

乳幼児初回喘鳴時における反復喘鳴を予測する鼻汁中バイオマーカーの同定 Identification of biomarkers for predicting the recurrent wheezing from patients with viral lower respiratory infection on the first episode of wheeze

菅井和子^{1),2)}、木村博一³⁾、坂本朋美^{4),5),6)}、塚越博之⁷⁾、岡山吉道^{4),5),6)}
Kazuko SUGAI^{1),2)}, Hirokazu KIMURA³⁾, Tomomi SAKAMOTO-SASAKI^{4),5),6)}, Hiroyuki
TSUKAGOSHI⁷⁾, Yoshimichi OKAYAMA^{4),5),6)}

¹⁾ 国立病院機構福山医療センター小児科、²⁾ すがいこどもクリニック、³⁾ 群馬パース大学、⁴⁾ 日本大学医学部 免疫・アレルギー学プロジェクトチーム、⁵⁾ 日本大学医学部 附属板橋病院 アレルギーセンター、⁶⁾ 日本大学医学部 医学教育センター、⁵⁾ すがいこどもクリニック、⁷⁾ 群馬県衛生環境研究所

[要旨]

MIP-1 α が乳幼児初回喘鳴時における反復喘鳴を予測する鼻汁中バイオマーカーとして同定された。

[背景と目的]

乳幼児期の気道ウイルス感染、特に、Respiratory Syncytial Virus(RSV)と Human Rhinovirus (HRV)は、欧米のハイリスク児のコホート研究から、反復性喘鳴や喘息発症、学童期以降の肺機能低下への関与が報告されてきた。¹⁾ しかし、乳幼児期早期の呼吸器感染における起因病原体、ウイルスの種類とその後の喘息発症との関係性は低いことが最近報告され、²⁾ 病原体同定のみで喘息発症予測は困難であることが示唆された。そのため乳幼児初回喘鳴時における反復喘鳴を予測する鼻汁中バイオマーカーの同定を試みた。

[対象及び方法]

(1) 倫理的考慮

生命倫理に関しては、日本大学医学部および国立病院機構横浜医療センターの倫理委員会および臨床研究委員会に研究倫理および臨床研究審査申請書を提出し、当委員会の承認を得ている(RK-151013-6)。

(2) 対象とプロトコール

反復喘鳴発症を予測する指標の同定を目的に、下気道ウイルス感染に伴う初回喘鳴で国立病院機構横浜医療センター小児科に入院した乳幼児を対象に、2年半後の反

復喘鳴有無とその予測因子に関し検討した。喘鳴を初めて呈し下気道感染症にて入院した乳幼児(82例、中央値 5.0 ヶ月 0-50 ヶ月)を対象とした。明らかな細菌感染による下気道感染症の児、ステロイド薬投与を行っている児、早産児は除外した。入院第1日目に、研究説明同意を行い、採血、鼻汁吸引物採取を行い、同時に、鼻汁スメアも作成した。採取鼻汁は-80°Cで保存後、RT-PCR法によりRSV(A,B型)、HRV(A-C型)ヒトメタニューモウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス(1-4型)、インフルエンザウイルス(A-C型)、アデノウイルス、ヒトボカウイルスを検索、また鼻汁中の各種サイトカイン、ケモカインを一度に27種類のサイトカイン等が測定可能なBio-Plex®マルチプレックス分析システムもしくはEnzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(酵素結合免疫吸着法)にて測定した。さらに、鼻汁中の総IgE、抗RSV-IgE抗体、抗RSV-IgG抗体、トリプターゼの測定を行った。初回喘鳴入院2年半経過後、外来にて診察もしくは保護者に電話し、その後の喘鳴症状(医師にて診察上確認されたもの)の確認をした。反復喘鳴の定義は、2回以上の喘鳴とした。

(3) 統計解析

臨床データの2群間の統計学的解析およびin vitroの実験の3群間の統計学的解析はMann-Whitney U testを用いて $p < 0.05$ を有意とした。in vitroの実験の2群間の統計学的解析はunpaired Student t-testを用いて $p < 0.05$ を有意とした。鼻汁中のバイオマーカーに関しては、変数減少法を用いた二項ロジスティック解析を行った。

[結果]

