

難治性喘息

Refractory asthma

一ノ瀬正和

Masakazu Ichinose

和歌山県立医科大学 内科学第3講座・教授

Summary

難治性喘息とは通常量の吸入ステロイド療法で治療困難な症例である。実際の臨床の場では、他疾患(COPDや声帯機能異常)を喘息と誤診している場合もあるので注意が必要である。

診断が喘息に間違いなく、かつ難治性の場合には、まず服薬コンプライアンスが十分かどうか、特に吸入ステロイド手技についてのチェックが必要である。鼻・副鼻腔炎や胃・食道逆流といった疾患が合併すると難治性喘息になりやすいので、このような合併症の治療も重要である。

本当の意味での難治性喘息、すなわち吸入ステロイド薬で抑制不能な気道炎症を示す患者も存在し、その病態解明と治療法開発は今後の重要な課題である。

Key words

ステロイド抵抗性、気道過敏性、
気道リモデリング、好中球性炎症、転写因子、
DNA

はじめに

「難治性喘息」とは2003年に出版された厚生省免疫・アレルギー研究班作成の『喘息予防・管理ガイドライン2003(JGL1998改訂第2版)』には、「重症喘息の中で、喘息症状を最小限にするために吸入ステロイド薬の最大量の吸入と経口ステロイド薬(プレドニン®換算1日10mg以上)を長期(1年以上)にわたり維持量として使用することが必要な症例を、特に難治性喘息として扱う」と記載されている¹⁾。他の呼称として、重症喘息、ステロイド依存性(あるいは抵抗性)喘息、ブリットル型喘息など、つまりは通常の治療でコントロール不能な症例を指す。

本稿では、このようないわゆる難治性喘息の診断、治療をめぐる問題点と、今後の治療の方向性について概説する。

I 難治性喘息の定義と診断

難治性喘息の定義は上述したように、通常の吸入ステロイド療法でコントロールが得られない喘息であるが、より客観性の高いものとして米国胸部疾患学会(American Thoracic Society ; ATS)のワ

ークショップレポートが挙げられる²⁾。このレポートでは、表1に示した徴候のうち、主徴2項目中1項目以上かつ副徴7項目中2項目以上満たすものを難治性喘息 (refractory asthma) と定義している。主徴は、「軽症から中等症持続型の状態に維持するために、①持続あるいは半持続的に経口ステロイド薬が必要、②大量の吸入ステロイド薬が必要」の2項目で、大量の吸入ステロイド薬の量とはベクロメタゾンで1260 μg/日以上を意味し、その他の吸入ステロイド薬の剤型と量についても具体的に記載されている。副徴は、「①日々の治療として吸入ステロイド薬に加え長時間作動型β刺激薬、テオフィリン、ロイコトリエン受容体拮抗薬などが必要、②症状緩和のため短時間作動型β刺激薬が毎日あるいはほぼ毎日必要、③持続性気道閉塞が存在、④年1回以上の喘息発作による救急受診、⑤年3回以上の発作に対する経口ステロイド薬使用、⑥経口あるいは吸入ステロイド薬の25%未満の減量による急速な症状増悪、⑦過去に致死的に近い発作の既往」の7項目である。

II 診断上の問題点：他疾患の除外の重要性

上記の定義からわかるように、難治性喘息である

か否かはステロイドに対する反応性で規定される。気管支喘息の診断は、くり返す喘鳴や呼吸困難といった症状でなされることが多いため、同様の症状をきたす他疾患の存在あるいはその合併により症状が持続し、ステロイド加療を行っても十分に症状の改善が得られず、難治性喘息とみなす危険性が存在する。すなわち難治性喘息の診断には、これら他疾患の除外がきわめて重要となる。表2に難治性喘息と誤診しやすい疾患の一覧を示す³⁾⁴⁾。

表2に挙げた疾患のなかで頻度的に最も多いのは慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease ; COPD) である。COPDの場合には通常閉塞性障害がゆっくりと進行し、不可逆的な部分が喘息に比べ多い。COPDの病態は末梢気道や肺胞の慢性炎症性疾患であり、炎症性という点では気管支喘息と同様であるが、気管支喘息は好酸球浸潤が主であるのに対し、COPDは好中球優位と、炎症機転には明らかな差が存在する。胸部X線撮影やCTといった画像診断や、肺拡散能・肺気量分画といった機能検査により、COPDか喘息かは鑑別しなければならないが、喘息、COPDともそれぞれ人口の数%の罹患率が考えられる疾患なので、両者の合併も10~20%程度存在すると推定される。

表1. 難治性喘息の定義²⁾

主徴の1つ以上かつ副徴の2つ以上に合致したものが難治性喘息。詳しくは本文参照だが、他疾患の除外は重要。

〈主 徴〉		
軽症から中等症持続型の状態に維持するために、		
1. 持続あるいは半持続的 (半年以上) に経口ステロイド薬が必要		
2. 大量の吸入ステロイド薬による治療が必要		
剤型	分量 (μg/日)	分量 (パフ/日)
ベクロメタゾン	>1260	>40パフ (42μg/吸入)、>20パフ (84μg/吸入)
ブデソニド	>1200	>6パフ
フルニソリド	>2000	>8パフ
フルチカゾン	>880	>8パフ (110μg)、>4パフ (220μg)
トリアムシノロン	>2000	>20パフ
〈副 徴〉		
1. 日々の治療として吸入ステロイド薬に加え、併用薬として長時間作動型β刺激薬、テオフィリン徐放製剤、ロイコトリエン受容体拮抗薬などが必要		
2. 症状緩和のため短時間作動型β刺激薬が毎日あるいはほぼ毎日必要		
3. 持続性気道閉塞が存在 (FEV ₁ <80%が予想される、PEF日内変動率>20%)		
4. 年1回以上の喘息発作による救急受診		
5. 年3回以上の発作に対する経口ステロイド薬使用		
6. 経口あるいは吸入ステロイド薬の25%未満の減量による急速な症状増悪		
7. 過去に致死的に近い発作の既往		

表2. 難治性喘息と間違われる可能性のある疾患⁴⁾

慢性閉塞性肺疾患 (COPD)	気管・気管支軟化症
声帯機能異常	誤嚥・異物吸入
気管支拡張症	気管支アミロイドーシス
心不全	睡眠時無呼吸症候群
中枢気道腫瘍	胃・食道逆流
閉塞性気管支炎	

表3. 気管支喘息管理が不十分になる原因

薬物服薬のコンプライアンスが不十分
治療薬が不十分
くり返す抗原への曝露
気道感染
胃・食道逆流
鼻・副鼻腔炎の合併
アスピリン喘息
遺伝的素因(ステロイド受容体の異常)

画像や機能から明らかなCOPDであっても、喘息の合併があるかどうかは喀痰の好酸球検査、呼気一酸化窒素 (nitric oxide ; NO) 測定 (気管支喘息では誘導型NO合成酵素の発現が気道上皮や炎症細胞で増加し、NOの過産生が起こっている)、短期間のステロイド薬投与による反応性から判断すべきである。

声帯の機能障害もしばしば問題となる。これは主に吸気時に起こる声帯の狭窄で、発生機序は不明であるが、声帯の前3分の2が内転するため喘鳴や呼吸困難感をきたすものである。喘息と間違われることが多く偽喘息 (pseudoasthma) と呼ばれている。Newmanらの95人の声帯機能異常者 (喉頭鏡にて確認) の検討では、そのうち53人が喘息を併発し、42人は喘息を全く伴っていなかった。喘息を伴っていない42人は主に若年女性であり、平均4.8年間喘息として加療され、29.2mg/日のプレドニゾロンの投与を受けていた⁵⁾。喘息がない場合でも、声帯機能障害があれば喘鳴、息切れなど喘息と似かよった症状を示し、また、喘息との合併では実際の閉塞性障害より重篤な訴えを示す。フローボリューム曲線での吸気の低流速パターンや、喉頭鏡で診断することが重要である。

その他の疾患、上気道閉塞や睡眠時無呼吸症候群、精神的事項 (不安、外的ストレスなど) の有無も検討すべきである。

Ⅲ ステロイドに反応性があっても 難治性喘息に至る場合

前述したように、大量の吸入ステロイド薬に加え経口ステロイド薬を投与しても管理が困難な症例が難治性喘息にあたるわけであるが、実際には患者の服薬コンプライアンスの問題や、他疾患の合併に

よるものから、遺伝的異常によるステロイド抵抗性 (炎症機転そのものがステロイド抵抗性の場合と、ステロイド感受性の異常) までその理由は多岐にわたる (表3)⁴⁾。

1. 患者の服薬コンプライアンスが不十分な場合

医師が指示したとおりのステロイド療法を患者自身が正しく行っているかという点は大きな問題である。吸入手技としてはドライパウダーの吸入ステロイド薬は簡易であり、個人の技術的な差はかなり軽減してきている。また高力価で1回吸入量の増加した吸入ステロイド薬も市販され、吸入回数に関する煩雑さもかなり軽減してきている。しかし、上手に下気道へステロイド薬を吸入できているかどうかは個人によりどうしても差が生じ、さらに実際患者のステロイド薬使用のコンプライアンスは30~70%という報告もあることより、医師が認識している以上に患者のコンプライアンスは低い可能性が考えられる。

2. 他疾患の合併

1) 胃・食道逆流

しばしば喘息との合併が認められ、特に小児の中等症から重症の喘息においては60%に合併が認められると報告されている。胃・食道逆流の合併が難治性喘息の進展に関与するメカニズムとしては、迷走神経を介した食道・気管支反射や上気道への微小な誤嚥による直接刺激などが考えられる。胃・食道逆流の治療を同時に行うことも、試みる価値のある治療法の1つと考えられる。

