

Fig. 1. mRNA expression for catalase (plate A), GSTP1 (plate B) and mEPHX (plate C) in lung tissues from those who never smoked, non-COPD smokers and COPD subjects. Data are shown as mean  $\pm$  SEM.  $P$  values compared between two groups (Mann–Whitney  $U$ -test).

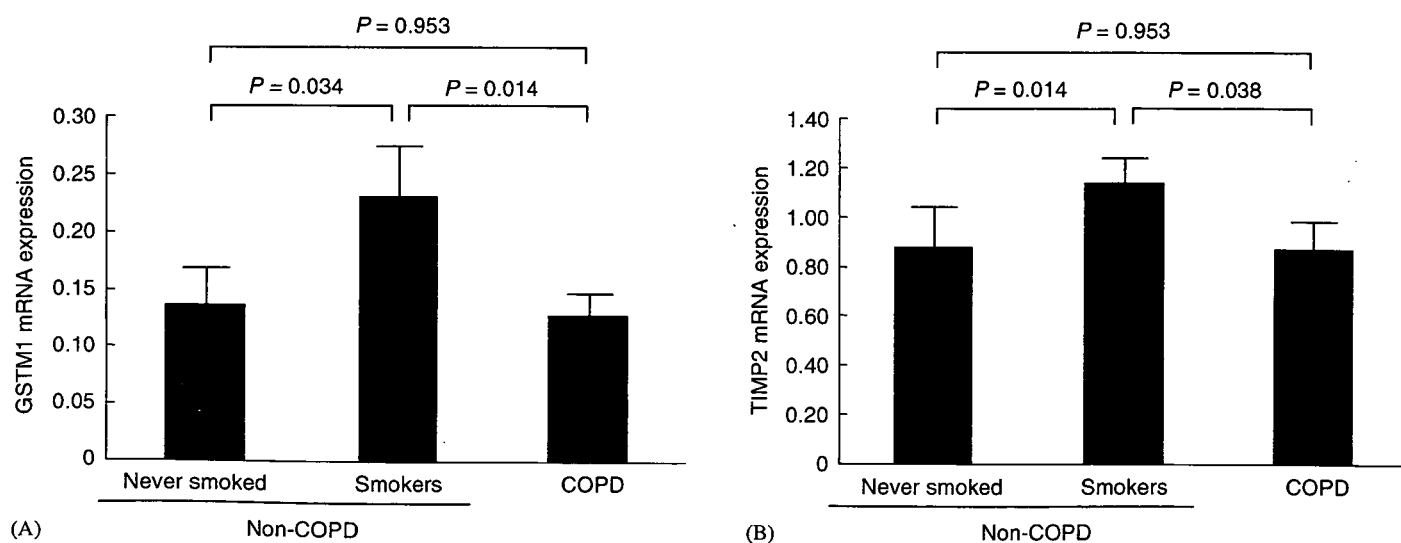


Fig. 2. mRNA expression for GSTM1 (plate A) and TIMP2 (plate B) in lung tissues from those who never smoked, non-COPD smokers and COPD subjects. Data are shown as mean  $\pm$  SEM.  $P$  values compared between two groups (Mann–Whitney  $U$ -test).

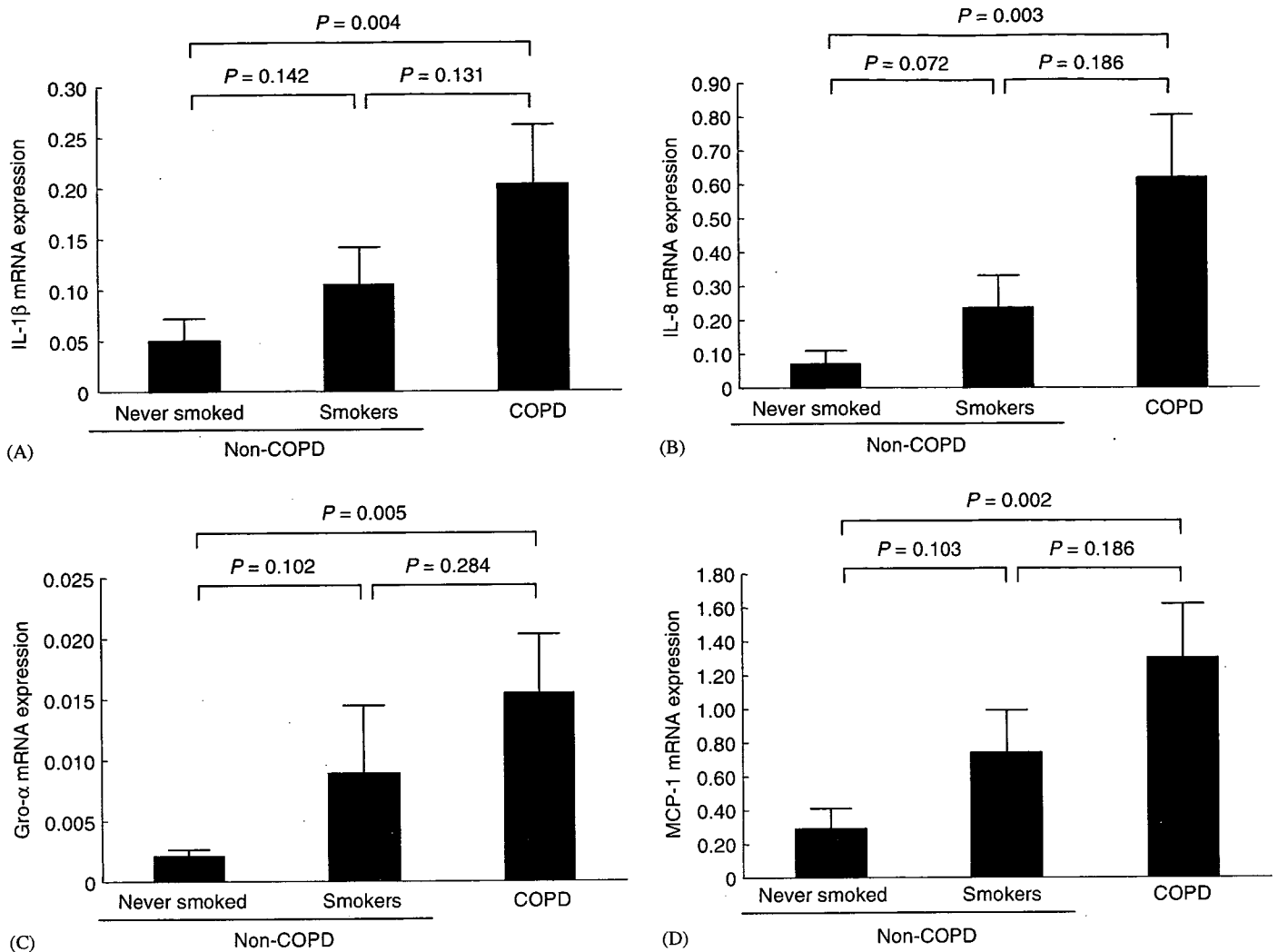


Fig. 3. mRNA expression for IL-1 $\beta$  (plate A), IL-8 (plate B), Gro- $\alpha$  (plate C) and MCP-1 (plate D) in lung tissues from those who never smoked, non-COPD smokers and COPD subjects. Data are shown as mean  $\pm$  SEM.  $P$  values compared between two groups (Mann–Whitney  $U$ -test).

[25–30]. Our results are consistent with these previous reports suggesting the involvement of these cytokines in the disease process of COPD.

Although the present study revealed significant changes in the mRNA expressions for several molecules in the whole tissue of the peripheral lungs of COPD subjects, the exact cellular sites of the altered mRNA expressions for individual genes are unknown. As for the chemokines, an analysis of lung tissue using an *in situ* hybridization technique has revealed higher mRNA and protein expression levels for IL-8 and MCP-1 in bronchiolar epithelium in COPD subjects compared to those in smokers without COPD [31]. Recently, Fuke et al. [32] have reported that the expressions of mRNA for IL-8 and MCP-1 are elevated in bronchiolar epithelial cells but not in alveolar macrophages by means of a laser-capture microdissection technique. These results suggest that the increased expression levels of IL-8 and MCP-1 in the peripheral lung tissue found in the present study may be due to the increased expression in epithelial cells.

The limitations of this study are lack of sex and age matching among the groups and lack of smoking history matching between the groups who had cigarette smoking histories. Cigarette smoking history assessed as pack-years positively or negatively correlated with the mRNA expressions for some enzymes and cytokines mRNA expressions. The data suggest that cigarette smoke exposure affects the disease process of COPD, but do not provide an answer for the question of why only some smokers develop COPD. Recently, two studies reported the altered expressions of a number of genes in epithelial cells from smokers [33] and in lung tissues from COPD subjects [12]. Including the present study, three studies have analyzed gene expressions in the lungs of COPD subjects or smokers, but the profiles of the subjects differed in terms of the disease severity and smoking status among the study groups. The collection of data acquired from a large population having differences in disease severity and smoking profiles is needed to further elucidate the mechanisms of disease onset and progression.

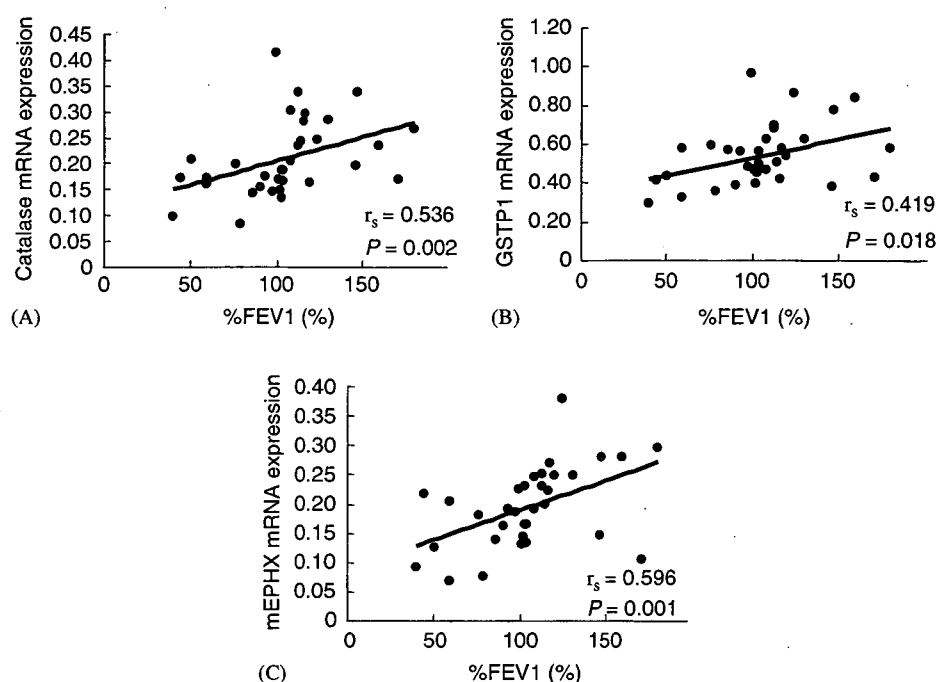


Fig. 4. Relationships between mRNA expressions for catalase (plate A), GSTP1 (plate B) and mEPHX (plate C) and the degree of airflow limitation. Relationship was analysed by Spearman's rank correlation test. A correlation coefficient of Spearman's rank correlation test ( $r_s$ ) and  $P$ -value are indicated.

Table 4

Correlation coefficients of Spearman's rank correlation test ( $r_s$ ) for relationships between mRNA expression and lung function, smoking history

	Catalase	GSTP1	mEPHX	IL-1 $\beta$	IL-8	Gro- $\alpha$	MCP-1
%FVC	0.457**	0.368*	0.495**	-0.297	-0.320	-0.349*	-0.262
%FEV <sub>1</sub>	0.536**	0.419*	0.596**	-0.316	-0.329	-0.342	-0.280
FEV <sub>1</sub> /FVC%	0.433*	0.411*	0.423*	-0.317	-0.398*	-0.392*	-0.330
V <sub>50</sub> /HT	0.420*	0.368*	0.402*	-0.357*	-0.383*	-0.375*	-0.373*
V <sub>25</sub> /HT	0.432*	0.354*	0.442*	-0.264	-0.328	-0.358*	-0.277
Smoking (pack-year)	-0.518**	-0.514**	-0.399*	0.567**	0.511**	0.573**	0.561**

$r_s$  is a correlation coefficient of Spearman's rank correlation test.

