

C. 研究結果、D. 考察および、E. 結論
プロトコール1

① ICS 中止時の気道過敏性

対象患者 112 名の初回 MCT 検査でのメサコリン閾値 PC20 の頻度では、全員が 0.063mg/ml 以上であった。重症度と PC20 閾値の人数を図 4 に示した。

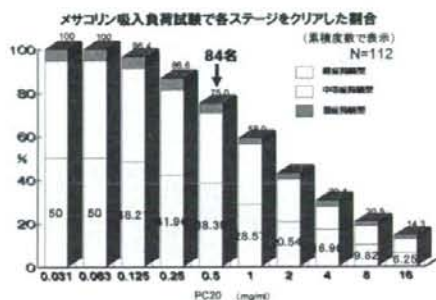


図 4 重症度別の PC20 の別の頻度

初回の PC20 が 16mg/ml 以上であったのは 17 名、0.5mg/ml 以上が 75% にあたる 84 名であった。このうち ICS の継続を希望した 11 名をのぞいて、74 名が ICS を中止した。

② ICS 中止後 16 ヶ月までの臨床経過

吸入ステロイドを中止した 72 名の経過を示す。全く発作なし (A) が 32 名 (50%: 脱落群 F を除く)、間欠型 (C) までで維持できたのが 56 名 (87.5%) であった (図 5)。



図 5 ICS 中止 16 ヶ月までの臨床症状の推移

③ ICS 中止後 24 ヶ月までの臨床経過

24 ヶ月まで経過の追えている 74 例について判定すると、全く発作なし (A) が 32 名 (50.8%: 脱落群 F を除く)、間欠型 (C) までで維持できたのが 51 名 (81.0%) であった (図 6)。



図 6 ICS 中止後 24 ヶ月までの臨床症状の推移

前年度に脱落例として扱っていた症例に関して、今年度にかけて調査が終了した症例を加えて再検討を行った。24 ヶ月までフォローできた 74 例のうち、脱落した 11 例を除いて分析すると軽症持続型までを維持しているのは 16 ヶ月のときより減少し 86.7% であった。

④ 各群間の比較

24 ヶ月後の経過により A~H 群まで分類し、性別、年齢、発症年齢、重症度、吸入ステロイド薬使用日数、無発作期間、血清総 IgE 抗体、ハウスダスト特異的 IgE 抗体、末梢血好酸球数を各群間で比較した。ICS 使用期間は、ABC 群が DE 群に比較して有意に長かった。血清 IgE 抗体は、A 群が H 群より少なかった。末梢血好酸球数は、A 群が EH 群に比べて少なかった。ICS 中止時メサコリン気道過敏性試験の値である PC20 は、AB 群が CDE 群に比べ高かった。

⑤ ICS 中止後の気道過敏性の変化

観察期間 24 ヶ月間全く発作がなかった A 群の気道過敏性 PC20 の変化を図 7 に示した。中止時から 7 ヶ月にかけて過敏性は優位な差をもって一時的に亢進し、16 ヶ月の時点で再び改善した。

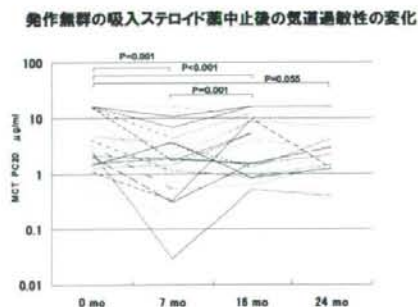


図 7 無発作 A 群の気道過敏性の変化

BC 群の気道過敏性の変化を図 8 に示した。ICS 中止後に A 群と同様に亢進し、7 ヶ月後に一時回復するがその程度は少なく、その後の改善も A 群に比較して少なかった。

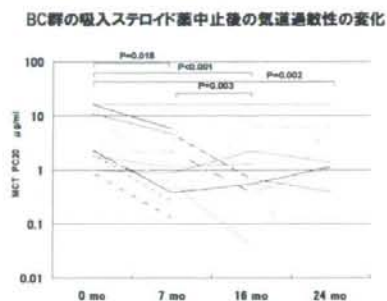


図 8 BC 群の気道過敏性の変化

プロトコール 2

現在エントリーは、今年度は、28名(男児16、女児12名)。平均年齢11歳4ヶ月、重症度は軽症持続型5名、中等症持続型6名、重症持続型7名。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(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

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

アレルギーのテーラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化

分担課題名：気管支拡張薬の代謝、効果、および副作用に関する遺伝学的研究

分担研究者 山口悦郎 愛知医科大学医学部 呼吸器・アレルギー内科 教授

研究要旨

成人喘息治療において、気管支拡張薬である β_2 刺激薬を使用する機会は依然として多い。その中で頻用されるプロカテロールの代謝酵素であるCYP3A4とUGT1A1の遺伝子多型と、 β_2 作用を司るADRB2の遺伝子多型について、プロカテロールの代謝諸指標および生理作用との関連を検討した。対象は20歳以上の非喫煙学生ボランティア65名。プロカテロールを $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の用量で、但し上限量を $50\mu\text{g}$ として内服させた。内服後、経時的に血中プロカテロール濃度、生理的諸指標を測定した。遺伝子多型に関してCYP3A4についてはrs2246709とrs4646437を、UGT1A1についてはイリノテカン代謝との関連が証明されているUGT1A1*28とUGT1A1*6を、またrs12479045、rs4148328、rs4148329、rs4663971を、ADRB2についてはArg16→Gly(rs1042713)とGln27→Glu(rs1042714)をタイピングした。UGT1A1の一つのSNPは、プロカテロール濃度のAUCと強い相関を示した。またその他のSNPも血圧や脈拍、血清 K^+ などの生理的指標と相関した。CYP3A4とADRB2の遺伝子多型は、プロカテロールのいかなる指標の変動量とも相関を示さなかった。以上より、UGT1A1がプロカテロールの代謝および作用の遺伝的個体差の主体である可能性が示唆された。

A. 研究目的

成人喘息患者に対する長期管理の主薬は言うまでもなく吸入ステロイドである。しかし、吸入ステロイドの用量・効果相関はあまり明確ではなく、一定の吸入ステロイド使用によっても症状のコントロールが不良な患者では、吸入ステロイドを倍増するより他の薬剤を加えた方がより良いコントロールが得られることが証明されている。その中でもっとも強い効果を示すのは β_2 刺激薬である。

β_2 刺激薬の作用は β_2 アドレナリン受容体(ADRB2)を介するが、その遺伝子には多数の一塩基多型(SNP)があり、初期に見出されたいくつかの多型は β_2 刺激薬による受容体の発現低下と相関していた。それを前提に多くの研究が過去に発表されているが、その結果は必ずしも一定していない。その理由として研究が喘息患者を対象としており、他の抗喘息薬の影響を完全に除外しているわけではない点などがある。そこで本研究では、薬物の影響が代謝や反応性の純粋な遺伝的個体差に基づくか否かを健常者で検討することを目的とした。

今年度は、 β_2 刺激薬であるプロカテロールの肝代謝に関与するCYP3A4とプロカテロールをグルクロン酸抱合する酵素であるUGT1A1の遺伝子多型と、プロカテロールの作用を司るADRB2の遺伝子多型について、プロカテロールの代謝諸指標および生理作用との関連を、測定時間を投与後7時間まで延長して検討した。

B. 研究方法

対象は20歳以上の非喫煙学生ボランティア65名(男43名、女22名、年齢中央値23歳[20-31])である。プロカテロール(メブチン顆粒R、プロカテロール $1\mu\text{g}/10\text{mg}$ 顆粒)を $10\text{mg}/\text{kg}$ 体重の用量で、但し上限量を 500mg として、コップ1杯の水で、12時間以上の絶食後、朝9時頃に内服させた。内服後、経時的(60分、120分、180分、240分)に血中プロカテロール濃度を測定した。22名については420分後まで採血し、半減期やAUC(0→t)、クリアランスなどの薬物代謝指標を算出した。内服前と内服後60分には呼吸機能を測定した。また内服前と内服後各採血時点の血圧、脈拍を測定するとともに、動悸、手指の震せんなどの副作用の有無を記録した。血清プロカテロール濃度は、HPLC法により東レリサーチセンター(鎌倉市)にて測定した。

