

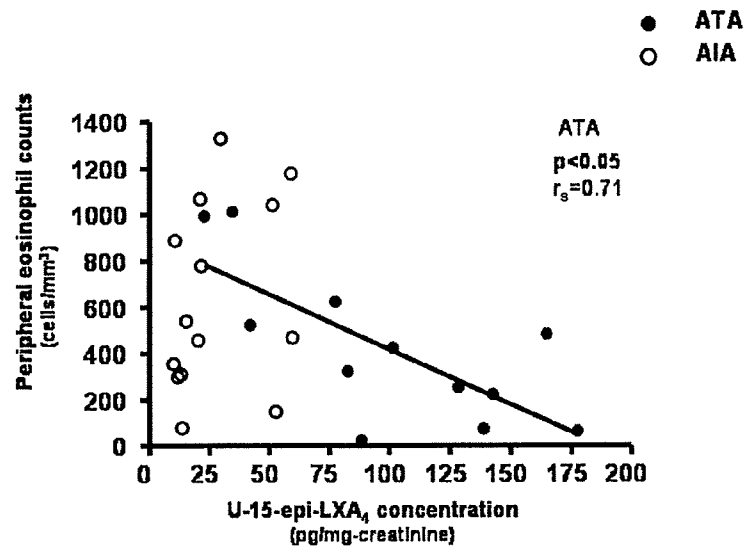
2)尿中 15-epi-LX 濃度は、末梢血好酸球数と有意に負の相関を示した($p=0.03$, $r_s=0.45$)。

3)尿中 15-epi-LX 濃度は、AIA 群は非 AIA 群と比較して有意に低値 (median, 21.5 pg/mg-cre vs 95.3 pg/mg-cre, $p<0.05$,)、LTE4/15epi-LX

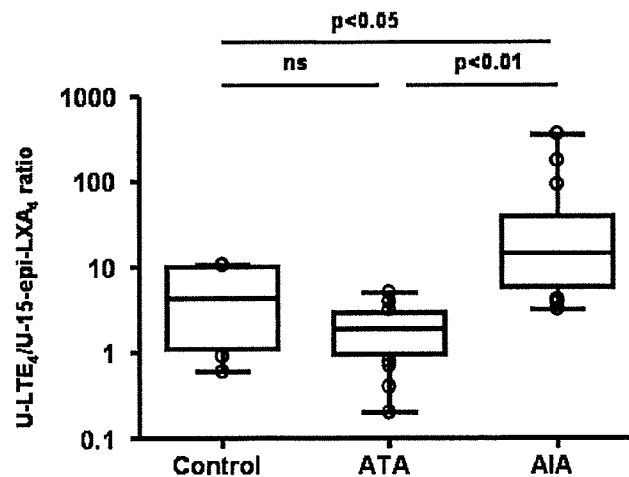
比は有意に高値であった (14.5 vs 1.9, $p<0.01$)。

4)重症持続型の 2 群比較においても尿中 15-epi-LX 濃度は AIA 群で有意に低値であった (26.7 pg/mg-cre vs. 100.7pg/mg-cre, $p<0.05$)。

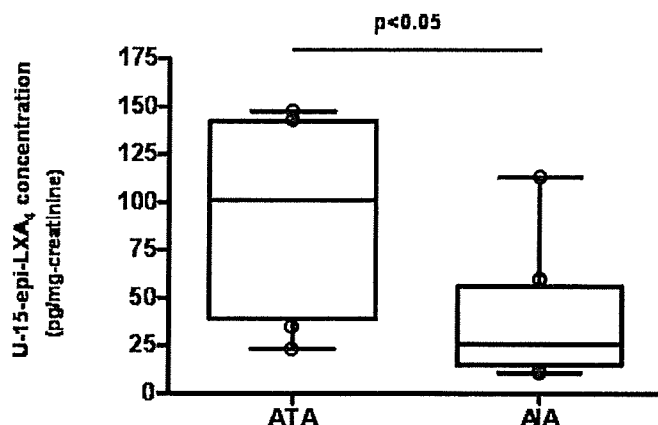
【末梢血好酸球数と尿中15-epi-LXA₄濃度の相関】



【尿中LTE₄/15-epi-LXA₄ ratio: Control vs AIA vs ATA】



【尿中15-epi-LXA₄: AIA vs ATA (重症持続型)】



D. 考察

AIA においては 炎症メディエーター(LT)と抗炎症メディエーター(LX/15epi-LX)の imbalance がアスピリン過敏体質に大きく関わっている可能性が示唆された。LX/15epi-LX は従来の報告のとおりに、気管支喘息の好酸球性炎症に対して抗炎症作用を示す可能性が本研究でも示された。

E. 結論

今後 LX アナログが アスピリン喘息をはじめとする重症喘息群の治療薬となりうる可能性が示唆された。本症例は高用量の吸入ステロイド±全身性ステロイドを使用しながらも難治性の喘息患者群であり、ステロイド抵抗性喘息の病態の1つの側面を表している可能性がある。(掲載予定)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

「総括研究報告書」

研究発表 1. 論文発表参照のこと

2. 学会発表

「総括研究報告書」

研究発表 2. 学会発表参照のこと

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

NSAIDs 不耐症の病態機序
—内因性 PGE2 低下と酸化ストレスに関する研究—

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院 外来部長
(アレルギー科医長・臨床研究センター気管支喘息研究室長併任)
研究協力者 東 憲 孝 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
秋山一男 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
三田晴久 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター

研究要旨：

喘息型 NSAIDs 不耐症(いわゆるアスピリン喘息(以下 AIA))は COX-1 阻害を有するすべての NSAIDs 投与により、気道収縮反応を誘発する。COX阻害にもかかわらず、AIAの誘発症状と関連して生体内でPGD2産生が本当に起きうる機序として 酸化ストレス反応(非酵素的反応)に伴う PG 産生の可能性が示唆される。そのため、新規酸化ストレスマーカーである尿中 *ent*-PGF2 \cdot 濃度を測定することにより、上記仮説の検証を前向きに行う。

今回、AIA ではもう一つの抗炎症性 mediator である PGE2 についても、同様の結果を認めた。尿中 *ent*-PGF2 \cdot は、新たな酸化ストレスのマーカーとして、今後の臨床応用に期待できたが、今回のアスピリン喘息と関連は認めなかった。