\* $P < 0.05$ .

\*\* $P < 0.01$  (Spearman's rank correlation test).

In summary, we found decreased mRNA expressions for catalase, GSTP1, GSTM1, mEPHX and TIMP2 and increased mRNA expressions for IL-1 $\beta$ , IL-8, Gro- $\alpha$  and MCP-1 in peripheral lung tissues from COPD subjects. Most of these changes were associated with the degree of airflow limitation and with cigarette smoking habit. The impairment of protective mechanisms against oxidants and xenobiotics as well as upregulation of CXC- and CC-chemokines seems to be associated with cigarette smoking and to be involved in the pathogenesis of COPD. Interventions targeting these molecules may provide a possible strategy for modifying the disease process of COPD.

## Acknowledgements

We are grateful to Drs. Kaoru Koike and Shinsaku Ueda for assistance in recruiting subjects and in preparing samples, to Mrs. and Ms. Shigeru Morita, Hiroki Iwashita,

Yumiko Uno and Masashi Yamasaki for assistance with RT-PCR and to Mr. Brent Bell for reading the manuscript. MT and HS do not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript. AK received a scholarship of \$30,000 in 2004 from Pfizer. YK and TA do not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript. TM and AN are employees of Takeda. HO does not have a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript. TH received \$20,000 in 2003 and \$20,000 in 2004 from Takeda as research grants. MI received \$11,000 in 2004 for serving on an advisory board for Takeda.

## References

- [1] Murray CJ, Lopez AD. Evidence-based health policy—lessons from the global burden of disease study. *Science* 1996;274:740–3.

- [2] Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Workshop Report, Updated 2004. National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA.
- [3] Saetta M, Turato G, Maestrelli P, Mapp CE, Fabbri LM. Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1304–9.
- [4] Barnes PJ. Mechanisms in COPD: differences from asthma. *Chest* 2000;117:10S–4S.
- [5] MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *Eur J Pharmacol* 2001;429:195–207.
- [6] Cantin AM, Fells GA, Hubbard RC, Crystal RG. Antioxidant macromolecules in the epithelial lining fluid of the normal human lower respiratory tract. *J Clin Invest* 1990;86:962–71.
- [7] Stockley RA. Neutrophils and protease/antiprotease imbalance. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S49–52.
- [8] Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, Koarai A, Tomaki M, Ogawa H, et al. Xanthine oxidase inhibition reduces reactive nitrogen species production in COPD airways. *Eur Respir J* 2003;22:457–61.
- [9] 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* 2000;162:701–6.
- [10] Matskevich GN, Korotkina RN, Devlikanova A, Vishnevskii AA, Karelin AA. The study of the antioxidant enzymes in erythrocytes in lung diseases. *Patol Fiziol Eksp Ter* 2003;23–5.
- [11] Toth KM, Berger EM, Beehler CJ, Repine JE. Erythrocytes from cigarette smokers contain more glutathione and catalase and protect endothelial cells from hydrogen peroxide better than do erythrocytes from nonsmokers. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:281–4.
- [12] Ning W, Li CJ, Kaminski N, Feghali-Bostwick CA, Alber SM, Di YP, et al. Comprehensive gene expression profiles reveal pathways related to the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:14895–900.
- [13] Cantlay AM, Smith CA, Wallace WA, Yap PL, Lamb D, Harrison DJ. Heterogeneous expression and polymorphic genotype of glutathione S-transferases in human lung. *Thorax* 1994;49:1010–4.
- [14] Ishii T, Matsuse T, Igarashi H, Masuda M, Teramoto S, Ouchi Y. Tobacco smoke reduces viability in human lung fibroblasts: protective effect of glutathione S-transferase P1. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:L1189–95.
- [15] Omiecinski CJ, Aicher L, Holubkov R, Checkoway H. Human peripheral lymphocytes as indicators of microsomal epoxide hydrolase activity in liver and lung. *Pharmacogenetics* 1993;3:150–8.
- [16] Ishii T, Matsuse T, Teramoto S, Matsui H, Miyao M, Hosoi T, et al. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999;54:693–6.
- [17] Cheng SL, Yu CJ, Chen CJ, Yang PC. Genetic polymorphism of epoxide hydrolase and glutathione S-transferase in COPD. *Eur Respir J* 2004;23:818–24.
- [18] Yoshikawa M, Hiyama K, Ishioka S, Maeda H, Maeda A, Yamakido M. Microsomal epoxide hydrolase genotypes and chronic obstructive pulmonary disease in Japanese. *Int J Mol Med* 2000;5:49–53.
- [19] Ohnishi K, Takagi M, Kurokawa Y, Satomi S, Kontinen YT. Matrix metalloproteinase-mediated extracellular matrix protein degradation in human pulmonary emphysema. *Lab Invest* 1998;78:1077–87.
- [20] Hirano K, Sakamoto T, Uchida Y, Morishima Y, Masuyama K, Ishii Y, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 gene polymorphisms in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2001;18:748–52.
- [21] Zhou JF, Yan XF, Guo FZ, Sun NY, Qian ZJ, Ding DY. Effects of cigarette smoking and smoking cessation on plasma constituents and enzyme activities related to oxidative stress. *Biomed Environ Sci* 2000;13:44–55.
- [22] Petruzzelli S, Camus AM, Carrozzi L, Ghelarducci L, Rindi M, Menconi G, et al. Long-lasting effects of tobacco smoking on pulmonary drug-metabolizing enzymes: a case-control study on lung cancer patients. *Cancer Res* 1988;48:4695–700.
- [23] Spivack SD, Hurteau GJ, Jain R, Kumar SV, Aldous KM, Gierthy JF, et al. Gene-environment interaction signatures by quantitative mRNA profiling in exfoliated buccal mucosal cells. *Cancer Res* 2004;64:6805–13.
- [24] Gielen JE, Goujon F, Sele J, Van Canfort J. Organ specificity of induction of activating and inactivating enzymes by cigarette smoke and cigarette smoke condensate. *Arch Toxicol Suppl* 1979:239–51.
- [25] Kuschner W, D'Alessandro A, Wong H, Blanc P. Dose-dependent cigarette smoking-related inflammatory responses in healthy adults. *Eur Respir J* 1996;9:1989–94.
- [26] Ekberg-Jansson A, Andersson B, Bake B, Boijssen M, Enander I, Rosengren A, et al. Neutrophil-associated activation markers in healthy smokers relates to a fall in DL (CO) and to emphysematous changes on high resolution CT. *Respir Med* 2001;95:363–73.
- [27] Rusznak C, Mills PR, Devalia JL, Sapsford RJ, Davies RJ, Lozewicz S. Effect of cigarette smoke on the permeability and IL-1 $\beta$  and sICAM-1 release from cultured human bronchial epithelial cells of never-smokers, smokers, and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23:530–6.
- [28] Keatings VM, Collins PD, Scott DM, Barnes PJ. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:530–4.
- [29] Traves SL, Culpitt SV, Russell RE, Barnes PJ, Donnelly LE. Increased levels of the chemokines GRO $\alpha$  and MCP-1 in sputum samples from patients with COPD. *Thorax* 2002;57:590–5.
- [30] Masubuchi T, Koyama S, Sato E, Takamizawa A, Kubo K, Sekiguchi M, et al. Smoke extract stimulates lung epithelial cells to release neutrophil and monocyte chemotactic activity. *Am J Pathol* 1998;153:1903–12.
- [31] de Boer WI, Sont JK, van Schadewijk A, Stolk J, van Krieken JH, Hiemstra PS. Monocyte chemoattractant protein 1, interleukin 8, and chronic airways inflammation in COPD. *J Pathol* 2000;190:619–26.
- [32] Fuke S, Betsuyaku T, Nasuhara Y, Morikawa T, Katoh H, Nishimura M. Chemokines in bronchiolar epithelium in the development of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:405–12.
- [33] Hackett NR, Heguy A, Harvey BG, O'Connor TP, Luetlich K, Flieder DB, et al. Variability of antioxidant-related gene expression in the airway epithelium of cigarette smokers. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:331–43.



# Improvement of pulmonary function and dyspnea by tiotropium in COPD patients using a transdermal $\beta_2$ -agonist

K. Akamatsu<sup>a</sup>, T. Yamagata<sup>a</sup>, T. Takahashi<sup>b</sup>, K. Miura<sup>c</sup>, S. Maeda<sup>d</sup>, Y. Yamagata<sup>a</sup>,  
T. Ichikawa<sup>a</sup>, S. Yanagisawa<sup>a</sup>, K. Ueshima<sup>a</sup>, T. Hirano<sup>a</sup>, M. Nakanishi<sup>a</sup>, K. Matsunaga<sup>a</sup>,  
Y. Minakata<sup>a</sup>, M. Ichinose<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Third Department of Internal Medicine, Wakayama Medical University, School of Medicine, 811-1 Kimiidera, Wakayama 641-8509, Japan

<sup>b</sup>Internal Medicine, NTT East Japan Tohoku Hospital, Miyagi, Japan

<sup>c</sup>Respiratory Medicine, Japanese Red Cross Akita Hospital, Akita, Japan

<sup>d</sup>Respiratory Medicine, Jusendo General Hospital, Fukushima, Japan

Received 29 May 2006; received in revised form 21 August 2006; accepted 29 August 2006

## Abstract

**Background:** A combination of bronchodilators may be effective in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). We examined the effect of adding a long-acting anti-cholinergic agent (tiotropium) to a transdermal-type  $\beta_2$ -agonist (tulobuterol) on dyspnea as well as pulmonary function.

**Methods:** In a multicentre, randomized, parallel design study, 60 COPD patients treated with the transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol were divided into a tiotropium added group (Tulo + Tio group,  $n = 40$ ) or transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone group (Tulo group,  $n = 20$ ), and then treated for 4 weeks after a 2 week run-in period. Pulmonary function and a dyspnea (Medical Research Council (MRC)) scale were assessed before and after the treatment. Daily peak expiratory flow (PEF) monitoring was also performed.

**Results:** After 4 weeks, the Tulo + Tio group showed a significant increase in pulmonary function compared with the Tulo group;  $\Delta FVC$  ( $0.31 \pm 0.06$  L vs.  $0.06 \pm 0.05$  L,  $p < 0.01$ ),  $\Delta FEV_1$  ( $0.15 \pm 0.03$  L vs.  $-0.02 \pm 0.02$  L,  $p < 0.0001$ ), and  $\Delta PEF$  ( $41.0 \pm 5.1$  L/min vs.  $0.5 \pm 3.5$  L/min,  $p < 0.0001$ ). The MRC dyspnea scale was also significantly improved in Tulo + Tio, but not in Tulo group.

**Conclusion:** These results suggest that tiotropium caused a significant improvement in both pulmonary function and dyspnea in COPD patients already treated with the transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol.

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol; Tiotropium; Combination therapy; Pulmonary function; Dyspnea

## 1. Introduction

In the management of stable state chronic obstructive pulmonary disease (COPD), bronchodilators are central to pharmacologic treatment [1,2]. According to the Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD), regular use of long-acting bronchodilators including anticholinergics,  $\beta_2$ -adrenergic agonists and methylxanthines is recommended as maintenance therapy for symptomatic COPD patients [1]. In addition, the combined use of these bronchodilators results in more potency and fewer adverse

effects and therefore is recommended rather than increasing the dose of a single agent when symptoms are not well controlled by monotherapy [1]. It has been reported that the combination of salmeterol and ipratropium [3] or theophylline [4] showed a greater improvement of pulmonary function and symptoms. It has been also reported that the combination of theophylline and ipratropium showed a improvement of pulmonary function and exercise capacity [5].

