

可逆性の気流閉塞は、喘息を特徴付ける重要な病態であり、従来は、IgE を介したマスト細胞の活性化によって化学伝達物質が放出されて気道抵抗が上昇する機序だけが知られていたが、今回のわれわれの研究成果から、液性免疫以外に、気流閉塞を生じさせる機構が存在し、Th 細胞がエフェクター細胞であることが、はじめて *in vivo* のレベルで明らかになった (図4)。

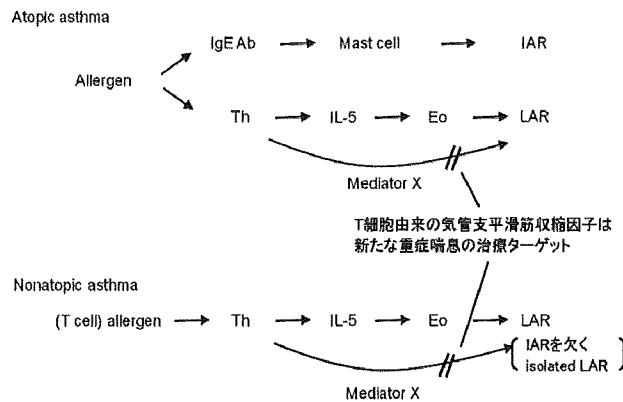


図4、T細胞は、気道炎症、過敏性、リモデリングに加えて、気流閉塞を惹起するエフェクター細胞である

さらに、T細胞由来のいずれの因子が気流閉塞に結びつくのかを解明する目的に、まず、好酸球浸潤、気道過敏性、気流閉塞の関連を解析した (表2)。

表2、T細胞依存性の好酸球浸潤、気道過敏性、気流閉塞の関連

Clone	Cell infiltration in BALF			AHR (%)	OVA-induced bronchoconstriction	
	Total Cells (%)	Eo (%)	Neut (%)		Penh	RL
BT1	233	-	105	93	→	NT
BT2	NT	NT	NT	NT	NT	NT
BT3	230*	729	208	63	→	NT
BF3	NT	NT	NT	NT	NT	NT
BF3.1	NT	NT	NT	NT	NT	NT
BF4	344	4638	78	192*	→	NT
BF7	412	15438	61	116	→	NT
B5-6	NT	NT	NT	NT	NT	NT
T5-1	349*	330	765*	349*	→	NT
T5-2	844*	22,660	303*	113	→	NT
T5-4	67	579	54	89	→	NT
T5-6	162	33,700	325*	116	→	NT
T6-1	198	114	97	381*	→	NT
T6-2	222	2,341*	857*	160	↑	↑
T6-3	232	33	20	45	→	NT
T6-4	572*	3,232*	1,448*	173*	↑	NT
T6-7	399*	1,481*	1,034*	111	↑	NT
T6-8	95	327*	118	246	→	NT
T6-9	83	14*	10*	100	→	NT
T6-10	71	10*	5*	117	→	NT

NT: Not tested

好酸球浸潤、気道過敏性の誘導と、気流閉塞の誘導とは必ずしも関連が認められないことから、図4の仮説が支持される。

次に、非アトピー型喘息症例における、IL-5 産生誘導抗原による遅発型喘息反応誘導メカニズムを解明するために、われわれは、commercially available なヒト正常気管支平滑筋細胞を用いた、3次元 collagen gel による簡便な収縮測定系を確立した。本年度はこのアッセイ系を用いて、characterization を進めた。従来は、ウシやモルモット等の気管リングをマグヌス管に牽引する評価系がよく用いられたが (Beasley et al, J. Appl. Physiol. (1989) 66; 1685, Gosens et al, Br. J. Pharmacol. (2002) 137; 459)、動物種の違いによる収縮差が生じる可能性があり、ヒト気管リングの収縮実験系も報告されてはいるものの (Cerrina et al, Prostaglandins (1989) 37; 457, Norel et al, Br. J. Pharmacol. (1999) 126; 867)、手術摘出の気管支を用いることから、供給面からの制約がある。

SAP2 に反応した T細胞 IL-5 産生、および吸入誘発時に isolated LAR の認められる症例から、PBMC を分離し、SAP2 と培養 48 時間後の上清を、濃縮、透析後に、本ゲルにアプライした。SAP2 反応性の LAR が認められる症例の T細胞培養上清では、平滑筋ゲルの収縮活性が認められた。即時型喘息反応を欠く遅発型反応陽性者の PBMC 培養上清は、気管平滑筋ゲルの収縮を惹起したが、陰性者の培養上清には収縮活性を認めなかった。ヒスタミン、メサコリン、ロイコトリエンなど既知の収縮物質とは、タイムコース、アンタゴニストに対する反応が異なることを明らかにした。

さらに、収縮物質の同定を進める目的に、LAR が惹起される症例の末梢血単核球より、T細胞受容体を介する活性化に伴って、収縮活性を産生する T細胞クローンを樹立した (図5)。

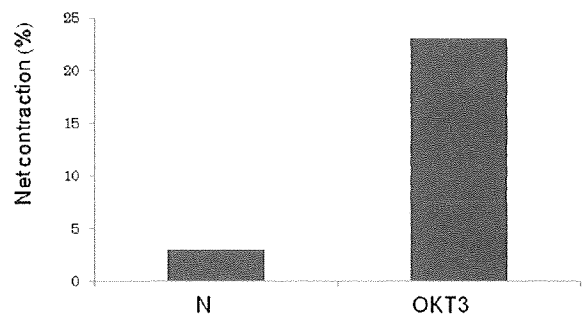


図5、ヒト CD4⁺ T細胞クローンによる活性化依存性の平滑筋収縮活性

次に、既知のアンタゴニストの効果を検討した。H1

アンタゴニストの pyrilamine、ロイコトリエンアンタゴニストの montelukast、M1 アンタゴニストの atropine と 30 分 preincubation した後に、収縮反応を惹起した。Pyrilamine 1 μ M、montelukast 1 μ M、atropine 1 μ M は、それぞれ histamine 1 μ M、LTD4 1 μ M、methacholine 1 μ M の収縮を 90%以上抑制したが、T 細胞上清による収縮反応を抑制しなかった (data not shown)。この結果からは、喘息分野の既知の平滑筋収縮物質とは異なることを強く示唆される。さらに、ゲル濾過による分子量分画、イオン交換クロマトグラフィーによる精製を行っている。

E. 結論

マウス Th clone 受身移入による IgE 非依存性喘息反応のモデルを確立した。T 細胞が気流閉塞を惹起する必要十分条件であることをはじめに証明した。これまでのわれわれの調査研究の成果として、難治性喘息症例では、非アトピー型が過半を占め、高用量吸入ステロイドに加えて経口ステロイド、テオフィリン、抗ロイコトリエン薬、長時間作用型 β 刺激薬等多種類の治療薬を併用してもなお満足な治療効果が得られていない現状が確認されている。現行の治療で効果が十分に得られない重症症例群にとっては、T 細胞依存性、IgE 非依存性の気流閉塞メカニズムの解明が大いなる福音をもたらすものと期待される。

Commercially available な培養ヒト気管支平滑筋細胞を用いた収縮反応測定系を確立した。即時型喘息反応を欠く遅発型反応陽性者の PBMC 培養上清は、気管平滑筋ゲルの収縮を惹起したが、陰性者の培養上清には収縮活性を認めなかった。ヒスタミン、メサコリン、ロイコトリエンなど既知の収縮物質とは、タイムコース、アンタゴニストに対する反応が異なることを明らかにした。T 細胞受容体を介する活性化に伴って、収縮活性を産生する T 細胞クローンを樹立した。分子量、等電点より、未知の喘息症状発現機序の存在が示唆される。気管支平滑筋収縮活性分子の性状、および産生する T 細胞の characterization (表面マーカー、産生誘導 cytokine など)につき解析中である。

F. 健康危惧情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Ohtomo, T., Kaminuma, O., Yamada, J., Kitamura, N., Suko, M., Kobayashi, N., and Mori, A. 2010. Induction of bronchial hyperresponsiveness is dependent on eosinophils in Th-transfer model of Balb/c background. *Int. Arch. Allergy*

Immunol. (in press)

