

3-2 成人を対象とした気管支ぜん息患者に対する効果的な保健指導の実践に関する調査研究

【ぜん息患者および未発症成人における気道炎症病態と大気汚染状況との関連に関する調査研究】

代表者：滝澤 始

【研究課題全体の目的、構成】

ディーゼル車両から排出される大気汚染物質、特に微粒子物質 (diesel exhaust particles, DEP) は都市部における微小粒子状物質の主要なものとして、その呼吸器系への健康影響が懸念され調査研究が進められてきた。私たちは、実際の大気環境中でありうる低濃度で長期間継続的に DEP に曝露するマウスの系を確立し、DE に対する感受性要因を追求し、抗オキシダント酵素群とその発現調節因子 Nrf-2 を見出した。しかし、これらの成果を実際の健康被害対策に活かすためにはヒトにおける気道炎症病態のバイオマーカーと大気汚染状況との関連性をぜん息群のみならずぜん息未発症群で比較検討する必要がある。

そこで本調査研究では、ぜん息群及び非ぜん息群において呼気凝縮液 (exhaled breath condensates, EBC) の測定による気道炎症病態の解析を行い、これらに DEP などの大気汚染がどう影響するかを検討する。以上の研究により、DEP (実際には大気中粒子) 曝露に対する高リスク群のスクリーニングのためのバイオマーカーの実効性を検証するための基礎が確立されると期待する。

1. 研究従事者 (○印は研究リーダー)

○滝澤 始 (帝京大学)	工藤 翔二 (結核予防会複十字病院)
吾妻 安良太 (日本医科大学)	
幸山 正 (東京大学)	山内 康宏 (東京大学)

2. 平成 21 年度の研究目的

本調査研究は、個人ごとの気道炎症・リモデリングの生体マーカーとして EBC を採取して、その炎症・繊維化分子の量を測定し、これらが大気汚染の生体影響の評価に用いようとするものであり、ぜん息群のみならず、ぜん息類似の気道炎症病態を有するもののぜん息としての典型的な表現型を示さない群、および健常群という、多様な調査対象を設定して、ぜん息およびぜん息未発症群における気道炎症病態と、大気汚染状況との関連性を示そうというユニークな調査研究である。各群の気道炎症病態が大気汚染により影響されるかを検討するばかりでなく、ぜん息発症のリスク群を知る第一段階の情報を与える可能性をもつ。今後の大規模疫学研究の先駆けとして先駆的な知見が得られると期待される。

3. 平成 21 年度の研究の対象及び方法

1) 調査研究対象：各施設の倫理委員会の承認を得た上でインフォームドコンセントの得られたぜん息患者、慢性咳などの呼吸器症状とアレルギー素因を示しながらも未だぜん息の典型的表現型を示さない患者、および健常人。参加 4 医療施設で計 200 例を目標とする。

2) 調査項目：各群の診断に必要な問診、臨床検査、呼気一酸化窒素濃度測定に加え、EBC を

採取する。各群の診断は公表されたガイドラインに基づいて共通のものを作成し統一された診断基準で行う。また、EBC は R-tube により安静自発呼吸下 5 分間で採取する。EBC 中の分子マーカーの測定は、前研究班の成果から、原液を用いて高感度定量法である MUSTag 法を主に用いる（図 1, 2）。



図 1 R tube kit (Respiratory Research Co, Charlottesville, VA)

利点：携帯可能、使用法が簡便、比較的安価

短所：回収効率がそれほど多くない。冷却コンデンサーを予め冷却する必要がある。

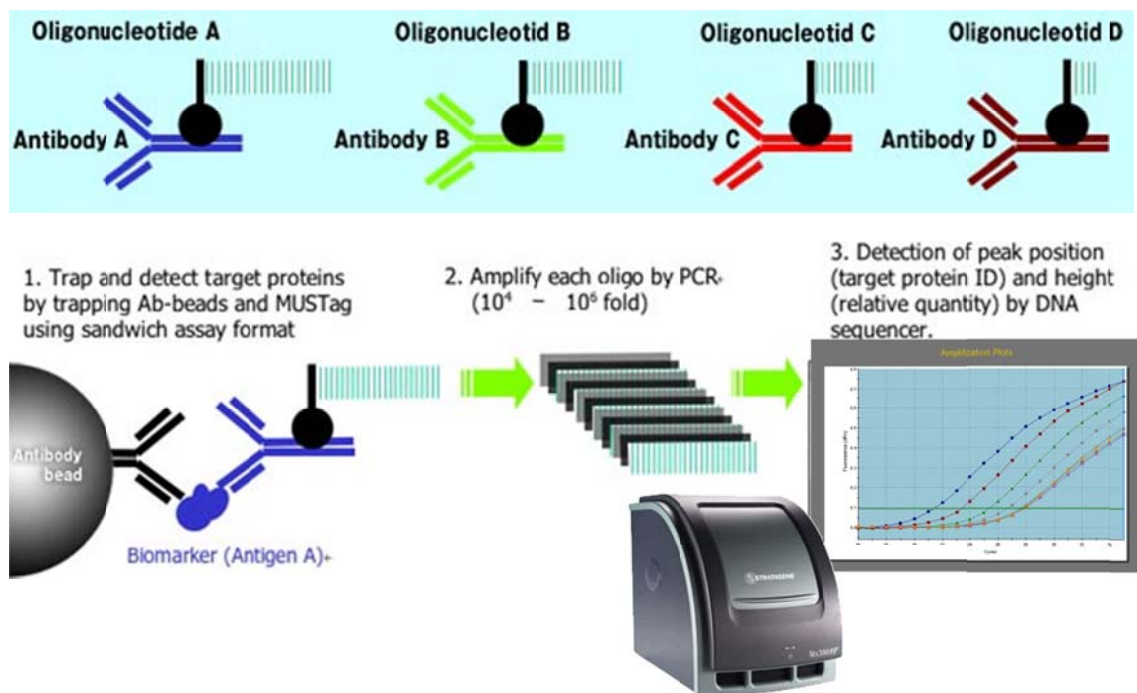


図 2 MUSTag 法（Synthera Technologies, Tokyo, Japan）の原理

各サイトカインの抗体にオリゴヌクレオチドを結合させておき、そのあと PCR で増幅することにより高感度に検出できる。

3) 解析項目：各群における分子マーカーの比較に加え、公開されている地域別大気汚染データと各マーカーの関連を統計学的に解析する。

ぜん息患者群での大気汚染と気道炎症病態との関連性ばかりでなく、ぜん息未発症群における気道炎症病態さらにそれらと大気汚染状況との関連性について明らかにしたい。自排局および一般局で測定されたPM10およびNO₂のデータとEBC中の各種分子マーカーの相関を検討する(図3)。さらに、幹線道路からの住居までの距離との関連も調査する。PM2.5の測定は現在ほとんど実施されていないため、上記の手法を採用した。DEP(実際には大気中粒子)曝露に対する高リスク群のスクリーニングのためのバイオマーカーの実効性を検証するための基礎が確立されると期待する。



PM2.5 は田島と池上のみ

図3 川崎市測定局の地図

4. 平成 21 年度の研究成果

1. R-tube による呼気凝縮液の基礎的検討

検体の採取量については、前年度に報告したとおり、ほとんどの症例で EBC 採取が可能であった。全体の約 9 割の症例で 5 項目を測定するに十分なサンプル量が得られた。採取量は、疾患のあるなし、性別、年齢に関して有意な差はなかった。一方、ただし、検体採取と採取との間隔が密になると、冷却棒の温度が上昇し、結果的に採取量が減少する傾向があり、そのことが採取に失敗する一因になりうると考えられた。今後さらに大規模に一時期に採取する場合の課題と考えられる。次に、6 種類の測定データについて、喫煙の影響を検討した。いずれの分子マーカーとも喫煙による有意な差は認められなかった。これは全症例、疾患別について検討しても有意な差はなかった。次に、年齢による EBC 中分子マーカーへの影響を検討した。年齢と各種分子マーカーそれぞれ 6 種との相関関係を検討したが、いずれも有意な相関は認められなかった。このことは疾患群別に検討しても同様であった。性別による影響も全症例、疾患群別に検討した。性別による差についても各マーカーについて比較したが有意な差はなかった。

次に様々な群において検討した。その結果、EBC 中分子マーカー濃度は、全体として気管支ぜん息群がもっとも高く、一方ぜん息未発症群では健常群とぜん息群の間に位置することが多かった (図 4)。

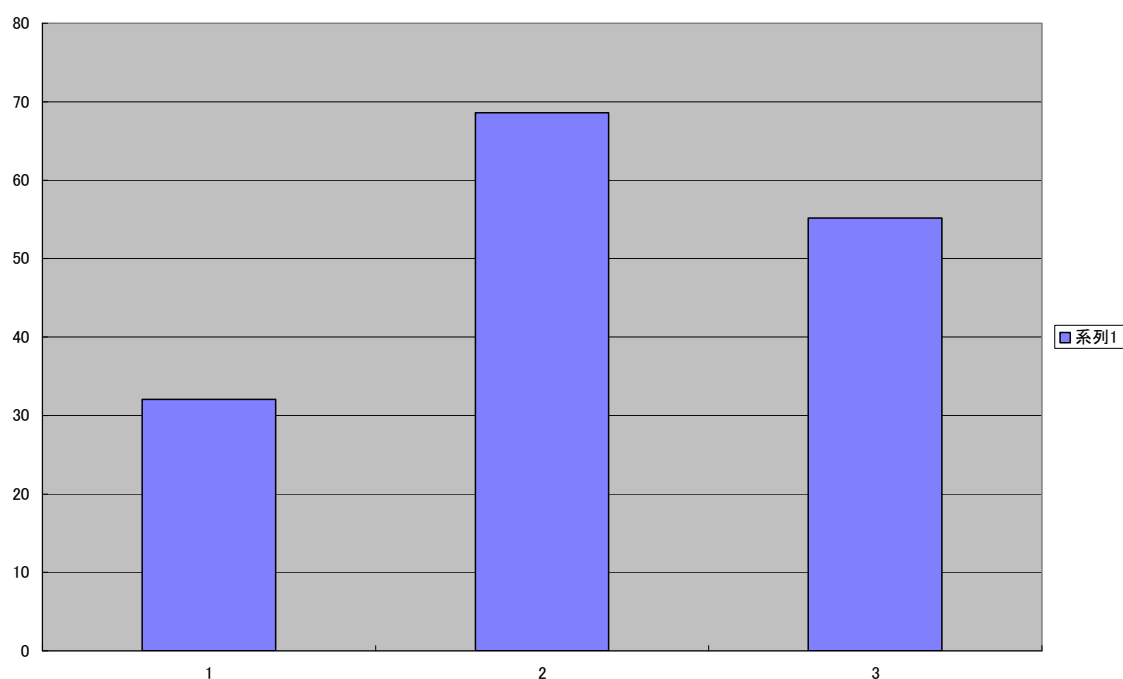


図 4-1 EBC VEGF 濃度の各群間での比較。

健常者 (1) < ぜん息未発症群 (3) < ぜん息群 (2) の傾向があったが、有意ではなかった。

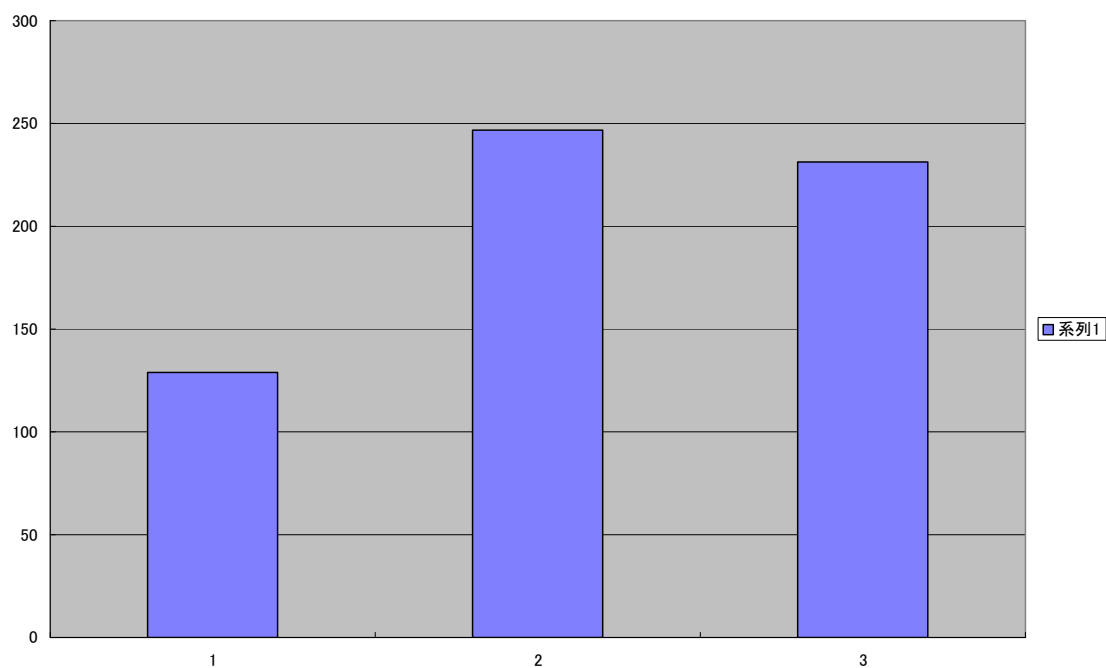


図 4-2 EBC HGF 濃度の各群間での比較。

健常者（１）＜ぜん息未発症群（３）＜ぜん息群（２）の傾向があったが、有意ではなかった。

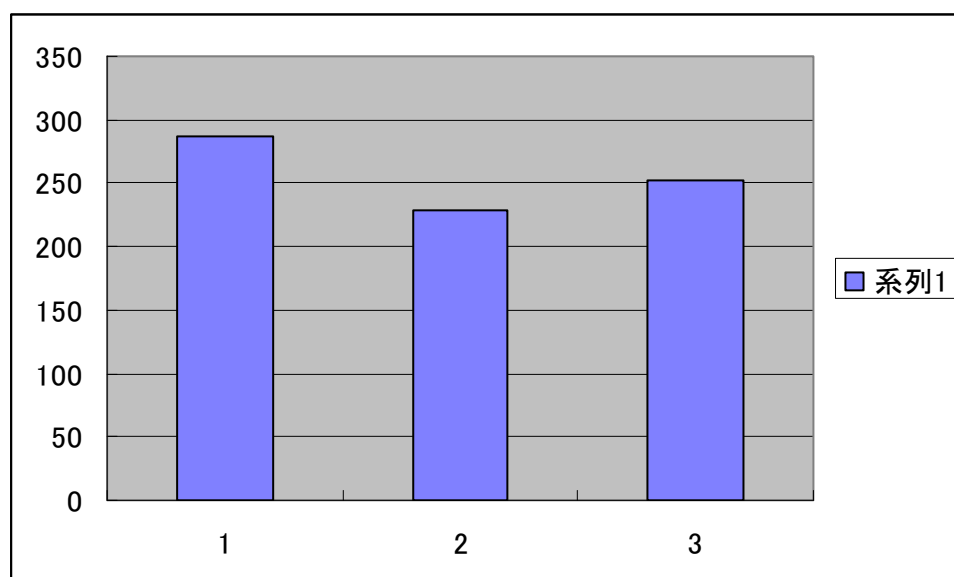


図 4-3 EBC basic FGF 濃度の各群間での比較。

健常者（１）、ぜん息未発症群（３）、ぜん息群（２）の３群間で変化が見られなかった。それぞれ 286.5442163+663.5483618、
228.555559+163.4616538、 252.5208572+233.6701841 （平均+SD）

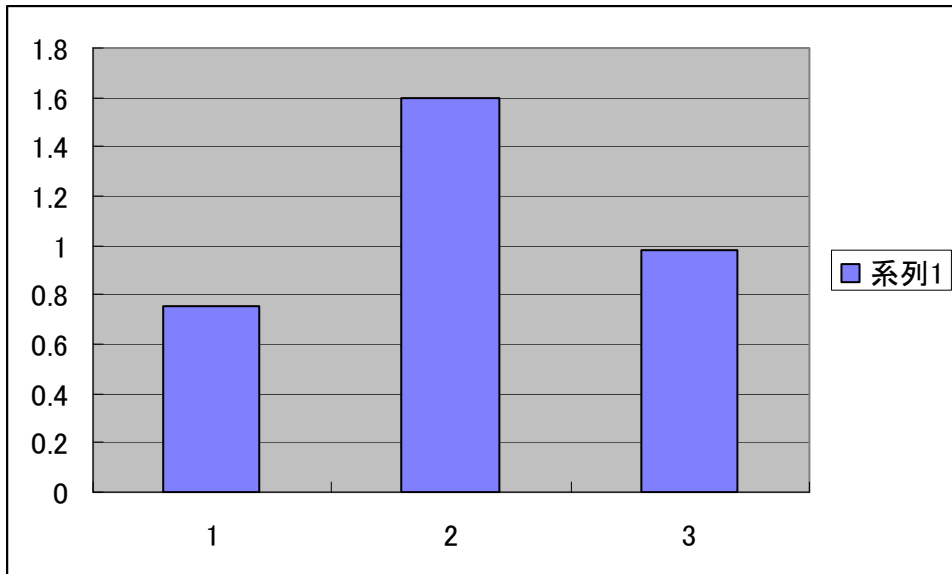


図 4-4 EBC IL-1RA 濃度の各群間での比較。

健常者（１）＜ぜん息未発症群（３）＜ぜん息群（２）の傾向があったが、有意ではなかった。

それぞれ 0.754091854+0.721787288, 1.59401915+1.523216844, 0.980345601+0.956781841

（平均+SD）

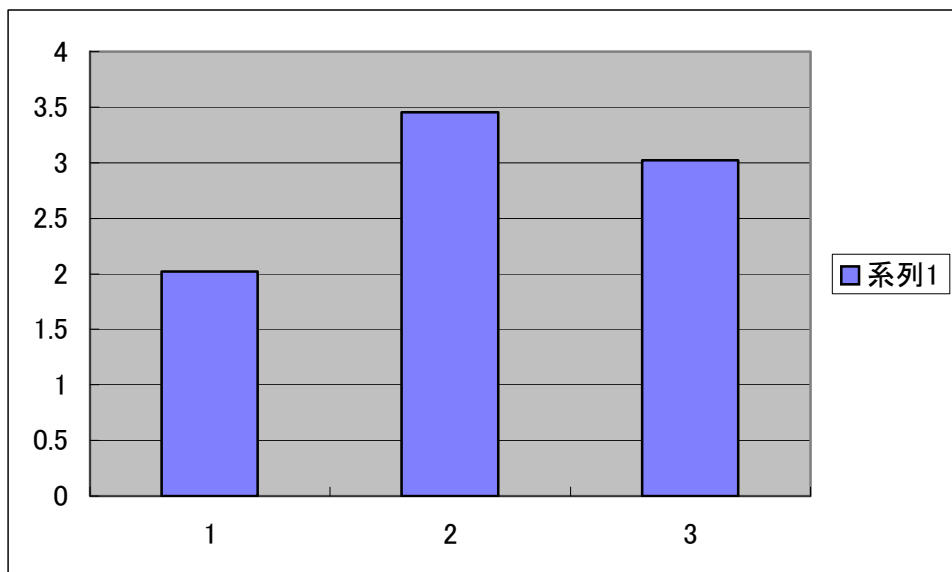


図 4-5 EBC IL-8 濃度の各群間での比較。

健常者（１）＜ぜん息未発症群（３）＜ぜん息群（２）の傾向があったが、有意ではなかった。

それぞれ 2.022223937+2.094388002, 3.451505607+3.779996655, 3.022908778+1.774409201

（平均+SD）

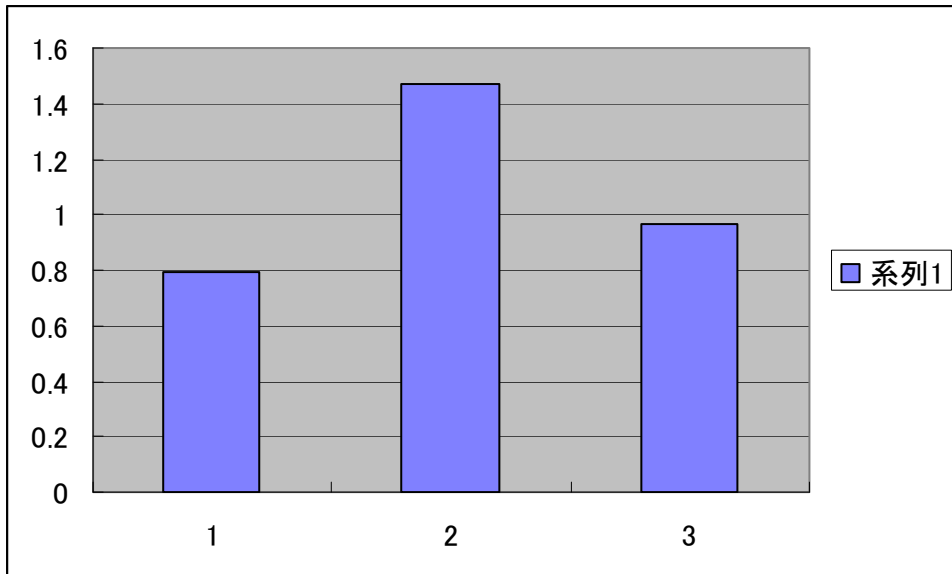


図 4-6 EBC EGF 濃度の各群間での比較。

健常者（1）＜ぜん息未発症群（3）＜ぜん息群（2）の傾向があったが、有意ではなかった。それぞれ、

0.792490203+0.597404309, 1.466867196+1.674708238, 0.967193691+0.665870382 (平均+SD)

2. 気管支ぜん息患者における検討結果

次に、気管支ぜん息群における検討では、重症度との関連が示唆され、特に最重症型では軽症持続型に比較して有意に気道炎症マーカーの上昇が認められた（図 5）。

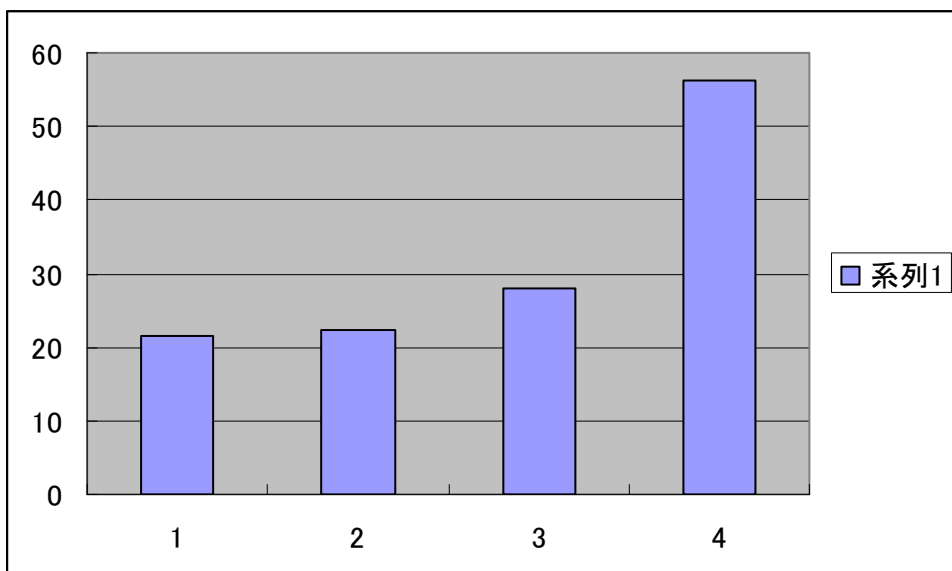
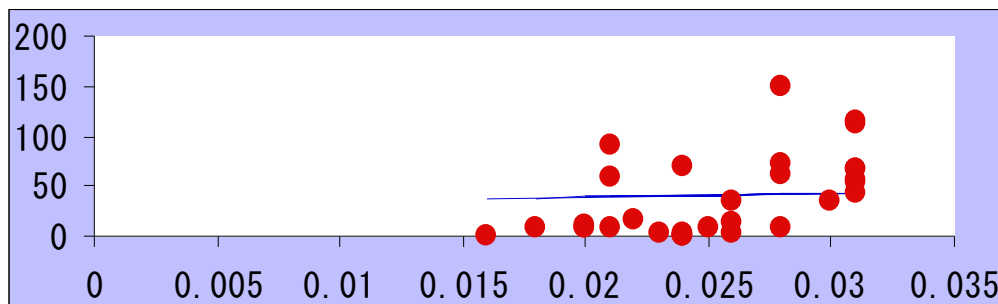


図 5 EBC 中 VEGF と重症度（1：軽症持続型、2：中等症持続型、3：重症持続型、4：最重症型）との関連。最重症型では有意に上昇していた ($p < 0.01$)。

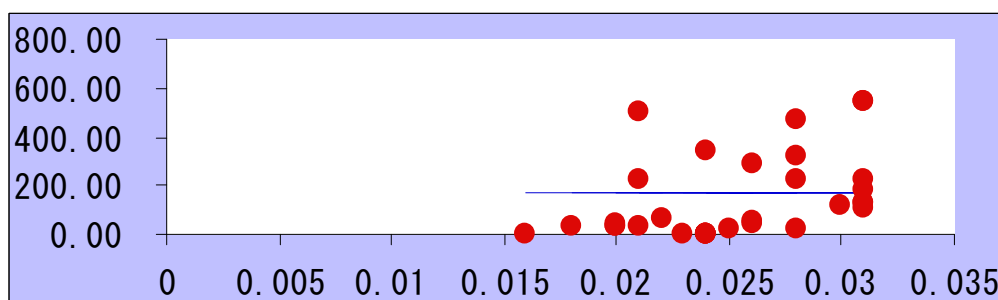
EBC のデータと大気汚染状況との相関関係を見るに当たり、過去の大気汚染曝露という観点からは、直近 1 年間の平均値、直近 1 ヶ月間の平均値、及びリアルタイムの曝露データとして当日のデータを用いた。

ぜん息患者群での大気汚染と気道炎症病態との関連性では、測定 1 か月前の平均 PM10 濃度と各種マーカーとの間に正の相関関係が認められた (図 6)。



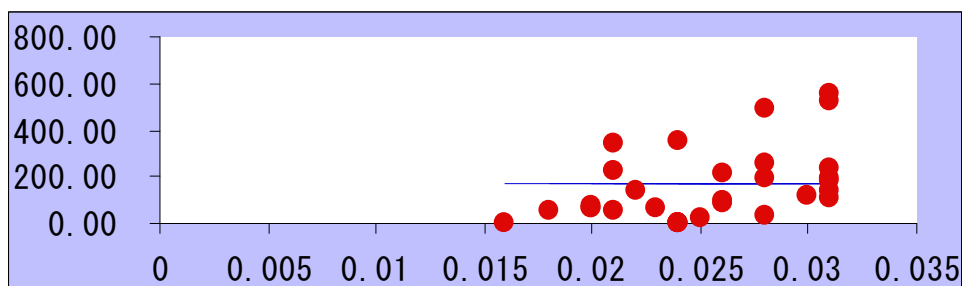
最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度

図 6-1 EBC 中 VEGF と最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度との関連。
有意な関連は認めなかった。



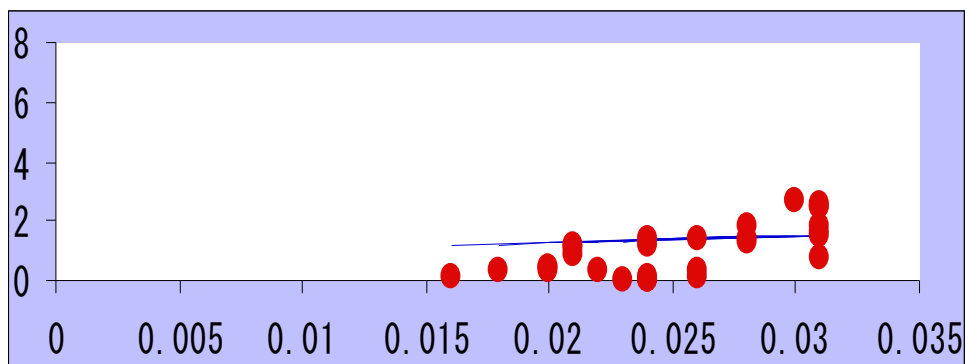
最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度

図 6-2 EBC 中 HGF と最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度との関連。
有意な関連は認めなかった。



最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度

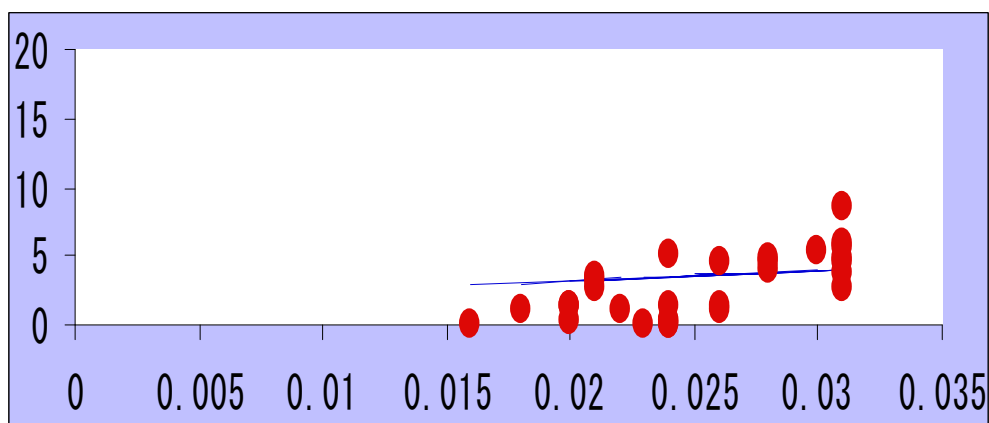
図 6-3 EBC 中 basic FGF と最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度との関連。
有意な関連は認めなかった。



最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度

図 6-4 EBC 中 IL-1RA と最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度との関連。

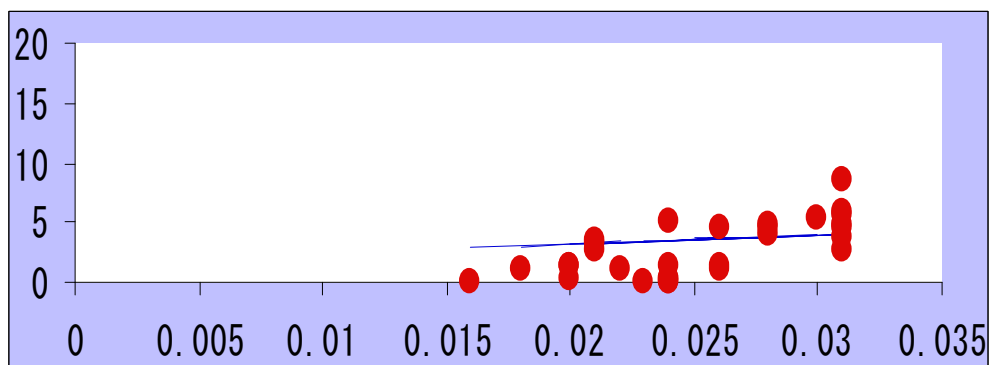
有意な関連は認めなかったがやや正の相関傾向を認めた ($r=0.332834413$, $p=0.062694063$)。



最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度

図 6-5 EBC 中 IL-8 と最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度との関連。

有意な正の相関を認めた ($r=0.423017099$, $p=0.015856026$)。



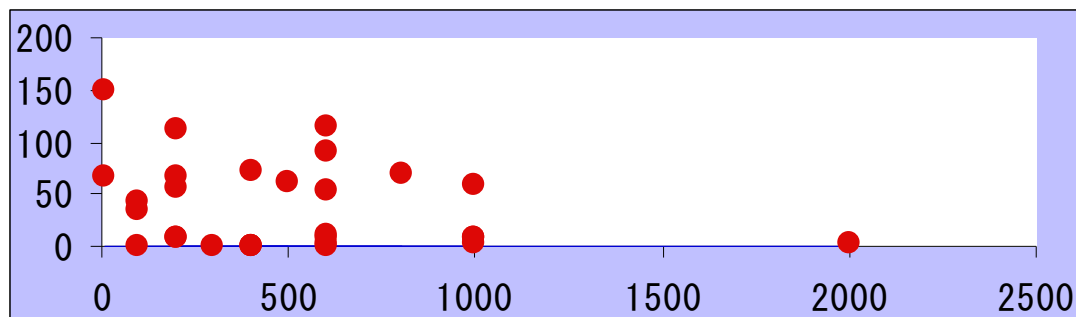
最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度

図 6-6 EBC 中 EGF と最短距離の測定局における 1 ヶ月平均 PM10 濃度との関連。

有意な正の相関を認めた ($r=0.423017099$, $p=0.015856026$)。

一方、1年間の平均値や当日のPM10の測定値とは明らかな関連は認めず、大気中NO₂と気道炎症マーカーとの間にもこのような関連性は認めなかった。

EBC 中 VEGF

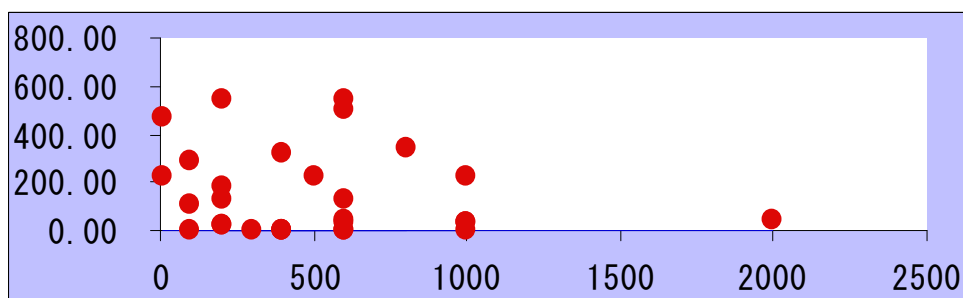


住所地から幹線道路までの距離 (m)

図 7-1 EBC 中 VEGF と住所地から幹線道路までの距離との関連。

有意な関連は認めなかった。

EBC 中 HGF

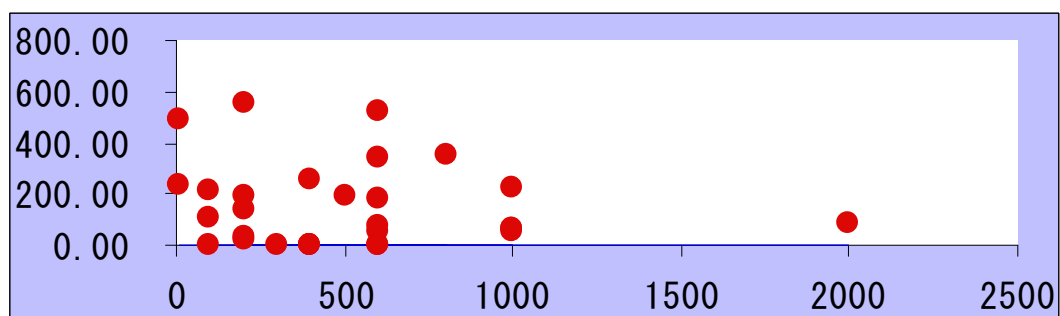


住所地から幹線道路までの距離 (m)

図 7-2 EBC 中 HGF と住所地から幹線道路までの距離との関連。

有意な関連は認めなかった。

EBC 中 basic FGF

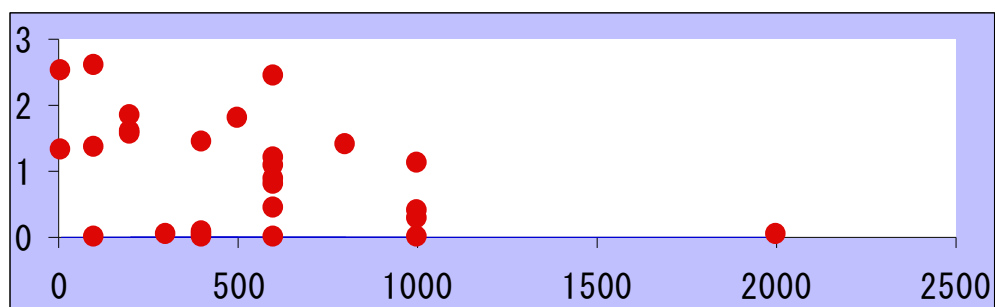


住所地から幹線道路までの距離 (m)

図 7-3 EBC 中 basic FGF と住所地から幹線道路までの距離との関連。

有意な関連は認めなかった。

EBC IL-1RA

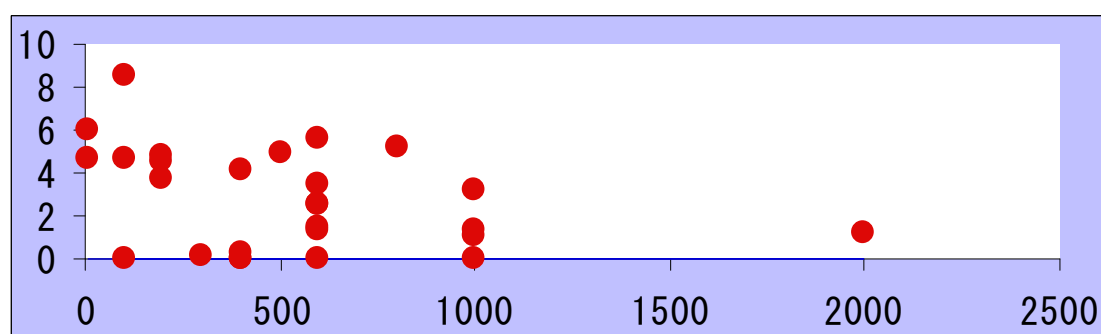


住所地から幹線道路までの距離 (m)

図 7-4 EBC 中 IL-1RA と住所地から幹線道路までの距離との関連。

有意な関連は認めなかった。

EBC IL-8

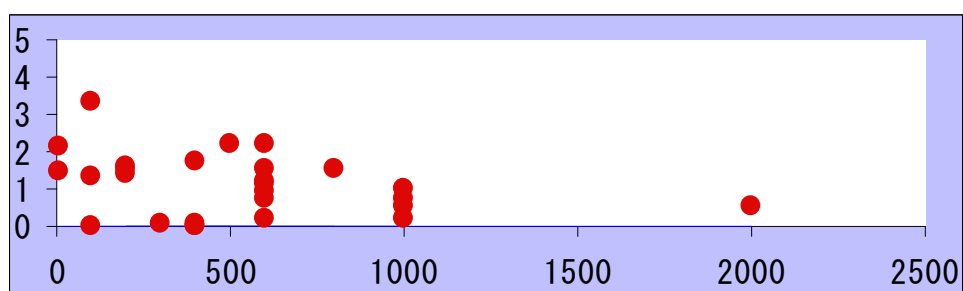


住所地から幹線道路までの距離 (m)

図 7-5 EBC 中 IL-8 と住所地から幹線道路までの距離との関連。

有意な関連は認めなかった。

EBC EGF



住所地から幹線道路までの距離 (m)

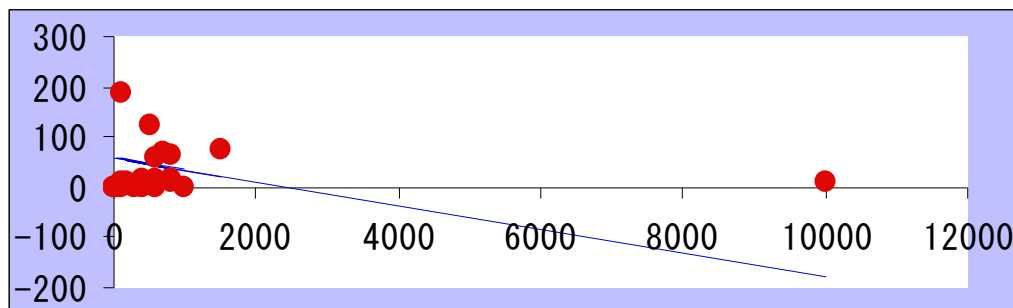
図 7-6 EBC 中 EGF と住所地から幹線道路までの距離との関連。

有意な関連は認めなかった。

以上のように、EBC 中の 6 種類の分子マーカーと住所地から幹線道路までの距離との関連については、有意な関連は認めなかった(図 7)。

3. ぜん息未発症群での検討

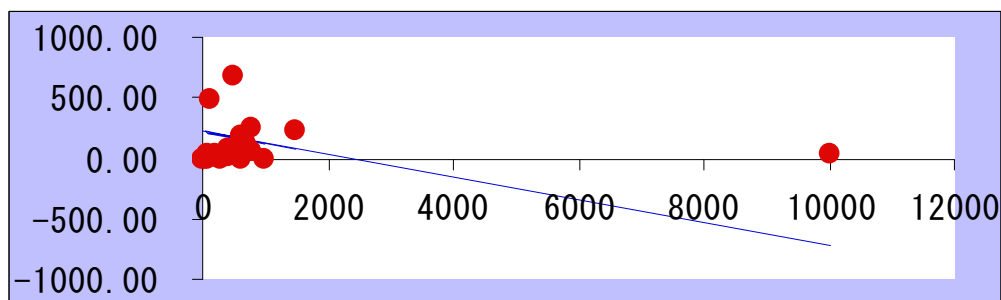
一方、「潜在的なぜん息発症例」を含むと思われる「未発症群」において、幹線道路までの距離との間に有意ではないが、逆相関の傾向が認められた（図 8）。



幹線道路からの直線距離(m)

$r = -0.310401021$, $p = 0.131009169$

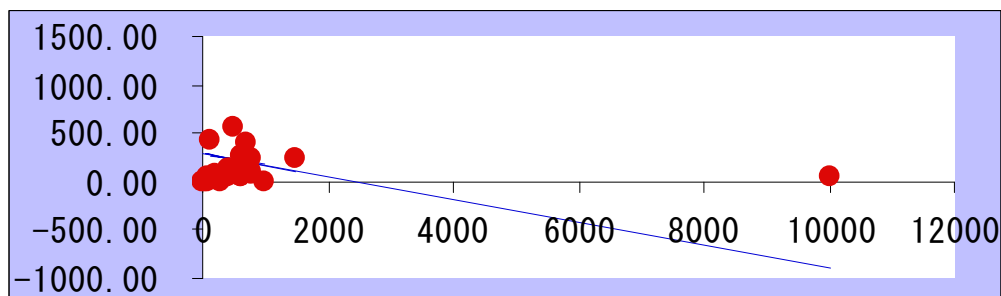
図 8-1 幹線道路からの直線距離(m)と EBC VEGF との相関。有意ではないが距離が近いほど VEGF の値が高い傾向を認めた。



幹線道路からの直線距離(m)

$r = -0.320429416$, $p = 0.118376096$

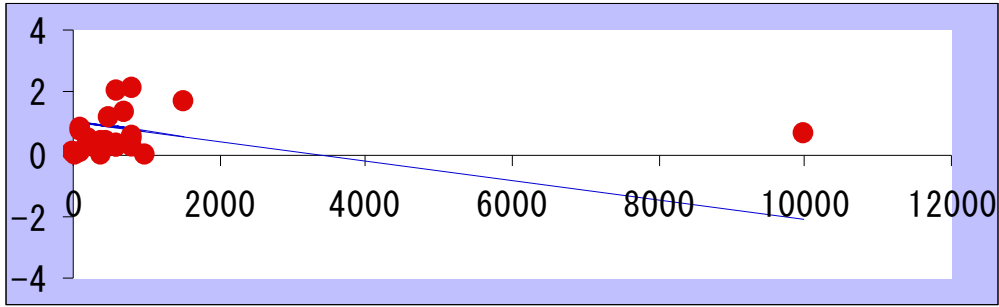
図 8-2 幹線道路からの直線距離(m)と EBC HGF との相関。有意ではないが距離が近いほど HGF の値が高い傾向を認めた。



幹線道路からの直線距離(m)

$r = -0.34108849$, $p = 0.095196853$

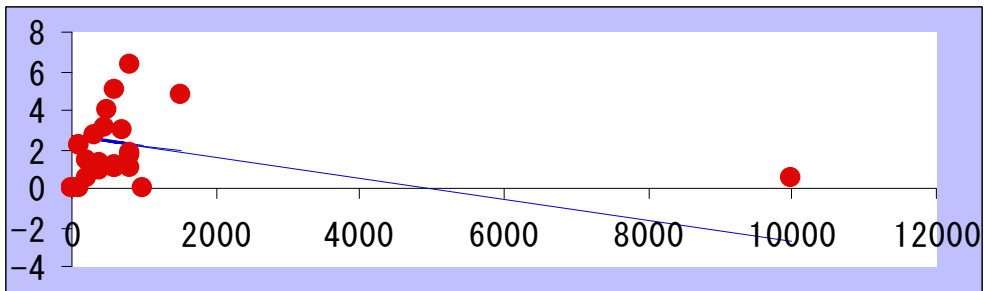
図 8-3 幹線道路からの直線距離(m)と EBC basic FGF との相関。有意ではないが距離が近いほど basic FGF の値が高い傾向を認めた。



幹線道路からの直線距離(m)

$r = -0.242373741$, $p = 0.243075978$

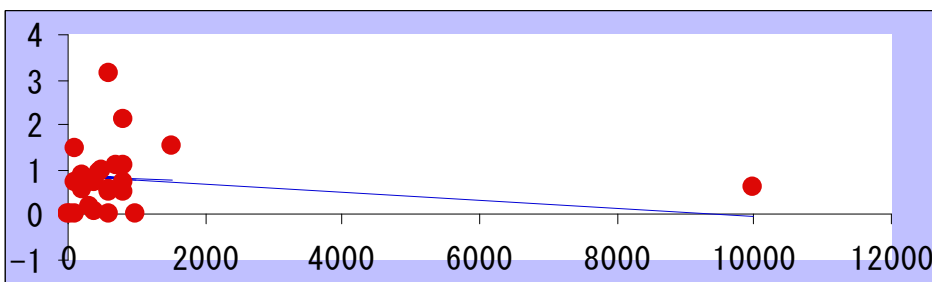
図 8-4 幹線道路からの直線距離(m)と IL-1RA との相関。有意ではないが距離が近いほど IL-1RA の値が高い傾向を認めた。



幹線道路からの直線距離(m)

$r = -0.204595101$, $p = 0.326576786$

図 8-5 幹線道路からの直線距離(m)と IL-8 との相関。有意ではないが距離が近いほど IL-8 の値が高い傾向を認めた。



幹線道路からの直線距離(m)

図 8-6 幹線道路からの直線距離(m)と EGF との相関。有意な関連は認められなかった。

以上のように、ぜん息未発症群においては、EBC 中 6 種類の分子マーカー濃度と幹線道路までの距離との間に、有意ではないが逆相関の傾向があった。特に、basic FGF との間には距離が近いほど上昇する傾向が認められた ($r = -0.34108849$, $p = 0.095196853$)。

しかし、大気汚染データと気道炎症マーカーとの間には明らかな相関関係は認められなかった。以上から、今回の比較的少数例における検討で、EBC の採取とその分子マーカー測定は、個人の気道炎症マーカーとして疫学的研究調査に応用可能であること、さらにぜん息群や潜在的なぜん息群を対象に、大気汚染状況との関連性を調査する新たなツールとして実効性がある事が示された。

5. 考察

EBC の採取は、測定した症例全例で操作はなんら支障なく可能であり、副作用などもまったく認めなかった。所要時間が約 5 分であり安静換気のみなため、今後の疫学調査への応用の可能性が期待される。採取したサンプルのうち約 9 割で 6 種の分子マーカーの測定が可能であり、かつ高感度アッセイ系を用いることにより、きわめて有用性が示唆された。

まず、基礎的検討において、採取量を定量しえたサンプルについて、疾患のあるなし、性別、年齢に関して有意な差はなかった。ただし、検体採取と採取との間隔が密になると、冷却棒の温度が上昇し、結果的に採取量が減少する傾向があり、そのことが採取に失敗する一因になりうると考えられた。今後さらに大規模に一時期に採取する場合の課題と考えられる。

さらに、6 種類の測定データについて、喫煙の影響を検討した。いずれの分子マーカーとも喫煙による有意な差は認められなかった。これは全症例、疾患別について検討しても有意な差はなかった。年齢や性別による影響も全症例、疾患群別に検討した。性別による差についても各マーカーについて比較したが有意な差はなかった。

EBC 中分子マーカーの濃度測定に関する基礎的な確立を目的として、種々の検討を行った。すなわち、年齢による EBC 中分子マーカーへの影響、性別による影響、喫煙の影響、疾患や病態によるさまざまな群の間の比較、各分子マーカー間の相関関係、などについて比較検討した。さらに、気管支ぜん息患者においても、年齢による EBC 中分子マーカーへの影響、性別による影響、各分子マーカー間の相関関係、気管支ぜん息の臨床所見（重症度、治療内容、増悪回数）と EBC 分子マーカーとの関連を検討した。同様の機構について、ぜん息未発症例でも検討した。その結果、ぜん息群で高く、最重症型で高いなどの知見が得られた。

今回認められた EBC 中の各種バイオマーカーの上昇は、ぜん息発症への 1 段階を検知するマーカーとして有用である可能性があり、今後さらに多数例での検討が望まれる。EBC を用いた多数例での調査研究の報告は世界的に見てもほとんどなく、今後わが国において積極的に進展させる価値があるものと考えられた。

続いて、ぜん息患者群での大気汚染と気道炎症病態との関連性ばかりでなく、ぜん息未発症群における気道炎症病態さらにそれらと大気汚染状況との関連性について検討することが出来た。限定的ではあるが、ぜん息群においては、測定 1 か月前の平均 PM10 濃度との間に相関関係が認められた。一方、「潜在的なぜん息発症例」を含むと思われる「未発症群」において、幹線道路までの距離との間に有意ではないが、逆相関の傾向が認められたことも興味深い。

以上から、今回の比較的少数例における検討で、EBC の採取とその分子マーカー測定は、個人の気道炎症マーカーとして疫学的研究調査に応用可能であること、さらにぜん息群や潜在的なぜん息群を対象に、大気汚染状況との関連性を調査する新たなツールとして実効性がある事が示された。今後、さらに新たなバイオマーカーの開発が、ぜん息病態における酸化ストレス状態の検

討、さらには DEP 暴露状況との関係の解明につながる事が予想される。酸化ストレスの候補マーカーとしては、pH, 8-isoprostane, 8-OHdG、malondialdehyde などがあげられ、一方防御因子としては GST-P1 などが想定される。

6. 社会的貢献

呼気凝縮液(EBC)は気管支ぜん息を中心に気道炎症のバイオマーカーとしての有用性が報告され期待されている。しかし、疫学的調査研究に用いられた報告は少なく、特に本調査研究のように大気汚染との関連で検討した報告はほとんど見られない。その意味で今回の検討で、EBC の利用に実効性がみえてきたことは意義深いと思われる。前年度までのヒトボランティアによる呼気濃縮液の採取法に関する予備的検討により、安静換気下での EBC の採取量は、時間とともに増加すること、EBC 採取は、呼吸回数には依存しないこと、サイトカイン群の少なくとも一部は測定可能であったことなどが明らかとなった。また、マウスの実験で高感受性群において上昇が確認された酸化ストレスマーカーである 8-OHdG は、測定可能であった。今年度は、これらの成果をもとに、健常ボランティアでの喫煙の影響の検討とともに、同意を得たぜん息患者および咳などの慢性呼吸器症状を示すものの諸検査によってもいまだぜん息を発症していない群においても採取と測定を実施して、成長因子やサイトカインを測定しえた。今回のデータは諸般の事情により少数例での検討にとどまったが、EBC のバイオマーカーとしての基礎的な検討が行えたこと、さらに一部の分子マーカーではぜん息群で有意に上昇を認めたこと、これらと種々の臨床的指標、さらに大気汚染状況との関連を検討しえたことは、今後の実効的な大気汚染健康被害対策に意義を持つと考えられる。

【まとめ】

DEP の及ぼすぜん息などのアレルギー疾患への影響は、試験管内の検討、動物モデルでの検討を経て、ヒトボランティアでの暴露実験、さらに近年の大規模コホート研究により、ほぼ確立された。こうした科学的根拠と社会的要請に基づいて、諸外国ではすでに PM2.5 の大気環境基準を定めており、わが国においてもようやく設定されようとしている。ぜん息患者群での大気汚染と気道炎症病態との関連性ばかりでなく、ぜん息未発症群における気道炎症病態さらにそれらと大気汚染状況との関連性について検討し、ぜん息群においては、測定 1 か月前の平均 PM10 濃度と気道炎症バイオマーカーとの間に正の相関関係が認められた。一方、「潜在的なぜん息発症例」を含むと思われる「未発症群」において、幹線道路までの距離との間に有意ではないが、逆相関の傾向が認められたことも意義深いものと思われた。

今回の検討では、以上の様々な群において、個人の気道炎症マーカーとして EBC 中の成長因子やサイトカインを用い、数々の臨床指標と比較するとともに、大気汚染との関連を検討するために、各人の住所地に近傍の大気汚染測定データおよび幹線道路からの距離との関連を調べた。その結果、気管支ぜん息群では、1 か月前の平均 PM10 濃度と気道炎症マーカーとの間に有意な正の相関を認めた。本来は PM2.5 との相関を検討したいところであるが、PM2.5 の測定は 2 か所で開始したばかりであり、これは今後の検討課題である。また、潜在的ぜん息群を含むと想定される「未発症の有症状群」において、幹線道路までの距離と気道炎症マーカー濃度との間に逆相関の傾向がみられた。今後、より多数例において、また、より詳細にカテゴリ解析を行えば、潜在的ぜん息群における大気汚染と気道炎症病態との関連性がより明確になる可能性がある。

また、今後分析検討すべき分子マーカーとしては、マウスの実験で高感受性群において上昇が確認された酸化ストレスマーカーである 8-OHdG、そのほかの候補マーカーとしては、pH, 8-isoprostane, 8-OHdG、malondialdehyde などがあげられる。そのほかのぜん息発症と関連性を示唆されているサイトカインなどについても測定項目に加えられるかどうか検討中である。

個人の気道バイオマーカーの測定を通じて、その健康被害への感受性が簡便かつ正確に評価されるようになることが期待される。

【発表学会・論文】

[発表]

学会：

1) Ying-Ji Li, Aki Matsumoto, Hajime Takizawa, Arata Azuma, Tomoyuki Kawada, Isamu Sugawara, and Shoji Kudoh. Mouse Strain Differences in Airway Inflammatory Responses Caused by Long-Time Low-Dose Diesel Exhaust Exposure. 2007 ATS International Conference in San Francisco, 5/18-5/23, California. Poster Discussion session, C26 - Diesel Update.

2) 李英姫、滝澤始、吾妻安良太、菅原勇、幸山正、山内康宏、高橋智、山本雅之、川田智之、工藤翔二. Nrf2 ノックアウトマウスぜん息モデルにおける低濃度ディーゼル排気粒子曝露の気道炎症反応への影響. 第11回アレルギー・気道上皮細胞学術大会 (2007, 12, 8 東京シェーンバッハ・サボー)

3) 李英姫、滝澤始、吾妻安良太、菅原勇、幸山正、山内康宏、高橋智、山本雅之、川田智之、工藤翔二. Nrf2 ノックアウトマウスにおける低濃度ディーゼル排気粒子曝露の気道炎症反応への影響. 第78回日本衛生学会総会 (2008, 3, 28-31 熊本市市民会館)

1) Y. J. Li, H. Takizawa, A. Azuma, I. Sugawara, Y. Yamauchi, T. Kohyama, T. Kawada, S. Kudoh: Mouse Strain Differences in the Generation of Allergic Airway Inflammation by Prolonged Low-Dose Diesel Exhaust Particle Exposure, [Publication Page: A365] American Thoracic Society International Conference, 2008, Toronto

論文：

1. Li YJ, Takizawa H, Azuma A, Kohyama T, Yamauchi Y, Kawada T, Kudoh S, Sugawara I. The Effects of Oxidative Stress Induced by Prolonged Low-Dose Diesel Exhaust Particle Exposure on the Generation of Allergic Airway Inflammation Differ between BALB/c and C57BL/6 Mice.

Immunopharmacol Immunotoxicol. 2008 Sep 12:1-15.

2. 滝澤 始: ディーゼル排気の長期曝露動物モデル. 呼吸器科 2008;14(3): 246-252.

3. Song HM, Jang AS, Ahn MH, Takizawa H, Lee SH, Kwon JH, Lee YM, Rhim TY, Park CS. Yml and Ym2 expression in a mouse model exposed to diesel exhaust particles. Environ Toxicol. 2008 Feb;23(1):110-6.

4. Li YJ, Kawada T, Takizawa H, Azuma A, Kudoh S, Sugawara I, Yamauchi Y, Kohyama T. Airway

inflammatory responses to oxidative stress induced by prolonged low-dose diesel exhaust particle exposure from birth differ between mouse BALB/c and C57BL/6 strains. *Exp Lung Res.* 2008 Mar;34(3):125-39.

5. Li YJ, Takizawa H, Azuma A, Kohyama T, Yamauchi Y, Takahashi S, Yamamoto M, Kawada T, Kudoh S, Sugawara I. Disruption of Nrf2 enhances susceptibility to airway inflammatory responses induced by low-dose diesel exhaust particles in mice. *Clin Immunol.* 2008 Sep;128(3):366-73. Epub 2008 Jul 9.

6. Kohyama T, Yamauchi Y, Takizawa H, Itakura S, Kamitani S, Kato J, Nagase T. Clarithromycin inhibits fibroblast migration. *Respir Med.* 2008 Dec;102(12):1769-76. Epub 2008 Aug 12.

7. Yamaya M, Azuma A, Tanaka H, Takizawa H, Chida K, Taguchi Y, Mikasa K, Kadota J, Kudoh S. Inhibitory effects of macrolide antibiotics on exacerbations and hospitalization in chronic obstructive pulmonary disease in Japan: a retrospective multicenter analysis. *J Am Geriatr Soc.* 2008 Jul;56(7):1358-60.

8. Li YJ, Takizawa H, Azuma A, Kohyama T, Yamauchi Y, Kawada T, Kudoh S, Sugawara I. The Effects of Oxidative Stress Induced by Prolonged Low-Dose Diesel Exhaust Particle Exposure on the Generation of Allergic Airway Inflammation Differ between BALB/c and C57BL/6 Mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2008 Sep 12:1-15. [Epub ahead of print]