

200400695A

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

気道過敏性の簡便な診断法開発と

その応用による喘息管理向上に関する研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 一ノ瀬 正 和

平成 17 (2005) 年 3 月

## 目 次

I . 研究班名簿	1
II . 総括研究報告書	
気道過敏性の簡便な診断法開発とその応用による気管支喘息管理 向上に関する研究 主任研究者 一ノ瀬 正和	3
III . 分担研究報告書	
1. 気道過敏性の簡便な指標の確立と呼気凝縮液を用いた検討 一ノ瀬 正和	9
2. 呼気凝集液分析と気道過敏性検査との関連について 秋山 一男	13
3. 呼気凝縮液を用いた気道炎症の評価に関する研究 －採取機器による差異の検討－ 大田 健	16
4. 凝縮液の生化学的検討：遺伝子操作動物での基礎的検討 長瀬 隆英	19
IV . 研究報告会（平成 17 年 2 月 1 日）発表資料	23
V . 研究成果の刊行に関する一覧表	43
VI . 研究成果の刊行物	45

# I. 研究班名簿

気道過敏性の簡便な診断法開発とその応用による  
喘息管理向上に関する研究

研究班名簿

	氏名	所属	役職	所属住所
主任研究者	一ノ瀬 正和	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	教授	〒 641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
分担研究者	秋山 一男	独立行政法人国立病院機構 相模原病院臨床研究センター	センター長	〒 228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1
	大田 健	帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー	教授	〒 173-8606 東京都板橋区加賀 2-11-1
	長瀬 隆英	東京大学大学院医学系研究 科呼吸器内科学	教授	〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1
研究協力者	南方 良章	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	助教授	〒 641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	山縣 俊之	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	講師	〒 641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	松永 和人	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	講師	〒 641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	中西 正典	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	助手	〒 641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	平野 綱彦	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	助手	〒 641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	粒来 崇博	独立行政法人国立病院機構 相模原病院臨床研究センター	医員	〒 228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1
	三田 晴久	独立行政法人国立病院機構 相模原病院臨床研究センター	分子生物学 研究室室長	〒 228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1
	鈴木 澤尚実	独立行政法人国立病院機構 相模原病院臨床研究センター	医員	〒 228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1
	豊田 信明	独立行政法人国立病院機構 相模原病院臨床研究センター	医員	〒 228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1
	森田 園子	独立行政法人国立病院機構 相模原病院臨床研究センター	医員	〒 228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1
	谷口 正実	独立行政法人国立病院機構 相模原病院臨床研究センター	医長	〒 228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1
	足立 哲也	帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー	講師	〒 173-8606 東京都板橋区加賀 2-11-1
	長瀬 洋之	帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー	医員	〒 173-8606 東京都板橋区加賀 2-11-1
	中野 純一	帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー	講師	〒 173-8606 東京都板橋区加賀 2-11-1
	山下 直美	帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー	助教授	〒 173-8606 東京都板橋区加賀 2-11-1

## II. 総括研究報告書

気道過敏性の簡便な診断法開発とその応用による喘息管理向上に関する研究

主任研究者：一ノ瀬正和（和歌山県立医科大学内科学第三講座 教授）

研究要旨

気道過敏性とは非特異的な刺激に対する気道反応性の程度のことであり、喘息の診断や治療効果の指標として有用である。しかし、現在の吸入負荷による測定法は安全性や簡便性などの点から、日常臨床での施行は困難であり、より簡便で負担の少ない検査法の確立が求められる。本研究では従来の気道過敏性検査に代わる簡便な生理学的指標の確立と、呼気凝縮液を用いて測定可能なバイオマーカーの確立について検討を行った。ピークフローの週内変動率はメサコリン吸入刺激による気道過敏性とよい相関を示し、気道過敏性の生理学的指標として代用しうる可能性が示された。呼気凝縮液では蛋白や種々のサイトカイン、ケモカイン、酸化関連物質が測定可能であり、いくつかの物質は喘息の重症度や治療効果の指標、さらに気道過敏性を反映する指標になりうる可能性が示唆された。遺伝子操作動物を用いた検討では、CGRP、PAF、LTB<sub>4</sub> がいずれも気道過敏性に関与することが示された。これらの生化学的指標をさらに詳細に検討することで、呼気凝縮液を用いたバイオマーカー測定は、非侵襲的に喘息の病態を評価しうる検査として、日常臨床に応用できる可能性があると期待される。

分担研究者

秋山一男

独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センター  
センター長

大田 健

帝京大学医学部内科学講座教授

長瀬隆英

東京大学医学部呼吸器内科教授

ら非侵襲的とは言えず、安全性や簡便性の点で難があり、より簡便で負担の少ない検査方法が求められている。

喘息患者では、誘発喀痰上清中や呼気凝縮液中において、ロイコトリエン C<sub>4</sub> / D<sub>4</sub> / E<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub> / D<sub>4</sub> / E<sub>4</sub>) などの各種メディエーターが増加しており、喘息の重症度を反映すること、インターロイキン-4の上昇やインターフェロン-γの低下など、Th1 から Th2 へのサイトカインの変動がみられること、などの生化学的な指標と病態との関連を示唆する報告が認められる。しかし、実際の臨床像や呼吸機能検査などの生理学的指標、とくに気道過敏性検査との関連性について詳細に検討した報告は少なく、臨床応用には至っていない。

本研究では、気道過敏性検査を従来の気道収縮物質の吸入刺激で測定する、煩雑で日常臨床では測定困難な手法にかわる、より簡便な生理学的手法を確立することを目的とした。さらに日常臨床においても簡便に採取可能な呼

A. 研究目的

気道過敏性は気管支喘息患者の治療効果判定、および寛解治癒の指標として有用である。現在、気道過敏性の測定には生理学的手法、すなわちメサコリンなどの気道収縮物質の吸入刺激に対する1秒量や肺(気道)抵抗の変化をパラメーターとしてなされているが、負荷試験であることか

