




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 号	氏 名	小野 恵美子
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	門田 淳一	
	副査氏名	樋口 あき	
	副査氏名	坂本 正志	
<p>論文題目 Increase in inflammatory mediator concentrations in exhaled breath condensate after allergen inhalation (抗原誘発喘息反応における呼気凝縮液中炎症性メディエーター濃度)</p> <p>論文掲載誌名 J Allergy Clin Immunol</p> <p>論文要旨 喘息患者においては抗原で感作された活性化好塩基球や肥満細胞から炎症性メディエーターを含んだ顆粒が放出されることで気道収縮が惹起される。本研究では、簡便で非侵襲的な気道評価法である呼気凝縮液(EBC: exhaled breath condensate)を用いて、抗原吸入試験後の即時型気道収縮反応時における気道での炎症性メディエーター遊離をEBCで評価できるか否かを検証した。 アトピー喘息患者31名(即時型喘息反応陽性患者18名, 陰性患者13名)を対象とし、抗原吸入試験前後におけるEBC中CysLTs, PGD2, Histamine濃度を精製・濃縮後にEIA法で、また尿中のLTE4濃度はHPLCで分離・精製・濃縮後に、9α, 11β-PGF2濃度はEmporeC18カラムで抽出後にEIA法を用いて測定した。 即時型喘息反応陽性患者において、即時型喘息反応後にEBC中のCysLTs濃度とPGD2濃度は抗原吸入前に比して有意に増加し(CysLTs; 中央値, 10.4 vs 99.0 pg/mL; p<0.0001, PGD2; 中央値, 2.26 vs 8.72 pg/mL, p<0.0077), 両者には有意な相関が認められた(r=0.88, p=0.001)が、Histamine濃度には変化がなかった。尿中のLTE4と9α, 11β-PGF2濃度も有意に増加したが両者に相関はみられなかった。また、EBC中のメディエーター濃度とその尿中の代謝産物濃度にも関連は認めなかった。EBC中のCysLTs濃度とPGD2濃度の増加は気道収縮の指標である1秒量の減少程度と有意に相関した(r=0.707, p=0.003)が、尿中の代謝産物濃度は相関しなかった。抗原吸入前後におけるtyrosine濃度に変化がなかったことから、短時間において採取されたEBC中の炎症性メディエーター濃度の希釈誤差は無視できるような小さいものであった。 今回の研究結果から、即時型喘息反応においてEBC中のCysLTsとPGD2はともにEBC中で測定可能であり、気道の急性アレルギー炎症を反映する指標として有用であることが示唆された。 本論文は正確にEBC中の炎症性メディエーター濃度の測定を行うことに成功し、急性気道炎症病態をEBC中のメディエーター濃度が反映することを初めて明らかにし、今後の臨床応用に重要な示唆を与える研究と考えられ、審査員の合議により学位論文に値するものと判定した。</p>			

学位論文要旨

論文題目：

Increase in inflammatory mediator concentrations in exhaled breath condensate after allergen inhalation

(抗原誘発喘息反応における呼気凝縮液中炎症性メディエーター濃度)

J Allergy Clin Immunol 2008; 122(4):768-773.

総合内科学第三講座 小野恵美子

1) 緒言 (目的)

喘息患者における抗原誘発気道収縮は感作抗原により活性化された好塩基球や肥満細胞から炎症性メディエーターを含んだ顆粒が放出されることで惹起される。抗原誘発喘息反応の即時相には CysLTs やヒスタミンが関与していることが知られており、気道収縮時における炎症性メディエーター濃度変化は既に様々な臨床サンプルで確認されている。一方、呼気凝縮液 (EBC: exhaled breath condensate) は簡便で非侵襲的な気道炎症の評価法であり、短時間で反復採取可能であるため気道炎症の変化を経時的に評価することが可能である。しかし、EBC の臨床的意義及び有用性は十分に確立されていない。本研究の目的は、抗原吸入試験後の即時型気道収縮反応時における気道での炎症性メディエーター遊離を EBC で評価できるか否かを検証することである。

2) 方法

アトピー型喘息患者を対象とし、抗原吸入試験は日本アレルギー学会標準法に準拠して施行。EBC と尿は抗原吸入試験前と終了後に採取。EBC 中 CysLTs, PGD₂, Histamine 濃度はそれぞれ精製・濃縮後に EIA にて測定。EBC 中 Tyrosine 濃度は GC-MS にて測定。尿中 LTE₄ 濃度は HPLC で分離・精製・濃縮後に EIA にて測定。尿中 9 α , 11 β -PGF₂ 濃度は Empore C18 カラムで抽出後に EIA にて測定。

3) 結果

即時型喘息反応陽性例：即時型喘息反応後に EBC 中 CysLTs 濃度と PGD₂ 濃度は有意に増加し、両者は良好な相関を示した。EBC 中 Tyrosine 濃度および Histamine 濃度は変化しなかった。即時型喘息反応後に尿中 LTE₄ と PGD₂ 代謝産物は有意に増加したが、両者に相関は認めなかった。EBC 中メディエーター濃度とその尿中代謝産物濃度に関連は認めなかった。EBC 中の CysLTs 増加と PGD₂ 増加は気道収縮の程度と相関したが、尿中の LTE₄ や PGD₂ 代謝産物は気道収縮の程度と相関しなかった。

即時型喘息反応陰性例：抗原吸入試験前後で EBC 中 CysLTs や PGD₂ 濃度、尿中 LTE₄ や PGD₂ 代謝産物濃度はいずれも変化を示さなかった。

4) 考察

EBC は呼気中の水蒸気を大量に含み病状に応じて水蒸気による希釈程度は変化するが、既報の測定法ではそれらの問題点を考慮せずに測定が行われ極めて低値で再現性に乏しい値が示されている。EBC 中メディエーター濃度の測定法が確立されていないことは未だに EBC が臨床応用に至っていない理由の 1 つである。これらの問題解決のため EBC 中のメディエーター濃度測定に精製と濃縮、希釈補正は不可欠であると判断した。本研究ではそれらの過程を経て正確に EBC 中のメディエーター濃度の測定

を行うことに成功し、急性気道炎症の病態を EBC 中のメディエーター濃度が反映することを初めて証明した。

抗原吸入後の即時型喘息反応では IgE を介した肥満細胞活性化が既に証明されている。本研究において EBC 中の CysLTs 濃度と PGD2 濃度が相関を示した結果からも、即時型喘息反応における炎症性メディエーターは主に肥満細胞由来であることが推測される。今回ヒスタミン濃度の上昇を感知出来なかったことは予想外の結果であった。気道でのヒスタミン分解の詳細は不明であるが、高濃度ヒスタミン吸入後の EBC においてもヒスタミン濃度は測定不能であったことから代謝が極めて速い可能性が推測される。以上から EBC での CysLT と PGD2 はヒスタミンより気道収縮を反映する鋭敏なマーカーと考えられる。

過去に EBC と尿で CysLT 濃度を比較した報告はない。尿中 LTE4 濃度は全身の LT 産生を反映するが肝・腎代謝や再吸収、日内変動、個体差などの影響をうける。また CysLT 分解は気道でも生じている可能性がある。このため本研究で EBC 中 CysLTs 濃度と尿中 LTE4 濃度が相関しなかったことは妥当な結果と考えられる。

5) 結論

即時型喘息反応において CysLTs、PGD2 はともに EBC で測定可能であり、EBC は尿よりも気道炎症をより正確に評価可能である。EBC 中メディエーター濃度測定は気道のアレルギー性急性炎症を反映する指標として有用である。