Tiotropium is a novel anticholinergic inhaled once daily that has been shown to improve lung function, symptoms and health-related quality of life (HRQOL), and to reduce exacerbations in COPD patients compared with a placebo or ipratropium [6–9]. It has been recently reported that the

\*Corresponding author. Tel.: +81 73 441 0619; fax: +81 73 447 2201.

E-mail address: [masakazu@wakayama-med.ac.jp](mailto:masakazu@wakayama-med.ac.jp) (M. Ichinose).

combination of tiotropium and formoterol is more effective than either drug used alone [10,11]. However, studies on the effectiveness of combining long-acting anticholinergics with other bronchodilators have been relatively few.

A transdermal type  $\beta_2$ -agonist, tulobuterol, was recently developed. Although tulobuterol is pharmacokinetically categorized as a short-acting  $\beta_2$ -agonist, transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol has a sustained-release system and its serum concentration is sustained for 24 h [12,13]. Accordingly, transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol exerts continuous bronchodilatory effects, and therefore can be categorized as a long-acting  $\beta_2$  agonist. Recently, it has been reported that transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol caused a similar increase in the peak expiratory flow (PEF) for 12 weeks in COPD patients when compared with salmeterol [14]. However, the efficacy of tiotropium when combined with transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol has not yet been assessed. Therefore, in the present study, we investigated the additive effect of tiotropium in COPD patients treated with transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol by evaluating the pulmonary function as well as by using the Medical Research Council (MRC) dyspnea scale.

## 2. Methods

### 2.1. Subjects

The study protocol was approved by the ethics committee of the hospital and performed after written informed consent was obtained. Sixty patients with COPD that satisfied the GOLD criteria were recruited [1]. The characteristics of the subjects are listed in Table 1. All subjects had airflow limitation with forced expiratory volume in 1 s (FEV<sub>1</sub>) of <80% predicted and a ratio of FEV<sub>1</sub> to forced vital capacity (FVC) of <70% and a

smoking history of more than 10 pack years (11 current smokers). Patients who had a history of asthma, the use of inhaled or oral steroids, or an exacerbation of COPD in the previous 4 weeks were excluded. Patients with a known hypersensitivity to anticholinergic drugs, known symptomatic prostatic hypertrophy, and narrow angle glaucoma were also excluded. Treatment with slow-release theophylline without any change of the dose and rescue use of salbutamol (200  $\mu$ g as needed) was allowed. There was no difference in the percentage of patients treated with theophylline between two study groups. Treatment with long acting inhaled  $\beta_2$ -agonists (LABA), oral  $\beta_2$ -agonists, and regular use of short-acting  $\beta_2$ -agonists or anticholinergics were not allowed for at least 4 weeks before and during the study. No changes of other medications were allowed during the study.

### 2.2. Study design

The study was performed at five centres in a randomized, parallel design (Fig. 1). The study protocol is shown in Fig. 2. After a 2-week run-in period of treatment with transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone, patients were assigned to one of the following two treatment groups: with tiotropium added (40 patients) (Tulo+Tio group), or monotherapy with transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol (20 patients) (Tulo group). Tiotropium was inhaled using a HandiHaler, a dry powder inhaler system, at a dose of 18  $\mu$ g once daily in the morning. The transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol was applied to the chest at a dose of 2 mg once daily after taking a bath. Spirometry was performed and the MRC dyspnea scale was measured at the beginning of the run-in period, the day of randomization, and after 2 and 4 weeks treatment. PEF was also measured three times daily. As shown in Fig. 1, three patients in the Tulo group were withdrawn because the patients stopped visiting during the study. One patient in the Tulo+Tio group was withdrawn because of an adverse event. No other serious adverse events in both subjects' groups were seen during the study.

### 2.3. Pulmonary function testing in the hospital

Pulmonary function was evaluated using a dry rolling-seal spirometer (System 7; Minato Medical Science, Osaka, Japan). At the beginning of the run-in period and the day of randomization, and after 2 and 4 weeks treatment with transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone or transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol+tiotropium, FEV<sub>1</sub> and FVC were measured. On test days, FEV<sub>1</sub> and FVC were measured 1 h prior to the dosing of tiotropium. Each subject performed a minimum of three acceptable FVC maneuvers. The greatest FEV<sub>1</sub> and FVC values were used in subsequent analyses according to the American Thoracic Society's recommendation [15]. The results were presented as raw data and the percent change to the initial values.

Table 1  
Characteristics of subjects

	Tulobuterol	Tulobuterol + tiotropium
n (M/F)	17 (17/0)	39 (39/0)
Age <sup>a</sup>	73.1 $\pm$ 1.2	71.6 $\pm$ 1.3
BMI (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	19.4 $\pm$ 0.5	21.2 $\pm$ 0.5
Smoking history (ex/current)	13/4	32/7
MRC dyspnea scale <sup>a</sup>	2.7 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.1
I	1 (5.9%)	3 (7.7%)
II	7 (41.2%)	17 (43.6%)
III	5 (29.4%)	13 (33.3%)
IV	4 (23.5%)	6 (15.4%)
V	0	0
FVC (L) <sup>a</sup>	2.55 $\pm$ 0.14	2.61 $\pm$ 0.12
FEV <sub>1</sub> (L) <sup>a</sup>	1.18 $\pm$ 0.12	1.16 $\pm$ 0.09
FEV <sub>1</sub> /FVC (%) <sup>a</sup>	45.6 $\pm$ 3.00	45.5 $\pm$ 1.82
% FEV <sub>1</sub> (%) <sup>a</sup>	47.9 $\pm$ 4.56	47.6 $\pm$ 2.84

BMI = body mass index; MRC = Medical Research Council; FVC = forced vital capacity; FEV<sub>1</sub> = forced expiratory volume in 1 s.

<sup>a</sup>Mean $\pm$ SE. No significant differences were seen between the two groups.

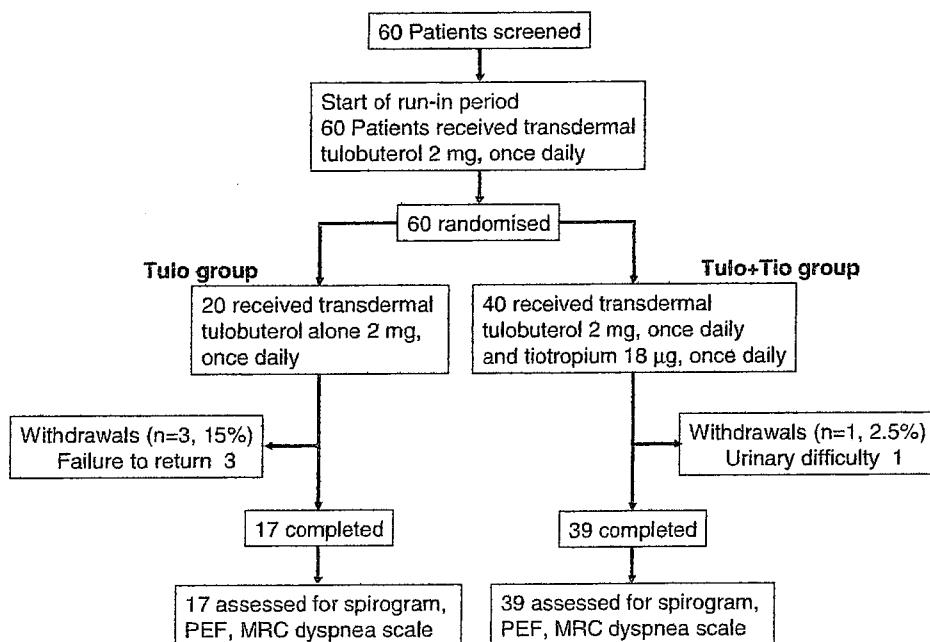


Fig. 1. Trial profile. Three patients in the Tulo group were withdrawn because the patients stopped visiting the hospital during the study. One patient in the Tulo+Tio group was withdrawn because of an adverse event (abbreviations: Tulo+Tio = tiotropium + transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol; Tulo = transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone; PEF = peak expiratory flow; MRC = Medical Research Council).

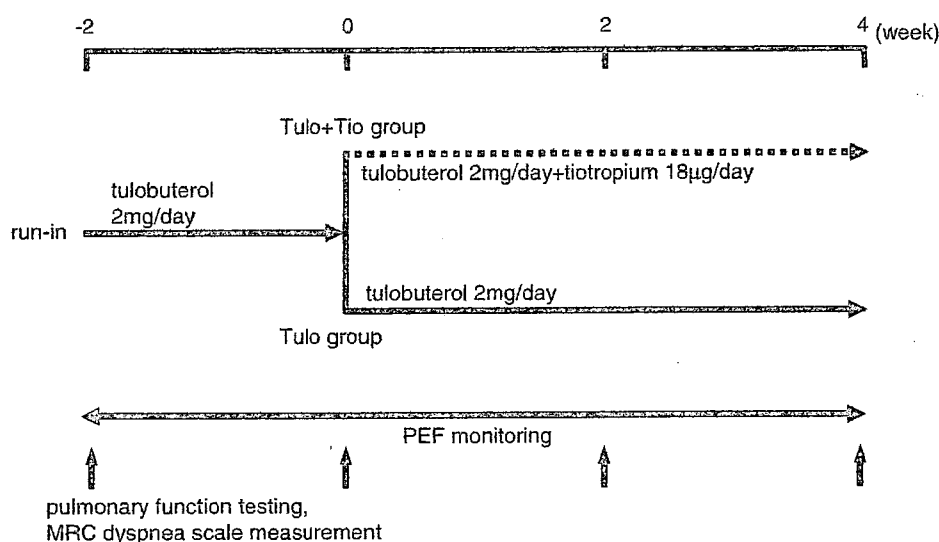


Fig. 2. Study protocol (abbreviations: Tulo+Tio = tiotropium + transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol; Tulo = transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone; PEF = peak expiratory flow; MRC = Medical Research Council).

#### 2.4. PEF monitoring at home

During the run-in and the 4-week treatment period, PEF was self-measured by the patients three times daily using an ASSESS Peak Flow Meter (Respironics Inc., Murrysville, PA, USA). PEF was measured immediately upon arising and before the inhalation of tiotropium, at noon and at bedtime. Each time, the best value of three measurements was adopted. The data for each day were taken as an average of the PEF values at the three time points, then

presented as an absolute value and the percentage change from the initial values.

#### 2.5. Evaluation of MRC dyspnea scale

Patients were asked about their perceived breathlessness at the beginning of the run-in period and the day of randomization, and after 2 and 4 weeks treatment. Then the severity of breathlessness was classified into MRC dyspnea grades according to their perceived disability.

The MRC dyspnea scale is a questionnaire that consists of six statements about perceived breathlessness [16,17]: grade 0—no breathlessness; grade 1—breathlessness with strenuous exercise; grade 2—short of breath when climbing steps or a slight slope; grade 3—walk slower than people of the same age on a level surface or stop for breath while walking at own pace on a level surface; grade 4—stop for breath after 100 yards or after a few minutes walk on a level surface; grade 5—too breathless to leave the house.

### 2.6. Statistical analysis

The results are presented as means  $\pm$  SE. Statistical analysis of lung function and daily PEF for each day was performed by using the repeated measure of analysis of variance (ANOVA), Wilcoxon signed-ranks test and the Mann–Whitney test. Comparison of the MRC dyspnea scale between before and after treatment was made using Wilcoxon signed-ranks test. A value of  $p < 0.05$  was considered to be significant.

## 3. Results

### 3.1. Pulmonary function

There were no differences in the absolute values of FEV<sub>1</sub> and FVC at the run-in period between the Tulo and Tulo+Tio groups (Table 2). However, after 4 weeks treatment, the change in both FVC and FEV<sub>1</sub> were significantly higher in the Tulo+Tio group than in the Tulo group (Fig. 3A–D).

