

分野：（１）小児・成人ぜん息に関する調査研究

調査研究課題名：③ 重症ぜん息患者の増悪予防策

委託業務名：表現型別のぜん息増悪因子の同定と長期予後の解析

研究代表者：長瀬 洋之（帝京大学）

【第13期環境保健調査研究の概要】

ぜん息の表現型には多様性があり、血中好酸球数や呼気一酸化窒素濃度（FeNO）で表現されるType 2 high ぜん息と、Type 2 low ぜん息とに大別される。表現型の中では、2021年度の検討で最も増悪が多かったのは、Type 2 low 群であった。そこで、第13期の研究目的は、Type 2 low ぜん息に重点をおいて病態解明と増悪対策を検討することとした。Type 2 low 群を多く含む新規2020コホートを形成し、以下の検討を行うこととした。

Type 2 low ぜん息にもコントロール良好群と不良群が存在する。まず、その多様性についてクラスター解析を用いて検討し、同定されたコントロール不良群の背景病態を解析することで、増悪抑制の方策を立案する。また、生物学的製剤も5種まで増加した現在、2020コホートにおける治療実態の現状を把握し、方策の立案につなげる。

増悪関連因子や呼吸機能経年低下に寄与する因子の同定は、正確な臨床的な予後予測のために重要であり、将来の治療標的の同定につながる可能性もある。第12期研究で同定した、テネイシン-C、IL-6等の増悪関連マーカーの検証を2020コホートで行い、臨床応用の可能性を探る。

また本調査研究は、第11期から8年に渡り表現型別の増悪頻度を追跡できている点特徴的である。COVID-19関連の社会的制限も緩和されつつあり、経時変化の検討を継続する。

探索的な検討として、HRCTにおけるリモデリング関連指標と表現型やバイオマーカーとの関連の検討を行い、表現型別のリモデリング病態解明を予定する。新規好酸球関連マーカーとしてGalectin-10、Type 2 low ぜん息関連マーカーとして、呼気硫化水素（H₂S）の臨床的有用性に関する検討も行う。

1 研究従事者（○印は研究代表者）

- 長瀬 洋之（帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー学 教授）
- 東田 有智（近畿大学病院 病院長）
- 相良 博典（昭和大学病院 病院長）
- 檜澤 伸之（筑波大学医学医療系 呼吸器内科 教授）
- 鈴川 真穂（独立行政法人国立病院機構東京病院 喘息・アレルギー・リウマチセンター 医長）
- 斎藤 純平（福島県立医科大学 医学部呼吸器内科 講師）
- 井上 博雅（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科・呼吸器内科 教授）
- 原田 紀宏（順天堂大学医学部 呼吸器内科学講座 准教授）
- 中村 裕之（金沢大学 医薬保健研究域医学系環境生態医学・公衆衛生学 教授）
- 植木 重治（秋田大学大学院医学系研究科医学専攻 病態制御医学系
総合診療・検査診断学講座 教授）
- 小林 このみ（帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー学 助手）

2 研究目的

ぜん息の予後と関連する因子の同定は、その長期経過を改善するために重要である。ぜん息病態は、血中好酸球数や呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) で示される 2 型炎症を有する Type 2 high ぜん息と、Type 2 low ぜん息とに大別される。表現型によって病態は異なり、現状の生物学的製剤は Type 2 high ぜん息を治療対象としているため、表現型別の管理指針が必要である。

本研究は 2017 年に第 11 期調査研究として開始され、表現型によって増悪の動向や増悪寄与因子が異なることを明らかにし、増悪寄与因子として CRP, TGF- β , テネイシン-C, IL-6 を同定した。

2021 年は、COVID-19 対応の影響でいずれの表現型でも増悪は減少したが、最も増悪が多く残存した群は Type 2 low 群であった。そこで、第 13 期の研究目的は、Type 2 low 群に重点をおいて病態解明と対策を検討することとした。この目的のために、Type 2 low 群を多く含む新規 2020 コホートを形成し、以下の検討を行うこととした。

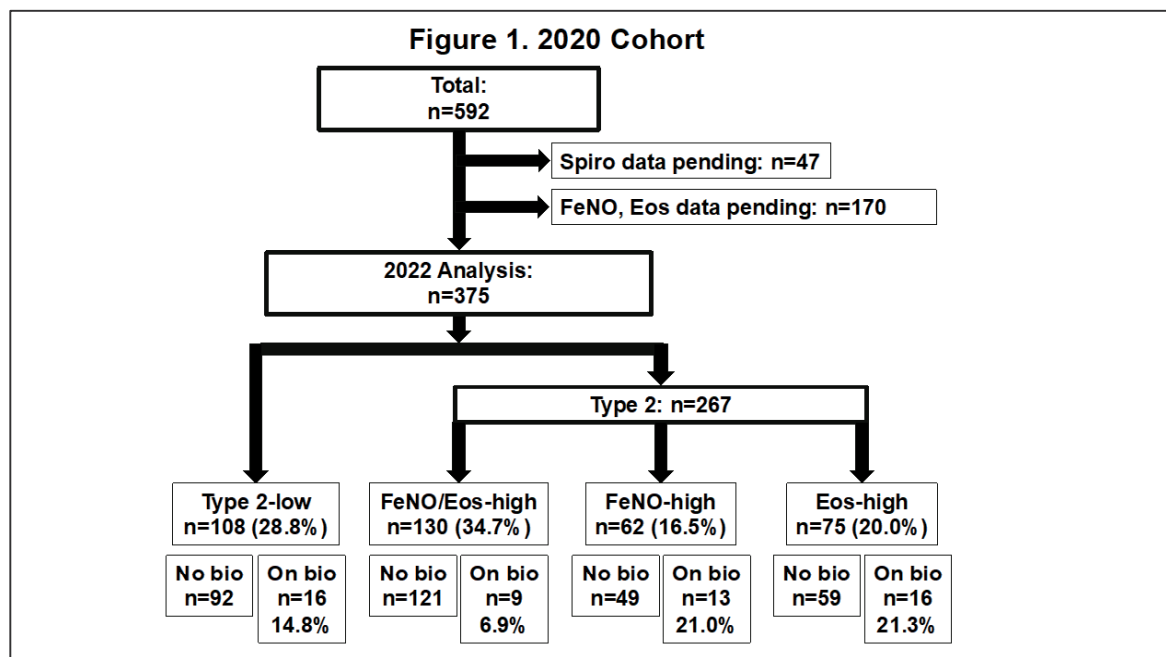
- 1. Type 2 low ぜん息における多様性の解析:** クラスタ解析による、Type 2 low 群の多様性と背景病態の検討
- 2. 2020 コホートにおける治療実態の検討**
- 3. 表現型別の増悪頻度の経年変化:** 2014 コホートにおいて解析してきた表現型別の増悪頻度をさらに追跡し、8 年目, 9 年目の動向として解析する。
- 4. 表現型別の増悪予測因子の検証:** 第 12 期研究で同定した、Type 2 low 群の増悪に関連するバイオマーカーである、テネイシン-C, IL-6 の 2020 コホートにおける検証を行う。
- 5. 長期経過不良に寄与するバイオマーカーの同定:** 2014 コホートにおける、2023 年までの 9 年間にわたる表現型別の増悪頻度、呼吸機能経年低下に寄与するベースラインの因子を同定する。
- 6. 高分解能 CT (HRCT) 画像所見と表現型やバイオマーカーとの関連:** HRCT におけるリモデリング関連指標とバイオマーカーや表現型との関連を検討する。
- 7. 呼気硫化水素 (H₂S) の臨床的有用性に関する検討:** Type 2 low ぜん息のバイオマーカー候補である、H₂S の臨床的有用性に関する探索的検討を行う。

