

治療と管理 薬物療法

薬物療法の新展開 —生理的意義と新しい可能性—

—ノ瀬正和

New development of pharmacotherapy — physiological basis and future possibility —

Masakazu Ichinose

Wakayama Medical University

Abstract

In COPD management, currently available treatments improve the quality of life (QOL) of the patients. According to the international and Japanese guidelines, long-acting bronchodilators are central to the management of COPD. Recently developed long-acting anti-cholinergic agent and β_2 -agonists show remarkable effects on COPD subjects compared with short-acting agents. The physiological explanation of the efficacy of long-acting bronchodilators seems to be due to the pharmacological volume reduction via airway dilation.

In future, we need COPD specific anti-inflammatory agents, including histone deacetylase (HDAC) activator.

Key words: pharmacological volume reduction, HDAC, oxidative stress, nitrative stress

はじめに

慢性閉塞性肺疾患(COPD)の肺・気道の炎症や、その結果起こると考えられる閉塞性障害の進展抑制に有効な薬剤は、残念ながら現時点ではまだないが、気管支拡張薬をはじめとした薬物療法は、多くの患者の症状を軽減させ、増悪の頻度や重症化を防ぐのに有用である。加えて患者のQOLを改善させ、運動能力も向上させる。よって、COPD患者に対する薬物療法は積極的に行われるべきである^{1,2)}。

1. 気管支拡張薬のCOPDに対する有効性

薬物療法の中心は気管支拡張薬であり、前稿でも述べられているように、患者の重症度に応じた段階的投与が推奨される。可能なかぎり呼吸機能検査で患者個々人の反応性を検討し、それに応じて薬剤の選択を行い、副作用に注意しながら持続的な投与を行う。閉塞性障害の改善の目安としては、1秒量の変化がゴールドen・スタンダードであるが、1秒量に変化が認められなくても、気管支拡張薬により肺の過膨張が解除され、運動耐容能の改善が認められることが報告されている事実より、薬剤の効果は肺機

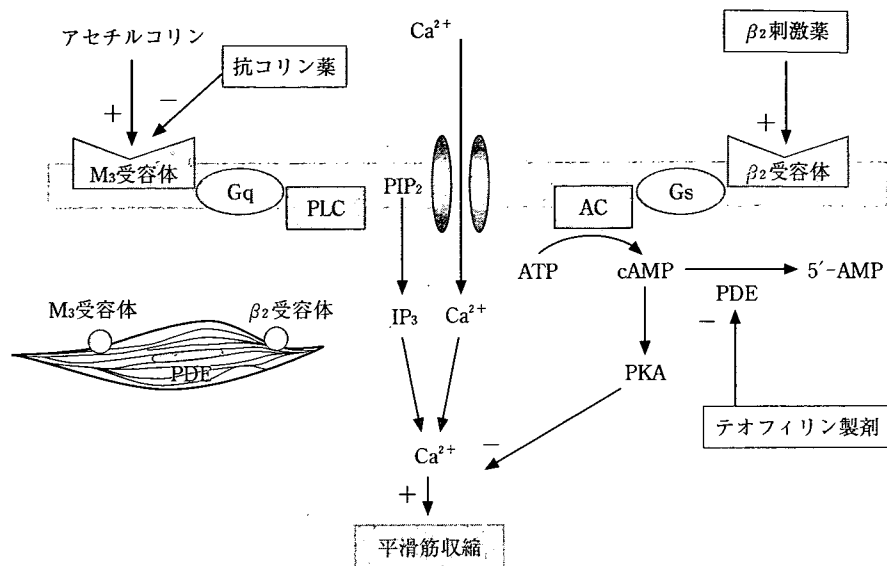


図1 気道平滑筋収縮、拡張の機序と気管支拡張薬の作用点
+は促進，-は抑制を示す。

能の変化だけでなく、患者の症状、QOL、運動能力の改善といった広い視点から評価されるべきである。

気管支拡張薬に関しては、抗コリン薬、 β_2 刺激薬、テオフィリン製剤の3種があるが、全身性の副作用の面から吸入の長時間作用型気管支拡張薬が推奨される。気管支拡張薬はそれぞれで作用機序が異なっており(図1)、単剤の用量増加より多剤併用が好ましい。

2. 長時間作用型気管支拡張薬の大きな効果とその生理的背景

COPD患者に気管支拡張薬を投与した場合の運動耐容能の改善が、1秒量の改善率とは関連せず肺容量の指標である最大吸気量(inspiratory capacity: IC)の変化量と有意に相関することがO'Donnellらによって報告されて以来(図2)、COPDにおける気管支拡張薬の有効性の機序として肺容量の減少効果が注目されている³⁾。

COPD患者では肺の気腫化によって肺が柔らかくなる(生理学的にいうと肺コンプライアンスが上昇する)。肺コンプライアンスが上昇すれば、胸郭のコンプライアンスとの釣り合い

からいって、安静呼気位(functional residual capacity: FRC)は物理的に増加する(図3)。更に、COPD患者の肺コンプライアンスの上昇と気道の狭小化は健常者と比べ呼気に時間を要し(図4)、運動時などの速い呼吸で十分な呼気に至る前に吸気が起こり、肺に空気のとらえこみ(air trapping)が起こる。このair trappingはもとも気腫化によって存在する肺の過膨張を促進し、労作時息切れなどのCOPD患者のQOL低下に関与する。

気管支拡張薬は気流制限を改善することで肺容量を減少し、更にair trappingを軽減しCOPD患者の息切れを抑制すると考えられる。実際、近年臨床応用された長時間作用型気管支拡張薬は、その持続した拡張作用に応じて患者QOLを改善する⁴⁾(図5)。

気管支拡張薬は気管支拡張作用以外の効果も示す。長時間作用型 β_2 刺激薬は気道平滑筋以外の β_2 受容体をも刺激する。例えば気道上皮に関しては、線毛運動の亢進や細菌の毒素による線毛剥離の防御といったCOPDにとって好ましい作用を示す(図6)⁵⁾。

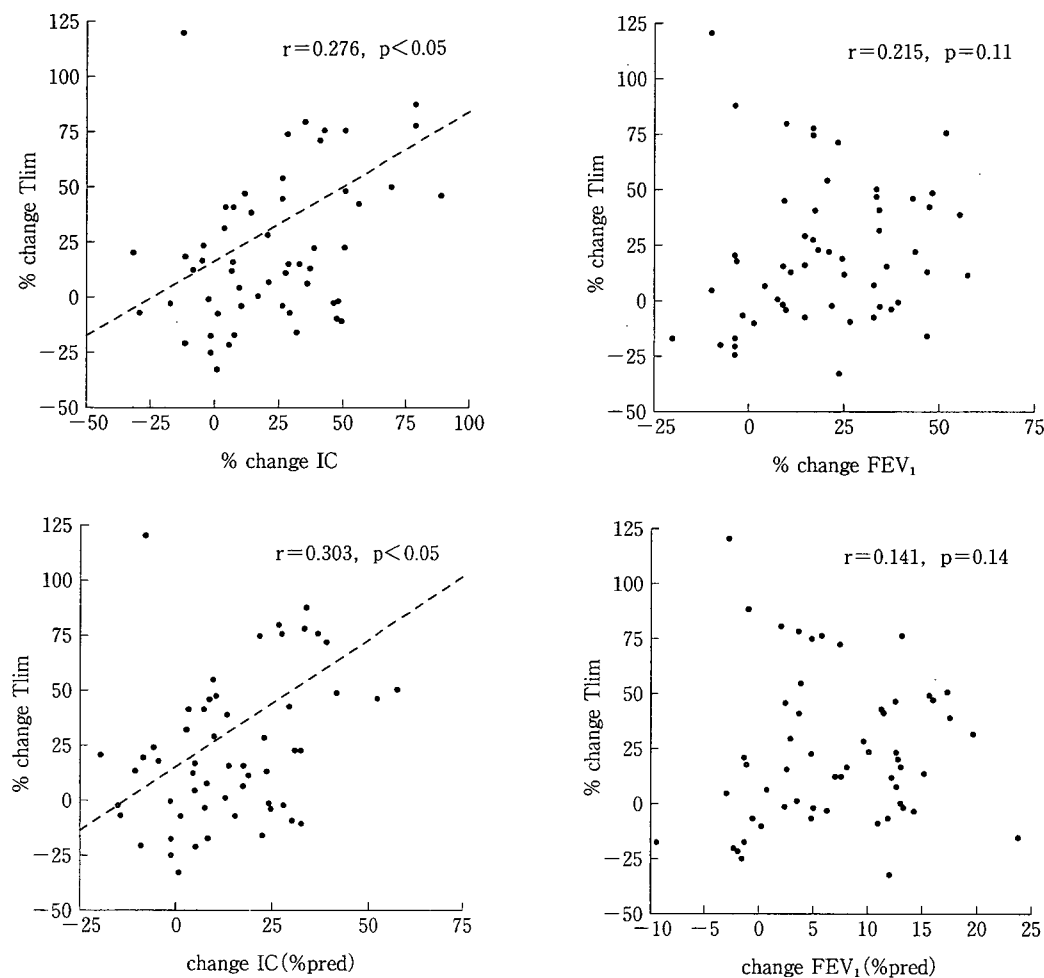


図2 気管支拡張薬による運動耐容能改善効果と呼吸機能との関連

運動時間(Tlim)の改善は1秒量(FEV₁)の変化とは関連しないが、最大吸気量(IC)の改善程度とは有意に相関する。

(文献³⁾より引用)

