

分担研究報告書

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

分担課題：小児気管支喘息の重症度判定基準の作成と評価

研究分担者 森川 昭廣 群馬大学名誉教授、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

研究協力者 西牟田 敏之 独立行政法人国立病院機構下志津病院名誉院長

荒川 浩一 群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学教授

望月 博之 群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学准教授

水野 隆久 群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学

研究要旨

- ・小児気管支喘息の重症度判定のための以下の研究を行い、次の成果を得た。
  - 1) 喘息の重症度コントロールの程度を検討するため、C-ACT、JPACを実際の臨床の場で用い、その必要性、感想ならびに4歳以下での使用についてアンケート調査を行ったところ、2/3の医師が必要と答えた、また半数以上がすでに使用しており、有用性があると答えた。また2/3の医師が乳幼児のものが必要であると答えた。
  - 2) 乳幼児（0-3歳）用のACTの開発を試みた。対象の特殊性から全問を保護者が答える方式をとり、学童に比し、咳嗽を強調した。
  - 3) 喘息カードの小児用を作成した。これにより日頃の治療内容、発作の頻度や特徴で救急時にも伝えることができる。
- ・喘息死ゼロを目指してアレルギー連絡協議会とアレルギー医療研修会を立ち上げた。
  - 1) 協議会においては、当県における喘息死の状況が全国レベルでの統計を用い検討した。
  - 2) 研修会においては喘息死の多い高齢者喘息にフォーカスを当てて、講演を企画・実行した。
- ・喘息重症度を規定する因子についてエオタキシンや粘液産生について基礎的研究を行った。

A. 研究目的

小児気管支喘息は慢性的気道の炎症であることが明らかになり、そのコントロールが重要である。そのコントロールには重症度を的確に判断し、さらにそれに沿った治療とコントロールの維持が重要である。これらは必ずしも容易ではなく、喘息重症度並びにコントロールの程度を検討するツール（Childhood Asthma Control Test、C-ACT）や西牟田らにより開発されたツール（Japan Pediatric Asthma Control Test、JPAC）を用いた検討が必要である。これらによりの確に重症度やコントロールの把握が得られると考えられる。そこで、これらのツールを臨床に使用してもらい、その有用性、利便性を検討することが必要である。また、C-ACT、JPACを多くの医師、さらには看護師、薬剤師等のコメディカルスタ

ッフに理解してもらい、研修会の中で解説してこのプロジェクトの最終目標である喘息死ゼロに結びつけたい。

B. 研究方法

i) 上記C-ACT、JPACを小児気管支喘息患者を診療している小児アレルギー学会会員ならびに非会員に配布し、それらを実際使用した場合の感想並びに評価のアンケート調査を行った。

ii) C-ACT、JPACをより多くの医師に利用してもらうことと喘息死ゼロに向けて研修会、協議会を開催、周知する。

iii) 各重症度の喘息患者の呼気中のサイトカイン（IL-4、5、12、13、1NF- $\gamma$ 等）等を検討し、重症度との関連をみる。

iv) 環境と遺伝子の関連をみるため、各重症度の喘息患者のDNAのメチル化の状

態について検討する。Methyl Collector を用い、メチル化の CpG DNA を特異的に単離し、複数の遺伝子におけるメチル化状態のスクリーニングを行った。

v) 重症化に際して、気道における粘液産生の機序を解析のため、NCI-H292 cells を用いて MUC5AC の遺伝子調節領域の転写活性を検討した。また、気道リモデリングに関連する fibroblast を用い、IL-4 によるエオタキシン産生に対するデキサメサゾンの影響を検討した。

(倫理面への配慮)

被験者には事前に検査の内容、意義等について説明し、自由参加であることを述べ、承諾を得た。

### C. 研究結果

i) C-ACT、JPAC について各々全国的には 8,000 名分、187,000 名配布した。1 歳以上 16 歳未満の患者について配布した。群馬県においては、57 施設(病院 16 施設、医院 41 施設)からの 415 例について検討し、2001、2005 の結果と比例した。その結果、重症度は図 1 に示す通り、間欠型 35.5%、軽症持続型 32.1%、中等症持続型 24.9%、重症持続型 4.7%、その他 2.8%であった。今までの喘息発作については図 2 に示す結果であり、時間外受診、入院、発作での意識消失は経年的に減少した。

JPAC についてはコントロールされていない児が 3 歳以下では 58.5%、4 歳以上でも 33%にみられ(図 3)、また C-ACT でもコントロール不十分な者が 3 歳以下で 34%にみられ、4 歳以上でも 11.1%がコントロール不十分であった(図 4)。

ii) C-ACT、JPAC を医師のみならず看護師、薬剤師に利用してもらうために、喘息死ゼロに向けての研修会、協議会を開催し、120 名の参加を得た。表 1 のごとく 82 名よりアンケートを集計した。医師 21 名、看護師 17 名、薬剤師 37 名、保健師 4 名、その他 3 名である。78/82 が本研修について有用であったと解答した。

iii) 種々の重症度喘息患者を対象に呼気中サイトカインについて検討中であるが、現在、重症度を IL-4 等の呼気中サイトカイン量について明確な関係は得られていない。今後例数を増やし、更に検討をつけたい。

iv) 気管支喘息における DNA のメチル化の状態を検討したが、必ずしもコントロールとの間に差異が見出されなかった。例数と増加させさらに検討中である。

v) 線維芽細胞からのエオタキシンの産生についてはデキサメサゾンによる療法の

メカニズムを明らかにした(図 5)。また、PolyI:C による MUC5AC の産生増強は PolyI:C による MKP3 の抑制を介しての ERK の活性化増強によるものであることを解明した(図 6)。



図 1 重症度に関する調査結果

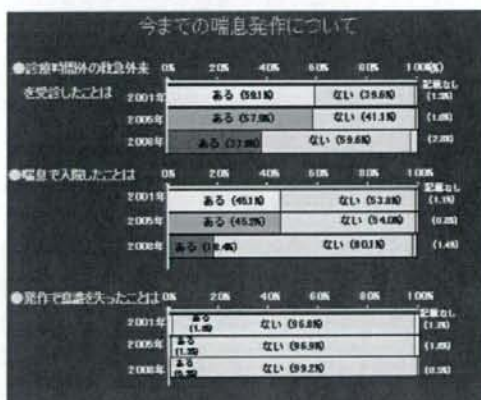


図 2 喘息発作に関する調査結果

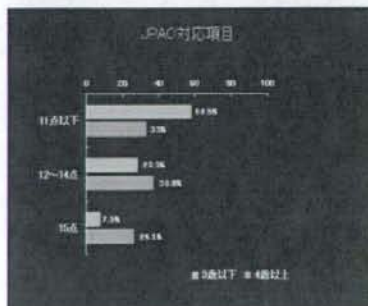


図 3 JAPC の点数評価

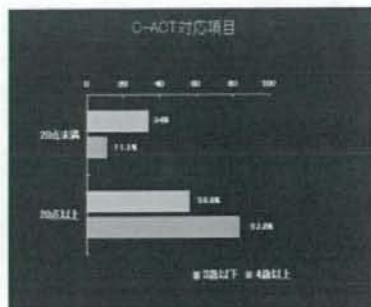


図4 C-ACTの点数評価

ロアンケート回答者 所属・職種内訳 (人)

病院・診療所・クリニック	医師	21
	准看護師	1
	薬剤師	1
	看護師	11
薬局	薬剤師	36
訪問看護ステーション	看護師	4
保健福祉事務所	保健師	1
その他	その他	1
	社会福祉士	2
市町村	看護師	1
	保健師	3
合計		82