3 研究対象及び方法

<研究対象>

1) **2020 コホート**:新規に 592 症例からなるコホートを形成した。令和 4 年度は、2023 年 1 月時点で呼吸機能検査値、血中好酸球数、FeNO の情報が入手できた 375 例を解析対象とした (Fig. 1)。クラスター解析は、生物学的製剤非使用例を対象とした。これまでと同様に、表現型分類は、生物学的製剤の効果予測における有用性が確立している血中好酸球数 150 / μ l, FeNO 25 ppb を閾値とした。双方高値を Eos/FeNO High 群、双方低値を Type 2 Low 群、好酸球単独高値群を Eos High 群、FeNO 単独高値群を FeNO High 群として分類した。

2) **2014 コホート**:264 症例を、Eos/FeNO High 群 (n=98)、Eos high 群 (n=79)、FeNO High 群 (n=23)、Type 2 Low 群 (n=64)に分類し、増悪の経年変化を解析する。表現型は 2014 コホート形成時の分類を用いる。



<研究方法>

1. Type 2 low ぜん息における多様性の解析: 2020 コホートで、生物学的製剤を使用していない症例を対象にクラスター解析を行う。Type 2 low 群 (血中好酸球数 $< 150 /\mu\text{l}$ かつ $\text{FeNO} < 25 \text{ ppb}$) と、Type 2 炎症を有する群 (Type 2 群: 血中好酸球数 $\geq 150 /\mu\text{l}$ かつ/または $\text{FeNO} \geq 25 \text{ ppb}$) の 2 群に分けて、コホート登録日から 1 年間の増悪歴、ACT スコア、% 1 秒量を指標として投入し、Ward 法を用いた階層型クラスター解析を行う。生成された各クラスターの臨床背景を比較する。さらに、血清バイオマーカーを測定し、クラスターのエンドタイプを明らかにする。

2. 2020 コホートにおける治療実態の検討: 経口ステロイド薬 (OCS) や生物学的製剤の使用頻度を表現型別に調査し、治療実態を解析する。また、生物学的製剤の使用患者と非使用患者で、コントロール状態に違いがあるかを検討する。

3. 表現型別の増悪頻度の経年変化: 2014 コホートにおいて解析してきた表現型別の増悪頻度をさらに追跡し、8 年目、9 年目の動向として解析する。

4. 表現型別の増悪予測因子の検証: 2014 コホートを用いた第 12 期研究において同定された、ペリオスチン, CCL18, テネイシン-C, IL-6, TGF- β , CRP 等の有用性を、2020 コホートで検証する。ELISA 法を用いて測定し、バイオマーカーと増悪との関連を検討する。また、好酸球関連マーカーとして、好酸球細胞死のひとつである EETosis の際に放出され、シャルコライデン結晶の成分でもある、Galectin-10 の測定も行う。

(探索的解析)

5. 長期経過不良に寄与するバイオマーカーの同定: 2014 コホートにおける、既に測定済みのベースラインの因子と、2023 年までの 9 年間にわたる表現型別の増悪頻度、呼吸機能経年低下の関連を解析する。

6. HRCT 画像所見と表現型やバイオマーカーとの関連: 3D 画像解析ソフト SYNAPSE VINCENT で B1, B10 の III ~ V 次気管支の WT (Wall Thickness), WT% (WT/Average Outer diameter $\times 100$), WA (Wall Area), WA% (Total Area-Lumen Area/Total Area $\times 100$), LA (Lumen Area) を測定し、体表面積で補正する。これらの指標と、バイオマーカー (FeNO, 血中好酸球数, 血清 IgE 値, 血清 YKL-40, IL-6, GDF-15, ペリオスチン, TGF- β , テネイシン C, CCL18, CRP) との相関を評価する。

7. 呼気 H_2S の臨床的有用性に関する検討: 共同研究者である斎藤医師が測定を実際に行っている福島県立医大において、測定機器の安定性、作業手順を確認する。本研究における表現型と H_2S 測定値の関連について検討する。

4 研究目標（計画）

【令和4年度】

1. Type 2 low ぜん息における多様性の解析: Type 2-low ぜん息群の中にも多様性があり、頻回増悪を呈する群とコントロール良好な群が存在することが経験される。このことを実証するために、クラスター解析によって介入が必要とされる群を同定し、その臨床背景を明らかにする。令和4年度は、臨床情報の収集が完了した375例について、臨床背景について検討する。血清バイオマーカーは令和4年度から測定を開始し、令和5年度にクラスター別に結果をまとめる。

2. 2020 コホートにおける治療実態の検討: 表現型別に OCS や生物学的製剤の使用頻度を調査し、Type 2 low ぜん息の治療実態を、他の表現型と比較し明らかにする。また、2014 コホート形成時は、オマリズマブのみが使用可能であったが、2020 コホートでは4種の生物学的製剤が使用可能となっている。この実態下で、生物学的製剤の使用頻度と、使用患者と非使用患者でコントロール状態にいかなる違いがあるかを検討する。

3. 表現型別の増悪予測因子の検証: 2014 コホートを用いた第12期研究において、2型炎症群については血中好酸球数、ペリオスチン、CCL18、非2型炎症群についてはテネイシン-C、IL-6、全表現型に共通な増悪関連マーカーとしてTGF- β 、CRPを同定した。これらの有用性を検証するため、令和4年度は2020コホートにおけるベースライン値の測定を行う。また、好酸球関連マーカーとして、Galectin-10の測定を、2020コホートで新規に行う。

