

主論文の要旨

**Airway basophils are increased and activated in
eosinophilic asthma**

〔 好酸球性喘息症例において気道中の好塩基球は
増加し活性化されている 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
病態内科学講座 呼吸器内科学分野

(指導：長谷川 好規 教授)

鈴木 嘉洋

【緒言】

好塩基球は末梢血白血球中 1%未満の稀な顆粒球で、IgE 刺激により容易にヒスタミン、ロイコトリエン、2型ヘルパーT細胞関連サイトカインを産生・放出することから、アレルギーに関与する細胞と考えられている。これまでに、喘息死患者の剖検肺や実験的気管支喘息発作における検討で、気道局所の好塩基球数増加が報告されているが、その細胞数の少なさゆえ、喘息治療中患者における好塩基球の病態への関与については明らかにはされてこなかった。

一方、好酸球性炎症が喘息の基本病態であることは周知の事実であるが、近年、通常の吸入ステロイド (ICS) 治療下でもなお好酸球性気道炎症が残存する重症喘息患者の存在が明らかとなり、これらの患者群への新たな治療法に注目が集まっている。

そこで我々は、成人喘息患者における好塩基球の重要性について検討するため、病院ベースの観察研究を行った。第1に、フローサイトメトリーを使用して喘息症例の喀痰中で好塩基球が増加しているかどうか調べた。第2に、炎症性部位での好塩基球の役割を調査するために、気道中好塩基球が末梢血中好塩基球と比較して活性化しているかどうか調べた。第3に、喀痰中好塩基球数と好酸球性気道炎症を含む炎症プロファイルや臨床検査所見との関係を分析した。

【方法】

名古屋大学医学部附属病院通院中で、呼吸器内科医により気管支喘息と診断され中等量以上のICSで治療されている44例を対象とした。過去一ヶ月以内の喘息増悪歴、喫煙歴、COPD 合併、膠原病合併のある症例は除外した。各症例に対して血液検査、誘発喀痰検査、肺機能検査、呼気一酸化窒素検査 (FeNO)、Asthma Control Test (ACT) を施行した (Table 1)。本研究は当院倫理審査委員会の承認を得て実施され、患者からは文書による同意を得た。

誘発喀痰は、5%食塩水をネブライザーにて5分間、最大5回まで吸入させて採取した。採取した喀痰に0.05% Dithiothreitol を加え、37°C、30分間インキュベーションし、白血球成分を回収した。血液検体は、4mLの全血をライジングバッファーを用いて赤血球成分を溶解し、白血球成分を分離した。

フローサイトメトリーを用いた解析では、血液中、喀痰中の好塩基球、好酸球、好中球、肥満細胞の比率を検討した。喀痰中好塩基球、肥満細胞は、Figure 1Aに示す通りそれぞれ CD45⁺ FcεRI^{high} CD127a^{low} CD123⁺ c-kit⁻ 細胞、CD45⁺ FcεRI^{high} CD127a^{low} CD123^{low} c-kit⁺ 細胞として同定した。また、好酸球はCD45⁺ CD14⁻ CD66b⁺ CD16^{low} Siglec8⁺ CCR3⁺ 細胞として、好中球はCD45⁺ CD14⁻ CD66b⁺ CD16^{high} Siglec8⁻ CCR3⁻ 細胞として同定した。さらに、同一患者の喀痰中好塩基球と末梢血中好塩基球の表現型(活性化マーカーとされるCD203c、CD63や、ST2 (IL-33R)、FcεRI、CD123(IL-3R)、CD127a(SIRPα)、CD11b、TSLPRの発現)を比較検討した。

処理された細胞はFACS Canto (Becton, Dickinson and Co, Franklin Lakes, NJ, USA)を用いて分析し、得られたデータは、FlowJo software (FlowJo LLC, Ashland,