アスピリン投与による COX 阻害にもかかわらず PGD2産生亢進が起きるその機序は未だ不明である。

A. 研究目的

喘息型 NSAIDs 不耐症(いわゆるアスピリン喘息(以下 AIA))は COX-1 阻害を有するすべての NSAIDs 投与により、気道収縮反応を誘発する。初年度、肥満細胞活性化を反映して leukotriene (LT)や prostaglandinD2 (PGD2)の産生亢進をきたすことを明らかにしてきた。COX阻害にもかかわらず、AIAの誘発症状と関連して生体内でPGD2産生が本当に起きうる機序として 酸化ストレス反応(非酵素的反応)に伴う PG 産生の可能性が示唆される。そのため、新規酸化ストレスマーカーである尿中 *ent*-PGF2 \cdot 濃度を測定することにより、上記仮説の検証を前向きに行う。

B. 研究方法

1)国立病院機構相模原病院アレルギー科受診患者のうち、病歴から AIA が疑われた 18 名を対

象に、診断目的で行われたアスピリン負荷試験を行った。負荷試験の結果、AIA10名と非 AIA8名であった。アナフィラキシー(AN)発作群 8名も同様に検討した

2)負荷試験前後の尿を用いて、すべて HPLC による精製・抽出後 PGE2, PGF2 \cdot 、*ent*-PGF2 \cdot について EIA にて測定した。

C. 研究結果

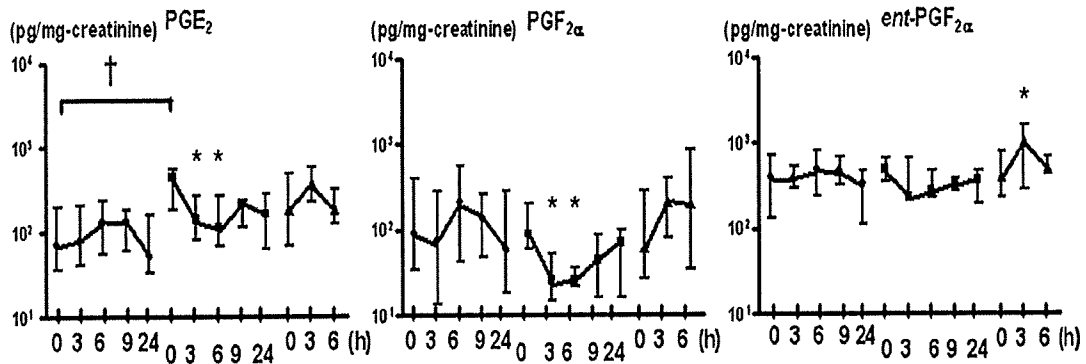
1) AIA 群においては、baseline における尿中 PGE2 濃度が、非 AIA 群よりも有意に低値であった。

2) AN 発作 3 時間後に尿中 *ent*-PGF2 \cdot 濃度の有意な増加を認め、酸化ストレス反応が生じていることが確認されたが、AIA 群ではアスピリン負荷試

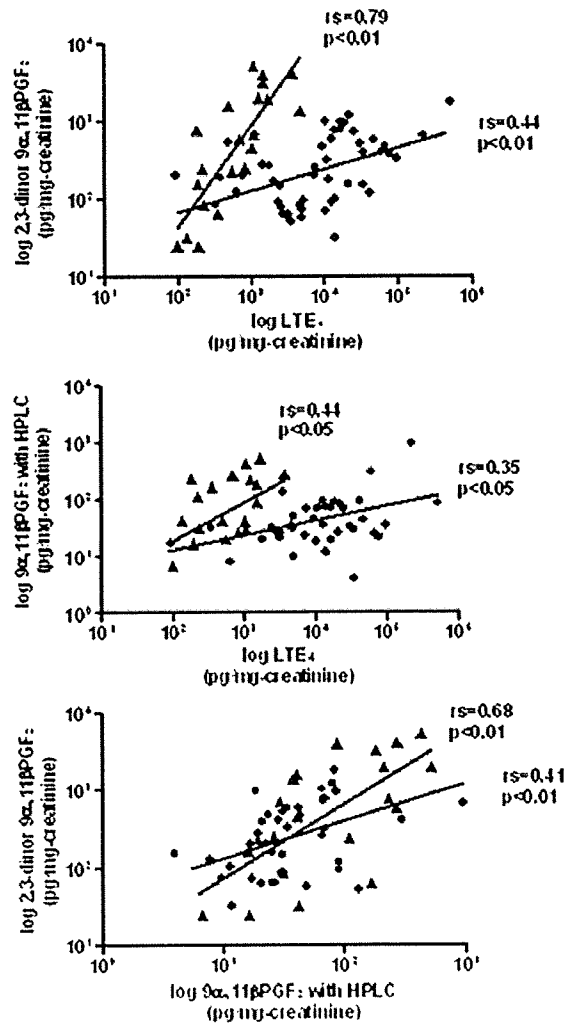
験後すべての尿中プロスタノイド濃度の有意な変化は認められなかった。一方、ATA 群では、baseline 濃度と比較して、負荷後有意な低下(低下率 60-70%)を認めた(Fig 2)。

3) AIA 群も AN 発作群も尿中 LTE4 や尿中 PGD2 代謝産物には有意な正の相関が見られたが、その相関パターンは明らかに異なっていた(Fig 3)。

<Fig 2 Time-course of primary prostanoid concentrations in urine in the aAIA, ATA and aAN groups>



< Fig 3 Correlation among mast cell-associated mediators>



D. 考察

初年度、AIA 群では、内因性の抗炎症性 mediator である Lipoxin の産生能低下が示唆された。今回、さらに AIA ではもう一つの抗炎症性 mediator である PGE2 についても、同様の結果を認めた。以上から AIA における喘息重症化の病態には 抗炎症性 mediator 産生能の全般的な破綻が関与している可能性が示唆された。AIA では誘発時 LT 産生亢進に特化しており、単純な IgE-mediated な肥満細胞の活性化とは異なる。他の未知の LT 産生細胞の関与も示唆された。

E. 結論

尿中 *ent*-PGF2 \cdot は、新たな酸化ストレスのマーカーとして、今後の臨床応用に期待できる。尿サンプルを用いて、経時的変化を確認できるという点でも優れたマーカーである。アスピリン投与による COX 阻害にもかかわらず PGD₂ 産生亢進が起きるその機序は未だ不明である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

「総括研究報告書」

研究発表 1. 論文発表参照のこと

2. 学会発表

「総括研究報告書」

研究発表 2. 学会発表参照のこと

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

NSAIDs 過敏喘息における好塩基球活性化に関する研究

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院 外来部長
(アレルギー科医長・臨床研究センター気管支喘息研究室長兼任)
研究協力者 小野恵美子 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
東 憲 孝 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
三田晴久 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
秋山一男 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター

研究要旨：

ヒト喘息において、好酸球や肥満細胞の活性化を中心としたアレルギー性炎症は広く研究され多くの確証が得られている。その一方で、末梢血中の好塩基球は、その重要性が以前から指摘されながらも、その役割はほとんど不明であった。すでに好塩基球はマスト細胞と並んでメディエーターの主要産生細胞であることが動物モデルにて報告されており、またヒトにおいては、喘息死剖検標本での好塩基球の気道への浸潤が報告されている。今回の検討で、ヒト喘息では安定期でも好塩基球の活性化があり、発作時にはその活性化が有意に顕著になることがはじめて示された(図上: JACI 2010)。しかし AIA と非 AIA の比較においては AIA のほうが有意に好塩基球の活性化細胞が少なく(図中)、アスピリン誘発時にはさらに減少する可能性が示唆された(図下)。これらの結果は少なくとも、ヒト喘息において、好塩基球が関与していること、さらにアスピリン喘息では好塩基球活性化が抑制されている可能性を示唆しているが、特に後者の AIA に関しては今後の症例の集積が必要である。

A. 研究目的

ヒト喘息において、好酸球や肥満細胞の活性化を中心としたアレルギー性炎症は広く研究され多くの確証が得られている。その一方で、末梢血中の好塩基球は、その重要性が以前から指摘されながらも、その役割はほとんど不明であった。すでに好塩基球はマスト細胞と並んでメディエーターの主要産生細胞であることが動物モデルにて報告されており、またヒトにおいては、喘息死剖検標本での好塩基球の気道への浸潤が報告されている。

②アスピリン喘息 12 例も追加検討した(安定期と発作時)。

2)方法:

末梢血好塩基球の CD63、CD69、CD203c の各発現を flow cytometry を用いて測定した。また、anti-IgE, *Derp1*, IL-3, 15R-MePGD2 の各刺激に対する反応を測定した。

C. 研究結果

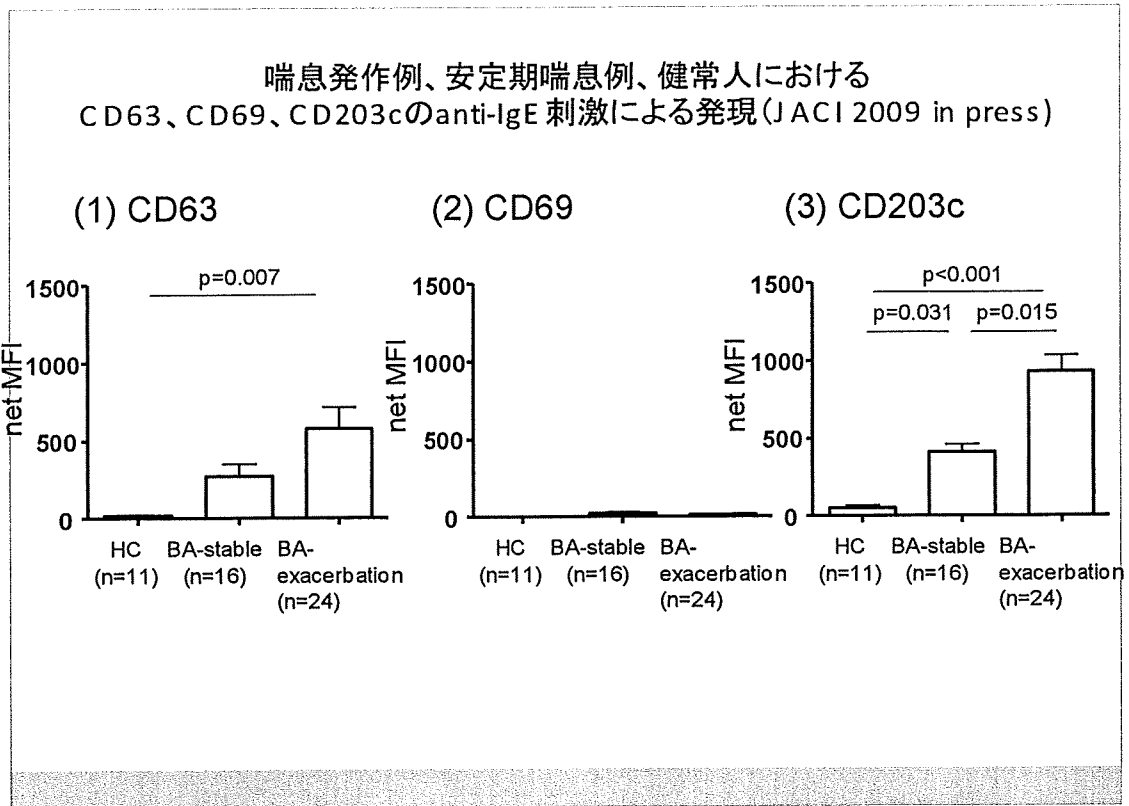
次の図 1～図 3 のとおり。

B. 研究方法

1)対象:

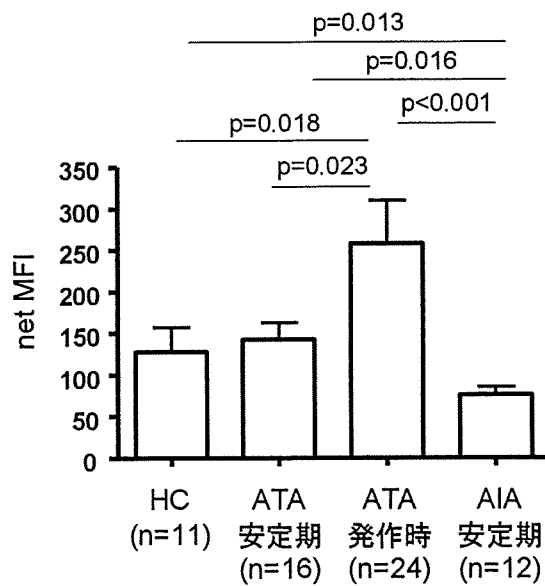
①喘息発作患者 24 例。安定喘息患者 16 例、健常者 11 例。

<図 1>



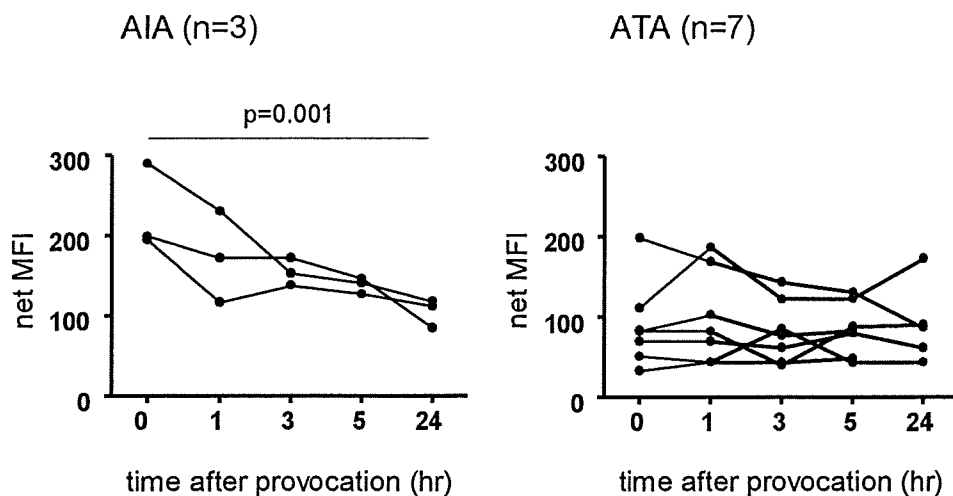
<図 2>

AIA患者、ATA患者、健常人におけるCD203c発現の比較



<図 3>

アスピリン負荷試験時のCD203c発現の推移



D. 考察

今回の検討で、ヒト喘息では安定期でも好塩基球の活性化があり、発作時にはその活性化が有意に顕著になることがはじめて示された(図左上: JACI 2010)。また AIA と非 AIA の比較においては AIA のほうが有意に好塩基球の活性化細胞が少なく(図右)、アスピリン誘発時にはさらに減少する可能性が示唆された(図左下)。これらの結果は少なくとも、ヒト喘息において、好塩基球が関与していること、さらにアスピリン喘息では好塩基球活性化が抑制されている可能性を示唆しているが、特に後者の AIA に関しては今後の症例の集積が必要である。

E. 結論

ヒト喘息において安定期と発作時の好塩基球の

活性化をはじめて証明した(JACI2010)。

AIA では、好塩基球活性化が抑制されている可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

「総括研究報告書」

研究発表 1. 論文発表参照のこと

2. 学会発表

「総括研究報告書」

研究発表 2. 学会発表参照のこと

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

鼻茸手術により、ロイコトリエン産生とアスピリン感受性は低下する

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院 外来部長
(アレルギー科医長・臨床研究センター気管支喘息研究室長兼任)
研究協力者 東憲孝 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
小野恵美子 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
石井豊太 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
三田晴久 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
秋山一男 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
東憲孝 独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター

研究要旨：

アスピリン喘息(AIA)の最も特徴的病態として、鼻茸を伴う好酸球性副鼻腔炎(以下鼻茸)がある。すでにわれわれは、鼻茸の手術により、生体内のシステニルロイコトリエン(Cys-LTs)産生の指標である尿中LTE4(U-LTE4)が有意に減少することを見出した(JACI 2004, AI 2008 など)。その結果をふまえ、今回は、内視鏡下副鼻腔手術が、アスピリン感受性に影響を与えるか否か、を前向きに検討した。

その結果、安定期のAIAにおいて、鼻茸手術により、U-LTE4は著明に減少し、鼻茸はCys-LTsの重要な産生源であることが証明された。また、鼻茸の手術により、アスピリン感受性も顕著に抑制された。この成績から、鼻茸から産生されたCys-LTsが、AIAのCys-LTs過剰産生に関与するだけでなく、アスピリン感受性をも調整している可能性が示唆された。

A. 研究目的

アスピリン喘息(AIA)の最も特徴的病態として、鼻茸を伴う好酸球性副鼻腔炎(以下鼻茸)がある。すでにわれわれは、鼻茸の手術により、生体内のシステニルロイコトリエン(Cys-LTs)産生の指標である尿中LTE4(U-LTE4)が有意に減少することを見出した(JACI 2004, AI 2008 など)。その結果をふまえ、今回は、内視鏡下副鼻腔手術が、アスピリン感受性に影響を与えるか否か、以上の3つの研究内容を全て前向きに検討した

変化を内科的治療内容を変えずに前向きに検討した。

C. 研究結果

AIA14例の鼻茸手術後において、アスピリン負荷時の肺機能低下が全例で著明に抑制されることを確認した(平均1秒量最大低下が25%→6%)。さらにU-LTE4の上昇も著しく抑制された($p<0.01$)。

