

日本職業・環境アレルギー学会雑誌

OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL ALLERGY

OEA

Vol.13-2

2006年5月

日本職業・環境アレルギー学会

JAPANESE SOCIETY OF OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL ALLERGY

目 次

総説

マウス喘息モデルを用いた疾患感受性遺伝子の検索	川部 勤	1
最近の遺伝子解析がもたらした喘息の新しい考え方	檜澤 伸之	11

原著

縫製工場従業者にみられた 綿塵、羊毛塵吸入に起因する職業性喘息の1例	高本 公	24
珪肺症例における制御性T細胞の検討	三浦 由恵、呉 萍 兵藤 文則、西村 泰光 勝山 博信、富田 正文 草加 勝康、大槻 剛巳	29
瞬間強力接着剤（シアノン®）による 職業性喘息の1例とその病理組織像	渡邊 直人、吉川弥須子 山田 一成、福田 健	40
Specific IgE response to various antigens by different sensitizing routes in individual subjects	佐藤久美子、宮崎有紀子 久保田一雄、狩野 繁之 中澤 次夫	48
日本職業・環境アレルギー学会会則		61
日本職業・環境アレルギー学会役員		63
日本職業・環境アレルギー学会雑誌投稿規定		64

第37回日本職業・環境アレルギー学会 総会・学術大会開催予告

1. 会 期：平成18年7月7日（金）・8日（土）
2. 会 場：アルカス SASEBO
〒857-0863 長崎県佐世保市三浦町2-3
TEL：0956-42-1111 FAX：0956-24-0051
3. 会 長：浅井 貞宏（佐世保市立総合病院 副院長）
4. 事務局：〒857-0056 長崎県佐世保市平瀬9-3
佐世保市立総合病院
第37回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会
TEL:0956-24-1515 FAX:0956-22-4641
E-mail: s-asai@hospital.sasebo.nagasaki.jp
ホームページ：第37回日本職業・環境アレルギー学会
5. 参加費：一般：10,000円（懇親会費を含む）
学生：無料（当日学生証提示）
6. 特別企画
 - 特別講演1「気管支喘息における抗炎症療法の展望」
足立 満（昭和大学）
 - 特別講演2「気管支喘息の病態と環境因子」
松瀬 厚人（長崎大学）
 - 教育講演1「化学物質による職業アレルギーの国際基準について」
日下 幸則（福井大学）
 - 教育講演2「職業アレルギー研究の社会的意義」
ーハウス栽培によるアレルギー発症を中心にー
石川 哮（熊本大学名誉教授）
 - シンポジウム1「職業・環境アレルギーの診断学」
座長 上田 厚（熊本大学）・福田 健（獨協医科大学）
 - シンポジウム2「職業・環境アレルギーの予防と治療」
座長 森本 兼麿（大阪大学）・土橋 邦生（群馬大学）
 - 会長講演「職業性喘息の多様性」
浅井 貞宏（佐世保市立総合病院）
7. 懇親会（情報交換会）
 - 日 時：平成18年7月7日（金） 18:00～
 - 会 場：アルカスSASEBO
 - 会 費：学会参加費に含まれる

8. スケジュール

7月7日(金)
 9:30～ 編集委員会
 10:00～ 理事会
 11:00～ 評議員会
 12:00～ 特別講演 1
 13:00～ 教育講演 1
 14:00～ 一般演題
 15:00～ シンポジウム 1
 17:00～ 一般演題
 18:00～ 懇親会(情報交換会)

7月8日(土)
 9:00～ 一般演題
 10:00～ シンポジウム 2
 12:00～ 特別講演 2
 13:00～ 会長講演
 13:40～ 総会
 14:10～ 教育講演 2

9. 交通機関

JR・MR「佐世保駅」徒歩約5分

西九州自動車道佐世保みなとインターから車で約5分

長崎空港から連絡バスで約80分



* 本学会は、日本アレルギー学会認定医制度の認定学会として認められています。

筆頭発表3単位、出席4単位となります。

* 日本医師会認定産業医 単位申請中

総説

マウス喘息モデルを用いた疾患感受性遺伝子の検索

川部 勤

名古屋大学医学部 保健学科 検査技術科学専攻 病因・病態検査学講座 病因検査学

抄 録

ヒトでは気管支喘息関連遺伝子について現在10以上の全ゲノム連鎖解析の結果が報告されており、全染色体にわたり気管支喘息と関連がある疾患感受性遺伝子が報告されている。しかし気管支喘息の発症には環境要因が大きく関与し、また診断基準が明確ではないなどヒトでのゲノム解析は困難であり、未だ決め手となる疾患感受性遺伝子は同定されていない。疾患動物モデルを用いた解析は環境因子を同一にでき、特に詳細な遺伝情報が備わっているリコンビナント近交系(RI)を用いることは、気管支喘息の遺伝要因のゲノム解析をする上で非常に有用なものである。筆者らは本格的なRI系統群であるSMXA-RI系を用いてマウス喘息モデルを解析し、即時型喘息反応(IgE値)、好酸球の気道への集積、また気道過敏性という気管支喘息の病態を考える上で重要な表現型について疾患感受性遺伝子座を同定し得た。示唆レベルしか検出できなかった抗原特異的IgE値を規定する遺伝子座については、気管支喘息では新規の方法であるコンソミック系統を併用した解析により疾患感受性を確認した。本総説では気管支喘息の疾患感受性にかかわる遺伝因子の解析をとおして、マウスを用いた遺伝学的解析実験システムであるリコンビナント近交系ならびにコンソミック系統と多因子疾患の解析法である量的形質遺伝子座(quantitative trait locus: QTL)解析について概説する。

はじめに

1960年代は人口の1%前後であった気管支喘息患者数が、1990年代にはほぼ3%と増加し、厚生労働省が行った「保健福祉動向調査」によ

ると、何らかのアレルギーを発症している人は国民のおよそ3人に1人であるという調査結果も報告された。このようにアレルギー性疾患は増加しており、国民生活の質の向上ばかりではなく医療経済的な観点からも大きな問題と考えられる。気管支喘息患者を含むアレルギー性疾患患者が増加している原因としてはハウスダストや花粉などの抗原物質(アレルゲン)の増加や大気汚染などの増悪因子、さらに感染症の減少や抗生物質の多用などの環境要因の変化が考えられる。一方、家系調査や双生児研究などに

〒461-8673

名古屋市東区大幸南1-1-20

名古屋大学医学部 保健学科 検査技術科学専攻
病因・病態検査学講座 病因検査学

川部 勤

TEL 052-719-1547

FAX 052-719-1547

より気管支喘息を含むアレルギー性疾患が遺伝する疾患であることは明らかである¹²⁾。大規模な疫学調査によると、気管支喘息の罹患率は6.9%で、両親が気管支喘息の場合は子の気管支喘息発症危険率は7.0倍になると報告されており、遺伝要因は気管支喘息の発症に大きく関与している¹¹⁾。また気管支喘息では遺伝因子が73%の相対的影響をもつとも報告されている¹³⁾。しかしその遺伝形式は単純なメンデル遺伝では説明がつかず、気管支喘息は複数の遺伝因子に加えてアレルゲンの曝露など環境要因が複雑に絡み合うことで発症する多因子疾患(multifactorial diseases)の1つと考えられている(図1)。気管支喘息や糖尿病のような多因子疾患の遺伝要因に関する研究は非常に重要ではあるが、極めて困難な課題であり現在のところ十分に解析されているとはいえない。

疾患感受性遺伝子を同定する主な解析方法としては、形質(生物のある個体がもっている特質のこと)に関係する遺伝子が想定される場合にその遺伝子を調べる候補遺伝子解析とゲノムワイドに原因座位を探索する方法である連鎖解析がある。連鎖解析は染色体全域についてくまなく調べることができる理想的な方法であり、

現在までにヒトで気管支喘息関連形質の全ゲノム連鎖解析としては10をこえる報告がある^{14,15)}。しかし、実際に気管支喘息の疾患感受性遺伝子をヒトで解析する場合にはさまざまな問題がある。たとえば診断であるが気管支喘息と同様な“ありふれた疾患”(common disease)である高血圧や糖尿病のような明確な診断基準はなく、また医師の経験が診断に影響を及ぼしている可能性は否定できず、国を超えての大規模な比較には難しい問題がある。さらにヒトの遺伝的背景や環境因子も個々人で大きく異なるため、マウス喘息モデルを通しての気管支喘息感受性遺伝子の解析がヒトでの解析同様に進められてきた。2003年にヒトゲノムが解読され、マウスのゲノムもほぼ解読された。これらのゲノム情報をもとに複雑な生体の仕組みを体系的に解明することが可能となった。

リコンビナント近交系について

われわれの研究室では気管支喘息の疾患感受性遺伝子座を探索するためにSMXAリコンビナント近交系(recombinant inbred:RI系)マウスを用いて検討を行ってきた。近交系(inbred)とは20世代以上の兄妹交配が続けられているも

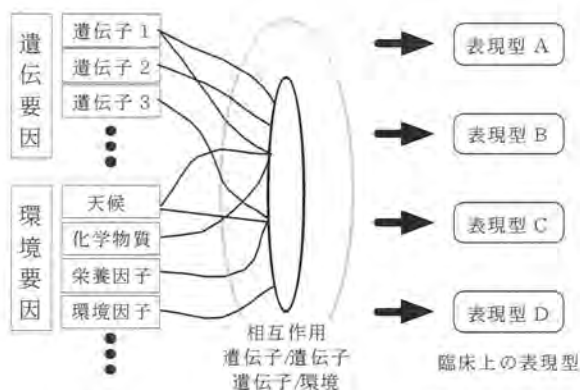


図1. 多因子疾患の病態にかかわる因子

多因子疾患(multifactorial diseases)はcomplex disease、polygenic diseaseとも呼ばれ、複数の遺伝的要因に環境要因が複雑に絡み合うことで発症する。(文献25より改変引用)

ので、BALB/c系統などのように均一化された遺伝背景を備えているマウスの系統である。リコンビナント近交系は近交系を基礎にした第2世代の近交系と呼ぶべき系統であり、互いに血縁関係のない2つの近交系の交配によって得られた雑種第2代を起源に複数の組み合わせから新たに兄妹交配を繰り返し、20世代を越えた複数の近交系のセットからなるものである(図2)。名古屋大学大学院医学系研究科附属医学教育研究支援センター実験動物部門の西村正彦前教授、大野民夫助教授らにより樹立・系統維持されているSMXA-RI系は、SM/J系統とA/J系統を親系統として我が国の研究者により開発された国内唯一のRI系統群であり¹⁶⁾、RI系統群の有用性を決定する系統数もわれわれが利用できたものでも18系統と十分にある。各RI系統の染色体は両親系統のどちらかに由来しており、領域ごとの由来を示すSDP (Strain Distribution Pattern) はジャクソン研究所のデータベースから位置情報が公開されているマイクロサテライトマーカー (Mitマーカー) などをもとに789の遺伝子多型マーカー、異なるものだけでも513と高密度に整備されており、全ゲ

ノム領域をカバーするように作成されている(図3)。各系統の表現型の情報とこのSDPの情報を比較することで、表現型を決定している遺伝子の染色体マッピングが可能である。RI系統群の有用性は構成する系統数とSDPの精密度で決まることを考えると、SMXA-RI系は多因子疾患の遺伝解析に十分な規模を備えている。SMXA-RI系は既に多因子形質の遺伝解析に多くの成果をあげている日本独自の優れたRI系統群である¹⁷⁻¹⁹⁾。われわれのグループでは気管支喘息の疾患感受性遺伝子座を探索するためにSMXA-RI系を用いて量的形質遺伝子座 (quantitative trait locus: QTL) 解析を行ってきた。量的形質とは遺伝因子による系統間での形質の中で身長や体重など、各個体の形質値が、連続的に変異する形質のことである。気管支喘息などのcommon diseaseの多くの表現型は量的形質であり、それを規定する遺伝子座を量的形質遺伝子座という。現在までに気管支喘息に関する形質についてマウスを用いた全ゲノム連鎖解析としては5つのQTL解析が報告されている²⁰⁻²⁴⁾。RI系統群ばかりでなく通常の近交系マウスを用いてQTL解析を行う場合にも、まず両

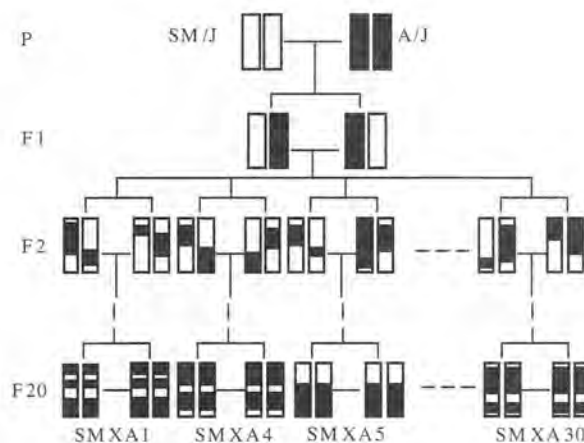


図2. SMXA-RI系統群の樹立法

SMXA-RI系統群はSM/J系統とA/J系統の2種の近交系が親系統である。親系統の交配により多数のF2を作成する。任意の雌雄を1対ずつ交配した組み合わせから得られた子孫をこれ以後は兄妹交配により維持し、20代以上繰り返すことにより作出された。

マウス喘息モデルを用いた疾患感受性遺伝子の検索

Locus	Map Position	1	4	5	7	8	9	10	11	12	14	15	16	17	18	21	24	25	26	29	30
Chromosome 1 (Total length 112cM)																					
D1Mit1	8.7	S	S	S	A	A	A	A	S	A	S	A	S	S	S	S	S	A	S	A	S
D1Mit3	11	A	A	S	A	A	A	S	A	S	S	S	A	S	S	S	S	A	S	A	S
D1Mit4	12	A	A	S	A	A	A	S	A	S	S	S	A	S	S	S	S	A	S	A	S
D1Mit373	17	S	A	S	A	A	A	S	S	S	S	S	A	S	S	S	A	S	A	S	S
D1Rik117		S	A	S	A	A	A	S	S	S	S	S	A	S	S	A	A	A	S	A	S
D1Mit212	21	S	A	S	S	A	A	A	S	S	S	S	A	S	S	A	A	S	A	S	S
D1Rik118		S	A	S	A	A	A	A	S	S	S	A	A	A	S	A	A	A	S	A	S
D1Rik119		S	A	S	A	A	A	A	S	S	S	A	A	A	S	A	A	A	S	A	S
D1Mit18	29.7	S	A	S	A	S	A	A	S	S	A	A	S	A	A	S	S	A	S	A	S
D1Rik120		S	A	S	A	S	A	S	S	S	S	A	A	S	A	S	A	S	A	S	S
D1Rik121		S	A	S	A	S	A	S	S	S	S	A	A	S	A	S	A	S	A	S	S
D1Rik122		S	S	S	A	S	A	S	S	S	S	A	S	S	A	A	S	S	S	A	S
D1Mit7	41	S	S	S	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S	S	S	A	S
D1Rik123		S	S	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S	S	A	A	S
D1Rik124		S	S	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S	S	A	A	S
D1Rik125		S	S	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S
D1Rik126		S	S	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S
D1Rik127		S	S	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S
D1Rik128		S	S	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S
D1Rik129		S	S	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S	A	A	S	S
D1Rik161		A	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	S	S	A	S	S	A	A	A
D1Rik162		A	A	A	S	A	S	S	A	A	S	S	A	S	S	A	S	S	A	A	A

図3. SMXA-RI系の遺伝情報 (Strain Distribution Pattern) について

樹立された各RI系統群は、個々の染色体領域(遺伝子座)は両親系統のどちらかに由来している。それぞれの遺伝子座に特異的なマイクロサテライトマーカーを用いて、そのRI系統群に含まれる各系統の各遺伝子座の多型がどちらの両親系統の保有する多型に固定されているかを調べる。Strain Distribution Pattern (SDP) とは結果を系統の番号順に並べ、また各遺伝子座での結果とともに表したものである。この表により、あるRI系統群のある遺伝子座のSDPは一義的に決まる。例えば、図のSMXA1の遺伝子座D1Mit1はSであり、SM/J由来の遺伝子座であることを示し、その下の遺伝子座D1Mit3はAであり、A/J由来の遺伝子座であることを示す。

親系統の選択が問題となる。QTL解析はQTLの差を検出するものであり、2つの系統が遺伝的に近い場合は、多くのQTLが互いに共通なため、QTLの差を示すものが少ないか系によっては何も検出できない可能性がある(図4)。A/J系統は比較的アレルギーを起こしやすいマウスとして知られており、もう一方の親系統であるSM/J系統については気管支喘息関連の表現型をあまり強く示さないことをまず確認しSMXA-RI系を用いて本研究を開始した。

QTL解析法の実際

実際のアレルギー性疾患は疾患自体が均一ではなく多様な病態の集合であり、気管支喘息自

体を症候群として捉える考え方もある。気管支喘息の病態は即時型喘息反応、遅発型喘息反応および後遅発型喘息反応に分類されているので、即時型喘息反応の指標として抗原特異的IgE値、また遅発型および後遅発型喘息反応の指標として好酸球の気道への集積、さらに気道過敏性の3種類の表現型について検討した。

マウス喘息モデルとしては代表的なOVA感作-吸入曝露の系を用いた。6から8週のSM/J系およびA/J系の両親系統、(SM/J×A/J)F1マウスおよび18系統のSMXA-RI系マウスの計21系統について解析した。各系統10匹以上を用いてアラムとともに卵白アルブミンを実験開始日と10日後に腹腔内投与して感作した。2

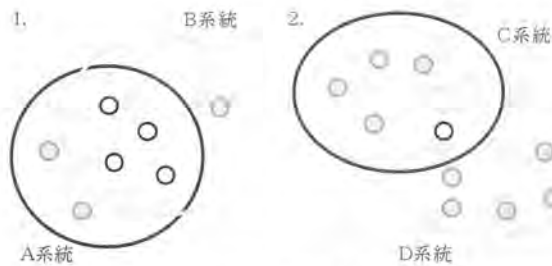


図4. QTL解析を行う場合に両親系統を選択する上での問題

2つの系統が遺伝的に近い場合には、多くのQTLは互いに共通なためQTLの差を示すものが少ないか、組み合わせによっては何も検出できない可能性がある。また2つの系統が遺伝的に離れている場合には両者の間で差のあるQTL、すなわち検出できるQTLの数が増え、解析が極端に難しくなる。(文献26より改変引用)

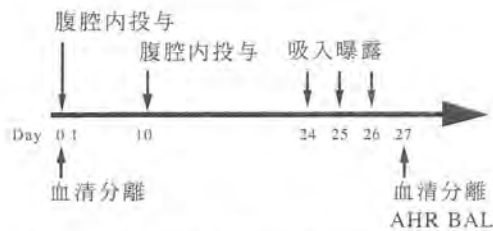


図5. マウス喘息モデルの実験プロトコール

度目の感作14日後より3日間吸入により卵白アルブミンを曝露した(図5)。感作前と最後の吸入日に採血し、分離した血清中の抗原特異的IgE値を測定した。また気管支肺胞洗浄を行い、サイトスピンにて得られた検体をPappenheim染色し、細胞分画を調べ好酸球比率を検討した。また気道過敏性に関しては、メサコリン生理食塩水溶液を低濃度より吸入させ、生ずる気道抵抗を測定した。

以上の結果より得られた抗原特異的IgE値、BAL中の好酸球比率、さらに気道過敏性の3種類の表現型について、各系統で得られた形質値と各系統の遺伝情報であるSDPを連鎖解析ソフトであるQTL Cartographerを用いてコンピュータ解析した。QTLの検出・マッピングを行う一般的な方法としてinterval mappingがある。しかし、この方法はQTLの数が多い場合やひとつの染色体上に2つ以上のQTLがある場合に

は、目的とする染色体領域外のQTLの影響によりQTL解析の検出力や精度が低下する。そこでinterval mappingの欠点を補う方法として新規に開発されたcomposite interval mapping (CIM) を用いて解析した。QTL CartographerはCIM法でQTL解析が行える代表的なソフトである。QTLの位置を決定するための閾値については最もよい推定値を与えるpermutation testを表現型ごとに3000回行い、示唆および有効レベルを決定した。一連の解析の流れを図6に示す。連鎖解析の結果としてマウスの20対の染色体上の各遺伝子マーカーにおける表現型との連鎖の度合いの分布が得られる。遺伝子座と表現型との連鎖の度合いは対数尤度比(Logarithm of the odds: LOD) スコアで示される。

以上の解析を抗原特異的IgE値、好酸球の気道への集積、さらに気道過敏性の3種類の表現型について検討した結果、好酸球の気道への集積に感受性を示す遺伝子座は第9および16番染色体上に、さらに気道過敏性に感受性を示す遺伝子座は第17番染色体上に有効レベルを示すQTLとして検出された。しかし抗原特異的IgE値に感受性を示す遺伝子座には有効レベルを超えるものがなく、示唆レベルの感受性遺伝子座が第10、17(この染色体上には2箇所)、19

