

※研究協力者

望月吉郎 国立病院機構姫路医療センター 副院長
斎藤武文 国立病院機構茨城東病院 副院長
井端英憲 国立病院機構三重中央医療センター 感染対策部長
河村哲治 国立病院機構姫路医療センター呼吸器科 医長
東野貴徳 国立病院機構姫路医療センター放射線科 医師
大本恭裕 国立病院機構三重中央医療センター呼吸器科 医師
藤本源 国立病院機構三重中央医療センター呼吸器科 医師
西井洋一 国立病院機構三重中央医療センター呼吸器科 医師
東憲孝 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員
小野恵美子 ハーバード大学 研究員
秋山一男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター センター長
石井豊太 国立病院機構相模原病院耳鼻咽喉科 医長
関谷潔史 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師
谷本英則 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師
福富友馬 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員
三井千尋 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師
武市清香 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員
三田晴久 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室 研究員
梶原景一 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室 研究員
山口裕礼 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院呼吸器内科 医師
伊藤伊津子 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室 研究員
北村紀子 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員
山口美也子 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員
安部暁美 国立病院機構相模原病院臨床研究センター リサーチレジデント
神山智 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員
大友隆之 東京薬科大学総合医療薬学講座 助教
神沼修 東京都臨床医学総合研究所 主任研究員
広田朝光 理化学研究所ゲノム医科学研究センター リサーチアソシエイト
石井聡 秋田大学大学院医学系研究科 教授
幸山正 東京大学医学部附属病院 講師
三谷明久 東京大学医学部附属病院 研究員

記載順不同

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

原因不明の慢性好酸球性肺炎の長期予後に関する研究

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 望月吉郎 国立病院機構姫路医療センター 副院長
斎藤武文 国立病院機構茨城東病院 副院長
井端英憲 国立病院機構三重中央医療センター 感染対策部長
河村哲治 国立病院機構姫路医療センター呼吸器科 医長
関谷潔史 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師
谷本英則 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師

研究要旨：

【研究目的】

原因不明の慢性好酸球性肺炎（以下 CEP）は比較的まれな疾患である。その長期予後についてはほとんど明らかにされていない。発症から8年以上経過した CEP を解析し、その経過や再燃因子を明らかにする。

【研究方法】

原因不明の CEP20 例を8年以上（平均9.8年）経過観察し、ステロイドで治療し寛解に入ってから再燃、他の合併症（血管炎など）発症の有無と肺機能低下などについて後方視的に検討した。

【研究結果および考察】

原因不明の CEP20 例（平均49歳）を平均9.8年、全例ステロイド治療しながら経過観察した結果、生命予後は良いものの、85%が再燃し、そのほとんどが1-2年以内に再燃し、かつ複数回（平均再燃回数4.0回）再燃していた。また25%で経過中血管炎（CSS）を発症していた。さらに非可逆的肺機能低下を95%に確認した。しかし、4例（20%）でステロイド投与中止後の再燃が無く、治癒する可能性も示唆された。

今まで CEP の長期経過や予後はほとんど不明であったが、再燃率や CSS への移行、肺機能低下や線維化が非常に多いことが明らかとなった。しかし一方では、一部寛解（治癒？）する可能性も明らかとなった。

【結論】

CEP は再燃率が非常に高く、経年的に肺機能低下をきたしやすいことが明らかとなった。また CSS への移行も25%に認めた。しかし一部寛解する症例もあった。今後、さらなる症例集積による予後や寛解に関与する因子を明らかにする必要がある。また安定後の新たな再燃防止対策（治療法）が望まれる。

A. 研究目的

- ・原因不明の慢性好酸球性肺炎（以下 CEP）の予後、特に長期予後や経年的肺機能低下についてはほとんど明らかにされていない。
- ・発症から 8 年以上経過した CEP を解析し、その経過や再燃の危険因子をレトロスペクティブに解析し明らかにする。

B. 研究方法

1998 年から 2003 年までに発症し、肺生検と典型的画像所見で確定診断した原因不明の CEP 20 例を検討対象とした。全て ABPM などの明確な原因を伴うものは除外した。ステロイドで治療し寛解に入ってから、その後の再燃の有無とその危険因子、他の合併症（血管炎など）発症の有無と予測因子などについて検討した。

（倫理面への配慮）

- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報保護に努める。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。

C. 研究結果

患者背景 28 歳から 71 歳（平均 49 歳）、男性 5 例、女性 15 例と男女比は約 1 : 3 であった。全例 8 年以上（平均 9.8 年）の経過観察がなされていた。喘息を明らかに合併したのは、11 例（気道過敏性陽性を含む）= 55% と高率であった。全例全身ステロイド治療で、陰影は消退していたが、その後 8 年間でのステロイド減量や維持療法中の再燃を 17 例（85%）に認めた。そのうちほとんどが複数回の再燃を認