	人数
参加になった	78
どちらとも書えない	1
あまり参加にならなかった	0
未記入	3

表1 研修会、協議会への評価

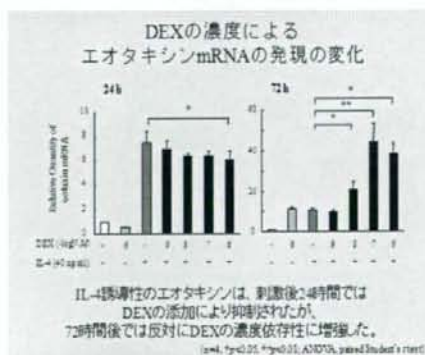


図5 線維芽細胞によるエオタキシン産生とステロイドの影響

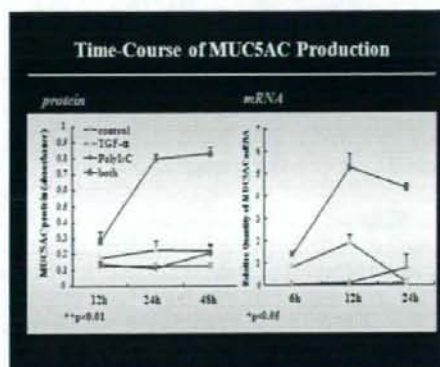


図6 Poly I:CとMUC5Aの産生

#### D. 考察

小児気管支喘息の重症度判定基準についてはJPGL2008にも記載されており、それにそった治療を行ないコントロールを維持してゆく。そのためには容易に重症度やコントロールの判定ができることが望ましい。我々C-ACTを検討し、従来なかった4歳以下のものも作成し、これらについてアンケート調査を行ったところ、3歳以下では半数以上が十分にコントロールされていないことが判明した。このような傾向は諸外国でも同様であり、治療薬、治療方法の見直しの資料として重要であろう。また、小児の喘息死をさらに減少させるために、広くC-ACTやJPACを普及させることが必要である。そのために、今回の研修会のように医師のみならず看護師、薬剤師、保健師等にも周知してゆくプロジェクトを継続していく必要がある。

重症度については現在の症状と治療薬で決定しているが、長期的予後の観点から種々の客観的指標の開発がまたれる。我々は重症化の一因とされるリモデリングに関与すると考えられる。Fibroblastにおいて、IL-4によるエオタキシンの産生へのデキサメサゾンの影響についてin vitroの検討を行った。その結果、デキサメサゾンが肺線維芽細胞からのエオタキシン産生を増強させた。この効果はIL-4受容体下流のstat6活性化を負に抑制するにより生じることを明らかにしたが、今後、臨床的な意義付けについて、さらに検討してゆくことが必要である。また、重症発作においては粘液産生は気道閉塞の重要な因子となる。臨床上ウイルス感染がその大きなトリガーになる。

今回 ds-RNA を用いて TGF- $\alpha$  によるムチン産生がみられる否かを検討した。その結果、ds-RNA は TGF- $\alpha$  による MUC5ACmucin の産生を増強することが判明した。このことは、今後の重症化対策の 1 つである粘液産生コントロールへの足がかりになると思われる。

#### E. 結論

喘息の重症度、コントロール判定のためのツール C-ACT、JPAC は臨床に有用であり、その結果により治療のステップアップ、ステップダウンを合理的に行えることがわかった。またその実際の使用でもその有用性が証明された。さらに従来、コントロールが不十分であった乳幼児用（4 歳以下）の C-ACT も臨床の現場で使用可能であった。これらを研修会を通して説明し、コメディカルの方々の理解を得られることが判明した。

今後これらのツールの結果をサイトカイン等の値なら得られる結果との相関を検討することも必要となってくるのが考えられた。

また、重症化に関与するリモデリングやエオタキシン産生のメカニズムを判明した。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

西牟田 敏之、渡邊 博子、佐藤 一樹、根津 櫻子、松浦 朋子、鈴木 修一、JAPANESE PEDIATRIC ASTHMA CONTROL PROGRAM (JPAC) の有用性に関する検討。日本小児アレルギー学会誌；22：135-145, 2008

Tadaki H, Arakawa H, Mizuno T, Suzuki T, Takeyama K, Mochizuki H, Tokuyama K, Yokota S, Morikawa A.

Double-stranded RNA and TGF-alpha promote MUC5AC induction in respiratory cells. J Immunol.2009 Jan;182(1):293-300

Suzuki T, Arakawa H, Mizuno T, Muramatsu K, Tadaki H, Takizawa T, Mochizuki H, Tokuyama K, Matsukura S, Morikawa A. Differential regulation of eotaxin expression by dexamethasone in normal human lung fibroblasts. Am J Respir Cell Mol Biol.2008 Jan;38(6):707-14

西牟田敏之、渡邊博子、青柳正彦、佐藤一

樹、根津櫻子。小児喘息コントロールテストの評価尺度としての特性の検討。Phama Medica 2007；25：131-137

##### 2. 学会発表

佐藤一樹。ガイドライン達成における Japanese Pediatric Asthma Control test (JPAC) の役割。第 45 回日本小児アレルギー学会、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

「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」

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

研究分担者 近藤 直実 岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授  
研究協力者 松井 永子 岐阜大学医学部附属病院小児科 講師  
金子 英雄 岐阜大学大学院医学系研究科地域医学センター 教授

研究要旨

アレルギー疾患は治癒する方法は明らかではなく、適切な治療戦略による疾患のコントロールが治療の目標となる。本研究では、アレルギー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、重症度に合わせた早期治療の指針を作製することを目指している。

本研究では、日常診療に有用と考えられるインペーダーアッセイ法を用いた早期診断用と経過予測用の遺伝子検索キットを作成した。

A. 研究目的

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

B. 方法

1) 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、インペーダ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、LTC4S -444A/C, LTC4S Glu4Lys, IFN- $\gamma$  R1 Leu467Pro, IL-13 Arg110Gln, IL-12R  $\beta$  1 Met365Thr, TGF- $\beta$  1-509C/T, MIF -173G/C, Fc $\epsilon$  R1  $\beta$  -109T/C, UGRP1 -122G/A, TARC -431C/T, MDC 5C/A である。いずれも、アレルギー、アレルギー性気道炎症、気道リモデリング、自然免疫などにおいて機能的に関与していることが明らかで、その網羅的な検討は喘息に関連する遺伝的背景を明らかにする上で有用であることが期待される。対象は、表1のように、アトピー型喘息、非アトピー型喘息、健常人、小児

喘息とした。

表1 検対象者

1. アトピー型喘息症例	98例
2. 非アトピー型喘息症例	106例
3. 健常人	107例
4. 小児喘息症例	103例
合計	414例

(倫理面への配慮)

本研究は岐阜大学大学院医学系研究科医学研究等倫理審査委員会においてヒトゲノム、遺伝子解析研究の承認を得て、十分に個人情報保護などに配慮して行っている。

### C. 結果

1) まず、発症頻度に関する検討を行った(表2と3)。

健康人とアトピー型喘息症例の比較	
TGF-β-509 C>T	-509TT: AA群に多い (p=0.016)
MIF -173 G>C	-173 GG: AA群に多い (p=0.039)
健康人と非アトピー型喘息症例の比較	
MIF -173 G>C	-173 GG: NAA群に多い (p=0.041)

表2に示すように、健康人と比較し、MIF-173G/C多型は、喘息(アトピー型、非アトピー型とも)群でGG genotypeが有意に頻度が高いことが明らかになった。

健康人と喘息症例の比較	
TARC -431 C>T	-431 TT: 喘息症例に少ない (p=0.017)
MIF -173 G>C	-173 GG: 喘息症例に多い (p=0.016)
小児喘息と非アトピー型喘息症例の比較	
IL-13 2044G>A	2044 GG: 小児喘息で少ない (p=0.049)

また、小児では、成人非アトピー型喘息とIL-13遺伝子多型頻度が異なっていることが明らかとなった。

次に重症度との関連について検討した(表4, 5)。

アトピー型喘息症例のみで検討した場合	
TGF-β-509 C>T	-509 CT+TT: 中等症>重症>軽症 (p=0.031)
UGRP1-122G>A	-122 GA+AA: 軽症>重症 (p=0.018)
非アトピー型喘息症例のみで検討した場合	
UGRP1-122G>A	-122 GA+AA: 重症>中等症>軽症 (p=0.046)

喘息症例すべてを対象として検討した場合	
TGF-β-509 C>T	-509 CT+TT: 中等症>軽症 (p=0.001)
TARC -431 C>T	-431 CT+TT: 重症>軽症 (p=0.037)
IFN-γ R1 L467P	L467P AG+GG: 軽症>重症 (p=0.039)

喘息症例すべてを対象として検討した場合、TGF-β 1-509C/T, TARC -431C/T, IFN-γ R1 Leu467Pro が重症度と関連していることが明らかとなった。