### 3.2. Peak expiratory flow

The values of PEF in the run-in period did not differ between the two groups (Table 2). In addition, the absolute values of the daily PEF did not show a difference at any time point during the run-in period. However, in the Tulo+Tio group, the absolute PEF values showed a marked improvement from the next day after beginning

tiotropium treatment. After 4 weeks of treatment, the percent change of PEF was significantly higher in the Tulo+Tio group than in the Tulo group (Fig. 4).

### 3.3. MRC dyspnea scale

The MRC dyspnea scales were improved from  $2.5 \pm 0.1$  to  $2.2 \pm 0.2$  after 4 weeks treatment in the Tulo+Tio group, but not in the Tulo group. There was a significant difference between the two groups after 2 and 4 weeks treatment (Table 2 and Fig. 5).

## 4. Discussion

In the present study, we have for the first time shown that tiotropium, when added to the transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol, significantly improved the pulmonary function in terms of FVC, FEV<sub>1</sub> and PEF, as well as the MRC dyspnea scale in COPD patients after 2 and 4 weeks administration. These data suggest that tiotropium would provide a benefit to COPD patients already treated with the transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol.

Bronchodilators are central to the management of COPD [1,2]. The GOLD guidelines recommend single or combined use of long-acting bronchodilators in symptomatic COPD patients [1]. Tiotropium was recently developed, and its clinical efficacy in improving pulmonary function, symptoms and HRQOL has been demonstrated [6–9]. Like previous bronchodilators, it was considered likely that tiotropium would have a beneficial additive effect for COPD treatment when combined with other bronchodilators. Indeed, it has been recently reported that the combination of tiotropium and formoterol showed a greater improvement of FVC, FEV<sub>1</sub> and PEF than monotherapy with either drug alone [10]. However, little is known concerning the efficacy of the combination use of tiotropium with other bronchodilators.

It has been previously reported that tiotropium improved the pulmonary function in COPD patients. van Noord et al. [18] have shown that FEV<sub>1</sub> and FVC increased by 0.19 L (18% above the initial baseline) and 0.67 L (27% above the initial baseline) after 8 days administration of tiotropium, respectively. Similarly, it has been reported that tiotropium administration for 4–13 weeks improved FEV<sub>1</sub> by 12–16% and FVC by 12–20% from the baseline value [6–8]. The long-term efficacy of tiotropium over 6 months to 1 year has also been studied. In those reports, tiotropium also improved FEV<sub>1</sub> by 0.10–0.15 L (10–18% from baseline value) and FVC by 0.26–0.32 L (10–20% from baseline value) [9,19–22].

The transdermal type  $\beta_2$ -agonist tulobuterol has a sustained drug delivery system containing 2 mg of tulobuterol in a patch preparation ( $3.2 \times 3.2$  cm). Therefore, although tulobuterol is pharmacokinetically categorized as a short-acting  $\beta_2$ -agonist, transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol shows sustained drug release and maintains a stable serum concentration of tulobuterol for 24 h [12,13].

Table 2  
Change of pulmonary function and MRC dyspnea scale

	0 week	2 weeks	4 weeks
<i>Tulobuterol</i>			
FVC (L)	$2.55 \pm 0.14$	$2.50 \pm 0.14$	$2.60 \pm 0.12$
FEV <sub>1</sub> (L)	$1.18 \pm 0.12$	$1.15 \pm 0.13$	$1.15 \pm 0.12$
PEF (L/min)	$271.9 \pm 25.1$	$279.1 \pm 27.1$	$270.2 \pm 26.0$
MRC scale	$2.7 \pm 0.2$	$2.7 \pm 0.2$	$2.7 \pm 0.2$
<i>Tulobuterol+tiotropium</i>			
FVC (L)	$2.61 \pm 0.12$	$2.91 \pm 0.11^a$	$2.92 \pm 0.11$
FEV <sub>1</sub> (L)	$1.16 \pm 0.09$	$1.34 \pm 0.09$	$1.32 \pm 0.09$
PEF (L/min)	$253.2 \pm 16.7$	$290.0 \pm 18.6$	$297.9 \pm 18.7$
MRC scale	$2.5 \pm 0.1$	$2.2 \pm 0.1$	$2.2 \pm 0.2$

FVC = forced vital capacity; FEV<sub>1</sub> = forced expiratory volume in 1 s, PEF = peak expiratory flow, MRC = Medical Research Council.

<sup>a</sup>Mean  $\pm$  SE.



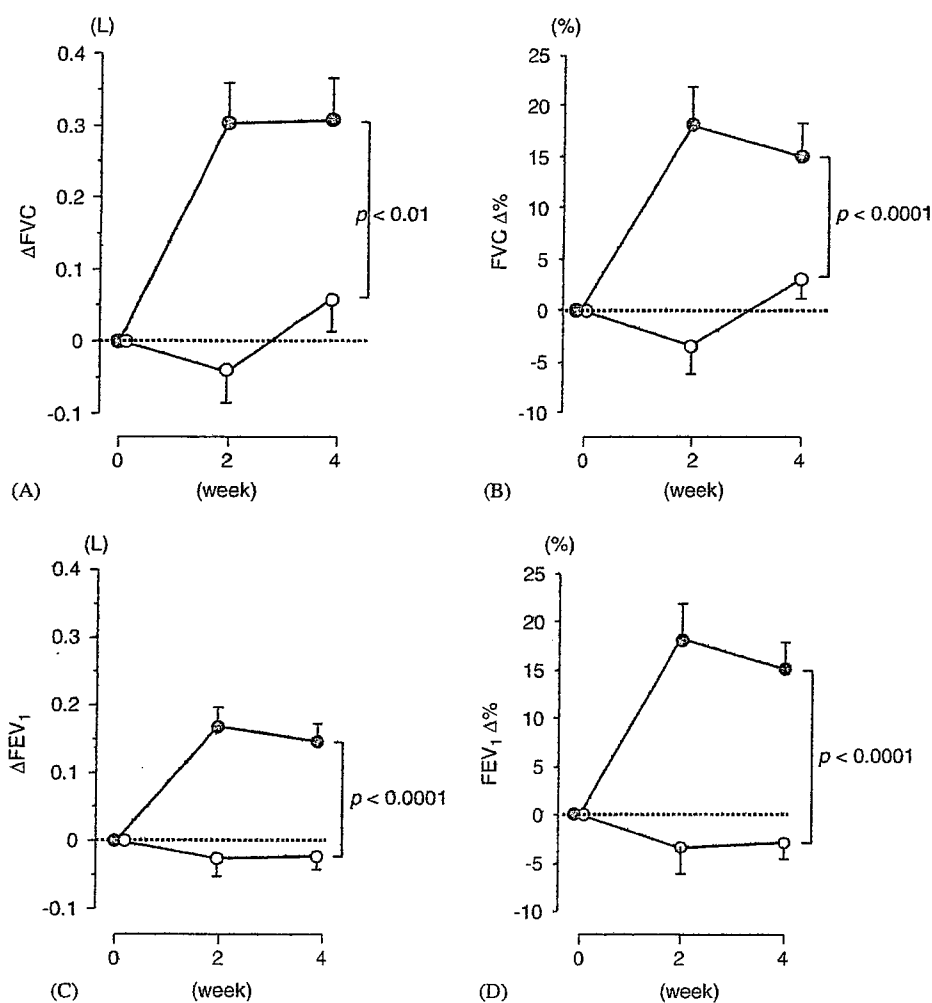


Fig. 3. Effect of tiotropium addition on FVC and FEV<sub>1</sub>. The mean change and percentage change of FVC (A, B) and FEV<sub>1</sub> (C, D) in the Tulo + Tio group (●) was significantly higher at 2 and 4 weeks than in the Tulo group (○) (abbreviations: FVC = forced vital capacity; FEV<sub>1</sub> = forced expiratory volume in 1 s).

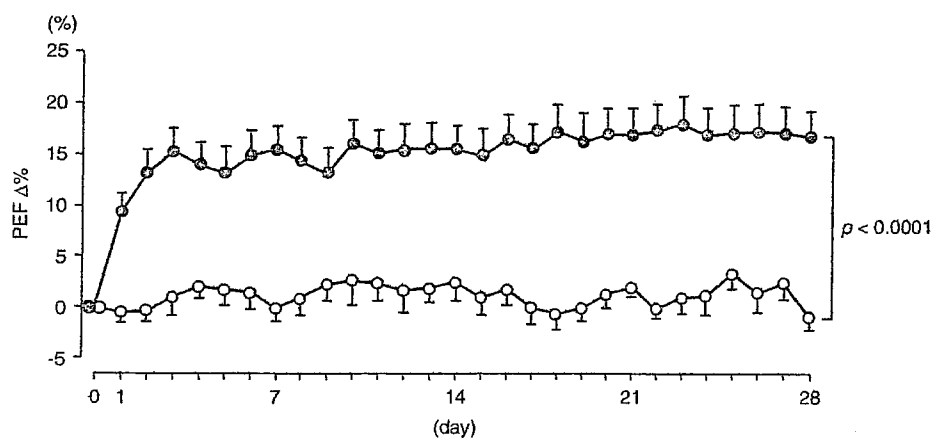


Fig. 4. Effect of tiotropium addition on PEF. In the Tulo + Tio group (●), the percentage change of PEF was significantly improved compared with that in the Tulo group (○). This improvement was seen at day 1 and this beneficial effect lasted at least until day 28 in the Tulo + Tio group (abbreviations: PEF = peak expiratory flow).

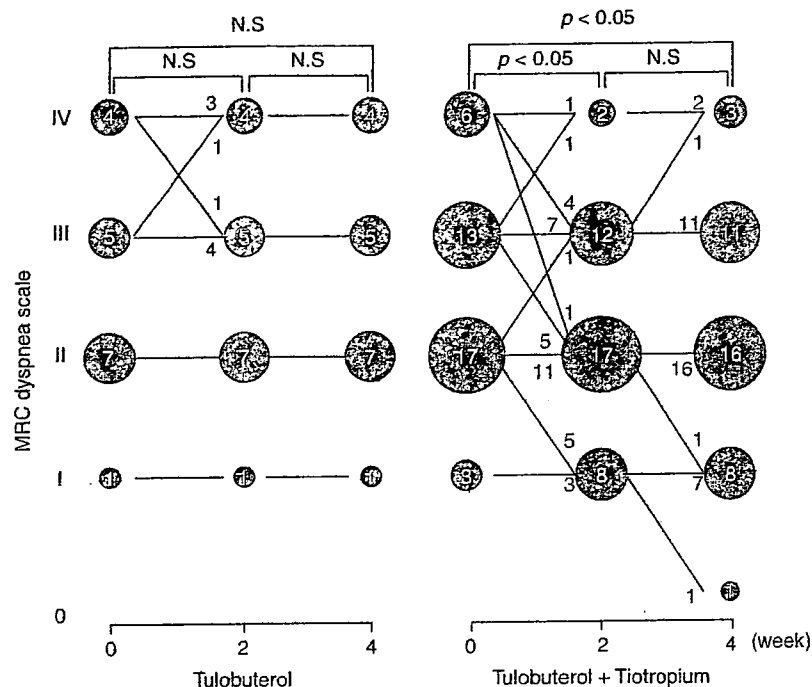


Fig. 5. Effect of tiotropium addition on MRC dyspnea scale. The numbers inside the (O) and (●) indicate the patient number. After 4 weeks of treatment, a significant improvement of the MRC dyspnea scale was seen in the Tulo + Tio group, but no apparent change was seen in the Tulo group (abbreviations: Tulo + Tio = tiotropium + transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol; Tulo = transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone; MRC = Medical Research Council).

Accordingly, transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol exerts continuous bronchodilatory effects, and pharmacodynamically can be categorized as a long-acting  $\beta_2$  agonist, which has been shown a beneficial effect for the treatment of both asthma and COPD [14,23–25]. It has been also recently reported that transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol showed a beneficial effect similar to that of salmeterol [14]. In the present study, we have demonstrated the effectiveness of tiotropium when combined with transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol in COPD patients. The addition of tiotropium to transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol resulted in a greater improvement in the pulmonary function. In addition, dyspnea was also significantly improved compared to transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol therapy alone.