- Kitamura, F., Kitamura, N., Mori, A., Tatsumi, H., Nemoto, S., Miyoshi, H., Miyatake, S., Hiroi, T., and Kaminuma, O. 2010. Selective down-regulation of Th2 cytokines by C-terminal binding protein 2 in human T cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (in press)
- Kaminuma, O., Suzuki, K., and Mori, A. 2010. The effect of sublingual immunotherapy on antigen-induced bronchial and nasal inflammation in mice. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (in press)
- Katoh, S., maeda, S., Fukuoka, H., Wada, T., Moriya, S., Mori, A., Yamaguchi, K., and Miyagi, T. 2010. An essential role of sialidase Neu1 in CD44 hyaluronan receptor function on activated CD4⁺ T cells in a murine asthma. *Clin. Exp. Allergy*. (in press)
- Yoshioka, M., Sagara, H., Takahashi, F., Harada, N., Nishio, K., Mori, A., Ushio, H., Shimizu, K., Okada, T., Ota, M., Ito, Y., Nagashima, O., Atsuta, R., Suzuki, T., Fukuda, T., Fukuchi, Y., Takahashi, K. 2009. Role of multidrug resistance-associated protein 1 in the pathogenesis of allergic airway inflammation. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 296:L30-L36.
- Kitamura, N., Motoi, Y., Mori, A., Tatsumi, H., Nemoto, S., Miyoshi, H., Kitamura, F., Miyatake, S., and Kaminuma, O. 2009. Suppressive role of C-terminal binding protein 1 in IL-4 synthesis in human T cells. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 382:326-330.
- Kaminuma, O., Kitamura, F., Miyatake, S., Yamaoka, K., Miyoshi, H., Inokuma, S., Tatsumi, H., Nemoto, S., Kitamura, N., Mori, A., and Hiroi, H. 2009. T-bet is responsible for distorted Th2 differentiation in human peripheral CD4⁺ T cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123:813-820.
- Suzuki, K., Kaminuma, O., Yang, L., Motoi, Y., Takai, T., Ichikawa, S., Okumura, K., Ogawa, H., Mori, A., Takaiwa, F., and Hiroi, T. 2009. Development of transgenic rice expressing mite allergen for a new concept of immunotherapy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 149 (Suppl 1):21-24.
- Yamaoka, K., Okayama, Y., Kaminuma, O., Katayama, K., Mori, A., Tatsumi, H., Nemoto,

- S., and Hiroi, T. 2009. Proteomic approach to Fc \cdot RI aggregation-initiated signal transduction cascade in human mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 149 (Suppl 1):73-76.
10. Kitamura, N., Kaminuma, O., Ohtomo, T., Kiyokawa, N., Kobayashi, N., Suko, M., and Mori, A. 2009. Evaluation of cysteinyl leukotriene-induced contraction of human cultured bronchial smooth muscle cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 149 (Suppl 1):83-86.
 11. Ohtomo, T., Kaminuma, O., Kitamura, N., Suko, M., Kobayashi, N., and Mori, A. 2009. Murine Th clones confer late asthmatic response upon antigen challenge. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 149 (Suppl 1):2-6.
 12. Kitamura, N., Katagiri, Y., Itagaki, M., Miyagawa, Y., Onda, K., Okita, H., Mori, A., Fujimoto, J., and Kiyokawa, N. 2009. The expression of granulysin in systemic anaplastic large cell lymphoma in childhood. *Leuk. Res.* 33:908-912.
 13. Ebisawa, T., Numazawa, K., Shimada, H., Izutsu, H., Sasaki, T., Kato, N., Tokunaga, K., Mori, A., Honma, K., Honma, S., and Shibata, S. 2010. Self-sustained circadian rhythm in cultured human mononuclear cells isolated from peripheral blood. *Neurosci. Res.* 66:223-227.
 14. 森 晶夫:喘息とCD8 $^+$ 細胞(CTL)、Annual Review 呼吸器 2009 (工藤翔二、土屋了介、金沢実、大田健編)、中外医学社、東京 p.84-90, 2009
 15. 森 晶夫:難治性喘息の疫学(日本と世界)、第28回六甲カンファレンス 難治性喘息をめぐって(森川昭廣、足立満、秋山一男、大田健、東田有智編)、ライフサイエンス出版、東京 p.15-26, 2009
 16. 森 晶夫:現在の喘息治療状況の中での難治性喘息の疫学、病態と診断、治療法は?、EBMアレルギー疾患の治療2010-2011(秋山一男、池澤善郎、岩田力、岡本美孝編)、中外医学社、東京 p.10-17, 2009
 17. 森 晶夫:喘息の病態の分子学的研究 update、*Progress in Medicine*;29(1):41-44, 2009
 18. 森 晶夫:最近の喘息研究の動向-非アトピー機序へのフォーカス、アレルギー・免疫;16(2):7-8, 2009
 19. 森 晶夫:真菌アレルギー-最近の話題-自然免疫、獲得免疫と真菌、アレルギーの臨床;30(1):30-32, 2010
 20. 森 晶夫:重症喘息の機序とその対策、臨床免疫・アレルギー科;53(2):167-173, 2010
 21. 森 晶夫:国際アレルギー学会(WAO)2009 報告、日本アレルギー協会関東支部だより;7:3-5, 2010
2. 学会発表
 1. Mori, A., Kitamura, N., Otomo, M., Akiyama, K. and Kaminuma, O. 2009. T cell response to *Candida albicans* acid protease is associated with the isolated late asthmatic response. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology. Symposium CL-01 Allergic fungal infections. Abstract book p. 209. (Tokyo) 2009/5/25-29
 2. Mori A, Otomo T, Kitamura N, Kaminuma O. 2009. Cloned Th cells confer airway obstruction upon antigen challenge in the absence of IgE antibody - a model for nonatopic bronchoconstriction. European Respiratory Society 2009. Final program p.375 (Vienna) 2009/09/12-16
 3. Mori A, Kitamura N, Otomo T, Kaminuma O. 2009. Detection of T cell-dependent bronchoconstriction using human cultured bronchial smooth muscle cells. XXI World Allergy Congress. Final program p.124 (Buenos Aires) 2009/12/6-10
 4. Kaminuma, O., Kitamura, N., Mori, A., nemoto, S., Tatsumi, H., Miyoshi, H., Miyatake, S., Kitamura, F., Yamaoka, K., and Hiroi, T. 2010. Human Th2 cells produce IFN-gamma due to hyper-expression of T-bet. 2010 American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology Annual Meeting. *J. Allergy Clin. Immunol.* :S (New Orleans) 2010/2/26-3/2
 5. Kaminuma O, Yang L, Takagi S, Ichikawa S, Hirose S, Mori A, Umezu-Goto M, Ohtomo T, Ohmachi Y, Noda Y, Okumura K, Ogawa H, Kitamura F, Hiroi T. 2010. Successful recovery from allergic airway inflammation by oral immunotherapy with allergen-expressing transgenic rice seed. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology Annual meeting. (New Orleans) 2010/2/26-3/2
 6. 森 晶夫、山口美也子、北村紀子、大友隆之、大村武雄、須甲松信:成人喘息のQOL-厚生労働科学研究須甲班調査から、第21回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム3「アレルギー患