2) 副鼻腔炎・鼻炎

喘息と副鼻腔炎・鼻炎の合併は多く、副鼻腔や鼻

腔などの上気道疾患と下気道障害との強い相関関係の存在が考えられる。副鼻腔炎・鼻炎が喘息の難治化をもたらす機序としては、鼻腔・気管支反射、気道の炎症反応の増強、炎症性メディエーターやサイトカインの上気道から下気道への直接の影響などが考えられる。小児喘息や成人の重症・難治性喘息において、副鼻腔炎・鼻炎を治療することでしばしば喘息コントロールの改善が認められる。

3) 抗原曝露

屋内外に存在する各種の外来抗原への曝露も難治性喘息の成因となる²⁾。これらの抗原として多いのは、ダニ抗原などのハウスダスト、ネコなどのペット由来の抗原や真菌由来の抗原などである。急激に大量の抗原を吸入した場合は非常に重篤な発作をきたすこともある。また逆に入院などでこれらの吸入抗原から隔絶されることで喘息症状が軽減することもしばしば認められる。

4) アスピリン喘息

アスピリンやその他の非ステロイド系消炎鎮痛薬が喘息の悪化や発作を誘発する危険性があることはよく知られている。しかし、これらの薬剤誘発性喘息の患者では、薬剤の非存在下でもすでに難治性喘息の状態にあることも多い。アスピリン誘発喘息ではロイコトリエンC₄合成酵素の過剰発現の存在が知られており、病態への関与が示唆されている。

IV 難治性喘息の病態と今後の展望

気管支喘息の難治化のメカニズムについてはいまだ十分に解明されていないが、気道炎症、気道過敏性亢進、気道リモデリング、ステロイド抵抗性などの視点からその病態生理に関する検討がなされている。以下に今後の検討課題として、難治性喘息の考えられる病態に関し記す。

1. ステロイド抵抗性の気道炎症

気管支喘息は肥満細胞、好酸球、T細胞、上皮細胞など多くの細胞や細胞成分が関与する気道の慢性炎症性疾患である。一般的には、これらの細胞群はステロイドに対する反応性が良好である⁶⁾。しかし、何らかの理由でステロイドの反応性が低下し

難治性喘息になる可能性がある。たとえばグルココルチコイド受容体とDNAの結合に異常があればステロイドによる抗炎症作用は認められない。このような現象の機序の詳細は不明だが、炎症によって細胞内で過産生された転写因子(たとえばAP-1)がステロイド受容体と直接的な蛋白-蛋白相互作用を示すためという仮説も提唱されている⁷⁾⁸⁾。

さらに、炎症性サイトカインのシグナルはヒストン蛋白のアセチル化を起こし、DNAと転写因子の結合が速やかとなり、炎症が進む。ステロイドの気道での抗炎症作用は、このヒストンのアセチル化を抑制(脱アセチル化)することによる。喫煙による刺激はこの脱アセチル化を阻害するとされている⁹⁾。このような脱アセチル化の機能異常が今後の研究課題として注目される。

2. 気道過敏性の亢進

気道過敏性亢進とは、ごくわずかのヒスタミンやメサコリンなどの気道収縮物質で気道が狭窄することで、気管支喘息のほぼ全例に認められる。気道過敏性は一部遺伝的素因によっても規定されると考えられるが、気道平滑筋の増殖や反応性の亢進、肺弾性収縮圧の低下(たとえば、気腫領域の存在)、気道壁の浮腫¹⁰⁾、気道への過分泌も気道過敏性亢進に働く。気道過敏性が高度であることは難治性喘息の原因となる。

3. 気道リモデリングの進行による固定性気流制限の出現

気管支喘息における慢性の気道炎症は、基底膜の破壊とともに平滑筋細胞や線維芽細胞に作用し、上皮下に線維化、気道血管床増生、平滑筋増生などを起こし気道のリモデリングを引き起こす。好酸球などから産生される形質転換増殖因子 β (transforming growth factor β ; TGF- β)や血小板由来増殖因子(platelet-derived growth factor; PDGF)といった増殖因子の作用により線維芽細胞や筋線維芽細胞が増殖、活性化し、そこから産生されたコラーゲン、フィブロネクチン、テネイシンなどの細胞外マトリックスが基底膜網状層に

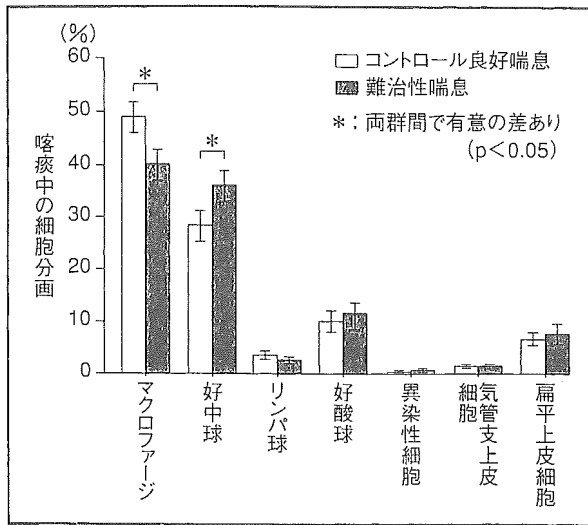


図1. コントロール良好喘息と難治性喘息の喀痰中の細胞分画¹¹⁾

沈着することにより生じる。このような気道のリモデリングが高度になれば、固定した気流閉塞の進行や気道過敏性亢進へと働くため、気管支喘息難治化の原因となる。

4. 炎症そのものがステロイド抵抗性の場合

気管支喘息の気道炎症(Th2サイトカイン優位の炎症)はステロイドに対する感受性が高い。すなわち、Th2サイトカインの産生抑制や好酸球性炎症はステロイド反応性が高い。一方、好中球性炎症に関しては、ステロイドの有効性は低い。気管支喘息の大多数はTh2優位型であるが、何らかの機序で好中球浸潤をきたす場合は、難治性喘息となる。実際、ヨーロッパの難治性喘息に対する大規模疫学調査でも、気道への好中球浸潤が指摘されている(図1)¹¹⁾。

おわりに

以上、難治性喘息の診断と治療を取り巻く現在の問題点、および今後の展望について述べた。くり返しになるが、難治性喘息に遭遇した場合は、まず他疾患を誤診していないか確認し、治療のコンプライアンスは守られているかを確かめることが肝要である。それらに間違いがなく、なお吸入ステロイド

薬でコントロール不能な場合には、短期間のステロイド薬全身投与〔プレドニゾン(プレドニン®)20~30mg, 7~10日間〕を試すのも有用である。

さらに、上記Ⅳ-4項に述べたステロイドで抑制不能な炎症機転を示す患者に関しては、今後基礎、臨床からのさらなる検討が必要である。

文献

- 1) 厚生省免疫・アレルギー研究班：喘息予防・管理ガイドライン2003. 牧野莊平, 古庄巻史, 宮本昭正, 他監. 東京, 協和企画, 2003
- 2) American Thoracic Society: Proceeding of the ATS workshop on refractory asthma. Am J Respir Crit Care Med 162: 2341-2351, 2000
- 3) Barnes PJ: Difficult asthma. Eur Respir J 12: 1209-1218, 1998
- 4) 一ノ瀬正和: 管理治療の実際; 難治性喘息. 泉孝英編, 最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 呼吸器2 喘息. 大阪, 最新医学社, 207-213, 2001
- 5) Newman KB, Mason UG 3rd, Schmalzing KB: Clinical features of vocal cord dysfunction. Am J Respir Crit Care Med 152: 1382-1386, 1995
- 6) Ichinose M, Takahashi T, Sugiura H, et al: Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component; Role of airway inflammation and calibre. Eur Respir J 15: 248-253, 2000
- 7) Adcock IM, Brown CR, Shirasaki H, et al: Effects of dexamethasone on cytokine and phorbol ester stimulated c-Fos and c-Jun DNA binding and gene expression in human lung. Eur Respir J 7: 2117-2123, 1994
- 8) Adcock IM, Lane SJ, Brown CR, et al: Abnormal glucocorticoid receptor/AP-1 interaction in steroid resistant asthma. J Exp Med 182: 1951-1958, 1995
- 9) Cosio BG, Tsaprouni L, Ito K, et al: Theophylline restores histone deacetylase activity and steroid responses in COPD macrophages. J Exp Med 200: 689-695, 2004
- 10) Kimura K, Inoue H, Ichinose M, et al: Bradykinin causes airway hyperresponsiveness and enhances maximal airway narrowing; Role of microvascular leakage and airway edema. Am Rev Respir Dis 146: 1301-1305, 1992
- 11) The ENFUMOSA Study Group: The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. Eur Respir J 22: 470-477, 2003

気管支喘息の病態理解と治療の実際

いちのせまさかず
一ノ瀬正和*

abstract

気管支喘息の本態は、好酸球、リンパ球、肥満細胞、自律神経、気道上皮等多岐にわたる細胞群が関与する慢性炎症である。治療の根本はこれら広範な細胞群の制御であるが、吸入ステロイドが現時点での第一選択薬である。吸入ステロイドは親油性に富むという特性から、炎症の場が気道上皮周辺である喘息治療に有利である。吸入ステロイド投与で管理が不十分な場合には気管支拡張薬の併用（Add-on）が有効である。

はじめに

気管支喘息は罹患率が高く日常臨床でよく遭遇する。慢性的な気道の炎症が病態上重要であり、機能上の異常としては閉塞性障害を示す。この炎症には好酸球、肥満細胞、マクロファージ、リンパ球に加え気道上皮、微小血管、分泌腺等多彩な細胞群が関与している。こういった多くの細胞に作用点をもつグルココルチコイドの吸入療法が治療の第一選択とされ、ガイドラインの普及ともあいまって、喘息の治療効果はこの10年で大きく進展した。本稿では、こういった気管支喘息の病態を解説し治療の実際について述べる。

