

Fig. 1. A typical standard curve for the present ELISA for CCL17 and the precision profile (CV, %), calculated from five determinations for each point in one assay.

range was 125–8000 pg/ml, and the coefficient of variation (CV) for the TARC/CCL17 concentration at each standard point ranged from 3.6% to 5.8% (n = 5). The reproducibility of this ELISA was estimated using clinically obtained sera having different TARC/CCL17 concentrations. The ranges of the intra- and inter-assay CVs were from 2.3% to 5.0% (n = 5) and 4.4% to 4.8% (n = 5), respectively, as shown in Table 2. Dilution curves of four sera showed preferable linearity (Fig. 2). The analytical recoveries were estimated for recombinant TARC/CCL17 added to serum samples containing three different concentrations of endogenous TARC/CCL17 (Table 3). The recovery ranged from 89.9% to 106.8%. Furthermore, we examined the cross-reactivity with other chemokines having similar structures and/or chemotactic activities for Th₂ cells leading to binding with the CC chemokine receptor 4 (CCR4) receptor. No cross-reactivity was found for TARC/CCL17 with 80 ng/ml preparations of the following chemokines: human MCP-1/CCL2 (PeproTech), eotaxin/CCL11 (12), MDC/CCL22 and mouse TARC/CCL17 (R&D Systems).

Table 2. Assay precision of the ELISA

	n	Mean (pg/ml)	s.d. (pg/ml)	CV (%)
Intra-assay				
Serum 1	5	263	13	5.0
Serum 2	5	1424	63	4.4
Serum 3	5	5817	133	2.3
Inter-assay				
Serum 4	5	239	11	4.8
Serum 5	5	844	37	4.4
Serum 6	5	3749	163	4.4

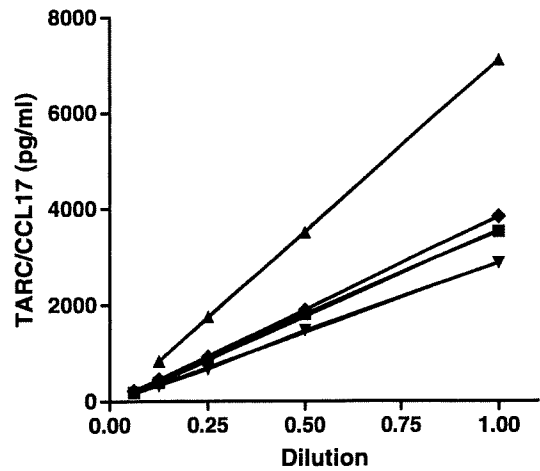


Fig. 2. Serial dilution linearity of the present ELISA. Four serum samples having different CCL17 concentrations were serially diluted with assay buffer.

Table 3. Analytical recovery of standard CCL17 added to human serum

Sample	Endogenous (pg/ml)	Added (pg/ml)	Measured (pg/ml)	Found* (pg/ml)	Recovery (%)
Serum 7	214	500	694	480	96.1
	214	1000	1219	1006	100.6
	214	2000	2230	2017	100.8
Serum 8	1167	500	1701	534	106.8
	1167	1000	2167	1000	100
Serum 9	2883	500	3389	506	101.2
	2883	1000	3796	912	91.2
	2883	2000	4983	2100	105
Serum 10	3148	500	3664	516	103.2
	3148	1000	4047	899	89.9
	3148	2000	5138	1990	99.5

*Increase over endogenous CCL17.

Serum TARC/CCL17 levels in normal individuals

First, we examined the serum TARC/CCL17 level in normal non-atopic individuals of different ages. We found that the level in the age group of 0–5 yr was significantly higher than in the older age group of 6 yr and above (p < 0.001). We analysed that tendency by further dividing the subjects into four subgroups by age: <2, 2–5, 6–15 and 16 yr and older. As shown in Fig. 3, the serum TARC/CCL17 level was significantly higher in the age group of 0–1 yr than in each of the other, older age groups (Fig. 3, geometric mean values are shown in the legend). As described in Materials and methods, the control subjects had normal serum IgE levels and were not sensitized to common inhalant and food allergens. In particular, the median serum IgE value in the age group of 0–1 yr was 6 IU/ml, and except for in one subject all IgE values were < 20 IU/ml. The serum TARC/CCL17 level of

Serum measurement of TARC/CCL17 in children with AD

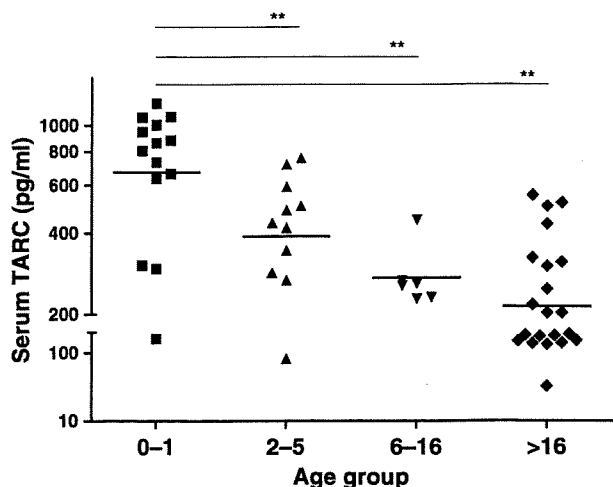


Fig. 3. Serum levels of TARC/CCL17 in normal individuals of various age groups. Horizontal lines indicate the geometric mean values, 707, 365, 273 and 213 pg/ml, in age groups of 0-1, 2-5, 6-16 and >16 yr, respectively. The serum TARC/CCL17 level was significantly higher in the age group of 0-1 yr than in the other age groups ($p < 0.01$; ANOVA and Bonferroni's multiple comparison test).

the subjects with the highest serum IgE, i.e. 56 IU/ml, was 512 pg/ml, which was below the median value in the group of 0-1 yr. There was no correlation between serum IgE and TARC/CCL17 in each group (data not shown).

Serum TARC/CCL17 levels in AD

Next, we compared the serum TARC/CCL17 level in AD with the normal controls in the corresponding age groups. In all age groups, the serum TARC/CCL17 level in AD was significantly elevated compared with the control subjects of corresponding age (Fig. 4; geometric mean values are shown in the legend). The values for the area under the ROC curves were 0.93, 0.89 and 0.96 in the respective age groups ($p < 0.001$) (Fig. 4). The cut-off values of TARC/CCL17 for the diagnosis of AD were 1431 pg/ml for the 0-1 yr old group, 803 pg/ml for the 2-5 yr old group and 510 pg/ml for 6 yr and older. With these cut-off values, the sensitivity and specificity of serum TARC/CCL17 for

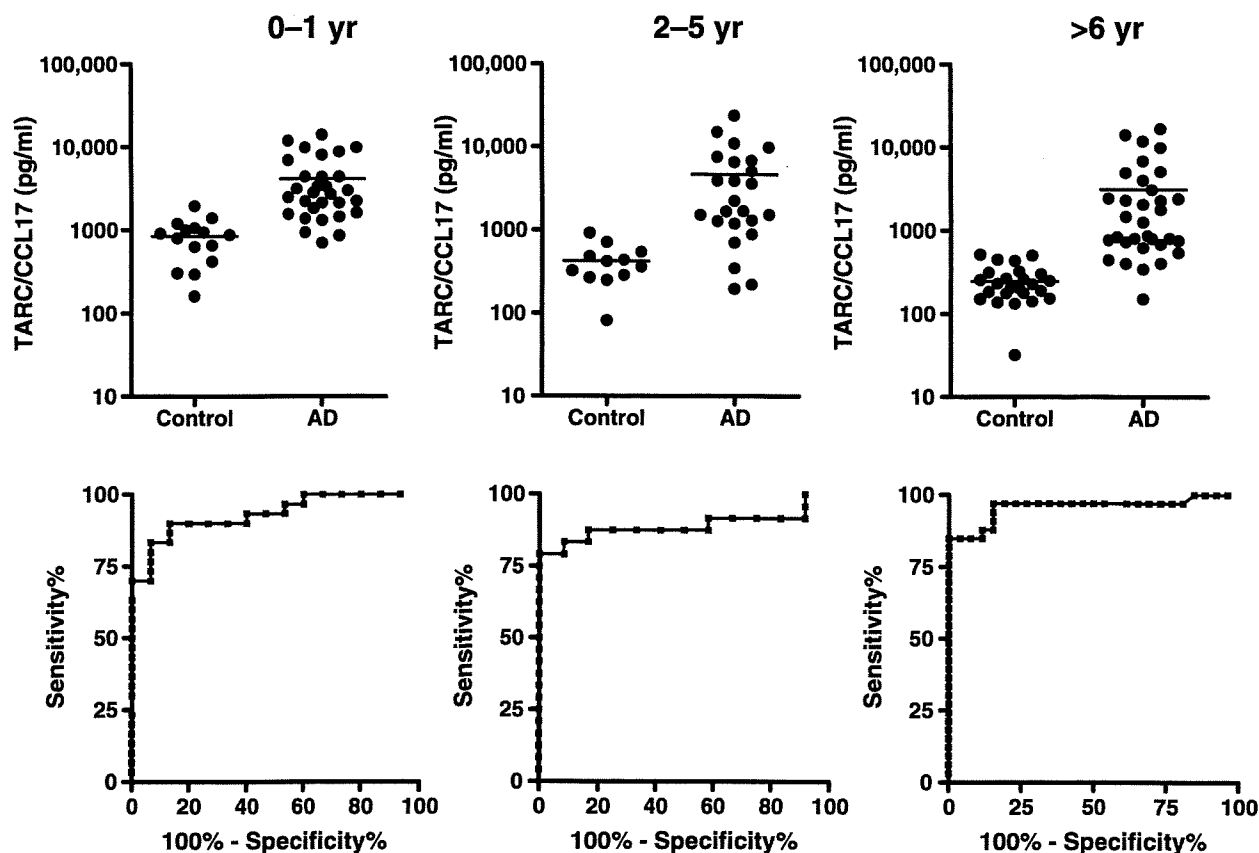


Fig. 4. Comparison of TARC/CCL17 levels between the controls and AD in age groups of 0-1, 2-5 and 6 yr and older (upper 3 graphs). The geometric mean values for the controls and AD in each age group were 707 and 3017, 365 and 2374 and 218 and 1550 pg/ml, respectively. The values for the area under the curve in ROC analysis (lower 3 graphs) in each age group were 0.931, 0.889 and 0.958, respectively.