これらの結果を踏まえて、気管支喘息発症予測、経過予測パネルを作成した(表6)。

		発症予測	より重症予測
IL-12B	C 3757 T	0	
IL-12B	C 16078 T	0	
IL-18	C -133 G	0	0 (0.1)
IL-12Rβ1	M 365 T (T/C)	0 (0.1)	0 (0.1)
IL-12Rβ2	R 313 G (A/G)	0	
IL-12Rβ2	H 720 R (A/G)	0	
IFN-γ R1	L 467 P (A/G)	0 (0.1)	0 (0.03,0.1)
IL-13	R 110 Q (G 2044 A)	0 (0.04,0.1)	0 (0.1)
IL-4R α	V 501 (G/A)	0	
TGF-β1	C -509 T	0 (0.01,0.06)	0 (0.01,0.03)
TARC	C -431 T	0 (0.05,0.01)	0 (0.02,0.03)
UGRP1	G -122 A	0 (0.1)	0 (0.01,0.04)
MIF	G -173 C	0 (0.03,0.01)	0 (0.1)
Fcε R1β	T -109 C	0 (0.1)	0 (0.1)
LTC4S	A -444 C	0	
LTC4S	E 4 K (G/A)	0	

(自検と文献に基づいた)

体質で表現される遺伝的背景の把握をめざして、喘息の表現型や重症度などを網羅するパネルの作製としてこれまでの成果を総括した。本研究で、検討した多型は、いずれも、アレルギー、アレルギー性気道炎症、気道リモデリング、自然免疫などにおいて機能的に関与していることが明らかで、その網羅的な検討は喘息に関連する遺伝的背景を明らかにする上で有用であることが期待される。

### D. 考案

主なアレルギー疾患には、気管支喘息、花粉症、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーがあげられるが、いずれの疾患も国民の全年齢層にわたって増

加傾向がみられ、多くの国民を苦しめている。いずれの疾患も治療する方法は明らかではなく、適切な治療戦略による疾患のコントロールが診療の目標となる。そのために、早期診断と早期治療は極めて重要であり、かつ寛解予測のマーカーが日常診療に大いに有用である。これらの視点から本研究におけるインペーダーアッセイ法を用いた早期診断用と経過予測用の遺伝子検索キットは日常診療において有用であると考えられた。

E. 結論

インペーダーアッセイ法を用いて早期診断用と経過予測用の遺伝子検索キットの作成を行った。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 2.
- 3. Bai CY, Matsui E, Ohnishi H, Kimata K, Kasahara K, Kaneko H, Kato Z, Fukao T, Kondo N: A Novel Polymorphism in the 5-lipoxygenase Gene Associated with Bronchial Asthma in Japanese Children. *Int J Mol Med* 21: 139-144 (2008)
- 4. Kondo M, Kaneko H, Fukao T, Suzuki K, Sakaguchi H, Shinoda S, Kato Z, Matsui E, Teramoto T, Nakano T, Kondo N: The response of bovine beta-lactoglobulin-specific T-cell clones to single amino acid substitutions of T-cell core epitope. *Pediatric Allergy and Immunology* 19: 592-598 (2008)
- 5. Kato Z, Stern JN, Nakamura HK, Kuwata K, Kondo N, Strominger JL. Positioning of autoimmune TCR-Ob. 2F3 and TCR-Ob. 3D1 on the MBP85-99/HLA-DR2 complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 15523-15528 (2008)
- 6. Kawamoto M, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Teramoto T, Kasahara K, Kondo N: IL-10 plays an important role as an immune-modulator in the pathogenesis of atopic diseases. *Molecular Medicine Reports* 1: 837-842 (2008)
- 7. Arai T, Kaneko H, Ohnishi H, Matsui E, Fukao T, Kawamoto N, Kasahara K, Kondo N. Hypothermia Augments NF-kappa B Activity and the Production of IL-12 and IFN-gamma. *Allergol Int* 57: 331-338 (2008)
- 8. 近藤直実, 平山耕一郎, 松井永子, 寺本貴英, 金子英雄, 深尾敏幸, 折居建治, 川本美奈子, 船戸道徳, 大西秀典, 川本典生, 森田秀行, 木村豪, 名田匡利, 徳見哲司, 堀友博, 渡邊倫子: 小児気管支喘息患児と親又は保護者の QOL 調査票簡易改訂版 2008 (GIFU). アレルギー

2. 学会発表

- 1. Kondo N: 国際学会シンポジウム: Lecture 3: Food Allergy of Childhoods-Pathogenesis and Strategy of Management, 23rd International Scientific Forum (2008年11月, 東京)
- 2. 近藤直実: 特別講演II: アレルギーの診療の新展開と実践. 臨床アレルギー研究会 (第61回) (2008年5月10日, 大阪)
- 3. 近藤直実: 教育セミナー1: アレルギーにおけるテーラーメイド医療の開発と実践. 日本アレルギー学会春季臨床大会 (第20回) (2008年6月12-14日, 東京)
- 4. 松井永子, 大西秀典, 加藤善一郎, 寺本貴英, 川本美奈子, 金子英雄, 深尾敏幸, 近藤直実: シンポジウム: アレルギー疾患における遺伝子学的・構造生物学的検討とその臨床応用. 日本アレルギー学会春季臨床大会 (第20回) (2008年6月12-14日, 東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 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

研究分担者：岡本 美孝 千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学 教授  
研究協力者：米倉 修二 千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 医員  
國井 直樹 千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 医員  
櫻井 大樹 千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学 助教  
鈴木 洋一 千葉大学大学院医学研究院 公衆衛生学 准教授  
井上 寛規 千葉大学大学院医学研究院 公衆衛生学  
河野 陽一 千葉大学大学院医学研究院 小児病態学 教授  
下条 直樹 千葉大学大学院医学研究院 小児病態学 准教授

研究要旨

アレルギー疾患の早期診断、早期治療をはかるため、発症時期の検討、喘息やアトピー性皮膚炎など他のアレルギー疾患との相互関連を明らかにすること、さらに個別化治療を目指して、まずアレルギー性鼻炎の感受性遺伝子を明らかにすることを目的に検討を行った。アトピー素因を持つ小児の経過を追うことからアレルギー性鼻炎の発症には、個々の患者で特異的 IgE 抗体の上昇がより高いレベルでみられていたことが確認され、更なる上昇の抑制がアレルギー性鼻炎の発症抑制、さらにはアレルギー性鼻炎後に発症する喘息の抑制に繋がることが示唆された。小児花粉症の感受性遺伝子として示唆された MMP-9 遺伝子は高齢者の花粉症患者では関連が認められず、現在増加が著しい小児～青年と高齢者との感作、発症には違いがあることが考えられた。

A.研究目的

アレルギー性鼻炎に対する適確な早期診断、早期治療をはかるには、発症時期の検討、喘息やアトピー性皮膚炎など他のアレルギー疾患との正確な相互関連を明らかにする必要がある。昨年に続いて千葉大学小児科アレルギー外来に喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーで通院する小児のアレルギー性鼻炎の発症について経過を追って検討した。また、アレルギー性鼻炎の発症には様々な遺伝要因、環境要因の関与が想定されるが、昨年小児の花粉症で感受性遺伝子として明らかにした MMP-9 遺伝子多型について、成人での検討を行い比較した。

B.研究方法

1. 千葉大学小児科アレルギー外来に喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーにて通院する全患児の保護者に耳鼻咽喉科受診によるアレルギー性鼻炎の診察と、さらにその後の耳鼻咽喉科の定期的受診による経過調査を依頼した。98名(平均4.3歳)の患児が耳鼻科を受診し、鼻汁スメア検査を含む診察を受け、以後数ヶ月毎の定期受診を行っている。

2. 千葉県房総半島の南端にある南房総市丸山地区では1995年以降、住民のアレルギー性鼻炎検診を実施しているが、2007年9月に同意が得られた参加者の採血、及び頬粘膜擦過片を用いてIgE抗体価とMMP-9遺伝子のSNP解析を行った。