4. 表現型別の増悪頻度の経年変化: 2014コホートにおいて解析してきた表現型別の増悪頻度を、本年度の増悪状況のデータを用いて8年目の動向として解析する。

6. CT画像所見と表現型との関連: 令和4年度は、2014コホートに組み入れられ、既にCTを撮影している帝京大学症例20例を対象に、種々の血清バイオマーカーと気道所見との関連を探索的に検討する。SYNAPSE VINCENTで気道壁肥厚のパラメーター（B1、B10のⅢ～Ⅴ次気管支のWT、WT%、WA、WA%、LA）を測定し、バイオマーカー（FeNO、血中好酸球数、血清IgE値、血清YKL-40、IL-6、GDF-15、ペリオスチン、TGF- β 、テネイシンC、CCL18、CRP）との相関関係を評価する。

【令和5年度】

1. Type 2-low ぜん息における多様性の解析: 令和4年度は、臨床情報の収集が完了した375例について解析したが、全592症例の臨床情報の集積を完了し、クラスター解析を完了させる。令和4年度から測定を開始した血清バイオマーカーについて、令和5年度にクラスター別に結果をまとめ、各クラスターのエンドタイプの同定を試みる。

3. 表現型別の増悪予測因子の検証: 令和4年度から5年度にかけて測定したテネイシン-C、IL-6、TGF- β 、Galectin-10と2020年コホートの登録1年後までの短期増悪頻度との関連を検討し、増悪予測マーカーとしての有用性を検証する。また、2014年と2020年コホートに共通登録され、遠隔の2点で測定可能であった症例でマーカーの安定性を検証する。

4. 表現型別の増悪頻度の経年変化: 2014コホートにおいて解析してきた表現型別の増悪頻度を、本年度の増悪状況のデータを用いて9年目の動向として解析する。

5. 長期経過不良に寄与するバイオマーカーの同定: 2014コホートにおける、2023年までの9年間にわたる表現型別の増悪頻度、呼吸機能経年低下に寄与するベースラインの因子を同定する。

6. HRCT 画像所見と表現型やバイオマーカーとの関連: リモデリングに寄与する因子を表現型別に同定するために、多施設から CT 画像の DICOM データを収集する。短期増悪と各種画像パラメーターとの関連も検討する。気管支粘液栓と好酸球性炎症との関連も最近報告されているが、気管支 3D 表示を用いて、粘液栓の検出が可能であるかも探索的に検討する。

7. 呼気 H₂S の臨床的有用性に関する検討: 表現型と H₂S 測定値の関連について、複数施設での測定が可能となれば、表現型別の測定値や他のバイオマーカーとの関連を検討する。プロトタイプ機器の準備状況によるが、複数施設での測定が困難な場合、福島県立医科大学内での検討データを解析する。

5 研究成果

【令和4年度】

1. Type 2 low ぜん息における多様性の解析

(Q1: Type 2 low ぜん息にはコントロール不良クラスターがあるか、またその臨床的特徴は?)

解析対象全体において (Table 1)、Type 2 low ぜん息は 28.8%を占め、他群と比較して若年で、女性比率、非喫煙率が高かった。増悪は多い傾向であったが、1 秒量は有意に高値だった。

Table 1. Patient Characteristics Stratified by Phenotype (n=375)

	FeNO/Eos high	Eos high	FeNOhigh	Type 2 low	p (vsType 2 low)
n	130 (34.7%)	75 (20.0%)	62 (16.5%)	108 (28.8%)	
Age	65.8 ± 1.2	58.7 ± 1.6	65.8 ± 1.8	56.1 ± 1.4	**FeNO, T2
Female (%)	45.4	69.3	56.5	81.5	**
BMI	23.8 ± 0.4	24.3 ± 0.5	24.0 ± 0.5	23.3 ± 0.4	
Age of onset	43.1 ± 20.9	35.4 ± 21.6	41.5 ± 22.3	37.4 ± 20.5	p=0.052
Never Smoker (%)	49.2	60.0	53.2	69.5	*
FeNO(ppb)	63.2 ± 2.6	16.2 ± 3.5	49.9 ± 3.8	14.1 ± 2.9	**FeNO, T2, Eos
Blood eosinophils (/μl)	523 ± 19	323 ± 25	71 ± 28	71 ± 21	**T2, NT2
Blood neutrophils (/μl)	3828 ± 137	4102 ± 184	3858 ± 201	3798 ± 151	
Total IgE (IU/ml)	869.7 ± 102.3	346.8 ± 135.2	365.6 ± 147.1	192.9 ± 112.3	**FeNO, T2, Eos
Atopic asthma	70.3	78.6	58.6	54.4	**
ACT	22.6 ± 0.3	21.4 ± 0.4	22.1 ± 0.4	21.6 ± 0.3	p=0.051
Exacerbation ≥ 1/year (%)	7.8	12.0	11.3	11.1	
Exacerbation frequency /y	0.256 ± 0.096	0.267 ± 0.126	0.161 ± 0.138	0.269 ± 0.105	
%FEV1	82.8 ± 1.8	95.1 ± 2.4	87.4 ± 2.7	100.6 ± 2.0	**FeNO, T2
%V25	29.7 ± 3.3	50.4 ± 4.0	41.3 ± 4.5	70.7 ± 3.2	**FeNO, T2, Eos
%MMEF	37.7 ± 3.1	62.6 ± 3.8	49.2 ± 4.3	80.4 ± 3.1	**FeNO, T2, Eos
Perennial Allergic Rhinitis	45.5	47.1	39.7	43.6	
Pollinosis for cedar pollen	42.6	53.0	48.2	56.4	
CRSwNP	14.6	6.6	12.2	4.2	0.0684
AERD	8.3	8.6	8.6	9.1	
Atopic dermatitis	11.3	20.0	7.6	15.6	
GERD	21.5	31.4	35.6	40.4	*
SAS	5.0	2.9	3.5	8.9	
COPD	10.5	9.1	13.0	8.1	
Psychiatric disorder	1.7	14.3	7.0	12.1	**
ICS dose (FP equivalent)	587 ± 28	667 ± 37	619 ± 41	611 ± 31	
LABA use (%)	84.6	81.1	93.4	88.8	
LAMA use (%)	30.8	40.5	32.8	43.0	
Biologics use (%)	6.9	21.3	21.0	14.8	*
OCS use (%)	9.2	5.3	11.3	5.6	
Treatment Step 4 (JGL)	23.1	35.1	35.5	34.3	

