

- 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



## 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り、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<sup>1)</sup>，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のため，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<sup>2)3)</sup>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  $\beta_2$  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<sup>4)5)</sup>。

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<sup>9)</sup>。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  $\mu$ 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%<sup>6)</sup>ないし 4.5%<sup>7)</sup>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<sup>1)</sup>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  $\beta_2$  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<sup>8)</sup>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<sup>9)</sup>。

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<sup>4)5)</sup>。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<sup>10)</sup>。

喀痰の誘発に使用する高張食塩水により気道収縮が起こり喘息発作が誘発されたり<sup>11)</sup>、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  $\beta_2$  刺激薬を吸入しておくことが推奨されている<sup>12)</sup>。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<sup>12)13)</sup>。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<sup>9)</sup>。

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<sup>10)</sup>。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<sup>14)15)</sup>。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)<sup>16)</sup>。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<sup>15)</sup>。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<sup>17)</sup>。

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

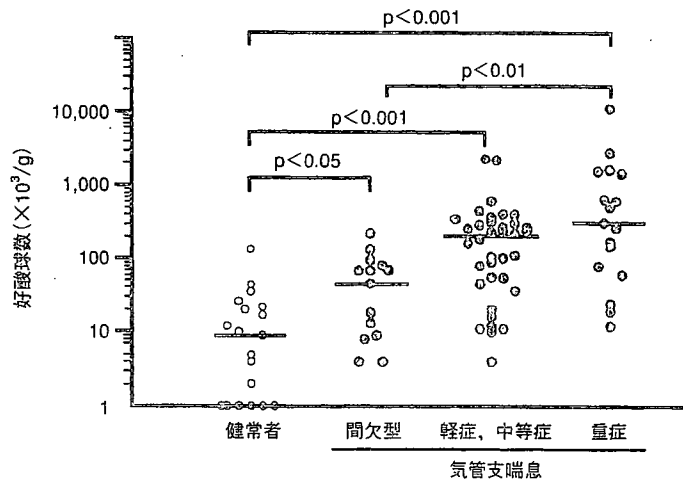


図1 気管支喘息における誘発喀痰中好酸球数

健常者に比べ、気管支喘息患者では有意に誘発喀痰中の好酸球数の増加を認める。重症ではより顕著な好酸球数の増加が認められる。(Louis R, et al<sup>16</sup>). *Am J Respir Crit Care Med* 161:2000より引用)

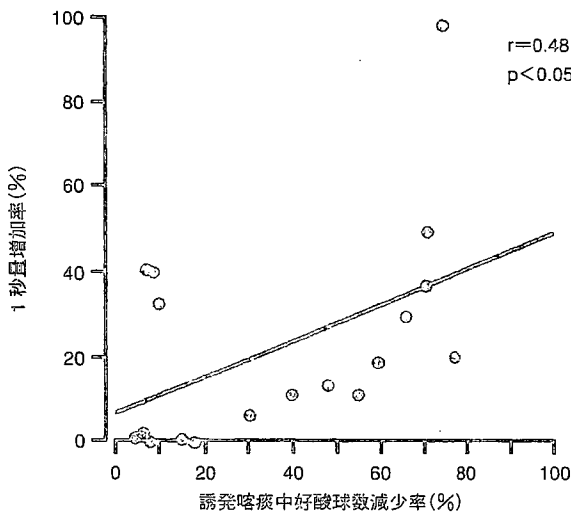


図2 誘発喀痰中好酸球数と呼吸機能

気管支喘息患者において、吸入ステロイド治療により誘発喀痰中の好酸球数は減少するが、その減少の程度と気流障害の改善(1秒量の増加)の程度は有意に相関する。(Ichinose M, et al<sup>15</sup>). *Eur Respir J* 15:2000より引用)

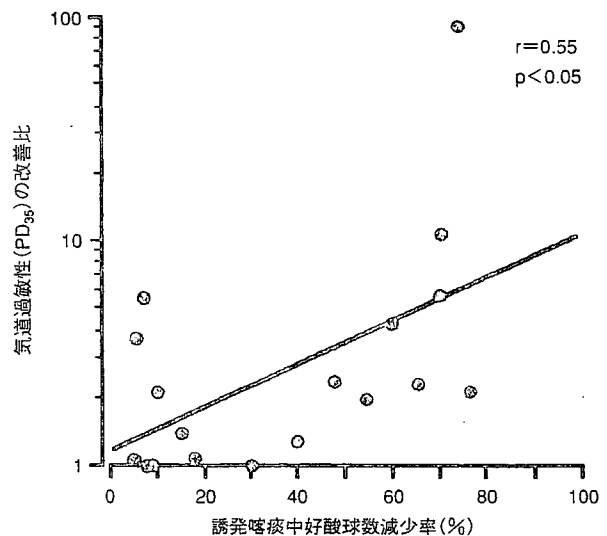


図3 誘発喀痰中好酸球数と気道過敏性

気管支喘息患者において、吸入ステロイド治療により誘発喀痰中の好酸球数の減少の程度はPD<sub>35</sub>で示される気道過敏性の改善の程度と有意に相関する。(Ichinose M, et al<sup>15</sup>). *Eur Respir J* 15:2000より引用)