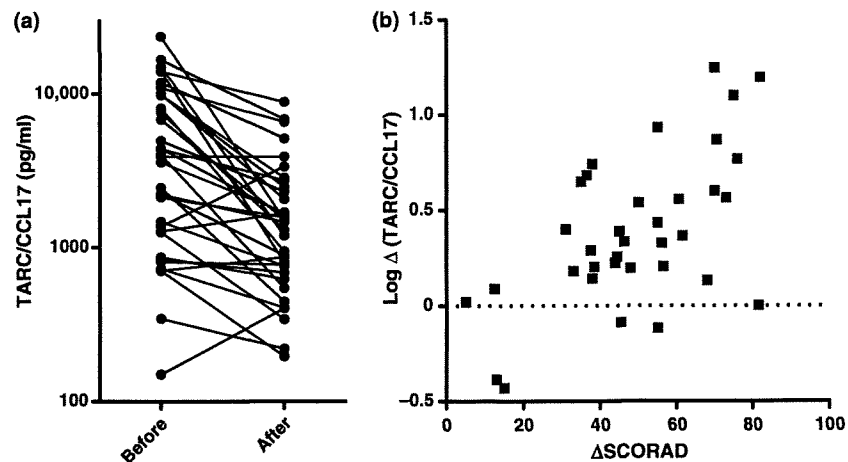


Fig. 5. (a) Changes in serum TARC/CCL17 before and after treatment. The geometric mean values (95% confidence interval) before and after treatment were 3170 (2061–4875) and 1293 (932–1793) pg/ml, respectively. (b) Relationship between decrease in TARC/CCL17 ($\log \Delta$ TARC/CCL17) and that in SCORAD (Δ SCORAD) after treatment with topical steroids and emollients for patients with AD. The Y-axis shows the logarithmic transformation of the magnitude of decrease in the TARC/CCL17 level after treatment. The X-axis shows the magnitude of decrease in the SCORAD index after treatment. Spearman's correlation coefficient: 0.48; $p < 0.005$.

AD in the three age groups were 0.83 and 0.93, 0.83 and 0.92 and 0.85 and 0.96, respectively.

Relationship between serum TARC/CCL17 level and SCORAD index

We also found significant positive correlations between the serum TARC/CCL17 level and the severity of AD based on the SCORAD index in all age groups, with Spearman's correlation coefficients of 0.55, 0.65 and 0.60, respectively ($p < 0.01$). TARC/CCL17 was also measured in 35 patients before and after a standard treatment with topical steroids, skin hydration and emollients. The serum levels of TARC/CCL17 decreased significantly after the treatment (Fig. 5a), in parallel with improvement in the symptoms. Analysis of the relationship between the change in the SCORAD index and the change in the serum TARC/CCL17 level after the treatment showed that the magnitude of decrease in the SCORAD index correlated significantly with the decrease in the serum TARC/CCL17, with a Spearman's correlation coefficient of 0.48 ($p = 0.0036$) (Fig. 5b). These results suggest that the serum TARC/CCL17 level reflects the disease activity of AD.

Serum IP-10/CXCL10 in normal infants

To address the question of whether a Th₂-biased immune status may be present in normal infants, the serum level of IP-10/CXCL10, a Th₁ chemokine, was measured in the two younger age groups, i.e. 0–1 and 2–5 yr. The IP-10/CXCL10

level in AD was not elevated or decreased compared with in the age-matched control children, with levels of 200 and 185 pg/ml, respectively. In normal children, the CCL17: CXCL10 ratio tended to be elevated in the 0–1 yr group compared with the 2–4 yr old group ($p = 0.079$). There was no statistical difference in IP-10/CXCL10 between the two groups, although the geometric mean value was lower in the former group than in the latter: 186 vs. 286 pg/ml.

Discussion

The chemokines comprise a large protein family with a common property of inducing leucocyte chemotaxis. They are divided into four subfamilies, CXC, CC, CX3C and C, on the basis of structural motifs involving the first two N-terminal cysteine residues (13). Recently, a systematic nomenclature has been devised for chemokines and their corresponding 7-transmembrane G-protein-coupled receptors (14). Among them, TARC/CCL17 (15) is a ligand for CCR4, the shared receptor for MDC/CCL22 (16). CCR4 is expressed on Th₂ cells and a subset of cutaneous lymphocyte antigen (CLA)⁺ skin-homing memory T cells (17, 18). CCL17 is produced by monocyte-derived dendritic cells, endothelial cells, bronchial epithelial cells, epidermal keratinocytes (13) and possibly platelets (4). Overproduction of CCL17 leading to Th₂ cell accumulation at the site(s) of inflammation is strongly implicated in the pathogenesis of allergic diseases such as AD and asthma (1, 19).

It has already been reported that the blood levels of a Th₂-type chemokine, TARC/CCL17, are significantly elevated in AD (3, 4, 20–23), which suggests that it might be possible to utilize TARC/CCL17 as a clinical marker of AD disease activity and responses to treatment. TARC/CCL17 measurement in clinical settings; however, requires development of an efficient assay system with sufficient sensitivity and range of detection for the diverse levels that may be found in clinical samples. A commercially available assay kit often used in earlier studies (20–23), that is, a sandwich enzyme immunoassay kit by R&D Systems, has the highest upper limit of detection, 2000 pg/ml. However, the serum TARC/CCL17 level in patients with AD often exceeds 2000 pg/ml (3, 4), and levels around 4000 pg/ml were reported in patients with severe AD (3). One may argue that dilution of samples to fit the assayable range would conserve precious samples from small children. However, one cannot know the proper dilution factor before assay, and in the end this approach may expend more sample by making it necessary to repeat the assay. In order to overcome this problem, we refined our existing sensitive ELISA system for TARC/CCL17 (7) so that it would have a broad range of detection from 125 to 8000 pg/ml. This range can accommodate the needs of clinical laboratories.

Another important issue for laboratory tests is elucidation of the normal ranges in different age brackets, especially in children, whose normal values usually differ from those in adults. Here, we found for the first time that the serum TARC/CCL17 levels were significantly higher in children younger than 6 yr of age, especially in those <2 yr old (Fig. 3). Based on this finding, we re-analysed the serum TARC/CCL17 level in AD in various age subgroups and confirmed that it was significantly elevated in all age strata (Fig. 4). To utilize the serum TARC/CCL17 level for evaluation of disease activity in AD, previous studies on this issue showed a positive correlation between CCL17 and severity indices such as SCORAD. However, this type of analysis can be confounded by the age factor as we have now found that TARC/CCL17 is elevated in infants. We also found a significant correlation between the TARC/CCL17 level and the SCORAD index in each age group. More importantly, to further exclude the possible influence of age, we analysed for correlation between the changes in the TARC/CCL17 level and the SCORAD index before and after treatment. We found that the decrease in TARC/CCL17 correlated significantly with the decrease in the

SCORAD index after standard treatment with topical steroids and emollients (Fig. 5). These findings clearly demonstrate that the serum TARC/CCL17 level reflects the disease activity of AD in association with the response to treatment.

It is intriguing to speculate regarding the biological significance of the fact that TARC/CCL17, a Th₂ chemokine, is elevated in normal infants. A number of epidemiological studies have suggested that the increase in the prevalence of allergic disorders that has occurred over the past few decades in developed countries is attributable to a reduced microbial burden during early childhood (24–27) [the so-called hygiene hypothesis (28)]. The immunological basis for the hygiene hypothesis is that reduced microbial stimuli in early childhood inhibits immune deviation from Th₂ to Th₁ immune responses (29) because various pathogen-associated molecular patterns such as CPG-containing oligodeoxynucleotides and lipopolysaccharide interact with toll-like receptors (TLRs) on antigen-presenting cells, including dendritic cells, to produce Th₁-polarizing interleukin-12. One of the present authors previously demonstrated that stimulation of murine Langerhans cells with *Staphylococcus aureus* Cowan 1, lipopolysaccharide and CpG, ligands for TLR2, 4 and 9, respectively, resulted in Th₁-polarizing cytokine production and inhibition of TARC/CCL17 (30). In this study, we also measured IP-10/CXCL10, a Th₁ attracting chemokine (13, 31), and found that the

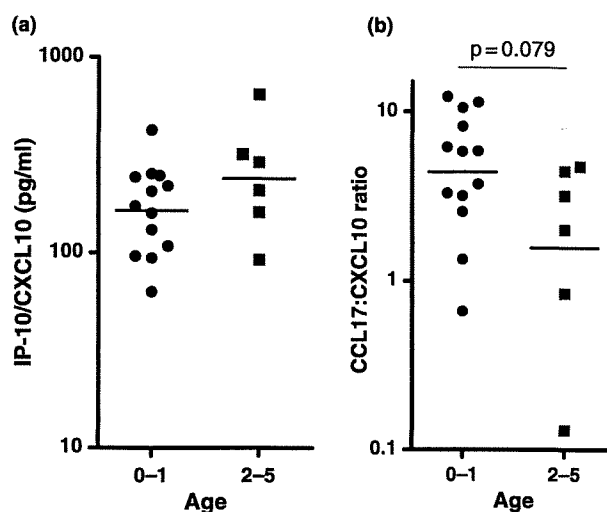


Fig. 6. (a) Serum levels of IP-10/CXCL10 in the control group 0–1 and 2–5 yr olds. The geometric mean values were 165 and 239 pg/ml, respectively. (b) Ratio of TARC/CCL17:IP-10/CXCL10 in the control group 0–1 and 2–5 yr olds. The geometric mean values were 4.4 and 1.6, respectively. $p = 0.079$ (Mann–Whitney U -test).