マウス喘息モデルを用いた疾患感受性遺伝子の検索

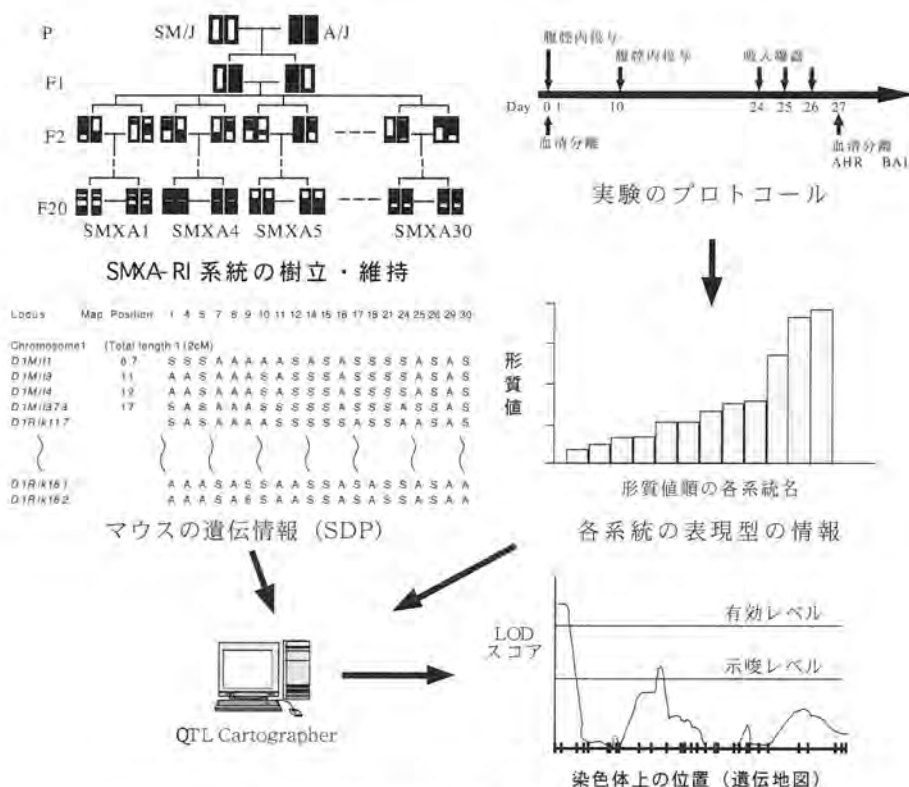


図6. SMXA-RI系を用いた気管支喘息感受性遺伝子座同定の全体の流れ

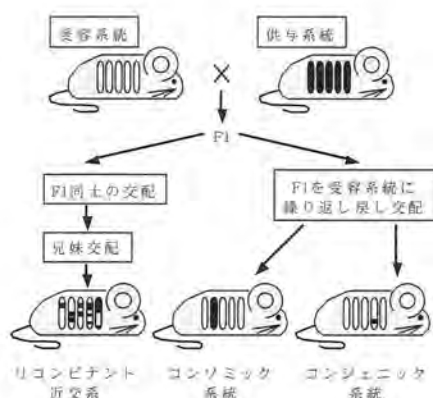


図7. 近交系から派生した系統とその遺伝学的性質

2種類の近交系を交配して樹立する新しい近交系としてリコンビナント近交系、コンソミック系統およびコンジェニック系を示す。

コンジェニック系は既存の近交系にある特定のアレルを導入させた系統である。コンソミック系統はコンジェニック系統の変形で、1つの染色体全領域について既存の近交系に導入した系統である。(文献27より改変引用)

番染色体上に計4箇所存在するのみであった。解析結果より気管支喘息の3種の表現型は何れも異なる遺伝子座にあり、気管支喘息の発症には多くの遺伝子座が複雑に関与していることが改めて確認された。抗原特異的IgE値に対する示唆レベルの感受性遺伝子座については、遺伝要因としての意義を確認するためにコンソミック系統を用いた。

コンソミック系統について

最近、RI系統群とともにコンソミック系統群は世界的に注目されている新たな体系的遺伝解析系である。コンソミック系統群は染色体受容系統に染色体供与系統の染色体を1本ずつ導入した21 (19本の常染色体+2本の性染色体)

系統からなる系統群であり、21系統によって供与系統の染色体はすべてカバーされている。コンソミック系統は特定のアレルを既存の近交系に導入し作成されたコンジェニック系統の変形であり、1つの染色体全領域について既存の近交系に導入した系統である。導入した1本の染色体以外はもともとの近交系の染色体であり、導入した染色体によるもの以外は遺伝的背景が共通であり、結果として導入した染色体に由来する遺伝要因を明らかにすることができる。実際には染色体供与系統の特定の染色体に注目し、計画的に染色体受容系統に戻し交配を繰り返し作成する。名古屋大学実験動物部門の大野民夫助教授が樹立途中のコンソミック系統(A/Jマウスが受容体系統で、染色体供与系統がSM/Jマウス由来)を使用した。

抗原特異的IgE値に対する示唆レベルの感受性遺伝子座は3染色体上にわたるが、このうち第17および第19番染色体の3遺伝子座についてはコンソミック系統が既に樹立されており、これらの系統を用いて検討した。A.SM-Chr17系統およびA.SM-Chr19系統(それぞれ染色体受容系統はA/Jで、第17番および第19番染色体のみSM/J系統由来)を使用し、A/J系統およびSM/J系統と比較することにより、これら第17番および第19番染色体が抗原特異的IgEの産生に関連することを確認した。このことよりSMXA-RI系で検出された示唆レベルの4つの感受性遺伝子座のうち計3箇所については抗原特異的IgEの産生に関連することを確認した。第10番染色体上の1遺伝子座については第10番染色体のみ置換したA.SM-Chr10系統は樹立途中で、抗原特異的IgEの産生における遺伝因子としての意義は現在まだ明らかにできていない。

終わりに

気管支喘息を初めとするアレルギー性疾患は発症に複数の因子がかかわる多因子疾患であ

る。これまでに全ゲノムスクリーニングが行われ、複数の連鎖領域と候補遺伝子が発見されてきたが、依然として決め手となる遺伝因子は同定されていない。筆者らは連鎖解析の手法にもとづき、SMXA-RI系を用いて気管支喘息疾患感受性遺伝子座を解析してきた。今後は同定した疾患感受性遺伝子座に位置する候補遺伝子について検討を進め、最終的には疾患感受性遺伝子を同定していく予定である。近年、実施困難と考えられていた連鎖不均衡を用いる方法がSNP(single nucleotide polymorphism, 1塩基多型)遺伝子型解読の技術革新もあいまって、連鎖解析に変わりうる疾患感受性遺伝子の探索法として実際に応用され始めている。新規探索法の結果を目の当たりにし、連鎖解析は単一遺伝子病には非常に有効であったが、多因子疾患についての有効性には限界があるとも考え始められている。実際に平成15年には国家プロジェクトとしてバイオバンクへ約30万人のDNAサンプルを集め、それらを利用してSNPと薬剤の効果、副作用などやアレルギー性疾患を含む40疾患との関係を調べるオーダーメイド医療実現化プロジェクトが開始された。一方、環境因子にかかわる最近の考え方として衛生仮説(hygiene hypothesis)が提唱され、タイプ2ヘルパーT(Th2)細胞が感染症などによりTh1細胞にシフトしてアトピー性疾患が抑えられるというこの仮説も、自然免疫機構の分子生物学的な機序の解明に伴い徐々に認められは始めている。気管支喘息の成因にかかわる遺伝要因および環境要因については急速に情報が集積されているが、最終的に疾患感受性遺伝子群を検出できれば発症メカニズムの解明、新規治療法の開発につながり、また病態を規定している遺伝子多型の情報は気管支喘息のオーダーメイド医療を期待させる。

この論文は第36回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会で発表した内容をもとにし

たものであり、発表の機会を与えて下さった会長の高木健三先生に深謝いたします。また、共同研究者の名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科(岡本真和先生、今泉良和先生、長谷川好規先生、下方 薫先生)、同大学院附属医学教育研究支援センター実験動物部門(大野民夫先生、前教授の西村正彦先生)にも深謝いたします。

文 献

- 1) Hopp RJ, Bewtra AK, Watt GD, et al. Genetic analysis of allergic disease in twins. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 265-70.
- 2) Longo G, Strinati R, Poli F, et al. Genetic factors in nonspecific bronchial hyperreactivity. An epidemiologic study. *Am J Dis Child* 1987; 141: 331-4.
- 3) Genes for asthma? An analysis of the European Community Respiratory Health Survey. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1773-80.
- 4) Skadhauge LR, Christensen K, Kyvik KO, et al. Genetic and environmental influence on asthma: a population-based study of 11,688 Danish twin pairs. *Eur Respir J* 1999; 13: 8-14.
- 5) Daniels SE, Bhattacharrya S, James A, et al. A genome-wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature* 1996; 383: 247-50.
- 6) Dizier MH, Besse-Schmittler C, Guilleud-Bataille M, et al. Genome screen for asthma and related phenotypes in the French EGEA study. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1812-8.
- 7) Hakonarson H, Bjornsdottir US, Halapi E, et al. A major susceptibility gene for asthma maps to chromosome 14q24. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 483-91.
- 8) Laitinen T, Daly MJ, Rioux JD, et al. A susceptibility locus for asthma-related traits on chromosome 7 revealed by genome-wide scan in a founder population. *Nat Genet* 2001; 28: 87-91.
- 9) Malerba G, Trabetti E, Patuzzo C, et al. Candidate genes and a genome-wide search in Italian families with atopic asthmatic children. *Clin Exp Allergy* 1999; 29 Suppl 4: 27-30.
- 10) Ober C, Moffatt MF. Contributing factors to the pathobiology. The genetics of asthma. *Clin Chest Med* 2000; 21: 245-61.
- 11) Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002; 418: 426-30.
- 12) Wjst M, Fischer G, Immervoll T, et al. A genome-wide search for linkage to asthma. German Asthma Genetics Group. *Genomics* 1999; 58: 1-8.
- 13) Xu J, Meyers DA, Ober C, et al. Genomewide screen and identification of gene-gene interactions for asthma-susceptibility loci in three U.S. populations: collaborative study on the genetics of asthma. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1437-46.
- 14) Xu X, Fang Z, Wang B, et al. A genomewide search for quantitative-trait loci underlying asthma. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 1271-7.
- 15) Yokouchi Y, Nukaga Y, Shibasaki M, et al. Significant evidence for linkage of mite-sensitive childhood asthma to chromosome 5q31-q33 near the interleukin 12 B locus by a genome-wide search in Japanese families. *Genomics* 2000; 66: 152-60.
- 16) Nishimura M, Hirayama N, Serikawa T, et al. The SMXA: a new set of recombinant inbred strain of mice consisting of 26 substrains and their genetic profile. *Mamm Genome* 1995; 6: 850-7.
- 17) Anunciado RV, Nishimura M, Mori M, et al. Quantitative trait loci for body weight in the intercross between SM/J and A/J mice. *Exp Anim* 2001; 50: 319-24.
- 18) Kobayashi M, Ohno T, Tsuji A, et al. Combinations of nondiabetic parental genomes elicit impaired glucose tolerance in mouse SMXA recombinant inbred strains. *Diabetes* 2003; 52: 180-6.
- 19) Pataer A, Nishimura M, Kamoto T, et al. Genetic resistance to urethan-induced pulmonary adenomas in SMXA recombinant inbred mouse strains. *Cancer Res* 1997; 57: 2904-8.

- 20) De Sanctis GT, Merchant M, Beier DR, et al.
Quantitative locus analysis of airway hyper-
responsiveness in A/J and C57BL/6J mice. *Nat*
Genet 1995; 11; 150-4.
- 21) De Sanctis GT, Singer JB, Jiao A, et al.
Quantitative trait locus mapping of airway
responsiveness to chromosomes 6 and 7 in
inbred mice. *Am J Physiol* 1999; 277; L1118-23.
- 22) Ewart SL, Kuperman D, Schadt E, et al.
Quantitative trait loci controlling allergen-induced
airway hyperresponsiveness in inbred mice. *Am J*
Respir Cell Mol Biol 2000; 23; 537-45.
- 23) Ewart SL, Mitzner W, DiSilvestre DA, et al.
Airway hyperresponsiveness to acetylcholine:
segregation analysis and evidence for linkage to
murine chromosome 6. *Am J Respir Cell Mol Biol*
1996; 14; 487-95.
- 24) Zhang Y, Lefort J, Kearsley V, et al. A genome-
wide screen for asthma-associated quantitative
trait loci in a mouse model of allergic asthma.
Hum Mol Genet 1999; 8; 601-5.
- 25) Barnette T, Gourraud PA, Cambon-Thomsen A
Strategies in analysis of the genetic component of
multifactorial diseases; biostatistical aspects.
Transpl Immunol 2005; 14; 255-66.
- 26) 岡本美恵子, 多因子連鎖解析. (財) 東京都臨床医学総
合研究所実験動物研究部門編 (米川博通: 編集代表).
マウス ラボマニュアル 第2版 ポストゲノム時代の
実験法. 東京: シュプリンガー・フェアラーク東京,
2003; 88-101.
- 27) Rogner UC, Avner P Congenic mice: cutting tools
for complex immune disorders. *Nat Rev Immunol*
2003; 3; 243-52.

Search for Disease-susceptibility Genes Using Murine Model of Bronchial Asthma

Tsutomu Kawabe

Department of Medical Technology, Nagoya University School of Health Science

Abstract

Currently, more than ten whole-genome linkage analyses on asthma susceptibility genes have been reported in human and almost all chromosomes now possess candidate susceptibility genes for bronchial asthma. However, because of strong effect of environmental factors in the pathogenesis of asthma, vague diagnostic criteria, and so forth, decisive asthma susceptibility genes are not identified. Because of relatively uniform environmental factors, genomic analysis using animal models for human diseases are performed. Furthermore, recombinant inbred (RI) strains, which are equipped with detailed genetic information, offer many advantages for genomic analysis of asthma-related genetic factors. We have analyzed a murine model of asthma using SMXA-RI strains, which are full-fledged RI strains, and identified asthma susceptibility chromosomal loci for three important phenotypes in the pathogenesis of asthma: immediate asthmatic response (an allergen-specific IgE level), recruitment of eosinophils into the airway, and bronchial hyperresponsiveness. The suggestive chromosomal loci, we could not detect any significant ones, for allergen-specific IgE were confirmed by analysis of consomic strains carrying phenotype-related chromosomes from a SM/J strain. In this review, I will briefly describe the RI and consomic strains as a murine experimental system for genetical analysis and quantitative trait locus (QTL) analysis as a method in genomic analysis of multifactorial diseases, taking our analysis of genetic factors associated with asthma susceptibility as an example.

key word: quantitative trait locus analysis, recombinant inbred strain, consomic strain, bronchial asthma, linkage analysis

総説

最近の遺伝子解析がもたらした喘息の新しい考え方 ——患者対照研究による喘息共通病態の解明——

檜澤 伸之

北海道大学医学研究科呼吸器内科学

抄 録

これまでに非常に多くの遺伝子領域や遺伝子と喘息や他のアレルギー疾患との連鎖や関連が報告されてきた。これら多数の遺伝子解析の結果は、これらの疾患における個々の遺伝子が持つ影響力が非常に小さいこと、またそのために有意な連鎖や関連の報告を再現することが容易ではないことを明らかにした。すくなくとも現時点では、個々の遺伝子型によって喘息病態を区別し、また個々の薬剤に対する反応性の違いを判断するための治療前遺伝子診断を正当化するほどの確固たる科学的な根拠はない。多くの場合、たとえある遺伝子変異が遺伝子の機能に影響を与えとしても、これらの遺伝子変異がそれ自体で決定論的な意味を持つことは考えにくい。アレルギーや喘息の発症は複数の遺伝子多型が、それぞれが与えられた環境下でもたらずわずかな機能的な変化の差異として生じる生理的変化の総和として決定される。当然、患者さん一人一人のレベルで、それぞれの遺伝子の意義や寄与度が異なり、臨床的には“どの染色体領域のどの遺伝子が喘息遺伝子”といった議論はあまり意味がないのかもしれない。このような状況の中、これまでの数多くの喘息やアレルギーにおける遺伝疫学的な解析は喘息病態を構成するいくつかの経路（common pathway）の存在とその重要性を明らかにしてきたという点で意義がある。Common pathwayの解明は喘息病態の理解を深めると同時に、これらのcommon pathwayをターゲットにしたより特異的な喘息治療の進歩にも寄与することが期待される。我々のグループの検討も含め、これまでの遺伝子解析の意義は、遺伝子情報から個々人の疾患発症リスクを正確に予測することよりは、むしろアレルギーや喘息における共通病態（例えばアトピーにおけるエンドトキシン刺激認識機構の重要性や、アレルゲンやウイルス刺激によって慢性的な気道炎症が起こりやすい機構、気道の組織障害に対してリモデリングが進行しやすい機構など）の解明、病態の多様性の解明（アトピーの有無や発症年齢による病態の違いなど）、遺伝子や環境の相互作用の理解、さらにはそれらに基づいた創薬研究、薬理遺伝学などにあると考えられる。

〒060-8638

札幌市北区北15条西7丁目

北海道大学医学研究科呼吸器内科学

檜澤 伸之

TEL 011-706-5911

FAX 011-706-7899

はじめに

1989年にいわゆるアトピー体質と染色体11q13領域の遺伝的な連鎖が報告されて以降、これまでに非常に多くの遺伝子領域や遺伝子と

喘息や他のアレルギー疾患との連鎖や関連が報告されてきた。これら多数の遺伝子解析の結果は、これらの疾患における個々の遺伝子が持つ影響力が非常に小さいこと、またそのために有意な連鎖や関連の報告を再現することが容易ではないことを明らかにした。さらに個々の遺伝子の効果が環境の影響を大きく受けて変化することも、最近の検討からより明らかな事実となってきた。すくなくとも現時点では、個々の遺伝子型によって喘息病態を区別し、また個々の薬剤に対する反応性の違いを判断するための治療前遺伝子診断を正当化するほどの確固たる科学的な根拠は得られていない。喘息遺伝子、アトピー遺伝子と言えるほどの強い影響を持った遺伝子（変異）は存在しないと考えるのが妥当かもしれない。

ヒトの遺伝子には非常に多くのVariationが存在する（一塩基多型SNPで約300万個）。多くの場合、たとえその変異が遺伝子の機能に何らかの影響を与えるにしても、これらの遺伝子変異がそれ自体で決定論的な意味を持つことは考えにくい。人類は、まさに環境の変化に順応することで進化してきた。遺伝子の変異は生命としての可塑性を制御する基本的な機構の一つと考えられ、もし個体間に遺伝的な異質性がなかったら、すでに人類はある種の感染症によって絶滅していたかもしれない。もしほとんどの遺伝子変異が環境に拠らない決定論的な意味しか持たないのであれば、サルはヒトに進化することはなかったかもしれない。喘息などのありふれた疾患を理解するためにも環境が重要、遺伝子が重要といった単純な議論に終始するのではなく、環境と遺伝子との相互作用のなかでの遺伝子の働き、すなわち生体内での統合的な遺伝子の機能を理解することが今後益々、重要になっている。

このような状況の中、これまでの数多くの喘息やアレルギーにおける遺伝疫学的な解析は喘息病態を構成するいくつかの経路（common

pathway）の存在とその重要性を明らかにしてきたという点で意義がある。Common pathwayの解明は喘息病態の理解を深めると同時に、これらのcommon pathwayをターゲットにしたより特異的な喘息治療の進歩にも寄与することが期待される。本稿では、はじめに喘息などのありふれた疾患（common disease）における候補遺伝子を用いた患者対照研究の意義を考察する。次に我々のGroupがこれまでにに行った遺伝解析のいくつかを紹介し、それらの結果を踏まえながら気管支喘息の病態について考察したい。

候補遺伝子による患者対照研究

喘息やアレルギーなどのありふれた疾患を考えた場合、疾患の発症や重症度に影響を与える遺伝的な因子（通常、ある遺伝子多型の対立遺伝子の有無として考える）があるとしても、その遺伝的な影響は非常に小さく、その対立遺伝子があれば必ず疾患を発症する訳ではなく、またその対立遺伝子がなくても疾患を発症する人も少なからずいる。このような状況では、遺伝疫学的なアプローチのなかでも特に大規模な患者対照研究がより有効な解析手段と考えられている。患者対照研究では血縁関係のない患者群と健常者群との間で、検討する候補遺伝子に存在する多型の対立遺伝子頻度を比較する。その頻度に有意な違いが認められた場合にその遺伝子、その多型が疾患発症に遺伝的な影響をもたらしていると判断する。

現在、ヒトゲノム上に存在するほぼすべての遺伝子が同定され、それぞれの遺伝子に存在する多型情報がデータベースとしてウェブ上に公表されている。それらの多型が遺伝子に与える機能的な情報も加加速度的に増加している。このような遺伝子情報データベースの充実によって、喘息における特定の遺伝子の役割を患者対照研究によって検討することの意義も益々大きなものになってきている。

症例対照研究の再現性の問題について

候補遺伝子を用いた症例対照研究の結果は必ずしも簡単に追試されるわけではない。喘息などの多因子疾患では、個々の遺伝因子が持つ低い相対危険率、また疾患異質性や座位異質性などの問題が感受性遺伝子の同定を困難なものにしている。例えばある地域における全母集団において、ある特定の対立遺伝子が喘息の発症に遺伝的に真の影響を与えており、その頻度が患者群で55%、非患者群で45%であると仮定しよう。多数の研究者がそれぞれ500名の患者と500名の健常者をその地域から独自に集め患者対照研究を実施したとする。患者群、健常者群での対立遺伝子の頻度はそれぞれ、55%、45%を中心とした正規分布をするはずである(図1)。一つ一つの遺伝子が持つ寄与度が小さいために(言い換えると、患者群と対照群とで対立遺伝子の頻度の差が小さいために)、先の対立遺伝子の頻度の分布が患者群と健常者群と

で大きくオーバーラップしていることがわかる。結果として約40%程度の研究(者)だけが両群間での有意な差を同定できることになる。すなわち、検討した遺伝子が真に疾患の病態に影響を与えているとしても、半分以上の患者対照研究はその差を同定できないことになる。患者対照研究はしばしば、その結果に一貫性がないことが問題点として挙げられるが、その背景には複雑性疾患(complex disease)を扱うことに内在した大きな限界があることを理解しなければならない。

一方、遺伝解析の結果が一貫しない理由に疑陽性がどの程度関与しているのかを検討するために、糖尿病や統合失調症などの複雑性疾患を対象に行われた25のオリジナルの遺伝関連研究の追試を試みた301の報告についての検討がある¹⁾。もしオリジナルの25の報告がすべて疑陽性によるものだとしたら、約15(301の5%)の追試が $p=0.05$ のレベルで偶然に陽性の結果

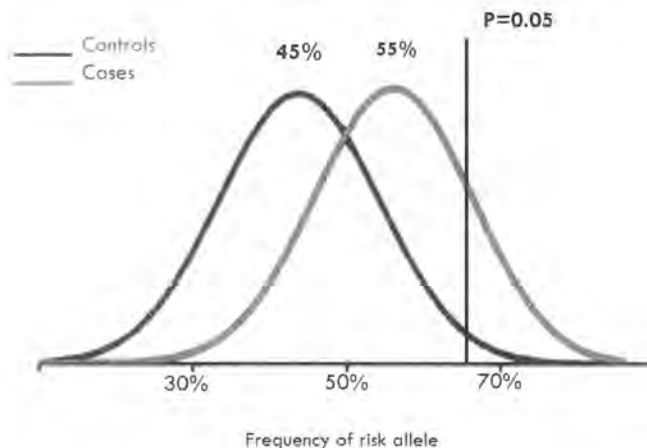


Figure 1. Case-control analysis for complex diseases

Case-control studies compare the allele frequencies between unrelated cases and controls. Suppose the frequency of a true risk allele is 55% in cases, and 45% in controls. If several investigators independently conducted case-control studies using their own populations, the distribution of allele frequencies in each study should show a normal distribution. The distribution of the risk allele significantly overlaps between cases and controls because the genetic effect of the risk allele is very small. One can estimate that only 30 to 40% of these studies will identify a significant difference between cases and controls at a significance level of 0.05. It is important to note that more than half of the studies will fail to find any association even though the allele is truly associated with the disease.