気管支喘息の病態

気管支喘息は国際ガイドライン（Global Initiative for Asthma, GINA）によれば「気道の慢性炎症性疾患であり、多くの細胞や細胞成分が役割を演じている。その慢性炎症によって気道過敏性が亢進し、繰返す喘鳴、息

切れ、胸部圧迫感および咳が、特に夜間や早朝に起こる。これらのエピソードは通常、広範囲な、しかしさまざまな程度の気道閉塞を伴っており、しばしば自然に、もしくは治療により寛解する」と定義されている¹⁾。

定義で言う「多彩な細胞群」には、好酸球、リンパ球、肥満細胞、気道上皮、神経などが当てはまる。例えば好酸球は気道平滑筋収縮作用や血管透過性亢進作用を示すロイコトリエンのような化学伝達物質に加え、顆粒蛋白を放出し気道上皮を剥離させる。上皮の剥離は知覚神経末端の露出をきたし、神経系（迷走神経反射や知覚神経の軸策反射）を介し炎症はさらに増強する²⁾。

したがって気管支喘息の治療の基本は慢性炎症の制御であり、治療対象となる細胞群は多岐にわたる。

気管支喘息治療の実際

1. 吸入ステロイドが治療の基本

気管支喘息の病態が気道の慢性炎症である

* 和歌山県立医科大学 内科学第三講座 教授

図1 喘息の慢性気道炎症に関与する炎症細胞群と構築細胞群 (文献3 : Barnes PJ et al, 1998より引用)
ステロイドはこれら細胞群に広く作用点をもつ。

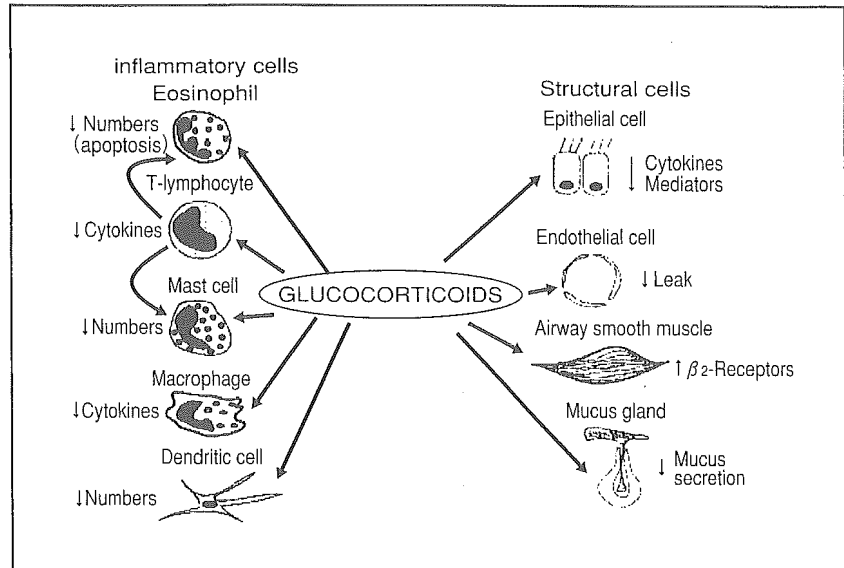
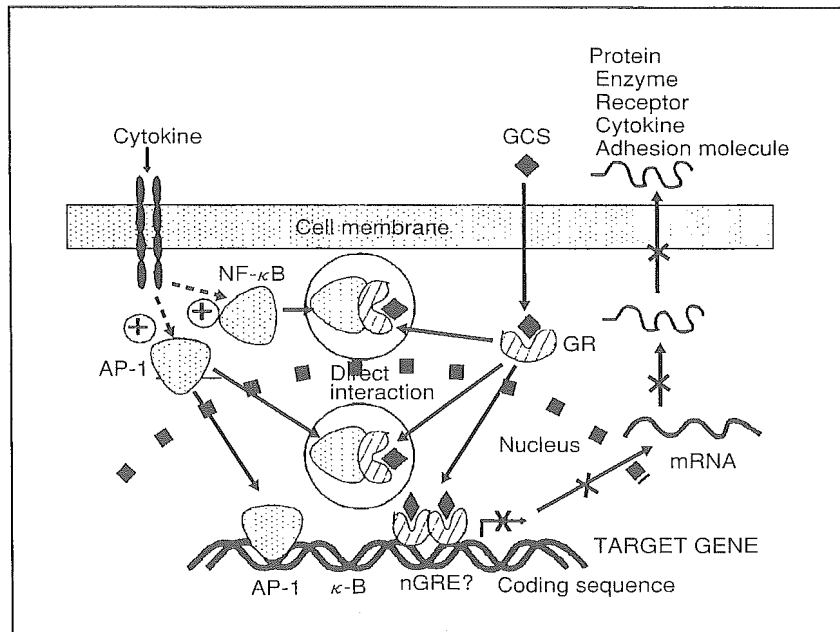


図2 炎症性サイトカインによる転写活性を介した炎症の増強と、それに対するステロイドの抑制効果 (文献3 : Barnes PJ et al, 1998より引用)



との知見に基づき、これら多彩な細胞群に広く作用点をもつ吸入ステロイドが第一選択薬とされる (図1)³⁾。慢性炎症状態にある喘息気道では、炎症性サイトカインにより転写因子の活性化を介し炎症に関与する酵素、受容体、サイトカイン、接着因子の発現が高まっているが、ステロイドはこういった炎症の増悪サイクルの抑制に有効である (図2)³⁾。

実際、呼気一酸化窒素 (NO) 濃度、喀痰中の好酸球やメディエーター (ブラジキニン) 濃度で気道の炎症をモニタリングすると、吸入ステロイドは各炎症パラメーターを大きく改善し、その抑制程度は気道の閉塞性障害や過敏性の改善程度とよく相関する (図3)⁴⁾。

ステロイドという副作用が常に問題となるが、常用量の吸入ステロイドであれば、発

図3 吸入ステロイド8週間投与による気道の炎症パラメーター改善効果と1秒量改善(A)および気道過敏性改善の相関(B)
(文献4: Ichinose M et al, 2000より引用)

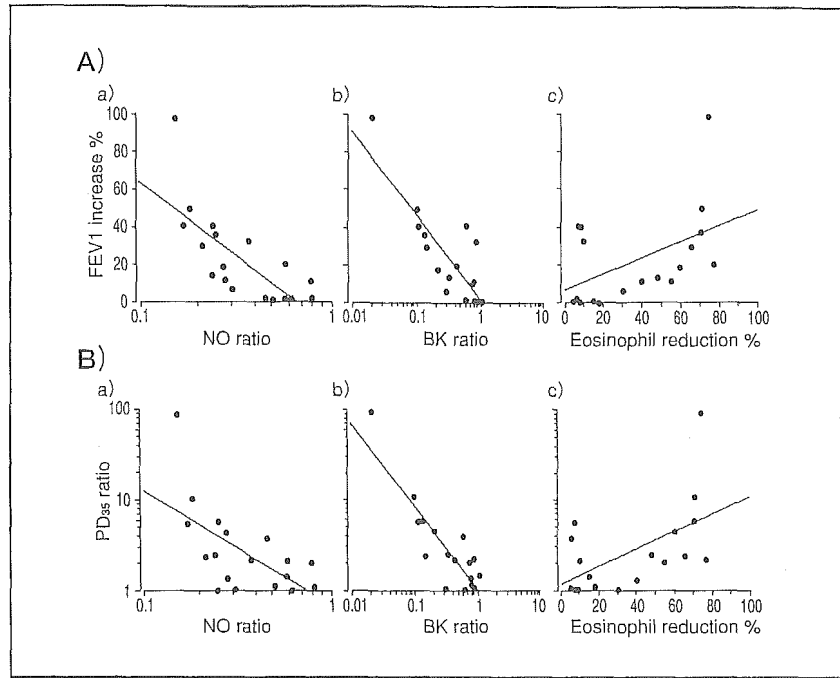
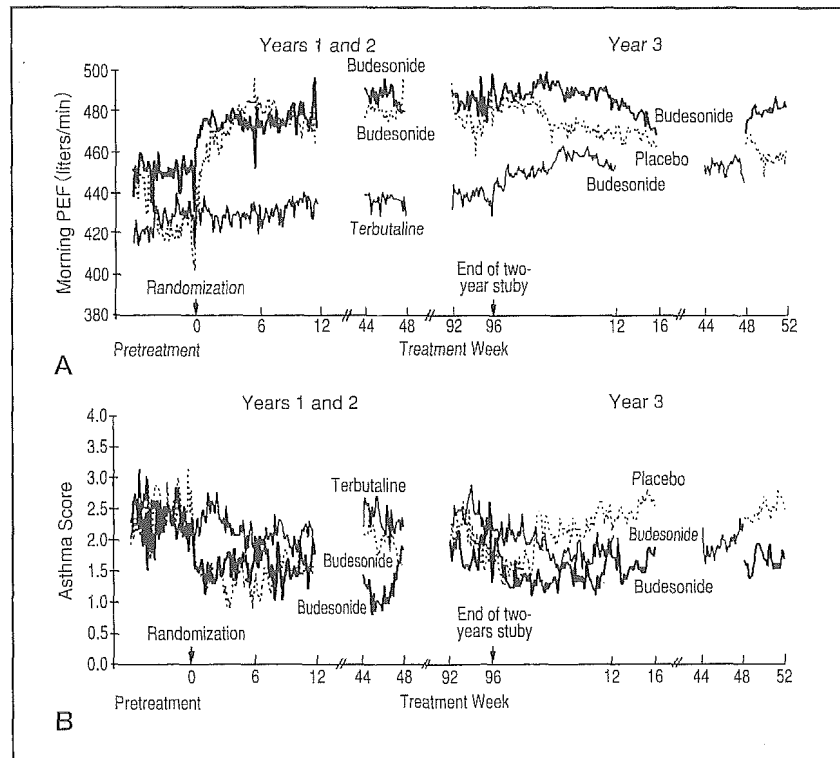