遺伝子多型に関して代謝酵素の一つであるCYP3A4についてはARMS法により日本人のtag SNPであるrs2246709とrs4646437を、ADRB2についてはTaqMan probeRを用いてArg16→Gly(rs1042713)とGln27→Glu(rs1042714)をタイピングした。またUGT1A1の多型のうち、イリノテカン代謝との関連が証明されているUGT1A1*28を直接シーケンス法により、またtag SNPであるrs12479045、rs4148328、rs4148329、rs4148323、rs4663971をARMS法によりタイピングした。SNPによって分類した各測定値の差は、遺伝子

型が3群の場合はKruskal-Wallis試験で、2群の場合はMann-Whitney試験で検定した。出現頻度の差は χ^2 検定で評価した。

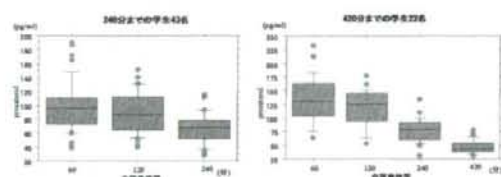
(倫理面への配慮)

本研究は3省庁による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき研究計画を立て、本学の倫理委員会の承認を得た(本学倫理申請書受付番号261)。その際に作成した説明文書を用いて説明し、被験者全員から同意を文書で得た。

C. 研究結果

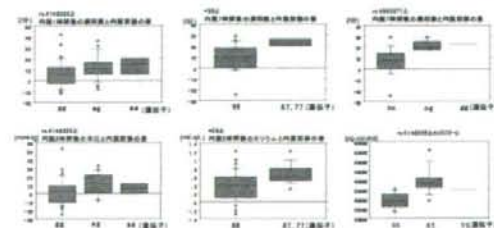
プロカテロール内服後の血清プロカテロール濃度中央値は、240分までの学生では1時間後が96pg/ml、2時間後87pg/ml、4時間後68pg/mlと推移した。420分までの学生では1時間後が131pg/ml、2時間後125pg/ml、4時間後78.8pg/ml、7時間後43.7pg/mlと推移した(図1)。

図1 内服後 Procaterol 濃度推移



UGT1A1 rs4148323は1時間後の脈拍数の投与前からの変動量($p=0.04$)、および2時間後の血圧の投与前からの変動量と有意な相関を認めた($p=0.03$)。UGT1A1 rs4148329はAUC(0→t)と高度に相関していた($p=0.002$)。UGT1A1*28は7時間後の脈拍数の投与前からの変動量($p=0.02$)と、2時間後のカリウムの投与前からの変動量($p=0.01$)さらにUGT1A1 rs4663971は7時間後の脈拍数の投与前からの変動量と相関する傾向があった($p=0.02$)(図2)。

図2 有意な相関を認めたUGT1A1の多型と諸指導



ADRB2とCYP3A4の遺伝子多型は、プロカテロールのいかなる薬物代謝指標や生理的指標の変動値とも相関を示さなかった。

D. 考察

今年度の研究で、薬物代謝指標を算出できたのは22名と少なかったが、それでも主要な代謝酵素であるUGT1A1の一つのSNPは、プロカテロール濃度上昇とその持続の指標であるAUCと強い相関を示した。またその他のUGT1A1のSNPも血圧や手指震顫などの生理的指標と相関し、本酵素がプロカテロールの代謝および作用の遺伝的個体差の主体である可能性が示された。今後さらに検討例数を増やして結論を導く予定である。

一方でCYP3A4の関与は少ないと推定される。またADRB2は今年の検討でもプロカテロール内服後の生理的指標と相関を示さなかった。調査した二つのSNPが機能的変異であることに関して疑念を感じさせる結果となった。

E. 結論

プロカテロールの代謝と関連していると考えられるUGT1A1遺伝子多型と、血圧、脈拍、1秒率などの変動および手指震顫など β 作用を反映する循環・呼吸・神経指標とは一部で有意な相関を認めたが、CYP3A4遺伝子、ADRB2遺伝子では有意な相関は認めなかった。

420分の例数を増やし薬物代謝諸指標(半減期、clearance、AUCなど)と代謝酵素遺伝子多型の関係の再評価や、代謝に影響を及ぼす遺伝子多型については連鎖不平衡の関係にあるSNPを同定しハプロタイプを構築することが次年度の課題である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

- 論文発表
なし
- 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 特許出願
なし
- 実用新案
なし
- その他
なし

分担課題名：アレルギー疾患における薬物の反応性とテラーメイド治療
ガイドラインについての検討

分担研究者 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

研究要旨

アレルギー疾患のテラーメイド治療を行うためには種々の患者情報と薬物を始めとする治療への反応性を検討する必要がある。我々は症状を始め種々の患者情報に加えて、気道炎症のマーカーである呼気 NO (e-NO) ならびに呼気凝集液 (EBC) 中のサイトカイン等の測定をこころみた。その結果、e-NO については On-line 法と Off-line 法を一致させるための条件が明らかとなった。さらに喘息患者では高値を示し、また、治療により e-NO が減少することが判明した。一方、EBC については測定可能な物質と測定感度以下の物質があり、今後さらに薬物の反応性とこれらの指標の関連について検討の必要であることが判明した。

研究協力者

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

表 1

テラーメイド治療と患者情報

- 免疫グロブリン: IgE, 特異 IgE, IgG, 特異 IgG?
- 細胞: 好酸球, リンパ球, 好塩基球, 好中球など
- 化学伝達物質: ヒスタミン, ロイコトリエンなど
- 神経系からの情報: 気道過敏性など
- 生理的検査項目: 肺機能など
- 遺伝子, 家族歴
- 重症度と治療反応性
- 呼気・喀痰からの情報: e-NO, 呼気凝集液, 喀痰中の細胞や物質
- これらを因子としてテラーメイド医療の GL を作成

A. 研究目的

気管支喘息を始めとするアレルギー性疾患は multi factorical な疾患であり、個体によって薬物の反応性も異なる。またその治療は長期にわたり副作用の少ない、かつ個体の薬物への反応性に沿った治療が求められる。

すでに種々の疾患で個体の特性にあった治療、すなわちテラーメイド治療が行われている。しかし、アレルギー疾患については十分な検討が行われていない。我々は患者から得られる種々の情報のうち、テラーメイド医療に役立つと考えられる気道炎症の因子を検討した。すなわち、アレルギー患者からの情報としては、表 1 にかかげた情報がある。すなわち、免疫グロブリン、各種炎症細胞、化学伝達物質や生理的検査から得られる情報（肺機能や気道過敏性）さらには病型や重症度、家族歴などがある。近年、気管支喘息においては、呼気 NO (e-NO) や呼気凝集液中のサイトカインが注目されており、気道の炎症を表すものとして考えられている。しかし、その測定方法は必ずしも確立されておらず、的確な患者情報としては十分には利用しえない。そこで、今回これらの標準的測定方法の確立や薬物に対する反応性について検討した。

