

## 難治性喘息における ciclosporin の臨床効果と その免疫アレルギー学的研究

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

岡 野 智 治

(平成 6 年 3 月 31 受稿)

**Key words :** Intractable asthma, Ciclosporin, IL-2production,  
IL-4, IgE-antibody

### 緒 言

近年気管支喘息の定義は広汎でかつ可逆性を特徴とする種々の程度の気道閉塞に加えて、リンパ球、肥満細胞、好酸球など多くの炎症細胞による気道炎症が関与し、気道粘膜上皮の損傷に基づいた気道の反応性充進を伴うものとして特徴づけられている<sup>1,2)</sup>。また臨床的にはアトピー型 (IgE 依存型, 外因性) と、非アトピー型 (IgE 非依存型, 内因性) の 2 病型に分類され、アトピー型喘息は小児喘息や若年発症型成人喘息の大部分を占めるのに対し、非アトピー型は主に中高年発症型喘息に多くみられ、その発作は通年性かつ持続的で慢性重症化しやすく、治療に抵抗してステロイド依存性になりやすいという特徴を有している。このような中高年発症の難治性喘息の機序に対し、木村<sup>3)</sup>は IgG 抗体による III 型アレルギー反応とともにリンパ球・マクロファージ系による IV 型アレルギー反応の関与する「細胞反応型アレルギー」を想定している。

一方、かかる細胞反応型アレルギーの細胞間ネットワークを制御するサイトカインについては、炎症細胞の遊走活性が強い IL-3<sup>4)</sup>、IL-5<sup>5,6)</sup>、IL-8、GM-CSF<sup>4)</sup>をはじめ、IgE 産生系を促進する IL-4 と抑制的な IFN- $\gamma$ <sup>7)</sup> 以外に、T-cell の増殖因子である IL-2 などのリンホカインが重要と考えられている<sup>8)</sup>。かかる因子を産生する helper T-cell については、現在マウスにおいて IL-2、IFN- $\gamma$  dominant な Th1 と、IL-4、IL-5、IL-

10 などが dominant な Th2 のサブセットに分かれることが明らかにされている<sup>9)</sup>。さらにヒトにおいても、Tuberculin の遅延型皮内反応局所には Th1 様細胞<sup>10)</sup>が、またアトピー型喘息患者の気管支肺胞洗浄液中には Th2 様細胞が存在<sup>11)</sup>することを in situ hybridization により証明している。

そこで著者は、ステロイド依存性の難治性喘息病態の中心をなす細胞反応型アレルギーにおけるリンパ球に着目し、その制御を介して新たに難治化病態の治療法を確立し、さらにその際の作用機序を解明することを目的として、T-cell 機能抑制剤である ciclosporin (以下 Cs) 療法を試み、その臨床効果とその際のリンパ球機能などの免疫アレルギー学的指標への影響を検討した。

### 対象と方法

#### 1. 対 象

岡山大学第二内科およびその関連病院に通院中のステロイド依存性の難治性喘息 3 症例 (37 歳 男性, 40 歳 男性, 55 歳 女性) を選んだ。なお、ステロイド依存性の難治性喘息は、「現在一般に用いられている喘息治療薬では症状の改善をみず、コルチコステロイド薬を用いなければ日常生活ができない重症通年性の気管支喘息で、しかも一年間以上ステロイド療法 (プレドニソロン換算平均 5 mg/日以上) を必要とした喘息」とした。また、病型分類については、①即時型皮内反応が陽性、②総 IgE 値 300 IU/ml 以

上, ③抗原特異的 IgE 抗体が陽性, の3項目のうち2項目以上が陽性の症例をアトピー型とし, それ以外を非アトピー型とした。

## 2. 方法

### 1) 臨床的検討

対象症例に, 1日2.0~7.5mg/kgのCsを朝, 夕2分服法にて経口投与し, その際の臨床効果は日本アレルギー学会の定めた基準により1週間毎の合計喘息点数で評価した。また同時にFACSによる末梢血リンパ球サブセット(CD3, CD4, CD8)の解析, 並びに血清中免疫グロブリン値(IgE, IgG, IgA, IgM)について経時的に測定した。

### 2) 免疫アレルギー学的検討

3症例中の1例については, リンパ球幼若化反応, IL-2産生能, 末梢血中IL-4の変化を以下の方法で経時的に測定し, リンパ球機能に対する影響を検討した。

#### (1) リンパ球幼若化反応

ヘパリン加静脈血10mlからHistopaque 1077 (Sigma)による比重遠沈法(450g 30分)で単核球層を分離採取し, RPMI1640 (GIBCO)を加え4°C, 250g, 10分の遠沈と洗浄を3回繰り返した。細胞のviabilityはtripan blue dye exclusion testにより検討し, 95%以上であることを確認した。その後56°C, 30分で加熱処理した10% fetal calf serum (以下FCS)加RPMIにて単核球数が $1 \times 10^6$ /mlとなるように細胞浮遊液を調整し, 96 well tissue culture cluster (Costar)に100 $\mu$ lずつ分注した。次でCandida凍乾末(鳥居薬品)をRPMI1640にて10mg/mlに溶解したCandida抗原液の5, 25倍希釈液と, house dust (以下HD)凍乾末(鳥居薬品)を2.8mg/mlに溶解したHD抗原液の2, 5倍希釈液およびPHA (100  $\mu$ g/ml), 並びに対照のRPMI1640をそれぞれ50 $\mu$ lずつtriplicateにて添加し, 37°CのCO<sub>2</sub>incubatorにて培養した。PHA添加細胞浮遊液は3日間, CandidaとHD抗原液添加細胞浮遊液は6日間培養し, その後<sup>3</sup>H-thymidine (<sup>3</sup>H-TdR) 0.2  $\mu$ Ciを添加してさらに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<sup>3</sup>H-TdRの取り込み値(dpm)を測定した。抗原あるいはPHA添

加群の各濃度における平均dpmのうち最高値と非添加群の平均dpmの値の比よりstimulation index (S.I.)を求め, リンパ球幼若化反応として表した。

