

から産生される IL-17 が SA と好酸球の反応を相乗的に増強したことは興味深い。細菌感染に関連した難治化の病態を示唆するものである。

さらに、本研究では SA による好酸球活性化が PAF 受容体を介するものであることも初めて明らかにした。PAF は多機能の脂質メディエーターで、好酸球や肥満細胞から産生され、炎症細胞の活性化、気道分泌亢進などを介して、アレルギー性炎症の増悪に関与するとされる。本研究ではこれらの機構に加え、細菌感染時には PAF 受容体を介したエフェクター機能誘導によっても喘息の重症化を引き起す可能性も示した。今後、新たに PAF 受容体拮抗薬を開発すれば、PAF を介するアレルギー性炎症抑制するのみならず、感染による増悪防止にも有効性が期待できる。

気管支喘息の難治化の病態に気道リモデリングが大きく関わっている。気道リモデリングの発症抑制は難治化予防に役立つが、そのメカニズムには不明な点が多い。気道リモデリングとは、気道の傷害に対する修復の過程として位置づけられ、組織構成要素の変化を意味する。気道リモデリングの一つにある subepithelial fibrosis は基底膜直下にフィブロネクチン、I 型、III 型、V 型コラーゲンからなる細胞外マトリックスが沈着し肥厚する所見を指すが好酸球の組織浸潤、TGF- β の発現と相関しているため、気道リモデリングにおける線維化に好酸球が強く関わっていることが推察される。最近では線維症の発症機構の研究で上皮細胞が間葉系細胞に変化し細胞外基質を産生する上皮間葉系移行 (Epithelial-Mesenchymal Transition: EMT) が重要であることが報告され、気管支喘息でもそのようなメカニズムの存在が示唆されている。難治喘息における慢性炎症の中心的エフェクター細胞である好酸球は気管支喘息において TGF- β の major source であることから、好酸球が EMT にも直接関わる可能性について動物モデルならびに培養細胞系で検証した。

気管支喘息では基底膜部の線維化、杯細胞化生、粘膜下腺過形成、毛細血管増生、平滑筋肥大とい

った気道のリモデリングが起きているが、そのメカニズム、特に間葉系細胞の増加、細胞外マトリックスの沈着についてはまだ不明な点が多い。現在考えられている機序として、fibroblast の増加、fibrocyte の全身循環からの帰着、血管内皮細胞の内皮間葉転換 (EndMT: Endothelial Mesenchymal Transition)、EMT が挙げられる。中でも EMT は近年注目が集まっており、気道上皮細胞は TGF- β 刺激にて Smad3 依存性に EMT を起こす、気管支喘息患者の気道上皮細胞は EMT を起こしやすく、気道修復に異常をきたしているといった報告がなされている。今回の研究では、動物モデルにおいて好酸球が直接作用として線維化を起こし得ること、培養系では明らかに EMT を誘導することをみいだした。いずれもこれら変化に伴い TGF- β の上昇を認めており、好酸球→TGF- β →EMT→線維化 (リモデリング) の経路が存在する可能性が考えられた。今後は TGF- β 中和など、このプロセスの有効な抑制法を検討する予定である。

E. 結論

好酸球は細菌に対する生物活性発現を通して、特に SA は PAF 受容体を介して、重症喘息の病態に関わる可能性が示された。また好酸球は EMT を介して喘息の難治化要因の一つである気道リモデリングを引き起こす可能性がある。

F 研究発表

論文

- 1) Hosoki K, Nagao M, Iguchi K, Ihara T, Yamada Y, Higashigawa M, Kephart GM, Kita H, Fujisawa T. An 8-year-old boy with hypereosinophilic syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 2011;155 Suppl 1:117-122.
- 2) Hiraguchi Y, Tanida H, Hosoki K, Nagao M, Tokuda R, Fujisawa T. Inhibition of eosinophil activation mediated by a

- toll-like receptor 7 ligand with a combination of procaterol and budesonide. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155 Suppl 1:85-9.
- 3) Kim CK, Callaway Z, Koh YY, Kim SH, Fujisawa T: Airway IFN-gamma production during RSV bronchiolitis is associated with eosinophilic inflammation. *Lung* 2011
- 4) 藤澤隆夫 小児気管支喘息・アレルギー性鼻炎への免疫療法の現状と可能性 *喘息* 24(1):63-70, 2011
- 5) 藤澤隆夫 小児喘息のここが知りたい Q&A 勝沼俊雄編 p72-80, 2011中外医学社 東京
- 6) 藤澤隆夫 重症喘息児のアレルギー素因についての横断的解析研究：血清総IgE高値は1秒率低下と関連する *International Review of Asthma & COPD* 136-141, 2011
- 7) 藤澤隆夫 アレルギーをとりまく因子「アウトグロー」 *メディカル・テクノロジー* 63 (9) :12, 1301, 2011
- 8) 藤澤隆夫 喘息の発作入院はゼロにできるか？ *日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会誌* 9(3):261-262, 2011
- 9) Kim, C. K., J. Choi, H. B. Kim, Z. Callaway, B. M. Shin, J. T. Kim, T. Fujisawa, and Y. Y. Koh. 2010. A randomized intervention of montelukast for post-bronchiolitis: effect on eosinophil degranulation. *J.Pediatr.* 156:749-754.
- 10) Choi, J., Z. Callaway, H. B. Kim, T. Fujisawa, and C. K. Kim. 2010. The role of TNF-alpha in eosinophilic inflammation associated with RSV bronchiolitis. *Pediatr Allergy Immunol.*
- 11) Hosoki K, Nakamura A, Nagao M, Hiraguchi Y, Tokuda R, Wada H, Wada, H.Nobori, T.Fujisawa, T. Differential activation of eosinophils by 'probiotic' *Bifidobacterium bifidum* and 'pathogenic' *Clostridium difficile*. *Int Arch Allergy Immunol* 2010; 152:83-9.
- 12) 藤澤隆夫 好酸球の細胞生物学 総合アレルギー学(福田健 編)改訂2版 2010年 南山堂 東京
- 13) 藤澤隆夫 アレルギーを理解するための基礎知識：好酸球 アレルギー疾患イラストレイテッド メディカルレビュー社 東京 2010
- 14) 藤澤隆夫 最新の喘息ガイドラインのポイント：小児喘息のガイドライン *医学のあゆみ* 233(1):19-24, 2010
- 15) Tokuda R, Nagao M, Hiraguchi Y, Hosoki K, Matsuda T, Kouno K, et al. Antigen-Induced expression of CD203c on basophils predicts IgE-mediated wheat allergy. *Allergol Int* 2009; 58:193-9.
- 16) Fujisawa T, Nagao M, Hiraguchi Y, Hosoki K, Tokuda R, Usui S, et al. Biomarkers for allergen immunotherapy in cedar pollinosis. *Allergol Int* 2009; 58:163-70.
- 17) Fujisawa T, Nagao M, Hiraguchi Y, Katsumata H, Nishimori H, Iguchi K, et al. Serum measurement of thymus and activation-regulated chemokine/CCL17 in children with atopic dermatitis: elevated normal levels in infancy and age-specific analysis in atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2009; 20:633-41.
- 18) 細木興亜, 長尾みづほ, 平口雪子, 徳田玲子, 藤澤隆夫. 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. *アレルギー* 58:1521-1529. 2009.

- 19) 藤澤隆夫 小児気管支喘息の病態生理
小児科臨床62(3), 383-388, 2009

G 知的所有権の出願・取得状況(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）
気管支喘息難治・重症化の病因・病態の解明に関する研究
総合分担研究報告書

難治性喘息におけるリモデリング形成機序の解明に関する研究

研究分担者 庄司 俊輔（国立病院機構東京病院・総括診療部長）

研究協力者 岡元 孝二（九州工業大学大学院・名誉教授）
橋本 充恵（国立病院機構東京病院 臨床研究部）
藤原 麻千子（久留米大学医学部 皮膚細胞生物学研究所）

研究要旨

基底膜下への間質コラーゲン・フィブロネクチンの沈着及び平滑筋の肥厚は難治性喘息における気道リモデリングの病理組織学的特徴である。これまでの研究において、気管支平滑筋細胞が気道リモデリング形成に伴い気管支平滑筋細胞自身により分泌されるフィブロネクチンを認識し、平滑筋から結合組織へと遊走する機序を検討してきたが、平成21年度においては、気管支平滑筋細胞より分泌されるプロテアーゼについて更に解析を行い、気管支平滑筋細胞培養上清に含まれる56kDaプロテアーゼの候補配列がMMP-2のプロペプチドドメインにあたる配列を有することを確認した。平成22年度の研究においては、気管支平滑筋細胞が肺線維芽細胞培養上清に遊走することを確認した。抗フィブロネクチン抗体を用いて肺線維芽細胞培養上清のウェスタンブロットニングを行ったところ、培養上清中にフィブロネクチンの存在が認められた。平成21年度と平成22年度の研究結果は、結合組織における気道リモデリングにおいて、線維芽細胞からの遊走因子および平滑筋細胞自身の産生する遊走因子により平滑筋細胞の細胞遊走が生じ、フィブロネクチンが主要な遊走因子であることが推定された。