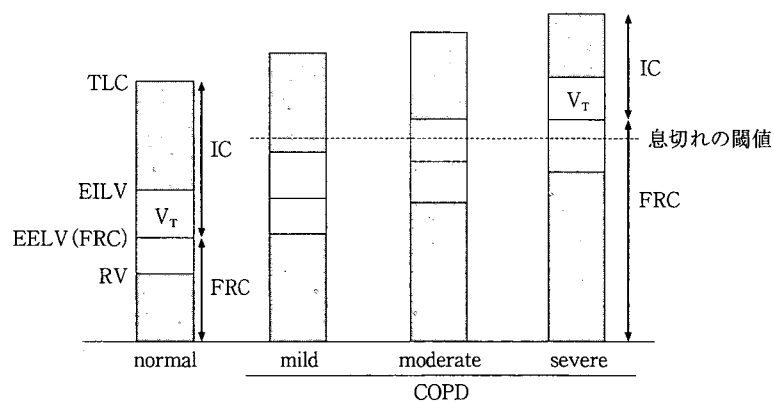


図3 COPD重症度と肺容量

COPDの重症度が増すにつれ安静呼吸位(FRC)は上昇し、最大吸気量(IC)は減少する。

1. 肺の弾性収縮力 $\downarrow = C \uparrow$
2. 気管支の外側への牽引力 $\downarrow = R \uparrow$
3. 気道狭窄 $\uparrow = R \uparrow$

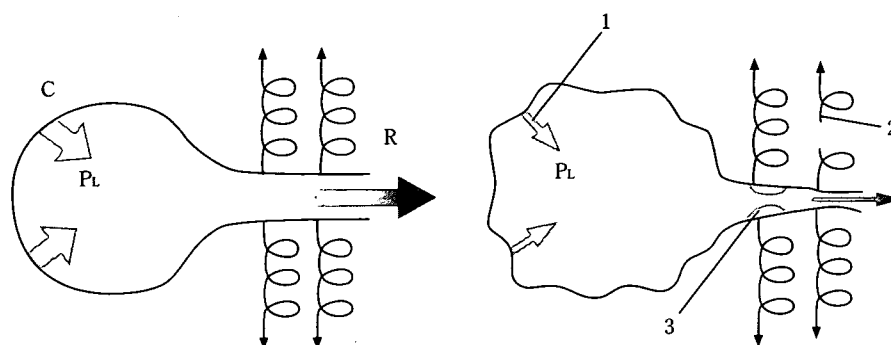


図4 エアートラッピング(時定数($t=C \times R$)の増加による)

COPDでは肺の気腫化によるコンプライアンス(C)の上昇と気道の狭小化による気道抵抗(R)の増加があり、両者の積である時定数(t)の増加、すなわち呼吸に要する時間の増加を来す。

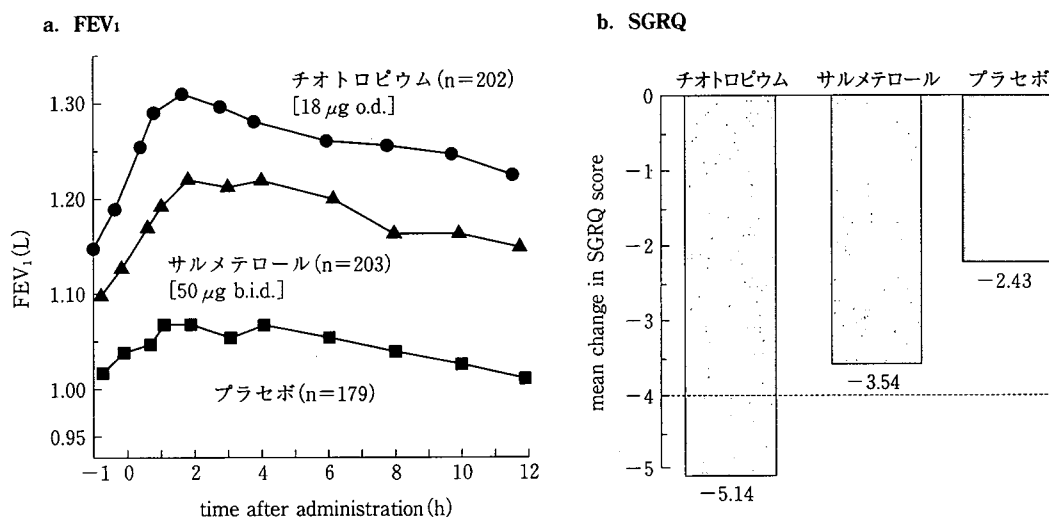


図5 長時間作用型気管支拡張薬のCOPDに対する長期効果、投与後6カ月での気管支拡張とQOL改善効果(文献⁶⁾より改変)

SGRQはCOPD特異的なQOLの指標。

平均年齢: 65yr, FEV₁=1.1L, %FEV₁=40%.

3. 新治療薬の展望

COPDの重要な病態として炎症があげられ、好中球やマクロファージの浸潤が主因と考えられている⁹⁾。こういった炎症細胞群は肺・気道に酸化・窒素化ストレスをもたらし、図7に示すように炎症制御に重要な働きをもつHDAC(ヒストン脱アセチル化酵素)のチロシンをニト

ロ化し失活化させる⁶⁾。著者らは実際のCOPD患者でテオフィリンがCOPD気道で、チロシンのニトロ化を抑制することを示したが(図8)⁷⁾, *in vitro*の検討でテオフィリンがHDACの活性を増すことも報告されている⁶⁾。より強力にHDACの作用を回復する薬剤は将来COPD治療に有効かもしれない。

その他、COPD気道では種々の炎症性サイト

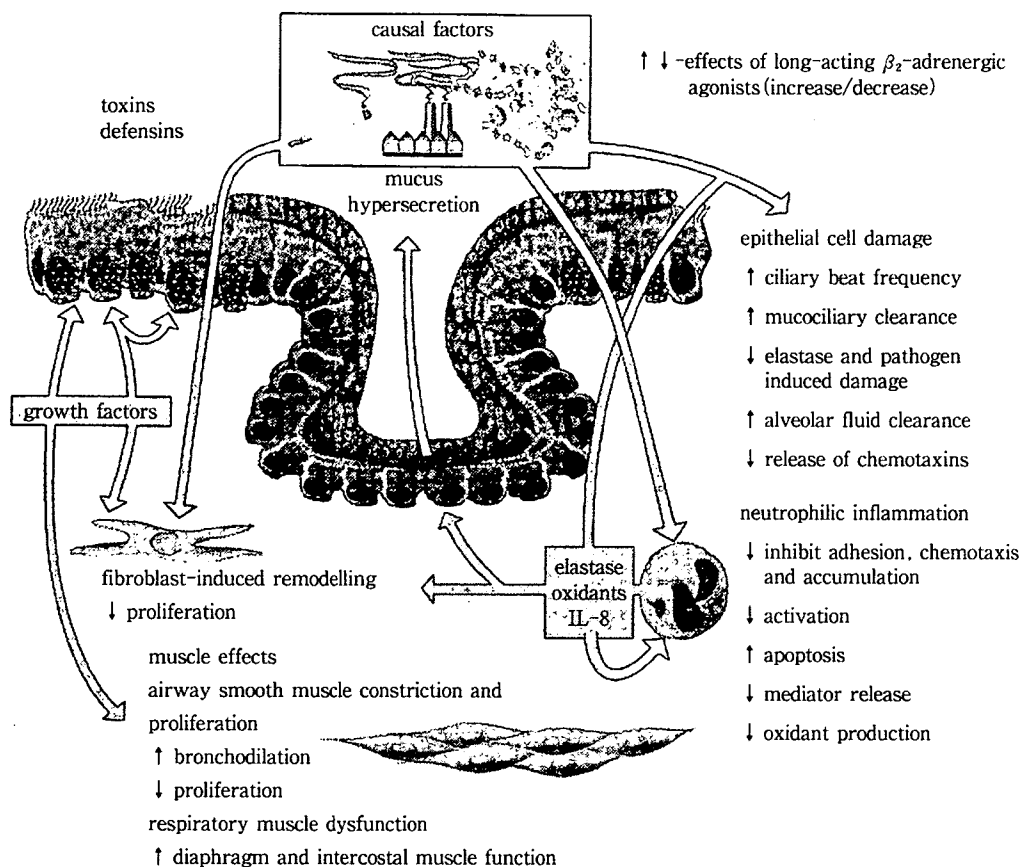


図6 気道の β_2 受容体の分布とその効果(文献⁵⁾より引用)