倫理面への配慮

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

C.研究結果

1. 千葉大学耳鼻咽喉科初診時に喘息患児45名(平均5.3歳)中アレルギー性鼻炎の合併は67%に、喘息合併のないアトピー性皮膚炎あるいは食物アレルギーの患児



49名(平均2.6歳)中44%にアレルギー性鼻炎の合併がみられた。喘息合併の無かったアトピー性皮膚炎患児のうち、これまで2年以上経過を追えた26名中、この間に7名に喘息の発症がみられた。このうち6名は喘息発症前にアレルギー性鼻炎の発症がみられていた。1名は喘息発症後にアレルギー性鼻炎の発症がみられたが、全員ハウスダストIgE抗体価が上昇していた。他方、耳鼻咽喉科初診時にアレルギー性鼻炎の合併がみられなかった小児喘息あるいはアトピー性皮膚炎患児でやはり2年以上経過を追えた18名中12名にこの間にアレルギー性鼻炎の発症がみられたが、全員ハウスダストIgE抗体価の上昇がみられていた。

2. 2007年検診参加者は40歳代以降の1,300名であった。MMP-9とスギ花粉感作、スギ花粉症発症との関連を検討したところ、コントロールとした13年間抗体価が陰性で発症しなかった方と、スギ花粉症IgE抗体価が陽性で少なくとも2シーズン以上スギ花粉シーズンに症状がみられた方との間にSNP解析にて有意な差は認められなかった。しかし年代別では1995年時に50歳代、60歳代では同様に差は無かったが、40歳代ではスギ花粉抗体価でSNP1のGG+GTの割合がGGの割合と比較して低値を示していた。

#### D. 考察

アレルギー性鼻炎の発症前には、特異IgE抗体価の更なる上昇がみられ、この抑制がアレルギー性鼻炎発症の抑制に働く可能性が示唆される。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事が期待される。MMP-9遺伝子は小児花粉症の感受性遺伝子であることを昨年報告したが、1995年時点で50歳代以降の高齢者の花粉症では関連が明らかではなく、高齢者と小児の感作、発症の背景には違いがあることが考えられる。40歳代では感作との関連がみられたことも興味深い。

#### E. 結論

アレルギー性鼻炎に対する早期介入が喘息発症の抑制に働くことが期待されるが、特異IgE抗体の抑制をはかる一次予防が重要である。MMP-9遺伝子の検討から高齢者と現在増加が目立つ小児のスギ花粉感作、発症には背景となる遺伝因子、環境因子の違いを示すものと考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 学会発表

岡本美孝. スギ花粉症に対する感作成立機序と一次予防の取り組み、シンポジウム、第58回日本アレルギー学会秋季大会、平成20年11月、東京。

##### 2. 論文発表

岡本美孝. 鼻炎におけるアレルギー性鼻炎の位置づけ. *Progress in Medicine* 29; 15-18, 2009.

#### G. 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

厚生労働省研究費補助金

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

分担研究報告書

アトピー性皮膚炎患者の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

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

**研究要旨** アトピー性皮膚炎(AD)患者皮膚では、皮膚ケラチノサイトの神経成長因子 (NGF) 産生が亢進することによりかゆみの知覚神経が表皮内に侵入し、かゆみの閾値を低下させる。そこで、AD 患者の角層中 NGF を経時的に測定し、治療効果と NGF 量の変化との関連を検討した。また、AD 患者の心理状態、特につうつ状態と不安状態が皮膚炎や免疫学的パラメーターに及ぼす影響と薬物治療の効果を検討した。その結果、AD 患者の角層中 NGF 値は高値であり、治療により有意に低下した。その変化率は皮膚炎やかゆみの程度、LDH 値や好酸球数の変化率と相関したことから、AD のバイオマーカーとして角層 NGF の有用性が示された。また、AD 患者では特定不安と血清総 IgE 値との間で正の相関がみられ、夜間のかゆみの程度とうつスコアとの間に相関がみられた。精神心理状態は AD の皮疹や IgE 産生に影響を及ぼすことが示されたことから、心理状態の改善を目的とした薬物療法の AD 治療における有用性が示唆された。

研究協力者:相原道子、山口絢子、渡辺千恵子(横浜市立大学大学院医学研究科環境免疫病態皮膚科学)

**A. 研究目的**

アトピー性皮膚炎(AD)患者皮膚では、かゆみの知覚神経である c-fiber が表皮内に侵入し、かゆみの閾値を低下させることが報告されている。表皮ケラチノサイトは乾燥や機械的刺激により神経成長因子(NGF)を産生することが知られており、NGFは真皮上層の神経 c-fiber の表皮内伸長を促進する。また、NGFは直接肥満細胞に作用してヒスタミンの遊離を促進するとされる。本研究では、AD患者の角層中の NGF を測定することによりケラチノサイトの NGF 産生を評価し、皮膚の炎症所見やかゆみとの関係を明らかにすることを目的とした。さらに NGF を経時的に測定し、治療による炎症所見やかゆみの変化との関連を検討することにより、治療効果の簡便な判定法として有用であるかを検討した。

また、精神心理状態は AD に影響を及ぼす因子の一つであることが知られている。特に不安やうつ状態は AD の重症化や難治化の要因として注目されている。そこで AD 患者の心理状態、特につうつ状態と不安状態が皮膚炎や搔破行動、免疫学的パラメーターに及ぼす影響と治療効果について検討した。

**B. 研究方法**

1) 表皮の NGF 産生能と AD の評価

1. 対象:横浜市立大学皮膚科を受診した AD 患者およびコントロール群として尋常性乾癬患者と健康人で、本研究に文章で同意を得られたものとした。

2. 皮疹およびかゆみの評価:角層採取部の皮膚は紅斑、丘疹、落屑/乾燥、びらん/痂皮、苔癬化についてそれぞれ 0-4 段階で評価した。全身の痒みはかゆみスコアと visual analogue scale (VAS) を用いて評価した。治療前、治療開始 2 週間後および 4 週間後にこれらの評価と角層の採取および NGF の測定を行った。なお、

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

3. 角層の採取およびNGFの定量：前腕屈側の皮膚にセロハンテープ(3M)を貼布し、角層を採取した。NGFは角層から蛋白質を抽出し、市販のELISAキット(Promega, NGF E<sub>max</sub> ImmunoAssay System)を用いて測定した。同時に角層中の蛋白質の定量を行い、NGF量を角質蛋白質量で割った値で表した。

#### 2) 精神心理的要因がADに及ぼす影響の検討

横浜市立大学皮膚科を受診したAD患者38名において、心理テストを用いてうつ状態と不安状態(特定不安と状態不安)を点数化し、それらの値と皮膚炎や夜間搔破行動の程度、および血液検査所見(血清総IgE値、末梢血好酸球数、血清LDH、Th1/Th2比、NK細胞数および活性など)との関係を検討した。不安のテストにはSTAIを、うつ状態のテストには仮面鬱病の評価用に作成されたSRQ-Dを用いた。かゆみの評価には腕時計式モニターを夜間装着することにより搔破時間を測定した。さらに不安やうつ状態の点数の高い患者に向精神薬を投与し、その効果を検討した。

なお、本研究は横浜市立大学医学部倫理委員会の承認を受けたものである。

### C. 研究結果

#### 1) 表皮のNGF産生能とADの評価

対象はAD患者33人(男性20人、女性13人、平均年齢27.9歳)および健常人9人(男性4人、女性5人、平均年齢34.7歳)であった。さらに疾患コントロールとして乾癬患者67名(かゆみのあるもの33名、ないもの34名)から角層を採取した。

AD患者角層中NGF値:AD患者33名のNGFは $437.7 \pm 677.4$  pg/ $\mu$ gであり、健常人の値( $4.4 \pm 5.5$  pg/ $\mu$ g)と比較して有意に高値であることが示された( $p < 0.001$ ,

Mann-Whitney U test)。

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

NGFの治療前後における変化:治療による皮膚炎の軽快とともにNGF値は治療開始時の $369.3 \pm 510.9$  pg/ $\mu$ gから2週間には $22.0 \pm 25.9$  pg/ $\mu$ g、4週間には $23.1 \pm 65.5$  pg/ $\mu$ gと有意に低下した( $p < 0.01$ )。その変化率は皮膚炎(紅斑、落屑など)やかゆみの程度、LDH値や好酸球数の変化率と相関した。