めた。また 5 例（25%）は、典型的なアレルギー性肉芽腫性血管炎（CSS）を発症した。また経過中に非可逆的な肺機能低下（末梢気流閉塞が 95% で、1 秒率低下が約半数）を呈した例は、19 例（95%）もあった。さらにそのほとんどで、HRCT で両側上肺中心に繊維化陰影 + 胸膜下の肥厚像（以上は発症初期にはなし）を軽度認めた。4 例（20%）でステロイド中止するも再燃が無いことが 1 年以上確認できた。死亡例はなかった。

D. 考察

原因不明の CEP 20 例を平均 9.8 年経過観察した結果、生命予後は良いものの、85% が再燃し、そのほとんどが複数回再燃していた。また 25% で経過中 CSS を発症していた。さらに非可逆的肺機能低下を 95% に確認した。さらにそのほとんどで、HRCT で両側上肺中心に繊維化陰影などを軽度認めた。これらは従来考えられた以上に本症の予後や経過が良くないことが示された。その一方で、20% で寛解（治癒？）例の可能性を認めた。

今まで CEP の長期経過や予後はほとんど不明であったが、再燃率や CSS への移行、肺機能低下や軽度線維化例が非常に多いことが初めて明らかとなった。今回の検討では、再燃例や CSS 移行例の予測因子は明らかでなかったが、今後の症例集積で明らかにされることを期待したい。

E. 結論

CEP の長期予後として、再燃率が非常に高く、経年的に軽度の肺繊維化や肺機能低下をきた

しやすいことが明らかとなった。また CSS への移行も 25% に認めた。

今後、さらなる症例集積による予後関与因子を明らかにする必要がある。また安定後の新たな再燃防止対策（治療法）が望まれる。

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」

G. 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」

G. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

成人喘息の経過中に合併する原因不明の慢性好酸球性肺炎の臨床像と年次推移

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 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員
谷本英則 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師
関谷潔史 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師
福富友馬 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員
三井千尋 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師

研究要旨：

すでに我々は、原因不明の慢性好酸球性肺炎（以下 CEP）が難治性喘息、特にアスピリン喘息に併発しやすいことを報告している（内科学会誌 2007、ATS 2007）。今回は成人喘息における原因の明らかでない CEP の合併頻度とその経年的推移、特に近年の吸入ステロイド治療の影響を明らかにすることを目的とした。

1) 成人喘息の 5 年以上の経過中に 2% に CEP が発症することが明らかとなった。これらの発症例では、もともと好酸球%が著増している喘息フェノタイプである可能性がある。

2) アスピリン喘息における CEP の合併率は 1990 年代の 7% に比し、最近では 4% に低下していた。しかし、他の諸臓器好酸球性障害はむしろ増加していた。この変化には下気道に到達しやすい長期管理薬である強力な吸入ステロイド治療が影響している可能性がある。

A. 研究目的

従来から、成人喘息、とくに重症喘息において時に慢性好酸球性肺炎の合併を認めることは知られている。この場合、血管炎（CSS）や ABPM のように明らかに他の合併病態による場合もあるが、原因不明のケースも多い。

一方、成人喘息の長期管理方法として、特にここ 10 年では強力な吸入ステロイドが普及し、喘息治療や長期管理はかなり容易化した。すでに我々は、原因不明の慢性好酸球性肺炎（以下 CEP）が難治性喘息、特にアスピリン喘息に併発しやすいことを報告している（内科学会誌 2007）。今回は成人喘息における原因の明らか

でない CEP の合併頻度とその経年的推移、特に近年の吸入ステロイド治療の影響を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1) 2003 年から、初診時に CEP 合併のない成人喘息 250 例を前向きに集積し、3 年以上経過を調査した。その経過中に原因不明の CEP を発症する頻度を検討した（CSS と ABPA、アスピリン喘息は除く）。

2) CEP を合併しやすいアスピリン喘息の臨床像の年次推移を検討した。すなわち CEP や好酸

球性胃腸炎、好酸球性狭心痛などの合併率をここ10年で比較し、吸入ステロイドの影響を検討した。

(倫理面への配慮)

- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報の保護に努める。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。ただし今回の情報は日常臨床で得られるものであり、この研究目的で新たに採取される情報や検体はない。

C. 研究結果

1) 成人喘息の長期管理中に CEP を発症する頻度は前向き研究、平均経過観察 5.8 年において：5/250=2.0%であった。この5例は、初診時から重症が4例で、末梢血好酸球%は8.3%から24.8% (中間値 15.3%) であり、経過中の好酸球性最高値は、13.1%から38.9%と、もともと好酸球活性化が強度な喘息フェノタイプであった。

2) アスピリン喘息 (各年度 100 例に統一、同一症例含む) における CEP 合併頻度とその年次推移は表に示す。

表:アスピリン喘息における好酸球性臓器障害

	1990-1998	2000-2004	2009-2010
ICS 使用率	100% (BDP)	100% (FP,BUD)	100% (FP,BUD,etc.)
経口CS適用率	41%	15%	18%
好酸球性副鼻腔炎 (鼻茸)	97%	100%	96%
好酸球性中耳炎	13%	29%	58%
好酸球性胃腸炎	6%	15%	30%
好酸球性肺炎	7%	7%	4%
好酸球性狭心痛	2%	7%	16%