クラスター解析は、増悪有無、ACTスコア、%1秒量の3因子で行った (Table 2)。Type 2、Type 2 low ともに、コントロール良好 (Cluster 2)、ACT 不良・無増悪 (Cluster 1)、ACT 不良・増悪有 (Cluster 3) に分類された。いずれも、Cluster 2 に比較して、Cluster 1 と 3 では 1 秒量が低値だった。

Type 2 low では (Table 2, Fig. 2)、Cluster 3 は、若年傾向で、75% が女性、発症年齢は 28 才と最も若年だった。BMI は低く、アトピー型ぜん息は最も少なかった。喫煙率は低く、現喫煙者はなかった。好中球数は多い傾向にあった。Cluster 1 は、高齢で発症年齢が遅く、喫煙率や COPD 併存率がやや高く、喘息・COPD オーバーラップ (ACO) を含むと考えられた。

Type 2 ぜん息では (Table 2, Fig. 3)、Cluster 3 は %FEV1 が最も低値であった。女性比率が最も高く、肥満はなく、若年発症で、アトピー型喘息は 55.6% と少なかった。Cluster 1 は、発症年齢が遅く、喫煙率と COPD の合併率が高く、ACO を含むクラスターと考えられた。好中球数が多かった。

Table 2. Cluster analysis

Cluster	Type 2 Asthma						Type 2 Low Asthma					
	1 (15.2%)		2 (76.7%)		3 (8.1%)		1 (39.3%)		2 (51.7%)		3 (9.0%)	
N	34		171		18		35		46		8	
Exacerbation \geq 1/year (%)	0.0		0.0		100.0		0.0		0.0		100.0	
Exacerbation frequency /y	0.0 \pm 0.1		0.0 \pm 0.0		1.9 \pm 0.1		0.0 \pm 0.0		0.0 \pm 0.0		1.8 \pm 0.1	
ACT	16.9 \pm 0.3		23.6 \pm 0.1		20.3 \pm 0.4		20.3 \pm 0.6		23.2 \pm 0.5		20.1 \pm 1.2	
%FEV1	83.9 \pm 3.5		91.2 \pm 1.5		73.9 \pm 4.8		85.4 \pm 2.7		112.5 \pm 2.4		87.8 \pm 5.7	
Age	64.9 \pm 2.2		65.0 \pm 1.0		64.1 \pm 3.0		58.4 \pm 2.8		56.3 \pm 2.5		49.3 \pm 5.9	
Female (%)	52.9		55.0		72.2		71.4		91.3		75.0	
BMI	24.7 \pm 0.7		24.0 \pm 0.3		22.5 \pm 0.9		23.7 \pm 0.8		23.0 \pm 0.7		20.7 \pm 1.6	
Age of onset	44.5 \pm 3.6		42.9 \pm 1.6		31.6 \pm 5.0		42.3 \pm 3.7		39.7 \pm 3.0		28.0 \pm 7.1	
Atopic asthma	68.8		72.4		55.6		55.6		56.4		33.3	
Current Smoker (%)	14.7		1.8		0.0		3.0		0.0		0.0	
Ex Smoker (%)	44.1		45.6		50.0		30.3		28.9		12.5	
Never Smoker (%)	41.2		52.6		50.0		66.7		71.1		87.5	
Total IgE (IU/ml)	424 \pm 249		667 \pm 115		784 \pm 352		133 \pm 83		215 \pm 69		241 \pm 164	
FeNO(ppb)	48.8 \pm 6.6		45.9 \pm 2.9		50.9 \pm 9.0		14.5 \pm 0.9		14.3 \pm 0.8		11.8 \pm 2.0	
Blood eosinophils (/ μ l)	355 \pm 50		350 \pm 22		372 \pm 68		69 \pm 6		79 \pm 6		74 \pm 14	
Blood neutrophils (/ μ l)	4697 \pm 269		3683 \pm 117		4255 \pm 380		3616 \pm 210		3568 \pm 180		4635 \pm 433	
%V25	42.0 \pm 5.0		39.5 \pm 2.1		33.2 \pm 8.2		58.2 \pm 7.3		80.0 \pm 6.4		84.6 \pm 15.1	
MMEF%	46.6 \pm 5.5		50.7 \pm 2.4		44.0 \pm 9.1		60.8 \pm 6.0		92.2 \pm 5.2		93.6 \pm 12.4	
Perennial Allergic Rhinitis	48.5		44.2		27.8		36.7		43.2		75.0	
Pollinosis for cedar pollen	42.9		53.1		33.3		40.0		70.5		37.5	
CRSwNP	11.5		9.3		10.0		0.0		0.0		0.0	
AERD	15.2		5.2		5.6		10.3		7.0		0.0	
Atopic dermatitis	12.9		9.9		12.5		10.3		15.9		37.5	
GERD	42.4		23.2		22.2		28.1		48.9		37.5	
SAS	9.1		0.7		5.6		6.7		6.8		12.5	
COPD	25.0		6.9		16.7		13.8		0.0		12.5	
Psychiatric disorder	12.1		6.5		0.0		10.3		14.0		25.0	
ICS dose (FP equivalent)	669 \pm 50		517 \pm 22		833 \pm 69		554 \pm 48		557 \pm 42		813 \pm 101	
LABA use (%)	85.3		81.7		100.0		85.7		84.4		100.0	
LAMA use (%)	52.9		24.3		38.9		31.4		44.4		62.5	
Biologics use (%)	0.0		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0	
OCS use (%)	14.7		4.7		11.1		2.9		2.2		12.5	
Treatment Step 4 (JGL)	29.4		13.5		33.3		20.0		17.4		62.5	