となるはずである。同様に約3 (301の1%)、0 (301の0.1%)の追試がそれぞれ0.01、0.001のレベルで偶然に陽性の結果になることが予想される。しかし実際には59の追試が有意差0.05のレベルで、26の追試が0.01のレベルで、さらには10の追試が0.001のレベルで追試に成功していた。これは複雑性疾患との遺伝的関連を報告した25の報告がすべて疑陽性である可能性は極めて低いことを示している。この結果は患者対照研究が前提とする、複雑でありふれた疾患 (Complex disease) における個々の疾患感受性遺伝子は、その遺伝的な影響は小さいものの、一般集団内に高頻度で存在することを裏付けており、大規模な患者対照研究によってこのような性質を持った感受性遺伝子が同定可能であることを示している。さらに複数の独立した集団において追試されることが、遺伝子疫学研究において非常に重要であることを示している。

候補遺伝子に存在する機能的な多型を用いた患者対照研究の実際

我々のグループがこれまでに報告してきた幾つかの検討例を紹介する。いずれの遺伝子も病態生理学的に喘息との密接な関連が示唆される分子であるが、さらに喘息における複数の全ゲノム解析が、これらの遺伝子が存在する染色体領域との有意な関連を報告しており、いずれの遺伝子も喘息病態に影響を与える重要な候補遺伝子と考えられる。

1. IL-17F

IL-17Fは近年同定されたIL-17ファミリーを構成する炎症性サイトカインであり、気道上皮や血管内皮細胞などから、IL-8やGM-CSF、GRO α 、ENA-78、TGF- β 、MCP-1、ICAM-1などの種々のサイトカイン、ケモカイン、増殖因子、接着因子を誘導する。軽症のアトピー型喘息患者を対象とした検討では区域性的抗原

チャレンジ後にBAL液中のIL-17Fの遺伝子発現の増強が認められている²⁾。マウス喘息モデルを用いた検討では、IL-17F遺伝子の気道内への移入はアレルギー性気道炎症を増強した³⁾。これらの報告からIL-17Fが喘息の慢性的なアレルギー性炎症の獲得、維持に関与している可能性が示唆される。健常人において1%以上の頻度が認められた5箇所が多型について435名の健常人、432名の喘息患者を用いた患者対象研究を行ったところ、7488T>C多型による遺伝子型の頻度が喘息患者と健常人との間で有意に異なっていた (P=0.0028)⁴⁾。この7488T>C変異はIL-17Fの161番アミノ酸に存在するヒスチジン (H) からアルギニン (R) への変異をもたらすが、野生型のホモ接合体に比べて変異型IL-17F (H161R) のホモ接合体では喘息発症のオッズ比が有意に小さかった (OR=0.06) (図2)。

次に我々はH161R変異型と野生型の組換えIL-17F蛋白をそれぞれ作成し、気道上皮細胞のBEAS-2Bを用いて、IL-17F刺激によるシグナル伝達経路の活性化や、それに引き続くサイトカイン、ケモカインの産生を比較検討した。H161R型IL-17FはMAPキナーゼを活性化することができず、結果としてBEAS-2B細胞からのサイトカインやケモカインの産生が低下した (図3)。さらに、H161R型IL-17Fは、野生型IL-17FによるBEAS-2B細胞からのIL-8産生を濃度依存的に抑制した。これら一連の検討からは、機能が欠落したIL-17F変異型をホモで有すると、喘息発症のリスクが著しく低下すると考えられ、IL-17Fは喘息の病態において重要な役割を果たしている可能性が推測される。

2. FCER1BとPAI-1との交互作用

高親和性IgE受容体はアレルギー反応の調節において中心的な役割を果たしている。同受容体の β 鎖をコードする遺伝子は染色体11q13領域に存在し、同遺伝子上に存在する幾つかの多

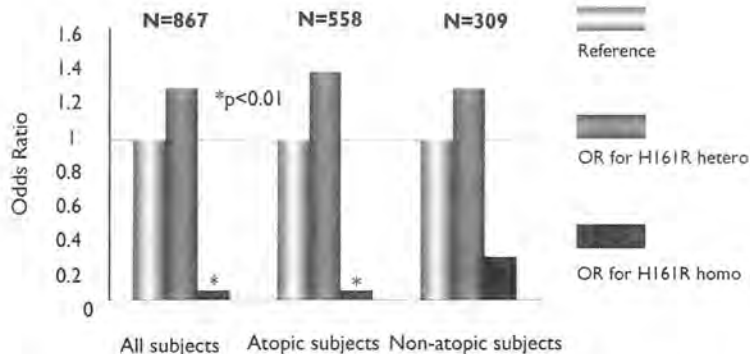


Figure 2. Genetic impacts of the mutant *IL17F* variant (H161R) on asthma

The 7488T>C polymorphism causes amino acid exchange from His to Arg at the position 161 of IL-17F (H161R). Odds ratios for asthma were calculated for H161R homozygote and for H161R heterozygote compared to wild-type homozygote as a reference. Homozygosity for the H161R was inversely associated with the development of asthma. When the data were analyzed separately according to the presence or absence of atopy, the stronger evidence was found in atopic subjects, suggesting that IL-17F may influence the pathogenesis of atopic asthma, rather than nonatopic asthma.

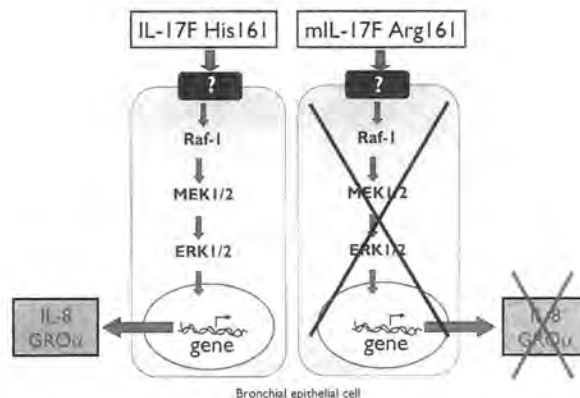


Figure 3. Functional effects of the H161R variant

Based on the in vitro functional studies (4), mutant IL-17 (H161R) is able to bind competitively to the IL-17F receptor. However, mutant IL-17F (H161R) does not activate its signaling pathway, resulting in a decreased production of mediators.

型はアトピーや喘息などの複数のアレルギー関連形質との有意な関連が報告されている。我々のグループは同遺伝子のプロモーター領域に存在する多型が血清総IgE値の多寡に遺伝的な影響を与えることを報告した³⁾。プロモーター領域の複数の多型は高親和性IgE受容体β鎖の遺伝子発現や好塩基球上での発現量と関連するこ

とが報告されているが⁶⁾、これらの多型はお互いに強い連鎖平衡の関係にあり、生体内でどの多型（または複数の組み合わせ）が真に機能的な意味を有するのかは判然としない。

一方、プラスミン系は血管増生、細胞の遊走や組織のリモデリングなどの多くの生理的、病態生理学的な過程において重要な役割を果たす

ことが知られている。プラスミンはマトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) を活性化することにより細胞外マトリックスのコンポーネントである多くの蛋白を分解する。PAI-1はプラスミノゲンアクチベーターを抑制することにより、MMPsを抑制し、ひいてはECMの分解を抑制する。プラスミンと抗プラスミンとの微妙なバランスが組織のリモデリングを調節していると考えられる。肥満細胞を用いた包括的な遺伝子発現の検討では、高親和性IgE受容体を介した刺激にてPAI-1が強く誘導されることが示されている⁷。またPAI-1をノックアウトした動物モデルでは、OVAチャレンジ後の気道でのハイドロキシプロリンの量がWild-typeに比べ、半分程度しかないことが示され、PAI-1が気道へのECM沈着に促進的に働いていることが示唆された⁸。

PAI-1遺伝子にはそのプロモーター領域に遺伝子の転写活性に影響を与える多型が知られている (4G/5G多型)⁹。特に4G型はPAI-1遺伝子の転写活性の亢進やPAI-1活性の亢進との関連が報告されている。さらに英国とチェコにお

ける検討では、それぞれPAI-1 4G型と喘息の発症との遺伝的な関連が報告されている^{10, 11}。我々の検討ではPAI-1遺伝子単独では喘息発症への影響は認められなかった。PAI-1と高親和性IgE受容体は肥満細胞を介した共通の反応系に関与する可能性が考えられ、我々はPAI-1と高親和性IgE受容体β鎖遺伝子多型の交互作用について検討した¹²。対象者を高親和性IgE受容体β鎖遺伝子とPAI-1遺伝子の遺伝子型の組み合わせによって4群に分けたところ、それぞれの遺伝子において特定の遺伝子型 (ともに機能低下と関連した遺伝子型) を有する群において、喘息を発症するリスクが有意に小さいことが判明した (図4)。PAI-1は気道のリモデリングの形成に深く関与している可能性があり、PAI-1遺伝子の機能的な多型は、気道のリモデリングが進行し易いかどうかを規定している遺伝因子の一つと考えられる。

3. CCL5と高齢発症喘息

CCL5遺伝子のプロモーター領域には転写効率に影響を与える多型が幾つか存在する。特に

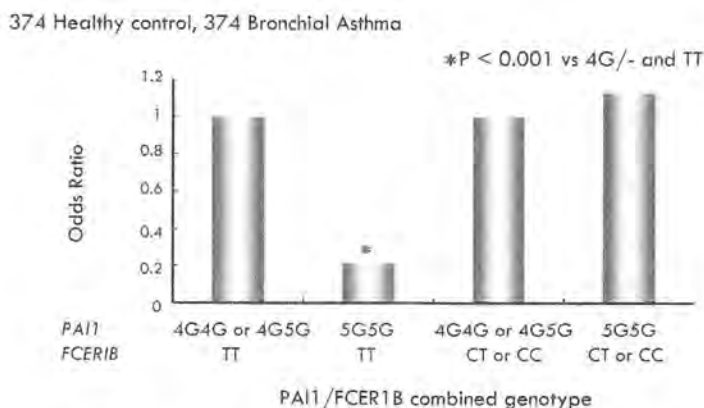


Figure 4. Influence of PAI1 genotype on asthma: moderation by a polymorphism in the *FCER1B* gene. When subjects were stratified into 4 groups according to the *FCER1B* and *PAI1* genotype, individuals with a combined genotype of *FCER1B* T/T and *PAI1* 5G/5G had a significantly lower risk of having asthma. Both genotypes are associated with lower promoter activity of the respective genes *in vitro*. The odds ratio for asthma associated with this combined genotype was 0.24. This result provides epidemiological evidence for possible gene-gene interactions between these two genes.

転写開始部位から28bp上流に存在するC>G多型はNF- κ B 結合部位の直下に存在し、遺伝子の転写活性に影響を与え、さらにHIV患者の予後にも影響を与えることが報告されている¹³⁾。我々は70人の健常人から採取した末梢血単核球をPHAで刺激、24時間後にCCL5の蛋白レベルを測定した¹⁴⁾。-28Gを有する人から採取した単核球では、この対立遺伝子を持たない人に比べてCCL5の産生量が有意に高かった。また喘

息の年齢別累積発症を-28Gの有無で比較したところ、-28Gを有する群では同対立遺伝子を持たない群に比べ40歳を超えてからの喘息発症のリスクが上昇した(図5)。患者対照研究の結果、40歳以上で発症した高齢発症の喘息と-28G対立遺伝子との間に有意な関連が認められた(オッズ比2.03)(図6)。一方で、40歳までに発症した喘息の間にはなんら関連が認められなかった。高齢者喘息では比較的アトピ

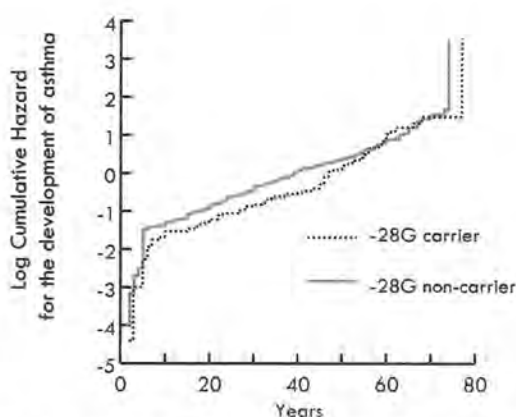


Figure 5 Development of asthma according to the *RANTES* -28C/G genotype

This figure shows Kaplan-Meier curves of log cumulative hazards for the onset of asthma stratified according to *RANTES* -28C/G genotypes. Visual comparison of the estimated curves suggests that individuals carrying the -28G allele have lower risk of developing asthma early in life, but increasing risk after the age of 40 years. This finding indicates that the *RANTES*-28G allele may be associated with asthma developing after the age of 40 years.

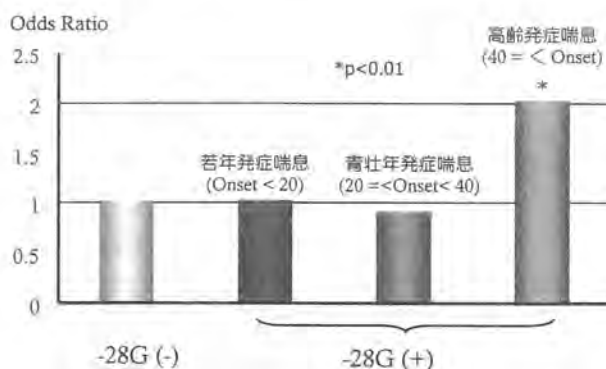


Figure 6 Association of the -28C/G *RANTES* promoter polymorphism with late-onset asthma

The presence of the -28G allele was significantly associated with late-onset asthma with an OR of 2.03. In contrast, this allele was not associated with early- or middle-onset asthmatics.

一素因の関与が少なく、ウイルスなどの感染がその病態に関与すると考えられている。CCL5はウイルス感染時に気道上皮から強く誘導されるケモカインであり、特に高齢者喘息における慢性気道炎症の獲得に重要な役割を果たしている可能性がある。

4. 自然免疫関連分子としてのMIF

マクロファージ遊走阻止因子 (Macrophage migration inhibitory factor, MIF) はリンパ球やマクロファージから産生される多様な機能を有するサイトカインであるが、特に近年では自然免疫における重要な役割が注目されている¹⁹⁾。複数の疫学的検討が幼少時のエンドトキシン暴露がアレルギー性疾患の発症に予防的に働く可能性を示している¹⁵⁾。エンドトキシンに対する生体の反応はLBP、CD14、TLR4、MIFなどの分子によって行われる (図7)。そ

れぞれの遺伝子に存在する多型とアトピーとの関連が報告されている。我々はMIF遺伝子のプロモーター領域の2箇所の機能的な多型が気管支喘息やアトピーの発症に及ぼす遺伝的な影響を症例対照研究により検討した¹⁷⁾。MIF遺伝子のプロモーター領域には-173G>C一塩基多型と-794 [CATT] からなる4塩基の繰り返し多型が報告されており、それぞれの多型はプロモーター活性に影響を与えることが判明している。気管支喘息患者と健康人を対象として施行した患者対照研究にて、いずれの多型もアトピーとの間に有意な相関が認められた (図8)。特にプロモーター活性が低下する遺伝子型を有する人では、エンドトキシン暴露時のシグナルが弱く、その結果としてアトピー素因を有するリスクが大きくなる可能性が考えられた。これらの結果は乳幼児期の感染が免疫系の成熟に重要な役割を果たし、感染症の減少によってアレルギー

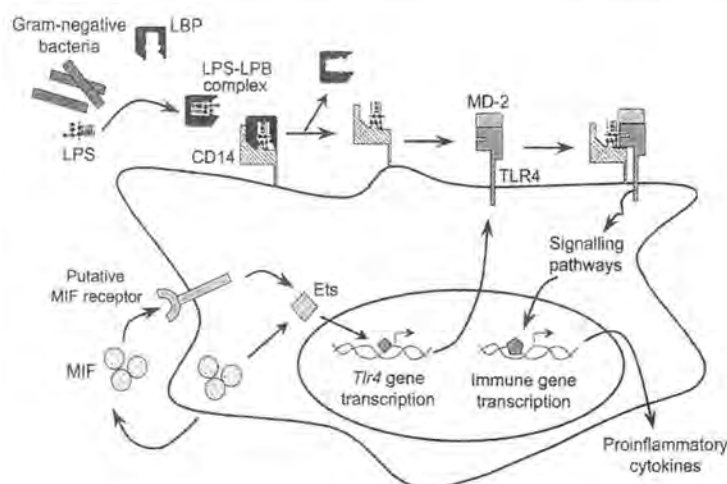
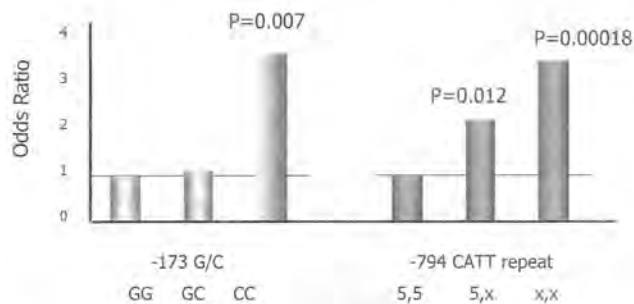


Figure 7 Role of the cytokine migration inhibitory factor (MIF) in recognition of endotoxin

A recent investigation indicated that MIF regulates innate immune responses by macrophages through modulation of expression of Toll-like receptor 4, a signal-transducing molecule of the lipopolysaccharide (LPS; a gram-negative bacteria) receptor complex (16). This effect is mediated by transcription factor of the Ets family. By up-regulating the basal expression of TLR4 in resting macrophage, MIF facilitates the recognition of endotoxin-containing bacteria and enables innate immune cells to rapidly release proinflammatory cytokines in response to bacteria.

CD14, surface antigen expressed on myeloid cells that binds LPS-LBP complexes; LBP, LPS-binding protein; MD-2, protein associated with TLR4 extracellular domain that amplifies responses to LPS.

N = 584 (Asthma 277, Healthy controls 307)

Figure 8 Association of the *MIF* promoter polymorphisms with atopy

A case-control analysis examined the genetic influence of *MIF* promoter polymorphisms on the development of atopy using 584 unrelated Japanese subjects. Atopy was defined as having a positive specific IgE response to at least 1 of 10 common inhaled allergens. Both the -173G/C and the -794 [CATT] repeat polymorphisms were significantly associated with atopy; OR for CC homozygotes was 3.67 compared to GG homozygotes, and OR for non-carriers of the 5-CATT allele was 3.51 compared to 5-CATT homozygotes.

The Hygiene hypothesis suggests that our immune systems have evolved in the presence of repeated bacterial, parasitic and viral infections and that in westernized societies an infant's immune system fails to be appropriately programmed because of reduced rates of infection in modern times. Accordingly, individuals carrying certain genotypes of the *MIF* promoter polymorphisms may have an impaired recognition of microbial exposures, resulting in an insufficient downregulation of excessive immune responses, consequently giving rise to increased risk of developing atopy.

ーや他の免疫炎症性疾患が増加してきたとする衛生仮説を分子遺伝学的な見地からサポートし、アレルギーの病態に自然免疫系が深く関与していることを推察させる。

患者対照研究によって得られた結果は何を教えてくださいのか？

特定の遺伝子が複雑な疾患 (Complex disease) の発症に寄与しており、遺伝学的な手法によってそれらの遺伝子を明らかにすることができるという考えは、いわゆるメンデルの遺伝形式に準ずるような単一遺伝子疾患において、遺伝学が数多くの疾患遺伝子の単離に成功してきたことに基づいている。しかし、現実には、複雑性疾患と単一遺伝子疾患との間には多くの違いが存在することは明らかである。最大の問題は複雑性疾患においては関与する遺伝子の数がはるかに多く、同時にそれぞれの遺伝子

が持つ疾患への寄与度が、単一性遺伝子疾患に比べてはるかに小さいことである。

喘息の病態にはいわゆるアレルギー性炎症を構成する種々の免疫担当細胞 (好酸球、肥満細胞、好塩基球、好中球) に加え気道上皮細胞、平滑筋細胞や線維芽細胞などの気道を構成する細胞が重要な役割を果たしている。我々の結果からは、例えばIL-17F遺伝子が関与した慢性アレルギー性気道炎症の経路、アトピーの寄与が小さい高齢発症喘息におけるCCL5が関与した慢性気道炎症の起こり易さを規定する経路、肥満細胞、PAI-1や高親和性IgE受容体が関与した慢性的な気道リモデリングの起こり易さを規定する経路、さらには自然免疫に関与した分子群からなるアレルギー性の感作の起こり易さを規定する経路がそれぞれ喘息の発症や病態に影響を与えていることが考えられる (図9)。

喘息は単一の疾患ではなく、症候群である。

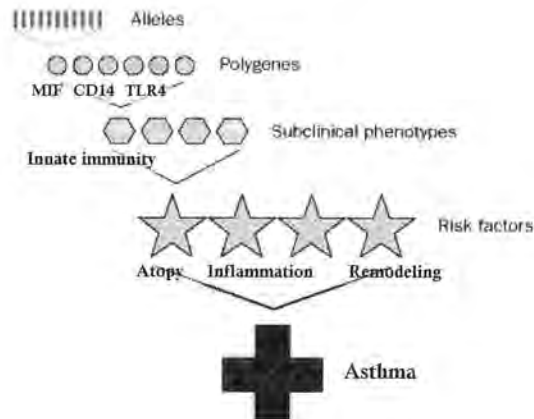


Figure 9 Common diseases and common pathways

Common physiological mechanisms underlying disease can be a convergence point for the effects of diverse alleles and polygene. Our genetic association study using functional polymorphisms of the candidate genes implicated that genetic study may be useful to provide molecular clues to the common physiological mechanisms underlying asthma and atopy rather than genetic searches for the location of every allele responsible for asthma and atopy.