気凝縮液を用いた生化学的手法で、気道過敏性に代わりうる簡便で信頼性の高い検査法を開発し、一般臨床への応用を可能にすることを目的とした。具体的には、①気道過敏性に代わる簡便な生理学的検査法の確立、②呼気凝縮液採取の安全性、簡便性、妥当性についての検討、③従来の検査法(誘発喀痰)との比較検討、④呼気凝縮液を用いた喘息のバイオマーカーの確立、⑤生化学的バイオマーカーと従来の気道過敏性検査との比較検討、⑥遺伝子操作動物モデルを用いた気道過敏性に関与する新しいバイオマーカーの確立を今回の目的とした。

## B. 研究方法

### 1) 気道過敏性とピークフローの週内変動の測定

気道過敏性検査はアストグラフ(チェスト社)を用いて、メサコリン、アセチルコリン、ヒスタミンなどの吸入刺激に対する気道の反応性で測定した。また Assess 社のピークフローメーターを用いて、患者自身によるピークフロー値の測定を行い、週内変動と気道過敏性との関連性を検討した。

### 2) 呼気凝縮液採取の安全性、簡便性、妥当性

呼気凝縮液は据え置き型のエコスクリーン(Jaeger 社)、およびポータブル型の RTube (Respiratory Research 社) の 2 種類の装置を用いて採取した。10~15 分程度の安静換気を行い、呼気を冷却することで液状化し採取した。この装置を用いて、採取前後の 1 秒量の測定、同一患者において数回の採取を行い、安全性や簡便性について評価した。また唾液混入の有無による妥当性の評価、蛋白濃度の測定による両装置の同等性の評価を行った。

### 3) 呼気凝縮液と誘発喀痰との比較

誘発喀痰は 4%高張食塩水を超音波ネブライザーを用いて吸入後、喀出採取し、上清を回収した。呼気凝縮液および誘発喀痰上清中の蛋白濃度を測定し、比較検討を行った。

### 4) 呼気凝縮液中の各種バイオマーカー測定

呼気凝縮液中で、再現性をもって測定できる各種バイオマーカーの探索を行った。具体的には蛋白濃度、サイトカイン(TNF- $\alpha$ など)、ケモカイン(eotaxin、TARC、MDC、IP-10 など)、脂質メディエーター(LTC<sub>4</sub> / D<sub>4</sub> / E<sub>4</sub>)、酸化ストレス関連物質(カタラーゼ、グルタチオン、Xanthine oxidase; XO、8-isoprostane など)、好酸球および好中球の活性化の指標となるプロモチロシン、クロロチロシンの測定を行った。また Human Cytokine Array キット(RayBiotech 社)を用いて、呼気凝縮液中のサイトカイン、ケモカインの発現を検討した。さらにアセチルコリン、ヒスタミン吸入刺激による気道過敏性と、呼気凝縮液中のいくつかのバイオマーカーとの比較を行い、関連性を検討した。

### 5) 遺伝子操作動物モデルを用いた検討

遺伝子改変マウスとして、①CGRP ノックアウトマウス、②PAF 受容体ノックアウトマウス、③ロイコトリエン B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) ノックアウトマウスを用い、ovalbumin による抗原感作・吸入付加を行い、気道反応性試験および気管支肺胞洗浄液(BALF) 中の各種メディエーターやサイトカインを測定し比較検討した。

(倫理面への配慮)

検査内容、得られる結果、予測される危険性の項目について文書で説明の上、同意を取得した患者のみ対象とした。またデータは部外者が接触できないよう厳重に管理した。加えて参加者の氏名等、本人が確認できるような形の公表は行わないよう配慮した。

## C. 結果

1) メサコリン吸入刺激による気道過敏性は、より簡便な生理学的指標であるピークフローの週内変動率との間に有意な負の相関を認めた ( $r = -0.79$ ,  $p < 0.0001$ )。またステロイド治療を行うことにより気道過敏性、ピークフローの週内変動性ともに改善傾向が認められた。

2) 呼気凝縮液の採取は簡便に行うことができ、採取前後で1秒量の低下は認められず、安全に採取可能であった。採取量としては、エコスクリーン、RTubeともに、約15分の安静換気で、2ml以上の検体を採取することが可能で、同一患者で繰り返しての施行でも、同程度の量が採取可能であった。呼気凝縮液中にアミラーゼは検出されず、唾液の混入はないと判断された。採取装置の比較では、蛋白濃度はエコスクリーン採取の呼気凝縮液中でより高値を呈していたが、両装置において十分測定可能であった。

3) 誘発喀痰および呼気凝縮液中の蛋白濃度はそれぞれ約4 mg/ml、0.1 mg/mlであり、呼気凝縮液では誘発喀痰の約1/40であった。また呼気凝縮液中の蛋白濃度は喘息患者で0.177 mg/mlと健常者の約2.5倍であった。

4) 喘息患者の呼気凝縮液中 TNF- $\alpha$ 濃度は7.2 pg/mlで、カタラーゼ、グルタチオン、XO、8-isoprostaneなどの酸化ストレス関連物質も測定可能であった。8-isoprostaneについては、エコスクリーン採取の方がRTubeで採取した呼気凝縮液中よりも高値を示した(それぞれ $4.2 \pm 1.6$ 、 $2.5 \pm 1.7$  pg/ml)。LTC<sub>4</sub> / D<sub>4</sub> / E<sub>4</sub>は喘息重症例で高値であったが、気道過敏性との相関は認められなかった。しかし、呼気凝縮液中のプロモチロシンやクロロチロシンはヒスタミンによる気道過敏性とそれぞれ $r = 0.42$ 、 $r = 0.43$ で、有意な負の相関を認めた(ともに $p < 0.05$ )。

Human Cytokine Arrayによる検討では、喘息患者で、IL-16、IL-17、CCケモカインとしてMIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTES、MDC、TARC、MCP-2、CXCケモカインとしてSDF-1、IP-10、コロニー刺激因子としてM-CSF、増殖因子としてTGF- $\beta$ <sub>1</sub>、PDGF、VEGF、IGF-1、その他TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、TIMP-2が検出可能であった。とくに、IL-17、IP-10、TNF- $\beta$ は喘息の重症化に伴い発現の増強が認められた。

5) 感作されたCGRPノックアウトマウス群では野生型群と比べてメサコリン気道反応性が低下しており、BALF中LTC<sub>4</sub> / D<sub>4</sub> / E<sub>4</sub>の低下が確認された。PAF受容体ノックアウトマウス

