

月経喘息の臨床的意義とその発症機序に関する研究

— リンパ球機能に及ぼす影響を中心に —

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

後 藤 基 子

(平成6年3月31日受稿)

Key words : Premenstrual asthma, T-cell, Progesterone, β -estradiol

緒 言

従来、女性の喘息患者には月経の直前から月経中にかけて発作が増悪する症例のあることが知られている。この月経喘息の機序については現在のところ一定の説はなく、性ホルモンにより気管支粘膜が浮腫状となり発作が増悪するという説や、月経前緊張症状として psychosomatic な変調による増悪説、子宮筋の弛緩作用のある progesterone が月経前に減少することにより気道に対しても過敏性が増すという説などが報告されている¹⁾²⁾。いずれにせよ、月経周期に伴い dynamic に変化する性ホルモン (progesterone, estrogen) が月経喘息の発症機序に何らかの係わりがあるものと考えられる。また、最近欧米では月経前に大発作を繰り返し従来のステロイド増量のみでは対処の困難な症例に対して、progesterone の筋注療法が行われその有効性が確認されている³⁾。しかし現在のところ、喘息病態に対する性ホルモンの作用機序の詳細はほとんど不明のままである。そこで今回、著者は有経期女性喘息患者における月経の関与を臨床的観点から明らかにする目的で、まずアンケート調査に基づいて症例解析を行った。また近年、リンパ球はさまざまなメディエーターを遊離することにより、喘息病態に重要な役割を果たしていることが知られていることから、月経喘息の発症機序に深く係っていると考えられる性ホルモンと、かかるリンパ球機能の関連を検討した。

対象と方法

1. 1991年3月~5月に当科通院中の有経期女性喘息患者に、アンケート調査を実施し、回答のあった31例 (22歳~49歳平均37.5 \pm 8.0歳) を対象に、年齢、アトピー素因、AIA、重症度、ステロイド服薬の状況などについての臨床的検討をおこなった。

2. リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの影響に関する検討

ヘパリン 1 ml 加末梢血 10 ml から Histopaque 1077 (Sigma) による比重遠沈法にて単核球層を分離採取し、RPMI 1640 (GIBCO) に浮遊させて 1200 rpm, 10 分間の遠沈で血小板を除去した後さらに 2 回洗浄し、10% fetal calf serum (FCS) 加 RPMI 1640 にて 1×10^6 / ml に調整した。かかる浮遊液を 96 well tissue culture cluster (Coster) に 100 μ l ずつ triplicate にて分注し、各 well に PHA (100 μ g/ml) あるいは 5 倍希釈したダニ抗原液 (ダニ凍乾末 鳥居薬品を RPMI 1640 にて 1 mg/ml に溶解) または 25 倍希釈したカンジダ抗原液 (カンジダ凍乾末、鳥居薬品を RPMI 1640 にて 10 mg/ml に溶解) を 50 μ l 添加した。性ホルモンとしては、progesterone (持田) と、estrogen の中で最も作用の強い β -estradiol (和光) を、またグルココルチコイドとして prednisolone (塩野義) を選び、純アルコールにて溶解後、10% FCS で最終濃度が 10, 1.0, 0.1 μ g/ml になるように希釈して、各 well に 50 μ l ずつ添加した。なお対照には FCS を 50 μ l 添加した。以上の処理を施した cluster を、

5% CO₂ incubator にて37°C, 3日間培養した。また溶解に使用したアルコールは、添加時の各濃度では、リンパ球の viability に影響を及ぼさないことが確認された。3日間培養後各 well に ³H-thymidine (³H-TdR) 0.2μCi を添加し、7時間培養後細胞を回収し、液体シンチレーションカウンターにて ³H-TdR の取り込み値 (dpm) を測定した。各濃度の平均 dpm より、以下の式からリンパ球幼若化反応の抑制率を求めた。