CCL17/CXCL10 ratio seemed to be elevated in the 0–1 yr age group compared with the 2–5 yr olds (Fig. 6). Overproduction of TARC/CCL17 in infancy might represent the default Th₂-polarized state, and lack of subsequent Th₁-polarizing stimuli might cause further production of the chemokine, leading to the development of AD and other atopic diseases. It was reported that neonatal BCG vaccination, which polarizes to Th₁, significantly reduced the asthma risk (32), and various attempts are currently being made to modify immune responses in order to prevent allergy. In this context, the normal levels of TARC/CCL17 may serve useful markers for monitoring the effects of immunoregulatory agents during treatment.

In summary, we have demonstrated that the normal serum level of TARC/CCL17 is significantly higher in early infancy. By taking into consideration the different normal ranges in different age groups, we re-established the clinical significance of serum TARC/CCL17 measurement in AD as a marker for the disease activity. Finally, an elevated normal level of TARC/CCL17 in infancy may represent a developmental aspect of the immune system and warrants further investigation of its role in the Th₁/Th₂ balance in health and allergy. Such studies may lead to development of immunomodulatory measures for prevention of allergic diseases in children.

Acknowledgments

This work was supported by a grant-in-aid for scientific research from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan. We thank Ms Manami Negoro for her excellent technical assistance and Dr Akio Mori of Clinical Research Center, Sagami National Hospital, for his support and critical comments regarding the project.

References

1. VESTERGAARD C, YONEYAMA H, MURAI M, et al. Overproduction of Th₂-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis-like lesions. *J Clin Invest* 1999; 104: 1097–105.
2. VESTERGAARD C, BANG K, GESSER B, et al. A Th₂ chemokine, TARC, produced by keratinocytes may recruit CLA + CCR4 + lymphocytes into lesional atopic dermatitis skin. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 640–6.
3. KAKINUMA T, NAKAMURA K, WAKUGAWA M, et al. Thymus and activation-regulated chemokine in atopic dermatitis: serum thymus and activation-regulated chemokine level is closely related with disease activity. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 535–41.
4. FUJISAWA T, FUJISAWA R, KATO Y, et al. Presence of high contents of thymus and activation-regulated chemokine in platelets and elevated plasma levels of thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 139–46.
5. HIJNEN D, DE BRUIN-WELLER M, OOSTING B, et al. Serum thymus and activation-regulated chemokine (TARC) and cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK) levels in allergic diseases: TARC and CTACK are disease-specific markers for atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 334–40.
6. PRESCOTT SL, MACAUBAS C, HOLT BJ, et al. Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th₂ cytokine profile. *J Immunol* 1998; 160: 4730–7.
7. MORITA A, KIKUOKA S, HORIKAWA T, et al. Evaluation of human thymus and activation-regulated chemokine concentrations in blood using a new sandwich ELISA based on monoclonal antibodies. *Clin Chim Acta* 2002; 322: 67–75.
8. HANIFIN JM, RAJKA G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1980; 92: 44–7.
9. The European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1993; 186: 23–31.
10. KATO K, FUKUI H, HAMAGUCHI Y, et al. Enzyme-linked immunoassay: conjugation of the Fab' fragment of rabbit IgG with beta-D-galactosidase from *E. coli* and its use for immunoassay. *J Immunol* 1976; 116: 1554–60.
11. ZWEIG MH, CAMPBELL G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem* 1993; 39: 561–77.
12. MORITA A, SHIMOSAKO K, KIKUOKA S, et al. Development of a sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for eotaxin and measurement of its levels in human blood. *J Immunol Methods* 1999; 226: 159–67.
13. YOSHIE O, IMAI T, NOMIYAMA H. Chemokines in immunity. *Adv Immunol* 2001; 78: 57–110.
14. IUIS/WHO subcommittee on chemokine nomenclature. Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *Cytokine* 2003; 21: 48–9.
15. IMAI T, YOSHIDA T, BABA M, et al. Molecular cloning of a novel T cell-directed CC chemokine expressed in thymus by signal sequence trap using Epstein-Barr virus vector. *J Biol Chem* 1996; 271: 21514–21.
16. IMAI T, BABA M, NISHIMURA M, et al. The T cell-directed CC chemokine TARC is a highly specific biological ligand for CC chemokine receptor 4. *J Biol Chem* 1997; 272: 15036–42.
17. IMAI T, NAGIRA M, TAKAGI S, et al. Selective recruitment of CCR4-bearing Th₂ cells toward antigen-presenting cells by the CC chemokines thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine. *Int Immunol* 1999; 11: 81–8.
18. CAMPBELL JJ, HARALDSEN G, PAN J, et al. The chemokine receptor CCR4 in vascular recognition by cutaneous but not intestinal memory T cells. *Nature* 1999; 400: 776–80.
19. SEKIYA T, MIYAMASU M, IMANISHI M, et al. Inducible expression of a Th₂-type CC chemokine thymus- and activation-regulated chemokine by human bronchial epithelial cells. *J Immunol* 2000; 165: 2205–13.
20. JAHNZ-ROZYK K, TARGOWSKI T, PALUCHOWSKA E, et al. Serum thymus and activation-regulated chemokine, macrophage-derived chemokine and eotaxin as markers of severity of atopic dermatitis. *Allergy* 2005; 60: 685–8.
21. LEUNG TF, MA KC, HON KL, et al. Serum concentration of macrophage-derived chemokine may be a useful inflammatory marker for assessing severity of atopic

- dermatitis in infants and young children. *Pediatr Allergy Immunol* 2003; 14: 296–301.
22. MOSTAFA GA, TOMOUM HY, SALEM SA, et al. Serum concentrations of CCR4 ligands in relation to clinical severity of atopic dermatitis in Egyptian children. *Pediatr Allergy Immunol* 2008.
 23. NAKAZATO J, KISHIDA M, KUROIWA R, et al. Serum levels of Th2 chemokines, CCL17, CCL22, and CCL27, were the important markers of severity in infantile atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2008.
 24. VON MUTIUS E, MARTINEZ FD, FRITZSCH C, et al. Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 358–64.
 25. RIEDLER J, BRAUN-FAHRLANDER C, EDER W, et al. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001; 358: 1129–33.
 26. ZHANG G, SPICKETT J, LEE AH, et al. Household hygiene practices in relation to dampness at home and current wheezing and rhino-conjunctivitis among school age children. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16: 587–92.
 27. DUSE M, DONATO F, PORTERI V, et al. High prevalence of atopy, but not of asthma, among children in an industrialized area in North Italy: the role of familial and environmental factors—a population-based study. *Pediatr Allergy Immunol* 2007; 18: 201–8.
 28. STRACHAN DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299: 1259–60.
 29. ROMAGNANI S. Coming back to a missing immune deviation as the main explanatory mechanism for the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 1511–3.
 30. MITSUI H, WATANABE T, SAEKI H, et al. Differential expression and function of Toll-like receptors in Langerhans cells: comparison with splenic dendritic cells. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 95–102.
 31. SARRIS AH, BROXMEYER HE, WIRTHMUELLER U, et al. Human interferon-inducible protein 10: expression and purification of recombinant protein demonstrate inhibition of early human hematopoietic progenitors. *J Exp Med* 1993; 178: 1127–32.
 32. LINEHAN MF, FRANK TL, HAZELL ML, et al. Is the prevalence of wheeze in children altered by neonatal BCG vaccination? *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 1079–85.

RS ウイルス感染症入院例における退院後の喘鳴についての検討

¹⁾国立病院機構三重病院臨床研究部

²⁾同 小児科

細木 興亜¹⁾²⁾ 長尾みづほ¹⁾²⁾ 平口 雪子¹⁾ 徳田 玲子¹⁾ 藤澤 隆夫¹⁾²⁾

【目的】RSV 感染後の反復喘鳴について関与する因子を明らかにする。

【方法】2006年1月から2007年6月の間にRSV感染症のため入院した99例を対象に退院後の喘鳴についてアンケート調査並びに追跡調査を行った。退院後1年以上経過を追跡でき、入院時年齢が3歳未満の症例58例を解析した。

【結果】入院時月齢は 9.4 ± 8.8 カ月(0~30カ月)、退院後から最終調査までの期間は 703.6 ± 105.5 日(432~950日)、退院後に喘鳴を認めた頻度は50.0%だった。単変量解析, 多変量解析共に入院前の喘鳴の既往と保育園通園歴が有意に退院後喘鳴と相関を認めた。その他本人のアトピー素因, 両親の喘息の家族歴は関連を認めなかった。

【結論】RSV感染後50.0%の児が喘鳴を認め, 単変量解析, 多変量解析の結果, RSV感染後の反復喘鳴に有意に関与する因子は入院前の喘鳴の既往, 保育園通園歴であった。RSV感染そのものより喘鳴の素因, 感染機会の増加が反復喘鳴, あるいは将来の喘息発症に強い影響を持つと考えられた。