乾癬では角層中のNGFはかゆみを伴う症例で有意に高値であった( $P < 0.05$ )。

#### 2) 精神心理的要因がADに及ぼす影響の検討

AD患者ではうつ状態の程度が著しいほど不安度も高かった(特性不安 $P < 0.01$ , 状態不安 $P < 0.05$ )。これらと皮疹の重症度とのあいだに相関はみられなかったが、特定不安と血清総IgE値との間で正の相関がみられた( $P < 0.05$ )。Th1/Th2比は皮疹スコアおよび血清総IgE値と逆相関を示したが、心理状態とはいずれも相関を認めなかった。夜間のかゆみの程度とうつスコアとの間に相関がみられたが、夜間搔破時間と皮疹の重症度や心理状態の間には相関はみられず、夜間搔破時間とNK細胞数やNK細胞活性とは正の相関がみられた。これらの心理テストが境界域以上を示した患者に抗うつ薬(塩酸パロキセチン)や抗不安薬(クエン酸タンドロスピロン)による治療を行い、心理状態の改善とともに皮疹とかゆみについて前者で5/7名、後者で2/5名に改善がみられた。

### D 考察

AD患者皮膚における表皮内のc-fiberの伸長は痒みの閾値を低下させ、かゆみによる搔破行動を惹起させることにより皮膚炎のさらなる悪化をもたらす。皮膚におけるNGFの産生亢進はc-fiberの伸長を促進することから、ADにおける悪化要因のひとつと考えられている。これま

で、血液や尿中の NGF の測定は報告されていたが皮膚 NGF の定量は行われておらず、本研究によって、AD 患者の表皮ケラチノサイトによる NGF の産生亢進が定量的に示された。また、その値は皮膚炎の重症度やかゆみの強さおよび末梢血好酸球数と相関がみられたが血清 IgE 値とは相関しなかったことは、短期間の AD の病勢を反映しているものと思われた。さらに治療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が示された。特に、今回用いた角層 NGF のテープストリッピング法による測定は、その非侵襲性により頻回に採取測定が可能であることから、本法が治療効果のモニタリングに有用であることが示唆された。

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 産生を亢進することが示された。しかし、夜間の搔破時間は心理状態との相関を認めず、相関を認めたのは NK 活性であった ( $P < 0.01$ )。NK 細胞活性は不安やうつ状態で低下するとされるが、急性ストレス下では上昇するとの報告もあり、何らかの急性ストレスが搔破行動を促進している可能性が考えられたが、その機序は不明である。さらに一部ではあるが患者に抗うつ薬や抗不安薬を投与して AD に効果を認めた。これは精神心理的要因の関与がみられる患者における向精神薬の有用性を示唆するものと思われた。

## E 結論

表皮の NGF は AD 治療におけるバイオマーカーとなりうることが示された。今回用いた角層 NGF のテープストリッピング法による測定は、その非侵襲性により頻回に採取測定が可能であることから、本法が治療効果のモニタリングに有用であることが示唆された。また、AD 患者では精神心理状態のコントロールが治療に有効であることが示唆された

## F 健康被害状況

なし

## G 研究発表

### 1. 論文発表

・Yamaguchi J, Aihara M, Kobayashi Y, Kambara T, Ikezawa Z: Quantitative analysis of nerve growth factor (NGF) in the atopic dermatitis and psoriasis horny layer and effect of treatment on NGF in atopic dermatitis. *J Dermatol Sci. J Invest Dermatol.* 53:48-54, 2009.

・渡辺千恵子、相原道子、竹下芳裕、池澤善郎：精神的不安およびうつ状態がアトピー性皮膚炎に及ぼす影響-免疫系および夜間搔破行動について *J. Environ Dermatol Cutan Allergol*, 2:95-106, 2008.

・池澤善郎：アレルギー性皮膚炎疾患の病態と治療-特に、アトピー性皮膚炎、重症蕁麻疹、食物アレルギーに関する当教室の研究紹介を中心に-。アレルギー, 57:968-988, 2008.

・池澤善郎、山口絢子、桐野実緒、松倉節子、池澤優子、蒲原 毅、相原道子：アトピー性皮膚炎の病態と治療において黄色ブドウ球菌、神経成長因子、反発性軸索ガイダンス分子 Semaphorin 3A が果たす役割。皮膚の科学, 7:24-32, 2008.

### 2. 学会発表

・渡辺千恵子、相原道子、池澤善郎：精神的不安およびうつ状態がアトピー性皮膚炎に及ぼす影響-免疫系及び夜間搔破行動について、第 39 回日本職業・環境アレルギー学会総会、東京, 2008, 7, 18

## H 知的所有権の出願・特許状況

### 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等予防・治療研究事業)

分担研究報告書

## 乳児期発症食物アレルギー患者の検討

研究分担者 海老澤 元宏

国立病院機構相模原病院臨床研究センター アレルギー性疾患研究部部長

研究協力者 小俣 貴嗣

国立病院機構相模原病院 小児科医師

## 研究要旨

「食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎」は小児期の食物アレルギーの発症型として8割以上を占める。また強いアトピー素因をもつ集団であり、幼児期での喘息発症リスクが高い。症状(湿疹等)出現後に皮疹をコントロールし原因食物の確定と除去を行えば短期間で寛解に持ち込めるケースを我々の施設では多数経験する。今回、症状出現より6カ月未満に適切なスキンケア・外用療法に加え原因食物の除去が開始された群(早期治療群)と当科の初診が遅く6カ月以降に治療が開始された群(非早期治療群)での両群の臨床像を比較分析し、早期診断・早期治療により疾患の軽症化、感作の軽減、喘息への進展防止等の効果を明らかにすることを目的とした。その結果、非早期治療群では卵や牛乳などの主要原因抗原の耐性獲得が遅れ、治療開始後の特異的IgE抗体価の低下傾向が認められなかった。その理由としてアトピー性皮膚炎のコントロールの不良と原因抗原暴露が続いたことであったと推定された。一方、早期治療群では1.5と2歳のダニ抗原特異的IgE抗体は有意に低かったが、2.5歳における喘息発症率に差を認めなかった。「食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎」型の食物アレルギーは乳児期早期に診断・治療することにより食物アレルギーを軽症化させ早期に寛解誘導できる可能性が示唆されたが喘息発症には影響は認められなかった。

## A. 研究目的

平成18年度は食物アレルギー(FA)の早期診断、早期治療のための診療指針の概略を作成し、平成19年度はその指針に基づいて乳児期発症の食物アレルギー児の診断における早期対応の効果を検証した。初発湿疹症状の出現から6ヶ月未満に早期に対応した群と6ヶ月以降に対応した群の2群に分類し早期対応の効果を検証した。臨床的背景、環境因子、末梢血好酸球では有意差は認めなかったが、初診時、治療開始より1年、1年半時点での総IgE値、鶏卵・牛乳アレルギー児における卵白・牛乳特異的IgE値が早期治療群と非早期治療群間で有意差を認めた。この結果に関して非早期治療群では対応の遅れにより原因抗原暴露が長期に渡ったこと、アトピー性皮膚炎のコントロールの不良の期間が長期に渡ったことが要因と考えられた。本年度はさらに症例数を増やすとともに、早期治療群、非早期治療群のデータを同年齢で比較検討し、吸入抗原感作の状況も検討することを目的とした。

## B. 研究方法

2004年以降に当科を受診し湿疹が初発症状で食物除去試験及び負荷試験にてFAが診断された

患者を対象とし、即時型症状を呈した既往があるものは除外した。湿疹出現から6カ月未満で当科を受診し、診断の上治療が開始された群(早期治療群;鶏卵60例、牛乳42例、鶏卵平均4.0カ月、牛乳3.8カ月)と湿疹出現から6か月を超えて当科を受診し治療が開始された群(非早期治療群;鶏卵59例、牛乳38例、鶏卵平均9.8カ月、牛乳9.0カ月)の2群に分類した。検討した臨床的背景因子はアレルギー家族歴、周産期異常の有無、在胎週数、出生体重、入院歴、環境因子としてペット飼育歴の有無、住居の環境、母親の妊娠中の除去食品の有無、授乳中の除去食品の有無を検討した。血液検査因子は、末梢血好酸球数、血清総IgE値、特異的IgE値(CAP system FEIA)を初診時、1.5歳時、2歳時、2.5歳時で比較検討し、2.5歳時点でのFAの耐性獲得状況、喘息発症の有無を比較検討した。