気道リモデリングにおいては、気道上皮の組織変化も重要である。気道リモデリングは生体に不利な変化であるが、その一方で傷害と同時に修復機転も働き、気道傷害直後より気道上皮細胞が傷害部位を覆うべく遊走を開始するものと考えられる。平成23年度の研究では、遊走因子が同じく気道傷害により活性化された気管支平滑筋細胞より産生・放出されるとの仮説を立てヒト培養細胞を用いて検討を行った。その結果、気道上皮細胞に対する遊走活性因子が、気管支平滑筋細胞より産生・放出されることが判明した。この遊走活性は、抗フィブロネクチン抗体を添加することにより低下した。血漿フィブロネクチンは気道上皮細胞に対する遊走活性を有することも確認された。この三年間の研究結果は、気道リモデリングにおいて、気道平滑筋細胞と気道上皮細胞の遊走が生じ、またその際の遊走因子としてフィブロネクチンが重要な役割を果たす可能性を示唆する。

A. 研究目的

難治性喘息患者に見られる気道の構造変化である「リモデリング」は気道が傷害から修復に向かう過程での1つの病態である。気道リモデリングの病理組織学的特徴として、平滑筋の肥厚や基底膜下への細胞外マトリックス蛋白

質（間質コラーゲン、フィブロネクチン）の沈着が挙げられる。このうち平滑筋の肥厚については、平滑筋を構成する平滑筋細胞の増殖及び肥大に起因すると考えられている。一方基底膜下への細胞外マトリックス蛋白質の沈着については、喘息の重症度だけでなく結合組織内の

PR2D3 免疫陽性/平滑筋 α アクチン陽性細胞の増加と相関していることが報告され、この PR2D3 免疫陽性/平滑筋 α アクチン陽性細胞は筋線維芽細胞であろうと考察されている。しかし PR2D3 は筋線維芽細胞だけでなく平滑筋細胞にも陽性所見を与えることから、この細胞が平滑筋から遊走した後再分化した平滑筋細胞である可能性も示唆されてきた。

平成 15-17 年度の本班研究では、結合組織へと遊走する気管支平滑筋細胞がプロテアーゼを産生・放出して結合組織を分解し、遊走経路を形成するとの仮定に基づき、気管支平滑筋細胞のプロテアーゼ分泌を解析した。そして抗 MMP-1, 2 及び 3 抗体を用いた気管支平滑筋細胞培養上清のウェスタンブロッティングでバンドが認められたこと (Fig. 1)、更に同細胞培養上清に含まれる 127, 62, 56 及び 42kDa のプロテアーゼ活性 (Fig. 2a) が、何れもメタロプロテイナーゼ阻害剤である EDTA 及び 1, 10-フェナントロリンにより阻害されることを報告した。尚この時 42 及び 56kDa のバンドはそれぞれ抗 MMP-1 及び 2 抗体を用いた同細胞上清のウェスタンブロッティングで認められたバンド分子量と一致したものの、最も強いゼラチナーゼ活性を示していた 62kDa のバンドについては分子量の一致するバンドは認められなかった。

今回の 3 年間の研究の初年度である平成 21 年度には、上記の研究を引き継ぎ、この気管支平滑筋細胞培養上清に含まれる 62kDa メタロプロテアーゼの同定を N 端一次構造解析により試みた。

さて、気管支平滑筋細胞の遊走が、結合祖引きにおける気道リモデリングに重要な役割を果たしていることが推察される訳であるが、気管支平滑筋細胞に対する遊走因子は、平滑筋細胞自身から autocline に産生・放出されるのみではない。同じ結合組織中に存在する肺線維芽細胞からも同様に遊走因子が産生される可能性がある。平成 22 年度の研究では、肺線維芽細胞から産生される遊走活性物質により、気管支平滑筋細胞が気道リモデリング形成に伴い平滑筋から結合組織へと遊走するとの仮説を立て、その機序を検討した。

ところで、気管支喘息における気道粘膜の炎症においては、気道粘膜結合組織のみならず、気道上皮は基底膜からの剥離を含む種々の傷害を被る。傷害を受けた気道粘膜は生体防御機

能により修復の段階に入るが、気道炎症が持続すると組織の正常修復が妨げられ、気道組織は不全治癒であるリモデリングを生じる。何れにせよ、気道傷害直後には気道上皮細胞が傷害部位を覆うべく遊走を開始すると考えられる。最終年度である平成 23 年度の研究では、気道修復の段階の初期に、気道上皮細胞に対する遊走因子が同じく気道傷害により活性化された気管支平滑筋細胞より産生・放出され、傷害された基底膜を超えて気道上皮細胞に到達し、これを基底膜上で傷害部位を覆うべく遊走させるとの仮説を立てて検討を行った。

B. 研究方法

研究に用いた、気管支平滑筋細胞、肺線維芽細胞、及び、気道上皮細胞は、すべて米国 Lonza 社製の、培養正常ヒト気管支平滑筋細胞、培養正常ヒト肺線維芽細胞及び培養正常ヒト気管支上皮細胞を使用した。細胞遊走実験には、48 穴の改良型ボイデンチャンバー (米国 NeuroProbe 社) に 8μ 孔の遊走膜 (同じく NeuroProbe 社) を装着して使用した。平成 21 年度研究においてはコンフルエントに達した正常ヒト気管支平滑筋細胞の培地を無血清の DMEM に置換し、更に一定時間培養後回収した培養液を気管支平滑筋細胞培養上清として実験に使用した。そして 48 時間培養後に回収した細胞上清を濃縮・電気泳動した後、泳動蛋白を転写膜へ転写・ボンソー S 染色し、62 及び 57kDa の蛋白質バンドを切り出して一次構造解析を行った。平成 22 年度研究では、48 時間培養後回収した肺線維芽細胞培養上清を用いて、気管支平滑筋細胞に対する遊走活性を測定した。次いでこの培養上清を SDS-PAGE 法にて展開した後ニトロセルロース膜に転写し、抗フィブロネクチン抗体を用いたウェスタンブロッティングを行った。平成 23 年度研究においては、気管支平滑筋の培養上清を時間依存的に採取し、培養上清中の気道上皮細胞遊走活性を検討するとともに、培養上清を希釈して濃度依存性も検討した。次にフィブロネクチンが、今回も主要な遊走因子であると仮定し、培養上清中に種々の濃度で抗フィブロネクチン抗体を添加した後に遊走実験を行った。また、市販の血漿フィブロネクチンが気道上

皮細胞遊走活性を有するかどうかを検討した。

C. 研究結果

(平成 21 年度) 気管支平滑筋細胞培養上清に含まれる 56kDa メタロプロテアーゼについて N 末端側 10 残基の一次構造を解析した結果、候補配列 (APLP₁IKFPG) が MMP-2 のプロペプチドドメインにあたる 30-39 残基の配列 (APSP₁IKFPG) と 90%の相同性を有することが確認できた (Fig. 2b)。また同上清に含まれる 62kDa メタロプロテアーゼの N 端候補配列 (APLP) は 56kDa メタロプロテアーゼの N 端候補配列中の 1-4 残基と一致したが、5 残基以降の N 末端一次構造は解析できなかった。細胞培養上清の濃縮倍率を 500-1000 倍まで上げて解析を続けたが、状況は変わらなかった。

(平成 22 年度) 気管支平滑筋細胞に対する肺線維芽細胞培養上清の遊走活性は、上清の濃度依存性に、かつ、肺線維芽細胞の培養時間依存性に上昇した。(Fig. 3) 抗フィブロネクチン抗体を用いた肺線維芽細胞上清のウェスタンブロッティング法にて、200kDa 以上の分子領域に 2 本のバンドが確認された。これは、すでに本研究で報告した、気管支平滑筋細胞の培養上清に見られたバンドと分子量およびバンド数とも一致した。(Fig. 4)

(平成 23 年度) 気道上皮細胞に対する気管支平滑筋細胞由来の遊走活性は、気管支平滑筋細胞培養上清の濃度依存的 (Fig. 5) に、かつ、培養時間依存的 (Fig. 6) に上昇した。抗フィブロネクチン抗体を添加した気管支平滑筋細胞培養上清に対する気道上皮細胞の遊走は、培養上清中の抗フィブロネクチン抗体の濃度依存的に低下した (Fig. 7)。血漿フィブロネクチンは気道上皮細胞に対する遊走活性を有することも確認された (Fig. 8)。

D. 考察

初年度である平成 21 年度の研究により、気管支平滑筋細胞培養上清に含まれる 62kDa 及び 56 kDa メタロプロテアーゼの一次構造解析の結果、これらの N 端残基は何れも MMP-2 の 30 残基目にあたる Ala の可能性が示唆された。尚、MMP-2 の 1-29 残基はシグナルペプチドである。MMP-2 については、トリプシンによる N 端のプロペプチドドメイン切断にて 62kDa 型が生成さ

