

# 喉頭アレルギー患者の喉頭・気管・気管支粘膜における 線維化病変に関する研究

藤田医科大学大学院 医学研究科  
耳鼻咽喉科学 I (指導教授：内藤健晴)

犬塚 雄貴

## 第一章 諸 言

### 1. 慢性咳嗽の歴史と現状

咳嗽はきわめて頻度の高い症状であり、世界的に受診理由として最も頻度が高い症候の1つに挙げられている<sup>1</sup>。英国では10～15%の人が毎日咳嗽を経験しており<sup>2</sup>、欧米では年間100億円以上の医療費が咳の治療のために費やされている。わが国でも医療機関に患者が受診する際の主訴の1位が咳嗽であるが、大多数の症例では胸部レントゲン検査など下気道に異常を示めさない。1990年以前の咳嗽診療は体系化が全くされておらず、このような患者を単に気管支炎あるいは心因性咳嗽などとして、感冒薬や中枢性鎮咳薬を漠然と投与して経過を観察することが少なくなかった。肺に明確な異常がなければ、「命に関わる病気ではないから心配はない」などの説明のもと、決定的な治療効果が得られないままに患者はしつこく続く咳に悩まされていた。しかし、近年QOL (quality of life) に対する意識が高まり、下気道に異常のない慢性咳嗽にも的確な対応が求められるようになってきた<sup>5</sup>。1990年、北米のIrwinらが初めて慢性咳嗽診療の体系化を試み、慢性咳嗽の関心は北米から欧州にも広がった。彼らの報告では、後鼻漏、胃食道逆流、咳喘息を含む気管支喘息が慢性咳嗽の三大疾患とされている。しかし、わが国での藤村の報告では、アトピー咳嗽、咳喘息、副鼻腔気管支症候群 (sinobronchial syndrome : SBS) が三大疾患であり北米のそれとは異なることが指摘されている。そのため、本邦における慢性咳嗽の診療の体系化は本邦独自のものが必要とされることになった。そこで、1999年に全国の咳嗽専門家 (呼吸器内科、耳鼻咽喉科、薬理学者) による日本咳嗽研究会が組織され、2001年には「慢性咳嗽の診断と治療の指針」<sup>8</sup>が発行された。また、2005年には日本呼吸器学会より咳嗽診療の指標として「咳嗽に関するガイドライン」<sup>9</sup>、2012年には「咳嗽に関するガイドライン第2版」<sup>10</sup>が順次発刊された。

咳嗽はガイドライン<sup>10</sup>では持続期間から3週以内の咳

を急性咳嗽、8週以上持続する咳を慢性咳嗽、中間の3～8週の咳を遷延性咳嗽と分類されている。急性咳嗽では感冒後に咳だけが残る感染後咳嗽が多くを占め、遷延性咳嗽も急性程ではないが感染後咳嗽の占める割合は少なくない。慢性咳嗽ではそれら頻度は極めて低くなり、本邦では、最多の咳喘息に続いて胃食道逆流症 (以後、GERD)、副鼻腔気管支症候群など多彩な疾患が原因とされている<sup>11,12</sup>。8週以上とする「慢性」咳嗽の定義には、最終的には自然経過で消失する感染後咳嗽がほぼ消失してくることから、慢性咳嗽ではより確実な診断治療が求められてくる。世界各国の咳の診療ガイドラインでもほぼ一貫して、持続期間8週間以上を慢性咳嗽 (chronic cough) の定義として用いている<sup>13,14</sup>。また、咳嗽は喀痰の有無によって、喀痰を伴わないかより少量の粘液性喀痰のみを伴う乾性咳嗽と、咳嗽のたびに喀痰を伴い、その喀痰を喀出するために生じる湿性咳嗽とに分類される。乾性咳嗽の治療対象が咳嗽そのものであるのに対して、湿性咳嗽の治療対象は咳自体の抑制ではなく、気道過分泌の抑制と喀出促進である。

### 2. 慢性咳嗽の鑑別診断

前述のように急性咳嗽は急性上気道炎と感染後咳嗽が多くを占め、遷延性咳嗽においても感染後咳嗽の占める比率が高いが<sup>15,16</sup>、慢性咳嗽では非感染症が主体となる<sup>11,17</sup>。副鼻腔気管支症候群と慢性気管支炎は湿性咳嗽を呈することが多く、その他の疾患は主に乾性咳嗽を呈するが、若干の例外も存在する<sup>18</sup>。そのため、持続期間<sup>19</sup>、痰の有無に加えて、各疾患に特徴的 (特異的) な病態を熟知することが診療上重要となってくる (表1)。

慢性咳嗽には様々な原因疾患を認め、中でも咳喘息、喉頭アレルギー、アトピー咳嗽はアトピー素因の関与が想定される類似した原因疾患であり、治療上、鑑別が要求される。中でも、喉頭アレルギーは慢性咳嗽の原因として耳鼻咽喉科領域では後鼻漏に並んで重要な疾患として位置づけられている<sup>20</sup>。慢性型喉頭アレ

ルギーは喉頭粘膜を標的としたI型アレルギーであり執拗な咳嗽や咽喉頭異常感を2大症状としている。慢性的に経過する喉頭アレルギーはその診断の難しさから慢性喉頭炎として治療されることも少なくない。しかし、花粉症における咽喉頭症状などの臨床的検討や基礎研究から近年その認知度が高まりICD-10にも記載され、診断基準においても種々の改訂が加えられた(表2)<sup>21</sup>。一方で、前述したとおり、咳喘息は、慢性咳嗽の原因疾患として欧米では後鼻漏/鼻副鼻腔炎や

表1 慢性咳嗽の各原因疾患と特異的な病歴

<ul style="list-style-type: none"> <li>・咳喘息：夜間～早朝の悪化(特に眠れないほどの咳や起坐呼吸)、症状の季節性・変動性</li> <li>・アトピー咳嗽：症状の季節性、咽喉頭のイガイガ感や痒痒感、アレルギー疾患の合併(特に花粉症)</li> <li>・喉頭アレルギー：咽喉頭のイガイガ感や痒痒感、アレルギー疾患の合併(特に花粉症)</li> <li>・副鼻腔気管支症候群：慢性副鼻腔炎の既往・症状、膿性痰の存在</li> <li>・胃食道逆流症：食道症状の存在、会話時・食後・起床直後・上半身前屈時の悪化、体重増加に伴う悪化、亀背の存在</li> <li>・感染後咳嗽：上気道炎が先行、徐々にでも自然軽快傾向(持続期間が短いほど感染後咳嗽の可能性が高くなる)</li> <li>・慢性気管支炎：喫煙者の湿性咳嗽</li> <li>・ACE阻害薬による咳：服薬開始後の咳</li> </ul>
--

文献6 一部改変

表2 通年性喉頭アレルギーのきびしい診断基準(2011年版)  
[喉頭アレルギー診断基準検討委員会起案]

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 喘鳴を伴わない8週間以上持続する乾性咳嗽</li> <li>2. 8週間以上持続する咽喉頭異常感(痒痒感、イガイガ感、痰が絡んだような感じ、チクチクした感じの咽頭痛など)</li> <li>3. アトピー素因を示唆する所見(注1)の1つ以上認める</li> <li>4. 急性感染性喉頭炎、特異的喉頭感染症(結核、梅毒、ジフテリアなど)、喉頭真菌症、異物、腫瘍などその他の咳や異常感の原因となる局所所見がないこと(典型所見としては披裂部蒼白浮腫状腫脹を認める)</li> <li>5. 胸部X線撮影、肺機能検査が正常</li> <li>6. 胃食道逆流症(注2)、後鼻漏(注3)が想定されない</li> <li>7. 症状がヒスタミンH1拮抗薬で著名改善もしくは消失する</li> </ol> <p>追加事項：上記の内、1. 欠落した場合には5.は満たさなくてよい。</p> <p>注1. アトピー素因を示唆する所見</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 喘息以外のアレルギー疾患の既往あるいは合併</li> <li>(2) 末梢血好酸球増加</li> <li>(3) 血清Ig-E値の上昇</li> <li>(4) 特異的Ig-E陽性</li> <li>(5) アレルゲン皮内テスト即時型反応陽性</li> </ol> <p>注2. 胃食道逆流症が想定される所見(1つ以上を認める)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 24時間食道pHで胃食道逆流陽性</li> <li>(2) 食道ファイバーで胃食道逆流所見陽性</li> <li>(3) 食道透視で胃食道逆流所見陽性</li> <li>(4) 咳嗽や異常感がプロトンポンプ阻害薬で著明に改善もしくは消失する</li> <li>(5) げっぷ、胸やけ、呑酸がある</li> </ol> <p>注3. 後鼻漏が想定される所見(1つ以上を認める)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 後鼻漏を明確に訴える</li> <li>(2) 咽喉頭後壁に後鼻漏を視診で認める</li> <li>(3) 鼻咽頭ファイバーで鼻咽腔に後鼻漏を認める</li> </ol>
--

表3 咳喘息の診断基準

<p>以下の1.～2.の全てを満たす</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 喘鳴を伴わない咳嗽が8…週間(3週間)以上持続 聴診上もwheezeを認めない</li> <li>2. 気管支拡張薬(β刺激薬またはテオフィリン製剤)が有効</li> </ol>
--

参考所見

- 1) 末梢血・喀痰好酸球増多、呼気中NO濃度高値を認めることがある(特に後2者は有用)
- 2) 気道過敏性が亢進している
- 3) 咳症状にはしばしば季節性や日差があり、夜間～早朝優位のことが多い

GERDと並んで頻度が高く、我が国ではほとんどの報告で最も頻度が高いとされている<sup>7,12,22</sup>。咳喘息は喘鳴や呼吸困難を伴わない咳嗽が唯一の症状であり、呼吸機能はほぼ正常、気道過敏性軽度亢進、気管支拡張薬が有効であると定義される喘息の亜型(咳だけを症状とする喘息)である<sup>23</sup>。また、喀痰、気管支肺胞洗浄液、気管支生検組織の好酸球数が増加し、増加の程度が重症度と相関することから、典型的喘息と同様に好酸球の関与が想定されている。このことから、吸入ステロイド薬(inhaled corticosteroids: ICS)が咳喘息の第一選択薬と位置づけられ、実際にその効果は高い。一方、喘息でも報告されているように、喀痰における好酸球、好中球の両者の増加(混合性炎症)が難治化(ICSの減量困難)に関わるとの報告がある<sup>25</sup>。炎症の持続に伴う気道リモデリング(基底膜肥厚、杯細胞増生、血管新生、気道壁肥厚)も典型的喘息と同様に存在し、咳喘息の抗炎症治療の重要性を示唆する。咳喘息の診断基準を表3に示す。吸入β2刺激薬が咳に有効であることが咳喘息に特異的な所見であることから、気管支拡張薬で咳嗽が改善すれば咳喘息と診断できる。しかし、慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease: COPD)の咳にも有効とのエビデンスもあり<sup>28</sup>、喫煙患者では留意しなければならない。