## C. 研究結果

早期治療群と非早期治療群間で有意差が認められたものは、鶏卵アレルギー児では、血清総IgE値(図1)、卵白特異的IgE値(図2)、ヤケヒョウヒダニ特異的IgE値(図4)であった。卵白特異的IgE値は初診時、1.5歳時、2歳時、2.5歳

時の4時点において、総IgE値は初診時、1.5歳時、2歳時の3時点において両群間で有意差が認められた。ヤケヒョウヒダニ特異的IgE値は1.5歳時のみ有意差が認められた。牛乳アレルギー児については牛乳特異的IgE値(図3)、総IgE値は初診時、1.5歳時、2歳時、2.5歳時の4時点においていずれも両群間で有意差が認められた(図1)。ヤケヒョウヒダニ特異的IgE値は1.5歳時、2歳時で有意差が認められた。2.5歳時点での耐性獲得状況は卵アレルギー(早期対応群/非早期対応群=45.0%/25.4%;  $p<0.05$ )、牛乳アレルギー(早期対応群/非早期対応群=61.9%/36.8%;  $p<0.05$ )において有意差が認められた(図5)。2.5歳時点での喘息発症の有無においては両群間に差は認められなかった。

卵アレルギー児における総IgE値			
	非早期治療群	早期治療群	
初診時	999±333 (n=58)	137±33 (n=59)	$p<0.05$
1.5y	825±249 (n=55)	188±39 (n=56)	$p<0.05$
2y	1224±215 (n=48)	243±62 (n=59)	$p<0.01$
2.5y	967±243 (n=51)	436±108 (n=55)	$p=0.056$

牛乳アレルギー児における総IgE値			
	非早期治療群	早期治療群	
初診時	1269±524 (n=34)	134±39 (n=41)	$p<0.05$
1.5y	1166±436 (n=31)	140±40 (n=39)	$p<0.05$
2y	1244±318 (n=32)	260±52 (n=36)	$p<0.01$
2.5y	956±358 (n=28)	219±55 (n=36)	$p<0.05$

図1

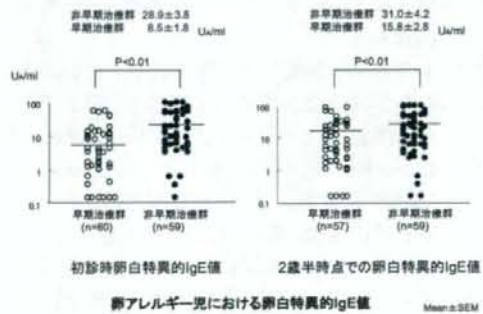


図2

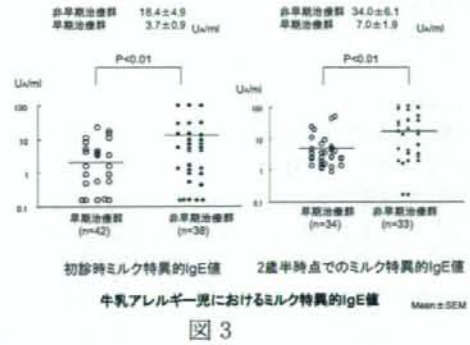


図3

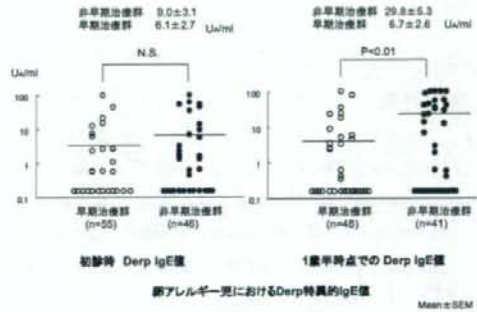


図4

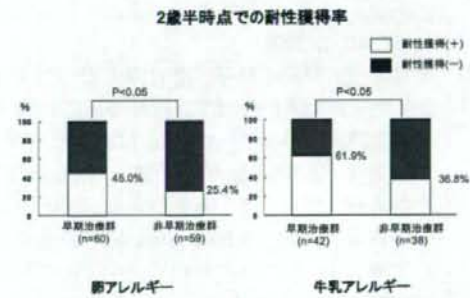


図5

D. 考察

症例数を増やし、年齢を合わせた検討でも昨年と同様の結果となった。すなわち乳児期発症の即時型症状を呈していない湿疹で発症したFAはADへの対応を指導した上で原因抗原を早期に診断し、除去を始めることが耐性獲得の時期を早めていた。ダニ抗原感作に関しては卵アレルギー児においては1.5歳時に、牛乳アレルギー児においては1.5歳、2歳時にのみ有意に早期治療群で低い結果であったが、2歳半での喘息発症には影響していなかった。ダニ抗原暴露はアトピー性皮膚炎のコントロールに影響してか、逆にバリア機能の結果によってIgE抗体の感作が影響を受けていた可能性も考えられ、環

境要因もFA・AD型のFA児では重要な要因であることも示唆された。

### E. 結論

本年度の結果から、乳児期に湿疹で発症する食物アレルギー児に対して早期に対応し診断することで感作が軽減されFAを早期に寛解誘導できる可能性が示唆された。さらにダニ抗原感作は1.5歳、2歳で軽減されていたが2.5歳の時点での喘息発症には影響を認めなかった。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Richard E Goodman, Stefan Vieths, Hugh A Sampson, David Hill, Motohiro Ebisawa, Steve L Taylor & Ronald van Ree: Allergenicity assessment of genetically modified crops—what makes sense?. *nature biotechnology* 26(1) 73-81, 2008
- 2) Imamura T, Kanagawa Y, Ebisawa M.: A survey of patients with self-reported severe food allergies in Japan. *Pediatr Allergy Immunol.* 19(3) 270-4, 2008
- 3) 今井孝成, 杉崎千鶴子, 海老澤元宏: アナフィラキシーおよびアドレナリン投与の適応に関する意識調査. *アレルギー* 57(6) 722-727, 2008
- 4) 緒方美佳, 宿谷明紀, 杉崎千鶴子, 池松かおり, 今井孝成, 田知本寛, 海老澤元宏: 乳児アトピー性皮膚炎におけるBifurcated Needleを用いた皮膚プリックテストの食物アレルギーの診断における有用性(第1報)—鶏卵アレルギー—. *アレルギー* 57(7) 843-852, 2008
- 5) 海老澤元宏: シンポジウム 学校におけるアレルギー疾患の管理と支援 今後の具体的取り組みの方向を探る—小児アレルギー科医の立場から—. *日本医師会雑誌* 137(4) 42-44, 2008

#### 2. 学会発表

- 1) Ebisawa M: Establishment of food provocation network in Japan. *Collegium Internationale Allergologicum 27th Symposium, Curaçao*, 2008年5月
- 2) Ebisawa M, Imai T, Komata T, Yanagida N, Kurosaka N, Tomikawa M, Hasegawa M, Tachimoto H: Natural history of pediatric food allergy in Japan. *XXVII Congress of the*

*European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Barcelona, Spain*, 2008年6月

- 3) 海老澤元宏, 長谷川実穂, 今井孝成, 小俣貴嗣, 富川盛光, 柳田紀之, 田知本寛: 小児期食物アレルギーの自然歴. 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2008年6月
- 4) 小俣貴嗣, 今井孝成, 黒坂了正, 柳田紀之, 井口正道, 佐藤さくら, 富川盛光, 田知本寛, 宿谷明紀, 海老澤元宏: 食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎における早期診断の重要性. 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2008年6月
- 5) 海老澤元宏, 西間三馨 1): エピペン注射液の使用例の検討. 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2008年6月
- 6) 海老澤元宏: 医師の立場で. 第55回日本栄養改善学会学術総会, 鎌倉, 2008年9月
- 7) 海老澤元宏: 食物アレルギーへの対応について. 第30回日本臨床栄養学会総会 第29回日本臨床栄養協会総会 第6回大連合大会, 東京, 2008年10月
- 8) 佐藤さくら, 田知本寛, 小俣貴嗣, 杉崎千鶴子, 黒坂了正, 井口元道, 今井孝成, 富川盛光, 齋藤明美, 安枝 浩, 海老澤元宏: 105. アレルギーマーチの進展因子と予防に関する研究(第1報). 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) 海老澤元宏: 食物アレルギーの自然歴. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2008年11月
- 10) 小俣貴嗣, 黒坂了正, 柳田紀之, 井口正道, 佐藤さくら, 今井孝成, 富川盛光, 宿谷明紀, 海老澤元宏: ピーナッツアレルギー診断におけるピーナッツ抗原(Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 8)の意義. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2008年11月
- 11) 海老澤元宏: 小児アレルギー疾患の発症・進展・重症化の予防対策について. 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) 海老澤元宏: アナフィラキシーへの対策について. 第45回日本小児アレルギー学会, 横浜, 2008年12月
- 13) 小俣貴嗣, 林 典子, 海老澤元宏: 食物負荷試験. 第45回日本小児アレルギー学会, 横浜, 2008年12月

### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

研究分担者 眞弓 光文 福井大学医学部病態制御医学講座小児科学 教授  
研究協力者 大嶋 勇成 福井大学医学部附属病院小児科 講師

**研究要旨：**小児一般診療の場で有用な小児気管支喘息早期診断・治療指針を、日本小児アレルギー学会の小児気管支喘息ガイドライン（JPGL）との整合性を図りながら策定し、その妥当性、有用性を評価するため、JPGL の診断基準あるいは主治医判断により乳児喘息と診断された児 155 名を登録、3 歳時点で喘息と診断することの妥当性を判定しえた 124 名を解析した。JPGL 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が 30%含まれると考えられた。JPGL の診断基準では本人のアレルギー検査結果が参考所見に組み込まれているが、半数以上の症例で測定されておらずその有用性は低かった。全身性ステロイド投与による症状改善は喘息と診断された児の 63%、診断されなかった児の 31%に認められ、乳児喘息の診断精度を上げる上で、全身性ステロイド投与がなされた場合はその症状改善効果を参考所見として組み込むことが有用と考えられた

#### A. 研究目的

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

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

#### B. 研究方法

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

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

その診断根拠と診断時点での治療内容をデータベース化し、追跡調査を行なった。3 歳時点での臨床症状と治療内容の再調査で喘息と診断することが妥当であるか否かを判定し、乳児喘息と診断した時点での臨床症状や JPGL の診断基準の参考所見が喘息の早期診断にどの程度有用で妥当性があるかを解析した。

（倫理面への配慮）

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

#### C. 研究結果

2008 年 3 月末までに 155 名（男児 113 名、女児 42 名）の登録を完了し、データベースを構築した。2008 年 10 月末までに（現在も追跡調査継続中）3 歳時点での臨床症状と治療内容の再調査を 124 名（男児 88 名、女児 36 名）（初回登録患者の 80%）で完了した。再調査不能事由は 3 歳に達していないもの 25 名、転居などのため再調査不能 6 名であり、全例 JPGL 及び主治医判断の両方で乳児喘息と診断されていた。

3 歳時点で喘息と診断された児は 89 名（71.8%）で、診断されなかった児は 35 名（28.2%）だった。診断されない理由は、喘息が寛解したものの 20 名、他疾患と診断されたもの 15 名（気管支炎 9 名、喘息性気管支炎 3 名、細気管支炎 1 名）だ



った。JPGL および主治医判断の両者で乳児喘息と診断された 88 名中 69 名 (78.4%) が喘息と診断されたのに対し、JPGL のみまたは主治医判断のみで診断された児では、それぞれ 17 名中 9 名 (52.9%)、19 名中 11 名のみ (57.9%) が喘息と診断された。JPGL のみで診断された児 7 名 (41.2%) は他疾患と診断され、主治医のみで診断された 6 名 (31.5%) は寛解したと判定されていた。

3 歳時点で喘息と診断された児とされなかった児を比較すると、家族の喘息・吸入抗原特異 IgE 値・高 IgE 血症、本人のアトピー性皮膚炎・食物による蕁麻疹・好酸球増多・気道感染がない時の呼気性喘鳴・ $\beta_2$  刺激薬吸入による改善・細気管支炎の既往・肺炎の既往の各項目の陽性率に有為の差を認めなかった。本人の吸入抗原特異 IgE・高 IgE 血症陽性率は喘息と診断された群ではされなかった群に比べ高い傾向を認めたが、半数以上の症例では測定されていなかった。全身性ステロイド投与による症状改善は喘息と診断された児の 63% に認められたのに対し、診断されなかった児では 31% にとどまった。乳児喘息と診断した時点での重症度は 3 歳時の喘息診断とは有為の相関を示さなかった。全身性ステロイド投与による症状改善を認めた群では認めなかった群にくらべ、乳児喘息と診断した時点での重症度がより重い傾向を認めた。

ロジスティック解析による診断予測モデルでは、強制投入法、漸減法、漸増法の各方法で作成したいずれの予測モデルにおいても全身性ステロイド投与への反応性が組み込まれ、その寄与度が最も高かった。

#### D. 考察

JPGL 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小児喘息患者としての長期管理を要さない一過性喘鳴患者が 30% 含まれると推測される。また、JPGL と主治医の判断の両者で乳児喘息と診断された場合でも、他の疾患と一過性喘鳴患者がそれぞれ 7%、15% 程度まぎれこんでしまう。一過性喘鳴患者のうち、重症度が軽症持続型以上と判定された場合、JPGL では乳児喘息として長期管理薬による治療を行われることとなるが、このような患者に対し、呼吸器症状が無い時でも長期管理薬による治療を継続することが、乳児喘息から小児喘息への移行を阻止する上で有効であった

のか、逆に無益な治療を行ったことになるのかは今後の検証していく必要がある。

JPGL の診断基準では家族歴、本人のアレルギー検査結果が参考所見となっているが、臨床現場では測定されていない例が多く、その有用性は低いと考えられた。一方、 $\beta_2$  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、典型的小児喘息への移行を予測する目的としては有用でなかった。

典型的小児喘息への移行を予測する上で診断時の発作頻度に基づく重症度は有用でないのに対し、全身性ステロイドの改善効果が有用であったことから、発作頻度より発作時において発作治療薬として全身性ステロイド投与を要する程な発作をおこしたか否かが重要と考えられた。また、全身性ステロイドの改善効果が本人のアレルギー検査結果と弱い相関を示したことから、臨床現場において測定される機会が少ない本人のアレルギー検査結果を一部反映したものとして利用できると考えられた。

#### E. 結論

一般小児科診療の現場で乳児喘息の診断精度を上げる上で、全身性ステロイド投与がなされた場合はその症状改善効果を参考所見として組み込むことが有用と考えられた。

乳児喘息と診断された患者の一部には小児喘息へと移行しない患者群も存在する。この患者群において喘息の長期管理薬が移行を阻止したことで有益であったのか、無益な治療をしていたのかは検証することが必要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yamada A, Ohshima Y, Yasutomi M, Ogura K, Tokuriki S, Naiki H, Mayumi M. Antigen-primed splenic CD8<sup>+</sup> T cells impede the development of oral antigen-induced allergic diarrhea. J Allergy Clin Immunol (in press)
- 2) Omata N, Ohshima Y, Yamada A, Yasutomi M, Tokuriki S, Mayumi M. A case of

milk-protein-induced enterocolitis associated with enterotoxigenic E. coli and MRSA infections. Eur J Pediatr 2008;167:683-684

- 3) Kobata R, Tsukahara H, Ohshima Y, Ohta N, Tokuriki S, Tamura S, Mayumi M. High levels of growth factors in human breast milk. Early Hum Dev. 84:67-9 (2008)
- 4) 足立雄一, 村上巧啓, 中村利美, 谷内江昭宏, 大嶋勇成, 眞弓光文 外来での簡単な問診票とチェック表を導入することによる喘息ガイドラインに即した治療推進の効果. 日本小児アレルギー学会誌 22:369-378(2008)
- 5) 大嶋勇成 アレルギーの発症予防. 小児科診療 71:1085-1091(2008)
- 6) 大嶋勇成 食物アレルギーのこどもへの対応. 小児科臨床 61:1326-1332(2008)
- 7) 安富素子, 大嶋勇成, 眞弓光文. 樹状細胞機能からみた自然免疫とアレルギー性炎症の接点. 日本小児アレルギー学会誌 22:253-258(2008)
- 8) 大嶋勇成 樹状細胞とアレルギー. アレルギー 57:1265-1269(2008)
- 9) 大嶋勇成 小児アレルギー 喘息、湿疹、ポリシーが必要だ. 内科 (in press)
- 10) 大嶋勇成 衛生仮説 2009 小児科診療 (in press)
- 11) 大嶋勇成 食物アレルギーの診断と治療の問題点 福井県小児科医会会報誌. 37: 49-54(2008)