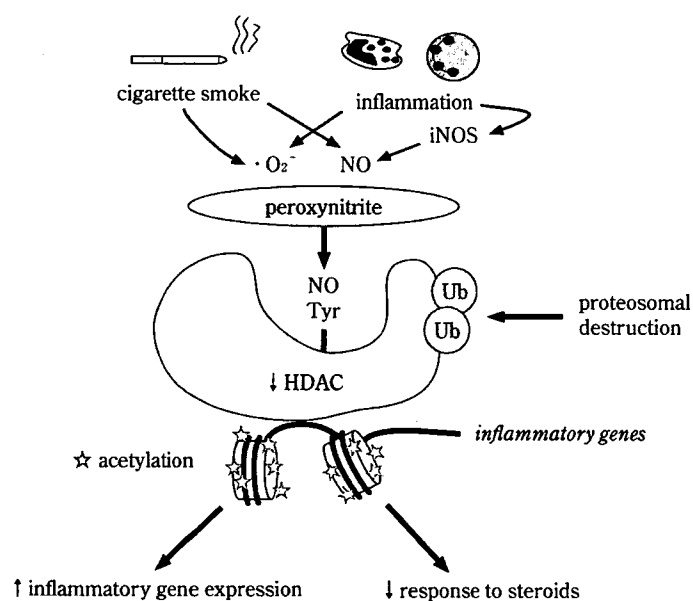


図7 酸化・窒素化ストレスによるHDAC(ヒストン脱アセチル化酵素)のチロシンのニトロ化とその失活化(文献⁶⁾より引用)

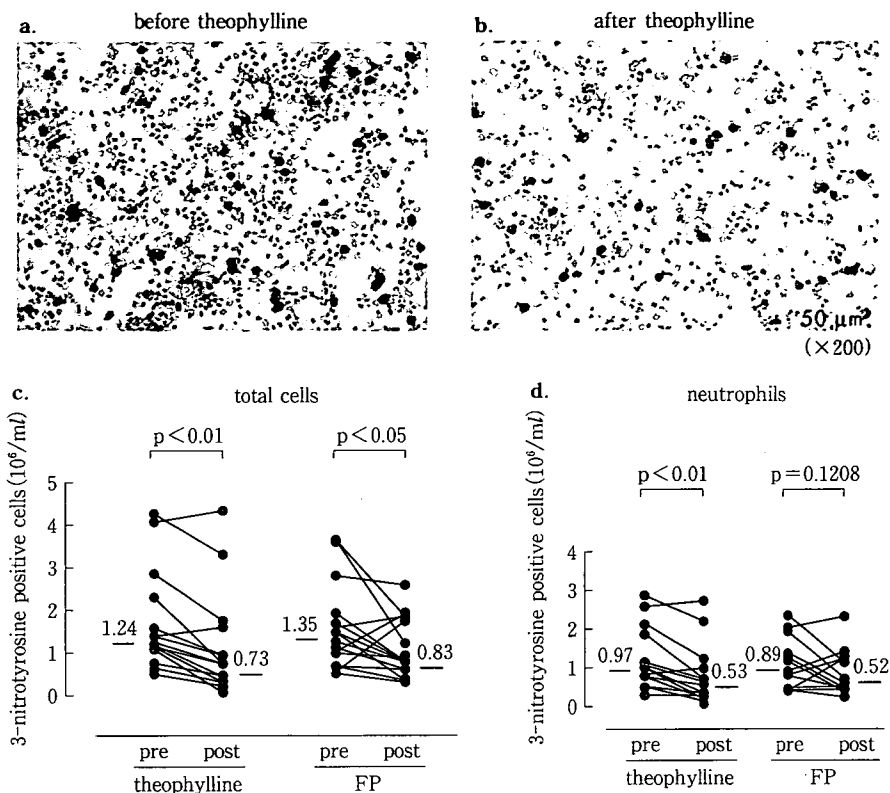


図8 テオフィリンによる COPD 喀痰のチロシンのニトロ化の抑制 (文献⁷⁾より引用)

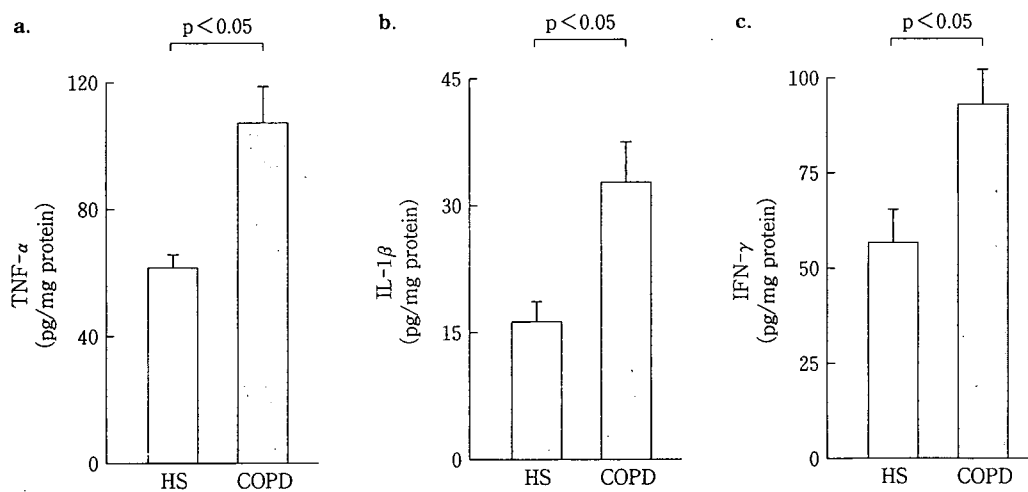


図9 気道被覆液中のサイトカイン含量 (文献⁸⁾より引用)

HS=健康人.

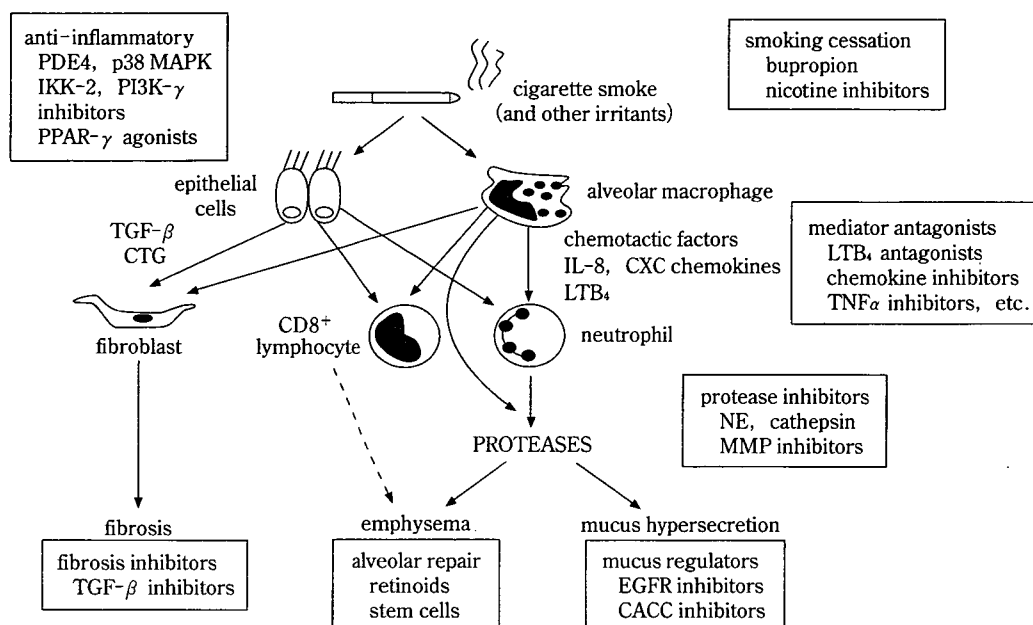


図10 COPDの炎症機序とその制御の可能性(文献⁹⁾より引用)