れた後、C 端のヘモペキシン様ドメイン切断にて 56kDa, 52kDa, 50kDa 型が生成されるとの報告もある (Lindstad, R. I., et al, *J. Mol. Biol.*, 350, 682 (2005))。潜在型 MMP-2 は 72kDa と報告されている。本研究に使用している気管支平滑筋細胞培養上清に含まれる 62 及び 56kDa MMP-2 は、N 端のプロペプチドドメインを残したまま C 端のヘモペキシン様ドメインを 10 及び 16kDa 切断したものであるかもしれない。

リモデリングを形成した喘息患者の気管支では平滑筋細胞が結合組織へと遊走する前段階として、肺線維芽細胞が平滑筋細胞に対する遊走因子を分泌している可能性がある。分担研究者はこれまでに肺線維芽細胞が気管支平滑筋細胞培養上清に対して遊走することを報告している。平成 23 年度の研究結果である、気管支平滑筋細胞が肺線維芽細胞培養上清に対して遊走し、本上清にフィブロネクチンが含まれるとの知見は、気道リモデリングに伴い気管支平滑筋細胞が、肺線維芽細胞より産生・放出されたフィブロネクチンを認識して平滑筋から結合組織へと遊走する可能性を示唆するものである。肺線維芽細胞によるフィブロネクチン産生については多数報告がなされているが、これが気管支平滑筋細胞に対する遊走因子として作用するか否かについてはこれまで報告されていない。上記の研究結果は、肺線維芽細胞培養上清に含まれるフィブロネクチンが気管支平滑筋細胞遊走因子として作用する可能性を示唆している。喘息患者の気管支にて線維芽細胞はリモデリング形成に伴い、創傷治癒を目的とした気道上皮細胞が上皮を修復する方向の遊走だけではなく、フィブロネクチンに関連する平滑筋細胞の結合組織への遊走を誘導しているものと思われる。

さて、難治性喘息において、気道リモデリングは喘息症状の重症化及び持続化をもたらす重要な要素である。しかし、正常な気道上皮が気管支喘息での気道炎症により傷害を被った直後の最初の反応は生体防御機能による気道粘膜の修復であり、気道上皮細胞の遊走はその重要な要素であると推察される。気道傷害においては結合組織中の気管支平滑筋細胞も活性化され、気道修復のために遊走因子を産生・放出する可能性は大きい。最終年度である平成 23

年の研究結果は、気道傷害後の、気道修復及び気道リモデリングの最初の段階において、気管支平滑筋細胞がフィブロネクチンを含む遊走因子を産生・放出し、気道上皮細胞を傷害部位に遊走させる可能性を示唆していると思われる。

E. 結論

気管支平滑筋細胞による MMP-2 等のプロテアーゼ分泌が、喘息患者の気管支における本細胞の結合組織への遊走を支持し、リモデリング形成に寄与する可能性が示唆された。

さらに、リモデリングを形成した喘息患者の気管支においても、気道平滑筋細胞が肺線維芽細胞より産生・放出されたフィブロネクチンを認識し、結合組織から気道上皮下の基底膜方向へと遊走する可能性が推察された。

また、気道傷害後における気道修復及びリモデリングにおいて、気道平滑筋細胞より気道上皮細胞に対する遊走因子が産生・放出され、それにより難治性喘息を含む気管支喘息の病態変化に関与する可能性が示された。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

Teramoto S, Kawashima M, Komiya K, Shoji S: Health-care-associated pneumonia is primarily due to aspiration pneumonia. *Chest* 136:1702-3, 2009.

Nishihara-Fujihara M, Shoji S, Maeda I, Shimoda T, Nishima S, Okamoto K: Involvement of fibronectin and matrix metalloproteinases in airway smooth cell migration for the process of airway remodeling *Allergol Int* 59: 267-275, 2010.

Narumoto O, Horiguchi K, Horiguchi S, Moriwaki Y, Takano-Ohmuro H, Shoji S, Misawa H, Yamashita N, Nagase T, Kawashima K, Yamashita N: Down-regulation of secreted lymphocyte

antigen-6/urokinase-type plasminogen activator receptor-related peptide-1 (SLURP-1), an endogenous allosteric alpha7 nicotinic acetylcholine receptor modulator, in murine and human asthmatic conditions.. *Biochem Biophys Res Commun.* 398:713-8, 2010.

Komiya K, Ariga H, Nagai H, Kurashima A, Shoji S, Ishii H, Nakajima Y: Reversion rates of QuantiFERON-TB Gold are related to pre-treatment IFN-gamma levels. *J Infect* 63:48-53, 2011.

Komiya K, Ariga H, Nagai H, Teramoto S, Kurashima A, Shoji S, Nakajima Y: Impact of peripheral lymphocyte count on the sensitivity of 2 IFN-gamma release assays, QFT-G and ELISPOT, in patients with pulmonary tuberculosis. *Intern Med.* 49:1849-55, 2010.

Komiya K, Teramoto S, Kawashima M, Kurosaki Y, Shoji S, Hebisawa A: A case of acute eosinophilic pneumonia following short-term passive smoking: an evidence of very high level of urinary cotinine. *Allergol Int* 59: 421-3, 2010.

Ohshima N, Matsui H, Matsui Y, Kawashima M, Shimada M, Higaki N, Shoji S, Wada H, Fujita A, Watanabe H, Yamaguchi N, Matsuoka R, Oki K, Takahashi H, Suzuki M, Yamazaki H, Yoshizawa M, Goto H.: Addition of Leukotriene Receptor Antagonists to Inhaled Corticosteroids Improved QOL of Patients with Bronchial Asthma Surveyed in Suburban Tokyo, Japan. *Allergol Int.* 60:473-81, 2011.

H. 知的財産権の出願・取得状況

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | 無し |
| 2. 実用新案登録 | 無し |
| 3. その他 | 無し |

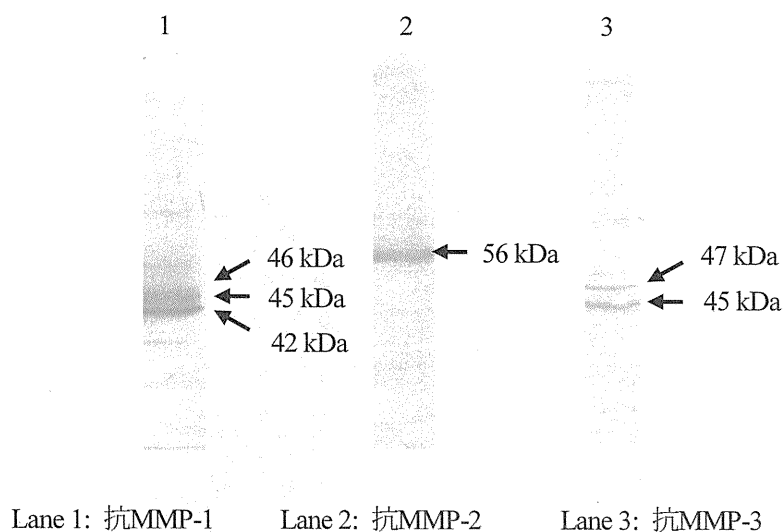
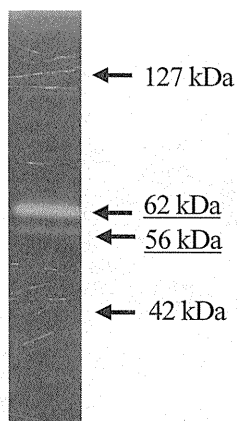


Fig. 1 マトリックスメタロプロテアーゼ抗体を用いた気管支平滑筋細胞培養上清のウエスタンブロットティング

(a) ゼラチン
ザイモグラフィー



(b) N末端一次構造解析

	N末端からの残基数									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
62kDa プロテアーゼ	A	P	<u>L</u>	P					
56kDa プロテアーゼ	A	P	<u>L</u>	P	I	I	K	F	P	G
	30					39				
MMP-2	A	P	<u>S</u>	P	I	I	K	F	P	G

