

## ※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  
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  
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  
高橋健太郎 国立病院機構相模原病院アレルギー科 医師  
渡井健太郎 国立病院機構相模原病院 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病態総合研究室 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病態総合研究室 研究員  
伊藤伊津子 国立病院機構相模原病院臨床研究センター病態総合研究室 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  
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  
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  
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  
榎美香 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  
飯島葉 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呼吸器疾患研究チーム 研究員  
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

日本人慢性好酸球性肺炎の臨床像

研究代表者	谷口正実	国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部 部長
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
	齋藤武文	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
	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

研究要旨：

【背景】慢性好酸球性肺炎（CEP）は、亜急性に発症し、その発症時の臨床像や画像は、細菌性肺炎に似ていてしばしば鑑別が問題となる。しかし、国際的にも国内でも多数例での原因不明の CEP の臨床像を検討した報告はない。

【目的】日本人 CEP の臨床像を多施設多数例で明らかにする。

【結果と考察】CEP121 例の臨床症状は細菌性肺炎に近似していた。しかし、喀痰症状が少ないこと、食指不振が報告ほとんど認められなかったことが CEP の特徴であった。表 2 は各種検査成績を示した。末梢血好酸球増多が特徴的であり、IgE 増加は約半数で認めた。また低酸素血症も多く認めた。他に間質性肺炎の指標である KL6 の増加症例は皆無であった。BALF 所見では、好酸球増多が特徴的であったが、CD4/8 は特徴的な所見はなかった。喫煙者での発症は少なかった。

【結論】日本人 CEP121 例の臨床像が明らかとなった。

A. 研究目的

【背景】慢性好酸球性肺炎（CEP）は、亜急性に発症し、その発症時の臨床像や画像は、細菌性肺炎に似ていてしばしば鑑別が問題となる。しかし、国際的にも国内でも多数例での原因不明の CEP の臨床像を検討した報告はない。

【目的】日本人 CEP の臨床像を多施設多数例で明らかにする。

B. 研究方法

国立病院機構姫路医療センターと国立病院機構相模原病院を中心とした施設において、過去に集積できた CEP 確定診断例の臨床像や検査値、BALF 所見、画像所見を検討し、CEP の病態解析のための基礎資料とする。また通常の細菌性肺炎と臨床所見のみで鑑別可能か、なども検討した。

### (倫理面への配慮)

使用する検査成績などは、通常の診療で得られる成績であり、新たな医療行為は追加しない。医療情報を臨床研究に用いることに関しては、口頭同意もしくは文書同意がなされている。主に後ろ向きのカルテ結果解析であり、個人情報の保護には患者名は検査結果から削除し、暗号化し、十分な配慮を行う。

また倫理委員会の承認済みである。

### C. 研究結果

表1に CEP121 例の臨床症状を示した。これらは細菌性肺炎に近似していたが、喀痰症状が少ないこと、また食指不振が報告ほとんど認められなかったことが特徴であった。この食指不振は細菌性肺炎の50%以上に認める症状であり、両者の差異を最も表していた。

表1: CEP121例における臨床症状

臨床症状	陽性であった率
咳嗽	87.4%
喀痰	43.2%
呼吸困難	40.3%
発熱	66.3%
38度以上の発熱	33.0%
全身倦怠感	14.3%
食指不振	2.5%
皮疹	1.7%
体重減少	1.7%
背部痛、胸痛	2.5%

表2は各種検査成績を示した。当然のことながら、末梢血好酸球増多が特徴的であり、IgE増加は約半数で認めた。また低酸素血症も多く認めた。他に間質性肺炎の指標であるKL6の増加症例は皆無であった。

表2: CEP121例における一般検査所見

検査	平均値など
WBC	11783/ml
末梢血好酸球数	2673/ml
末梢血好酸球%	24.9%
CRP	5.2 mg/dl
IgE(RIST)	1205 IU/ml
500IU/ml以上	53%
PaO2	69.5 Torr

表3は、ステロイド治療前の BALF 所見である。現喫煙者は少なく、やはり好酸球増多が特徴的であったが、CD4/8 は特徴的な所見はなかった。

表3: CEP99例におけるBALF所見

	Non smoker n=85	Current smoker n=14
Total cell count (x10 <sup>5</sup> /ml・BALF)	10.6	4.7
Eos	36.9%	28.1%
Neut	5.5%	8.9%
Lym	26.7%	28.0%
CD4/CD8	1.39	1.90

