原著

学童一般集団におけるアレルギー関連因子とDfおよびPPD特異リンパ球反応、サイトカイン産生能との関係

竹田 一則*・柴崎 正修**

アレルギー反応におけるT細胞の基本役割を明らかにするために、学童一般集団50名において、血清IgE値、ダニ特異IgE値（Df RAST値）、末梢血好酸球数をアレルギーの指標とし、これらの指標とダニ抗原（Df）およびPPD刺激によるリンパ球反応性、サイトカイン産生能との関係を検討した。対象者50名中16名がクラス3以上のDf RAST高値を示したが、このうち13例は無症状であった。Df刺激IL-5値は、IgE値（r=0.52）、Df RAST値（r=0.68）、好酸球数（r=0.42）との間で有意な相関を示した。しかし、Df刺激リンパ球反応とIFN-γは、IgE値、Df RAST値、好酸球数のいずれとも有意な関係を示さなかった。一方、PPD刺激リンパ球反応、IL-5、IFN-γは、IgE値、ダニ特異IgE値、好酸球数のいずれとも有意な関係を示さなかった。さらには血清IgE値、Df RAST値、好酸球数と対象者の12歳時のツベルクリン反応との間に有意な関係は認められなかった。以上より、対象となった思春期前期の一般集団においては、喘息症状の有無に関わらずDf刺激によるTh2細胞から産生されるサイトカインが、アレルギー反応に深く関与している可能性が示唆された。

キー・ワード：気管支喘息 ダニアレルギー IL-5 IFN-γ リンパ球反応

I. はじめに

気管支喘息は幼児期から思春期早期における慢性呼吸器疾患で最も頻度の高い疾患であり、その発症要因にダニアレルギーが深く関与していることが知られている（Voohorst, 1970; Shibasaki, Tajima, Morikawa, Mitsuhashi, Sumazaki & Tokuyama, 1988; Ingram, Sporik, Rose, Honsinger, Chapman & Platts-Mills, 1995; Peat, Tovey, Toelle, Haby, Gray, Mahmic & Woolcock, 1996; Ulrik, Backer, Hesse & Dirksen, 1996）。しかし、ダニアレルギーがあまりながら、喘息症状の見られない者も少なくなく、存在することが知られており、喘息の発症におけるアレルギーの役割は十分に解明されていない。

一方、T細胞が気管支喘息患者の気道炎症の形成に重要な役割を果たしている（Busse, Coffman, Gelfand, Kay, & Rosenwasser, 1995）。特にヘルパーT細胞はその産生サイトカインにより、IL-2やIFN-γを産生するTh1細胞とIL-4、5、10などを産生するTh2のサブセットにわたることができ、抗原特異的Th2細胞の活性化がアレルギー発症の病態に深く関与していることが明らかにされつつある（Romagnani, 1991）。

本研究では、アレルギー反応におけるT細胞の基本役割を明らかにするために、学童一般集団50名でアレルギー関連因子とT細胞サイトカイン産生能との関係を検討した。

* 筑波大学大学院人間総合科学研究科（障害科学系）
** 筑波技術大学保健科学部小児科
II. 対象
本研究への参加に関する本人ならびに保護者のインフォームドコンセントの得られた、茨城県内の中学生722名（男392名、女330名、平均年齢12.2歳）に対し、アンケートならびに問診、診察を行い気管支喘息、アトピー性皮膚炎、その他のアレルギー疾患の有無について診断を行った。喘息の診断はATS-DLD（American Thoracic Society-National Heart and Lung Institute, Division of Lung Diseases）日本語改定版（Ferris, 1978; 日本公衆衛生協会, 1979; 日本小児アレルギー学会, 2005）に準じ、以下の4項目すなわち(1) これまでに、胸がゼーゼーとかヒューヒューして、急に息が苦しくなる発作をおこしたことがありますか？(2) これまでに、医師に喘息と言われたことがありますか？(3) その時、ゼーゼーとかヒューヒューして息が苦しかったですか？(4) その様なエピソードは過去2年間に2回以上ありましたか？のすべてに「はい」と答えた者を「喘息者」、4項目すべてに「いいえ」と答えたものを「非喘息群」とした。
これらアレルギー疾患の有無について診断した722名中から、50名（男34名、女16名、平均年齢12.6歳）を無作為に抽出し本研究の対象とした。

III. 方法
50名を対象にアレルギー関連因子とT細胞サイトカイン産生能を測定した。
ダニ特異IgE抗体はファルマシアCAP RAST、末梢血好酸球は直接法で測定した。特異リンパ球反応は末梢血単球核球1×10⁴個を、10μg/mlのダニ抗原（以下Df）および0.5μg/mlのTuberculin Purified Protein Derivative（以下PPD）で6日間刺激し、その後16時間の3H-thymidine（トリチウムサイミジン）の取り込み能で測定し、Stimulation Index（以下SI）2.0以上を陽性とした。IL-5およびIFN-γは、上記6日間のリンパ球培養上清中で、BIOSOURCE社製ELISAキットにより測定した。
ツベルクリン反応（PPD皮内接種に伴う遲延型過敏症delayed-type hypersensitivity；以下DTH）は中学校入学後、過去1年以内に施行した結果を用いた。
統計解析にはStatView5日本語版（SAS Institute Inc.）を用いた。サイトカイン産生能の比較はunpaired t検定を、またアレルギー因子とサイトカイン産生能の関係はPearsonの相関係数を求めて分析を行い、いずれも、危険率0.01未満をもって有意とした。