- 者の QOL の評価と活用と展望」、アレルギー 58 : 301, 2009. 6. 4 (岐阜)
7. 森 晶夫、北村紀子、大友隆之、前田裕二、谷口正実、大友 守、福富友馬、長谷川眞紀、秋山一男、神沼 修：重症喘息の機序とその対策、第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会シンポジウム 8「重症喘息の病態と患者に優しい治療とその開発」、アレルギー 58 : 313, 2009. 6. 5 (岐阜)
 8. 小野恵美子、谷口正実、東 憲考、三田晴久、梶原景一、山口裕礼、龍野清香、谷本英則、福富友馬、関谷潔史、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：喘息病態における好塩基球活性化マーカー CD203c の発現変化、第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 58 : 371, 2009. 6. 5 (岐阜)
 9. 小野恵美子、谷口正実、東 憲考、三田晴久、山口裕礼、東 愛、梶原景一、伊藤伊津子、龍野清香、谷本英則、福富友馬、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：炎症性メディエーターと各種アレルギー・炎症疾患、第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 58 : 386, 2009. 6. 5 (岐阜)
 10. 押方智也子、釣木澤尚美、齋藤明美、三富弘之、齋藤博士、粒来崇博、龍野清香、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、関谷潔史、谷口正実、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、中澤卓也、安枝 浩、秋山一男：約 12 年の気管支喘息の経過で発症した *Aspergillus niger* によるアレルギー性気管支肺アスペルギルス症の一例、第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 58 : 393, 2009. 6. 4 (岐阜)
 11. 関谷潔史、谷口正実、福富友馬、龍野清香、谷本英則、押方智也子、小野恵美子、粒来崇博、東 憲考、中澤卓也、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：若年成人の間欠型喘息における肺機能からみた重症度評価の検討、第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 58 : 398, 2009. 6. 4 (岐阜)
 12. 谷本英則、谷口正実、関谷潔史、龍野清香、福富友馬、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：高用量 ICS や β 刺激薬でも低肺機能が持続する重症喘息—臨床的に真のリモデリングと言えるのか、第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 58 : 417, 2009. 6. 5 (岐阜)
 13. 龍野清香、谷口正実、福富友馬、谷本英則、小野恵美子、押方智也子、関谷潔史、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、中澤卓也、安枝 浩、秋山一男：イネ科花粉アレルギーの臨床症状—カモガヤ特異的 IgE 単独陽性例の検討、第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、アレルギー 58 : 423, 2009. 6. 5 (岐阜)
 14. 谷本英則、谷口正実、竹内保雄、齋藤明美、龍野清香、福富友馬、小野恵美子、関谷潔史、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、中澤卓也、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、安枝 浩、秋山一男：アレルギー性気管支肺アスペルギルス症 (ABPA) 30 例の臨床的検討、第 49 回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 47 : 246, 2009. 6. 13 (東京)
 15. 押方智也子、釣木澤尚美、三富弘之、齋藤博士、粒来崇博、龍野清香、谷本英則、福富友馬、小野恵美子、関谷潔史、谷口正実、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：アレルギー性気管支肺真菌症における気道過敏性、気道リモデリングの検討、第 49 回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 47 : 246, 2009. 6. 13 (東京)
 16. 関谷潔史、谷口正実、福富友馬、龍野清香、谷本英則、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、東 憲考、中澤卓也、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：若年成人の自覚症状が軽症間欠型である喘息における肺機能・気道過敏性・気道炎症からみた重症度評価と持続的気流閉塞の検討、第 49 回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 47 : 277, 2009. 6. 14 (東京)
 17. 福富友馬、谷口正実、関谷潔史、龍野清香、谷本英則、小野恵美子、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、東 憲考、中澤卓也、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：若年成人喘息患者における気流閉塞—短期間喫煙でも持続的気流閉塞を生じるか、第 49 回日本呼吸器学会学術講演会、日本呼吸器学会雑誌 47 : 314, 2009. 6. 14 (東京)
 18. 大友隆之、神沼 修、北村紀子、森 晶夫：T 細胞依存的な気道過敏性亢進における好酸球の影響、アレルギー・好酸球研究会 2009、抄録集 p. 6, 2009. 6. 20 (東京)
 19. 神沼 修、北村紀子、本井祐二、北村ふじ子、宮武昌一郎、三好浩之、巽英樹、根本荘一、森 晶夫、廣井隆親：ヒト T 細胞の IL-4 に対する C-terminal binding protein の役割、アレルギー・好酸球研究会 2009、抄録集 p. 12, 2009. 6. 20

(東京)

20. 鈴木一矢、神沼 修、森 晶夫、廣井隆親：マウスを用いた舌下免疫療法モデル実験系の開発、アレルギー・好酸球研究会 2009、抄録集 p. 17, 2009. 6. 20 (東京)
 21. 龍野清香、粒来崇博、谷口正実、福富友馬、谷本英則、小野恵美子、押方智也子、関谷潔史、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：副鼻腔炎の合併は気流制限なく臨床的にコントロールされている喘息患者における呼気NO高値の危険因子である、第19回国際喘息学会日本北アジア部会、プログラム・抄録集 p. 67, 2009. 7. 10 (東京)
 22. 関谷潔史、谷口正実、福富友馬、龍野清香、谷本英則、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：自覚症状が軽症間欠型の若年成人喘息における臨床的検討、第19回国際喘息学会日本北アジア部会、プログラム・抄録集 p. 76, 2009. 7. 11 (東京)
 23. 谷本英則、竹内保雄、谷口正実、龍野清香、福富友馬、関谷潔史、森 晶夫、長谷川眞紀、齋藤明美、安枝 浩、秋山一男：自覚症状が軽症間欠型の若年成人喘息における臨床的検討、第19回国際喘息学会日本北アジア部会、プログラム・抄録集 p. 79, 2009. 7. 11 (東京)
 24. 押方智也子、釣木澤尚美、齋藤博士、齋藤明美、粒来崇博、龍野清香、谷本英則、福富友馬、関谷潔史、中澤卓也、谷口正実、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、安枝 浩、秋山一男：アレルギー性気管支肺真菌症と真菌症と真菌感作喘息の病態における制御性T細胞に関する検討、第59回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 58 (8・9) : 1204, 2009. 10. 29 (秋田)
 25. 神沼 修、大友隆之、森 晶夫、長久保大輔、稗島州雄、義江 修、鈴木一矢、廣井隆親：T細胞依存性の好酸球気道炎症に対するCCR4拮抗薬の作用、第59回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 58 (8・9) : 1206, 2009. 10. 29 (秋田)
 26. 谷本英則、谷口正実、竹内保雄、齋藤明美、龍野清香、福富友馬、関谷潔史、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、中澤卓也、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、安枝 浩、秋山一男：アレルギー性気管支肺アスペルギルス症 (ABPA) 40例の臨床的検討、第59回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 58 (8・9) : 1213, 2009. 10. 29 (秋田)
 27. 関谷潔史、谷口正実、谷本英則、龍野清香、福富友馬、押方智也子、粒来崇博、釣木澤尚美、大友 守、前田裕二、森 晶夫、長谷川眞紀、秋山一男：若年老人における喘息大発作入院症例の臨床背景の検討、第59回日本アレルギー学会秋期学術大会、アレルギー 58 (8・9) : 1213, 2009. 10. 29 (秋田)
 28. Kaminuma, O., Kitamura, F., Miyatake, S., Yamaoka, K., Kitamura, N., Mori, A., and Hiroi, T. T-bet の高発現がヒト Th2 分化における不完全性の要因である/Hyperexpression of T-bet is responsible for incomplete human Th2 differentiation. 日本免疫学会総会 2009 proceedings of the Japanese Society for Immunology 39:150, 2009. 1. 2-4 (大阪)
- H. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

「重症難治性喘息の臨床的特徴と炎症細胞からみた基礎的要因に関する研究」

研究分担者 高橋 清 (国立病院機構南岡山医療センター)

研究協力者

宗田 良 (国立病院機構南岡山医療センター内科)

岡田千春 (国立病院機構本部人材育成キャリア支援室長)

片岡幹男 (岡山大学大学院保健学研究科)

木村五郎、平野 淳 (国立病院機構南岡山医療センターアレルギー科)

金廣有彦、谷本 安 (岡山大学病院呼吸器・アレルギー内科)

研究要旨

重症難治性喘息の予防と治療の対策を目的として、臨床と基礎の両面から検討した。(1) JGL2006の重症度分類による喘息症例を対象に呼気NO濃度を測定し、症状ステップ、治療ステップ、試案の難治基準(PSL5mg以上/日)との関連を検討した。喘息患者の呼気NOは、治療下においても健常人に比べて有意に高値であった。症状ステップ別の検討では、Step4群において呼気NOが高値であった。治療ステップ別の検討では、Step4群において呼気NOが高値の傾向であったが、各群に有意差を認めなかった。症状Step1症例において試案の重症度別に検討したところ、治療Step4a群で呼気NOが高値の傾向であった。従って、呼気NO値は治療下での喘息コントロール状態を反映し、十分な抗炎症療法が重症化予防に重要と考えられた。(2) 気道の炎症細胞は重症難治病態に深く関与していると考えられ、好塩基球における抗原提示能について検討した。末梢血単核球をIL-3の存在下、非存在下で培養し、CD203c陽性分画(好塩基球分画)におけるHLA-DR、CD80、CD86の発現を検討した。その結果、IL-3との24時間培養によりCD203cの発現増強とともにHLA-DRの発現が誘導された。従って、好塩基球がアレルギー性炎症の場で活性化を受けると抗原提示能を有する可能性が示唆された。以上から、治療薬等の影響で抑制される炎症物質の中では、呼気NOが重症化抑制指標の一つとなり得ると考えられた。また、好塩基球は抗原提示細胞として気管支喘息の病態に関与する可能性が示唆された。

A.研究目的

重症難治性喘息の予防と治療の対策を目的として、その臨床的特徴と炎症細胞からみた基礎的要因について検討した。(1) JGL2006を基に見直した難治性喘息の臨床(重症度)分類試案に従って、難治性喘息の患者背景と気道の炎症指標から重症度基準と病態の関連性をこれまで検証してきた。その結果、呼気凝縮液中のCRPやalbumin、各種cytokineは重症よりも軽症や中等症持続型で高値であり、治療の影響を加味すると重症に至る前の段階でこれらの炎症指標を参考にして症状に惑わされず確実に抑制する抗炎症療法を継続することが、重症化の予防に重要であると考えられた。また、呼気凝縮液中の

H2O2やnitrite/nitrateはFEV1/PEFRと有意の負の相関を認め、気道閉塞の指標にも有用であり気道炎症抑制の指標および治療状況の把握として有用であった。今回は呼気凝縮液の採取よりもさらに簡便で繰り返しの測定が可能な呼気NO濃度について検討した。(2) 難治病態に重要な役割を果たすと考えられている気道の炎症細胞の関与を解明するために、これまでアレルギー性炎症における好塩基球の機能に関して研究を行ってきた。その結果、ヒト好塩基球がIL-16やM-CSF産生細胞の一つであることが明らかとなり、好塩基球の活性化が、IL-16やM-CSFの発現を介してCD4陽性T細胞や単球・マクロファージの関与する免疫・アレルギー反応を調節