抑制率 (%) = (対照の dpm - 各濃度の dpm) ÷ 対照の dpm × 100

結 果

1. 月経喘息の臨床的検討

アンケート調査の結果は図1の如く「月経と喘息の状態は関係がありますか」という質問に対して、31例中14例 (45%) が「関係あり」と回答した。そのうち55%が月経前 (4~5日) に、また20%が月経中に悪くなり、25%は月経前から月経中にかけて悪くなると回答した。従来の報告とほぼ同様、有経期女性喘息患者の半数近くに月経喘息が認められ、全例が月経前から月経中に悪化していた。

これら月経と喘息の状態は関係ないと答えた月経喘息なしの群17例と月経喘息群14例について、年齢、アトピー素因、AIA、重症度、ステロイド服薬の状況などの患者背景について比較検討した。その結果、表1の如く月経喘息なしの群の平均年齢は36.9±8.2歳、月経喘息群は38.2±7.9歳と年齢の差は認められなかった。アトピー素因についても両群とも約半数にアトピーを認め、有意差はなかった。AIAは月経喘息なしの群では12%に認められたのに対し、月経

喘息群では43%と高率で、また逆に AIA の8例中6例が月経喘息ありと答えており、両者の間に何らかの関連性が示唆された。

次に日本アレルギー学会の判定基準による重症度を比較したところ、月経喘息なしの群では軽症や中等症が多く重症は18%であるのに対して、月経喘息群では重症が71%と高率であった。さらに、ステロイドの使用量からみた重症度で検討すると、図2の如くステロイドをプレドニゾン換算で5mg/日以上を1年以上使用しているステロイド依存性の重症患者は、月経喘息なしの群が18%であるのに対して、月経喘息群では58%と有意に高率であった。(P<0.05)

2. リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの効果

1) 男女間でのリンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの効果

性ホルモンの分泌が少なく周期的な変動のない男性健常人と女性健常人とを比較した。男性6例 (平均年齢36.7±9.2歳)、女性6例 (平均年齢38.4±10.1歳) の PHA 刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす progesterone の効果は、図3 (A) の如く 1μg/ml以上の濃度で抑制効果がみられたが、男女間では差がなかった。また (B) の如く、β-estradiol でもほぼ同様の結果で、1μg/ml以上の濃度で抑制効果がみられたが、男女間では有意な差はみられなかった。

2) 女性健常人と女性喘息患者のリンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの効果

次に健常人と喘息患者を比較した。女性健常人3例 (平均年齢40.3±12.2歳) と女性喘息患

(A) 頻度

月経喘息あり 45%	月経喘息なし 55%
---------------	---------------

(B) 症状発現時期

月 経 前 55%	月 経 中 20%	両 方 25%
--------------	--------------	------------

図1 月経喘息の頻度と症状発現時期

表1 患者の臨床的背景についての検討

	月経喘息なし	月経喘息あり
患者数	17	14
年齢	36.9±8.2歳	38.2±7.9歳
発症年齢	25.2±10.9歳	28.1±12.4歳
アトピー型	8 (47%)	8 (57%)
AIA	2 (12%)	6 (43%)
重症度：軽 症	10 (59%)	1 (8%)
中等 症	4 (23%)	3 (21%)
重 症	3 (18%)	10 (71%)