Fig.1 学童一般集団における血清IgE値、Df RAST値、末梢血好酸球数の分布
IV. 結 果
1. 学童一般集団における血清IgE値、ダニ特異IgE値、末梢血好酸球数の分布

50名のうち、気管支喘息が3名、アレルギー性鼻炎が2名に認められたが、アトピー性皮膚炎と診断されたものは無く、また45名が無症状者だった。アレルギーのパラメーターとして測定した、学童一般集団の血清IgE値、ダニ特異IgE値（以下Df RAST値）、末梢血好酸球をFig.1に示す。対象者の血清IgE値は平均72.6 IU/mLであった。Df RAST値は平均45.5 UA/mLで16名がクラス3以上のRAST高値を示したが、このうち13例は無症状であった。末梢血好酸球数は平均167/μLであった。

対象者の中に含まれたアレルギー発症者5名の血清IgE値は平均270.5（38-708）IU/mL、Df RAST値は平均18.5（2.2-56.6）UA/mLで、喘息者3名はクラス3以上のRAST高値であった。末梢血好酸球数は平均262/μL、最小値80/μLで喘息者中の1名は610/μLの高値を示した。

2. DfおよびPPD刺激後のリンパ球反応とサイトカイン産生能

50名のDfおよびPPD刺激後のリンパ球反応とサイトカイン産生能をFig.2に示す。Df特異リンパ球反応は平均3.8±2.7SIで、リンパ球反応陽性者は50名中36名、陽性率は72%だった。またアレルギー疾患を有する5名のDf特異リンパ球反応の平均は3.2SIで5名中2名のみが陽性であった。PPD刺激リンパ球反応の平均値は9.6±7.3SIで、リンパ球反応陽性者は50名中49名、陽性率は98%だった。PPDはDfに比べ有意に高いリンパ球反応を示した。

IL-5値はDfで平均59.5±77.5pg/mL、PPDでは平均13.7±11.3pg/mLで、Df刺激ではPPDに比較して有意に高いIL-5産生能を示した。またアレルギー疾患を有する5名のDf刺激IL-5値の平均は101.4pg/mLで5名中3名が平均値を上回っていた。一方IFN-γ値はDfで47.7±70.4 pg/mL、PPDでは352.0±173.4pg/mLで、DfはPPDに比べて有意に低いIFN-γ産生能を示した。

3. 血清IgE値、Df RAST値、末梢血好酸球数及びDf刺激リンパ球反応、サイトカイン産生能との関係

血清IgE値、Df RAST値、末梢血好酸球数及びDf刺激リンパ球反応、サイトカイン産生能との関係をTable1、Fig.3（a）～（c）に示す。血清IgE値とDf刺激IL-5値はr=0.518、Df RAST値とDf刺激IL-5値はr=0.679および好酸球数とDf刺激IL-5値はr=0.424でいずれの間にも有意な関係が認められたが、血清IgE値、Df RAST値、末梢血好酸球数とDf特異リンパ球反応およびDf刺激IFN-γ値との間には有意な関係は認められなかった。

![Fig.2 学童一般集団におけるDfおよびPPD刺激後のリンパ球反応とサイトカイン産生能の分布](image-url)
Table 1 血清IgE値、Df RAST値、末梢血好酸球数とDf刺激リンパ球反応、サイトカイン産生能との関係

<table>
<thead>
<tr>
<th>アレルギー因子</th>
<th>相関係数</th>
<th></th>
<th></th>
<th></th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>リンパ球反応（S.I）</td>
<td>IL-5産生</td>
<td>IFN-γ産生</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>血清IgE値</td>
<td>0.200</td>
<td>0.518**</td>
<td>0.124</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Df RAST値</td>
<td>0.165</td>
<td>0.679**</td>
<td>0.247</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>好酸球数</td>
<td>0.022</td>
<td>0.424**</td>
<td>0.016</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

** : p<0.01

Fig.3 血清IgE値、Df RAST値、末梢血好酸球数とDf刺激サイトカイン産生能（IL-5）との関係

4. 血清IgE値、Df RAST値、末梢血好酸球数とPPD刺激リンパ球反応、サイトカイン産生能との関係
次に血清IgE値、Df RAST値、好酸球数とPPD特異リンパ球反応、IL-5、IFN-γ産生能との関係をTable 2に示す。いずれの関も、0.1以上の危険率で有意な相関は認められなかった。

5. 血清IgE値、Df RAST値、好酸球数と12歳時のツベルクリン反応との関係
血清IgE値、Df RAST値、好酸球数と12歳時のツベルクリン反応との関係をFig.4に示す。血清IgE値と、Df RAST値、末梢血好酸球数のいずれも0.1以上の危険率でツベルクリン反応と有意な関係は認められなかった。

