息難治化は、慢性好酸球性気道炎症の持続に伴い形成される気道リモデリングによる可能性が高い。難治化予防には、喘息を早

期に診断し、早期に吸入ステロイド薬(ICS)による治療介入を行うこと(Early Intervention)が重要である。しかし、気管支喘息を早期に診断するための診断基準や有用な指標は未だ確立していない。これまで我々は、一般学童や一般成人における気管支喘息スクリーニングに

呼気 NO が有用であることを報告した。さらに、アレルギー性気道炎症を持つ対象を選別するための呼気 NO cut-off 値が約 40ppb であることも報告してきた(JACI 2004, J Asthma 2007)。本研究では、呼気一酸化窒素(NO)を用いた成人気管支喘息の早期診断指針の作成と評価を目的とし、3年間で二つの臨床前向き研究を行った。まず、喘息早期診断に呼気 NO を応用する場合、その cut-off 値を何処に定めるかを検討した。次に、その cut-off 値を用いた早期診断指針を作成し、それを前向きに外来患者に適用し、従来の診断法との比較を行い、その精度を評価した。

## B. 研究と結果

### 研究(1)

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

外来にて、胸部聴診、胸部 XP、呼吸機能検査(スパイログラム: %FVC、FEV1%)、気道過敏性検査(アストグラフ法)、誘発喀痰(5%生理食塩水吸入)検査、血液検査(末梢血好酸球、総 IgE、特異的 IgE)等を行い、更に、呼気 NO を on-line 法にて測定した。喀痰中好酸球増多(3%以上)を認め、呼吸機能検査にて可逆性気流閉塞(FEV1 の 12%以上の改善)あるいは気道過敏性亢進(Dmin>12.5)を認める患者の内、他疾患(合併を含め)を除外可能であった患者を気管支喘息と診断し、喘息群とした。それ以外の患者を非喘息群とし、両群間での呼気 NO の比較、ならびに両群を判別するために有用な指標を検討した。

71 例の内訳は、喘息群 48 例、非喘息群 23 例であった。喘息群は非喘息群と比較し、総 IgE、ダニ特異的 IgE が高値であり、%FVC と FEV1%が有意に低値であった。呼気 NO は喘息群 70ppb、非喘息群 19ppb と喘息群で有意に高値であった。また、上記解析にて有意差を認めた指標を用いた multiple regression analysis では、呼気 NO が喘息群・非喘息群の鑑別に最も有用な指標として抽出された(OR 1535, p<0.002)。また、ROC カーブから、喘息群・非喘息群を区別するための呼気 NO のカットオフ値は 38.8ppb であり、感度 79.2%、特異度 91.3%であった。

### 研究(2)

これまで我々の行ってきた研究成果ならびに研究(1)の結果を踏まえ、気管支喘息の早期診断指針を□自覚症状(反復する咳嗽 or 喘鳴 or 呼吸困難)、□呼気 NO $\geq$ 40ppb、□他疾患の除外とした。この診断指針を前向きに外来患者に適用し、従来の診断法との比較を行い、その精度を評価した。

17-78 歳の反復する咳嗽または喘鳴または呼吸困難を主訴に来院した非喫煙成人 36 名(男 13 名、女 23 名)を対象とし、血液検査(末梢血好酸球、総 IgE、特異的 IgE(12 種類アレルギー)、呼吸機能検査、呼気 NO (online 法)、気道過敏性検査(アストグラフ法)、誘発喀痰検査を施行した。

気管支喘息の診断は喘息診断ガイドラインに則り、呼吸機能、気道過敏性、喀痰好酸球、臨床経過などを基に、従来通り診断し、気管支喘息群とその他の疾患群の 2 群に分類した。自覚症状と呼気 NO のみを用いた早期診断指針による喘息診断結果と、従来の気管支喘息診断結果とをカイ 2 乗検定により比較検討し、呼気 NO を用いた早期喘息診断指針の感度、特異度などを検討した。

対象 36 名の内訳は、気管支喘息 20 名、その他の疾患群 16 名(非喘息性好酸球性気管支炎 8 名、後鼻漏 3 名、間質性肺炎 1 名、副鼻腔気管支症候群 1 名、肺泡低換気症候群 1 名、胃食道逆流症 1 名、心疾患 1 名)であった。平均年齢は 52.3 歳で、男 13 名、女 23 名と女性の方が多かった。

呼気 NO と気道過敏性(Dmin)の関係では有意な負の相関を認めた( $r = -0.389, p = 0.02$ )。一方、呼気 NO と呼吸機能(FEV1%や%FEV1)とは有意な相関は認めなかった。呼気 NO を用いた気管支喘息診断指針による喘息診断結果は、従来のガイドラインによる喘息診断と有意な相関を認め( $p < 0.001$ )、その感度は 80%、特異度は 94%、positive likelihood ratio (LR+) : 12.8、negative likelihood ratio (LR-) : 0.21 と良好であった。

(倫理面への配慮)

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

## C. 考察

これまでの我々の一般学童 278 名ならびに

一般成人 280 名における検討から、気管支喘息スクリーニングに呼気 NO が有用であり、アレルギー性気道炎症を持つ対象を選別するための呼気 NO cut-off 値がほぼ 40ppb であることを報告してきた(JACI 2004, J Asthma 2007).