し、Th2 免疫応答の増強やリモデリング・血管新生に関与している可能性が示唆された。今回は、好塩基球における抗原提示能について検討を行った。

B. 方法

(1) 気管支喘息患者 339 名ならびに健常者 15 名を対象に、NIOX MINO® (Aerocrine AB) を用いて呼気 NO 濃度を測定した (表 1)。喘息患者については JGL2006 の重症度分類による症状ステップ別、治療ステップ別に検討した。さらに、症状がコントロールされている症状 Step1 の患者について、治療ステップ別の呼気 NO 濃度を比較し、試案の難治基準 (PSL5mg 以上/日) との関連を検討した。

(2) 健常者の末梢血から、比重遠心法により単核球を分離し、IL-3 (10 ng/ml) の存在下、非存在下で 24 時間培養した。この単核球を用いて、好塩基球 (活性化) マーカーとされる CD203c (PE 標識) と HLA-DR、CD80、CD86 (FITC 標識) との 2-color flow cytometry を行い、好塩基球における HLA-DR、CD80、CD86 の発現を検討した。

C. 結果

(1) 健常者 (15 名) の呼気 NO は平均 16 ppb、喘息患者 (339 名) の呼気 NO は平均 38 ppb であり、喘息患者の呼気 NO は、治療下においても健常人に比べて有意に高値であった (図 1)。喘息患者において JGL2006 の重症度分類に基づく症状ステップ別に呼気 NO を検討したところ、症状 Step1、Step2、Step3、Step4 における平均呼気 NO は各々 37.9 ppb、37.8 ppb、26.9 ppb、48.6 ppb であった (図 2)。症状 Step4 の呼気 NO は Step3 に比して有意に高値であり、また Step1、Step2 と比較して有意差はないものの高値の傾向であった。次に、治療ステップ別に呼気 NO を検討したところ、治療 Step1、Step2、Step3、Step4 における平均呼気 NO は各々 36.0 ppb、35.0 ppb、37.8 ppb、44.3 ppb であった (図 3)。治療 Step4 群において呼気 NO が高値の傾向であったが、各群に有意差を認めなかった。さらに、症状 Step1 症例において、試案の重症度別に呼

気 NO 濃度を検討した (表 2)。すなわち、治療 Step4 をさらに経口 PSL 5 mg/日未満の治療 Step4a 群、経口 PSL5mg/日以上 10 mg/日未満の治療 Step4b 群、経口 PSL 10 mg/日以上の治療 Step4c 群の 3 群に分けて検討したところ、治療 Step4a 群で呼気 NO が高値の傾向であったが、統計学的に有意差はなかった (表 3、図 4)。また、高値を示した患者比率も各治療 Step 群で差は認められなかった。

(2) 健常者の末梢血単核球を IL-3 (10 ng/ml) の存在下で 24 時間培養すると、CD203c 陽性細胞 (好塩基球分画) における CD203c 発現強度は増強した (図 5、図 6)。同時に、CD203c 陽性細胞における HLA-DR の発現が誘導された (図 5、白矢印)。一方、CD80 や CD86 に関しては明らかな発現の誘導はみられなかった (図 6)。

D. 考察

(1) 呼気 NO 濃度の測定は簡便かつ非侵襲的で繰り返し検査を行うことができる。さらに、ベッドサイドで直ちに結果がわかることが最大のメリットである。呼気 NO は未治療の気管支喘息においては COPD などとの鑑別診断に有用であること、治療によって呼吸機能との間に負の相関を示しながら呼気 NO が低下することが報告されている。我々は、治療下での喘息症例を対象に呼気 NO 濃度を測定し、症状ステップ、治療ステップ、試案の難治基準 (PSL5mg 以上/日) との関連を検討した。その結果、喘息患者の呼気 NO は、治療下においても健常人に比べて有意に高値を示した。症状ステップ別の検討では、症状 Step4 群において呼気 NO が有意に高値であり、治療ステップ別の検討では、治療 Step4 群において呼気 NO が高値の傾向であった。症状 Step1 症例において試案の重症度別に検討したところ、治療 Step4a 群で呼気 NO が高値の傾向であった。従って、呼気 NO 値は治療状況が加味されたコントロール状態を反映しており、十分な抗炎症療法が重症化予防に重要と考えられた。我々は既に呼気凝縮液中の nitrite や nitrate が呼吸機能 (FEV1、PEFR) と有意な負の相関を認めることを報告したが、呼気凝縮液中の nitrite や

nitrateは呼気NOに関連するものと考えられることから、日常臨床において呼気NOのモニタリングは喘息コントロール状態の把握に有用であると言えよう。試案の難治基準(経口 PSL 5 mg以上/日)と呼気NOとの関連については、PSL 5 mg/日以上 10 mg/日未満の症例(治療 Step 4b)が3例、PSL 10 mg/日以上(治療 Step 4c)の症例が4例と少なく、これらの平均呼気NO値は治療 Step1~4aと比べると有意差はないものの低値であった。経口 PSL 5 mg 以上/日の難治症例については、呼気NOは治療(全身性ステロイド)の影響を強く受けていることが想定され、ステロイド薬(抗炎症薬)の影響を受けずに難治病態を反映するような指標があるか否かについては今後の検討課題である。そのためには、治療 Step 4b ならびに 4c の症例を集積する必要がある。

(2) 好塩基球は遅発相の気道局所に集積し、エフェクター細胞としてアレルギー性炎症の慢性化・重症化に関与していると考えられていた。しかしながら、近年の研究から免疫・アレルギー反応を調節する細胞として捉えられるようになってきた。我々もこれまで好塩基球がFcεRIを介する反応でIL-16やM-CSFを産生することを明らかにし、これらのサイトカイン発現を介してCD4陽性T細胞や単球・マクロファージの関与する免疫・アレルギー反応を調節し、Th2免疫応答の増強やリモデリング・血管新生に関与している可能性を報告した。今回は、好塩基球の抗原提示能について検討した。好塩基球は本来HLA-DR陰性で抗原提示能を持たない細胞とされていたが、興味深いことにIL-3で活性化されるとHLA-DRの発現が誘導されることが判明した。今後、HLA-DRの発現を誘導する他の因子、MLRによる抗原提示能の確認、健常人と喘息患者における差異などの検討が必要である。いずれにせよ、好塩基球はアレルギー性炎症のイニシエーターとしても機能し、気管支喘息の慢性化・重症化に関与している可能性がある。

E. 結論

呼気NOは喘息患者の治療下でのコントロール

状態を反映し、重症化抑制指標の一つとなり得る。

活性化好塩基球は抗原提示細胞として気管支喘息の病態に関与している可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 高橋 清. 成人気管支喘息とその自然経過. アレルギー・免疫 16;478-488, 2009.
- 2) 高橋 清. 高齢者喘息調査における課題. アレルギーの臨床 29;599-604, 2009.
- 3) 高橋 清, 山中隆夫. 重症喘息とは 定義と実態. アレルギー・免疫 16;1503-1513, 2009.
- 4) 高橋 清. 成人気管支喘息の自然経過. 臨床免疫・アレルギー科 52;292-299, 2009.
- 5) 宗田 良, 高橋 清. 高齢者喘息の特徴. アレルギーの臨床 29;502-506, 2009.
- 6) 岡田千春, 高橋 清. 重症喘息, 成人および高齢者重症喘息の管理の現状. Progress in Medicine 29;19-23, 2009.
- 7) 谷本 安, 高橋 清. 特集 気管支喘息: 診断と治療の進歩. V. 喘息の亜型・特殊型 4. 重症難治性喘息. 日内会誌 98: 3103-13, 2009.
- 8) 谷本 安, 高橋 清. 14 急性増悪(発作)への対応 C. 急性増悪時の家庭での対応 福田健編: よくわかる気管支喘息—その診療を極める— 永井書店, 大阪, 233-35, 2009.
- 9) 平野 淳, 高橋 清. 喘息コントロール問題点と対策 長期管理薬の使い方 成人. 医薬ジャーナル 45;1369-1371, 2009.
- 10) 岡田千春. 高齢者喘息患者の診断とその留意点. Progress in Medicine 29;2985-2988, 2009.
- 11) 岡田千春. 喘息の分子マーカーの意義 基礎と臨床. 呼吸器科 15;533-537, 2009.

2. 学会発表

- 1) 福富友馬, 小林章雄, 中村裕之, 西村正治,

河岸由起男, 谷口正実, 高橋 清, 烏帽子田 彰, 小田嶋博, 中川武正, 秋山一男, 赤澤 晃. 気管支喘息 診断と管理 疫学と実態調査 日本語版ECRHS調査票を用いた全国成人喘息有病率調査. 第59回日本アレルギー学会総会, 秋田, 2009.