(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。

B. 研究方法と C. 研究結果

1) e-NO の測定

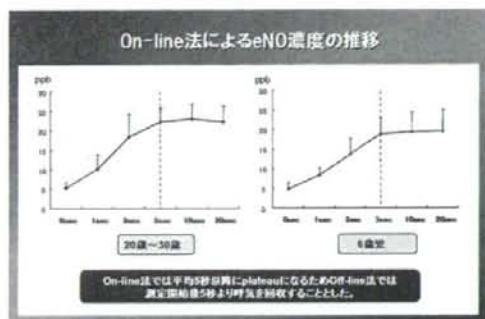
NO は炎症の増悪、アポトーシス、発癌等の作用があるとされ、気道では上皮より産生され気道炎症の過程において、多様な生理機能の調節に関与する気体シグナル分子である。NO は炎症により活性化された気道上皮からの産生増強がある。その測定方法は測定器に直接呼気を入れる直接法 (On-line 法) があるが、測定器の重量と移動性の問題から特殊な袋に回収する Off-line 法が望ましいとされる。

i) On-line 法による e-NO 濃度の推移

On-line 法において e-NO 濃度の時間的推移を検討した。図 1 に示すように 6 歳児でも成人でも平均 5 秒後に一定になるため、Off-line 法

では測定開始後5秒より呼気を回収した。また、呼気流速を50ml/sec、呼気圧を20~22cm H₂Oとした結果 On-line 法と Off-line の測定値については、 $r=0.978$ 、 $r=0.957$ と高度な相関がみられた。

図 1



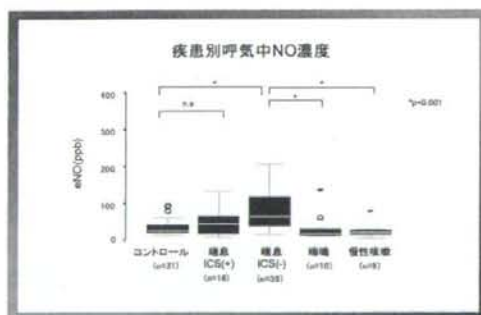
ii) 対象

健康者 31 名、喘息患者 55 名 (ICS 使用 16 名、非使用 39 名)、喘鳴 10 名、慢性咳嗽 9 名である。これらの被験者について IgE、RAST 等の検査を行った。

iii) 結果

図 2 に示すごとく、ICS 未使用の喘息患者はコントロール、喘鳴、慢性咳嗽のグループに比して有意に高値を示した。また、ICS を使用した患者では未使用群に比して有意に低値であった。また、喘鳴群や慢性咳嗽群での e-NO の上昇は見られなかった。

図 2



2) 呼気凝集液の (Exhaled Breath Condensate, EBC) 中の物質測定と e-NO との比較すでに EBC 中にはアデノシン、アンモニア、過酸化水素、ロイコトリエンや各種サイトカインが含まれることが報告されている。今回、小児においてこれらが測定しうるかを検討した。方

法としては、被験者 (6 歳以上の小児気管支喘息患者 16 名) に座位で安静呼吸を約 20 分い冷却後約 2ml の EBC を得、これを Multiplex Suspension Array System (Biorad) にて 27 種のサイトカイン、ケモカインを測定した。

i) 各種サイトカインと e-NO 疾患の比較

Eotaxin ならびに RANTES についてその測定値と e-NO の関係を図 3 に示した。X 軸の 1 は e-NO 50ppb 以上、2 は 50ppb 未満の喘息児、3 はコントロール群である。Eotaxin については e-NO が低い程 Eotaxin の高値を示したが、RANTES については有意な関連は認めなかった。IFN- γ や MCP-1 についても測定範囲 (図 4) のものと感度以下のものがあつた。

図 3

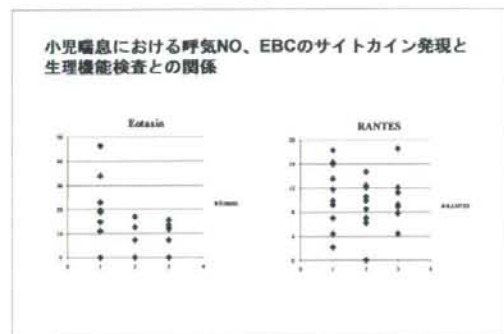
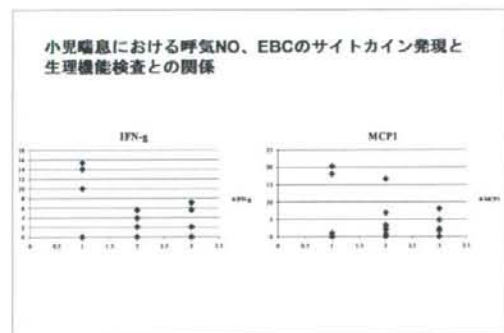


図 4



D. 考察

アレルギー性疾患における炎症の程度や薬物への反応性を推定する際に患者からの種々の情報が重要である。e-NO や EBC は気道の炎症を表すものとされてきた。しかし、その測定にはばらつきがあり、かつ測定方法にも問題があることが指摘されている。今回 e-NO については On-line 法と Off-line 法で値が相関するために

呼気流速を 50ml/sec、呼気圧を 20~22cm とし吹きはじめて 5 秒後からサンプル採取することにより問題が解決することが判明した。今後この方法を標準法として用いるべきと考えられた。それにより全国的に同一基準でデータが得られ同じ基準で使用しうることが明らかになった。また、正常値については、小児では年齢とともに上昇することが判明した。今後これらの値と薬物等の関係をみる必要があるが、現在までの検討では ICS やモンテルカスト使用で低下することがわかっている。今後更に病像、e-NO 値、薬物反応性について検討するべきであろう。一方、EBC は呼気中に含まれる蒸気や小粒子で冷却して重ねる方法で気腔に存在する気道液を反映する。成人ではその搾取にも侵襲がなく、重症者においても可能である。しかし、20分程度の安静呼気が必要である。さらに、サンプルの中に物質が測定しうる濃度があるか、そして再現性さらにその意義等は不明な部分が多い。今回は Multiplex suspension Array System (Biorad) にて 27 種類のサイトカイン、ケモカインを測定した。その結果、IFN- γ 、MCP-1、Eotaxin、RANTES 等が測定可能であった。まだ例数が少なく、それらの値と生理的意義測定値、さらにこれらと臨床症状について今後さらに検討の必要があろう

E. 結論

テーラーメイドの治療を行うためには患者からの各種情報と治療への反応性を比較することが重要である。その情報の 1 つとして呼気 NO や EBC が小児が測定しうることがわかり、さらに特に e-NO について標準的な方法が確立した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tadaki H, Arakawa H, Mizuno T, Suzuki T, Takeyama K, Mochizuki H, Tokuyama K, Yokota S, Morikawa A. Double-stranded RNA and TGF- α promote MUC5AC induction in respiratory cells. *J Immunol.* 2009;182(1): 293-300.

2. Wang J, Mochizuki H, Todokoro M, Arakawa H, Morikawa A. Soes leukotriene affect intra-cellular glutathione redox state in cultured human airway epithelial cells? *Antioxid Redox Signal.* 2008;10(4): 821-8
3. Mayuzumi H, Ohki Y, Tokuyama K, Sato A, Mizuno T, Arakawa H, Mochizuki H, Morikawa A. Age-related difference in the persistency of allergic airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness in a murine model of asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;143(4): 255-62.
4. 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;38(6): 707-14

2. 学会発表

1. 萩原里実, 只木弘美, 望月博之, 村松礼子, 荒川浩一, 森川昭廣. 小児の呼吸器疾患における呼気中 NO 濃度の測定. 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2007
2. 小山晴美, 望月博之, 村松礼子, 只木弘美, 萩原里実, 高見 暁, 水野隆久, 荒川浩一, 森川昭廣. 学童における肺機能検査と呼吸抵抗測定の意義. 第 25 回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会, 2008
3. Tadaki H, Mochizuki H, Muramatsu R, Hagiwara S, Takami S, Mizuno T, Arakawa H, Yokota S, Morikawa A. Measurements of exhaled nitric oxide in healthy 6 to 12 year olds. The 4th Congress of Asian Society for Pediatric Research, 2008
4. 望月博之. 小児における呼気中一酸化窒素 (eNO) の測定と気道炎症の評価. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2008
5. 只木弘美, 望月博之, 高見 暁, 村松礼子,

