

# RSV 下気道炎におけるランダム化比較試験による IFN- $\gamma$ , IL-4, Th1/Th2 の変動と プラニルカストの影響

東京女子医科大学東医療センター小児科

イクタニ マキヨ ヤスダ ナホコ シダ ヨウコ オオタニ トモコ スギハラ シゲタカ  
生谷真己代・安田菜穂子・志田 洋子・大谷 智子・杉原 茂孝

(受理 2022 年 2 月 24 日)

## Effects of Pranlukast on IFN- $\gamma$ , IL-4, and Th1/Th2 in Patients with Respiratory Syncytial Virus Lower Respiratory Tract Infections in Randomized Controlled Trials

Makiyo Ikutani, Nahoko Yasuda, Yoko Shida,  
Tomoko Otani, and Shigetaka Sugihara

Department of Pediatrics, Tokyo Women's Medical University Medical Center East, Tokyo, Japan

Respiratory syncytial virus (RSV) is a common cause of lower respiratory tract infections (LRIs) in infants and young children and may be accompanied by T helper type (Th) 1/Th2 imbalance. Leukotriene receptor antagonists improve the long-term prognosis of patients with RSV-induced LRIs, but the long-term effects have not yet been investigated. In this study, we measured the long-term effects of pranlukast, a cysteinyl leukotriene receptor 1 antagonist, in hospitalized patients (aged <2 years) with RSV-induced LRIs. Participants were randomized into two groups: the pranlukast group (group P, n = 9) and the control group (group C, n = 11), which received placebo. Both groups were unblinded for prescription at discharge. Group P continued to take pranlukast for 6 months, and group C took nothing after discharge. Serum levels of interferon gamma and interleukin-4 were measured, and Th1 and Th2 cell counts and Th1/Th2 ratio were analyzed by flow cytometry upon hospitalization, at discharge, and 6 months post-discharge. Notably, at 6 months post-discharge, the Th1/Th2 ratio was significantly higher in group C than in group P ( $p < 0.05$ ). Although these results suggest that long-term pranlukast administration suppresses Th1 response, no side effects or other diseases were noted. Our study included a small number of patients; therefore, large-scale trials are required.

**Keywords:** RS virus, leukotriene receptor antagonist, IFN- $\gamma$ , IL-4, Th1/Th2

### 緒 言

RS ウイルス (respiratory syncytial virus : RSV) は、乳幼児に肺炎や細気管支炎などを引き起こす原因ウイルスとして知られている<sup>1)</sup>。生後 1 年以内に多くの乳児が感染し、ほとんど全ての児が 2 歳までに

感染するといわれている。感染した乳児の多くが上気道症状を呈するが、米国では初感染で 20~30% の児が下気道疾患 (細気管支炎, 肺炎) を発症し、生後 12 か月未満の子どものおよそ 1~3% が RSV による下気道疾患により入院している<sup>2)</sup>。RSV 細気管

Corresponding Author: 生谷真己代 〒116-8567 東京都荒川区西尾久 2-1-10 東京女子医科大学東医療センター小児科  
ikutani.makiyo@twmu.ac.jp

doi: 10.24488/jtwmu.92.3\_75

Copyright © 2022 Society of Tokyo Women's Medical University. This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution License (CC BY), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original source is properly credited.

支炎では喘鳴が聴取され、軽快後にも長期にわたり喘鳴を反復することがある<sup>1)</sup>。RSV 感染症と続発する気管支喘息との関係については様々な報告があり、乳幼児期の RSV への感染が、喘息発症のリスクを高めると考えられている。直接的な影響は、ウイルス感染により炎症性サイトカインの産生が亢進し、気道損傷が生じることである<sup>34)</sup>。また、RSV 感染により T helper type 1 (Th1) サイトカインである interferon (IFN)- $\gamma$  産生が抑制され Th2 優位になるとの報告があり<sup>5)6)</sup>、Th1/Th2 のアンバランスが RSV 感染後の繰り返す喘鳴や気管支喘息の発症に間接的に関与しているといわれている。

先進国における RSV による乳幼児重症下気道感染症による死亡率は高くはないが、入院費用等の医療費を鑑みると、医療経済的にも負担になっているにも関わらず、現時点では有効な抗ウイルス薬はなく対症療法が主体である。

近年ロイコトリエン受容体拮抗薬が RSV 感染後の気道過敏性を抑制し、RSV 下気道炎の長期予後改善に有効との報告があるが<sup>7)8)</sup>、実際に症状の改善に効果があるかどうかについての明確な回答は得られていない<sup>9)10)</sup>。また、マウスに RSV を感染させると約 150 日間に渡って炎症細胞浸潤とリモデリングが続き、気道過敏性の亢進が持続したという報告がある<sup>11)</sup>ものの、長期に渡りサイトカイン、Th1/Th2 の変動を観察した報告は我々が調べた限りではなかった。

有効な抗ウイルス薬のない中、ロイコトリエン受容体拮抗薬の RSV 下気道炎や長期予後の改善への効果が認められれば、RSV 感染症の今後の治療の選択肢の一つとなると考え、我々は 2 歳未満の RSV 下気道炎にて当院に入院した児を対象とし、血清 IFN- $\gamma$  値、血清 interleukin (IL)-4 値、Th1、Th2、Th1/Th2 を入院時、退院時、退院 6 か月後に測定し、ロイコトリエン受容体拮抗薬の一つであるプラナルカストの投与がサイトカイン、Th1/Th2 にどのように影響するかを比較検討した。ほとんどのウイルス感染では Th1 サイトカインの産生が誘導されるのに対し、より重症の RSV 感染症では IFN- $\gamma$  産生が低下し、Th2 優位の反応が生じるという報告がある<sup>5)6)</sup>。重症度を一定にして比較をやすくするために人工呼吸器を使用した症例や、SpO<sub>2</sub> 95% 未満の重症例は除外して検討を行った。

#### 対象および方法

2007 年 11 月から 2010 年 2 月の間に月齢 2 か月

以上 24 か月未満で鼻汁 RSV 抗原陽性かつ下気道炎にて東京女子医科大学東医療センター小児科に入院した発症 7 日以内かつ入院時の SpO<sub>2</sub> が 95% 以上の児を対象とした<sup>12)</sup>。東京女子医科大学東医療センターは東京都の区東北部に位置し、地域の中核病院の小児科として、小児プライマリケアから専門医療まで幅広く担っている。救急診療については、二次を主体とした小児救急医療を 24 時間体制で行っている。

RSV 感染後の繰り返す喘鳴は、より重症の RSV 下気道炎に罹患した児ほど起こりやすいことから、外来にて管理しえた症例ではなく当院に入院した RSV 下気道炎の児を対象とした。しかし呼吸器管理や酸素投与を要するより重症な例では、投薬などの条件を合わせる事が難しくなる可能性があるため、入院児の中でも SpO<sub>2</sub> が 95% 以上の児を対象とし、重症化のリスクとなる在胎週数 37 週未満の出生の児、心疾患のある児、慢性呼吸器疾患のある児は除外し、気管支喘息と診断されていた児、2 週間以内にステロイド剤の全身投与を受けた児、既にロイコトリエン受容体拮抗薬を内服していた児、人工呼吸器を使用した児も対象から除外した。入院中、対象となった症例にはステロイドの全身投与は行わないこととし、吸入薬はアドレナリン製剤 + 生理食塩水とした。

条件に合致する児のうち、入院時に保護者に文書と口頭での十分な説明を行い、同意を得られた児のみを無作為に 2 群に分け、それぞれプラナルカスト群 (P 群)、コントロール群 (C 群) とした。無作為化は病院薬剤部にてキーコード表を作成して二重盲検化し、退院時に盲検解除した。P 群には入院時より 6 か月間プラナルカスト 7 mg/kg/day を分 2 で投与し、C 群には入院中のみ偽薬を投与し、退院後は無投薬とした。両群ともに急性期として入院時 (プラナルカストまたは偽薬内服開始前)、軽快期として退院時、回復期として退院 6 か月後の血清 IFN- $\gamma$  値、血清 IL-4 値、Th1、Th2、Th1/Th2 を測定した。入院時は入院当日か翌日、退院時は退院当日か前日に採血した。

血清 IFN- $\gamma$  値、血清 IL-4 値、Th1、Th2、Th1/Th2 の測定は全てエスアールエル (SRL) 社で行った。血清 IFN- $\gamma$  値は酵素免疫測定法 (EIA) 法、血清 IL-4 値は化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA) 法にて測定した。Th1 と Th2 については、フローサイトメトリ法により CD4 陽性 T 細胞中の細胞内サイトカ

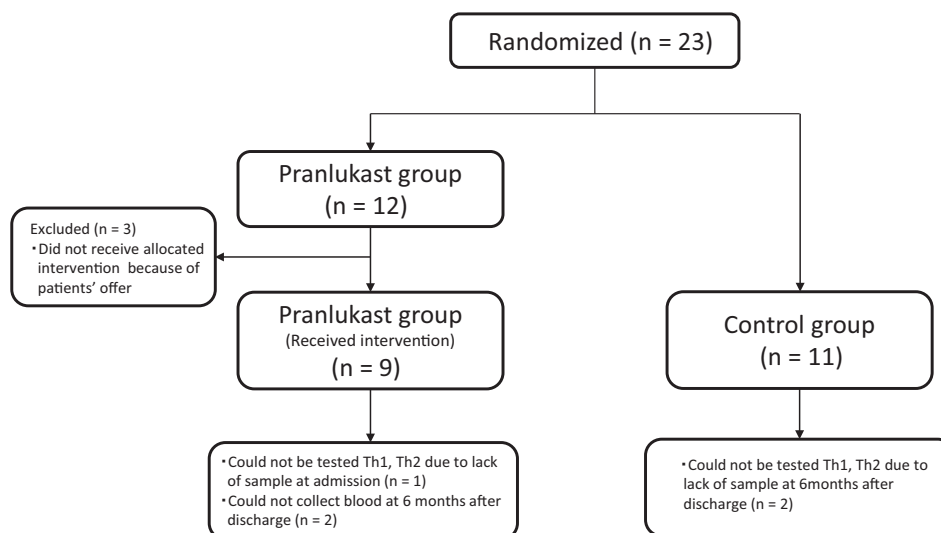


Figure 1. Flowchart of the exclusion and inclusion of test participants.

イン (IFN- $\gamma$ , IL-4) を測定し, IFN- $\gamma$  産生 CD4 陽性 T 細胞の陽性率を Th1 (%), IL-4 産生 CD4 陽性 T 細胞の陽性率を Th2 (%) とし, それらの比 (Th1/Th2) を算出した.

患者背景については, 性別, 月齢, アレルギーの家族歴の情報を収集した. アレルギーの家族歴は 2 親等以内に気管支喘息, アトピー性皮膚炎, アレルギー性鼻炎と診断された者がいる場合をアレルギーの家族歴ありとした.

プラニルカストの投与が RSV 下気道炎の予後を改善するかどうかを検証するため, 主要評価項目として退院時と退院 6 か月後の血清 IFN- $\gamma$  値, 血清 IL-4 値, Th1, Th2, Th1/Th2 を 2 群間で比較した. さらに, P 群, C 群で, それぞれアレルギーの家族歴のある児のみを抜粋し, 退院時と退院 6 か月後の血清 IFN- $\gamma$  値, 血清 IL-4 値, Th1, Th2, Th1/Th2 を比較検討した.

副次評価項目として, 入院時の病日 (上気道症状出現日を 0 日として算出), 入院日数, 呼吸数が正常化するまでの日数 (乳児は呼吸数 50/分未満となるまでの日数, 幼児は呼吸数 40/分未満となるまでの日数), SpO<sub>2</sub> 97% 未満 (パルスオキシメーターを使用して測定) だった日の日数を 2 群間で比較した. また, 退院後 6 か月の経過観察期間中に咳のあった日数, 喘鳴のあった日数をそれぞれ経過観察日数で除した数値を算出し, 2 群間で比較した. 退院後の咳, または喘鳴のあった日数は, アンケートまたは電話で保護者に確認した.

2 群間の比較には Mann-Whitney の U 検定を用

いた. また, 測定値の分布に偏りがあるためそれらの値を対数変換したうえで, t 検定も行った. クロス表の検定には Fisher の正確確率検定を用いた. 統計ソフトは Excel 統計を使用し,  $p < 0.05$  を統計学的有意と判定した.

なお, 本研究は東京女子医科大学倫理委員会の承認を得て行った (承認受付番号 1084).

## 結果

対象となった 23 名のうち P 群は 12 例, C 群は 11 例であったが, P 群のうち 3 例が患者の申し出により除外され, P 群 9 例, C 群 11 例で検討を行った. 対象となった児に吸入ステロイドの投与例は含まれていなかった (Figure 1).

入院時の検体は平均で入院第 1 病日 (第 1 病日か第 2 病日) に採取し, 退院時の検体は平均で入院第 6 病日 (第 4~13 病日) に採取した.

患者背景と入院時の血清 IFN- $\gamma$  値, 血清 IL-4 値, Th1, Th2, Th1/Th2 を Table 1-1 に示した. P 群は男児 7 例 (78%), 女児 2 例で月齢は中央値 6 か月 (2~14 か月), C 群は 11 例で男児 6 例 (55%), 女児 5 例で月齢は中央値 10 か月 (4~23 か月) で, P 群に低月齢児が多い傾向にあった ( $p = 0.10$ ).

アレルギーの家族歴のある児は P 群 9 例中 8 例, C 群 11 例中 5 例であり, P 群にアレルギーの家族歴のある例が多い傾向がみられた ( $p = 0.07$ ). なお, 対象となった児の中でアトピー性皮膚炎や食物アレルギーに罹患している児はいなかった.

血清 IFN- $\gamma$  値は, 入院時は P 群では 9 例中 3 例が測定可能 (感度 5 pg/mL 以上) で 6 例が感度未満,

**Table 1-1.** Patients' characteristics at admission in Pranlukast and Control groups.

|   | Pranlukast (n = 9) | Control (n = 11) | p value |
|---|--------------------|------------------|---------|
| Sex, male (%)                                     | 7 (78)             | 6 (55)           | 0.37    |
| Age, median (range), months                       | 6 (2-14)           | 10 (4-23)        | 0.10    |
| Famliy history of allergy                         | 8                  | 5                | 0.07    |
| Serum IFN- $\gamma$ concentration (<5 pg/mL)      | 6                  | 2                | 0.06    |
| Serum IL-4 concentrations (pg/mL), median (range) | 16.0 (6.6-146)     | 21.1 (4.3-501)   | 0.76    |
| Th1 (%), median (range) *                         | 4.8 (1.4-7.3)      | 5.1 (1.8-10.9)   | 0.81    |
| Th2 (%), median (range) *                         | 0.65 (0.4-2)       | 1.4 (0.5-2.4)    | 0.22    |
| Th1/Th2, median (range) *                         | 4.5 (2.3-11.3)     | 3.8 (2.4-9.4)    | 0.19    |
| Serum IL-4 concentrations (log), mean (SD) †      | 1.39 (0.55)        | 1.40 (0.64)      | 0.97    |
| Th1/Th2 (log), mean (SD) * †                      | 0.69 (0.22)        | 0.59 (0.17)      | 0.33    |

IFN, interferon; IL, interleukin; Th, T helper type; SD, standard deviation. \*Data missing for one patient in Pranlukast group. † Data were log-transformed.

**Table 1-2.** Patients' characteristics at admission in Pranlukast and Control groups: only for patients with family history of allergies.

|   | Pranlukast (n = 8) | Control (n = 5) | p value |
|---|--------------------|-----------------|---------|
| Sex, male (%)                                     | 6 (75)             | 2 (20)          | 0.29    |
| Age, median (range), months                       | 5.5 (2-14)         | 7 (4-21)        | 0.38    |
| Serum IFN- $\gamma$ concentration (<5 pg/mL)      | 5                  | 1               | 0.27    |
| Serum IL-4 concentrations (pg/mL), median (range) | 16.8 (6.6-146)     | 67.2 (7.8-159)  | 0.61    |
| Th1 (%), median (range) *                         | 4.5 (1.4-6.1)      | 3.7 (1.8-5.1)   | 0.46    |
| Th2 (%), median (range) *                         | 0.6 (0.4-1.7)      | 1.4 (0.4-2.1)   | 0.51    |
| Th1/Th2, median (range) *                         | 5.1 (2.3-11.3)     | 2.6 (2.4-4.5)   | 0.19    |
| Serum IL-4 concentrations (log), mean (SD) †      | 1.46 (0.55)        | 1.62 (0.46)     | 0.62    |
| Th1/Th2 (log), mean (SD) * †                      | 0.70 (0.23)        | 0.48 (0.12)     | 0.07    |

IFN, interferon; IL, interleukin; Th, T helper type; SD, standard deviation. \*Data missing for one patient in Pranlukast group. † Data were log-transformed.

C群では11例中9例が測定可能で2例が感度未満であり、P群に低値例(感度未満)が多い傾向にあった ( $p = 0.06$ ).

測定値をそれぞれの中央値(最小値-最大値)で示しているが、血清IL-4値はP群16.0(6.6-146) pg/mL, C群21.1(4.3-501) pg/mL, Th1はP群4.8(1.4-7.3)%, C群5.1(1.8-10.9)%, Th2はP群0.65(0.4-2)%, C群1.4(0.5-2.4)%で、Th1/Th2はP群で4.5(2.3-11.3), C群で3.8(2.4-9.4)であった。

**Table 2-1**は、退院時と退院6か月後の血清IFN- $\gamma$ 値、血清IL-4値、Th1、Th2、Th1/Th2を2群間で比較したものである。

血清IFN- $\gamma$ 値は、退院時は両群ともに全例で感度以下(<5 pg/mL)であった。退院6か月後はC群の1例を除き全例で感度以下であった。

血清IL-4値は両群ともに退院時に低下し、退院6か月後にかけてさらに低下する傾向にあった。2群間の値に統計学的有意差はみられなかった。

Th1、Th2ともに退院時も退院6か月後も2群間

の比較で明らかな差は認められなかったが、Th1は退院時から退院6か月後にかけて両群ともに上昇傾向、Th2はC群では退院時と退院6か月後の値がほとんど変わらないのに対し、P群では上昇傾向であった。Th1/Th2はP群では入院時4.5(2.3-11.3)、退院時4.2(2.2-21.0)、退院6か月後5.3(1.9-6.2)と、その値に大きな変化はなかったが、C群では入院時3.8(2.4-9.4)、退院時6.6(4.1-9.3)、退院6か月後7.5(2.7-13.5)と上昇していた。2群間での比較では、退院6か月後の値はC群の方が有意に高値であった ( $p < 0.05$ )。

P群、C群でそれぞれアレルギーの家族歴のある児のみを抜粋し、患者背景と入院時の血清IFN- $\gamma$ 値、血清IL-4値、Th1、Th2、Th1/Th2を**Table 1-2**に示し、退院時と退院6か月後の血清IFN- $\gamma$ 値、血清IL-4値、Th1、Th2、Th1/Th2を2群間で比較したものを**Table 2-2**に示した。

アレルギーの家族歴のある児のみの比較では、P群はやはり男児の方が8例中6例(75%)と多かつ



**Table 2-1.** Comparison of serum IL-4 concentrations and Th1/Th2 at discharge and 6 months after discharge in Pranlukast and Control groups.

|   | Pranlukast (n = 9) | Control (n = 11) | p value |
|---|--------------------|------------------|---------|
| Serum IFN- $\gamma$ concentration (<5 pg/mL)      |                    |                  |         |
| At discharge                                      | 9                  | 11               | 1.00    |
| 6 months after discharge*                         | 7/7                | 10               | 1.00    |
| Serum IL-4 concentrations (pg/mL), median (range) |                    |                  |         |
| At discharge                                      | 15.0 (7.3-226)     | 19.5 (4.7-483)   | 0.79    |
| 6 months after discharge*                         | 8.7 (6.4-13.9)     | 10.1 (3.9-162)   | 0.41    |
| Th1 (%), median (range)                           |                    |                  |         |
| At discharge                                      | 3.8 (1.8-10.5)     | 5.2 (1.8-21.9)   | 0.79    |
| 6 months after discharge †                        | 5.1 (2.7-9.1)      | 6.4 (2.7-14.3)   | 0.43    |
| Th2 (%), median (range)                           |                    |                  |         |
| At discharge                                      | 0.6 (0.5-2.6)      | 0.7 (0.3-3.3)    | 0.76    |
| 6 months after discharge †                        | 1.3 (0.6-2.1)      | 0.9 (0.2-2.0)    | 0.33    |
| Th1/Th2, median (range)                           |                    |                  |         |
| At discharge                                      | 4.2 (2.2-21.0)     | 6.6 (4.1-9.3)    | 0.52    |
| 6 months after discharge †                        | 5.3 (1.9-6.2)      | 7.5 (2.7-13.5)   | 0.04    |
| Serum IL-4 concentrations (log), mean (SD)        |                    |                  |         |
| At discharge                                      | 1.37 (0.50)        | 1.39 (0.65)      | 0.95    |
| 6 months after discharge*                         | 0.96 (0.12)        | 1.23 (0.50)      | 0.13    |
| Th1/Th2 (log), mean (SD)                          |                    |                  |         |
| At discharge                                      | 0.75 (0.29)        | 0.81 (0.10)      | 0.62    |
| 6 months after discharge †                        | 0.61 (0.20)        | 0.87 (0.22)      | 0.04    |

IFN, interferon; IL, interleukin; Th, T helper type; SD, standard deviation. \*Data missing for 2 patients in Pranlukast group. † Data missing for 2 and 2 patients in Pranlukast and Control groups.

**Table 2-2.** Comparison of serum IL-4 concentrations and Th1/Th2 at discharge and 6 months after discharge in Pranlukast and Control groups: only for patients with family history of allergies.

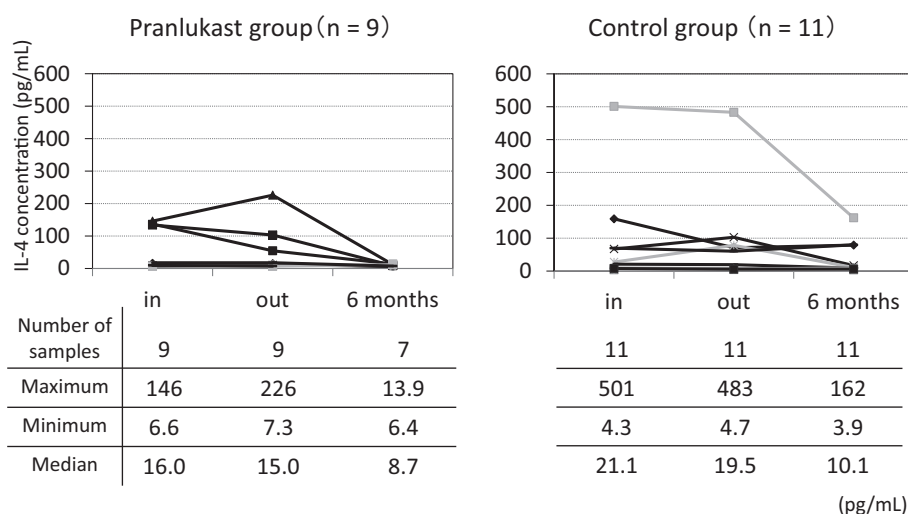
|  | Pranlukast (n = 8) | Control (n = 5) | p value |
|--|--------------------|-----------------|---------|
| Serum IFN- $\gamma$ concentration (<5 pg/mL) |                    |                 |         |
| At discharge                                 | 8                  | 5               | 1.00    |
| 6 months after discharge*                    | 6/6                | 4               | 1.00    |
| Serum IL-4 concentrations, median (range)    |                    |                 |         |
| At discharge                                 | 16.4 (7.4-226)     | 60.5 (5.9-103)  | 0.12    |
| 6 months after discharge*                    | 8.1 (6.4-13.9)     | 16.9 (6.1-79.8) | 0.24    |
| Th1, median (range)                          |                    |                 |         |
| At discharge                                 | 3.6 (1.8-10.5)     | 4.5 (1.8-5.6)   | 0.61    |
| 6 months after discharge*                    | 4.6 (2.7-9.1)      | 6.4 (2.7-12.7)  | 0.58    |
| Th2, median (range)                          |                    |                 |         |
| At discharge                                 | 0.6 (0.5-0.9)      | 0.6 (0.3-1.3)   | 0.76    |
| 6 months after discharge*                    | 1.3 (0.6-2.1)      | 0.9 (0.2-1.7)   | 0.52    |
| Th1/Th2, median (range)                      |                    |                 |         |
| At discharge                                 | 5.3 (3-21)         | 6.7 (4.1-9.3)   | 1.00    |
| 6 months after discharge*                    | 4.6 (1.9-6.1)      | 7.5 (2.7-13.5)  | 0.06    |
| Serum IL-4 concentrations (log), mean (SD)   |                    |                 |         |
| At discharge                                 | 1.44 (0.50)        | 1.54 (0.45)     | 0.74    |
| 6 months after discharge*                    | 0.94 (0.13)        | 1.36 (0.47)     | 0.15    |
| Th1/Th2 (log), mean (SD)                     |                    |                 |         |
| At discharge                                 | 0.81 (0.26)        | 0.81 (0.12)     | 0.97    |
| 6 months after discharge*                    | 0.58 (0.21)        | 0.86 (0.24)     | 0.09    |

IFN, interferon; IL, interleukin; Th, T helper type; SD, standard deviation. \*Data missing for 2 patients in the Pranlukast group.

**Table 3.** Patients' secondary outcomes in Pranlukast and Control groups.

|   | Pranlukast (n = 9) | Control (n = 11) | p value |
|---|--------------------|------------------|---------|
| In hospital:  |                    |                  |         |
| Days of illness at admission (days), median (range) *             | 5 (4-14)           | 5 (3-14)         | 0.59    |
| Length of hospital stay (days), median (range)                    | 7 (6-13)           | 7 (5-9)          | 0.50    |
| Days until respiratory rate normalize, median (range) †           | 1 (0-8)            | 2 (0-2)          | 0.84    |
| Days less than SpO <sub>2</sub> 97%, median (range)               | 1 (0-3)            | 1 (0-4)          | 0.74    |
| 6 months after discharge:   |                    |                  |         |
| %days of coughing during the observation period, median (range) § | 15 (4-53)          | 8 (0-39)         | 0.28    |
| %days of wheezing during the observation period, median (range) § | 8 (0-46)           | 1 (0-5)          | 0.12    |

\*Data missing for one patient in Control group. † Days until respiratory rate drops below 50/min for infants and 40/min for toddlers. § Data were the number of days with symptoms divided by the number of days during the observation period and then multiplied by 100. Data missing for 1 and 1 patients in Pranlukast and Control groups.



**Figure 2.** Serum IL-4 concentrations at admission, at discharge and 6 months after discharge.

in, at admission; out, at discharge; 6 months, 6 months after discharge.

The black lines indicate patients with a family history of allergies; the gray lines indicate patients with no family history of allergies.

No significant difference was observed between two groups.

たが、C群は男児2例(40%)、女児3例で女児の方が多かった。入院時の結果は2群間で明らかな差はなく、退院時と退院6か月後の結果も2群間で有意差を認めるものはなかったが、退院6か月後のTh1/Th2はP群が4.6(1.9-6.1)であるのに対し、C群は7.5(2.7-13.5)と、C群の方が高い傾向にあった(p=0.06)。

副次評価項目をTable 3に示した。入院時の病日、入院日数、呼吸数が正常化するまでの日数、SpO<sub>2</sub> 97%未満だった日の日数は2群間で差はなかった。6か月の経過観察中、咳のあった日数、喘鳴のあった日数も2群間で明らかな差は認めなかった。

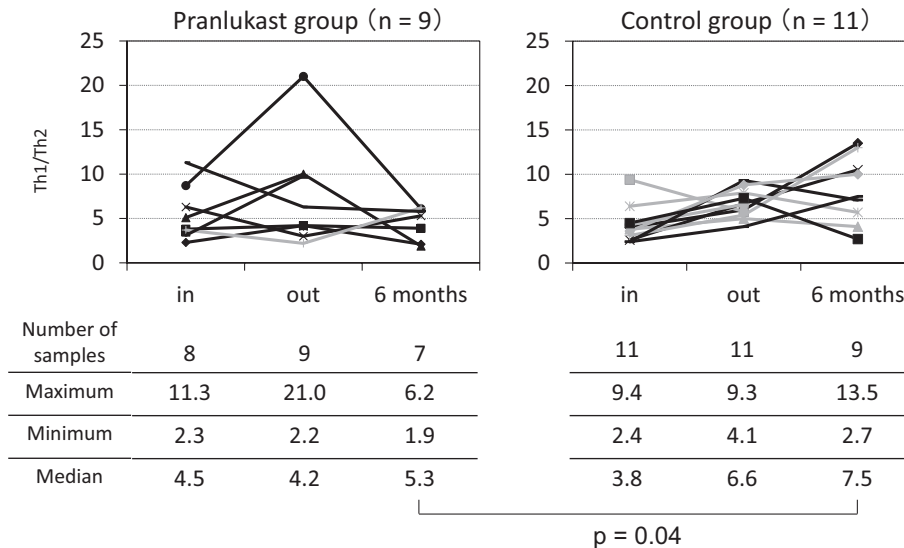
また、血清IL-4値とTh1/Th2はP群、C群それぞれ、1例ずつの値の変化を折れ線グラフに示した

(Figure 2, Figure 3)。折れ線グラフでも、血清IL-4値(Figure 2)は2群間で明らかな差はなかった。Th1/Th2(Figure 3)はP群では入院時、退院時、退院6か月後にかけて低下傾向を示す例が多かったが、退院時に一時的に上昇している例が数例みられた。C群では入院時から退院時、退院6か月後にかけて上昇している例が多かった。

P群で内服中に明らかな副作用を認めた児や他疾患に罹患した児はいなかった。

#### 考 察

今回我々は、プラニルカストの投与により、血清IL-4値は低下し、Th1/Th2は上昇するのではないかと予測し、プラニルカストの長期投与がRSV感染後の長期予後の改善に有効なのではないかと考え本



**Figure 3.** Th1/Th2 at admission, at discharge and 6 months after discharge. in, at admission; out, at discharge; 6 months, 6 months after discharge. The black lines indicate patients with a family history of allergies; the gray lines indicate patients with no family history of allergies. At 6 months after discharge, the Th1/Th2 ratio in the control group was significantly higher than that in the Pralukast group ( $p < 0.05$ ).

検討を行ったが、予測した結果は得られなかった。

血清 IFN- $\gamma$  値は、C 群と比較して P 群で入院時の値が感度以下の例が多かった ( $p = 0.06$ )。アトピー素因のある児は IFN- $\gamma$  産生能が低いという報告がある<sup>13)14)</sup>。また、IFN- $\gamma$  は新生児で成人の数%、1 歳で 50%、3 歳で成人レベルに達するため<sup>15)</sup>、低月齢児ほど IFN- $\gamma$  が低値である。P 群で感度以下の例が多かったのは、アレルギーの家族歴のある児が多くみられたこと、低月齢児が多かったことも理由として考えられる。実際にアレルギーの家族歴のある児のみで比較すると、その傾向は減少した ( $p = 0.27$ )。

一般的に IFN- $\gamma$  は感染初期に上昇し、感染の終息とともに減少する。入院時には 20 例中 12 例で血清 IFN- $\gamma$  値が上昇しており、退院時には全て低下していた。全体的に入院時に血清 IFN- $\gamma$  が測定可能な例が多かったのは、入院時は RSV の感染初期であったためであり、退院時は感染が軽快し血清 IFN- $\gamma$  が低下したと考えた。退院 6 か月後の血清 IFN- $\gamma$  もほとんどの症例で感度以下だったのは、特に感染のない時に検体を採取するよう努めたためと思われる。総じて血清 IFN- $\gamma$  が感度以下の例が多くみられたのは、入院を要するような RSV 感染症では軽症の RSV 感染症と比較して IFN- $\gamma$  が低値となる児が多い<sup>6)</sup>ためとも推測された。

血清 IL-4 値は両群ともに退院時には低下傾向に

あり、退院 6 か月後にかけてさらに低下する傾向にあったが、退院時、退院 6 か月後の P 群と C 群との値に有意な差はみられなかった。アレルギーの家族歴のある児のみで両群を比較してみても、この傾向は変わらず、2 群間で有意な差も認められなかった。プラルカストは Th2 細胞からの IL-4 産生を抑制すると推測される<sup>16)</sup>ことから、P 群で IL-4 が低下すると予想されたが、C 群と比較して統計学的に有意といえる結果は得られなかった。本検討では、P 群 9 例、C 群 11 例と対象症例数が少ない。対象症例が増えれば、統計学的に有意な結果が得られる可能性もあると推測された。

Th1/Th2 は P 群では、全体としてみると、退院時、退院 6 か月後の値に大きな変化はなかったが、C 群では退院時、退院 6 か月後の値が上昇していた。P 群と C 群、2 群間での比較では、退院時は差がなかったが、退院 6 か月後の値は C 群の方が有意に高値であった ( $p < 0.05$ )。アレルギーの家族歴のある児のみで比較すると、有意差はなくなるものの ( $p = 0.06$ )、やはり C 群の方が Th1/Th2 が高い傾向にあった。新生児は一般的に Th2 優位であり、乳幼児期も Th2 機能の発達が優位で、Th1 は成長に伴いその割合が増加していく<sup>17)18)</sup>。またアトピー素因を有する児では Th2 優位となる。C 群で退院時、退院 6 か月後の Th1/Th2 が上昇していたのは、RSV 感染

後、成長発達に伴って免疫系のバランスの変化が起きていることを示していると言える。一方、P群で退院時、退院6か月後のTh1/Th2の上昇がみられなかったのは、低月齢児やアレルギーの家族歴のある児、つまりTh1機能発達の未熟な例やTh2優位な例がC群と比較してP群にやや多く含まれたことが関与している可能性がある。実際に、4~14か月児のみに限定してP群、C群のTh1/Th2を比較すると、有意差はみられなかった。しかし、ロイコトリエン受容体拮抗薬がTh2のみでなくTh1も抑制するという報告もあり<sup>19)20)</sup>、本検討ではプラナルカストによりTh2が抑えられるという結果は得られなかったが、プラナルカストの投与が影響を与え、Th1への分化を抑制している可能性も考えられる。Th1/Th2の個々の値の変動をFigure 3でみると、P群では退院時の値が入院時と比較すると2倍以上上昇していて、P群の他の症例やC群の動きと異なる症例が3例ある。これらの症例は全例アレルギーの家族歴のある症例で、男児2例、女児1例であった。月齢は6か月、12か月、14か月と高めであった。炎症が起きている入院期間にプラナルカストがTh1/Th2の値に影響を与えた可能性も考えられるが、データに欠損値があるため、統計学的解析はできなかった。統計学的解析ができず、症例数も少ないため明らかではないが、これらの症例が急性期にプラナルカスト投与の効果がみられる小群である可能性も推測された。

近年研究が進み、CD4陽性T細胞は非常に多様なサブセットからなっており、1つのサブセットは固定したものではなく、周囲の環境で容易に変化することが明らかになっている。実際の炎症組織ではTh1、Th2、Th9、Th17、Th22細胞や制御性T細胞が混在しており、複雑な病態を呈する<sup>21)</sup>。このことから、RSの感染においても、様々なサイトカインや細胞が複雑に絡み合って病態を形成しており、Th1/Th2バランスのみで評価することは難しいと考えられた。

典型的には、RSVに対する免疫応答は1型免疫応答であり、自然免疫系と獲得免疫系が共に関与している。しかし、RSVに感染した結果、2型サイトカインが産生されるという報告が増え、2型免疫応答を惹起する上皮サイトカインとして、IL-33、IL-25、thymic stromal lymphopoietin (TSLP)が注目されている<sup>22)</sup>。上皮サイトカインはTh2細胞や2型自然リンパ球(type 2 innate lymphoid cells : ILC2s)を活性

化し、アレルギー性気道炎症の病態形成の中心的役割を果たしており<sup>23)24)</sup>、RSV感染症でもその重症化に2型免疫応答が関与していることが報告されている<sup>22)</sup>。

RSV感染で誘導されるIL-33とILC2sの増加は新生仔のマウスでは認められるが、成熟したマウスでは認められないという報告があり<sup>25)</sup>、IL-33の産生は年齢依存的に変化すると考えられている<sup>22)</sup>。また、RSV感染中のTSLPの産生量は性別によって異なるという報告もあり、新生仔のオスのマウスはTSLPの産生量が新生仔のメスより多く、のちにアレルギー反応を増幅させる結果となる2型免疫応答に影響していると報告されている<sup>26)</sup>。本検討でP群に低月齢児や男児が多かったことが、Th1/Th2の結果に影響を及ぼしている可能性があることからも推測される。

Liuら<sup>27)</sup>は乳幼児の急性細気管支炎におけるロイコトリエン受容体拮抗薬の効果と安全性を評価するため、表題と要旨から検索した172の論文の中からコントロール群とロイコトリエン受容体拮抗薬群を比較した、対象年齢が乳児から2歳までの無作為比較試験を行っている5つの論文を選択し、検討している。その結果、コントロール群と投薬群で入院期間に関して差はなかったとする報告と投薬群で入院期間が短縮されたという報告が混在していたが、それらを統合して解析したところ、コントロール群と投薬群では入院期間に差はなく、症状の軽快にも差はなかったという結果が得られている。また、安全性にも問題がなかったとしている。

今回我々は、入院病日、入院期間、呼吸数が正常化するまでの日数、SpO<sub>2</sub> 97%以下だった日の日数をP群とC群で比較したが、有意差はみられなかった。また、退院後6か月間で咳のあった日数、喘鳴のあった日数についても2群間で差は認められず、その間に気管支喘息と診断された児もいなかった。プラナルカストの投与でRSV感染症の症状の軽快やその後の繰り返す喘鳴を抑えるという効果は認められず、乳幼児の細気管支炎におけるロイコトリエン受容体拮抗薬の効果<sup>27)</sup>や、未就学児の繰り返す喘鳴におけるモンテルカストの有効性をみたメタアナリシス<sup>28)</sup>の結果と本検討の結果は同様であり、検討した免疫学的検査の結果も臨床経過と相違なかった。また、プラナルカストの投与によりTh1細胞への分化が抑制されている可能性が示唆されたが、副作用がみられたり、他の疾患に罹患した症例が認められたわけではない。本検討では基礎疾患のある例、



重症例，外来症例は除外した．本検討で除外したような症例にプラナルカストの効果が得られる可能性や，他論文でも言及されているように，ロイコトリエン受容体拮抗薬が有用な遺伝的な変化による表現型が存在する可能性もあり<sup>28)</sup>，さらなる検討が必要である．

本検討の限界として，対象症例数が少なかったこと，退院時に盲検解除したため完全な無作為投与試験とはいえないことが挙げられる．入院期間中は二重盲検法によりプラナルカストの無作為投与を行うことができたが，退院後は結果に影響を及ぼすことは少ないと判断し，外来での処方のため盲検解除した．完全な無作為投与試験とはいえないが，結果への影響は少ないと考える．サイトカインはIFN- $\gamma$ とIL-4のみ測定したが，IL-33やTSLP，IL-5，IL-13などその他のサイトカインも測定できていれば，より詳細な検討が可能であったと考えられる．また，検体として血清を用いたが，RSV感染症におけるIL-33とその他のサイトカインを測定したMaeda et alの報告<sup>29)</sup>では，鼻汁中または気管洗浄液中にIL-33の上昇が認められた症例でも，血清中では上昇がみられなかったとしているため，検体として鼻汁を用いれば，違った結果が得られたかもしれない．

### 結 論

Th1/Th2はC群で退院時，退院6か月後の値が上昇していたのに対し，P群では明らかな変化がなく，退院6か月後ではP群の方がC群と比較して有意に低かった．本検討では，乳幼児期のRSV感染時，およびその後プラナルカストを投与することによりTh1細胞への分化を抑制する可能性が示唆された．しかし，本検討では対象症例数が少なく，有意差はなかったものの対象症例に偏りがみられたため，対象症例を増やし，ロイコトリエン受容体拮抗薬の効果がみられる遺伝的な変化による表現型が存在する可能性も含め，さらなる検討が必要である．

本論文の論旨は第64回日本感染症学会東日本地方会(2010年10月，東京)において発表した．

### 謝 辞

本研究の遂行にあたり，ご教授いただきました和洋女子大学 鈴木葉子先生に深謝いたします．また本研究の統計学的解析にあたりご助言をいただきました東京女子医科大学 研究推進センター 佐藤康仁先生に深謝いたします．

東京女子医科大学学会の定める利益相反に関する開示事項はありません．

### 文 献

- 1) 堤 裕幸：呼吸器ウイルス感染症（RSウイルス感染症）—病態解明とその制御に向けて—．小児感染免疫 18 (2)：161-166, 2006
- 2) 岡部信彦：RSウイルス（Respiratory Syncytial Virus）. Section 3 感染症ごとのまとめ.「最新感染症ガイドR-BOOK2015」, 第30版（米国小児科学会編）, pp667-676, 日本小児医事出版社, 東京（2016）
- 3) 望月博之, 森川昭廣：乳児喘息とReactive Airway Disease (RAD)．日本小児呼吸器疾患学会雑誌 18 (1)：57-62, 2007
- 4) 香川貴宣, 望月博之：ウイルス感染と気管支喘息. ENTONI 237：49-54, 2019
- 5) Legg JP, Hussain IR, Warner JA et al: Type 1 and type 2 cytokine imbalance in acute respiratory syncytial virus bronchiolitis. Am J Respir Crit Care Med 168 (6): 633-639, 2003
- 6) Pinto RA, Arredondo SM, Bono MR et al: T helper 1/T helper 2 cytokine imbalance in respiratory syncytial virus infection is associated with increased endogenous plasma cortisol. Pediatrics 117 (5): e878-e886, 2006
- 7) Bisgaard H, Study Group on Montelukast and Respiratory Syncytial Virus: A randomized trial of montelukast in respiratory syncytial virus post-bronchiolitis. Am J Respir Crit Care Med 167 (3): 379-383, 2003
- 8) Kim CK, Choi J, Kim HB et al: A randomized intervention of montelukast for post-bronchiolitis: effect on eosinophil degranulation. J Pediatr 156 (5): 749-754, 2010
- 9) Bisgaard H, Flores-Nunez A, Goh A et al: Study of montelukast for the treatment of respiratory symptoms of post-respiratory syncytial virus bronchiolitis in children. Am J Respir Crit Care Med 178 (8): 854-860, 2008
- 10) Proesmans M, Sauer K, Govaere E et al: Montelukast does not prevent reactive airway disease in young children hospitalized for RSV bronchiolitis. Acta Paediatr 98 (11): 1830-1834, 2009
- 11) Mejías A, Chávez-Bueno S, Jafri HS et al: Respiratory syncytial virus infections: old challenges and new opportunities. Pediatr Infect Dis J 24 (11 Suppl): S189-S196, 2005
- 12) Yasuda N, Ikutani M, Shida Y et al: Correlation of the serum levels of leukotrienes with the serum levels of IgE and the long-term prognosis in patients with respiratory syncytial virus infection. TWUMJ 5: 57-63, 2021. doi: 10.24488/twmuj.2019106 (Accessed April 13, 2021)
- 13) Warner JA, Miles EA, Jones AC et al: Is deficiency of interferon gamma production by allergen triggered cord blood cells a predictor of atopic eczema? Clin Exp Allergy 24 (5): 423-430, 1994
- 14) Teramoto T, Fukao T, Tashita H et al: Serum IgE level is negatively correlated with the ability of peripheral mononuclear cells to produce interferon gamma (IFN gamma): evidence of reduced expres-

- sion of IFN gamma mRNA in atopic patients. *Clin Exp Allergy* **28** (1): 74-82, 1998
- 15) 原 寿郎：D 発育に伴う免疫能の変化. 第 12 章 免疫疾患.「標準小児科学」, 第 8 版 (内山 聖監), pp260, 医学書院, 東京 (2013)
  - 16) **Tohda Y, Nakahara H, Kubo H et al**: Effects of ONO-1078 (pranlukast) on cytokine production in peripheral blood mononuclear cells of patients with bronchial asthma. *Clin Exp Allergy* **29** (11): 1532-1536, 1999
  - 17) **Openshaw PJM, Yamaguchi Y, Tregoning JS**: Childhood infections, the developing immune system, and the origins of asthma. *J Allergy Clin Immunol* **114** (6): 1275-1277, 2004
  - 18) 青木美奈子, 松井永子, 金子英雄ほか：ウイルス感染と免疫アンバランス. 日本小児アレルギー学会誌 **19** (2) : 189-194, 2005
  - 19) **Okunishi K, Dohi M, Nakagome K et al**: A novel role of cysteinyl leukotrienes to promote dendritic cell activation in the antigen-induced immune responses in the lung. *J Immunol* **173** (10): 6393-6402, 2004
  - 20) **Kawano T, Matsuse H, Tsuchida T et al**: Cysteinyl leukotriene receptor antagonist regulates allergic airway inflammation in an organ- and cytokine-specific manner. *Med Sci Monit* **20**: 297-302, 2014
  - 21) 平原 潔, 中山俊憲：②アレルギー総論. 基礎編 免疫のしくみ.「免疫・アレルギー疾患イラストレイテッド」, (田中良哉編), pp20-27, 羊土社, 東京 (2013)
  - 22) **Norlander AE, Peebles RS**: Innate type 2 responses to respiratory syncytial virus infection. *Viruses* **12** (5): 521, 2020
  - 23) 山本 健, 遠藤裕介, 中山俊憲：1. 自然免疫. アレルギー **65** (1) : 1-10, 2016
  - 24) 平原 潔, 中山俊憲：2. 肺バリア障害における記憶型病原性 Th2 (Tpath2) 細胞の役割；組織局在性 ST2 陽性 CD4 T 細胞で誘導されるステロイド抵抗性気道炎症. アレルギー **67** (3) : 179-186, 2018
  - 25) **Saravia J, You D, Shrestha B et al**: Respiratory syncytial virus disease is mediated by age-variable IL-33. *PLoS Pathog* **11** (10): e1005217, 2015. doi: 10.1371/journal.ppat.1005217
  - 26) **Malinczak CA, Fonseca W, Rasky AJ et al**: Sex-associated TSLP-induced immune alterations following early-life RSV infection leads to enhanced allergic disease. *Mucosal Immunol* **12** (4): 969-979, 2019
  - 27) **Liu F, Ouyang J, Sharma AN et al**: Leukotriene inhibitors for bronchiolitis in infants and young children. *Cochrane Database Syst Rev* (3): CD010636, 2015. doi: 10.1002/14651858.CD010636.pub2
  - 28) **Hussein HR, Gupta A, Broughton S et al**: A meta-analysis of montelukast for recurrent wheeze in preschool children. *Eur J Pediatr* **176** (7): 963-969, 2017
  - 29) **Maeda T, Kashiwagi Y, Kawashima H**: Levels of Interleukin-33 and other cytokines in nasal fluid in patients with respiratory syncytial virus infections. *J Tokyo Med Univ* **77** (3): 210-216, 2019