2) Okada C, Hirano A, Kimura G, Tanimoto Y, Kanehiro A, Soda R, Takahashi K. The interaction of PBMC from asthmatics and cultured bronchial epithelial cells showed enhanced MMP-9 and TGF- β 1 production in difficult asthma. ATS, San Diego, 2009.

3) Okada C, Hirano A, Tanimoto Y, Kimura G, Miyahara N, Kanehiro A, Soda R, Takahashi K. The PBMC of severe asthmatics showed enhanced candida antigen induced IL-5, IL-13 and TARC production and this enhancement was inhibited by dendritic cell depletion. ERS, Wien, 2009.

4) 岡田千春, 谷本 安, 保澤総一郎, 尾長谷靖, 金廣有彦, 佐藤利雄, 竹山博泰, 小崎晋司, 沖本二郎, 塩田雄太郎, 多田慎也, 高橋 清. 吸入ステロイド薬HFA-CICの服薬遵守状況と諸因子の検討. 第21回日本アレルギー学会春期臨床大会, 岐阜, 2009.

5) 岡田千春, 平野 淳, 高橋 清. 高齢者喘息とデバイスを考える 高齢者喘息の現状と課題. 第59回日本アレルギー学会総会, 秋田, 2009.

6) 岡田千春, 平野 淳, 木村五郎, 谷本 安, 高橋 清. One airway, one diseaseの病態と治療 成人喘息と鼻炎. 第59回日本アレルギー学会総会, 秋田, 2009.

7) 谷本 安, 佐久川亮, 井上由佳理, 斎藤博久, 高橋 清, 谷本光音. シンポジウム12 アレルギーと炎症細胞 (メディエーターも含む) S12-2. 好塩基球 第21回日本アレルギー学会春季臨床大会, 岐阜, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む) 特になし

1. 特許取得 特になし

2. 実用新案登録 特になし

3. その他 特になし

表 1 呼気NO濃度測定の対象

気管支喘息患者 : 339名 (男136名、女203名)			
年齢 : 7歳~88歳 (平均56歳)			
症状Step	Step1:217名	治療Step	Step1:114名
	Step2:77名		Step2:58名
	Step3:17名		Step3:59名
	Step4:5名		Step4:78名
健常者 : 15名 (男2名、女13名)			
年齢 : 30歳~54歳 (平均40歳)			

図1 健常者と喘息患者の呼気NO

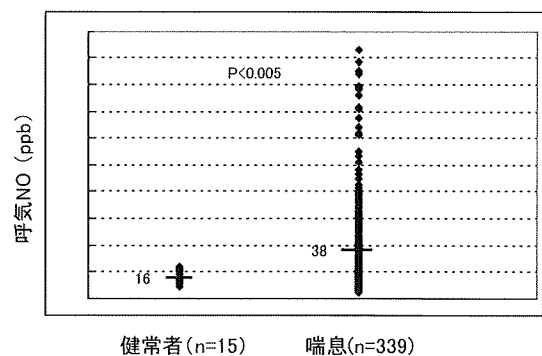


図2 症状ステップと呼気NO (治療Stepは1~4まで含む)

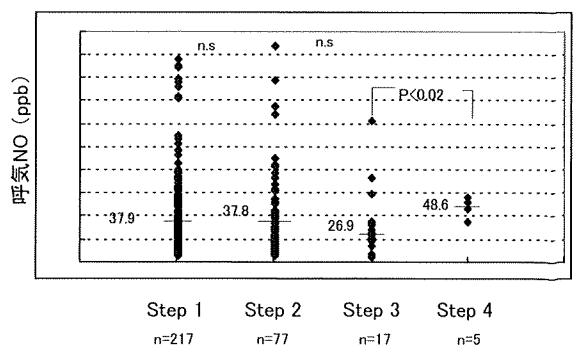


図3 治療ステップと呼気NO
(症状Stepは1～4まで含む)

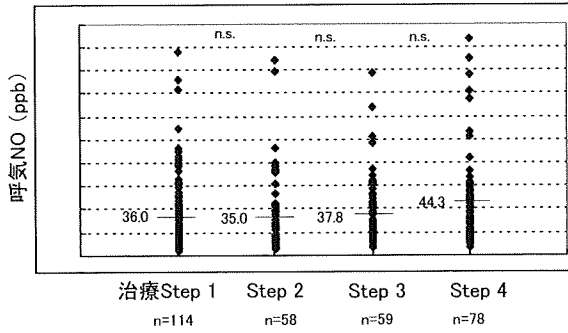


図4 症状Step1群における治療ステップ別の呼気NO
- 各患者の呼気NO濃度プロット -

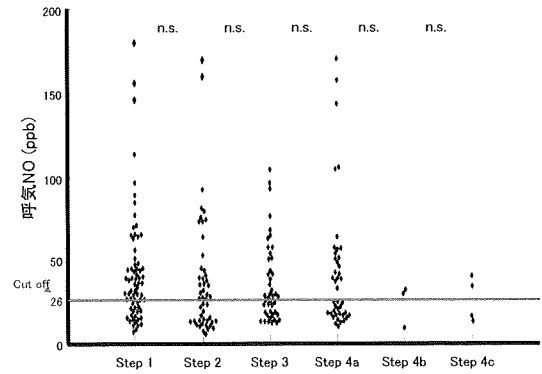


表2 症状Step1症例における治療ステップ

対象	症状Step1の喘息患者212名 (15~88歳、男:女=88:124)
	治療Step1 : 68名
	治療Step2 : 50
	治療Step3 : 45
	治療Step4a: 42
	治療Step4b: 3
	治療Step4c: 4

Step 4a: 0mg ≤ oral PSL < 5mg
Step 4b: 5mg ≤ oral PSL < 10mg
Step 4c: 10mg ≤ oral PSL

試案の難治基準: 5mg ≤ oral PSL

図5 末梢血好塩基球におけるHLA-DR発現

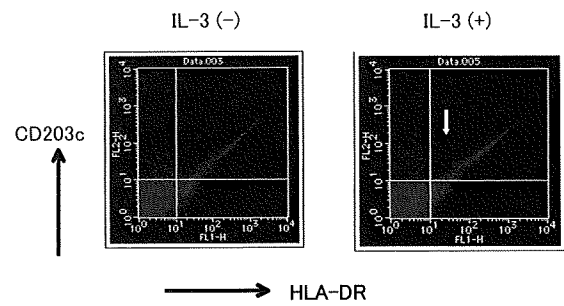
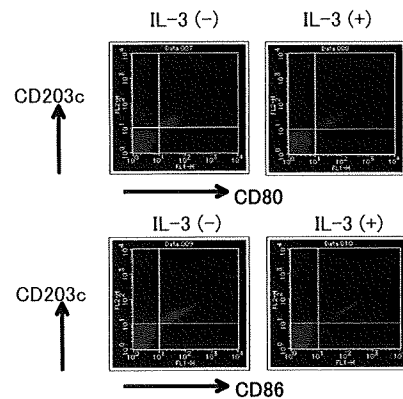


表3 症状Step1群における治療ステップ別の呼気NO
- 平均値と高値を示した比率 -

治療ステップ	呼気NO (ppb)	正常値 : 高値 (Cut off値: 26 ppb)
Step 1	39.74 ± 33.82	29 : 39
Step 2	37.12 ± 34.71	25 : 25
Step 3	36.07 ± 23.70	21 : 24
Step 4a	43.05 ± 38.88	21 : 21
Step 4b	23.67 ± 11.93	1 : 2
Step 4c	26.75 ± 13.45	2 : 2

Step 4a: 0mg ≤ oral PSL < 5mg
Step 4b: 5mg ≤ oral PSL < 10mg
Step 4c: 10mg ≤ oral PSL

図6 末梢血好塩基球におけるCD80, CD86発現



分担研究報告書

喘息死患者の気道リモデリングと炎症細胞の解析に関する研究

研究分担者 相澤 久道 久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部門教授
研究協力者：星野 友昭 久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部 講師
川山 智隆 久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部 講師
木下 隆 久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部 助教
坂崎 優樹 久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部 大学院生
武井 仁子 久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部 大学院生
澤田 昌典 久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部 大学院生
小田 華子 久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部 大学院生