Fig. 2 ゼラチンザイモグラフィーで認められた気管支平滑筋細胞培養上清に含まれる56及び62kDaプロテアーゼとそれらのN末端一次構造解析結果

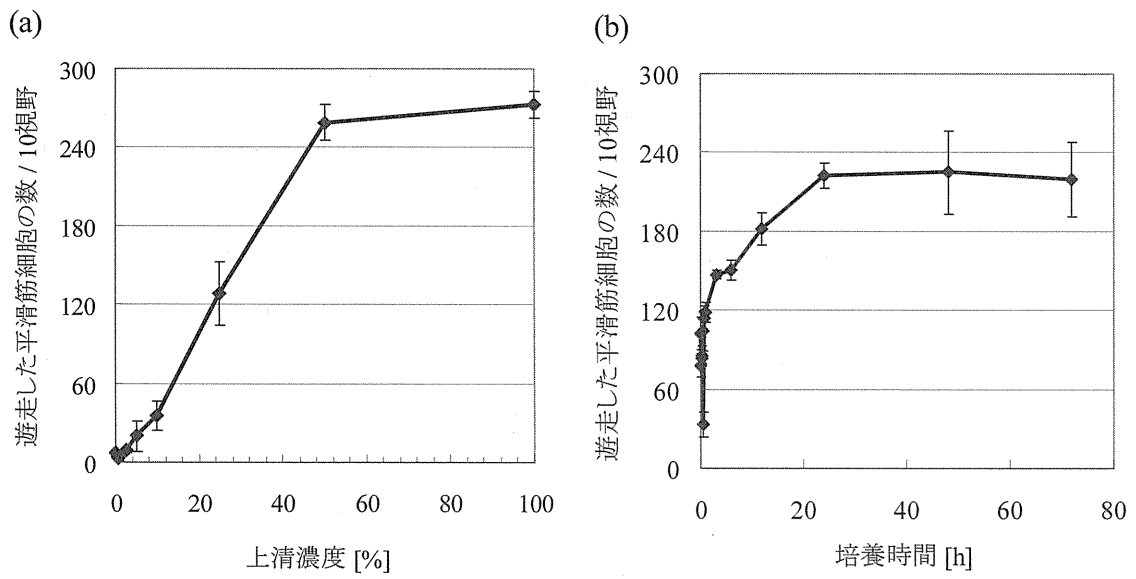


Fig.3 肺線維芽細胞培養上清に対する気管支平滑筋細胞の遊走

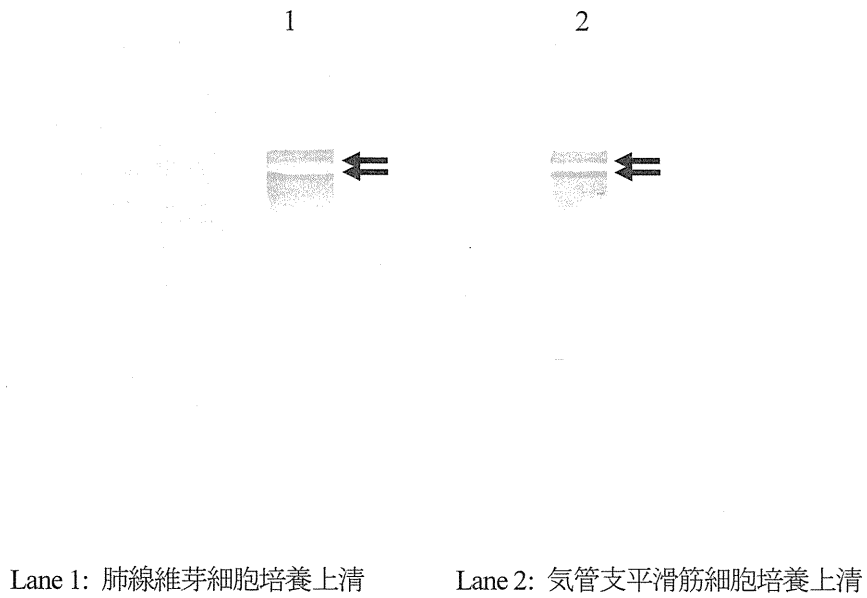


Fig.4 抗フィブロネクチン抗体を用いた肺線維芽細胞及び気管支平滑筋細胞培養上清のウェスタンブロッティング

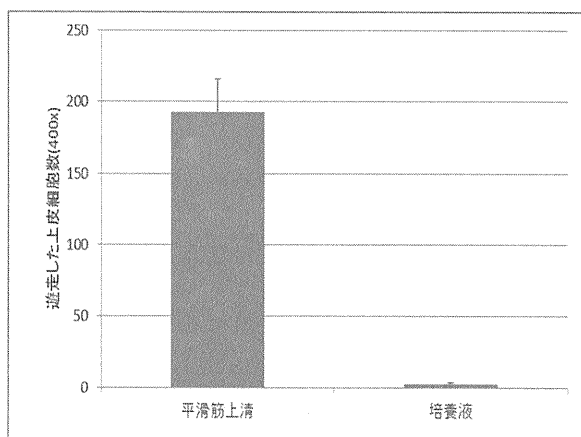


Fig.5 気管支平滑筋細胞由来の遊走因子に対する気道上皮細胞の遊走

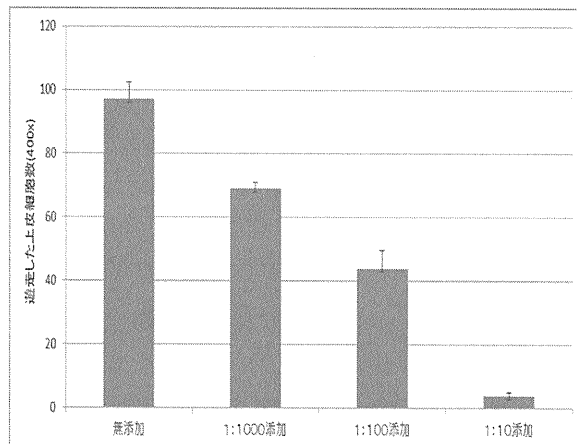


Fig.6 抗フィブロネクチン抗体による遊走活性の抑制

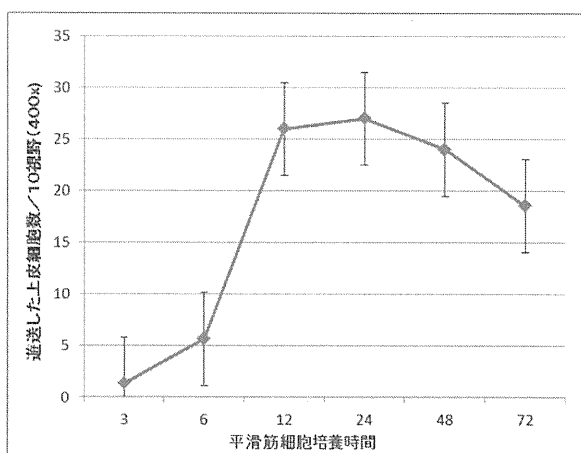


Fig.7 気道上皮細胞遊走因子産生の時間依存性

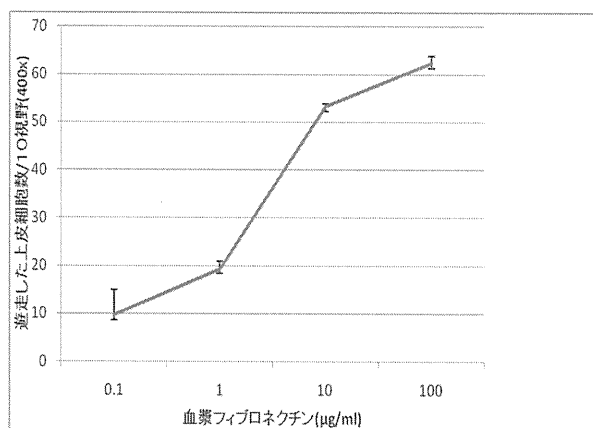


Fig.8 血漿フィブロネクチンによる上皮細胞の遊走

好塩基球を用いた重症・難治性喘息の病因・病態の解明に関する研究

研究分担者 大田 健 帝京大学医学部呼吸器・アレルギー内科 主任教授
研究協力者 山口正雄 帝京大学医学部呼吸器・アレルギー内科 教授
鈴川真穂 帝京大学医学部呼吸器・アレルギー内科 助手

研究要旨

重症・難治性喘息の病態解明は、患者のQOLの改善のためにも医療経済の面でも重要である。重症喘息において非アトピー型の比率が高い一方、吸入抗原に感作されたアトピー型重症喘息において抗IgE療法が施行されて有効性が報告されており、IgE自体が病態に関わっていることも明らかとなっている。我々はアレルギー性炎症細胞のうちでも、好塩基球を用いてIgE依存性および非依存性の新たな機能制御に関する解析を行った。

好塩基球は、IgE依存性に活性化を起こすだけでなく、あらかじめ低濃度のIgE・FcεRI依存性刺激(CRA抗体 1 ng/ml以下)を行っておくことが活性化増強作用を発揮した。また近年、肥満や代謝異常が喘息の発病・増悪に関与することが注目されているが、肥満に関連したサイトカイン（アディポカイン）のうち、レプチンは好塩基球の生存、遊走、脱顆粒を強力に促進・増強することが判明した。さらに、高血糖下で体内で生成するadvanced glycation endproducts (AGE)に関して、AGE-BSA刺激により好塩基球のサイトカイン(IL-6、IL-8)産生がみられることが判明した。

喘息においてエフェクター作用を発揮すると考えられる好塩基球の機能を、IgE依存性及び非依存性に新たな因子が調節していることが明らかとなった。この知見は重症・難治性喘息の病態解明及び治療確立に重要と考えられる。

