

(1) 気管支ぜん息の発症、増悪予防に関する調査研究

②環境因子による増悪予防のための健康管理手法

環境因子による増悪予防のための健康管理手法

研究代表者:相 良 博 典

【研究課題の概要・目的】

【概要】

PM2.5 や光化学オキシダントなどの環境因子によるぜん息患者の急性増悪は古くから知られているが、その発症機序や予防方法については未解明な部分が存在する。光化学オキシダントは増加傾向にあり、未だ環境基準に到達していない。本研究は光化学オキシダントとぜん息に焦点を当てた検討を計画した。光化学オキシダントとぜん息増悪の関連性を評価し、室内待機など既存の具体的な予防行動の有用性について評価を行い、より効果的な対策方法を策定する。ぜん息患者における光化学オキシダント高感受性群を遺伝学的な基礎検討を行い同定する。光化学オキシダント高感受性ぜん息患者における健康相談の有用性について前向き臨床試験により評価を行う。

何れの研究計画も倫理委員会に承認されたうえで実施する。そして、患者権利に最大限の配慮を行い、十分な説明と文書での同意のもと遂行する。

【目的】

複合的環境因子によるぜん息増悪予防のための健康管理手法の確立のために以下の目的を立案した。下記の大項目を検討することを本研究の目的とする。

1. ぜん息患者において、地域差を踏まえた大気中光化学オキシダントの上昇とぜん息増悪との関連性についての検討を行う。
2. ぜん息患者において、地域差を踏まえた大気中光化学オキシダントの上昇時における予防行動(室内待機など)の低減効果についての検討を行う。
3. 光化学オキシダントによるぜん息増悪の機序に関して、末梢血を用いた高感受性群の同定を目的とした基礎的な検討を行う。
4. ぜん息患者において、光化学オキシダントによる増悪高感受性群を対象とした、健康相談などによる介入を行い、前向き臨床研究によりその有用性について検討する。

上記大項目を分子科学的もしくは遺伝学的手法を用いて検討することにより、光化学オキシダントとぜん息の関連性を見出し、最適なぜん息医療の実施に結び付けることが最終的な目標になる。

1 研究従事者 (○印は研究リーダー)

- | | |
|--------|------------------------------|
| ○相良 博典 | (昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門) |
| 大西 司 | (昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門) |
| 鈴木 慎太郎 | (昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門) |
| 小田 成人 | (山梨赤十字病院 呼吸器内科) |
| 藤原 明子 | (小田原市立病院 呼吸器内科) |
| 本間 哲也 | (昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門) |

2 平成29年度の研究目的

本年は上記の大項目4つの目的のうち、

「1. ぜん息患者において、地域差を踏まえた大気中光化学オキシダントの上昇とぜん息増悪との関連性の検討」に焦点を当てた。具体的には下記の項目を検討した。

1. 本研究に参加している地域における、光化学オキシダントの変動性の検討
2. 重症ぜん息患者群の所在地の検討
3. 昭和大学病院通院中の重症ぜん息患者群を対象とした末梢血液 TSLP 発現の検討
4. 光化学オキシダントと重症ぜん息患者群の末梢血 TSLP 発現の検討

過去の報告や国内のぜん息の医療実施状況、光化学オキシダントの発生状況から、われわれは光化学オキシダントとぜん息発作頻度に関連性が存在すると仮説を立てている。その仮説を検証すると同時に健康相談や屋内退避などのいわゆる非薬物的介入の有用性について検証するために、上記の小課題を設けた。

3 平成29年度の研究対象及び方法

【対象・方法】

本研究を遂行するに当たって、各臨床研究施設において本研究計画を倫理委員会に諮り承認後に開始する。本研究参加に文書同意が得られたぜん息患者群を対象に前向き観察研究を行う。その中で同意が得られた患者を対象に、光化学オキシダント高感受性群の同定のために血液検体保存を行った。また、それら患者群に対しては各施設共通のぜん息日誌の記入指導を行った。ぜん息日誌では、日々のぜん息増悪状況を始め、ピークフローモニターリング、使用薬剤、医療機関受診頻度、入院の有無、会社や学校への欠勤や欠席頻度などを調査する。また、各臨床研究施設では本研究への同意のもと、血液検査での好酸球数や好塩基球数、総 IgE 値、特異的 IgE 検査 (radioallergosorbent test; RAST)、動脈血液ガスなどを測定し、呼吸機能検査や呼吸気道抵抗、気道過敏性、気道可逆性、呼気 NO 濃度測定などを行う。

