

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月7日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590841

研究課題名（和文） 気管支喘息における真菌の関与と抗真菌薬の可能性

研究課題名（英文） Therapeutic modality against *Aspergillus fumigatus*-induced exacerbation of allergic asthma

研究代表者

福島 千鶴 (FUKUSHIMA CHIZU)

長崎大学・大学病院・准教授

研究者番号：50380978

研究成果の概要（和文）：ダニで感作を行った気管支喘息モデルマウスに経鼻でアスペルギルス投与すると、Th2 サイトカインおよび MUC5ac の産生が増加することにより、好酸球の浸潤や杯細胞の過形成等のアレルギー性炎症が増悪した。アスペルギルスで感作したマウスよりもダニで感作したマウスの方がアスペルギルスを経鼻投与した際の、アレルギー性炎症の増悪は顕著であった。ダニ感作喘息マウスから採取した肺胞マクロファージの貪食能は低下しており、アスペルギルスの気道への定着を容易にしている可能性が示唆された。増悪したアレルギー性炎症に対し、抗真菌薬単独投与では有効性に乏しく、ステロイドとの併用にて効果がみられた。抗真菌薬の種類によって効果は異なった。ステロイド、各種抗真菌薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、マクロライド系抗菌薬のうち、ステロイドとマクロライド系抗菌薬の併用が特に有効であった。

研究成果の概要（英文）： *Dermatophagoides farinae* (*Df*) allergen sensitization in the mice concomitant with *Aspergillus fumigatus* (*Af*) administration enhanced Th2 cytokine and MUC5ac production in the airway and caused the exacerbation of allergic asthma. That allergic inflammation was more severe than that of *Af* sensitized mice concomitant with *Af* administration. *Df* allergen-induced allergic airway inflammation decreased phagocytic activities of alveolar macrophages, which permitted *Af* to colonize in the allergic airways. Combinations with corticosteroid and other drugs such as antifungal drugs decreased allergic inflammation. The combination with corticosteroid and macrolides was the most effective in decreasing allergic inflammations in our experiments.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：気管支喘息・真菌・アレルギー

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息に対する真菌の関与が注目されている。喘息とウイルスに関する報告は数多くなされてきたが、2000年代に入り、真菌との関連、特に治療に関する報告が増加してきた。真菌に感作されている重症喘息患者やアレルギー性気管支肺アスペルギルス症（ABPA）に対する抗真菌薬の有効性の検討など、臨床の報告が多く、これらの報告を元に、海外ではABPAの治療として抗真菌薬の併用がガイドラインにも掲載されている。しかし、裏付けとなる基礎的実験の報告は限られていた。

我々は、マウスにアスペルギルス生菌の経鼻投与することで、肺には好酸球の浸潤がみられることや、ダニ感作喘息モデルマウスにアスペルギルスの生菌を経鼻投与すると肺におけるアレルギー性炎症が増悪するという現象を確認していた。

2. 研究の目的

気管支喘息に真菌がどのように関わっているのか、喘息モデルマウスに、主要な真菌であるアスペルギルスを投与し病態を解明する。アスペルギルスは、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症という特殊な病態を引き起こすが、喘息患者におけるアスペルギルスの気道への定着の機序については詳細を検討した報告は少ない。先行するアレルギー性気道炎症が、局所において、粘調な分泌物を産生することに加え、Th2サイトカイン優位の反応を増強させることで肺胞マクロファージや好中球といった真菌の気道からの除去に活躍する細胞の機能

に影響を与え、クリアランスを低下させ、さらに、*A. fumigatus*自身が粘調な分泌物を産生し、Th2サイトカイン優位の環境を増悪させることで相乗効果を生み出し、ますます定着に有利な環境となるという負の連鎖が生じているのではないかという仮説のもと、喘息モデルマウスを用いて検討した。また、治療薬に関して、抗真菌薬やロイコトリエン受容体拮抗薬、マクロライド単独あるいはステロイドとの併用における効果を検討した。

3. 研究の方法

(1) アルミニウムをアジュバントとしてダニアレルゲン感作+チャレンジしたマウス(Df)に、*Af*生菌を経鼻投与し(Df-Af)、肺組織の病理学的検討、BAL、BAL中サイトカイン測定を行った。