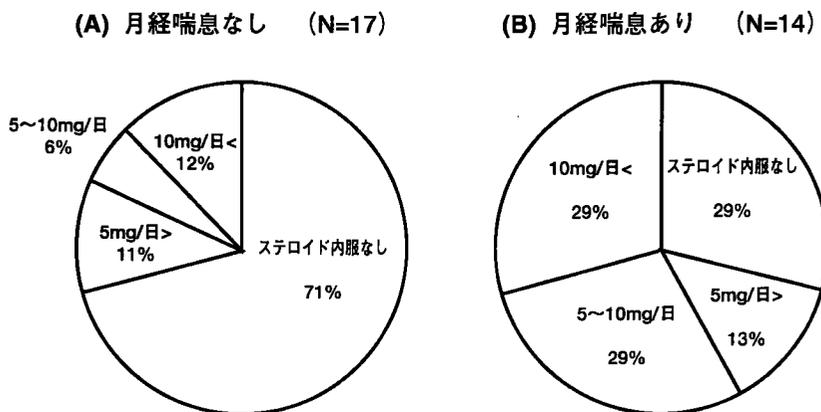


図2 月経喘息とステロイドの使用量からみた重症度との関係

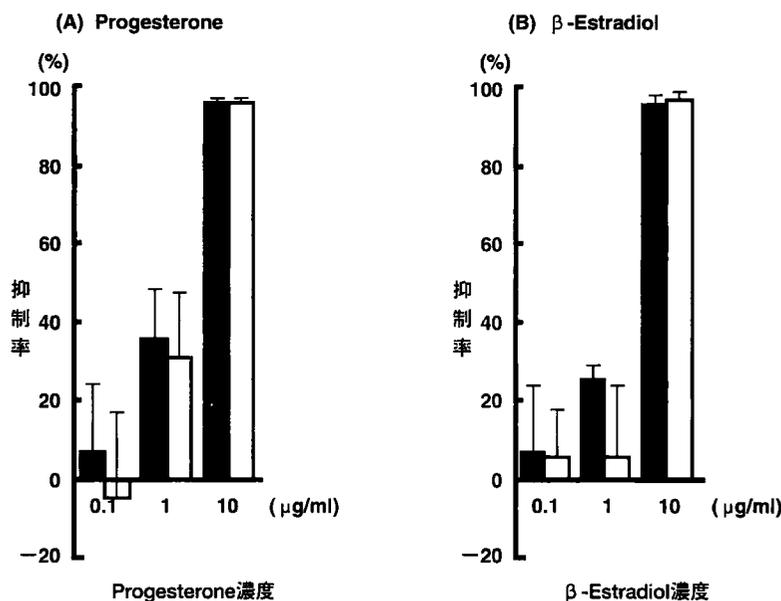


図3 男女における PHA 刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの効果に関する検討
 ■ 男性 (n = 6), □ 女性 (n = 6)

者3例(平均年齢 33.0 ± 14.6 歳)の PHA 刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす progesterone の効果は、図4(A)の如く健常群も喘息群もともに $1 \mu\text{g/ml}$ から濃度依存性に抑制効果が増し、 $10 \mu\text{g/ml}$ で両群ともに95%以上の抑制率を示した。なお、女性健常人と女性喘息患者の間には、抑制率に有意な差はみられなかった。

また、 β -estradiol の効果は図4(B)の如く progesterone の抑制効果とほぼ同様の結果であ

ったが、 $1 \mu\text{g/ml}$ の濃度で比較すると、progesterone の抑制効果の方が強い傾向がみられた。なお、女性健常人との間には、抑制率に有意な差はみられなかった。

3) リンパ球幼若化反応に及ぼす prednisolone と性ホルモンの効果の比較

男性喘息患者3例(平均年齢 44.6 ± 7.1 歳、ステロイドの服用なし)の PHA 刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの抑制効果を pred-