Atopy is the strongest risk factor for the development of asthma, and an altered responsiveness of innate immune system may underlie increased risk of developing atopy among other mechanisms. Genetic polymorphisms at the *MIF* gene may be responsible for this altered immune response among other genetic factors such as *CD14* and *TLR4*.

例えばアトピーの有無や発症年齢の違いは、喘息の異質性を反映していると考えられる。上述した、それぞれの経路の寄与度はそれぞれの喘息患者ごとに大きく異なっている可能性がある。すなわち、宿主側の問題として一部の喘息患者では外因に対して気道炎症が起こり易く、一方他の喘息患者では気道傷害に対してリモデリングが起こり易いことが引き金となって喘息が発症した可能性が考えられる。

一方、遺伝学に与えられた重要な使命に個人の疾患発症のリスクを予測することがある。しかし、関与している遺伝子の数が多く、また個々の遺伝子の寄与度が小さく、さらに遺伝子の影響は固定的ではなく環境によって大きく左右されることを考えた場合に、これらすべての遺伝子-遺伝子、遺伝子-環境の相互関係が包括的に明らかにならない限り、複雑な疾患における正確なDNA診断は極めて困難といわざるを得ない。複雑な疾患における遺伝学の意義は遺

伝子型に基づいた個人のリスクを予測、提供することではなく、むしろ疾患の背景に存在する、病態生理学的な共通経路を分子レベルで明らかにすることである。幾つかの共通した経路の存在が明らかになることで疾患の理解が深まり、さらには個々の遺伝子をターゲットにするのではなく、共通の経路をターゲットにした疾患の予防、治療戦略の展開が期待できる。これは個々のSNPを標的にするよりもはるかに効率的で、なおかつ現実的である。

おわりに

本稿ではこれまでの我々の検討結果を含め、患者対照研究による遺伝学的な検討が喘息病態の考え方にもたらした影響について述べた。ゲノム情報が充実してきた現在、ゲノムの違いを個性そのものであると捕らえ、EBM (Evidence Based Medicine) の基礎的な情報の一つとして扱えるようになってきている。一

方でアレルギーや喘息の遺伝解析の結果が、多くの場合一定の結果に収束しないことや、それぞれの遺伝子が持つ遺伝的な影響が非常に小さい事実は、多くの感受性遺伝子が単独では決定論的な影響を持ち得ないことを物語っている。一般集団での頻度が1%以上を超えるような“ありふれた多型”がヒト個体に致死的な影響をもたらすことは考えにくく、それぞれの機能的な影響はメッセージの発現や蛋白の機能に起こるわずかな変化である。さらに、遺伝子の効果は与えられた環境に大きく左右される。ある環境下ではアレルギーの発症に促進的な役割を有する遺伝子多型が、異なった環境下ではその発症に抑制的に働くことがある。このように、アレルギーや喘息の発症は複数の遺伝子多型が、それぞれが与えられた環境下でもたらすわずかな機能的な変化の差異として生じる生理的变化の総和として決定される。当然、患者さん一人一人のレベルで、それぞれの遺伝子の意義や寄与度が異なり、臨床的には“どの染色体領域のどの遺伝子が喘息遺伝子”といった議論はあまり意味がないのかもしれない。ゲノム解析の臨床的な意義は、遺伝子情報から個々人の疾患発症リスクを正確に予測することよりは、むしろアレルギーや喘息における共通病態（例えばアトピーにおけるエンドトキシン刺激認識機構の重要性や、気道炎症やリモデリングの起こり易さなど）の解明、病態の多様性の解明（発症年齢による病態の違いなど）、遺伝子や環境の交互作用の理解、さらにはそれらに基づいた創薬研究、薬理遺伝学などにあると考えられる。さらに、遺伝疫学的な研究は基本的にはノックアウトマウスなどの遺伝子改変動物研究と同じようにhypothesis makingな色合いが強い。従って日々、喘息患者に接している臨床医こそがゲノム解析によって得られた新しい情報をもとに、日々の臨床の中でアレルギーや喘息患者をあらためて見つめ直すことが重要である。

謝 辞

本総説で紹介した研究は北海道大学医学研究科呼吸器内科学（西村正治教授）に所属する研究スタッフをはじめ以下の研究施設、研究者との共同研究によって行われたものであり、ここに深く謝意を表します。

（敬称略）昭和大学医学部第一内科：川口未央、國分二三男、足立 満、Johns Hopkins Asthma and Allergy Center: Shau-Ku Huang、愛知医科大学呼吸器アレルギー学：山口悦郎、日立化成工業株式会社：澤崎 健

文 献

- 1) Lohmueller KE, Pearce CL, Pike M, Lander ES, et al. Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet* 2003; 33(2): 177.
- 2) Kawaguchi M, Onuchic LF, Li XD, et al. Identification of a novel cytokine, ML-1, and its expression in subjects with asthma. *J Immunol* 2001; 167: 4430-5.
- 3) Oda, N., Canelos, P. B., Essayan, D. M., Plunkett, B. A., Myers, A. C., and Huang, S. K. Interleukin-17F induces pulmonary neurophilic and amplifies antigen-induced allergic response. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 171: 12-18.
- 4) Kawaguchi M, Takahashi D, Hizawa N, Suzuki S, Matsukura S, Kokubu F, Maeda Y, Fukui Y, Konno S, Huang SK, Nishimura M, Adachi M. Interleukin-17F sequence variant (His161Arg) is associated with protection against asthma and antagonizes wild-type IL-17F activity. *J Allergy Clin Immunol* (in press).
- 5) Hizawa N, Yamaguchi E, Jinushi E, Kawakami Y. A common FCER1B gene promoter polymorphism influences total serum IgE levels in a Japanese population. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(3 Pt 1): 906-9.
- 6) Nishiyama C, Akizawa Y, Nishiyama M, et al. Polymorphisms in the Fc epsilon R1 beta promoter region affecting transcription activity: a

- possible promoter- dependent mechanism for association between Fc epsilon RI beta and atopy. *J Immunol* 2004; 173(10): 6458-64.
- 7) Cho SH, Tam SW, Demissie-Sanders S, Filler SA, Oh CK Production of plasminogen activator inhibitor-1 by human mast cells and its possible role in asthma. *J Immunol* 2000; 165(6):3154-61.
- 8) Oh CK, Ariue B, Alban RF, Shaw B, Cho SH. PAI-1 promotes extracellular matrix deposition in the airways of a murine asthma model. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 294(5): 1155-60.
- 9) Eriksson P, Kallin B, van't Hooft FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(6): 1851-55.
- 10) Cho SH, Hall IP, Wheatley A, et al. Possible role of the 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor 1 gene in the development of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108(2): 212-4.
- 11) Buckova D, Izakovícova Holá L, Vacha J. Polymorphism 4G/5G in the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with IgE-mediated allergic diseases and asthma in the Czech population. *Allergy* 2002; 57(5): 446-8.
- 12) N. Hizawa, Y. Maeda, S. Konno, Y. Fukui, D. Takahashi and M. Nishimura. Genetic polymorphisms at FCER1B and PAI-1 and asthma susceptibility *Clin Exp Allergy* 2006 (in press)
- 13) Liu H, Chao D, Nakayama EE, Taguchi H, Goto M, Xin X, Takamatsu JK, Saito H, Ishikawa Y, Akaza T, Juji T, Takebe Y, Ohishi T, Fukutake K, Maruyama Y, Yashiki S, Sonoda S, Nakamura T, Nagai Y, Iwamoto A, Shioda T. Polymorphism in RANTES chemokine promoter affects HIV-1 disease progression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Apr 13; 96(8): 4581-5.
- 14) Hizawa N, Yamaguchi E, Konno S, Tanino Y, Jinushi E, Nishimura M. A functional polymorphism in the RANTES gene promoter is associated with the development of late-onset asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Sep 1; 166(5): 686-90.
- 15) Riedler J, Braun-Fahrlander C, Eder W, et al. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001; 358 (9288): 1129.
- 16) Thierry Calandra, Céline Froidevaux, Christian Martin, and Thierry Roger. Macrophage Migration Inhibitory Factor and Host Innate Immune Defenses against Bacterial Sepsis. *The Journal of Infectious Diseases* 2003; 187:S385-S390
- 17) Hizawa N, Yamaguchi E, Takahashi D, et al. Functional polymorphisms in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor and atopy. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169(9): 1014.

From Functional Polymorphisms to Common Physiological Mechanisms Underlying Asthma and Atopy

— Functional Polymorphisms and Common Physiological Mechanisms in Asthma —

Nobuyuki Hizawa, MD

First Department of Medicine, Hokkaido University Graduate School of Medicine

Abstract

In recent times, identifying all of the genes in the human genome, as well as identifying and cataloguing the functional variation lying within them provides opportunities for studying the impact of those variants on phenotypic outcomes of interest. When considering complex traits, a true risk allele is neither necessary nor sufficient for the disease. In such situations, large scale candidate gene case-control studies form the method of choice to identify these genes. Gene effects typically come in different sizes; genetic studies are rather teaching us asthma susceptibility is the result of multiple genetic factors interacting with multiple environmental factors. The behavior of the gene indeed depends on the input from environment. Genetic studies also teach us that asthma is not a single disease but rather a syndrome. Differences in age at onset and the presence of atopy may reflect the genetic heterogeneity of asthma. In contrast, influence of SNPs on asthma is not large enough for accurate prediction about an individual's risk. Until we have a comprehensive and dependable description of the alleles associated with asthma, accurate diagnosis of asthma at the DNA level will prove impossible, simply because the underlying mechanisms of asthma are too complex. Rather than offering disease risks based upon particular genetic conditions, genetics contributes to the identification of molecular clues to the common physiological mechanisms underlying the disease. Genetic studies will provide important additional pieces of the puzzle that might eventually unravel the complexity of the human asthma genotype. The discovery of the common physiological pathways furthers our understanding of the underlying disease mechanisms and it will, ultimately, give rise to new therapeutic developments.

key word: Complex disease, Common disease, Single Nucleotide Polymorphism (SNP), Case-control analysis, Asthma

縫製工場従業者にみられた 綿塵、羊毛塵吸入に起因する職業性喘息の1例

高本 公

高本医院

抄 録

縫製工場従業者にみられた喘息発作の誘因として、綿、羊毛が考えられたので若干のアレルギー学的検索と治療を行った。

症例は47歳の女性で、昭和54年より縫製工場に従事して約12年後に喘息が発症した。仕事場は従業者6人の零細な縫製工場で、月産1万着の子供服、婦人服の縫製を行っていて、服地は綿と羊毛で、綿の方が多用されていた。

検査成績では血清IgE値は1260IU/mlと上昇し、皮内反応では綿、羊毛で陽性、皮内反応閾値は綿で100万倍、羊毛で10万倍、IgE RASTでは綿でクラス3、羊皮でクラス2を示した。

以上の検査成績により本喘息が綿、羊毛塵に起因する職業性喘息と診断されたので、綿、羊毛エキスによる特異的減感作療法を実施したところ奏効した。

はじめに

近年、一定の職業に従事することにより発症する職業アレルギー疾患が注目され、特に気管支喘息については職業との関連を重視したアレルギーの検索が広く行われるようになり、その結果、種々の職業性喘息が報告されるに至っている。

筆者は約40年間実地医家として地域医療に携わっているうちに、真珠養殖従業者に発症したホヤ喘息の発見を契機として、職業性喘息に関心を持つようになり、これまで23種類を見出し

報告した。

今回、縫製工場従業者に綿・羊毛塵に起因すると考えられた職業性喘息を見出し、若干のアレルギー学的検索と治療を行ったので報告する。

症 例

患者：47歳 女性

職業：縫製工場従業者

家族歴：姉が気管支喘息

既往歴：特記すべき疾患なし

主訴：咳嗽、喘鳴を伴う呼吸困難発作

現病歴：昭和54年より縫製工場に従事して約12年後から、くしゃみ、鼻水、咳嗽の症状が一年を通じて出現するようになり次第に増強し、更に1年後に喘鳴を伴う呼吸困難発作を訴える

〒742-1111

山口県熊毛郡平生町佐賀1540-1

高本 公

ようになったので、平成3年12月に当院を受診した。職業と喘息発作との関係は、作業を休むと症状が軽くなって喘息発作は止み、就業すると再び発作が起こるという。

来院時現症：咳嗽、喘鳴を訴え、胸部に乾性ラ音を聴取した以外、理学的に身体各部に異常所見は認められなかった。

一般検査成績：表1に示したごとく、末梢血好酸球6.2%、血清IgE値1260IU/mlと上昇を示した以外には、胸部X線像に異常所見なく、心電図正常範囲、血清蛋白分画、肝臓機能検査、

血清電解質などはいずれも正常値であった。

アレルギー学的検査成績

1 皮内反応

本症例における皮内反応は表2のごとく、綿・羊毛1,000倍希釈液で陽性を示したが、他のアレルゲンエキスでは陰性であった。

2 綿・羊毛エキスによる閾値検査

綿・羊毛エキス1,000倍より倍数希釈液を作り、各濃度について皮内反応を実施したところ表3のごとく綿100万倍、羊毛10万倍であった。

3 IgE RAST

表4のごとく、綿でクラス3、羊皮でクラス2を示した以外の抗原ではいずれもクラス0であった。

表1 一般血液検査成績

血液検査		血清電解質	
赤血球数	470×10 ⁴ /μl	Na	141mEq/l
血色素量	12.6g/dl	K	4.3mEq/l
白血球数	6600/μl	Cl	98mEq/l
ヘマトクリット	43.2%	Ca	8.4mEq/l
白血球百分率(%)		血清蛋白分画(%)	
好中球	63.5	アルブミン	61.2
好酸球	6.2	α ₁ -グロブリン	4.1
好塩基球	0.3	α ₂ -グロブリン	8.6
単球	5.1	β-グロブリン	8.5
リンパ球	34.9	γ-グロブリン	17.6
生化学検査		免疫グロブリン	
血清総蛋白	7.6g/dl	IgG	1160mg/dl
総ビリルビン	0.3mg/dl	IgM	114mg/dl
総コレステロール	142mg/dl	IgA	208mg/dl
GOT	22U/l	IgE	1260IU/ml
GPT	23U/l	その他	
ALP	284K-A-U	RA	(-)
LDH	217U/l	CRP	(-)
γ-GTP	16U/l	ASO	42U/ml
TTT	3.2M-U	赤沈	8mm/hr
ZTT	3.9K-U	心電図	異常なし
		胸部X線像	異常なし

表2 皮内反応

抗原	希釈倍数	発赤	膨疹
綿	1,000×	34×32	16×14
羊毛	1,000×	27×24	14×13
キノコ	1,000×	4×3	0
ナイロシ	1,000×	3×2	0
ハウスダスト	1,000×	14×12	7×6
スギ花粉	1,000×	16×13	8×6
カモガヤ花粉	1,000×	13×10	6×5
ブタクサ花粉	1,000×	10×10	6×6
カンジダ	10,000×	16×14	8×7
ペニシリン	10,000×	8×8	6×6
アスペルギルス	10,000×	10×9	7×5
アルテルナリア	10,000×	13×12	7×6
クラドスポリウム	10,000×	9×9	4×4

表3 皮内反応閾値

1 綿

希釈倍数	発赤	膨疹
10,000×	29×27	14×13
100,000×	25×22	12×10
1,000,000×	21×20	10×9
10,000,000×	16×14	6×4

2 羊毛

希釈倍数	発赤	膨疹
10,000×	24×23	12×10
100,000×	21×20	10×9
1,000,000×	14×12	5×4

表4 IgE RAST

抗原	UA/ml	クラス
綿	3.67	3
羊皮	2.93	2
ヤケヒョウダニ	0.34以下	0
コナヒョウダニ	0.34以下	0
ハウスダスト1	0.34以下	0
ハウスダスト2	0.34以下	0
カンジダ	0.34以下	0
ペニシリン	0.34以下	0
アスペルギルス	0.34以下	0
アルテルナリア	0.34以下	0
クラドスポリウム	0.34以下	0

れたので綿・羊毛エキスによる特異的減感作療法を実施したところ、奏効した。

衣料品に関連する職業性喘息は中村により1966年に洋裁学校勤務の女性で、しばしば絹を扱い喘息発作をみた症例¹⁾、および寝具店員で蒲団のまわた、蒲団カバーの絹に接触して感作されて喘息発作をみるに至った症例²⁾が報告されているが、筆者も手袋製造業者の絹喘息³⁾、洋服仕立職人の羊毛喘息⁴⁾、衣料品販売従業者の羊毛・綿喘息⁵⁾、縫製工場従業者の綿喘息⁶⁾、ハンカチーフ縫製従業者の綿喘息⁷⁾を報告した。

綿・羊毛塵を起因抗原とする職業性喘息は衣料品販売従業者にみられたので報告したが³⁾、今回縫製工場従業者にもみられたので追加報告を行った。

おわりに

衣料品を縫製する工場は全国に多数存在し、そこで多数の従業者が働いているものと思われる。その中でアレルギー素因をもった人たちは、そこで扱われている絹、綿、羊毛などの細塵に感作されて気管支喘息を発症することが予測されるので、注意を喚起したい。

文 献

- 1) 中村 晋、他：アレルギー疾患と原因療法。内科。18：990。1976
- 2) 中村 晋、他：寝具店店員にみられた絹喘息の1例。治療。60：1755～1758。19～78
- 3) 高本 公：手袋製造業者にみられた絹喘息の1例：医業の門。11：435～436。1971
- 4) 高本 公：洋服仕立職人にみられた羊毛に起因する職業性喘息の1例。山口県医学会誌。24：46～48。1990
- 5) 高本 公：衣料品販売従業者にみられた職業性喘息の1例。山口県医学会誌。26：42～44。1992
- 6) 高本 公：縫製工場従事者にみられた職業性喘息の1例。山口県医学会誌。27：19～21。1993

- 7) 高本 公：ハンカチーフ縫製従業者にみられた職業性喘息の1例。日本職業アレルギー学会雑誌 5。31～34。1998

A case of occupational asthma caused by cotton and wooldust in the sewing factory.

Tadashi Takamoto

Takamoto clinic

Abstract

A patient engaged in the small sewing factory who suffered from asthma with cotton and wool was found by some allergological investigations and treatment in this report.

The patient was a 47 year old female. She has engaged in the small sewing factory and she developed asthma about 12 years after She engaged in the factory. In the factory cotton and wool, mainly cotton were used as materials of clothes. She inhaled a lot of dust of cotton and wool while working.

On allergological tests, her serum level of IgE was indicated to have raised to 1260 IU/ml and IgE RAST to cotton (class3) and sheep-skin (class2) were found be positive. The intracutaneous allergic reaction was demonstrated to be positive in respect of cotton with the threshold value of 1,000,000 times and wool with the threshold value of 100,000 times. Therefore it was assumed that her attack of asthma could be caused by inhalation of cotton and wooldust. The patient reacted very well to the specific desensitization treatment and her symptoms have improved after the treatment.