研究要旨

喘息死は吸入ステロイドの普及で減少したが未だ 3000 人近くが喘息で死亡している。しかしながら肺病変部における T 細胞を含む炎症細胞の解明は殆ど行われていない。そこで本研究では喘息死患者の気道リモデリングと気道の炎症細胞の解析を喘息死患者の摘出肺を用いて行った。1973 年以降に久留米大学及びその関連病院で病理解剖を行った 12 人の非喫煙の喘息死患者から肺組織を得た。肺癌肺切除術を施行した軽症喘息 5 名及び非喫煙健常人 10 名の肺組織も併せて検討した。喘息死患者の気道は平滑筋の肥大、分泌腺過形成を伴った著明な気道リモデリング、粘液栓による気道の閉塞を認めた。一方軽症喘息及び非喫煙健常人では気道のリモデリングはほとんど認めなかった。喘息死では気道への著明な炎症細胞浸潤がみられた。メイ・ギムザ染色の結果、好酸球とリンパ球は軽症喘息や健常肺に比べ有意に増加していた。好中球は健常肺に比べ有意に増加していたが好塩基球は軽症喘息や健常肺に比べ有意な増加は認めなかった。喘息死の気道では、CD4 陽性 T 細胞は軽症喘息と同等に健常人より増加していた。一方 CD8 陽性 T 細胞は軽症喘息に比べ著明に増加しており、CD4/CD8 比約 0.4 と著明な低下を認めた。この CD8 陽性 T 細胞は炎症性サイトカイン IL-18 を産生していた。喘息死の病因には好酸球及び炎症性サイトカイン産生 CD8 陽性 T 細胞が関与している可能性が考えられた。著明な気道リモデリング、粘液栓による気道の閉塞が喘息死の直接の原因と考えられた。

A. 研究目的

古くから気管支喘息（以下喘息）の病因に Gell Coombs らが提唱した IgE を介した I 型アレルギーが関与していることが知られている。これま

での研究で喘息の病態の主体は中枢気道中心の慢性気道炎症であることが判明している。気道炎症には好酸球、肥満細胞、抗原提示細胞、CD4 陽性 T 細胞、またおそらく NKT 細胞や制御性 T

細胞も関与している。これらの炎症細胞が活性化し産生される生理活性物質、Th2 サイトカイン、炎症性サイトカイン、ケモカインが複雑なネットワークを形成している。長期にわたる気道炎症は非可逆性の気道リモデリングを起こし、喘息の重症化に伴い中枢気道のリモデリングが進行することが知られている。

喘息死は吸入ステロイドの普及で減少したが未だ 3000 人近くが喘息で死亡している。40 年ほど前の病理学的研究で喘息死においては粘液栓が大気管支 (large bronchi)、小気管支 (small bronchi) から終末細気管支、時には肺泡を塞ぐことが報告されている。この過剰な粘液栓の分泌が無気肺を引き起こすことが示唆されていた。1997 年に Carroll らが喘息死の肺病変部に好酸球とリンパ球が増加していることを報告した。Faul らが喘息死の肺病変部に CD8 陽性 T 細胞が増加していることを報告している。しかしながら喘息死の肺病変部における T 細胞、好酸球や好中球を含む炎症細胞浸潤と炎症性サイトカインの役割は不明な点が多い。

一方、chronic obstructive pulmonary disease (COPD) の病態の主体は末梢気道中心の慢性気道炎症であることが判明している。また重症の COPD の気道にも好酸球や CD8 陽性 T 細胞が増加することが知られている。過去の喘息死の研究のほとんどは 60 年から 70 年代の古い研究である。加えて症例数が少ない、喫煙者を含む、症例の大半が 50 才以上の (比較的) 高齢者であるという特徴を持つ。よって過去の喘息死の研究は COPD 患者を含んでいる可能性が高い。そこで本研究では昭和 48 年以降に久留米大学及びその関連病院で病理解剖を行った 12 人の非喫煙の喘息死患者から肺組織を得た。喘息死の肺病変部における T 細胞、好酸球や好中球を含む炎症細胞浸潤とこれら炎症細胞が産生する炎症性サイトカインの検討を行った。

B. 研究方法

1) 対象

昭和 48 年以降に久留米大学及びその関連病院で病理解剖を行った非喫煙者の 12 人の喘息死患者から肺組織を得た (Table 1)。明らかな感染症、COPD、心不全を合併した患者は除外した。肺切除術を施行した非喫煙者の軽症喘息 5 名及び非喫煙健常人 10 名の肺組織も併せて検討した (Table 2)。

2) 組織学的解析

摘出肺はホルマリン固定し、パラフィンブロックを作製した。パラフィンブロックから連続切片を作製し HE 染色、メイ・ギムザ染色、PAS 染色、EVG 染色を行った。メイ・ギムザ染色した切片は 400 倍下で鏡検し好酸球、好塩基球、好中球、リンパ球を手動でカウントし mm² あたりの細胞数を算出した。

3) 免疫染色法

抗 CD4、CD8 モノクローナル抗体 (ダコ製)、当教室で作製した抗 IL-18 モノクローナル抗体を用いた。LSAB2 kit/HRP (ダコ製) を用いて 2 重免疫染色を行った。発色の基質は 3-3'-diaminobenzidine-4HCl (DAB), First Red® (ダコ製) を用いた。蛍光顕微鏡を用いて UV 下で First Red を検出した。顕微鏡画像は CCD カメラ (DXM1200, Nikon Co.) を用いてコンピュータに取り込み Nikon ACT-1 (Nikon Co.) を用いて解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は久留米大学の倫理委員会の承認を得て行われた。

C. 結果

1) 喘息死患者の臨床的特徴

喘息死患者は 1973 年から 1998 年に死亡し、患

者の年齢は5から79才で平均は44.4 ± 7.4才であった。興味深いことに12名中5名が24時間以内に死亡していた。喘息の罹患期間は10ヶ月から50年と大きく差があったが9名が6年以上の罹患期間を持っていた。14名中8名が死亡時にステロイドの全身投与を受けていた。2名のみが吸入ステロイド beclometasone dipropionate (BDP)を使用していた(Table 1)。喘息死患者の肺機能は不明であった。

非喫煙者の軽症喘息及び非喫煙健常人の平均年齢はそれぞれ66.8 ± 4.1、62.5 ± 4.9才であった。軽症喘息の5名中3名が吸入ステロイド fluticasone propionate (FP)を服用していた。非喫煙者の軽症喘息ではFEV1/FVC %が低下していた (Table 2)。

2) 喘息死患者の病理学的特徴

本研究では喘息死患者の中樞気道(気管支)の病変を得ることがほとんどできなかった。そこで我々は喘息死患者の10mm以下の細気管支を検討した。喘息死では気道(細気管支)への著明な炎症細胞浸潤がみられた (Figure 1)。喘息死患者の気道は平滑筋の肥大、分泌腺過形成を伴った著明な気道リモデリング、粘液栓による気道の閉塞を認めた。検討した12名のすべての症例で著明な気道リモデリングと炎症細胞浸潤が認められた。また明らかな感染症は認められなかった。一方軽症喘息及び非喫煙健常人では気道のリモデリングはほとんど認めなかった。メイ・ギムザ染色により喘息死患者の気道に好酸球とリンパ球が増加していたことが判明した。炎症細胞を計測したところ喘息死患者の気道では好酸球とリンパ球は軽症喘息及び非喫煙健常人に比べ有意に増加していたが好塩基球は有意な増加は認めなかった。好中球は喘息死患者の気道では非喫煙健常人に比べ有意に増加していた (Figure 2)。

3) 喘息死患者の肺病変部ではCD8陽性T細胞は軽症喘息に比べ著明に増加

喘息死の気道では、CD4陽性T細胞は軽症喘息と同等に健常人より増加していた。一方CD8陽性T細胞は軽症喘息に比べ著明に増加しており、CD4/CD8比0.4と著明な低下を認めた。このCD8陽性T細胞は炎症性サイトカインIL-18をほぼ100%産生していた (Figure 3)。

D. 考察

この研究の興味深い発見は全喘息死患者で著明な気道リモデリングと炎症細胞浸潤が認められたことと思われる。我々が検討した12名の喘息死患者はすべて1998年以前の症例であったため、そのほとんどが日本における吸入ステロイドの普及以前の症例であった。死亡時には12名中7名がステロイドの全身投与を受けており、2名のみ吸入ステロイド beclometasone dipropionate (BDP)を使用していた。一方、軽症喘息及び非喫煙健常人では気道のリモデリングはほとんど認めなかった。軽症喘息の5名すべてコントロールが良好で、3名が吸入ステロイド fluticasone propionate (FP)を服用していた。これらの結果は1) 喘息死の病因に気道のリモデリングが関与し 2) 吸入ステロイドは気道のリモデリングを抑制することが示唆された。

12名中5名が24時間以内に死亡していた。この結果はIgE、肥満細胞や好塩基球を介したI型アレルギー、即時型アレルギーの関与を示唆する。肥満細胞や好塩基球から放出された生理活性物質が急激な気道攣縮を起し致死的な気道閉塞を来した可能性がある。現在この点について検討中である。

喘息の罹患期間は10ヶ月から50年と大きく差があったが9名が6年以上の罹患期間を持っていた。これらの結果は気道リモデリングの樹立には比較的長い罹病期間が必要と考えられる。しかしながら症例4の5歳児は2年の罹病期間