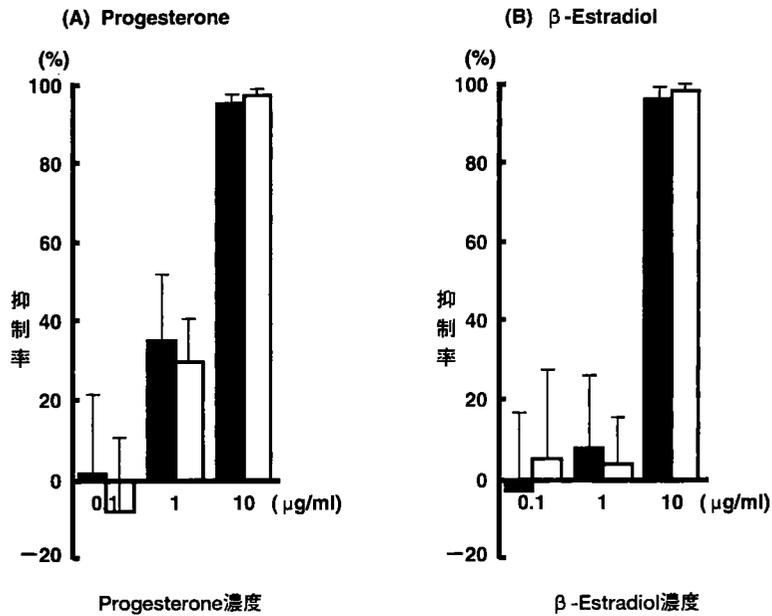


図4 女性健常人と女性喘息患者の PHA 刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの効果に関する検討
 ■ 女性健常人 (n = 3) □ 女性喘息患者 (n = 3)

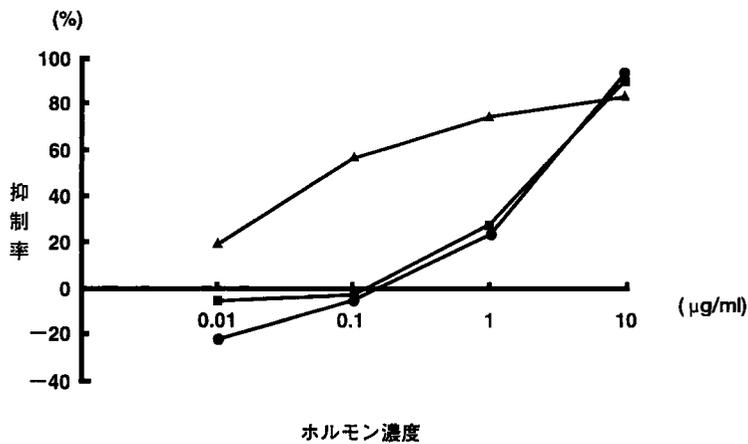


図5 PHA 刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす prednisolone と性ホルモンの効果の比較
 ▲ prednisolone, ■ β -estradiol, ● progesterone

nisolone のそれと比較した。その結果、図5の如く10 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では prednisolone に比し progesterone, β -estradiol の方がやや強い抑制効果を示したが、濃度が低下するに従って、性ホルモンは急激に抑制効果が弱まり、0.1 $\mu\text{g/}$

mlではほとんど抑制効果を示さなかった。一方、prednisolone では徐々に抑制効果が低下し、0.01 $\mu\text{g/ml}$ の濃度でもなお抑制効果を示した。