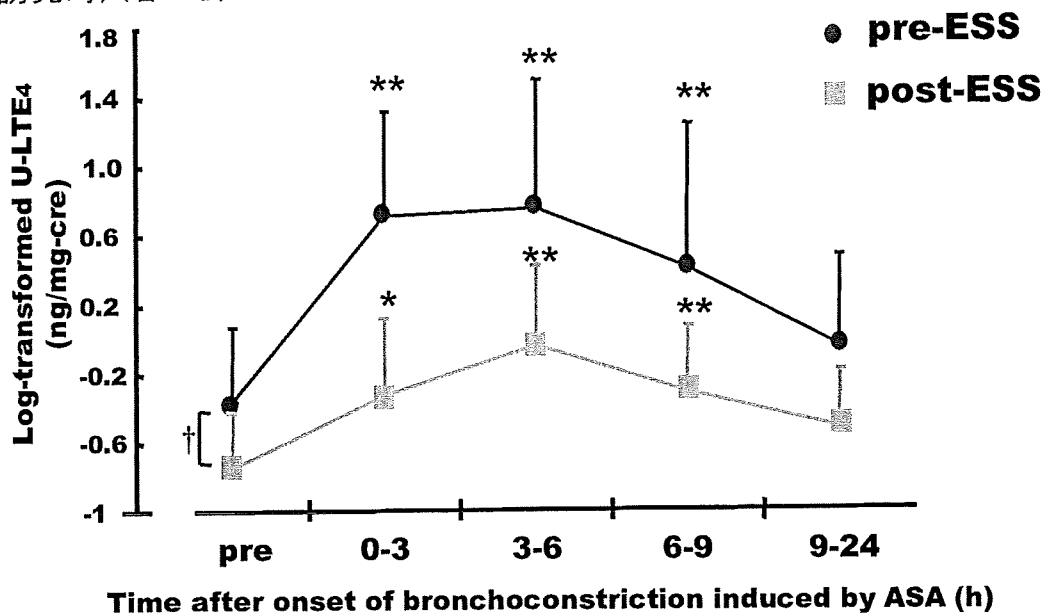
次の図1～図2のとおり。

B. 研究方法

内視鏡下副鼻腔手術をした安定期のAIA12例において、手術直前と3週間後にアスピリン感受性と負荷時のU-LTE4産生亢進を検査し、その

<図 1>

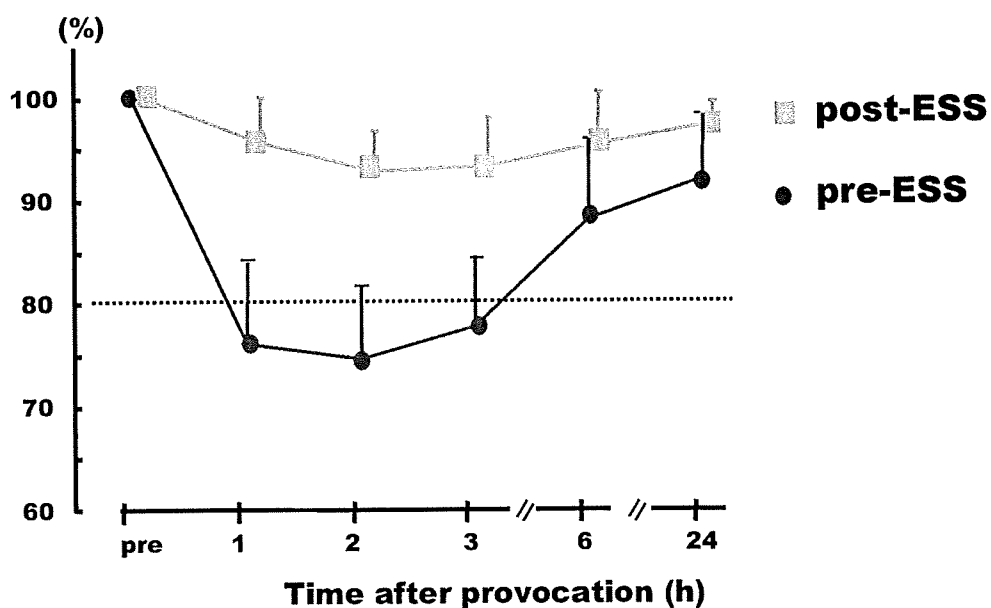
鼻茸手術により、AIAのU-LTE4は著明に低下する(安定期とNSAIDs誘発時)(谷口ら)



†p<0.05, †† p<0.01 compared with post-ESS, *p<0.05, ** p<0.01 compared with base

<図 2>

鼻茸手術により、NSAIDs誘発気道収縮は減弱する(谷口ら)



D. 考察

安定期の AIA において、鼻茸手術により、U-LTE4 は著明に減少し、鼻茸は Cys-LTs の重要な産生源であることが証明された。また鼻茸の手術により、アスピリン感受性も顕著に抑制された。この成績から、鼻茸から産生された Cys-LTs が、AIA の Cys-LTs 過剰産生に関与するだけでなく、アスピリン感受性をも調整している可能性が示唆された。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

E. 結論

AIA における上気道病変(鼻茸)は、Cys-LTs 過剰産生に関与するだけでなく、アスピリン感受性亢進に強く影響している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

「総括研究報告書」

研究発表 1. 論文発表参照のこと

2. 学会発表

「総括研究報告書」

研究発表 2. 学会発表参照のこと

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

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

即時型食物アレルギーに対する NSAIDs の増強効果に関する研究

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
研究協力者 相原道子 横浜市立大学附属病院 教授
松倉節子 横浜市立大学附属市民総合医療センター 助教

研究要旨：

アスピリンをはじめとする NSAIDs は、食物アレルギーによる蕁麻疹の悪化をきたすことが知られている。一方、原因の明らかでない慢性蕁麻疹（特発性蕁麻疹）やコリン性蕁麻疹、寒冷蕁麻疹においては NSAIDs の摂取による影響は明らかにされていない。そこで、これらの蕁麻疹の誘発や皮膚テストにおける NSAIDs の影響を検討した。その結果、自己血清中や自己汗の皮内テストが陽性となる自己免疫性の慢性蕁麻疹やコリン性蕁麻疹、寒冷蕁麻疹では、NSAIDs による皮内反応の増強や蕁麻疹の増強はみられなかった。これらの自己免疫性の慢性蕁麻疹の症状発現や増強において、NSAIDs の影響は少ない可能性が考えられた。また、特発性蕁麻疹とされるもののうち、NSAIDs による増強効果がみられたものは上記の皮膚テストが陰性の患者であり、これら患者にはアレルゲンが明らかにされていない外因性の蕁麻疹や NSAIDs 不耐症が含まれているものと考えられた。

A. 研究目的

食物アレルギーや原因の明らかでない慢性蕁麻疹（特発性蕁麻疹）患者では非ステロイド抗炎症薬（NSAIDs）の摂取で症状が悪化する患者が存在することが知られている。一方、コリン性蕁麻疹は運動時や温熱環境下で発症する全身性の蕁麻疹であるが、NSAIDs の摂取による影響は明らかにされていない。原因不明の慢性蕁麻疹患者では、自己血清の皮内テストで陽性反応を示すことがあることから、自己の蛋白抗原に対する自己免疫反応が機序のひとつとして想定されている。また、コリン性蕁麻疹患者の一部では自己血清または自己汗の皮内テストが陽性となることが報告されている。

そこで本研究では、自己免疫反応との関係において、原因が明らかでない慢性蕁麻疹患者のうち、NSAIDs による症状の増強効果がみられるものとみられないものの違いを明らかにするとともに、コリン性蕁麻疹患者の症状誘発や症状増強におけ

る NSAIDs の作用を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象：当科を受診した蕁麻疹患者のうち、NSAIDs 摂取時のみに蕁麻疹がみられる NSAIDs 不耐症患者と慢性蕁麻疹患者で原因となる外来アレルゲンが明らかなるものを除いた患者（コリン性蕁麻疹、寒冷蕁麻疹、特発性蕁麻疹）のうち、試験に同意をえられたものを対象とした。

自己抗原による皮膚反応：自己汗および自己血清を用いて皮内テストを行ない、膨疹形成の有無を15分後に判定した。さらに皮内テスト前30分にアスピリン 500mg を投与し、膨疹形成における影響をみた。

誘発試験におけるアスピリンの影響：コリン性蕁麻疹、寒冷蕁麻疹患者に温熱・寒冷負荷や運動負荷を加えて症状の誘発条件を確認した。その後、

アスピリン 500mg を前投与して誘発試験をおこない、その症状誘発における影響をみた。原因が明らかでない蕁麻疹患者には小量よりアスピリンを負荷し、その影響をみた。