Key words: RS virus — wheezing

はじめに

Respiratory syncytial virus (RSV) は乳幼児の呼吸器感染症として代表的なウイルスの一つであり, 毎年冬から早春にかけて流行する¹⁾。ほとんどの乳幼児が生後1~2年以内に感染し, その後再感染を繰り返し次第に症状は軽減するとされている²⁾。ライノウイルス等その他の呼吸器ウイルスと同様に喘息の増悪因子となるが³⁾⁴⁾, RSVによる細気管支炎など重症下気道感染で入院した児はその後の繰り返す喘鳴, 喘息発症のリスクが高いとする疫学的報告は多く^{5)~8)}, 喘息発症因子としても重要である。しかし日本でのRSV感染後の反復喘鳴についての報告は多くない⁹⁾。また, RSV感染

後の反復喘鳴につながるリスクファクターについてもまだ不明な点が多く, 喘息の早期介入・早期治療をめざすために適切な介入対象を同定する必要がある。そこで, 本研究ではRSV感染症により入院した児の退院後の喘鳴予後とそれに関わる背景因子を明らかにするためアンケート調査並びに追跡調査を行った。

対 象

2006年1月から2007年6月の間にRSV感染症のため国立病院機構三重病院に入院した99例を対象とした。RSV感染症の診断には, 迅速抗原検出用キット(イムノカードST RSVR (TFB社))を用いた。

Received: September 22, 2008, Accepted: August 3, 2009

利益相反 (conflict of interest) に関する開示: 著者全員は本論文の研究内容について他者との利害関係を有しません。

Abbreviation: RSV "Respiratory syncytial virus"

細木興亜: 国立病院機構三重病院 (〒514-0125 三重県津市大里窪田町 357 番地)

E-mail: hosokik@mie-m.hosp.go.jp

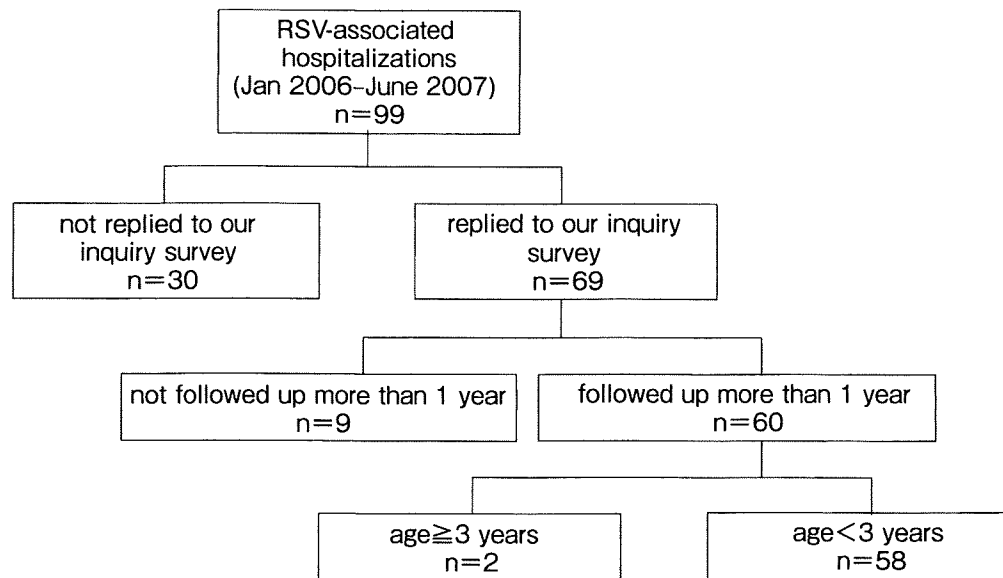


Fig. 1. flowchart showing progress of participants through the analysis.

方法

2007年7月にアンケートを送付し、退院後の喘鳴の有無について調査を行った。今回調査した内容は年齢、性別、入院期間、周産期情報、アレルギー疾患の有無、家族歴、入院前の喘鳴の既往（入院前にぜいぜい、ヒューヒューした呼吸をしたことがあるか）、朝夜続く咳、長引く咳の既往（入院前に咳が長引いたり、風邪でもないのに朝方や寝る前の咳が気になることがあるか）、両親の喫煙歴、保育園通園歴、兄弟の有無である。アンケート調査時に退院後1年を経過していなかった例は更に診療録、電話、葉書により追跡調査を施行した。調査結果、診療録により退院後の反復喘鳴の出現に影響を及ぼす因子について検討し後方視的に解析した。

統計学的解析

入院時月齢、退院後からの期間は平均±標準誤差を表した。入院前の喘鳴の既往、入院前の朝夜続く咳の既往、アトピー素因、家族歴といった質的データについての解析は χ^2 検定で行った。退院後の喘鳴と入院時月齢、出生体重、入院期間の解析はt検定を行った。有意水準を5%とした。更に全体のデータに多重ロジスティック回帰分析を行い検討した。これらの統計処理にはSPSS Sta-

tistics 17.0 (SPSS Japan Inc., Tokyo, Japan)を使用した。

結果

アンケートを99例に送付し69例、69.7%から回答を得た。アンケート調査の時点で退院後経過が1年未満であった例は更に追跡調査を行った。69例中60例(60.6%)で退院後1年以上の経過を追跡できた。この60例中入院時年齢が3歳未満の58例(58.6%)を解析し、反復喘鳴について検討した (Fig. 1)。

患者背景をTable 1に示す。入院時月齢は 9.4 ± 8.8 カ月(0~30カ月)、男児は26例、女児は32例であった。入院前の喘鳴の既往は41.4%、入院前の長引く朝夜の咳の既往は37.9%、保育園の通園歴は32.8%に認めた。出生時体重は 3022 ± 350 g(2254~4065g)、在胎週数は 38.8 ± 1.3 週(36~41週)であり、8.9%の患者に周産期異常歴を有していた。本人のアレルギー歴としてはアトピー性皮膚炎を8.6%、食物アレルギーを15.5%に認めた。両親どちらかが喘息以外のアレルギー疾患を有する率は75.9%、喘息を有する率は15.5%であった。対象患者の67.2%が同胞を有し、喘息以外のアレルギー疾患に罹患している同胞がいる対象患者は31.0%、喘息に罹患している同胞がいる対象

Table 1 Demographic characteristics of 58 cases analyzed

Age at hospitalization (months)	9.4 ± 8.8
Gender (male)	26 (48%)
Duration of hospital stay (days)	5.0 ± 2.7
Previous history of wheezing	24 (41.4%)
Previous history of prolonged cough	22 (37.9%)
Attending a nursery school	19 (32.8%)
Gestational age (weeks)	38.8 ± 1.3
Birth weight (g)	3022 ± 350
Perinatal abnormality	5 (8.9%)
Atopic dermatitis (past and/or present)	5 (8.6%)
Food allergy (past or present)	9 (15.5%)
Parental asthma	9 (15.5%)
Parental atopic diseases other than asthma	44 (75.9%)
Environmental tobacco smoke	29 (50.0%)
Siblings	39 (67.2%)
Atopic diseases of siblings other than asthma	18 (31.0%)
Asthma of siblings	4 (6.9%)

(Continuous variables are expressed as mean ± SEM. Numbers in parentheses indicate percentage in total 58 cases)

Table 2 Contributing factors for wheezing illness after RSV infection logistic regression, univariable analysis (Chi-Square Test)

Factors	<i>p</i>	Odds ratio	95% confidence interval	
Previous history of wheezing	< 0.01	9.12	2.66	31.22
Attending a daycare	0.05	3.12	0.98	9.92
Parental asthma	0.07	4.30	0.81	22.8
Previous history of prolonged cough	0.28	1.81	0.62	5.29
Sibling	0.40	1.60	0.53	4.85
Perinatal abnormality	0.64	1.56	0.24	10.09
Atopic diseases of siblings other than asthma	0.57	1.38	0.45	4.23
Environmental tobacco smoke	0.79	1.15	0.41	3.22
Asthma of siblings	1.00	1.00	0.13	7.62
Sex (male)	0.60	0.76	0.37	2.14
Parental atopic diseases other than asthma	0.54	0.69	0.2	2.3
Food allergy (past or present)	0.28	0.44	0.99	1.97
Atopic dermatitis (past or present)	0.16	0.22	0.23	2.13

患者は 6.9% いた。入院理由は上気道炎、細気管支炎、肺炎等多岐に渡り、軽症から重症まで幅広く認め、入院期間は 5.0 ± 2.7 日 (2~17 日)、退院後からの期間は 703.6 ± 105.5 日 (432~950 日) であった。退院後喘鳴のエピソードがあった例は 58 例中 29 例、50.0% であった。

退院後の喘鳴に関連する因子について単変量解析の結果を **Table 2** と **Table 3** に示す。入院前の喘鳴の既往歴、保育園通園歴がある児はない児に比べ有意に退院後も喘鳴を認める傾向にあった ($p = < 0.01, 0.05$)。入院前の喘鳴の既往歴のオッズ比は 9.12、保育園通園歴のオッズ比は 3.12 であっ

Table 3 Contributing factors for wheezing illness after RSV infection logistic regression, univariable analysis (t test)

Factors	<i>p</i>	95% confidence interval	
Birth weight	0.34	- 346.9	14.2
Gestational age	0.28	- 0.75	0.61
Duration of hospital stay	0.42	- 1.83	1.07
Age on admission	0.11	- 1.2	8.0

Table 4 Contributing factors for wheezing illness after RSV infection logistic regression, multivariable analysis

	<i>p</i>	Odds ratio	95% confidence interval	
Previous history of wheezing	< 0.01	11.30	2.97	43.00
Attending a day care	0.03	4.45	1.13	17.59