A.研究目的

重症・難治性喘息の病態解明は、患者の生命予後およびQOLの改善のためにも医療経済の面でも重要である。重症喘息において非アトピー型の比率が高いことが知られているが、その一方、吸入抗原に感作されたアトピー型重症喘息において抗IgE療法の有効性が報告されており、IgE自体が病態に関わっていることもまた明らかとなっている。我々はアレルギー性炎症においてエフェクター作用を発揮し、抗IgE療法のターゲット細胞として重要と考えられる好塩基球を用いてin vitroでIgE依存性及び非依存性両面の機能制御機構を新たな視点から検討した。また、近年、肥満や代謝異常が喘息の発病・増悪に関与することが注目されており、これらに関わる液性因子が細胞機能に与える影響についても解析を行った。

B.研究方法

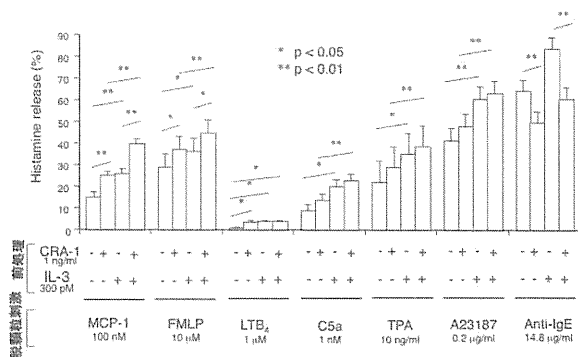
健康人から書面の承諾を頂いた上で18〜45mlの静脈血採血を行った。血液の1/9量のEDTA溶液(0.1M)を混合した後、低純度好塩基球(Dextranを添加し、上層の白血球を回収)、中等度純度の好塩基球(密度1.070および1.080のPercoll液を用いて中間密度の白血球層を回収。好塩基球純度は約15%)、および高純度好塩基球(Percoll純化に加えてMACSを施行。好塩基球純度は95%以上)を得て実験に供した。具体的にはデータ解釈に支障のない範囲で低い純度の細胞を用い、得られたデータは高純度細胞でも同等の結果が得られる確認を行う流れとした。好塩基球を抗原またはFcεRI抗体、あるいは肥満に関連するサイトカイン（アディポカイン）、高血糖下で生成されるAGEで処理した後、細胞活性化や生存、遊走の変化を詳細に解析した。

C.結果

好塩基球は、IgE依存性に活性化を起こす

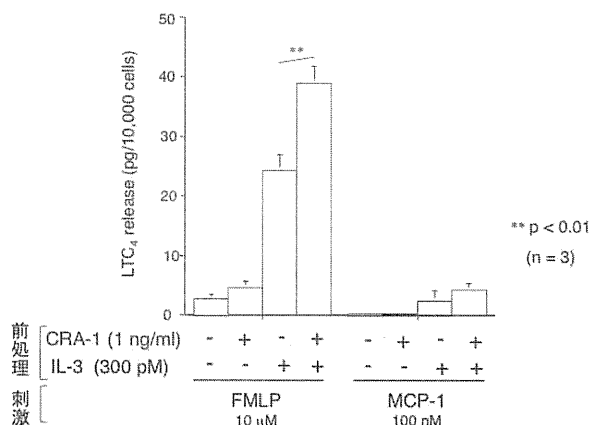
だけでなく、IgE 非依存性刺激(MCP-1、FMLP など)で生ずる活性化に関して、好塩基球をあらかじめ微弱な IgE・FcεRI 依存性刺激を行っておくことが増強作用を発揮した。具体的には抗 FcεRI 抗体(CRA-1)の 1ng/ml 以下という低濃度にて好塩基球を処理しておくだけでは脱顆粒に至らないが、それに続く MCP-1 や FMLP 刺激による脱顆粒が増強した。好塩基球の様々な機能に対しては IL-3 が増強作用をもつことが知られているが、抗 FcεRI 抗体低濃度の作用は IL-3 による priming と相加効果がみられたことから、細胞内で両者は別個のメカニズムで好塩基球の反応性増強に関わっているものと考えられた。

CRA-1抗体前処理によるヒスタミン遊離の変化



このような好塩基球の活性化増強効果は脱顆粒だけでなく LTC₄ 産生においても認められた。

CRA-1抗体前処理がLTC₄産生に及ぼす影響

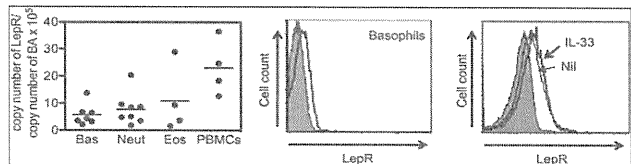


このような抗 FcεRI 抗体の反応増強作用は抗体濃度が 10ng/ml 以上に高まると却って弱まることから、低濃度であることが極めて重要

と考えられた。また反応増強効果の持続時間については、15-20 分で完結する脱顆粒とは異なり、細胞前処理 2 時間に延長した後も反応性増強状態が維持された。

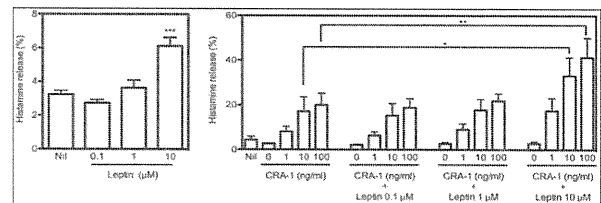
次いで、アディポカインのうちでも炎症作用を有するレプチン及びその受容体 (LepR) を解析したところ、好塩基球は mRNA および蛋白レベルで LepR を発現しており、IL-33 により LepR 表面発現が増強した。

好塩基球におけるレプチン受容体発現



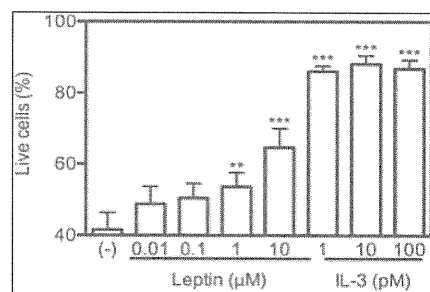
好塩基球はレプチンに対して遊走を起こすとともに、eotaxin に対する遊走を増強した。レプチンは好塩基球の活性化マーカー CD63 表面発現を誘導し、脱顆粒を弱く惹起すると共に、IgE・FcεRI 架橋刺激による脱顆粒を増強した。

レプチンによる脱顆粒および脱顆粒増強



また、レプチンはヒト好塩基球の apoptosis を抑制する結果、生存を延長した。

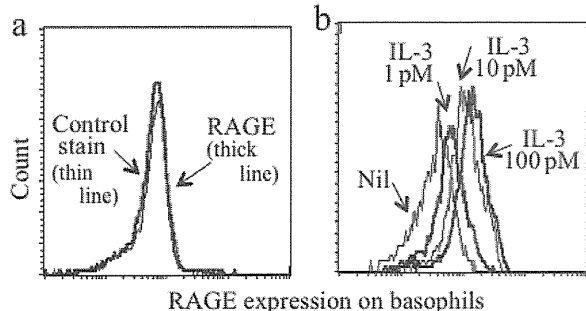
レプチンによる好塩基球の生存延長



高血糖下で生成する AGE 及びその受容体 (RAGE) を解析したところ、純化直後の好塩基

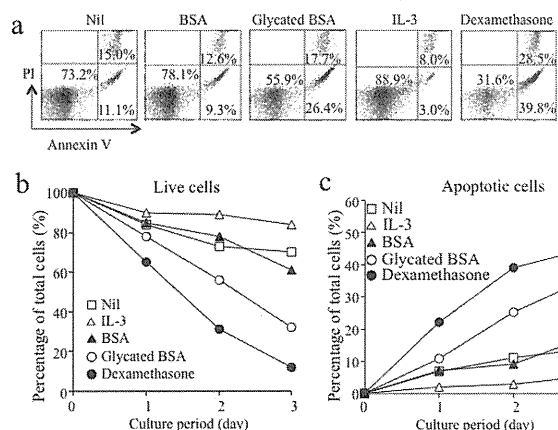
球は RAGE をほとんど細胞表面に発現していないが、IL-3 の存在下で細胞表面 RAGE 発現量が増加した。また、有意とはいえないものの AGE 自体の存在下でも RAGE 発現量が増加する傾向がみられた。

好塩基球のRAGE表面発現(a)とIL-3による誘導(b)



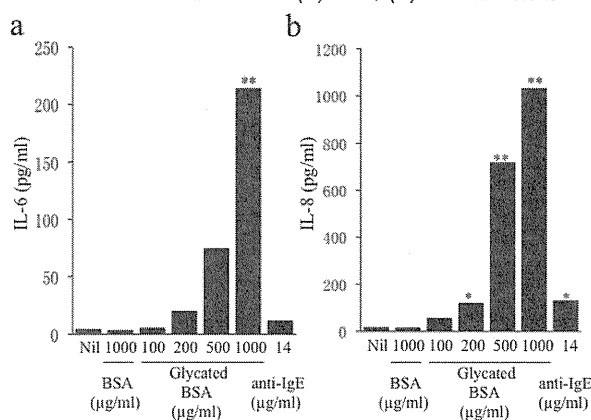
好塩基球の機能については、脱顆粒、CD11b 発現、遊走を詳細に解析したが、AGE-BSA により特に変化はみられなかった。生存については AGE-BSA 1mg/ml の存在下で生細胞の減少、apoptosis の増加がみられた。