カインの過産生が起こっている(図9)⁸⁾。こういった炎症性サイトカインの制御や、気腫化や気道壁の線維化のそれぞれのステップでの抑制

剤がCOPDの将来の治療に有効か否かに関しては、今後の研究が待たれる(図10)⁹⁾。

□文 献

- 1) 日本呼吸器学会 COPD ガイドライン第2版作成委員会：COPD(慢性閉塞性肺疾患)診断と治療のためのガイドライン(第2版)，メディカルレビュー社，2004。
- 2) COPD 診療マニュアル(一ノ瀬正和編)，南江堂，2005。
- 3) O'Donnell DE, et al: Spirometric correlates of improvement in exercise performance after anticholinergic therapy in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 160 : 542-549, 1999.
- 4) Donohue JF, et al: A 6-month, placebo-controlled study comparing lung function and health status changes in COPD patients treated with tiotropium or salmeterol. *Chest* 122: 47-55, 2002.
- 5) Johnson M, Rennard S: Alternative mechanisms for long-acting β₂-adrenergic agonists in COPD. *Chest* 120: 258-270, 2001.
- 6) Barnes PJ: How corticosteroids control inflammation. *Br J Pharmacol* 148: 245-254, 2006.
- 7) Hirano T, et al: Inhibition of reactive nitrogen species production in COPD airways: comparison of inhaled corticosteroid and oral theophylline. *Thorax* 61: 761-766, 2006.
- 8) Komaki Y, et al: Cytokine-mediated xanthine oxidase upregulation in chronic obstructive pulmonary disease's airways. *Pulm Pharmacol Ther* 18: 297-302, 2005.
- 9) Barnes PJ: ABC of chronic obstructive pulmonary disease: future treatments. *BMJ* 333: 246-248, 2006.

I. 発症要因と病態

3. 気道炎症と気道リモデリング

Airway inflammation and remodeling in asthma

杉浦 久敏・一ノ瀬正和*

Hisatoshi Sugiura Masakazu Ichinose

和歌山県立医科大学 内科学第三講座・講師・教授*

Summary

気管支喘息は、気道の慢性炎症を特徴とする炎症性呼吸器疾患である。気道に浸潤した好酸球、リンパ球、肥満細胞などの炎症性細胞によって放出されるサイトカイン、ケモカイン、顆粒蛋白やアラキドン酸代謝産物、ラジカルがその炎症に関連していると考えられている。本稿では、気道炎症の特徴について概説し、その評価方法について紹介する。また、気道炎症によって組織の改変が進むと気道のリモデリングと呼ばれる不可逆的組織学的変化が生じ、喘息の難治化や呼吸機能の低下に関与するといわれている。気管支喘息の気道炎症の特徴を理解し、その難治化の主因と考えられる気道リモデリングについて機序と評価方法を示す。

Key words

気道炎症、リモデリング、気管支喘息、
気道過敏性、閉塞性障害

はじめに

気管支喘息は、気道に浸潤した炎症性細胞による刺激によって引き起こされる気管支粘膜の発赤、腫脹といった気道炎症を特徴とする炎症性呼吸器疾患である。この気道炎症が、何らかの原因で制御されず長期間持続した際に、組織の改変(リモデリング)が生じると考えられている。

本稿では、気管支喘息でみられる気道炎症と、それに引き続いて生じる気道リモデリングに対する研究の変遷について、最近の知見も交えて概説する。

I 気道炎症

1. 気道炎症の機序

気管支喘息の気道炎症の機序としては、図1に示すように、抗原抗体反応によって気道に浸潤したリンパ球、好酸球、肥満細胞から放出された顆粒分子、炎症性サイトカイン、化学伝達物質によって惹起されることが、近年の研究によって明らかとなってきた¹⁾⁻³⁾。気道に浸潤した好酸球は、主要塩基性蛋白(major basic protein; MBP)、好酸球陽イオン蛋白(eosinophil cationic protein; ECP)、好酸球

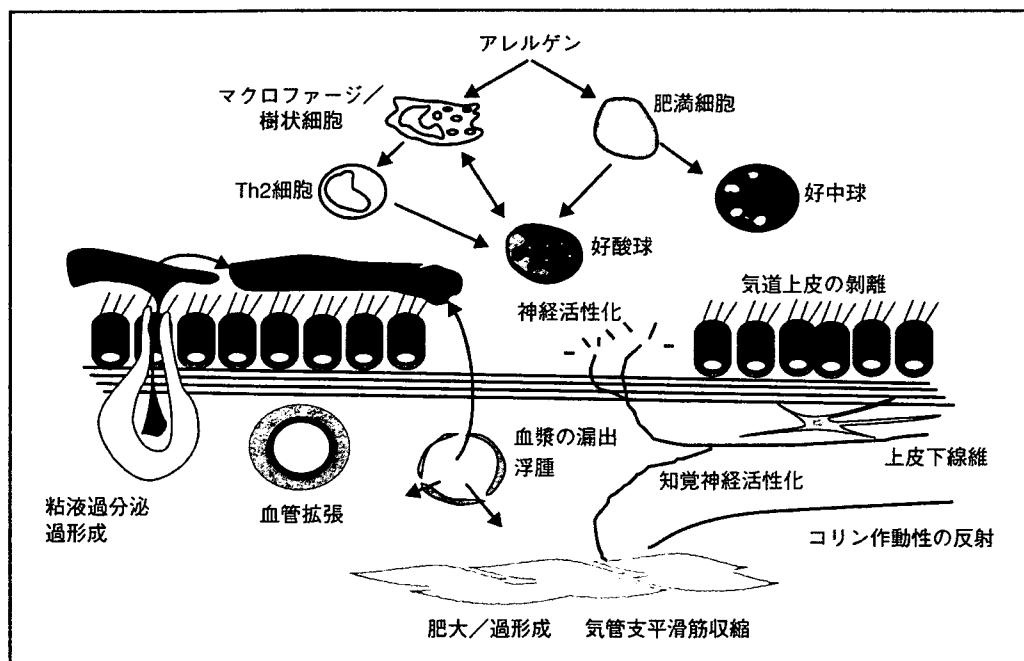


図1. 気管支喘息の気道炎症

(文献1)より引用、一部改変)

ペルオキシダーゼ(eosinophil peroxidase; EPO)のような好酸球性の顆粒蛋白を放出するが、これらの顆粒蛋白は気道上皮の剥離作用を有しているため、気管支喘息における気道粘膜の病理所見である気道上皮の剥離が生じる⁴⁾⁵⁾。気道上皮が傷害されると、気道の知覚神経が露出することによって知覚神経による神経原性炎症を惹起すると考えられ、神経伝達物質であるサブスタンスP(substance P; SP)やニューロキニンA(neurokinin A; NKA)は気道壁の血管拡張や血漿の漏出に関与し、気管支壁の腫脹や気管支平滑筋の収縮を引き起こすことによって、喘息気道の狭窄に関与すると考えられる⁶⁾⁷⁾。気道上皮の剥離は抗原や刺激の気管支壁への到達性を高めるため、さらに気道炎症の増強に働くと考えられる。また、好酸球や肥満細胞から放出されるロイコトリエンやヒスタミン、プロスタグランジンは、気道血管透過性を亢進させたり、気管支平滑筋を収縮させることで、気道の狭窄に関与する⁸⁾⁹⁾。また、T細胞から産生されるインターロイキ

ン(interleukin; IL)-4, IL-5, IL-13のようなTh2系のサイトカインは、免疫グロブリン(immunoglobulin; Ig)Eの産生や好酸球の組織への誘導、活性化を介して、気管支喘息の気道炎症そのものを増悪させると考えられる^{10)・12)}。さらに、好酸球、マクロファージといった炎症性細胞や気道上皮細胞から放出される一酸化窒素(nitric oxide; NO)は、活性酸素と反応することでより細胞傷害性の強いパーオキシナイトライト(peroxynitrite)を産生して気道の炎症を増悪させており、気道のリモデリングにも関与することが最近の研究で明らかになった^{13)・15)}。

2. 気道炎症の評価方法

近年、気道炎症の評価方法も進歩してきた。気管支喘息が気道の炎症性呼吸器疾患であるとの認識に基づき、その評価は病勢の把握、治療法の選択および治療効果の判定に際し、必須であると考えられる。