### 3. 喉頭アレルギー、咳喘息の相違点

喉頭アレルギーは種々の研究から病態面で喉頭にI型アレルギーが生じることで発症していると分かっており、臨床的には抗ヒスタミン薬が有効であることから、その病態には何らかの抗原に感作されたマスト細胞から脱顆粒されるヒスタミンが関与していると考えられている。しかし、これまでヒト喉頭を用いた研究は少なく、ヒト喉頭における喉頭アレルギーの咳発現のメカニズムについて完全に把握できていないわけではない。これに対して、同じく慢性咳嗽の原因である咳喘息はCorraoらにより最初に報告され、喘鳴や呼吸困難を伴わない慢性咳嗽のみを訴え、呼吸機能はほぼ正常であるが下気道過敏性が軽度亢進しており、気管支拡張薬が有効であるとされている。基本的な病態は、外因性抗原へのI型アレルギーが少なくとも一部の患者で関与するが、個々の抗原での特異的IgE抗体の陽性率、陽性抗原数、総IgE値は典型的喘息に比して低いとされ、平滑筋の気道攣縮が咳受容体(Aδ受容体)を刺激して咳を生じると考えられている。気道過敏性は、典型的喘息に比して軽度あるいは同等であるとされる。また、喘息同様に気道リモデリングも存在する<sup>12,26</sup>。そのため、気管支拡張薬が有効であることが特異的な所見であり改善されれば咳喘息と診断できる<sup>26</sup>。治療法も、典型的喘息に基づいてICSが第一選択

薬となる。このように、喉頭アレルギー、咳喘息とでは想定される病態や治療法が異なっており、咳喘息はアレルギー性炎症の関与が指摘されている慢性咳嗽3疾患（咳喘息、アトピー咳嗽、喉頭アレルギー）の中で、病態や治療法が際立って異なると考えられる。

#### 4. 今回の研究の目的・計画

「アレルギー性気道炎症」には、好酸球、T細胞、マスト細胞などの炎症細胞に加え、気道上皮、線維芽細胞をはじめとする気道構築細胞、及び種々の液性因子が関与する。例えば好酸球はロイコトリエン(LT)C<sub>4</sub>、D<sub>4</sub>といった化学伝達物質を放出し、気道平滑筋収縮作用や血管透過性亢進作用を示す<sup>33</sup>。気道平滑筋は気管支を取り巻いており、その収縮は気道の狭窄をきたし、臨床的には喘鳴を生ずる。さらに血管透過性が亢進し気道粘膜の浮腫が生じ、気道狭窄は増強する。顆粒蛋白は気道上皮を剥離させ、知覚神経末端の露出をきたし、神経系（迷走神経反射や知覚神経の軸策反射）を介した咳、胸部拘扼感を引き起こすとともに、気道炎症のさらなる増強をきたす。好酸球以外の細胞、マスト細胞やリンパ球も炎症性サイトカインや化学伝達物質を放出し気道炎症に関与する。こういった「炎症」は重要な気道過敏性亢進の要因となる<sup>34</sup>。

炎症による気道障害が起きた組織においては同時に炎症の修復過程として障害部位への上皮細胞の遊走・気道上皮の杯細胞化が起きる。この際、過剰な修復状態として基底膜の肥厚や気管支平滑筋の肥大、気管支粘膜下腺の過形成などの気道組織のリモデリングが生ずる。喘息の病態においてIL-4、IL-13、TGF- $\beta$ 1刺激により、気道上皮細胞や線維芽細胞などからペリオスチンが産出され気道リモデリングを促進するとされる<sup>35</sup>。また、ペリオスチンは、インテグリンを介して好酸球の遊走・接着を促進し、特にO<sup>2-</sup>産生などの好酸球の機能活性を亢進するとされる<sup>36</sup>。

著者は喉頭アレルギーと咳喘息の喉頭粘膜および気管・気管支粘膜標本を用いてそれぞれの気道粘膜の「アレルギー性炎症」を評価するため基底膜の線維化を中心とした変化を2疾患で比較検討し、これら2疾患の相違点を明らかにすることで喉頭アレルギーの病態解明に繋がるのではと考え、今回の研究を行った。上記のことを踏まえ、著者は喉頭アレルギーおよび咳喘息症例を対象に喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部および右2次分岐部より生検を実施し、近年、2型免疫反応のみならず、生体反応内でのリモデリングあるいは線維化の程度を反映するバイオマーカーとして注目されているペリオスチンの染色を行った。また、アレルギー疾患において細胞増殖、線維芽細胞の増殖、遊走促進、T細胞の増殖抑制や機能抑制に関与するサイ

トカインであるTGF- $\beta$ 1での染色を行い、さらに線維化の評価としてエラスチカ・ワンギーソン染色(EVG染色)で、膠原繊維、弾性繊維の増殖評価を行なった。加えて、組織浸潤好酸球数と今回のそれぞれの染色評価との相関関係を検討した。

下記に検討項目をまとめて示す。

検討1：喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部および右2次分岐部粘膜におけるペリオスチン、TGF- $\beta$ 1、EVGの染色性の評価

検討2：喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部および右2次分岐部における各々の染色性と組織浸潤好酸球数との比較検討

## 第二章 研究方法、対象および結果

検討1：喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部および右2次分岐部粘膜におけるペリオスチン、TGF- $\beta$ 1、EVGの染色性の評価

### 1. 目的

ペリオスチンは細胞外マトリックス分子の一つであり、肺、心臓、皮膚、骨膜などさまざまな組織で発現が認められ、定常状態での組織の構造維持に働いている。一方、ペリオスチンはマトリセルラータンパク質としての側面もあわせ持っており、受容体を介して細胞にシグナルを入れ、細胞の活性化・生存・遊走に働く。アレルギー疾患をはじめとするさまざまな炎症・線維化疾患では発現が増強し、病変部位への強い沈着が認められ、炎症の病態形成に深く関与していることが示唆されている<sup>37,38</sup>。また、TGF- $\beta$ 1はペリオスチンを産出させる刺激因子でもあり、細胞増殖、線維芽細胞の増殖、遊走促進、T細胞の増殖抑制や機能抑制に関与するサイトカインとされている。

今回、喉頭アレルギーと咳喘息疾患において、気道の部位別による線維化の程度を把握し、喉頭アレルギーと咳喘息の両疾患で比較検討をし、それぞれの病態の相違を明らかにする目的で本検討を行った。

### 2. 対象と方法

#### A. 対象

対象は2004年4月から2005年12月までの間に慢性咳嗽を主訴に藤田保健衛生大学病院（以後、当院）咳外来を受診し、了承が得られた症例の気道粘膜を材料として使用する旨を藤田保健衛生大学倫理委員会（本学倫理委員会）に申請し、承認（受付番号13-120）が得られた標本とした。過去に採取された生検標本を使用することとした理由は、特にアレルギー素因のある喉頭粘膜は生検操作後の浮腫による急激な気道狭窄による窒息や嘔声をきたす危険性や、気管生検では外

表4 対象患者の臨床データ

	性別	年齢	咳嗽期間 (日)	白血球数	好酸球比率 (%)	IgE-RIST (IU/ml)	RAST	メサコリン吸入試験 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	咳感受性試験 ( $\mu\text{m}$ )
咳喘息群									
1	F	73	68	4400	1	69.2	陰性	5000	16
2	F	30	56	6600	2	82.2	陰性	5000	2
3	F	38	56	6200	3	12.2	陰性	5000	8
4	M	24	60	6000	1	289	3種類	2500	8
5	M	51	180	9100	3	153	1種類	5000	8
6	F	30	56	5300	1	58.6	1種類	5000	2
7	M	28	90	5900	5	122	陰性	5000	16
8	F	38	2500	6500	11	276	陰性	2500	16
9	F	24	60	6200	3	62.4	陰性	2500	8
10	F	51	60	6500	3	42.6	陰性	2500	4
11	M	45	112	6500	2	305	陰性	625	8
喉頭アレルギー群									
1	M	66	1000	9400	2	110	1種類	陰性	実施せず
2	M	30	90	6800	2	60.4	2種類	陰性	実施せず
3	F	71	90	5200	2	86.4	2種類	陰性	2
4	F	75	1800	7200	3	110	陰性	陰性	1
5	M	57	120	14800	5	35.9	陰性	陰性	実施せず
6	F	39	56	3900	4	103	2種類	陰性	64
7	F	75	150	6000	2	8.8	陰性	陰性	8
8	F	56	240	6100	5	553	2種類	陰性	4
9	M	28	90	9000	1	47.9	陰性	陰性	16
10	F	53	540	5100	1	25	1種類	陰性	16
11	F	37	56	11000	3	162	1種類	陰性	4

傷性気胸あるいは出血による血胸、気管内出血による窒息などの重篤な合併症を招く危険が想定されることから、研究目的とはいえアレルギーなどの良性疾患に対して容易にこのような生検を行うことがはばかれる昨今の世相より新規の臨床研究としては倫理的な観点から問題となることが予想されたことによる。そこで、本研究においては過去（2004年4月～2005年5月）に当院で採取された生検組織を利用し新たな手法で組織学的研究を行うことで改めて再検討することにした。また、過去に採取した組織標本を本研究に応用することについては、当時の生検担当者であった清水秀康先生の許可を得てから行った。