4) 特異抗原刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの効果

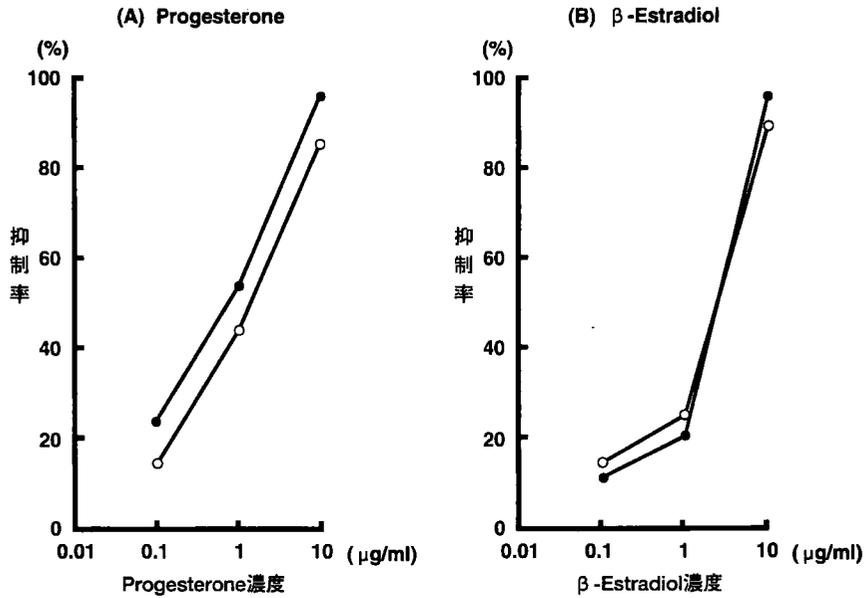


図6 ダニ刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの効果に関する検討
○ 男性, ● 女性

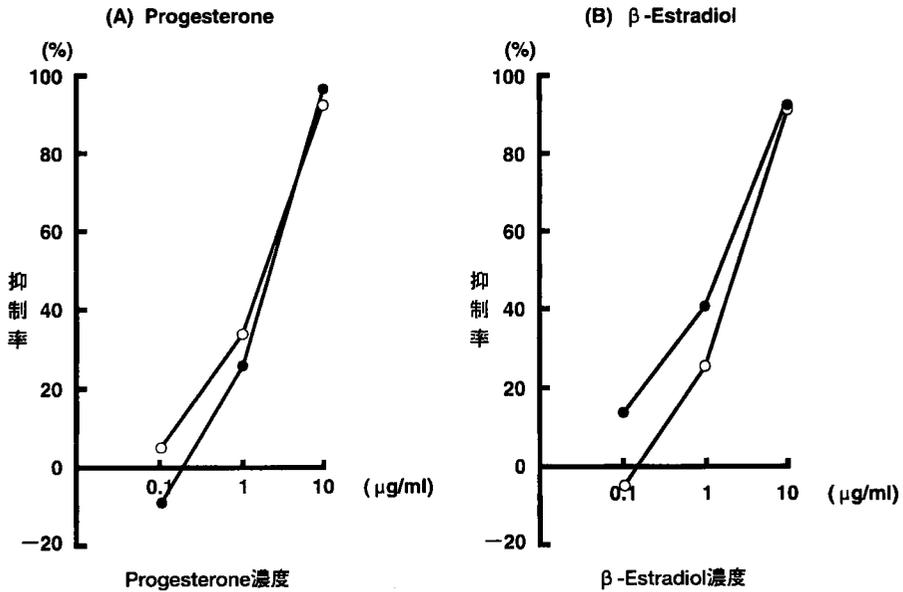


図7 カンジダ刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの効果に関する検討
○ 男性, ● 女性

ダニの皮内反応が陽性で幼若化反応の亢進している2例の喘息患者を選び、ダニ刺激リンパ球幼若化反応に及ぼす性ホルモンの影響を検討

したところ、図6(A)(B)の如く、progesterone, β -estradiolともに1 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で抑制効果を示した。

さらに、カンジダが病態に関与していると考えられる難治性喘息2症例のカンジダ刺激リンパ球幼若化反応は、図7(A)(B)の如く progesterone, β -estradiol とともに $1 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度で抑制効果を示した。

考 察

気管支喘息の発症において、特異的なアレルギーへの暴露、上気道炎をはじめとするウイルス感染などの経気道的な外因が発作の誘因となることは周知のことである。一方、月経、ストレス、疲労などの内因も喘息病態を悪化させるが、特に月経の喘息病態におよぼす影響とその機序についてはなお不明な点が多い。そこで今回、その関連性を臨床的観点から明らかにし、また喘息病態で重要な位置を占めるリンパ球機能への影響という観点より検討を加えた。その結果、月経と喘息病態悪化の密接な関係、特に重症例ほどその関連が強いことが判明した。また progesterone, β -estradiol は PHA, 特異抗原刺激で活性化したリンパ球を *in vitro* で抑制することが判明した。

