

## 気管支喘息における Interferon-system に関する研究

能登屋 久 志

札幌医科大学内科学第3講座 (主任 鈴木 明 教授)

藤 井 暢 弘

札幌医科大学微生物学講座 (主任 小熊恵二 教授)

### Investigation of Interferon-system in Bronchial Asthma

Hisashi NOTOYA

*Department of Internal Medicine (Section 3), Sapporo Medical College*  
(Chief : Prof. A. Suzuki)

Nobuhiro FUJII

*Department of Microbiology, Sapporo Medical College*  
(Chief : Prof. K. Oguma)

It has been reported that IFN enhances IgE-mediated histamine release from basophils. Histamine is one of the chemical mediators to cause an asthma attack. Histamine plays an important role, especially in atopic asthma. Therefore, the relationship between atopic bronchial asthma which belongs to the Coombs and Gell's type 1 allergy, and the IFN-system was investigated.

IFN was measured by semi-micro dye-binding assay. Oligo-2', 5'-adenylate synthetase (2', 5'-AS) in peripheral lymphocytes (PBLs) which is known as one of the IFN-induced enzymes was measured by the liquid solution method.

Serum IFN was detected in 40.6% of asthmatic patients, but not in most of the healthy control. It was suggested that most of the serum IFN detected in asthmatic patients is  $\alpha$ -IFN and the rest may be  $\gamma$ -IFN by pH 2.0 dialysis and anti- $\alpha$ -IFN treatment.

Furthermore, activity of 2', 5'-AS in asthmatic patients was higher than in healthy control ( $p < 0.05$ ). These results of serum IFN and 2', 5'-AS suggest that IFN productive capacity in asthmatic patients may be increased.

Therefore, IFN productive capacity was investigated with PHA, ConA, OK432 and HSV. IFN produced in PBLs of asthmatic patients was significantly higher than in those of healthy control in the cases of PHA, ConA and HSV ( $p < 0.05$ ). In the case of OK432, there was no significant difference between asthmatic patients and healthy control, but IFN produced in PBLs of asthmatic patients tended to be higher than in healthy control ( $0.05 < p < 0.1$ ). These results show that  $\alpha$ - and  $\gamma$ -IFN productive capacities in asthmatic patients are increased.

Therefore, we investigated the influence of  $\alpha$ - and  $\gamma$ -IFN on histamine release from basophils. IFN was added to peripheral leukocytes and the cells were incubated for 6 hours. The cells were then treated with anti-IgE. The released histamine was measured by fluorometric assay. As a result,  $\alpha$ - and  $\gamma$ -IFN enhanced the IgE-mediated histamine release. The function of  $\gamma$ -IFN was significantly stronger than  $\alpha$ -IFN ( $p < 0.05$ ).

These results show that the IFN-system may be closely related to bronchial asthma.

(Received January 14, 1986 and accepted February 24, 1986)

**Key words:** Bronchial asthma, Interferon (IFN), Oligo-2', 5'-adenylate synthetase (2', 5'-AS), Histamine, Anti-Ig E

## 1 結 言

Interferon (以下 IFN と略) はウイルス感染に際して最初に生体内に出現する防御因子として知られている。さらに、抗ウイルス作用以外にも、免疫担当細胞 (NK 細胞, マクロファージ, キラー T 細胞など) の活性化, 抗体産生の促進または抑制, 細胞増殖抑制などの生物活性が見出され, 広く生体の免疫機構及び細胞分化機構に関与している<sup>1-8)</sup>。

一方, 臨牀的には, ベーチェット病<sup>9,10)</sup>, サルコイドーシス<sup>11)</sup>, SLE<sup>12,13)</sup>, Vogt-小柳-原田病 (内膜性ぶどう膜炎)<sup>14)</sup> などの難治性免疫疾患では患者血清中に IFN 活性が高率に検出され, これらの疾患の発生機序, 病態生理における IFN の役割について注目されている<sup>9-14)</sup>。

さらに, 気管支喘息患者においては, 血清中に高頻度で IFN 活性が認められること<sup>12,15,16)</sup>, ウイルスの上気道感染時に症状の増悪が見られること<sup>17,18)</sup>, 及びウイルスワクチン接種後に気道過敏性の亢進が見られること<sup>19-21)</sup> などが明らかにされつつあって, 気管支喘息と IFN との間に何等かの関連性が存在すると考えられてきている。

気管支喘息はアレルギー反応, 気道過敏性の亢進, 心因などを原因に発症し, 気道の感染, 気温の変化, 過労などの種々の誘因が加わって増悪することが知られ, その原因及び誘因からアトピー型喘息 (アレルギー性喘息), 感染型喘息 (内因性喘息), 混合型喘息に分けられている<sup>22)</sup>。アトピー型気管支喘息は Coombs と Gell の I 型アレルギーに属し, IgE 抗体 (レアギン) が関与している。レアギンは産生されると肥満細胞及び好塩基球表面に Fc 部分で結合する。このレアギンとアレルギーとの抗原抗体反応の結果, 脱顆粒現象が生じ, histamine や SRS-A などの活性アミン (chemical mediator) が遊離され喘息発作を引き起こすと考えられている<sup>23)</sup> が, 最近 IFN が抗 IgE 抗体や ragweed antigen E による好塩基球からの histamine 遊離を増幅する<sup>23-27)</sup> ことや, 好塩基球の chemotaxis 増強作用を有する<sup>28)</sup> ことが報告され, 気管支喘息の中でもアトピー型気管支喘息と IFN との間に深い関連性があることが示唆されている。

IFN の測定には通常, FL 細胞などの IFN 感受性細胞と水疱性口内炎ウイルス (vesicular stomatitis virus, VSV) などの細胞破壊性ウイルスを用いた bioassay が用いられるが低力価の IFN の検出は困難である。これに対して oligo-2', 5'-adenylate synthetase (以下

2', 5'-AS と略) は IFN によってリンパ球中に誘導される酵素の一つであり, IFN の抗ウイルス作用の一部を担うと考えられているが, bioassay で検出が困難な低力価の IFN によっても誘導されるため, 2', 5'-AS を測定することによって IFN の存在を間接的に知ることが可能と考えられる<sup>29)</sup>。

そこで, 著者らはアトピー型気管支喘息を対象にして血清中 IFN 活性を測定するとともに, リンパ球 2', 5'-AS 活性の測定による検討を加えた。その結果, 喘息患者の IFN 産生能が亢進している可能性が考えられたので患者末梢血リンパ球を用いてその IFN 産生能を検討した。

さらに, ヒト白血球 IFN ( $\alpha$ -IFN), 及び recombinant  $\gamma$ -IFN を用いて好塩基球からの histamine 遊離増幅作用の比較検討を行なった。

## 2 研究対象及び方法

### 2.1 研究対象

アトピー型気管支喘息患者 46 名, 及びアトピー疾患の既往歴のない健常者 53 名を研究対象とした。気管支喘息の診断は American Thoracic Society (1962) の定義<sup>30)</sup> に従い, アトピー型気管支喘息の診断は八倉の方法<sup>22)</sup> に準じ, Table 1 に示すアレルギー点数によって 3 点以上を得た症例をアトピー型気管支喘息と診断した。重症度は日本アレルギー学会成人気管支喘息重症度判定基準 (1983)<sup>31)</sup> に従った。研究対象の年齢構成, 重症度分類を Table 2 に示した。

### 2.2 IFN の測定

#### 2.2.1 血清 IFN の測定

アトピー型気管支喘息患者 (以下, 喘息患者と略) 32 名及び健常者 28 名の血清 IFN を測定した。被験者から静脈血を 10 ml 採取し, 1,200×g, 30 分間遠心で得られた血清を 100 倍量の PBS (pH 7.5, NaCl 0.8, KCl 0.02, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12 H<sub>2</sub>O 0.28, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.02% w/vol) を用いて 4°C 24 時間の透析を行ない, さらに 0.1% NaHCO<sub>3</sub> 添加 RPMI-1640 培養液 (Pharmacia) 1,000 ml で 4°C 24 時間透析した後, IFN 活性を測定し

Table 1 Scores of allergic factors.