## 2. 学会発表

- 1) Yasutomi M, Ohshima Y, Mayumi M. Erythromycin inhibits IL-17 production through modulating monocyte-derived dendritic cell function. The 10th International Symposium on Dendritic Cells 2008 Oct1-5 Kobe, Japan
- 2) 大嶋勇成, 安富素子 シンポジウム アレルギー病態の分子生物学的解明 感染とアレルギーとの接点における抗原提示細胞の役割 第45回日本小児アレルギー学会 横浜 2008.12
- 3) 板澤寿子, 足立雄一, 村上巧啓, 中村利美, 竹ノ内裕実, 津田英夫, 大嶋勇成, 谷内江昭宏, 眞弓光文, 宮脇利男 気管支喘息患者児保護者における病態の理解度と治療目標に関する調査 第45回日本小児アレルギー学会 横浜市 2008.12
- 4) 山田彰子, 大嶋勇成, 眞弓光文 ミニシンポジウム 気管支喘息—動物モデル CD8+T 細胞による即時型食物アレルギー症状抑制効果の検討 第58回日本アレルギー学会秋季学術 東京 2008.11
- 5) 安富素子, 金谷由宇子, 大嶋勇成, 眞弓光文 ミニシンポジウム 抗原提示細胞 エリスロマイ大会シンは樹状細胞機能を介してメモリーT細胞の IL-17 産生を抑制する 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京 2008.11
- 6) 安富素子, 大嶋勇成, 眞弓光文 シンポジウム アレルギー疾患と環境因子 内分泌攪乱物質とアレルギー疾患 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京 2008.11
- 7) 大嶋勇成, 安富素子, 住本真一, 福井徹哉, 清益功浩, 樋垣泰伸, 南部光彦, 谷口義弘, 眞弓光文 ミニシンポジウム 小児喘息治療の進歩と残された課題 JPGL2005 の乳児喘息の診断基準の妥当性と問題点 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会 東京 2008.06
- 8) 大嶋勇成 教育講演 樹状細胞とアレルギー 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会 東京 2008.06
- 9) 大嶋勇成 特別講演 食物アレルギーの診断と治療の問題点 福井県小児科医会学術講演会 福井市 2008.03
- 10) 大嶋勇成 特別講演 アレルギー、感染症への対応 第52回全国乳児院研修会 福井 2008.07.03

## 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 山口 正雄 東京大学医学部附属病院アレルギー・リウマチ内科 講師

#### 研究要旨

アレルギー疾患のうちで、食物等アレルギーに関しては、食物アレルギーの診療の手引きが最近作られた段階であるが、薬物アレルギーにおける診断治療予防のガイドラインは未確立である。当初から分担研究者は薬物アレルギー、そのうちでもアナフィラキシーに焦点を絞り、小分子薬物によるアナフィラキシー症例を対象として発症のメカニズムの解析を続けてきた。今回、IgE 依存性反応の原因薬には通常挙げられていないものの、明瞭な即時型皮膚反応陽性を呈した小分子薬物が、*in vitro* 解析においては好塩基球・マスト細胞の活性化を引き起こしえないという結果を得た。IgE 依存および非依存という多彩な発症機序に基づくアナフィラキシー（様）反応に関して、一律に適用できるような汎用性の高い解析系確立の難しさが推察された。

#### A. 研究目的

一昨年の本研究班において、食物等アレルギーのうちでも薬物アレルギーを対象として、問診や診断の目安（案）を作るとともに、近年改訂された抗菌薬皮膚テストの施行原則についても概説した。また、生命に関わりうる重篤な反応を引き起こしうるアナフィラキシーについては、臨床医の間でも関心が高く、我々は発症機構の簡便かつ汎用性の高い解析システムの確立を目指して検討を行ってきた。既に行ったIgE依存性反応の解析に引き続き、今回は、IgEの関与が従来から不詳と扱われている薬物によるアナフィラキシー症例に関して*in vitro*で検討を行った。

#### B. 方法

分担研究者の自験例のうちでも、小分子薬物の1つニューキノロン系抗生物質で引き起こされたアナフィラキシー症例を対象として、*in vitro*での安全確実な検査システムの構築を目指した。具体的には、即時型皮膚反応で高度の過敏性を示した患者の血清を用

いて受身感作された好塩基球およびマスト細胞の薬物依存性脱顆粒を解析するとともに、様々な細胞反応性増強因子の前処理も加えることで実験系の有用性を検討した。

（倫理面への配慮）

今回の分担研究者の解析において、遺伝子の収集や解析は行わなかった。

#### C. 研究結果

原因薬（レボフロキサシン）のみならず複数のニューキノロン系薬剤に対しても即時型皮膚反応の交差反応を呈したアナフィラキシー患者の末梢血好塩基球だけでなく、患者血清で受身感作した好塩基球や培養マスト細胞も原因薬（レボフロキサシン）に対して全く脱顆粒反応を起こさなかった。好塩基球表面のCD203c発現を指標とした検討でも変化を認めなかった。好塩基球に対してIL-3を用いたpriming、マスト細胞に対してIL-4（細胞反応性およびFcεRI発現を増強）およびIFN-γ（FcεRI発現の誘導）を用いた

priming を行ったが、原因薬およびその他の同系統薬剤に対する反応は惹起されなかった。

#### D. 考察

小分子薬物を抗原とするアナフィラキシー症例のうちでも、我々が今までに検討したアミノグリコシド系抗生物質を原因とする2例、およびアルデヒド系消毒薬を原因とする3例においては、即時型皮膚反応が陽性であると共に、患者血清中の特異的 IgE 検出のための ELISA 系或いは好塩基球あるいはマスト細胞の刺激系を確立できた。しかし、今回の検討結果に基づくと、ニューキノロン系抗生物質を対象とする場合には、好塩基球あるいはマスト細胞の *in vitro* 刺激系を確立することは現時点では不可能であった。薬物の種類により、アナフィラキシー発症のメカニズムが異なることは当然ではあるが、臨床症状が似通っている IgE 依存性および非依存性アナフィラキシー(様)反応において、いずれのメカニズムに対しても通用するような *in vitro* 解析系の確立は困難と考えられた。

#### E. 結論

薬物アレルギーに関しては、病態メカニズム解析手法、医療関係者への周知といった様々な面で立ち遅れており、これら全般の充実が必要と考えられる。今年度は基礎面においての解析を進めたが、*in vitro* での再現は決して容易ではなかった。IgE 依存性反応に比べて患者数においてはもっと多数を占めると思われる IgE 非依存性反応においては、今後新たな実験システムの構築が必要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yamaguchi M, Koketsu R, Suzukawa M, Kawakami A, Iikura M. Human basophils and cytokines/chemokines. *Allergol Int* 58(1):1-10,2009.
- 2) Fujisawa T, Nagao M, Hiraguchi Y, Hosoki K, Tokuda R, Usui T, Masuda S, Shinoda M, Hashiguchi A, Yamaguchi M. Biomarkers for allergen immunotherapy in cedar pollinosis. *Allergol Int*, in press.
- 3) Koketsu R, Suzukawa M, Kawakami A, Komiya A, Ra C, Yamamoto K, Yamaguchi M. Activation of basophils by stem cell factor: comparison with insulin-like growth factor-I. *J Invest Allergol Clin Immunol* 18(4):293-299,2008.
- 4) Nagao M, Noma-Hiraguchi Y, Hosoki K, Tokuda R, Usui T, Masuda S, Yamaguchi M, Fujisawa T. Allergen-induced basophil CD203c expression as a biomarker for rush immunotherapy in patients with Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol* 146(suppl 1):47-53,2008.
- 5) 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.
- 6) 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):1245-1253,2008.
- 7) 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):5981-5989,2008.
- 8) 山口正雄。好塩基球とアレルギー。 *Medical Science Digest* 35(2):59-61,2009. ニューサイエ