- 萩原里実, 水野隆久, 荒川浩一, 森川昭廣,
小児における呼気 NO 値と肺機能・呼吸抵抗との関連. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2008
6. 小山晴美, 望月博之, 只木弘美, 高見 暁,
萩原里実, 村松礼子, 水野隆久, 荒川浩一,
学童における肺機能検査と呼吸抵抗測定の
意義. 第 41 回 日本小児呼吸器疾患学会,
2008
7. 村松礼子. シンポジウム 2 「喘息治療・管
理ガイドラインにおける治療目標を達成す
るために」 「気道炎症の評価を中心に」, 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 (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

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
アレルギーのテラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化

分担課題名：小児気管支喘息における末梢気道の閉塞を示す患者に関する研究

分担研究者 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

研究要旨

末梢気道狭窄病変（%V50<70%）を有する患児に対して、粒子径の大きいFP-DPI（3.3 μm）使用群で粒子径のより小さいHFA-BDP（1.1 μm）へ変更することで末梢気道病変の改善がみられるかどうかの臨床的検討を研究初年度から開始している。エントリーできた症例は現在までに20例（男児15例、女児5例）である。期間としては1年間の検討を行っており、全症例が最終段階までには未だ到達していない。現時点ではFP、BDPいずれにおいても%V50の有意な改善や気道過敏性の改善傾向は認めていない。SNPs解析に向け、現在検体を収集中である。最終年度には末梢気道病変を有する症例で同意を得られた症例でCTを用いた画像診断もあわせ、最終的にはSNPs解析も行い、小児気管支喘息のテラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化へ貢献したいと考えている。

研究協力者

富川盛光 国立病院機構相模原病院小児科 医師

A. 研究目的

成人気管支喘息患者の中でも、小児期に喘息に罹患し一度寛解した人たちの特徴は、小児期において呼吸機能で%V50の低下など、既に末梢気道狭窄を示していた例が多くみられ、また、運動誘発喘息にみられるように気道過敏性が亢進している例も多くみられる。治療において吸入ステロイドが十分に使用されているが、吸入ステロイドの種類による粒子径の違いから末梢気道病変を有する患児に対する有効性の違いについて検討したデータはない。

小児気管支喘息患児において%V50の低下など末梢気道の狭窄病変を有する児の遺伝的素因などの背景因子や吸入ステロイドの種類（FP-DPIの粒子径3.3 μm、HFA-BDPの粒子径1.1 μm）による反応性の違いについて検討する。また、末梢気道の狭窄病変を有する児の遺伝的背景の検討のためSNPsの解析を行うこととした。

B. 研究方法

国立病院機構相模原病院小児科を受診している患者で以下の5項目を満たすものを対象とした。①6歳以上の小児気管支喘息患者、②肺機能測定が可能、③1年以上FP-DPIを使用中で症状が安定し%V50が70%未満の患児、④気

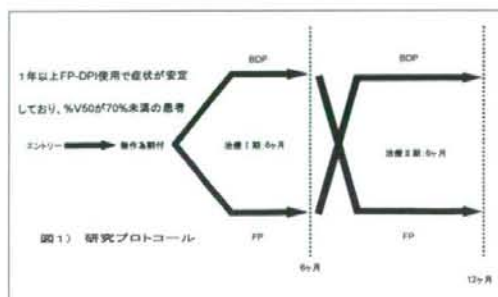
道可逆性試験において、 β_2 刺激薬吸入後のFEV1.0の増加率が12.5%以上又は増加量200 ml以上を示す患者、⑤試験開始2週間前に全身性ステロイドの投与を受けていない患者。

同意取得後無作為割付を行い、FP→BDP群（I群）と、BDP→FP群（II群）の2群に分け、6ヵ月後に薬剤を変更し、計12ヶ月間経過観察を行った。この研究中には原則として併用薬剤の変更は行わず、ICSの吸入量に関してもFPとBDPは同量とした。エントリー時に患者背景、気道の可逆性について検討し、2ヵ月毎の定期受診に合わせ日記による症状の確認と、肺機能検査を行う。

気道過敏性試験は必須項目とし、可能な限り運動負荷試験・NO測定を検査開始時、薬剤切り替えの6ヶ月時、検査終了時に測定する。

（倫理面への配慮）

この研究は、国立病院機構相模原病院の倫理委員会にて承認され実施している。



C. 研究結果

倫理委員会での承認後エントリーできた症例は現在までに20例(男児15例、女児5例)、平均年齢は12.7歳(範囲:8-22歳)、全例アトピー型喘息である。表1に背景を示す。無作為割付によりI群は11例(11例→9例→5例)、II群は9例(9例→8例→5例)となっている。なおI群で1名脱落例あり。I群の平均年齢がII群に比べ有意に高かったが、開始時の呼吸機能を含め、それ以外の因子に両群間に有意差を認めなかった。

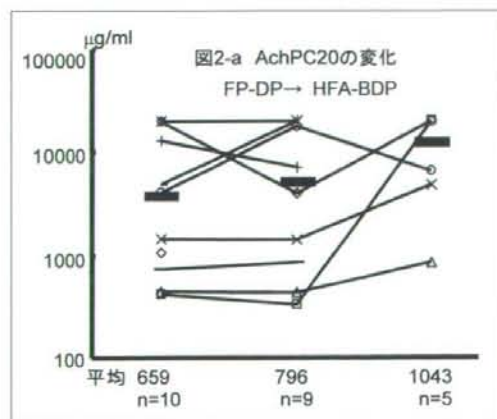
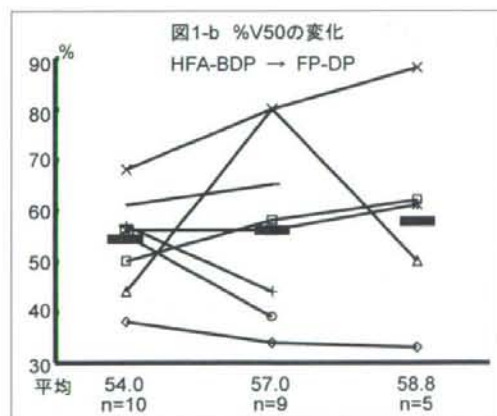
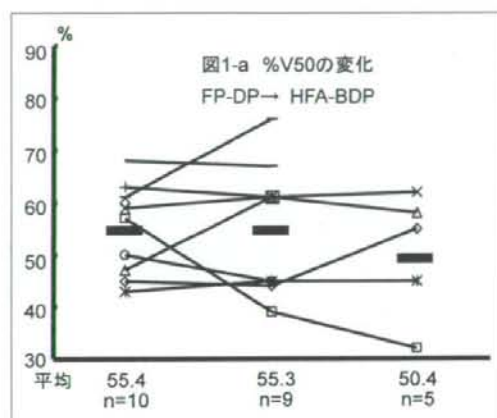
表1 患者背景

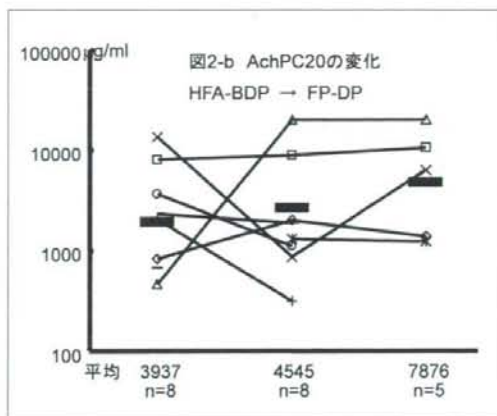
		FP→BDP群	BDP→FP群
例数		11	9
平均年齢 (range)*		14.4(8-22)	10.7(8-12)
男女比		2.67	3.5
平均罹患年 数(+/-SEM)		10.5(+/-1.3)	7.6(+/-0.7)
重症度	重症 持続型	1	1
	中等 症持続 型	5	5
	軽症 持続型	5	3
治療薬 平均ICS投 与量/日		140	117
平均 AchPC20 (+/-SEM)		6490(+/-2292)	3938(+/-1350)
平均%FEV1.0 (+/-SEM)		85.6(+/-2.7)	79.0(+/-2.4)
平均%V50 (+/-SEM)		56.0(+/-2.4)	54.0(+/-2.8)