た。一方, Asthma predictive index¹⁰⁾¹¹⁾に含まれているその他喘息発症のリスクファクターである本人のアトピー性皮膚炎, 食物アレルギーといったアトピー素因, 両親の喘息歴は退院後の喘鳴と明らかな関連を認めなかった ($p=NS$)。その他, 入院時年齢, 性別, 長い入院期間, 短い在胎週数, 周産期異常の有無, アレルギー疾患の有無, アレルギーの家族歴, 朝夜続く咳の既往, 家族の喫煙(受動喫煙), 兄弟の有無についてはそれぞれ退院後の喘鳴と有意な相関は見られなかった。退院後の喘鳴に関連する因子について多変量解析の結果を **Table 4** に示す。結果, 退院後の喘鳴と有意な相関があるのは, やはり喘鳴の既往と保育園通園歴のみであり ($p<0.01, 0.03$), オッズ比はそれぞれ 11.3, 4.45 であった。

考 察

RSV 感染後に気道過敏性亢進等の呼吸機能の異常をきたすことはよく知られており¹²⁾⁻¹⁴⁾, 近年 RSV と喘息, 喘鳴の関連についての後方視的, 前方視的疫学調査が報告されている。その結果 RSV 感染症, 特に RSV 細気管支炎はその後の繰り返す喘鳴, 喘息の重要なリスク因子と考えられている⁶⁾⁸⁾¹⁵⁾⁻¹⁷⁾。しかし RSV に罹患した乳幼児全てが喘鳴を生じる訳ではなく, 1 歳未満の乳児期に RSV

感染症に罹患すると Th2 優位の免疫状態となり, 他の因子が加わることにより喘鳴, 喘息が発症すると推測されている¹⁸⁾。その危険因子として本人のアトピー素因, 吸入抗原の感作, 両親の喘息歴, 湿疹, 男児, IgE の上昇, 母体の喫煙等が挙げられる¹⁰⁾¹¹⁾¹⁹⁾²⁰⁾。しかしこれら疫学調査は欧米を中心とした諸外国から主に報告されており, 我が国では RSV 感染症の治癒後, 定期受診を受けることは少なく, 大規模な疫学調査も行われていないため RSV 感染症罹患後の経過についての報告は少ない²¹⁾。そこで我々は RSV 感染症のため入院した児 99 例の退院後の喘鳴の予後についてアンケート調査を行い, 日本での RSV 感染症と感染後の喘鳴, 背景にあるリスクファクターについて検討を行った。

RSV 感染群での喘鳴, 喘息発症率は 13~60% と米国, 欧州を中心に報告されているが, 日本では高橋らが RSV 感染症のため入院した 198 例についてアンケート調査を行っており, 退院後喘鳴を呈したのは 64.2% と報告している⁹⁾。諸外国からの報告ではあるが RSV 非感染群の喘鳴・喘息発症率が 2~19% と報告されており⁶⁾⁸⁾¹⁵⁾⁻¹⁷⁾, これらから RSV 感染症は喘息, 喘鳴の重要なリスク因子と考えられる。我々の調査では RSV 感染症の喘鳴の頻度は 50.0% であり, 日本でも概ね諸外国の

報告と一致すると考えられた。

Martinezらは大規模なコーホート研究から小児の喘鳴を、出生後早期から3歳頃まで主に感染時に wheezing が出現する transient early wheezers, ウイルス感染後に認める non-atopic wheezers, 狭義の喘息である IgE associated wheeze/asthma の3群に分けている¹⁹⁾。しかしこれらを早期に鑑別することは非常に困難であり、経過から判断せざるをえないことが日常診療では往々にしてある。本研究の調査対象児の平均年齢は9.4カ月のため入院前の喘鳴の既往を持つ児は狭義の喘息に加え相当数の transient early wheezers, non-atopic wheezers がいると考えられる。

両親の喘息の家族歴、低出生体重、早産は喘息発症のリスク因子であるとの報告が積み重ねられている¹⁹⁾²²⁾。両親の喘息の家族歴は喘息が遺伝的な要素を含んでいることを示唆し、低出生体重、早産は出生早期の肺機能低下による transient early wheezers を呈していると解釈される。今回の解析の結果これらは有意とならなかったが、その原因として、低出生体重児、早産児群については当院の近傍に新生児専門病院があるため、低出生体重児は当院を受診しない傾向にあり、今回の調査では出生体重2500g以下の児は一人しか含まれていないことと、近年低出生体重児は抗RSV抗体によって感染予防されているという背景が考えられた。

本人のアトピー素因は喘鳴のリスク因子とする報告が多いが¹⁰⁾¹⁹⁾²²⁾、その一方喘鳴のリスク因子とはならないという報告もあり²³⁾、議論のあるところである。本研究対象においては狭義のアトピー性喘息は相対的に低下していると考えられるため、本人のアトピー素因を始め、両親のアレルギー歴、両親いずれかの喘息の家族歴、同胞のアレルギー歴と退院後喘鳴との有意な関連を認めなかった可能性がある。しかし喘鳴を呈する乳幼児全体で見るとアレルギー歴は関連を認めないのが本当のところかもしれない。喘鳴の素因がある児がRSVに罹患したため喘鳴を呈するのか、罹患せずとも喘鳴を呈するのかは不明である。しかし我々の解析の結果からはRSVに罹患して喘鳴を呈す

る因子は入院前の喘鳴の既往と保育園通園歴のみであり、RSV感染後の喘鳴はもともとの素因に加え、保育園による感染機会の増加によるものが大きいのではないかと考えられた。

ここでいう「もともとの喘鳴の素因」とは何かという疑問が浮き上がってくる。今回の解析では喘鳴の既往、保育園通園歴以外の背景因子では差を認めなかったため現時点では不明と言わざるを得ない。しかし今回の調査はレトロスペクティブなものであり、無作為対象選択比較試験ではない。また症例数も少ないため、RSV罹患後の喘鳴の背景を導き出すにはプロスペクティブかつ大規模な調査が望ましいと考えられる。血清IgE、好酸球数、吸入抗原の感作等は今回調査していないが、本研究のデータは問診からも簡単にRSV感染症後の喘鳴のリスクを導き出せるものであり、多忙な日常診療での有用性は高いと考える。

乳幼児の喘鳴、喘息の早期介入、予防が昨今盛んに議論されているが、未だ明確な指針は示されていない。transient early wheezers, non-atopic wheezers は原則自然寛解すると考えられ喘息の予防的治療を要しない。transient early wheezers, non-atopic wheezers, IgE associated wheeze/asthma の3群を早期に区別することは困難であり、実際の臨床現場では予防的治療を要さない喘鳴児にまで喘息の予防的治療を行う可能性を常に抱えている。近年相次いで発表された吸入ステロイドによる二次予防をめざした早期介入試験であるPAC study²⁴⁾、IFWIN study²⁵⁾、PEAK study²⁶⁾では吸入ステロイドによる早期介入は乳幼児喘息の自然歴を変えないと結論された。これは transient early wheezers, non-atopic wheezers も少なからず含まれていると考えられ、乳幼児の喘鳴、喘息の早期介入、予防については今現在も混沌とした状態である²⁷⁾。しかしロイコトリエン受容体拮抗剤(Montelukast)の投与によって少なくとも特定のサブグループにはRSV細気管支炎罹患後の反復性喘鳴の抑制、呼吸器ウイルス感染後の喘息増悪の予防が認められたと報告があり²⁸⁾³⁰⁾、またSimoes等によると早産児に抗RSVヒト化モノクローナル抗体を投与し、RSV下気道

感染を予防することにより後年の反復性喘鳴を低減できるとされている³⁾。これは広い意味では transient early wheezers 群, non-atopic wheezers 群に対する早期介入, 予防と考えられる。我々のデータ(喘鳴の既往, 保育園通園歴)や過去の報告から RSV 感染後の喘鳴に対するリスク分類を行い, ハイリスク児に対しては RSV に罹患する前に抗 RSV ヒト化モノクローナル抗体やロイコトリエン受容体拮抗剤を用いて早期介入, 予防を行う方法は十分有効な可能性がある。しかしいつから予防を開始するのか, 予防期間, リスク分類, 有効性, cost benefits 等の問題は山積されており, 今後更なる検討を要する。RSV 感染症と喘鳴の関連についてより広範かつ長期に調査を進め疫学的データを構築していくことによりこれらの問題も解決されと考えられ, 我々の調査結果を初め RSV 感染と喘鳴, 喘息に対する背景因子を導き出し, ひいては喘鳴, 喘息の早期介入, 予防に結び付けていくことが期待される。

文 献

- 1) Welliver RC. Review of epidemiology and clinical risk factors for severe respiratory syncytial virus (RSV) infection. *J Pediatr* 2003; 143: S112-7.
- 2) Black CP. Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection. *Respir Care* 2003; 48: 209-31; discussion 231-203.
- 3) Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *Bmj* 1993; 307: 982-6.
- 4) Kling S, Donninger H, Williams Z, Vermeulen J, Weinberg E, Latiff K, et al. Persistence of rhinovirus RNA after asthma exacerbation in children. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 672-8.
- 5) Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM, et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999; 354: 541-5.
- 6) Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1501-7.
- 7) Henderson J, Hilliard TN, Sherriff A, Stalker D, Al Shammari N, Thomas HM. Hospitalization for RSV bronchiolitis before 12 months of age and subsequent asthma, atopy and wheeze: a longitudinal birth cohort study. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16: 386-92.
- 8) Sigurs N, Gustafsson PM, Bjarnason R, Lundberg F, Schmidt S, Sigurbergsson F, et al. Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 137-41.
- 9) 高橋 豊, 羽田美保, 川原朋乃, 田端祐一, 米川元晴, 鹿野高明. RS ウイルス感染症により入院した児のその後の喘鳴性疾患罹患に関する検討. *日本小児科学会誌* 2006; 110: 663-7.
- 10) Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1403-6.
- 11) Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Bacharier LB, Boehmer SJ, Krawiec M, et al. Atopic characteristics of children with recurrent wheezing at high risk for the development of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 1282-7.
- 12) Gurwitz D, Mindorff C, Levison H. Increased incidence of bronchial reactivity in children with a history of bronchiolitis. *J Pediatr* 1981; 98: 551-5.
- 13) Johnston ID. Effect of pneumonia in childhood on adult lung function. *J Pediatr* 1999; 135: 33-7.
- 14) McBride JT. Pulmonary function changes in children after respiratory syncytial virus infection in infancy. *J Pediatr* 1999; 135: 28-32.
- 15) Carlsen KH, Larsen S, Orstavik I. Acute bronchiolitis in infancy. The relationship to later recurrent obstructive airways disease. *Eur J Respir Dis* 1987; 70: 86-92.
- 16) Pullan CR, Hey EN. Wheezing, asthma, and pulmonary dysfunction 10 years after infection with respiratory syncytial virus in infancy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 284: 1665-