1) 喀痰中好酸球数

喀痰中の好酸球数を計測することは、気管支喘息の診断のみならず、気道の炎症程度を評価するうえで重要であると考えられる。誘発喀痰法が考案されてから¹⁶⁾、より容易に検体採取が可能となった。こうして得られた喀痰中の好酸球数は、病勢¹⁷⁾、気道過敏性の程度¹⁸⁾ともよく相関するといわれており、臨床的にも有用である(図2)。

2) 呼気ガス中NO濃度

Kharitonovらは、気管支喘息患者の呼気ガス中のNO濃度に着目し、気管支喘息患者では健常人に比較して、有意に呼気ガス中のNO濃度が上昇していることを報告した¹⁹⁾。本研究により、気管支喘息におけるNOの役割がクローズアップされたが、同

時に気道の炎症程度を敏感に反映するマーカーとして、現在多くの施設で測定されており、現在のところ、気道炎症を評価するうえで最も有用な検査法とされている²⁰⁾。本法の最大の利点は、患者への負担が非常に少ない点である。最大吸気位から約20秒ほど呼出するだけで、低侵襲で非常に再現性の高いデータが得られる。図3に呼気ガス中NO濃度の測定の実際を示す。

3) 呼気凝縮液

誘発喀痰法より、さらに患者への侵襲が少ない方法として考案された²¹⁾。呼気を直接、-20度の冷却装置で冷やすことで、呼気中に含まれるとされている気道の被覆液を採取する方法である。現在までのところ、気管支喘息ではサイトカインやケモカイン

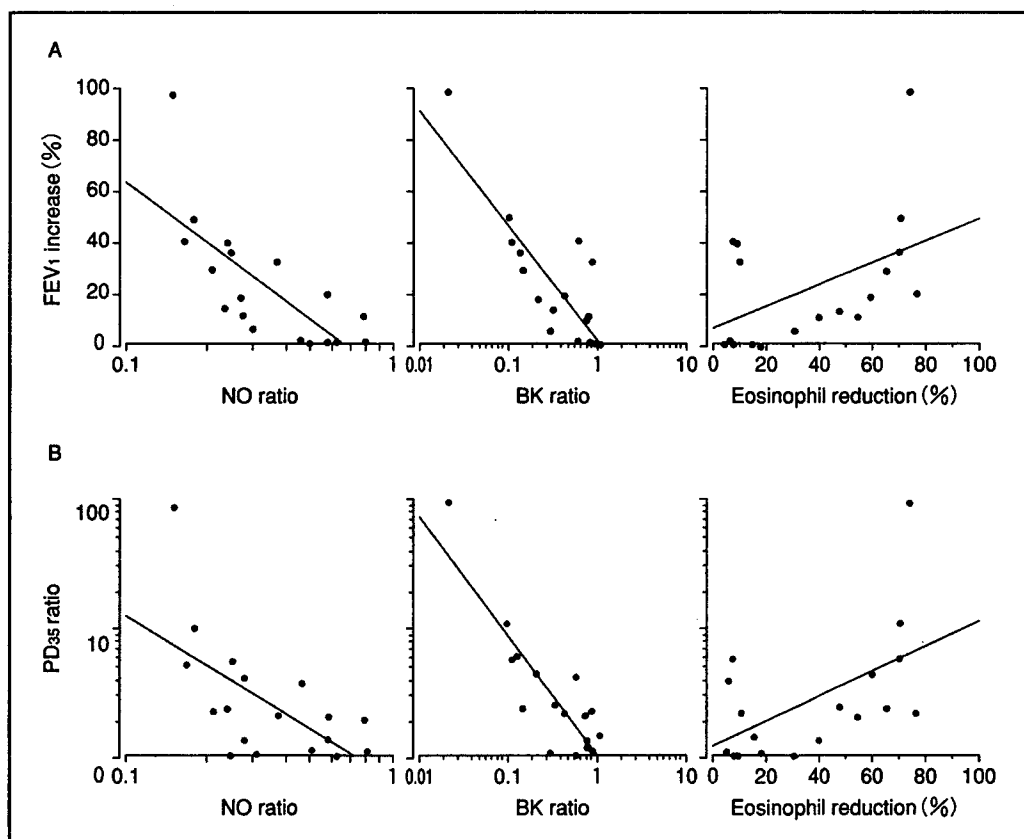


図2. 吸入ステロイド薬による気道の炎症パラメーター改善効果と1秒量改善(A)および気道過敏性改善(B)の相関¹⁸⁾

BK: プラジキニン

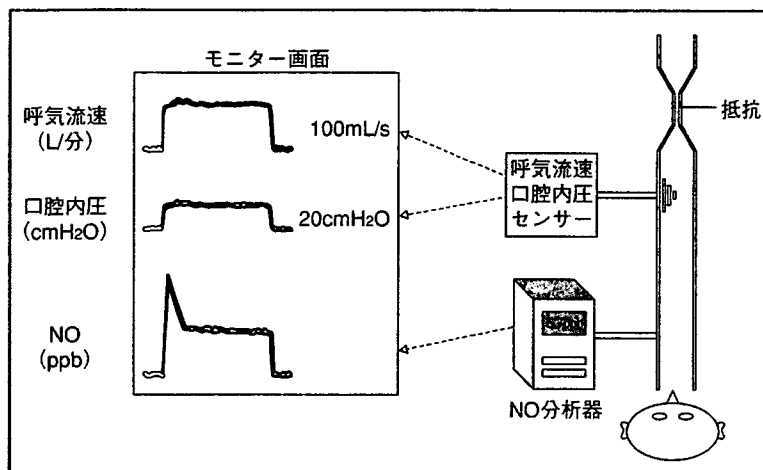


図3. 呼気ガス中NO濃度の測定の実際
NO : nitric oxide

を含め、種々のメディエーターが測定されている。

II 気道リモデリング

1. 気道リモデリングの定義・原因

気道リモデリングとは気道の不可逆的な構造変化のことで、気道上皮基底膜下の線維性肥厚、気道粘膜下腺の増生や杯細胞過形成、気管支平滑筋の腫大・過形成、血管増生が関与していると考えられる²²⁾。従来の考えでは、気道リモデリングは長期間にわたる気道炎症の結果、生じてくる器質的变化と考えられてきたが、気道リモデリングの程度と気管支喘息の罹病期間が必ずしも相関を認めないことから、その形成にはいまだ不明な点も多い²³⁾²⁴⁾。気道リモデリングの原因については、生じてくる病理学的変化によって異なると考えられる。つまり、気道リモデリングの代表的所見である基底膜下肥厚は、近年の電子顕微鏡を用いた検討によって、その主体がコラーゲンやフィブロネクチンの基底膜下への沈着であることがわかってきた。この病理学的変化は、好酸球を主体とする炎症性細胞から放出される形質転換増殖因子(transforming growth factor ; TGF)- β 1が、線維芽細胞を活性化することによって生じうる変化であると考えられている²⁵⁾²⁶⁾。また、IL-4、IL-13、IL-9などのTh2サイトカインは、気道粘膜下腺の増生や杯細胞過形成を惹起すると報告されている²⁷⁾。気管支平滑筋の腫

大・過形成は上皮増殖因子(epidermal growth factor ; EGF)や血小板由来増殖因子(platelet derived growth factor ; PDGF)がその形成に関与していると報告されている²⁸⁾。さらに、気道の血管増生に関しては血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor ; VEGF)、PDGFがその形成に関与していると考えられている²⁹⁾。

2. 気道リモデリングの評価方法

1) 気管支鏡による組織生検による評価

気道のリモデリングを最も正確に評価する方法として、従来より気管支鏡による組織生検が行われてきた。Benayounらによると、生検組織から得られた気管支平滑筋は、気管支喘息患者では健常人に比べ有意に肥厚しており、喘息の重症度とも相関していた³⁰⁾。また、Liらによると、気管支喘息患者の気道では有意に血管数と気道壁に占める面積が増大しており、気道過敏性の程度と相関していた³¹⁾。これら病理組織学的検討は、多くの形態学的変化を捉えるには非常に有用であるが、気管支鏡検査は侵襲的で、全例に施行することは困難であるので、臨床応用は困難である。

2) CTを用いた評価

Niimiらは、ヘリカルCTを用いて気道壁の厚さを定量的に解析し、気道壁の厚さと気管支喘息の罹病期間、重症度、気流制限の程度が相関したと報

告した。測定部位が限局され、気道リモデリングに関与する成分が同定できない問題点もあるが、低侵襲で容易に検査が可能であるという利点がある³²⁾。

3) 生理学的評価

気道リモデリングを生理学的指標を用いて評価しようとする試みは、以前から行われてきた。気道リモデリングの病理学的所見である気道上皮基底膜下の肥厚の程度と、1秒量および気道過敏性の間には、有意な相関を認めた²³⁾とする報告と相関を認めなかったとする報告²⁴⁾があり、明確な結論は得られていない。