初回喘鳴後、対象児82例中49例に反復喘鳴がみられた。両親の喘息家族歴や患者本人の食物アレルギー、アトピー性皮膚炎有無によるその後の反復喘鳴の差はなかったが、食物アレルギーを有する児で反復喘鳴をきたす割合が高い傾向がみられた($p = 0.184$)。初回喘鳴児の入院時鼻汁スメアの細胞分画では、好中球、好酸球、リンパ球、単球・マクロファージ全ての細胞の割合において、入院後の反復喘鳴有無で有意差は認めなかった。初回喘鳴時の患者の鼻汁中からRT-PCR法を実施した60名における検出ウイルスにおいては、93%の患者より何らかの呼吸器ウイルスが検出され、RSV、HRV、RSVとHRVの混合感染がその半数以上を占めていた。RSV、HRV各ウイルス陽性者、陰性者間でその後の反復喘鳴発症率には差はなかった。初回喘鳴時の鼻汁中の主要なバイオマーカーの反復喘鳴発症有無で比較をしたところ、ウイルス感染それ自体で誘導されるインターフェロン(IFN)、Th1サイトカインに関しては、IFN- α 、IL-2で有意に、初回喘鳴後反復喘鳴を呈した群で高値であったが、強い抗ウイルス活性を持つIFN- α では有意差は認めなかった。気管支喘息において、気道リモデリング、気道炎症への関与が大きいとされ、近年注目されている気道上皮由来のサイトカインであるThymic stromal lymphopoietin (TSLP)、IL-33、IL-25は、いずれも有意差はなかつ

た。また、IL-4、IL-5、IL-13 といったアレルギーに大きく関与する Th2 サイトカイン、マスト細胞からの化学伝達物質であるトリプターゼでも有意差はみられなかった。IL-9 においても反復喘鳴児で有意に高値であったが、MIP-1 α 、MIP-1 β において特に有意差が強く認められた。これら様々なバイオマーカーに関し、変数減少法を用いた二項ロジスティック解析を行ったところ MIP-1 α において、初回喘鳴後の反復喘鳴因子として有意($p = 0.015$)なオッズ比(7.72)が得られた。

[考察]

MIP-1 α は、マクロファージ、樹状細胞、リンパ球など多くの細胞から産生されるケモカインの一種であり、好酸球、単球やリンパ球遊走に関与する。この MIP-1 α が高値であることは、呼吸器ウイルス感染が、気道炎症、気道過敏性亢進、気道リモデリングに影響を及ぼしていることが考えられる。乳幼児がウイルス感染による喘鳴をきたした場合、現在までその後の反復喘鳴、喘息発症における明確な予測因子はなかったが、今回の研究結果で MIP-1 α が予測因子として有用である可能性が示唆された。しかし、本研究は入院患者を対象としており、さらに、明らかな閾値が得られたわけではない。喘息家族歴有無、患者本人のアレルギー歴の有無など十分考慮し、乳幼児においては、反復喘鳴、喘息発症に注意し、喘息発症時には早期介入、思春期までの寛解導入のため注意深く経過観察することが必要と考える。

[結論]

MIP-1 α が乳幼児初回喘鳴時における反復喘鳴を予測する鼻汁中バイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。³⁾

[参考文献]

- ¹⁾ Caliskan M, Bochkov YA, Kreiner-Moller E, Bonnelykke K, Stein MM, Du G, Bisgaard H, Jackson DJ, Gern JE, Lemanske RF, Jr., Nicolae DL, Ober C: Rhinovirus wheezing illness and genetic risk of childhood-onset asthma. *N Engl J Med.* 2013; 368: 1398-1407.
- ²⁾ Fujitsuka A, Tsukagoshi H, Arakawa M, Goto-Sugai K, Ryo A, Okayama Y, Mizuta K, Nishina A, Yoshizumi M, Kaburagi Y, Noda M, Tashiro M, Okabe N, Mori M, Yokota S, Kimura H: A molecular epidemiological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness. *BMC Infect Dis.* 2011; 11: 168.
- ³⁾ Sugai K, Kimura H, Miyaji Y, Tsukagoshi H, Yoshizumi M, Sasaki-Sakamoto T, Matsunaga S, Yamada Y, Kashiwakura J-I, Noda M, Ikeda M, Kozawa K, Ryo A, Yoshihara S, Ogata H, Okayama Y: MIP-1 α level in nasopharyngeal aspirates at the first wheezing episode predicts recurrent wheezing. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 137(3): 774-781.