* : t-test<0.05

6ヶ月ごとの呼吸機能の変化は%FEV1.0の平均はI群85.6→85.2→84.0%、II群79.0→85.0→85.6%、%PEFの平均はI群88.1→91.3→90.4%、II群93.4→99.1→89.6%(図1-a)、%V50の平均はI群55.4→55.3→50.4%(図1-b)、II群54.0→57.0→58.0%であった。AchPC20は平均I群6,596→7,965→10,435 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ (図2-a)、II群3,937→4,545

→7,876 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ (図2-b)であった。FP投与期間ごと、BDP投与期間ごとでまとめると、FP投与期間の%V50の平均は前後で57.0→56.6%、AchPC20の平均は前後で7,011→9,668 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ 、BDP投与期間の%V50の平均は前後で52.2→54.6%、AchPC20の平均は前後で5,545→5,155 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ であった。





D. 考察

昨年度から開始の研究で観察期間が1年間行われる研究のため、現時点では最後まで完遂した症例は両群ともに5例にとどまっている。%V50の変化は6ヶ月までで比較すると有意差は認めないが、FP投与期間よりBDP投与期間の方が改善傾向にある。しかし12ヶ月終了した例数の中ではFP投与期間の方が改善傾向にあった。今後12ヶ月までの症例追跡を完遂し来年度最終報告としたい。AchPC20による気道過敏性検査では両群ともに6ヶ月、12ヶ月と有意差は認めなかったものの改善傾向にあった。

末梢気道閉塞に関わるSNPs解析は、本年度の倫理委員会で承認を得て現在検体を収集中である。来年度にあわせて報告予定である。

E. 結論

末梢気道狭窄病変を有する患児に対して粒子径の大きいFP-DPI使用群で粒子径のより小さいHFA-BDPへ変更することで末梢気道病変の改善がみられるかどうかの検討を行っているところであるが、検討途中で結論は出ていない。最終年度には末梢気道の評価法として、CTを用いた画一的なアプローチやSNPs解析などを行い、小児気管支喘息のテーラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化へ繋がりたいと考えている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 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
- Michishige Harada, Tomomitsu Hirota, Aya I Jodo, Satoru Doi, Makoto Kameda, Kimie Fujita, Akihiko Miyatake, Tadao Enomoto, Emiko Noguchi, Shigemi Yoshihara, Motohiro Ebisawa, Hirohisa Saito, Kenji Matsumoto, Yusuke Nakamura, Steven F Ziegler, and Mayumi T : Functional analysis of the Thymic Stromal Lymphopoietin Variants in Human Bronchial Epithelial Cells. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol, 40 368-374, 2009
- 望月博之, 海老澤元宏, 五十嵐隆夫, 岩田 力, 小田嶋安平, 松井猛彦 : 平成19年度 気道過敏性試験の診療実態に関するアンケート調査報告. 日本小児アレルギー学会誌 22 (2) 314-317, 2008
- 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

- 海老澤元宏 : 乳幼児喘息治療の最前線. 第111回日本小児科学会学術集会, 東京, 2008年4月
- 富川盛光, 黒坂了正, 柳田紀之, 井口正道, 小俣貴嗣, 今井孝成, 宿谷明紀, 海老澤元宏 : 末梢気道狭窄を有する小児気管支喘息児に対するHFA-BDPの有効性に関する検討—第1報—. 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) 黒坂了正, 柳田紀之, 小俣貴嗣, 今井孝成, 富川盛光, 田知本寛, 宿谷明紀,
海老澤元宏: 気管支喘息重責発作に対する
プロカテロール持続吸入療法 (第二報),
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) 井口正道, 黒坂了正, 柳田紀之, 小俣貴嗣,
今井孝成, 富川盛光, 田知本寛, 宿谷明紀,
海老澤元宏: 217, 気管支喘息発症高リス
ク群におけるアーリーインタベンションと
しての pranlukast の効果 (第 2 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
- 5) 黒坂了正, 富川盛光, 柳田紀之, 井口正道,
小俣貴嗣, 今井孝成, 宿谷明紀,
海老澤元宏: 小児気管支喘息の発作程度判
定における SpO₂ の精度に関して, 第 58
回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京,
2008 年 11 月
- 6) 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
- 7) 富川盛光, 黒坂了正, 柳田紀之, 井口正道,
小俣貴嗣, 今井孝成, 宿谷明紀,
海老澤元宏: 末梢気道狭窄を有する小児気
管支喘息児に対する HFA-BDP の有用性
に関する検討—第 2 報—, 第 45 回日本小
児アレルギー学会, 横浜, 2008 年 12 月
- 8) 渡辺博子, 堀向健太, 大矢幸弘, 赤澤 晃,
海老澤元宏, 小田嶋博, 藤澤隆夫,
平野幸子: 小児気管支喘息予後調査～2 年
後経過報告～, 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 (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

研究要旨

小児アレルギー疾患は思春期に至るまでに自然寛解することが多いが、最近では、寛解年齢を超えても改善がみられずキャリアオーバーする例が増加傾向にある。これらを早期に同定して積極的介入を行えば、予後を改善できる可能性があるため、本研究では小児アレルギー疾患の代表である食物アレルギー（鶏卵アレルギー）と気管支喘息について、その予後を予測する因子の解明をめざした。鶏卵アレルギー診断が経口負荷試験または1ヵ月以内の明らかな誘発症状により確定された66例において、オボムコイド・ドメイン3分子（OM-DM3）による好塩基球CD203c発現をフローサイトメトリーを用いて定量した。そして、1年後に負荷試験で耐性獲得の有無を判定、初回のCD203c発現^{high}値の予後予測性能について解析した。気管支喘息では、吸入ステロイド（ICS）治療を中止後、1年以上経過を追跡できた思春期喘息患者40例について、中止後の再燃の有無に関わる臨床的諸因子を後方視的に解析した。その結果、鶏卵アレルギーと診断された66例のうち、1年後には24例が加熱卵に耐性を獲得、42例が非耐性のままであった。診断時のOM-DM3誘発CD203c^{high}は非耐性群で有意に高値であり、ROC解析によるAUCは0.893と高い診断効率を示した。最大の尤度比を得るカットオフ値での感度は91.7%、特異度は87.7%、陽性予測率94.7%、陰性予測率78.6%であった。本検査により鶏卵アレルギー患者の1年後の寛解傾向を予測することが可能と考えられた。次に、喘息ではICS中止後、無発作または間欠型を維持できたのは47.5%、再燃して軽症持続型以上となったのは52.5%であった。再燃の有無に関与する臨床的背景因子を検討したところ、有意であったのはICS中止前の無発作期間であり、6ヵ月以上の例は6ヵ月未満例よりも有意に寛解期間が長かった。以上の結果より、鶏卵アレルギーの寛解予測にはオボムコイド・ドメイン3分子による好塩基球CD203c、思春期喘息のICS中止後の予後予測にはICS投与中の無発作期間が有用な因子となることが明らかとなった。

研究協力者

長尾みづほ 国立病院機構三重病院 レジデント
徳田玲子 国立病院機構三重病院
臨床研究部研究員

Induction:SOTIなど）を行い、寛解誘導が可能であることが報告されているが、どの患者にその適応があるのかを判定する基準はない。予後を予測するマーカーがあれば、自然寛解の可能性が低い例を早期に同定、治療対象とすることは可能である。

