

# 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中及び BALF 中リンパ球の interleukin 2 (IL-2) 産生能の検討

岡山大学医学部第二内科学教室 (主任: 木村郁郎教授)

宮 川 秀 文

(昭和63年3月24日受稿)

Key words : intractable asthma, Candida antigen, interleukin 2 production

## 緒 言

気管支喘息の病態に關与するアレルギー反応として、IgE を介する I 型アレルギー反応が広く知られている。小児にみられる喘息の臨床的な特徴の多くが I 型アレルギー反応で説明され、主としてハウスダスト、あるいはダニ抗原の吸入により即時型の喘息発作が惹起される。しかし、木村の提唱した中高年発症型難治性喘息<sup>1),2),3)</sup>においては、IgE を介する I 型アレルギー反応のみではその病像を充分理解することは困難である。本症では中高年に至って喘息を発症し、発作が持続性で、気管支拡張剤等の通常の治療に対して抵抗性であり発作寛解のためにはステロイド剤が必要であるなどの特徴を持ち、その原因抗原についても少児とは異なり真菌抗原によるものが多く中でもカンジダが重要であると考えられている<sup>4),5),6),7)</sup>。本症の病態についてはカンジダの吸入誘発時に認められるごとく、IgG を介する III 型アレルギー反応の關与が推察されている<sup>8),9),10),11),12),13)</sup>。これらの症例において、気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage : BAL) を行った成績では BAL fluid (以下 BALF) 中にリンパ球の増加を認める例があり<sup>3),14),15)</sup>、肺組織所見として単核球の浸潤を認めるなど<sup>15)</sup>、気管支喘息の重症難治化の病態にリンパ球を介する IV 型アレルギー反応の關与が推定されてい

る<sup>1),2),3),5),6)</sup>。しかしながら、気管支喘息におけるリンパ球の關与あるいは IV 型アレルギー反応の關与については充分明らかでなく、T 細胞による IgE 産生系の調節についての報告<sup>16)</sup>の他には、重症難治性喘息に関する検討から BALF 中リンパ球のカンジダ抗原に対する幼若化反応が有意に充進するという報告<sup>14),17)</sup>をみるのみである。そこで気管支喘息の重症難治化におけるカンジダに対する IV 型アレルギー反応の意義を検討する目的で気管支喘息患者リンパ球のカンジダ抗原に対する感作状態・免疫応答能について末梢血中並びに BALF 中リンパ球のカンジダ抗原による interleukin 2 (以下 IL-2) 産生能を測定し、喘息の種々の病態との關連を明らかにすると共に、IL-2 産生能に対するステロイド剤の影響についても検討した。

## 対 象

対象として岡山大学第 2 内科外来通院及び入院中の気管支喘息患者 44 例を選んだ。その内訳は重症難治群 20 例、非難治群 24 例であり、アトピー群は 13 例、非アトピー群は 18 例であった。重症難治群の定義は、通常の治療では日常生活を普通に行えず少なくとも 1 年或はそれ以上ステロイド離脱が困難でプレドニゾン換算 5 mg/day 以上のコルチコステロイド持続投与が必要な症例とした。アトピー群としての条件設定は 1)

Table 1 Characteristics of patients with intractable and non-intractable asthma.

Type of bronchial asthma		Intractable asthma	Non-intractable asthma
No. of cases		20	24
Age (yr)		51 (21~73)	45 (17~60)
Male/female ratio		1.0	0.85
Age of onset (yr)		46 (18~62)	30 (3~57)
IgE (RIST) (U/ml)		417 (8~2182)	443 (6~2006)
Positive IgE (RAST) against <i>Candida</i> antigen		25.0%	29.2%
Type of positive skin reaction	Immediate	65.0%	87.5%
	Late	45.0%	62.5%
	Delayed	50.0%	79.2%
Positive precipitin against <i>Candida</i> antigen		45.0%	37.5%

発症年齢が小児，あるいはアレルギー疾患の家族歴・既往歴を有する，2) 喀痰中，末梢血中の好酸球増多，3) IgE (RIST) 高値，4) 即時型皮内反応陽性（真菌類のみ陽性の場合を除く），5) IgE (RAST) 陽性の5項目の内3項目以上陽性の症例とした。対象の背景因子について重症難治群と非難治群に区分し検索したところ，年齢・発症年齢（中央値）は重症難治群で高く，IgE (RIST) は重症難治群で417U/ml（中央値）に対し，非難治群で443U/mlと重症難治群と非難治群で差はなかった。またカンジダのIgE (RAST) 陽性例は重症難治群で25.0%，非難治群で29.2%に認められ両群に差はなかった。また，カンジダに対する遅延型皮内反応は今回の検討では非難治群で陽性例がやや多く認められた。これは重症難治群におけるステロイド治療中に皮内反応を実施した例が含まれるためと思われた。カンジダに対する沈降抗体陽性例は重症難治群45.0%，非難治群37.5%と重症難治群にやや多く認められた（Table 1）。

#### 方 法

1) 末梢血単核球分離並びに培養：患者末梢血10mlをヘパリン1ml加で採血後，等量の生理食塩水と混和し Histopaque 1077 (Sigma) による比重遠沈法 (450g 30分) にて単核球層を分離