D. 考察

1) 成人喘息の2%に経過中、CEP が発症することが明らかとなった。これらの発症例では、もともと好酸球%が著増している喘息フェノタイプである可能性がある。このような症例から将来の CSS などの血管炎が発症する可能性はある。

2) アスピリン喘息における CEP の合併率は1990年代の7%に比し、最近では4%に低下していた。しかし、他の諸臓器好酸球性障害はむしろ増加していた。この変化には下気道に到達しやすい長期管理薬である強力な吸入ステロイド治療が影響している可能性がある。また経口ステロイドの投与頻度の低下が影響している (好酸球性肺炎以外の増加に) 可能性を推定する。

今回の研究は、例数がまだ不十分なため、今後の更なる前向き研究を要する。

E. 結論

1) 成人喘息の2%に経過中、CEP が発症することが明らかとなった。これらの発症例では、もともと好酸球%が著増している喘息フェノタイプである可能性がある。2) アスピリン喘息における CEP の合併率は1990年代の7%に比し、最近では4%に低下していた。しかし、他の諸臓器好酸球性障害はむしろ増加していた。この変化には下気道に到達しやすい長期管理薬である強力な吸入ステロイド治療が影響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

「総括研究報告書」

G. 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」

G. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

難治性好酸球性気道炎症とリモデリングに関する研究

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 秋山一男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター センター長
東 憲孝 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員
石井豊太 国立病院機構相模原病院耳鼻咽喉科 医長

研究要旨：

持続性の上下気道の好酸球性気道炎症は 慢性好酸球肺炎の気道炎症モデルと考える。今回、上気道における気道リモデリングの程度を手術検体の病理組織から定性的に評価し、上・下気道の気道リモデリングと好酸球性炎症の関連性を検証する。その結果、好酸球浸潤著明喘息群では、下気道における不可逆的な気流制限、すなわち臨床的リモデリングが高頻度にみられ、かつ、高度の組織学的リモデリングが確認された。同時に、上気道においても好酸球性炎症を介し高度の基底膜肥厚像を来すことが明らかとなった。この機序、すなわちヒト上下気道における持続性の強度の好酸球性炎症病態が、慢性好酸球性肺炎でも生じている可能性がある。

A. 研究目的

アスピリン喘息(以下 AIA)を代表とする成人喘息みられる持続性の上下気道の好酸球性気道炎症は 慢性好酸球肺炎の気道炎症モデルと考える。今回、上気道における気道リモデリングの程度を手術検体の病理組織から定性的に評価し、上・下気道の気道リモデリングと好酸球性炎症の関連性を検証する。

2. AIA, non-AIA, Control の 3 群間の臨床不安定期の $\beta 2$ 刺激薬吸入前後のスパイロメトリデータを統計解析した。

3. 副鼻腔組織標本を、1. 有意な好酸球性細胞浸潤の評価 (mild, moderate, severe の 3 段階評価) および基底膜の肥厚像 (normal to mild, moderate, severe の 3 段階評価) で評価、AIA 群と non-AIA 群の 2 群間で統計解析した。なお、同一患者から複数の検体が提出された場合は、最も好酸球浸潤の程度が高度な標本での各評価を用いた。

B. 研究方法

1. 国立病院機構相模原病院にて治療目的にて内視鏡的副鼻腔手術 (ESS) が施行された患者のうち、ESS 術前に診断未確定で、気道可逆性試験を施行した 52 例を対象とした。

非活動性 n=11
活動性 n=41
好酸球性副鼻腔炎 n=36 (AIA n=10 and non-AIA n=26)
非好酸球性副鼻腔炎 n=5 (後鼻漏・非喘息症例: Control)

(倫理面への配慮)

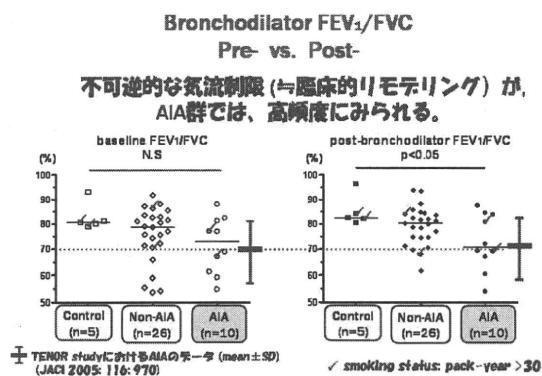
・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報保護に努める。
・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。なお検体は手術で切除されたホルマリン