#### (2) IL-2産生能の測定

##### a) 末梢血単核球培養上清の作成

末梢血より分離した単核球を1% FCS加RPMI1640にて $1 \times 10^6$ /mlに調整し, これを1mlずつ24wellのtissue culture (Costar)に分注した。次いで, 各wellに最終濃度がPHAは10 $\mu$ g/ml, Candida抗原は150 $\mu$ g/ml, HD抗原は50 $\mu$ g/mlになるよう添加し, 対照にはRPMI1640のみ添加後CO<sub>2</sub>incubatorにて37°C 48時間培養し, 4°C 1,700gにて10分間遠沈後その上清を回収した。

##### b) IL-2 assay

recombinantIL-2 (TGP-3 武田薬品)を含む10% FCS加RPMI1640にて継代培養したIL-2 dependent cell lineであるcytotoxic T cell line (以下CTL)を, 2% FCS加RPMI1640で3回洗浄後7% FCS加RPMI1640にて細胞数 $1 \times 10^5$ /mlとなるように調整し, 96well tissue culture cluster (Costar)に0.1mlずつ分注した。そのCTLにa)で得られた培養上清を7% FCS加RPMI1640にて $2^0 \sim 2^5$ に希釈添加後24時間培養し, さらに<sup>3</sup>H-thymidine (Amersham社) 0.2 $\mu$ Ciを各wellに加えた。その後18時間培養し, リンパ球幼若化反応と同様に液体シンチレーションカウンター(ALOKA社)にて<sup>3</sup>H-TdRの取り込み値(dpm)を測定し, S.I.を求めIL-2産生能として表した。

#### (3) 血清IL-4の測定

IL-4の測定は, 以下の如くAMPPDを基質とした化学発光ELISAを用いた。

a) 固相である96wellマイクロプレートに固相用緩衝液で希釈した抗ヒトモノクローナル抗体(Genzyme社製, 濃度5 $\mu$ g/ml)を100 $\mu$ l/well分注し, 4°Cで一晩放置し抗IL-4抗体を固相化した。

b) 高純度BSA(ウシ血清アルブミン)の2%溶液を200 $\mu$ l/well分注し, 室温(約25°C)で2時間, 固相のブロッキングを行った。

c) 洗浄緩衝液 [0.05% Tween 20含有PBS

(-)で3回洗浄した後、抗原を加えて一次反応を行った。抗原として検量線作成のための標準サンプルであるリコンビナント IL-4 (R&D 社製) を希釈緩衝液 [1%精製 BSA, 0.05% Tween 20含有 PBS (-)] で段階希釈したものと、被検血清サンプルを希釈したものを100 $\mu$ l/well 分注し、室温で一晩反応させた。

d) 洗浄緩衝液で3回洗浄後、二次抗体であるウサギ抗ヒト IL-4ポリクローナル抗体(コスモ社製 濃度3 $\mu$ g/ml)を分注し、室温で3時間反応させた。

e) アルカリフォスファターゼで標識した抗ウサギ IgG 抗体 (TAGO 社製) を100 $\mu$ l/well 分注し、室温で1時間反応させた。

f) 洗浄緩衝液で4回洗浄した後、増感剤(コスモ社製: EMERALD™) を共存させた AMPPD 溶液を加えて酵素反応を行った。

g) 発光強度はマイクロルミノメーター (ダイナテック社) を用いて IL-4を測定した。

(4) 統計学的検討

なお有意差の検定は Student-t 検定を用い P value が0.05以下を有意差ありとした。

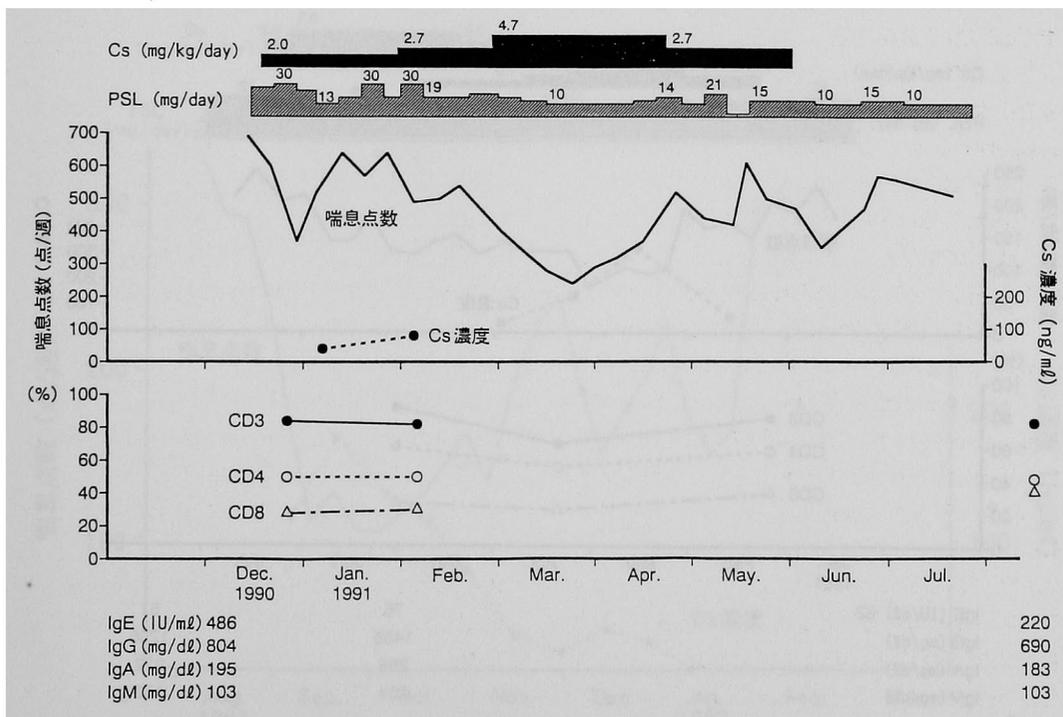
結 果

1. 臨床的検討 症例提示

[症例 1] T. S. 37歳, 男性

現病歴: 34歳発症のアトピー型(皮内反応 HD 即時型陽性, IgE RIST 486IU/ml, IgE RAST score ハウスダスト 3, ダニ 4)で, ステロイド依存性の難治性喘息として通院加療中であったが, 感冒を契機として増悪し prednisolone 10~15mg/day の内服と, aminophyllin, steroid 剤の点滴静注にても発作をコントロールできなくなったため入院となった。