今回、研究(1)では気管支喘息の初発症状として重要な遷延性咳嗽を主訴とする患者の中から、早期気管支喘息患者を抽出するために呼気 NO 測定が有用か否かを検討した。今回の検討では、まず、喀痰好酸球増多と可逆性気流閉塞あるいは気道過敏性を有する患者を喘息と定義し、喘息群と非喘息群を鑑別する最も有用な臨床指標を解析した。2 群間比較では、呼気 NO、総 IgE、ダニ特異的 IgE、%FVC、FEV1%などに有意差が認められ、末梢血好酸球は喘息群で高い傾向を認めた。しかし、多変量解析では呼気 NO が両群を鑑別する最も有用な指標として抽出された( $p < 0.002$ )。また、ROC カーブから、喘息群・非喘息群を区別するための呼気 NO のカットオフ値は 38.8ppb であった。この値は、一般学童でアレルギー性気道炎症の有無を鑑別するための呼気 NO のカットオフ値 37.0ppb (感度 81.0%、特異度 64.6%)、一般成人での同様のカットオフ値 38.8ppb (感度 81.8%、特異度 85.7%) とほぼ同値であり、呼気 NO 40ppb 付近で喘息群、非喘息群が判別可能となるのではないかと考えられた。

研究(1)の成果を踏まえ、気管支喘息の早期診断指針を「自覚症状 (反復する咳嗽 or 喘鳴 or 呼吸困難)」、 $\square$ 呼気 NO  $\geq$  40ppb、 $\square$ 他疾患の除外とした。この診断指針を前向きに外来患者に適用し、従来の診断法との比較を行い、その精度を評価した。今回の検討から、反復する咳嗽・喘鳴・呼吸困難をきたした対象において呼気 NO が 40 ppb 以上であれば、感度 80%、特異度 94%、LR+ 12.8、LR- 0.21 で気管支喘息と診断できることが判明した。この結果から、自覚症状と FeNO を用いた気管支喘息早期診断指標の有用性が示唆された。

#### D. 結論

3 年間の研究成果として、「自覚症状 (反復する咳嗽 or 喘鳴 or 呼吸困難)」+「呼気 NO  $\geq$  40ppb」+「他疾患の除外」、を気管支喘息早期診断指標とする妥当性が示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hashimoto, K., S. Mori, Y. Hashimoto, H. Kaneko, K. Ishibashi, K. Ishioka, Y. Kawasaki, R. S. Peebles, Jr., M. Munakata, M. Hosoya, and T. Suzutani. 2009. DSCG reduces RSV-induced illness in RSV-infected mice. *J Med Virol* 81(2):354-61.
- 2) Watanabe, K., T. Ishida, A. Sugawara, M. Tachihara, and M. Munakata. 2008. An adult case of plastic bronchitis. *Intern Med* 47(17):1549.
- 3) Wang, X., Y. Ohtsuka, K. Kimura, H. Kaji, J. Saito, Y. Tanino, T. Ishida, and M. Munakata. 2008. Mannose-binding lectin gene polymorphisms and the development of coal workers' pneumoconiosis in Japan. *Am J Ind Med* 51(7):548-53.
- 4) Sato, S., J. Saito, Y. Sato, T. Ishii, W. Xintao, Y. Tanino, T. Ishida, and M. Munakata. 2008. Clinical usefulness of fractional exhaled nitric oxide for diagnosing prolonged cough. *Respir Med* 102(10):1452-9.
- 5) Inoue, K., X. Wang, J. Saito, Y. Tanino, T. Ishida, D. Iwaki, T. Fujita, S. Kimura, and M. Munakata. 2008. Plasma UGRP1 Levels Associate with Promoter G-112A Polymorphism and the Severity of Asthma. *Allergol Int* 57(1):1-20.
- 6) Yoshikawa, M., N. Sukoh, K. Yamazaki, K. Kanazawa, S. Fukumoto, M. Harada, E. Kikuchi, M. Munakata, M. Nishimura, and H. Isobe. 2007. Diagnostic value of endobronchial ultrasonography with a guide sheath for peripheral pulmonary lesions without x-ray fluoroscopy. *Chest* 131(6):1788-93.
- 7) Wang, X., J. Saito, Y. Tanino, T. Ishida, T. Fujita, and M. Munakata. 2007. Mannose binding lectin gene polymorphisms and asthma. *Clin Exp Allergy* 37(9):1334-9.
- 8) Takahashi, T., I. Wada, Y. Ohtsuka, M. Munakata, Y. Homma, and Y. Kuroki. 2007. Autoantibody to alanyl-tRNA synthetase in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology* 12(5):642-53.
- 9) Tachihara, M., T. Ishida, K. Kanazawa, A. Sugawara, K. Watanabe, K. Uekita, H.