AGEによる好塩基球の生存抑制とapoptosis誘導(a,b,c)



また、AGE-BSA 1mg/ml overnight 刺激により、好塩基球からのサイトカイン産生がみられ、上清中に IL-4、IL-13 は検出されないものの IL-6、IL-8 産生が認められた。

AGEによる好塩基球からの(a) IL-6, (b) IL-8産生誘導



D. 考察

本研究の結果から、低濃度の IgE・FcεRI 依存性刺激が脱顆粒・ロイコトリエン産生増強作用(priming)を発揮することが判明した。我々は既に同様に低濃度の IgE・FcεRI 依存性刺激が好塩基球の遊走や活性化マーカー CD69 発現に対しても増強作用を示すことを報告しており、本研究の結果も総合すると、抗原刺激は直ちに好塩基球を活性化する作用だけではなく、微弱な抗原刺激が様々な好塩基球機能を増強するという増強現象も存在すると考えられる。

さらに好塩基球はレプチン受容体(LepR)を発現するとともに、レプチン刺激により種々の機能が惹起・増強され、レプチンは強力な好塩基球活性化因子であることが判明した。また、好塩基球は AGE 受容体(RAGE)も発現するとともに、AGE-BSA 刺激により apoptosis 亢進、サイトカイン(IL-6、IL-8)産生がみられることが判明した。これらのことより、肥満あるいは高血糖下で好塩基球機能変化が生じ、炎症が誘導される可能性が示唆された。代謝異常症とアレルギー疾患、特に喘息との関わり背景となるメカニズムの1つとして、液性因子によるエフェクター細胞、特に好塩基球の機能増強が関与することが示唆される。

E. 結論

喘息の増悪および重症化に関わる様々な

因子に焦点を当てて好塩基球機能制御の観点から解析し、従来から知られる活性化制御機構とは異なる新たな機序が判明した。IgE依存性及び非依存性に機能増強を来しうる新規の因子として、低濃度抗原、レプチン、AGEが明らかとなり、これらは喘息重症化・難治化の要因として重要と想定される。

G.研究発表

1.論文発表

- 1) Ohta K, Miyamoto T, Amagasaki T, Yamamoto M: 1304 Study Group. Efficacy and safety of omalizumab in an Asian population with moderate-to-severe persistent asthma. *Respirology*. 2009; 14(8): 1156-1165.
- 2) Yamamura K, Adachi T, Masuda T, Kojima Y, Hara A, Toda T, Nagase H, Ohta K: Intracellular protein phosphorylation in eosinophils and the functional relevance in cytokine production. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009; 149 Suppl1: 45-50.
- 3) Pawankar R, Bunnag C, Chen Y, Fukuda T, Kim YY, Le LT, Huong le TT, O'Hehir RE, Ohta K, Vichyanond P, Wang DY, Zhong N, Khaltayev N, Bousquet J. Allergic rhinitis and its impact on asthma update (ARIA 2008)--western and Asian-Pacific perspective. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2009; 27(4): 237-243.
- 4) Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, van Wijk RG, Ohta K, Zuberbier T, Schünemann HJ. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126(3): 466-476.
- 5) Matsunaga K, Hirano T, Kawayama T, Tsuburai T, Nagase H, Aizawa H, Akiyama K, Ohta K, Ichinose M. Reference ranges for exhaled nitric oxide fraction in healthy Japanese adult population. *Allergol Int* 2010; 59(4): 363-367.
- 6) Ohta S, Oda N, Yokoe T, Tanaka A, Yamamoto Y, Watanabe Y, Minoguchi K, Ohnishi T, Hirose T, Nagase H, Ohta K, Adachi M. Effect of tiotropium bromide on airway inflammation and remodelling in a mouse model of asthma. *Clin Exp Allergy* 2010; 40(8): 1266-1275.
- 7) Suzukawa M, Yamaguchi M, Iikura M, Koketsu R, Komiya A, Nagase H, Nakae S, Matsumoto K, Saito H, Matsushima K, Yamamoto K, Ohta K. IL-33-induced activation of human basophils and eosinophils via ST2. *Inflammation and Regeneration* 2010; 30(3): 181-185.
- 8) Toda T, Yamaguchi M, Nakase Y, Sugimoto N, Suzukawa M, Nagase H, Ohta K. A case of anaphylactic reaction following Matsutake mushroom ingestion: Demonstration of histamine release reaction of basophils. *Allergol Int* 2010; 59(4): 417-419.
- 9) Bousquet J, Schünemann HJ, Zuberbier T, Bachert C, Baena-Cagnani CE, Bousquet PJ, Brozek J, Canonica GW, Casale TB, Demoly P, Gerth van Wijk R, Ohta K, Bateman ED, et al. Development and implementation of guidelines in allergic rhinitis – an ARIA-GA2LEN paper. *Allergy* 2010; 65(10): 1212-1221.
- 10) Ohta K, Bousquet PJ, Aizawa H, Akiyama K, Adachi M, Ichinose M, Ebisawa M, Tamura G, Nagai A, Nishima S, Fukuda T, Morikawa A, Okamoto Y, Kohno Y, Saito H, Takenaka H, Grouse L, Bousquet J. Prevalence and impact of rhinitis in asthma. SACRA, a cross-sectional nation-wide study in Japan. *Allergy* 2011; 66(10): 1287-1295.
- 11) Suzukawa M, Nagase H, Ogahara I, Han K, Tashimo H, Shibui A, Koketsu R, Nakae S,

- Yamaguchi M, Ohta K. Leptin enhances survival and induces migration, degranulation and cytokine synthesis of human basophils. *J Immunol* 2011; 186(9): 5254-5260.
- 12) Han K, Suzukawa M, Yamaguchi M, Sugimoto N, Nakase Y, Toda T, Nagase H, Ohta K. The in vitro effects of advanced glycation end products on basophil functions. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155(suppl 1): 64-70.
- 13) Ohta K, Yamaguchi M, Akiyama K, Adachi M, Ichinose M, Takahashi K, Nishimuta T, Morikawa A, Nishima S. Japanese guideline for adult asthma. *Allergol Int* 2011; 60(2): 115-145.
- 14) Fukutomi Y, Taniguchi M, Watanabe J, Nakamura H, Komase Y, Ohta K, Akasawa A, Nakagawa T, Miyamoto T, Akiyama K. Time trend in the prevalence of adult asthma in Japan: Findings from population-based surveys in Fujieda City in 1985, 1999, and 2006. *Allergol Int* 2011; 60(4): 443-448.
- 15) 社団法人日本アレルギー学会喘息ガイドライン専門部会. 大田 健、秋山一男、西間三馨 (監修) 『喘息予防・管理ガイドライン 2009』作成委員 (作成). 喘息予防・管理ガイドライン 2009. 協和企画
- 16) 杉山公美弥、相良博典、足立 満、美濃口健治、田中明彦、井上洋西、山内広平、小林 仁、秋山一男、釣木澤尚実、谷口正実、棟方充、斉藤純平、佐藤 俊、三嶋理晃、新実彰男、松本久子、大田 健、足立哲也、長瀬洋之、中島裕史、加々美新一郎、岩本逸夫、福田 健. 気管支喘息の早期診断基準の提言. *アレルギー*. 2009; 57(12): 1275-1283.
- 17) 大田 健. 喘息死ゼロを目指して. *日本内科学会雑誌*. 2009; 98 Suppl 1: 90-91.
- 18) 宮本昭正、秋山一男、足立 満、井上洋西、大田 健. 成人気管支喘息に対するモメタゾンフランカルボン酸エステル吸入用散剤とフルチカゾンプロピオン酸エステル吸入用散剤との非盲検、非劣性比較試験. *アレルギー・免疫*. 2009; 16(5): 716-731.
- 19) 宮本昭正、秋山一男、足立 満、井上洋西、大田 健. 成人気管支喘息に対するモメタゾンフランカルボン酸エステル吸入用散剤長期投与時の安全性および有効性の検討 他剤吸入ステロイド薬を使用した中等症患者を対象とした 52 週間長期投与試験. *アレルギー・免疫*. 2009; 16(5): 732-745.
- 20) 大田 健. 世界のガイドラインにおける治療戦略(GINA、JGL) 成人. *医薬ジャーナル*. 2009; 45(5): 1349-1357.
- 21) 大田 健. 喘息予防・管理ガイドライン 2006(JGL2006). 成人病と生活習慣病. 2009; 39(6); 671-675.
- 22) 大田 健、美濃口健治. 喘息コントロールの理想と現実 医師と患者を対象にしたインターネットによる検討 ACTUAL-I: A Clinical survey To Understand real Asthma Life for Patients-I. *アレルギー・免疫*. 2009; 16(9): 1430-1440.
- 23) 長瀬洋之、山下直美、大田 健. 喫煙曝露がアレルギー性気道炎症と気道過敏性に及ぼす影響 喘息モデルマウスにおける検討. *Topics in Atopy*. 2009; 8(1): 46-52.
- 24) 大田 健. アレルギー疾患の現況と今後の展望 特に喘息を中心に. *日本臨床*. 2009; 67(11): 2033-2038.
- 25) 大田 健. 気管支喘息ガイドライン 2009. 呼吸. 2009; 28(10): 974-980.
- 26) 大田 健. 喘息の克服を目指して. *アレルギー*. 2009; 58(11): 1497-1501.
- 27) 大田 健. 最新の喘息ガイドラインのポイント 成人喘息のガイドライン. *医学のあゆみ*. 2010; 233(1):15-18.
- 28) 大田 健. 重症喘息と喘息死の現況と対