The case is reported here as it is assumed that a patient who engaged in the small sewing factory had been sensitized with cotton and wooldust.

key word: occupational asthma, cotton, wooldust

珪肺症例における制御性T細胞の検討

三浦由恵¹⁾, 呉 萍¹⁾, 兵藤文則¹⁾, 西村泰光¹⁾, 勝山博信²⁾,
富田正文³⁾, 草加勝康⁴⁾, 大槻剛巳¹⁾

1) 川崎医科大学衛生学

2) 川崎医科大学公衆衛生学

3) 川崎医科大学医用中毒学

4) 草加病院

抄 録

珪肺症に合併する自己免疫異常の病態を検討する目的で、生体での自己認識の制御に重要な役割を担っていることが近年明らかにされてきたCD4+25+制御性T細胞 (Treg) のCD4陽性T細胞中の比率ならびにその機能を解析した。57名の耐火煉瓦工場作業者の珪肺症例、50名の健常人から末梢血を得、単核球分離後、CD4とCD25で染色しフローサイトメトリーで解析した。その結果、Treg分画の比率は実測値で両群での差は認められなかったが、年齢分布が高齢であった珪肺症例が高齢では、健常人群より得られた年齢補正式で算出すると、予測値に比し珪肺症例では低値であることが判った。加えて、機能検査では、CD4+25-の反応性T細胞 (Tres) との混入比 (Tres:Treg) が、1:1/4や1:1/2などの中等度の場合、珪肺症例で機能抑制が認められた。因子解析で得られたTreg比率のIL-2との同方向性の (比率が多いとIL-2が高い) 関連、珪酸がT細胞を緩やかながら活性化することを合わせて考えると、珪肺症例では、比率の減少と、珪酸曝露で誘導される、Tregと同様のCD4+25+という表現形を示す慢性活性化T細胞によるTreg分画の一部置換により、本来のTreg機能の減衰が生じており、これが将来発症する自己免疫異常の前段階を表現している可能性が示唆された。

緒 言

珪肺症例では、呼吸器障害のみならず、自己

免疫疾患の合併が知られている。慢性関節リウマチを合併するCaplan症候群や、強皮症などの合併も多く報告されている¹⁻⁴⁾。従来は、珪酸の持つアジュバンド効果として理解されてきていたが、最近の免疫学的進歩を踏まえてその病態や病因の検討が必要な時期になっている。

我々は、自己反応性リンパ球のアポトーシスに関連が高いFas分子に着目し、珪肺症例における異常な調節について検討を加えてきた⁵⁻⁸⁾。それらの概略を記すと、

〒701-0192
倉敷市松島577
川崎医科大学 衛生学
大槻 剛巳
TEL 086-462-1111
FAX 086-464-1125
e-mail: takemi@med.kawasaki-m.ac.jp

- i. 血清可溶性Fasの高値
 - ii. 末梢血単核球膜Fas低発現分画での可溶性fas発現の高値と、この分画の相対的増加
 - iii. 同様に可溶性Fasと同じ機能の*dcr3*遺伝子発現の高値
 - iv. 珪肺症末梢血単核球では、可溶性Fasと機能の類似が想定される alternative splicing variants の高頻度の検出
 - v. 末梢血単核球で細胞内Fas媒介アポトーシスに対して抑制的に働く*sentrin*, *i-fllice*, *icad/dff45*や*survivin*の遺伝子発現の減弱
 - vi. 約1/4の珪肺症例での血清中の抗Fas自己抗体の検出と抗Fas自己抗体のFas媒介アポトーシス誘導性
- などが、挙げられる⁵⁻⁸⁾。

これらのうち、i・ii・iii・ivは細胞外で膜表面 Fas に媒介されるアポトーシスを阻害する方向に働く結果と解釈される。一方、v・viは、細胞内でFas媒介アポトーシスが進行している、あるいは、その進行を誘導するように働く因子があることを示唆している。即ち、珪肺症のリンパ球では、2群の細胞群があり、一群ではFas媒介アポトーシスが減弱させられており、他群では、逆に亢進しているのではないかと想定している³⁻⁸⁾。珪酸自体が自己反応性リンパ球に対して、Fas分子の制御に関する異常をもたらしている可能性が想定され、今後もういくつかの検討を加えていきたいと考えている。

一方、リンパ球の中には、自己反応の過剰を抑えるべきある分画が存在することが近年明らかとなり制御性T細胞と呼ばれている⁹⁻¹⁶⁾。この中には、生来、生体が保有しているCD4陽性25陽性であるCD4+25+制御性T細胞^(5,18)や $\gamma\delta$ T細胞^{17,18)}、あるいは、後天的に誘導されてくるTr1細胞¹⁹⁾、Th3細胞¹⁸⁾やanergic memory T細胞²⁰⁾などがある。中でもCD4+25+制御性T細胞 (Treg) については、良く検討されており、*in vitro*での反応性T細胞の反応の抑制、*in vitro*での anergy, インターロイ

キン (IL) -10や, transforming growth factor- β (TGF- β) の産生, CTLA-4や glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (GITR) の発現, そして機能発現に欠かせない遺伝子としての*forkhead box P3 (foxp3)* 発現などで規定されることが知られている^{12,18)}。免疫系のホメオスターシスには欠かせない役割を有しており、自己免疫疾患、宿主対移植応答、アレルギー、過敏症などの制御に重要である。一方、その機能や量の過剰は、腫瘍免疫や感染に対する防御免疫の減衰を生じる可能性が論じられている⁹⁻¹⁸⁾。

本研究では、職業性に長期慢性的に珪酸曝露を受け続けてきた珪肺症例を自己免疫疾患の発症前状態と捉え、その時期に、制御性T細胞の量や機能の変化が見られないかどうかを検討したので報告する。

方 法

対 象

末梢血におけるCD4+25+制御性T細胞 (Treg) 分画の、CD4+細胞中における比率の検討には、57例の珪肺症例、50人の健常人にて検討した。それぞれ男女比は48:9, 40:10で、平均年齢72.67 $\pm$ 6.69, 59.72 $\pm$ 6.33歳であった。症例は、すべて岡山県備前市の耐火煉瓦工場に従業員であり、じん肺健診にて国際労働機構 (ILO) 2000年の診断基準を充たす例であった。また、今回の症例には自己免疫疾患や悪性腫瘍の合併を疑わせる症状や所見を有する症例はなかった。健常人は、学校法人川崎学園の従業員で職場の定期的な一般健康診断に受診された者とした。検体は書面にてインフォームドコンセントを得られた症例、健常人からのみ採取された。また、本研究は、川崎医科大学および草加病院での倫理委員会に諮られ許可されたものである。

末梢血におけるTreg分画の検討

ヘパリン加で採血された末梢血をFicoll-Hypaque法による比重遠心で単核球とし、fluorescein isocyanate (FITC) 標識抗ヒトCD25モノクローナル抗体 (Beckman Coulter 社, 米国) とphycoerythrin (PE) 標識抗ヒトCD4モノクローナル抗体 (Beckman Coulter 社) にて室温30分染色後, FACSCalibur (BD Bioscience社, 米国) フローサイトメーターにて解析した。図1に一例を示すが, 常時, 一名の健常人の染色結果を対照とし, 個々の健常人や症例では, 図中のCD25高発現領域およびCD25超高発現領域の分画のCD4陽性細胞全体における比率を検討した。

抗核抗体の測定と血清IL-2測定

珪肺症例の潜在的な自己免疫異常の指標として, 血清の抗核抗体タイトルの測定を行った。MEASACUP ANA TSET (MBL社, 名古屋) を用いたが, 本テストではRNP, SS-A/Ro, SS-B/La, Scl-70, Jo-1などを含むいくつかのリコンビナント蛋白や, Sm, SS-A/Ro, Histoneなどのいくつかの純化蛋白を抗原とし

て個層化し, 症例の血清を用いて, 広スペクトルな抗核抗体の検出が行える方法であり, 従来の, 蛍光染色法に比し, 客観的であり, また, 数値で検出されることにより, 有用であった。また, 症例ならびに健常人の血清中IL-2濃度も, Beckman Coulter 社製ELISAキットを用いて測定した。

Tregの機能測定

珪肺症例は分画比率の検討の際にエントリーされた中の5例, 健常人はそれとは別の4名 (それぞれ年齢は 67.00 ± 5.57 , 35.50 ± 5.45) より, ヘパリン加末梢血を得, 分画比率の際と同様の処理の後, FACSaria (BD Bioscience 社) を用いて, TregならびにCD4+25-の反応性T細胞 (Tres) を収集した。Tres:Treg比率を, 1:0, 1:1/8, 1:1/4, 1:1/2, 1:1および0:1として混合した上で, 約10倍の細胞数の30Gy照射後の第三者の健常人の末梢血単核球をアロ刺激細胞として添加し7日間の培養を行った。反応の検出は, Methy-³H-thymidine (³H-TdR, MP Biomedical 社, 米国) を培養の最後12時間に添加し, 液体シンチ

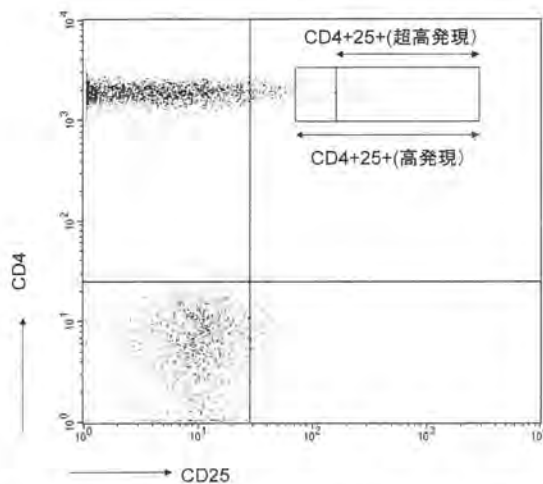


図1 フローサイトメトリーで解析したCD4+25+制御性T細胞分画と, 本研究で規定した高発現領域と超高発現領域

レーションカウンターにて、細胞に取り込まれた³H-TdRを測定、個々の症例でのTregを混ぜない場合を基準として、取り込みの相対比を算出、それぞれのTres:Treg比率の珪肺症例および健常人での取り込みの相対比を群間比較した。

遺伝子発現

健常人と珪肺症例におけるCD4+25+分画の細胞構成を比較する目的で、収集したTregならびにTres分画の細胞よりRNAを抽出し、Tregに関連する*foxp3*と*ctla-4*の遺伝子発現を、リアルタイムPCR法を用いて、対照遺伝子である*gapdh*発現量との相対比で検討した。それぞれの増幅に用いたプライマーの塩基配列は以下のごとくである。

foxp3 (forward:
TTCATGCACCAGCTCTCAAC,

reverse:

CCACTTGCAGACACCATTG, 増幅サイズ300 bp)

ctla-4 (forward:
TGACAGCCAGGTGACTGAAG,

reverse:

ATGAGCTCCACCTTGCAGAT, 増幅サイズ170 bp)

gapdh (forward:
GAGTCAACGGATTTGGTCGT,

reverse:

TTGATTTTGGAGGGATCTCG, 増幅サイズ238 bp)

なお、反応はfluorescence thermocycler (Mx3000P[®] QPCR System, Stratagene社, 米国)を用いて行われ、個々の症例でのそれぞれの分画での相対的発現度は、

A: *gapdh* 増幅の一定蛍光輝度までのサイクル数

B: 同一輝度までの標的遺伝子 (*foxp3*, *ctla-4*) 増幅に要したサイクル数

式: $1/2[B-A]$ とし、*gapdh*発現を1.0として、算出。

また、増幅産物は、アゲロースゲルにて単一産物となっていたことを確認した。

統計解析

健常人と珪肺症例における年齢、抗核抗体タイター、血清IL-2濃度とTreg分画の比率、加えて珪肺症例では、呼吸病変の臨床的指標であるレントゲン分類 (profusion rate: PR)、自覚的呼吸困難度、%肺活量、一秒率、そして免疫学的指標である血清 IgG値との間の関連を検討する目的で因子分析²²⁾を行った。統計ソフトは、StstView version 5.0 (SAS institute社, 米国)を用いた。

また、³H-TdR取り込み、遺伝子発現の群間比較においては、Fisher's PLSDテストを用いた。

結 果

Treg比率

表1に健常人と珪肺症例におけるTreg分画のCD4陽性細胞中における比率の比較を示す。

まず、年齢は、珪肺症例が非常に高齢化しているため、対照とするべき健常人とは有意差が検出され、健常人は相対的に若い世代であった。そして、自己免疫異常の前段階の検定として測定した抗核抗体タイターは、珪肺症例で有意に高値を示した。

Tregの比率であるが、図1にも示したようにに報告により機能性Tregの分画を、CD25超高発現とする場合や、高発現領域とする場合もあるので⁹⁻¹⁰⁾、どちらの場合でも検定を行ってみたが、いずれの場合も、その比率は健常人と珪肺症例で、差は認められなかった。ただし、超高発現分画をとっても、高発現分画をとっても、健常人では年齢との正の相関が認められたにもかかわらず、珪肺症例においてはその相関が完

表1 健常人と珪肺症例における末梢血制御性T細胞分画の比率

	健常人	珪肺症例
年齢(歳)	72.67 ± 6.69	59.72 ± 6.33 L p<.0001 J
抗核抗体タイトル(U/ml)	12.09 ± 7.92	29.96 ± 31.27 L p=.0006 J
CD4 陽性細胞中の制御性 T 細胞分画(%) (CD25 高発現分画)	2.78 ± 1.24	3.06 ± 1.35 L n.s. J
CD4 陽性細胞中の制御性 T 細胞分画(%) (CD25 超高発現分画)	0.58 ± 0.37	0.76 ± 0.54 L n.s. J
CD25 高発現分画制御性 T 細胞比率と 年齢との相関 (Spearman の順位相関係数)	r = 0.323 p = 0.0239	r = 0.042 p = .7595
CD25 超高発現分画制御性 T 細胞比率と 年齢との相関 (Spearman の順位相関係数)	r = 0.352 p = 0.0137	r = 0.107 p = .4376
	珪肺症例での CD25 高発現分画制御性 T 細胞比率と 年齢との相関(実測値と補正值)	実測値 0.76 ± 0.54 年齢補正值 0.88 ± 0.18 L p=.0044 J

n.s. not significant (有意差なし)

全に消失していた。このことは、本来ならば年齢を経ることで、Treg比率が漸増するところが、珪酸曝露に伴ってなんらかの異常が出現し、Treg 比率の混乱が生じているのかもしれないと想定された。このことを、確認するために、珪肺症例でのCD25高発現分画の年齢による予測値を、健常人で得られた推定式から算出し、その値と実際の珪肺症例での実測値との比較を行った。その結果、有意に実測値は低値となっていた。つまり、珪肺症例ではTreg比率が予測値に比較して減少している可能性が示唆された。

因子分析

表2上段には、健常人の因子分析の結果を、また下段には珪肺症例の結果を示す。健常人の場合には、Treg比率は、年齢や血清IL-2濃度と同様のベクトルを示す同一の因子を形成していた。つまり、健常人では、年齢が高いほど

Treg比率も高く、IL-2も高値となる。ただし、年齢とIL-2の数値がそれぞれ0.819、0.609と高いのに較べて、Treg比率は0.417と比較的低値なので、この3つの因子の中では年齢とIL-2の両者の関連が強いと判断される。また、Treg比率は、もう一方で、抗核抗体タイトルと逆のベクトルで一つの因子を形成していることもわかった。この場合は、Treg比率が高いほど、抗核抗体は低いという関係と想定され、Tregの機能の意義の一つが、自己認識反応を抑制することであると理解されているので、非常に納得できる結果であった。ただし、これらはすべて健常人の場合であるので、個々の数値は健常人の範囲内での傾向であると理解することが必要であると思われる。

一方、珪肺症例ではTreg比率は唯一IL-2と同方向の因子を形成し、関連は比較的高いものと判断された。興味深いことに、健常人で見られた抗核抗体タイトルとの逆方向の関連や、年

表2 因子分析による健常人および珪肺症例における制御性T細胞分画と関連する指標の検索

健常人					
	因子 寄与率(%)	1	2		
		33.0	29.3		
制御性T細胞分画(%)		.417	.785		
抗核抗体タイトル(U/ml)			-.791		
血清IL-2濃度(pg/ml)		.609			
年齢		.819			

珪肺症例					
	因子 寄与率(%)	1	2	3	4
		24.5	20.0	13.3	12.3
制御性T細胞分画(%)		.641			
レントゲン分類(数値化)				.680	
自覚的呼吸困難度(数値化)					.686
%肺活量					-.858
一秒率(%)				-.787	
血清IgG(mg/dl)			.822		
抗核抗体タイトル(U/ml)			.909		
血清IL-2濃度(pg/ml)		.888			
年齢			.483		.580

PRと自覚的呼吸困難は数値化し、高いほど悪い状態とした。

齢との同方向の関連は認められなかった。ちなみに、因子2, 3, 4は、それぞれ免疫学的因子、呼吸性因子のうち閉塞性障害、拘束性障害の因子であろうことが想定される結果であった。

我々は、以前、健常人末梢血単核球を珪酸と共培養することにより、非常に緩やかで遅延した反応ではあるが、T細胞の特異的活性化指標の代表的な分子であるCD69が膜表面に誘導されることを報告した²³⁾。このことから、珪肺症例におけるT細胞は、珪酸による慢性反復性曝露により、慢性に緩やかな活性化を受けていると想定すると、血清IL-2の高値と、Treg比率はどちらも珪酸曝露により惹起された現象ではないかと考えられる。

ここで問題になる点は、活性化されたT細胞

もCD4+25+というTregと同一の表現形を示すということで^{24,25)}、もし、上記のごとく珪肺症例の末梢血T細胞が慢性に活性化された状況にあるとすると、Treg分画には相当数の活性化T細胞が混入している可能性がある。この場合、両者を見分ける良好な指標は、まだ見つからないので、機能やその細胞集団の特異的遺伝子発現を観察することにより推定するしかないと考えられる。

Treg分画の機能

そこで、例数は少ないながら健常人と珪肺症例のTreg機能を解析した。図2に示すように、Tres:Treg混合比率を1:1/8, 1:1にした場合には、両群間に差はTresの反応性の差は見られなかった。しかし、1:1/4, 1:1/2の場合には、

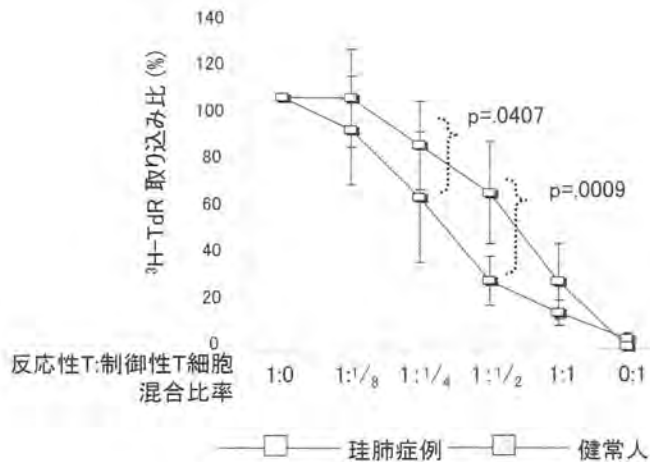


図2 珪肺症例ならびに健常人におけるTreg機能解析

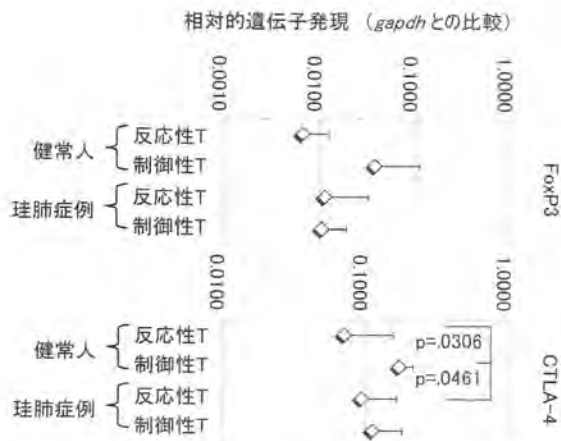


図3 珪肺症例と健常人の制御性T細胞 (Treg) と反応性T細胞 (Tres) 分画における foxp3, ctla-4 遺伝子の相対的発現の比較

有意に珪肺症例でのTresの反応の抑制が弱まっていて、 ^3H -TdRの取り込みが健常人群に比し、高い傾向となった。この結果は、珪肺症例の末梢血では、Treg分画の中に、Treg機能を有しない慢性的に活性化されたT細胞集団が混入しているという仮説に合致する所見であろうと考えられた。

Treg特異的遺伝子発現

図3に遺伝子発現検討の結果を示す。例数が

少なかったためfoxp3の場合は、統計学的には有意差が出なかったが、foxp3, ctla-4いずれの遺伝子発現も、健常人ではTregで高発現、それに比し、Tresでは、非常に低発現であった。しかし、珪肺症例では両細胞群での発現度合いは、どちらの遺伝子でも同程度であった。これらの所見も、珪肺症例の末梢血では、Treg分画の中に、Treg機能を有しない慢性的に活性化されたT細胞集団が混入しているという仮説に合致する所見であろうと考えられた。

考 察

今回の結果から珪肺症例でのTregの動態を考えると2つの所見が得られたと思われる。一つには、Tregはその比率自体としても、おそらく珪肺症例の年齢相当に比し、減少しているであろうということ。もう一点は、機能の低下、あるいは特異的遺伝子発現の所見の消失より、珪肺症例では、Tregと判断されるCD4+25+の分画の中に、Tregでない同様の表現形の細胞が混入している可能性が高いことである。後者の所見と、我々が以前に報告した珪酸がヒト末梢血T細胞を緩やかに活性化する結果²³⁾とを照合して考えると、おそらく珪肺症例の末梢血CD4+25+の分画の中には、本来のTregと長期反復性の珪酸曝露に伴う慢性的に活性化されたT細胞の分画が共存すると考えることが出来ると思われる。

この場合、今回の研究で機能検査を行った場合の所見のように、十分量のTregが反応に加えられた場合、もしくは、反対に非常に少量が加えられた場合には、Tresの反応に対する抑制機能に健常人と差は出ないが、中等量で加えられた場合（実験では、Tres:Tregが1:1/4, 1:1/2の場合）には、Treg分画に混入しているTreg以外の存在が強調される形になり、健常人と異なる抑制機能となったと考えられる。

これらの結果と考察は、今回の珪肺症例が、いずれも既に自己免疫異常を合併している症例ではなく、抗核抗体タイターの上昇などは、認められるものの、臨床的には明らかな自己免疫異常のない症例であったこととも合致すると考えられる。勿論、我々は、珪肺症例の自己免疫異常は肺病変と異なり、曝露年数との強い相関は乏しく、逆にHLAなどの個人的素因により呼吸障害が強くないにも関わらず、免疫学的異常が強く表出する症例が存在することを報告したが²²⁾、それでも、今回の珪肺症例の中で、自己免疫異常が進展する例が今後出現するかどうか

は、経過観察に委ねられるところであり、確実に言及できる場所は、確実な珪酸曝露（珪肺症の診断）により今回の症例が前自己免疫異常の状態にあると想定できるTregの変化が起きているであろうということである。今回得られた所見は、いずれも健常人との差を明白にしておき、珪酸曝露が、将来の自己免疫異常を惹起すべく慢性活性化T細胞でTreg分画を置き換えることにより、Tregが本来抑えるであろう自己認識反応を増大する方向へ症例を向かわせると想定できるものであった。

Tregの機能やCD25以外の指標についても、最近になってCD27の重要性が述べられ²⁶⁻²⁸⁾、また、慢性活性化T細胞との区別にPD-1と呼ばれるアポトーシスに関連する分子の発現が報告されたりしている²⁹⁾。今後、珪肺症例でのこれらの解析を行い、珪酸の免疫学的影響を解明するとともに、これら疾患発症に対する分子予防標的の探索に役立てたい。