これらの試験は横浜市立大学医学部倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

特発性蕁麻疹、コリン性蕁麻疹、寒冷蕁麻疹患者はそれぞれ5例、4例、1例であった。特発性蕁麻疹では、皮内テストにおいて自己血清で反応がみられるもの、自己血清および自己汗のいずれも反応がみられないものに分かれた。これらの患者のアスピリン負荷による皮膚反応および誘発試験への影響は症例ごとに異なるものの、いずれにも反応しなかったものに増強効果がみられる症例が多い傾向がみられた。コリン性蕁麻疹患者では、自己汗または自己血清のいずれかで反応がみられたものと、いずれにも反応しないものがみられた。アスピリン負荷による増強効果は、皮膚反応および誘発試験ともに明らかではなかった。寒冷蕁麻疹患者では自己血に反応を認める症例があったが、アスピリンの影響はみられなかった。

D. 考察

NSAIDs 不耐症による喘息の発症機序としては、NSAIDs の COX-1 阻害作用によるロイコトリエンの産生亢進や prostaglandin E₂ (PGE₂) の産生低下が肥満細胞や好塩基球の活性化とそれによるヒスタミン遊離を促すことが推察されている。

一方 NSAIDs による蕁麻疹の発症機序は上記以外の機序の関与が推察されている。また、NSAIDs による蕁麻疹の増強作用についても不明な点が

多い。

今回の検討では、皮内テストで自己血清中または自己汗中の抗原に反応する特発性蕁麻疹患者の一部や、同じくこれらの皮内テストでいずれかに反応するコリン性蕁麻疹と寒冷蕁麻疹患者において、NSAIDs 摂取による明らかな皮膚テスト部位や全身の蕁麻疹反応の増強効果はみられなかった。このことは自己免疫性の蕁麻疹では NSAIDs による影響は少ないことを示唆するものであった。また、特発性蕁麻疹とされるもののうち、NSAIDs による増強効果がみられたものは上記の皮膚テストが陰性の患者であることから、これらの患者にはアレルゲンが明らかにされていない外因性の蕁麻疹や NSAIDs 不耐症が含まれているものと考えられた。外因性アレルギーでは小麦アレルギー同様 NSAIDs によるアレルゲンの吸収増強効果も加わることが推察された。しかし、今回の検討では症例数が少ないため、今後症例数を増やして検討する必要がある。

E. 結論

慢性蕁麻疹における NSAIDs 摂取の影響は一様ではない。NSAIDs 不耐症や食物アレルギーによる蕁麻疹とは異なり、血液中や汗中の自己抗原に対する自己免疫性の慢性蕁麻疹やコリン性蕁麻疹では、NSAIDs の影響は少ない可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Matsukura S, Sugawara M, Aihara M, Inomata N, Inoue Y, Kunimi Y, Matsuki M, Kanbara T, Ikezawa Z: Two cases of wheat-dependent anaphylaxis induced by aspirin administration but not induced by exercise, Clinical and Experimental Dermatol, 2009 November, Epub ahead.

2) 泉 佳菜子、相原道子、池澤善郎: 非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) による即時型食物アレルギーの増強効果-わが国における最近 10 年の報告例の検討-: アレルギー, 58:1629-1639, 2009.

2. 学会発表

1) 前田修子, 猪又直子, 藤田浩之, 池澤善郎 NSAIDsによる増強効果をもとめた梅干によるアナフィラキシーの 1 例.

第 72 回日本皮膚科学会東京支部学術大会, 東京, 2009.2

2) 前田修子, 猪又直子, 磯田祐士, 高野藍子, 藤田浩之, 板垣康治, 池澤善郎 NSAIDsによる増強効果でアナフィラキシーに発展した梅干アレルギーの 1 例. 第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 岐阜, 2009.6.

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

表 NSAIDs による蕁麻疹の増強効果と自己血清、自己汗に対する反応との関係

	患者数	皮内テスト陽性者	NSAIDs による皮内テストの増強	NSAIDs による誘発試験の増強
特発性蕁麻疹	5 例	自己血清 2 例 自己汗 0 例 陰性 3 例	皮内テスト陰性者 1 例で増強	皮内テスト陰性者 2 例で増強
コリン性蕁麻疹	4 例	自己血清 2 例 自己汗 1 例 陰性 1 例	増強なし	皮内テスト陰性者 1 例でやや増強。
寒冷じんま疹	1 例	自己血清 1 例	増強なし	増強なし

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

アスピリン喘息の末梢血好酸球の CD11b 発現に影響する因子の研究

研究分担者 榊原博樹 藤田保健衛生大学医学部 呼吸器内科学 I 教授
研究協力者 齊藤雄二 藤田保健衛生大学医学部 呼吸器内科学 I 准教授
磯谷澄都 藤田保健衛生大学医学部 呼吸器内科学 I 研究員
多田利彦 藤田保健衛生大学医学部 呼吸器内科学 I 助教

研究要旨：

好酸球は肥満細胞とともにアスピリン喘息(AIA)の発症や病態に関与する中心的な炎症細胞であり、AIA患者の体内ではアスピリンにより活性化することが知られている。昨年の研究でAIAの末梢血好酸球は、アスピリンの添加により接着分子CD11bの発現が増加し、in vitroにおけるAIAの診断に応用できる可能性を示した。今回はAIAの病態に関係の深いプロスタグランジンE2(PGE2)と5-リポキシゲナーゼが末梢血好酸球のCD11bの発現に及ぼす影響に関して検討し、AIAの病態の一端を明らかにしようと試みた。その結果、AIAの末梢血好酸球はアスピリンの添加により特異的にCD11bの発現が増大するが、この現象は、アスピリンによるプロスタグランジンPGE2(PGE2)の減少がトリガーとなり、その背後にはPGE2に拮抗して好酸球の活性化に働く5-リポキシゲナーゼ(5-LO)系以外の何らかの要因の関与が推定された。

A. 研究目的

アスピリン喘息(AIA)の確定診断は負荷試験で行われているが、予期せぬ過敏反応を誘発する危険性があり、in vitroの診断方法の確立が求められている。末梢血多核白血球のペプチドロイコトリエン産生¹⁾、15-HETE産生^{2, 3)}、リポキシン産生⁴⁾などを指標とする方法が検討されてきたが、何れも追試確認が不十分な状況にある。好酸球は肥満細胞とともにAIAの発症や病態に関与する中心的な炎症細胞であり、AIA患者の体内ではアスピリンにより活性化することが知られている⁵⁾。昨年の研究でAIAの末梢血好酸球は、アスピリンの添加により接着分子CD11bの発現が増加し、in vitroにおけるAIAの診断に応用できる可能性を示した。今回はAIAの病態に関係の深いプロスタグランジンE2(PGE2)と5-リポキシゲナーゼが末梢血好酸球のCD11bの発現に及ぼす影響に関して検討し、AIAの病態の一端を明らかにしようと試みた。