し，RPMI 1640 (GIBCO) を加え，4℃にて250g 10分の遠沈と洗浄を3回繰り返し，その後56℃，30分で加熱処理した1% fetal calf serum (以下FCS) 加 RPMI 1640にてリンパ球数を $1 \times 10^6$ コ/mlに調整した。viabilityの検討はtrypan blue dye exclusion testにて行い，95%以上の検体を用いた。リンパ球浮遊液を1mlずつ，24ウェルの tissue culture cluster (Costar) に分注し，添加抗原としてはカンジダ抗原凍乾末（鳥居薬品）を1%FCS加 RPMI 1640にて溶解し150 $\mu$ g/mlとなるよう75 $\mu$  lを添加，抗原非添加対照には1%FCS加 RPMI 1640 75 $\mu$  lを添加し，CO<sub>2</sub>インキュベーターにて37℃ 2日間培養し，培養液を4℃にて1700g 10分遠沈し上清を採取し，この培養上清をIL-2 assayに用いた。またステロイド剤のIV型アレルギー反応に対する影響を検討するためカンジダ抗原と共にプレドニゾロンを $2 \times 10^{-7}$ – $2 \times 10^{-10}$ /mlの濃度にてリンパ球浮遊液に添加して培養し，IL-2産生に及ぼす影響を検討した。またこの範囲のプレドニゾロンの濃度はリンパ球数及びviabilityに影響を及ぼさなかった。

2) BALF中リンパ球の採取並びに培養：BAL<sup>18),19)</sup>は，気管支ファイバースコープ（オリンパス1 T-10）を右肺中葉の区域気管支B 4あるいはB 5にwedgeし，37℃の無菌生理食塩水

を50ml×4回注射器にて鉗子口より注入し、吸引器を用いて洗浄液を回収し合計200mlの生理食塩水にてBALを行なった。回収したBALFを間隙710 $\mu$ 、500 $\mu$ 、250 $\mu$ の3層のstainless steel meshで濾過し粘液を除いた後、シリコン処理試験管を用いて4℃にて250g 10分遠沈し、沈渣と上清に分離した。採取した沈渣で総細胞数の算定と分類を行い、1%FCS加RPMI 1640にてリンパ球数5×10<sup>5</sup>コ/mlに調整した。このリンパ球浮遊液を用いて、培養並びにIL-2活性の測定を末梢血リンパ球と同様に行った。

3) IL-2 assay<sup>20)</sup>: IL-2 dependent cell lineであるcytotoxic T cell line (以下CTLL)をリコンビナントIL-2 (TGP-3, 武田薬品)を含む10%FCS加RPMI 1640にて2日間培養し2%FCS加RPMI 1640で3回洗浄後、7%FCS加RPMI 1640にてCTLLのリンパ球を1×10<sup>5</sup>コ/mlとなるように調整し、96ウェルのtissue culture clusterに0.1mlずつ分注した。このCTLLを分注した各ウェルにカンジダ抗原添加リンパ球培養後の上清を7%FCS加RPMI 1640にて倍数希釈(2<sup>1</sup>–2<sup>8</sup>倍)しtriplicateで添加した。これをさらに24時間培養し<sup>3</sup>H-thymidine (Amersham社)0.2 $\mu$ Ciを各ウェルにパルス後18時間培養し、液体シンチレーションカウンター(ALOKA社)にて各ウェルの<sup>3</sup>H-thymidineの取り込みを計測した。そしてカンジダ抗原添加培養上清とカンジダ抗原非添加培養上清各々の取り込み(dpm)の比を求め、stimulation index (以下S.I.)としてIL-2産生能を表した。プレドニゾロンの添加実験では、プレドニゾロン添加と非添加各々の培養上清中のIL-2活性を上記のようにS.I.で求めた。プレドニゾロン非添加培養上清のIL-2活性をaとし、プレドニゾロン添加培養上清中のIL-2活性をbとし、プレドニゾロンのIL-2活性に対する抑制率(%)を(a-b)×100/aで算出した。この時プレドニゾロンのCTLLに対する直接の影響を検討するため、プレドニゾロンをIL-2 assayに用いた濃度でCTLLに添加し、<sup>3</sup>H-thymidineの取り込みに及ぼす影響を検討した。

4) リンパ球幼若化反応: 末梢血より分離した単核球を10%FCS加RPMI 1640にて1×10<sup>6</sup>コ/

mlとなるよう調整し、96ウェルのtissue culture clusterにtriplicateで0.1mlずつ分注した。抗原はカンジダ抗原凍乾末を10%FCS加RPMI 1640で溶解し、最終濃度にて3300 $\mu$ g/ml, 667 $\mu$ g/ml, 133 $\mu$ g/ml, 26.7 $\mu$ g/ml, 5.3 $\mu$ g/mlとなるよう各ウェルにtriplicateで分注した。抗原を添加後37℃にてCO<sub>2</sub>インキュベーターで6日間培養し、<sup>3</sup>H-thymidine 0.2 $\mu$ Ciを各ウェルにパルスし更に7時間培養後、液体シンチレーションカウンターにて<sup>3</sup>H-thymidineの取り込みを計測した。triplicateの平均値で最高の取り込みを示した抗原濃度のdpm値と抗原非添加培養におけるdpm値からS.I.を求め、幼若化反応をあらわした。

## 成 績

1) IL-2 assayの基礎的検討: IL-2 assayにおいて至適培養日数と至適抗原濃度を検討した。1日間から6日間までのIL-2産生能をS.I.で検討し、2日間培養にて最も高い値を示したので以後のIL-2産生能測定は2日間培養上清を用いた(Fig. 1)。またカンジダ抗原濃度については100 $\mu$ g/mlから300 $\mu$ g/mlの範囲でIL-2産生能を測定し、150 $\mu$ g/mlで最も高い値を示したため以後の実験では150 $\mu$ g/mlの濃度を用いた(Fig. 2)。