保存検体であり、この研究の目的で新たに得られた検体組織ではない。

C. 研究結果

1. AIA 群では、他群と比較して、post-bronchodilator FEV₁/FVC は有意に低値であった(p<0.05)。喫煙歴など気道リモデリングに関係する他の因子の関与は認めなかった。

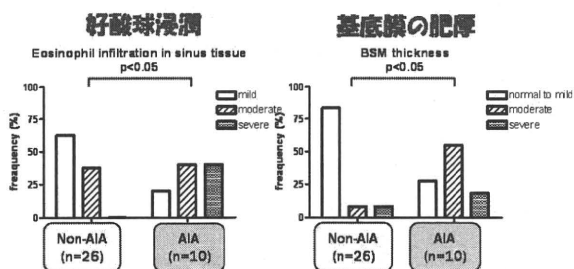
(図1)



- 図1 -

2. 副鼻腔組織においても、AIA 群では、non-AIA 群と比較しても好酸球浸潤や基底膜肥厚がより高度である(p<0.05)ことが示された(図2)

AIA群では、副鼻腔組織においても 下気道同様、好酸球浸潤やリモデリング変化が強い



- 図2 -

D. 考察

AIA 群では、欧米の疫学研究結果と同様、下気道における不可逆的な気流制限、すなわち臨床的リモデリングが高頻度にみられ、かつ、高度のリモデリングの存在が確認された。同時に、上気道においても好酸球性炎症を介し高度の基底膜肥厚像を来すことが明らかとなった。また AIA は年齢が比較的若いにも関わらず (AIA vs ATA ; 49.4 歳 vs 53.1 歳)、上・下気道の気道リモデリングが高度であり、強度の好酸球性気道炎症の病態に早期にリモデリングが進行する分子細胞学的機序が存在する可能性が示唆された。この機序、すなわちヒト上下気道における持続性の強度の好酸球性炎症病態が、慢性好酸球性肺炎でも生じている可能性がある。

E. 結論

AIA を代表とする持続性好酸球性気道炎症は、組織学的および生理学的(肺機能的)に強度のリモデリングをきたすことが明らかとなった。慢性好酸球肺炎においても同様のリモデリングが生じ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」

G. 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」

G. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

慢性好酸球性肺炎の予後因子として尿中ロイコトリエン E4 は有用である

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併任)
研究協力者 東 憲孝 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員
小野恵美子 ハーバード大学 研究員
三田晴久 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室
研究員
谷本英則 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師
関谷潔史 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師

研究要旨：

すでに我々は、原因不明の慢性好酸球性肺炎（以下 CEP）において、国内外で初めて CysLTs 過剰産生が起きていることを見出し、さらに尿中-LTE4 が病勢や肺機能低下と有意に相関することを報告した。しかし、尿中 LTE4 が再燃を予測する因子となりうるかは不明であるため、本研究で明らかにする。

【研究方法】

CEP 25 例を、診断から前向きに 3 年以上にわたって通常ステロイド治療で経過観察し、初診時の U-LTE4 が高値群と軽度高値群とにわけ、再燃の有無を検討した。

【研究結果および考察】

U-LTE4 著明高値は 16 例、軽度高値群は 9 例、U-LTE4 正常例はなかった。著明高値群における再燃例は 8 例、軽度高値群からは 1 例であった。両者における初診時の画像所見や好酸球性%（BALF、末梢血）に差は無く、重症度や臨床背景にも差がなかった。

【考察、結論】

CEP 初発時の U-LTE4 が著明高値例では、ステロイド維持療法中に再燃を 50% に認めたが、軽度高値例では 11% であった。この事実は、U-LTE4 が再燃予後指標になりうる可能性を示している。また CysLTs が CEP の病態に深く関わっている可能性も示している。

A. 研究目的

・すでに我々は、原因不明の慢性好酸球性肺炎（以下 CEP）において、国内外で初めて CysLTs 過剰産生が起きていることを見出し、さら尿中-LTE4 が病勢や肺機能低下と有意に相関することを報告した (ERJ 2008)。
・しかし、尿中 LTE4 が再燃を予測する因子と

なりうるかは不明であるため、本研究で明らかにする。

B. 研究方法

肺生検と典型的画像所見で確定診断した原因不明の CEP 30 例を、診断から前向きに 3-7 年（平均 4.1 年）にわたって通常治療で前向き

に経過観察し、初診時の U-LTE4 が高値群と軽度高値群とにわけ、再燃の有無を検討した。再燃の定義は、画像の悪化+末梢血好酸球%が 20%以上とした。U-LTE4 が 500pg/mg・cre 以上を著明高値群、未満を軽度高値群とし、発症から 3 年以内の再燃率を比較した。全例ステロイド治療は 40mg から開始し、4 ヶ月で 5 mg まで減量し、その後 5 mg /日 で 2-3 年維持した。

(倫理面への配慮)

- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報の保護に努める。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。

C. 研究結果

U-LTE4 著明高値は 16 例、軽度高値群は 9 例、U-LTE4 正常例はなかった。著明高値群における再燃例は 8 例、軽度高値群からは 1 例であった。両者における初診時の画像所見や好酸球性% (BALF、末梢血) に差は無く、重症度や臨床背景にも差が無かった。