B. 研究方法

1) 対象：外来通院中の症状の安定した非AIA患者19名(男性9名、女性10名、平均年齢49.4±4.8歳)、AIA患者20名(男性9名、女性11名、平均年齢51.1±4.8歳)を対象とした。

全例に本研究検査の意義を説明し、同意を得た上で基礎肺機能検査および一般血液検査を施行後、末梢静脈より研究用採血を行った。

NSAIDs過敏性の有無を診断するため、全例にトルメチンおよびスルピリン吸入負荷試験をおこなった。これらの吸入負荷試験にて陽性で、なおかつNSAIDsによる喘息発作の既往のある患者をAIAとした。これらの全てが陰性の場合に非AIAとした。

2) 末梢血好酸球の分離

対象患者の末梢静脈より血液を約20cc採取し、血液をモノ・ポリ分離溶液(大日本製薬、大阪)を用いた比重遠心法により多核白血球(PMN):

polymorphonuclear cells)を分離した。Phosphate buffered saline (PBS)にて洗浄後、10% fetal bovine serum (FBS)添加 RPMI 1640 培養液(Sigma, St Louis, MO, USA)にて 2×10^6 個/ml に細胞数を調整した。

3) CD11b 発現量の測定

A) 分離した PMN 浮遊液にアスピリン 10^{-4} ~ 10^{-7} M あるいは血小板活性化因子 (PAF) 10^{-7} M を添加して 37°C で 30 分間インキュベートした後、FITC 標識 CD11b モノクロナール抗体および PE 標識 CD16 モノクロナール抗体を用いて染色し、フローサイトメトリーを用いて CD16 陰性分画(好酸球)の CD11b 発現量を測定した。これらの手順の詳細に関しては昨年報告した。

B) 次いでアスピリンあるいは PAF と同時にプロスタグランジン E2 (PGE2) あるいは 5-リポキシゲナーゼ (5-LO) 阻害薬 (AA861) を添加して、好酸球 CD11b の発現に及ぼすこれらの薬剤の影響について検討した。

C) 各実験系における多核白血球培養上清液中の PGE2 を EIA により測定した。

4) 倫理面への配慮

上記のとおり、被験者には研究の目的や方法、意義に関して説明し、同意を得た上で研究対象とした。NSAIDs 過敏症の確定のためにスルピリンおよびトルメチン吸入負荷試験を実施したが、当科では気管支喘息患者に対してはばろーチンに実施している検査であり、通常の臨床行為の範囲内に止まるものである。

5) 統計

各値は mean \pm S.E. で表記した。フローサイトメトリーの測定結果はコントロールを 100% として変化

率を以下のように求めた。すなわち、変化率 = (対象 MFI - コントロール MFI) / コントロール MFI, である。統計処理は Mann-Whitney U 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

C. 研究結果

1) 研究対象となった AIA20 名および非 AIA19 名の背景因子を表1にまとめた。性別、年齢、アトピー頻度、血清 IgE 値、呼吸機能、メサコリン吸入閾値、白血球数、末梢血好酸球比率、末梢血好酸球数は、何れも両群間に差がなかった(表1)。

2) AIA の好酸球 CD11b 発現はアスピリン 10^{-7} ~ 10^{-4} M の添加で増加したが、非 AIA ではかえって減少した(アスピリン 10^{-4} M 添加により、AIA で $7.7 \pm 2.8\%$ 、非 AIA で $-8.0 \pm 2.6\%$ 、 $p < 0.05$) (図1)。

3) AIA、非 AIA ともに、PAF 10^{-7} M の添加で好酸球 CD11b の発現が有意に増加したが、増加の程度に差はなかった(AIA: $33.4 \pm 8.6\%$ 、非 AIA: $23.0 \pm 6.1\%$ 、NS)。AIA においては、アスピリンが PAF による CD11b 発現増加をさらに増大する傾向がみられた(図2)。

4) PAF による好酸球 CD11b の発現増加は、AIA、非 AIA ともに PGE2 により抑制された(図3)。

5) AIA にみられたアスピリンによる CD11b 発現の増加は、PGE2 の添加により抑制された(図4)。

6) AIA にみられたアスピリンによる CD11b 発現の増加に対して、AA861 は明らかな影響を及ぼさなかった(図5)。

7)多核白血球培養上清液中のPGE2濃度は、無刺激状態、およびPAF刺激状態ともに両群間で有意差がなかった。アスピリン 10^{-7} – 10^{-4} Mの添加により、多核白血球培養液中のPGE2濃度はアスピリン 10^{-6} Mをピークとして減少したが、その程度に関してはAIA群と非AIA群で差がなかった。

D. 考察

昨年度の研究では、アスピリンの添加によりAIAの好酸球のみでCD11bの発現増加がみられ、この現象がAIAの診断に応用できる可能性を報告した。今年度はこの現象の機序を解明することにより、AIAの病態の一部を明らかにしようと試みた。

非特異的な刺激であるPAFに対しては、両群とも好酸球のCD11b発現が増加し、AIAにおいてはアスピリンの添加により、さらにこの反応が増大する傾向がみられた。AIAにおいてはCD11bの発現を増大するような内因的な要因が存在する可能性がある。PGE2は両群のPAF刺激によるCD11b発現増加を同じように抑制した。PAF刺激に対しては両群ともPGE2が抑制因子として働いており、AIAにおいてもPGE2受容体以降の機序に異常はないものと考えられた。また、多核白血球のPGE2産生能に関しても両群で有意差はなかった。

AIAだけに認められたアスピリンによるCD11bの発現増加はPGE2の添加により抑制され、5-LO系の代謝産物の影響は受けなかった。一方、アスピリンによるPGE2濃度の減少に関しては両群で差がなかった。このことから、アスピリンによるCD11b発現の増加はPGE2の減少がトリガーになるが、その背後には好酸球の活性化に働く何らかの要因が関与しているものと考えられた。

E. 結論

AIAの末梢血好酸球はアスピリンの添加により特異的にCD11bの発現が増大する。この現象は、アスピリンによるPGE2の減少がトリガーとなるが、その背後にはPGE2に拮抗して好酸球の活性化に働く5-LO系以外の何らかの要因の関与が推定された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 榊原博樹, 齊藤雄二:アスピリン喘息, 発症機序を中心にした最近の話題. 呼吸と循環 2008;56:165-174.

2) 榊原博樹, 齊藤雄二:アスピリン過敏症. 臨床と研究 2008;85:233-238.