入院後経過: 1990年12月から Fig. 1上段に示す如く Cs 2.0mg/kgで治療を開始し, 4.7mg/kgに増量した時点で発作の軽減を認めた。その後2.7mg/kgに減量, 中止したところ発作は再び増悪傾



— [症例 1 T. S.] —

Fig. 1 症例 1 における Cs 投与による喘息点数の変化 (上段), リンパ球サブセットの変化 (中段), 免疫グロブリンの変化 (下段)

向となり入院時の状態に復した。

免疫学的検査成績

① リンパ球サブセット：Fig. 1 中段に示す如く Cs 投与後 CD 8 が軽度上昇したが、CD 3、CD 4 には著変は認められなかった。

② 免疫グロブリン：Fig. 1 下段に示す如く血清 IgE は Cs 投与終了後約1/2に減少したが他の免疫グロブリンには変化は認められなかった。

[症例 2] S. T. 40歳, 男性

現病歴：32歳発症の非アトピー型（皮内反応は全て陰性、IgE RIST 62 IU/ml, IgE RAST score グニ2）で、prednisolone 5mg/day の内服とβ-刺激剤の吸入を5～20回/day でコントロール可能なステロイド依存性難治性喘息症例であった。感冒に罹患後より喘息発作が頻発したため入院となった。

入院後経過：1991年2月から Fig. 2 上段に示すように Cs 2.0mg/kgの内服から開始したが、Cs の血中濃度であるトラフレベルが58ng/mlと低値

で、症状の改善が認められなかった。そこで Cs を増量し、4.5mg/kgに増量した時点で、喘息点数は約1/2に減少した。しかしCsのトラフレベルが363ng/mlと高値になったため、2.5mg/kgから、さらに2.0mg/kgに減量した。その後喘息点数は次第に増加し、中止時には投与前の状態に復した。

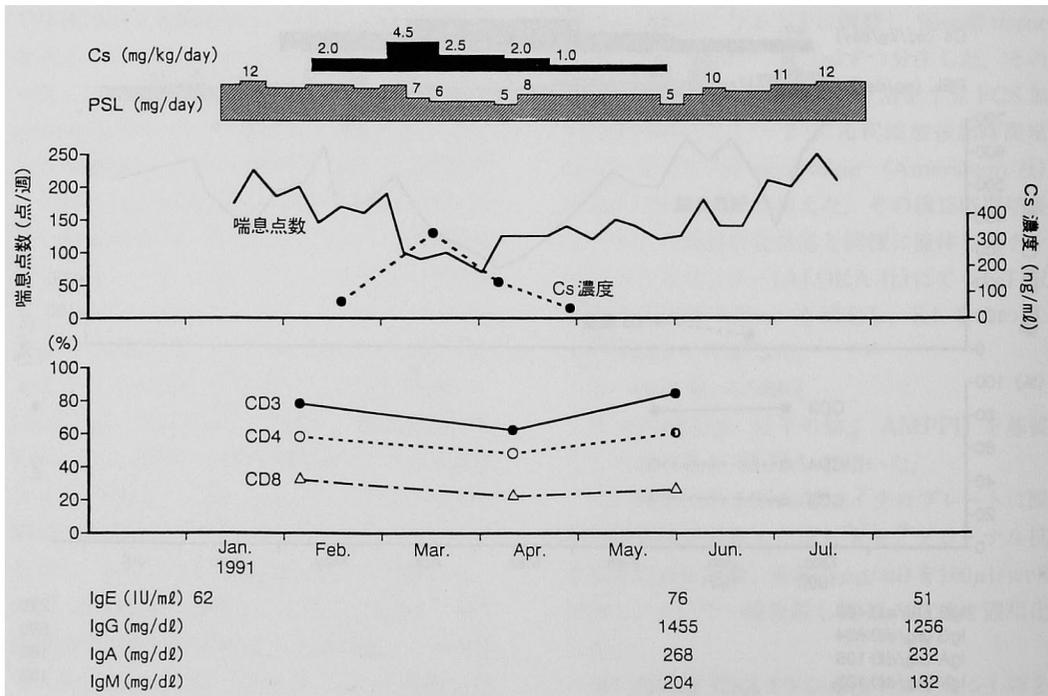
免疫学的検査成績

① リンパ球サブセット：Fig. 2 中段に示す如く、Cs 投与中には CD 3、CD 4、CD 8 はいずれも低下したが、Cs 減量後は元の状態に回復した。

② Cs 投与による血清 IgE 値の変化は認められなかった。

[症例 3] A. N. 55歳, 女性

現病歴：32歳発症の非アトピー型（皮内反応は全て陰性、IgE RIST 1900 IU/ml, IgE MAST 吸入抗原、食物抗原共に全て陰性）で、1年間以上平均5 mg/day の prednisolone を内服していたステロイド依存性難治性喘息であったが、



— [症例 2 S. T.] —

Fig. 2 症例 2 における Cs 投与による喘息点数の変化（上段）、リンパ球サブセットの変化（中段）、免疫グロブリンの変化（下段）

喘鳴、小発作が次第に頻発したため入院となった。

入院後経過：1991年8月から Fig. 3 に示すように Cs を5.0mg/kgで開始したが、トラフレベルが41ng/mlと低値のため、7.5mg/kgに増量した。約2週間後には喘息点数は1/3に低下したが、2ヵ月後に Cs を5.0mg/kg、2.5mg/kgと減量するに従い喘息発作は再増悪の傾向を示すようになった。さらに、Cs 中止3週間後には、喘息点数は Cs 投与前値と同程度まで悪化した。

#### 免疫学的検査成績

① 末梢血リンパ球数：Fig. 4 上段に示す如く Cs 投与により減少傾向を示したが、Cs 中止後回復した。

② リンパ球サブセット：Fig. 4 下段に示す如く、Cs7.5mg/kg投与時には CD 3、CD 4 が低下したが CD 8 には変化は認められなかった。しかし Cs 減量後には CD 3、CD 4 は元の状態に回復した。