(2) ダニアレルゲンの代わりにアスペルギルス抗原によって感作+チャレンジを行ったアスペルギルス感作マウスに*Af*生菌を経鼻投与し(Af-Af)、(1)のダニ感作マウスの場合と比較した。

(3) コントロールマウス、ダニ感作喘息モデルマウス(Df)、ステロイド投与マウス(Dex)、ダニ感作マウスにステロイドを投与したマウス(Df-Dex)からそれぞれ肺胞マクロファージを採取し、アスペルギルス conidia と共培養を行い食食能を比較した。

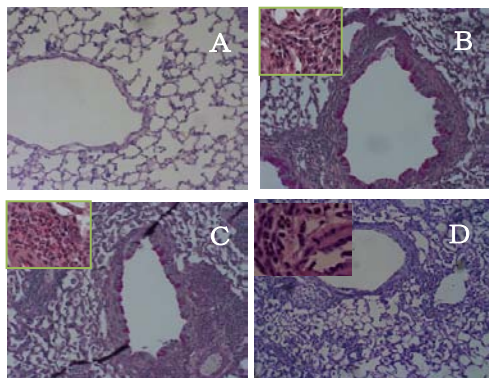
(4) ダニアレルゲン感作しアスペルギルスを経鼻投与したマウスに対し、抗真菌薬（イトラコナゾール、アムビソーム）、ロイコトリエン受容体拮抗薬、マクロライド系抗菌薬を投与し、ステロイド（デキサメタゾン）の効

果と比較した。また、上記薬剤とステロイドの併用効果についても検討した。

4. 研究成果

(1) (2) 喘息モデルマウスに対するアスペルギルス経鼻投与の影響

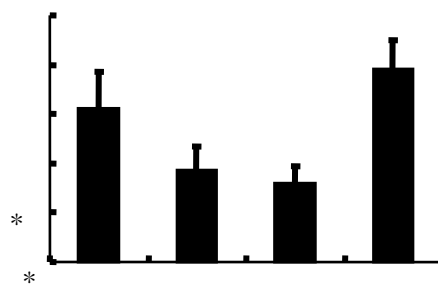
ダニ感作喘息モデルマウスにアスペルギルスの conidia を経鼻投与することで、好酸球、好中球の浸潤、杯細胞の過形成を認め、アレルギー性炎症の増強を確認した。アスペルギルスで感作したマウスにアスペルギルスを投与したもの (Af-Af) よりもダニで感作したマウスにアスペルギルスを投与したほう (Df-Af) が、炎症の増強が著明であった。(A: control、B: Df、C: Df-Af、D: Af-Af)



Homogenize した肺組織中の IL-5、IL13、MUC5ac は、Df-Af で最も高値であった。

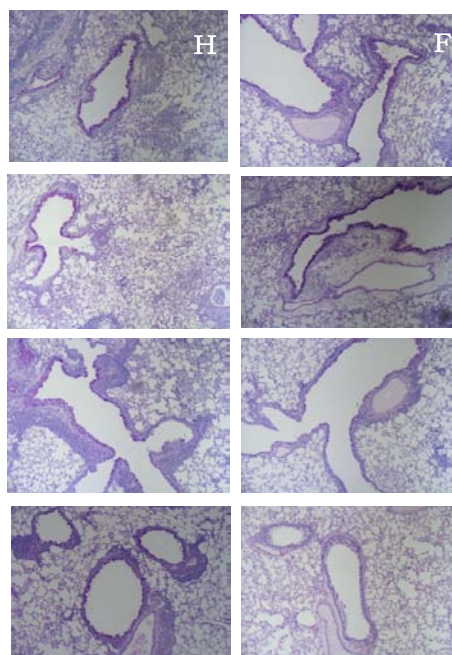
(3) 肺胞マクロファージの貪食能

ダニ喘息モデルマウス (Df) およびステロイドを投与したマウス (Dex) から採った肺胞マクロファージはコントロールと比較し、貪食能が低下していた。喘息モデルマウスにステロイドを投与したマウス (Df-Dex) から採取した肺胞マクロファージの貪食能はコントロールと同等に回復していた。喘息における貪食能の低下は、通常は容易に排除されるアスペルギルスが気道へ定着するという事象に関与している可能性があると思われた。