### D. 考察

今回初めて、多数例での日本人 CEP の臨床像や検査成績が明らかとなった。特に細菌性肺炎との症状の差は、食指不振が無いことが CEP の特徴と考えられた。また喫煙者に CEP が少ないことが証明された。これはすでに過敏性肺炎で確認されている病態と同様の現象であり、喫煙による肺泡マクロファージ機能低下が、好酸球性肺炎発症を抑制している可能性がある。

## E. 結論

日本人 CEP121 例の臨床像が明らかとなった。

## 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

原因不明の慢性好酸球性肺炎 33 例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臨床研究センター 病態総合研究部 部長
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 5 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 CEP33 例を 5 年以上（平均 7.5 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前向き調査検討した。

【研究結果および考察】

原因不明の CEP33 例を 5 年以上、平均 7.5 年前向きに経過観察した結果、生命予後は良いものの、90%が再燃し、そのほとんどが複数回再燃していた。また 21%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 93%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、10%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明らかとなった。また今回の検討では、寛解例がもともと軽症であったことが判明し、さらに CSS 移行例の予測因子は、末梢血好酸球数が著増（50%以上）症例で、移行が多いことが判明した。

【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 21%に認めた。しかし一部寛解する症例もあった。予後因子として、初発時の好酸球性炎症（末梢血好酸球増多程度）が、CSS 発症の予測や寛解の予測に有用である可能性がある。

A. 研究目的

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 5 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2006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CEP33例を前向きに集積し、検討対象とした。全例ABPMなどの明らか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前向きに検討した。

### （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75歳（平均51歳）、男性10例、女性23例と男女比は1:2.3であった。全例5年以上（平均7.5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、17例（気道過敏性陽性や同時期発症を含む）＝52%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、平均7.5年間でのステロイド減量や維持療法中の再燃を30例（90%）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7例（21%）は、典型的なアレルギー性肉芽腫性血管炎（CSS）を発症した。このCSS症例のうち6/7例が末梢血好酸球%の最高値（CEPのみ発症時期において）が50%以上を示したが、非CSS症例においては、6/26のみが50%以上を呈した（ $P<0.001$ ）。また経過中に非可逆的な肺機能低下を呈した

例は、31例（93%）（末梢気流閉塞が93%で、1秒率低下が60%で併せて93%）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。3例（10%）でステロイド中止するも再燃が無いことが2年以上確認できた。これらの背景は、もともと陰影が軽症であった。全体での死亡例はなかった。

## D. 考察

原因不明のCEP33例を5年以上、平均7.5年経過観察した結果、生命予後は良いものの、90%が再燃し、そのほとんどが複数回再燃していた。また21%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93%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、10%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明らかとなった。今回の検討では、寛解例がもともと軽症であったことが判明し、さらにCSS移行例の予測因子は、末梢血好酸球数が著増（50%以上）症例で、移行が多いことが判明した。

## E. 結論

CEPの長期予後として、生命予後は良いものの、再燃率が非常に高く、経年的に軽度の肺線維化や肺機能低下をきたしやすいことが明らか

かとなった。長期のステロイド中止例はほとんど無く、CSS への移行も 21%に認めた。初発時の好酸球性炎症(末梢血好酸球増多程度)が、CSS 発症の予測や寛解の予測に有用である可能性がある。

#### 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



## 重症慢性好酸球性肺炎に対する新規治療法、抗 IgE 抗体療法の試み

研究代表者 谷口正実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部 部長  
研究協力者 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】

背景：原因不明の慢性好酸球性肺炎（以下 CEP）は再燃しやすく、そのほとんどで長期（一生）の経口ステロイド治療を必要とする。ステロイド以外で有効性を示した薬剤は、ほとんど報告されていない。Omalizumab（抗 IgE 抗体）治療は、難治性アレルギー疾患への有効性が確立しつつあるが、類似病態を有する CEP に対する有効性の報告はない。

目的：再燃を繰り返す CEP に対し、Omalizumab を上乘せ投与し、好酸球性炎症（末梢血好酸球数、呼気 NO）とステロイド減量効果を前向きに検討する。

### 【研究方法】

重症 CEP 6 例（難治性喘息も合併）に対し、Omalizumab を通常量、1 ヶ月に 1 回を 4 回（4 ヶ月間）投与し、その効果を、末梢血好酸球数、呼気 NO、肺機能、臨床症状、経口ステロイド減量効果から検討した。