- 策 わが国の喘息死の現況. *Mebio*. 2010; 27(9): 27-33.
- 29) 大田 健. 最新の喘息予防・管理ガイドライン JGL2009. *東京都医師会雑誌*. 2010; 63(5):596-600.
- 30) 大田 健. 最新の喘息予防・治療ガイドライン 2009(JGL2009)に沿った成人喘息の治療. *日本薬剤師会雑誌*. 2010; 62(10):1305-1308.
- 31) 大田 健. 臨床最前線 最新の喘息予防・管理ガイドライン JGL2009. *Allergia Trends*. 2010; 12(2): 21.
- 32) 大田 健. 喘息予防・管理ガイドライン 2009 JGL2009 のポイント. *日本病院薬剤師会雑誌*. 2010; 46(9): 1237-1239.
- 33) 中野純一、大田 健. III臨床アレルギー学各論 2.アレルギー性気管支肺アスペルギルス症. p.463-469. *総合アレルギー学 (改訂2版)*. 監修 福田 健. 南山堂 2010.
- 34) 大田 健. 成人喘息に対する生物学的製剤の有用性. *臨床免疫・アレルギー科*. 2010; 53(4): 393-399.
- 35) 大田 健、美濃口健治、喜井勝功. 患者の治療満足度からみた喘息治療の実態. *アレルギー*. 2010; 59(6): 676-687.
- 36) 大田 健. 吸入ステロイドー 最近の話題. *アレルギーの臨床*. 2010; 30(8): 684.
- 37) 大田 健. 呼吸器領域の新しい薬物療法: 作用機序と使用の実際 I.喘息 1. オマリズマブ (ゾレア). *日本内科学会雑誌*. 2010; 99(7): 1530-1535.
- 38) 大田 健. 成人喘息と生物学的製剤. *感染・炎症・免疫*. 2010; 40(2): 190-195.
- 39) 大田 健. 成人喘息における生物学的製剤の使い方. *アレルギー*. 2010; 59(7): 795-802.
- 40) 大田 健. 喘息急性増悪のガイドラインにおける位置づけ. *アレルギーの臨床*. 2010; 30(10): 891-895.
- 41) 大田 健. 特集・フェノタイプについて. *喘息*. 2010; 23(2): 134-137.
- 42) 大田 健. オマリズマブ. *炎症と免疫*. 2010; 18(6): 614-617.
- 43) 大田 健. 抗 IL-5 抗体. *アレルギーの臨床*. 2010; 30(12): 1078-1080.
- 44) 大田 健、美濃口健治、水野ひとみ、大山尚貢. プライマリケア医による喘息コントロールの現状. *アレルギー*. 2010; 59(12): 1642-1647.
- 45) 大田 健. オーバービュー: ガイドライン 2009 で何がどう変わったか. *呼吸器内科*. 2010; 18(5): 397-402.
- 46) 大田 健. 難治性喘息の分指標的治療への期待をみる. p.30-34. *抗体治療時代の一気管支喘息治療の新たなストラテジー*. 監修 大田健. 先端医学社 2011.
- 47) 大田 健. IgE 抗体陽性難治性喘息に対する治療戦略を探る. p.136-140. *抗体治療時代の一気管支喘息治療の新たなストラテジー*. 監修 大田 健. 先端医学社 2011.
- 48) 大田 健. アレルギー性鼻炎が喘息に及ぼす影響. *ALLAZIN*. 2011.
- 49) 大田 健. 読む総合病院・なんでも相談室. *きょうの健康*. 2011; 276: 126.
- 50) 大田 健. 気管支喘息. *ドクターサロン*. 2011; 55(3): 161-165.
- 51) 大田 健. わが国におけるアレルギー疾患. *診断と治療*. 2011; 99(2): 20-26.
- 52) 大田 健. ガイドラインに沿った成人喘息の治療-JGL2009 の改訂ポイント. *アレルギー*. 2011; 60(2): 178-183.
- 53) 大田 健. 成人喘息の治療ガイドライン. *日本医師会雑誌*. 2011; 140(3):521-524.
- 54) 大田 健. 喘息を合併した COPD の治療法. *日本胸部臨床*. 2011; 70(増刊):128-133.
- 55) 大田 健. 難治性喘息-その診断と最新の治療。 *東京都医師会雑誌*。 2011; 64(6):21-25.
2. 学会発表
- 1) 大田 健: 成人喘息に対する生物学的製

- 剤の有用性. 第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2009 : 岐阜.
- 2) 大田 健 : 日本人成人気管支喘息に対するブデソニド/ホルモテロール配合剤の第三相無作為化二重盲検比較試験結果. 第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2009 : 岐阜.
 - 3) 大田 健、足立 満、秋山一男、井上洋西、宮本昭正 : 成人気管支喘息に対する Mometasone Furoate(MF)-DPI の長期投与時における安全性および有効性の検討. 第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2009 : 岐阜.
 - 4) 鈴川真穂、川上綾子、小宮明子、木村美和子、二藤隆春、山口正雄、山本一彦、大田 健 : 喉頭ファイバー施行直後にアナフィラキシーを発症した 3 症例の検討. 第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2009 : 岐阜.
 - 5) 大田 健 : 喘息治療における抗体治療の位置づけ. 第 49 回日本呼吸器学会学術講演会. 2009 : 東京.
 - 6) Suzukawa M, Iikura M, Yamaguchi M, Koketsu R, Komiya A, Nagase H, Nakae S, Matsumoto K, Saito H, Matsushima K, Yamamoto K, Ohta K: IL-33 induces human basophil and eosinophil activation via ST2. The 9th World Congress on Inflammation. 2009: Tokyo.
 - 7) 大田 健 : 各種喘息治療薬のガイドラインでの位置づけ. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
 - 8) 大田 健 : アレルギー性鼻炎合併喘息全国実態調査 (第一報). 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
 - 9) 大田 健 : 気管支喘息ガイドライン. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
 - 10) 長瀬洋之、平井浩一、山口正雄、大田 健 : Expression and Function of Toll-like Receptors (TLRs) in Allergic Inflammatory Cells. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
 - 11) 瀬瀬力也、山口正雄、川上綾子、鈴川真穂、小宮明子、関谷 剛、飯倉元保、長瀬洋之、山田浩和、松本健治、斎藤博久、羅 智晴、山本一彦、大田 健 : 低濃度抗 FcεRIα 抗体によるヒト好塩基球・マスト細胞の活性化制御. 第 19 回国際喘息学会日本北アジア部会. 2009 : 東京.
 - 12) 山口正雄、長瀬洋之、川畑仁人、神田浩子、瀬瀬力也、小宮明子、山本一彦、大田 健 : 自己免疫疾患に伴う著明な閉塞性呼吸機能障害 : 抗コリン薬吸入の持続的效果. 第 46 回日本臨床生理学会総会. 2009 : 盛岡.
 - 13) 大田 健、山口正雄 : シンポジウム IgE を介した即時型反応の意義 再考. 抗 IgE 抗体療法により解明されたこと-小児への可能性も含めて-. 第 46 回日本小児アレルギー学会. 2009 : 福岡.
 - 14) 山口正雄 : シンポジウム アレルギー疾患の治療最前線と将来展望. IgE 抗体療法を含めた抗体療法. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
 - 15) 山口正雄、鈴川真穂、瀬瀬力也、長瀬洋之、大田 健 : 臨床・研究のための技術・技能プラクティカルセミナー3 ヒト好塩基球の分離と機能評価の実際. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
 - 16) 原 麻恵、長瀬洋之、小島康弘、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、工藤宏一郎、小林信之、大田 健 : 喘息治療ステップダウン成功予測因子としての呼気凝縮液/FeNO の検討. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
 - 17) 山口正雄、瀬瀬力也、鈴川真穂、川上綾子、小宮明子、山田浩和、長瀬洋之、山本一彦、大田 健 : 病院スタッフを対象としたアナフィラキシー講習会 : 参加者