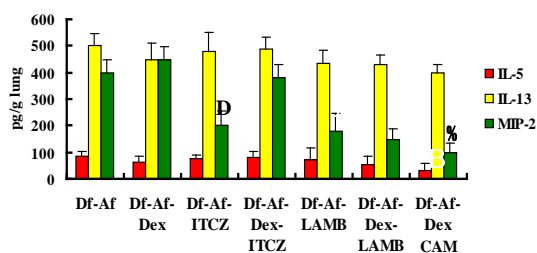


(4) 各種薬剤の効果

ダニ感作喘息モデルマウスにアスペルギルスを投与すると (Df-Af)、アレルギー性炎症が増悪し、ステロイドの効果が不十分となった。これに対し、イトラコナゾール (ITCZ)、アムビソーム (L-AMB)、クラリスロマイシン (CAM) を併用することで効果が増強した。抗真菌薬の種類によって効果の大きさは異なった。抗真菌薬よりもクラリスロマイシンとステロイドを併用したほうがより有効であった。A: Df-Af、B: Df-Af-Dex、C: Df-Af-ITCZ、D: Af-Df-Dex-ITCZ、E: Df-Af-L-AMB、F: Df-Af-Dex-L-AMB、G: Df-Af-CAM、H: Df-Af-Dex-CAM



肺組織中のサイトカインを検討したところ、薬剤投与は IL-5、MIP-2 の産生に影響を与えていた。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 17 件)

1. Matsuse H, Fukushima C, Fukahori S, Tsuchida T, Kawano T, Nishino T, Kohno S. Differential effects of dexamethasone and itraconazole on *Aspergillus fumigatus*-exacerbated allergic airway inflammation in a murine model of mite-sensitized asthma. (Respiration 2013 in press) 査読有り
2. Matsuse H, Hirose H, Fukahori S, Tsuchida T, Tomari S, Kawano T, Fukushima C, Kohno S. Regulation of dendritic cell functions against harmful pathogens by a leukotriene receptor antagonist. (Allergy Rhinol 2012; 3: e30-e34) 査読有り
3. 松瀬厚人, 河野 茂 感染症と気管支喘息 Progress in Medicine 32:2745-2754, 2012. 査読無し
4. 松瀬厚人, 福島千鶴, 河野 茂 10. 気管支喘息と感染症の関連. 抗菌薬の選択と使い方 呼吸器科領域 pp. 117-123 藤田次郎編 医薬ジャーナル社、東京 2012. 査読無し
5. 松瀬厚人, 福島千鶴, 河野 茂 気管支喘息と真菌感染 呼吸 31: 347-352, 2012. 査読無し
6. Tsuchida T, Matsuse H, Fukahori S, Kawano T, Tomari S, Fukushima C, Kohno S. Effect of Respiratory Syncytial Virus Infection on Plasmacytoid Dendritic Cell- Regulation of Allergic Airway Inflammation. (Int Arch Allergy Immunol 2011; 5: 157: 21-30) 査読有り
7. 福島千鶴, 掛屋 弘, 松瀬厚人, 河野 茂 呼吸器の病気のすべて PART 3. 呼吸器の病気を知らる 肺アスペルギルス症 からだの科学 268: 80-86, 2011. 査読無し
8. 松瀬厚人, 福島千鶴, 河野 茂 【今月のテーマ COPD の実地診療】COPD の感染症対策の実際 Medical Practice 28: 506-510, 2011. 査読無し
9. 松瀬厚人, 福島千鶴, 河野 茂 【特集 脂質メディエーター最前線】 I ロイコトリエンと免疫応答 ウイルス感染におけるロイコトリエンの役割 喘息 24:28-32, 2011. 査読無し
10. 松瀬厚人 喘息と感染症 Medical Tribune 44: 69, 2011. 査読無し
11. Fukushima C, Matsuse H, Fukahori S, Tsuchida T, Kawano T, Kohno S. *Aspergillus fumigatus* synergistically enhances mite-induced allergic airway inflammation. (Med Sci Monitor 2010; 16: BR197-202) 査読有り
12. Fukahori S, Matsuse H, Tsuchida T, Kawano T, Tomari S, Fukushima C, Kohno S. *Aspergillus fumigates* Regulates Mite Allergen-pulsed Dendritic Cells in the Development of Asthma. (Clin Exp Allergy 2010; 40: 1507-1515) 査読有り
13. 松瀬厚人, 福島千鶴, 河野 茂 特集 II: 感染アレルギーの臨床と分子機構 真菌