4) 生化学的評価

気道のリモデリングには、マトリックスメタロプロテイナーゼ(matrix metalloproteinases; MMPs)や組織メタロプロテイナーゼ(tissue metalloproteinases; TIMPs), TGF- β やPDGFなどのプロテアーゼやアンチプロテアーゼ、各種成長因子が関与していることが動物実験を含めた基礎的検討から知られている。以前の報告によると、気管支喘息患者ではMMP-9とTIMP-1の比が予測1秒量と有意に相関したことから、気道リモデリングを評価する1つの方法であると考えられる³³⁾。

おわりに

以上、気管支喘息の気道炎症の特徴と気道リモデリングについて、その評価方法も含めて概説してきた。近年の研究の進展により、気道炎症の病態および気道リモデリングの機序も徐々に解明されてきた。今後、難治性の気道炎症のコントロールおよび気道リモデリングの制御に対するさらなる検討が待ち望まれるところである。

文 献

- 1) Barnes PJ : New drugs for asthma. *Nat Rev Drug Discov* 3 : 831-844, 2004
- 2) Boushey HA, Corry DB, Fahy JV : Asthma. in *Textbook of respiratory medicine*. ed by Murray JF, Nadel JA. New York, Philadelphia, 1247-1289, 2000
- 3) Ichinose M, Barnes PJ : Cytokine-directed therapy in asthma. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 3 : 263-269, 2004
- 4) Busse WW, Nagata M, Sedgwick JB : Characteristics of airway eosinophils. *Eur Respir J Suppl* 22 : 132s-135s, 1996
- 5) Holgate ST : Epithelial damage and response. *Clin Exp Allergy Suppl* 1 : 37-41, 2000
- 6) Barnes PJ : Neurogenic inflammation in the airways. *Respir Physiol* 125 : 145-154, 2001
- 7) Joos GF, Germonpre PR, Pauwels RA : Role of tachykinins in asthma. *Allergy* 55 : 321-337, 2000
- 8) Drazen JM : Leukotrienes in asthma. *Adv Exp Med Biol* 525 : 1-5, 2003
- 9) Chung KF, Rogers DF, Barnes PJ, et al : The role of increased airway microvascular permeability and plasma exudation in asthma. *Eur Respir J* 3 : 329-337, 1990
- 10) Busse WW, Lemanske RF Jr : Asthma. *N Engl J Med* 344 : 350-362, 2001
- 11) Barnes PJ, Chung KF, Page CP : Inflammatory mediators of asthma ; an update. *Pharmacol Rev* 50 : 515-596, 1998
- 12) Chung KF, Barnes PJ : Cytokines in asthma. *Thorax* 54 : 825-857, 1999
- 13) Beckman JS, Beckman TW, Chen J, et al : Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite ; implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87 : 1620-1624, 1990
- 14) Sugiura H, Ichinose M, Oyake T, et al : Role of peroxynitrite in airway microvascular hyperpermeability during late allergic phase in guinea pig. *Am J Respir Crit Care Med* 160 : 663-671, 1999
- 15) Sugiura H, Liu X, Kobayashi T, et al : Reactive nitrogen species augment fibroblast-mediated collagen gel contraction, mediator production and chemotaxis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 34 : 592-599, 2006
- 16) Pin I, Gibson PG, Kolendovicz R, et al : Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 47 : 25-29, 1992
- 17) Pavord ID, Sterk PJ, Hargreave FE, et al : Clinical applications of assessment of airway inflammation using induced sputum. *Eur Respir J Suppl* 37 : 40s-43s, 2002
- 18) Ichinose M, Takahashi T, Sugiura H, et al : Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component ; role of airway inflammation and airway calibre. *Eur Respir J* 15 : 248-253, 2000
- 19) Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, et al : Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic

- patients. *Lancet* 343 : 133-135, 1994
- 20) Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, et al : Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 352 : 2163-2173, 2005
 - 21) Dohlman AW, Black HR, Royall JA : Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 148 : 955-960, 1993
 - 22) Busse WW, Banks-Schlegel S, Wenzel SE : Pathophysiology of severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106 : 1033-1042, 2000
 - 23) Chetta A, Foresi A, Del Donno M, et al : Bronchial responsiveness to distilled water and methacholine and its relationship to inflammation and remodeling of the airways in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 153 : 910-917, 1996
 - 24) Roche WR, Beasley R, Williams JH, et al : Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1 : 520-524, 1989
 - 25) Hoshino M, Nakamura Y, Sim JJ : Expression of growth factors and remodelling of the airway wall in bronchial asthma. *Thorax* 53 : 21-27, 1998
 - 26) Ohno I, Nitta Y, Yamauchi K, et al : Transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) gene expression by eosinophils in asthmatic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 15 : 404-409, 1996
 - 27) Shim JJ, Dabbagh K, Takeyama K, et al : IL-13 induces mucin production by stimulating epidermal growth factor receptors and by activating neutrophils. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 280 : L134-L140, 2001
 - 28) Wong WS, Leong KP : Tyrosine kinase inhibitors ; a new approach for asthma. *Biochim Biophys Acta* 1697 : 53-69, 2004
 - 29) Hoshino M, Takahashi M, Aoike N : Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 107 : 295-301, 2001
 - 30) Benayoun L, Druilhe A, Dombret MC, et al : Airway structural alterations selectively associated with severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 167 : 1360-1368, 2003
 - 31) Li X, Wilson JW : Increased vascularity of the bronchial mucosa in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 229-233, 1997
 - 32) Niimi A, Matsumoto H, Amitani R, et al : Airway wall thickness in asthma assessed by computed tomography. Relation to clinical indices. *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 1518-1523, 2000
 - 33) Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A, et al : Sputum metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 158 : 1945-1950, 1998

COPD

—炎症性メディエーターの測定と気道炎症の評価—

杉浦久敏* 一ノ瀬正和*

要 旨

近年，気道被覆液（ELF）を採取する方法として，気管支鏡下マイクロサンプリング（BMS）法が開発された。本方法を用いて，健康人と慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者の ELF 中の酸化ストレスマーカーおよび炎症性メディエーター，アルブミン濃度を測定したところ COPD 群で有意に増加しており，気道炎症の増強が示唆された。本稿では BMS 法の利点と COPD を対象とした今後の展望について詳述する。

Key words：気管支鏡下マイクロサンプリング，慢性閉塞性肺疾患，気道炎症，酸化ストレス，炎症性メディエーター/Bronchoscopic microsampling, chronic obstructive pulmonary disease, airway inflammation, oxidative stress, inflammatory mediator

1 はじめに

気道は気道被覆液（epithelial lining fluid：ELF）と呼ばれる約 5～20 μm の液層で覆われている。ELF は，気管支上皮の直上に積層する粘調度の低いゾル層とその上に積層する粘調度の高いゲル層からなり，本法はこの ELF を気管支鏡を用いて，直視下に採取する方法である。気道の液性成分を回収する方法としては，従来より気管支肺胞洗浄（bronchoalveolar lavage：BAL）が行われてきたが，後述するように種々の問題点が存在する。本法はこれらの問題点を克服するために石坂らによって考案された方法で，その応用範囲は広い¹⁾。本項では，当教室において，気管支鏡

下マイクロサンプリング（bronchoscopic microsampling：BMS）法を用いて，慢性閉塞性肺疾患（chronic obstructive pulmonary disease：COPD）患者を対象に行った結果を中心に概説し，今後の本法の可能性について論じる。

2 Lung liquid に関する検査法

気道の液性成分を回収する方法としては BAL や誘発喀痰が従来より施行されてきたが，後述するように種々の問題点を持つ。本法はこれらの従来法での問題点を克服するために考案された新しい検査法である。本法の長所としては，以下の点が挙げられる。

Measurement of Inflammatory Mediator and Assessment of Airway Inflammation in Patients with COPD
Hisatoshi SUGIURA*, Masakazu ICHINOSE*

* Third Department of Internal Medicine, Wakayama Medical University School of Medicine, Wakayama

* 和歌山県立医科大学内科学第三講座（〒641-8510 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1）



図 1 マイクロサンプリングプローベ

先端のプローベ部位は約 3 cm、外径 1.1 mm である。数種類の径のプローベが発売されている。

- ① 侵襲度が低い：感染や血液ガスの悪化を招来しない。そのため、繰り返し施行が可能である。
- ② ELF を原液で採取可能：BAL や誘発喀痰のように、希釈されない特徴を有する。また、BAL のように回収率が問題としない。
- ③ 直視下で標的部位より採取可能：BAL に比較し、標的部位の情報を正確に弁別できる。