Figure 2. Cluster Analysis of Type 2 low Asthma

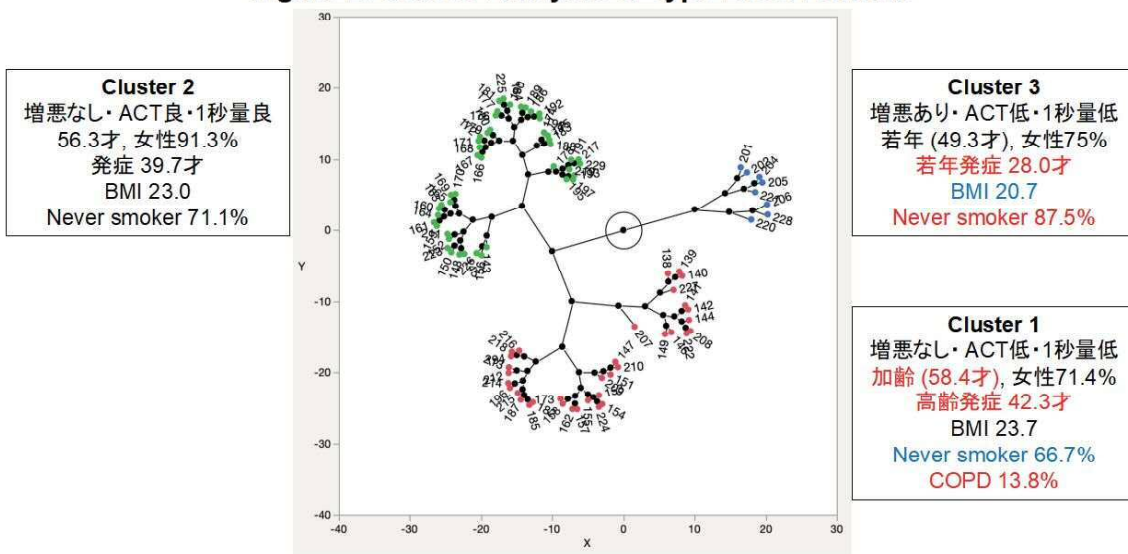
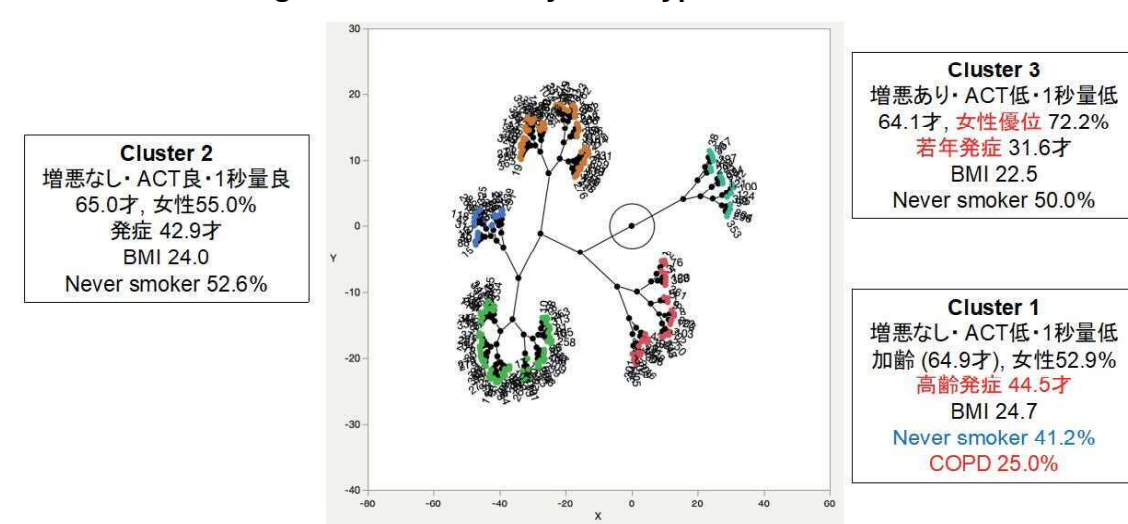


Figure 3. Cluster Analysis of Type 2 Asthma



2. 2020 コホートにおける治療実態の検討

(Q2: OCS 連用率、生物学的製剤や LAMA 使用率は？生物学的製剤でコントロールは十分か?)

全体解析では、LAMA の使用率は 30~40%、生物学的製剤の使用率は 18.7%、OCS 連用率は 5~11%であった (Table 1)。クラスター解析対象集団では (Table 2)、LAMA 使用率は、Cluster 3 においても、Type 2 で 38.9%、Type 2 low で 62.5%であった。

生物学的製剤使用例は (Table 3)、有意に若年で、より高率に併存症を有した。生物学的製剤使用によって、FeNO、血中好酸球数ともに、非使用群と有意差を認めなくなっていたが、増悪頻度、ACT や%FEV1 は同等レベルに達していなかった。

Table 3. Comparison of Patient Characteristics Stratified by Biologics Use

	No Biologics		On Biologics		
	N		N		
Age	62.3	± 0.8	57.2	± 2.0	*
Female (%)	63.6		55.6		
BMI	23.7	± 0.2	24.7	± 0.6	0.100
Age of onset	41.6	± 1.2	28.9	± 2.9	**
Never Smoker (%)	57.6		59.3		
Atopic asthma	65.4		67.9		
Exacerbation frequency /y	0.19	± 0.06	0.56	± 0.15	*
Exacerbation ≥ 1/year (%)	8.8		18.5		*
%FEV1	91.8	± 1.2	87.5	± 3.0	
ACT	22.2	± 0.2	20.8	± 0.5	**
Eos/FeNO high	37.7		16.7		
Eos high	18.4		29.6		
FeNO high	15.3		24.1		
Type 2 Low	28.7		29.6		
FeNO(ppb)	37.5	± 2.1	37.4	± 5.1	
Blood eosinophils (/ μ l)	279	± 17	273	± 40	
Blood neutrophils (/ μ l)	3794	± 86	4480	± 231	*
Total IgE (IU/ml)	499	± 67	418	± 159	
Perennial Allergic Rhinitis	43.9		46.3		
Pollinosis for cedar pollen	51.0		46.3		
Atopic dermatitis	11.9		25.0		*
AERD	6.8		18.5		**
CRSwNP	6.4		25.0		**
GERD	30.0		38.9		
SAS	3.7		14.8		**
COPD	8.9		14.8		
Psychiatric disorder	8.5		5.6		
ICS dose (FP equivalent)	574	± 17	859	± 42	**
OCS use (%)	5.6		20.4		**

3. 表現型別の増悪予測因子の検証 (Q3: Galectin-10 は増悪予測マーカーとして使えるか?)