(ECP)は好酸球由来の蛋白で、好酸球の活性化により放出されるが、気管支喘息患者の誘発喀痰上清中で増加がみられ、気管支喘息の重症度との関連が認められる(図4)<sup>16</sup>。またECPは好酸球と同様に気流閉塞や気道過敏性の程度との相関も認められる<sup>19</sup>。微小血管の透過性亢進を示唆するアルブミン濃度も誘発喀痰上清中で増加がみられる<sup>16</sup>。

また、気管支喘息患者では呼気中の一酸化窒素(NO)濃度の増加がみられ、診断や重症度、治療効果の指標として

有用であるとともに、誘発喀痰中の好酸球浸潤の程度と相関が認められる<sup>18</sup>。この呼気中のNOの起源は気道上皮や炎症細胞における誘導型NO合成酵素(iNOS)の活性化によると考えられ<sup>19</sup>、実際、気管支喘息患者では誘発喀痰中の炎症細胞においてiNOSの発現が増強しており(図5)、呼気NO濃度との相関が認められる<sup>5</sup>。

サイトカイン、ケモカインではIL-5<sup>20</sup>、RANTES<sup>20</sup>、eotaxin<sup>21</sup>などの増加が報告されており、脂質メディエー

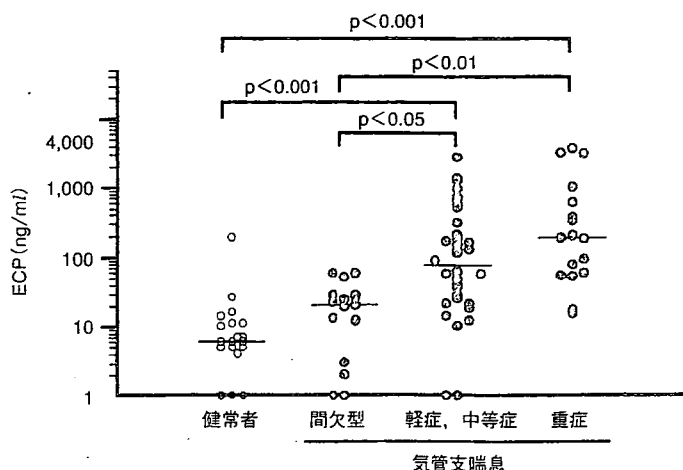


図4 気管支喘息における誘発喀痰上清中ECP濃度  
 健常者に比べ、気管支喘息患者では有意な誘発喀痰上清中ECP濃度の上昇を認め、重症度と関連してより有意な上昇が認められる。(Louis R, et al<sup>16</sup>). *Am J Respir Crit Care Med* 161:2000より引用)

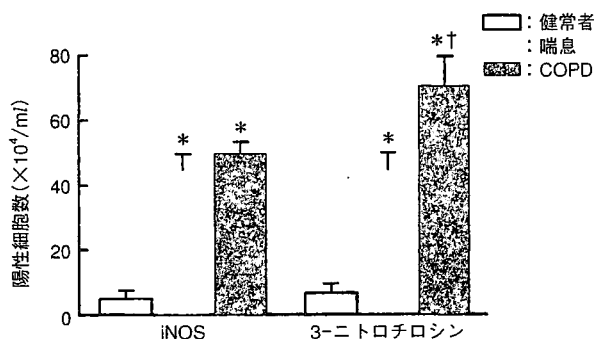


図5 誘発喀痰中炎症細胞における窒素化ストレス  
 健常者に比べ、気管支喘息、COPDともに誘発喀痰中のiNOS陽性細胞数は有意な増加を認める。一方、3-ニトロチロシン陽性細胞数は気管支喘息においても、健常者に比べ有意に増加するが、COPDでは気管支喘息に比べさらに有意な増加を示す(\*: p < 0.01 vs 健常者, †: p < 0.05 vs 気管支喘息)。(Ichinose M, et al<sup>5</sup>). *Am J Respir Crit Care Med* 162:2000より引用)

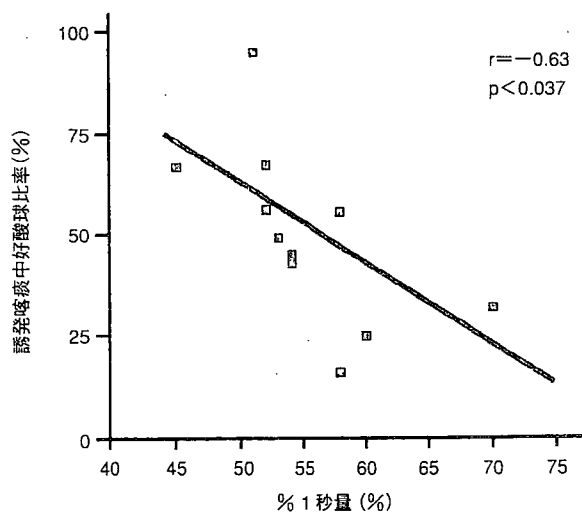


図6 誘発喀痰中好中球数と呼吸機能  
 COPD患者において、誘発喀痰中の好中球数は%1秒量で表される閉塞性障害の程度と有意な負の相関を示す。(Silkoff PE, et al<sup>24</sup>). *Chest* 119:2001より引用)