でも感作後のメサコリン気道反応性の低下が確認された。しかしBALF中の好酸球浸潤の程度は野生型群と有意差を認めなかった。感作LTB<sub>4</sub>ノックアウトマウスでは、野生型群と比べてメサコリン気道反応性の低下がみられ、BALF中の好酸球浸潤、Th2サイトカイン(IL-5、IL-13)が著明に減少していた。

#### D. 考察

気管支喘息の指標として気道過敏性検査に代わるより簡便な検査法・指標の確立を目的とした今回の検討では、まず気道過敏性とピークフローの週内変動率に相関がみられ、より簡便な生理学的指標として代用できる可能性が示された。また生化学的指標の評価として呼気凝縮液に注目し検討を行った結果、呼気凝縮液は安全かつ簡便に繰り返し採取可能であり、微量ではあるものの蛋白濃度やいくつかのサイトカイン、メディエーターの測定が可能であることが明らかとなった。また誘発喀痰との蛋白濃度の比較から、その含有量は約1/40と低いながらも十分測定可能で、日常臨床に応用が可能であると考えられた。

TNF- $\alpha$ 、LTC<sub>4</sub> / D<sub>4</sub> / E<sub>4</sub>、酸化ストレス関連物質などいくつかの物質は呼気凝縮液中で十分測定可能であるが、その濃度は非常に微量であり、健常者と喘息患者での比較、気道過敏性との比較など、さらに詳細な検討が必要である。一方、呼気凝縮液中のプロモチロシンやクロロチロシンはヒスタミンによる気道過敏性との相関を認め、気道過敏性の新たな生化学的指標となりうる可能性が示された。またHuman Cytokine Arrayを用いた検討からは、さらに多くのサイトカイン、ケモカイン、増殖因子などの検出が可能であることが示された。そのいくつかは喘息患者において発現が増強しており、IL-17、IP-10、TNF- $\beta$ など、喘息の重症度と関連してさらに発現の増強がみられる物質も同定され、今後これらの物質を詳細に検討することで、重症度や治療効果の指標となりうる可能性がある。



遺伝子操作動物モデルによる検討では CGRP、PAF 受容体、LTB<sub>4</sub> ノックアウトマウスにて、いずれも抗原感作による気道反応性の低下が認められ、CGRP、PAF、LTB<sub>4</sub> が気道過敏性に関与することが示唆され、また BALF の検討からは LTC<sub>4</sub> / D<sub>4</sub> / E<sub>4</sub> の関与も示唆された。

#### E. 結論

気道過敏性検査にかかわる生理的指標としては、簡便性と負荷試験との相関性からみてピークフロー値の週内変動率(%)が有用である。呼気凝縮液分析の新しい検査法としての可能性に関しては、サイトカイン、ケモカイン、成長因子等、喘息の気道炎症関連物質の存在が定性的に示され、十分妥当性があると考えられた。今後、ELISA キット等による定量化を検討し、簡便かつ迅速に臨床応用可能な新たなバイオマーカーの確立に向けての可能性が示された。

#### F.健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

##### 英文論文

- 1) H Sugiura, M Ichinose, et al: Quantitative assessment of protein-bound tyrosine nitration in airway secretions from patients with inflammatory airway disease. Free Radical Research, 38: 49-57, 2004
- 2) M Nara, M Ichinose, et al: Long-term use of corticosteroid eye drops delays the spontaneous remission of pulmonary sarcoidosis. Tohoku J Exp Med 202 : 275-282, 2004
- 3) M Ichinose, PJ Barnes: Cytokine-directed therapy in asthma. Current Drug Targets Inflammation & Allergy 3: 263-269, 2004

- 4) K Matsunaga, M Ichinose, et al: Effect of a leukotriene receptor antagonist on the prevention of recurrent asthma attacks after an emergency room visit. Allergy International 53: 341-347, 2004
- 5) Y Fukuchi, M Ichinose, et al: COPD in Japan: the Nippon COPD Epidemiology Study. Respirology, 9, 458-465, 2004
- 6) T Yamagata, M Ichinose, et al: A case of primary lung cancer producing alpha-fetoprotein. Can Respir J 11: 504-506, 2004

##### 和文論文

- 1) 一ノ瀬正和: 気道過敏性検査の臨床の現状. 呼吸 23: 9-17, 2004
- 2) 一ノ瀬正和: 気道過敏性の意義とそれに代わる指標. 診断と治療 92: 1325-1332, 2004
- 3) 松永和人, 一ノ瀬正和, 他: 急性喘息治療後の再発に対するロイコトリエン受容体拮抗薬の有用性に関する検討. 呼吸23: S37-S39, 2004
- 4) 池田剛司, 一ノ瀬正和, 他: 外来気管支喘息患者に対する自覚症状アンケート調査およびプラザルカストによる長期自覚症状改善作用の検討. 呼吸 23: 726-733, 2004
- 5) 山縣俊之, 一ノ瀬正和, 他: 肺胞マクロファージのサイトカイン産生に及ぼす間欠的陽圧負荷の効果. 呼吸 23: S33-S36, 2004
- 6) 一ノ瀬正和: COPD: 新薬開発の動向. 遙か-EVER - 17-21, 2004
- 7) 山縣俊之, 一ノ瀬正和: (安定期の薬物療法)気管支拡張薬の使い方. 内科 93: 49-54, 2004
- 8) 南方良章, 一ノ瀬正和: 気道平滑筋とその機能. 呼吸と循環 52: 169-175, 2004
- 9) 一ノ瀬正和: 研究の周辺から. 呼吸 23: 1-2, 2004
- 10) 山縣俊之, 一ノ瀬正和: 慢性閉塞性肺疾患(慢性気

- 管支炎・肺気腫). 薬局 55: 745-751, 2004
- 11) 山縣俊之, 一ノ瀬正和: 一喘息の長期管理における薬物療法ー 長時間作用型 $\beta_2$ 刺激薬に関する臨床エビデンス. 現代医療 36: 500-505, 2004
  - 12) 松永和人, 一ノ瀬正和: IgE と気道過敏性. 喘息 17: 58-62, 2004
  - 13) 森川昭正, 一ノ瀬正和, 他: COPD 患者と吸入指導. COPD FRONTIER 3: 89-93, 2004
  - 14) 一ノ瀬正和: チオトロピウム. 分子呼吸器病 8: 78-80, 2004
  - 15) 山縣俊之, 一ノ瀬正和, 他: 吸入抗コリン薬ー 長時間作用型抗コリン薬チオトロピウムを含むー. 日本胸部臨床 63: 113-123, 2004
  - 16) 南方良章, 一ノ瀬正和: 閉塞性肺疾患と呼吸不全. 喘息, 慢性閉塞性肺疾患の病態に基づく治療戦略. Medical Practice 21: 516-526, 2004
  - 17) 一ノ瀬正和: 気管支喘息の最新の治療. 和歌山県医師会医学雑誌 33: 1-3, 2004
  - 18) 一ノ瀬正和, 山縣俊之: 長時間作用型吸入抗コリン薬: チオトロピウム. 呼吸 23: 300-305, 2004
  - 19) 一ノ瀬正和: 医学と医療の最前線. 気道過敏性における最近の知見. 日本内科学会雑誌 93: 162-167, 2004
  - 20) 山縣俊之, 一ノ瀬正和: COPD の炎症ー Exhaled Breath Condensate の解析よりー. 分子呼吸器病 8: 36-43, 2004
  - 21) 松永和人, 一ノ瀬正和: 両側全周性に著名な胸膜肥厚像を認めた胸膜肺アミロイドーシス症例. THE LUNG perspective 12: 1, 2004
  - 22) 一ノ瀬正和: 重症度に応じた COPD の薬物療法. 日医雑誌 132: 339-342, 2004
  - 23) 一ノ瀬正和: COPD における LABA と吸入ステロイドの併用療法. Pharma Medica 22: 115-116, 2004
  - 24) 松永和人, 一ノ瀬正和: 気管支喘息関連遺伝子. 医学のあゆみ 210(10): 867-870, 2004
  - 25) 小荒井晃, 一ノ瀬正和, 他: 活性窒素種の COPD 病態への関与. 分子呼吸器病 8: 40-47, 2004
  - 26) 一ノ瀬正和: 生体内環境からみた発症増悪因子: 呼吸器疾患. クリニシアン 51: 17-21, 2004
  - 27) 和田 攻, 一ノ瀬正和, 他: 実地医家の慢性呼吸不全診療のポイントとコツ(座談会). Medical Practice 21: 537-553, 2004
  - 28) 山縣俊之, 一ノ瀬正和: 吸入ステロイド薬の使い方 3) ベクロメタゾン(とくにキュバール®). 呼吸器科 6: 119-124, 2004
  - 29) 平野綱彦, 一ノ瀬正和, 他: アレルギー診療 Update. アレルギー治療薬の上手な使い方. 気管支喘息 成人吸入ステロイド薬(解説/特集). Medicine 41: 378-380, 2004
  - 30) 平野綱彦, 一ノ瀬正和, 他: COPD に対する抗コリン薬の効果. 呼吸器科 6(4): 341-348, 2004
  - 31) 平野綱彦, 一ノ瀬正和, 他: 長時間作用型抗コリン薬. COPD-診断・治療概念の up-to-date. 呼吸と循環 52: 1247-1255, 2004
  - 32) 平野綱彦, 一ノ瀬正和, 他: Annual Review 呼吸器 2005 4. 呼気凝縮液による病態解明. 中外医学社, 東京, 2005, p85-91
- ## 2. 学会発表
- ### 国際学会
- 1) M Ichinose: Characteristics and pathology of difficult to control asthma. 4th World Asthma Meeting, 2004. 02. 19, Bangkok, Thailand
  - 2) H Sugiura, M Ichinose, et al: Nitric oxide-related molecules as a tool of airway diseases. 3<sup>rd</sup> International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic

- Applications on Nitric Oxide, 2004. 05. 28, Nara, Japan
- 3) T Hirano, M Ichinose, et al: Effects of intermittent positive pressure on enhancement of the cytokine production in alveolar macrophages in vitro. 100<sup>th</sup> International Conference ALA/CLA, 2004.05.23, Orlando, USA
  - 4) Y Yamagata, M Ichinose, et al: The regulation of the mRNA expression and the function of epithelial sodium channel in alveolar type II cells by tumor necrosis factor- $\alpha$  and the involvement of MAPK signaling pathway. 100<sup>th</sup> International Conference ALA/CLA, 2004.05.23, Orlando, USA
  - 5) M Nagaoka, M Ichinose, et al: The electrophysiological effects of adenosine 5'-phosphate on swine airway smooth muscle cells. 100<sup>th</sup> International Conference ALA/CLA, 2004.05.24, Orlando, USA
  - 6) A Koarai, M Ichinose, et al: iNOS depletion completely diminishes reactive nitrogenspecies formation after an allergic response. 3<sup>rd</sup> International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications on Nitric Oxide (Symposium titled NO in Respiratory Medicine), 2004.05.28, Nara, Japan
  - 7) M Tomaki, M Ichinose, et al: Decreased reactive nitrogen species production and increased exhaled NO concentration by xanthine oxidase inhibition in COPD. 3<sup>rd</sup> International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications on Nitric Oxide (Symposium titled NO in Respiratory Medicine), 2004.05.28, Nara, Japan
  - 8) M Tomaki, M Ichinose, et al: RT-PCR analysis of COPD lung. 14<sup>th</sup> European Respiratory Society Annual Congress, 2004.09.07, Glasgow, UK
  - 9) Y Yamagata, M Ichinose, et al: The impact of interleukin-2 on the regulation of epithelial sodium channel in A549 cells. 14<sup>th</sup> European Respiratory Society Annual Congress, 2004.09.07, Glasgow, UK
- 国内学会
- 1) 一ノ瀬正和: 気道炎症モニタリングと喘息管理. 第40回気道過敏性研究会記念シンポジウム、2004. 03. 13、東京
  - 2) 一ノ瀬正和: 発症メカニズムから治療への展開: 気管支喘息-座長のイントロダクション. 第44回日本呼吸器学会(シンポジウム), 東京, 2004.03.31
  - 3) 杉浦久敏, 一ノ瀬正和: 発症メカニズムから治療への展開: 気管支喘息-発症に関与する先天・後天因子. 第44回日本呼吸器学会(シンポジウム), 東京, 2004.03.31
  - 4) 一ノ瀬正和: 喘息における気道炎症の臨床的評価. 第6回東京喘息治療フォーラム、2004. 04. 14、東京
  - 5) 戸蒔雅文, 一ノ瀬正和: 気管支喘息とCOPD: 診断-検査での弁別法. 第54回日本アレルギー学会総会、(シンポジウム)、2004. 11. 05、横浜
  - 6) 南方良章, 一ノ瀬正和: 気管支喘息とCOPD: 管理-吸入ステロイド. 第54回日本アレルギー学会総会、(シンポジウム)、2004. 11. 05、横浜
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)  
特許取得、実用新案登録、その他ともなし。

### III. 分担研究報告書

気道過敏性の簡便な指標の確立と呼気凝縮液を用いた検討

分担研究者：一ノ瀬正和（和歌山県立医科大学内科学第三講座 教授）

研究協力者：南方良章、山縣俊之、松永和人、中西正典、平野綱彦

（和歌山県立医科大学内科学第三講座）

研究要旨

気道過敏性とは非特異的な刺激に対する気道の反応性の程度のことであり、この評価は喘息の診断や治療効果判定、寛解治癒の指標として有用である。しかし、現在の測定法は負荷試験であり、安全性や簡便性などの点から、日常臨床で施行することは困難である。従って、気道過敏性を評価しうる、より簡便で負担の少ない検査方法の確立が望まれる。本研究では気道過敏性に代わる簡便な生理学的指標としてピークフローの週内変動との比較を行うとともに、呼気凝縮液を用いて測定可能なバイオマーカーの確立について検討を行った。ピークフローの週内変動率はメサコリン吸入刺激による気道過敏性と有意な有意な負の相関を示し、より簡便な気道過敏性の生理学的指標として代用しうる可能性が示された。また呼気凝縮液では蛋白やTNF- $\alpha$ 、酸化関連物質が測定可能であり、Cytokine Arrayを用いた検討ではさらに多くのサイトカイン、ケモカインの検出が可能であった。とくにIL-17、IP-10、TNF- $\beta$ は、喘息の重症化とともに発現の増強が認められた。これらの呼気凝縮液中で測定可能な物質は、日常臨床において喘息の病態を反映しうる簡便なバイオマーカーとなりうる可能性が示唆された。

A. 研究目的

気道過敏性とは非特異的な刺激に対する気道の反応性（気道狭窄、分泌、咳）の程度のことであり、この評価は喘息の診断や治療効果判定、寛解治癒の指標として有用である。しかし、現在の測定法は気道収縮物質を吸入する負荷試験であり、装置が高価で操作が煩雑であるなど、安全性や簡便性などの点から、日常臨床で施行することは困難である。従って、気道過敏性を評価しうる、より簡便で負担の少ない検査方法の確立が望まれる。

喘息患者の誘発喀痰上清中や呼気凝縮液中において、喘息の病態に関わる各種メディエーターが増加しており、その濃度が喘息の重症度や気道炎症の程度を反映するといった報告が認められるが、気道過敏性検査との関連性について詳細に検討した報告は少ない。

呼気凝縮液は簡便で、ほとんど侵襲なく、繰り返しての採取が可能のため、日常臨床にも応用が可能であるが、含まれる物質が微量なため、病態を反映し、再現性よく測定可能な物質の確立が必要である。

本研究では気道過敏性検査に代わるより簡便な生理学的手法を確立すること、呼気凝縮液を用いて、喘息に関連するバイオマーカーの測定を行い、安定して測定可能な物質の確立や、従来よく行われている検査法である誘発喀痰との比較を行い、呼気凝縮液検査の妥当性について検討することを目的とした。

B. 研究方法

1) 対象

当院呼吸器内科外来通院中で、気道過敏性検査とピー

クフローの測定を行っている喘息患者(ステロイド未治療群 25 例、ステロイド治療群 25 例)のうち、同意を得た患者 10 名で呼気凝縮液および誘発喀痰を採取した。対照として、健常人 16 名においても検体を採取し比較検討を行った。

## 2) 気道過敏性とピークフロー値の測定

気道過敏性はメサコリン吸入刺激に対する気道反応性で測定し、呼吸抵抗が初期抵抗の 2 倍になったときの累積濃度 PC<sub>200</sub> を指標とした。ピークフロー値の測定は Assess 社のピークフローメーターを用いて測定し、週内変動と気道過敏性との関連性を検討した。

## 3) 呼気凝縮液、誘発喀痰の採取

呼気凝縮液は 2 種類の採取装置、据え置き型のエコスクリーン(Jaeger 社)と、ポータブル型の RTube (Respiratory Research 社) を用い、15 分程度の安静換気を行い、呼気を急速冷却することで検体を採取した。誘発喀痰は 4% の高張食塩水を超音波ネブライザーで吸入後喀出したものを採取した。両検体において蛋白濃度を測定し比較検討した。

呼気凝縮液中のサイトカイン (TNF- $\alpha$  など)、酸化ストレス関連物質 (カタラーゼ、グルタチオン、Xanthine oxidase; XO など) の測定や、Human Cytokine Array キット (RayBiotech 社) を用いて、喘息患者で検出測定可能な各種サイトカイン、ケモカインの検討を行い、喘息の重症度との関連についても検討を行った。

## C. 結果

### 1) 気道過敏性とピークフローの週内変動

ステロイド未治療群、治療群ともに、メサコリン吸入刺激による気道過敏性はより簡便な生理学的指標であるピークフローの週内変動性との間には有意な負の相関が認められた ( $r = -0.79$ ,  $p < 0.0001$ )。またステロイド治療を行うことにより気道過敏性、ピークフローの週内変動性ともに改善傾向が認められた。

### 2) 呼気凝縮液と誘発喀痰の比較

呼気凝縮液の採取は簡便に行うことができ、採取中とくに合併症を認めず、繰り返しての施行が可能であった。採取量としては、エコスクリーン、RTubeともに、約 15 分の安静換気を行うことで、2ml 以上の検体を採取することが可能であった。

誘発喀痰、呼気凝縮液の蛋白濃度はそれぞれ 3.9 mg/ml、0.1 mg/ml であり、呼気凝縮液中の蛋白濃度は誘発喀痰の約 1/40 であった。また呼気凝縮液では、喘息患者で 0.18 mg/ml と、健常人の 0.07 mg/ml に比べ約 2.5 倍高値であった。

### 3) 呼気凝縮液中の各種バイオマーカーの測定

呼気凝縮液で TNF- $\alpha$  やカタラーゼ、グルタチオン、XO などの酸化関連物質の測定が可能であった。TNF- $\alpha$  は健常人で 7.7 pg/ml、喘息患者で 7.2 pg/ml と、今回の検討では両者に明らかな差は認められなかった。健常人における酸化関連物質の測定では、カタラーゼが、カタラーゼ 3.2 U/ml、グルタチオンが 0.11  $\mu$ M、XO 5.0 nmol ip / ml / hr であった。

Human Cytokine Array キットを用いて、呼気凝縮液中のバイオマーカーの測定を行ったところ、喘息患者で、IL-16、IL-17、CC ケモカインとして MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTES、MDC、TARC、MCP-2、CXC ケモカインとして SDF-1、IP-10、コロニー刺激因子として M-CSF、増殖因子として TGF- $\beta_1$ 、PDGF、VEGF、IGF-1、その他 TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、TIMP-2 が検出可能であった。これらの検出物質のうち、IL-17、IP-10、TNF- $\beta$  は喘息の重症化に伴って発現の増強が認められた。

## D. 考察

今回の検討で気道過敏性とピークフローの週内変動率に有意な負の相関がみられ、ステロイド治療により反応してともに改善が認められたことから、ピークフローの週内変動

は、気道過敏性を反映しうるより簡便な生理学的指標として代用できる可能性が示された。

呼気凝縮液採取に際しては、とくに問題となる合併症もなく、採取自体は日常臨床で安全、簡便に繰り返し施行することが可能であると考えられた。また今回の検討で、呼気凝縮液中に含まれる蛋白濃度は、誘発喀痰の約 1/40 と微量ではあるが、十分測定可能であり、加えて各種バイオマーカーの測定も可能であることが明らかとなり、呼気凝縮液を用いた生化学的測定は、従来の他の検査法の代用となりうる可能性が示された。

TNF- $\alpha$ 、酸化ストレス関連物質など、いくつかの物質は呼気凝縮液中で十分測定可能であり、また Human Cytokine Array を用いた検討からは、さらに多くのサイトカイン、ケモカイン、増殖因子などの検出が可能であることが示された。そのいくつかは喘息患者において発現が増強しており、IL-17、IP-10、TNF- $\beta$  など、喘息の重症度と関連してさらに発現の増強がみられる物質も同定され、今後これらの物質を詳細に検討することで、重症度や治療効果の指標となりうる可能性がある。

#### E. 結論

以上より、今後の課題として、安定して測定可能かつ病態(健常人との鑑別、重症度や治療反応性との関連など)を反映する生化学的指標の絞込みや、気道過敏性検査との比較検討、簡便かつ迅速な日常臨床への応用法などについてのさらなる検討が必要ではあるが、今回示された結果から、ピークフローの週内変動がより簡便な気道過敏性の生理学的指標として代用できる可能性と、呼気凝縮液中のいくつかの物質については病態を反映しており、日常臨床に応用しうる可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表
  - 1) H Sugiura, M Ichinose, et al: Quantitative assessment of protein-bound tyrosine nitration in airway secretions from patients with inflammatory airway disease. Free Radical Research 2004, 38: 49-57, 2004
  - 2) M Ichinose, PJ Barnes: Cytokine-directed therapy in asthma. Current Drug Targets Inflammation & Allergy 3: 263-269, 2004
  - 3) K Matsunaga, M Ichinose, et al: Effect of a leukotriene receptor antagonist on the prevention of recurrent asthma attacks after an emergency room visit. Allergology International 53: 341-347, 2004
  - 4) 一ノ瀬正和: 気道過敏性検査の臨床の現状. 呼吸 23: 9-17, 2004
  - 5) 一ノ瀬正和: 気道過敏性の意義とそれに代わる指標. 診断と治療 92: 1325-1332, 2004
2. 学会発表
  - 1) M Ichinose: Characteristics and pathology of difficult to control asthma. 4th World Asthma Meeting, 2004. 02. 19, Bangkok, Thailand
  - 2) H Sugiura, M Ichinose, et al: Nitric oxide-related molecules as a tool of airway diseases. 3<sup>rd</sup> International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications on Nitric Oxide, 2004. 05. 28, Nara, Japan
  - 3) 一ノ瀬正和: 気道炎症モニタリングと喘息管理. 第40回気道過敏性研究会記念シンポジウム, 2004. 03. 13, 東京
  - 4) 一ノ瀬正和: 喘息における気道炎症の臨床的評価.

第6回東京喘息治療フォーラム、2004. 04. 14、東京

5) 戸蒔雅文、一ノ瀬正和、気管支喘息とCOPD: 診断－検査での弁別法. 第54回日本アレルギー学会総会、(シンポジウム)、2004. 11. 05、横浜

6) 南方良章、一ノ瀬正和、気管支喘息とCOPD: 管理－吸入ステロイド. 第54回日本アレルギー学会総会、(シンポジウム)、2004. 11. 05、横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

特許取得、実用新案登録、その他ともなし。



気道過敏性の簡便な診断法開発とその応用による喘息管理向上に関する研究

－呼気凝集液分析と気道過敏性検査との関連について－

分担研究者：秋山一男（国立相模原病院臨床研究センター センター長）

研究協力者：粒来崇博、三田晴久、釣木澤尚実、豊田信明、森田園子、谷口正実

（国立相模原病院臨床研究センター）

研究要旨 気管支喘息は好酸球性気道炎症を原因とし気道の過敏性が亢進、様々な刺激により可逆性の気道閉塞を来す疾患である。そのため、気道過敏性検査は診断に有用である他、治療の指標とすることでよりよいコントロールとリモデリングの抑制を得られるとされているが、完全に非侵襲的とはいえないため、より簡便で侵襲の少ない検査法が望まれている。一方で、近年呼気を冷却し凝集する方法で気道炎症を簡便に測定できると報告され、呼気凝集液中の炎症性物質の分析により気道炎症、過敏性の評価が簡便に出来ると予測される。しかし、いまだ研究段階の検査法で本邦での研究報告がほとんどないため、本研究では呼気凝集液分析と気道過敏性検査との関連を中心に検討した。呼気凝集液は唾液の混入なく安全に回収しえた。呼気凝集液の cysteinyl leukotriene (CysLTs) 濃度は気道過敏性とは相関はしないが、疾患の重症度と関連している可能性が示唆された。また、bromotyrosine (BY), chlorotyrosine (CY) の濃度はヒスタミンの気道過敏性と相関し、気道過敏性を予測できる可能性が示唆された。呼気凝集液中の cysLTs, BY, CY といった炎症性物質は、疾患の重症度や過敏性に関連している可能性があり、また、非侵襲的に回収できるので、患者に負担を強いることなく喘息の病態を判定できる検査になる可能性がある。

A. 研究目的

気管支喘息は好酸球性気道炎症を原因とし気道の過敏性が亢進、様々な刺激により可逆性の気道閉塞を来す疾患である。気道過敏性検査は診断に有用である他、治療の指標とすることでよりよいコントロールとリモデリングの抑制を得られるとされている。しかしながら、気道過敏性検査は気道収縮性物質を吸入させるため、完全に非侵襲的とはいえない。また、気道で起きている炎症を評価するには、気管支鏡を用いて直接気道上皮組織を採取し、また気管支肺胞洗浄で気道上皮被覆液を回収するのが最も精度が高いといえるが、侵襲が大きく、実際の日常診療における検査には適当ではない。

一方で、今まで気管支肺胞洗浄でしか得ることができなかった気道上皮被覆液を非侵襲的に回収反映できる方法として、呼気を冷却し凝集する方法が考案された。呼気凝集液中に、leukotriene をはじめとした気管支喘息に直接関わるメディエーターが増加しており、重症度を反映すること、IL-4 の上昇及びIFN $\gamma$ の低下など Th<sub>1</sub> から Th<sub>2</sub> への cytokine の変化がみられる、等の報告が近年多数なされている。しかしながら、いまだ研究段階の検査法であり、呼気凝集液中の成分分析や気道過敏性との比較が不可欠であるし、本邦での結果はほとんどない。そこで、本研究では、呼気凝集液分析と気道過敏性検査との関連、他の指標との比較を行い、その可能性と位置づけについて検討した。

## B. 研究方法

### (1) 対象

当院アレルギー科に受診中の気管支喘息患者のうち、十分な説明の後文書での同意を得た、気管支喘息患者 35 名を対象とした。また、慢性咳嗽を呈した非喘息患者 5 名を対照とした。

### (2) 気管支喘息重症度分類

重症度分類は JGL2003 ガイドラインに準じた。すなわち、吸入ステロイド治療群では吸入ステロイド量、経口ステロイド併用の有無で Step1-4 に分類した。吸入ステロイド未治療群は症状や呼吸機能の程度で分類した。

### (3) 呼気凝集液採取の実際

呼気一酸化窒素濃度(NO)、スパイログラム、気道過敏性検査を施行後、呼気凝集液を採取した。呼気凝集液の採取には、汎用されている Jaeger 社 EcoScreen を用いた。ノーズクリップを着用し 15 分の安静呼気を行い、呼気を連続的に機器内で $-20^{\circ}\text{C}$ に冷却、凝集液を採取した。終了後スパイログラムを施行した。回収した呼気凝集液は $-80^{\circ}\text{C}$ で保管、分析した。

### (4) 呼気凝集液の解析法

まず、呼気凝集液内のアミラーゼ  $\alpha$  を測定した。Cysteinyll leukotriene (CysLTs) については、微量のため、

1. Empore C18 カラムに EBC を通す
2. 水、ヘキサンで洗った後メタノール 0.5ml で抽出
3. 抽出液を 0.05ml まで減圧下で濃縮
4. CysLTs ELISA kit (Cayman) で測定、の方法で測定した。また、6 症例で同じ標本について凍結乾燥法でも濃縮、測定を行い、それぞれ比較した。

また、好酸球、好中球の活性化を示すマーカーと考えられる bromotyrosine(BY), chlorotyrosine(CY)については、GM-CS を用いて測定した。

### (5) 呼気 NO 濃度測定及び気道過敏性検査

呼気 NO 濃度はオフライン法で測定した。SIEVERS 社 オフラインキットを用い、最大吸気から一定流量 ( $10[\text{cmH}_2\text{O}]$ ,  $70[\text{ml}/\text{sec}]$ ) で呼出、死腔分を排気後ミラーバックに回収した。回収後 18 時間以内に SIEVERS 社 NO analyzer (280NOA) で測定した。気道過敏性検査は、アセチルコリン(Ach)、ヒスタミン(His)それぞれに対する過敏性を標準法で評価し、 $\text{PC}_{20}$ を指標とした。

## C. 研究結果

### (1) 呼気凝集液回収による呼吸機能変化と唾液混入の有無

呼気凝集液は 15 分検査施行下で 1-1.5ml 回収できた。検査前後で一秒量の低下は認めず( $\%FEV_1$ (%, mean  $\pm$  SD); 検査前  $93.09 \pm 16.7 \rightarrow$  検査後  $96.9 \pm 4.30$ ; NS)、安全に施行しえた。

また、17 名で  $\alpha$  アミラーゼ(アミラーゼテストワコー、和光純薬)を測定したが、全例で検出されず、唾液は混入していないものと考えられた。

### (2) CysLTs 濃度

凝集液中の cysLTs 濃度は、吸入ステロイド治療群において、重症であるほど高値になる傾向を認め、Step1 または 2 の比較的軽症群と Step3 または 4 の比較的重症群の比較では有意差を認めた (Step 1 or 2 vs. 3 or 4,  $3.23$  vs  $5.12$  (pg/ml),  $p < 0.05$ )。また、同時期に測定した呼気 NO 濃度、 $\%FEV_1$ 、気道過敏性(Ach $\text{PC}_{20}$ , Hist $\text{PC}_{20}$ )それぞれとは相関を認めなかった。

### (3) 処理法による cysLT 濃度の比較

以前の文献での結果に比して、今回の呼気凝集液中の cysLTs 濃度が 1/10 程度の低い結果となったため、6 例の症例で、文献上多く用いられている凍結乾燥法と当院での濃縮法を同時に施行し、測定値の比較をした。凍結乾燥法では当院の方法に比べ約 2.38 倍 (最大 4.85 倍) の量を検出し、凍結乾燥法のほうが濃度を高く検出する

傾向があった。しかし凍結乾燥により cysLTs は分解される危険性が考えられまた当院ではカラムを用いた方法で cysLTs を安定に 90%以上回収できること確認しており、さらに凍結乾燥法の数値も文献的な平均値に比べ低値であるため、総合的に当院の方法は妥当であると判断した。

#### (4) BY、CY 濃度

吸入ステロイド未治療 3 名、吸入ステロイド治療群 20 名において呼気凝集液中の BY、CY について測定した。BY は好酸球の活性化指標と考えられている。BY は、重症なほどやや高値になる傾向を認めた。また、HisPC<sub>20</sub> と負の相関を認めた( $r=0.42$ ,  $p<0.05$ )。呼気 NO 濃度、%FEV<sub>1</sub>、AchPC<sub>20</sub> とは相関を認めなかった。

一方 CY は好中球の活性化をより反映する指標と考えられている。CY は、BY と同様重症なほどやや高値になる傾向を認めた。また、HisPC<sub>20</sub> と負の相関を認めた( $r=0.43$ ,  $p<0.05$ )。呼気 NO 濃度、%FEV<sub>1</sub>、AchPC<sub>20</sub> とは相関を認めなかった。

#### D. 考察

呼気凝集液は、回収前後で一秒量の変化がなく、また誘発症状も皆無であったため、安全に回収しえることがあらためて示され、完全に非侵襲的と考えられた。また、唾液混入は可能性が低いと考えられた。

CysLTs については、呼気 NO 濃度、一秒量、気道過敏性に対し相関は認めないが、疾患の重症度と関連している可能性が示唆された。これは、気道炎症の指標として確立されつつある呼気 NO 濃度がステロイドの影響を受けやすいのに比較し、cysLTs が治療による修飾を受けにくく、気管支喘息の重症度の評価に有用である可能性を示している。

また、BY、CY については、以前当院において、*in vitro* で好酸球を刺激すると BY が、好中球を刺激すると CY が産生されること、実際に気管支喘息患者において尿中でも B

Y、CY を検出でき、これらが好酸球、好中球それぞれの活性化指標となりうる可能性があることを報告した(三田ら Clin Exp Allergy; 2002)。今回の検討では、呼気凝集液中の BY、CY と HisPC<sub>20</sub> にそれぞれ負の相関をみとめた。なぜアセチルコリンや呼気 NO 濃度と相関を認めないのかは不明であるが、気管支喘息では気道炎症により気道過敏性が惹起されるので、よりヒスタミンに対する気道過敏性に関わる何らかの気道炎症の因子を反映した可能性がある。いずれにしても、少なくとも呼気凝集液の指標で気道過敏性を予測できる可能性が示唆された。これについては今後の更なる検討を要する。

#### E. 結論

以上より、呼気凝集液の評価法や結果の位置づけについてはさらに詳細な検討が必要と考えられるが、疾患の重症度や過敏性に関連している可能性があると考えられた。また、完全に非侵襲的に施行できるので、患者に負担を強いることなく繰り返し測定でき、喘息の病態をより正確に簡便に判定できる検査になる可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

特許取得、実用新案登録、その他ともなし。

呼気凝縮液を用いた気道炎症の評価に関する研究

－採取機器による差異の検討－

分担研究者：大田 健（帝京大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー教授）

研究協力者：足立哲也、長瀬洋之、中野純一、山下直美

（帝京大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー）

**研究要旨** 気管支喘息の病態は気道の慢性炎症であり、炎症の程度が重症度を規定すると考えられている。気道炎症を評価する手段として現在まで頻用されているものとして、喀痰採取や気管支鏡下での肺生検・気管支肺胞洗滌などが挙げられる。しかし気管支鏡は患者にとって侵襲的検査であり、喘息発作中の患者には施行困難である。逆に喀痰は非侵襲的で発作時には採取が比較的容易であるものの、むしろ安定期には喀痰が少なくなりその採取が困難になるという難点もある。近年こういった問題点を打開し新たに気道炎症を評価する方法として、呼気凝縮液採取が注目されている。本研究では、呼気凝集液の採取機器（RTube, ECoScreen）により測定値に差を認めるかどうか検討した。呼気凝集液中のタンパク濃度は、ECoScreen で採取した検体の方が有意に高値であった。また酸化ストレスのマーカである 8-isoprostane も、RTube より ECoScreen で測定した方がその値が有意に高いことがわかった。RTube は持ち運びが容易なものの冷媒の温度変動のためサンプルの採取効率が不安定であり、また ECoScreen は逆に移動は困難だが安定したサンプル回収が可能である。呼気凝縮液は新しい気道炎症モニタリングの手段として注目されているが、個々の機器の特性を生かした使い分けをすることにより今後その位置づけがより確固たるものになると考えられる。

A. 研究目的

気管支喘息の有病率は、近年増加の一途を辿っている。その病態は気道の慢性炎症であり、炎症の程度が重症度を規定すると考えられている。気道炎症を評価する手段として現在まで頻用されているものには、喀痰採取や気管支鏡下での肺生検・気管支肺胞洗滌などが挙げられる。しかし気管支鏡は患者にとって侵襲的検査であり、喘息発作中の患者には施行困難である。逆に喀痰は非侵襲的で発作時には採取が比較的容易であるものの、むしろ安定期には喀痰が少なくなりその採取が困難になるという難点もある。

近年こういった問題点を打開し新たに気道炎症を評価する方法として、呼気凝縮液採取が注目されている。

具体的には呼気中の水蒸気に含まれる生化学物質を、冷却凝縮により液体サンプルとして採取する。現在までの報告では、脂質メディエーターである leukotriene や酸化ストレス産物である 8-isoprostane などが発作中の喘息患者の呼気凝集液中で有意に高いと報告されている。しかし気道炎症評価としての呼気凝縮液はいまだ研究段階の検査法であり、最適な測定機器の選定についても検討されていない。そこで本研究では、呼気凝集液採取に際しての各種機器間での測定値ばらつきに関して比較検討を行った。

B. 研究方法

(1) 対象