月経前に喘息が増悪するということは、日常の臨床経験から以前より認識されており、Gibbs⁴⁾, Eliasson⁵⁾, Pauli⁶⁾らは月経喘息患者では、血中の progesterone や β -estradiol の分泌パターンは健常人と有意差がないが、peak flow は発作の有無にかかわらず有意に低下すると客観的に評価している。また、従来の報告⁴⁾⁵⁾⁷⁾では多くは30~40%程度に月経喘息有りとしており、今回の臨床検討で得られた成績もほぼ同様であった。さらに症状発現の時期は、月経5日前頃より増悪する例が多く、月経後に症状が出現する症例はなかった。これは周期的に変動する progesterone や β -estradiol の濃度が急激に減少する時期に一致している。また患者の背景因子のなかでは特に重症度と月経喘息との関連が強く、すなわち、重症な患者ほど、月経により喘息が増悪しやすい傾向にあった。これは、重症な患者ほど気道過敏性が強く、月経という内因性の増悪因子の影響を受けやすいためと考えられた。

月経、あるいは性ホルモンの気道過敏性への

影響については、現時点ではなお不明である。今回著者も、メサコリンを用いて月経周期の各時期における気道過敏性を検討したが、性ホルモンとの間に一定の関係を見出すことはできなかった。これは、既述のごとく月経喘息患者は重症例が多く、月経以外にも感染やストレス等の影響を受けやすいためと思われる。従来から子宮や腸の平滑筋において progesterone はその収縮性を減少させることが知られており、さらに Foster らは *in vitro* でブタの気管支に progesterone や β -estradiol を作用させると、 β -adrenoreceptor を介して β_2 -刺激薬の気管支拡張作用が増大することを報告している⁸⁾。また、progesterone は、妊娠の経過とともに増加するが、Juniper らの妊娠中の気道過敏性についての検討によれば、妊娠が進むにつれてメサコリンを用いた気道反応は低下し、喘息症状は改善するが、出産後はまた妊娠前に戻るとの報告もある⁹⁾¹⁰⁾。かかる研究より月経前に急激に progesterone や β -estradiol が減少することにより、気道過敏性が亢進し発作が起きやすくなることが示唆され、月経喘息の発症機序の一因と考えられるが、一定の見解には至っておらず、今後さらに検討が必要と思われる。

喘息病態において、リンパ球の関与は抗原吸入誘発後の LAR, あるいは重症な喘息状態 (status asthmatics) でみとめられるように、activate された T cell が重要な働きをしており、特に helper T cell から種々のサイトカインが遊離しアレルギー性炎症反応を引き起こし、気道過敏性亢進や気道収縮反応に関与すると考えられている¹¹⁾¹²⁾。また、以前より産科領域では progesterone に、免疫抑制作用のあることが知られているが¹³⁾¹⁴⁾、喘息病態に対してはどのように影響を及ぼすのかは全く未知であることから、今回これら性ホルモンの作用機序を検討する目的で、リンパ球幼若化反応に対する影響を検討した。その結果、喘息患者、健常人の男女とも $1 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度の progesterone, β -estradiol を添加すると、PHA あるいは特異的抗原 (ダニ、カンジダ) で活性化されたリンパ球幼若化反応が抑制されることが判明した。従って月経喘息の発症機序の一因として、月経直

前に急激に progesterone や β -estradiol が減少することによりリンパ球が活性化され、細胞反応型アレルギー¹⁵⁾¹⁶⁾が誘導・増幅された結果、喘息が悪化するものと推定される。ただし今回、*in vitro* で抑制効果のみられたホルモン濃度 $1 \mu\text{g/ml}$ は、月経周期における濃度よりは約100倍、妊娠後期よりは約10倍高濃度であり、*in vivo* に直ちに適応はできず、これ以外の機序も考える必要がある。