- 9.
- 17) Sims DG, Downham MA, Gardner PS, Webb JK, Weightman D. Study of 8-year-old children with a history of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy. *Br Med J* 1978; 1: 11-4.
- 18) Holt PG, Sly PD. Interactions between RSV infection, asthma, and atopy: unraveling the complexities. *J Exp Med* 2002; 196: 1271-5.
- 19) Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med* 1995; 332: 133-8.
- 20) Martinez FD. Maturation of immune responses at the beginning of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 355-61.
- 21) 永山洋子. 小児期における Respiratory syncytial virus 感染症. 日本小児アレルギー学会誌 1999 ; 8-21.
- 22) Clough JB, Keeping KA, Edwards LC, Freeman WM, Warner JA, Warner JO. Can we predict which wheezy infants will continue to wheeze? *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1473-80.
- 23) Kneyber MCJ, Steyerberg EW, de Groot R, Moll HA. Long-term effects of respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis in infants and young children: a quantitative review. *Acta Paediatr* 2000; 89: 654-60.
- 24) Bisgaard H, Hermansen MN, Loland L, Halkjaer LB, Buchvald F. Intermittent inhaled corticosteroids in infants with episodic wheezing. *N Engl J Med* 2006; 354: 1998-2005.
- 25) Murray CS, Woodcock A, Langley SJ, Morris J, Custovic A. Secondary prevention of asthma by the use of Inhaled Fluticasone propionate in Wheezy INfants (IFWIN): double-blind, randomised, controlled study. *Lancet* 2006; 368: 754-62.
- 26) Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Mauger DT, Boehmer SJ, Szeffler SJ, et al. Long-term inhaled corticosteroids in pre-school children at high risk for asthma. *N Engl J Med* 2006; 354: 1985-97.
- 27) 藤澤隆夫. 吸入ステロイドは喘息を治癒させるか? : 2007年の視点. 日本小児アレルギー学会誌 2007 ; 21 : 169-80.
- 28) Bisgaard H. A randomized trial of montelukast in respiratory syncytial virus postbronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 379-83.
- 29) Bisgaard H, Zielen S, Garcia-Garcia ML, Johnston SL, Gilles L, Menten J, et al. Montelukast reduces asthma exacerbations in 2- to 5-year-old children with intermittent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 315-22.
- 30) Bisgaard H, Flores-Nunez A, Goh A, Azimi P, Halkas A, Malice MP, et al. Study of montelukast for the treatment of respiratory symptoms of post-respiratory syncytial virus bronchiolitis in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178: 854-60.
- 31) Simoes EA, Groothuis JR, Carbonell-Estrany X, Rieger CH, Mitchell I, Fredrick LM, et al. Palivizumab prophylaxis, respiratory syncytial virus, and subsequent recurrent wheezing. *J Pediatr* 2007; 151: 34-42.

FACTORS RELATED TO RECURRENT WHEEZING AFTER HOSPITALIZATION
WITH RSV INFECTION WITH THE CHILDREN WHO WERE AGED THREE YEARS
OLD OR YOUNGER: A QUESTIONNAIRE SURVEY

Koa Hosoki¹⁾²⁾, Mizuho Nagao¹⁾²⁾, Yukiko Hiraguchi¹⁾,
Reiko Tokuda¹⁾ and Takao Fujisawa¹⁾²⁾

¹⁾*Institute for Clinical Research, Mie National Hospital*

²⁾*Department of Pediatrics, Mie National Hospital*

Respiratory syncytial virus (RSV) infections in infancy have been related to the subsequent recurrent wheezing and asthma. However, there are a few reports about the relationship between RSV infection and subsequent wheezing in Japan. We sought to determine the contributing factors for wheezing illness after RSV infection in 99 Japanese patients with RSV-associated hospitalizations by questionnaire and follow up survey. Fifty eight patients, who were aged three years old or younger on admission and could be followed up more than one year, were analyzed. The mean duration from discharge to last survey were 703.6 ± 105.5 days (432~950 days), the mean age on admission were 9.4 ± 8.8 months (0~30 months). Wheezing episodes after discharge were reported in 29 of the subjects (50.0%). Univariable and multivariable analysis identified that the subsequent wheezing after RSV infection were related with the history of wheezing before admission and attending a daycare. The patient's age on admission, the patient's atopic profile, history of continuous nocturnal cough before admission, gestational ages, birth weight, length of hospital stay, perinatal abnormality, environmental tobacco smoke, parental history of allergy and asthma, presence of sibling and sibling history of allergy and asthma were not associated with subsequent wheezing.

These results suggest that some host factors susceptible to wheezing and chance of infection due to attending a daycare may be related to recurrent wheezing possibly onset of bronchial asthma, after RSV infection.

「初めて発作入院した」乳幼児喘息の臨床経過

細木 興 亜¹⁾ 平口 雪 子¹⁾ 徳田 玲 子¹⁾ 長尾 みづほ¹⁾
 藤澤 隆 夫¹⁾ 高松 勇^{2),5)} 錦戸 知 喜²⁾ 吉田 之 範²⁾
 亀田 誠²⁾ 土居 悟²⁾ 森下 雄 大³⁾ 竹中 学³⁾
 寺田 明 彦³⁾ 野田 映 子⁴⁾ 神田 康 司⁴⁾

国立病院機構三重病院 臨床研究部¹⁾, 大阪府立呼吸器アレルギー医療センター 小児科²⁾
 宏潤会大同病院 小児科³⁾, 名古屋第二赤十字病院 小児科¹⁾, たかまつこどもクリニック⁵⁾

Key words : 重症間欠型喘息, 乳幼児喘息, 初めての発作入院

略語 : AIMS : Acute Intervention Management Strategy, API : asthma predictive index,

BIS : Budesonide Inhalation Suspension, ICS : inhaled corticosteroid,

JPGL2008 : Japanese Pediatric Guideline for the Treatment and Management of Asthma 2008

和文抄録

【目的】急性増悪で初回入院した乳幼児喘息例の臨床的特徴を明らかにする。

【方法】生後6ヶ月から5歳未満の間欠型または軽症持続型の喘息患者で、急性増悪により初回入院した29例の退院後長期投薬の有無による臨床経過の差を後ろ向きに検討した。

【結果】退院後6ヵ月の観察期間で、長期投薬あり群(75.9%)の急性増悪再発率は0.66回/患者・年、なし群は1.00回/患者・年であった。長期投薬なし群はあり群と比較し急性増悪の再発頻度と再発までの期間に有意差を認めなかったが、有意に早く治療コントロール不良となった($p<0.05$)。再増悪ない治療コントロール不良群は他のアレルギー疾患合併、好酸球増多の何れかを認める割合が高く($p<0.05$)、ダニ抗原感作陽性を加えた3因子のいずれかを有する傾向も高かった($P<0.05$)。

【結論】初回入院後に再び急性増悪またはコントロール悪化を来す例はアトピー素因を持つ例が多く、長期管理薬が投与されないとより早期にコントロール不良となる傾向であった。

はじめに

近年、吸入ステロイド(inhaled corticosteroid: 以下ICS)の普及により学童期以上の喘息は軽症化の傾向にあるが、乳幼児喘息については増加の一途であり、わが国においても(平成17年厚生労働省大臣官房統計情報部 患者調査)、諸外国でも¹⁾、喘息発作による入院例の多くを占めているのが現実である。さらに、発作入院に至る乳幼児例の中では入院前の重症度が間欠型あるいは軽症持続型に分類されていた患児の割合が少なくないが、「重症間欠型喘息」とも表現できるこれら症例の臨床的特徴、初回入院後の再増悪の頻度などについての報告は少ない。小児気管支喘息治療・管理ガイドライン2008²⁾(Japanese Pediatric Guideline

for the Treatment and Management of Asthma 2008: 以下JPGL2008)の重症度分類でもこれらの症例の位置づけはまだ明確とはいえ、実際の臨床現場で「重症間欠型喘息」例に遭遇したとき、退院後の長期管理薬の適応について迷うことがしばしばである。乳幼児喘息の病態は多様で、ウイルス感染により一時的に増悪するものの軽症で経過して早期に寛解するタイプがある一方、発作入院を繰り返し重症化していくタイプもあるが、初回の発作入院時にその予後を推定することは通常困難である。そこで我々は間欠型あるいは軽症持続型であったが中発作以上の発作強度で初めて入院した乳幼児喘息例の経過を後ろ向きに検討、その臨床的特徴を明らかにすることにより、初回入院例の長期管理薬適応基準確立に向けた基礎的データを得るこ

とをめぐした。

対 象

生後6ヶ月から5歳未満の間欠型または軽症持続型(入院前)の喘息患者で、2007年10月から2007年12月の間に初回の急性増悪(中発作以上の発作強度)により入院した29例を対象とした。