これらの利点は、本稿の対象疾患である COPD においても、有用であると考えられる。

3 BMS の手順の実際

マイクロサンプリングプローベは、サイズが数種類あり、用途によって適宜、使い分けが可能になっている (図 1)。本項では実際に当教室で行われている BMS 法の実際の手順と検体処理について述べる。マイクロサンプリングプローベは、先端に長さ、約 30 mm、

径、約 1.1 mm の吸水性のプローベがついており、そのプローベを気管支鏡の鉗子口より挿入し、標的部位の気道粘膜に押し当てる。その際、事前に十分に局所麻酔薬の吸引が必要である。また、プローベの接着時は、患者に呼吸を止めさせることも出血予防の観点から重要である。約 10 秒ほど気道粘膜に接着させてから、プローベを回収する (図 2)。この際、出血させないことが重要である。通常は、上記操作を 3 回繰り返し、検体を採取している。回収したプローベは先端の吸水部を切り離し、直ちに 1 本あたり 1.0 cc の生理食塩水に入れ、攪拌し、ELF を溶出させる。攪拌後、プローベを取り出し、プローベの湿重量から乾燥重量を差し引くことで検体量を算出する。最近、当教室では、より濃度の濃い検体を得るために、直接、プローベをエッペンドルフチューブに入れ、遠心することで検体を抽出している。



図 2 BMS 法の実際

出血しないよう留意し，10 秒程度，粘膜面に押し当て，気道被覆液（ELF）を回収する。

4 BMS 法を用いた COPD における検討

ELF 中には，疾患の病態を反映するさまざまな物質が存在する。BMS 法のもつ優れた定量性を利用することで COPD 患者において下記に示す物質の定量評価が可能となった。

BMS 法を用いて，当教室で行った COPD に対する検討を以下に示す。

1) 酸化ストレスの検討

COPD では，その病因の一つにオキシダント/アンチオキシダントの不均衡が挙げられる。喫煙などの刺激により，COPD 患者では，外因性および内因性の酸化ストレスが生じていると報告されている。われわれは，酸化ストレスを考えるうえで最も重要な target である活性酸素の産生酵素である，キサンチンオキシダーゼ（xanthine oxidase：XO）に着目し，BMS 法を用いて，気道の XO 活性について検討した。図 3 に示すように XO 活性は，健常人群と比較して COPD 患者群では有意に上昇していることが確認された²⁾。また，ヒト手術肺検体を用いて，その産生細胞を免疫染色を用いて同定したところ，気管支上皮，肺泡マクロファージ，II 型肺泡上皮細胞，血管内皮細胞に存在することが示された。以上の結果より，COPD 患者では，XO より産生される活性酸素による酸化ストレスが健常人に

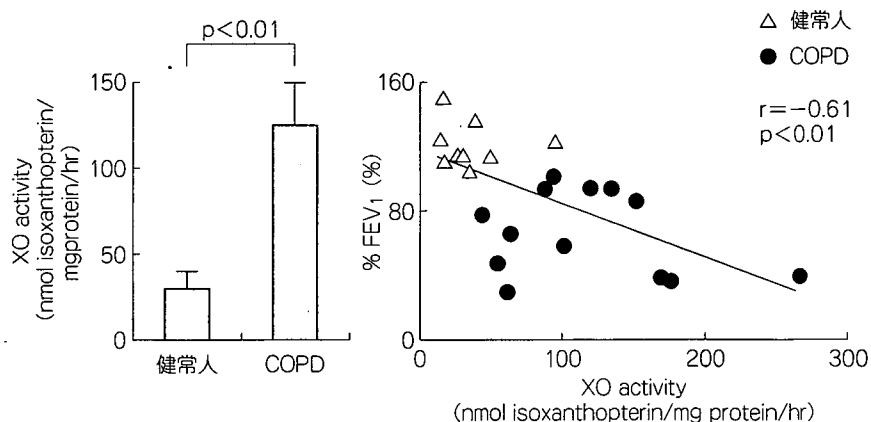


図 3 健常人，COPD 患者群における ELF 中の XO 活性と呼吸機能との相関
XO 活性は COPD 群で有意に増強していた。また XO 活性は呼吸機能と負の相関を示した。

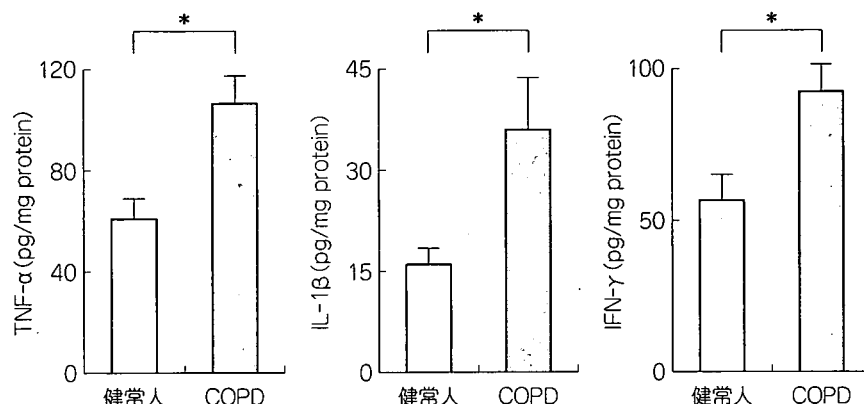


図 4 健康人、COPD 患者群における ELF 中の炎症性サイトカインの定量
COPD 群では炎症性サイトカインの産生が有意に増加していた * $p < 0.05$

比べて大きいことが示唆された。

2) 炎症性サイトカインの検討

COPD 患者では、病変部位である気道に、マクロファージ、好中球、CD8 陽性 T 細胞の浸潤を認める。これらの炎症細胞から放出されるサイトカインは、COPD の気道炎症を増悪させると考えられる。これらサイトカインの中で、Tumor necrosis factor- α (TNF- α)、Interferon- γ (IFN- γ)、Interleukin-1 β (IL-1 β) は、COPD で特に重要と考えられる。また、これらの炎症性サイトカインは、前述した XO の発現を強力に誘導することが知られている。BMS 法を用いて、健康人群と COPD 患者群でその産生量を比較すると、図 4 に示すように、COPD 患者群で有意にその産生が増加していることが示された²⁾。また、これら炎症性サイトカインの産生量は予測 1 秒量 (%FEV₁) や予測肺拡散能 (%DLco) と有意に相関することから、その病態への関与が示唆された (図 5)²⁾。さらに、炎症性サイトカインの産生量は、XO 活性と有意に正の相関を示すことから、酸化ストレ

スの増強にも関与している可能性も示唆された (図 6)²⁾。

3) 血管透過性の検討

COPD 患者の気道では、好中球を主体とする、炎症細胞の気道内への浸潤により、気道の炎症が認められる。血管透過性の亢進は、気道炎症の程度を評価するうえで、重要と考えられる。われわれは、この血管透過性亢進を評価する目的で、BMS 法を用いて、ELF 中の漏出アルブミンの濃度を定量した。健康人群と比較して、COPD 患者群では、ELF 中のアルブミン濃度が有意に増加しており、ELF 中のアルブミン濃度は %FEV₁ と負の相関を示すことから (図 7)、気道炎症と気流制限の関連性が示唆された³⁾。