謝 辞

川崎医科大学衛生学ならびに組織培養免疫センター研究補助員であります坂口治子氏、幡山圭代氏、畑田聡美氏、山下佳子氏には研究において多大な技術的支援を受けました。ここに深く感謝いたします。呉博士は、川崎医科大学と中国首都医科大学との間の交換留学制度にて川崎医科大学衛生学に所属されました。本制度に感謝いたします。なお、論文の一部は、日本学術振興会研究費補助金（16390175, 16590491, 1790375）および川崎医科大学プロジェクト研究費（16-212S, 16-401M, 17-201S, 17-404M, 17-6110）の援助を受けました。

文 献

- 1) Uber CL, McReynolds RA. Immunotoxicology of silica. *Crit Rev Toxicol* 1982;10:303-19.
- 2) Steenland K, Goldsmith DF. Silica exposure and autoimmune diseases. *Am J Ind Med* 1995; 28: 603-8.
- 3) Shanklin DR, Smalley DL. The immunopathology of siliconosis. History, clinical presentation, and relation to silicosis and the chemistry of silicon and silicone. *Immunol Res* 1998; 18: 125-73.
- 4) Iannello S, Camuto M, Cantarella S, Cavaleri A, Ferriero P, Leanza A, Milazzo P, Belfiore F. Rheumatoid syndrome associated with lung interstitial disorder in a dental technician exposed to ceramic silica dust. A case report and critical literature review. *Clin Rheumatol* 2002; 21: 76-81.
- 5) Otsuki T, Miura Y, Nishimura Y, Hyodoh F, Takata A, Kusaka M, Katsuyama H, Tomita M, Ueki A, Kishimoto T. Alterations of Fas and Fas-related molecules in patients with silicosis. Review article. *Exp Biol Med* (in press)
- 6) 高田晶子, 三浦由恵, 兵藤文則, 勝山博信, 植本絢子, 大槻剛巳. 珪肺症例に検出されるFasとその関連分子の異常. *日本衛生学雑誌* 2005; 60: 30-7.
- 7) Otsuki T, Takata A, Hyodoh F, Ueki A, Matsuo Y, Kusaka M. Dysregulation of Fas-mediated apoptotic pathway in silicosis patients *Rec Res Develop Immunol* 2002; 4: 703-13.
- 8) Otsuki T, Takata A, Hyodoh F, Ueki A. Review of regulation for the Fas-mediated apoptotic pathway in silicosis patients. *Kawasaki Med J* 2003; 29: 33-43.
- 9) Sakaguchi S, Toda M, Asano M, Itoh M, Morse SS, Sakaguchi N. T cell-mediated maintenance of natural self-tolerance: its breakdown as a possible cause of various autoimmune diseases. *J Autoimmun.* 1996; 9: 211-20.
- 10) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, Kuniyasu Y, Nomura T, Toda M, Takahashi T. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev* 2001; 182: 18-32.
- 11) Gorbachev AV, Fairchild RL. Regulatory role of CD4+ T cells during the development of contact hypersensitivity responses. *Immunol Res* 2001; 24: 69-77.
- 12) Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. CD4(+) regulatory T cells in autoimmunity and allergy. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 771-8.
- 13) Wood KJ, Sakaguchi S. Regulatory T cells in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 199-210.
- 14) Caton AJ, Cozzo C, Larkin J 3rd, Lerman MA, Boesteanu A, Jordan MS. CD4(+) CD25(+) regulatory T cell selection. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1029: 101-14.
- 15) Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 531-62.
- 16) Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005; 6: 345-52.
- 17) Kaufmann SH. γ/δ and other unconventional T lymphocytes: what do they see and what do they do? *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 2272-9.
- 18) Hayday A, Tigelaar R. Immunoregulation in the tissues by gammadelta T cells. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 233-42.
- 19) Cottrez F, Groux H. Specialization in tolerance: innate CD(4+)CD(25+) versus acquired TR1 and TH3 regulatory T cells. *Transplantation* 2004; 77: S12-5.
- 20) Battaglia M, Gianfrani C, Gregori S, Roncarolo MG. IL-10-producing T regulatory type 1 cells and oral tolerance. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1029: 142-53.
- 21) Jenkins MK, Miller RA. Memory and anergy: challenges to traditional models of T lymphocyte differentiation. *FASEB J* 1992; 6: 2428-33.
- 22) Otsuki T, Ichihara K, Tomokuni A, Sakaguchi H, Aikoh T, Matsuki T, Isozaki Y, Hyodoh F, Kusaka M, Kita S, Ueki A. Evaluation of cases with silicosis using the parameters related to the Fas-mediated apoptosis. *Int J Mol Med* 1999; 4: 407-

11.

- 23) Wu P, Hyōdoh F, Hatayama T, Sakaguchi H, Hatada S, Miura Y, Takata-Tomokuni A, Katsuyama H, Otsuki T. Induction of CD69 antigen expression in peripheral blood mononuclear cells on exposure to silica, but not by asbestos/chrysotile-A. *Immunol Lett* 2005; 98: 145-52.
- 24) Furue M, Katz SI. Molecules on activated human T-cells. *Am J Dermatopathol.* 1988 Aug; 10(4): 349-55.
- 25) Allouche M, Sahraoui Y, Augery-Bourget Y, Perrakis M, Jasmin C, Georgoulas V. Interleukin 2 receptors. *Leuk Res.* 1990; 14(8): 699-703.
- 26) Coenen JJ, Koenen HJ, van Rijssen E, Hilbrands LB, Joosten I. Rapamycin, and not cyclosporin A, preserves the highly suppressive CD27+ subset of human CD4+CD25+ regulatory T cells. *Blood.* 2006 Feb 1; 107(3): 1018-23.
- 27) Koenen HJ, Fasse E, Joosten I. CD27/CFSE-based ex vivo selection of highly suppressive alloantigen-specific human regulatory T cells. *J Immunol.* 2005 Jun 15; 174(12): 7573-83.
- 28) Ruprecht CR, Gattorno M, Ferlito F, Gregorio A, Martini A, Lanzavecchia A, Sallusto F. Coexpression of CD25 and CD27 identifies FoxP3+ regulatory T cells in inflamed synovia. *J Exp Med.* 2005 Jun 6; 201(11): 1793-803.
- 29) Raimondi G, Shufesky WJ, Tokita D, Morelli AE, Thomson AW. Regulated Compartmentalization of Programmed Cell Death-1 Discriminates CD4+CD25+ Resting Regulatory T Cells from Activated T Cells. *J Immunol.* 2006 Mar 1; 176(5): 2808-16.

Analysis of regulatory T cells in silicosis patients

Yoshie Miura¹⁾, Ping Wu¹⁾, Fuminori Hyodoh¹⁾, Yasumitsu Nishimura¹⁾,
Hironobu Katsuyama²⁾, Masafumi Tomita³⁾,
Masayasu Kusaka⁴⁾, Takemi Otsuki¹⁾

1) Department of Hygiene, Kawasaki Medical School

2) Department of Public Health, Kawasaki Medical School

3) Department of Medical Toxicology, Kawasaki Medical School

4) Kusaka Hospital

Abstract

To explore the dysregulation of autoimmunity found in silicosis patients, the sizes of CD4+25+ regulatory T cells (Treg), which have been recognized to play an important role in the regulation of autoimmunity, were examined among CD4+ T cells in healthy donors (HD) and those in silicosis (SIL) patients. The sizes of the Treg fraction in peripheral blood derived from 57 SIL and 50 HD were analyzed flow cytometrically. Although the actual size of Treg in SIL did not differ from that in HD, the age-corrected size in SIL calculated from a formula obtained from HD results was higher than that indicated by the actual data. In addition, when responder CD4+25- T cells (Tres) were added to Treg with a ratio of 1:1/4 or 1:1/2 (Tres : Treg) with irradiated allogenic mononuclear cells, the function of Treg was reduced compared with that of HD. Taken together, these results, the positive relationship between the size of Treg and the serum IL-2 concentration in SIL (and HD), and our previous finding that showed a slow and gradual activation of T cells induced by exposure to silica *in vitro*, indicate that the reduction in size and function of Treg in SIL due to substitution by chronically activated T cells, which also present the CD4+25+ phenotype, may cause the subsequent occurrence of autoimmune diseases in SIL and represent a pre-autoimmune status in SIL.

key word: silicosis, regulatory T cell, autoimmune

瞬間強力接着剤（シアノン®）による職業性喘息の1例と その病理組織像

渡邊直人^{2) 1)}、吉川弥須子¹⁾、山田一成¹⁾、福田 健¹⁾

1) 獨協医科大学 呼吸器・アレルギー内科

2) 聖マリアンナ医科大学 呼吸器・感染症内科

抄 録

我々は瞬間強力接着剤（シアノン®）を取り扱う職業に従事し、その主成分である α -cyanoacrylate により発症したと思われる気管支喘息の1例を経験し、その病理組織所見を検討した。

症例は、36歳男性で職業は製版業である。仕事上アルミ棒と布を接着するために、シアノン®を毎日18時から20時までの2時間位使い始めた。使用開始2週間後より毎就寝時に喘鳴出現し、翌朝には症状が自然に軽快していた。徐々に夜間の喘鳴、呼吸困難が増悪傾向となり、近医受診し職業性喘息を疑われ、シアノン®の使用を止めたところ症状の出現を認めなくなり、精査入院となった。

検査所見では、末梢血白血球5500/ μ l 中好酸球9.7%を認め、IgE35U/mlで、IgE-RASTではスギにクラス1を認めたが、TDI、MDI、HDIは陰性であった。動脈血液ガス分析では軽度の換気障害（PCO₂ 45.4、PO₂ 81.3mmHg）を認めた。胸部X線に異常所見は認められなかった。肺機能検査上若干の閉塞性障害（FEV_{1.0}% 67.8%）を認め、気道可逆性試験では1秒量の有意な改善は得られなかったが、アセチルコリン吸入試験ではPC₂₀ 1250 μ g/mlと気道過敏性亢進を認めた。

実際に使用しているシアノン®を、職場の環境と同様に作業しながら約30分間吸入させ誘発試験を行った結果、吸入3時間後に喘鳴と咳嗽出現し、聴診上軽度のラ音を認め、肺機能上1秒量は36%の有意な低下を認めた。

以上よりシアノン®による職業性喘息と診断した。

抗原吸入誘発試験施行24時間後のBALF中好酸球6.9%の検出を認め、気道粘膜生検像では、気道上皮の損傷や軽度の基底膜肥厚と軽度の好酸球を含んだ炎症細胞の浸潤を認めた。

はじめに

近年職業の多様化によりその特異抗原が原因と思われる職業性喘息の報告が散見されるようになってきた。

職業性喘息は気管支喘息の2～15%に認められ、最近では高分子物質（分子量5000dalton

〒216-8511

神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1

聖マリアンナ医科大学 呼吸器・感染症内科

渡邊 直人

TEL 044-977-8111

FAX 044-977-8361

以上)の他に、無機物や薬物などの低分子物質(分子量5000dalton以下)による報告も増加している。

cyanoacrylateは、分子量110~130daltonの低分子物質に属す。その接着効果の早さから瞬間接着剤などとして頻用されている。そして合成樹脂系接着剤のcyanoacrylateに職業上感作され発症した気管支喘息の報告も散見される。しかしその病理組織像を検討した報告は少ない。

今回我々は瞬間強力接着剤(シアノン®)を取り扱う製版業に従事し、その主成分である α -cyanoacrylate monomerにより発症したと思われる気管支喘息の1例を経験し、気道粘膜生検により、その病理組織所見を検討したのでここに報告する。

症例:36歳 男性 職業:製版業

主訴:喘鳴、呼吸困難。

家族歴:特記すべき事項はなし。

既往歴:31歳 脳梗塞。

嗜好:喫煙歴はなし。飲酒は少々。ペットの飼育歴はなし。

現病歴:H12年3月10日頃より仕事上アルミ棒と布を接着するために、瞬間強力接着剤(シアノン®)を使い始めた。使用時間は毎日18時から20時までの2時間位であった。使用開始2週間後より毎就寝時に喘鳴出現し、翌朝には症状が自然に軽快していた。しかし夜間の喘鳴、呼吸困難が増悪傾向となり、4月5日近医受診した。そこで職業性喘息を疑われ、4月11日よりシアノン®の使用を止めたところ症状の出現を認めなくなった。今回精査目的にて、4月26日近医より紹介入院となった。

入院時現症:身長173cm、体重69kg。血圧160/80mmHg、体温37.0℃、脈

拍86/分。眼瞼に貧血、黄疸を認めず、口腔内異常なし。表在リンパ節触知せず。胸部聴診上ラ音、心雑音は認められなかった。腹部所見に異常は認めず、浮腫はなし。神経学的所見に異常を認められなかった。

入院時検査所見(表1)では、末梢白血球5500/ μ l 中好酸球 9.7%を認め、生化学検査では異常値を認めず、IgE-RISTは35U/mlと正常範囲内で、IgE-RASTではスギにクラス1を認めたが、その他TDI、MDI、HDI、ラテックス、ホルマリン、無水フタル酸、エチレンオキサイドはすべて陰性であった。動脈血液ガス分析ではPH 7.36、PCO₂ 45.4mmHg、PO₂ 81.3mmHgと軽度の換気障害を認めた。

入院時胸部X線写真では、特に異常所見は認められなかった。

表1. 入院時検査所見

末梢血:		免疫学:	
WBC	5500/ μ l	IgG	1310mg/dl
Ne	44.8%	IgA	201mg/dl
Eo	9.7%	IgM	110mg/dl
Ba	0.7%	IgE	35U/ml
Mo	6.2%	CH50	34U/ml
Ly	38.6%	IgE-RAST	
RBC	485 $\times$ 10 ⁴ / μ l	ハウスダスト	Class 0
Hb	14.8g/dl	ダニ	Class 0
Ht	45.7%	スギ	Class 1
Plt	18.2 $\times$ 10 ⁴ / μ l	TDI	Class 0
ESR	2mm/hr	MDI	Class 0
CRP	<0.3mg/dl	HDI	Class 0
生化学:		ラテックス	Class 0
GOT	25IU/l	ホルマリン	Class 0
GPT	32IU/l	無水フタル酸	Class 0
LDH	406IU/l	エチレンオキサイド	Class 0
T-Bil	0.8mg/dl	動脈血液ガス分析:	
TP	7.0g/dl	PH	7.363
BUN	15mg/dl	PCO ₂	45.4mmHg
Cr	0.7mg/dl	PO ₂	81.3 mmHg
Na	140mEq/l	HCO ₃	25.3
K	4.2mEq/l	BE	-0.5
Cl	107mEq/l	SO ₂	95.8%
T-Ch	169mg/dl		
TG	49mg/dl		

入院中に行った検査（表2）では、肺機能検査上 FVC 4.04L、%FVC 98.2%、FEV_{1.0} 2.74L、FEV_{1.0}% 67.8%、V50 2.07L/sec、V25 0.59L/secと若干の閉塞性障害を認めた。

イソプロテレノール吸入試験では前値の1秒量が3.7Lと正常のため有意な改善は得られなかったが、アセチルコリン吸入試験ではAch-PC₂₀ 1250 μ g/mlと気道過敏症の亢進を認めた。

表2. 入院時の検査結果

肺機能検査		イソプロテレノール吸入試験
VC	4.13L	FEV _{1.0} の改善量 0ml
%VC	100.4%	改善率 0%
FVC	4.04L	(baseline FEV _{1.0} 3.70L)
FVC	98.2%	
FEV _{1.0}	2.74L	
FEV _{1.0} %	67.82%	アセチルコリン吸入試験 (抗原吸入試験前)
PEF	6.47L/sec	閾値 1250 μ g/ml
V50	2.07L/sec	PC ₂₀ 1250 μ g/ml
V25	0.59L/sec	
DLco	122.5%	アセチルコリン吸入試験 (抗原吸入試験5日後)
%DLco	122.5%	閾値 1250 μ g/ml
		PC ₂₀ 1250 μ g/ml

また抗原吸入誘発試験を行い、その5日後のAch-PC₂₀では1250 μ g/mlと吸入誘発試験前と変化は認められなかった。

抗原吸入誘発試験は以下の方法で施行し、図1に結果を示す。

実際に使用しているシアノン®を、職場の環境と同様に作業しながら約30分間吸入させ、吸入直後・10分・20分・30分後と肺機能を測定し、さらに1時間ごとに肺機能を追跡測定した。

結果は吸入3時間後に喘鳴と咳嗽出現し、胸部聴診上軽度のラ音を認め、肺機能上1秒量は2.85Lから1.80Lへと36%の有意な低下を認めた。

一方、38歳男性の健常者を対象に同時に抗原吸入試験を行ったが、その結果は8時間後まで、1秒量の有意な低下は認められなかった。

喀痰は採取困難であったため、喀痰中の好酸球数については明らかではないが、表3に示すように抗原吸入誘発試験施行24時間後のBALFの結果では、細胞数が 0.85×10^5 /ml中好酸球6.9%の検出を認めた。

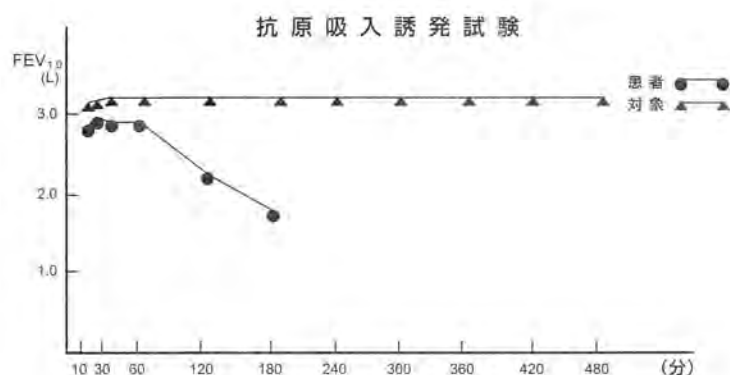


図1. 抗原吸入誘発試験（シアノン®）

吸入3時間後に喘鳴と咳嗽出現し、軽度のラ音を聴取し、肺機能上1秒量は2.85Lから1.80Lへと36%の有意な低下を認めた。対象者では8時間後まで1秒量の低下は認められなかった。

表3. 気管支洗浄液 (BALF)

細菌培養：陰性

ガフキー：0号

抗酸菌培養：陰性

細胞診：Class I

細胞分画

Neu	Ly	Eo	Mφ
5.0%	12.5%	6.9%	74.8%

また、図2に抗原吸入誘発試験施行24時間後の気道粘膜生検像を示すが、気道上皮の損傷や軽度の基底膜の肥厚と軽度の好酸球を含んだ炎症細胞の浸潤を認めた。

まとめ

- ① α -シアノアクリレートが主成分の瞬間強力接着剤（シアノン[®]）による職業性喘息の1例を経験した。
- ② 抗原誘発吸入試験（シアノン[®]）により、3時間後に1秒量が有意に低下し、遅発型反応を認めた。

- ③ 健常者を対象にした抗原誘発吸入試験では、8時間後まで有意な1秒量の低下は認められなかった。
- ④ 抗原誘発吸入試験前後のAch-PC₂₀に、有意な変化は認められなかった。
- ⑤ シアノアクリレートの短時間曝露でもすでに軽度の基底膜肥厚を認めた。

考 察

本症例は、喘鳴、呼吸困難を認め、気道過敏性が亢進し、気管支洗浄液中より好酸球が検出され、特徴的な気道粘膜生検像より気管支喘息と診断した。

仕事上シアノン[®]を使用してから2週間後に症状が出現し、以後毎夜間に喘鳴出現し、日中は比較的軽快していた。入院にてシアノン[®]による抗原吸入誘発試験が陽性であり、シアノン[®]の成分である α -cyanoacrylate monomerが原因である職業性喘息と診断した。

日常使用されるcyanoacrylateはmethyl cyanoacrylateとethyl cyanoacrylateがあり、

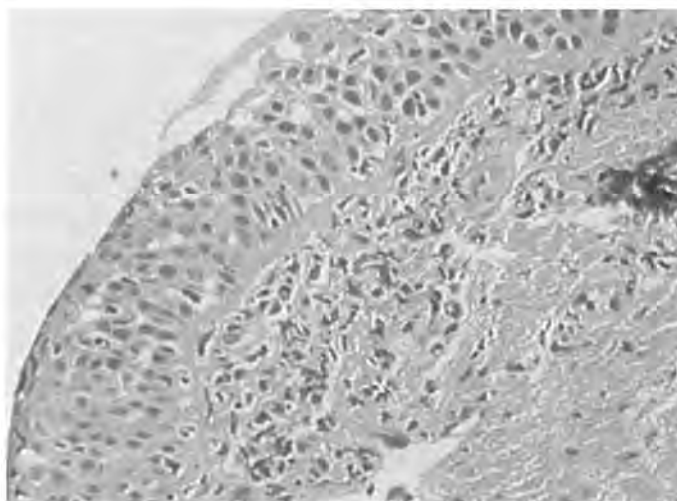
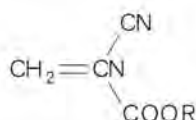


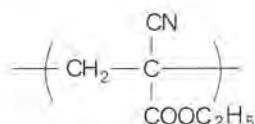
図2. 抗原吸入誘発試験施行24時間後の気道粘膜生検像

気道上皮の損傷や軽度の基底膜肥厚と軽度の好酸球を含んだ炎症細胞の浸潤を認める

いずれも接着剤として頻用されている。シアノン®は無色透明でアロンアルファ®同様合成樹脂系の接着剤として市販されており、ethyl cyanoacrylateと微量のハイドロキノンおよび少量のSO₂から構成される単純化学物質であり、その主たる構造式を図3に示す。



シアノアクリレート



エチルシアノアクリレートポリマー

図3. シアノン®の構造式

α -cyanoacrylateが原因と考えられる気管支喘息は、1985年Koppら¹⁾やLozewiczら²⁾が報告して以来、Saboniusら³⁾、Chanら⁴⁾によるものなど約20症例が報告されている。アロンアルファ®喘息としての報告が多く、本邦では須甲ら⁵⁾、中澤ら⁶⁾を始め、鈴木ら⁷⁾によるものなど数例報告されているが、本症例のように抗原吸入試験後気管支洗浄や気道粘膜生検を行っている報告は少ない⁸⁾。