Galectin-10 (Gal10)は、好酸球内に存在し、気道炎症の起点となりうるシャルコライデン結晶を形成する分子である。補正 Gal10 値 (Gal10/好酸球数)は有意に増悪に寄与し、寄与は好酸球数より大きかった (Fig. 3)。補正 Gal10 値は血中好酸球数 150 未満例や、OCS 連用例においても増悪群において高値で (Fig. 4)、血中好酸球数と異なる増悪関連マーカーである可能性が示唆された。

Figure 3. Relationship between Exacerbation and Galectin-10 level

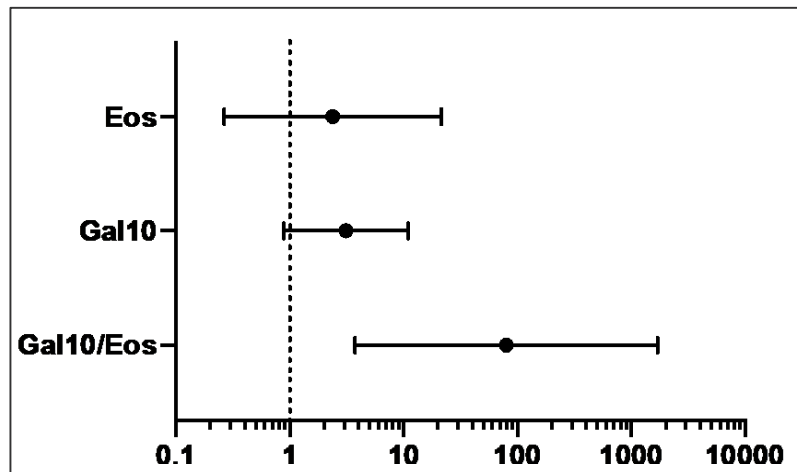
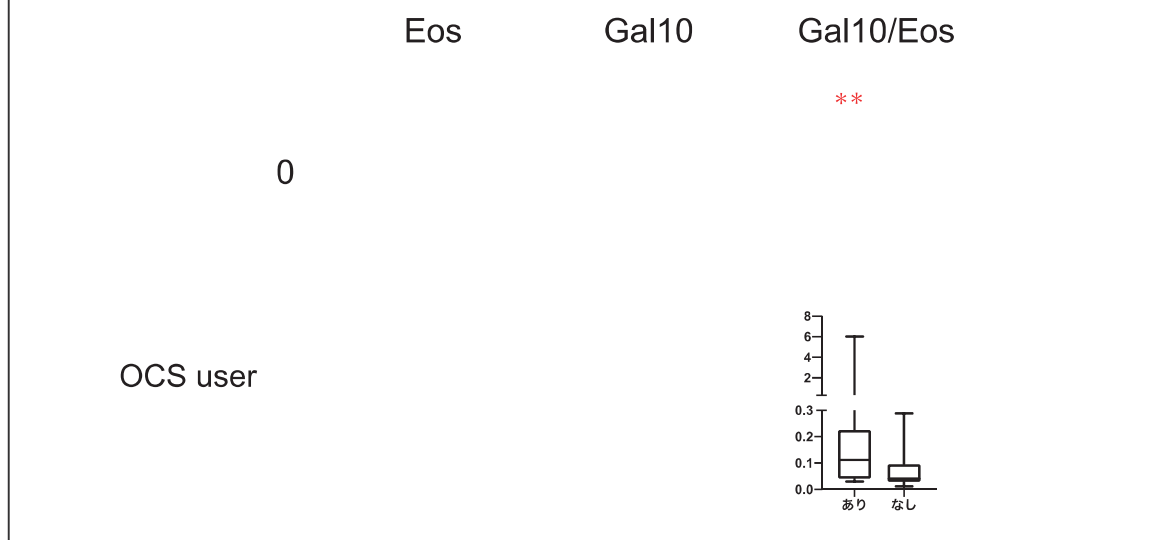


Figure 4. Relationship between Exacerbation and Galectin-10 level in patients with low blood eosinophil count or OCS use



4. 表現型別の増悪頻度の経年変化 (Q4: 増悪はまだ減り続けているか?)

8年目の増悪頻度は0.26回/年、増悪した患者比率は9.1%であった (Fig. 5)。全体解析、生物学的製剤使用の有無 (Fig. 6)、表現型 (Fig. 7)を問わず、増悪患者率はプラトーに達していた。

Fig. 5 Trend of exacerbation in total cases (n = 264)

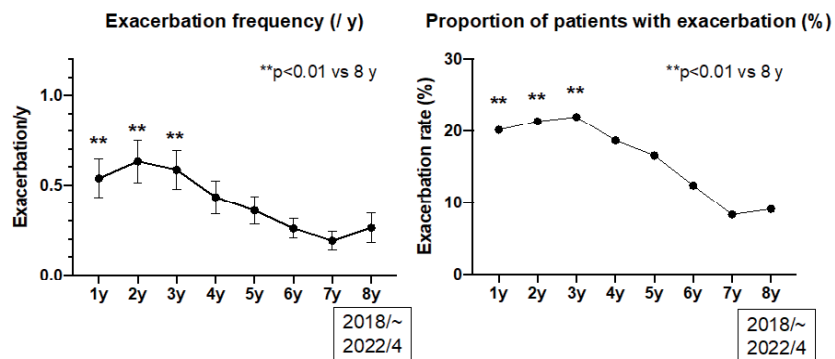


Fig. 6. Trend of Exacerbation Stratified by Biologics Use

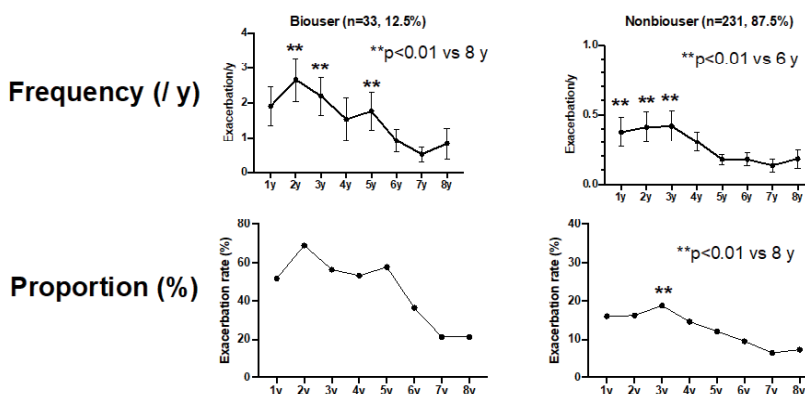
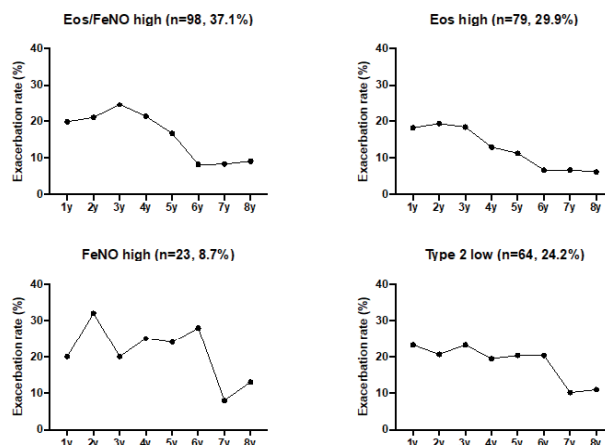


Fig. 7: Proportion of Patients with Exacerbation Stratified by Phenotype



6. 高分解能 CT (HRCT)画像所見と表現型やバイオマーカーとの関連 (Q6: 気道リモデリングと関連する新規分子を HRCT を用いて解析できるか?)