### 【研究結果および考察】

末梢血好酸球%は 1 例を除いて 1 回目投与後から顕著に減少した ( $p < 0.01$ )。臨床症状に関しては、投与前と投与 2-4 ヶ月で ACT スコアを有意に改善した ( $p < 0.05$ )。また全ての症例で投与 1 ヶ月から患者が労作時の息切れや痰の絡みなどが良くなったと感じていた。

今回、初めて抗 IgE 療法薬である Omalizumab が、原因不明の好酸球性肺炎の好酸球性炎症や臨床症状の改善をもたらす可能性が示された。難治性 CEP は、IgE を介さない好酸球性炎症を考えられているが、気道局所での IgE 産生は好酸球性副鼻腔炎同様に増加している可能性は否定できない。また Omalizumab の効果が、IgE 抗体中和療法としての効果ではなく、マスト細胞などの安定化を介している可能性もある。

【結論】 Omalizumab が重症 CEP に対して顕著な好酸球性炎症抑制効果と臨床症状の改善効果を示すことが確認できた。これにより Omalizumab が今後の CEP 治療の治療選択肢になる可能性がある。今後は、大規模な偽薬を用いた研究が必要であろう。

### A. 研究目的

背景：原因不明の慢性好酸球性肺炎（以下 CEP）は再燃しやすく、そのほとんどで長期（一生）の経口ステロイド治療を必要とする。

ステロイド以外で有効性を示した薬剤は、ほとんど報告されていない。Omalizumab（抗 IgE 抗体）治療は、難治性アレルギー疾患への有効性が確立しつつあるが、類似病態を有する

CEP に対する有効性の報告はない。

目的：再燃を繰り返す CEP に対し、Omalizumab を上乗せ投与し、好酸球性炎症（末梢血好酸球数、呼気 NO）とステロイド減量効果を前向きに検討する。

## B. 研究方法

経口ステロイド治療（5–10mg 連用）にも関わらず、気道症状や好酸球増多が安定化しない、発症から5年経過している CEP 6 例（難治性喘息も合併）に対し、Omalizumab を通常量、1 ヶ月に1回を4回（4 ヶ月間）投与し、その効果を、末梢血好酸球数、呼気 NO、肺機能、臨床症状、経口ステロイド減量効果から検討した。

### （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。

## C. 研究結果

図1に示すように、末梢血好酸球%は1例を除いて1回目投与後から顕著に減少した ( $p<0.01$ )。ただし投与2ヶ月後よりも4ヶ月後に軽度の増多を認める症例が多かった。一方、下気道の好酸球性炎症の指標である呼気 NO は、投与前と投与開始2ヵ月後で比較し、減少する症例（特に前値が高値例）を認めたが、全体では有意差はなかった（図2）。臨床症状に関しては、投与前と投与2–4ヶ月で ACT スコア

を有意に改善した（図3）（ $p<0.05$ ）。また全ての症例で投与1ヶ月から患者が労作時の息切れや痰の絡みなどが良くなったと感じていた。肺機能は投与前後で有意な変化を認めなかった。また画像（レントゲン所見）は投与前から安定期（＝非陰影期）のケースが多く、評価不能であった。また1例でステロイド減量効果を示したが、短期間のため評価不能であった。

図1: Omalizumabの効果  
末梢血好酸球%への影響

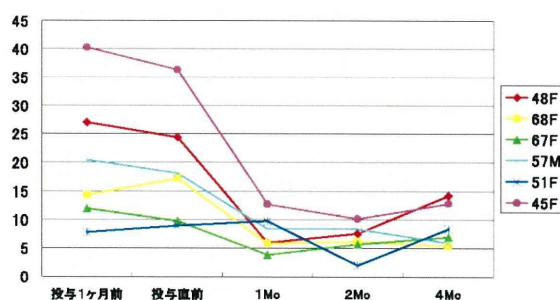


図2: Omalizumabの  
好酸球性炎症(呼気NO)への効果

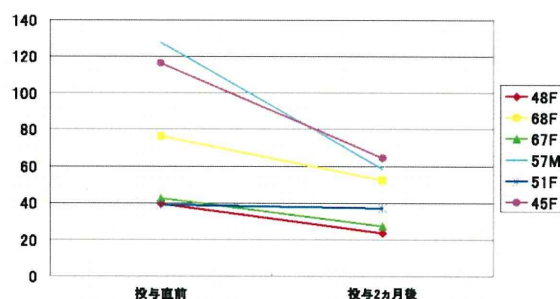
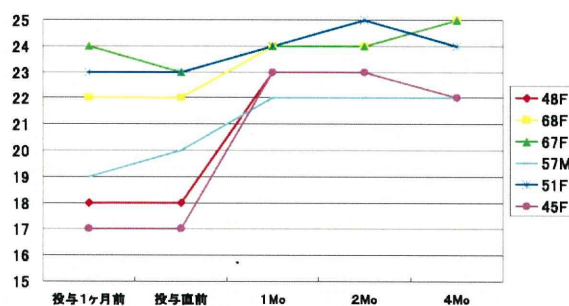