Onset age of less than 16 yrs	1
Family history of allergies	1
Past history of allergies	1
Positive skin test (without fungal allergen)	1
Ig E (RIST) 400 IU ≤	1
Ig E (RAST) score 2 ≤	2

Table 2 Subjects studied.

Group	Number	Mean age (range)	Sex		Severity		
			M	F	Mild	Moderate	Severe
BA	46	32.0 (16-62)	25	21	20	19	7
HC	53	23.7 (16-55)	37	16			

BA: patients with atopic bronchial asthma. HC: healthy control.

た。

IFN 測定は Armstrong の semi-micro dye-binding assay<sup>32)</sup> に準拠した。すなわち、ヒト羊膜由来 FL 細胞を 5% fetal calf serum (FCS, Filtron) 添加 RPMI-1640 培養液で  $2 \times 10^5$  cells/ml に調整し、96 well cell culture plate (住友ベークライト) に 0.1 ml ずつ分注し、37°C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で 24 時間培養し、confluent monolayer になった時点で上清をすてた。この culture plate に NIH 標準  $\alpha$ -IFN (G-023-901-527) によって力価補正を行なった  $\alpha$ -IFN (日本赤十字社 Lot. 02-31, 以下標準  $\alpha$ -IFN と略), 及び上述の透析処理血清を 5% FCS 添加 RPMI-1640 培養液を用いて倍数希釈したものを 0.1 ml ずつ添加して、さらに 24 時間培養した。培養後、血清非添加 RPMI-1640 培養液を用いた 2 回の洗浄を加え、VSV (New Jersey strain,  $10^6$  pfu/ml) を 0.1 ml ずつ接種した。各 culture plate にはウイルス対照、細胞対照をおき、ウイルス対照群において VSV による細胞変性が明らかとなった時点で、culture plate を生理食塩水で 3 回洗浄し、ゲンチアナ紫ホルマリン液 (gentiana violet 0.5, formalin 5, ethanol 50, NaCl 0.9% w/vol) で 3~5 分間の染色を行ない、水洗後、室温で乾燥させた。次いで、methoxyethanol (和光) で色素を抽出し、日立 181/Spectrophotometer を用い、550 nm の波長で吸光度を測定、標準  $\alpha$ -IFN から得られた検量線から力価を決定した。この方法では 4 単位未満の IFN 測定は不可能であったので、4 単位以上を血清 IFN 陽性とした。

### 2.2.2 血清 IFN type の同定

血清に認められる IFN は  $\alpha$ -IFN あるいは  $\gamma$ -IFN の可能性がある。pH 2.0 の透析処理で  $\alpha$ -IFN は失活せず、 $\gamma$ -IFN は失活するとされている<sup>33)</sup>。そこで、IFN の type を同定する目的で pH 2.0 による透析処理とウサギ抗ヒト  $\alpha$ -IFN 抗体 (米国 NIH より分与) による中和実験を行なった。pH 2.0 による透析処理は IFN 活性の認められた喘息患者 8 症例の血清及び標準  $\alpha$ -IFN

(100 IU/ml) をそれぞれ 3 ml 用いて、その 1.5 ml ずつについて 100 倍量の PBS (pH 7.5) 及び、0.1 M KCl/HCl (pH 2.0) による 4°C 24 時間の透析を同時に行なった。さらに 0.1% NaHCO<sub>3</sub> 添加 RPMI-1640 培養液 1,000 ml で 4°C 24 時間透析した後、前述の方法で IFN 活性を測定した。抗  $\alpha$ -IFN 抗体による中和実験では IFN 活性を認めた喘息患者 4 症例の PBS 及び RPMI-1640 培養液による透析済み血清及び標準  $\alpha$ -IFN (20 IU/ml) 1 ml に同量の抗  $\alpha$ -IFN 抗体を加え 37°C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で 1 時間反応させた後、前述の方法を用いて IFN 活性を測定した。

### 2.3 2', 5'-AS 活性の測定

2', 5'-AS は IFN によってリンパ球などの細胞内に誘導され、2 本鎖 RNA (poly I: poly C などの合成 2 本鎖 RNA 及びウイルス由来 2 本鎖 RNA) の存在下で ATP を基質として、Fig. 1 に示すような adenylylate の oligomer である oligo-2', 5'-adenylylate (以下、2', 5'-A と略) を合成する<sup>34-37)</sup>。

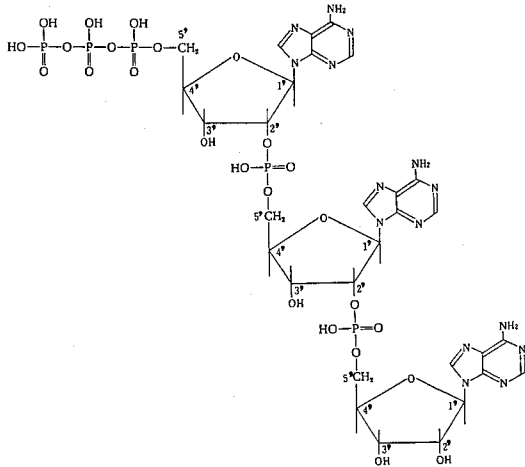
そこで、リンパ球細胞質成分に <sup>3</sup>H-ATP と poly I: poly C を加えて反応させた後、合成された 2', 5'-A の放射活性を測定することによってリンパ球の 2', 5'-AS 活性を求めた。

#### 2.3.1 IFN の 2', 5'-AS 誘導作用の検討

IFN と 2', 5'-AS の関係を明らかにする目的で健常者末梢血リンパ球に標準  $\alpha$ -IFN を加えて 2', 5'-AS 誘導作用を検討した。

2', 5'-AS 活性の測定には liquid solution method を用いた<sup>38,39)</sup>。

被験者から採取したヘパリン加静脈血 10 ml から Ficoll-Paque (Pharmacia) 比重遠心法により回収した単核球画分を PBS 及び MEPS (0.01 M EDTA-3Na, methyl-cellulose 0.04, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.109, NaCl 0.9% w/vol) を用いて洗浄し、血小板除去後、PBS 浮遊液とした。さらに、5% FCS 添加 RPMI-1640 培養液を用いて  $2.5 \times 10^6$  cells/ml に調整した細胞浮遊液 2 ml に  $\alpha$ -IFN を 2, 4, 10, 50 IU/ml となる



**Fig. 1** Oligo-2', 5'-adenylate (trimer). Oligo-2', 5'-adenylates are 2', 5'-linked oligomers of AMP with a 5'-triphosphate at the 5'-end and expressed as 2', 5'-An.