方 法

対象症例を登録し、アレルギーを専門とする主治医の判断に基づいて行われた退院後の長期管理治療の有無による臨床経過の差を後ろ向きに比較、検討した。観察期間は初回入院後6ヶ月間で、主評価項目は急性増悪再燃の有無とした。急性増悪の定義は、1、発作受診時にSpO₂ <95%が持続、2、中発作以上の症状で予定外受診をし、全身ステロイド投与または入院を要する、3、β₂刺激薬吸入を2回行なって、なお努力呼吸が残る、のいずれかを満たすものとした。担当医は患児が発作で受診した際に、本基準をもって判定し、記録した。対象患児の保護者には通常の喘息日記を記載させ、少なくとも1ヵ月に1度の定期受診を勧めた。担当医は喘息日記と定期受診時の臨床所見により、ガイドラインに基づいた治療を継続、コントロール不良と判定した場合は長期管理薬の開始・追加・増量などを行い、記録した。副評価項目は定義した急性増悪までの期間、症状悪化により長期管理薬の開始・追加・増量などが行われるまでの期間(コントロール悪化)とした。退院後の急性増悪またはコントロール悪化の有無により2群に分類し入院時の検査データ、家族歴、アレルギー歴について比較検討した。

本研究は各施設での倫理委員会での審査・承認を受けた。前向きに症例を登録し、後ろ向きに評価した研究であること、すべての治療はガイドラインに基づいた主治医の判断で行い、介入を行わなかったことより、文書による同意は得なかった。

統計学的解析

入院時月齢、血液検査の諸データは平均±標準誤差で表した。年齢、男女比、家族歴、アレルギー歴、重症度タイプ等の質的データについての解析はFisher検定にて行った。数値データはMann-Whitney検定

を行い、退院後経過の増悪までの期間、コントロール悪化までの期間は Kaplan-Meier 解析を用い log-rank test にて検定を行った。臨床的背景因子の頻度の差はカイ2乗検定にて検討した。これらの統計処理には GraphPad Prism 5 (GraphPad Software) を使用した。

結 果

患者背景

対象患者の平均月齢は32.3±15.0ヶ月(8~59ヶ月)、男女比は17:12であった。他のアレルギー疾患合併は29例中7例(24.1%)に認め、アトピー性皮膚炎6例、食物アレルギー3例、アレルギー性鼻炎1例であった。家族歴では、両親いずれかの喘息は29例中7例(24.1%)、同胞の喘息は29例中4例(13.8%)に認めた。喘息の診断はJPGL2008に基づき、明らかな呼気性喘鳴のエピソードを3回以上繰り返した例とした。その結果、入院前に医師による診断を受けていた例は19例、入院時に初めて喘息の診断を行った例が10例であった。入院時に長期管理薬が投与されている例は3例であった。入院前の重症度は間欠型18例、軽症持続型11例であった。入院時の血液検査では白血球数13989±4998/μl、好酸球2.3±3.8%、CRP 0.95±1.02 mg/dl、IgE 526.1±903.5 IU/ml、ダニ特異的IgE class 2.8±2.6であった。入院時にインフルエンザウイルス感染症の合併は1例、RSウイルスの合併は1例認めた。

退院時処方(表1)

退院時に長期管理薬を処方された症例は29例中22例(75.9%)であった。単剤投与群が15例(51.7%)で、ICSないしロイコトリエン拮抗薬が投与されていた(ICSのみ8例、27.6%、ロイコトリエン拮抗薬のみ7例、24.1%)。複数の薬剤が投与されている例は7例(24.1%)あり、全例ICSを使用し6例にLTRAを併用されていた。使用されていたICSはブデソニド吸入用懸濁液(Budesonide Inhalation Suspension: 以下BIS)が約半数46.7%であった。退院時の長期管理薬の投与なし群の重症度は、間欠型:軽症持続型 6:1、投与群の重症度は、間欠型:軽症持続型 10:12であり入院前重症度が軽症持続型では長期管理薬の投与を有意に受ける傾向にあった(p=0.047)。その他の背景因子として入院前喘息診断(医師:問診)、年齢、男女比、他のアレルギー疾患合併、家族歴、白血球数、入院時好酸球%、CRP、血清IgE、ダニ特異的IgE抗

表 1 退院時長期管理薬処方の有無と内訳

		例数
長期管理薬投与なし		7
長期管理薬投与あり		22
単剤 (15例)	BIS	3
	FP	3
	BDP	2
	Pran	5
	Mont	2
併用 (7例)	BIS + Pran + DSCG	3
	BIS + Theo	1
	FP + Pran	1
	FP + Mont	1
	BDP + Pran	1

BIS: ブデソニド吸入懸濁液
 FP: フルチカゾン
 BDP: ベクロメサゾン (HFA)
 Pran: プランルカスト
 Mont: モンテルカスト
 Theo: テオフィリン徐放薬
 DSCG: クロモグリク酸吸入

体陽性率, ダニ特異的 IgE 抗体価 class については, 退院時の長期管理薬のなし群, あり群の間で有意な差は認めなかった。

退院後経過

退院後の経過は全患者29例で4584日間の観察期間が得られ, 急性増悪の再発は9回観察された。退院時の長期管理薬処方あり群は観察期間3852日中7回の再発があり再発率は0.66回/患者・年であった。また退院時の長期管理薬処方なし群では732日中, 2回の再発があり再発率は1.00回/患者・年であった。長期投薬なし群とあり群と比較すると, 前者で早期に急性増悪が再発するようにみえたが, 有意差は認めなかった ($p=0.1321$, 図1A)。しかし, 急性増悪に加えて, 発作頻度増加による長期管理薬の増量または追加投与があったか否か (コントロール悪化) をアウトカムとした場合, 非投薬群は投薬群に比べて有意に (Log-rank test $p=0.0114$) 早くコントロール不良となる傾向を認めた (図1B)。

コントロール悪化の有無を基準としたときの背景因子の比較 (表2)

上に述べた急性増悪またはコントロール悪化した例 (悪化群) は8例, 悪化せず間欠型の症状を維持できた例 (安定群) は21例であった。そこで, これら2群間について, 臨床的背景因子を比較した。年齢, 男女比, 家族歴, 重症度タイプには両者に明らかな差は認めなかったが, アレルギー合併症に関して悪化群は8例中4例, 50%, 安定群21例中4例, 19%と, 前者で有意に高頻度であった ($p=0.0263$)。入院時の血液検査では WBC, CRP に差はなく IgE, ダニ抗原感作, 好酸球は悪化群で高い傾向を認め, 好酸球は統計学的に有意差を認めた。

さらに, アレルギー疾患合併, 好酸球高値 (4%以上) のいずれかを認める割合は悪化群では8例中6例 (75%), 安定群では21例中4例 (19%) で有意差をもって悪化群がどちらかの因子を持っている傾向にあった ($p=0.0046$)。退院時の長期管理薬の有無ではこれら因子のいずれかを認める割合に差は無かった。さらに, 本人のアレルギー疾患合併, ダニ抗原感作陽性 (class2以上), 好酸球高値 (4%以上) の3つの因子の所有

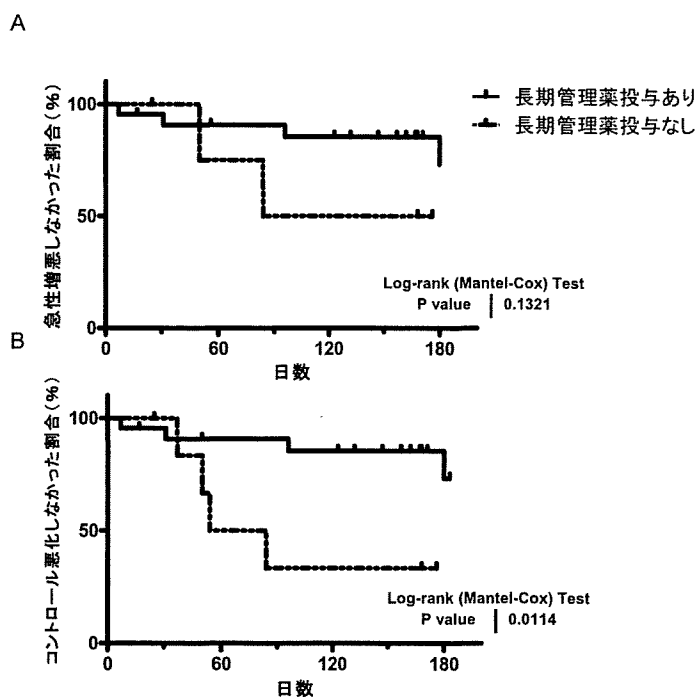


図1 長期管理薬の有無による臨床経過の違い

図の説明

図1 退院後の経過

A: 再度の急性増悪を起こさなかった症例の割合

B: コントロール良好例の割合 (急性増悪を含む発作増加により長期管理薬の開始, 追加, 増量を要することがなかった症例の割合) カプランマイヤー解析による

表2 悪化群と安定群の背景因子

	再度の急性増悪 またはコントロール悪化	コントロール悪化なし (間欠型を維持)	P value
症例数	8例	21例	
入院前喘息診断 (医師:問診)	5:3	14:7	
入院時長期管理薬 (あり:なし)	0:8	3:18	
月齢	33.4±14.7	31.9±15.5	NS
男女比 (男:女)	5:3	12:9	NS
他のアレルギー疾患合併 (率)	4 (50%)	3 (14%)	0.0263
両親, 同胞の喘息家族歴 (率)	3 (38%), 1 (13%)	5 (24%), 3 (14%)	NS
入院時重症度 (間欠型:軽症持続型)	5:3	13:8	NS
入院時白血球数 (/μl)	13625±5082	14142±5095	NS
入院時CRP (mg/dl)	1.17±0.68	0.98±1.15	NS
入院時好酸球 (%)	3.6±3.3	1.75±3.89	0.0458
入院時血清IgE (IU/ml)	964±1456	307±329	NS
入院時ダニ特異的IgE抗体陽性 (率)	6 (75%)	8 (38%)	NS
入院時ダニ特異的IgE抗体価 (class)	3.25±2.44	2.56±2.71	NS
アレルギー疾患合併, 好酸球4%以上いず れか, あるいは双方を有する例数	6	4	0.0046

数を比較すると(表3), 因子数の分布に有意な差を認め(カイ2乗検定 $p=0.017$), 悪化群は安定群にくらべて, より多くの因子を持つ傾向が認められ, これらはリスク因子となると考えられた. とくに, 悪化群では本人のアレルギー疾患合併, ダニ抗原感作陽性, 好酸球高値(4%以上)のいずれかを必ず持ち合わせていたが, 安定群ではいずれの因子も有さない例が半数近くを占めていたことは注目に値すると考えられた. こちらも先と同様に, 退院時の長期管理薬の有無で3つの因子の所有数の分布で有意な差は認めていない.