D. 考察

CEP 初発時の U-LTE4 が著明高値例では、ステロイド維持療法中に再燃を 50% に認めたが、軽度高値例では 11% であった。この事実は、U-LTE4 が再燃予後指標になりうる可能性を示している。また CysLTs が CEP の病態に深く関わっている可能性も示している。今回の研究は、例数が不十分なため、今後の更なる前向き研究を要する。

E. 結論

U-LTE4 が著明高値の CEP は再燃しやすく、その長期管理には注意を要することが明らかとなった。

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」

G. 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」

G. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

好酸球活性化メディエーターを唾液で検出する試み

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	小野恵美子	ハーバード大学 研究員
	東 憲孝	国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員
	三田晴久	国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室 研究員
	梶原景一	国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室 研究員

研究要旨：

すでに好酸球性走化性や活性化を強く有するメディエーターとして Cys-LTs と LTB4 が知られている。しかし、その測定は血中では失活が早く、尿中では不純物の混入で、不正確な値となり困難さがあつた。今回の研究では、極めて非浸襲的検体採取法として、唾液を用いて、その測定が可能か、また好酸球性気道炎症を反映しているかを検討した。その結果、今回初めて唾液中の好酸球活性化メディエーターである Cys-LTs と LTB4 が十分に検出可能で、かつ気道好酸球性活性化を反映していることが証明された。今後は、この手法を用いて、慢性好酸球性肺炎のバイオマーカーとしてなりうるか、などを検討する。また唾液検体は極めて非浸襲的で、かつ尿検体などと異なり不純物が少なく、簡便で正確なメディエーター測定に非常に有利な検体と考えられた。

A. 研究目的

ヒトにおける好酸球性炎症の指標は、末梢血好酸球数や血清 ECP、尿中 EDN などがある。しかし、いずれも病勢を十分反映しておらず、また処理により ECP や EDN は不確実な測定値となりがちである。すでに好酸球性走化性や活性化を強く有するメディエーターとして Cys-LTs と LTB4 が知られている。しかし、その測定は血中では失活が早く、尿中では不純物の混入で、不正確な値となり困難さがあつた。今回の研究では、極めて非浸襲的検体採取法として、唾液を用いて、その測定が可能か、また好酸球性気道炎症を反映しているかを検討した。

B. 研究方法

前研究として、HPLC 精製検体と未処理検体で

のまず検討した。唾液で十分な感度を持って測定可能と判明したため、好酸球性気道炎症例として、重度の好酸球性炎症であるアスピリン喘息 (AIA) と中等度以下の好酸球性気道炎症である非 AIA、健常人の唾液を用いた。採取の方法は、約 4 ml の唾液を吸着しうるスポンジを口内に 5 分間含ませ、回収した。測定の詳細は、Allergology International 誌 (Ono E, Taniguchi M, et al. Allergol Int. 2010, 24:60(1), 2010) を参照。

(倫理面への配慮)

- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報保護に努める。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得る。

C. 研究結果

図1: 唾液中LTC4、LTD4、LTE4濃度の比較

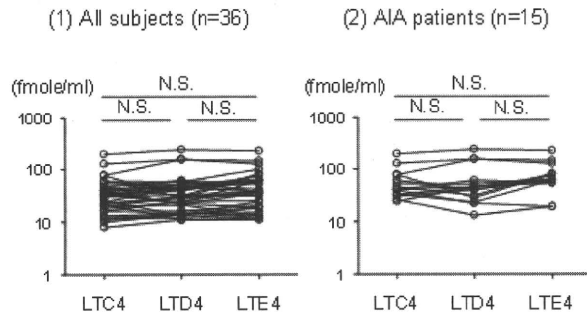


図1に示すように Cys-LTs のうち LTC4, D4, E4 いずれも同程度唾液中に検出可能であった。

図2: AIA患者、ATA患者、健常人における唾液中CysLT濃度およびLTB4濃度の比較

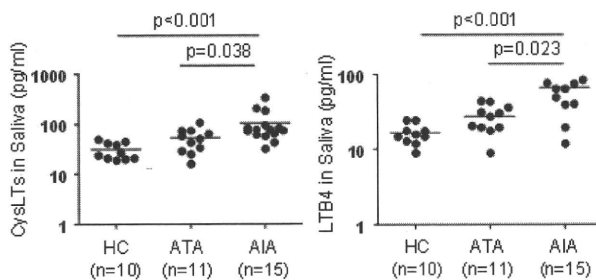


図2に示すように、高度好酸球性炎症病態(=AIA)では、中等度以下好酸球性炎症(ATA)に比し、有意に唾液中のCys-LTsだけでなく、唾液中のLTB4濃度も増加している。

D. 考察

今回初めて唾液中の好酸球活性化メディエーターであるCys-LTsとLTB4が十分に検出可能で、かつ気道好酸球性活性化を反映していることが証明された。今後は、この手法を用いて、慢性好酸球性肺炎のバイオマーカーとしてなりうるか、などを検討する。また唾液検体は極