私たちは好塩基球活性化マーカーCD203cの抗原特異的発現が鶏卵、牛乳、小麦アレルギーの診断に有用であることをこれまでの班研究で明らかにしてきた。今回は、鶏卵アレルギーの新しい予後予測マーカーとして、オボムコイドドメイン3によるCD203c発現量の有用性について検討した。

一方、気管支喘息は思春期に寛解することが多いが、それまで行ってきた吸入ステロイド（ICS）による長期管理をいつ中止すればよいのかの基準が存在しない。そこで、思春期喘息患者において、ICS中止後の予後に関連する因子を解析し、ICSの安全な中止基準を明らかに

A. 研究目的

小児アレルギー疾患は思春期に至るまでに自然寛解することが多いが、最近では、寛解年齢を超えても改善がみられずキャリアオーバーする例が増加傾向にある。これらを早期に同定して積極的介入を行えば、予後を改善できる可能性がある。

まず、鶏卵アレルギーは乳児期に発症、4、5才までに多くは耐性獲得して寛解するが、自然寛解しにくい亜群は存在する。これらの患者は長期の除去食療法を強いられるとともに、誤摂取によるアナフィラキシーなど重篤な誘発反応の危険を常に抱えていることになる。最近では早期に積極的治療介入（Specific Oral Tolerance

することを目的にレトロスペクティブな検討を行った。

本研究では小児アレルギー疾患のうち、とくに頻度の多い鶏卵アレルギーと気管支喘息について予後予測因子の解明をめざした。

B. 研究方法

1. 鶏卵アレルギーの予後

負荷試験また1ヶ月以内の明らかな誘発症状により卵アレルギーと確定診断され除去食を行い、1年後に予後を判定できた66例を対象とした。1年後には負荷試験あるいは明らかな病歴によって、鶏卵アレルギーの持続あるいは耐性獲得を判定した。非耐性の定義は加熱卵摂取により症状誘発される者、耐性は非加熱卵1個が摂取可能な者とした。

	耐性群	非耐性群
症例数	24	42
男/女	17/7	21/21
年齢	3y11m±5.1m	5y10m±3.9m
最小	2y4m	1y9m
最大	11y3m	10y1m

負荷試験による誘発症状は以下のようにスコア化した。

症状スコア：局所皮膚症状..	1
全身皮膚症状..	2
腹部症状.....	3
呼吸器症状....	4
ショック.....	5
摂取蛋白スコア：	
Mサイズの鶏卵1個分の蛋白量を6.5mgとして	
<0.15mg	16
0.15-1 mg	8
1-2.5 mg	4
2.5-4 mg	2
4mg<	1
誘発スコア=症状スコア x 摂取蛋白スコア	

エントリー時にオボムコイド (OM) およびオボムコイド・ドメイン3分子 (OM-DM3) による好塩基球 CD203c 発現の解析を行い、1年後の予後との関連を解析した。好塩基球 CD203c 発現定量は Beckman Coulter 社製の

Allergenecity kit を用いてフローサイトメトリーにて解析した。簡略に述べると、被検者より採取した EDTA 加血液にそれぞれの抗原を各種濃度で添加、キット添付の活性化液 (EDTA でキレートされたカルシウムを補充する)、PC7 標識抗 CD3 抗体、FITC 標識抗 CRTH2 抗体、及び PE 標識抗 CD203c 抗体と 15 分反応させた後、溶血、洗浄、0.1%ホルムアルデヒド固定を経て、フローサイトメリーにて解析した。散乱光によって分画した単核球中、CD3 (-) CRTH2 (+) 細胞を好塩基球として同定、この細胞群に発現する CD203c の蛍光強度を定量した。

2. 思春期喘息児の ICS 中止後の予後

症状安定により ICS を中止後、1年以上経過を観察できた喘息児 40 例について ICS 中止後の予後に関連する臨床的因子、呼吸機能などを診療録からレトロスペクティブに解析した。

- ・男/女 26 / 14
- ・喘息発症年齢 4.1 ± 2.8 歳
- ・ICS 開始年齢 8.4 ± 2.7 歳
- ・ICS 中止時年齢 12.2 ± 2.8 歳
- ・ICS 投与期間 38.2 ± 21.2 か月
(3 か月～8.2 年：中央値 39.5 か月)
- ・平均追跡期間 25.9 ± 13.5 カ月
(12 か月～5.5 年：中央値 25 か月)

C. 研究結果

1. 鶏卵アレルギーの予後因子

エントリー時と1年後の負荷試験の結果を図1に示す。

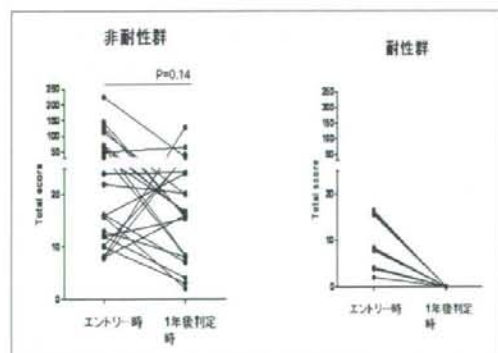


図1 負荷試験の誘発症状スコア

非耐性群ではエントリー時と1年後の間でスコアに有意差を認めなかった。

次に、エントリー時のOMおよびOM-DM3によるCD203c発現を1年後の耐性、非耐性で比較したところ、非耐性群は耐性群より有意に高値であった。とくに、DM3-CD203cは非耐性群、耐性群の差がより顕著であった。

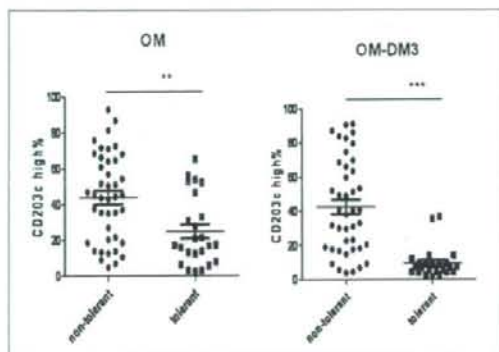
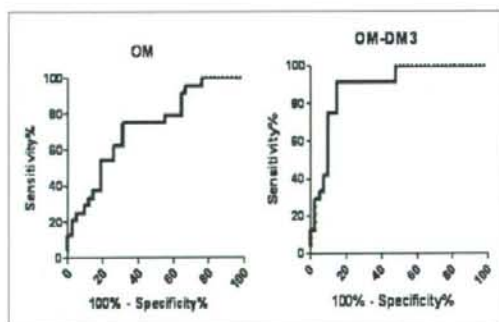


図2 CD203c発現と1年後の予後

そこで、1年後の耐性獲得の有無の予測性能を検討するために、ROC曲線による解析を行ったところ、OM-DM3 CD203cは1年後の予後を高い感度、特異度で予測できることがあきらかとなった(図3)。



	OM	OM-DM3
AUC	0.726	0.893
Cut off	<34.1	<14.5
Sensitivity %	75.0	91.7
Specificity %	69.1	87.7
PPV %	82.9	94.7
NPV %	58.1	78.6

図3 OM-CD203c発現とOMDM3-CD203c発現の診断性能

2. 思春期喘息におけるICS中止後の予後

最終観察時点での喘息の状態は図4のごとくで、寛解を維持していた例は20%のみであったが、再燃後再び寛解という間欠型に近い例を含めると47.5%が予後良好と考えられた。27.5%ではICS再開を必要としていたが、ICS非再開例を含めて再燃は52.5%であった。