しかなく、肺病変部には著明な気道リモデリングが認められた。小児の場合は比較的短い時間で気道リモデリングが樹立する可能性がある。さらなる検討が必要である。

本研究では、中枢気道を得ることが困難であり、比較的末梢の 10mm 以下の細気管支について検討した。過去の報告で、喘息は一般的に中枢気道の炎症、リモデリングが特徴とされているが、今回の検討で、喘息死では比較的末梢の気道においても著明な気道炎症、リモデリングがみられることが示唆された。

喘息死の気道では CD4 陽性 T 細胞が健常人より増加していた。しかしながら CD4 陽性 T 細胞の増加は軽症喘息と同等の増加であった。しかしながらこれまでの研究報告と違い喘息死の気道では CD8 陽性 T 細胞は著明に増加しており、CD4/CD8 比 0.4 と著明な低下を認めた。この CD8 陽性 T 細胞は炎症性サイトカイン IL-18 を産生していた。これまでの研究で重症の COPD の末梢気道は気道リモデリングが著明で、好酸球や CD8 陽性 T 細胞が増加することが知られている。我々の最近の研究で重症 COPD の末梢気道の CD8 陽性 T 細胞は炎症性サイトカイン IL-18 を産生することが判明した。難治性喘息と重症 COPD ではステロイドの治療に抵抗するといった共通点がある。また以上の結果は喘息死の気道に増えている CD8 陽性 T 細胞は気道リモデリング形成に関与していることが示唆される。

E. 結論

喘息死の病因には気道リモデリング、好酸球及び CD8 陽性 T 細胞が関与している可能性が考えられた。著明な気道リモデリング、粘液栓による気道の閉塞が喘息死の直接の原因と考えられた。好酸球、CD8 陽性 T 細胞及び炎症性サイトカイン IL-18 は重症喘息の気道リモデリング形成に関与し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

英文論文

- 1) Izuhara K, Ohta S, Shiraishi H, Suzuki S, Taniguchi K, Toda S, Tanabe T, Yasuo M, Kubo K, Hoshino T, Aizawa H. The mechanism of mucus production in bronchial asthma. *Curr Med Chem.* 2009;16:2867-75.
- 2) Kitasato Y, Tao Y, Hoshino T, Tachibana K, Inoshima N, Yoshida M, Takata S, Okabayashi K, Kawasaki M, Iwanaga T, Aizawa H. Comparison of Aspergillus galactomannan antigen testing with a new cut-off index and Aspergillus precipitating antibody testing for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Respirology.* 2009;14:701-8.
- 3) Yokoyama T, Toda R, Kimura Y, Mikagi M, Aizawa H. Addison's disease induced by miliary tuberculosis and the administration of rifampicin. *Intern Med.* 2009;48:1297-300.
- 4) Kashihara M, Azuma K, Kawahara A, Basaki Y, Hattori S, Yanagawa T, Terazaki Y, Takamori S, Shirouzu K, Aizawa H, Nakano K, Kage M, Kuwano M, Ono M. Nuclear Y-box binding protein-1, a predictive marker of prognosis, is correlated with expression of HER2/ErbB2 and HER3/ErbB3 in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2009;4:1066-74.
- 5) Hoshino T, Toda R, Aizawa H. Pharmacological treatment in asthma and COPD. *Allergol Int.* 2009;58:341-6.
- 6) Imaoka H, Hoshino T, Okamoto M, Sakazaki Y,

Sawada M, Takei S, Kinoshita T, Kawayama T, Kato S, Aizawa H. Endogenous and exogenous thioredoxin 1 prevents goblet cell hyperplasia in a chronic antigen exposure asthma model. *Allergol Int.* 2009;58:403-10.

7) Okamoto M, Azuma K, Hoshino T, Imaoka H, Ikeda J, Kinoshita T, Takamori S, Ohshima K, Edakuni N, Kato S, Iwanaga T, Aizawa H. Correlation of decreased survival and IL-18 in bone metastasis. *Intern Med.* 2009;48:763-73.

8) Toda R, Hoshino T, Kawayama T, Imaoka H, Sakazaki Y, Tsuda T, Takada S, Kinoshita M, Iwanaga T, Aizawa H.. Validation of "lung age" measured by spirometry and handy electronic FEV1/FEV6 meter in pulmonary diseases. *Intern Med.* 2009;48:513-21.

9) Inoue Y, Kawayama T, Iwanaga T, Aizawa H. High plasma brain natriuretic peptide levels in stable COPD without pulmonary hypertension or cor pulmonale. *Intern Med.* 2009;48:503-12.

10) Fukuyama S, Nakano T, Matsumoto T, Oliver BG, Burgess JK, Moriwaki A, Tanaka K, Kubo M, Hoshino T, Tanaka H, McKenzie AN, Matsumoto K, Aizawa H, Nakanishi Y, Yoshimura A, Black JL, Inoue H. Pulmonary suppressor of cytokine signaling-1 induced by IL-13 regulates allergic asthma phenotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:992-8.

11) Hoshino T, Okamoto M, Sakazaki Y, Kato S, Young HA, Aizawa H. Role of Proinflammatory Cytokine IL-18 and IL-1{beta} in Bleomycin-induced Lung Injury in Humans and Mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009; 41, 6611-70.

12) Azuma K, Sasada T, Kawahara A, Hattori S, Kinoshita T, Takamori S, Ichiki M, Imamura Y, Ikeda J, Kage M, Kuwano M, Aizawa H. Expression of ERCC1 and class III beta-tubulin in non-small

cell lung cancer patients treated with a combination of cisplatin/docetaxel and concurrent thoracic irradiation. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2009 ;64:565-73.

和文論文

1) 相澤久道, 関塚友美, 石井秀宣: 治療 主要疾患の予防・治療・管理 喘息. *日本臨牀.* 2009;67(11):2115-2119.

2) 相澤久道: ミニシンポジウム「最新のガイドラインをめぐって」 1. ACP (American College of Physicians) ガイドライン. *呼吸.* 2009;28(10):1022-1023.

3) 大森久光, 岩崎 榮, 福地義之助, 工藤翔二, 山門 實, 相澤久道: 日本人間ドック学会会員施設における呼吸機能検査に関する実態調査. *人間ドック* 2009;23(5):44-49.

4) 相澤久道: 最新の COPD 治療-大規模臨床試験の結果から サルメテロール/フルチカゾン配合剤の大規模臨床試験-TORCH 試験などの結果. *医学のあゆみ* 2009;231(4):277-281.

5) 相澤久道, 御鍵麻記子, 時任高章: COPD(慢性閉塞性肺疾患)診断と治療のためのガイドライン第2版. *成人病と生活習慣病* 2009;39(6):667-670.

6) 相澤久道, 名取宏記, 御鍵麻記子: 呼吸機能検査ガイドライン 活用法. *呼吸器科* 2009;15(3):255-260.

7) 相澤久道: Q&A 高齢者喘息の鑑別のポイント. *日本医事新報* 2009;4429:94-95.

8) 相澤久道, 末友仁, 武岡宏明, 松岡昌信: 吸入ステロイド/ β_2 刺激薬配合剤の意義と使いかた. *Medical Practice* 2009;26(3):461-463.

9) 相澤久道: 呼吸の生理 ⑩臨床的な肺機能検査の応用. *呼吸* 2009;28(2):144-150.

10) 相澤久道: COPD の免学と病態. *臨床画像* 2009;25(2):6-12.

- 11) 相澤久道：安定期の喘息と COPD の類似点と相違点. 呼吸と循環 2009;57(2):135-140.
- 12) 相澤久道：ガス交換の仕組みから見た呼吸の機能. 呼吸器疾患診察マニュアル 2009;137(2):30-31.
- 13) 相澤久道：呼吸機能の年齢変化と疾患による異常. 呼吸器疾患診察マニュアル 2009;137(2):34-35.
- 14) 相澤久道：呼吸器系への喫煙の影響. 呼吸器疾患診察マニュアル 2009;137(2):36-37.
- 15) 相澤久道：「肺年齢」スクリーニングの役割. 呼吸器疾患診察マニュアル 2009;137(2):134.
- 16) 相澤久道：COPD(肺気腫、慢性気管支炎). 呼吸器疾患診察マニュアル 2009 ; 137(2):218-222.