Recently, van Noord et al. [11] have shown that tiotropium increased FEV<sub>1</sub> by 0.23 L (22% of baseline) and that the combination of tiotropium and formoterol increased FEV<sub>1</sub> by 0.39 L (37% of baseline), which is larger than the result found in the present study (0.31 L, 15% of baseline). This difference is probably due to the fact that the patients in our study were treated with the transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol during a run-in period, which resulted in some improvement of FEV<sub>1</sub> prior to the tiotropium addition. However, in the present study, the addition of tiotropium showed a further significant improvement of the pulmonary function. Therefore, tiotropium showed an additive benefit in COPD patients using transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol.

In the present study, compared to the large improvement in pulmonary function, a small improvement of dyspnea

was observed after the tiotropium addition. It has been reported that the MRC dyspnea scale is useful for the assessment of the basal disability of COPD patients [26]. However, because of its relatively lower sensitivity, it may be less useful for evaluating the changes of symptoms and the effects of medications. In previous studies, the effect of tiotropium on symptoms or daily activities were evaluated by using the baseline dyspnea index, transitional dyspnea index [27] and St. George's Respiratory Questionnaire [28], etc. According to those reports, tiotropium appeared to improve dyspnea, daily activities and HRQOL in COPD patients [9,19–22]. Therefore, the combined use of various scoring methods may be needed to evaluate more precisely the effects of the added tiotropium on the symptoms, daily activities and HRQOL.

When combining tiotropium with the transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol for COPD, an increase in adverse events could be a limiting factor. The most common adverse effect of tiotropium is dry mouth which occurs in approximately 10% of patients [29,30]. In the present study, however, only one of 40 patients was withdrawn due to mild urinary difficulty and no other serious adverse events including dry mouth were seen throughout the study. In addition, both transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone and the combination of tiotropium and transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol showed good compliance. Therefore, the combination therapy of these two drugs appeared to be quite effective and safe for COPD treatment.

In conclusion, we have shown that the combination of tiotropium with the transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol

improved the pulmonary function and dyspnea compared with transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone. As shown in a previous report, transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol alone had a significant effect on pulmonary function and QOL. However, because the addition of tiotropium caused a much greater improvement in the COPD patients, adding tiotropium should be considered when patients are treated with transdermal  $\beta_2$ -agonist tulobuterol or when the symptoms or pulmonary function are not adequately improved by monotherapy with other bronchodilators. Because the present study was short-term and included a relatively small number of subjects, a long-term study with a larger number of subjects will be needed to confirm our present results.

## Acknowledgment

We thank Mr. Br nt Bell for reading the manuscript. This study was supported by Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd.

## References

- [1] Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease updated, 2005.
- [2] Celli BR, MacNee W. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J* 2004;23:932–46.
- [3] van Noord JA, de Munck DR, Bantje TA, Hop WC, Akveld ML, Bommer AM. Long-term treatment of chronic obstructive pulmonary disease with salmeterol and the additive effect of ipratropium. *Eur Respir J* 2000;15:878–85.
- [4] ZuWallack RL, Mahler DA, Reilly D, Church N, Emmett A, Rickard K, et al. Salmeterol plus theophylline combination therapy in the treatment of COPD. *Chest* 2001;119:1661–70.
- [5] Tsukino M, Nishimura K, Ikeda A, Hajiro T, Koyama H, Izumi T. Effects of theophylline and ipratropium bromide on exercise performance in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1998;53:269–73.
- [6] Casaburi R, Briggs Jr DD, Donohue JF, Serby CW, Menjoge SS, Witek Jr TJ. The spirometric efficacy of once-daily dosing with tiotropium in stable COPD: a 13-week multicenter trial. The US Tiotropium Study Group. *Chest* 2000;118:1294–302.
- [7] Littner MR, Ilowite JS, Tashkin DP, Friedman M, Serby CW, Menjoge SS, et al. Long-acting bronchodilation with once-daily dosing of tiotropium (Spiriva) in stable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1136–42.
- [8] van Noord JA, Bantje TA, Eland ME, Korducki L, Cornelissen PJ. A randomised controlled comparison of tiotropium and ipratropium in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. The Dutch Tiotropium Study Group. *Thorax* 2000;55:289–94.
- [9] Vincken W, van Noord JA, Greefhorst AP, Bantje TA, Kesten S, Korducki L, et al. Improved health outcomes in patients with COPD during 1 year's treatment with tiotropium. *Eur Respir J* 2002;19: 209–16.
- [10] van Noord JA, Aumann JL, Janssens E, Smeets JJ, Verhaert J, Disse B, et al. Comparison of tiotropium once daily, formoterol twice daily and both combined once daily in patients with COPD. *Eur Respir J* 2005;26:214–22.
- [11] van Noord JA, Aumann JL, Janssens E, Verhaert J, Smeets JJ, Mueller A, et al. Effects of tiotropium with and without formoterol on airflow obstruction and resting hyperinflation in patients with COPD. *Chest* 2006;129:509–17.
- [12] Uematsu T, Nakano M, Kosuge K, Kanamaru M, Nakashima M. The pharmacokinetics of the beta 2-adrenoceptor agonist, tulobuterol, given transdermally and by inhalation. *Eur J Clin Pharmacol* 1993;44:361–4.
- [13] Iikura Y, Uchiyama H, Akimoto K, Ebisawa M, Sakaguchi N, Tsubaki T, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tulobuterol patch, HN-078, in childhood asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;74:147–51.
- [14] Fukuchi Y, Nagai A, Seyama K, Nishimura M, Hirata K, Kubo K, et al. Clinical efficacy and safety of transdermal tulobuterol in the treatment of stable COPD: an open-label comparison with inhaled salmeterol. *Treat Respir Med* 2005;4:447–55.
- [15] Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1107–36.
- [16] Mahler DA, Harver A. Measurement of symptoms: the benchmark of treatment. Minimizing the effects of dyspnea. *J Respir Dis* 1987;8: 23–34.
- [17] Eltayara L, Becklake MR, Volta CA, Milic-Emili J. Relationship between chronic dyspnea and expiratory flow limitation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1726–34.
- [18] van Noord JA, Smeets JJ, Custers FL, Korducki L, Cornelissen PJ. Pharmacodynamic steady state of tiotropium in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2002;19:639–44.
- [19] Casaburi R, Mahler DA, Jones PW, Wanner A, San PG, ZuWallack RL, et al. A long-term evaluation of once-daily inhaled tiotropium in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2002;19:217–24.
- [20] Donohue JF, van Noord JA, Bateman ED, Langley SJ, Lee A, Witek Jr TJ, et al. A 6-month, placebo-controlled study comparing lung function and health status changes in COPD patients treated with tiotropium or salmeterol. *Chest* 2002;122:47–55.
- [21] Brusasco V, Hodder R, Miravittles M, Korducki L, Towse L, Kesten S. Health outcomes following treatment for six months with once daily tiotropium compared with twice daily salmeterol in patients with COPD. *Thorax* 2003;58:399–404.
- [22] Tashkin D, Kesten S. Long-term treatment benefits with tiotropium in COPD patients with and without short-term bronchodilator responses. *Chest* 2003;123:1441–9.
- [23] Kume H, Kondo M, Ito Y, Suzuki R, Yamaki K, Takagi K. Effects of sustained-release tulobuterol on asthma control and beta-adrenoceptor function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002;29:1076–83.
- [24] Horiguchi T, Kondo R, Miyazaki J, Fukumoto K, Torigoe H. Clinical evaluation of a transdermal therapeutic system of the beta2-agonist tulobuterol in patients with mild or moderate persistent bronchial asthma. *Arzneimittelforschung* 2004;54:280–5.
- [25] Burioka N, Miyata M, Endo M, Fukuoka Y, Suyama H, Nakazaki H, et al. Alteration of the circadian rhythm in peak expiratory flow of nocturnal asthma following nighttime transdermal beta2-adrenoceptor agonist tulobuterol chronotherapy. *Chronobiol Int* 2005;22: 383–90.
- [26] Bestall JC, Paul EA, Garrod R, Garnham R, Jones PW, Wedzicha JA. Usefulness of the Medical Research Council (MRC) dyspnoea scale as a measure of disability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999;54:581–6.
- [27] Mahler DA, Weinberg DH, Wells CK, Feinstein AR. The measurement of dyspnea. Contents, interobserver agreement, and physiologic correlates of two new clinical indexes. *Chest* 1984;85:751–8.
- [28] Jones PW, Quirk FH, Baveystock CM, Littlejohns P. A self-complete measure of health status for chronic airflow limitation. The St. George's Respiratory Questionnaire. *Am Rev Respir Dis* 1992;145: 1321–7.
- [29] Barnes PJ. Tiotropium bromide. *Expert Opin Invest Drugs* 2001;10: 733–40.
- [30] Hvizdos KM, Goa KL. Tiotropium bromide. *Drugs* 2002;62: 1195–203.

## 呼気による気道炎症評価法

*Assessment of airway inflammation by means of exhaled gas and condensate sampling*

### Key point

●呼気ガスや呼気凝縮液を用いた気道炎症のモニタリングは、誘発喀痰や気管支肺胞洗浄液などに比べ、非侵襲的に繰り返し行うことができる。

●呼気 NO は、気管支喘息の臨床においての有用性が確立されつつある。

●呼気凝縮液は気道上皮被覆液の状態を反映するといわれているが、含まれる物質の濃度がきわめて低く、各種メティエーターの測定法の確立が今後の課題である。

COPD や気管支喘息といった呼吸器疾患における気道炎症の病態評価のため、誘発喀痰や気管支鏡下での組織生検、肺胞洗浄液などが気道局所のサンプルとして臨床や研究の分野で用いられてきた。しかし、これらは侵襲的で、繰り返し採取することが困難である。近年、呼気ガスや呼気凝縮液(exhaled breath condensate: EBC)を用いて気道炎症をモニタリングする試みがなされている。これらは非侵襲的で繰り返しの採取が容易なことから、臨床応用に向けて多くの検討がなされている。

本稿ではこれらのサンプルを用いた気道炎症評価法について、現時点での知見を概説する。

### 呼気ガス

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ため、呼気ガス中のこれらの分子を測定することで、気道・肺局所の炎症病態の把握が可能である。

#### 1. 呼気NO

内因性 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。末梢気道のNOの起源は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、とくに炎症性気道・肺疾患では、サイトカインなどの作用により誘導型 NOS(NOS2, iNOS)の活性が増加し、NOの産生が亢進する。

気管支喘息患者の呼気 NO 濃度は健常人に比べ有意に増加しているが、喘息以外の原因による慢性咳嗽では呼気 NO 濃度の増加はみられない。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意な相関を示す。呼気 NO 濃度を指標に気管支喘息患者の吸入ステロイド量を管理すると、症状の増悪をきたすことなく、吸入量を減らせることも報告されている<sup>1)</sup>。

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。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、気管支喘息患者では誘発喀痰中の 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、閉塞性障害の程度とも関連しない<sup>2)</sup>。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( $O_2^-$ )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ている。ただし、急性増悪期には上昇し、吸入ステロイド治療で低下することが報告されている<sup>3)</sup>。

#### 2. 呼気一酸化炭素(CO)

CO は約 85% がヘモグロビン由来であり、その約 80% は呼気中に排出される。ヘモオキシゲナーゼ(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、とくに気道上皮に強く発現している。とくに HO-1 は、炎症性サイトカイン、細菌毒素、低酸素、活性酸素・窒素類など、種々の刺激により誘導され、CO 産生の増加をもたらす<sup>4)</sup>。

呼気ガス中の CO の測定は、多くは電気化学的 CO センサーを用いて行われている。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、たとえば水素などに影響を受けるため、最近では  $H_2$  非感受性 CO センサーも実用化されている。