3) 榊原博樹:喘息の亜型・特殊型, 2. アスピリン喘息. 日本内科学会誌 2009;98:101-107.

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

<引用文献>

1) 津田美奈子:アスピリン喘息患者の末梢白血球アラキドン酸代謝に関する研究ト好酸球及び好中球ロイコトリエン生産能. 藤田学園医学会誌 1989; 8:299-328.

2) Kowalski ML, et al: Differential effects of aspirin and misoprostol on 15-hydroxyeicosatetraenoic acid generation by leukocytes from aspirin-sensitive asthmatic patients. J Allergy Clin Immunol 2003;112:505-512.

3) Kowalski M, et al: Aspirin-triggered 15-HETE generation in peripheral blood leukocytes is a specific and sensitive Aspirin-Sensitive Patients Identification Test (ASPITest). Allergy 2005;60: 1139-1145.

4) Sanak M, et al: Aspirin-tolerant asthmatics generate more lipoxins than aspirin-intolerant asthmatics. Eur Respir J 2000;16:44-49.

5) Cowburn AS, et al.: Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. J Clin Invest 1998;101:834-846.

<図表一覧>

表1 研究対象とした喘息患者の背景要因の比較

	AIA (n=20)	non-AIA(n=19)	P-value
Sex (M/F)	9 / 11	9 / 10	ns
Age	51.1 (4.8)	49.4 (4.8)	ns
Smoking(current / ex / non)	0 / 8 / 12	2 / 4 / 13	ns
Atopy (+/-)	9 / 11	13 / 6	ns
Serum IgE (U/ml)	190 (280)	5,150 (9,980)	ns
FVC (ml)	3.02 (0.78)	3.48 (0.20)	ns
FEV1(ml)	2.06 (0.60)	2.52 (0.54)	ns
FEV1% (%)	68.3 (13.5)	72.2 (8.9)	ns
%FEV1 (%)	76.4 (22.5)	94.9 (13.1)	ns
logPC20-Mch (μg/ml)	2.39 (0.33)	2.60 (0.66)	ns
WBC (/mm ³)	6,800 (1,100)	6,700 (1,500)	ns
Eosinophil (%)	9.7 (0.5)	8.6 (6.8)	ns
Eosinophil (/mm ³)	590 (410)	550 (460)	ns

ex:ex-smoking, non:non-smoking, ns:not significant. Values are mean±S.D.

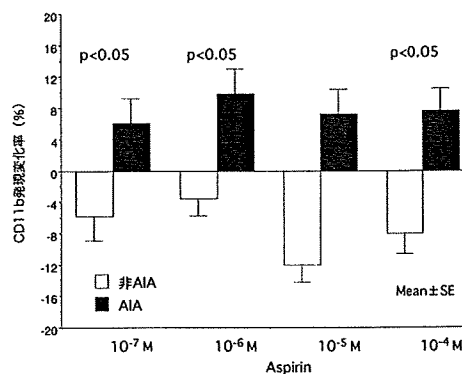


図1 好酸球のCD11b発現に対するアスピリンの影響

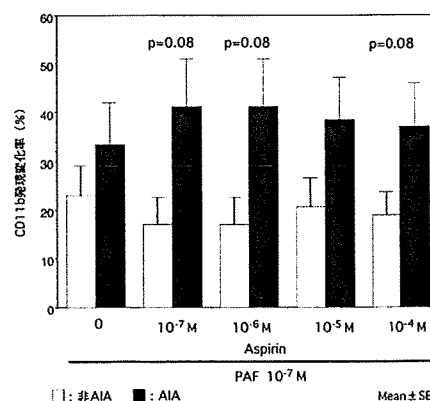


図2 PAF刺激による好酸球のCD11b発現増加に対するアスピリンの影響

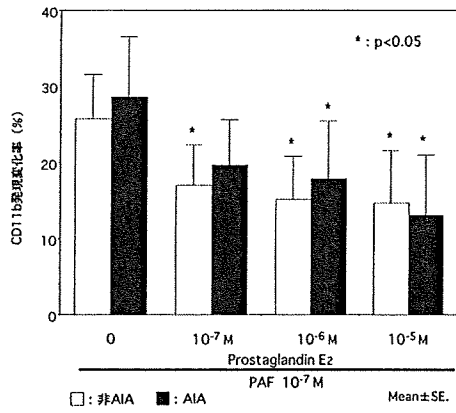


図3 PAF刺激による好酸球のCD11b発現増加に対するPGE₂の影響

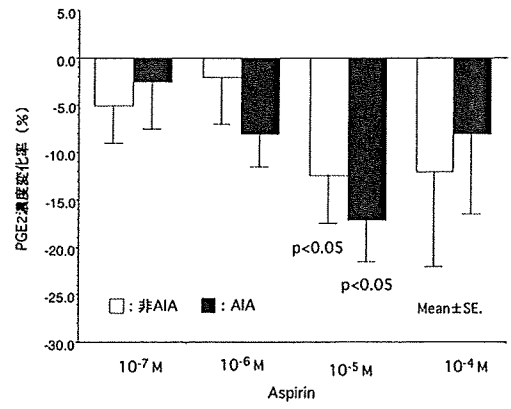


図6 多核白血球培養上清中のPGE₂濃度アスピリンの影響

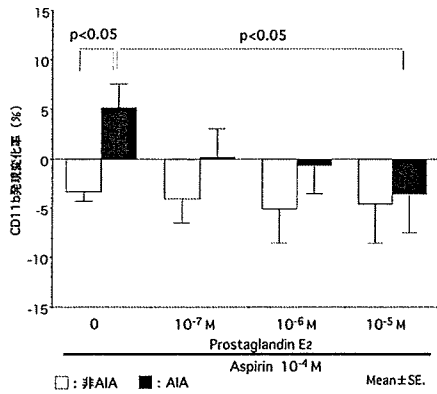


図4 アスピリンによる好酸球のCD11b発現に対するPGE₂の影響

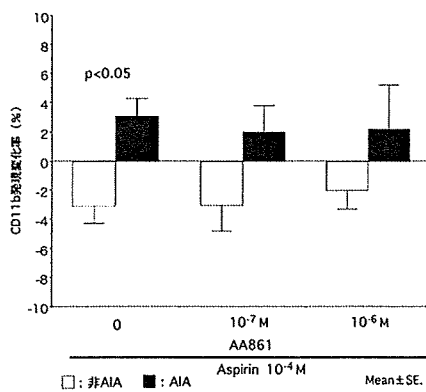


図5 アスピリンによる好酸球のCD11b発現に対するAA861の影響