環境因子によるぜん息において末梢血好酸球や Th2 細胞の関与が古くから指摘されてきたが、group 2 innate lymphoid cell (ILC2) がぜん息病態に関わってきていることが最近明らかにされた。しかし、ILC2 と光化学オキシダントなどの環境因子との関連は未だ報告されておらず、本研究の遂行により新規の研究成果が得られることが期待される。

特に、ILC2 の解析においては thymic stromal lymphopoietin (TSLP) が重要であると報告されている。気道上皮細胞由来のぜん息発症に寄与する炎症性物質は TSLP 以外に IL-33、IL-25 が報告されている。我々の検討では、IL-33 や IL-25 と比較して、血中では TSLP がより安定的に測定が可能であった。また、光化学オキシダントは気道上皮細胞にも影響を与えるため、光化学オキシダントによる気道上皮細胞由来の TSLP について検討を今後加える予定である。よって、血中 TSLP 蛋白を測定し、光化学オキシダントの暴露状況と関連を検討する。なお、好酸球関連の抗体治療薬が最近では使用可能であるが、その上流に存在する気道上皮細胞由来 TSLP の発現と光化学オキシダントの関連性を検討することにより、光化学オキシダントに感受性が高い群が簡便に抽出できる可能性についても検討予定である。

本研究で用いる光化学オキシダントの測定データは環境省が提供する環境省大気汚染物質広域監視システム (通称 そらまめ君) 情報を活用する。ぜん息患者日誌や臨床検査データなどの観察

を通じて、患者 QOL のみならず、社会的経済損失、医療経済的負担などを地域性や大気中光化学オキシダント濃度を踏まえて解析並びに考察を行うことを可能とする。

【研究中止基準・倫理的事項】

なお、本研究課題は下記の倫理的事項を各研究者は遵守することを確認し、本研究を遂行する。本研究は既に倫理委員会に承認されており（承認番号 2401、平成 29 年）、今後とも必要な検討が生じた場合にはその都度倫理委員会に諮問する。また、定期的に行われる研究者による会合で下記の倫理条項についての遵守状況について確認し、逸脱があった場合は情報管理責任者に連絡をすることを確認している。

本研究の中止基準

以下の場合に本研究を中止する。

- 1) 重篤な有害事象が観察され、研究の継続が被験者の安全性に関して重大な問題があると判断された場合
- 2) 論文や学会発表など、当該件研究以外から得られた関連情報を評価した結果、研究の継続が被験者の安全性に問題があると判断された場合、または研究継続の意義がなくなると判断された場合

倫理的事項

1. 患者の保護

本研究に関係するすべての研究者は最新の「ヘルシンキ宣言」および「臨床研究に関する倫理指針」に従って本研究を実施する。

2. インフォームドコンセント

担当医は倫理委員会の承認が得られた説明文書を用いて以下の内容を詳しく説明し、研究への参加について自由意思による同意を本人から文書として得る。

- 1) 事前に倫理委員会で承認の得られた説明文書・同意文書を対象者に渡し、文書及び口頭による十分な説明を行い、対象者の自由意思による同意を文書で得る。
- 2) 対象者の同意に影響を及ぼすと考えられる有効性や安全性等の情報が得られた時や、対象者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われる時は、速やかに対象者に情報提供し、研究等に参加するか否かについて研究対象者の意思を予め確認するとともに、事前に倫理委員会の承認を得て説明文書・同意文書等の改訂を行い、対象者の再同意を得る。
- 3) 説明文書・同意文書には、対象者が理解しやすい表現に配慮し作成する。

3. 個人情報の保護と患者識別

個人情報および診療情報などのプライバシーに関する情報は個人の人格尊重の理念の下、厳重に保護され慎重に取り扱う。万全な管理対策を講じ、プライバシー保護に努める。

本研究で取り扱う情報などは、研究責任者が連結可能匿名化したうえで、研究解析に使用する。匿名化の方法については、情報から個人を識別できる情報（氏名・住所など）を削除し独自の符号を付す作業を行う。個人と符号の対応表は情報管理者が保管する。

4. プロトコールの遵守

本研究に参加する研究者は、患者の安全と人権を損なわない限り、本プロトコールを遵守する。

5. 医療機関の倫理委員会の承認

本研究への参加に際しては、本プロトコールおよび患者への説明文書を用いて研究を実施する

ことを、倫理委員会の承認を得なければならない。

また、承認後1年ごとに研究の進捗状況、有害事象・不具合等の発生状況および倫理指針の遵守状況を、臨床研究実施状況報告書により倫理委員会に報告する。

6. 補償、研究対象者への経済負担について

本研究の実施中又は終了後に、本研究に参加したことが原因となって、予測しなかった重篤な副作用などの健康被害が生じた場合には、通常の診療と同様に適切に対処を行う。その際の医療費は、被験者が加入している健康保険が適用される。