また、月経喘息の治療に対して Beynon らは、月経前に挿管を要する大発作を繰り返し、ステロイドの増量では改善しない重症や月経喘息患者に対し、progesterone 100mg/day の筋注を連日行い効果を認めている³⁾。この治療法は、月経前に progesterone が急激に減少するために喘息が増悪するという仮説に基づいている。 β -estradiol もほぼ同様にこの時期に減少し、喘息発作に関与していると考えられるが、 β -estradiol の大量投与は発癌性、血栓形成の問題があり単独では治療には使われていない。今回得られた *in vitro* での progesterone、 β -estradiol のリンパ球抑制効果の成績も、この治療法の薬理効果の根拠のひとつと考えられる。progesterone 100mg/ml の筋注を行った時の血中濃度の経時的变化は、6時間後に peak に達し 50ng/ml となり24時間後には 15ng/ml に減少することにより¹⁷⁾、*in vitro* で得られた活性化リンパ球を抑制する濃度に至っていないことになる。これは、*in vivo* には *in vitro* にない付加的効果がある可能性とともに、progesterone や β -estradiol には prednisolone とは別の喘息病態を改善しうる薬理作用があることも推定される。そしてそれは、月経喘息に限らず prednisolone に反応しない難治症例に効果があることも考えられる。また、臨床的に重症な月経喘息に progesterone の筋注が効果があるということは、従来の喘息発作の機序とは異なった病態が月経喘息にはあり、その特異的な病態に対して効くことも推定される。従って今後は、性ホルモンの血管内皮細胞

や気管支平滑筋に対する作用、アラキドン酸カスケードに対する影響、好酸球や好塩基球に対する影響、サイトカインとの関係等についての多面的な検討を行なって、喘息病態に対する性ホルモンの作用を明らかにする必要がある。

結 論

月経喘息の臨床的意義とその発症機序を明らかにする目的で、アンケート調査、並びに女性ホルモンのリンパ球幼若化反応に及ぼす影響について検討した。

1. 有経期女性喘息患者の45%に月経喘息がみられ、しかもステロイド依存性難治性喘息症例が多いことより、月経と喘息難治化との関連が示唆された。

2. PHA 刺激リンパ球幼若化反応は喘息患者及び健常者の男女共に、 $1 \mu\text{g/ml}$ 以上の progesterone、 β -estradiol の添加によって抑制された。

3. prednisolone と比較して、progesterone、 β -estradiol のリンパ球幼若化反応の抑制作用は、 $10 \mu\text{g/ml}$ の濃度ではやや強い傾向がみられたが、濃度が下がるにつれて急激にその抑制は減弱した。

4. ダニ及びカンジダ抗原刺激によるリンパ球幼若化反応も $1 \mu\text{g/ml}$ 以上の progesterone、 β -estradiol の添加によって抑制された。

以上、月経喘息の発症機序の一因として、月経前に急激に progesterone、 β -estradiol が減少することにより、リンパ球機能が活性化され喘息病態が悪化する可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、御指導御校閲を賜りました恩師木村郁郎教授に深甚の謝意を表しますと共に、直接御指導御助言を頂きました高橋清講師に深謝致します。

尚本論文の要旨は第43回日本アレルギー学会総会(平成5年10月)において発表した。

文 献

- 1) Rees L : An etiological study of premenstrual asthma. J Psychosom Res (1963) 7, 191-197.