図4 観察最終時点での予後

寛解と再燃に影響を与える因子を解析したところ、ICS中止前の無発作期間が6ヵ月以上の群では6ヵ月未満の群に比べて、有意に寛解維持できた期間が長かった(図5)。

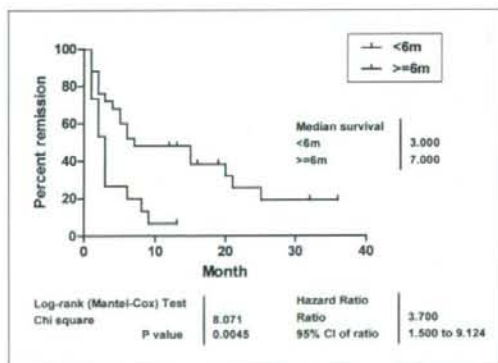


図5 ICS中止前の無発作期間と寛解維持

次に、ICS投与期間と予後の関係を解析した。ICS再開が必要な例は中止前のICS投与期間が有意に長く、中止後の予後は疾患自体の重症度にも依存する可能性が示唆された(図6)。

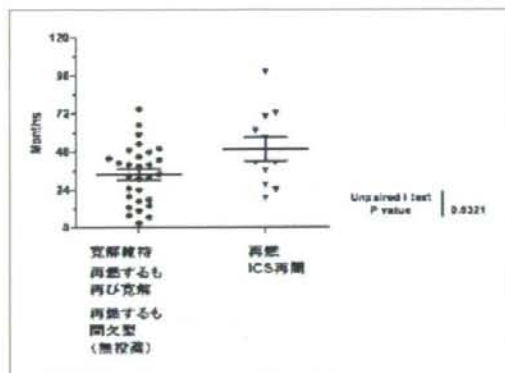


図6 ICS 総投与期間と予後

ICS 中止理由と予後の関係を見ると、医師の判断ではなくアドヘレンス不良のために中止になった例で再燃が多いことも明らかとなった。

ICS 中止理由	予後			計
	寛解	再燃後安定 or 間欠	再燃 ICS 再開	
無発作期間 6 か月未満 アドヘレンス不良のため中止	1	5	3	9
無発作期間 6 か月以上 アドヘレンス不良のため中止	0	3	1	4
アドヘレンス良好 臨床的に医師が判断	7	17	7	31
計	8	13	11	40

D. 考察

小児のアレルギー疾患は年齢とともに自然寛解することが多く、食物アレルギーとくに鶏卵・牛乳アレルギーは就学前に、気管支喘息は思春期に寛解しやすい。しかしながら、寛解せず、キャリアオーバーする例も少なくなく、解決すべき課題として残っている。テラーメイド医療を進めるためには、これらの予後不良例を早期に同定して、積極的な介入を行うことが求められる。そこで、本研究では鶏卵アレルギーの予後と ICS で治療されていた思春期喘息の ICS 中止後の予後を予測する因子を解析して、小児アレルギー臨床のテラーメイド化に有用と考えられる新しいマーカーを見いだすことができた。

まず、鶏卵アレルギーではオボムコイド・ド

メイン3分子による好塩基球 CD203c 発現により、1年後の耐性あるいは非耐性を高い感度と特異度で予測できることが明らかとなった。我々は昨年までの研究で、オボムコイドによる CD203c 発現が負荷試験結果を予測すること、すなわち負荷試験に代わる新しい鶏卵アレルギーの診断マーカーであることを明らかにしたが、今回は1年後の予後を指標に解析したところ、予後に関しては OM-DM-3-CD203c の診断性能が非常に高いことが明らかとなった。鶏卵に含まれる多くのアレルゲンエピトープのうち、OM-DM3 が予後に関わる重要な分子であることが示唆される。そして、好塩基球 CD203c 発現定量を用いれば、刺激抗原を選ぶことによって、様々な側面でアレルギーの状態を評価できる可能性が示された。

次に、ICS 中止後の気管支喘息の予後では、中止前の無発作期間が短い場合、早期に再燃することが明らかとなった。気管支喘息治療の基本は ICS による抗炎症療法であるが、無発作期間が長い、すなわち気道炎症の十分な抑制を続けることが予後に関わる。本研究の結果からは、少なくとも6ヵ月以上の無発作期間を確認後に ICS 中止を考慮すべきであると考えられた。また、アドヘレンスが不良である例に再燃が多いことも観察されたが、抗炎症療法の治療目標を達成するためにはしっかりとしたパートナーシップと患者教育が必須であろう。一方、再燃例では ICS の総投与期間も長かった。このことは長期にわたり ICS 投与を必要とする、すなわち、より重症の例で予後不良なことを示唆する。長期間治療しても十分に気道炎症を抑制できない例には、より早期の介入、さらに炎症マーカーを指標とした確実な抗炎症療法の導入が必要と考えられた。今後、検討を進める必要がある。

E. 結論

OM-DM3 による好塩基球の反応で鶏卵アレルギーの1年後の予後が予測できることを明らかにした。自然寛解が期待できない例には経口免疫療法など積極的治療を考慮すべきであるが、これらの症例を早期に同定する際に有用な検査となると思われた。一方、思春期における吸入ステロイドの中止基準は未だ明らかではないが、本研究の結果から、少なくとも6ヵ月以上の無

症状期間を確認後にICS中止を考慮すべきであると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Masuda S, Fujisawa T, Katsumata H, Atsuta J, Iguchi K. High prevalence and young onset of allergic rhinitis in children with bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2008 ; 19 : 517-22.
2. Fujisawa T, Katsumata H, Kato Y : House dust mite extract induces interleukin-9 expression in human eosinophils. *Allergol Int* 2008 ; 57 : 1-6.
3. Hiraguchi Y, Nagao M, Hosoki K, Tokuda R, Fujisawa T. Neutrophil Proteases Activate Eosinophil Function in vitro. *Int Arch Allergy Immunol* 2008 ; 146 : 16-21.
4. Nagao M, Hiraguchi Y, Hosoki K, Tokuda R, Usui T, Masuda S, Fujisawa T. Allergen-induced basophil CD203c expression as a biomarker for rush immunotherapy in patients with Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2008 ; 146 : 47-53.
5. Kawakami A, Koketsu R, Suzukawa M, Nagao M, Hiraguchi Y, Tokuda R, Fujisawa T. Blocking antibody is generated in allergic rhinitis patients during specific immunotherapy using standardized Japanese cedar pollen extract. *Int Arch Allergy Immunol* 2008 ; 146 : 54-60.

2. 学会発表

1. T. Fujisawa. Non-invasive measurement of airway inflammation in asthma : Is it possible to visualize 'invisible' airways ? , Special Lecture at 2008 Annual meeting of the Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology, Seoul, 2008. 5. 9.
2. T. Fujisawa. What is new in Eosinophil World : The Eos strikes back ! Meet the Professor session at 2008 Annual meeting of the Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology, Seoul, 2008. 5. 9.
3. T. Fujisawa, M. Mochizuki. Respiratory Symptoms in Preschool-age Children : The results of a questionnaire conducted in Japan. International meeting of American Thoracic Society, 2008. 5. 18, Toronto, Canada
4. Iikura K, Katsunuma T, Ohya Y, Shibata A, Yuki K, Akashi K, Nagao M, Fujisawa T. Epidermal growth factor levels in the exhaled breath condensate correlate clinical severity in children/adolescents with asthma. 2008 International Conference of American Thoracic Society, 2008. 5. 16-21, Toronto, Canada
5. M Nagao, R Tokuda, K Hosoki, Y Hiraguchi, T Fujisawa. Antigen-induced basophil CD203c expression differentially predicts status of tolerance in children with egg allergy. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, 2008. 3. 14-20, Philadelphia, USA

H. 知的財産権の出願・登録状況（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

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
アレルギーのテラーメイド治療管理ガイドラインの確立と実用化

分担課題名：小児期発症気管支喘息の予後に関連する因子に関する研究

分担研究者 河野陽一 千葉大学大学院医学研究院小児病態学 教授

研究要旨

小児期発症の気管支喘息の予後を規定する因子、気道リモデリングの形成に関わる因子を明らかにする目的で研究を行い、今年度は以下の結果を得た。

1) 思春期を過ぎた小児期発症気管支喘息患者での非寛解群における血清総 IgE 値は寛解群に比較して有意に高値であった。また、非寛解群のコナヒョウヒダニ特異 IgE 値は寛解群に比べて有意に高値であった。3年間の追跡で喘息が軽快した群では大部分の児でコナヒョウヒダニ特異 IgE 値は低下していたのに対し、非軽快群ではほとんど低下は見られなく、高値のままであった。ダニ刺激による末梢血中 IL-10 産生数と IL-5 産生細胞数の比は非寛解群に比べて寛解群で有意に高値であった。