めて非侵襲的で、かつ尿検体などと異なり不純物が少なく、簡便で正確なメディエーター測定に非常に有利な検体と考えられた。

E. 結論

今回初めて唾液中の好酸球活性化メディエーターであるCys-LTsとLTB4が十分に検出可能で、かつ気道好酸球性活性化を反映していることが証明された。今後の臨床応用が期待される。

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」

G. 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」

G. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

好酸球性肺炎の肺局所における新規好酸球性活性化メディエーター、eoxin C4 濃度

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 小野恵美子 ハーバード大学 研究員
東 憲 孝 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 特別研究員
山口裕礼 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院呼吸器内科 医師
三田晴久 国立病院機構相模原病院臨床研究センター分子生物学研究室
研究員

研究要旨：

すでに我々は、脂質メディエーターであるシステインルイコトリエン（CysLTs）が強く原因不明の CEP の肺炎症に関わっていることを報告した（ERJ 2008）。

・新規メディエーターである eoxin C4 に関しては、強い好酸球性活性活性が報告されているが、ヒトにおける肺炎症、特に好酸球性炎症における関与はほとんど明らかにされていない。

【研究方法】

原因不明の好酸球性肺炎を含めた各種呼吸器疾患における BALF 中の CysLTs、eoxin C4、15-HETE 濃度を測定し、その病態との関連を明らかにする。測定は CysLTs と eoxin C4 は HPLC で精製の後、EIA で、eoxin E4 と 15-HETE は、GC-mass で行った。対象は CEP6 例、CSS10 例、sarcoidosis5 例、肺癌健常部 5 例、肺線維症 5 例、喘息 3 例である。

【研究結果および考察】

eoxin C4 は、他の CysLTs と分離して HPLC により同定できた。また eoxin C4 濃度は、CysLTs 濃度や 15-HETE 濃度よりも数 10 分の 1 程度の濃度であり、有意に低濃度であった。15-HETE は好酸球性炎症との関連が示唆されたが、CysLTs、eoxin C4 との関連は認めなかった。

【考察】

今回はじめて、ヒト検体において eoxin C4 を同定できることを証明した。今回の結果では、CysLTs 濃度と 15-HETE は相関し、15-HETE と BALF 中好酸球%は強く相関したが、eoxin C4 は、BALF 中非常に低濃度で病態との関連も認めなかった。今後、さらなる症例集積が必要である。

【結論】

ヒト BALF 中に新規好酸球活性化メディエーターである eoxin C4 が同定できた。しかし、その濃度はきわめて低く、その意義解明にはさらなる検討を要する。

A. 研究目的

・すでに我々は、脂質メディエーターであるシステインルイコトリエン（CysLTs）が強く原因不明の CEP の肺炎症に関わっていることを報告した（ERJ 2008）。

・最近報告された新規メディエーターである eoxin C4 に関しては、強い好酸球性活性活性が報告されているが、ヒトにおける肺炎症、特に好酸球性炎症における関与はほとんど明らかにされていない。

B. 研究方法

原因不明の好酸球性肺炎を含めた各種呼吸器疾患における BALF 中の CysLTs、eoxin C4、15-HETE 濃度を測定し、その病態との関連を明らかにする。測定は CysLTs と eoxin C4 は HPLC で精製の後、EIA で、eoxin E4 と 15-HETE は、GC-mass で行った。対象は CEP6 例、CSS10 例、sarcoidosis5 例、肺癌健常部 5 例、肺線維症 5 例、喘息 3 例である。

(倫理面への配慮)

- ・倫理委員会の審査了解を得るのはもちろん、十分な倫理的配慮と個人情報の保護に努めた。
- ・患者へは十分な説明をした上で、文書同意を得た。

C. 研究結果

- ・eoxin C4 は、他の CysLTs と分離して HPLC により同定できた。
- ・対象患者各種疾患における BALF 中の eoxin C4、CysLTs、15-HETE 濃度は 6 群での有意差はなかった。また eoxin C4 濃度は、CysLTs 濃度や 15-HETE 濃度よりも数 10 分の 1 程度の濃度であり、有意に低濃度であった。
- ・BALF 中の eoxin C4、CysLTs、15-HETE 濃度と好酸球性%の相関をみたものである。15-HETE は好酸球性炎症との関連が示唆されたが、CysLTs、eoxin C4 との関連は認めなかった。

D. 考察

今回の結果では、CysLTs 濃度と 15-HETE は相関く、15-HETE と BALF 中好酸球%は強く相関したが、eoxin C4 は、BALF 中非常に低濃度で

病態との関連も認めなかった。今後、さらなる症例集積が必要である。

E. 結論

ヒト BALF 中に新規好酸球活性化メディエーターである eoxin C4 が同定できることをはじめて証明した。しかし、その濃度はきわめて低く、その意義解明にはさらなる検討を要する。