図4 吸入ステロイド導入時期と呼吸機能(朝のピークフロー値)と喘息症状スコアの変化
(文献5: Haahtela T et al, 1994より引用)
太い実線で示した早期導入群に比べ細い実線で示した2年後の導入では呼吸機能や喘息症状の改善が劣る。



育や骨密度にも悪影響が無いことが報告されている。Haahtela等の吸入ステロイドの導入時期を2年の間隔の早い遅いで検討した報告によれば、遅れて吸入ステロイドを導入し

た場合は呼吸機能の改善が早期導入に比べ劣るとされており(図4)⁵⁾、早期導入が望まれる。吸入ステロイドは喘息死を減らすことも報告されている。先に述べたGINAの喘

表1 GINAによる成人喘息の治療推奨 (文献1, 2002より引用)

Recommended Medications by Level of Severity : Adults		
All Steps : In addition to regular daily controller therapy, rapid-acting inhaled β_2 -agonist* should be taken as needed to relieve symptoms, but should not be taken more than 3 to 4 times a day.		
Level of Severity	Daily Controller Medications	Other Treatment Options***
Step 1 Intermittent Asthma****	<ul style="list-style-type: none"> • None necessary 	
Step 2 Mild Persistent Asthma	<ul style="list-style-type: none"> • Inhaled glucocorticosteroid ($\leq 500 \mu\text{g}$ BDP or equivalent) 	<ul style="list-style-type: none"> • Sustained-release theophylline, or • Cromone, or • Leukotriene modifier
Step 3 Moderate Persistent Asthma	<ul style="list-style-type: none"> • Inhaled glucocorticosteroid (200 - 1,000 μg BDP or equivalent) <i>plus</i> long-acting inhaled β_2-agonist 	<ul style="list-style-type: none"> • Inhaled glucocorticosteroid (500 - 1,000 μg BDP or equivalent) <i>plus</i> sustained-release theophylline, or • Inhaled glucocorticosteroid (500 - 1,000 μg BDP or equivalent) <i>plus</i> long-acting oral β_2-agonist, or • Inhaled glucocorticosteroid at higher doses ($> 1,000 \mu\text{g}$ BDP or equivalent), or • Inhaled glucocorticosteroid (500 - 1,000 μg BDP or equivalent) <i>plus</i> leukotriene modifier
Step 4 Severe Persistent Asthma	<ul style="list-style-type: none"> • Inhaled glucocorticosteroid ($> 1,000 \mu\text{g}$ BDP or equivalent) <i>plus</i> long acting inhaled β_2-agonist, <i>plus</i> one or more of the following, if needed : <ul style="list-style-type: none"> • Sustained-release theophylline • Leukotriene modifier • Long-acting oral β_2-agonist • Oral glucocorticosteroid 	

All Steps : Once control of asthma is achieved and maintained for at least 3 months, a gradual reduction of the maintenance therapy should be tried in order to identify the minimum therapy required to maintain control.

* Other options for reliever medication are (in increasing order of cost) inhaled anticholinergic, short-acting oral β_2 -agonist, and short-acting theophylline.

*** Other treatment options listed in order of increasing cost. Relative medication costs may vary from country to country.

**** Those with intermittent asthma but severe exacerbations should be treated as having moderate persistent asthma (Evidence D).

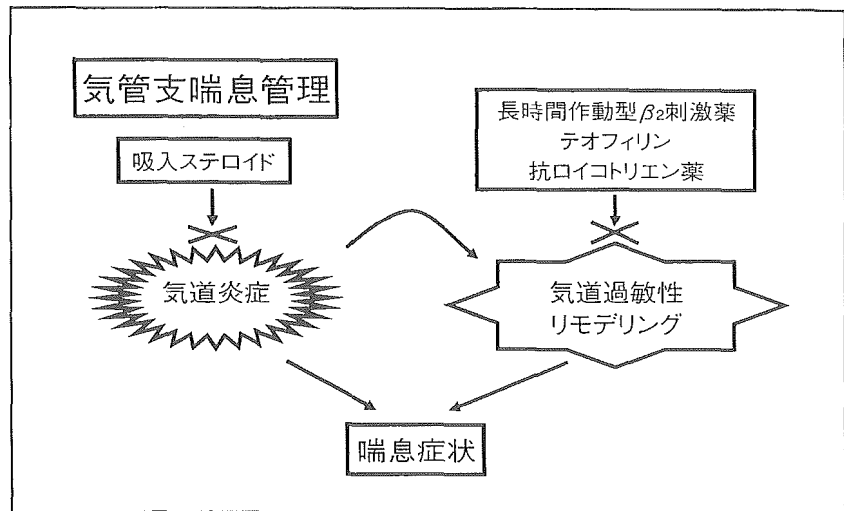


図5 安定期の気管支喘息管理の模式図
吸入ステロイドによる炎症の抑制と Add-on 療法による補完を示す。

息治療の推奨では吸入ステロイドをコントローラーとして軽症持続型（ステップ2）から最重症まで用いるとしている（表1）。

2. Add-on 療法

一方、吸入ステロイドで気道炎症が抑制されていても、ウイルス感染等により喘息発作は起こりうる。これは、喘息患者が先天的にもつ気道過敏性や、炎症に続発して起こった気道壁の再構築（リモデリング）によると考えられる。こういった発作に対するブレーキングシステムとして、長時間作動型 β_2 刺激薬、テオフィリン、抗ロイコトリエン薬が用いられ、Add-on 療法と称される（図5）。その根拠として、低用量吸入ステロイドでコントロール不良の患者群に対して、高用量吸入ステロイドと低用量吸入ステロイドに前述した3つの Add-on 薬のいずれかの投与で比較した場合の呼吸機能や症状の改善が Add-on 療法群で優れているという多くのエビデンスが挙げられる。図6にテオフィリンを Add-on 薬として行われたトライアルの結果を示す⁶⁾。Add-on 薬の中で最も作用が強力なのは長時間作動型 β_2 吸入薬（long acting β_2 agonist, LABA）であるが（図7）⁷⁾、テオフィリンや抗ロイコトリエン薬

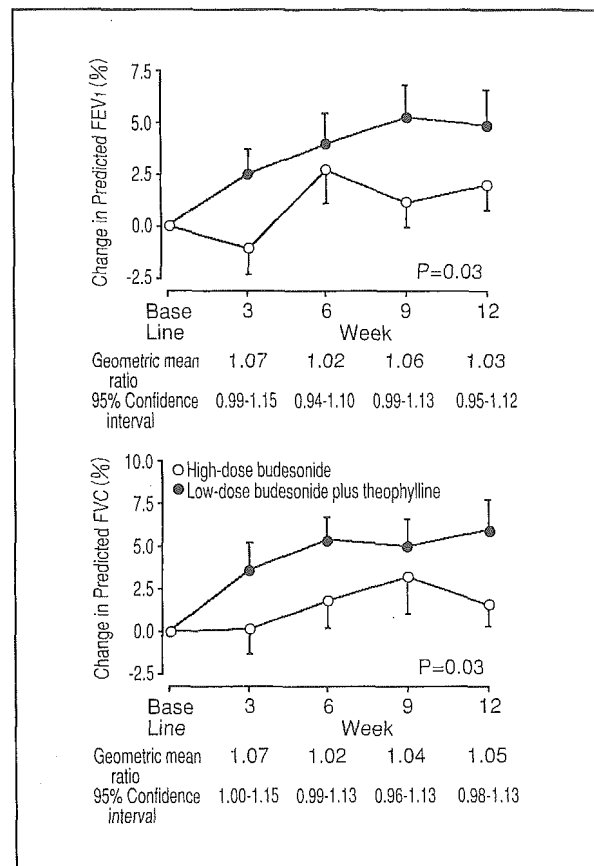


図6 低用量吸入ステロイドでコントロール不十分な患者に高用量吸入ステロイドを投与した場合（○）と低用量吸入ステロイドにテオフィリンを Add-on した場合（●）
（文献6：Evans DJ et al, 1997より引用）
Add-on 群のほうが1秒量と努力肺活量の改善が大きい。

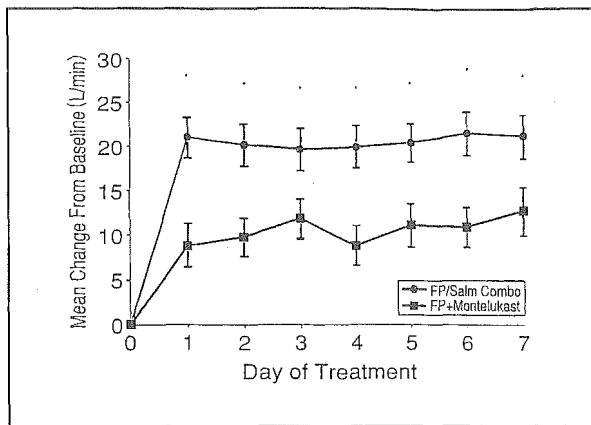


図7 Add-on 療法の比較 (文献7 : Nelson HS et al, 2000より引用)

●は長時間作動型 β_2 吸入薬 (LABA) の Add-on で■は抗ロイコトリエン薬の Add-on. 両療法とも有効だが, 気管支拡張作用 (ピークフローの改善) はLABA が大きい.

は内服で服薬コンプライアンスが良好という利点がある. 患者の状態 (病状や理解度) に応じた対応が望まれる.