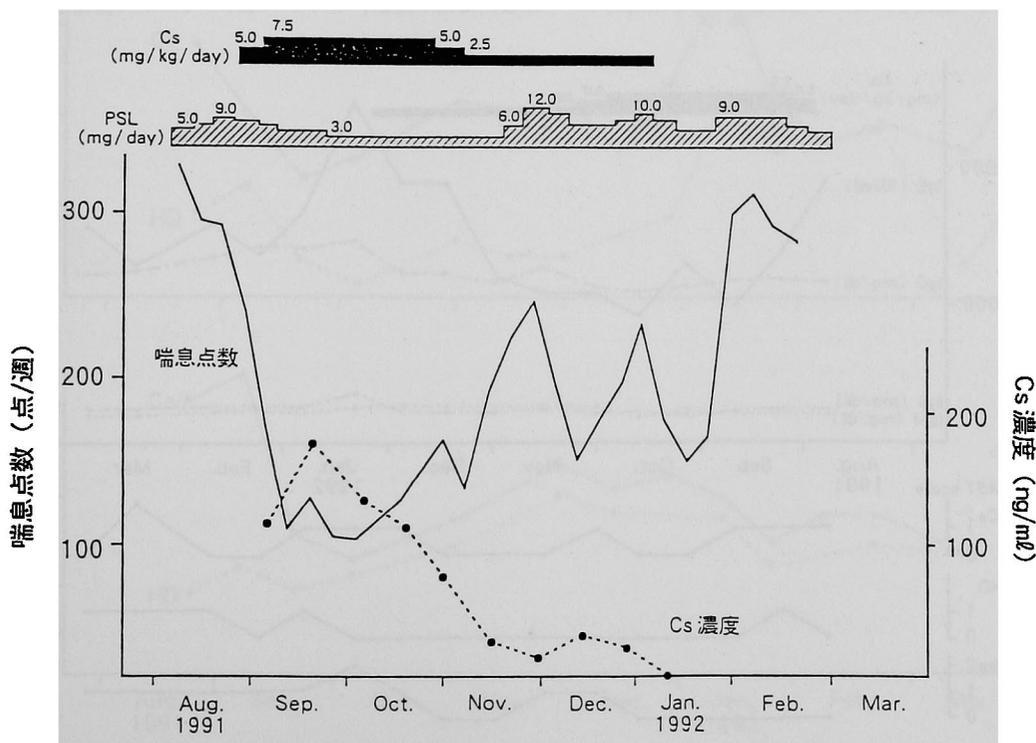
③ 免疫グロブリン：Fig. 5 上段に示す如く血清 IgE 値は Cs 5.0mg/kgから7.5mg/kgの投与時に低下したが、Cs 2.5mg/kgに減量すると再上昇し中止後は Cs 投与前値とほぼ同程度となった。Candida の IgE RAST score は、Fig. 5 下段に示す如く Cs 投与前1であったが、Cs 投与中は0となり減量後再び1となった。一方、mite の IgE Rast score は Cs 投与前および7.5mg/kg投与時のいずれも0であったが、2.5mg/kgに減量後より増加し Cs 中止後も1であった。なお、血清 IgG、IgA、IgM 値は Cs 使用中著変が認められなかったが、1992年1月の第一週に急性気管支炎様症状を合併した際に、血清 IgE、IgG、IgA 値がいずれも一過性に上昇した。

#### 2. 免疫アレルギー学的検討

抗原特異的なリンパ球の反応性に及ぼす Cs の影響を以下の如く検討した。

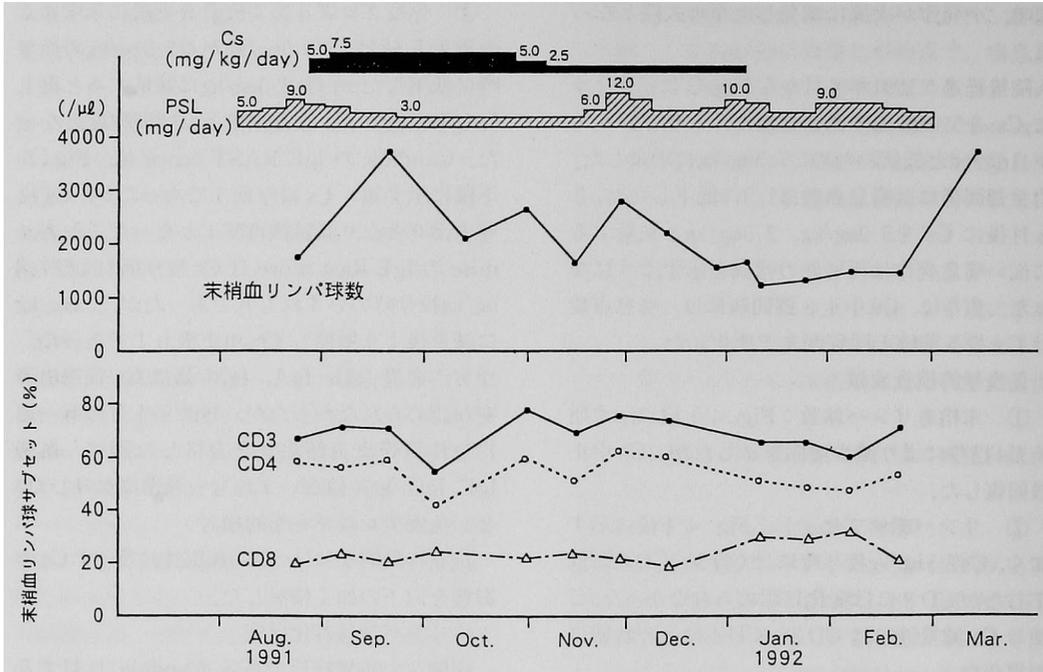
##### 1) リンパ球幼若化反応

症例3の特異抗原である Candida に対する



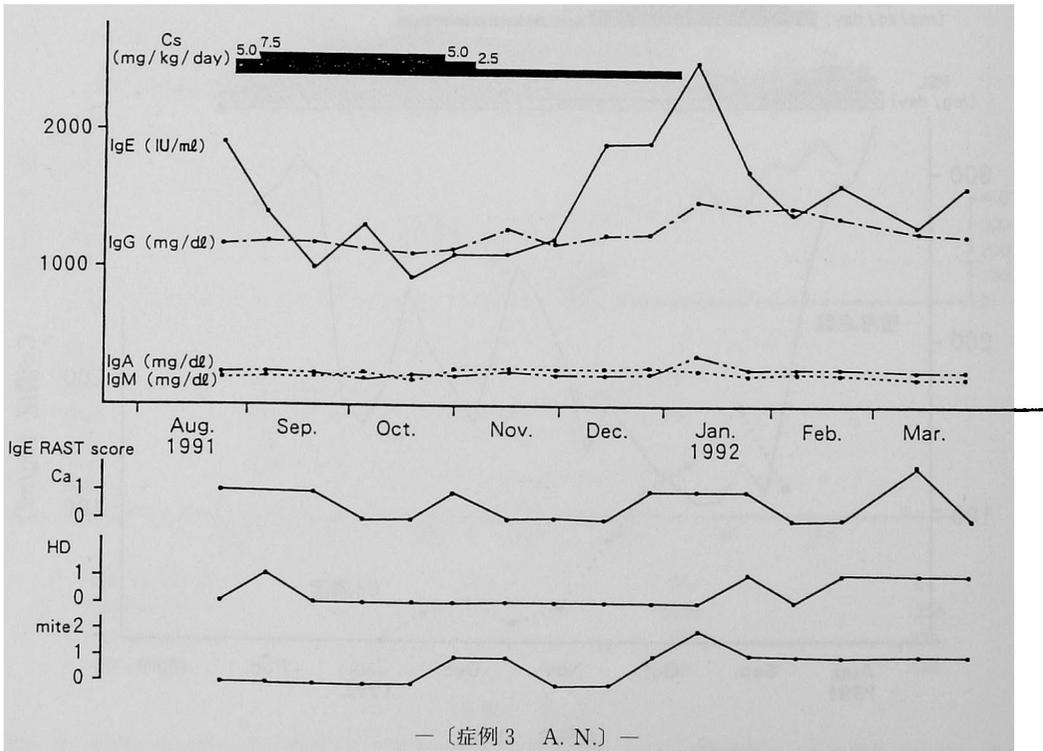
— [症例3 A. N.] —

Fig. 3 症例3における Cs投与による喘息点数の変化および血中 Cs 濃度の変化



— [症例3 A. N.] —

Fig. 4 症例3におけるCs投与による末梢血リンパ球数の変化(上段), とリンパ球サブセットの変化(下段)



— [症例3 A. N.] —

Fig. 5 症例3におけるCs投与による免疫グロブリンの変化(上段), とIgERAST scoreの変化

S. I. は Fig. 6 上段に示す如く Cs 投与前に高値であったが、投与後正常範囲となり、減量、中止により再上昇して投与前値にもどった。また、HD の S. I. も同様に Cs 投与前の正常範囲から投与後正常以下となったが、中止後はほぼ正常範囲に復した。

## 2) IL-2産生能

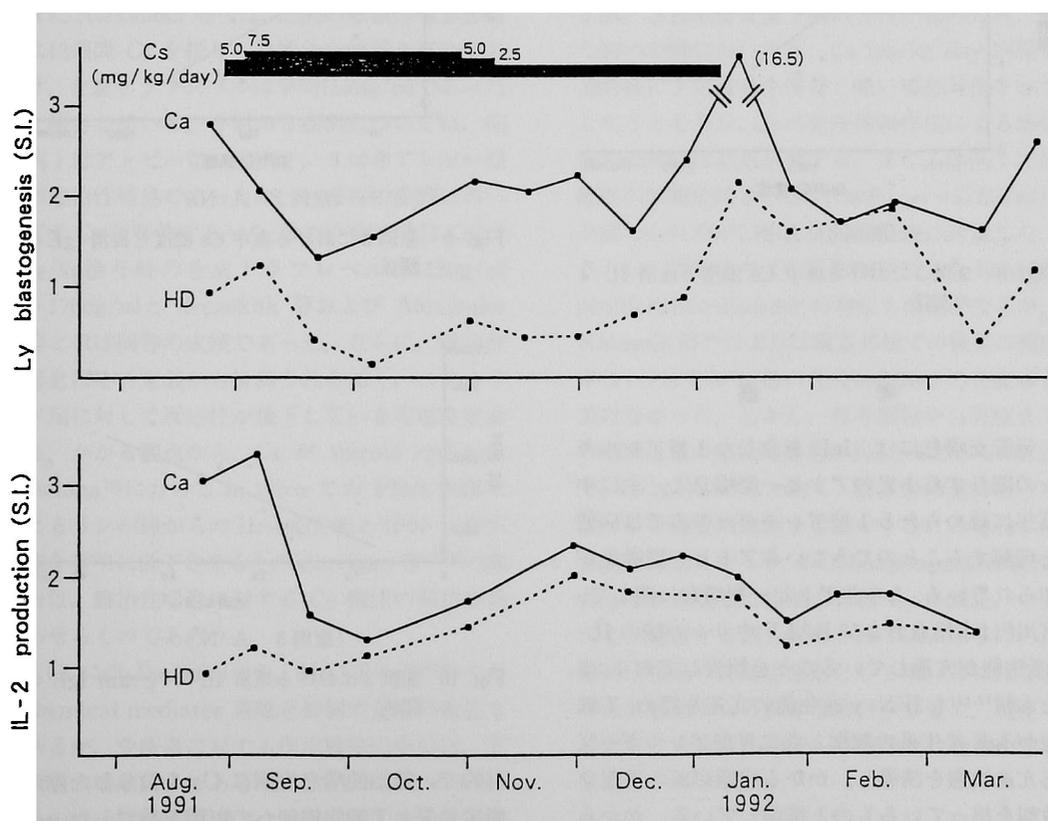
症例3における *Candida* 抗原刺激での IL-2 産生能は Fig. 6 下段に示す如く Cs 投与前には亢進していたが、Cs 投与中正常範囲となり、中止により再び前値に復した。また HD のそれは正常範囲内の変化であったが Cs の投与により低下傾向を示し、減量と共に前値に復した。

さらに、抗原特異的 IL-2 産生能と血中 Cs 濃度との相関を検討したところ Fig. 7 (A) に示す如く *Candida* 抗原では有意な負の相関が認められ ( $\gamma = -0.95$ ,  $p < 0.005$ )、また HD 抗原で

も Fig. 7 (B) に示す如く有意な負の相関が認められた ( $\gamma = -0.99$ ,  $p < 0.005$ )。

## 3) 血清 IL-4と血清 IgE

IgE 産生の促進因子である IL-4 に及ぼす Cs の影響を血清レベルで検討したところ血清 IL-4 と血中 Cs 濃度の間には、Fig. 8 に示す如く有意な負の相関が認められた ( $\gamma = -0.73$ ,  $p < 0.05$ )。さらに、血清 IgE に及ぼす血中 Cs 濃度の影響については、Fig. 9 に示す如く有意ではないものの血中 Cs 濃度の増加と共に IgE が減少する負の相関が認められた ( $\gamma = -0.46$ )。そこで、血清 IL-4 と血清 IgE の相関を検討したところ Fig. 10 の如く  $\gamma = 0.66$  の正の相関関係が認められ、血清 IL-4 の増減と共に IgE が増減することが想定された。



— [症例3 A. N.] —

Fig. 6 症例3におけるCs投与によるリンパ球幼若化反応の変化(上段), とIL-2産生能の変化(下段)

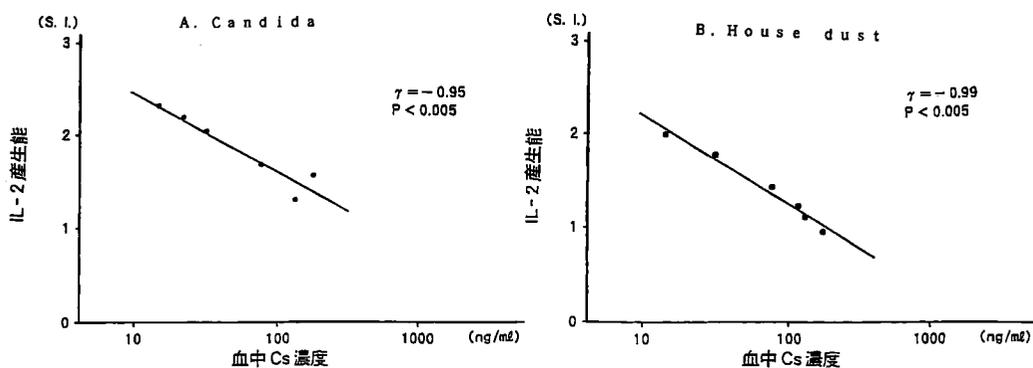
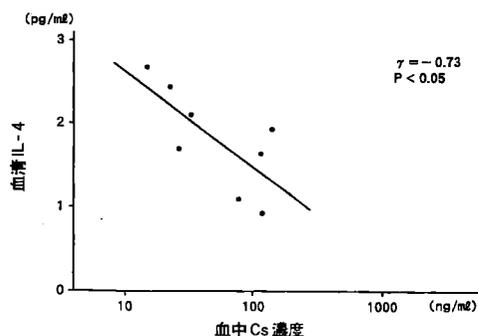


Fig. 7 症例3における血中Cs濃度と特異抗原刺激によるIL-2産生能の関係(左: Candida抗原刺激, 右: HD抗原刺激)

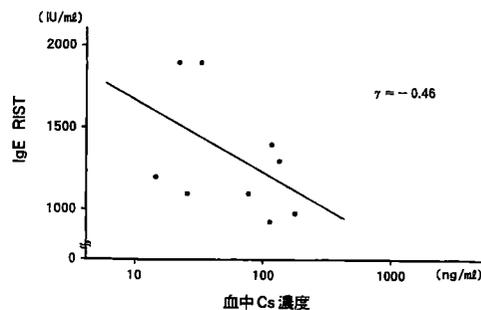


— [症例3 A. N.] —

Fig. 8 症例3における血中Cs濃度と血清IL-4の関係

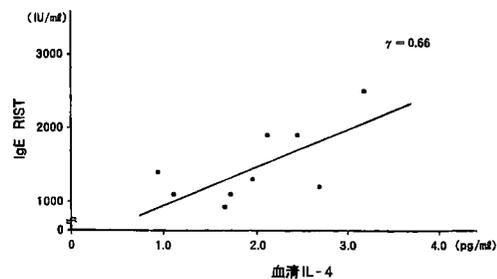
### 考 察

気管支喘息には, IgEを介したI型アレルギーの関与する小児のアトピー型喘息と, 主に中高年に認められるI型アレルギーのみでは病態を理解することのできない非アトピー型喘息が知られている。この非アトピー型喘息に関して, 宮川<sup>9)</sup>は末梢血およびBALF中リンパ球のIL-2産生能が亢進していることを報告しており, また木村<sup>12,13)</sup>もIFN- $\gamma$ 産生能の亢進を認め, T細胞がIgE産生系の制御と共にIV型アレルギー反応亢進状態を誘導し, かかる病態形成の重要な役割を担っているものと推論している。かかる観点からT細胞の制御を介した難治化病態の新たな治療法の確立と, その作用機序を解明する



— [症例3 A. N.] —

Fig. 9 症例3における血中Cs濃度と血清IgEの関係



— [症例3 A. N.] —

Fig. 10 症例3における血清IL-4と血清IgEの関係

目的で, 難治性喘息症例にCsを投与した際の臨床効果とT細胞機能への影響を検討した。その結果, Cs 4mg/kg以上の投与で発作は軽減したが, 中止後は再度増悪する傾向が認められ, ま

た CD3, CD4 の減少傾向と抗原特異的リンパ球幼若化反応の抑制があり, *Candida* および HD 抗原刺激による IL-2 産生能と血中 Cs 濃度との間には有意な負の相関が認められた ( $\gamma = -0.95$ ,  $\gamma = -0.99$ ,  $p < 0.005$ ). さらに Cs 投与により血清 IL-4 の低下と共に血清 IgE も一過性に減少した. なおかかる血清 IL-4 は血中 Cs 濃度と有意な負の相関が認められた ( $\gamma = -0.73$ ,  $p < 0.05$ ). したがって, T 細胞に選択的抑制作用を有する Cs は細胞反応型アレルギーを抑制し, ひいては重症喘息病態を改善させ得ることが判明した.

難治性喘息に Cs 療法を試みた Szczeklik 等<sup>14)</sup> は, 12 例の喘息患者に Cs を投与しそのうち 6 例 [アトピー素因 (+) 4 例, アトピー素因 (-) 2 例] に平均 30mg から 11mg への prednisone の減量効果を含めた有効性を認めており, その際の平均全血トラフレベルは 105ng/ml であった. また Alexander 等<sup>15)</sup> は, 33 例の難治性喘息患者に 12 週間 Cs を投与し肺機能の改善を認めており, 全血トラフレベルは平均 152ng/ml であったと報告している. 今回の 3 症例については, 症例 1 はアトピー型, 症例 2, 3 は非アトピー型の難治性喘息であったが, いずれの症例においても Cs が有効であった. また症例 3 では Cs 7.5 mg/kg 投与時の全血トラフレベルは 112ng/ml ~ 176ng/ml と Szczeklik 等および Alexander 等とはほぼ同等の成績であった. さらに, 難治性喘息はその定義から推測される如く, ステロイド剤に対して反応性が低下している可能性がある. かかる観点から, Cs が steroid resistant asthma<sup>16)</sup> において *in vitro* での PHA 刺激によるリンパ球からの IL-2 産生能と IFN- $\gamma$  産生能を著明に低下させるとの Corrigan 等<sup>17, 18)</sup> の報告は, 難治性喘息に対する Cs 療法の期待を窺わせるものであろう.

Cs には Basophil<sup>19)</sup> や, MAST cell<sup>20)</sup> からの chemical mediator 遊離を抑制するとの報告もあるが, 免疫系に対する作用機序の中心は, T 細胞の増殖因子である IL-2 の mRNA の transcription を抑制することによって T 細胞の活性化を制御することにあると考えられている<sup>21)</sup>. 一方, マウスにおいては産生されるリンホカイン

の種類の違いにより, IL-2 や IFN- $\gamma$  を産生する Th1 と, IL-4 や IL-5 を産生する Th2 の 2 種類のサブセットが存在することが明らかにされている<sup>9)</sup>. またヒトの場合には, マウスとは産生されるリンホカインが異なるため, Th1 様細胞, Th2 様細胞と表現されるサブセットの存在が想定されている. かかる観点に立てば IL-2 産生能の低下から Th1 様細胞の機能抑制が想定され, また血清 IL-4 の減少は Th2 様細胞の機能抑制を意味するが, 今回得られたリンパ球数の減少, CD3, CD4 の減少, リンパ球幼若化反応, IL-2 産生能の低下, 血清 IL-4 の減少などの成績は, Cs による helper T-cell 全般にわたる機能の抑制を示しており, そのために喘息症状が改善されたものと考えられ, また逆に重症難治性喘息の病態に helper T-cell の活性化が重要であることが示唆された.

しかしながら, 今回の 3 症例では, 上気道炎 2 例, 急性気管支炎 1 例の合併が認められ, また別の症例においては, Cs 2mg/kg/day 内服 2 週間後に上気道炎を併発し強い喘息発作をおこしたこともあり, Cs の免疫抑制作用による感染症の合併には注意を要する. また, 症例 1 では軽度の肝機能障害 (GOT 40IU/ml  $\rightarrow$  57IU/ml) が認められたが, 中止後正常範囲に回復した. さらに, 腎障害や Cs 長期投与による lymphoproliferative disorder の発症も問題となるが, Nalesnik 等<sup>22)</sup> によれば臓器移植での後者の発症率は 1.7% であり, 他の免疫抑制剤での発症率と差はなかった. しかし, 投与開始から発症までの期間は他の免疫抑制剤が約 3.5 年であるのに比し, Cs は約 10 ヶ月と短く, 投与量の差はあったにせよ今後長期運用を余儀なくされる場合には重要な問題となろう. また, lymphoproliferative disorder が発症した場合には Cs の減量, 中止により寛解する例も報告されてはいるものの, 難治性喘息の長期治療薬として用いるにはなお今後各方面からの慎重な検討が必要で, 現在では緊急の重症発作抑制への短期間の使用が望まれる.

## 結 論

細胞反応型アレルギーがその病態の中心をな

す難治性喘息において、リンパ球機能の制御を介した新たな治療法の確立と、その際の作用機序を解明する目的で、ステロイド依存性の難治性喘息3症例にCsを短期間投与し、治療経過中の臨床的、並びに免疫アレルギー学的検討を行った。

1. Cs 4.0mg/kg以上の服用で発作は軽減したが、中止後は発作の再増悪傾向が認められた。

2. Cs投与中、末梢血中のCD3, CD4が減少する傾向が認められ、抗原特異的リンパ球幼若化反応が著明に抑制された。また、特異抗原刺激によるIL-2産生能と血中Cs濃度の間には有意な負の相関(Candida抗原： $\gamma = -0.95$   $p < 0.005$  HD抗原： $\gamma = -0.99$   $p < 0.005$ )が認められた。

3. Cs投与により血清IgE値は低下し、中止後には再度上昇傾向が認められ、血清IL-4とは $\gamma = 0.66$ の正の相関が認められた。また、血

清IL-4と血中Cs濃度の間には有意な負の相関( $\gamma = -0.73$   $p < 0.05$ )が認められた。なお、血清IgG, IgA, IgMに変化は認められなかった。

以上より、難治性喘息に対してCsがhelper T-cellの抑制効果を介して有用であることが判明した。なおその使用には副作用としての免疫抑制作用による感染症や腎障害、肝障害、悪性疾患の問題などがあり、Cs療法の適用には今後なお慎重な検討が必要と考えられた。

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謝致しますとともに始終懇切なる御指導、御助言を賜りました高橋清講師に深謝いたします。