- 2) Garfield RE, Kannan MS and Daniel EE : Gap junction formation in the myometrium ; control by estrogens, progesterone, and prostaglandins. *Am J Physiol* (1980) **238**, C81—C89.
- 3) Beynon HLC, Garbett ND and Barnes PJ : Severe premenstrual exacerbations of asthma ; effect of intramuscular progesterone. *Lancet* (1988) **2**, 370—372.
- 4) Gibbs CJ, Coutts II, Lock R, Finnegan OC and White RJ : Premenstrual exacerbation of asthma. *Thorax* (1984) **39**, 833—836.
- 5) Eliasson O, Scherzer, HH and Degraff AC : Morbidity in asthma in relation to the menstrual cycle. *J Allergy Clin Immunol* (1986) **77**, 87—94.
- 6) Pauli BI, Reid RL, Munt PW, Wigle RD and Forkert L : Influence of the menstrual cycle on airway function in asthmatic and normal subjects. *Am Rev Respir Dis* (1989) **140**, 358—362.
- 7) Hanley SP : Asthma variation with menstruation. *Br J Dis Chest* (1981) **75**, 306—308.
- 8) Foster PS, Goldie RG and Paterson JW : Effect of steroids on β -adrenoceptor mediated relaxation of pig bronchus. *Br J Pharmacol* (1983) **78**, 441—445.
- 9) Juniper EF, Daniel EE, Roberts RS, Kline PA, Hargreave FE and Newhouse MT : Effect of pregnancy on airway responsiveness and asthma severity. *Am Rev Respir Dis* (1991) **143**, S78.
- 10) Juniper EF, Kline PA, Roberts RS, Hargreave FE and Daniel EE : Airway responsiveness to methacholine during the natural menstrual cycle and the effect of oral contraceptives. *Am Rev Respir Dis* (1987) **135**, 1039—1042.
- 11) Frew AJ and Kay AB : The relationship between infiltrating CD 4 + lymphocytes, activated eosinophils and the magnitude of the allergen-induced late phase cutaneous reaction. *J Immunol* (1988) **141**, 4158—4164.
- 12) Corrigan CJ, Hartnell A and Kay AB : T lymphocyte activation in acute severe asthma. *Lancet* (1988) **1**, 1129—1132.
- 13) Munroe JS : Progesteroids as immunosuppressive agents. *J Reticuloendothel Soc* (1971) **9**, 361—375.
- 14) Clemens LE, Siiteri PK and Stites DP : Mechanism of immunosuppression of progesterone on maternal lymphocyte activation during pregnancy. *J Immunol* (1979) **122**, 1978—1985.
- 15) 木村郁郎 : 気管支肺病変におけるアレルギーとリンパ球. *アレルギー* (1990) **19**, 12—16.
- 16) 木村郁郎 : 最近のアレルギー学の展開 ; アレルギーの理論とその展開, 木村郁郎編著, 医薬ジャーナル社, 大阪 (1991) pp 11—22.
- 17) Nillius SJ and Johansson EDB : Plasma levels of progesterone after vaginal, rectal or intramuscular administration of progesterone. *Am J Obstet Gynecol* (1971) **110**, 470—477.

**The clinical features and pathogenesis of premenstrual asthma :
Effect of progesterone and β -estradiol on lymphocyte activation**

Motoko GOTO

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

Although premenstrual worsening of asthma is recognized, little is known about the pathophysiology. Monthly variation in endogenous progesterone and β -estradiol may be associated with the etiology of premenstrual asthma (PMA). T lymphocytes play an important role in the pathogenesis of asthma. Therefore, to clarify the pathogenesis of PMA, the clinical features and effects of progesterone and β -estradiol on lymphocyte activation were studied. 1) Thirty one asthmatic females of reproductive age were surveyed. Fourteen asthmatics (45%) claimed their asthma symptoms worsened just prior to or during the menses. Comparing asthmatics with and without PMA, the former group showed significantly more severe steroid dependent asthma.

2) Progesterone and β -estradiol suppressed lymphocyte blastogenesis stimulated by phytohemagglutinin (PHA), mite and Candida antigen. There was no significant difference in the suppression rate between asthmatics and normal subjects, or between male and female.

These findings suggest that T lymphocytes may be activated by causal allergens when progesterone and β -estradiol levels decrease during the premenstrual period. Activated T lymphocytes may contribute to the pathogenesis of PMA.