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」

G. 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」

G. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

原因不明の慢性好酸球性肺炎の病態解明、新規治療法、およびガイドライン作成に関する研究
—気道および全身における好酸球活性化のメカニズムの研究

研究分担者	森 晶 夫	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	先端技術開発研究部長
研究協力者	北 村 紀 子	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	研究員
	山口美也子	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	研究員
	安 部 暁 美	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	リサーチレジデント
	神 山 智	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	研究員
	大 友 隆 之	東京薬科大学総合医療薬学講座	助教
	神 沼 修	東京都臨床医学総合研究所	主任研究員

研究要旨：

初年度の研究成果から、好酸球性炎症には、活性化T細胞により産生されるIL-5の役割が重要であることが明らかになった。今年度は、まず成人喘息症例（アトピー型50例・非アトピー型50例）を対象とし、*in vivo*における好酸球活性化の指標としての血清ECP値との関連につき検討した。24時間培養上清中のIL-5値と血清ECP値の間に正の相関が認められた（ $p=0.03$ ）。肺の好酸球浸潤には、局所におけるT細胞の数、活性化指標（CD25など）や、IL-5 mRNA、蛋白の発現が関連するのみならず、末梢血中のT細胞の活性化指標が関連することが報告されているが、われわれの知見は、T細胞のIL-5産生能が*in vivo*における好酸球活性化に関連することを示している。次いで、臨床的にステロイド抵抗性の好酸球性肺炎症例について、免疫薬理学的解析を行い、T細胞レベルでのステロイド抵抗性の存在を裏付けた。ステロイド抵抗性の克服に向け、治療介入モデル構築を目指し、T細胞移入モデルを作成した。

A. 研究目的

昨年度の当研究の成果より、慢性好酸球性肺炎（以下CEP）の病態にはT細胞IL-5産生が重要な役割を果たしていることが明らかになった。そこで、今年度は末梢血T細胞のIL-5産生と、*in vivo*における好酸球活性化の関連につき、臨床症例を対象として解析した。慢性好酸球性肺炎（以下CEP）の病因・病態には未だ不明な点が多く、病態解明が進むことにより、疾患活動性マーカーが明らかとなり、よりの確な診断と管理が可能となるとともに、新規治療薬（抗IL-5抗体、スプラダスト）の再燃予防効果の前向き検討にも役立つものと期待される。また、ステロイド抵抗性の好酸球性肺

炎症例の免疫学的解析を実施した。次いで、こうした難治例に対する治療介入のモデル構築を目指して、T細胞クローン移入マウスモデルを作成した。

B. 研究方法

対象症例、臨床検査

国立病院機構相模原病院アレルギー科外来に通院中または入院中の成人症例より、インフォームドコンセントを得たうえで対象とした。アセチルコリン、ヒスタミンに対する気道過敏性の測定、および抗原吸入負荷試験は、日本アレルギー学会の標準法によって行った。 β 刺激

剤、テオフィリン剤、インターール、抗コリン剤、ベクロメサゾン吸入は、12 時間以上、抗ヒスタミン剤、ステロ

イド剤は 24 時間以上中止した。アトピー型は、吸入アレルゲン 20 種を含む皮膚テストにおいて、一つ以上の陽性を示すものと定義した。非アトピー型は皮膚テスト陰性のものとした。

細胞培養およびアッセイ

ヘパリン採血の後、Ficoll-paque 比重遠心法にて末梢血単核細胞 (Peripheral blood mononuclear cells: PBMC) を得、 2×10^6 /ml の濃度にて、AIM-V 培地に懸濁した。20 nM の Phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) と 1 μ M の ionomycin (IOM) で 24 時間刺激した後、上清をハーベストした。一部の well は、抗 CD3 抗体 (OKT3、10 μ g/ml) で coat し、固相化抗 CD3 抗体刺激に用いた。抗 CD28 抗体は、1 μ g/ml で培養中に添加した。ダニアレルゲンによる T 細胞からの IL-5 産生を調べるために、D. f. extract の最終濃度 0.1, 1, 10 mg/ml を加えて 6 日間培養した。上清中のサイトカイン (IL-5) 濃度は、特異的サンドイッチ ELISA にて測定した。血清 ECP 値は、Pharmacia Upjohn 社の協力により測定した。

FACS 解析

リンパ球活性化マーカーとして、CD3、CD4、CD8 陽性細胞における、CD25、CD69 の陽性率を比較した。上記の末梢血単核球を FITC あるいは PE ラベル抗体で 2 重染色し、FACS 測定した。

T 細胞依存性好酸球性肺疾患モデル

Balb/c マウスを OVA で感作し、所属リンパ節より感作リンパ球を回収、*in vitro* での抗原刺激、limiting dilution を行って、OVA 特

異的 Th clone を樹立した。Irradiated spleen cell を antigen-presenting cell とし、subcloning、さらに expansion し、細胞移入実験に使用した。また、T cell receptor transgenic mouse (D011.10) の脾細胞から CD4⁺ T 細胞を精製し、同様に抗原刺激、limiting dilution を行って、OVA₃₂₃₋₃₃₉ 特異的 Th clone を樹立した。5 x 10⁶ 個の Th clone を無処置マウスに尾静脈より注入し (Day 0)、翌日 OVA を経気道的に抗原チャレンジした。さらに 48 hr 後、BUXCO にて気道抵抗を測定、気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、細胞数、分画を測定した。Day 1, 2 に dexamethasone (DEX) 1, 3 mg/kg、および vehicle を皮下投与した。