図3: Omalizumabの  
臨床症状(ACTスコア)への効果



#### D. 考察

今回、初めて抗IgE療法薬であるOmalizumabが、原因不明の好酸球性肺炎の好酸球性炎症や臨床症状の改善をもたらす可能性が示された。すでにOmalizumabは重症のアレルギー性気管支喘息には有効であることが確立している。またアレルギー性気管支肺アスペルギルス症や上気道の好酸球性鼻茸副鼻腔炎にも効果がある可能性が最近報告された(2011 Allergy、JACI)。難治性CEPは、IgEを介さない好酸球性炎症を考えられているが、気道局所でのIgE産生は好酸球性副鼻腔炎同様に増加している可能性は否定できない。また一部のケースレポートではあるが、非IgE性重症喘息にも有効であった報告が近年散見され、Omalizumabの効果が、IgE抗体中和療法としての効果ではなく、マスト細胞などの安定化(IgE抗体受容体抑制による)を介している可能性もある。

今回、パイロットスタディで短期間であるが、Omalizumabが重症CEPに対して顕著な好酸球性炎症抑制効果と臨床症状の改善効果を示すことが確認できた。これによりOmalizumabが今後のCEP治療の治療選択肢になる可能性がある。今後は、大規模な偽薬を用いた研究が必要であろう。

#### E. 結論

Omalizumabは、重症CEPに対して顕著な好酸球性炎症抑制効果と臨床症状の改善効果を示した。この結果は、OmalizumabがCEP治療の有力な治療選択肢になる可能性を示している。今後は、大規模な偽薬を用いた研究が必要であろう。

#### 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指標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臨床研究センター 病態総合研究部 部長  
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病態総合研究室 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た。CysLTs は局所の強い炎症を惹起するが、その体内での産生量を表す尿中 LTE4 が再燃や病勢を予測する因子となりうるかは不明であるため明らかにする。

【研究方法】

CEP35 例を、診断から前向きに 2 年以上にわたって通常ステロイド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。また併せて、末梢血好酸球性%や IgE 値が予後因子となるか否かも検討した。

【研究結果および考察】

U-LTE4 著明高値（500pg/mg・cre 以上）は 25 例、軽度高値群（100～499pg/mg・cre）は 10 例、U-LTE4 正常例（80pg/mg・cre 以下）はなかった。著明高値群における再燃例は 22 例（88%）、軽度高値群からは 3 例（30%）であった（ $P<0.01$ ）。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。

一方、初診時の無治療時の好酸球最高%や IgE 値と再燃とは関連を認めなかった。

【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 88%に認めたが、軽度高値例では 30%であった。しかし末梢血好酸球%や IgE 値と再燃とは関連を認めなかった。

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 の病態活性化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 35 例を、診断から前向きに 2 年以上 2-8 年（平均 4.2 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（500pg/mg・cre 以上）と軽度高値群（100～499pg/mg・cre）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。全例ステロイド治療は 40mg から開始し、4 ヶ月で 5mg まで減量し、その後 5mg /日で 2-3 年維持した。

また併せて、末梢血好酸球性%や IgE 値が予後因子となるか否かも検討した。

#### (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。

#### C. 研究結果

U-LTE4 著明高値 (500pg/mg・cre 以上) は 25 例、軽度高値群 (100~499pg/mg・cre) は 10 例、U-LTE4 正常例 (80pg/mg・cre 以下) はなかった。著明高値群における再燃例は 22 例 (88%)、軽度高値群からは 3 例 (30%) であった (P<0.01)。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。一方、初診時の無治療時の好酸球最高%や IgE 値と再燃とは関連を認めなかった。

#### 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 88%に認めたが、軽度高値例では 30%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。

#### E. 結論

U-LTE4 が著明高値の CEP は再燃しやすく、予後の指標となりうる。また CEP の病態活性化に CysLTs が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