なお本論文の要旨は第32回日本胸部疾患学会(平成4年5月)において発表した。

#### 文 献

- 1) National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institute of Health, U. S. A : International Consensus Report on Diagnosis and Treatment of Asthma. Clin Exp Allergy (1992) 22 (suppl. 1) .
- 2) Kay AB : Asthma and inflammation. J Allergy Clin Immunol (1991) 87, 893—910.
- 3) 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 201—205.
- 4) Tanimoto Y, Takahashi K and Kimura I : Effect of cytokine on human basophil chemotaxis. Clin Exp Allergy (1992) 22, 1020—1025.
- 5) 河田一郎 : 気管支喘息の発症機序における好酸球の動態に関する研究. 第1編 フローサイトメトリーを用いた好酸球分離法と好酸球遊走因子について. 岡山医誌 (1990) 102, 733—743.
- 6) 河田一郎 : 気管支喘息の発症機序における好酸球の動態に関する研究. 第2編 カンジダ抗原による末梢血単核球由来好酸球遊走因子について. 岡山医誌 (1990) 102, 745—755.
- 7) Pene J, Rousset F, Briere F, Chretien I, Bonnefoy JY, Spits H, Yokota T, Arai N, Arai K, Banchereau J and De Vries : IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons  $\gamma$  and  $\alpha$  and prostaglandin E2. Proc Natl Acad Sci USA (1988) 85, 6880—6884.
- 8) 宮川秀文 : 重症難治性喘息におけるIV型アレルギー反応に関する研究. 第1編 カンジダ抗原による末梢血及びBALF中リンパ球のinterleukin 2 (IL-2)産生能の検討. 岡山医誌 (1988) 100, 565—575.
- 9) Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MR, Giedlin MA and Coffman RL : Two types of murine helper T cell clone I. Definition according of profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J Immunol (1986) 136, 2348—2357.
- 10) Tscopoulos A, Hmid Q Varney V, Ying S, Moqbell R, Durham SR and Kay AB : Preferential messenger RNA expression of Th1-type cell (IFN- $\gamma^+$ , IL-2 $^+$ ) in classical delayed-type (tuberculin)

- hypersensitivity reaction in skin. *J Immunol* (1992) **148**, 2058—2061.
- 11) Robinson DS, Hmid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, Corrigan C, Durham SR and Kay AB : Predominant T<sub>H2</sub>-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med* (1992) **326**, 298—304.
  - 12) 木村五郎：気管支喘息における interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生能に関する研究. 第1編 気管支喘息の各種病態における IFN- $\gamma$ 産生能の検討. *岡山医誌* (1992) **104**, 1107—1116.
  - 13) 木村五郎：気管支喘息における interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生能に関する研究. 第2編 気管支喘息における IFN- $\gamma$ 産生能と各種リンパ球機能との比較検討. *岡山医誌* (1992) **104**, 1117—1125.
  - 14) Szczeklik A, Nizankowska E, Dworski R, Domagala B and Pinis G : Cyclosporin for steroid-dependent asthma. *Allergy* (1991) **46**, 312—315.
  - 15) Alexander AG, Barnes NC, Kay AB : Trial of cyclosporin in corticosteroiddependent chronic severe asthma. *Lancet* (1992) **339**, 324—328.
  - 16) Carmichael J, Paterson IC, Diaz P, Crompton GK, Kay AB and Grant IWB : Corticosteroid resistance in asthma. *Br Med J* (1981) **282**, 1419—1422.
  - 17) Corrigan CJ, Brown PH, Barnes NC, Szeffler SJ, Tsai J-J, Frew AJ and Kay AB : Glucocorticoid resistance in chronic asthma ; Glucocorticoid pharmacokinetics, glucocorticoid receptor characteristics, and inhibition of peripheral blood T cell proliferation by glucocorticoids in vitro. *Am Rev Respir Dis* (1991) **144**, 1016—1025.
  - 18) Corrigan CJ, Brown PH, Barnes NC, Tsai J-J, Frew AJ and Kay AB : Glucocorticoid resistance in chronic asthma ; Peripheral blood T lymphocyte activation and comparison of the T lymphocyte inhibitory effect of glucocorticoids and cyclosporin A. *Am Rev Respir Dis* (1991) **144**, 1026—1032.
  - 19) Cirillo R, Triggiani M, Siri L, Ciccarelli A, Pettit GR, Condorelli M, and Marone G : Cyclosporin A rapidly inhibits mediator release from human basophils presumably by interacting with cyclophilin. *J Immunol* (1990) **144**, 3891—3897.
  - 20) Triggiani M, Cirillo R, Lichtenstein LM and Marone G : Inhibition of histamine and prostaglandin D<sub>2</sub> release from human lung mast cells by cyclosporin A. *Int Arch Allergy Appl Immunol* (1989) **88**, 253—255.
  - 21) Kronke M, Leonard WJ, Depper JM, Arya SK, Wong-Staal F, Gallo RC, Waldmann TA and Greene WC : Cyclosporin A inhibits T-cell growth factor gene expression at the level of mRNA transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* (1984) **81**, 5214—5218.
  - 22) Nalesnik MA, Jaffe R, Starzl TE, Demetris AJ, Porter K, Burnham JA, Makowka L, Ho M and Locker J : The pathology of posttransplant lymphoproliferative disorders occurring in the setting of cyclosporine A-prednisone immunosuppression. *Am J Pathol* (1988) **133**, 173—192.

**Clinical and immunological studies of the effects of  
ciclosporin in intractable asthma**

**Tomoharu OKANO**

**Second Department of Internal Medicine,**

**Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**(Director : Prof. I. Kimura)**

Activation of lymphocytes is thought to be an important mechanism in the allergic response in intractable asthma. To establish a new therapy using a selectively suppressive agent for T-cells, small doses of ciclosporin (Cs) were administered to three patients with intractable asthma. The effects on the clinical courses and immunological parameters were examined. The results were as follows :

- (1) Clinical improvements were observed at doses above 4mg/kg/day.
- (2) The percentage of CD3<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> lymphocyte in peripheral blood showed a tendency to reduce, and lymphocyte blastogenic responses and IL-2 production against specific antigens were suppressed to within or below the normal range. There was significant inverse correlation between whole blood Cs level and IL-2 production against specific antigens (Candida, and house dust) ( $\gamma = -0.95$   $p < 0.005$ , and  $\gamma = -0.99$   $p < 0.005$ , respectively).
- (3) Serum IgE level decreased markedly, but there was no significant change in serum levels of IgG, IgA, or IgM. Between the whole blood Cs level and serum IL-4 level, there was a significant inverse correlation ( $\gamma = -0.73$   $p < 0.05$ ), but a relative correlation between serum IL-4 level and serum IgE level ( $\gamma = 0.66$ ) was noted. The effects disappeared after medication without Cs. These data indicate that lymphocytes may play an important role in the attack mechanism of intractable asthma and that Cs therapy is beneficial when temporarily administered for the disease, though the potential risks such as infection, nephrotoxicity, liver damage and carcinogenesis remain problems in the treatment.