前述のように本学倫理委員会に申請し了承の得られた対象症例は、日本咳嗽研究会の提唱する喉頭アレルギーのきびしい診断基準に基づいて喉頭アレルギーと診断された患者（喉頭アレルギー群）11例（男性4例、女性7例、平均年齢41.6歳、平均咳嗽期間300日）と、咳喘息の診断基準に基づいて咳喘息と診断された患者（咳喘息群）11例（男性4例、女性7例、平均年齢54.7歳、平均咳嗽期間385日）である。対象より喉頭内視鏡下での生検で得られた喉頭粘膜標本および気管支鏡下の生検で得られた気管・気管支粘膜標本を用いて基底膜の線維化を中心とした変化を評価し、それらの病態の相違を検討した。また、2005年4月から2005年12月までに当院呼吸器内科を受診したアトピー素因、気道過敏性、喫煙歴のない肺癌患者5例（男

表5 患者の臨床背景

	コントロール群	咳喘息群	喉頭アレルギー群
症例数	5	11	11
男女比	3 : 2	4 : 7	4 : 7
年齢(歳) (平均±標準偏差)	69.4±12.4	41.6±15.9	54.7±18.5
有症期間(日) (平均±標準偏差)	なし	300±731	385±550

性3例、女性2例、平均年齢69.4歳)をコントロール群とした。

喉頭アレルギー群および咳喘息群の詳細なデータを表4に示す。各群の臨床背景は表5に示すとおりであるが、年齢、有症期間、末梢血好酸球比率、咳閾値に統計学的な有意差は認めず、気道過敏性試験として実施したメサコリン吸入試験では有意差( $P < 0.05$ )をもって咳喘息群のみに下気道過敏性を認めた。また、IgE-RISTでは喉頭アレルギー群および咳喘息群において、コントロール群と比較してそれぞれ有意差( $P < 0.05$ )をもって高値を示した。

## B. 方法

### 【ペリオスチン染色方法】

得られた組織をホルマリン固定パラフィン包埋した後、薄切切片を作成し、脱パラフィン後にクエン酸緩衝液(pH6)に浸し、マイクロウェーブ処理(90°C, 20分間)にて抗原性賦活化を施した後、一次抗体とし

てAnti-Periostin antibody ab14041 (abcam 社製) を37°Cで60分間反応させた後、2次抗体として抗マウス、ウサギ・ペルオキシダーゼ標識2次抗体(Histofine Simple Stain MAX-PO Multi)を用いて37°Cで30分間反応させた。発色剤としてジアミノレベンチジン(DAB)を用い、ヘマトキシリンにて核染色を施し封入しペリオスチン染色標本を作製した。

**【TGF-β1 染色方法】**

得られた組織をホルマリン固定パラフィン包埋した後、薄切切片を作成し、脱パラフィン後にクエン酸緩衝液(pH6)に浸し、マイクロウェーブ処理(95°C, 20分間)にて抗原性賦活化を施した後、一次抗体としてAnti-TGF-β1 Human Mouse-Mono 500ug (Peprotech 社製)を用い37°Cで60分間反応させた後、2次抗体として抗マウス、ウサギ・ペルオキシダーゼ標識2次抗体(Histofine Simple Stain MAX-PO Multi)を用いて37°Cで30分間反応させた。発色剤としてジアミノレベンチジン(DAB)を用い、ヘマトキシリンにて核染色を施し封入しTGF-β1染色標本を作製した。

**【EVG 染色方法】**

得られた組織をホルマリン固定パラフィン包埋後、薄切切片を脱キシレン、水洗後、1%塩酸・70%エタノールにてなじませ前田変法レゾルシンフクシン液にて60分間染色させ、100%エタノールにて分別し、余分な染色液を除去した。流水水洗後、ワイトゲルト鉄ヘマトキシリン液にて5分染色させた。流水水洗後ワンギーソン液にて10分染色させ水洗脱水封入EVG染色を施した組織標本を作製した。

**3. 染色性の評価法**

得られた染色標本スライドを用いて顕微鏡(OLYMPUS BX50)下にて観察を行った。観察された検体のうち、組織検体不良で評価に適さないコントロール群2例、咳喘息群1例、喉頭アレルギー群2例は今回の検討対象から除外した。作製された標本をペリオスチン染色標本では基底膜、基底膜下での染色性を、TGF-β1染色標本では上皮での染色性を、EVG染色標本では基底膜での染色性をそれぞれ、0~4(0:まったく染色されない, 1:ごく軽度の染色, 2:軽度の染色, 3:中等度の染色, 4:強度の染色)の5段階でスコア化した。図1にスコア評価サンプル例を示す。さらに、染色性の評価をより客観化するため、当教室耳鼻咽喉科医4名(それぞれ耳鼻咽喉科医経験年数24年, 8年, 6年, 3年), 当大学研究支援推進センター再生医療支援推進施設技師1名(技師経験年数14年)にそれぞれ評価してもらった。5名の各評価者には事前にスコア例について0~4まで画像を提示し

た。それぞれの染色性の評価の有意差にはt検定を使用した。

**4. 結果**

5名による評価スコアを平均化し表6にそれぞれの平均値を示す。

**A. ペリオスチン染色性評価**

図2に示す通り、喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部、右2次分岐部においてコントロール群と比較して咳喘息群、喉頭アレルギー群ともに強く染色される傾向にあった。気管分岐部においてはコントロール群と喉頭アレルギー群の間において有意差を認めた(P<0.05)。

**B. TGF-β1 染色性評価**

図3に示す通り、TGF-β1では気管分岐部、右2

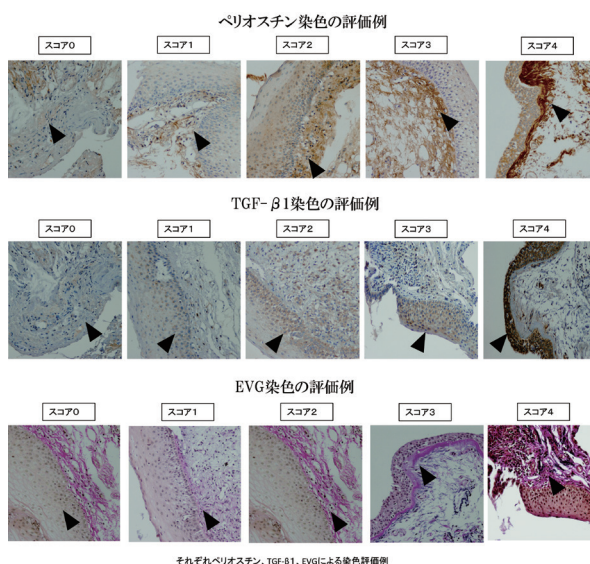


図1 染色の評価例  
それぞれTGF-β1, ペリオスチン, EVG染色例。  
▲: それぞれの染色スコア評価部位

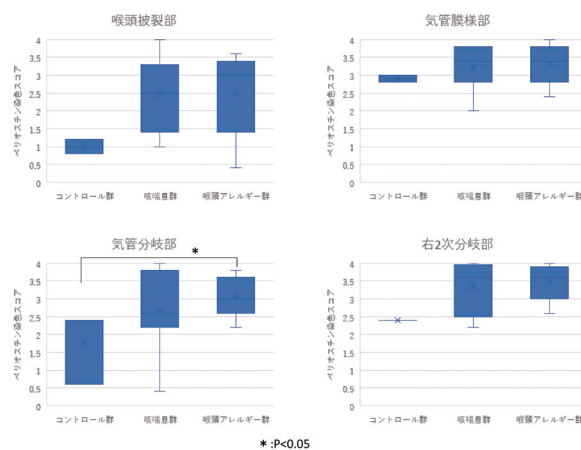


図2 ペリオスチン染色スコア平均値の各気道部位での各群の比較  
喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部および右2次分岐部におけるペリオスチン染色スコアの比較検討

表6 評価者（5名）の各気道部位での各染色スコアの平均値

コントロール群	ペリオスチン染色スコア(平均値)				TGF-β1染色スコア(平均値)				EVG染色スコア(平均値)				
	喉頭	気管膜様部	気管分岐部	右2次分岐部	喉頭	気管膜様部	気管分岐部	右2次分岐部	喉頭	気管膜様部	気管分岐部	右2次分岐部	
1	0.8	3	2.4	×	2	3	2.6	×	1.4	3.4	3.4	×	
2	1.2	×	2.4	2.4	2.4	×	0.4	1.4	2.6	×	3.4	3.4	
3	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
4	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
5	×	2.8	0.6	×	×	3.4	1.8	×	×	3.2	0.2	×	
咳喘息群													
1	4	×	×	×	4	×	×	×	3.2	×	×	×	
2	1.2	3.4	0.4	3.8	1.2	3	0	2.4	1.8	3.2	3.8	2.8	
3	1	×	×	×	1	×	×	×	3	×	×	×	
4	×	3.8	3.8	3.4	×	3	0.4	2.2	×	2	3.6	2.4	
5	3.4	2.8	2.6	4	2	2.2	3.8	1.6	1	1.8	3.2	3.4	
6	×	3.8	4	×	×	4	1.6	×	×	3.8	3.8	×	
7	3	3.8	2.2	×	1.6	3.4	3	×	2.4	3.4	3.2	×	
8	2.8	3	3.2	×	0.8	2.4	3	×	2.2	3.2	3.6	×	
9	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
10	2	×	×	×	0.4	×	×	×	1.4	×	×	×	
11	2.2	2	×	2.2	0.8	1.2	×	1	1.4	2.2	×	2.6	
喉頭アレルギー群													
1	×	3.4	2.4	2.6	×	2.6	2.8	1	×	3.4	4	3.4	
2	×	2.4	2.2	3.6	×	0.8	4	2.8	×	3.2	3	3	
3	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
4	3.6	×	3.8	3.4	2.8	×	3.8	3.4	4	×	4	3.8	
5	3	3.2	3	4	0.4	0.8	2	0	2.6	2.2	2.6	2	
6	2.4	×	×	×	1.6	×	×	×	2	×	×	×	
7	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
8	1.4	4	3.4	3.8	1.2	1	1.6	3.8	2.2	3.2	3.4	3	
9	3.2	×	×	×	1	×	×	×	3.2	×	×	×	
10	0.4	3.6	3	×	2.2	3	4	×	3.8	3.4	3.4	×	
11	3.4	×	×	×	1.2	×	×	×	1.6	×	×	×	

×：検体不良にて評価困難であった標本

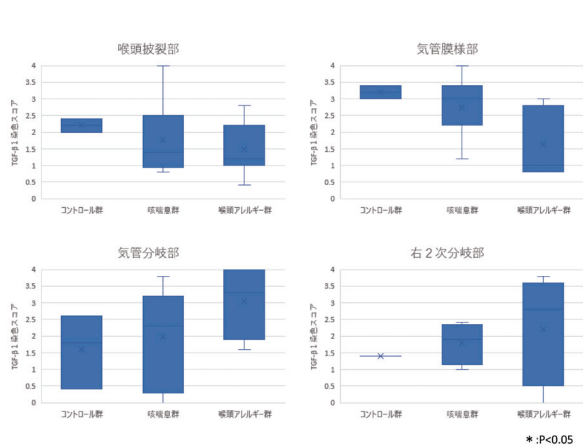


図3 TGF-β1染色スコア平均値の各気道部位での各群の比較  
喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部および右2次分岐部におけるTGF-β1染色スコアの比較検討

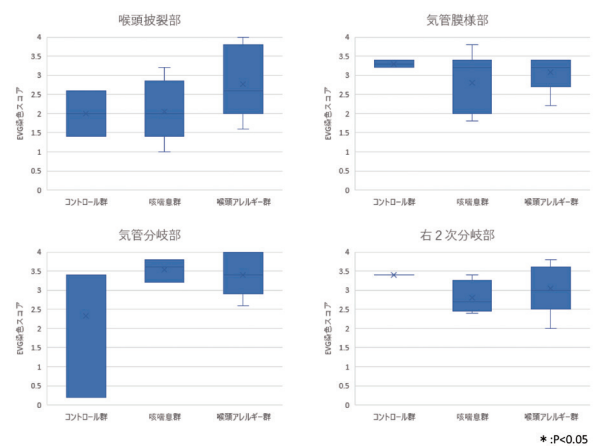


図4 EVG染色スコア平均値の各気道部位での各群の比較  
喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部および右2次分岐部におけるEVG染色スコアの比較検討

次分岐部では咳喘息群、喉頭アレルギー群がやや強く染色される傾向にあったが、喉頭披裂部、気管膜様部ではコントロール群が逆にやや強く染色された。いずれの間でも有意差は認めなかった。

### C. EVG 染色性評価

図4に示す通り、EVG染色評価では、喉頭披裂部では、喉頭アレルギー群に強く染色される傾向があった。気管膜様部、気管分岐部、右2次分岐部ではコントロール群、咳喘息群、喉頭アレルギー群ともに明ら

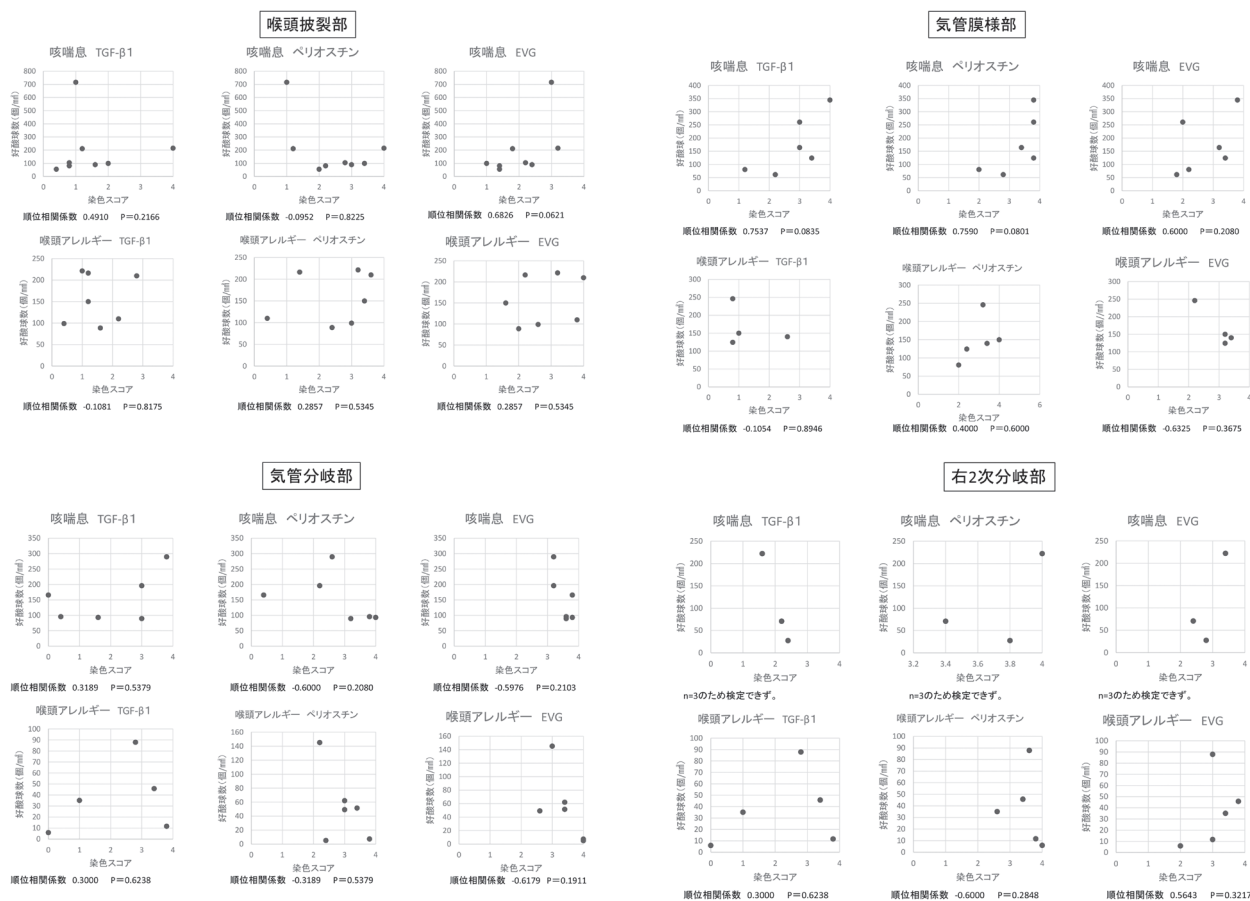


図5 各染色スコア平均値と局所浸潤好酸球数の各気道部位での喉頭アレルギー、咳喘息での相関の関係

かな相違は見られず、それぞれ有意差は認めなかった。

## 5. 小 括

それぞれの診断基準に基づいて喉頭アレルギー、咳喘息と診断された患者を対象に、非喫煙者でアトピー素因のない肺癌患者をコントロール群として設定し、気道各部における基底膜を中心とした線維化を評価、スコア化し、各群間にて比較検討を行った。ペリオスチン染色では、コントロール群と比較し、各部位においてやや強く染色された傾向があった。気管分岐部においてはコントロール群と比較し喉頭アレルギー群において有意差 ( $P > 0.05$ ) を認めた。TGF- $\beta 1$ については3群間でいずれの部位でも有意差は認めなかった。EVG染色においては喉頭披裂部において喉頭アレルギー群にやや強く染色された傾向はみられたが、気道各部においては有意な相違を認めなかった。まとめてみると今回の検討では、コントロール群に比して喉頭アレルギー群、咳喘息群でペリオスチンの染色性が強い傾向にあり、特に喉頭アレルギー群の気管分岐部ではコントロール群と有意差を認めた。

## 検討2：喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部および右2次分岐部における各々の染色性と組織浸潤好酸球数との比較検討

### 1. 目 的

Jia<sup>39</sup>らは、気管支喘息患者において気道上皮の好酸球浸潤の程度と、血清ペリオスチン濃度が相関することを示しており、また、太田<sup>40</sup>らは、慢性副鼻腔炎患者において、血清ペリオスチン高値群では、低値群と比較して末梢血好酸球数が高値であると報告している。

検討1にて、咳喘息、喉頭アレルギーの疾患群ともに各部位にてペリオスチン、TGF- $\beta 1$ 、EVGの発現を認めており、喉頭アレルギーや咳喘息においても、組織のペリオスチンの染色スコアと組織の好酸球数との相関がみられる可能性が考えられた。そこで、今回得られたそれぞれの染色スコアと局所浸潤好酸球数との相関について検討を行った。

### 2. 対象と方法

#### A. 対象

検討1の染色評価を行った同じ対象症例とした。

#### B. 方法

#### 【好酸球の評価方法】

得られた組織標本をホルマリン固定パラフィン包埋

表7 咳喘息群、喉頭アレルギー群における各気道部位での局所浸潤好酸球数 (個/mm)

		喉頭披裂部	気管膜様部	気管分岐部	右2次分岐部
コントロール群	1	66.87	9.65	6.9	2.69
	2	36.88	0	9.51	57.09
	3	58.49	×	×	×
	4	18.85	×	×	×
	5	×	0	×	×
咳喘息群	1	214.58	×	×	×
	2	210.94	163.79	165.57	27.4
	3	715.816	×	×	×
	4	×	260.46	95.53	70.69
	5	98.87	61.24	289.6	222.01
	6	×	344.24	92.96	101.37
	7	89.35	124.01	195.89	79.61
	8	104.31	×	89.3	179.52
	9	89.02	×	×	×
	10	54.66	×	×	×
	11	80.98	80.43	210.7	×
喉頭アレルギー群	1	211.09	139.88	5.14	35.04
	2	×	124.29	145.19	87.87
	3	×	×	×	×
	4	209.82	81.72	7.34	45.78
	5	98.8	245.81	49.25	5.89
	6	88.59	×	×	×
	7	225.98	×	×	×
	8	216.26	149.82	51.56	11.61
	9	221.26	×	×	×
	10	109.77	×	62.03	9.82
	11	149.83	×	×	×

×：検体不良のため評価困難であった標本

後、薄切片を用い、脱パラフィン後に pH6 クエン酸バッファーに浸し、マイクロウェーブ処理 (95°C, 20 分間) にて抗原性賦活化を施した後、MBP を標的とした一次抗体として Ms X Eosinophil Major Basic Protein (MAB1086) [1 : 200] を 37°C で 60 分間反応させた後、2 次抗体として抗マウス、抗ウサギ・ペルオキシダーゼ標識 2 次抗体 (Histofine Simple Stain MAX-PO Multi) を用い 37°C で 30 分間反応させた。発色剤としてジアミノベンチジン (DAB) を用い、ヘマトキシリンにて核染色を施したのちに封入した後、顕微鏡にて観察した。単位面積 (mm<sup>2</sup>) あたりの好酸球数を算定した。相関性についてスperlマンの順位検定を用いて有意差検定を行った。

### 3. 結 果

図5に示す通り、喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部、右2次分岐部それぞれの部位にて喉頭アレルギー群と咳喘息群の間でペリオスチン、TGF-β1、EVG 染色スコアと局所浸潤好酸球数との相関において有意差のある特別な関係は認められなかった。また、有意差は認めなかったが喉頭披裂部の咳喘息群の TGF-β1、EVG にて好酸球数と正の関係を示し、気管膜様部は咳喘息群の TGF-β1、EVG、ペリオスチンにて好酸球数と正の関係を示した。気管分岐部では、咳喘息群の

ペリオスチン、EVG、喉頭アレルギー群の EVG にて負の関係を示し、右2次分岐部の喉頭アレルギー群のペリオスチンでは負の関係、EVG では正の関係を示した。しかし、いずれも有意差は示さなかった。

### 4. 小 括

喉頭アレルギー、咳喘息において検討1で得られたペリオスチン、TGF-β1、EVG 各染色スコア値と組織好酸球数を比較検討したが、各染色と組織浸潤好酸球数との間で各群において有意差をもって相関を認める部位は認めなかった。

## 第三章 考 察

Williams<sup>41</sup>によると、喉頭アレルギーについて初めて言及したのは Alimov というロシア人であり、急性慢性喉頭炎の一部がアレルギーであるとしている。Moses<sup>43</sup>は、アイスクリームを食べた後に声帯に強い浮腫をきたした9歳の少年の例を報告している。Paparella<sup>44</sup>は、ハチの刺傷による披裂部の高度な浮腫の例を報告している。Wolf<sup>45</sup>は、反復性の喉頭炎、気管支炎の小児の一部をアレルギー性としている。喉頭アレルギーは、このように何らかのアレルギー性誘因によって喉頭に炎症や浮腫をきたしたものを報告したことに始まる。



しかしこれらのなかには、Quincke 浮腫と呼ばれている血管神経性の浮腫も含まれている可能性もある。本邦においては、沢木が Williams の報告を中心とした文献的な考察により、喉頭アレルギーの概念を紹介したのが最初と思われる。

さらに、Pang<sup>47</sup>によって、喉頭アレルギーは急激な喉頭浮腫による気道狭窄のため、管理を誤ると致命的になる急性あるいはアナフィラキシー型のものと鼻アレルギーや喘息のように緩徐な経過を呈する気道アレルギーの一つとしてみられる慢性のものに分類された。また、1964年本邦では、堀口らが初めて報告したスギ花粉症の中にすでに咽喉頭症状の記載を認め、さらに内藤ら<sup>49</sup>は実際にスギ花粉症患の咽喉頭症状の頻度を38.0%～70.0%と比較的高いことを報告している。また、慢性咳嗽患者にアトピー素因を有することが多いこと、咽喉頭異常感症患者のなかにアレルギーの関与を疑わせる症例がいくらか存在することなどから、咽喉頭に慢性型のアレルギーがあるのではと考えられるようになった。そのような中、1988年に喉頭アレルギー研究会（現・喉頭アレルギー診断基準検討委員会）が発足し、多くの検討や研究がなされてきた。さらに、疾患概念、診断基準確立のため臨床的に的確のものとするため、Pangが提示した慢性型喉頭アレルギーをさらに季節性アレルギー性鼻炎のようにスギ・ヒノキ科花粉などによる季節性のもとの、通年性アレルギー性鼻炎のようにダニなどによる1年を通して症状を呈する通年性のもとのに分類することとし、それぞれのタイプの喉頭アレルギーの診断基準が喉頭アレルギー研究会世話人会により作成された。その後、2000年、2005年<sup>53</sup>と改訂が加えられ、現在は喉頭アレルギー診断基準検討委員会による2011年度版が示されている<sup>54</sup>。最近の本邦における喉頭アレルギーの研究について述べると、基礎的な実験から喉頭においてI型アレルギーが起きうるか、抗原特異的であるかを確認するために、モルモットに卵白アルブミン(OA)で感作し、喉頭の病理所見を観察した。その結果、鼻腔ほどではないが喉頭においてもI型アレルギーが起きることが判明し、特異的免疫療法で有意に抑制されることから、この反応が抗原特異的な反応であることがわかった<sup>29</sup>。Sakuraiらはラットにスギ花粉の主要抗原の一つであるCryjIで経気道感作した実験を行い、その結果、スギ花粉抗原感作ラットの喉頭においても鼻腔と同様、好酸球の浸潤が有意に増加し、スギ花粉による喉頭アレルギーが起きることが確認された<sup>31</sup>。また、ヒト喉頭粘膜上皮にはM細胞(microfold cell)が存在し、抗原を通過させ認知させ得る能力を有し<sup>55</sup>、抗原提示細胞の一つであるマクロファージの存在も指摘されているので<sup>56</sup>、喉頭局所において感作が成立すると考えられている。一

方で、ヒトの喉頭粘膜における喉頭アレルギー症例における組織学的研究は極めて少なく清水<sup>57</sup>、村嶋<sup>58</sup>の報告をみるのみである。

喉頭アレルギーと類似する疾患である咳喘息の歴史は、1972年のGlauer<sup>59</sup>による咳嗽を主訴とする喘息患者の報告に続き、1975年のMcFadden<sup>60</sup>、1979年のCorrao<sup>23</sup>による咳喘息の集計が始まる。一方、本邦では1983年に牧野<sup>61</sup>、1987年中島によりアレルギー性気管支炎の概念が提唱された。1989年には藤村<sup>63</sup>がアトピー咳嗽という概念を提唱し、これら類似する疾患の存在で混沌としてきた。新実<sup>24</sup>は、咳喘息においても好酸球性炎症が惹起されており、咳喘息の重症度と好酸球性炎症の程度が相関していることを報告し、さらに咳喘息患者では気管支上皮の基底膜下層にも肥厚がみられ、すでにリモデリングが起きている可能性を示唆している。咳喘息の概念が確立し、病態についての知見が報告されるなかで、2001年咳喘息の診断基準<sup>64</sup>が咳喘息研究会・アトピー咳嗽研究会により示された。咳喘息は喘鳴がないにも関わらず、喘息の病名がついていることに困惑するが、咳喘息の約半数が適切な治療を行わなかった場合、喘息に移行することや、気管支拡張薬( $\beta$ 刺激薬、テオフィリン製剤)が奏功すること、気道過敏性を有するなど喘息との共通点が多い点からも気管支喘息の初期像として理解されている。

喉頭アレルギーの病態面は先述した動物を用いた研究で喉頭にI型アレルギーが生じることが分かっており、臨床的に抗ヒスタミン薬が有効であることから、その病態には何らかの抗原に感作された喉頭粘膜内マスト細胞から脱顆粒されるヒスタミンが関与しているとされる。慢性型喉頭アレルギーは治療法としては診断基準にもあるように抗ヒスタミン薬が著効する<sup>49, 65, 66</sup>。

咳喘息の病態として1秒量、ピークフロー値などの気道閉塞指標は正常範囲内であることが多いが、健常者や非喘息性の咳嗽患者と比較すると軽度ながら低値を示し<sup>24</sup>、加えて、気管支拡張薬で咳が改善することから、喘鳴発現には至らない軽度の気道攣縮が咳受容体(A $\delta$ 受容体)を刺激して咳が生じると想定されている。気道過敏性は、典型的喘息に比して軽い傾向がある。1秒量の経年低下は健常者、アトピー咳嗽と同等だが、難治例では顕著となり得る<sup>67</sup>。また、喀痰、気管支肺泡洗浄液、気管支生検組織の好酸球数が増加し、増加の程度が重症度と相関することから<sup>24</sup>、典型的喘息と同様に好酸球の病態への関与が想定される。このことから、ICSが咳喘息の第一選択薬と位置づけられ、実際にその効果は高い。一方、喘息でも報告されているように、喀痰における好酸球、好中球の両者の増加(混合性炎症)が難治化(ICSの減量困難)に係わるとの報告がある<sup>69</sup>。炎症の持続に伴う気道リモデリング(基

底膜肥厚、杯細胞増生、血管新生、気道壁肥厚)も典型的喘息と同様に存在し、抗炎症治療の重要性を示唆する。<sup>26</sup>

前述のように気道のリモデリングとは、繰り返される抗原の曝露が引き起こすアレルギー性の炎症が主因と考えられ、<sup>70</sup>抗原による免疫学的な刺激により気道の炎症細胞や上皮細胞が活性化され、炎症性のメディエーターやサイトカイン、ケモカインが放出される。結果として生じる気道上皮の傷害に対し、組織修復機構が働き、TGF- $\beta$ やEpidermal Growth Factor(EGF)、Platelet-Derived Growth Factor(PDFG)、Insulin-like growth factor(IGF)などが産生され、基底膜の肥厚、平滑筋増大、線維芽細胞や平滑筋由来の筋線維芽細胞による気道壁の細胞外マトリックスによる線維化に至ると解釈されている。喘息における固定性の気流閉鎖は、主として気道壁の非可逆的な肥厚による内腔狭窄が原因とされている。中でもTGF- $\beta$ 1は、喘息患者の気道で産生が亢進しており、気道の線維化を誘導することが知られている。出原らはペリオスチンが、2型サイトカインであるIL-4、IL-13の誘導産物であり、喘息患者で観察される肥厚した基底膜の構成成分の一つであることを明らかにし、ペリオスチンとアレルギー疾患との関連を明らかにした。また、炎症の遷延化、慢性化に関り、重症喘息においてはペリオスチンが末梢血好酸球数や呼気NOよりも高い精度で好酸球性気道炎症の程度を予測するとされる。<sup>72</sup>気管支粘膜組織でのペリオスチンの高発現が、その後の1秒量の経年低下と強く相関することも認められている。<sup>73</sup>喘息のリモデリングにおいて、末梢血好酸球数と比較し血清ペリオスチンの方が相関性が強いという報告がある。<sup>74</sup>加えて、気管支喘息では基底膜の肥厚と基底膜下の線維化の程度が重症度、気道過敏性など病態と相関することが指摘されている。<sup>75</sup>さらに、気管支喘息のみではなく、好酸球性副鼻腔炎においても組織においてペリオスチンが高発現しており、血清ペリオスチンが高値をとることが示されており、喘息合併例では、血清ペリオスチン値が副鼻腔CTスコアと正の相関を示していると報告されている。<sup>40</sup>また、アトピー性皮膚炎では、病変部位に沈着したペリオスチンが炎症の重症化と遷延化に関与しているといわれている。<sup>76</sup>このように、気管支喘息、好酸球性副鼻腔炎、アトピー性皮膚炎などではペリオスチンと疾患の病態との関係を示す報告はあるが、咳喘息、喉頭アレルギーでの検討は過去にない。また、血清ペリオスチンにて評価しているものは多いがヒトの気道局所組織のペリオスチンの発現にて比較検討しているものは著者の調べる限り報告がない。一方、EVG染色では、弾性繊維を黒紫色、膠原繊維を赤色に染色するとされ、気道リモデリング

の線維化の良い指標となると思われる。今回、アレルギー疾患である、咳喘息、喉頭アレルギーの2疾患をペリオスチン、TGF- $\beta$ 1、EVGにて染色することで、気道粘膜各部の線維化病変の相違を追加検討し、2疾患の病態の相違を明らかにすることを目的として本研究を行った。

本検討において喉頭アレルギー、咳喘息ともに気道の広範に渡りペリオスチン、TGF- $\beta$ 1、EVGの発現を認め慢性気道炎症に関与している可能性が示されたが、両疾患群での気道内での局在の特徴やそれぞれの病態を説明できる結果までには至らなかった。さらに、好酸球数とペリオスチン染色性の関係も各部位で検討したが、喉頭アレルギー、咳喘息2群間で特徴的な関係を認めなかった。

喉頭アレルギーは喉頭のI型アレルギーのアレルギー性炎症であり、咳喘息は中枢から末梢気管の下気道での好酸球性炎症と考えられている。そのため、喉頭アレルギー群では喉頭披裂部、気管膜様部にペリオスチン、TGF- $\beta$ 1、EVGのより強い沈着を認め、咳喘息群では気管分岐部や、右2次分岐部にペリオスチン、TGF- $\beta$ 1、EVGの強い沈着を強く認める可能性が考えられた。また、咳喘息はピークフロー値などの気道閉塞指標は正常範囲内であることが多いが、正常者と比較するとやや低値であるとされ、咳のメカニズムとして喘鳴発現には至らない軽度の気道攣縮が咳受容体(A $\delta$ 受容体)を刺激して咳を生じることが想定されている。それに対して、<sup>77</sup>喉頭アレルギーの咳のメカニズムは、前山らの神経免疫染色の研究によってかなり明確にされつつあり、喉頭粘膜上皮内に分布するSP(substance P)陽性知覚神経(C-fiber)は特に喉頭蓋喉頭面と披裂部に豊富に存在し、化学受容体として機能するSP陽性自由神経終末は、マスト細胞から放出されたヒスタミンを代表とする各種ケミカルメディエーターの刺激を受けると、その求心性インパルスが上喉頭神経を通過して弧束核に伝達され、さらに、シナプスを介して咳中枢にもたらされる。その結果、咳中枢の活動が誘発され、咳に関与する筋群の運動ニューロンに興奮が伝達され、これらの筋群の協調運動により、反射的に咳嗽が惹起されると想定されている。このように、両疾患の咳のメカニズムも異なっており、今回の研究目的のように慢性的な気道の線維化を検討してみると、ペリオスチン、TGF- $\beta$ 1やEVGの染色により気道粘膜のなかで相違がでる可能性が考えられたが、今回はその予想を支持する結果とはならなかった。

ペリオスチンは前述したとおり、細胞外マトリックス分子の一つであり、肺、心臓、皮膚、骨膜などさまざまな組織で発現が認められ、定常状態での組織の構造維持に働いている。一方、ペリオスチンはマト

リセラータンパク質としての側面もあわせ持っており、受容体を介して細胞にシグナルを入れ、細胞の活性化・生存・遊走に働く。アレルギー疾患をはじめとするさまざまな炎症・線維化疾患では発現が増強し、病変部位への強い沈着が認められ、炎症の病態形成にも深く関与していることが示唆されている<sup>71,76</sup>。また、細胞表面に存在するインテグリンのリガンドとして働き、thymic stromal lymphopoietin (TSLP) などの炎症性サイトカインの放出に関与しており、さらに Th2 型の反応を増悪させる悪性サイクルの形成に関与することが明らかにされた<sup>78</sup>。一方で、Th2 型アレルギー反応に関与するサイトカインとされる血清 thymus and activation-regulated chemokine (以後 TARC) 値はアトピー性皮膚炎において重症度を反映し、治療により速やかに低下するため、短期間評価の良い指標となっている<sup>79</sup>。また、急性感染症において、一過性の皮疹の悪化をみた患者では TARC が上昇したもののペリオスチンの上昇は認めなかったとされ<sup>80</sup>、ペリオスチンは急性炎症などでは有用な指標にはならず、より慢性的病変を評価する指標と思われた。しかしながら、線維化病変全体で上昇してしまい疾患特異性を認めないことも指摘されている<sup>81</sup>。本検討において喉頭アレルギー、咳喘息ともに気道各部全体にペリオスチンの発現を認め、慢性的気道炎症が存在することが示唆されたが、喉頭アレルギー、咳喘息の疾患特異性を評価することはできなかった。ペリオスチンの発現は TGF- $\beta$ 、アンジオテンシン II、connective tissue growth factor2、bone morphogenetic protein2 などの液性因子や機械的伸展や物理的刺激や癌細胞からの刺激因子により増強するとされる<sup>82-84</sup>。本検討でのコントロール群は肺癌患者であり、生検にて機械的な刺激も起こしているため、ペリオスチンが増強してしまい各疾患での明確な差としてあらわれなかった可能性も考えられた。さらに、血清ペリオスチンは年齢と正に、BMI と負に相関することが疫学的研究から明らかになっており、今回の対象では BMI などの測定はしておらず、予想と異なる結果の原因として否定しきれない。

また、喘息の基底膜における TGF- $\beta$ 1 陽性の 80% が好酸球であるとされ、好酸球は TGF- $\beta$ 1 の主な供給源であると報告されている<sup>87</sup>。図 6 のように、ペリオスチンが好酸球を刺激し接着能を上昇させ、スーパーラジカルを産生し、さらには TGF- $\beta$  の産生を誘導し、線維芽細胞からのペリオスチン産生を上昇させると考えられている<sup>71,82</sup>。このことから本研究にてペリオスチン、TGF- $\beta$ 1 と好酸球数との関係に正の相関が認められる可能性が考えられた。しかしながら、本研究では両者の病変部位の特徴、好酸球数との関係において両者の特徴的な相違を明確にすることができな

かった。相関が得られなかった理由として、検討症例数が少ないことが考えられたが、喉頭アレルギー、咳喘息において各染色と好酸球数とは本来的に相関が認められない可能性も考えられた。これまで慢性副鼻腔炎において血清ペリオスチンでは、末梢血好酸球数と正の相関を示すと報告があるが、ヒトの組織染色を評価し、相関をみている報告は認めない。今回の検討は著者が予測したものは異なる結果であったが、必ずしも、局所組織においては各染色と末梢血好酸球数は相関していない可能性も考えられた。

前述したとおり、本検討では、喉頭アレルギー、咳喘息ともにコントロールに比して上気道から中気道に広範に強くペリオスチンが染色されており、両疾患とも広範に慢性アレルギー性気道炎症状況にある可能性が示唆された。喉頭アレルギーで気管分岐部のペリオスチンがコントロールより有意に染色性が高かったことは、診断基準に従って喉頭アレルギーと厳格に診断された症例であってもアレルギー性気道病変は喉頭だけに限局しているとは限らないという状況が推察された。近年、上気道と下気道のアレルギー炎症が密接に関与していること報告されている<sup>89</sup>。上気道の疾患であるアレルギー性鼻炎は気管支喘息発症の危険因子であり増悪因子でもある、また、喘息患者の 7 割から 8 割がアレルギー性鼻炎を合併していることはよく知られている。「One airway, one disease」という概念が提唱されているが、こうしたことから下気道におけるアレルギー炎症はアレルギー性鼻炎や喉頭アレルギーなどの上気道の好酸球性炎症病変においても病理学的に類似する点が多いことが推測される。また、内藤らは慢性咳嗽を訴える喉頭アレルギー 10 症例のうち 7 例に下気道非特異的過敏性の検査を行い 4 例にその亢進が見られたと報告している<sup>91</sup>。このように喉頭アレルギーと厳格に診断されても、下気道に炎症が波及していないとは断定できない。

アトピー咳嗽は Fujimura らが提唱した概念で、喉頭アレルギー同様抗ヒスタミン薬が主たる治療法とされており、喉頭アレルギーと最も類似した疾患である。病変部位は、気管分岐部及び気管支粘膜に好酸球の増

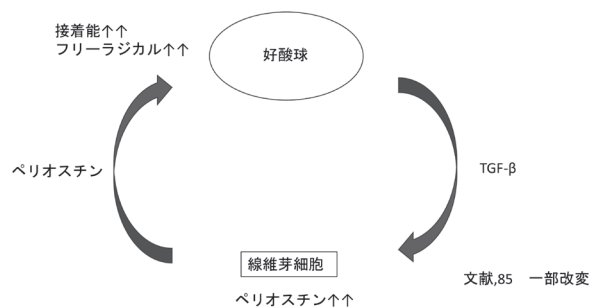


図 6 ペリオスチンを介した免疫細胞/非免疫細胞の相互作用

加を認めると報告している。今回の結果から考えると、喉頭アレルギーと厳格に診断された患者においても気管分岐部まで慢性炎症が起きている可能性が示唆され、アトピー咳嗽を合併している可能性も考えられた。

ペリオスチンは喘息、好酸球性副鼻腔炎、アトピー性皮膚炎などの病変部位に高発現している。また、病変部位から血液中への移行がしやすい点や、検出キットが存在することから種々の疾患の活動性を反映する新たなバイオマーカーとして期待されている。しかし、咳喘息、アトピー咳嗽、喉頭アレルギーの3つのアレルギー性気道疾患ではペリオスチンによる研究は進んでいないことから、本研究を行ってみたが、特徴的な結果は得られなかった。

今回予想と異なる結果になったもう一つの理由として検討症例数の少なさ、検体の保存性などが考えられた。生検された検体標本も2004年から2005年であり、検体標本自体が劣化してしまっていることが考えられたが、前述のように倫理上、アレルギーのような良性疾患の患者のヒトの喉頭粘膜、気管粘膜を再度採取することは、現在の世相を考えると極めて困難であり、今後新たな検体採取や、検討症例を増やすことは本検討において困難であることが考えられた。次に、染色法・評価法の適正性についても問題となる点がある。評価法が標本スライドの肉眼的スコアによるものであり、5名の検者による主観性の相違も否定できないので機械的に客観性をもって染色程度を評価できる方法の開発も必要と考える。また、今回のペリオスチン染色結果をみていると、全体としての染色の強さではなく、表層のみ染まっているものやびまん性に染まっているものなど染色性の相違を認め、評価方法の再検討も必要と思われた。

今後、喉頭アレルギー患者、咳喘息患者の検体を再度取得することは困難が予測されるため、患者の血清ペリオスチンを測定し、症状、特に重症度（咳の回数など）と比較検討をすることで、疾患の活動性を評価する良い指標にならないかの検討も試みたい。今回の著者のヒト気道粘膜における初めての検討からは気道リモデリングの観点から喉頭アレルギーの独立性、病態生理の解明までには至らなかったが、これらを明らかにするには今後さらなる研究が必要であると考えられた。

## 結 語

1. 今回、喉頭粘膜を標的臓器としたI型アレルギーである喉頭アレルギーの病態を明らかにするため、喉頭アレルギーと鑑別すべき類似疾患の咳喘息を対象とし生検によって得られた喉頭披裂部、気管膜様部、気管分岐部、右2次分岐部の粘膜標本を使用し

基底膜の線維化を中心とした変化を比較検討する組織学的研究を行った。

2. 今回のペリオスチン、TGF- $\beta$ 1、EVG染色結果の比較検討からは両疾患の気道各部における線維化による相違を明確にすることはできなかったが、両疾患ともコントロールに比して広範な慢性気道炎症状況が存在していることが示唆された。また、好酸球浸潤との明確な関係を得るにも至らなかった。
3. 今回、ペリオスチンの染色結果からみると喉頭アレルギーでも持続的な中枢気道にまで慢性炎症が起きていることが推定され、広範に気道リモデリングがおきている可能性が否定できない成績であった。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御多忙の中、直接御指導ならびに御校閲を賜りました藤田医科大学耳鼻咽喉科学教室主任教授の内藤健晴先生、助教の村嶋智明先生に深甚なる謝意を表します。また、本研究に際して多大な御協力、御尽力を賜りました当大学研究支援推進センター再生医療支援推進施設の山本直樹准教授、平松範子先生、としわ会センタークリニック院長の清水秀康先生（前 藤田保健衛生大学呼吸器内科学）、耳鼻咽喉科学教室の加藤久幸准教授、日江井裕介助教はじめ教室員の皆様に心より深謝いたします。

## 文 献

- 1) Schappert SM : National ambulatory medical care survey 1991. Summary Adv Date 1993 ; 230 : 1 - 16.
- 2) Cullinan P : Persistent cough and sputum : prevalence and clinical characteristics in south east England. *Respir. Med.* 1992 ; 86 : 143 - 149.
- 3) Robert B : The common cold : control?. *J. Infect. Dis.* 1984 ; 150 : 167 - 173.
- 4) Primary care 2000
- 5) 新実彰男 : 慢性咳嗽の病態、鑑別診断と治療—咳喘息を中心に—. 日内会誌. 2016 ; 105 : 1565 - 1577.
- 6) Irwin RS, Curley FJ, and Frenchi CL : Chronic cough : the spectrum and frequency of causes, key components of the diagnostic evaluation, and outcome of specific therapy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1990 ; 141 : 640 - 647.
- 7) Fujimura M, Abo M, Ogawa H, et al : Importance of atopic cough, cough variant asthma and sinobronchial syndrome as causes of chronic cough in the Hokuriku area of Japan. *Respirolo-*

- gy. 2005 ; 10 : 201 – 207.
- 8) 藤村政樹：慢性咳嗽の診断と治療に関する指針。アトピー咳嗽研究会記録 2001.
  - 9) 日本呼吸器学会咳嗽に関するガイドライン作成委員会：咳嗽に関するガイドライン。社団法人日本呼吸器学 2005.
  - 10) 日本呼吸器学会咳嗽に関するガイドライン第2版作成委員会：咳嗽に関するガイドライン第2版。社団法人日本呼吸器学会 2012 ; 57 – 58.
  - 11) Niimi A : Geography and cough aetiology. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2007 ; 20 : 383 – 387.
  - 12) Matsumoto H, Niimi A, Takemura M, et al : Prevalence and clinical manifestations of gastro-oesophageal reflux-associated chronic cough in the Japanese population. *Cough.* 2007 ; 3 : 1.
  - 13) Poe RH, Harder RV, Israel RH, et al : Chronic persistent cough. Experience in diagnosis and outcome using an anatomic diagnostic protocol. *Chest.* 1989 ; 95 : 723 – 728.
  - 14) Pratter MR : Overview of common causes of chronic cough : ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2006 ; 129 : 59S – 62S.
  - 15) Nam-Hee K, Mi-Jung O, Tae-Hoon M, et al : Causes and clinical features of subacute cough. *Chest.* 2006 ; 129 : 1142 – 1147.
  - 16) 石田 直, 横山俊秀, 岩破将博, 他 : 成人遷延性咳嗽患者における感染後咳嗽の臨床的検討. 日呼吸会誌. 2010 ; 48 : 179 – 185.
  - 17) Chung KF and Pavord ID : Prevalence, pathogenesis, and causes of chronic cough. *Lancet.* 2008 ; 371 : 1364 – 1374.
  - 18) Jinnai M, Niimi A, Ueda T, et al : Induced sputum concentrations of mucin in patients with asthma and chronic cough. *Chest.* 2010 ; 137 : 1122 – 1129.
  - 19) Everett CF and Morice AH : Clinical history in gastroesophageal cough. *Respir. Med.* 2007 ; 101 : 345 – 348.
  - 20) Takemura M, Niimi A, Matsumoto H, et al : Clinical, physiological and anti-inflammatory effect of montelukast in patients with cough variant asthma. *Respiration.* 2012 ; 83 : 308 – 315.
  - 21) 内藤健晴 : 喉頭アレルギー (laryngeal allergy). 日本咳嗽研究会, アトピー咳嗽研究会, 藤村政樹監. 慢性咳嗽の診断と治療に関する指針 2005 年度版. 前田書店. 2006 ; 16 – 21.
  - 22) Shirahata K, Fujimoto K, Arioka H, et al : Prevalence and clinical features of cough variant asthma in a general internal medicine outpatient clinic in Japan. *Respirology.* 2005 ; 10 : 354 – 358.
  - 23) Corrao WM, Braman SS, and Irwin RS : Chronic cough as the sole presenting manifestation of bronchial asthma. *N. Engl. J. Med.* 1979 ; 300 : 633 – 637.
  - 24) Niimi A, Amitani R, Suzuki K, et al : Eosinophilic inflammation in cough variant asthma. *Eur. Respir. J.* 1998 ; 11 : 1064 – 1069.
  - 25) Matsuoka H, Niimi A, Mtsumoto H, et al : Inflammatory subtypes in cough-variant asthma : association with maintenance doses of inhaled corticosteroids. *Chest.* 2010 ; 138 : 1418 – 1425.
  - 26) Niimi A, Matsumoto H, Minakuchi M, et al : Airway remodelling in cough-variant asthma. *Lancet.* 2000 ; 356 : 564 – 565.
  - 27) Irwin RS, French CT, Smyrniotis NA, et al : Interpretation of positive results of methacholine inhalation challenge and 1 week of inhaled bronchodilator use in diagnosing and treating cough-variant asthma. *Arch. Intern. Med.* 1997 ; 157 : 1981 – 1987.
  - 28) Campbell M, Eliraz A, Johansson G, et al : Formoterol for maintenance and as-needed treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.* 2005 ; 99 : 1511 – 1520.
  - 29) 内藤健晴, 岩田重信, 妹尾淑郎, 他 : 喉頭アレルギー—文献的考察—. 耳鼻臨床. 1997 ; 90 : 835 – 841.
  - 30) 馬場 錬, 横山尚樹, 山川 聡, 他 : 喉頭アレルギー患者における咽喉頭異常感についての臨床的検討. 耳鼻免疫アレルギー. 2001 ; 19(2) : 200 – 201.
  - 31) Sakurai K, Naito K, Ishii G, et al : Influence of local antigen exposure dose in the upper respiratory tract on sensitization with cedar pollen. *Allergol. Int.* 2009 ; 51 : 9 – 12.
  - 32) Takemura M, Niimi A, Matsumoto H, et al : Atopic features of cough variant asthma and classic asthma with wheezing. *Clin. Exp. Allergy.* 2007 ; 37 : 1833 – 1839.
  - 33) 「喘息予防・管理ガイドライン 2006」作成委員会 : 喘息 予防・管理ガイドライン 2006. 協和出版, 東京.
  - 34) 一ノ瀬正和 : 気道過敏性の分子医学. 現代医療. 1998 ; 30 : 117 – 123.
  - 35) Izuhara K, Conway SJ, Moore BB, et al : Roles of Periostin in Respiratory Disorders. *Am. J.*

- Respir. Crit. Care Med.* 2016 ; 193 : 949 – 956.
- 36) Noguchi T, Nakagome K, Kobayashi T, et al : Periostin upregulates the effector functions of eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016 ; 138 : 1449 – 1452. e5.
- 37) Izuhara K, Arima K, Ohta S, et al : periostin in allergic inflammation. *Allergol. Int.* 2014 ; 63 : 143 – 151.
- 38) 有馬和彦, 白石裕士, 出原賢治 : ペリオスチンによるアレルギー炎症の増幅. *Cytometry Research.* 2015 ; 25(1) : 13 – 18.
- 39) Jia G, Erickson RW, Choy DF, et al : Bronchoscopic Exploratory Research Study of Biomarkers in Corticosteroidrefractory Asthma (BOB-CAT) Study Group. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012 ; 130 : 647 – 654, e10.
- 40) Ohta N, Ishida A, Kurakami K, et al : Expressions and roles of periostin in otolaryngological diseases. *Allergol. Int.* 2014 ; 63 : 171 – 180.
- 41) Williams RI : Allergic laryngitis. *Ann. Otol.* 1972 ; 81 : 558 – 565.
- 42) Brodnitz FS : Allergy of the larynx. *ORL Clin. North Am.* 1971 ; 579 – 582.
- 43) Moses P : The voice of neurosis. Grune & Stratton, New York. 1954 ; 121.
- 44) Paparella MM : Unusual foreign body of trachea and intrinsic bee sting of larynx. *J. Laryngol.* 1964 ; 78 : 89 – 92.
- 45) Wolf I : Allergic factors in the etiology of spasmodic croup and laryngo-traheitis. *Am. Allergy.* 1966 ; 24 : 79 – 82.
- 46) 沢木修二 : アレルギー性喉頭炎. *医のあゆみ.* 1972 ; 83 : 674 – 675.
- 47) Pang LG : Allergy of the larynx, trachea, and bronchial tree. *Otolaryngol. Clin. North Am.* 1974 ; 7 : 719 – 734.
- 48) 堀口申作, 斎藤洋三 : 栃木日光地方におけるスギ花粉 Japanese cedar pollinosis の発見. *アレルギー.* 1964 ; 13 : 16 – 18.
- 49) Naito K, Iwata S, and Yokoyama N : Laryngeal symptoms in patients exposed to Japanese cedar pollen : allergic reactions and environmental pollution. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 1999 ; 256 : 209 – 211.
- 50) 馬場 錬, 横山尚樹, 山川聡, 他 : 喉頭アレルギー患者における咽喉頭異常感についての臨床的検討. *耳鼻免疫アレルギー.* 2001 ; 19(2) : 200 – 201.
- 51) 内藤健晴, 岩田重信, 妹尾淑郎, 他 : 喉頭アレルギー—文献の考察—. *耳鼻臨床.* 1997 ; 90 : 835 – 841.
- 52) 内藤健晴 : 喉頭アレルギー. 慢性咳嗽を診る, 藤村政樹. 医薬ジャーナル社, 大阪. 2002 ; 153 – 171.
- 53) 内藤健晴 : 喉頭アレルギー (laryngeal allergy). 日本咳嗽研究会, アトピー咳嗽研究会, 藤村政樹監. 慢性咳嗽の診断と治療に関する指針 2005 年度版. 前田書店. 2006 ; 16 – 21.
- 54) 内藤健晴 : 喉頭アレルギー. *耳鼻咽喉科・頭頸部外科.* 2015 ; 87(9) : 673 – 677.
- 55) Kihara T, Fujimura Y, Uchida J, et al : Structure and origin of microfold cell (M cell) in solitary lymphoid follicle of human larynx. *J. Clin. Electron Microsc.* 1986 ; 19 : 5 – 6.
- 56) 石田春彦, 岩江信法, 天津陸郎 : ヒト喉頭粘膜における抗原提示細胞について—非アレルギー症例での検討—. *日気食会* 1997 ; 48 : 216 – 220.
- 57) 清水秀康 : 慢性咳嗽の原因疾患の頻度とその臨床像に関する研究. 藤田学園医会誌学位論文集. 2008 ; 283 – 297.
- 58) 村嶋智明 : 慢性型喉頭アレルギー患者の喉頭および気管・気管支粘膜における肥満細胞, 好酸球, TPPV1 の組織学的研究. 藤田学園医会誌学位論文集. 2014 ; 199 – 219.
- 59) Glauser FL : Variant asthma. *Ann. Allergy.* 1972 ; 30 : 457 – 459.
- 60) McFadden ER : Exertional dyspnea and cough as preludes to acute attacks of bronchial asthma. *N. Engl. J. Med.* 1975 ; 292 : 555 – 559.
- 61) 牧野壮平 : アレルギー性気管支炎喘息性気管支炎と気管支喘息との関連. *日臨.* 1983 ; 41 : 623 – 626.
- 62) 中島重徳 : 気道アレルギー. *日気食.* 1987 ; 113 : 229 – 234.
- 63) 藤村政樹 : アトピー素因を有する咳嗽患者の臨床像—いわゆるアレルギー性気管支炎—. *アレルギーの臨.* 1989 ; 9 : 66 – 71.
- 64) 咳嗽研究会・アトピー咳嗽研究会 : 慢性咳嗽の診断と治療に関する指針. 2001
- 65) 伊藤周史, 内藤健晴, 齊藤正治, 他 : 塩酸フェキソフェナジンのスギ花粉症に対する野外比較試験による臨床効果の検討. *鼻アレルギーフロンテ.* 2005 ; 5 : 80 – 85.
- 66) 井門謙太郎, 平川勝洋, 渡部 浩 : 通年性喉頭アレルギーの抗原および喉頭所見. *喉頭.* 2014 ;

- 26 : 12 – 17.
- 67) Niimi A, Matsumoto H, Mishima M, et al : Eosinophilic airway disorders associated with chronic cough. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2009 ; 22 : 114 – 120.
- 68) Matsumoto H, Niimi A, Takemura M, et al : Prognosis of cough variant asthma : a retrospective analysis. *J. Asthma.* 2006 ; 43 : 131 – 135.
- 69) Matsuoka H, Niimi A, Matsumoto H, et al : Inflammatory subtypes in cough-variant asthma : association with maintenance doses of inhaled corticosteroids. *Chest.* 2010 ; 138 : 1418 – 1425.
- 70) Djukanovic R : Airway inflammation in asthma and its consequences : implications for treatment in children and adults. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002 ; 109 : S539.
- 71) Izuhara K, Arima K, Ohta S, et al : periostin in allergic inflammation. *Allergol. Int.* 2014 ; 63 : 143 – 151.
- 72) Matsusaka M, Kabata H, Fukunaga K, et al : Phenotype of asthma related with high serum periostin levels. *Allergol. Int.* 2015 ; 64 : 175 – 180.
- 73) Kanemitsu Y, Ito I, Niimi A, et al : Osteopontin and Periostin Are Associated with a 20-Year Decline of Pulmonary Function in Patients with Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014 ; 190(4) : 472 – 474.
- 74) Nagasaki T, Matsumoto H, Kanemitsu Y, et al : Using Exhaled Nitric Oxide and Serum Periostin as a Composite Marker to Identify Severe/Steroid-Insensitive Asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014 ; 190(12) : 1449 – 1452.
- 75) Chetta A, Foresi A, Donno MD, et al : Airways remodeling is a distinctive feature of asthma and is related to severity of disease. *Chest.* 1997 ; 111 (4) : 852 – 857.
- 76) 有馬和彦, 白石裕士, 出原賢治 : ペリオスチンによるアレルギー炎症の増幅. *Cytometry Research.* 2015 ; 25(1) : 13 – 18.
- 77) 前山忠嗣, 南 仁成, 宮崎純二, 他 : 喉頭アレルギーの症状発現における神経機序. 耳鼻. 1995 ; 41 : 852 – 859.
- 78) Masuoka M, Shiraishi H, Ohta S, et al : Periostin promote chronic allergic inflammation in response to Th2 cytokines. *J. Clin. Invest.* 2012 ; 122(7) : 2590 – 2600.
- 79) Saeki H and Tamaki K : Thymus and activation regulated chemokine(TARC)/CCL17 and skin diseases. *J. Dermatol. Clin. Exp. Allergy.* 2006 ; 43 : 75 – 84.
- 80) Kou K, Okawa T, Yamaguchi Y, et al : Periostin levels correlate with disease severity and chronicity in patients with atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 2014 ; 171 : 283 – 291.
- 81) 太田昭一郎, 出原賢治 : ペリオスチン : 臨床応用の可能性. *アレルギー.* 2013 ; 62(6) : 652 – 664.
- 82) Conway SJ, Izuhara K, Kudo Y, et al : The role of periostin in tissue remodeling across health and disease. *Cell. Mol. Life Sci.* 2014 ; 71 : 1279 – 1288.
- 83) Nishida M, Sato Y, Uemura A, et al : P2Y6 receptor-Galpha12/13 signalling in cardiomyocytes triggers pressure overload-induced cardiac fibrosis. *EMBO J.* 2008 ; 27 : 3104 – 3115.
- 84) Liu AY, Zheng H, and Ouyang G : Periostin, a multifunctional matricellular protein in inflammatory and tumor microenvironments. *Matrix Biol.* 2014 ; 37 : 150 – 156.
- 85) Kimura H, Konno S, Makita H, et al : Serum periostin is associated with body mass index and allergic rhinitis in healthy and asthmatic subjects. *Allergol. Int.* 2017 ; pii : S1323 – 8930(17) 30167 – 3.
- 86) James A, Janson C, Malinovschi A, et al : Serum periostin relates to type-2 inflammation and lung function in asthma : data from the large population-based cohort Swedish GA(2)LEN. *Allergy.* 2017 ; 72(11) : 1753 – 1760.
- 87) Chakir J, Shannon J, Molet S, et al : Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma : effect of steroids on TGF-beta, IL-11, IL-17, and Type1 and Type3 collagen expression. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003 ; 111 : 1293 – 1298.
- 88) 太田伸男 : 好酸球性副鼻腔炎とペリオスチン. *アレルギーの臨.* 2017 ; 37(14) : 1341 – 1346.
- 89) Kanemitsu Y, Matsumoto H, Izuhara K, et al : Increased periostin associates with greater airflow limitation in patients receiving inhaled corticosteroids. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013 ; 132 : 305 – 312. e3.
- 90) 奥田 稔 : アレルギー性鼻炎. 肥満細胞. 黒沢元博編. *メディカルビュー社.* 1990 ; 444 – 454.
- 91) 内藤健晴, 横山尚樹, 山川 聡, 他 : 慢性咳嗽を主訴とした興味ある症例について. 喉頭アレルギー

- 研究会 記録集. 1995 ; 16 : 6-8.
- 92) Fujimura M, Ogawa H, Yasui M, et al : Eosino-  
philic tracheobronchitis and airway cough hy-

persensitivity in chronic non-productive cough.  
*Clin. Exp. Allergy.* 2000 ; 30 : 41-47.