(倫理面への配慮)

倫理面の配慮として、患者を対象とする調査、検査において、また、ヒト由来の細胞、組織等の試料を用いる場合には、ヘルシンキ宣言を遵守するとともに、わが国のヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)、疫学研究に関する倫理指針 (平成 19 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号)、臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年厚生労働省告示第 415 号) を遵守した。インフォームドコンセントを徹底するとともに、症例はコード化し、プライバシーの保護に万全を期した。実施に先立って研究者の施設における倫理委員会の承認を得たうえで、倫理規定に従って実施した。実験動物を使用する場合、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 (平成 18 年 6 月 1 日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知) 及び研究者の施設における動物実験に関する倫理規定を遵守した。

実験間のばらつきを考慮した上で、統計学的有意性を議論しうる最小例数を算出し、その使用数を決定し、動物を保定、施術および致死させる場合は、最も苦痛を与えない方法を事前に検討した。

C. 研究結果

24時間培養上清中の IL-5 値と血清 ECP 値との間に正の相関が認められた ($p=0.03$, 図 1)。IL-2、IL-4、IFN- γ 産生と血清 ECP 値の間には有意な相関は認められなかった。

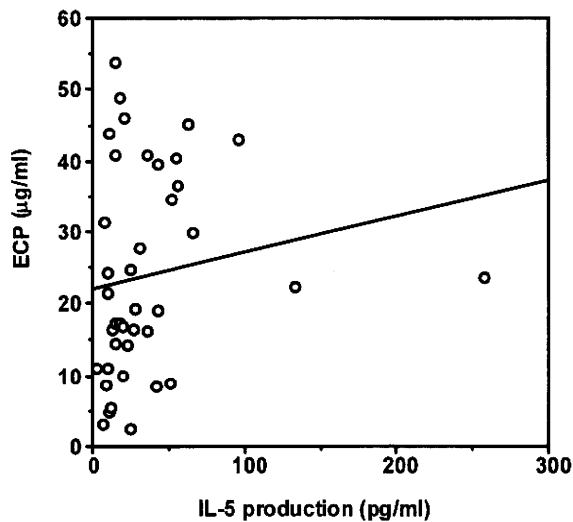


図 1. 末梢血 T 細胞 IL-5 産生と血清 ECP の関連

今回末梢血 T 細胞 IL-5 産生値と血清 ECP 値との間に正の相関が認められたとの結果は、T 細胞の IL-5 産生能が *in vivo*における好酸球活性化に関連することを示している。そこで、気管支喘息におけるアトピー型、非アトピー型の 2 大病型について、サイトカイン産生と気道過敏性について比較、検討した。通年性の喘息症例で、スギアレルギー等に対しては皮膚反応陽性、RAST 陽性であるが、ダニアレルゲンに対しては IgE 抗体が認められない群を、Mixed

type として分類した。血中 total IgE 値は、アトピー型、非アトピー型、Mixed type 喘息群において、 656 ± 174 、 217 ± 109 、 112 ± 95 IU/ml と、アトピー型喘息群において最も高値であった。1 秒率では、 77.7 ± 2.0 、 74.7 ± 5.0 、 $88.6 \pm 6.5\%$ と、非アトピー型群において、やや軽症である傾向を認めた。気道過敏性 (AchPC₂₀) においても、それぞれ $7,471 \pm 1,180$ 、 $7,637 \pm 3,408$ 、 $12,478 \pm 4,608$ と、同じ傾向を認めた。

表 1. アトピー型、非アトピー型、Mixed type 喘息の免疫学的特徴

	Atopic	Mixed	Nonatopic
N	30	6	5
P+I	30.8 ± 6.8	33.2 ± 23.0	63.9 ± 6.6
Mite	145.2 ± 73.8	$37. \pm 6.0$	0.7 ± 0.0
AchPC ₂₀	7471 ± 1180	7637 ± 3408	1247 ± 4608
FEV _{1.0}	77.7 ± 2.0	74.7 ± 5.0	88.6 ± 6.5
Total IgE	656 ± 174	217 ± 109	112 ± 95

表 1 に示す如く、アトピー型、非アトピー型、Mixed type 喘息群においては、抗原非特異的活性化刺激 (PMA+ionomycin) により、IL-5 産生が顕著に誘導された (30.8 ± 6.8 、 33.2 ± 23.0 、 63.9 ± 6.6 pg/ml)。アトピー型喘息群は全例がダニアレルギーの症例であり、抗原非特異的な活性化刺激に対する IL-5 産生の亢進のみならず、抗原特異的的刺激であるダニ抗原に反応した IL-5 産生が誘導されている (145.2 ± 73.8 pg/ml)。アトピー型喘息においては、ダニアレ