2) 血清総 IgE 値およびヤケヒョウヒダニ特異 IgE 抗体値は MMP9 5546G/A 多型と有意な相関が認められた。また血清総 IgE 値、ヤケヒョウヒダニ特異 IgE 抗体値について幼児期の保育園通園の有無と CD14 -550C/T 多型に相互作用が認められた。

以上から、小児の気管支喘息の大部分を占めるアトピー型喘息の経過にはダニアレルゲン特異的 Th2 応答性の程度が関与しており、それは獲得性免疫である制御性 T 細胞やマトリックスメタロプロテアーゼ、さらに自然免疫分子と環境因子の相互作用により制御されていることが示唆された。

研究協力者

下条直樹 千葉大学大学院医学研究院小児病態学
准教授
鈴木洋一 同公衆衛生学 准教授
岡本美孝 頭頸部腫瘍学 教授

A. 研究目的

小児の気管支喘息には自然寛解が存在することが知られている。しかし一方で成人まで喘息が遷延化し長期にわたり治療を必要とするものも少なくない。近年、小児の気管支喘息においても気道リモデリングが存在することが報告されており、このリモデリングの進行を予防することが小児の気管支喘息の予後を改善することに極めて重要であると考えられている。そのためにも小児期発症の気管支喘息の予後を規定する因子、気道リモデリングの形成に関わる因子を明らかにしなくてはならない。本研究は、小児期に発症した気管支喘息患者を対象として、1) 思春期までに寛解した患者と非寛解患者間での免疫学的差異を明らかにする、2) 呼吸機能に関連する環境因子、遺伝因子を明らかにする、ことを目的とする。

B. 研究方法

1) 千葉大学大学院医学研究院小児病態学および関連病院の小児科でフォローしている小児期発症で思春期以降までフォローできている気管支喘息患者を臨床的寛解群と非寛解群に分け、それぞれの群での血清総 IgE、コナヒョウヒダニ特異 IgE 値を測定した。また一部の患者においてはコナヒョウヒダニ特異 IgE 値の経年的推移を2群間で比較した。寛解群、非寛解群でのダニ刺激による末梢血単核球中の IL-10 および IL-5 産生細胞数を ELISPOT 法により検討した。

2) ダニ特異 IgE 値を規定する因子として、自然免疫、炎症関連分子である CD14 および matrix metalloproteinase 9 (MMP9) の遺伝子多型、幼児期の生活環境等について千葉市内小学生約 400 名を対象として検討した。

3) 千葉大学大学院医学研究院小児病態学を含めて6カ所の小児科を受診しており、呼吸機能検査を行なっている小児気管支喘息患者について、乳幼児期の生活環境に関するアンケート調査と現在までに報告されている喘息関連遺伝子の多型を検討する。遺伝子解析に用いる DNA は唾液より採取する。

C. 研究結果

1) 思春期を過ぎた小児期発症気管支喘息患者での非寛解群における血清総IgE値は平均722 IU/mlであり、寛解群での平均220 IU/mlに比較して有意に高値であった。非寛解群のコナヒョウヒダニ特異IgE値は121 UA/mlであり、寛解群の28 UA/mlに比べて有意に高値であった(表1)。

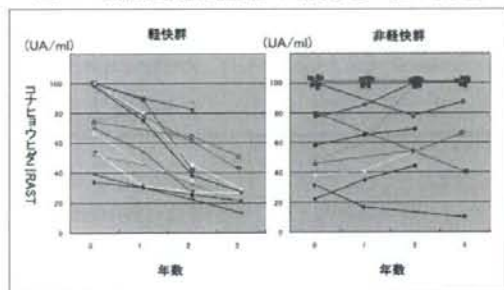
表1 非寛解および寛解での総IgE値およびダニ特異IgE値

	Total IgE (IU/ml)	GAP-RAST titer to <i>Dermatophagoideis farinosa</i> (UA/ml)
非寛解 (n=23)	722.77 (411.15-1270.57)	121.34 (58.94-249.8)
寛解 (n=15)	200.45 (8.16-455.74)	28.64 (13.85-59.23)

p=0.0073 (Total IgE), p=0.0034 (Specific IgE)

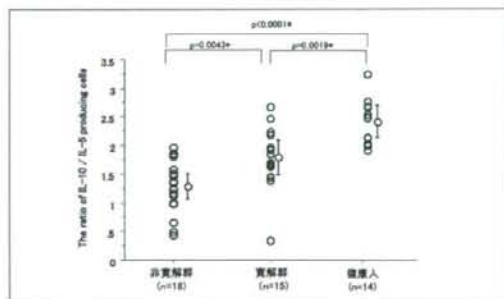
3年間の追跡で喘息が軽快した群では大部分の児でコナヒョウヒダニ特異IgE値は低下していたのに対し、非軽快群ではほとんど低下は見られなく、高値のままであった(図1)。

図1 気管支喘息患者の特異IgE値の変化



ダニ刺激による末梢血中IL-10産生数とIL-5産生細胞数の比は非寛解群に比べて寛解群で有意に高値であった(図2)。

図2 気管支喘息の寛解とダニ刺激末梢血単核球のサイトカインバランス



2) 血清総IgE値およびヤケヒョウヒダニ特異IgE抗体値はMMP9 2127G/T多型とは関連がなかったが、5546G/A多型と有意な関連が認められた(図3、図4)。

図3 MMP9遺伝子多型と総IgEとの相関

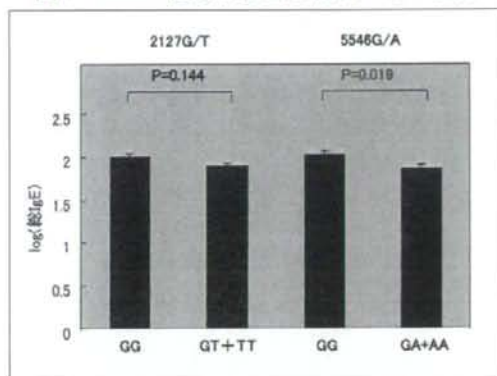
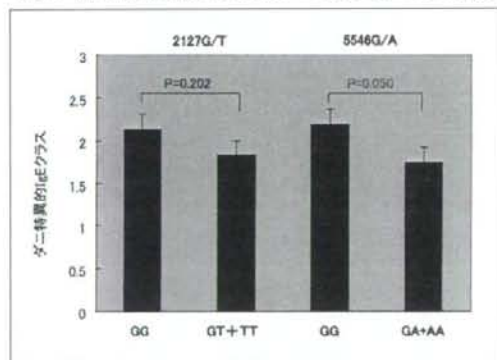


図4 MMP9遺伝子多型とダニ特異IgEとの相関



また血清総IgE値、ヤケヒョウヒダニ特異IgE抗体値については幼児期の保育園通園の有無とCD14-550C/T多型に相互作用が認められた(表2)。

表2 特異IgEに対するCD14-550C/T多型と2歳までの保育園通園の関連

	CD14 Main effect P value*	Day care Main effect P value*	Gene-environmental Interaction P value*
Log10(total IgE) †	0.80	0.63	0.0046
Specific IgE class ‡			
Mite	0.097	0.010	0.00047
Cedar pollen	0.65	0.013	0.12
Atopy §	0.0072	0.00089	0.0097

*Adjusted for age, sex, number of siblings, and family history

†General linear model

‡Generalized linear model (Poisson distribution, log link function)

§ Logistic regression