ように加え、IFN 非添加リンパ球とともに 24 時間培養した後、PBS で 2 度洗浄して得られた細胞沈渣を NP40 lysate buffer (20 mM HEPES/KOH pH 7.5, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 120 mM KCl, 1 mM dithiothreitol, 10% glycerol, 0.5% NP40) 60  $\mu$ l を用いて 10 分間の可溶化を行ない、10,000 $\times$ g 10 分間遠心清を粗酵素標品とした。蛋白量は protein assay kit (Bio-Rad) により測定し、粗酵素標品について 2', 5'-AS 活性を測定した。

2', 5'-AS 反応液 [10 mM HEPES/KOH pH 7.4, 90 mM CH<sub>3</sub>COOK, 25 mM (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> Mg, 5 mM ATP, 4 mM fructose-1, 6-bisphosphate, 1 mM dithiothreitol, 20  $\mu$ g/ml poly I : poly C, 1.25  $\mu$ Ci <sup>3</sup>H-ATP(27.9 Ci/m mole)] に酵素 20  $\mu$ g を加え総量を 50  $\mu$ l として、33 $^{\circ}$ C 4 時間反応させた後、95 $^{\circ}$ C で 2 分間加熱し、酵素反応を止めた。これに 90 mM KCl (20 mM Tris/HCl, pH 7.4) を 1 ml 加え、DEAE-Cellulose (DE52) カラム (0.5 $\times$ 2 cm) にかけて、90 mM KCl 15 ml, 100 mM KCl 5 ml で未反応の ATP を溶出した後、350 mM KCl 溶出画分 2 ml に PCS (Amersham) 10 ml を加え、放射活性を測定した。酵素活性は、合成された 2', 5'-A に取り込まれた ATP 量 [nmol polymerized ATP/mg protein $\cdot$ hr, nmol/mg $\cdot$ hr] で表わした。

### 2.3.2 喘息患者末梢血リンパ球の 2', 5'-AS 活性の測定

喘息患者 36 名及び健常者 49 名を対象にして、2.3.1 と同様にして得られたリンパ球 5 $\times$ 10<sup>6</sup> 個を用いて上

述の liquid solution method で 2', 5'-AS 活性を測定した。

### 2.4 末梢血リンパ球からの IFN 誘発試験

喘息患者の IFN 産生能の亢進が考えられたので喘息患者 35 名、及び健常者 35 名を対象にして、PHA, Con A, OK432 及び herpes simplex virus (以下、HSV と略す) を用いた IFN 誘発試験を行なった。

2.3.1 と同様にして得られたリンパ球を RPMI-1640 培養液で 1 回洗浄後、10% FCS 添加 RPMI-1640 培養液で 1 $\times$ 10<sup>6</sup> cells/ml に調整し、ペトレイ 24F プレート (Terumo) に 1 ml ずつ注入、これに PHA (Difco), ConA (Sigma), OK432 (中外製薬), HSV (PH strain) を各々 20  $\mu$ g/ml, 50  $\mu$ g/ml, 0.1 KE/ml, 3 $\times$ 10<sup>4</sup> pfu/ml となるように添加した後、37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で 3 日間培養し上清の IFN 力価を 2.2.1 の方法を用いて測定した。ただし、血清検体の場合と異なり、VSV 接種前の血清非添加 RPMI-1640 培養液を用いた 2 回の洗浄は施行しなかった。

### 2.5 IFN の histamine 遊離増幅作用の検討

#### 2.5.1 標準 histamine 検量線の作製

Histamine dihydrochloride (和光) 166 mg を free base の histamine 100 mg として用い PBS で希釈後、100, 50, 20, 10 ng/ml を標準 histamine 溶液とし、histamine 非添加 PBS とともに小松の方法<sup>40)</sup> に準拠して、蛍光強度 (relative fluorescence intensity, RFI) を測定し検量線を作製した。すなわち、検体 1 ml に 60% HClO<sub>4</sub> を 50  $\mu$ l 加え、thermomixer を用いて充分攪拌し 0.95 ml を採取し、6N NaOH 100  $\mu$ l 及び飽和するのに充分量の NaCl を加えて 1 分間攪拌した。これに B-C 液 (spectrometry 用 n-butanol : chloroform = 3 : 2, 半井) 3.5 ml を加え、5 分間攪拌し 1,200 $\times$ g, 5 分間遠心後の有機層 3 ml を採取し、n-heptane (spectrometry 用, 半井) 3 ml 及び 0.1 N HCl 1.2 ml を加え、10 分間攪拌し、1,200 $\times$ g, 5 分間遠心後上層の有機溶媒を捨て HCl 層 1 ml を採取した。1N NaOH 200  $\mu$ l と methyl alcohol (spectrometry 用, 半井) で 0.1% に調整した o-phthalaldehyde (OPT, 半井) 100  $\mu$ l を加え、4 分間反応させた後、0.5 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 200  $\mu$ l を加えて反応を止めた。蛍光強度は日立 203/Fluorescence spectrophotometer を用い activation wavelength 360 nm, fluorescence wavelength 445 nm の条件で測定し標準 histamine の検量線を作製した。

### 2.5.2 末梢血好塩基球の histamine 遊離反応の検討

喘息患者 3 名, 健常者 2 名を対象とし抗 IgE 抗体を用いて IFN の末梢血好塩基球からの histamine 遊離増幅能を検討した。

末梢血白血球の分離培養及び histamine 遊離反応は Drobis and Siraganian の方法<sup>41)</sup>に準拠した。すなわち, ヘパリン加静脈血 10 ml あたり 6% dextran 溶液 (EDTA-3Na 0.01 M, dextran 6.0, glucose 1.0, NaCl 0.9% w/vol) を 2.5 ml 加え室温下で 60 分静置して白血球層を回収した。次に, 300×g, 8 分の遠心を加えて得られた細胞沈渣を Tris A-EDTA (EDTA 4 mM 添加 Tris A; pH 7.4, NaCl 0.7, KCl 0.037, Tris 0.29, human serum albumin [HSA, Sigma] 0.03% w/vol) を用いて 1 回洗浄後, 30 秒間の hypotonic shock を加え, 赤血球を溶血除去した。さらに, Tris A-EDTA で洗浄し, 0.03% HSA 添加 RPMI-1640 培養液 (Pharmacia) で洗浄した後, 2% FCS 及び 0.03% HSA 添加 RPMI を用い  $\alpha$ -IFN,  $\gamma$ -IFN (東レ Lot. GTH-001) を加え, それぞれ 1,000, 200 IU/5×10<sup>6</sup> cells/ml となるように調整した。これを, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で 6 時間培養し, Tris A で洗浄後, Tris ACM (1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub> 添加 Tris A) を用いて 0.45 ml (1×10<sup>6</sup> cells) ずつ分注した。その一つを histamine 遊離反応前の細胞中に含まれている総 histamine 量測定用とし, PBS を加えて 1 ml にした。また, 抗 IgE 抗体を加えなくても培養によって好塩基球から少量の histamine 遊離が認められることから, 一つには抗 IgE 抗体非添加 Tris ACM を 50  $\mu$ l 加え自然遊離 histamine 測定用とした。他の細胞浮遊液には Tris ACM を用いて種々の濃度に調整した抗 IgE 抗体 ( $\epsilon$ -Chain specific sheep anti-human IgE, Cappel) を 50  $\mu$ l 加え, 37°C で 45 分間反応させた。反応終了時に ice bath につけた後, 4°C の Tris A-EDTA を 0.7 ml 加え 1,200×g, 15 分間遠心で上清を回収した。この上清 1 ml に 60% HClO<sub>4</sub> を 50  $\mu$ l 加え, 充分攪拌し 10,000×g, 20 分間遠心後の除蛋白上清 0.95 ml を採取し, 6N NaOH 100  $\mu$ l 及び飽和するのに充分量の NaCl を加えて 1 分間攪拌した。以下 2.5.1 に述べた方法で蛍光強度を求め, 標準 histamine の検量線から総 histamine 量及び細胞培養上清中の histamine 量を求めた。histamine 遊離率(以下 % HR と略) は次式から求めた。

$$\% \text{HR} = 100(E_i - b) / (c - b)$$

E<sub>i</sub>: 抗 IgE 抗体添加時の遊離 histamine 量

b: 自然遊離 histamine 量

c: 総 histamine 量

### 2.5 統計学的検定

統計学的検定には t-test を用いたが, 4 単位未満の血清 IFN は測定困難であったので, 血清 IFN の場合には chi-square test を用い, いずれの場合にも危険率 5% 未満を有意差ありとした。