2. 学会発表

国際学会

- 1) K. Matsunaga, T. Kawayama, R. Toda, Y. Imamura, T. Hoshino, H. Aizawa. Effects of fluticasone and ciclesonide on pulmonary function and airway inflammation in stable mild asthmatics. European Respiratory Society Annual Congress 2009, Vienna, Austria, September 12-16, 2009.
- 2) M. Sawada, R. Toda, Y. Sakazaki, T. Kawayama, T. Hoshino, H. Aizawa. Detection and evaluation severity of COPD by ipag questionnaires: evaluation of ipag questionnaires in COPD in Japan. European Respiratory Society Annual Congress 2009, Vienna, Austria, September 12-16, 2009
- 3) T. Hoshino, M. Okamoto, Y. Sakazaki, M. Sawada, H. Imaoka, T. Kinoshita, R. Toda, T. Kawayama, H. Aizawa. Role of proinflammatory cytokines IL-18 and IL-1 β in bleomycin-induced lung injury in humans and mice. European Respiratory Society Annual Congress 2009, Vienna, Austria, September 12-16, 2009
- 4) Y. Sakazaki, T. Hoshino, M. Sawada, T. Kawayama, Y. Kitasato, S. Takata, M. Yoshida, S. Kato, H. Aizawa. Characteristics of fatal asthma: CD8 positive T cells producing IFN- γ and IL-18 were recruited into small airways in fatal asthma. European Respiratory Society Annual Congress 2009, Vienna, Austria, September 12-16, 2009

国内学会

- 1)相澤久道：What's 肺年齢？-呼吸状態の理解に役立つ新しいキーワード-. 第 22 回日本臨床内科医学会学術集会，長崎市，2008. 9. 15
- 2)木下 隆、東 公一、岡元昌樹、今村陽平、池田二郎、藤本公則、相澤久道：当院における間質性肺炎合併肺癌の予後と治療検討. 第 49 回日本肺癌学会総会，北九州市，2008. 11. 13-14
- 3)相澤久道：成人喘息の立場から-難治病態の解析-. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会，東京，2008. 11. 27
- 4)相澤久道：高齢者喘息の病態および合併症-COPD をふまえて-. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会，東京，2008. 11. 28
- 5)太田昭一郎、岡元昌樹、内田 賢、星野友昭、白石裕士、大島孝一、相澤久道、出原賢治：特発性間質性肺炎における細胞外マトリクス分子 periostin 発現解析の意義. 第 55 回日本

- 臨床検査医学会学術集会，名古屋市，
2008. 11. 27-30
- 6)中尾栄男、東 公一、枝國信貴、池田二郎、川
山智隆、相澤久道：ゲフィチニブ投与歴のあ
る非小細胞肺癌に対するエルロチニブ投与に
関する第Ⅱ相試験. 第 49 回日本呼吸器学会総
会学術講演会，2009. 6. 12
- 7)木下 隆、川山智隆、池堂ゆかり、坂崎優樹、
今村陽平、星野友昭、相澤久道：COPD 診断に
おける呼気吸気胸部単純 X 線の有用性. 第 49
回日本呼吸器学会総会学術講演会，
2009. 6. 12-14
- 8)戸田玲子、富岡竜介、向野達也、木下 隆、坂
崎優樹、澤田昌典、川山智隆、星野友昭、相
澤久道：一般市民を対象とした肺年齢と IPAG
質問票の有用性の検証. 第 49 回日本呼吸器学
会総会学術講演会，2009. 6. 12-14
- 9)枝國信貴、戸田玲子、関塚友美、中村雅之、
平原奈奈、藤本公則、相澤久道：CT ガイド下
気管支鏡検査による肺病変の診断：CT ガイド
下肺生検法、テレビ透視下気管支鏡との比較.
第 49 回日本呼吸器学会総会学術講演会，
2009. 6. 12-14
- 10)相澤久道：COPD の最新治療戦略—大規模臨
床試験のエビデンス—. 第 50 回日本人間ド
ック学会学術大会，東京，2009. 9. 3
- 11)相澤久道：概念・ガイドラインから—『ガイ
ドラインに基づく喘息と COPD の診療』. 第 59
回日本アレルギー学会秋季学術大会，秋田市，
2009. 10. 29
- 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**
特記なし

Table 1

No.	Age	Sex	Year at autopsy	Therapy						Duration from onset
				Systemic steroid	ICS	Beta2-agonist	Theophylline	Anti-leukotriens	Ventilation	
1	32	M	1973	+	-	-	+	-	-	75 min
2	52	M	1974	+	-	-	-	-	-	5 days
3	5	M	1977	-	-	-	-	-	+	36 hrs
4	67	M	1980	-	-	-	-	-	-	60 days
5	43	M	1981	+	-	-	-	-	-	< 24hrs
6	75	M	1982	+	-	-	-	-	-	20 min
7	16	F	1984	-	-	+	+	-	-	DOA* (6 hrs)
8	79	F	1986	+	-	-	-	-	+	7days
9	57	M	1986	+	-	-	-	-	-	unknown
10	14	M	1994	-	-	-	-	-	-	DOA* (13 days)
11	24	M	1998	+	+	+	+	-	-	4 days
12	68	F	1998	-	+	-	-	-	+	7 days

*DOA: Death on arrival

Table 2

	Asthma death	mild asthma	control
n	12	5	10
age	44.4 ± 7.4	66.8 ± 4.1	62.5 ± 4.9
Sex			
Male	9	1	5
Female	3	4	5
Height	160.3 ± 3.9	152.2 ± 4.0	159.6 ± 3.1
Weight	53.2 ± 3.6	58.0 ± 4.9	59.5 ± 6.7
BMI	20.61 ± 1.0	25.0 ± 1.9	22.9 ± 1.8
VC % pred	ND	104.0 ± 7.6	108.7 ± 7.7
FVC % pred	ND	107.5 ± 6.7	107.3 ± 7.8
FEV1 % pred	ND	97.3 ± 11.0	103.3 ± 7.0
FEV1/FVC %	ND	66.2 ± 6.5	78.9 ± 2.8

ND: Not done

Figure 1

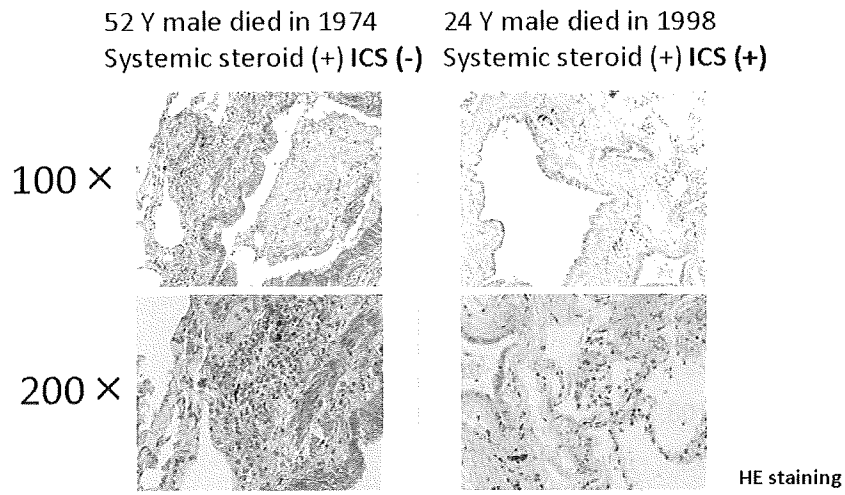
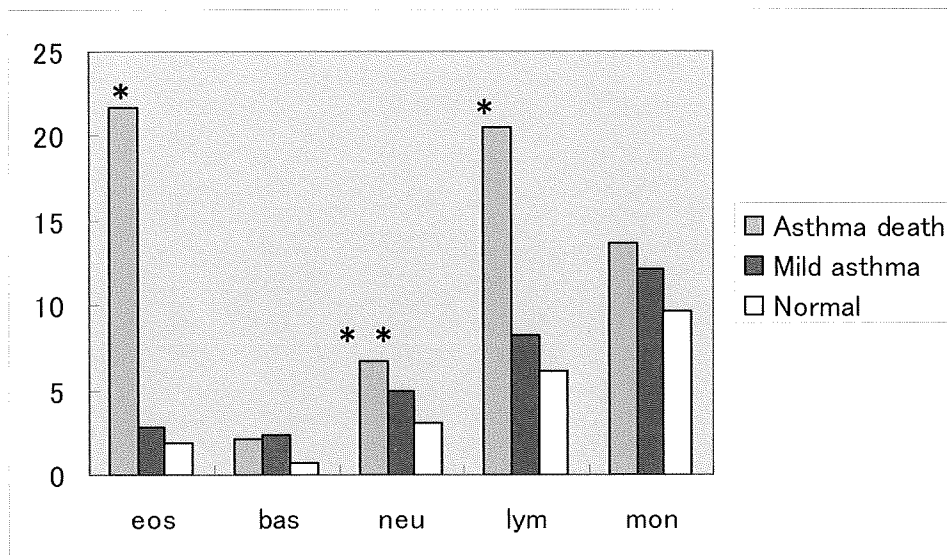


Figure 2



*: $P < 0.05$ vs. mild asthma, normal controls

** : $P < 0.05$ vs. normal controls