新規薬剤の可能性と今後の方向性

アトピー性, 非アトピー性を問わず, 喘息

患者気道では好酸球浸潤が認められ, それにはIL-4やIL-5をはじめとしたTh2サイトカインが重要な役割を果たしているという報告が多くなされている. 一つの方向性として, こういったサイトカインに特異的に拮抗する薬剤は新しい喘息治療薬となりうる (図8)⁸⁾. 表2に示すようになかなりの数のサイトカイン, ケモカインに対する特異的拮抗薬が喘息に関与すると考えられ, それぞれに対するアプローチが考えられるが, 現在のところ好酸球数の減少効果は認められても, 呼吸機能や喘息症状に対する有効性は低い. 今後のこの分野での進展が望まれる.

終わりに

以上, 気管支喘息の病態と治療の実際に関して概説した. 吸入ステロイドの有効性を特に強調したが, 疫学調査の結果によれば残念ながら未だ導入が十分とは言えない. 吸入ステロイド療法の更なる普及が望まれる.

図8 IL-4の多彩な生物活性と可溶性IL-4受容体による喘息気道炎症抑制の可能性 (文献8 : Ichinose M et al, 2004より引用)

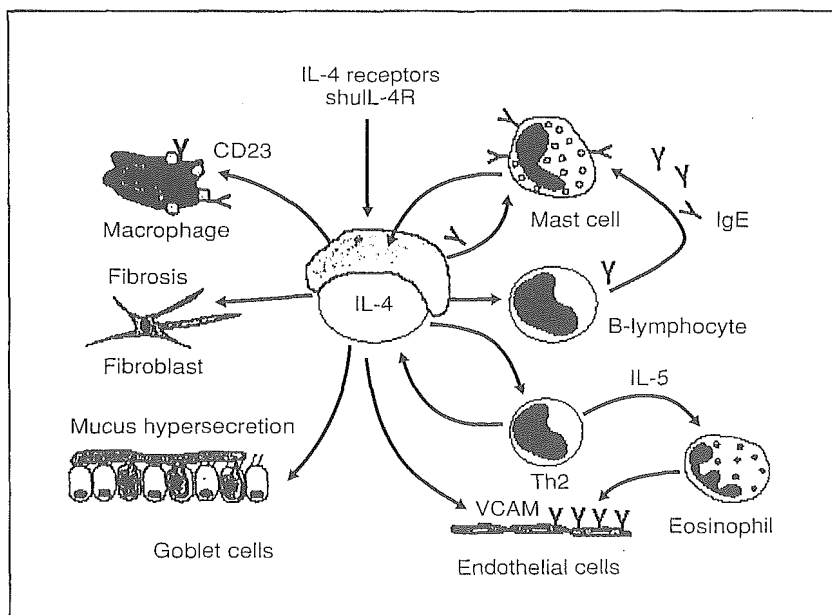


表2 喘息治療に有望と考えられるサイトカイン, ケモカイン療法
(文献8: Ichinose M et al, 2004より引用)

<i>Anti-cytokines</i>	<i>Inhibitory cytokines</i>
Anti-IL-5	IL-1 receptor antagonist
Anti-IL-4	IL-10
Anti-IL-13	IL-12
Anti-IL-9	Interferons (IFN- α , IFN- γ)
Anti-IL-25	IL-18
Anti-IL-1	IL-23
Anti-TNF- α	
<i>Chemokine inhibitors</i>	<i>Cytokine synthesis inhibitors</i>
CCR3 antagonists	Corticosteroids
CCR2 antagonists	Immunomodulators
CCR4 antagonists	Phosphodiesterase-4 inhibitors
CCR8 antagonists	NF- κ B inhibitors (IKK2 inhibitors)
	p38 MAP kinase inhibitors

文 献

- 1) NHLBI/WHO Workshop report. Global strategy for asthma management and prevention. National Institute of Health. National Heart, Lung and Blood Institute. NIH Publication. No02-3659, 2002
- 2) Ichinose M: Inflammatory mechanisms in bronchial asthma and COPD. *Tohoku J Exp Med* 200 : 1-6, 2003
- 3) Barnes PJ, Pederson S, Busse WW : Efficacy and safety of inhaled corticosteroids : New developments. *Am J Respir Crit Care Med* 157 : S1-S53, 1998
- 4) Ichinose M, Takahashi T, Sugiura H et al : Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component : role of airway inflammation and caliber. *Eur Respir J* 15 : 248-253, 2000
- 5) Haahtela T, Jarvinen M, Kava T et al : Effects of reducing or discontinuing inhaled budesonide in patients with mild asthma. *N Engl J Med* 331 : 700-705, 1994
- 6) Evans DJ, Taylor DA, Zetterstrom O et al : A comparison of low-dose inhaled budesonide plus theophylline and high-dose inhaled budesonide for moderate asthma. *N Engl J Med* 337 : 1412-1418, 1997
- 7) Nelson HS, Busse WW, Kerwin E et al : Fluticasone propionate/salmeterol combination provides more effective asthma control than low-dose inhaled corticosteroid plus montelukast. *J Allergy Clin Immunol* 106 : 1088-1095, 2000
- 8) Ichinose M, Barnes PJ : Cytokine-directed therapy in asthma. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy* 3 : 263-269, 2004

講座

バイオマーカー

炎症性気道・肺疾患における呼気ガス分析

山縣 俊之 一ノ瀬 正和

要旨 呼気ガスを用いた各種バイオマーカーの測定は非侵襲的であり、主に測定される物質として、一酸化窒素(NO)、一酸化炭素(CO)、エタンなどの炭化水素類の検討が行われている。特に NO については気管支喘息を中心に広く検討が行われており、アメリカやヨーロッパの呼吸器学会で測定の方法が提唱されている。呼気 NO 濃度は気管支喘息における気流制限や気道過敏性の程度、気道への好酸球浸潤の程度、気管支喘息の重症度との相関がみられ、ステロイド治療に反応して減少するだけでなく、気管支喘息の増悪の診断、COPD や気管支喘息以外の慢性咳嗽の鑑別にも有用である。呼気ガス中の CO やエタン濃度も気管支喘息や COPD などの疾患で上昇がみられ、ステロイド治療により減少する。このように、呼気ガスを用いた検討は、炎症性気道・肺疾患の病態解明や診断、治療効果の指標として有用である。

山縣 俊之 一ノ瀬 正和：炎症性気道・肺疾患における呼気ガス分析，呼吸 24(8)：694—699，2005
 キーワード：気道炎症 一酸化窒素 一酸化炭素 炭化水素類

はじめに

気管支喘息，慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease：COPD)は末梢気道を中心とした慢性的な気道・肺の炎症を特徴とする代表的な炎症性気道・肺疾患である。このような疾患の病態を解明するためには，炎症の主座である末梢気道の情報を得ることが重要である。従来その方法として，切除肺組織，気管支鏡下生検，気管支肺胞洗浄液などが用いられてきたが，得られる情報は多いものの，侵襲性が高く，繰り返しての評価や日常のモニタリングへの応用は困難である。一方，誘発喀痰による評価法は比較的侵襲性が低く，気道・肺の炎症の病態把握に広く応用されているが，高張食塩水の吸入による刺激や重

症患者では施行が難しいなどの問題点があり，完全に非侵襲的とはいえない。近年，殆ど侵襲を伴わずに気道・肺の炎症を評価する方法として，呼気ガス中の揮発性ガス分子を測定する方法が行われるようになり，その有用性についての報告が数多く認められる。本稿では呼気ガスを用いた気道・肺の炎症の評価について，特に広く研究されている一酸化窒素(nitric oxide：NO)を中心に概説する。

I. 呼気ガス分析の原理

呼気中には生体由来の種々の揮発性ガス分子が含まれており，気道・肺の炎症病態が存在する状況では，その産生量や組成などが変化する。したがって，呼気ガス中に存在するこれらの分子を測定することで，気道・肺局所の炎症病態を把握することが可能である。

呼気ガス中で測定可能な主なガス分子を表 1 に示すが¹⁾，分子量が小さく，揮発性であることが特徴である。いずれも健常者に比べ，気管支喘息や COPD などの炎症性気

Exhaled markers of airway inflammation
 和歌山県立医科大学医学部内科学第 3 講座
 Toshiyuki Yamagata and Masakazu Ichinose
 Third Department of Internal Medicine, Wakayama Medical
 University, School of Medicine, Wakayama 641-8509, Japan

表1 気管支喘息, COPD における呼気ガス中マーカー

	気管支喘息		COPD	
	↑↑↑	↑↑↑↑	↔	↑
一酸化窒素	↑↑↑	↑↑↑↑	↔	↑
一酸化炭素	↑	↑↑	↑	↑↑
エタン	↑↑	?	↑↑	?