7. 当該研究に係る資金源、起こりうる利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり（利益相反）

本研究の計画、実施、発表に関して可能性のある利益相反（conflict of interest）はない。利益相反とは、研究成果に影響するような利害関係を指し、金銭及び個人の関係を含む。本研究は昭和大学医学部内科学講座呼吸器アレルギー内科学部門所属の相良博典が主体的に計画し実施する自主臨床研究であり本研究に使用する医療機器の製造販売を行っている会社をはじめ、他の団体からの資金的援助に基づいて行われるものではない。

8. 研究実施に関する変更

a. 研究実施計画書の改定

研究代表者は研究実施計画書の改訂の必要性を認めた場合、変更の妥当性および研究の評価への影響について、必要に応じて改訂を行う。研究代表者は協議の結果、改訂の有無およびその理由などを文書にて記録し、保管する。研究代表者は、研究実施計画書を改訂した内容を速やかに担当医師に連絡する。研究の事務的事項以外の場合、必要に応じて倫理委員会で改訂の手続きを行う。

b. 研究実施計画書の逸脱

担当医師は研究代表者との事前の文書による合意および倫理委員会の事前の承認を得る前に、研究実施計画書からの逸脱あるいは変更を行ってはならない。

担当医師は被験者の緊急の危険を回避するため等のやむを得ない場合、研究代表者との事前の合意および倫理委員会の事前の承認を得る前に、研究実施計画書からの逸脱あるいは変更を行うことができる。その際には、担当医師は逸脱または変更の内容および理由ならびに研究実施計画書等の改訂が必要であればその案を速やかに研究代表者に提出し、研究代表者、倫理委員会の承認を得るものとする。

担当医師は研究実施計画書からの逸脱があった場合は、逸脱事項をその理由とともに全て記録し、研究代表者は倫理委員会で定めた所定の様式により院長に報告しなければならない。研究代表者はこれらの写しを保存しなければならない。

9. 研究の中止・中断および終了

a. 研究の終了

予定症例数に達した事をもって研究の終了とする。研究代表者は、臨床研究終了報告書で倫理委員会に終了した旨および結果の概要を報告する。院長および医療機関内の関連部門にその旨を報告する。

b. 研究の中止・中断

以下の場合に研究を中止する。

- 1) 重篤な有害事象が観察され、研究の継続が被験者の安全性に関して重大な問題があると判断された場合。

- 2) 論文や学会発表など、当該研究以外から得られた関連情報を評価した結果、研究の継続が被験者の安全性に問題があると判断された場合、または研究継続の意義がなくなったと判断された場合。
- 3) 倫理委員会により中止の勧告あるいは指示があった場合。

4 平成29年度の研究成果

【研究成果概要】

平成29年度の研究目的を達成するために環境省が提供する環境省大気汚染物質広域監視システム（通称 そらまめ君）情報を参照し、本研究参加施設間の光化学オキシダントの変動性を検討した。地域により、また季節によりその変動性の多様性が確認された。そして、重症ぜん息患者80例を対象に、中間解析を行った。今回の中間解析の目的は、血液ぜん息バイオマーカーと地域性との関連に焦点を当てた。具体的には血液ぜん息バイオマーカーとして ILC2 関連分子群（TSLP や IL-33、IL-13）や好酸球関連分子群（IL-5）、Th2 関連分子群（IL-13）を試験的に測定した。血液ぜん息バイオマーカーと光化学オキシダントとの関連性を見出すことが可能であれば、今後の研究展開がより簡便になると考えている。血液ぜん息バイオマーカー測定の結果、TSLP が安定的にどの患者においても測定しうることが確認された。最後に地域性と TSLP 発現について検討したところ、サンプル数が少ないものの、地域性が存在する可能性が示唆された。