2014 コホートで検索した 12 種のバイオマーカーのうち、9 種は WT、WA と相関がみられ、血清 YKL-40 が WT/BSA と最も相関係数が高かった (Table 4)。各増悪予測マーカー候補の気道リモデリングへの寄与が示唆され、複数の分子がリモデリングに寄与していることが示唆された。

Table 4: Relationship between Airway wall thickness and Biomarkers

Biomarker	Airway wall Index	r / p value
FeNO	WT B10-V	r=0.454 p=0.044
	WA B10-V	r=0.503 p=0.024
	WA/BSA B10-V	r=0.473 p=0.036
Blood eosinophil count	WT% B1-III	r=0.554 p=0.011
	WA% B1-III	r=0.568 p=0.009
Der p. specific IgE	WT/BSA B1-III	r=-0.471 p=0.036
YKL-40	WT B10-III	r=0.495 p=0.027
	WT/BSA B1-V	r=0.625 p=0.003
	WT/BSA B10-III	r=0.688 p=0.001
	WA/BSA 1-V	r=0.523 p=0.017
	WA/BSA 10-III	r=0.560 p=0.010
IL-6	WT% B1-III	r=0.482 p=0.032
	WA B10-IV	r=-0.470 p=0.037
	WA% B1-III	r=0.486 p=0.030
Periostin	WT% B10-III	r=0.504 p=0.024
	WA% B10-III	r=0.533 p=0.016
TGF-β	WA B1-IV	r=0.479 p=0.033
Tenascin-C	WT% B10-IV	r=0.467 p=0.037
	WA B1-V	r=-0.461 p=0.041
	WA% B10-IV	r=0.485 p=0.030
CCL18	WT/BSA B1-III	r=-0.482 p=0.031

6 考察

【令和4年度】

1. コントロール不十分な Type 2 low ぜん息の特徴と対応

クラスター解析の目標は、ぜん息コントロール不良群を同定し、その背景の解析から、増悪抑制策を立案することである。

Type 2 low ぜん息では (Fig. 2)、増悪を有し最も ACT 低値である Cluster 3 は、比較的若年、若年発症、女性優位であり、喫煙歴も少なかった。環境因子によらず発症している可能性があり、遺伝的背景の関与も考えられる。一方、増悪はないが、ACT 低値である Cluster 1 は、高齢、成人発症で、一定の喫煙歴があり、ACO を含むことが想定される。増悪抑制の方策としては、アトピー型ぜん息が 55.6%, 33.3% (Cluster 3, 1) を占めており、総 IgE 値も一定の高値であり、オマリズマブの適応も考慮できる。また、%FEV1 は 87.8%, 85.4% と低値であるが、LAMA の導入率は 62.5%, 31.4% と十分でなく、追加の余地がある。

Type 2 ぜん息では (Fig. 3)、増悪を有し ACT 低値である Cluster 3 は、若年発症、長期罹患、女性優位であった。増悪はないが、ACT 低値である Cluster 1 は、成人発症、喫煙率高値、COPD 併存率高値であり、ACO を含むと考えられた。増悪抑制の方策としては、これらのクラスターでは、Type 2 炎症が存在し、複数の生物学的製剤の適応がある可能性が高い。また、%FEV1 は低値だが、LAMA 導入率は十分ではない。併存症として GERD と SAS が多く、対応を考慮する。

2. 表現型によらず平準化したコントロール状況と増悪低下傾向のプラトロー

突出してコントロール不良な表現型は認められなくなった。Type 2 重症ぜん息を複数の生物学的製剤がカバーし、Type 2 low ぜん息もアトピー型であれば抗 IgE 抗体がカバーできる。その他高用量 ICS/LAMA/LABA 配合剤等の普及により、表現型間の格差が減少したことが推定される。10%程度の患者はコントロール不良クラスターに属している。そして、生物学的製剤の使用患者であっても、非使用患者と比較すると、有意に増悪は多く、ACT スコアは低い。今後の目標は、生物学的製剤の適正な選択などによる、より高いレベルのコントロール達成にあると考えられる。

一方、2022年4月までの増悪の時間経過は、前年までとほぼ不変か、やや増加傾向もみられている。COVID-19 に関連する社会活動制限も緩和傾向で、インフルエンザウイルス感染も増加傾向にあり、喘息増悪は増加に転ずる可能性もあり、注視が必要である。

7 次年度に向けた課題

1. **Type 2 low ぜん息における多様性の解析:** 592 例についての臨床情報の収集と解析を完了する。バイオマーカー測定も完了し、クラスター別にエンドタイプの同定を試みる。
2. **2020 コホートにおける治療実態の検討:** 令和 5 年度も治療情報を収集し、生物学的製剤、LAMA、マクロライド等の使用情報を収集する。
3. **表現型別の増悪予測因子の検証:** 2014 コホートで増悪予測因子として同定した、テネイシン-C, IL-6, TGF- β について、2020 コホートにおける測定を完了し、登録 1 年後までの増悪頻度との関連を検討し、有用性を検証する。また、Gal10 の測定を、2020 コホートで新規に行う。2014 年と 2020 年コホートに共通登録されている場合、遠隔の 2 点での安定性を検証する。
4. **表現型別の増悪頻度の経年変化:** 2014 コホートにおいて 9 年目の動向を解析する。
5. **長期経過不良に寄与するバイオマーカーの同定:** 2014 コホートにおける、2023 年までの 9 年間にわたる表現型別の増悪頻度、長期経過不良に寄与するベースラインの因子を解析する。
6. **高分解能 CT (HRCT) 画像所見と表現型やバイオマーカーとの関連:** 令和 5 年度は、多施設から CT 画像データを収集し、表現型別の差異を検討する。また、気管支粘液栓と好酸球性炎症との関連も最近報告されたが、気管支 3D 表示で、粘液栓の検出が可能であるかも探索的に検討する。
7. **呼気 H₂S の臨床的有用性に関する検討:** 表現型と H₂S 測定値の関連について、複数施設での測定が可能となれば、表現型別の測定値や他のバイオマーカーとの関連を検討する。複数施設での測定が困難な場合、福島県立医科大学内での検討データを解析する。