「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

慢性好酸球性肺炎における病態解析、システニルロイコトリエンの関与

研究代表者	谷口正実	国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部	部長
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	研究員
	小野恵美子	ハーバード大学	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
	高橋健太郎	国立病院機構相模原病院アレルギー科	医師
	渡井健太郎	国立病院機構相模原病院	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病態総合研究室	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病態総合研究室	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病態総合研究室	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

研究要旨：

【目的】

すでに我々は、慢性好酸球性肺炎（CEP）の急性期にシステニルロイコトリエン（CysLTs）産生亢進が生じていることを明らかにした（ERJ 2008, AI 2009-2012）。CEPにおいて、著明な CysLTs 産生亢進が、CEP 病態にどのような影響を与えているか全く不明である。そこで今回は、CysLTs 産生亢進と CEP 病態との関連を検討した。

【方法】

CEP17 例の発症時の U-LTE4 濃度を、各種肺機能（拡散能含む）、画像、および各種炎症細胞指標である EDN (eosinophil derived neurotoxin) や PGD2 代謝産物 (2,3-dinor-9・11・PGF2 など) などとの関連を検討した。さらにモンテルカスト（CysLT1 受容体拮抗薬）を投与し、その病態背景に影響があるかを検討し、CysLTs 過剰産生による病態形成が、CysLT1 受容体を介して生じているか、それ以外かを明らかにした。

【結果と考察】

慢性好酸球性肺炎の急性期には、非常に強い CysLTs の産生亢進が生じており、その主たる産生細胞は活性化好酸球であることが示唆された。またその CysLTs 過剰産生は、肺拡散能低下に強く関与していることが判明した。さらにこの拡散能低下に CysLT1 受容体拮抗薬の効果が無かったことから、CEP の肺胞浮腫には、CysLTs が CysLT2 受容体を介して病態形成している可能性が十分考えうる。

今後の CEP の治療薬として、CysLTs 産生抑制薬（例えば 5 LO 阻害薬）、もしくは CysLT2 受容体拮抗薬の有効性が十分期待される（ただしいずれも開発段階）。

【結論】

ヒト慢性好酸球性肺炎の急性期や発症期には、非常に強い CysLTs の産生亢進が生じており、その主たる産生細胞は（気道に於ける）活性化好酸球であることが示唆された。またその CysLTs 過剰産生は、CysLT2 受容体機能を介して、肺拡散能低下に強く関与していることが判明した。

## A. 研究目的

すでに我々は、慢性好酸球性肺炎（CEP）の急性期にシステニルロイコトリエン（CysLTs）産生亢進が生じていることを明らかにした（ERJ 2008, AI 2009-2012）。その産生度を尿中 LTE4（U-LTE4）濃度で表現し検討すると、喘息発作レベルよりも高値であり、アナフィラキシーと同等のレベルであることを明らかにした（AI 2009,2012）。

CysLTs は最も代表的な喘息最終メディエーターであることは確立しているが、CEP において、著明な CysLTs 産生亢進が、CEP 病態にどのような影響を与えているか全く不明である。そこで今回は、CysLTs 産生亢進と CEP の各種病態との関連を検討した。

## B. 研究方法

CEP 23 例の発症時の U-LTE4 濃度を、各種肺機能（拡散能含む）、画像、および各種炎症細胞指標である EDN（eosinophil derived neurotoxin）や PGD2 代謝産物（2,3-dinor-9・11・PGF2 など）などとの関連を検討した。さらにモンテルカスト（CysLT 1 受容体拮抗薬）を投与し、その病態背景に影響があるかを検討し、CysLTs 過剰産生による病態形成が、CysLT 1 受容体を介して生じているか、それ以外かを明らかにした。

### （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、文書同意を得た。

## C. 研究結果

図 1 に、CEP17 例（喘息合併あるなし）の U-LTE4 と健常人、アナフィラキシー急性期の U-LTE4 と図示した。CEP では著明に U-LTE4 濃度が増加しており、その程度は、喘息急性期はもちろん、急性期のアナフィラキシー時よりも増加していた。

肺機能各種指標 + 拡散能、および各種炎症細胞指標である EDN や PGD2 代謝産物などとの関連を検討した結果、U-LTE4 と尿中 EDN は、極めて強い相関を認めた（図 2）。しかしながら、他のマスト細胞活性化指標（2,3-dinor-9・11・PGF2 など）や拡散能以外の肺機能、血液ガス所見などと U-LTE4 は相関しなかった。一方、拡散能障害と U-LTE4 は強い相関を認めた（図 3）。

図 3 に示すように、拡散能低下と CysLTs 過剰産生の関連が疑われたことから、これらの CEP 症例にモンテルカストを 1 週間投与し、その拡散能への影響を検討したが、効果は無かった（データ省略）。

図 1: 健常人、喘息（安定期と発作時）、アナフィラキシー、好酸球性肺炎における U-LTE4

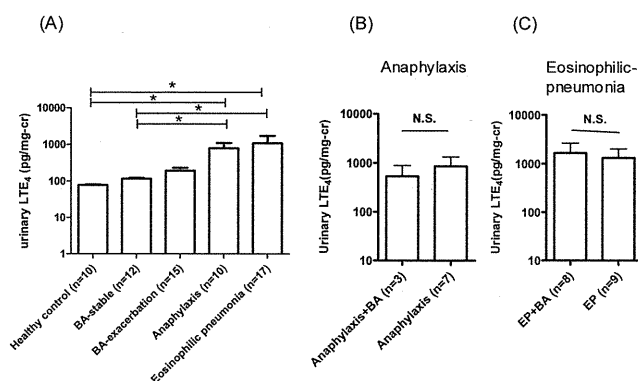


図2: Correlation between urinary LTE4 and EDN concentrations in CEP patients

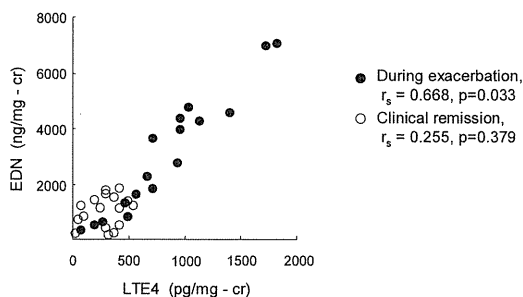
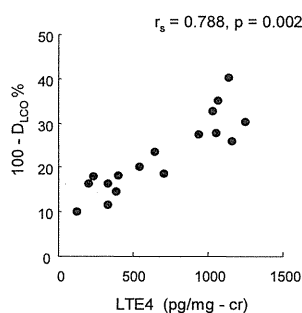


図3: Association between urinary LTE4 concentration and diffusion capacity ( $D_{LCO}$ ) of CEP patients



#### D. 考察

慢性好酸球性肺炎の急性期や発症期には、非常に強い CysLTs の産生亢進が生じており、その主たる産生細胞は（気道に於ける）活性化好酸球であることが示唆された。またその CysLTs 過剰産生は、肺拡散能低下に強く関連していることが判明した。

肺におけるガス交換能（拡散能）は、肺胞壁における浮腫で傷害されることは周知の事実であり、この浮腫形成に、局所で産生された CysLTs が影響している可能性が十分考えうる。また追加検討を行い、この拡散能低下にモンテルカスト（CysLT 1 受容体拮抗薬）の効果が無かったことから、肺胞レベルでの浮腫形成には、

CysLT 1 受容体以外の系路（CysLTs 2 受容体、もしくは新規の LTE4 受容体）の可能性が考えられた。すでに CysLT 2 受容体は、末梢血管にも豊富に存在し、血管透過性を調整していることが知られており、CEP の肺胞浮腫には、CysLTs が CysLT 2 受容体を介して病態形成している可能性が十分考えうる。

今後の CEP の治療薬として、CysLTs 産生抑制薬（例えば 5 LO 阻害薬）、もしくは CysLT 2 受容体拮抗薬の有効性が期待される（ただしいずれも開発段階の薬剤である）。

#### E. 結論

慢性好酸球性肺炎の急性期や発症期には、非常に強い CysLTs の産生亢進が生じており、その主たる産生細胞は（気道に於ける）活性化好酸球であることが示唆された。またその CysLTs 過剰産生は、CysLT 2 受容体機能を介して、肺拡散能低下に強く関連していることが判明した。

#### 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

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	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
	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
	榎 美 香	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
	飯 島 葉	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、肺の好酸球性炎症には、活性化 T 細胞と IL-5 の役割が重要であることが明らかになった。そこで、新たな治療介入をめざして、T 細胞移入喘息モデルを確立し、サイトカインの役割を詳細に解析した。本年度の研究において、Th クローン移入により、液性免疫の関与なしに、気道の好酸球性炎症および過敏性が誘導された。IL-5 産生 T 細胞は、気道過敏性の十分条件であることが示された。好酸球は、抗原特異的 IgA, IgG, IgE といった免疫グロブリンが存在しないにもかかわらず、炎症局所に集積し、脱顆粒を含む活性化をすることが *in vivo* で証明された。*in vivo* における好酸球浸潤の程度と、*in vitro* における T 細胞クローンの IL-5 産生は強い相関がみられた。T 細胞、IL-5 産生を制御する薬物は、好酸球性炎症治療薬として有望である。

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。今年度は T 細胞クローン移入マウスモデルを作成し、治療介入のモデル構築を目指した。これまでの研究によって、好酸球性炎症における CD4<sup>+</sup>T 細胞の重要性が示唆されており、CD4<sup>+</sup>T 細胞から産生されるサイトカイン、なかでも L-4、IL-5 は気道の好酸球浸潤と過敏性亢進に重要な役割を果たしていることが知られている。ことに、IL-5 は、好酸球の局所浸潤と活性化に必須である。マウス喘息モデルでは、抗 IL-5 中和抗体の投与は、好酸球浸潤、気道過敏性亢進を抑制する。また IL-5 ノックアウトマウスでは、正常マウスで観察される気道過敏性亢進が消失す

るが、IL-5 の投与により通常の反応が回復することが知られている。一方で、好酸球性炎症は、多種多様の炎症細胞が関与する複合反応であることも指摘されている。抗原特異的な IgA, IgG, IgE といった免疫グロブリンや肥満細胞の気道過敏性亢進発症への関与が示唆されている。

そこで、本研究では、CD4<sup>+</sup>T 細胞の好酸球浸潤・気道過敏性亢進における役割を明確にするために、抗原特異的モノクローナル CD4<sup>+</sup>T 細胞をマウスに移入後、抗原チャレンジするモデルを作成した。能動感作マウスを用いたモデルでは、抗原特異的 T 細胞の誘導と共に IgE, IgG, IgA などの免疫グロブリンの上昇が認められるが、この方法では、正常マウスと異なる点が移入された抗原特異的 T 細胞の存在のみであ

るため、好酸球性炎症における CD4<sup>+</sup>T 細胞の役割を明確に示すことができる。

## B. 研究方法

### 動物および試薬

6-14 週齢の BALB/c マウスを用いた。動物搬入後、一週間以上馴化飼育した後に実験に供した。実験期間中、水および食餌は自由に摂取させた。使用薬物は以下のものを使用した。Ficol-Paque はファルマシア、AIM-V 培地は Gibco、Fetal bovine serum (FBS) は、IS ジャパン、Hank's balanced salt solution (HBSS) はニッスイ、Complete Freund's adjuvant (CFA) は DIFCO、recombinant mouse IL-2 は Biosource、ペントバルビタールは東京化成、アセチルコリンはナカライテスク、パンクロニウムは三共、卵白アルブミン (OVA) は Sigma (Grade III)、5- (and-6) -carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFSE) は Molecular Probes より購入した。精製デオチン化マウス抗 IL-2, IL-4, IL-5 抗体およびマウス IL-2, IL-4, IL-5 は Pharmingen より、マウス IL-2, IL-4, IL-5,  $\beta$ -actin プライマーは Cloneteck より、GeneAmp RNA PCR kit は Perkin Elmer より購入した。抗 IL-2 抗体 (S4B6-1), 抗 IL-4 抗体(11B11), 抗 IL-5 抗体(TRFK-5)ならびに抗 IFN- $\gamma$  抗体(R4-6A2)は、ハイブリドーマを接種したマウス腹水より、アフィニティカラムを用いて精製したものを使用した。その他の試薬は市販の特級品を用いた。

### 細胞培養およびアッセイ

Th clone は OVA により感作した動物の鼠径

リンパ節より調製した。6 週齢の BALB/c マウスの foot pad に OVA 10  $\mu$ g と CFA 10 mg の混合物を投与することにより感作を行った。感作 7-14 日後に鼠径部リンパ節を無菌的に摘出し、HBSS に懸濁した。HBSS を用いて 3 回洗浄した後 10% FBS を含む AIM-V 培地に再懸濁した。抗原提示細胞には、非感作 BALB/c マウスより脾臓を摘出し、塩化アンモニウム低張処理により赤血球を除去して脾細胞を調製し、X線処理後、10% FBS を含む AIM-V 培地に懸濁し用いた。リンパ節細胞および脾細胞を各々  $2 \times 10^6$  個および  $5 \times 10^6$  個/well ずつ、総容量 1 ml/well となるように 24 穴プレートに混合播種し、37°C、5%v CO<sub>2</sub> 条件下で培養した。終濃度 100  $\mu$ g/ml の OVA を添加し、6 日目に recombinant mouse IL-2 を終濃度 10 U/ml に加えてさらに培養した。

初代培養 11 日目に生細胞を回収し、限界希釈を行った。生細胞 1, 3, 10 および 30 個/well を X線照射非感作マウス脾細胞  $5 \times 10^4$  個/well、OVA 100  $\mu$ g/ml および IL-2 10 U/ml とともに 96 穴プレートにて各 24-30 well ずつ培養した。IL-2 は、培養開始 7 日目に再添加した。14-28 日目に顕顕下で明らかな増殖反応を示した well の割合が総 well 数の 1/3 未満であった希釈段階の細胞を選択し、さらにサブクローニングを行って Th clone を樹立した。

樹立した Th clone は、10-14 日毎に新たに調製した非感作マウス脾細胞  $5 \times 10^6$  個/well、OVA 100  $\mu$ g/ml および IL-2 10 U/ml とともに 24 穴プレートにて抗原刺激を行い、3-4 日毎に培地交換を行って IL-2 を添加した。

樹立した Th clone について、抗原特異的なサイトカイン産生を検討した。最終抗原刺激から 10-14 日後の Th clone を回収し、

Ficoll-Paque により精製した後 AIM-V 培地に  $5 \times 10^5$  個/ml の濃度に再懸濁し、X線照射非感作マウス脾細胞  $5 \times 10^5$  個/ml、OVA 100  $\mu$ g/ml とともに 96 穴プレートに播種した。24 時間後に上清を回収し、上清中 IL-2, IL-4, IL-5 ならびに IFN- $\gamma$  量を ELISA にて測定した。

#### T 細胞依存性好酸球性肺疾患モデル

Th clone ( $5 \times 10^6$ - $2 \times 10^7$  個)は HBSS 0.5 ml に懸濁し、非感作マウスに尾静脈より移入した。一部の Th clone は、蛍光色素である CFSE でラベルしたのちに移入した。すなわち、Th clone を 5 mM の CFSE を含む培地で 37°C、10 分間培養し、3 回洗浄後実験に供した。

細胞移入 24 時間後、OVA を吸入暴露することにより抗原チャレンジを行った。マウスを 50 ml のプラスチックチューブに入れた後、鼻部をチャンパー内に固定し、10% OVA 溶液を 20 分間吸入させた。OVA 溶液は pressure 型ネブライザー(De Vilbiss 社)を用いてミスト化した。抗 IL-2, IL-4, IL-5 ならびに IFN- $\gamma$  抗体は、抗原チャレンジ 30 分前および 24, 48, 120 時間後にそれぞれ 2 mg/body を静脈内投与した。

EPO 活性は Strath の方法に準じて測定した。気管支肺胞洗浄液 50  $\mu$ l を 200  $\mu$ l の assay buffer、100  $\mu$ l の phenylenediamine hydrochloride (1 mM) /H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.8 mM) とともに 37°C で 5 分間反応させた後、200  $\mu$ l の 4M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加えて反応を停止させた。反応液の 492 nm での吸光度を測定し、検量線より酵素活性を算出した。反応の特異性を確認する目的で Horseradish peroxidase, human myeloperoxidase の反応性を測定したが、交叉性は確認されなかった。

#### 病理組織学的検討

生理食塩水あるいは OVA チャレンジ後の動物を、ペントバルビタール麻酔により安楽死させ、直ちに肺を摘出して 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。固定後、常法に従って 4 mm 厚のパラフィン切片を作成し、共焦点レーザー顕微鏡 (Leica, TCS-NT) を用いて観察した。

Th clone 移入マウスにおける肺でのサイトカイン mRNA 発現は RT-PCR 法を用いて検出した。摘出した肺を、ホモジネート後 one-step acid guanidium isothiocyanate-phenol-chloroform 抽出法により RNA を抽出した。RT-PCR は Gene Amp RNA PCR kit を用いて行った。抽出した RNA から Moloney leukemia virus reverse transcriptase により cDNA を作成後、IL-2, IL-4, IL-5 ならびに  $\beta$ -actin primer を用いて DNA polymerase により増幅した。増幅産物は 2% アガロースゲル電気泳動・エチジウムブロミド染色により解析した。IL-2, IL-4, IL-5 ならびに  $\beta$ -actin の予想される大きさはそれぞれ 413, 357, 424, 540 bp である。

#### (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