考 察

JPGL2008によると, 治療前の臨床症状に基づく重症度分類にて間欠型喘息は「年に数回, 季節性に咳嗽, 軽度喘鳴が出現する. 時に呼吸困難を伴うこともあるが, $\beta 2$ 刺激薬の頓用で短期間で症状は改善し, 持続しない。」と定義されている. このように臨床症状に基づく重症度分類は咳嗽, 軽度喘鳴の発作頻度と呼吸困難・中・大発作といった大きな発作強度の組み合わせからなり, 比較的最近の発作状況により重症度を判定すると記載されている. それでは発作頻度と発作強度が食い違う症例についてはどの重症度に入るべきであろうか. 我々の検討での対象症例のような, 普段の喘息の状態は安定し発作も軽く頻度も少なかったが, 突然に重篤な発作を起こし入院に至るという亜型は確かに存在するもののガイドラインではどの重症度にも分類されない. しかし, 実際の臨床現場においてはこのような症例をしばしば経験し, 長期管理治療の適応, 治療薬の選択について判断に悩む. JPGL2008にも「乳児では間欠的に重篤な発作を起こす児が存在し, 重症度分類では間欠型に属してしまう. そのような症例では鑑別診断を十分に行った上で, 長期管理薬を持続型に準じて用いることが望ましい。」と記載されている

が, 長期管理薬適応についての明確な基準はまだなく, 今後の課題である. また, 今回, 我々は対象症例を「重症間欠型喘息」と表現したが, 表現, 定義, 治療についても議論が必要と思われる.

我々が重症間欠型喘息と表現した症例についての検討は報告が少なく, 諸外国のガイドラインでも明確な定義はされていない³⁾. Bacharier らは乳幼児では日頃は間欠型の症状でありながら, 気道感染を契機に重症発作を起こす例が少なくないとして, "severe intermittent wheezing" と表現, それらの症例の特徴としてアトピー性皮膚炎, 吸入抗原感作など, asthma predictive index⁴⁾ (以下 API) として表されるアトピー要因を有することが特徴であるとしている⁵⁾. そして, それらの症例への適切な治療法を探索する介入試験 AIMS (Acute Intervention Management Strategy) study では^{5), 6)}, 気道感染による2回以上の喘鳴の既往のある幼児(12-59ヵ月)で救急受診, 経口ステロイドを必要とする発作など急性増悪のエピソードを持つ例を対象として, 気道感染時に BIS (2 mg/日), montelukast (4 mg/日) またはプラセボを7日間投与する介入を行い, 1年間の経過を観察した. その結果, 無症状日数には各群で差はなかったが, 発作時の重症度は実薬による介入群で有意に軽減し, 特に API 陽性の患者で顕著だったと報告している. すなわち, このような感染時だけの短期間の治療でも, 日常の「間欠型」であるコントロールレベルを改善することはできないものの, いったん起こった発作は軽減できることを示している.

我々の検討では急性増悪で初めて入院した乳幼児喘息患者は入院前重症度が間欠型あるいは軽症持続型であっても, 一定の頻度で退院後に再度急性増悪を起こすことを観察した. また退院後の外来管理中に急性増悪を起こさないまでも最終的に何らかの理由により長期管理薬のステップアップを要することも多かった. 近年発表された ICS による二次予防をめざした早期

表3 リスク因子を有する数
(リスク因子: 本人のアレルギー疾患合併, ダニ抗原感作, 好酸球高値)

退院後の経過	因子の数			
	なし	1因子	2因子	3因子
再度の急性増悪またはコントロール悪化	0	4	2	2
コントロール悪化なし(間欠型のままで経過)	11	7	3	0

(症例数)

$P=0.017$

介入試験^{7), 8)}ではICSによる早期介入は治療中の臨床効果はあるが、乳幼児喘息の自然歴を変えないと結論され、乳幼児の喘鳴、喘息の早期介入、予防については未だ明確な指針は示されていない。我々の検討での「重症間欠型喘息」では長期管理薬投与群で再度の急性増悪が少ない傾向にあり（有意差なし）、コントロール悪化で治療薬追加が必要になるまでの期間は非投与群に比べて有意に長かった。以上より自然歴は変えないまでも投薬することにより再増悪の軽減や良好なコントロール維持に長期管理薬は役立つ可能性がある。

しかし、すべての症例に長期管理薬を投与すべきと結論することも望ましくない。ICSは安全であるとの報告は多いが⁹⁾、成長抑制などの副作用が皆無とはけっしていえない⁷⁾。そして、ウイルス感染による一度だけの増悪で、その後経過良好となる例も少なくないので、risk-benefitを考慮して、必要な例だけに投与することが望ましい。長期管理薬適応例を的確に同定することが求められているわけであるが、今回の我々の検討からは本人のアレルギー疾患合併（アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、アレルギー性鼻炎など）、好酸球高値（4%以上）例が有意に悪化群で多いことを認めた。さらに、本人のアレルギー合併、ダニ抗原感作陽性、好酸球高値（4%以上）の因子を複数有している例は、急性増悪を起こす、あるいはコントロール悪化となる可能性が高かった。したがって、このような因子は退院時に長期管理薬投与を考慮する根拠となるかもしれない。乳児期に通常は間欠型あるいは軽症持続型ながら、しばしば中等症以上の大きな発作を起こす喘息は、アトピー素因が強い例である可能性があり⁵⁾、今後、さらなる検討を重ねることにより、乳幼児喘息の詳細な治療指針の確立が望まれる。

一方、本研究の問題点は症例数が少なく、無作為化した介入は行っていないことが上げられる。投与された薬剤も様々であり、得られた結果が薬剤の種類による影響を受けている可能性も十分ある。AIMS studyでの間欠投与ではBISとMontelukastで臨床効果の差はわずかであったが⁶⁾、選択すべき治療薬はいずれがよいのかについても更に検討すべき課題である。また我々が便宜的に表現した「重症間欠型喘息」の定義も確立されていない。複数以上の急性増悪をもって、「重症」と定義すべきとの考え方もあるが、昨今の乳幼児の発作入院の頻度を考えると、初回の発作入院で、暫定的でも「重症間欠型」と判定して、その後の治療

を考慮するという今回の我々のアプローチはより臨床現場のニーズに即したものであると考える。

間欠型あるいは軽症持続型であったが初めて中等症以上の大きな発作で入院したという乳幼児例は臨床現場でしばしば直面する。乳幼児喘息のこれらサブタイプに対する治療ガイドラインの確立は急務ともいえる。今後は「重症間欠型喘息」の定義および長期管理のありかたについて十分検討し、我が国の独自のデータを蓄積、解析することによって小児気管支喘息ガイドラインに反映されることが望まれる。

文 献

- 1) Akinbami, L. J., and K. C. Schoendorf. 2002. Trends in childhood asthma: prevalence, health care utilization, and mortality. *Pediatrics* 110:315-322.
- 2) 日本小児アレルギー学会. 2008. *小児気管支喘息治療・管理ガイドライン2008*. 協和企画, 東京.
- 3) 2007. Full Report of Expert Panel: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma.
- 4) Guilbert, T. W., W. J. Morgan, M. Krawiec, R. F. Lemanske, Jr., C. Sorkness, S. J. Szeffler, G. Larsen, J. D. Spahn, R. S. Zeiger, G. Heldt, R. C. Strunk, L. B. Bacharier, G. R. Bloomberg, V. M. Chinchilli, S. J. Boehmer, E. A. Mauger, D. T. Mauger, L. M. Taussig, and F. D. Martinez. 2004. The Prevention of Early Asthma in Kids study: design, rationale and methods for the Childhood Asthma Research and Education network. *Control Clin Trials* 25:286-310.
- 5) Bacharier, L. B., B. R. Phillips, G. R. Bloomberg, R. S. Zeiger, I. M. Paul, M. Krawiec, T. Guilbert, V. M. Chinchilli, and R. C. Strunk. 2007. Severe intermittent wheezing in preschool children: a distinct phenotype. *J. Allergy Clin. Immunol.* 119:604-610.
- 6) Bacharier, L. B., B. R. Phillips, R. S. Zeiger, S. J. Szeffler, F. D. Martinez, R. F. Lemanske, Jr., C. A. Sorkness, G. R. Bloomberg, W. J. Morgan, I. M. Paul, T. Guilbert, M. Krawiec, R. Covar, G. Larsen, M. Mellon, M. H. Moss, V. M. Chinchilli, L. M. Taussig, and R. C. Strunk. 2008. Episodic use of an inhaled corticosteroid or leukotriene