本検討に参加した、重症ぜん息患者80例の約80%が女性であり、平均年齢は54歳（中央値52歳）であった。年間発作も1回以上経験しており、加療薬剤として中等量から高用量の吸入ステロイドを使用していた。そして、その大多数は長時間作用型 β_2 刺激薬や長期作用性吸入抗コリン薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬などの併用薬を二種類以上使用していた。また、血中総IgEの平均値は481 IU/ml（中央値291 IU/ml）であり、末梢血好酸球数の平均値は325 /u1（中央値は90 /u1）であった。また、測定したTSLPの平均値は293 pg/ml（中央値は9.1 pg/ml）、IL-33の平均値は1.1 pg/ml（中央値は0 pg/ml）、IL-13の平均値は183 pg/ml（中央値は0 pg/ml）、IL-5の平均値は8.8 pg/ml（中央値は0 pg/ml）であった。TSLPが45人の対象者で測定できたのに対して、IL-33やIL-13、IL-5はほとんど測定できなかった（図1）。なお、血液ぜん息バイオマーカーは80名とも同じ月に測定し、季節性の影響を限定する事に配慮した。

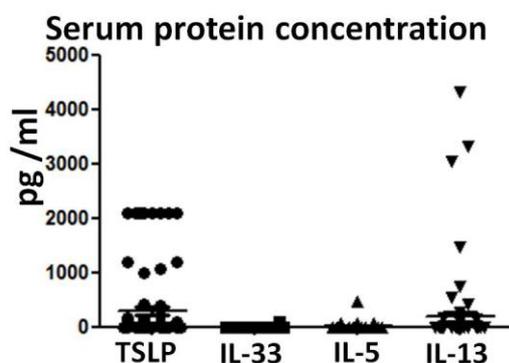


図1. 各種の血液ぜん息バイオマーカーの測定状況。TSLP 蛋白と IL-13 が比較的安定的に測定可能であった。

次に TSLP と各種血液ぜん息バイオマーカーとの相関を検討した (図 2)。TSLP は IL-13 とのみ有意な相関が得られ、その関連に ILC2 が関わっていることが示唆された。

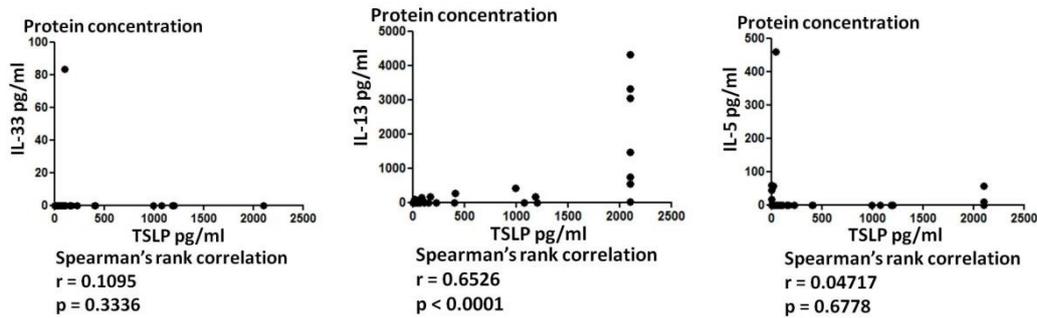


図 2. 血液中 TSLP と IL-33、IL-13、IL-5 との相関図。TSLP と IL-13 にのみ相関を認めた。

そして、IL-13 の発現状況により TSLP の発現を検討したところ、TSLP が 500 以上と未満で、層別化できる可能性が示唆された。更に、TSLP を 500 pg/ml で二群に分けて検討したところ、図 2 と同様に、TSLP と IL-13 の関連性が示唆された (図 3)。

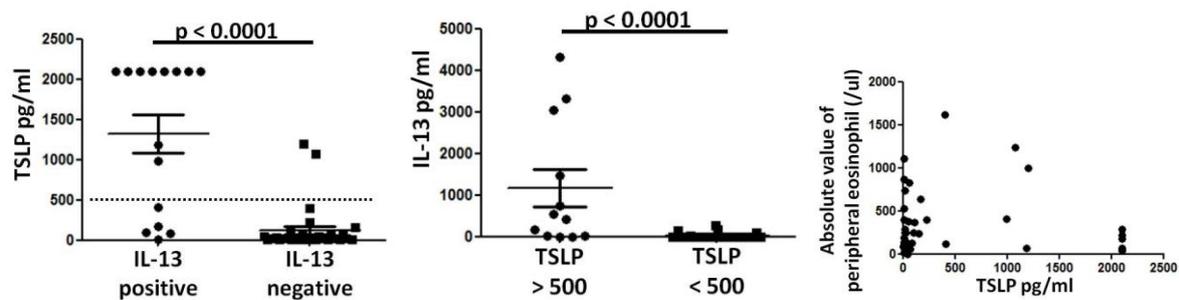


図 3. 血液中 TSLP と IL-13 の関連性。TSLP が 500 以上と未満で層別化でき可能性が示唆された。TSLP と末梢血好酸球数は相関を認めなかった。