2) 末梢血中及びBALF中リンパ球のカンジダ抗原に対するIL-2産生能

a) 末梢血中リンパ球

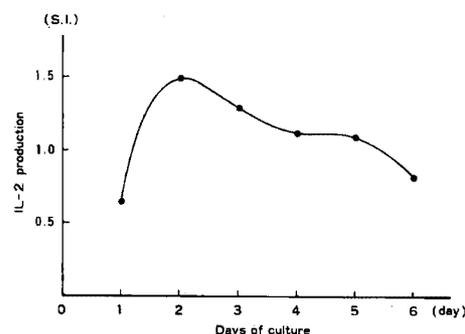


Fig. 1 Time course of IL-2 production in stimulation with Candida antigen. The highest IL-2 production was observed on the 2nd day of culture.

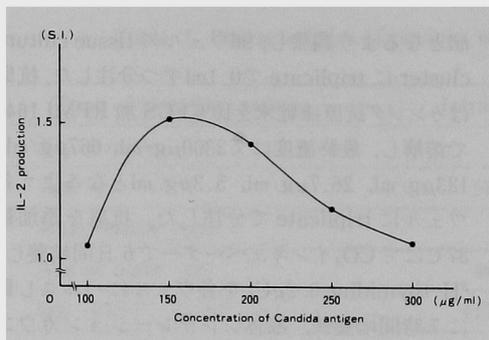


Fig. 2 IL-2 production and concentration of Candida antigen in the culture of peripheral blood lymphocytes. The optimal concentration of Candida antigen was determined to be 150 μg/ml.

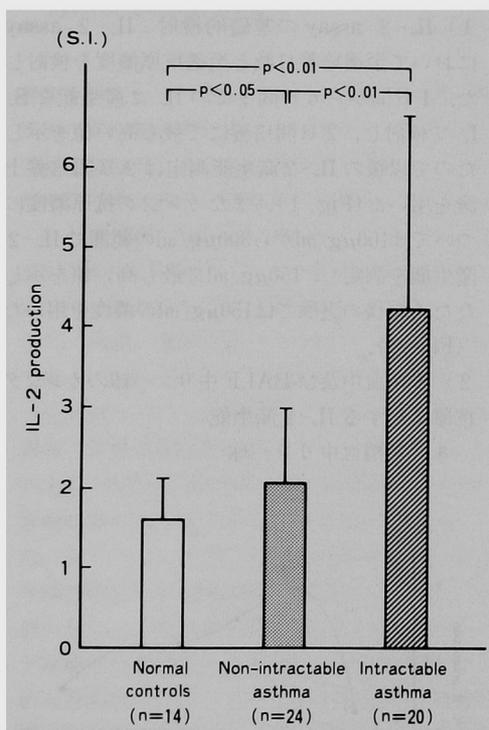


Fig. 3 Comparison of IL-2 production of peripheral blood lymphocytes with Candida antigen in asthmatic patients and normal control. The patients with intractable asthma showed the higher IL-2 production than normal controls ( $p < 0.01$ ) and non-intractable asthma ( $p < 0.01$ ).

(1) 末梢血中リンパ球培養上清中の IL-2 産生能は健康人対照で S.I.  $1.52 \pm 0.56$  (Mean  $\pm$  S.D.) であり, 喘息患者を非難治群と重症難治群に区分して比較したところ非難治群で, S.I.  $2.06 \pm 0.99$  と健康人に比べて有意 ( $p < 0.05$ ) に高値を示し, 重症難治群では S.I.  $4.26 \pm 2.48$  と健康人対照, 更には非難治群に比べても有意 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ) に高値を示した (Fig. 3).

(2) 発症年齢による区分で比較したところ 40 歳未満発症の early onset 群 S.I.  $3.57 \pm 3.11$  であり, 40 歳以上発症の late onset 群 S.I.  $4.65 \pm 5.08$  と late onset 群でやや高値であったが有意差は認めなかった (Fig. 4 a).

(3) 喘息患者をアトピー群と非アトピー群に分けて検討したところ, アトピー群で S.I.  $1.96 \pm 0.89$  に対し非アトピー群で S.I.  $3.74 \pm 2.74$  とアトピー群に比べ非アトピー群で有意 ( $p < 0.02$ ) に高値を示した (Fig. 4 b).

(4) 更に種々のアレルギー学的パラメーターとの関連でカンジダ抗原による IL-2 産生能を比較した。まず I 型アレルギー反応として IgE (RIST) 値を 500U/ml で区分して検討したところ, 500U/ml 未満の群 S.I.  $3.30 \pm 2.55$  に対し, 500U/ml 以上の群 S.I.  $2.51 \pm 1.91$  と IgE 低値群でやや高値であったが両群間に有意差は認められなかった。次に III 型アレルギー反応として血清中のカンジダに対する沈降抗体の有無で比較したところ<sup>13), 21)</sup>, 抗体陽性群で S.I.  $2.97 \pm 2.43$  に対し, 陰性群では S.I.  $3.01 \pm 1.87$  と両群間に有意差は認められなかった。カンジダに対する遅延型皮内反応の有無による区分では, 遅延型反応陽性群 S.I.  $2.83 \pm 1.63$  に対し遅延型反応陰性群 S.I.  $3.11 \pm 2.44$  と両群間に有意差は認められなかった。