5 BMS 法の課題および注意点

本法は前述してきたように、従来の気道炎症モニタリング法と比してさまざまな利点を持つが、いくつかの問題点も持つ。下記に今後の本法の課題および注意点について述べ

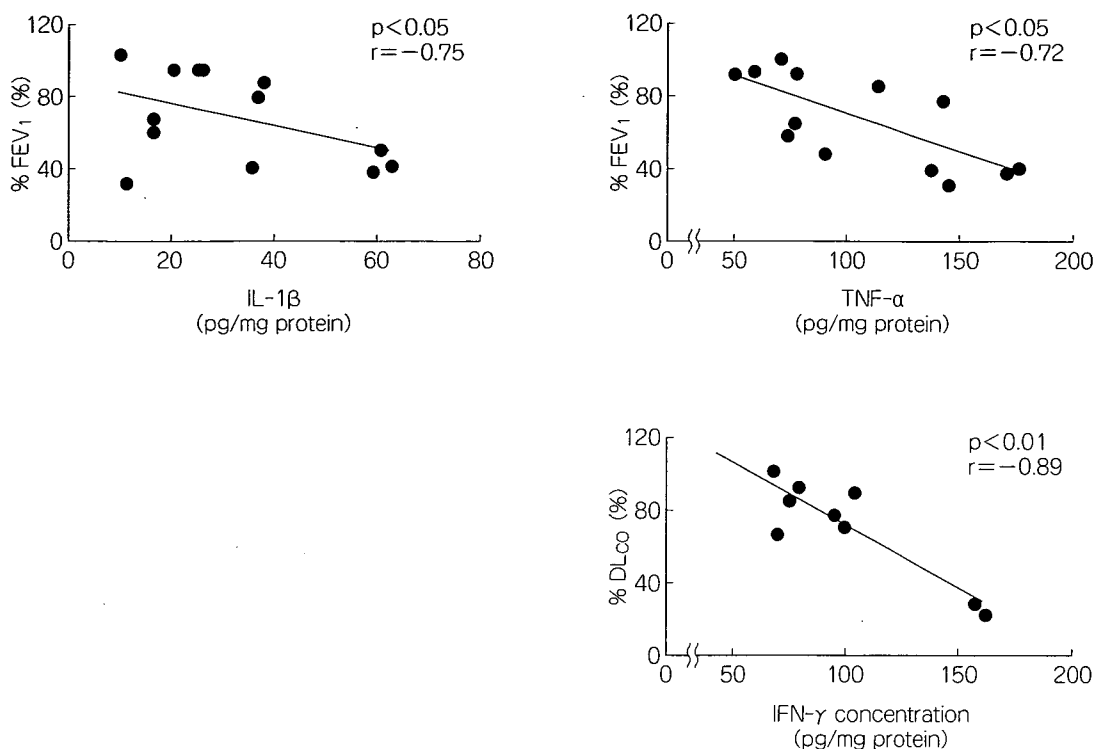


図 5 COPD 患者群における ELF 中の炎症性サイトカイン量と呼吸機能との相関
炎症性サイトカインの産生量と呼吸機能は負の相関を示す。

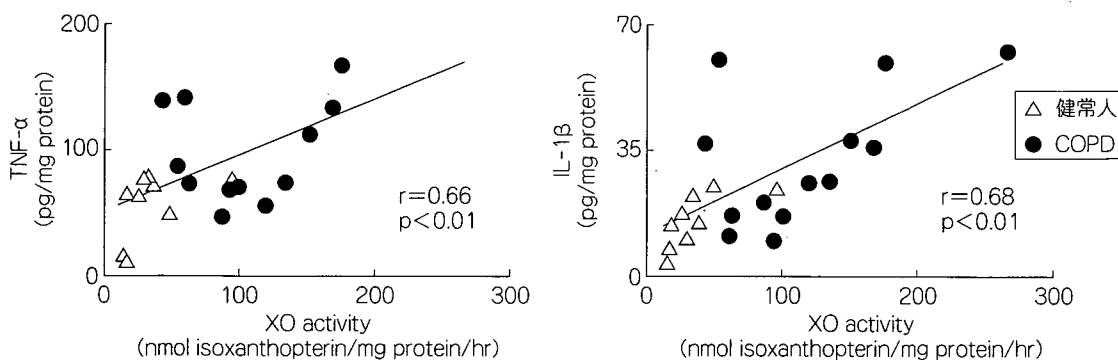


図 6 炎症性サイトカインと XO 活性の相関
正の相関を示す。

る。これらの点については、ある程度、対処可能なものもあるので以下に記す。

1) 検体量

本法では、通常 1 本のプローブで約 10 μ l の ELF 原液の採取が可能であるが、採取可能な検体量に限界がある。そのため、生理食塩

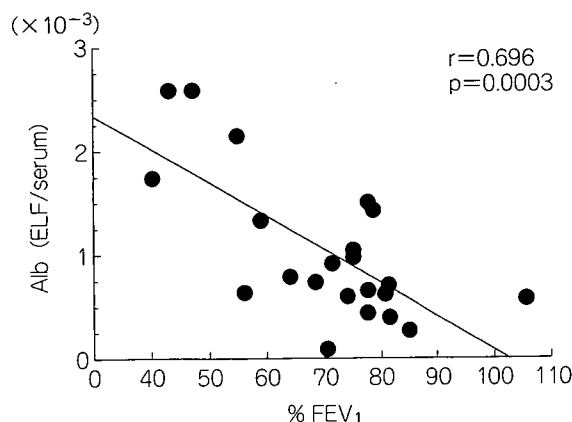


図 7 ELF 中のアルブミン濃度と呼吸機能の相関
有意な負の相関を示す。

水に抽出して使用するが、逆に検体が希釈されることにもなるので、1回の採取で多項目の測定は困難である。

2) 手 技

本法では、採取する際に、麻酔薬や血液の検体への混入を防ぐために以下の点に気をつける必要がある。

- ① 麻酔薬を除去するために採取部位近辺を十分吸引する。
- ② 同部位からの繰り返しの採取は、粘膜面を傷つける恐れがあるので、その都度、採取部位を変える。
- ③ プローベを外筒に格納する際に、粘膜面を傷つけることが多いので、一度、粘膜面からプローベを離してから回収する。

3) 侵襲度

呼気ガス分析、呼気凝縮液、誘発喀痰に比べて気管支鏡を使用するため、侵襲度が高い。それぞれの評価方法の長所・短所を理解し、適切な方法を選択する必要があると考えられ

る。

6 BMS 法の今後の展望—COPD を対象として

前述してきたように、BMS 法は従来施行されてきた BAL や誘発喀痰に比べて、いくつかの長所をもつ。COPD を対象疾患とした、BMS 法の今後の展望について、下記に記す。

1) 部位による検討

COPD では、末梢気道にその病変の主座が存在するが、現在までのところ、末梢気道のみを正確に評価する方法は存在しなかった。病理組織学的検討では症例数も限られるため、この点で、BMS 法は BAL に比べて低侵襲かつ、繰り返し施行できる利点を持つ。当教室では、中枢気道と末梢気道両方より、ELF を採取し、それぞれの部位による、炎症性サイトカインや各種メディエーターの発現の差異について現在、検討を行っている。

2) 網羅的検討

BMS 法では、得られる検体量が限られているため、少量の検体で多項目を測定できるシステムが必要である。現在のところ、サイトカインアレイキットやビーズアレイキット等の多項目測定システムが、入手可能であり⁴⁾、われわれは同キットを用いて COPD のメディエーターの発現について検討を加えているところである。

3) 他の評価法との比較検討

BMS 法は種々の利点を持つ、気道の情報を得る手段であるが、前述したように、他の方

法と比べて侵襲度が高く、繰り返し検体採取が他の方法より困難である。このことから、目標とする物質に最適な評価法を選択する必要がある。われわれは、呼気ガス分析⁵⁾、気道凝縮液⁴⁾、誘発喀痰^{5~8)}の検体を同時に採取することで、より簡便で、侵襲の低い方法を選択するよう比較検討を行っている。

7 最後に

BMS 法の現状と今後の展開について、COPD を対象疾患として当教室で得られた知見を基に概説した。本法は、わが国で開発された新しい気道被覆液採取方法で、気道の情報を最も正確に反映する採取法と考えられる。今後、同方法を用いた研究のさらなる発展が待たれるところである。

文 献

- 1) Ishizaka A, Watanabe M, Yamashita T, et al. New bronchoscopic microsample probe to measure the biochemical constituents in epithelial lining fluid of patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2001 ; 29 : 896-8.
- 2) Komaki Y, Sugiura H, Koarai A, et al. Cytokine-mediated xanthine oxidase upregulation in chronic obstructive pulmonary disease's airways. *Pulm Pharmacol Ther* 2005 ; 18 : 297-302.
- 3) Minakata Y, Nakanishi M, Hirano T, et al. Microvascular hyperpermeability in COPD airways. *Thorax* 2005 ; 60 : 882.
- 4) Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, 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* 2006 ; 118 : 84-90.
- 5) Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, et al. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2000 ; 162 (2 Pt 1) : 701-6.
- 6) Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, et al. Xanthine oxidase inhibition reduces reactive nitrogen species production in COPD airways. *Eur Respir J* 2003 ; 22 : 457-61.
- 7) Sugiura H, Ichinose M, Yamagata S, et al. Correlation between change in pulmonary function and suppression of reactive nitrogen species production following steroid treatment in COPD. *Thorax* 2003 ; 58 : 299-305.
- 8) Sugiura H, Ichinose M, Tomaki M, et al. Quantitative assessment of protein-bound tyrosine nitration in airway secretions from patients with inflammatory airway disease. *Free Radic Res* 2004 ; 38 : 49-57.