最後に TSLP 発現と対象者住居地域の関連性について検討したところ、郵便番号 142 地域 (主に東京都品川区) と 145 地域 (主に東京都大田区) では TSLP 発現の差がある可能性が示唆された。そして、TSLP 測定時の光化学オキシダント発生量を比較したところ、142 地域で有意に光化学オキシダントの発生量は多かった。しかし、対象患者数が少ないことから今後は患者の臨床的背景、幹線道路からの距離、居住地一日滞在時間なども含めて検討する必要がある (図 4)。

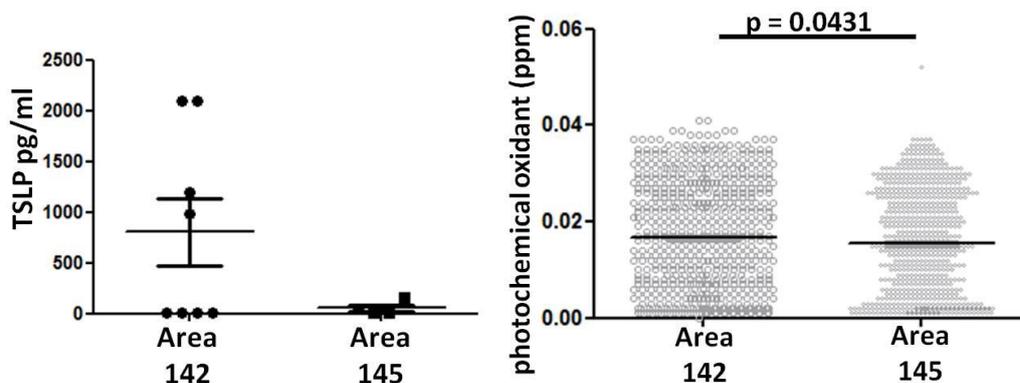


図 4. 血液中 TSLP 発現と住居地域における光化学オキシダントの比較。郵便番号 142 地域(東京

都品川区)住居ぜん息患者は、145 地域 (東京都大田区)より血液中 TSLP 発現が高く、142 地域は月間の光化学オキシダントの発生量が 145 地域より多かった。

5 考察

限られた試験的な結果ではあるが、TSLP がぜん息バイオマーカーとしての候補になり得ることが示唆された。しかし、光化学オキシダントと血液中 TSLP の関連性を示す文献はほとんどなく、今後とも検討が必要である。次年度に向けて、本検討を裏打ちする基礎的実験を行うことにより光化学オキシダントと TSLP の関連性、光化学オキシダント高感受性群遺伝子多型と TSLP 発現の関連性等にも視野を広げ検討する必要がある。

平成 29 年度の検討は挑戦的ではあったが、一定の方向性が示されたと考えている。

6 次年度に向けた課題

上記の結果と考察から、患者数の増加と参加施設数の増加が必要と思われる。また、観察期間を長期化することにより、本研究から得られる統計データの重要性が担保されると考えている。本年行った検討の課題としては、ぜん息患者が暮らしている生活環境の正確な把握が困難である。光化学オキシダントが主に日中に発生することから、当該患者が日中主に過ごしている場所や自宅周囲環境の光化学オキシダント濃度について検討する必要があると思われた。

なお、本年研究し得なかった、本研究目的の大項目中の 2 から 4 についても検討を予定している。今後想定される課題としては、光化学オキシダント高感受性群の設定が難易度が高い可能性がある。関連する遺伝子多型は複数にわたることから、民族的背景も加味した検討が必要であると思われる。

本研究の継続性を保ち、研究の質と量を確保することによって、産生されるデータをもとに予防事業と的確にマッチさせていく予定である。

7 期待される成果及び活用の方向性

本研究を引き続き遂行することにより、下記の目標が達成されると考えている。

1. TSLP 高発現など光化学オキシダント高感受性群の設定とともに効率的な予防事業の運営
2. 光化学オキシダントと ILC2 を中心とした自然免疫との関連を見出すことにより、自然免疫における予防事業の在り方について新機軸の創出の可能性
3. 本研究に従事する若手医師研究員を増やすことにより、予防事業に精通した次世代の担い手の養成に寄与する

上記目標を達成すべく、研究課題を随時立案し検討する。

【学会発表・論文】

現時点では該当なし。