(5) 重症難治群の中でステロイド剤の 1 日投与量がプレドニゾロン換算で 10mg/day 未満の群と 10mg/day 以上の群の 2 群に分けて検討したところ, 10mg/day 未満の群 S.I.  $5.93 \pm 2.62$  に対し, 10mg/day 以上の群 S.I.  $2.89 \pm 1.27$  とステロイド剤の投与量の多い群において有意 ( $p < 0.01$ ) に IL-2 産生能の低下が認められた (Fig. 5)。そこで in vitro におけるプレドニゾロンの IL-2 産生能に及ぼす影響を検討する目的で種々

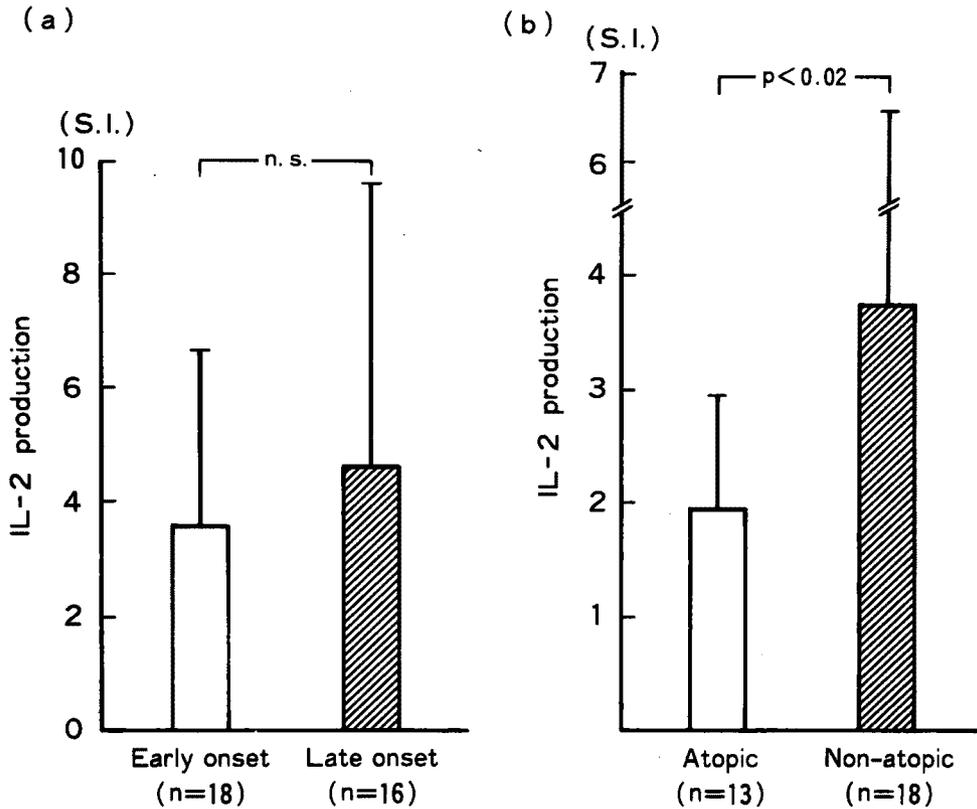


Fig. 4 a) Comparison of IL-2 production of peripheral blood lymphocytes with *Candida* antigen in regard to onset age of asthma before or after 40 years old.  
 b) Comparison of IL-2 production of peripheral blood lymphocytes with *Candida* antigen in patients with atopic and non-atopic asthma. Non-atopic patients showed the higher IL-2 production than the atopic patients ( $p < 0.02$ ).

の濃度のプレドニゾロンをカンジダ抗原とリンパ球の培養系に添加し培養上清中の IL-2 活性の測定を行った。その結果プレドニゾロンの濃度依存性に IL-2 産生能は17%から66%まで抑制された (Fig.6)。またこの時プレドニゾロン添加 ( $2^{-7}$  -  $2^{-9}$  mol/ml) による CTLL の  $^3\text{H}$ -thymidine の取り込みに対する影響を検討したところ、濃度依存性に0%から28%までの抑制が認められた。プレドニゾロンの CTLL に対する直接の影響を考慮しても IL-2 産生能に対するプレドニゾロンの抑制効果は明らかであると考えられた。

b) BALF 中リンパ球による IL-2 産生能:

BALF 中リンパ球のカンジダ抗原による IL-2 産生能を健康人対照 4 例、気管支喘息以外の呼吸器疾患 6 例 (DPB 2 例, IIP 1 例, Silicosis 1 例, Sarcoidosis 1 例, Broncho-bronchiolitis 1 例)、気管支喘息 15 例 (非難治群 7 例, 重症難治群 8 例) について検討した。健康人対照 S. I.  $1.45 \pm 0.44$ , 気管支喘息以外の呼吸器疾患 S. I.  $1.25 \pm 0.10$  に対し、気管支喘息 S. I.  $3.00 \pm 2.09$  と健康人対照、気管支喘息以外の呼吸器疾患に比べ IL-2 産生能は気管支喘息群で有意 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ) に高値であった (Fig. 7)。この気管支喘息群を非難治群と重症難治群に区分した検討では非難治群 S. I.  $1.51 \pm 0.54$  に対し重

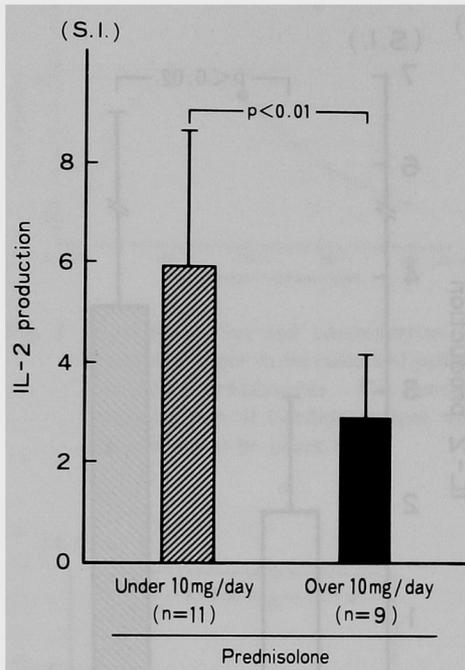


Fig. 5 Comparison of IL-2 production of peripheral blood lymphocytes with *Candida* antigen in patients with intractable asthma in regard to prednisolone dose. The patients with prednisolone dose over 10mg/day showed lower IL-2 production than those with prednisolone dose under 10mg/day ( $p < 0.01$ ).

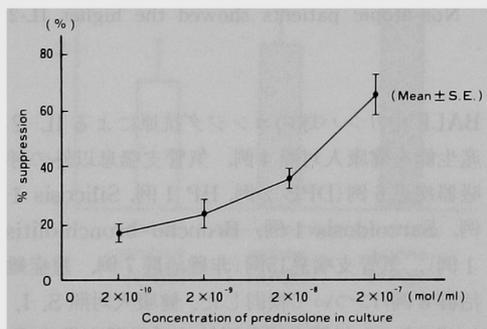


Fig. 6 Suppressive effect of prednisolone in vitro on IL-2 production of peripheral blood lymphocytes with *Candida* antigen in asthmatic patients. Prednisolone showed the dose dependent suppression of IL-2 production of lymphocytes with *Candida* antigen in asthmatic patients.

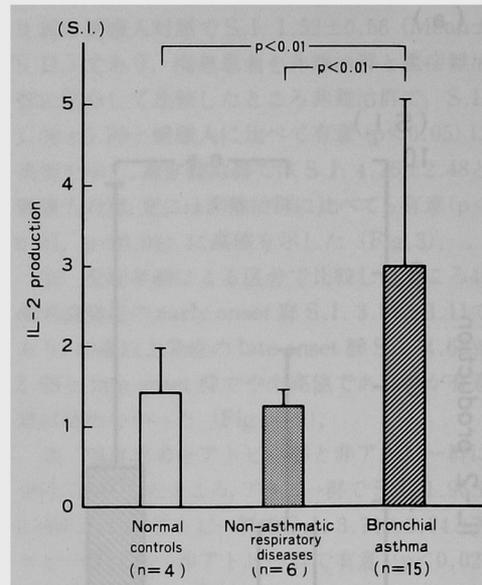


Fig. 7 IL-2 production of BALF lymphocytes with *Candida* antigen. Lymphocytes of patients with bronchial asthma showed higher IL-2 production than normal controls ( $p < 0.01$ ) and the patients with non-asthmatic respiratory diseases ( $p < 0.01$ ).

症難治群 S.I.  $4.29 \pm 2.09$ であり重症難治群が非難治群に比べ、有意 ( $p < 0.01$ ) に高値を示していた (Fig. 8). なお、健康人対照、気管支喘息以外の呼吸器疾患と非難治群の間に有意差は認められなかった。

c) 末梢血リンパ球のカンジダ抗原に対する IL-2 産生能とリンパ球幼若化反応との関連: IL-2 産生能とリンパ球幼若化反応の関連を検討したところ、気管支喘息全体では相関係数 0.44 と有意な相関は認められなかった。そこで気管支喘息を非難治群と重症難治群に分けて検討したところ非難治群では相関係数 0.32 とやはり有意な相関は認められなかったが、重症難治群では相関係数 0.60 で、弱いながら有意 ( $p < 0.05$ ) な正の相関が認められた (Fig. 9).

## 考 察

気管支喘息の原因抗原としては、ハウスダスト、真菌類等多くが挙げられるが真菌類の中で

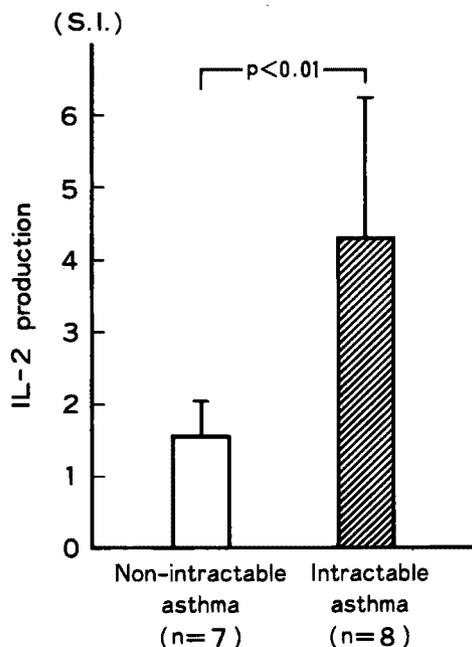


Fig. 8 Comparison of IL-2 production of BALF lymphocytes with *Candida* antigen in asthmatic patients. The patients with intractable asthma showed higher IL-2 production than with non-intractable asthma ( $p < 0.01$ ).

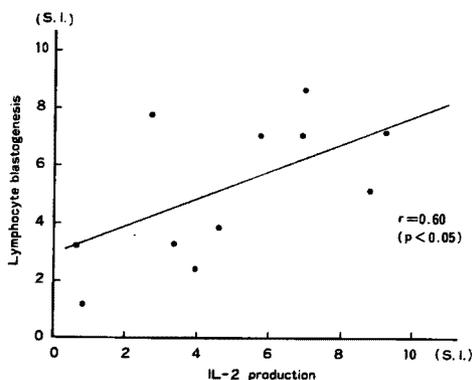


Fig. 9 Correlation between IL-2 production and lymphocyte blastogenesis with *Candida* antigen in patients with intractable asthma. The statistically significant positive correlation ( $p < 0.05$ ) was shown between these two parameters.

も特にカンジダを抗原とする喘息は重症難治性の発作を起こしやすく実際に重症難治性喘息においてはカンジダ抗原に対する皮内反応陽性例(特に遅発・遅延型)が多く、吸入誘発試験にても陽性例が多く認められている<sup>4),5),6),7)</sup>。そのカンジダによる喘息の発症機序としてはI型、III型、IV型アレルギー反応のいずれもが関与すると考えられている。I型アレルギー反応についてはカンジダ抗原の添加による末梢血好塩基球よりのヒスタミン遊離がIgE (RAST) scoreに比例して起こることが報告されている<sup>22)</sup>。更に、III型アレルギー反応の関与については月岡がカンジダ喘息患者において、タンニン酸処理感作赤血球凝集反応が健康人あるいは深在性カンジダ症患者を上回るほど高い凝集抗体価を示していることからカンジダ抗原に対するIII型アレルギー反応の関与を推定し<sup>9)</sup>、Mary Lou Calleraらは気管支喘息患者の気管支粘膜の基底膜にC3, IgM, IgGの沈着を認めやはりIII型アレルギー反応の関与を指摘している<sup>23)</sup>。また木村は、好塩基球・肥満細胞系のIgG receptor刺激によるIII型アレルギー反応の関与を推定している<sup>1),3),6),24),25),26)</sup>。IV型アレルギー反応あるいはリンパ球の関与については、1973年S.Romagnaniらによりハウスダストに過敏な患者の末梢血リンパ球の幼若化反応が健康人対照に比べ亢進することから、その関与が推定されている<sup>27)</sup>。これら種々のアレルギー反応が複雑に絡み合っ気管支喘息の発症に関与するものと考えられるが、その中でも喘息の重症難治化については、肺局所リンパ球・マクロファージ系の活性の亢進即ちIV型アレルギー反応が重要と考えられる<sup>1),2),3),5),6),14),28)</sup>。このIV型アレルギー反応の重要な因子として今回測定を行なったIL-2は1976年Morganら<sup>29)</sup>によりT cell growth factorとして発見され、その後IL-2と命名された。このIL-2はIV型アレルギー反応において、特異抗原刺激に対するリンパ球の感作状態を示すパラメーターであり、特異抗原に対するリンパ球幼若化反応のtriggerとなるという意義を持つと考えられるが、IL-2産生の亢進に際してIL-2 receptorの発現状態によっては結果として生じるリンパ球幼若化反応に差がみられることが知られ

ている。今回の検討では重症難治群に限って IL-2 産生能とリンパ球幼若化反応との間に軽度の正の相関が認められ、重症難治群においては、IL-2 産生と IL-2 receptor の発現が平行して亢進しているものと思われた。気管支喘息の病態における IL-2 産生能に関しては K.H.Hsieh<sup>30)</sup> が小児気管支喘息患者について末梢血リンパ球のハウスダストによる IL-2 産生能が減感作療法後低下することを報告し、小児気管支喘息においてもリンパ球を介する反応が存在する可能性を示している。また1984年、F.C.Rawle<sup>31)</sup> は、ハウスダストの主要抗原である antigen P<sub>1</sub> を用いリンパ球幼若化反応と IL-2 産生の検討を行い、ハウスダストに対する即時型皮内反応陽性の患者においていずれも亢進することを認め Tリンパ球が antigen P<sub>1</sub> により感作されていることを示した。今回のカンジダ抗原による喘息患者の IL-2 産生能に関する検討では、末梢血リンパ球と BALF 中リンパ球の両者において健康人対照と非難治群に比べ重症難治群においてより高い IL-2 産生能が認められた。重症難治性喘息における遷延性発作、ステロイド剤の有効性等も考えあわせると、重症難治群においてはカンジダによる IV 型アレルギー反応が存在すると考えられた。

IV 型アレルギー反応に際し IL-2 とともに産生される種々のリンホカインの、喘息の重症難治化の機序に果たす役割についての報告は少ない。しかし、カンジダ抗原を添加した気管支喘息患者末梢血単核球の培養上清中に IL-2 産生能と正の相関を示す好中球遊走活性 neutrophil chemotactic activity (NCA) の亢進は我々の報告<sup>20)</sup>において他にはなく、その NCA による肺局所への好中球の集積とこの好中球由来の種々の chemical mediator によって、重症難治性喘息が惹起される<sup>1),2),3),6)</sup>と考えられる。

気管支喘息の病態を表わすアレルギー学的パラメーターとの関連で IL-2 産生能を検討したところ、I 型アレルギー反応をあらわす IgE (RIST) 値、IgE (RAST) score の区分での関連は認められず、III 型アレルギー反応をあらわす沈降抗体についても相関は認められなかった。IV 型アレルギー反応の代表的検査法とされる遅延型皮

内反応に関しても、IL-2 産生能との間に関連は認められなかった。これは皮内反応を重症難治群においてはステロイド剤投与中に行っている例が多く、皮膚における IV 型アレルギー反応が抑制されているためであると思われた。

重症難治性喘息においてはステロイド剤が治療薬として用いられており、治療の場でのステロイド依存の状況を見ると、early onset asthma では約5%、late onset asthma では約15%に認められ<sup>2)</sup>、このステロイド依存の代表的病像が中高年発症型難治性喘息<sup>1),2),3)</sup>である。ステロイド剤の治療効果の発現機序については充分明らかではなく、好塩基球、好酸球、好中球よりの LTC<sub>4</sub> の放出抑制が考えられている<sup>2)</sup>以外には非特異的な抗炎症作用が挙げられるのみである。今回の検討ではプレドニゾロンの投与量の増加によりカンジダに対する IL-2 産生能の低下がみられており、in vitro におけるプレドニゾロン添加によっても同様の効果が証明された。このことより IV 型アレルギー反応による重症難治性喘息発作を、ステロイド剤がリンホカイン産生を抑制することにより軽快させるものと思われた。しかしながら、ステロイド剤が IL-2 産生を抑制する機序についてはマクロファージからの IL-1 産生の抑制、あるいはヘルパー T 細胞に直接働き IL-2 産生を抑制することなどが考えられ、更に今後の検討が必要である。

## 結 語

重症難治性喘息における末梢血中及び BALF 中リンパ球のカンジダ抗原による IL-2 産生能を検討し、気管支喘息の中でも重症難治群において末梢血中並びに BALF 中リンパ球のいずれもカンジダ抗原に対する IL-2 産生亢進を認め、カンジダ抗原に感作されたリンパ球による IV 型アレルギー反応が気管支喘息の重症難治化に深く関わっていると思われた。また重症難治性喘息症例のコルチコステロイド投与量をプレドニゾロン換算で10mg/day 未満の群と10mg/day 以上の群と比較したところ10mg/day 以上の群と比較したところ10mg/day 以上の群でカンジダ抗原に対する IL-2 産生能は有意に低値であり、in vitro でのプレドニゾロン添加でもカンジダ抗原に対

する IL-2 産生能は低下した。これより重症難治性喘息におけるステロイド治療の有効性の機序の1つにリンホカイン産生の抑制が存在するものと推察された。

恩師木村郁郎教授に深甚の謝意を表すると共に直接御指導頂いた多田慎也講師、高橋清講師に深謝いたします。

(本論文の要旨は第37回日本アレルギー学会総会に於て発表した。)

稿を終えるにあたり、終始御指導御校閲を賜った

## 文 献

- 1) 木村郁郎, 高橋清: 老人性の難治性喘息-“中・老年発症型難治性喘息”を中心に-. *Pharma Medica* (1987) 5, 45-50.
- 2) 木村郁郎: ステロイド依存に対する見解. *Clinician* (1987) 365, 73-77.
- 3) 木村郁郎: 気管支喘息-アトピー型喘息と中・老年発症型難治性喘息の病態. *香川医師会誌* (1987) 40, 16-26.
- 4) 可部順三郎: 真菌とアレルギー. *治療* (1986) 68, 2030-2034.
- 5) 木村郁郎, 高橋清: 老人喘息とその対策. *現代医療* (1985) 17, 2308-2312.
- 6) 木村郁郎: 遅発アレルギーの発症機序. -細胞反応を中心に-. 第3回免疫薬理シンポジウム議事録(1985) 23-40.
- 7) 木村郁郎, 谷崎勝朗, 高橋清, 多田慎也, 駒越春樹, 周藤真康, 貴谷光, 中山堅吾: 気管支喘息におけるカンジダ抗原の特徴. -統計学的観察. *日胸疾患会誌* (1986) 24, 150-155.
- 8) Pepys J, Hutchcroft B J: Bronchial provocation tests in etiologic diagnosis and analysis of asthma. *Am Rev Respir Dis* (1975) 112, 829-859.
- 9) 月岡一治: カンジダ喘息の発症機序に関する研究. 第3報. 吸入誘発型とI型およびIII型アレルギーの関連について. *アレルギー* (1985) 34, 289-296.
- 10) Busse W W, Storms W W, Flaherty D K, Crandall M, Reed C E: Alternaria IgG precipitins and adverse reactions. *J Allergy Clin Immunol* (1976) 57, 367-372.
- 11) Kaad P H,  $\phi$  stergaard P Aa: The hazard of mould hyposensitization in children with asthma. *Clin Allergy* (1982) 12, 317-320.
- 12) 月岡一治, 広野茂: カンジダ喘息における減感作療法の検討. *アレルギー* (1985) 34, 922-930.
- 13) Pepys J, Turner-Warwick M, Dawson P L, Hinson K F W: Arthus (Type III) skin test reactions in man. Clinical and immunopathological features; In *Excerpta Medica Foundation*, No. 162, Rose B, Richter M, Sehon A, Frankland A W eds. Little, Brown and Company, Boston (1968) pp221-235.
- 14) 多田慎也: 難治と局所リンパ球, *アレルギー* (1986) 35, 581.
- 15) 難波一弘, 沖和彦, 辻光明, 荒木雅史, 中藤研一, 清水一紀, 尾崎公孝, 多田慎也, 高橋清, 谷崎勝朗, 木村郁郎: 遅発型気道反応の発症機序に関する検討. -カンジダ喘息を中心に-. *アレルギー* (1986) 35, 856.
- 16) Takatsu K, Ishizuka K: Reaginic antibody formation in the mouse. VIII. Depression of the ongoing IgE antibody formation by suppressor T cells. *J Immunol* (1976) 117, 1211.
- 17) 木村郁郎, 武田昌, 谷崎勝朗, 高橋清, 多田慎也, 塩田雄太郎, 佐藤恭, 田村尚彦: 気管支喘息患者のBAL液中及び末梢血リンパ球の吸入抗原に対する反応性の検討. *アレルギー* (1984) 33, 812.
- 18) 木村郁郎: 気管支喘息における気道洗浄液. *医学のあゆみ* (1982) 123, 401-411.
- 19) 竹山博泰: 気道細胞反応からみた呼吸器疾患の研究(第1編)気管支肺胞洗浄法による気管支喘息の病態に関する研究. *岡山医誌* (1981) 93, 667-683.

- 20) Gillis S, Marry M F, Winny O U, Smith K A : T cell growth factor : Parameters of production and a quantitation microassay for activity. *J Immunol* (1978) **120**, 2027—2032.
- 21) Pepys J, Faux J A, Longbottom J L, McCarthy D S, Hargreave F E : *Candida albicans* precipitins in respiratory disease in man. *J Allergy* (1968) **41**, 305—318.
- 22) 谷崎勝朗, 駒越春樹, 周藤真康, 貴谷光, 多田慎也, 高橋清, 木村郁郎 : 気管支喘息の発症病態におよぼす加齢の影響について. 2. 好塩基球の反応性. *日老医学会誌* (1987) **24**, 421—426.
- 23) Callerame M L, Condemi J J, Bohrod M G : Immunologic reactions of bronchial tissues in asthma. *New Engl J Med.* (1971) **284**, 459—464.
- 24) 木村郁郎 : 喘息と好塩基球・肥満細胞系. *アレルギー—今日の考え方—* (1987) **2**, 9—11.
- 25) 木村郁郎 : 気管支喘息—その病態と好塩基球—. *アレルギー診療* (1986) **5**, 119—131.
- 26) 岡田千春, 高橋清, 宗田良, 松岡孝, 難波一弘, 荒木洋行, 岸本卓巳, 木村郁郎 : 遅発型気道反応における好塩基球表面結合免疫グロブリンの検討. —IgG receptor の関与を中心に—. *アレルギー* (1988) **37**, 5—11.
- 27) Romagnani S, Bilioti G, Passaleva A, Ricci M : Mites and house dust allergy III. In vitro lymphocyte transformation and precipitating antibody to house dust and mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*) extract in atopic and non-atopic individuals. *Clin Allergy* (1973) **3**, 51—56.
- 28) 宮川秀文, 難波一弘, 白石高昌, 名部誠, 横本晃, 佐藤恭, 武田昌, 多田慎也, 高橋清, 木村郁郎 : 重症難治性喘息におけるIV型アレルギーの関与について. —*Candida* 抗原によるIL-2産生能と好中球遊走活性—. *アレルギー* (1988) **37**, 12—18.
- 29) Morgan D A F, Ruscetti W, Gallo R C : Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science* (1976) **193**, 1007.
- 30) Hsieh K H : Altered interleukin-2 (IL-2) production and responsiveness after hyposensitization to house dust. *J Allergy Clin Immunol* (1985) **76**, 188—194.
- 31) Rawle F C, Mitchell E B, Plutts-Mills T A E : T cell responses to the major allergen from the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*, antigen P<sub>1</sub> : Comparison of patients with asthma, atopic dermatitis, and perennial rhinitis. *J Immunol* (1984) **133**, 195—201.

**Studies on the role of cell mediated immunity in  
the pathogenesis of intractable asthma  
— Evaluation of interleukin 2 production  
in response to Candida antigen —**

**Hidefumi MIYAGAWA**

**Second Department of Internal Medicine,**

**Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

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

**Candida antigen is known to be the major causative agent of adult bronchial asthma, especially intractable asthma. High responsiveness of lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) to Candida antigen has been reported in patients with intractable asthma. Therefore, IL-2 production of peripheral blood (PB) lymphocytes and BALF lymphocytes in patients with various types of bronchial asthma was evaluated to clarify the role of cellular immunity against Candida antigen in the pathogenesis of intractable asthma. IL-2 production of PB lymphocytes in intractable asthma patients was higher than in non-intractable asthma patients and normal controls ( $p < 0.01$ ). Patients with intractable asthma receiving prednisolone at a dose of over 10mg/day showed lower IL-2 production by PB lymphocytes than patients receiving prednisolone at a dose of under 10mg/day. The direct suppressive effect of prednisolone was also evaluated in a vitro study, which revealed that the suppression of IL-2 production was dose dependent in the range of therapeutic concentrations. IL-2 production by BALF lymphocytes against Candida antigen was also studied, and it was shown that IL-2 production was higher in intractable asthma patients than in non-intractable asthma patients ( $p < 0.01$ ). IL-2 production correlated significantly ( $p < 0.05$ ) with lymphocyte blastogenic responses against Candida antigen in patients with intractable asthma.**