(Kharitonov SA, *et al*¹¹⁾. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 2001 より引用, 一部改変)

道・肺疾患の呼気中において増加することが報告されているが, NO が最も広く研究されており, 特に気管支喘息の病態把握や治療効果, 増悪の指標としての有用性が報告されている。以下, それぞれの分子と, 主に気管支喘息, COPD における意義について解説する。

1. 呼気 NO

内因性の NO は NO 合成酵素 (NO synthase: NOS) の働きにより, L-arginine から産生される。末梢気道における NO の起源は明らかではないが, 主として気道上皮やマクロファージなどの細胞に由来するものと考えられ, 特に炎症性気道・肺疾患ではサイトカインなどの作用により誘導型 NOS (NOS 2, iNOS) の活性が増加し, NO の産生が亢進する。実際, 気管支喘息では気道上皮や, マクロファージなどの炎症細胞において NOS 2 の発現が増加している²³⁾。

呼気中の NO 測定は化学発光法による分析器が一般によく用いられている。原理は, NO が O₃ と反応した際, NO₂ の励起体を生成するが, この高エネルギーの活性種が化学発光を起こすことを利用している。実際の測定法としては, 全肺気量位から呼出した呼気を直接 NO 分析器で測定する 1 回呼吸法や, 呼気を一旦バッグに収集し, あとで測定を行うサンプリングバッグ収集法がある⁴⁾。

呼気 NO 濃度は呼気流速, 呼出時の肺気量位, 鼻腔内で産生される NO の混入など, 様々な要因によって影響を受ける。したがって, 1 回呼吸法による直接測定では, 測定条件を統一する必要がある。ヨーロッパ呼吸器学会⁵⁾ やアメリカ胸部疾患学会⁶⁾ において, それぞれ呼気 NO 測定の標準法について提唱している。

呼気流速については低いほど呼気 NO 濃度の変化が大きく, 100 ml/s 以上の流速では呼気 NO 濃度は比較的安定する。したがって, 呼気 NO 測定時には呼気流速を一定に保つことが重要である。ヨーロッパ呼吸器学会では全肺気量位から 10~15 l/min (167~250 ml/s) での呼出が推奨されている⁵⁾。一方, アメリカ胸部疾患学会はより低い 50 ml/s の呼出流速を推奨している⁶⁾。

呼出時の肺気量位は気道表面積の増大や NO の拡散面積を変化させることにより, 呼気 NO 濃度に影響する。

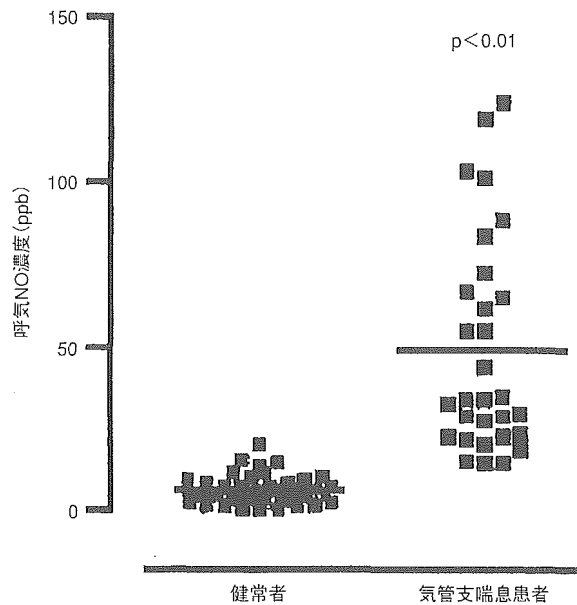


図1 気管支喘息患者の呼気 NO 濃度

健常者に比べ, 気管支喘息患者では呼気 NO 濃度の有意な上昇を認める。

(Kharitonov SA, *et al*¹¹⁾. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1996 より引用)

機能的残気量位より全肺気量位からの呼出のほうが呼気 NO 濃度が高いとする報告もみられる⁷⁾。一般的には全肺気量位からの呼出が推奨されている。しかし, 連続性に呼気 NO 濃度を測定する場合, 死腔由来の NO や鼻腔由来の NO は初期のピーク波形として現れ, 5~10 秒後にみられるプラトー相には影響しないため, ヨーロッパ呼吸器学会では呼出初期の死腔部分の容量を取り除き, ピーク相を除外すれば, 呼出容量は呼気 NO 濃度に明らかな影響を与えないとしている⁵⁾。

鼻腔では高濃度の NO が産生されており, 測定時に鼻腔由来の NO が混入すると, 測定値が大きく変動するため, 鼻腔からの流入を制限する必要がある。そのため実際の測定時には呼出時に口腔内に陽圧を負荷することにより軟口蓋を閉鎖し, 鼻腔からの影響をなくす方法がとられるが, このときの圧は 5~20 cmH₂O が推奨されている⁵⁾。

気管支喘息患者の呼気 NO 濃度は健常者に比べ有意に増加しているが (図 1)^{8)~10)}, これは主に下気道に由来しており¹¹⁾, 前述のように気道上皮や炎症細胞における iNOS の活性化が関与していると考えられる²³⁾。一方, 気管支喘息以外の原因による慢性咳嗽においては呼気 NO 濃度の上昇はみられず, 慢性咳嗽の鑑別に有用である¹²⁾。また呼気 NO 濃度は気流制限や気道過敏性の程度, 誘発喀痰中の好酸球浸潤の程度, 気管支喘息の重症度と有

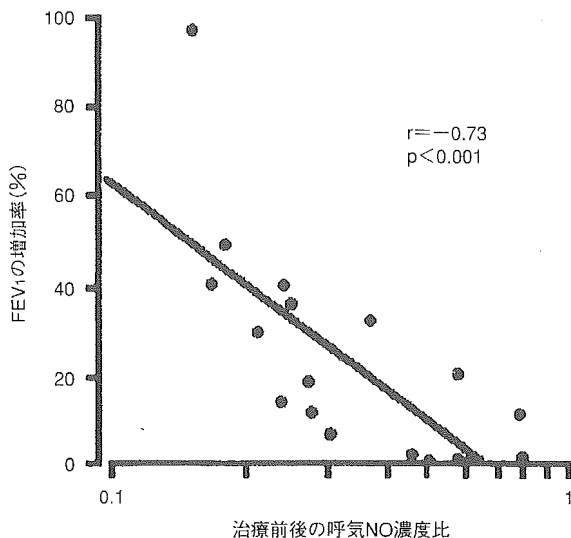


図2 呼気 NO 濃度と閉塞性障害の関連

気管支喘息において、ステロイド治療による呼気 NO 濃度の減少の程度は、閉塞性障害の改善の程度と有意な相関を認める。

(Ichinose M, et al¹⁰. *Eur Respir J* 15:2000 より引用、一部改変)

有意な相関を示し、疾患の診断や病態把握に有用であるとともに¹⁰⁾¹³⁾、吸入ステロイド治療による症状や呼吸機能の改善とも相関し(図2)、治療効果のモニタリングとしての有用性¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、さらに増悪時や気管支喘息コントロール不良の指標としての有用性も報告されている¹⁶⁾。

安定期 COPD 患者における呼気 NO 濃度は喫煙の有無にかかわらず気管支喘息患者に比べ低値である¹⁷⁾。しかし、COPD 患者の誘発喀痰では気管支喘息患者と同程度に iNOS 陽性細胞数が増加しており、COPD の末梢気道においても NO は産生されていると考えられるが、気管支喘息では誘発喀痰中の iNOS 陽性細胞数と呼気 NO 濃度が相関するのに対し、COPD ではまったく相関せず(図3)、閉塞性障害の程度とも関連しない¹⁸⁾。これは COPD では喫煙による酸化ストレスにより産生されるスーパーオキシド(O₂⁻)が NO 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⁻)を形成するため、産生された NO がすぐに消費され、結果として呼気 NO 濃度が低くなるものと考えられる¹⁸⁾。

2. 呼気一酸化炭素(CO)

CO の起源には大きく 3 種類があり、ヘモグロビン中のヘムが酵素反応(heme oxygenase: HO)により代謝されて産生されるもの、ヘム代謝と関連なく産生されるもの、および外因性の CO である。このうちの大部分、約 85% を占めるのはヘモグロビン由来の CO であり、その約

80% は呼気中に排出される。HO には 3 種類のアイソザイムが存在するが、ヒトでは HO-1、HO-2 が気道の多くの細胞に存在し、特に気道上皮に強く発現している¹⁹⁾。HO-2 は構成型で多くの組織にもともと発現しているが、HO-1 は炎症性サイトカイン、細菌毒素、低酸素、活性酸素・窒素種など、種々の刺激により誘導され、CO 産生の増加をもたらす¹⁾。

呼気ガス中の CO の測定には幾つかの方法があるが、多くは電気化学的 CO センサーを用いた測定が行われている。このセンサーは安価で再現性がよいが、サンプル内に大量に存在する分子、例えば水素などに影響を受けるため、最近では H₂ 非感受性 CO センサーも実用化されている。

呼気 CO 濃度に影響する大きな因子として喫煙があり、カットオフ値 6 ppm 以上で喫煙者と非喫煙者を識別できるとする報告もみられる(図4)²⁰⁾。その他の影響因子として職業や環境における大気汚染、自動車の排気ガス、室内の調理・暖房器具などがあり、測定時や結果の評価の際にはこれらの因子を十分に考慮する必要がある。

ステロイド未治療の気管支喘息患者では健常者に比べ呼気 CO 濃度の上昇がみられ、吸入ステロイド治療による減少や、喀痰中の好酸球数の変動と相関して減少することが報告されているが(図5)²¹⁾²²⁾、気管支喘息患者と健常者との差は呼気 NO 濃度でみられるほど顕著ではない。また最近、十分量の吸入ステロイド治療によっても呼気 CO 濃度の減少がみられなかったとする報告もみられ¹⁹⁾、気管支喘息の病態把握における呼気 CO 濃度測定の意義はまだ確立していない。過去に喫煙歴のある COPD 患者においても、健常非喫煙者に比べ呼気 CO 濃度の上昇が報告されているが²³⁾、その上昇は現在も喫煙している COPD 患者に比べ有意に低く、疾患の診断や病態把握としての意義は低いと考えられる。

3. 呼気炭化水素類(exhaled hydrocarbons)

呼気ガス中の炭化水素類は非特異的な脂質過酸化の指標であり、生体内での脂質過酸化の程度の評価や抗酸化作用を持つ薬剤の効果の評価として有用な可能性がある。実際の測定にはエタンやペンタン、イソプレンなどが用いられ、幾つかの報告がみられる。

気管支喘息では増悪時に呼気ガス中ペンタン濃度の上昇がみられ、発作の改善とともに減少がみられる²⁴⁾。また呼気ガス中エタンはステロイド未治療の軽症気管支喘息患者で健常者に比べ上昇がみられ、ステロイド治療により健常者レベルまで減少する(図6)²⁵⁾。