−36−
学童一般集団におけるアレルギー関連因子とDfおよびPPD特異リンパ球反応、サイトカイン産生能との関係

Table 2 血清IgE値, Df RAST値, 末梢血好酸球数とPPD刺激リンパ球反応、サイトカイン産生能との関係

<table>
<thead>
<tr>
<th>アレルギー因子</th>
<th>相関係数</th>
<th>IL-5産生</th>
<th>IFN-γ産生</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>血清IgE値</td>
<td>-0.053</td>
<td>0.146</td>
<td>0.035</td>
</tr>
<tr>
<td>Df RAST値</td>
<td>-0.148</td>
<td>0.140</td>
<td>-0.014</td>
</tr>
<tr>
<td>好酸球数</td>
<td>-0.230</td>
<td>0.047</td>
<td>-0.192</td>
</tr>
</tbody>
</table>

P>0.1

V. 考 察

原刺激に対するインバ球反応の厳密な意味は未だ不明な点があるが、この反応はDf抗原に対する遲延型過敏症（delayed-type hypersensitivity; DTH）（Castle, Norman, Perls, Chang, Yoshikawa & Makinodan, 1990）、あるいはDf抗原特異的抗体免疫反応に関連したヘルパーT細胞を反映していると考えられる。Bjorksten, Holt, Baron-Hay, Munir, and Holt (1996) は乳児ではアレルギー症状の無い場合でも、環境中にきわめて微量の抗原が存在すればT細胞のインバ球反応が認められることが報告しているが、我々の対象とした日本の学童一般集団における結果でも、環境中に極めて多くのダニ抗原が存在するため、臨床症状とはかわり無く、普遍的にT細胞が反応されていることが示唆された。


IL-5はTh2細胞によって産生される典型的なサイトカインであり、アレルギー性喘息の発症に深く関与していると考えられている（Bottcher, Bjurstrom, Mai, Nilsson & Jenmalm, 2003）。本研究の結果ではDf刺激IL-5値は、PPD刺激IL-5値に比較して有意に低値であり、一方Df刺激IFN-γ値はPPD刺激IFN-γ値に比べ有意に低値であった。すなわち、一般集団においてもDf抗原はTh2様ヘルパーT細胞を、一方PPDはTh1様ヘルパーT細胞をそれぞれ特異的に活性化していることが推測された。

さらに、今回の結果では、喘息や鼻炎などのアレルギー症状が無くても血清IgE値、Df RAST値、末梢血好酸球数などが高値の者もあり、Df刺激IL-5値はこれらの臨床症状が無い者も含めた学童一般集団において、血清IgE値、Df RAST

VI. 結論

学童一般集団において血清IgE値、Df特異IgE値および好酸球数はDf刺激IL-5値とよく相関したが、Df特異インバ球反応、Df刺激IFN-γ値とは相関しなかった。また血清IgE値、Df特異IgE値および好酸球数とPPD特異インバ球反応、PPD刺激IL-5、PPD刺激IFN-γ産生能に関しても有意な関係は認められなかった。以上より、Df刺激によるTh2細胞から産生されるサイトカインがアレルギー反応に強く関与していることが示唆された。

文献


Busse WW, Coffman RL, Gelfand EW, Kay AB, Rosenwasser LJ. Mechanisms of persistent airway inflam-

NII-Electronic Library Service


日本公衆衛生協会 (1979) 大気汚染による健康影響に関する研究報告会・冷凍・空気污染調査方法に関する研究-, 日本公衆衛生協会, 6-69.


— 2006.9.15 受稿、2007.1.25 受理 ——
Relationships among Allergy-related Factors, Df-and PPD-specific Lymphocyte Responses, and Cytokine Productivity in a General Population of Schoolchildren

Kazunori TAKEDA and Masanao SHIBASAKI

In order to determine the basic role of T cells in allergic reactions, the relationships among indicators of allergy, including serum IgE level, mite-specific IgE level (RAST score for Df), eosinophil count in peripheral blood, and mite antigen (Df)- and PPD-stimulated lymphocyte responses and cytokine productivity were investigated in a general population of 50 schoolchildren. Although 16 of 50 subjects exhibited high RAST scores of 3 for Df, 13 of these children were asymptomatic. Significant correlations were observed between Df-stimulated IL-5 level and IgE level ($r=0.52$), RAST score for Df ($r=0.68$), and eosinophil count ($r=0.42$). However, Df-stimulated lymphocyte response and IFN-$\gamma$ did not show significant relationships with IgE level, RAST score for Df, or eosinophil count. In addition, PPD-stimulated lymphocyte response, IL-5, and IFN-$\gamma$ did not show significant relationships with IgE level, mite-specific IgE level, or eosinophil count. Furthermore, no significant relationships were observed between tuberculin reaction of subjects at age 12 and serum IgE level, RAST score for Df, and eosinophil count. These findings suggest that cytokines produced by Df-stimulated Th2 cells are actively involved in allergic reactions in the subject population of early adolescents, regardless of the presence or absence of asthma symptoms.

Key Words: bronchial asthma, mite allergy, IL-5, IFN-$\gamma$, lymphocyte response