- アンケートの結果. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
- 18) 戸田貴子、長瀬洋之、鈴木真穂、原 麻恵、小島康弘、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、大田 健 : Th17系サイトカインが好酸球からのサイトカイン放出に及ぼす影響. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009 : 秋田.
 - 19) 杉本直也、原 麻恵、中瀬裕子、戸田貴子、小島康弘、竹澤智湖、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、山口正雄、鈴木直仁、大田 健 : トロポニン I 値が心病変評価に有用であった Churg-Strauss 症候群(CSS)の 1 例. 第 188 回日本呼吸器学会関東地方会. 2010 : 東京.
 - 20) 戸田貴子、原 麻恵、小島康弘、竹澤智湖、山村浩一、鈴木真穂、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、中野純一、長瀬洋之、山口正雄、鈴木直仁、大田 健. マツタケによりアナフィラキシー症状を呈し、prick to prick test と好塩基球脱顆粒試験で陽性を示した 1 例. 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2010:京都.
 - 21) 大田健. 喘息治療の現状と将来展望 Best Strategy を考える;喘息治療の現状 Best Strategy を考える. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010:東京.
 - 22) 大田健. アレルギー疾患診断・治療ガイドライン 今後の方向性と展望 喘息予防・管理ガイドライン 今後の方向性と展望. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010:東京.
 - 23) 長瀬洋之、戸田貴子、杉本直也、中瀬裕子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、大田 健. ミニワークショップ. JGL2009、GINA、EPR3 喘息コントロールテスト(ACT)における喘息コントロール評価の比較. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010:東京.
 - 24) 鈴木真穂、Han Kaiyu、山口正雄、杉本直也、中瀬裕子、戸田貴子、原 麻恵、小島康弘、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、鈴木直仁、大田 健. ミニワークショップ. Advanced glycation endproducts (AGEs)がヒト好塩基球に及ぼす作用の解析. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010:東京.
 - 25) 大田健. アレルギー性呼吸器疾患の過去・現在・未来. 日本呼吸器学会雑誌48(特別号):75,2010.
 - 26) 山口正雄. シンポジウム 3. 気管支喘息の病態の新知見. 新規生物学的治療の最前線. 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会. 2010 : 京都.
 - 27) 大田 進、横江琢也、田中明彦、山本義孝、渡部良雄、山本真弓、山口正雄、大田 健、足立 満. 間歇的低酸素暴露の気管支喘息に対する影響(動物モデルによる検討). 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会. 2010 : 京都.
 - 28) 原 麻恵、長瀬洋之、鈴木真穂、小河原郁子、戸田貴子、小島康弘、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、大田 健. シリカによる慢性肺線維化モデル確立のための長期検討. 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会. 2010 : 京都.
 - 29) 戸田貴子、長瀬洋之、原 麻恵、小河原郁子、鈴木真穂、小島康弘、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、大田 健. 呼気一酸化窒素濃度(FeNO)の疾患特異性の検証. 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会. 2010:京都.
 - 30) 小島康弘、長瀬洋之、鈴木真穂、吉原久直、戸田貴子、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、中野純一、山下直美、大田 健. 間質性肺炎病

- 態にアポリポ蛋白 E が及ぼす役割。第 44 回日本成人病(生活習慣病)学会学術集会。2010 : 東京。
- 31) 戸田貴子、長瀬洋之、神山麻恵、中瀬裕子、杉本直也、鈴木真穂、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、中野純一、山口正雄、鈴木直仁、大田 健。非喘息性呼吸器疾患における呼気一酸化窒素濃度 (FeNO)測定の意義。第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会。2010 : 東京。
- 32) 山口正雄、佐渡賢太、中瀬裕子、杉本直也、戸田貴子、原 麻恵、小島康弘、竹澤智湖、吉原久直、鈴木真穂、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、鈴木直仁、大田 健。手術開始時にアナフィラキシーショックを発症し、即時型皮膚反応検査を施行した一例。第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会。2010 : 東京。
- 33) 中瀬裕子、杉本直也、原 麻恵、戸田貴子、小島康弘、吉原久直、竹澤智湖、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、山口正雄、鈴木直仁、大田 健、池村雅子、岡 輝明。びまん性汎細気管支炎(DPB)の経過中に多発性肺内腫瘍を呈し、組織所見からリンパ増殖性疾患と考えられる 1 例。第 190 回日本呼吸器学会関東地方会。2010:東京。
- 34) 吉原久直、田中祐輔、外園亜希子、杉本直也、中瀬裕子、戸田貴子、神山麻恵、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、山口正雄、鈴木直仁、大田 健。喫煙本数の増加が誘因になったと考えられる急性好酸球性肺炎(AEP)の一例。第 191 回日本呼吸器学会関東地方会。2010:東京。
- 35) Koketsu R, Suzukawa M, Kawakami A, Komiya A, Iikura M, Nagase H, Matsumoto K, Saito H, Ra C, Hirai K, Yamamoto K, Ohta K, Yamaguchi M. Priming of human basophils by low levels of anti-FcεRI α-chain mAb. 14th International Congress of Immunology, August 22-27, 2010 Kobe.
- 36) Nakase Y, Sugimoto N, Toda T, Kuramochi M, Tashimo H, Nagase H, Yamamoto A, Takeshita K, Yamaguchi M, Ohta K. A case of toxocariasis who presented abnormal tubular structures in lung fields. Joint Meeting combining The3rd meeting of the Japanese Society of Pulmonary Functional Imaging and 5th International Workshop for Pulmonary Functional Imaging. January 28-30, 2011 Awaji Island, Japan.
- 37) Toda T, Yamaguchi M, Nakase Y, Sugimoto N, Suzukawa M, Kamiyama A, Yoshihara H, Kuramochi M, Tashimo H, Arai H, Nagase H, Ohta K. Matsutake Mushroom-induced anaphylactic reaction: The patient's nonreleasing basophils showed antigen-induced histamine release after 3-day treatment with IL-3. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology (AAAAI) annual meeting-March 12 - 18, 2011.
- 38) Suzukawa M, Yamaguchi M, Han K, Toda T, Nagase H, Ohta K. The role of advanced glycation endproducts (AGEs) on basophil functions. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology (AAAAI) annual meeting-March 12 - 18, 2011.
- 39) Nagase H, Toda T, Kamiyama A, Nakase Y, Sugimoto N, Yoshihara H, Kuramochi M, Tashimo H, Arai H, Yamaguchi M, Suzuki N, Ohta K. Usefulness of measuring the level of fractional exhaled nitric oxide (FeNO) in various respiratory diseases. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology (AAAAI) annual meeting-March 12 - 18, 2011.
- 40) 大田 健、美野口健治、水野仁美。成人喘息 プライマリケア医における喘息コ

ントロールの現状。第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会。2011:幕張。

- 41) 山口正雄、鈴木真穂、中瀬裕子、杉本直也、戸田貴子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、瀨瀬力也、川上綾子、小宮明子、飯倉元保、長瀬洋之、鈴木直仁、山本一彦、大田 健。薬物によるアナフィラキシー症例に対する、omalizumab を用いた IgE 関与証明の試み。第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会。2011:幕張。
- 42) 山口正雄、長瀬洋之、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、一ノ瀬正和、足立 満、相澤久道、棟方 充、永田 眞、大田 健。気管支喘息患者に対する効果的指導に影響する因子の解析およびコントロール評価法の検討。第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会。2011:幕張。
- 43) 長瀬洋之、杉本直也、中瀬裕子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、鈴木直仁、山口正雄、大田 健。気道可逆性試験陰性症例における Imlulse Oscillometry (IOS)所見。第 21 回国際喘息学会日本・北アジア部会。2011:岐阜。
- 44) 大田 健：国際喘息ガイドライン(GINA 2009)。日本呼吸器学会総会。2011:東京。
- 45) 大田 健：喘息死ゼロに向けた新たなア

プローチ。日本アレルギー学会秋季学術大会。2011：東京。

- 46) 大田 健：重症喘息に対する抗 IgE 抗体治療 抗ヒト IgE 抗体療法 of 臨床的貢献 全例調査の中間報告を含めて。日本アレルギー学会秋季学術大会。2011：東京。
- 47) 大田 健：喘息治療におけるネブライザー療法の果たす役割 より良い喘息治療を目指して 成人喘息治療におけるネブライザー治療の位置づけ。日本アレルギー学会秋季学術大会。2011：東京。
- 48) 大田 健：気管支喘息の最新の動向を探る 分子標的治療 我が国における喘息治療の将来展望。日本アレルギー学会秋季学術大会。2011：東京。
- 49) 中瀬裕子、岡田典久、青柳 仁、木村 聡、田中祐輔、杉本直也、戸田貴子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、鈴木直仁、山口正雄、大田 健。パクリタキセルを用いた化学療法中に皮疹が出現し DLST 陽性を認めた肺癌の 1 例。第 198 回日本呼吸器学会関東地方会。2012：東京。

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許登録 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |