

はプロピオン酸ベクロメタゾン(BDP), ブデソニド (BUD), プロピオン酸フルチカゾン(FP)の3種類がある。また吸入器具として加圧ガスによる定量噴霧吸入器 (pressure Metered Dose Inhaler : pMDI) と、患者の吸気努力により吸入するドライパウダー吸入器 (Dry Powder Inhaler : DPI) に大別される。さらに pMDI には、噴霧剤として液化フロン (chlorofluorocarbon : CFC) と代替フロン (hydrofluoroalkane : HFA) を用いた2種類があるが、前者はオゾン層の保全を目的に2005年までには使用禁止となる予定である。pMDIの吸入器具を使用したものには現在CFC-BDP, HFA-BDP, HFA-FPがある。従来のCFC-BDPにおいては吸入のタイミングなどが難しく、容易に効率よく吸入するためにはスパーサーといった吸入補助器具が必要であった。しかし最近本邦で使用可能となったHFA-BDPは、吸入補助器具なしでも吸入が容易で、肺内到達度もきわめて良好である。一方、DPI製剤は患者の吸気努力により吸入する薬剤であるため、pMDIと比較して吸入手技が容易であるのが特徴である。現在本邦で使用可能な製剤にはDPI-BUD, DPI-FPの2種類がある。FPは現在使用可能な吸入ステロイド薬のなかでは最も強い抗炎症作用を有する薬剤であるが、DPI-FPの肺内到達度はDPI-BUDやHFA-BDPと比較して劣っており、乳糖の添加剤を含むため咽頭違和感、嘔声などの局所的副作用が発現しやすい欠点もある。またDPI製剤は薬剤を吸入するために、十

分な吸気流速が必要であり、吸気流速の低い低肺機能患者には不相当と考えられる。

吸入ステロイド薬の限界

これまで述べてきたように吸入ステロイド薬は喘息治療の第一選択である。しかし高用量の吸入ステロイド薬を使用しても喘息コントロールが不十分な症例に対し、吸入ステロイド薬を増量しても上乗せ効果が認められない場合がある。これは吸入ステロイド薬の用量反応曲線が高用量になるにつれて平坦化するからであり、必要以上の増量は副作用を増多させるだけで、効果としてはあまり寄与しない。そのため吸入ステロイド薬の十分な用量を用いてもコントロールが不十分な喘息患者においては、この吸入ステロイド薬の限界を念頭に置き、ステロイド薬の抗炎症作用を増強、補充する目的で、他の長期管理薬であるロイコトリエン受容体拮抗薬やキサンチン製剤、long-acting inhaled β_2 -agonistなどの追加療法 (add-on therapy) を行うほうが有効である。

文献

- 1) Banes PJ : Therapeutic strategies for allergic diseases. *Nature* 402(6760 Suppl) : B31-38, 1999
- 2) Banes PJ : Inhaled glucocorticoids for asthma. *N Engl J Med* 332 : 868-875, 1995
- 3) Haahtela T, et al : Comparison of a beta 2-agonist, terbutaline, with an inhaled corticosteroid, budesonide, in newly detected asthma. *N Engl J Med* 325 : 388-392, 1991

4. 呼気凝縮液による病態解明

和歌山県立医科大学第3内科 平野 綱彦
同 講師 山縣 俊之
同 教授 一ノ瀬正和

key words exhaled breath condensate, non-invasive technique, biomarker, oxidative stress, airway inflammation

動 向

従来気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患（COPD）をはじめとする炎症性呼吸器疾患の病態の機序解明やモニタリングには、切除肺，胸腔鏡下生検，気管支鏡下生検，気管支肺胞洗浄などを用いた検討が行われてきた。しかしこれらは侵襲が強く繰り返しの施行は困難であるため，呼吸器疾患のモニタリングには適さない。このような検査に代わり最近ではより低侵襲な誘発喀痰を用いた気道炎症の評価が行われている^{1,2)}。しかし，この手法では唾液が含まれるため測定値は半定量となる。また一方，より簡便で侵襲がほとんどなく，繰り返しの施行が可能な呼気ガス分析も行われる³⁾ものの，測定値は呼気流速や肺気量位などの条件により大きく左右される。近年ではこのような問題をふまえ，呼気凝縮液 exhaled breath condensate (EBC) という新しい手法を用いた検討が行われるようになり，気道・肺の炎症病態を評価する方法として注目されている^{4,5)}。

そこで本稿ではこのEBCを用いた気道炎症の病態解明について，最近のエビデンスを交え概説する。

A. EBCの特徴と採取方法

1. 測定原理

呼気はその成分のほとんどが水蒸気であるが，微量ながら下気道の被覆液中の不揮発性物質がエアロゾル化された粒子も含まれている⁶⁾。その産生機序としては気流が細かく分岐する気管や，軟骨輪のある気道を通過するときに乱流が発生し，被覆液中の不揮発性物質がエアロゾル化されるとする乱流説が提唱されている。

EBC中の各種液性因子の由来は口腔内，気管気管支，肺胞領域などが想定されるが，どの領域がどの程度関与しているかについてはまだ不明である。

2. 採取方法

EBCは通常の安静換気において，吸気時に加湿を受けて取り込まれた外気が呼気時に排出される際に，その水蒸気や霧状となった粒子を急速冷却することで液化して採取する非侵襲的方法である（図1A）。具体的には患者に一方弁のついたチューブを通して15分程度の安静換気を行ってもらうことで，1～3mlの呼気凝縮液を得ることができる。EBCの採取装置には，冷却装置が内蔵

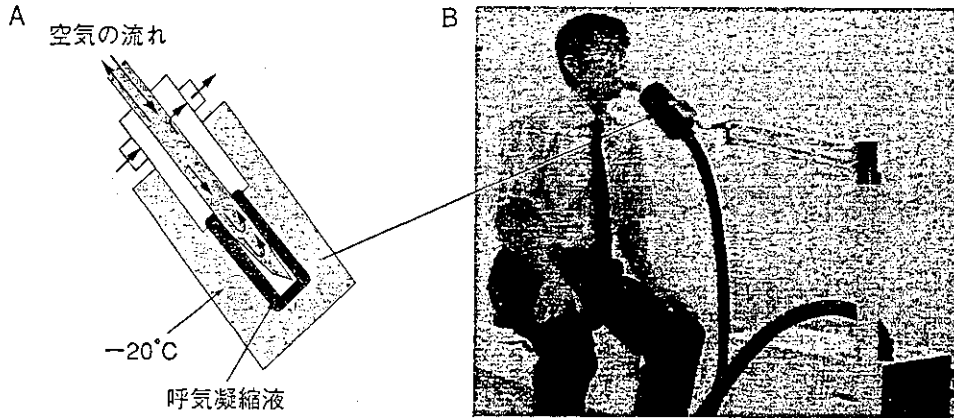


図1 Eco Screen™ とその使用法

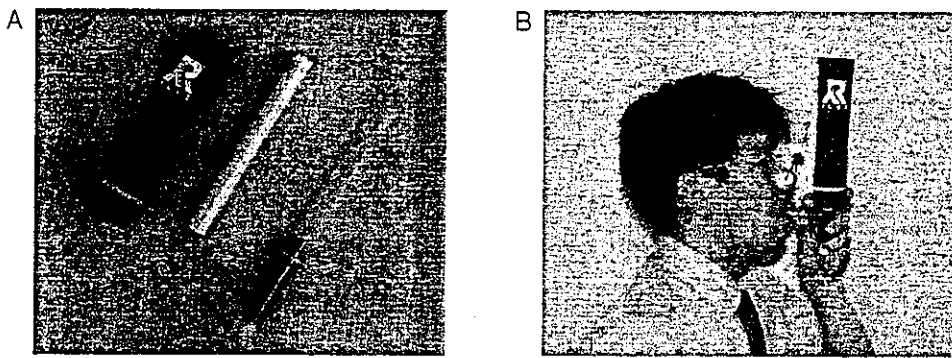


図2 RTube™ とその使用法

された据え置き型の製品 (EcoScreen™, Eric Jaeger, Hoechberg, Germany) (図1B) に加え、最近開発されたディスプレイで携帯性に優れた製品 (RTube™, Respiratory Research Inc, Charlottesville, VA, USA) (図2A) があり、より簡便に施行することが可能となっている。後者は冷却しておいたアルミ製の筒をRTube™の外筒として装着し、簡易的に冷却環境を作り出すシステムである (図2B)。

採取に際しては唾液の混入が問題となるが、EBC中のアミラーゼを測定し検討したいくつかの報告^{7,8)}では、ほとんど唾液の混入は確認されず、実際の採取において特に問題とはならない。

B. EBC中のバイオマーカー

EBCを用い、各種の呼吸器疾患の病態にかか

わる酸化ストレスや炎症性のメディエーターとの関連性が検討されている (表1)⁹⁾。

1. pH

酸性環境はNF- κ Bの活性化を介してマクロファージの誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の発現を増強させ¹⁰⁾、pH依存性の一酸化窒素 (NO) を産生する¹¹⁾。実際気管支喘息の急性増悪時にEBCは酸性化し、ステロイド治療により正常化することが報告されている¹²⁾。中等症の気管支喘息ではEBCのpHの低下が喀痰中の好酸球数増加と、またCOPDや気管支拡張症では喀痰中の好中球数増加と有意な逆相関がみられ¹³⁾、EBC中のpHの測定は疾患のモニタリングに使用できる可能性がある。

表1 各種呼吸器疾患の呼気凝縮液中バイオマーカー (文献9より改変)

	気管支喘息		喫煙者	COPD	気管支 拡張症	CF	ARDS
	軽症	中等症～重症					
pH	→	↓	?	↓	↓	?	?
NH ₃	?	↓	?	?	?	?	?
H ₂ O ₂	↑	↑↑	↑	↑	↑	→	↑
TBARS	?	↑↑	?	↑	?	↑	↑
8-イソプロスタン	↑	↑↑↑	↑	↑↑	?	↑	↑
LTC ₄ /D ₄ /E ₄	↑	↑↑	?	→	?	?	?
LTB ₄	↑	↑↑	↑	↑	?	?	?
PGD ₂	?	?	?	→?	?	?	?
PGE ₂	→	?	?	↑	?	?	?
PGF _{2α}	?	?	?	↑?	?	?	?
MDA	→	?	↑	↑↑	?	?	?
NO ²⁻	↑	↑↑	→	↑	?	↑	?
NO ³⁻	↑	↑↑	↑	→?	?	?	?
RS-NOs	↑	↑↑	↑	↑	?	↑	?
IL-4	↑	↑	?	?	?	?	?
IFN-γ	↓	↓	?	?	?	?	?
IL-8	?	?	?	?	?	↑	?
IL-1β	?	?	→	?	?	?	?
TNF-α	?	?	→	?	?	?	?
総蛋白	?	?	↑	?	?	?	?

2. アンモニア (NH₃)

気管支喘息においてEBC中のNH₃濃度が低下しており、これがpHと相関することより、NH₃が喘息気道の酸性化の中和物質である可能性がある¹⁴⁾。

3. 過酸化水素 (H₂O₂)

活性化された好中球やマクロファージ、好酸球などの炎症細胞はスーパーオキシド (O₂⁻) を産生する。このO₂⁻がスーパーオキシドディスムターゼを介してH₂O₂となる。さらにH₂O₂は好酸球ペルオキシダーゼやミエロペルオキシダーゼを介して、ハロゲン化合物となり、これがO₂⁻やFe²⁺などの金属イオンと反応することにより強い反応性をもったヒドロキシラジカル (OH⁻) となり、気道炎症や気道傷害に寄与すると考えられ

る。H₂O₂は他の活性酸素種と比較し、反応性が弱く生体膜に侵入しやすいこと、また気道におけるスカベンジ効果が弱いことから、気道系に存在はしているものの、カタラーゼにより消去されるため、その濃度は比較的低い。しかし慢性気道炎症においては、H₂O₂の産生過剰および消去機構の減弱により、気道内のH₂O₂濃度が増加すると考えられ、酸化ストレスのマーカーとして有用な可能性がある。

EBC中のH₂O₂の起源は明らかではないが、その濃度が呼気流速に依存しているという報告¹⁵⁾がみられることから、肺胞領域よりも呼気流速との関連が強い気管気管支領域が主であると考えられている。

EBC中のH₂O₂濃度は、健常人と比較し、喫煙者¹⁶⁾、気管支喘息¹⁷⁾、COPD¹⁸⁾、気管支拡張症⁷⁾、

急性呼吸促拍症候群 (ARDS)¹⁹⁾ で増加し、嚢胞線維症 (CF)²⁰⁾ では変化しないことが報告されている。気管支喘息ではH₂O₂濃度は誘発喀痰中の好酸球数、気道過敏性、重症度と相関する⁸⁾。またステロイド抵抗性の難治性喘息では呼気NOの低下はみられるもののH₂O₂濃度は低下しないことより、難治性の病態に酸化ストレスが関与している可能性がある。

COPDでは増悪時にH₂O₂濃度は安定期と比較して有意に増加する¹⁸⁾。さらに重症度や、誘発喀痰中の好中球数、呼吸困難の程度と相関し、%FEV₁と逆相関がみられる²¹⁾。以上よりH₂O₂濃度測定は喘息やCOPDの炎症の病態や重症度、治療効果の指標として有用な可能性がある。しかし吸入ステロイド薬はH₂O₂濃度を下げないという報告²²⁾があり、また各報告により測定値のばらつきもみられることから、実際の日常臨床への応用における意義についてはまだ不明である。

4. チオバルビツール酸化合物 thiobarbituric acid-reactive products (TBARS)

酸化ストレスにより形成された脂質過酸化物をチオバルビツール酸と反応させ、吸光度により測定し、定量化するものである。EBC中のTBARSは喘息¹⁷⁾やCOPD²³⁾において増加するとされているが、非特異的な脂質過酸化物総量であるため、酸化ストレスの間接的な指標に過ぎないことや検体処理中に形成される可能性もあることなどの問題²⁴⁾があり、その実用性は明らかではない。

5. イソプロスタノール類

イソプロスタノール類はフリーラジカルの作用により細胞膜に存在するアラキドン酸が過酸化されて産生されるプロスタグランジン類似物質である。イソプロスタノール類は化学的に安定であること、生体内で産生される脂質過酸化物であること、気管

支平滑筋を収縮させる生物活性をもっていること²⁵⁾より、疾患の病態解析や抗酸化剤の治療効果の指標として有用であると考えられる。このイソプロスタノール類のF₂クラスに属する8-イソプロスタノールは健常人と比較し、喘息患者では重症度依存性に増加しており、難治性喘息ではステロイド治療にても低下はみられない²⁶⁾。

8-イソプロスタノールは健常喫煙者で増加するが、COPDではさらに有意な増加がみられる²⁷⁾。しかし肺機能や現在の喫煙状況とは関連がないことから、ある程度以上の喫煙により病態が進行してしまうと、禁煙を行っても酸化ストレスが持続することが示唆される。8-イソプロスタノールはCF²⁸⁾やARDS²⁹⁾でも増加する。

6. ロイコトリエン類

ロイコトリエンは核膜や細胞膜の脂質由来のアラキドン酸から5-リポキシゲナーゼを介して生成される脂質メディエーターである。

システニールロイコトリエン (cys-LTs) であるLTC₄, LTD₄, LTE₄は主に肥満細胞や好酸球から産生され、気道平滑筋の収縮、血管透過性亢進、気道分泌の亢進、好酸球の浸潤をきたし³⁰⁾気道閉塞の病態にかかわっている。これに対してLTB₄は炎症細胞から産生される炎症性メディエーターで、強力な好中球遊走作用をもち、気道分泌を増加させることが示されている³¹⁾。cys-LTsとLTB₄は喘息の重症度に相関して増加する³²⁾。一方、COPDでは健常人と比較してcys-LTsの増加はみられないものの、LTB₄の有意な増加がみられる³³⁾ことより、気管支喘息とCOPDでは炎症の機序や病態が異なることが示唆される。

7. プロスタグランジン (PG) 類

PG類はシクロオキシゲナーゼ (COX) を介して産生されるPG (D₂, E₂, F₂) やトロンボキサノール A₂ (TXA₂) より構成される。PGE₂は抗炎症

性のメディエーターで気道平滑筋の収縮や炎症細胞の活性化を抑制することが報告されているが³⁴⁾、健常人と比較し、喘息では増加はみられないが³⁵⁾、COPDでは増加しており³³⁾、さらに前述のLTB₄との間に相関がみられる。つまりCOPDにおいては炎症の亢進と同時に、炎症を収束させる機序も活性化されていると推察される。

PGD₂やPGF_{2α}も喘息やCOPDにおいて測定可能で、このうちPGF_{2α}がCOPDにて増加しているが³⁴⁾、病態における役割は不明である。

TXA₂の加水分解により強力な気道収縮物質であるTXB₂が産生され、喘息にて検出可能であるが³⁵⁾、健常人やCOPDでは検出できない³³⁾ことより、喘息のTX受容体拮抗薬の効果の予測として有用であるかもしれない。

8. アルデヒド類

アルデヒド類のうちマロンジアルデヒド malondialdehyde (MDA) は多価不飽和脂肪酸の分解および酸化物の最終産物である代表的な脂質過酸化物である。EBC中のMDA濃度は健常人と比較し、喫煙者において有意に増加し、COPDではさらに有意に増加することより³⁶⁾、両者の鑑別に有用である。

9. 活性窒素種、窒素関連化合物

NOは生体内で多様な生理作用を有しており、炎症時には気道上皮細胞や炎症細胞にてiNOSにより誘導され、大量に気道に排出される。これらのNOがO₂と反応し、強力な活性窒素種であるパーオキシナイトライト (ONOO⁻) となり、気道炎症を修飾すると考えられる。しかし、活性窒素種はその反応性の高さのため定量化は困難であり、代わりに比較的安定な最終産物を測定することによりニトロ化ストレスの評価が行われる。

NOの酸化産物であるNO₂⁻、NO₃⁻のうち、NO₂⁻は重症喘息、COPD、CFにて増加する³⁷⁾。

またNO₃⁻は喫煙、喘息にて増加するものの、COPDでは有意な増加はみられない³⁸⁾。

一方、気道には酸化ストレスに対する種々の防御機構も存在するが、このなかで内因性の低分子チオール類の一つであるグルタチオンは、NOやNO代謝産物と反応しS-ニトロソチオール (RS-NOs) を形成することで、酸化ストレスを軽減する働きをもつとともに、RS-NOs自体が種々の生理活性をもつことも知られている。すなわちRS-NOsの増加は酸化ストレスの程度を反映しているものと考えられる。このRS-NOsは喫煙者、重症喘息、CF、COPDのEBCにおいて増加がみられ、喫煙歴との間に有意な相関が認められる³²⁾。しかし喫煙者とCF、COPDでは有意な差はみられず、現時点では単に喫煙に伴うNO産生のマーカーとしてのみ上昇しているのか、気道の炎症性病態になんらかの関与をもつのかは明らかでない。

10. 蛋白とサイトカイン

小児の喘息においてIL-4の増加とIFN-γの低下³⁹⁾が、CFではIL-8の増加⁴⁰⁾が、成人では若年健常喫煙者において総蛋白の増加⁴¹⁾やIL-β、TNF-αの不変⁴¹⁾、COPDにおいてIL-6の増加⁴²⁾が報告されているが、まだ充分な検討はなされていない。

むすび

以上EBCによる各種呼吸器疾患の病態解析について概説した。EBCは簡便で侵襲がほとんどなく、繰り返しての施行が可能なため、病態の解明や診断、さらに治療効果の評価に有用であると考えられる。しかし、サンプルの成分の由来が不明であること、採取法の標準化や解析法の妥当性の検証が必要であることなどの問題が残されている。今後の課題として、EBCと肺機能の関連、EBC以外の方法で採取される検体中のバイオマ

ーカーとの関連の検証 (誘発喀痰, 気道被覆液など) を行い, EBC における有用なバイオマーカーを検索することが必要である。

文献

- 1) Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, et al. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 701-6.
- 2) Sugiura H, Ichinose M, Yamagata S, et al. Correlation between change in pulmonary function and suppression of reactive nitrogen species production following steroid treatment in COPD. *Thorax* 2003; 58: 299-305.
- 3) Ichinose M, Takahashi T, Sugiura H, et al. Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component: role of airway inflammation and airway calibre. *Eur Respir J* 2000; 15: 248-53.
- 4) 山縣俊之, 一ノ瀬正和. COPD の炎症-exhaled breath condensate の解析より - . 分子呼吸器病 2004; 8: 36-43.
- 5) 戸蒔雅文, 一ノ瀬正和. 新しい気道炎症の評価法 - 呼気凝縮液(exhaled breath condensate) - . 呼吸器科 2002; 1: 392-7.
- 6) Mutlu GM, Garey KW, Robbins RA, et al. Collection and analysis of exhaled breath condensate in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 731-7.
- 7) Loukides S, Horvath I, Wodehouse T, et al. Elevated levels of expired breath hydrogen peroxide in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 991-4.
- 8) Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, et al. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1042-6.
- 9) Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1693-722.
- 10) Bellocq A, Suberville S, Philippe C, et al. Low environmental pH is responsible for the induction of nitric-oxide synthase in macrophages. Evidence for involvement of nuclear factor-kappaB activation. *J Biol Chem* 1998; 273: 5086-92.
- 11) Sheu FS, Zhu W, Fung PC. Direct observation of trapping and release of nitric oxide by glutathione and cysteine with electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Biophys J* 2000; 78: 1216-26.
- 12) Hunt JF, Fang K, Malik R, et al. Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 694-9.
- 13) Kostikas K, Papatheodorou G, Ganas K, et al. pH in expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1364-70.
- 14) Hunt JF, Erwin E, Palmer L, et al. Expression and activity of pH-regulatory glutaminase in the human airway epithelium. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 101-7.
- 15) Schleiss MB, Holz O, Behnke M, et al. The concentration of hydrogen peroxide in exhaled air depends on expiratory flow rate. *Eur Respir J* 2000; 16: 1115-8.
- 16) Nowak D, Kalucka S, Bialasiewicz P, et al. Exhalation of H₂O₂ and thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) by healthy subjects. *Free Radic Biol Med* 2001; 30: 178-86.
- 17) Antczak A, Nowak D, Shariati B, et al. Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactive products in expired breath condensate of asthmatic patients. *Eur Respir J* 1997; 10: 1235-41.
- 18) Dekhuijzen PN, Aben KK, Dekker I, et al. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 813-6.
- 19) Kietzmann D, Kahl R, Muller M, et al. Hydrogen peroxide in expired breath condensate of patients with acute respiratory failure and with ARDS. *Intensive Care Med* 1993; 19: 78-81.
- 20) Ho LP, Faccenda J, Innes JA, et al. Expired hydrogen peroxide in breath condensate of cystic fibrosis patients. *Eur Respir J* 1999; 13: 103-6.
- 21) Kostikas K, Papatheodorou G, Psathakis K, et al. Oxidative stress in expired breath condensate of patients with COPD. *Chest* 2003; 124: 1373-80.
- 22) Ferreira IM, Hazari MS, Gutierrez C, et al. Exhaled nitric oxide and hydrogen peroxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease: effects of inhaled beclomethasone. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1012-5.
- 23) Nowak D, Kasielski M, Antczak A, et al. Increased

- content of thiobarbituric acid-reactive substances and hydrogen peroxide in the expired breath condensate of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease: no significant effect of cigarette smoking. *Respir Med* 1999; 93: 389-96.
- 24) Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11: 81-128.
- 25) Kawikova I, Barnes PJ, Takahashi T, et al. 8-Epi-PGF2 alpha, a novel noncyclooxygenase-derived prostaglandin, constricts airways in vitro. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 590-6.
- 26) Montuschi P, Corradi M, Ciabattoni G, et al. Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 216-20.
- 27) Montuschi P, Collins JV, Ciabattoni G, et al. Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1175-7.
- 28) Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G, et al. Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis. *Thorax* 2000; 55: 205-9.
- 29) Carpenter CT, Price PV, Christman BW. Exhaled breath condensate isoprostanes are elevated in patients with acute lung injury or ARDS. *Chest* 1998; 114: 1653-9.
- 30) Leff AR. Role of leukotrienes in bronchial hyperresponsiveness and cellular responses in airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: S125-32.
- 31) Busse WW. Leukotrienes and inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: S210-3.
- 32) Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1273-6.
- 33) Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G, et al. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. *Thorax* 2003; 58: 585-8.
- 34) Pavord ID, Tattersfield AE. Bronchoprotective role for endogenous prostaglandin E2. *Lancet* 1995; 345: 436-8.
- 35) Montuschi P, Barnes PJ. Exhaled leukotrienes and prostaglandins in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 615-20.
- 36) Corradi M, Rubinstein I, Andreoli R, et al. Aldehydes in exhaled breath condensate of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 1380-6.
- 37) Corradi M, Montuschi P, Donnelly LE, et al. Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 854-8.
- 38) Corradi M, Pesci A, Casana R, et al. Nitrate in exhaled breath condensate of patients with different airway diseases. *Nitric Oxide* 2003; 8: 26-30.
- 39) Shahid SK, Kharitonov SA, Wilson NM, et al. Increased interleukin-4 and decreased interferon-gamma in exhaled breath condensate of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1290-3.
- 40) Cunningham S, McColm JR, Ho LP, et al. Measurement of inflammatory markers in the breath condensate of children with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2000; 15: 955-7.
- 41) Garey KW, Neuhauser MM, Robbins RA, et al. Markers of inflammation in exhaled breath condensate of young healthy smokers. *Chest* 2004; 125: 22-6.
- 42) Bucchioni E, Kharitonov SA, Allegra L, et al. High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate of patients with COPD. *Respir Med* 2003; 97: 1299-302.