## 3 成績

### 3.1 血中 IFN の測定

Fig. 2 は血中 IFN 力価を表わしたものである。喘息患者群において, open circle は採血前 24 時間以内に喘鳴以上の発作を認めた症例(以下, 発作群と略), closed circle は認められなかった症例(以下, 発作間期群と略)を示す, 健常者は全て closed circle で表わした。喘息患者 32 例中 13 例 (40.6%), 健常対照 28 例中 3 例 (10.7%) に IFN 活性を認め, 喘息患者群に統計学的に有意な上昇 ( $p < 0.05$ ) を認めた (Table 3)。また, 発作群 14 例中 IFN 活性を認めたのは 8 例 (57.1%), 発作間期群 18 例中 IFN 活性を認めたのは 5 例 (27.8%) であり, 発作群に頻度は高かったが, 両群に統計学的有意差を認めなかった ( $p < 0.1$ , Table 4)。重症度別では, 軽症例 15 例中 9 例 (60.0%), 中等ないし重症例 17 例中 4 例 (23.5%) に IFN 活性を認めたが, 両者間に有意差を認めなかった ( $p < 0.1$ )。

pH 2.0 での透析実験では, Table 5 に示すように,

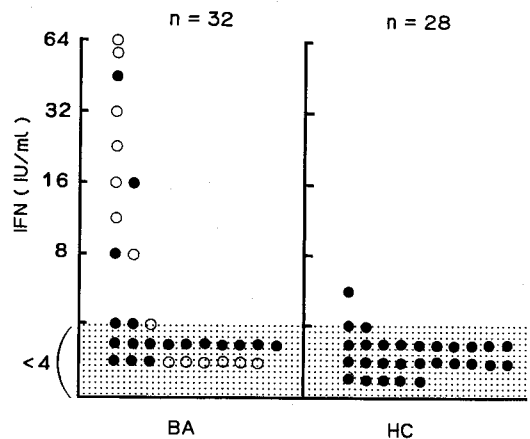


Fig. 2 IFN in serum. BA and HC indicate atopic asthmatic patients and healthy control, respectively. In BA, open and closed circles indicate cases in which asthma attack was observed or not within 24 hrs before blood-collection. IFN was significantly detected in BA versus HC ( $p < 0.05$ ).

Table 3 Contingency table of serum IFN.

	IFN (IU/ml)	
	4>	4≤
BA	19	13
HC	25	3

p&lt;0.05

Table 4 Contingency table of serum IFN in asthmatics.

	IFN (IU/ml)	
	4>	4≤
A (+)	6	8
A (-)	13	5

A(+): Asthma attack was observed within 24 hrs before blood-collection. A(-): Asthma attack was not observed. No significant difference between A(+) and A(-).

pH 7.5 での IFN 力価に比較して、8 例中 7 例で失活を認めなかったが、他の 1 例では IFN 活性は失活した。これに対して、対照とした  $\alpha$ -IFN では明らかな失活は認められなかった。

Table 5 Effect of pH 2.0 dialysis of serum on IFN.

Case	Dialysis	
	pH 7.5	pH 2.0
1 C. E.	32	64
2 M. I.	32	16
3 S. S.	10	8
4 I. H.	8	8
5 T. S.	8	4
6 K. Ka.	8	4>
7 E. I.	6	12
8 M. O.	4	4
$\alpha$ -IFN (100 IU/ml)	112	88

IFN (IU/ml)

Table 6 Effect of anti- $\alpha$ -IFN on serum IFN.

Case	Treatment	
	(-)	(+)
1 S. S.	4	4>
2 T. S.	8	4>
3 M. S.	12	12
4 M. O.	4	4>
$\alpha$ -IFN	20	4>

IFN (IU/ml)

Table 6 に示すように抗  $\alpha$ -IFN 抗体処理を行なった 4 例のうち 3 例に失活を認めたが、1 例は不変であった。これに対して、対照とした  $\alpha$ -IFN は抗体処理によって、4 単位未満に失活した。

### 3.2 末梢血リンパ球の 2', 5'-AS 活性

Fig. 3 は健常人リンパ球を IFN 存在下で 24 時間培養し、リンパ球に誘導された 2', 5'-AS 活性を示す。その結果、IFN に対して dose-dependent に 2', 5'-AS 活性が増加し、低単位の IFN にも反応して 2', 5'-AS が誘導された。

Table 7 は血中 IFN と末梢血リンパ球の 2', 5'-AS 活性を同一症例で同時に測定し得た 8 例を示している。血中 IFN を認めた 5 例では 2', 5'-AS 活性も比較的高値を示し、血中 IFN を認めなかった 3 例では 1 例で、2', 5'-AS 活性がやや高値であったが、他の 2 例では低値であった。また、Kendall の順位相関係数 ( $\tau$ ) は 0.828 であった。

末梢血リンパ球の 2', 5'-AS 活性は、Fig. 4 に示すように、喘息患者群では  $6.35 \pm 5.62$  (mean  $\pm$  SD) nmol/mg·hr、健常者群では  $3.89 \pm 2.58$  nmol/mg·hr であり、喘息患者群で有意な上昇を認めた ( $p < 0.05$ )。さらに、健常者の mean + SD よりも高値を示すものは 36

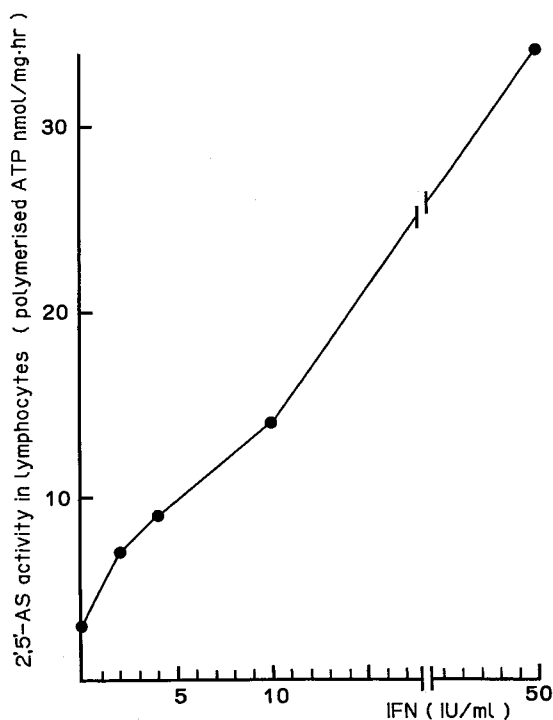


Fig. 3 IFN-induced 2', 5'-AS activity in PBLs.

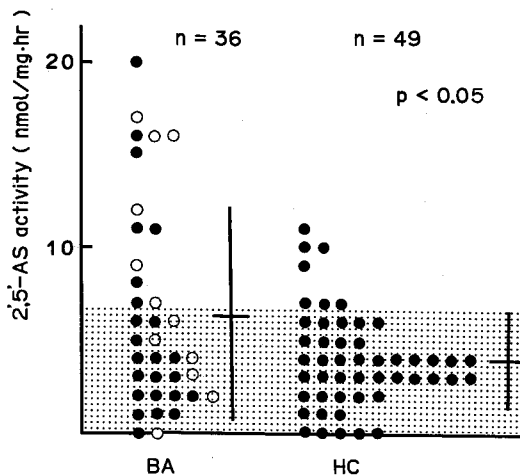
**Table 7** Correlation between IFN activity in serum and 2', 5'-AS activity in PBLs.

Case	IFN (IU/ml)	2', 5'-AS (nmol/mg hr)
1 K. Ka.	8	11.7
2 I. H.	8	11.3
3 E. I.	6	6.5
4 M. O.	4	5.4
5 K. Y.	4	5.0
6 A. S.	4>	5.9
7 K. Ki.	4>	1.2
8 E. T.	4>	0.2

Kendall's rank correlation:  $\tau=0.828$

IFN activity in serum and 2', 5'-AS activity in PBLs were examined at the same time in the same patients.

例中13例(36.1%)であり、mean+2SDよりも高値を示すものは36例中8例(22.2%)であった。発作群では $7.90 \pm 5.87$  nmol/mg·hr、発作間期群では $5.72 \pm 5.35$  nmol/mg·hrで発作群が高値を示したが、有意差は認められなかった( $p > 0.1$ )。重症度別では、軽症例( $4.07 \pm 4.35$  nmol/mg·hr,  $n=17$ )と中等ないし重症例( $8.35 \pm 5.57$  nmol/mg·hr,  $n=19$ )間に有意差を認めなかった( $p > 0.1$ )。

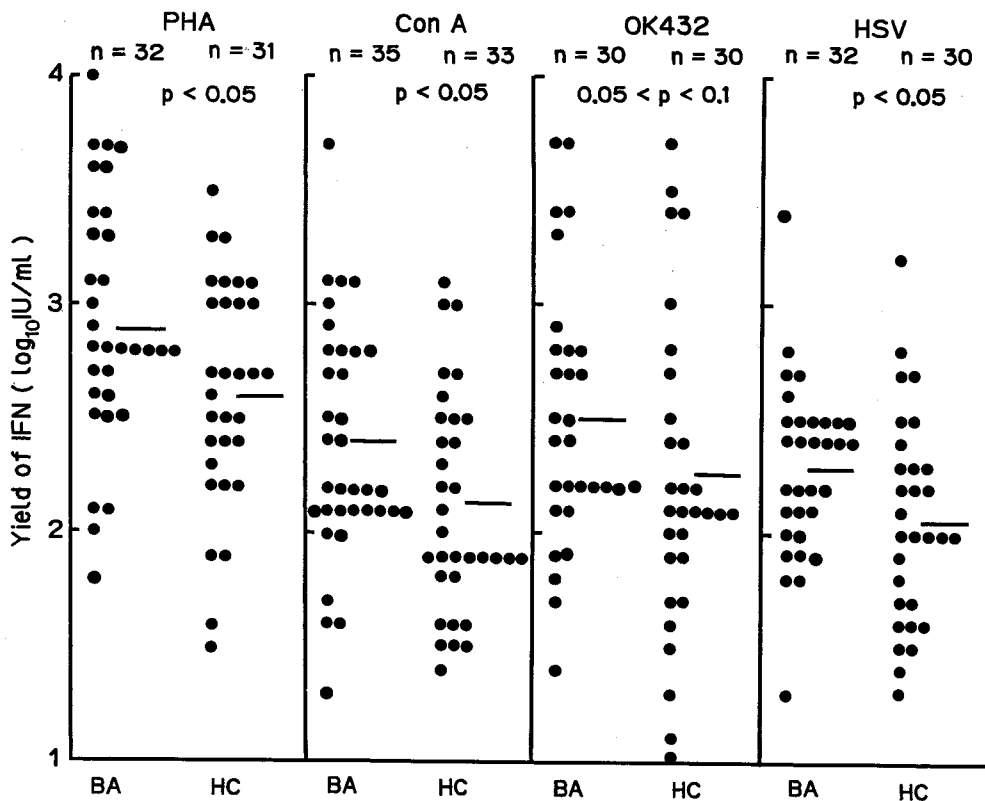


**Fig. 4** 2', 5'-AS activity in PBLs.

**3.3 末梢血リンパ球のIFN誘発試験**

Fig. 5, Table 8はリンパ球をPHA, ConA, OK432, HSVの存在下で3日間培養して得られた上清中のIFN力価を対数表示したものである。

喘息患者群は健常者群に比較してPHA, ConA, HSV存在下で有意なIFN産生を認めた( $p < 0.05$ )。



**Fig. 5** IFN production in PBLs.

Table 8 IFN production in lymphocytes.  
(Mean±SD)

Inducer	Produced IFN (log <sub>10</sub> IU/ml)			p value
	HC	vs.	BA	
PHA (20 μg/ml)	2.62±0.50		2.92±0.55	p<0.05
Con A (50 μg/ml)	2.11±0.47		2.38±0.51	p<0.05
OK432 (0.1 KE/ml)	2.22±0.68		2.47±0.58	N.S.
HSV (3×10 <sup>4</sup> pfu/ml)	2.07±0.46		2.29±0.38	p<0.05

N.S.: not significant

OK432 では有意差を認めなかったが(0.05<p<0.1), 平均値は喘息患者群が正常対照群よりも高値であった。図表には示していないが重症度別では, 軽症例と中等ないし重症例間に有意差を認めなかった(p>0.1)。

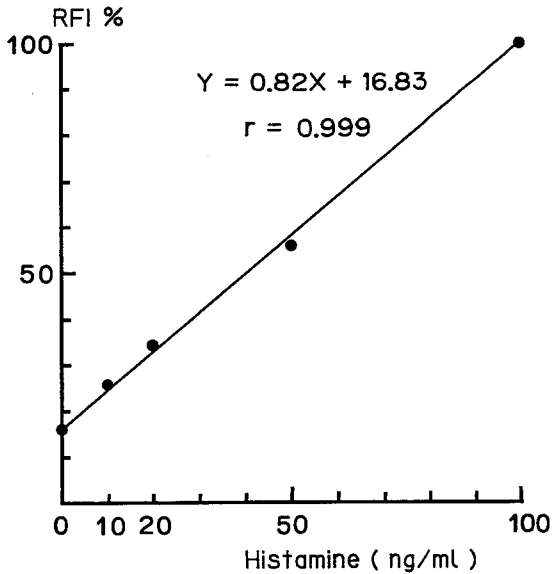


Fig. 6 Plot of standard histamine. Concentration plots of histamine versus RFI values give a straight-line relationship as shown in the diagram.

#### 3・4 好塩基球からの histamine 遊離に対する IFN の効果

Fig. 6, 及び Table 9 は標準 histamine 100 ng/ml を RFI=100, 蒸留水を RFI=0 としたときの各標準 histamine 溶液の蛍光強度を示したもので, histamine 量と蛍光強度の間には直線関係が成立し, 少なくとも 10 ng/ml から 100 ng/ml の histamine が測定可能であった。

Fig. 7 は研究対象 5 例から得られた % HR を表わしている。いずれの対象においても % HR は 10<sup>-4</sup> 倍希釈抗 IgE 抗体に対して最高値を示し, 且つ IFN 処理を加えた場合に % HR の増加を認めた。そこで, 10<sup>-4</sup> 倍希釈抗 IgE 抗体に対する % HR (maximum % HR) を paired t-test を用いて比較検討した。個々の maximum % HR の値は Table 10 に示した。その結果, IFN 処理をしていない場合 (17.3±10.1%, mean±SD, n=5) に比較して, α-IFN 処理した場合 (21.8±10.4%, n=5) は有意に高値であった (p<0.01)。γ-IFN 処理をした場合 (27.1±13.1%, n=5) にも IFN 処理をしていない場合に比較して有意に高値を得た (p<0.05)。さらに α-IFN 処理した場合と γ-IFN 処理をした場合との比較では, 後者で有意に高値であった (p<0.05)。

#### 4 考 察

喘息患者が上気道炎に罹患した場合, 気道過敏性がさらに亢進するとの報告があるが<sup>42)</sup>, インフルエンザワクチンまたは, 麻疹ワクチンの接種によっても気道過敏性が亢進する<sup>19-21)</sup> ことから, 上気道炎による気道過敏性の亢進には気道における炎症反応以外の因子も関与していると考えられる。さらに, 喘息患者では血清中に高頻度に IFN 活性が認められる<sup>12,15,16)</sup> との報告や, IFN が好塩基球からの histamine 遊離を増幅する<sup>23-27)</sup> との報告, 及び IFN が好塩基球の chemotaxis を増強する<sup>28)</sup> との報告もあり, IFN が喘息症状の増悪因子として作用する可能性が指摘されている。特にアトピー型気管支喘息では Coombs と Gell の I 型アレルギーである IgE を介する histamine 遊離が症状の発現に強く

Table 9 Determination of standard histamine with fluorometric assay.

Histamine (ng/ml)	0	10	20	50	100
RFI %	16.2±2.6 n=3	26.0±0.9 n=3	34.3±2.5 n=3	56.1±0.6 n=3	100 n=1

RFI of respective concentrations of standard histamine (mean±SD) is shown.



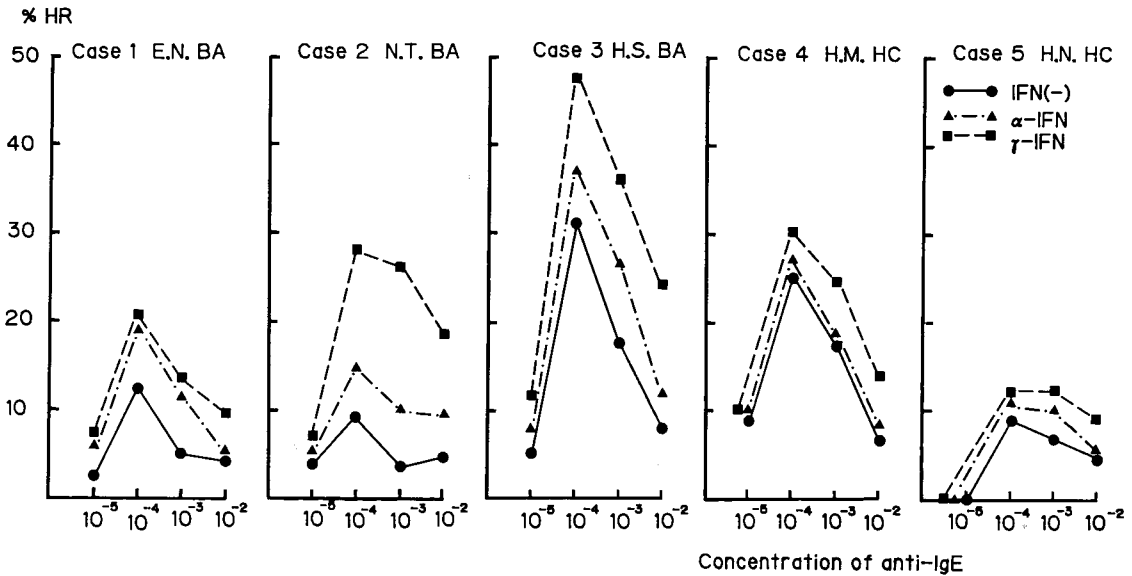


Fig. 7 Enhancement of histamine release by IFN. Leukocytes were incubated with  $\alpha$ -IFN (1,000 IU/ml) or  $\gamma$ -IFN (200 IU/ml) for 6 hrs. Cells were then treated with anti-IgE, and the released histamine was examined.

Table 10 Maximum % HR

Treatment	Case 1 E. N. BA	Case 2 N. T. BA	Case 3 H. S. BA	Case 4 H. M. HC	Case 5 H. N. HC
IFN (-)	12.3	9.2	31.2	25.0	8.8
$\alpha$ -IFN 1,000 IU/ml	19.1	14.7	36.9	27.2	10.9
$\gamma$ -IFN 200 IU/ml	20.6	28.0	47.5	30.0	12.1

Maximum % HR was obtained by  $10^{-4}$  dilution of anti-IgE as shown in Fig. 7. Maximum % HR was compared with the paired t-test. As a result, IFN(-) vs.  $\alpha$ -IFN:  $p < 0.01$ , IFN(-) vs.  $\gamma$ -IFN:  $p < 0.05$ ,  $\alpha$ -IFN vs.  $\gamma$ -IFN:  $p < 0.05$ .

関与しており<sup>22)</sup>, この際に IFN が存在していると遊離される histamine 量が増加し症状を増悪すると考えられる。

そこで、著者らはアトピー型喘息を対象にして気管支喘息と IFN-system の関係をより明らかにする目的で今回の一連の実験を行なった。血清 IFN は Skurkovich and Eremkina の報告<sup>12)</sup> とほぼ一致して喘息患者の 32 例中 13 例の 40.6% にその活性を認め、健常者群に比較して有意に検出し得たが ( $p < 0.05$ , Fig. 2, Table 3), 発作群と発作間期群との間には有意差を認めなかった ( $p > 0.1$ , Table 4)。

著者らの用いた FL 細胞と VSV を利用した semi-micro dye-binding assay においては 4 単位未満の低力価の IFN の測定は困難であった。一方、2', 5'-AS

活性は IFN 消失後もリンパ球において認められ、且つ低力価の IFN によっても誘導されるので IFN の monitor として極めて有用であるとされている<sup>29)</sup>。

著者らの成績でも 2', 5'-AS 活性は IFN 活性に対して dose-dependent な増加を示し、且つ低力価の IFN に対しても活性の増加を示した (Fig. 3)。さらには、Table 7 に示したように IFN と 2', 5'-AS 活性を同時に測定し得た症例では IFN 活性を認めた症例で 2', 5'-AS 活性が高値であり、IFN 活性を認めない症例のそれは低値の傾向を示したので、2', 5'-AS の測定により間接的に IFN の存在を検査することが可能と考えリンパ球 2', 5'-AS 活性の測定を行なった。

その結果、リンパ球 2', 5'-AS 活性でも、喘息患者群は健常者群に比較して有意な高値を示し ( $p < 0.05$ ,

Fig. 4), 健常者の mean+SD よりも高値を示すものが 36 例中 13 例(36.1%), mean+2SD よりも高値を示すものが 36 例中 8 例(22.2%)であった。しかし、発作群と発作間期群との間には有意差は認められなかった ( $p < 0.1$ )。血清 IFN とリンパ球 2', 5'-AS 活性が共に発作群と発作間期群との間に有意差を示さなかった理由として、投薬による IFN 産生の抑制<sup>43)</sup>, 血清 IFN が比較的低値であること, IFN にはアレルゲンによる histamine 遊離を増幅する作用があるが IFN のみでは histamine は遊離されない<sup>24)</sup> などによる影響と考えられる。

IFN はその抗原性から  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  型の 3 種に分類されているが,  $\beta$ -IFN は線維芽細胞から産生され<sup>44)</sup>, 且つ細胞親和性が強い<sup>45)</sup> ので通常血清中には認められない。従って, 喘息患者血清に認められる IFN は  $\alpha$  ないし  $\gamma$  型が考えられる。

pH 2.0 での透析では Table 5 に示すように対照の  $\alpha$ -IFN 及び 8 例中 7 例で IFN の失活を認めなかったが, 1 例に失活を認めた。抗  $\alpha$ -IFN 抗体による中和実験では Table 6 に示すように対照の  $\alpha$ -IFN 及び 4 例中 3 例で失活を認めたが, 他の 1 例には失活を認めなかった。このことから, 喘息患者血清に認められた IFN の主体は  $\alpha$ -IFN と考えられるが, 一部の症例では  $\gamma$ -IFN の存在が疑われた。

喘息患者血清に高率で IFN が認められることから IFN 産生の亢進が考えられ, 著者は  $\alpha$ -IFN inducer の HSV,  $\gamma$ -IFN inducer の PHA, Con A, OK432 を用いて末梢リンパ球の IFN 産生能を検討した。その結果, HSV, PHA, Con A で有意な IFN 産生の亢進を認めた ( $p < 0.05$ , Fig. 5, Table 8)。OK432 では有意差を認めなかったが患者群でより IFN が産生される傾向を示した ( $0.05 < p < 0.1$ )。以上の結果から総合して, アトピー型気管支喘息患者では  $\alpha$  及び  $\gamma$ -IFN の産生が亢進していると考えられた。

喘息患者血清に高率で IFN 活性が認められ, その多くは  $\alpha$  型であったが, 一部には  $\gamma$  型の存在が疑われたこと, 喘息患者で  $\alpha$  及び  $\gamma$ -IFN の産生能が亢進していると考えられたことから, 喘息患者 3 名と健常者 2 名を対象にして  $\alpha$  及び  $\gamma$ -IFN の histamine 遊離増幅作用を抗 IgE 抗体を用いて比較検討した。その結果, いずれの IFN にも抗 IgE 抗体による histamine 遊離の増幅作用が認められ, さらにこの作用は健常者にも共通して認められた。そこで, この 5 例について maximum % HR を paired t-test を用いて検討したところ, IFN 処理した場合の % HR は IFN 非処理の場合

に比較して有意に高値であった ( $\alpha$ -IFN:  $p < 0.01$ ,  $\gamma$ -IFN:  $p < 0.05$ ) さらには,  $\gamma$ -IFN 処理した場合の % HR は  $\alpha$ -IFN の場合よりも有意に高値を示し ( $p < 0.05$ ), 用いた  $\alpha$ -IFN が 1,000 IU/ml であるのに対し  $\gamma$ -IFN は 200 IU/ml であったことを考慮すると,  $\gamma$ -IFN の histamine 遊離増幅作用は  $\alpha$ -IFN よりも数倍強いと考えられた。さらに, この IFN の histamine 遊離増幅作用が健常者にも共通して認められたことから, IFN による喘息症状の増悪化には histamine に対する気道過敏性の亢進<sup>46)</sup> も強く影響していると考えられる。

## 5 結 論

喘息と IFN-system の関係を明らかにするために, 喘息患者血清の IFN 活性, 末梢血リンパ球の 2', 5'-AS 活性を測定した。さらには末梢血リンパ球の IFN 産生能及び IFN による末梢血好塩基球からの histamine 遊離増幅作用を検討し, 以下の結果を得た。

- 1) 患者群では血清 IFN 及びリンパ球 2', 5'-AS 活性がともに健常者群よりも有意に高値であった。
- 2) 低力価の IFN にも反応してリンパ球に 2', 5'-AS 活性が誘導されたことと, 血清 IFN とリンパ球 2', 5'-AS 活性を同時に測定し得た症例では IFN が高値を示した症例の 2' 5'-AS 活性が高値を示す傾向が認められたことから, 低力価の IFN のモニターとして 2', 5'-AS 活性を測定することが可能であると考えられた。
- 3) 発作群と発作間期群との比較では血清 IFN 及びリンパ球 2', 5'-AS 活性のいずれにおいても有意差を認めなかった。
- 4) 患者血清に認められる IFN は  $\alpha$  型が主体であったが, 一部に  $\gamma$  型の存在も疑われた。
- 5) IFN 誘発試験では PHA, Con A 及び HSV では患者群に有意な IFN 産生の亢進を認めたが, OK432 では有意差を認めなかった。
- 6) 重症度に関しては, 血清 IFN, リンパ球 2', 5'-AS 活性, IFN 誘発試験のいずれにおいても軽症例と中等ないし重症例間に有意差を認めなかった。
- 7)  $\alpha$  及び  $\gamma$ -IFN はいずれも histamine 遊離増幅作用を示したが, 特に  $\gamma$ -IFN の作用は  $\alpha$ -IFN よりも数倍強いと考えられた。さらには, この histamine 遊離増幅作用は喘息患者及び健常者に共通して認められた。

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり御指導いただいた本学微生物学講座小熊恵二教授, 内科学第三講座鈴木 明教授に深謝の意を表します。また, 御校閲いただいた内科学

第三講座浅川三男助教授及び、本研究に協力していただいた本学微生物学講座、内科学第三講座、札幌南1条病院の先生及び職員の方々に感謝致します。

### 文 献

- Dunnick, J. K. and Galasso, G. J.: From the National Institutes of Health. Clinical trials with exogenous interferon : Summary of a meeting. *J. Infect. Dis.* **139**, 109-123 (1979).
- Gresser, I., Maeyer-Guignard, J. D., Tovey, M. G. and Maeyer, E. D.: Electrophoretically pure mouse interferon exerts multiple biologic effects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 5308-5312 (1979).
- Tovey, M. G. and Rochette-Egly, C.: Rapid increase in guanosine 3', 5'-cyclic-monophosphate in interferon-treated mouse leukemia L1210 cells : Relationship to the development of the antiviral state and inhibition of cell multiplication. *Virology* **115**, 272-281 (1981).
- Schellekens, H., Vreede, E. SD., Reus, A. D. and Dijkema R.: Antiviral activity of interferon in rats and the effect of immune suppression. *J. Gen. Virol.* **65**, 391-396 (1984).
- Schultz, R. M., Chirigos, M. A., Stoychkov, J. N. and Pavlidis N. A.: Factors affecting macrophage cytotoxic activity with particular emphasis on corticosteroids and acute stress. *J. Reticuloendothel. Soc.* **26**, 83-92 (1979).
- Shen, L., Guyre, P. M. and Fanger, M. W.: Direct stimulation of ADCC by cloned gamma interferon is not ablated by glucocorticoids : Studies using a human monocyte-like cell line (U-937). *Molecul. Immunol.* **21**, 167-173 (1984).
- Sikora, K.: Does interferon cure cancer?. *Br. Med. J.* **281**, 855-858 (1980).
- Horning, S. J., Levine, J. F., Miller, R. A., Rosenberg, S. A. and Merigan, T. C.: Clinical and Immunologic effects of recombinant leukocyte A interferon in eight patients with advanced cancer. *JAMA* **26**, 1718-1722 (1982).
- Fujii, N., Minagawa, T., Nakane, A., Kato, F. and Ohno, S.: Spontaneous production of  $\gamma$ -interferon in cultures of T lymphocytes obtained from patients with Behçet's disease. *J. Immunol.* **130**, 1683-1686 (1983).
- Ohno, S., Kato, F., Matsuda, H., Fujii, N. and Minagawa, T.: Detection of gamma-interferon in the sera of patients with Behçet's disease. *Infect. Immun.* **36**, 202-208 (1982).
- 大野重昭, 加藤富士子, 武内 勉, 根路銘恵二, 樋口真琴, 松田英彦, 藤井暢弘, 皆川知紀: サルコイドーシス患者におけるインターフェロンおよびアンジオテンシン変換酵素の動態. *臨臨* **35**, 285-290 (1981).
- Skurkovich, S. V. and Eremkina, E. I.: The propable role of interferon in allergy. *Ann Allergy* **35**, 356-360 (1975).
- Hooks, J. J., Moutsopoulos, H. M. and Notkins, A. L.: The role of interferon in immediate hypersensitivity and autoimmune disease. *Ann. NY Acad. Sci.* **21**-32 (1980).
- 加藤富士子, 大野重昭, 松田英彦, 藤井暢弘, 皆川知紀: Vogt-小柳-原田病患者血清中および脳脊髄液中のインターフェロンの検出. *日眼会誌* **85**, 217-221 (1981).
- 須甲松伸, 斉藤 博, 谷口 昇, 油井泰雄, 信太隆夫: 喘息患者の感染防御能 第1報: 喘息患者血清中のインターフェロン活性. *アレルギー* **33**, 618 (1984).
- 能登屋久志, 三上正志, 我妻千鶴, 名取 博, 浅川三男, 鈴木 明, 藤井暢弘, 小熊恵二: 気管支喘息患者末梢血リンパ球におけるインターフェロン産生能及び2', 5'-oligoadenylate synthetase 活性の検討. 第8回日本気管支学会総会抄録集 70 (1985).
- McIntosh, K., Ellis, E. F., Hoffman, L. S., Lybass, T. G., Eller, J. J. and Fulginiti, V. A.: Association of viral and bacterial respiratory infection with exacerbations of wheezing in young asthmatic children. *Chest* **63**, 43s (1973).
- Horn, M. E. C. and Gregg, I.: Role of viral infection and host factors in acute episodes of asthma and chronic bronchitis. *Chest* **63**, 44s-48s (1973).
- Anand, S. C., Itkin, I. H. and Kind, L. S.: Effect of influenza vaccine on methacholine (Mecholyl) sensitivity in patients with asthma of known and unknown origin. *J. Allergy* **42**, 187-192 (1968).
- Ouellette, J. J. and Reed, C. E.: Increased response of asthmatic subjects to methacholine after influenza vaccine. *J. Allergy* **36**, 558-563 (1965).
- Kumer, L., Newcomb, R. W. and Molk, L.: Effect of live measles vaccine on bronchial sensitivity of asthmatic children to methacholine. *J. Allergy* **45**, 104 (1970).
- 八倉隆保: 気管支喘息. *代謝* **15**, 565-577 (1978).
- Ida, S., Hooks, J. J., Siraganian, R. P. and Notkins, A. L.: Enhancement of IgE-mediated histamine release from human basophils by immune-specific lymphokines. *Clin. Exp. Immunol.* **41**, 380-387 (1980).
- 井田士郎, 滝島 任: 気管支喘息患者におけるウィルス感染の意味-殊にインターフェロンの役割につい

- て。呼と循 **29**, 800-806 (1981).
25. Ida, S., Hooks, J. J., Siraganian, R. P. and Notkins, A. L.: Enhancement of IgE-mediated histamine release from human basophils by viruses: Role of interferon. *J. Exp. Med.* **145**, 892-906 (1977).
  26. Hernandez-Asensio, M., Hooks, J. J., Ida, S., Siraganian, R. P. and Notkins, A. L.: Interferon-induced enhancement of IgE-mediated histamine release from human basophils requires RNA synthesis. *J. Immunol.* **122**, 1601-1603 (1979).
  27. Busse, W. W., Swenson C. A., Borden, E. C., Treuhart, M. W. and Dick, E. C.: Effect of influenza A virus on leukocyte histamine release. *J. Allergy Clin. Immunol.* **71**, 382-388 (1983).
  28. Lett-Brown, M. A., Aelvoet, M., Hooks, J. J., Georgiades, J. A., Thueson, D. O. and Grant, J. A.: Enhancement of basophil chemotaxis *in vitro* by virus-induced interferon. *J. Clin. Invest.* **67**, 547-552 (1981).
  29. Shattner, A., Wallach, D., Merlin, G., Hahn, T., Levin, S. and Revel, M.: Assay of an interferon-induced enzyme in white blood cells as a diagnostic aid in viral disease. *Lancet* **2**, 497-499 (1981).
  30. American Thoracic Society. *Amer. Rev. Resp. Dis.* **85**, 762-768 (1962).
  31. 日本アレルギー学会成人気管支喘息重症度判定基準委員会報告. *アレルギー* **32**, 1186-1208 (1983).
  32. Armstrong, J. A.: Semi-micro, dye-binding assay for rabbit interferon. *Appl. Microbiol.* **21**, 723-725 (1971).
  33. 安藤 彰, 小林茂保: インターフェロンの生化学的性状とインデューサー. *免疫薬理* **1**, 45-54 (1983).
  34. 宗川吉汪, 清水典明, 東雄二郎: インターフェロンと 2', 5'-A システム. *蛋白質・核酸・酵素* **25**, 209-219 (1981).
  35. Dougherty, J. P., Samanta, H., Floyd-Smith, G., Broeze, R., Jayaram, B. M. and Lengyl, P.: Enzymology of interferon action. The (2'-5')(A)n synthetase-RNase L pathway. *Tex. Rep. Biol. Med.* **41**, 443-451 (1981-1982).
  36. 宗川吉汪: インターフェロンの抗ウイルス作用: 2', 5'-A システム. *免疫薬理* **1**, 80-88 (1983).
  37. Chapekar, M. S. and Glazer, R. I.: Effects of fibroblast and recombinant leukocyte interferons and double-stranded RNA on ppp(2'-5')An synthesis and cell proliferation in human colon carcinoma cells *in vitro*. *Cancer Res.* **43**, 2683-2687 (1983).
  38. 藤井暢弘, 小竹 聰, 大野重昭: 末梢リンパ球内 oligo-2', 5'-adenylate 合成酵素活性レベルに及ぼすステロイド剤の影響. *臨床免疫* **16**, 664-676 (1984).
  39. Fujii, N., Kotake, S., Hirose, S., Ohno, S., Yasuda, I., Sagawa, A., Ishikawa, K. and Minagawa, T.: Oligo-2', 5'-adenylate synthetase activity in peripheral blood mononuclear leukocytes in various diseases. *J. Clin. Microbiol.* **20**, 1216-1218 (1984).
  40. 小松道俊: 気管支喘息における Histamine に関する研究: 第1報 Histamine の測定(蛍光法)に対する基礎的検討とその応用. *アレルギー* **27**, 67-74 (1978).
  41. Drobnis, J. D. and Siraganian, R. P.: Histamine release from cultured human basophils: Lack of histamine resynthesis after antigenic release. *J. Immunol.* **117**, 1049-1053 (1976).
  42. Parker, C. D., Bilbo, R. E. and Reed, C. E.: Methacholine aerosol as test for bronchial asthma. *Arch. Int. Med.* **115**, 452-458 (1965).
  43. 能登屋久志, 藤井暢弘, 三上正志, 雨夜和俊, 我妻千鶴, 名取 博, 浅川三男, 鈴木 明, 小熊恵二: ヒト末梢リンパ球のインターフェロン産生能に及ぼす喘息治療薬の影響. *呼吸* **5**, 94-98 (1986).
  44. Stevens, D. A. and Merigan, T. C.: Interferon, antibody and other host factors in herpes zoster. *J. Clin. Invest.* **51**, 1170-1178 (1972).
  45. Edye, V. G., Billiau, A. and De Somer, P.: Non-appearance of injected fibroblast interferon in circulation. *Lancet* **1**, 451-452 (1978).
  46. 信太隆夫: 気管支喘息. 武内重五郎, 上田英雄編集: 内科学, 667-676, 朝倉書店, 東京 (1980).
- 別刷請求先:  
 (〒062) 札幌市中央区南1条西16丁目  
 札幌医科大学内科学第3講座 能登屋久志