呼気 CO 濃度は喫煙が影響し、cut-off 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。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・暖房器具なども CO 濃度に影響するため、測定時や結果の評価の際にはこれらの因子を十分

市川朋宏、一ノ瀬正和／和歌山県立医科大学内科学第三講座

Tomohiro ICHIKAWA and Masakazu ICHINOSE

に考慮する必要がある。

### 3. 呼吸炭化水素類

呼吸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、抗酸化作用をも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、イソブレンなどが用いられる。気管支喘息では増悪時に呼吸ガス中の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。また、呼吸ガス中エタンは、ステロイド未治療の軽症気管支喘息患者で健康人に比べ上昇がみられ、ステロイド治療により健康人レベルまで減少する<sup>5)</sup>。喫煙者では呼吸ガス中ペンタン、イソブレンの上昇が、COPD ではエタンの上昇が認められ、呼吸ガス中エタン濃度と閉塞性障害の程度や、喫煙の程度が相関することも報告されている。

### 呼吸凝縮液(EBC)

呼吸凝縮液は呼吸を急速に冷却し、凝縮・液化して採取したサンプルのことである。約 20 分間の安静換気で、約 2~3 ml の EBC が採取可能である。簡便に、非侵襲的に繰り返し採取可能で、据えおき型の EcoScreen® (Jaeger 社)や、ポータブル型の R-Tube® (Res-

表 1 EBC中のバイオマーカーと呼吸器疾患との関連

バイオマーカー	増加	低下
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	健康高齢者、気管支喘息の増悪時、COPD、気管支拡張症、急性呼吸不全、ARDS、喫煙者(過去喫煙者も含む)	
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	気管支喘息、CF、気管支拡張症	
nitrotyrosine	気管支喘息、CF	
adenosine	アレルギー性鼻炎、気管支喘息	
PGE <sub>2</sub>	気管支喘息	
LTB <sub>4</sub>	COPD、気管支拡張症、気管支喘息、CF	
8-isoprostane	気管支喘息、COPD、気管支拡張症、サルコイドーシス、間質性肺炎、CF、ARDS、OSAS	
アルデヒド	気管支喘息	気管支喘息
グルタチオン		気管支喘息、CF、COPD、気管支拡張症、ALI
pH		気管支喘息
アンモニア		
IL-4	気管支喘息	
IFN-γ		気管支喘息
IL-6	非小細胞肺癌、COPD、気管支拡張症、CF、喫煙者	

ARDS: acute respiratory distress syndrome, CF: cystic fibrosis, OSAS: obstructive sleep apnea syndrome, ALI: acute lung injury.

piratory Research 社)などの装置を用いて採取する(「サイドメモ」参照)。EBC はおもに気道上皮被覆液中の揮発性、あるいは非揮発性物質を反映していると考えられており、EBC 中の物質を解析することで気道局所のモニタリングが試みられている。これまで報告されている EBC 中のバイオマーカーと呼吸器疾患との関連を表 1 に示す。しかし、EBC で同定される物質が気道内のどの部位を反映しているかは十分には検討されていない<sup>6)</sup>。また、EBC の 99% 以上は水蒸気で構成されており、エアロゾル化された粒子は水蒸気により 2,000 倍以上に希釈されると推測されている<sup>7)</sup>ため、含まれる物質の濃度がきわめて低く、安定した定量が困難である。こういった問題点も踏まえ、EBC 解析の現状について解説する。

#### 1. pH

EBC の pH は気道被覆液の pH を反映するといわれており、気管支喘息、気管支拡張症、気管支囊胞線維症、あるいはこれらの急性増悪期、ARDS などさまざまな呼吸器疾患で低下する。COPD では、pH は有用なマーカーではないことが報告されている<sup>8)</sup>。EBC の pH は、呼吸や一般環境中に存在する CO<sub>2</sub> により影響を受けるため、測定前にアルゴンガスで CO<sub>2</sub> を除去してガス補正を行ってから測定する必要がある。また、GERD による胃液や口腔内のアンモニウムイオンの影響を受ける可能性も指摘されている<sup>6)</sup>。

#### 2. 酸化ストレス

EBC 中の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> は、気管支喘息や喫煙者、COPD で増加がみられる。気管支喘息では喀痰中の好酸球や一

### サイド メモ

#### 呼吸凝縮液(EBC)の採取に影響を与える因子

EBC は口腔を介して採取されるが、肺胞から咽喉頭、鼻腔、口腔に至る全気道に由来するエアロゾルが EBC 中の物質に影響を与える可能性がある。唾液や鼻腔の影響を最小限にするために、唾液トラップを装着したりノーズクリップを着用することが勧められている。当科の検討では、サイトカインに関しては唾液の影響は無視できることが示されている。しかし、EBC 中の LTB<sub>4</sub> に関しては、唾液のコンタミネーションが影響することが報告されている。また、物質によっては温度の影響を受けることも考えられ、採取した EBC サンプルは可及的速やかに -70℃ 以下で保存する必要がある。採取用のデバイスは各施設によりさまざまにまだに統一されたものはないが、現在商用ベースで手に入るおもなものには EcoScreen® と R-tube® がある。しかし、この 2 つのデバイスを比較したところ、採取量、蛋白や脂質メディエーターの測定感度が EcoScreen® のほうが優れており、これはデバイス内の温度の違いによることが報告されている。採取時間や換気量によっても採取量は異なるが、これらの因子は EBC 中の物質の濃度には影響を与えないとされている。

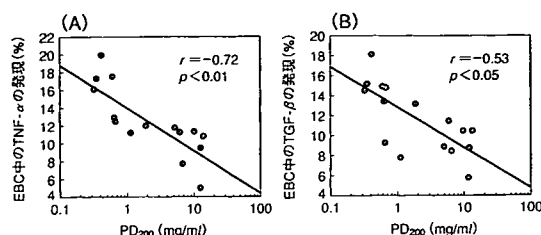


図 1 EBC中のTNF- $\alpha$ とTGF- $\beta$ の発現とPD<sub>200</sub>との相関<sup>10)</sup>

EBC中のTNF- $\alpha$ とTGF- $\beta$ の発現レベルが、それぞれメサコリン反応閾値であるPD<sub>200</sub>と有意に相関している。

秒量、ピークフロー値の低下、気道過敏性の亢進と、COPDでは喀痰中の好酸球数や予測一秒量率との相関が報告されており、気道炎症の病態や治療効果の指標として有用な可能性がある。また、フリーラジカルによりアラキドン酸から産生され、酸化ストレスのマーカーとされている8-イソプロスタンは、EBC中において気管支喘息や喫煙者、COPD、間質性肺炎、サルコイドーシス、閉塞性睡眠時無呼吸症候群などで増加する。とくに気管支喘息では重症度との関連が報告されている。COPDでは急性増悪時に上昇し、治療で減少することが報告されている。

### 3. 窒素化ストレス

NOの大部分はガスとして呼気中に排泄され、一部だけがEBC中に反映されるとされている。EBC中の窒素関連化合物は、スペクトグラム法や蛍光法、化学発効分析法、イオンクロマトグラフィー法などで測定されている。NO<sub>2</sub><sup>-</sup>やNO<sub>3</sub><sup>-</sup>は、気管支喘息や、気管支拡張症などで上昇する。他にも、S-ニトロソチオール、3-ニトロタイロシンなどが気管支喘息で増加することが報告されている。COPDにおいてもNO<sub>2</sub><sup>-</sup>やS-ニトロソチオールの増加がみられるが、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>については有意な増加は認められない。

### 4. 脂質メディエーター

EBC中のシステニルロイコトリエンであるLTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>は、気道の炎症細胞、とくにマスト細胞と好酸球より放出され、喘息の気道炎症に重要な役割を果た

している。気管支喘息患者において重症度と関連して有意な増加が認められるが、COPD患者では明らかな増加はみられない。また、強力な好中球遊走作用をもつLTB<sub>4</sub>は、COPD患者では健常人と比較して有意な増加が認められる。EBC中のPGE<sub>2</sub>、PGD<sub>2</sub>、TXB<sub>2</sub>に関しても解析されており、COPDや喫煙歴のある喘息患者ではPGE<sub>2</sub>が上昇することが報告されている。

### 5. サイトカイン

EBC中のサイトカインは、GRO- $\alpha$ 、MCP-1、IL-6、Eotaxin、MDC、IL-4、IFN- $\gamma$ などが、気管支喘息やCOPDで種々の方法で定量されているが、サイトカインや酵素を含むほとんどのEBC中の蛋白に関しては定量法が確立されていない<sup>9)</sup>。サイトカインアレイ法を用いた解析では、気管支喘息患者のEBC中のRANTESの発現量が一秒量と相関し、TNF- $\alpha$ とTNF- $\beta$ が気道過敏性(図1)やピークフローの週内変動と相関することが示されている<sup>10)</sup>。しかし、他のメディエーターに比べ、サイトカインについては報告が少なく、今後のさらなる検討が必要である。

### 文献

- 1) Smith, A. D. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **352** : 2163-2173, 2005.
- 2) Ichinose, M. et al. : *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **162** : 701-706, 2000.
- 3) ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide 2005 : *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **171** : 912-930, 2005.
- 4) Kharitonov, S. A. and Barnes, P. J. : *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **163** : 1693-1722, 2001.
- 5) Paredi, P. et al. : *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **161** : 1247-1251, 2000.
- 6) Horvath, I. et al. : *Eur. Respir. J.*, **26** : 523-548, 2005.
- 7) Effros, R. M. et al. : *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **165** : 663-669, 2002.
- 8) Effros, R. M. et al. : *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **173** : 386-392, 2006.
- 9) Barnes, P. J. et al. : *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **174** : 6-14, 2006.
- 10) Matsunaga, K. et al. : *J. Allergy Clin. Immunol.*, **118** : 84-90, 2006.

## あらたな喘息診断法の可能性

New diagnostic tools for asthma



一ノ瀬正和(写真) 田村 弦

Masakazu ICHINOSE<sup>1</sup> and Gen TAMURA<sup>2</sup>和歌山県立医科大学内科学第三講座<sup>1</sup>, 東北大学病院感染症・呼吸器内科<sup>2</sup>

◎気管支喘息の本態は“慢性的な気道の炎症”であり、好酸球、肥満細胞、Th2 リンパ球などの浸潤細胞や、気道上皮・平滑筋、自律神経といった多彩な細胞群が関与する。この炎症の詳細なモニタリングは喘息患者の診断のみならず、治療の効果判定にきわめて有用である。モニタリングの方法として高張食塩水吸入による誘発痰の細胞および液性成分の検討に加え、最近では呼気ガスや凝縮液の検討もなされている。さらに、喘息の重要な病態である“気道過敏性”に関しては気道過敏性検査やピークフロー(PEF)の週内変動を指標とする生理学的方法が用いられ、“構築変化”に関しては三次元 CT が応用化されつつある。



呼気NO、呼気凝縮液検査、三次元CT

喘息の基本病態として“気道の慢性炎症”，“気道過敏性亢進”，“構築変化”の3つが重要である。これらの他疾患との違いを弁別することが診断につながるわけであるが、本稿では炎症と構築変化に対する最近のアプローチについて紹介する。

## 非侵襲的気道炎症評価法

## 1. 呼気一酸化窒素(NO)濃度測定

一酸化窒素(NO)は一酸化窒素合成酵素(NOS)によって産生されるが、NOSは気道にも存在し、喘息の炎症関連物質のひとつと考えられる。実際、喘息患者では、呼気NO濃度は健康人に比べ有意に増加しており(図1)<sup>1)</sup>、気流制限や気道過敏性の程度、喀痰中の好酸球浸潤の程度、喘息の重症度と有意な相関を示す<sup>2)</sup>。また、吸入ステロイド治療による症状や呼吸機能、気道過敏性の改善とも相関し(図2)、治療効果のモニタリングとしても有用であり<sup>2)</sup>、さらに増悪時や喘息コントロール不良時の指標として有用性を示す。

最近の報告では、呼気NO濃度が47 ppbを超える気管支喘息患者ではよりステロイド反応性が大

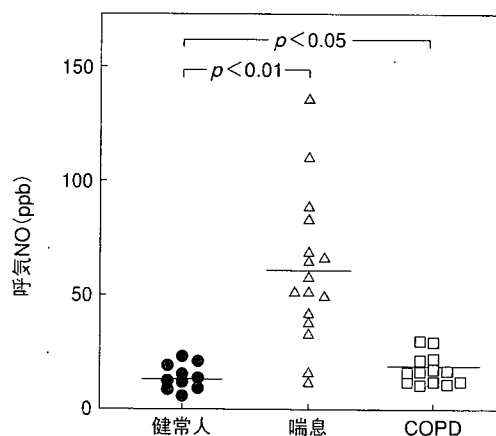


図1 呼気NO濃度と呼吸器疾患<sup>1)</sup>  
健康人やCOPD(慢性閉塞性肺疾患)に比べ喘息では呼気NOの上昇が認められる。

きく、治療反応性の指標としての有用性も示されている<sup>3)</sup>。また、呼気NO濃度を指標として気管支喘息の治療を行った場合、国際ガイドライン“Global Initiative for Asthma 2002”に基づいた治療と比べ、同程度のコントロール状態を得るために必要な吸入ステロイドの維持量を有意に減量する

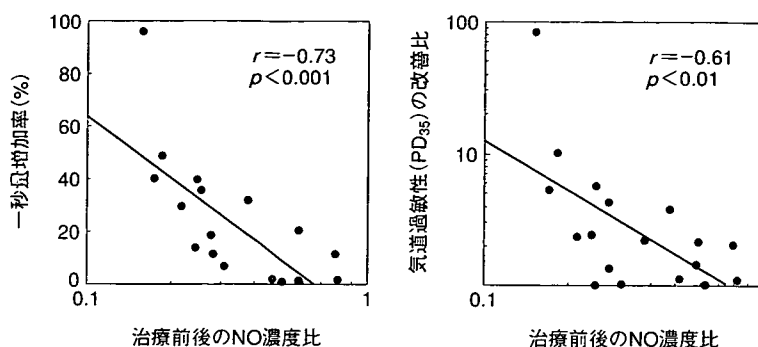


図 2 呼気NO濃度と閉塞性障害、気道過敏性の関連(文献<sup>2)</sup>より改変)  
気管支喘息患者ではステロイド治療による呼気NO濃度が減少するが、その減少の程度と閉塞性気流障害の改善(一秒量の増加)や気道過敏性の改善の程度は有意に相関する。

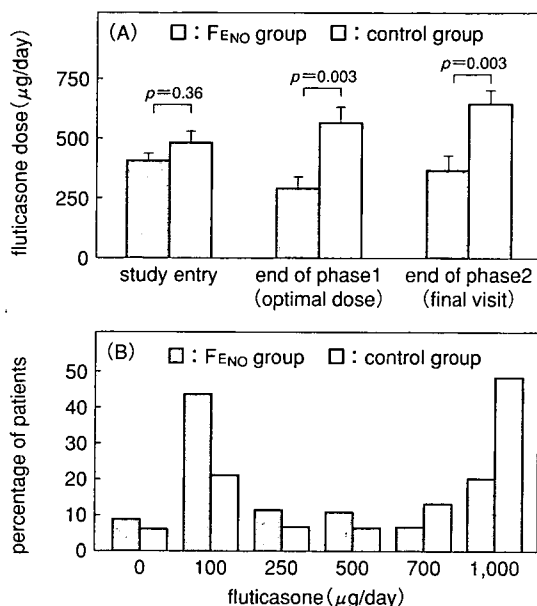


図 3 呼気NOを目安として喘息管理を行った場合とそうでない場合との比較<sup>4)</sup>

Aに示したように、呼気NO(F<sub>ENO</sub>)を目安として治療した群のほうが最終観察日での吸入ステロイド量が少なくてすむ。Bは呼気NOモニタリング群と対照群との治療最終日の吸入ステロイドの量の分布を示す。

ことができ(図3)<sup>4)</sup>、ステロイド治療を行う際の有用な指標になると考えられる。

## 2. 呼気凝縮液検査法

呼気時に気道の分岐部などで生じる乱流により気道被覆液がエアロゾル化されるが、呼気凝縮液検査法は、呼気に混じって体外に排出されてくるこのエアロゾルを、急速に冷却することで液化し

回収する方法である。したがって、呼気凝縮液中には揮発性物質ではなく、気道被覆液に含まれる種々の液性分子が含まれ、気道の炎症病態を直接評価することが可能であると考えられる。また、呼気凝縮液は15~20分間の安静換気で採取可能なため、侵襲はほとんどなく、小児から高齢者、喘息の安定期から発作期まで、繰り返しての施行が可能であるという長所をもつ。採取装置としては、据え置き型の ECoScreen(Jaeger 社)やポータブル型の RTube(Respiratory Research 社)などがある。

気管支喘息の安定期および発作期に、呼気凝縮液中には種々の物質が検出される。脂質メディエーターではプロスタグランジン類やロイコトリエン類の測定が可能であるが、喘息患者では LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>や LTB<sub>4</sub>の増加がみられ、重症例ではより顕著な増加が認められる。プロスタグランジン類似物質の 8-イソプロスタンはフリーラジカルによりアラキドン酸から産生される酸化ストレスのマーカーであるが、喘息患者で増加がみられ重症度との関連が報告されている<sup>5)</sup>。さらに最近、著者らは、喘息患者呼気凝縮液中の IL-4、TNF-α、RANTES など 9 種類のサイトカイン産生が増加していることを報告した<sup>6)</sup>。

呼気凝縮液検査は、呼気NO検査同様、繰り返して簡便に行えることから、将来の臨床応用が望まれる。



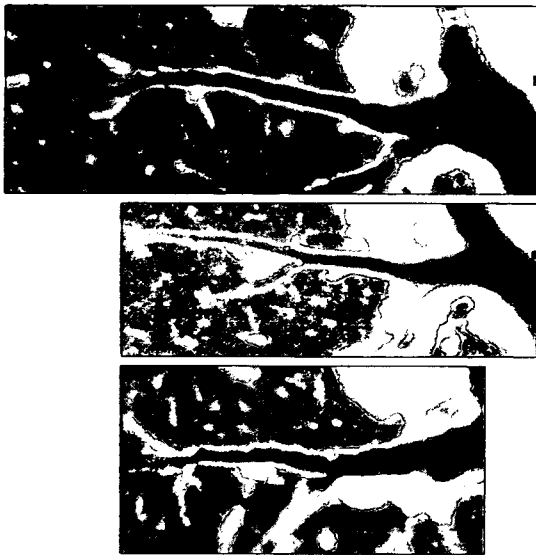


図 4. CPR(curved planar reconstruction)<sup>7)</sup>

### 三次元CT

これまで気道系の評価はおもに呼吸機能検査で行われてきたが、本検査の特性上、生体における中枢気道と末梢気道を分離して解析することは不可能である。そこで近年、high resolution computed tomography による非侵襲的な評価も試みられているが、これまでの研究では軸方向のスキャンから得られる気道の cross-section を離散的にサンプリングし、不連続的な評価を行っているのみである。最近、三次元 CT 撮影により気道を三次元的に評価することが可能になり、理論的には1本の気管支のみならば内径1mm程度までは解析可能と推測される。ここでは三次元CT撮影を用いた、中枢気道から末梢気道までの cross-section の連続的な評価法について解説する。

対象は2名の喘息患者と1名の肺気腫患者、1

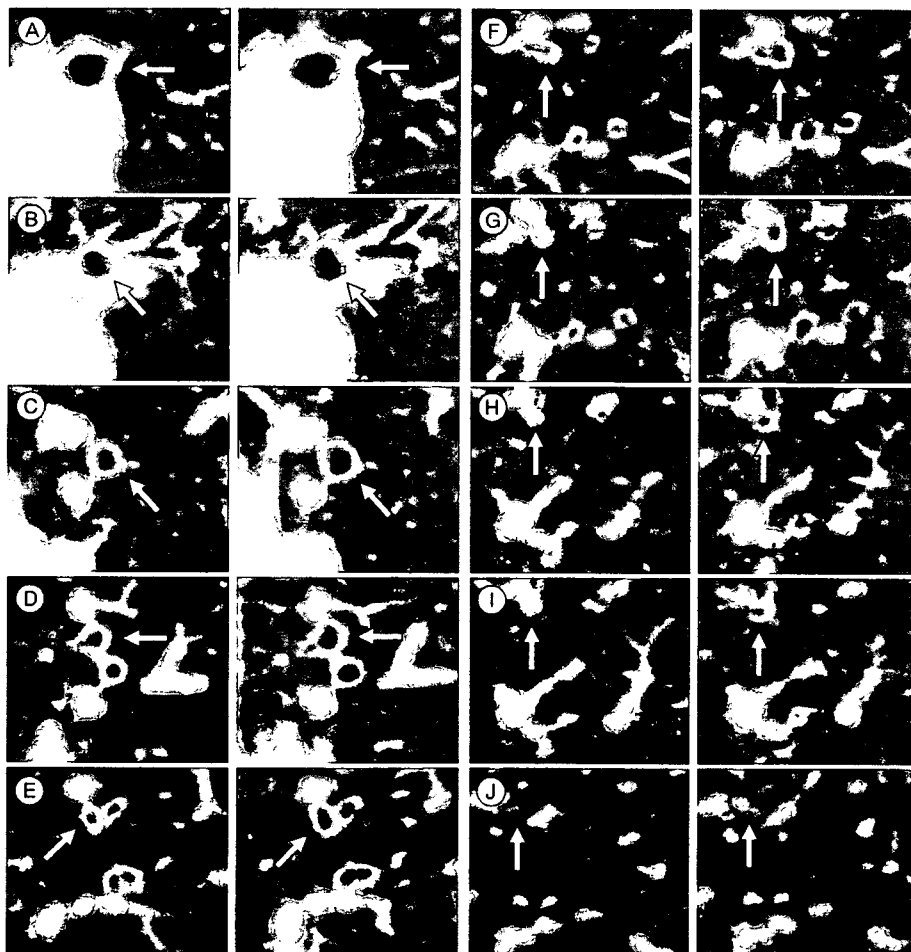


図 5 サルブタモール吸入前(左)と吸入後(右)の喘息患者の気道<sup>7)</sup>

名の健常人である。重症喘息患者では、喘鳴を聴取する時点で三次元 CT 撮影を実施した。もう 1 名の喘息患者は自覚的には無症状であるが、サルブタモール吸入で明らかな可逆性を示し、サルブタモール吸入前と吸入 30 分後に三次元 CT 撮影を実施した。また、肺気腫患者と健常人は、随時に三次元 CT 撮影を実施した。

三次元 CT 撮影と再構成法であるが、右上葉前方区域を 0.5 mm スライス厚で撮影し、再構成はピッチ 0.2 mm、関心領域(ROI)は 102.5 mm とし、拡大処理により 0.2 mm 等方体積素データを得た。気道を分岐部で segment に切り分け、それぞれについて cross-section で任意多断面再構成(MPR)の連続データを得た。MPR のスライス厚は 0.5 mm、ピッチは 0.5 mm とした。MRP の連続データから cross-section 画像を抽出し、さらにその気道を正接に切断した画像(図 4)から気道内径の計測を行った<sup>7)</sup>。

今回の三次元 CT 撮影と解析方法は気道を連続的に評価することが可能で、内径ほぼ 1 mm まで観察可能であることを明らかにした。健常人の気道は第 10 次分岐付近で内径 1 mm になっていたが、重症喘息患者の気道は中枢気道より徐々に狭くなり、第 4 次または第 5 次分岐付近で内径 1 mm となっていた。また、肺気腫患者でも、ほぼ同様に第 4 次または第 5 次分岐付近で内径 1 mm となっていた。したがって、健常人と喘息患者ではまったく異なる気管支の分岐レベルで内径 1 mm を呈することより、今後さらに詳細な解析を要する。

また、図 5 は B3b のサルブタモール吸入前(左図)と後(右図)の三次元 CT 画像を示したものである。喘息患者のサルブタモール吸入前後での内径を比較すると、吸入後は著明に可視範囲のすべての気道が拡張したが、それでも第 8 次分岐付近で内径が 1 mm 程度となっていた。また、サルブタモール吸入は可視範囲のすべての気道を拡張することが明らかになった<sup>7)</sup>。本方法で、三次元 CT で同一気道を連続的に評価することが可能であることが示されたが、1 被験者の 1 本の気道を評価

するために約 2 時間を必要とするため、臨床検査としての条件は満たされていない。

近年、一般の医療用 CT システムでも空間分解能が向上し、また CT 装置の X 線検出器のチャンネル数が増加したため、気管からかなりの細部の気道までを一度に撮影することが可能となった。そこで、最近では最新の医療用 64 チャンネルマルチスライス CT 装置を用いて気管から細部の気道までを撮影し、得られた CT 画像から気道形態の計測が試みられている。本法により、健常人の気道では気管から平均直径 1.7 mm の第 14 世代の気道まで、合計 366 本を抽出することができた。形態計測により得られた気道直径と Weibel らによって解剖学的に測定された値と比較したところ、第 7 世代まではほぼ一致した結果となった。本マルチスライス CT の空間解像度が 0.5 mm であるため、第 8 世代以降の気道に関してはすべての気道を抽出することはできていないが、本法を用いれば、生体における気道計測診断が可能と考える。

## 文献

- 1) Ichinose, M. et al.: Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **162**: 701-706, 2000.
- 2) Ichinose, M. et al.: Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component: role of airway inflammation and airway calibre. *Eur. Respir. J.*, **15**: 248-253, 2000.
- 3) Smith, A. D. et al.: Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **172**: 453-459, 2005.
- 4) Smith, A. D. et al.: Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N. Engl. J. Med.*, **352**: 2163-2173, 2005.
- 5) Montuschi, P. et al.: Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **160**: 216-220, 1999.
- 6) Matsunaga, K. et al.: Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: Correlation with physiologic properties in asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **118**: 84-90, 2006.
- 7) Tamura, G. and Suda, Y.: Airway dilatation after inhalation of a  $\beta$ -agonist. *N. Engl. J. Med.*, **352**: e14, 2005.

# COPD と喘息の鑑別診断

一ノ瀬 正和

和歌山県立医科大学医学部内科学第三講座・教授



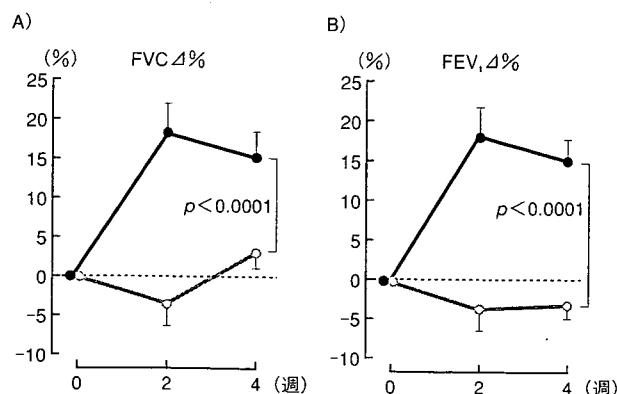
## 気管支喘息と COPD では炎症様式が異なる

気管支喘息と COPD は双方とも有病率が一般人口の 10% 程度と多く、日常診療で高頻度に遭遇する疾患である。いずれの疾患も炎症に基づく気道閉塞を特徴とするものの、両疾患の原因、病態は大きく異なっている。そのため、それぞれに適した治療戦略が求められる。

すなわち、気管支喘息の原因はアトピー性素因であり、COPD では喫煙が発症に寄与することが分かっている。従って両疾患の鑑別では、まず問診によりアトピー素因、および現在・過去を含めた喫煙歴を聴取することが重要である。

次に、両疾患では炎症様式にも違いが認められる。気管支喘息の炎症反応は好酸球および肥満細胞などが中心であり、気道過敏性亢進、粘膜浮腫、粘液分泌の増加などを伴って気道閉塞が生じる。これに対し、COPD の炎症反応は好中球、マクロファージなどを主体としたものであり、肺胞の破壊や粘液分泌の亢進を伴う気道閉塞を呈する。炎症様式の違いから、気管支喘息の気道炎症はステロイド感受性であるのに対し、COPD では基本的にステロイド抵抗性である。

図 1 COPD 患者における臭化チオトロピウム水和物の追加投与による気道の拡張効果(文献 2 より引用)



さらに、喘息と COPD では気管支拡張薬への反応性にも差異が生じる。COPD の気管支収縮は主に迷走神経由来のアセチルコリンによるものであり、抗コリン薬の気管支拡張作用のほうが  $\beta_2$  刺激薬のそれよりも勝ることが示されている<sup>1)</sup>。一方、気管支喘息では種々のメディエーターが気管支収縮に関与しているため、 $\beta_2$  刺激薬が機能的に拮抗し、気管支拡張作用をもたらす。ただし、気管支拡張反応の大きさは、気管支喘息と COPD の鑑別点としてそれほど特異度は高くないと考えられる。われわれは経皮吸収型  $\beta_2$  刺激薬を投与中の COPD 患者に対し、長時間作用型吸入抗コリン薬臭化チオトロピウム水和物を追加投与したところ、ベースラインから平均 15%、150mL 程度の 1 秒量 (FEV<sub>1</sub>) および肺活量 (FVC) の増加が認められた (図 1)<sup>2)</sup>。従って、ベース薬として  $\beta_2$  刺激薬を投与中であっても、抗コリン薬の追加投与によってさらなる気道拡張が得られたことから、気管支喘息と同様に COPD においても気道可逆性が存在すると言える。

## 臨床での気管支喘息と COPD の鑑別

気管支喘息と COPD は、①肺胞の破壊の有無、②気道過敏性の有無、③気道径の日内変動の大きさから判別が可能である。

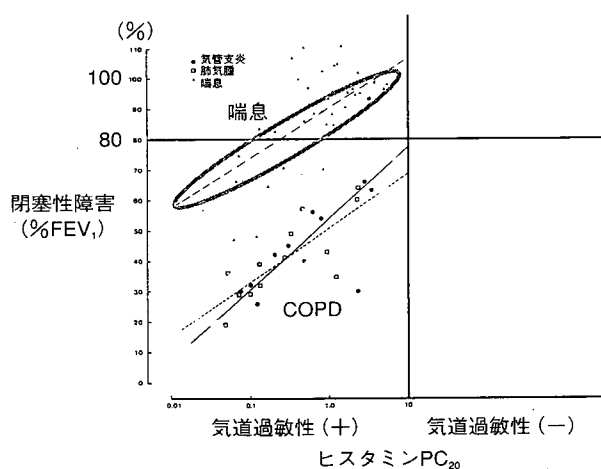
肺胞の破壊の有無に関しては、胸部 CT 検査で低吸収領域 (low attenuation area : LAA) が認められれば肺胞の破壊が疑われ、COPD の可能性が高い。また、肺拡散能 ( $D_{LCO}$ )、ボディボックス内での全肺気量測定によっても、肺胞の機能的な障害が評価できる。

気道過敏性は気管支喘息の特徴であるが、COPD でも認められることがある。しかしながら、両者の特性は異なるものであり、COPD の気道過敏性は閉塞性障害による 2 次的なものである。アストグラフ法\*などにより気道過敏性を測定後、気道閉塞の程度 (%FEV<sub>1</sub>) と気道過敏性をプロットすることに

より、どちらに属する気道過敏性であるかは判別可能である(図2)。さらに、気道過敏性の測定の際にアセチルコリン、メサコリン、ヒスタミンといったM<sub>3</sub>受容体およびH<sub>1</sub>受容体を直接刺激する方法と、ブラジキニン、運動による過換気、またはアデノシンの吸入により間接的に気管支を刺激する方法があるが、COPDの場合には間接刺激には応答しないため、間接刺激による気道過敏性試験を行うことで、容易に両者を判別することができる。

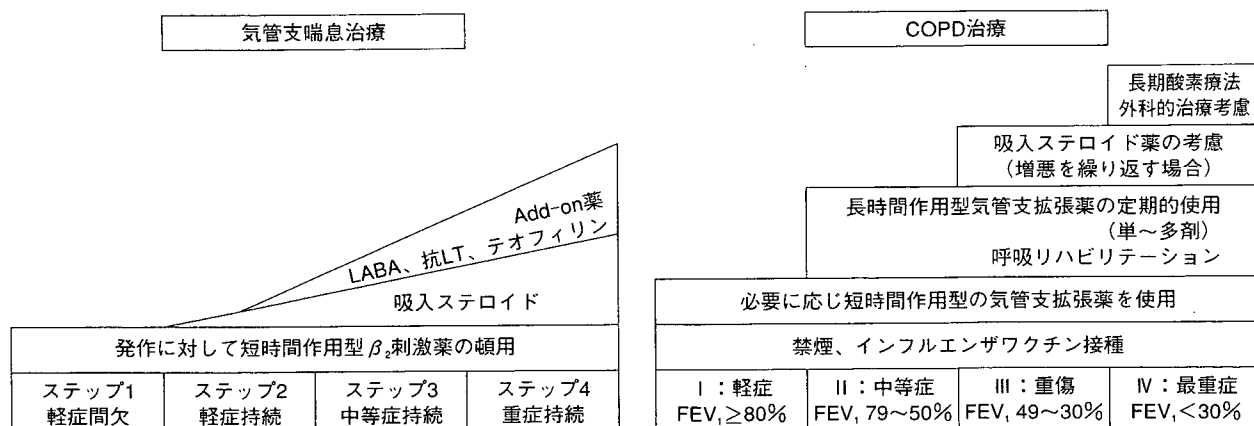
気道径の日内変動は、ピークフローモニタリングにより簡便に評価できる。ピークフローにおける健康成人の日内変動が15%以内であるのに対し、喘息患者では40~50%であることから、閉塞性障害に加えこのような変動が見られれば気管支喘息と診断できる。

図2 気管支喘息とCOPDにおける閉塞性障害(%FEV<sub>1</sub>)と気道過敏性の関連



気道過敏性と気道径：COPDでは閉塞性障害が原因

図3 気管支喘息とCOPDの治療ガイドライン



LABA：長時間作用型β<sub>2</sub>刺激薬、LT：ロイコトリエン

このほかに、非侵襲的に気管支喘息とCOPDを鑑別する手段として呼気ガス分析が挙げられる。COPD患者の呼気一酸化窒素(NO)は健康成人と比べて高値であるが、気管支喘息患者と比べて明らかに低値であり、両者の判別に有効である。

※故・滝島 任東北大学名誉教授が開発した連続吸入負荷による気道過敏性検査法

## 治療薬投与の順番に 大きな違い

喘息およびCOPDの治療は図3のガイドラインが示すように、それぞれの疾患の重症度に応じて行われ、一見すると両ガイドラインは類似しているように思われる。しかしながら薬剤投与の順番は明らかに異なり、冒頭で解説した理由から、喘息ではステロイド薬、COPDでは抗コリン薬をはじめとする気管支拡張薬が基準となっている。临床上ではいずれの疾患も軽症患者の割合が半分以上を占めることを考慮すると、初期の鑑別診断を的確に行い、薬剤選択を抗コリン薬などの気管支拡張薬中心に考えるのか、吸入ステロイド薬を中心に組み立てるのかを判断し、薬物治療を進めることが極めて重要である。

## COPDと喘息合併の可能性にも 留意すべき

気管支喘息の治療を進める上で、吸入ステロイドに他の薬剤を併用し十分な管理を行っても閉塞性障害が残存、日内変動もわずかに残るといった治療困難な症例に遭遇する。このような場合は、①通常治療でコントロール可能な喘息、②ステロイド抵抗性の喘息、③喘息とCOPDの合併、④COPDの4つの可能性を考慮して治療戦略を組み立てることが重