- Moriya, K. Yamazaki, F. Asano, and M. Munakata. 2007. A virtual bronchoscopic navigation system under X-ray fluoroscopy for transbronchial diagnosis of small peripheral pulmonary lesions. *Lung Cancer*.
- 10) Saito, J., S. Sato, H. Hasunuma, Y. Ishimaru, H. Kanegae, S. Kudo, and M. Munakata. 2007. Off-line fractional exhaled nitric oxide measurement is useful to screen allergic airway inflammation in an adult population. *J Asthma* 44(10): 805-10.
  - 11) Kabuyama, Y., K. Oshima, T. Kitamura, M. Homma, J. Yamaki, M. Munakata, and Y. Homma. 2007. Involvement of selenoprotein P in the regulation of redox balance and myofibroblast viability in idiopathic pulmonary fibrosis. *Genes Cells* 12(11):1235-44.
  - 12) Ishikawa, K., H. Kaneko, M. Oikawa, T. Ishii, M. Yoshikawa, O. Yamaguchi, S. Ishikawa, M. Mitsugi, M. Munakata, and Y. Maruyama. 2007. Pulmonary capillary bleeding in a patient with severe left ventricular failure after acute myocardial infarction under anti-thrombotic therapy. *Intern Med* 46(11):721-6.
  - 13) Wang, X., J. Saito, T. Ishida, and M. Munakata. 2006. Polymorphism of egfr Intron1 is associated with susceptibility and severity of asthma. *J Asthma* 43(9):711-5.
  - 14) Ohtsuka, Y., X. T. Wang, J. Saito, T. Ishida, and M. Munakata. 2006. Genetic linkage analysis of pulmonary fibrotic response to silica in mice. *Eur Respir J* 28(5):1013-9.
  - 15) Munakata, M., Y. Harada, T. Ishida, J. Saito, A. Nagabukuro, H. Matsushita, N. Koga, M. Ohsaki, K. Imagawa, and T. Shiratsuchi. 2006. Molecular-based haplotype analysis of the beta 2-adrenergic receptor gene (ADRB2) in Japanese asthmatic and non-asthmatic subjects. *Allergol Int* 55(2):191-8.
  - 16) Munakata, M. 2006. Airway remodeling and airway smooth muscle in asthma. *Allergol Int* 55(3):235-43.
2. 学会発表
- 1) 佐藤俊、齋藤純平、佐藤康子、石井妙子、室井美穂、王新濤、谷野功典、石田卓、棟方充. 福島県立医科大学医学部呼吸器科. :呼気 NO で咳喘息、非喘息性好酸球性気管支炎の鑑別が可能か? 第 47 回日本呼吸器学会総会. 東京、2007.5.
  - 2) 齋藤純平、棟方充. :呼気 NO (FeNO) によるアレルギー性気道炎症のモニタリング. (ワークショップ). 第 47 回日本呼吸器学会総会. 東京、2007.5.
  - 3) Sato S, Saito J, Sato Y, Ishii T, Muroi M, Wang X, Tanino Y, Ishida T, Munakata M. FeNO may be a useful marker to distinguish cough variant asthma from eosinophilic bronchitis without asthma. *World Asthma Meeting*. 2007. 6, Istanbul , Turkey.
  - 4) Saito J, Sato Y, Inokoshi Y, Saito K, Nakagawa N, Fukuhara A, Ishii T, Sato S, Tanino Y, Ishida T, Munakata M. Clinical usefulness of fractional exhaled nitric oxide as a marker of asthma control. *European Respiratory Congress*. 2008. Berlin, Germany.
  - 5) 齋藤純平、猪腰弥生、齋藤香恵、仲川奈緒子、福原敦朗、石井妙子、佐藤俊、王新濤、谷野功典、石田卓、棟方充. 福島県立医科大学医学部呼吸器内科. :気管支喘息コントロールにおける呼気 NO (FeNO) の有用性. 第 48 回日本呼吸器学会総会. 神戸、2008.6.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし