

(2) 気管支ぜん息・COPD患者の健康回復に関する調査研究

④客観的指標によるぜん息コントロール状態の評価

気道炎症、気流閉塞、および気道リモデリングに関するそれぞれの客観的指標を用いたぜん息コントロール状態評価法の確立

研究代表者：石 井 幸 雄

【調査研究の概要・目的】

本調査研究では、既存の評価法に、我々が見いだした新規指標を加えることで、喘息患者の気道炎症、気流閉塞から、気道リモデリングの状態まで一括して評価可能な、鋭敏かつ非侵襲的客観評価法の開発を目的に行う。気道上皮の改変状況を反映するE-カドヘリン細胞外ドメイン、コラーゲン新生の程度を反映するプロコラーゲンC末鎖を気道リモデリングの新規指標として利用する。また、気道炎症評価に酸化ストレスやTh2反応に関する緒指標を加えることで、気道炎症のフェノタイプを区別する。肺機能検査に胸部CTによる低吸収領域の定量評価を加えることで、様々なタイプの喘息の気流閉塞評価を行う。これらの指標を経時的に測定し、喘息重症度、発作増悪回数（救急外来受診回数）、治療反応性、予後などの臨床緒指標と対比することで同評価法のバリデーションを行い、多彩な喘息の長期コントロール状態を的確に把握し、健康相談や、薬物治療に活用することを最終目標とする。また、本研究で開発する客観的評価法はディーゼル排気等の大気汚染物質による喘息増悪の影響評価にも利用可能と思われる。

1 研究従事者（○印は研究リーダー）

○石井幸雄	（筑波大学医学医療系）
森島祐子	（筑波大学医学医療系）
橋本健一	（美浦中央病院）
菊池教大	（国立病院機構霞ヶ浦医療センター）

2 平成25年度の研究目的

喘息は気道の慢性炎症、気道狭窄によって特徴づけられる疾患である。一般に気道狭窄は可逆的であるが、長期に気道炎症の持続した喘息患者では気道構築の改変（気道リモデリング）による不可逆性の気道狭窄が加わり、治療難渋の原因となる。従って、長期管理を適切に継続するためには、気道炎症、気道狭窄の評価だけでなく、気道リモデリングを加えた総合的評価が必要である。更に、これらの評価を喘息コントロールに役立てるためには、より軽症の段階でそれぞれの病態を把握できる客観的指標を開発し、早期より治療介入できる体制を確立する必要がある。

今迄の検討で我々は、E-カドヘリンの細胞外ドメイン、およびI型プロコラーゲンのC末鎖(PICP)がいずれも喘息患者の喀痰中に検出され、気道リモデリングの進行に伴い増加することを見いだした。これらを指標に加えることにより気道リモデリングの非侵襲的かつ早期の評価が可能になるものと思われる。サイトカインやケモカインは気道炎症のフェノタイプ形成に中

心的な役割を演じる。喘息の気道炎症に重要であるヘルパーT(Th)細胞由来サイトカイン、向炎症サイトカイン、CCおよびCXCケモカインを測定項目に加え、指標としての有用性を検討する。酸化ストレスは喘息増悪、特に大気汚染物質による喘息増悪に重要であり、気道炎症評価に酸化ストレスの測定を加える。更に本研究では、気道狭窄の評価法として胸部CTを用いた気流閉塞（エアートラッピング）の定量解析を加えることで、肺機能検査に反映されない軽微な気流閉塞、末梢気道の気流閉塞を客観的に評価する。

既存の評価法にこれら一連の新規指標を加えることにより、鋭敏、包括的で、非侵襲的な客観評価法を確立し、喘息の長期管理に役立てることを目的に調査を行う。一般に公害喘息は長期化している患者が多く、気道リモデリングまで含めた評価は公害喘息の病態把握や、治療薬選択に重要であると思われる。また、本研究で検討する評価項目は、上述のごとくディーゼル排気微粒子を始めとした大気汚染物質に由来する喘息増悪の把握にも応用できる可能性がある。

3 平成 25 年度の研究対象及び方法

- 1) 呼吸器内科専門医によって過去または現在に喘息と診断された成人患者のうち、文書で説明し、同意を得られた患者を今回の調査の対象とした。
- 2) 各患者の臨床情報（病歴、喘息罹患年数、喘息治療歴、薬歴、身体所見など）を記録した。
- 3) 各患者の採血データ（血算、生化学検査、総 IgE、特異的 IgE (MAST33) など）を記録した。
- 4) 各患者の肺機能検査（肺活量(VC)、%VC、一秒量(FEV1)、%FEV1、一秒率(FEV1/ FVC)、ピークフロー(PEF))を記録した。さらに気管支拡張剤使用前後で肺機能を測定した患者では同剤使用後の FEV1 改善率を記録した。
- 5) 各患者の呼気一酸化窒素(NO)濃度を NIOX MINO®を用いて測定した。
- 6) 各患者より、アールチューブを用いて呼気濃縮液を採取した。
- 7) 各患者よりラングフルート®を用いて喀痰を採取した。喀痰排出困難な患者では 2%食塩水吸入後の誘発喀痰を採取した。喀痰をジチオトレイトール(DTT)および DNase にて処理した後、遠心し、ペレットは生理食塩水にて洗浄後、細胞数を計測した。細胞をサイトスピンにてスライドグラスに塗布し、好酸球、および好中球分画を計測した。上清はマイクロチューブに分割し、下記の測定に用いた。
- 8) 喀痰上清中 E-カドヘリン細胞外ドメイン、PICP、および I 型コラーゲン-C-テロペプチド(ICTP)の各濃度は特異的抗体を用いた ELISA にて測定した。喀痰中インターロイキン(IL)-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12p40、IL-13、IL-17、インターフェロン(IFN)- γ 、tumor necrosis factor(TNF)- α 、Eotaxin、Monocyte Chemotactic Protein (MCP)-1、Macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α 、RANTES、および transforming growth factor(TGF)- β の各濃度は蛍光ビーズアレイシステム (Millipore) を用い、一括して測定した。
- 9) 呼気濃縮液中の酸化度を Reactive Oxygen Metabolites (d-ROMs)Test、還元度を Biological Anti-oxidant Potential (BAP)Test としてそれぞれ FRAS4 フリーラジカル自動分析装置を用いて測定し、酸化ストレス、抗酸化力の各指標とした。

1 0) 今回の測定値と喀痰好酸球数、肺機能データなど既存の指標との関連を調べ、気道炎症、気流閉塞における各サイトカイン、ケモカインの寄与について検討した。2 群の有意差検定は t 検定で、多群の有意差検定は一元配置分散分析、および Scheffe の検定を用いてそれぞれ行った。2 群の相関はピアソンの相関検定を用いて行った。

1 1) 胸部 CT を撮影された患者ではエアートラッピングの割合 (%エアートラッピング値) の計測による気流閉塞の画像的評価を行った。胸部 CT を吸期・呼期で撮影する。気腫の影響を避けるため評価部位を下肺野に設定し、吸期・呼期の画像を作成した。同部位で明らかな気腫性変化のある症例は CT 評価からは除外した。高分解能アルゴリズムによる 1mm のスライス厚 (120 kVp, 225 mA) の条件で、CT 値-950 HU 以下をエアートラッピング領域と定義した。呼期時 CT 肺野断面におけるエアートラッピング領域の割合を %エアートラッピング値として計測した。これらの結果と肺機能検査より得られた気流閉塞との関連について検討した。

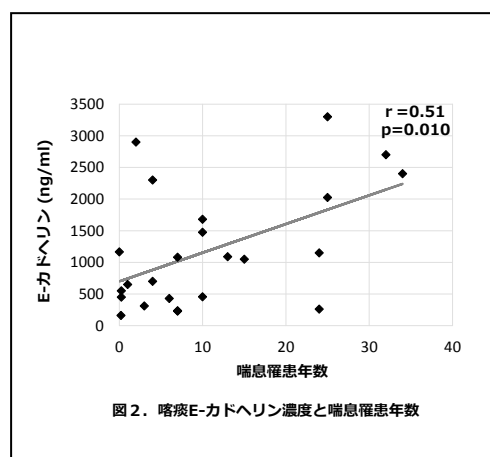
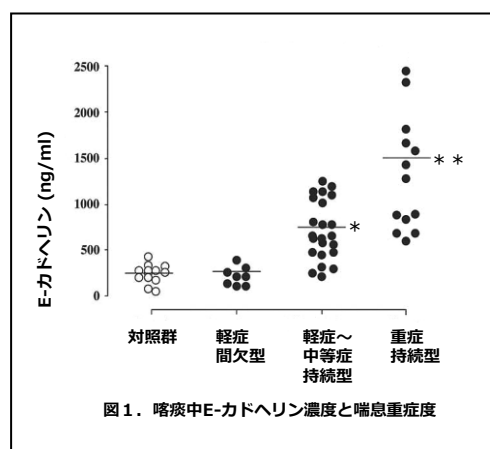
4 平成 25 年度の研究成果

今回の研究において、133 人の喘息患者に対し、のべ 133 回の喀痰採取を行い、21 人の健康成人より対照群として誘発喀痰を採取した。

(1) 喀痰上清中 E-カドヘリン細胞外ドメインについて

カドヘリン (Cadherin) は細胞表面のアドヘレンス・ジャンクションに存在する上皮細胞間の接着分子である。古典的カドヘリン (E-カドヘリン、N-カドヘリン、P-カドヘリン) のうち、気道上皮では E-カドヘリンが発現している。E-カドヘリンは膜貫通型の細胞接着分子であり、その細胞外ドメインが、カルシウム依存的に相互に結合することで細胞接着に関与する。

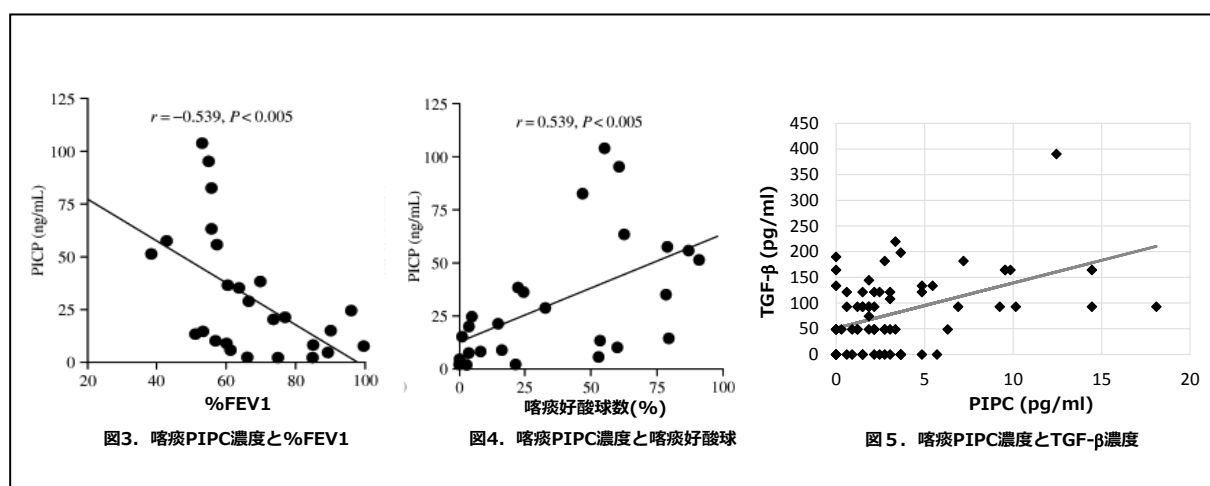
癌化などの上皮細胞の構築異常に伴い、E-カドヘリン細胞外ドメインが切断され、血中などに流出することが知られている。喘息における慢性気道炎症は上皮細胞の傷害やリモデリングと称する構築改変を引き起こす。昨年度までの研究において、喀痰上清中 E-カドヘリン細胞外ドメインは喘息の重症度に一致して増加することを示した (図 1)。軽症間欠型喘息の患者では健康対照群と差を認めなかったが、軽症中等症持続型、重症持続型と重症度が増加するに伴い E-カドヘリン細胞外ドメイン濃度も増加した。喀痰上清中 E-カドヘリン細胞外ドメイン量は罹患年数と正の相関を示し (図 2)、気管支拡張薬使用後の FEV1 増加率と負の相関を示した。ステロイド薬の使用は E-カドヘリン細胞外ドメイン量に影響を及ぼさ



なかった。測定した喀痰中サイトカイン・ケモカイン濃度のいずれとも E-カドヘリン細胞外ドメイン量は相関しなかった。

(2) 喀痰上清中 PICP について

気道の、特に基底膜下の I 型コラーゲン沈着による線維化は気道リモデリングの主要病理変化である。I 型コラーゲンは I 型プロコラーゲンの形で細胞から分泌された後、特異的プロテアーゼにより N 末端、C 末端がそれぞれ切断されることにより形成される。この C 末端の可溶性プロペプチドが PICP であり、コラーゲンと 1:1 の関係であることから、その測定はコラーゲン生成の直接の指標となると考えられる。一方、ICTP は I 型コラーゲンの可溶性分解産物であり、骨吸収や悪性腫瘍骨転移のマーカーとして臨床応用されている。PICP はコラーゲン生成の、ICTP はコラーゲン分解のそれぞれ指標と考えられるため、喘息気道におけるコラーゲン代謝を検討する目的で喀痰上清中の PIPC および ICTP 濃度を測定した。昨年までの研究において、喀痰中 PIPC 濃度は喘息患者では健常対照群に比べ有意に高値であり、%FEV1 と負の相関を、喀痰好酸球数と正の相関を示した (図 3, 4)。更に喀痰上清中 PIPC 濃度は喀痰中 TGF- β 濃度と正の相関を示した (図 5)。



(3) 喀痰上清中サイトカイン、ケモカインについて

喘息の病態形成にはマクロファージ、リンパ球、好酸球、好中球など様々な炎症細胞が関与し、上皮細胞を含めたそれぞれの細胞がサイトカインを中心とした液性因子で互いを調節している。これら細胞より産生されるサイトカイン、ケモカインとして Th サイトカイン、向炎症サイトカイン、免疫調節性サイトカイン、CC および CXC ケモカインが含まれる。今回の検討では Th1 サイトカインとして IFN- γ および IL-12p40、Th2 サイトカインとして IL-4、IL-5、IL-9 および IL-13、Th17 サイトカインとして IL-6 および IL-17、向炎症サイトカインとして IL-1 β および TNF- α 、免疫調節性サイトカインとして IL-2 および IL-10、CXC ケモカインとして IL-8、CC ケモカインとして Eotaxin、MCP-1、MIP-1 α および RANTES、さらに上述の TGF- β を含めた 18 サイトカイン・ケモカインについて一括解析した。

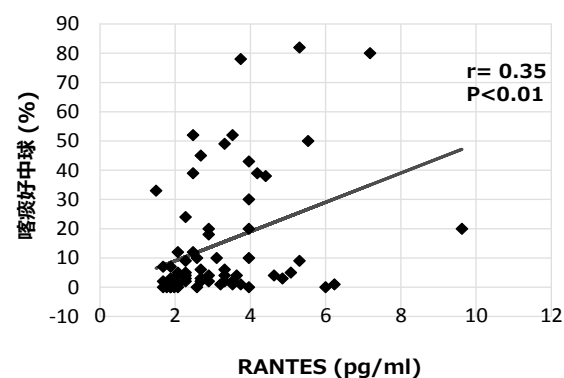
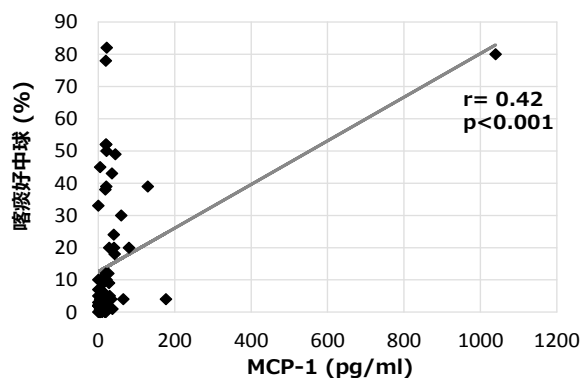
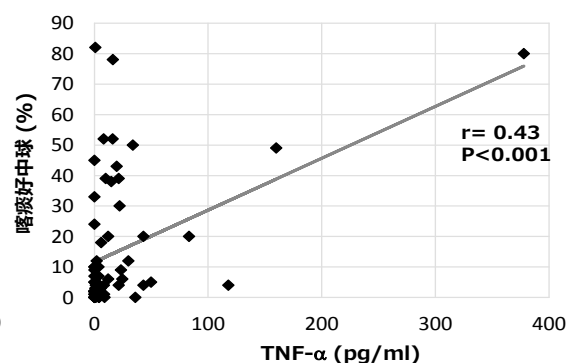
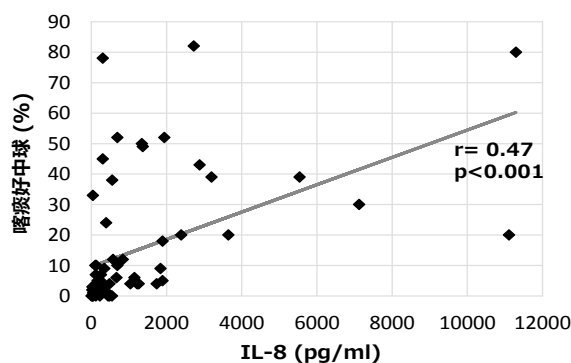
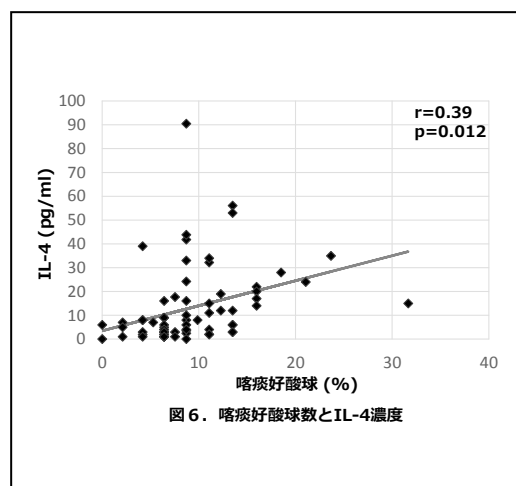
(3) -① 気道炎症との関連について

初めに気道炎症のフェノタイプとそれに関連するサイトカイン、ケモカインとの関連を調べ

た。好酸球性気道炎症に関て、測定したサイトカイン、ケモカインのうち、IL-4 のみが喀痰好酸球数と、有意な正の相関を認めた (図 6)。今回の解析では IL-5 や、Eotaxin、RANTES、MCP-1 などの CC ケモカインと好酸球数の間に有意な相関を認めなかった。

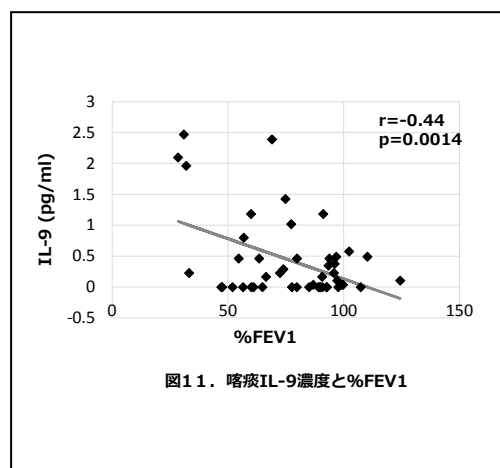
喘息患者の喀痰では好酸球のみならず、好中球の増加も認められた。喀痰好酸球数と好中球数の間に有意な相関は認めず、それぞれは別個の因子で制御されている可能性が示唆された。喀痰 IL-8、TNF- α 濃度は喀痰好中球数と有意な正の相関を認

めた (図 7, 8)。上述の MCP-1, RANTES 濃度はむしろ喀痰好中球数との間に有意な相関を示し (図 9, 10)、これらの CC ケモカインと好中球性炎症との関連は今後症例を増やして確かめる必要があるものと思われた。最近、好中球性炎症に関与することが報告されている Th17 サイトカイン (IL-6, IL-17) の各濃度は、今回の解析では喀痰好中球濃度と有意な相関を示さなかった。



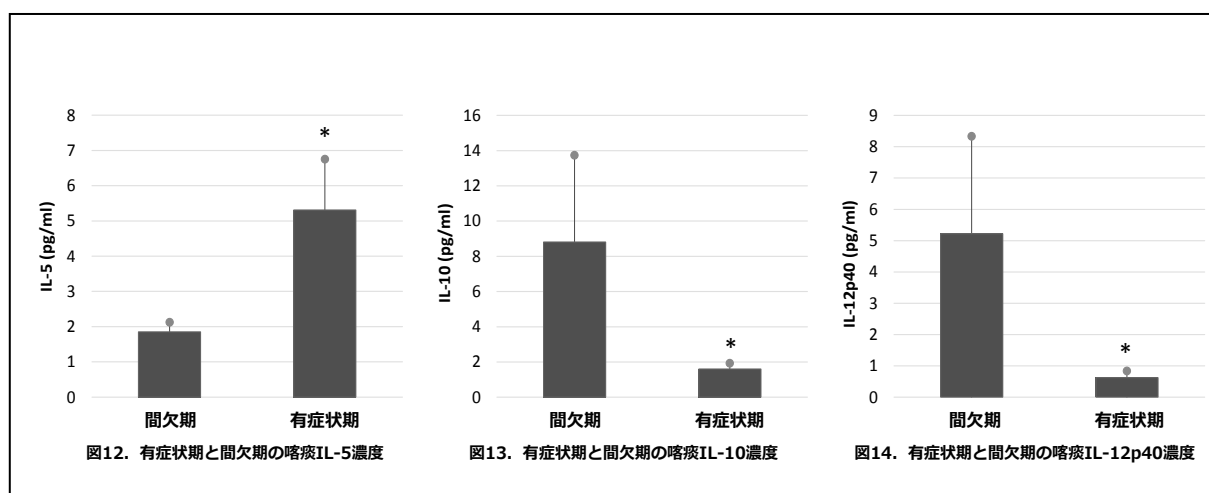
(3) -② 気流閉塞との関連について

%FEV1 を気流閉塞の指標とし、これと関連するサイトカイン、ケモカインを検索した。初めに%FEV1 と喀痰好酸球数、喀痰好中球数との関連を調べたが、両者には有意な相関は見られず、気流閉塞と気道炎症は必ずしもパラレルな事象ではないものと思われた。測定したサイトカインのうち、IL-9 が%FEV1 と有意の逆相関を示した (図 11)。また、Th2 サイトカインである IL-4, IL-5, および IL-13 各濃度は%FEV1 と軽度の ($r=0.35\sim0.39$) 逆相関を示した。



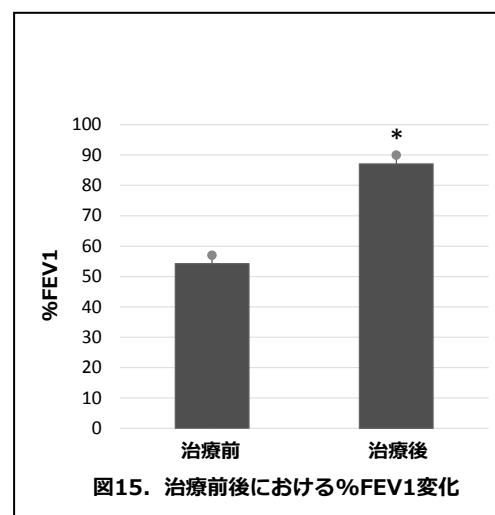
(3) -③ 喘息症状との関連について

呼吸困難や喘鳴などを呈する症例と間欠期の症例との間で、これに関連するサイトカイン、ケモカインを検索した。有症状期には間欠期に比べ、喀痰中 IL-5 濃度の有意な増加を認めた (図 12)。一方で、IL-10 や IL-12p40 各濃度は間欠期に比べ有症状時に有意な低下を認めた (図 13, 14)。

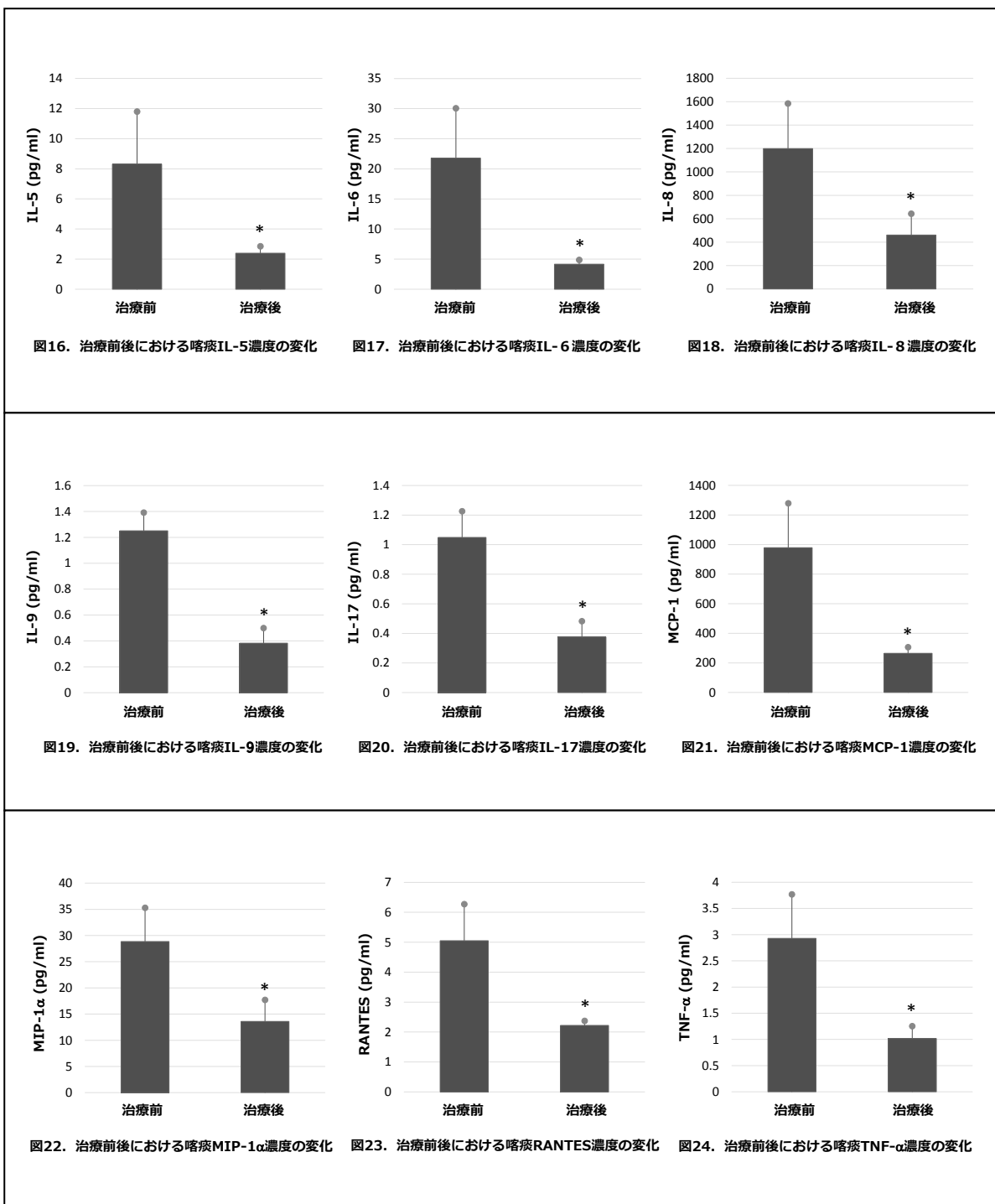


(3) -④ 治療との関連について

治療前後で喀痰を採取し得た症例において、治療に伴い変動するサイトカイン、ケモカインを検索した。治療症例は全てで吸入ステロイド薬、あるいは吸入ステロイド薬を含む配合剤が使用されていた。これらの治療後に%FEV1 は有意に改善し、治療による気流閉塞の改善は確認されたが (図 15)、喀痰好酸球数は治療経過の長い症例では低下を認めたものの、短い症例では有意な変化が見られず、全体として好酸球数は有意な改善を示さなかった。治療後に IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-17, MCP-1,



MIP-1 α , RANTES, および TNF- α 各濃度の有意な低下を認めた (図 16～図 24)。尚、E-カドヘリン細胞外ドメイン、PIPC, TGF- β 各濃度は治療前後で有意な変化を示さなかった。



(4) 酸化ストレスの指標について

採取された呼気濃縮液に対し、酸化ストレスの指標として d-ROM 値を、抗酸化力 BAP 値をそれぞれ測定した。いずれの検体でも検出限界前後の数値であり、重症度別、ステロイド薬治療前後の検体の間に有意な変化を認めなかった。また、呼気濃縮液のサイトカイン、ケモカイン

濃度を蛍光ビーズアレイシステムを用いて測定したが、いずれのサイトカインも検出限界以下であった。

(5) 胸部 CT における気流閉塞評価について

前述の条件で検出される胸部 CT 画像におけるエアートラッピング領域を可視化した。COPD 患者における気腫病変を示す、いわゆる Low attenuation area が面状に見えるのに対し（図 25、左）、喘息症例における末梢気道エアートラッピング領域は微細な点状に認められた（図 25、右）。喘息、咳喘息、および感染後咳嗽の各症例で%エアートラッピング値を測定してみると、喘息および咳喘息症例では感染後咳嗽患者、および健常者に比べ、有意な%エアートラッピング値の増加を認めた（図 26）。咳喘息症例では気管支拡張薬使用後に VC や FEV1 値の増加とともに%エアートラッピング値の顕著な減少を認めたが、喘息症例では%エアートラッピング値の短時間での改善は認めなかった（図 27）。

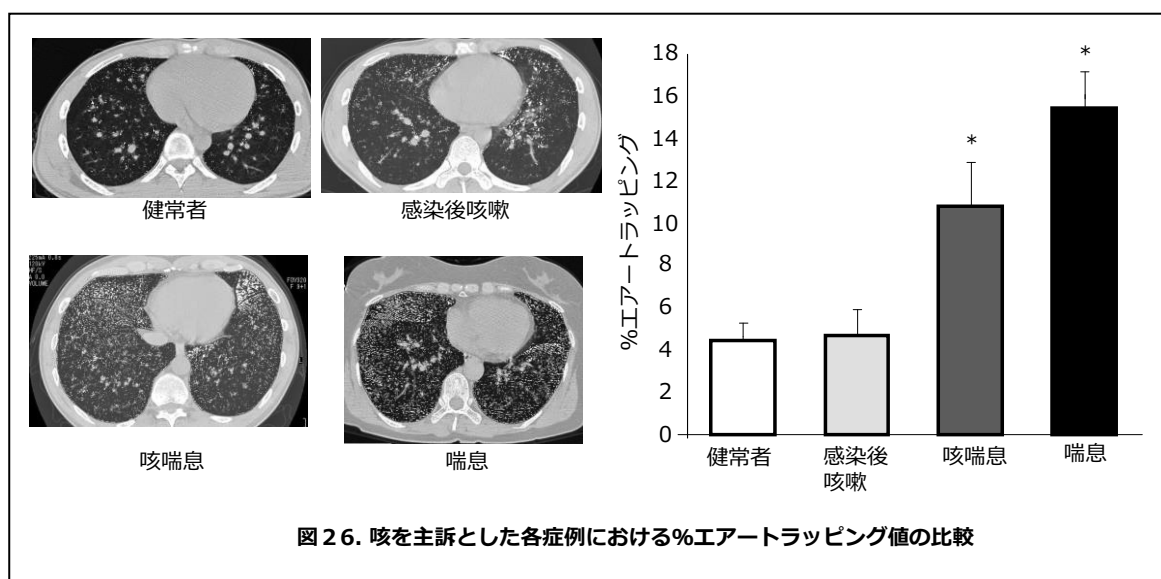
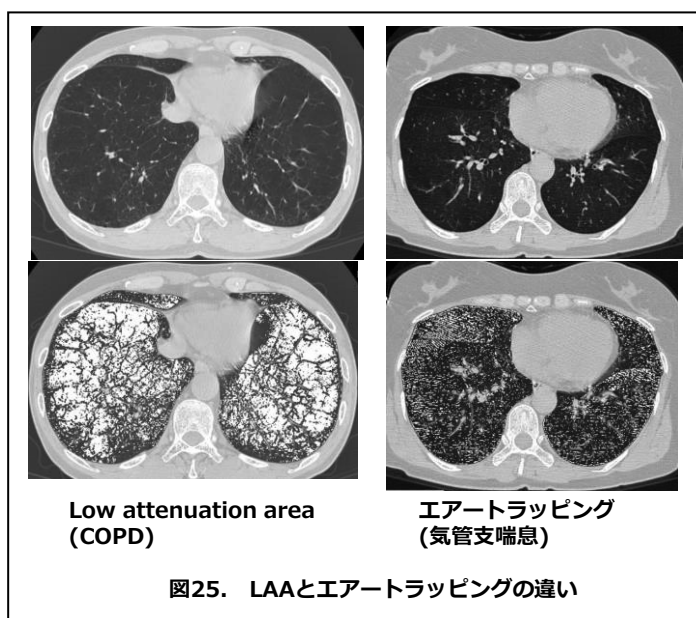


図27. 咳喘息と気管支喘息における気管支拡張薬使用前後の%エアートラッピング値の変化	咳喘息		
		気管支拡張薬前	気管支拡張薬後
	VC (ℓ)	2.90	3.68
	FVC (ℓ)	2.88	3.33
	FEV1 (ℓ)	2.75	3.19
	FEV _{1%} (%)	95.48	95.79
	% air-trapping	13.3	7.0
	気管支喘息		
		気管支拡張薬前	気管支拡張薬後
	VC (ℓ)	2.26	2.47
	FVC (ℓ)	2.07	1.91
	FEV1 (ℓ)	1.86	1.87
	FEV _{1%} (%)	89.85	97.90
	% air-trapping	17.1	18.3

気道リモデリングは持続的な炎症によって生じる気道構築の改変であり、基底膜下の線維化、気道平滑筋増生、杯細胞過形成、血管新生を病理学的特徴とする。気道壁の肥厚と内腔の狭窄により気流閉塞不可逆化の原因となる。気道壁の肥厚は重症であるほど顕著であり、喘息発症年齢が若いほど、罹患年数が長いほどその程度は強くなる。

喘息患者における喀痰 E-カドヘリン細胞外ドメイン量は重症度が高い症例ほど、罹患年数が長い症例ほど、さらには気管支拡張薬の効果が低い症例ほど高値であった。一方、E-カドヘリン量は喀痰好酸球数や%FEV1 値と相関せず、また抗炎症薬であるステロイド薬の影響を殆ど受けなかった。以上より気道に遊離した E-カドヘリン細胞外ドメインは気道炎症などの短時的変化でなく、気道リモデリングなどの長期の変化を反映するものと考えられた。E-カドヘリン細胞外ドメイン切断はリモデリングの過程で生じたものと考えているが、上皮細胞の接着に異常があると気道リモデリングを生じやすいとの報告もあり、喘息患者における E-カドヘリンの質的異常について今後検討していきたい。

PICP は I 型コラーゲン産生の直接の指標であり、気道におけるその増加は気道壁におけるコラーゲン産生、すなわち気道リモデリングの直接の指標と思われる。今回の研究では、喀痰 PICP 濃度は fibrogenic cytokine である TGF-β濃度と相関したが、それ以外に気流閉塞の程度や、好酸球炎症の程度とも相関した。好酸球は細胞傷害性蛋白の放出により喘息気道における上皮傷害を引き起こすことが知られている。上皮傷害の強い気道では TGF-βを介したコラーゲン産生による気道修復が生じており、これらが長期化すると気道リモデリングを引き起こす。PICP の増加はこれら一連の過程が亢進していることを示しているものと考えられた。興味深いことに喀痰中 PICP 濃度と E-カドヘリン細胞外ドメイン濃度には相関を認めず、両者の増加はそれぞれ気道リモデリングを反映するものの、その生成は別のメカニズムによるものと考えられた。従って、これらを指標として組み合わせることで、気道リモデリングをより特異的かつ非侵襲的に診断できる可能性が示唆された。

好酸球性気道炎症は喘息における気道炎症フェノタイプの基本であり、Th2 サイトカインや好酸球遊走因子である CC ケモカインが関与すると言われている。今回の解析では喀痰好酸球と関連したのは IL-4 のみであり、他の Th2 サイトカイン、CC ケモカインとの相関は認めなかった。好酸球自体は操作で壊れ易かったり、治療に影響されやすい。今後解析の症例条件をそろえたり、Eosinophil cationic protein や Eosinophil peroxidase などの液性因子を測定することで結果の妥当性を検証していきたい。一方で、喀痰好中球数と IL-8、MCP-1、RANTES、TNF- α 濃度が相関を示した。好中球性気道炎症はステロイド抵抗性喘息の重要な気道炎症フェノタイプである。CXC ケモカインである IL-8 は代表的な好中球遊走因子であり、好中球性炎症との関連は予期された結果でもあった。近年の報告では IL-17 を中心とした Th17 反応や、TNF- α 、NF- κ B による転写調節系が IL-8 の産生誘導の主な経路と考えられている。今回の解析からは、喘息気道においては IL-17 経路より TNF- α 経路による IL-8 産生がより優位であることが推測された。

今回呼気濃縮液を解析したが、酸化度、還元度ともに有意な結果が得られず、測定した全てのサイトカインが検出限界以下であった。呼気濃縮液自体は喀痰より採取が簡単であり、非侵襲的評価という本研究の趣旨に合致するものである。アールチューブにより採取された呼気濃縮液は更なる濃縮の余地があるので、今後超濃縮液を用いることで測定検体として利用できるか今一度その可能性を追求したい。

喘息、COPD 患者における%LAA の検討は他にもなされている。喘息では CT 値の設定、測定領域、喫煙の有無で結果が異なっているため、40 歳以下の喘息症例を喫煙者、非喫煙者に分けて%エアートラッピング値を比較してみたが、両者に有意な差は認めず、喫煙だけでは%エアートラッピング値に影響を与えないものと思われた。1 秒率が正常範囲の喘息、咳喘息症例でも%エアートラッピング値の増加を認める症例があり、気流閉塞の把握に関して肺機能検査よりも鋭敏かつ視覚的な指標と考えられた。今回の研究と主旨は異なるが、%エアートラッピング値は喘鳴がすぐには確認できない状況の気管支喘息の把握、喘息・咳喘息と感染後咳嗽の鑑別、更には喘息と咳喘息との鑑別に有用である可能性も示唆された。

5 調査研究の総括

(1) 各年度の目標 (計画)

【平成 24 年度】

当該年度は実質研究期間が短いことから、症例、および検体の集積を第一の目標にした。呼吸器内科専門医によって過去または現在に喘息と診断された成人患者のうち、文書で説明し、同意を得られた患者を本研究の調査対象として登録するものとした。各患者の診療録より臨床記録、検査所見を記録することとした。各患者で呼気 NO 濃度を測定、記録することを目標とした。各患者より喀痰を採取し、処理後、喀痰中細胞数、細胞分画を測定することを目標とした。喀痰上清は使用時まで-80℃で保存することとした。胸部 CT を用いた気流閉塞評価の予備検討を行うこととした。

【平成 25 年度】

喀痰検体 100 例以上の採取を目標に症例、および検体の集積を引き続き行うこととした。喀痰上清中の喀痰中のサイトカイン、ケモカイン濃度をイムノアッセイや蛍光ビーズアレ

イシステムを用いて測定することとした。呼気濃縮液、ないしは喀痰上清中の酸化度を d-ROM test、還元度を BAP test でそれぞれ測定し酸化ストレスの評価を試みることとした。胸部 CT を撮影された患者では % エアトラッピングを指標とした気流閉塞の画像的評価を行うこととした。これらの結果と既存指標からみた気道炎症、気道狭窄、およびリモデリングとの関連から新規指標としての有用性を検討することとした。

(2) 研究成果

【平成 24 年度】

具体的調査項目および調査法について研究班員で検討を重ね、記録票を作成した。各班員により対象症例を集積し、記録票に基づいたデータおよび検体採取を行った。予備研究として、E-カドヘリンの細胞外ドメインが喘息患者の喀痰中に検出されること、喀痰中 E-カドヘリン濃度、およびプロコラーゲン C 末鎖が気道リモデリングの進行に伴い増加することを確認した。また、幾つかの症例で胸部 CT を用いた気流閉塞（エアトラッピング）の定量解析を行い、肺機能検査の結果と比較した。

【平成 25 年度】

平成 24 年度より引き続き対象症例を蓄積し、100 例以上の喀痰検体採取を達成した。作成した記録票に基づき、対象症例の臨床記録、検査所見を収集した。採取した喀痰中の E-カドヘリン濃度、プロコラーゲン C 末鎖濃度、向炎症性サイトカイン濃度、Th1/Th2/Th17 サイトカイン濃度、およびケモカイン濃度を測定し、気道炎症、気道狭窄、およびリモデリングとの相関を検討した。喀痰を複数回採取した症例では発作/間欠期やステロイド治療前後で測定を行い、症状や治療との関連を明らかにした。採取した呼気濃縮液に対しても同様にサイトカイン、ケモカイン濃度を測定するとともに、上述の酸化ストレス評価を試みた。胸部 CT を用いた気流閉塞（エアトラッピング）の定量解析は症例を増やし、肺機能検査の結果と比較した。一連の結果は本要旨に記載した。

6 期待される活用の方向性

今回用いた蛍光ビーズアレイシステムは微量検体で 20 種類程度のサイトカイン濃度の一括測定が可能であり、臨床検体など量に限りのある試料の測定に有用であると思われた。今回の検討により気道炎症、気道狭窄、およびリモデリングと相関を有するタンパクが喀痰中に複数認められた。またステロイド治療の前後で好酸球の変化に先んじて変化したタンパクも複数認められた。今後も研究を継続し症例、検体を更に蓄積し、測定項目を増やすことで各病態を的確に反映する、あるいは治療効果を鋭敏に反映する喀痰中バイオマーカーの確立を目指したい。得られたバイオマーカーを用いて喘息状態を把握することは、治療方針の決定、健康相談等、喘息の治療、予防に活用可能と思われる。

今回採取した呼気濃縮液は上述の如く酸化ストレスマーカーは検出限界付近、サイトカイン濃度は全て検出限界以下であったが、アールチューブにより採取された呼気濃縮液は更なる濃縮の余地があるので、今後超濃縮液を用いることで測定検体として利用できるか今一度その可能性を追求したい。呼気濃縮液自体は喀痰より採取が簡単であるため、同液中の酸化ストレス

マーカーやサイトカイン濃度が測定可能になれば、非侵襲的評価という本研究の趣旨に更に合致する。PM2.5 やディーゼル排気微粒子などの大気汚染物質は酸化ストレスを誘導することで喘息を悪化させることが知られている。呼気超濃縮液による酸化ストレスの測定はこれら大気汚染物質に起因する喘息増悪の把握にも応用できると思われる。

胸部CTにおける%エアートラッピング値の測定は喘鳴がすぐには確認できない状態の喘息の把握、喘息・咳喘息と感染後咳嗽の鑑別、更には喘息と咳喘息との鑑別に有用である可能性が示唆された。今後咳喘息などの周辺疾患の症例を蓄積し、これらの鑑別や、喘息の長期管理に役立てていきたい。

【学会発表・論文】

(学会発表)

1. 橋本 健一, 菊池 教大, 森島 祐子, 石井 幸雄. 胸部CTにおいてエアートラッピングを呈した症例の検討. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013年11月、東京
2. 石井 幸雄, 森島祐子. Th1/Th2細胞バランスによって制御される気道炎症. 第53回日本呼吸器学会学術講演会 2013年4月、東京
3. 阿野 哲士, 森島 祐子, 石井 幸雄, 大塚 茂男, 松山 政史, 中澤 健介, 川口 未央, 坂本 透, 檜澤 伸之. OVA誘導性好中球性気道炎症に対する抗IL-6受容体抗体の抑制効果に関する検討. 第53回日本呼吸器学会学術講演会 2013年4月、東京
4. 藤田 純一, 川口 未央, 國分 二三男, 松倉 聡, 黒川 真嗣, 太田 恭子, 阿野 哲士, 金子 美子, 森島 祐子, 石井 幸雄, 坂本 透, 佐藤 浩昭, 檜澤 伸之. 気道平滑筋細胞からのIL-17FによるIL-6、IL-8産生. 第62回日本アレルギー学会秋季学術大会 2012年11月、大阪

(論文)

1. Morishima Y, Ano S, Ishii Y, Ohtsuka S, Matsuyama M, Kawaguchi M, Hizawa N. Th17-associated cytokines as a therapeutic target for steroid-insensitive asthma. Clin Dev Immunol. 2013;609395.
2. Ano S, Morishima Y, Ishii Y, Yoh K, Yageta Y, Ohtsuka S, Matsuyama M, Kawaguchi M, Takahashi S, Hizawa N. Transcription factors GATA-3 and ROR γ t are important for determining the phenotype of allergic airway inflammation in a murine model of asthma. J Immunol. 2013; 190:1056-65.