OR, USA)を用いて解析した。

【結果】

喀痰中の好塩基球数は、正常症例と比して喘息症例で増加していた(Figure 1B)。さらに、好酸球数、肥満細胞数、CD45 陽性細胞数も喘息症例で増加していた。また、喀痰中好酸球が 2%以上だった症例を好酸球性喘息と定義した場合、好酸球性喘息では、喀痰中の CD45 陽性細胞数、好塩基球数、肥満細胞数が、非好酸球性喘息と比して有意に増加しており、一方で好中球数は減少していた。

喀痰中好塩基球のCD203c発現は、血液中好塩基球のCD203c発現と比較し、有意に高かった (Figure 2A)。また、いくつかの好塩基球の表面抗原の発現も血液中と喀痰中で異なっており、CD63や、ST2(IL-33R)の発現は喀痰中で有意に高く、一方、FcεRI、CD123(IL-3R)、CD127a(SIRPα)、CD11bの発現は、喀痰中で有意に低かった。TSLPRの発現に有意な差を認めなかった(Figure 2B)。

喀痰中好塩基球比率は、喀痰中の好酸球、肥満細胞の比率と正の相関を示し、血液中好酸球比率やFeNOとも相関していた。しかしながら、喀痰中好塩基球比率は、血液中好塩基球数、血清IgE値、肺機能とは相関していなかった(Table 2)。

ROC曲線では、喀痰中好塩基球比率は、血液中好酸球数やFeNOと比較して、喀痰中好酸球比率の代替マーカーとしての優位性を示した (Figure 3)。

【考察】

以前の報告で好塩基球は、アトピー喘息患者にアレルゲン吸入を行った後の気管支肺胞洗浄液や、喘息死症例の肺組織中で観察されている。本研究においても同様に、健常者と比較して喘息患者において喀痰中好塩基球数の増加を認めた。加えて、我々の検討では、非増悪時かつICS治療中の喘息患者で、アトピー型喘息、非アトピー型喘息に関係なく、喀痰中好塩基球数が増加していることが示された。これは通常診療で我々が実際に診ている患者群に相当している。

次に、喀痰中好塩基球と血液中好塩基球の表面マーカー発現の差異を調べた。喀痰好塩基球の FcεRI、CD123(IL-3R)、CD172a(SIRPα)、CD11b の発現はそれぞれ、血液中好塩基球の表面マーカー発現と比して減少していた。一方で、ST2(IL-33R)と活性化マーカーである CD203c、CD63 の発現は増加していた。この結果は喀痰中好塩基球が、血液中好塩基球と比して異なる表現型を持ち、かつ活性化していることを示している。

喀痰中好塩基球比率は、喀痰中好酸球比率と、有意な相関 ($r=0.765$, $P<0.001$) を示した。これまでに、喀痰中好酸球比率と、血中好酸球数、FeNO が相関するとの報告がなされている。我々の検討では、好酸性気道炎症の診断のための血中好酸球数、FeNO の AUC は、それぞれ 0.765 と 0.709 であり、喀痰好塩基球比率の AUC は、0.896 であった。すなわち、喀痰中好塩基球比率は、血中好酸球数や FeNO と比して、好酸球性気道炎症を同定するためのより優れたバイオマーカーである可能性がある。

さらに、気道での塩基球数と好酸球数との強い相関は、好塩基球が好酸球性炎症の悪化因子であることを示す動物モデルからの知見と合わせ、気管支喘息における治療ターゲットとしての好塩基球の潜在的な可能性も示している。

【結語】

ICS で治療されている喘息患者の喀痰中好塩基球比率をフローサイトメトリー法にて測定した。好酸球性喘息において、喀痰中好塩基球数は増加しており、表面マーカーの検討からは、気道局所で好塩基球が活性化され、血液中好塩基球とは異なった表現系を持つことが示された。本研究の結果は、喀痰好塩基球が好酸性喘息の新たなバイオマーカーとなりうることを示している。