

論文の内容の要旨

論文題目 アスピリン喘息の病態解明に向けて

氏名 三井 千尋

アスピリン喘息 (Aspirin-exacerbated respiratory disease; AERD) は、中等度～重症喘息、慢性好酸球性副鼻腔炎、Cyclooxygenase (COX) -1 (COX-1) 阻害薬過敏を 3 徴とし、成人喘息における重症化因子と考えられている。TENOR study によると、AERD は非アスピリン喘息 (Aspirin-tolerant asthma; ATA) と比較し、気管支拡張薬吸入後も低肺機能を示す持続的気流制限 (Persistent airflow limitation; PAFL) が認められる。AERD は Cysteinyl leukotrienes (CysLTs) 過剰産生を主病態とし、好酸球およびマスト細胞が CysLTs 主要産生細胞と考えられてきたが、その機序は完全には解明されていない。好塩基球や血小板も CysLTs 産生に寄与するが、AERD 病態への関与を示した報告は少ない。私の属するグループでは血小板の AERD 病態への関与を長年疑ってきた。なぜなら、低用量アスピリンは血小板の COX-1 阻害作用を有し抗血小板薬として長年使用されているが、AERD では低用量のアスピリンで誘発反応が生じる事、低用量のアスピリンでもアスピリン減感作が可能であるためである。さらに、アスピリン誘発後には特異的なアスピリン不応期が数日間存在し、血小板寿命とおおよそ合致する。今回私の属するグループは喘息安定期およびアスピリン誘発時における末梢血血小板および好塩基球の活性化指標を測定し、それらの活性化指標と臨床所見の関連を評価した。本研究は血小板および好塩基球の活性化指標を AERD 患者、ATA 患者、healthy control (HC) で比較した初めての論文であり、AERD 病態解明の一助となり得る。

血小板は止血や凝固のみならず炎症でも中核をなし、喘息を含む様々なアレルギー疾患で重要な役割を果たしている。特に喘息においては、気道収縮、気道過敏性、気道リモデリング、気道炎症の促進に関与している。喘息死患者の気道組織には血小板の集簇を認め、アトピー型喘息のアレルゲンチャレンジ後や運動誘発喘息の発作後に血小板活性化指標の上昇が報告されている。今回私は、末梢血血小板上の 4 種類の表面マーカー (P-selectin, CD63, CD69, GP II b / III a) および血小板付着白血球の割合 (好酸球、好塩基球、好中球、T リンパ球) をフローサイトメトリーにて、血漿中の 2 種類の血小板活性化指標 [soluble P-selectin (sP-selectin), soluble CD40 ligand (sCD40L)] を ELISA kit にて測定し、喘息安定期およびアスピリン誘発時における血小板活性化指標を測定した。さらに、それらの血小板活性化指標と臨床所見の関連を調査した。その結果、喘息安定期の AERD 患者では特異的に血小板活性化が生じており、4 種類全ての血小板上の表面マーカー、血小板付着好酸球の割合、および 2 種類の血漿マーカーが ATA 患者や HC と比較して有意に高値であった。さらに、AERD 同様 CysLTs 過剰産生と気道への好酸球集簇を病態の特徴とする慢性好酸球性肺炎 (chronic eosinophilic pneumonia; CEP) 患者と比較しても、AERD 患者の血小板の方が活性化していた。AERD 患者では、いくつかの血小板活性化指標、特に P-selectin と尿中 Leukotriene (LT) E₄ (uLTE₄) および気管支拡張薬吸入前後の肺

機能が相関関係を示し、血小板が AERD における CysLTs 過剰産生および PAFL に関与している可能性が示唆された。さらに、アスピリン誘発時における血小板活性化指標を検討するため、当院既報の方法に従い Lysine-aspirin (L-ASA) 静脈負荷試験を行い、血漿中の sP-selectin 値および sCD40L 値の変化を測定した。AERD 患者ではアスピリン誘発前、アスピリン誘発より 1 時間、3 時間、6 時間、24 時間後、ATA 患者では最終内服より 1 時間、3 時間、6 時間、24 時間後に採血した。また、誘発前および誘発後 0-3 時間、3-6 時間、6-9 時間、9-24 時間で採尿を行い、uLTE₄ 値を測定した。結果として、アスピリン誘発時は AERD 患者、ATA 患者共に血漿中の sP-selectin および sCD40L 値に変化を認めなかった。一部の AERD 患者でアスピリン誘発後の末梢血血小板上の表面マーカーの推移を測定したが、有意な変化は認めなかった。一方、uLTE₄ 値は AERD 患者ではアスピリン誘発後に著明に上昇したが、ATA 患者では変化を認めなかった。

次に私は、好塩基球の AERD 病態への関与を検討するため、好塩基球活性化指標を比較する研究を行った。好塩基球は多価抗原による immunoglobulin (Ig) E (IgE) の架橋やケモカインの刺激によりヒスタミンや LTC₄ などのメディエーター、interleukin (IL)-4 (IL-4) や IL-13 などのサイトカインを放出し、喘息を含むアレルギー炎症に関与している。しかしながら、好塩基球の AERD 病態での役割は長年不明であった。今回私たちのグループは、AERD 患者における喘息安定期およびアスピリン誘発時の好塩基球活性化指標を検討するため、以前報告した手法を用いて末梢血好塩基球上の CD203c 発現を測定した。喘息安定期の AERD 患者、ATA 患者、および HC の末梢血好塩基球を用いて、無刺激、anti-IgE 刺激後、IL-3 刺激後の CD203c 発現をそれぞれ比較した。その結果、AERD 患者および ATA 患者由来の好塩基球では HC 由来の好塩基球と比較して、anti-IgE 刺激後の CD203c 発現が亢進していた。また、AERD 患者由来の好塩基球と ATA 患者由来の好塩基球では、anti-IgE 刺激後の CD203c 発現に有意差を認めなかった。この結果より、喘息安定期の AERD 患者では ATA 患者と比較して、好塩基球が重要な役割を果たしているとは言えないと考えられた。さらに、アスピリン誘発時の末梢血好塩基球数および末梢血好塩基球上の CD203c 発現の推移を検討した。当院既報の方法に従い L-ASA 静脈負荷試験を施行し、アスピリン誘発前、AERD 患者ではアスピリン誘発より 1 時間、3 時間、6 時間、24 時間後、ATA 患者では最終内服より 1 時間、3 時間、6 時間、24 時間後に採血した。その結果、AERD 患者では、アスピリン誘発後 1 時間、3 時間、6 時間、24 時間で末梢血好塩基球数が有意に減少したが、ATA 患者では変化を認めなかった。このことは、AERD 患者ではアスピリン誘発後に末梢血好塩基球が気道へ集簇する事を示唆すると考えられる。

結論として、喘息安定期の AERD 患者では ATA 患者と比較して有意に血小板の活性化が生じており、特に P-selectin が CysLTs 過剰産生や PAFL に関与している可能性が示された。一方、好塩基球の活性化指標である CD203c 発現は喘息安定期において AERD 患者と ATA 患者で差を認めず、好塩基球は AERD 病態に大きく関与していないと推測された。アスピリン誘発時の血小板活性化指標は、AERD 患者および ATA 患者共に変化せず、アスピリン誘発後の血小板活性化は示されなかった。一方、AERD 患者ではアスピリン誘発後に末梢血好塩基球数が有

意に低下し、アスピリン誘発後に末梢血好塩基球が気道へ集簇すると推測された。本研究結果は AERD の病態理解に貢献し、新規治療開発の一助になると考える。