8 期待される成果の活用の方向性

(期待される成果)

1. 表現型別の増悪状況の経年変化の把握とコントロール不良クラスターの同定から

本調査研究により、増悪抑制対策が必要な集団の規模と特徴が同定されつつあり、本調査研究の課題である「重症ぜん息患者の増悪予防策」の立案が可能となる。今回の検討では、増悪やコントロール状況は、表現型によらず均一化の傾向が認められてきたが、生物学的製剤の効果は表現型によって異なり、保険適応も表現型によって規定されている。このため、引き続き表現型別に対応を考察することは有効と考えられる。

2. 表現型別の増悪予測マーカーの同定

増悪を予測するためには、症状、過去の増悪歴、現在の治療強度などの臨床情報も十分有用であることは、第 11 期の調査研究でも明らかにしてきた。

一方、本研究では、既報の基礎的研究から、重症化に関与すると想定される分子を測定し、複数の増悪予測因子を同定してきた。増悪関連マーカーを同定する意義は、同定された分子が将来の治療標的たりうる可能性を有する点にある。また、長期経過との関連や、生物学的製剤の効果との関連が示されれば、質の高い臨床マーカーとして使用できる可能性もある。長期経過を観察してきた 2014 コホートでは、約 260 例を追跡できており、貴重な研究コホートである。ベースラインの臨床情報やバイオマーカーと、2023 年までの 9 年間にわたる増悪頻度や呼吸機能低下との関連を検討し、長期経過不良に寄与する因子を同定する。

3. 探索的バイオマーカーへの期待

補正 Gal10 値は有意に増悪に寄与し、血中好酸球数 150 未満のサブグループや OCS 連用例でも、増悪群で補正 Gal10 値が高値傾向であった。血中好酸球数よりも局所好酸球の活性化を高く反映する可能性が示唆されたが、さらなる検証が必要である。

HRCT 画像は、直接的にリモデリングを把握することができる、重要な臨床ツールである。気道リモデリングの構成要素は粘膜下の線維化、杯細胞化生、平滑筋肥大・増殖など多彩であり、進行した気道リモデリングは、現状の生物学的製剤では、十分改善できない。Type 2 炎症関連分子以外の責任分子の探索は、進行したリモデリングに対する新規治療戦略の考案につながるため、重要である。本調査研究での増悪関連分子と気道リモデリングとの関連の検討により、リモデリング治療戦略開発につながる可能性がある。

(活用の方向性)

1. Treatable traits を意識した対応方針の解説書の作成

活用の方針としては、第 11 期に「ぜん息の悪化を防ぐために」と題した患者指導パンフレットを作成し、生物学的製剤が存在すること、その効果は表現型に異なることを平易に解説し、帝京大学内の HP に掲載してある。

今回の検討から、表現型別に介入可能な因子 (Treatable traits) の候補が同定されつつある (Table 5)。Treatable traits を一覧としてまとめ、各表現型におけるチェックリストとして提示し、改訂したパンフレットに掲載することを想定して準備する。

Table 5: Treatable traits based on Asthma Phenotypes

Cluster	Type 2ぜん息		Type 2 lowぜん息		対策
	1	3	1	3	
特徴	増悪なし ACT低値 1秒量低値	増悪あり ACT低値 1秒量低値	増悪なし ACT低値 1秒量低値	増悪あり ACT低値 1秒量低値	
頻度	15.2%	8.1%	39.3%	9.0%	
アトピー型 (%)	68.8%	55.6%	55.6%	33.3%	抗IgE抗体検討
喫煙率 (%)	14.7%	0.0%	3.0%	0.0%	禁煙
Total IgE (IU/ml)	424	784	133	241	生物学的製剤検討
好酸球数 (/ μ l)	355	372	69	74	
好中球数 (/ μ l)	4697	4255	3616	4635	
アレルギー性鼻炎	48.5%	27.8%	36.7%	75.0%	鼻炎治療
GERD	42.4%	22.2%	28.1%	37.5%	GERD治療
SAS	9.1%	5.6%	6.7%	12.5%	夜間睡眠検査
%FEV1	83.9	73.9	85.4	87.8	LAMA使用
LAMA使用率	52.9%	38.9%	31.4%	62.5%	

【学会発表・論文】

1. 小林このみ、長瀬洋之、杉本直也、山田志保、田中明彦、福永興壺、熱田 了、多賀谷悦子、放生雅章、權 寧博. 血清 Galectin -10 値は喘息症状やメボリズムによる症状改善効果と関連する. 第 62 回日本呼吸器学会学術講演会. 京都. 2022. 4.
2. 鈴木有季、豊田光、田中悠太郎、永田真紀、石塚真菜、上原有貴、服部沙耶、竹下裕理、酒瀬川裕一、小林このみ、倉持美知雄、杉本直也、長瀬洋之. 3D 画像解析 SYNPOSE VINCENT で評価した気管支喘息患者の気道変化とバイオマーカーとの相関関係. 第 71 回 日本アレルギー学会学術大会. 東京. 2022. 10.
3. 長瀬洋之. 好酸球標的治療による Clinical Remission への期待. 第 71 回 日本アレルギー学会学術大会. 東京. 2022. 10.
4. 石塚真菜、杉本直也、上原有貴、服部沙耶、鈴木有季、竹下裕理、豊田光、酒瀬川裕一、小林このみ、倉持美知雄、長瀬洋之. 生物学的製剤使用中の重症喘息における臨床的寛解の達成率と達成患者の臨床背景. 第 71 回 日本アレルギー学会学術大会. 東京. 2022. 10.
5. 長瀬洋之. COVID-19 蔓延期を含む喘息表現型別の増悪頻度の年次推移 -環境再生保全機構コホート研究-. 第 71 回 日本アレルギー学会学術大会. 東京. 2022. 10.
6. 小林このみ、長瀬洋之. 喘息増悪予測因子としての Galectin-10 値の有用性の検討第 71 回 日本アレルギー学会学術大会. 東京. 2022. 10.
7. 長瀬洋之. 喘息の臨床的寛解. 第 31 回 国際喘息学会 日本・北アジア部会. 東京. 2022. 11