今回の症例で比較的短時間で短期間の曝露にも関わらず、気道粘膜生検による病理組織所見において軽度ではあるがすでに基底膜肥厚が始まっていたことには興味深いものがあり、 α -cyanoacrylateが関与する気管支喘息の機序解明に重要な手がかりとなる可能性が高い。

現在のところ α -cyanoacrylateに対する特異的IgE抗体は証明されておらず、喘息発症機序の詳細は不明である。IARとLARを認めること

から α -cyanoacrylateが感作抗原として発症要因に関与するとする説もあるが、irritantとして作用するという説もあり、不明な点が多い。

発作のパターンとしてはIAR、LAR、その両方伴う二相性反応(dual asthmatic responses: DAR)のいずれもあるが、LARかDARの報告頻度が多い。

本症例に関しては、シアノン®の使用時間帯は18~20時の2時間ぐらいであり、夜間に喘息症状が出現していたことから即時型反応(immediate asthmatic responses: IAR)より遅発型反応(late asthmatic responses: LAR)による機序が考えられる。抗原吸入誘発試験においても吸入2時間後より1秒量の低下傾向を認め、3時間後には軽度な発作が誘発されたことから通常のIARより遅れた反応をしている。さらに気道粘膜生検像で軽度ではあるが好酸球浸潤と基底膜肥厚が認められたことより、ethyl cyanoacrylateが感作抗原として免疫学的に作用し気管支喘息を発症させたものと考えたいが、前述したごとく特異的IgE抗体は証明されていない。あるいは別に、irritantにより好酸球が気道に集積し、繰り返しcyanoacrylateを吸入していたことにより、それら好酸球性の気道炎症が持続した結果気道過敏性が亢進し、気管支喘息が発症したとも考えられるが、いまだ詳細な機序は明らかでない。

抗原吸入誘発試験における抗原吸入の時間は文献的に様々であったが15分から30分までが多かったので、今回は30分とした。

本症例における感作期間は2週間と考えられるが、従来報告例では1週間から3年間までと一定の見解がない。IARで短い感作期間の症例はirritantの作用が主に関与しているものと思われる。

また、 α -cyanoacrylateが関与する気管支喘息の報告例では約36%にアトピー素因が認められ、アトピー素因があると発症し易いとも考えられている⁹⁾が、本症例においては、小児喘息

の既往はなく、IgE-RASTでスギがclass 1であったが、他のアレルゲンは認められず、アトピー型か否かは分類出来なかった。

一方、cyanoacrylateによる接触性皮膚炎の報告もある^{10) 11) 12)}。cyanoacrylateはケラチン表面にすぐに接着してしまうことから、その感受性は極めて稀とされていたが、種々の接着剤使用頻度が増加するにつれアレルギー感作の頻度も増加している。

また、今後本症例のような接着剤や有機溶剤に関する職業性喘息の報告が増えると考えられる。すでに表面保護材やペイント、塗料などの素材として多用されるisocyanate(TDI, MDI, HDI)による気管支喘息や過敏性肺臓炎の報告も多く認められる^{13) 14) 15)}。

TDI喘息患者の気道粘膜生検像では、好酸球性気道炎症^{16) 17)}と基底膜肥厚を認め、Saettaら¹⁸⁾はそれらTDI喘息患者の基底膜肥厚が抗原回避により改善したことを報告している。

職業性喘息の治療の基本は速やかな抗原回避、環境整備であり、早期治療により完治する可能性も十分ある。それゆえに早期診断が予後に影響を及ぼすものと考えられる。

本症例においても α -cyanoacrylateの曝露により短期間にも関わらずすでに基底膜肥厚が進行しつつあった。

早期に職業性喘息と診断することが極めて重要であり、気道可逆性、気道過敏性、誘発喀痰などの喘息診断に必要な検査はもとより、疑いのある症例は同意を得た上で速やかに抗原吸入誘発試験を行い、早急に診断を確定する必要性があると考えられる。ピークフローモニタリングも重要な診断根拠に結びつき、また職場内でのアレルゲンを証明する手がかりに繋がるとする報告もある¹⁹⁾。

そして一番大切なことは疑いをもつことで、職業歴やアレルゲンを推定するための詳細な問診の重要性を再認識することにあると思われる。

文 献

- 1) Kopp SK, McKay RT, Miller DR, et al. Asthma and rhinitis due to ethylcyanoacrylate instant glue. *Ann Intern Med* 1985; 102: 613-615.
- 2) Lozewicz S, Davison AD, Hopkirk A, et al. Occupational asthma due to methylmethacrylate and cyanoacrylates. *Thorax* 1985; 40: 836-839.
- 3) Sabonius B, Keskinen H, Tuppurainen M, et al. Occupational respiratory disease caused by acrylates. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 416-424.
- 4) Chan CC, Chcong TH, Lee HS, et al. Case of occupational asthma due to glue containing cyanoacrylate. *Ann Acad Med Singapore* 1994; 23: 731-733.
- 5) 須甲松伸、安枝 浩、油井泰雄、ほか.: シアノアクリレート系瞬間接着剤に起因する気管支喘息の一例。アレルギーの臨床 1987; 7: 37-38.
- 6) Nakazawa T.: Occupational asthma due to alkylcyanoacrylate. *J Occup Med* 1990; 32: 709-710.
- 7) 鈴木和夫、藤森勝也、小林 理、ほか.: アロンアルファによる職業性気管支喘息が疑われた1例。アレルギー 1999; 48: 1238-1241.
- 8) 山田一成、沼尾利郎、吉川弥須子、ほか.: シアノアクリレートによる職業性喘息の臨床像と病理所見。日呼吸会誌 2002; 40: 174.
- 9) 鈴木和夫、藤森勝也、小林 理、ほか.: アロンアルファによる職業性喘息。ASTHMA 2001; 14: 21-26.
- 10) 関東裕美、吉岡敦子、吉田正己、ほか.: ダーマボンドによる接触性皮膚炎症候群。皮膚病診療 2005; 27: 1035-1038.
- 11) Keiko Minamoto, Atsushi Ueda.: Occupational allergic Contact Dermatitis due to Ultraviolet-Cured Acrylic Glue. *J Occup Health* 2005; 47: 340-342.
- 12) Magnus Bruze, Bert Björkner, Jean Pierre Lepoittevin.: Occupational allergic contact dermatitis from ethylcyanoacrylate. *Contact Dermatitis* 1995; 32: 156-159.
- 13) 松島秀和、高柳 昇、徳永大道、ほか.: イソシアネートによる過敏性肺臓炎、気管支喘息の1例。日呼吸会誌 2003; 41: 760-765.
- 14) Buick JB, Todd GRG.: Concomitant alveolitis and asthma following exposure to triphenylmethane

- triisocyanate. *Occup Med* 1997; 47; 504-506.
- 15) Baur X, Marek W, Ammon J, et al.: Respiratory and other hazards of isocyanate. *Int Arch Environ Health* 1994; 66; 141-152.
- 16) Sassetta M, Di Stefano, Maestrelli P, et al: Airway mucosal inflammation in occupational asthma induced by toluene diisocyanate. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145; 160-168.
- 17) Maestrelli P, Occari P, Turato G, et al.: Expression of interleukin(IL)-4 and IL-5 proteins in asthma induced by toluene diisocyanate(TDI). *Clin Exp Allergy* 1997; 27; 1292-8.
- 18) Sassetta M, Maestrelli P, Turato G, et al: Airway wall remodeling after cessation of exposure to isocyanates in sensitized asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151; 489-494.
- 19) P. Sherwood, Burge : Single and serial measurements of lung function in the diagnosis of occupational asthma. *Eur J Respir Dis* 1982; 123: 47-59.

A case of occupational asthma by strong glue (cyanon[®]) and its pathological findings

Naoto Watanabe^{2) 1)}, Yasuko Kikkawa¹⁾, Issei Yamada¹⁾, Takeshi Fukuda¹⁾

1) Department of Medicine and Clinical Immunology, Dokkyo University School of Medicine

2) Division of Respiratory and Infectious Diseases Department of Internal Medicine, St.Marianna University School of Medicine

Abstract

We had a case of occupational asthma caused by α -cyanoacrylate of the basis of strong glue (cyanon[®]) and studied its pathological findings.

A patient is 36 years old man who is maker. He has used cyanon for about 2 hours every night, and wheeze appeared in bedtime after 2 weeks and recovered in the next morning. This pattern repeated and nocturnal dyspnea was increasing but lessened it by stopping the use of cyanon.

He admitted to our hospital for examination.

In result, WBC 5500/ μ l (Eo 9.7%), IgE 35U/ml, Japanese cedar was class 1 but TDI, MDI and HDI were negative in IgE-RAST.

In Blood gas of artery: PCO₂ 45.4, PO₂ 81.3mmHg, Chest X-Ray: W.N.L, In pulmonary function test: FEV_{1.0}% 67.8%, ISP test was negative but PC₂₀ was 1250 μ g/ml in acetylcholine inhalation test.

Wheeze, cough and dry rale occurred and FEV_{1.0} significantly declined 36% after 3 hours in allergen inhalative provocation test.

The other, eosinophils were 6.9% in BALF and the damage of airway epidermis, mild eosinophilic infiltration and thickness of base membrane (remodeling) were found in pathological findings by bronchial biopsy after 24 hours of allergen challenge test.

key word: cyanoacrylate, cyanon, occupational asthma, remodeling, bronchial biopsy

Specific IgE response to various antigens by different sensitizing routes in individual subjects

Kumiko Sato¹⁾, Yukiko Miyazaki¹⁾, Kazuo Kubota³⁾,
Shigeyuki Kano⁴⁾ and Tsugio Nakazawa¹⁾

1) Gunma University School of Health Sciences, Maebashi, 371-8511, Japan

2) Takasaki University of Health and Welfare, Takasaki, 370-0033, Japan

3) Gunma Balneology Institute, Numata, 378-0014, Japan

4) Department of Appropriate Technology Development and Transfer, Research Institute,
International Medical Center of Japan, Tokyo, 162-8655, Japan

Abstract

Background: Extensive epidemiological studies related to various antigen-specific IgE antibodies occasionally give important information on natural antigen stimulation in humans. **Objective:** This study was conducted to elucidate the prevalence of specific IgE antibodies against various antigens in individual subjects in the Japanese population, the relationship between the level of antigen specific-IgE and age or sex, and the effects of sensitizing routes on specific IgE production.

Materials and Methods: Five types of antigens; Mites, Japanese cedar pollen (JCP), buckwheat, and *Ascaris (A.) suum* and *Dirofilaria (D.) immitis* extracts, were used. Serum samples from 1,832 volunteers (age; 17-83, men; 878) came from a general population including a proportion of allergic individuals. The antigen-specific IgE level was measured by fluorescence-ELISA.

Results and Conclusion: Prevalences of specific IgE to mites, JCP, buckwheat, and *A. suum* and *D. immitis* extracts in the population were 20.1% (369 of 1,832), 34.5% (632 of 1,832), 9.8% (180 of 1,832), 6.8% (125 of 1,832) and 6.4% (114/1,832), respectively. The highest antibody carriages against mites and JCP were predominantly found in young adults and decreased with age, while the antibody carriages against buckwheat and *D. immitis* extracts were not affected by aging. There was a higher rate of each antigen-specific IgE positivity among men than women, except with the results from JCP. The results suggest that the route of antigen sensitization affects the relationship between specific IgE positivity and aging. Negative cases increased with aging, and about 67% of the group aged 60 years and over was negative.

key word: specific IgE, sensitizing routes, fluorescence-ELISA, pollen, mite,

Gunma University School of Health Sciences,
Maebashi, 371-8511, Japan

Kumiko Sato, PhD

e-mail: kusato@health.gunma-u.ac.jp/

INTRODUCTION

It is well known that natural exposure to various pollens or foods leads to an increase in the level of serum specific IgE antibodies. During the past 15 years, we examined the prevalence of specific IgE antibodies to Japanese cedar pollen (JCP) and mites in serum samples¹⁻³⁾. Recently, Japanese cedar pollinosis has markedly increased among the general population in Japan, while the prevalence of mite-specific IgE carriage has changed little. The prevalence of JCP-specific IgE is very high, at about 48% in young adults. By contrast, the prevalence of mite-IgE in the same population is about 30%. The rates of both JCP- and mite-specific IgE carriage are strongly related to age and gradually decrease with aging. In addition, a higher rate of mite-specific IgE positivity among men than women ($P < 0.001$) was observed. On the other hand, no relationship was found between the prevalence of specific-IgE and aging, when the prevalence of natural labber latex and buck wheat-specific IgE carriages were examined^{6,7)}. The present study was undertaken to investigate the prevalence of specific IgE against 5 antigens in individual subjects in the Japanese population, and to elucidate the relationship between antigen specific IgE levels and age- or sex-related changes under various conditions in the sensitization system.

MATERIALS AND METHODS

Antigens: Five types of antigens were used; mite extract and Japanese cedar pollen (JCP) extract as inhalant antigens,

buckwheat extract and *A. suum* extract as intestinal antigens and *Dirofilaria (D.) immitis* worms (dog heart worm) extract as a cutaneous sensitization antigen were prepared. *A. suum* worms use the pig as a host, but, its protein components are the same as *A. lumbricoides* (human round worm).

Antigen preparation: JCP-extract was prepared from *Criptomeria japonica* pollen using the method of Yasueda et al.⁸⁾. Mite powder prepared from *Dermato- phagoides farinae* was donated by Torii Yakuhin Co., Ltd (Japan). Buckwheat crude extract was prepared as follows:¹⁾ Buckwheat flour was suspended in 0.1M phosphate buffer, pH 7.2, and refrigerated with stirring overnight.²⁾ The suspension was sonicated with a Cell Disrupter, model 200 (Branson Sonic Power Co., Danbury, CT), for 15 min on ice and centrifuged at 10,000 g for 30 min to obtain the buckwheat crude extract. *A. suum* extract was prepared as follows:¹⁾ Live worms were minced into small pieces with scissors, suspended in 0.1M phosphate buffer, pH 7.2, homogenized with Hiscotron N-500 (Nippon Seimitsu, Tokyo), then sonicated for 15 min on ice.²⁾ The resulting suspension was centrifuged at 10,000 g for 30 min to obtain *A. suum* extract. *D. immitis* extract was prepared from lyophilized worms according to a modified method of *A. suum* extract preparation.

Prior to use, all extract antigens were dissolved in a 0.05 M carbonate buffer, pH 9.6 at a final protein concentration of 25 μ g/ml. The protein concentration was determined using the "BIO-RAD" dye-

binding assay with bovine serum albumin as the standard.

Sera: Serum samples of 1,832 volunteers (age; 17-83, men; 878) came from a general population including a proportion of allergic individuals living in Gunma prefecture. The age range was 18-86 years, and the details of the study population are given in Table 1. All serum samples, with 0.05% NaN₃ added, were kept in a refrigerator until use.

Table 1 Profiles of the study population

Age	Total	Men	Women
≤29	524	187	337
30~39	411	310	101
40~49	360	169	191
50~59	266	104	162
60≤	271	108	163
Total	1,832	878	954

Measurement of antigen-specific IgE antibodies: Serum levels of specific IgE antibodies were measured by fluorescence enzyme immunoassay (fluorescence-ELISA) according to the method described by Nakazawa et al.^{9). 4-methylumbelliferone released from the substrate at the final reaction step, which is reflected of the antigen-specific IgE level, was measured with a MicroFLUOR reader (Dynatech Product, USA). Results were expressed in relative fluorescence units (RFU value). The RFU values increased linearly in proportion to the amount of 4-methylumbelliferone present. Each value criteria for antigen-specific IgE positivity was determined according to the method described by Sato et al.^{10). A subject}}

showing an RFU value of 40 < to the JCP-antigen was defined as a JCP-specific IgE carrier. The RFU criteria values for mite-, buckwheat-, *D. immitis*- and *Ascaris* sp.-specific IgE carriers were 38 < , 52 < , 50 < and <50, respectively.

Materials: Polystyrene black microplates were purchased from Dynatech Product (USA). β -D-galactosidase-conjugated anti-human IgE antibody was obtained from MBL Co. Ltd. (Nagoya, Japan). 4-methylumbelliferyl- β -D-galactoside was obtained from Sigma Co. Ltd. All other chemicals used were of special grade and purchased from Wako Pure Chemicals Co. Ltd (Tokyo).

RESULTS

Specific-IgE antibody levels to various antigens in 1,833 subjects (men;878) were measured by fluorescence-ELISA, and the percentage of each antigen-specific IgE carriage was determined. In addition, the effects of age or sex on antigen-specific IgE levels under various conditions of the sensitization system were investigated. The percentage of one or more antigen-specific IgE antibody carriages in the population was 49.5% (906/1832). The positive percentages in men and women were 54.0% (474/878), and 45.3% (432/954), respectively. There was statistically a significant difference in the positive percentage between men and women ($P<0.001$ by $2 \times 2 \chi^2$ test).

The prevalences of specific IgE antibodies to mites, JCP, buckwheat, *D. immitis* and *A. suum* in the population were 20.1%, 34.5%, 9.8%, 6.4% and

6.8%, respectively as shown in Table 2. The positivity rate against the mite and JCP antigens, which are inhalant allergens, was much higher than those of buckwheat, *A. suum* and *D. immitis* extracts. Moreover, the positivity rate for each antigen-specific IgE antibody in men tended to be higher than that in women.

The carriage percentages of the indicated antigen-specific IgE alone among carriage of the indicated antigen-specific IgE and other types of antigen-specific IgE antibodies are shown in Table 3. About 52% of JCP- IgE carriage had JCP-IgE alone, while about 20 to 34% of the other antigen-specific IgE carriage had a single antigen-specific IgE antibody.

Age-related changes in specific IgE positivity in the population were analyzed. As shown in Fig.1, there was a higher rate of mite- and JCP- IgE positivity in young adults (18-29), which decreased gradually with age. However, the positivity rate of buckwheat-IgE carriage was not affected by aging. In the case of *A. suum*- IgE, the positivity rate slightly increased with age. The positivity rate of *D. immitis*-IgE was little affected by aging.

The relationship between each antigen-specific IgE positivity and sex is shown in Fig. 2. Generally, antigen specific-IgE positivity tended to be higher among men than women. As shown in Fig. 2-a c, d and e, mite-, buckwheat-, *A. suum*- and *D.*

Table 2 Comparison of IgE response to various antigens in a general population

Antigen	(%)		
	Total	Men	Women
Mite	20.1 (369/1832)	25.3 (222/878)	15.4 (147/954)
JCP	34.5 (632/1832)	36.9 (324/878)	32.3 (308/954)
Buckwheat	9.8 (180/1832)	12.3 (108/878)	7.5 (72/954)
<i>Ascaris</i> sp.	6.2 (114/1832)	8.1 (71/878)	4.5 (43/954)
<i>Dirofilaria immitis</i>	6.8 (125/1832)	9.2 (81/878)	4.6 (44/954)

Table 3 Percentage of indicated antigen-specific IgE positivity

Antigen	(1,832 tested)		
	Number of specific IgE positivities with various antigens including the indicated antigen	Number of the indicated antigen-specific IgE positivity	% of the indicated antigen-specific IgE positivity in various antigen-specific IgE positivity
Mite	369	106	28.7
JCP	632	328	51.9
Buckwheat	180	62	34.4
<i>Ascaris</i> sp.	114	25	21.9
<i>Dirofilaria immitis</i>	125	24	19.2

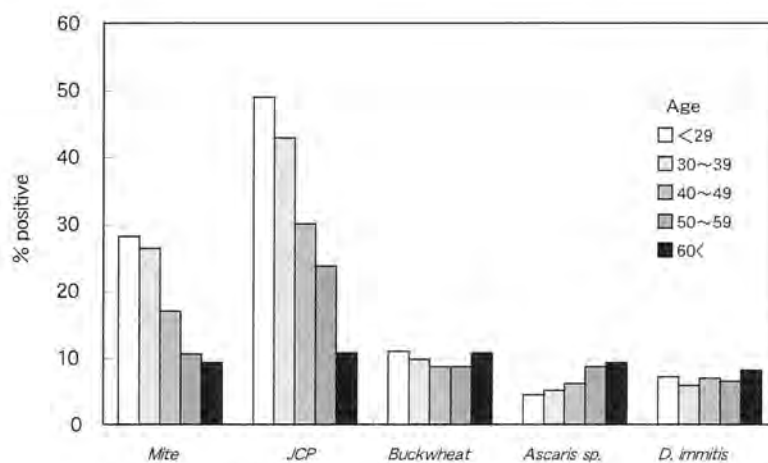


Fig. 1 Age-related changes in antigen-specific IgE positivity in individual subjects

immitis-IgE positivity rates were predominantly higher in men than women, although the difference between men and women for JCP- IgE positivity was not marked in the younger generation.

The relationship between specific IgE antibody levels to mite-, JCP-, buckwheat-, *A. suum*-positivity and *D. immitis* and age was analyzed. As shown in Fig. 3, the levels of mite- and JCP-specific IgE antibodies in carriages decreased slightly with age ($r=0.159$ and $r=0.166$, respectively). However, no correlations were recognized between buckwheat-, *A. suum*- and *D. immitis*-IgE antibody levels and age.

Table 4 shows the correlation coefficients between both indicated antigen- specific IgE levels in individual subjects. There were slight correlations between mite-IgE levels and each JCP-, *A. suum*- and *D. immitis*- IgE levels in individual subjects ($r=0.224$, 0.223 , 0.271 , respectively) and then between

buckwheat and *D. immitis* ($r=0.242$). No significant correlation was recognized between mites and buckwheat ($r=0.121$). No correlation was recognized between JCP and each buckwheat, *A. suum* and *D. immitis* ($r=0.103$, 0.087 , 0.095 , respectively), or between buckwheat and *A. suum* ($r=0.089$). However, there was a significant correlation between each *A. suum*- and *D. immitis*- IgE level ($r=0.631$).