喫煙者では呼気ガス中ペンタン、イソプレンの上昇が報

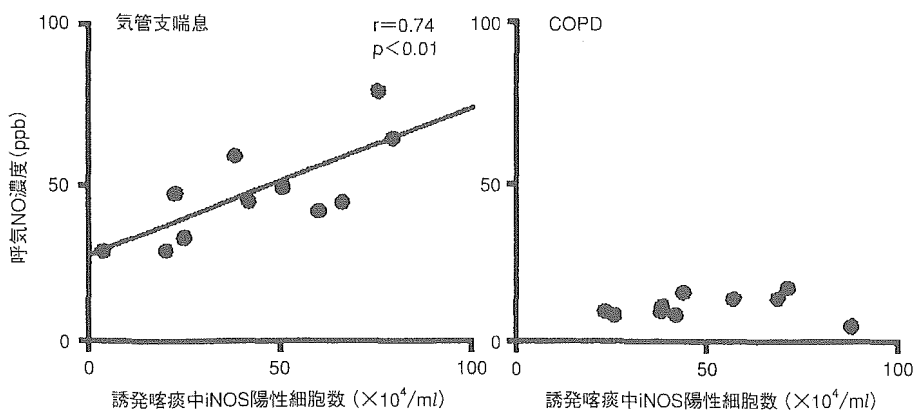


図3 呼気 NO 濃度と誘発喀痰中 iNOS 陽性細胞数の関連

気管支喘息では、呼気 NO 濃度は誘発喀痰中の iNOS 陽性細胞数と有意な相関を示すが、COPD ではこの相関はまったく認められない。
(Ichinose M, et al¹⁸). *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 2000 より引用)

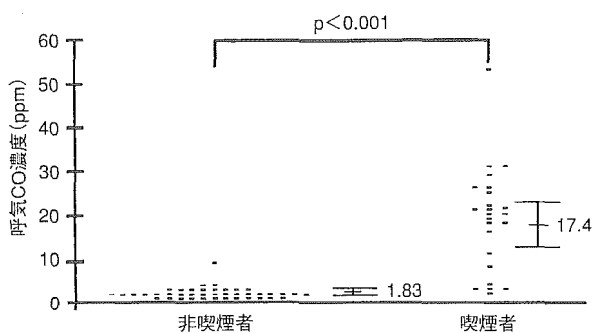


図4 喫煙者、非喫煙者における呼気 CO 濃度

呼気 CO 濃度は非喫煙者に比べ喫煙者で有意に高値を示す。
(Middleton ET, et al²⁰). *Chest* 117 : 2000 より引用)

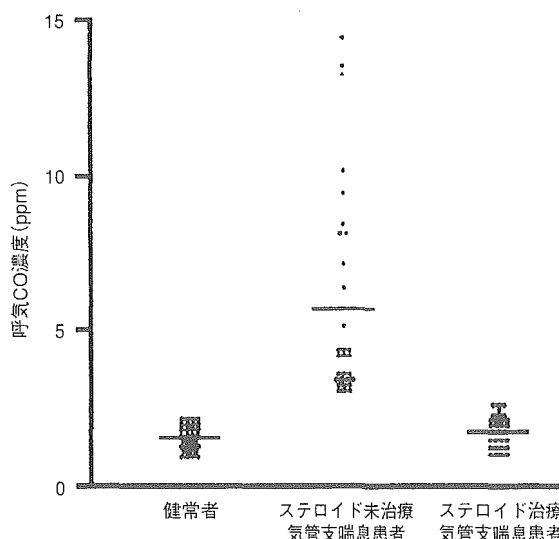


図5 気管支喘息患者の呼気 CO 濃度とステロイド治療の効果

ステロイド未治療気管支喘息患者では健常者に比べ有意に呼気 CO 濃度は高く ($p < 0.001$), ステロイド治療により健常者レベルにまで減少が認められる。
(Zayasu K, et al²¹). *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 1997 より引用)

告されている。また、COPDではエタンの上昇が認められ、呼気ガス中エタン濃度と閉塞性障害の程度²⁶)や、1日喫煙量 (packs/day), 生涯喫煙量 (pack-years)などの喫煙の程度²⁷)が相関することも報告されている。以上のように、呼気ガス中の炭化水素類は気道炎症や酸化ストレスのマーカーとしての有用性が示唆されているが、呼気 NO に比べエビデンスは少なく、炎症性気道・肺疾患の病態把握における有用性については、今後さらなる検討が必要である。

おわりに

以上、呼気ガスを用いた気道・肺炎症のバイオマーカー測定について概説した。呼気ガスは従来の侵襲的な評価法と異なり、殆ど侵襲なく繰り返し測定可能である点が最大

のメリットである。特に呼気 NO 濃度はアメリカやヨーロッパの呼吸器学会で測定のための標準法が示され、気管支喘息の診断、病態把握、治療効果や増悪の指標としての有用性や、COPDとの鑑別における有用性については多くのエビデンスがある。しかし、測定装置が高価で装置の保守・管理が煩雑であること、測定項目が揮発性物質に限られるなどの欠点も合わせ持ち、NO以外の分子につい

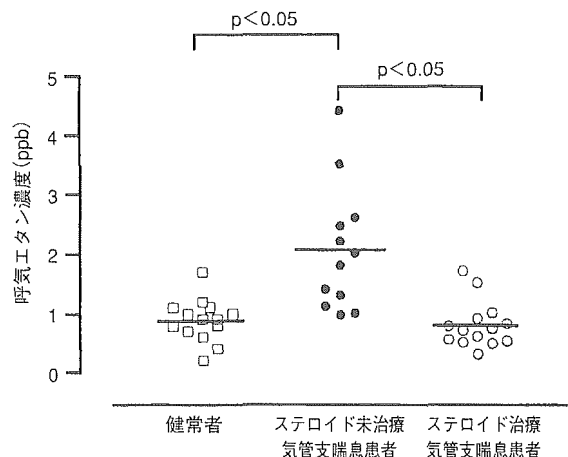


図6 気管支喘息患者の呼気エタン濃度とステロイド治療の効果

ステロイド未治療気管支喘息患者では健常者に比べ有意に呼気エタン濃度は高いが、ステロイド治療により健常者レベルにまで減少が認められる。

(Paredi P, *et al*²⁵⁾. *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 2000 より引用)

での評価も十分には確立していない。炎症性気道・肺疾患における呼気ガス測定の有用性について、今後さらなるエビデンスの確立が必要である。

文 献

- 1) Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 163 : 1693–1722, 2001
- 2) Hamid Q, Springall DR, Riveros-Moreno V, Chanez P, Howarth P, Redington A, Bousquet J, Godard P, Holgate S, Polak JM. Induction of nitric oxide synthase in asthma. *Lancet* 342 : 1510–1513, 1993
- 3) Saleh D, Ernst P, Lim S, Barnes PJ, Giaid A. Increased formation of the potent oxidant peroxynitrite in the airways of asthmatic patients is associated with induction of nitric oxide synthase: effect of inhaled glucocorticoid. *FASEB J* 12 : 929–937, 1998
- 4) 山縣俊介 一ノ瀬正和 第20章 呼気ガス分析法: 吉村哲彦, 編, 生体内一酸化窒素(NO)実験プロトコール, 共立出版 東京: pp 252–257, 2000
- 5) Kharitonov S, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. The European Respiratory Society Task Force. *Eur Respir J* 10 : 1683–1693, 1997
- 6) Recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999. *Am J Respir Crit Care Med* 160 : 2104–2117, 1999
- 7) Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS, Furlott HG, Hoffstein E, Wakita S, Chapman KR, Szalai JP, Zamel N. Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 155 : 260–267, 1997
- 8) Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 343 : 133–135, 1994
- 9) Persson MG, Zetterstrom O, Agrenius V, Ihre E, Gustafsson LE. Single-breath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers. *Lancet* 343 : 146–147, 1994
- 10) Ichinose M, Takahashi T, Sugiura H, Endoh N, Miura M, Mashito Y, Shirato K. Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component: role of airway inflammation and airway calibre. *Eur Respir J* 15 : 248–253, 2000
- 11) Kharitonov SA, Chung KF, Evans D, O'Connor BJ, Barnes PJ. Increased exhaled nitric oxide in asthma is mainly derived from the lower respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med* 153 : 1773–1780, 1996
- 12) Chatkin JM, Ansarin K, Silkoff PE, McClean P, Gutierrez C, Zamel N, Chapman KR. Exhaled nitric oxide as a noninvasive assessment of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 159 : 1810–1813, 1999
- 13) Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 53 : 91–95, 1998
- 14) Kharitonov SA, Yates DH, Barnes PJ. Inhaled glucocorticoids decrease nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 153 : 454–457, 1996
- 15) Kharitonov SA, Yates DH, Chung KF, Barnes PJ. Changes in the dose of inhaled steroid affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *Eur Respir J* 9 : 196–201, 1996
- 16) Jatakanon A, Lim S, Barnes PJ. Changes in sputum eosinophils predict loss of asthma control. *Am J Respir Crit Care Med* 161 : 64–72, 2000
- 17) Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, Keatings V, Barnes PJ. Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 152 : 609–612, 1995
- 18) Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, Koarai A, Shirato K. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 701–706, 2000
- 19) Lim S, Groneberg D, Fischer A, Oates T, Caramori G, Mattos W, Adcock I, Barnes PJ, Chung KF. Expression of heme oxygenase isoenzymes 1 and 2 in normal and asthmatic airways: effect of inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 1912–1918, 2000
- 20) Middleton ET, Morice AH. Breath carbon monoxide as an indication of smoking habit. *Chest* 117 : 758–763, 2000
- 21) Zayasu K, Sekizawa K, Okinaga S, Yamaya M, Ohri T, Sasaki H. Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 1140–1143, 1997
- 22) Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Raised levels of exhaled carbon monoxide are associated with an increased expression of heme

- oxygenase-1 in airway macrophages in asthma: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 53: 668-672, 1998
- 23) Montuschi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled carbon monoxide and nitric oxide in COPD. *Chest* 120: 496-501, 2001
- 24) Olopade CO, Zakkar M, Swedler WI, Rubinstein I. Exhaled pentane levels in acute asthma. *Chest* 111: 862-865, 1997
- 25) Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Elevation of exhaled ethane concentration in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 1450-1454, 2000
- 26) Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, Ward S, Cramer D, Barnes PJ. Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 369-373, 2000
- 27) Do BK, Garewal HS, Clements NC Jr, Peng YM, Habib MP. Exhaled ethane and antioxidant vitamin supplements in active smokers. *Chest* 110: 159-164, 1996

講 座

バイオマーカー

誘発喀痰を用いた気道・肺の炎症の評価

山縣 俊之 一ノ瀬 正和

要 旨 誘発喀痰は従来の侵襲度の高い検査と異なり、低侵襲で繰り返し採取が可能で、細胞成分と液性成分の両方の情報を得ることができ、種々の炎症性肺疾患における病態の評価や治療効果の指標として有用な方法である。誘発喀痰の採取には高張食塩水の吸入刺激を用いるため、病態悪化時や呼吸機能の悪い症例では慎重に行う必要がある、また施行者の技術や処理法により得られる細胞の質が影響を受けるため、採取時には十分な理解と習熟が重要である。気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患(COPD)においては、好酸球や好中球など疾患の主病態にかかわる炎症細胞の増加がみられ、重症度とも相関する。一方、上清成分を用いた炎症関連物質の測定でも、種々のサイトカイン、ケモカイン、メディエーター、酸化・窒素化ストレス関連物質の測定が行われ、病態との関連や治療効果の指標としての有用性が報告されている。

山縣 俊之 一ノ瀬 正和：誘発喀痰を用いた気道・肺の炎症の評価，呼吸 24(9)：774-779，2005
 キーワード：誘発喀痰 気道炎症 気管支喘息 慢性閉塞性肺疾患

はじめに

気管支喘息，慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease：COPD)は末梢気道を中心とした慢性的な気道・肺の炎症を特徴とする代表的な炎症性気道・肺疾患である。このような疾患の病態を解明する方法の1つとして，高張食塩水の吸入刺激により喀出された喀痰(誘発喀痰)を用いた解析法が1992年Pinらにより報告されて以来¹⁾，この手法を用いた気管支喘息やCOPDの病態解明の試みが広く行われ，これまで多数の報告が認められる。誘発喀痰の採取には高張食塩水の吸入が必要なため，まったくの非侵襲的検査ではないが，切除組織や気管支鏡

下生検，気管支肺胞洗浄などに比較して低侵襲で，繰り返しでの施行も可能であること，細胞成分と液性成分の両方を解析可能であること，などの利点がある。本稿では誘発喀痰採取や処理法の実際について概説するとともに，誘発喀痰を用いた気道・肺の炎症の評価について述べる。

I. 誘発喀痰の採取法

誘発喀痰は自発的な排痰がない患者において，下気道からの分泌物を採取し評価・解析する手法で，高張食塩水をネブライザーを用いて吸入することで，気道分泌を誘導し喀痰の喀出を促すものである。この方法で喀痰が誘発される正確な機序については不明であるが，1つには気道に既に存在する少量の分泌物のクリアランスが促進される²⁾³⁾ためと考えられる。

具体的な採取には十分なエロゾル発生のために超音波ネブライザーの使用が推奨される。滅菌された4%程度の高

Induced sputum analysis of airway inflammation
 和歌山県立医科大学医学部内科学第3講座
 Toshiyuki Yamagata and Masakazu Ichinose
 Third Department of Internal Medicine, Wakayama Medical
 University, School of Medicine, Wakayama 641-8509, Japan

張食塩水を超音波ネブライザーを用いて繰り返し吸入し、誘発された喀痰を採取する。筆者らは生理食塩水 20 ml×2 本に 10% 塩化ナトリウム 20 ml×1 本を混和し、喀痰誘発に用いている。採取 15 分前に短時間作動型の β_2 刺激薬を吸入し気道を拡張したうえで、上記高張食塩水をネブライザーで吸入させる。吸入 5 分ごとに 1 回の咳嗽で喀痰を排出し、総量が約 1 ml になるまで、15~30 分間繰り返す⁴⁾⁵⁾。

ヨーロッパ呼吸器学会のタスクフォースでは種々の報告に基づき、推奨される誘発喀痰採取法を提示している³⁾。即ち、① 1 ml/min 以上の出力流量の超音波ネブライザーを用いる、② 採取前に 200 μ g のサルブタモール吸入を行う、③ 吸入する食塩水の濃度は 3%⁶⁾ないし 4.5%⁷⁾の固定濃度、あるいは最初 3%の濃度から吸入をはじめ、4%、5%と濃度を増加させていく方法¹⁾のいずれかを用いる、④ 1 回の吸入は 5 分間とし、計 20 分以内とする、⑤ 吸入後に 1 秒量を測定し、20%以上の低下がみられたら中止する、などである。ただし β_2 刺激薬吸入後の予測 1 秒率が 60%未満の高度な気流制限を有する場合、コントロールできない症状を有する場合、その他の安全性や手技上の不安がある場合などの高リスク群では、さらに低濃度の 0.9%食塩水⁸⁾を用いたり、吸入時間をより短時間にする、などの変更を考慮することが推奨されている⁹⁾。

誘発喀痰の採取時には唾液の混入が問題となるため、喀痰は滅菌ガーゼに喀出し、視覚的な観察、あるいは倒立顕微鏡を用いた観察により唾液部分を除去した後、採取容器に集める⁴⁾⁵⁾。また喀出時に何度も咳嗽を行わせると、頬部粘膜の扁平上皮が脱落し、喀痰中に多量に混入してしまい、細胞数の計測が困難あるいは不可になるため、1 回の咳嗽で喀出させることがコツである。扁平上皮の混入が 5%未満の喀痰であれば、細胞数計測や上清中の各種生化学的測定に与える影響は少ないと考えられ、逆に扁平上皮が 20%を超えるような喀痰では再現性に乏しいことが報告されている¹⁰⁾。

喀痰の誘発に使用する高張食塩水により気道収縮が起り喘息発作が誘発されたり¹¹⁾、COPD などで呼吸機能が低下している患者では呼吸困難が生じたりすることがあるため、採取に際しては、あらかじめスパイログラムによる呼吸機能の評価、特に 1 秒量により閉塞性障害の程度を把握しておくことが重要で、加えて採取中の過剰な気道収縮の予防のために、採取前に短時間作動型の β_2 刺激薬を吸入しておくことが推奨されている¹²⁾。また誘発喀痰採取時の気道閉塞の増悪や呼吸状態の悪化、過剰な高張食塩水吸入による発作の誘発などに十分配慮し、必要であればピークフローやスパイロメーターを用いた呼吸機能のモニ

タリングを行う¹²⁾¹³⁾。ただし、1 秒量が 1 l 未満、ピークフローが予測値の 50%未満の患者では、安全性が確立していないため、誘発喀痰の採取は避けるべきである⁹⁾。

また誘発喀痰の採取においては、患者側の理解と協力、さらに施行者の技術により、採取できる喀痰の質や量が大きく異なるため、採取には熟練者が自身で、あるいは立ち会って行うべきであり、患者にも十分な説明と理解を促すことが重要である。

採取した誘発喀痰は粘液を溶解し、細胞成分と上清成分に分離するが、粘液のジスルフィド結合を解離し、細胞成分を分離するために通常 dithiothreitol (DTT) が用いられる。細胞が十分に粘液から分離されないと、後の染色時に不鮮明となり、細胞の識別が困難になるため、この時点で十分に処理しておくことが重要である。通常 DTT 処理は 4~37°C で 10~30 分間振盪する方法が用いられる¹⁰⁾。DTT 処理後のサンプルは遠心分離により細胞成分と上清成分に分離し、種々の検討に用いられる。

II. 誘発喀痰を用いた気道・肺の炎症の評価

誘発喀痰中の細胞成分はサイトスピンによりプレパラートを作成し、ギムザ染色などの染色を行うことで、総細胞数やマクロファージ、好中球、好酸球、リンパ球などの各炎症性細胞数の測定に用いられる。さらに種々の抗体を用いた免疫染色を行うことにより、気道・肺の炎症の評価に用いられる。また上清成分は種々の炎症性メディエーター、サイトカイン、ケモカイン、蛋白分解酵素、酸化・窒素化ストレスなど、多くの炎症関連物質の評価に用いられる。本稿では代表的な炎症性肺疾患である気管支喘息と COPD において、誘発喀痰を用いた炎症の評価について述べる。

1. 気管支喘息

気管支喘息患者の誘発喀痰中では細胞成分として好酸球数の増加が特徴的である。有症状の気管支喘息患者において、ステロイド未治療では著明な好酸球数の増加が認められる¹⁴⁾¹⁵⁾。また誘発喀痰中の好酸球数は気管支喘息の重症度とも関連が認められる(図 1)¹⁶⁾。またステロイド治療に反応して好酸球数は減少し、気流閉塞や気道過敏性の改善の程度と相関がみられ(図 2, 3)、治療効果の指標としても有用である¹⁵⁾。急性発作時にはさらに顕著な好酸球数の増加がみられるとともに、好中球数の増加も報告されている¹⁷⁾。

気管支喘息の病態に関連する液性の炎症関連物質では、種々のメディエーター、サイトカイン、ケモカインなどの増加が報告されている。eosinophil cationic protein