感染とアレルギー 臨床免疫・アレルギー科 54: 666-672, 2010. 査読無し

14. 松瀬厚人、福島千鶴、河野 茂 特集 II: ウイルス感染の Up-To-Date ウイルス感染と気道炎症の増悪① —喘息はなぜ悪化するのか— THE LUNG perspective 18: (4): 26-29, 2010. 査読無し
15. 松瀬厚人、福島千鶴、河野 茂 【特集】喘息発作を抑え込む ⑨感染症誘発喘息 Mebio 27: (9): 79-85, 2010. 査読無し
16. 松瀬厚人、福島千鶴、河野 茂 【連載】抗菌薬の選択と使い方 呼吸器領域 (10) 気管支喘息と感染症の関連 化学療法の領域 26: 680-686, 2010. 査読無し
17. 松瀬厚人、福島千鶴、河野 茂 【連載】抗菌薬の選択と使い方 呼吸器領域 (10) 気管支喘息と感染症の関連 化学療法の領域 26: 680-686, 2010. 査読無し

[学会発表] (計 8 件)

1. Fukushima C, Matsuse H, Kohno S. The effects of mite and *Aspergillus fumigatus* on allergic airway inflammation in a murine model of asthma. The 22nd Congress of Interasma Japan / North Asia (Fukuoka) (2012 年 7 月 6 日)
2. 松瀬厚人、河野 茂 教育セミナー 喘息・COPD 診断と治療の最前線「2. 喘息・COPD と感染」第 69 回日本呼吸器学会九州地方会総会、2012 年 11 月 17 日、北九州市
3. 松瀬厚人、河野 茂 教育セミナー 「感染と喘息」第 62 回日本アレルギー学会総会、2012 年 11 月 30 日、大阪市
4. 松瀬厚人、河野 茂 特別講演 「呼吸器感染症と喘息」第 98 回日本呼吸器学会東海地方会、2010 年 11 月 14 日、津市

5. 松瀬厚人、河野 茂 ワークショップ 2 「アレルギー性気道炎症における感染症と樹状細胞」第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2010 年 11 月 25 日、東京都
6. Matsuse H Clearance of *Aspergillus fumigatus* is impaired in the allergic airway inflammation. American Thoracic Society International Conference 2010, 2010 年 5 月 19 日, New Orleans, Louisiana, USA
7. 土田朋子 「CEA 上昇を伴うアレルギー性気管支肺真菌症の 2 例と喘息モデルマウスを用いた CEA 上昇に関する検討」第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2009 年 6 月 4 日、岐阜市
8. 深堀 範 「アレルギー性気道炎症が *Aspergillus fumigatus* に対する免疫応答に与える影響」第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2009 年 6 月 4 日、岐阜市

[図書] (計 2 件)

1. 松瀬厚人、河野 茂 14 章呼吸器疾患 7 感染症 ④肺真菌症 カラー版内科学 767-770 門脇 孝、永井良三 総編集 西村書店、東京、2012
2. 松瀬厚人 9) アレルギー性気管支肺アスペルギルス症の治療 ～ステロイドと抗真菌薬併用治療の推奨について～ ガイドラインサポートハンドブック IDSA ガイドライン 真菌症治療の UP-TO-DATE ～2008-2010 年のアスペルギルス、カンジダ、クリプトコックス IDSA GL 改訂版を踏まえて～ 236-240 編者 河野茂 医薬ジャーナル社、東京、2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福島千鶴 (FUKUSHIMA CHIZU)

長崎大学・大学病院・准教授

研究者番号：50380978

(2) 研究分担者

松瀬 厚人 (MATSUSE HIROTO)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：60336154

(3) 研究分担者

河野 茂 (KOHNO SHIGERU)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：80136647

(3) 研究分担者

河野 哲也 (KAWANO TETSUYA)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号：50457511

(3) 研究分担者

土田 朋子 (TSUCHIDA TOMOKO)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号：60581949