DISCUSSION

We believe that very important information regarding antigen-specific IgE production in humans has been given by extensive epidemiological studies. For this study, we used a mite extract and a Japanese cedar pollen (JCP) extract as inhalant antigens, and buckwheat and *Ascaris* sp. worm extracts as intestinally sensitized antigens. In addition, dog's heart worm, *Dirofilaria immitis*, extract was used as a cutaneously sensitized antigen, because in Gunma prefecture, about 30

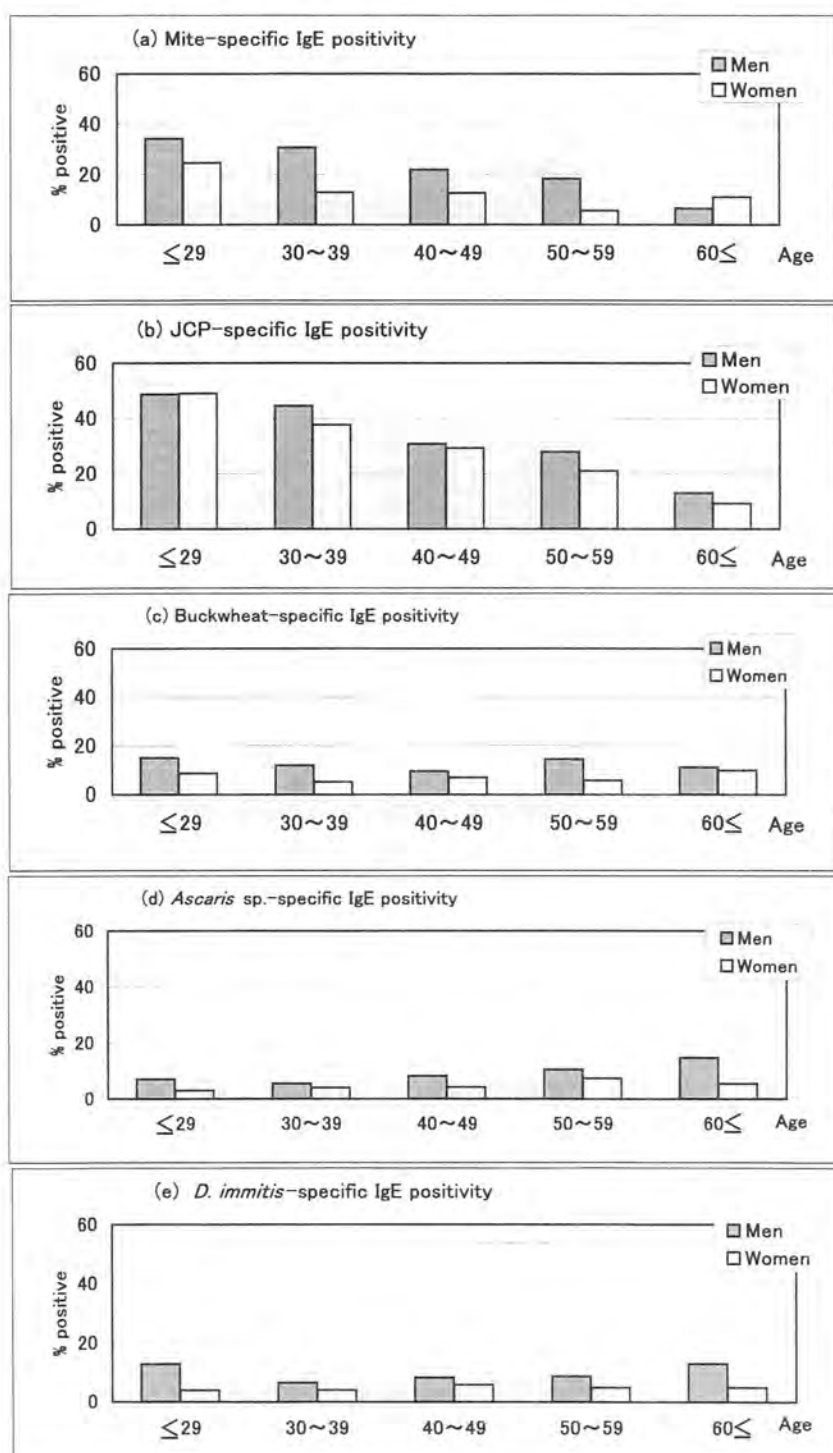


Fig. 2 Relationship between antigen-specific IgE positivity and each age group of men and women

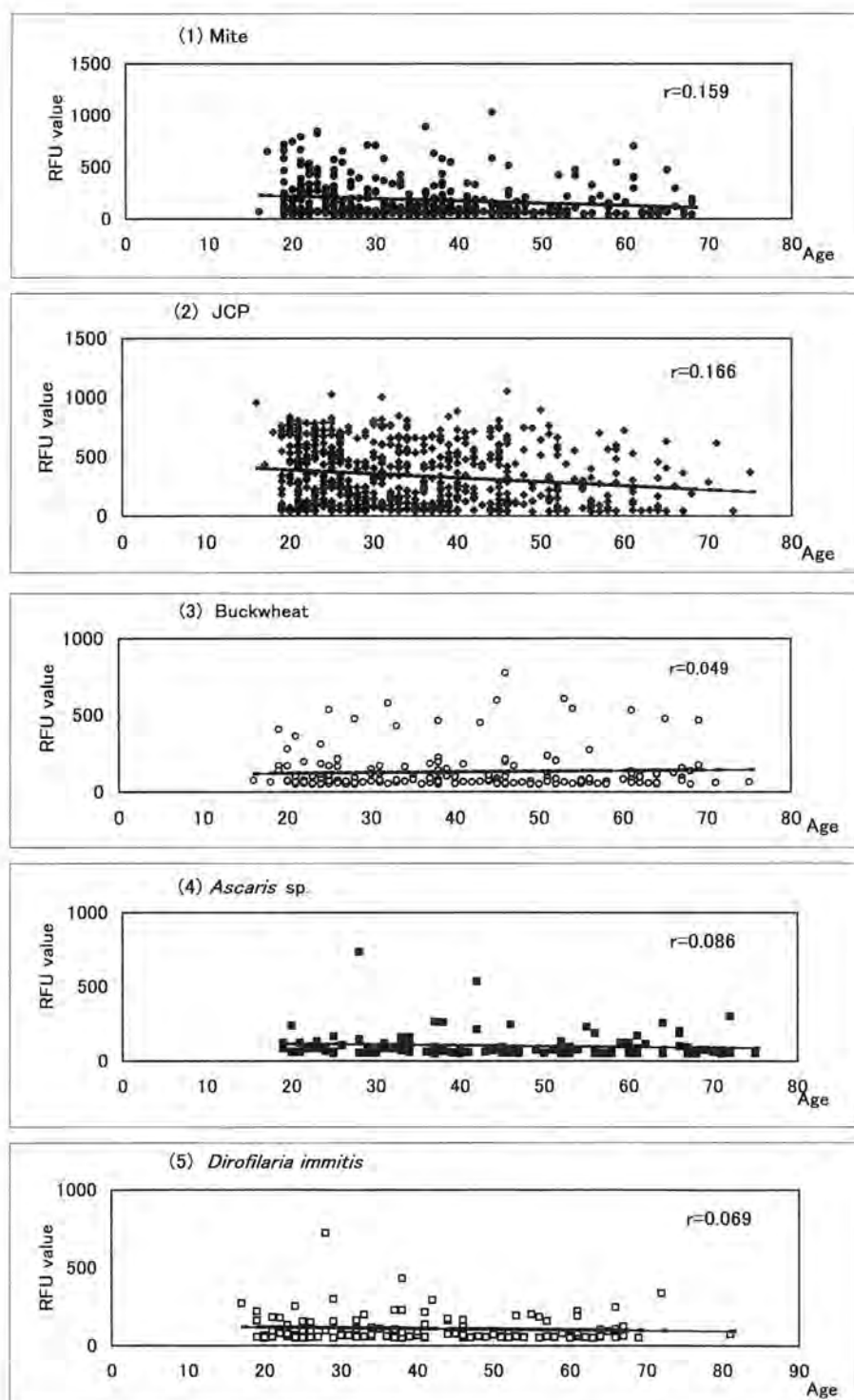


Fig. 3 Correlation between the indicated antigen-specific IgE and age

Table 4 Correlation coefficients for the indicated antigen

Antigen	Mite	JCP	Buckwheat	<i>Ascaris</i> sp.	<i>Dirofilaria</i>
Mite	×	0.224	0.121	0.223	0.271
JCP	×	×	0.103	0.087	0.095
Buckwheat	×	×	×	0.089	0.242
<i>Ascaris</i> sp	×	×	×	×	0.631

to 40% of dogs are infected with heart worms, and in summer, people are often bitten by mosquitoes with *D. immitis* microfilaria. The percentage of JCP- and mite-IgE carriages was more than that of the other antigen-specific IgEs in the population. JCP-IgE carriages were above 40% of young adults. This implies that inhalant antigens have apparently stronger antigenicity than intestinally or cutaneously sensitized antigens. However, it is known that exposure to inhalant antigens is stronger than that of other antigens, although exposure measurement is still rather limited. Some investigators reported that there is abundant evidence for an association between antigen sensitization, that is, a dose-response, and asthma^(9,11). We already reported that in longitudinal studies over 9 years, the percentage of JCP-IgE carriers in freshmen in our college (18-19 year-old group) was significantly related to number of pollen scattering³⁾.

Some authors confirmed that antigen-specific IgE carriages in a healthy population fell in proportion with increasing age. In 1984, Freidhoff found that skin test positivity to 6 inhalant allergens and total serum IgE levels tended to decrease between 20 and 60 years of

age⁽²⁾. Ishizaki reported that JCP-IgE carriages decreased markedly among the residents of a heavily cultivated area aged 50 years or older⁽³⁾. We previously showed similar results regarding the relationship between JCP-IgE and mite-IgE with aging^(4,5), while higher percentages of JCP- and mite-specific IgE carriage were found in young adults, gradually decreasing with aging. In this study, we also confirmed a similar tendency. The highest antibody carriages to mite and JCP were in the 18 to 29 year-old group, and decreased with age. The mechanism which causes IgE production to decrease with age is still unclear. Kishimoto and Ishizaka suggested the existence of IgE class-specific regulatory T cells, a decrease in the absolute number of blood lymphocytes, and alterations in T cell subsets in the elderly⁽¹⁵⁾. Some studies also suggest that changes in B cell tolerance, the presence of IgE-specific suppressor factors, and concomitant IgG antibodies contribute to the reduction of IgE production with aging^(16,17), while, each percentage of antibody carriages to buckwheat-, *Ascaris* sp.- and *D. immitis*-antigen are little changed even in the elderly. These results suggest that antigen-specific IgE positivity is not always affected by aging, and the

difference in the antigen sensitizing route was related to the results, although, we do not know as yet the reason why the route of antigen sensitization is contributory to the relationship between specific IgE production and aging. On the other hand, a slight increase in the positivity rates of *Ascaris* sp.- and *D. immitis*- specific IgE was observed with aging, especially in *Ascaris* sp. This could be explained as follows; ① Japanese, especially older people, prefer to eat raw fish with *Anisakis* sp. which belongs to the same order, the Ascaridida as *Ascaris* sp, or ② Fifty years ago, about 80-90% of Japanese people were infected with round worms, although, nowadays very few Japanese people are infected with round worms.

Antigen specific-IgE positivity tended to be higher among men than women. Mite-, buckwheat-, *Ascaris* sp.- and *D. immitis*-positivity were predominantly higher in men than women, although the difference between men and women for JCP-specific IgE positivity was not marked. In previous papers, the similar results were observed in JCP-, mite-, and natural rubber latex-IgE examinations^{2,4-6)}. Tang et al. reported that boys had higher positivity rates of positive mite -IgE than girls, with an overall male to female ratio of 1.5¹⁸⁾. A few studies on other allergens noted a relationship between IgE production and sex in an under 50 years of age group^{2,19, 20)}. However, we could not find clear evidence to explain these phenomena. In the case of *Ascaris* sp.- and *D. immitis*-specific IgE, the positivity rate was significantly higher in men than in women

in the over 50 years of age group. One explanation for this that old men may have more occasions to become sensitized than old women, because old men prefer to eat raw fish, and they also have more chances to be bitten by mosquitoes. Further studies are needed to provide objective information relating to the influence of sex on antigen specific-IgE production.

Certain subjects with a high levels of each specific IgE antibody to mite-, JCP-, buckwheat- *D. immitis*- and *Ascaris* sp.-antigens were found in each age -group. The phenomena were observed even in the elderly, suggesting that there are high responders against many antigens, and that the activity of specific IgE production in these subjects little affected by aging.

In the examination of specific IgE antibodies to 5 types of antigens in the population, About 52% of JCP- IgE carriage had JCP-IgE alone, while about 20 to 34% of the other antigen-specific IgE carriage had a single antigen-specific IgE antibody. The result suggests that JCP has very strong antigenicity.

High correlation coefficients among mite- each JCP-, buckwheat, *A. suum*- and *D. immitis*- IgE levels in individual subjects were not recognized. This, probably means that there were few common antigens in the tested antigens. While, there was a significant correlation between *A. suum*- and *D. immitis*- IgE IgE levels ($r=0.631$). Both worms were classified into the same order; therefore, a large number of common antigens were contained in them.

In conclusion, many factors, including

differences in antigenicity, sensitizing route, frequency of antigen exposure, atopic factors, aging and sex may contribute to results shown here.

REFERENCES

- 1) Sato, K and Nakazawa, T : Age-related changes in specific IgE antibody levels. *Annals of Allergy* 1992;68: 520-524
- 2) Nakazawa, T, Houjyo S, Dobashi, K and Sato, K: Influence of aging and sex on specific IgE antibody levels. *Internal Medicine* 1994;33: 396-401
- 3) Sato, K, Nakazawa, T, Sahashi, N and Kochibé, N.: Yearly and seasonal changes of specific IgE to Japanese cedar pollen in a young population. *Annals of Allergy* 1997;79: 57-61
- 4) Sato, K, Nakazawa, T, Sato, Y, Nakano, M, Nojiri, M and Ohno, A: Mite-specific IgE antibody carriage among an adult population in Gunma prefecture. *Occup Environ Allergy* 1997;4: 37-44.
- 5) Sato, K, Nakazawa, T, Sato, Y, Nakano, M, Nojiri, M and Ohno, A: Japanese cedar pollen-specific IgE antibody carriage among an adult population in Gunma prefecture. *Occup Environ Allergy* 1998;4: 37-44.
- 6) Miyazaki Y, Sato K, Fukumura Y and Nakazawa, T: Prevalence of natural rubber latex-specific IgE antibody carriage among doctors and health care workers. *Occup Environ Allergy* 2000;7: 35-42.
- 7) Sato K, Miyazaki Y, Nakazawa T: Buckwheat-specific IgE antibody carriage among an adult population in Gunma prefecture. *Occup Environ Allergy* 2004; 11:13-20. (in Japanese)
- 8) Yasueda H, Yui Y, Shimizu T and Shida T: Isolation and partial characterization of the major allergen from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1983;71:77-86.
- 9) Nakazawa T, Sato K and Tsuchiya J: Evaluation of release fluoroimmunoassay (RFIA) for the determination of specific IgE antibody to Japanese cedar pollinosis. *Ann Allergy* 1988; 61: 214-215.
- 10) Platt-Mills TAE, Champman MD: Dust mite allergens and asthma- A world wide problem. *Bull WHO* 1989;66:769-780.
- 11) Platt-Mills TAE, Sporik RB, Ward GW, Heymann PW and Champman MD: Dose-response relationships between asthma and exposure to indoor allergens. 1994 *Progress in Allergy and Clinical Immunology*, vol 3, P90-96 (Johansson SGO edited)
- 12) Freidhoff L R, Meyers D A, Marsh D G: A genetic-epidemiologic study of human immune responsiveness to allergens in an industrial population. The associations among skin sensitivity, total serum IgE, age, sex, and the reporting of allergies in a stratified random sample. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 490-499.
- 13) Ishizaki T, Koizumi K, Ikemori R, et al: Studies of prevalence of Japanese cedar pollinosis among the residents in a densely cultivated area. *Ann Allergy* 1987; 58: 265-270.
- 14) Kishimoto T and Ishizaka K: Regulation of antibody response in vitro. VII. Enhancing soluble factor for IgG and IgE antibody response. *J Immunol* 1973; 111
- 15) Kishimoto T: IgE class-specific suppressor T cells and regulation of the IgE response. *Prog Allergy* 1982;32:265-317.
- 16) Ishizaka K: Cellular events in the IgE antibody response. *Adv Immunol* 1976; 23: 1-75.
- 17) Deguchi H, Suemura M, Ishizaka A et al.: IgE class-specific suppressor T cells and factors in humans. *J Immunol* 1983;131: 2751-2756.
- 18) Tang RB, Tsai LC, Hwang HM, Hwang B, Wu KG and Hung MW: The prevalence of allergic disease and IgE antibodies to house dust mite in schoolchildren in Taiwan. *Clin. Exp. Allergy* 1990; 20:33-38.
- 19) Orren A and Dowdle E B: The effect of sex and age on serum IgE concentration in three ethnic groups. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1975; 48: 824-835.
- 20) Omenaas, E, Bakke, P, Elsayed, S, Hanoa, R and

Specific IgE response to various antigens by different sensitizing routes in individual subjects

Gulsvik, A: Total and specific serum IgE levels in adults: relationship to sex, age and environmental factors. Clin Exp Allergy 1994; 24 :530-539.

抗原感作ルートの相違による特異IgE抗体産生に関する研究

佐藤久美子¹⁾、宮崎有紀子²⁾、久保田一雄³⁾、狩野繁之⁴⁾、中澤次夫¹⁾

1) 群馬大学医学部保健学科

2) 高崎健康福祉大学看護学部

3) 群馬温泉医学研究所

4) 国立国際医療センター研究所

抄 録

(目的) ヒトがアレルゲン(抗原)に感作されるルートは気道粘膜、皮膚、消化管など様々であるが、感作ルートの相違により特異抗体産生に差があるかどうかを実験的に証明することは困難である。しかし、疫学研究を通してそれらの状況にある程度推測できる可能性がある。我々は、今回日本人の一般集団について、自然感作された抗原特異IgE抗体価の測定機会を得た。そこで同一集団について感作ルートの異なる抗原特異IgE抗体保有状況を調べ、各抗体保有率に及ぼす年齢及び性別の影響、各種特異抗体保有率の関連について分析した結果から、感作ルートの相違による特異抗体産生の差異を考察した。

(対象および方法) 群馬県内の成人、1,832名(男子:878名、女子:954名)を対象として健診時に採血し、それらの血清について下記に列挙した5種類の抗原に対する特異IgE抗体価を蛍光-ELISAにより測定した。

使用抗原:①コナダニ(気道からの感作) ②スギ花粉(気道からの感作) ③ソバ(消化管からの感作) ④ブタ回虫(消化管からの感作) ⑤犬糸状虫(皮膚からの感作;蚊の刺咬)

(結果およびまとめ) 全被験者のダニ、スギ花粉、ソバ、ブタ回虫、犬糸状虫特異IgE抗体保有率はそれぞれ20.1%、34.5%、9.8%、6.8%、6.4%であった。年齢別特異抗体保有率を検討したところ、ダニ及びスギ特異IgE抗体保有率は若年層で最も高く、加齢とともに減少した。しかしながらソバと犬糸状虫特異IgE抗体保有率は全年齢層にわたってほぼ一定であり年齢との関連は認められなかった。ブタ回虫抗体保有率は加齢に伴ってむしろ増加傾向を示したが、これは嘗て我が国が回虫天国であったことに起因すると思われる。性差と抗体保有率との関係では、スギ花粉抗体を除いていずれも男子の保有率が高い傾向が認められた。以上の結果から、抗原感作ルートは抗原特異IgE抗体産生と加齢との関連に対して影響する可能性のあることが示唆された。各抗原の抗体保有率間では、ブタ回虫抗体と犬糸状虫抗体間で強い相関が見られた($r=0.631$)。ダニ抗体はスギ花粉、ブタ回虫、犬糸状虫抗体との相関係数がそれぞれ0.224、0.223、0.271で弱い相関が認められた。

第38回日本職業・環境アレルギー学会 総会・学術大会開催（予定）

メインテーマ：職業・環境アレルギーの予防と治療に対するあらたな展開

会 期： 平成19年7月13日（金）、14日（土）
会 場： 熊本県医師会 2F 講堂他
〒860-0806 熊本市花畑町1-13
会 長： 上田 厚（熊本大学大学院医学薬学研究部 環境保健医学分野 教授）
連 絡 先： 〒860-8556 熊本市本荘1-1-1
熊本大学大学院医学薬学研究部 環境保健医学分野
TEL：096-373-5106 FAX：096-373-5108
上田 厚（会長）
原田 幸一（事務局長）熊本大学医学部保健学科教授

日本職業・環境アレルギー学会雑誌 第13巻第2号 OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL ALLERGY (Occup Environ Allergy)

編集委員

委員長 土橋 邦生

委 員 宇佐神 篤 日下 幸則 須甲 松伸
高木 健三 土橋 邦生

発 行 所 日本職業・環境アレルギー学会
〒371-8514 前橋市昭和町3-39-15
(群馬大学医学部保健学科内)
027-220-8944 (Tel & Fax)

発 行 日 平成18年5月31日

印 刷 所 日本特急印刷株式会社
〒371-0031 前橋市下小出町2-9-25

OCCUPATIONAL AND ENVIRONMENTAL ALLERGY

Vol. 13 No. 2

May 2006

REVIEWS :

Search for Disease-susceptibility Genes Using Murine Model of Bronchial Asthma

T. Kawabe (1)

From Functional Polymorphisms to Common Physiological
Mechanisms Underlying Asthma and Atopy

N. Hizawa (11)

ORIGINALS :

A case of occupational asthma caused by cotton and wooldust in the sewing factory.

T. Takamoto (24)

Analysis of regulatory T cells in silicosis patientss

Y. Miura, et al. (29)

A case of occupational asthma by strong glue(cyanon®) and its pathological findings

N. Watanabe, et al. (40)

Specific IgE response to various antigens by
different sensitizing routes in individual subjects

K. Sato, et al. (48)