ターでは、特に気管支喘息の病態において重要とされる cysteinyl leukotrienes である leukotriene C<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> の増加がみられる<sup>22</sup>)。その他にも種々の炎症関連物質の測定についての報告が認められるが、十分にその意義が確立していないものもあり、気管支喘息の病態との関連について、今後さらなる検討が必要である。

2. COPD

COPDの誘発喀痰では、気管支喘息との炎症病態の違いを反映して、細胞成分としては好中球数の増加が特徴的

である<sup>23</sup>)。この好中球数の増加は閉塞性障害の程度と相関し(図6)<sup>24</sup>)、経年的な1秒量の減少の程度とも相関がみられる<sup>25</sup>)。気管支喘息と異なり好酸球数の増加は目立たず、むしろCOPDの誘発喀痰中で好酸球数の増加がみられる場合は、気管支喘息の合併の可能性も考えられる。一方で、好酸球数の増加はCOPDにおけるステロイド治療に対する反応性の指標として有用である可能性も報告されている<sup>26)27</sup>)。

COPDの病態形成には喫煙に伴う酸化・窒素化ストレス

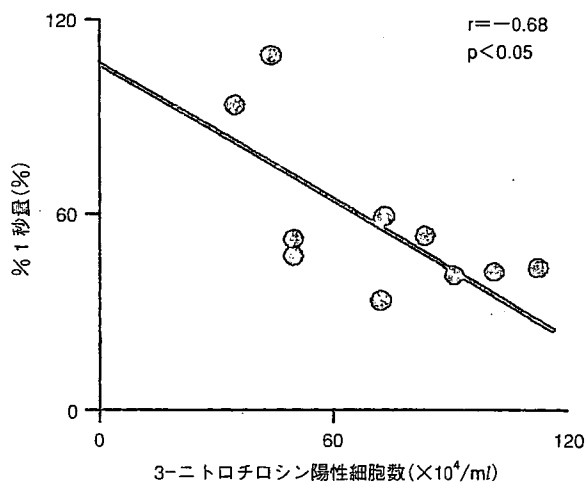


図7 誘発喀痰中 3-ニトロチロシン陽性細胞数と呼吸機能

COPD 患者における誘発喀痰中の 3-ニトロチロシン陽性細胞数は%1秒量で表される閉塞性障害の程度と有意な負の相関を示す。

(Ichinose M, et al<sup>5)</sup>. *Am J Respir Crit Care Med* 162:2000 より引用)

が重要な役割を果たしているが、免疫染色による検討では、気管支喘息と同様、誘発喀痰中の炎症細胞における iNOS 産生は増加している。しかし、気管支喘息と異なり呼気 NO 濃度との相関は認められない。一方、活性窒素種のマーカーである 3-ニトロチロシンは、気管支喘息の誘発喀痰中においても陽性の炎症細胞数が増加しているが、COPD ではより顕著に増加しており(図 5)、気管支喘息と異なり閉塞性障害の程度と有意な負の相関を認める(図 7)<sup>5)</sup>。

誘発喀痰上清中では COPD の発症や進展などの病態に関与する種々の炎症関連物質の増加が認められる。即ち、TNF- $\alpha$ <sup>23)</sup>、IL-8<sup>23)24)</sup>、leukotriene B<sub>4</sub><sup>24)</sup>などのサイトカインやメディエーター、さらに好中球エラスターゼ<sup>28)</sup>、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP-9 など)<sup>29)</sup>といった蛋白分解酵素の増加や、アンチプロテアーゼである tissue inhibitor of metalloproteinase の減少が認められる<sup>29)</sup>。酸化・窒素化ストレス関連物質では O<sub>2</sub><sup>-</sup>産生酵素であるキサンチンオキシダーゼ<sup>30)</sup>や、3-ニトロチロシン量が誘発喀痰中で増加しており、特に 3-ニトロチロシンは気流閉塞の程度と有意な負の相関が認められる<sup>31)</sup>。

以上のように COPD においても、誘発喀痰中の炎症細胞数や誘発喀痰上清中の種々の炎症関連物質の増加が認められ、病態との関連も示唆される。今後のさらなる検討により、COPD の病態解明が進むものと期待される。

## おわりに

誘発喀痰の原理や具体的な採取・処理法と注意点について述べるとともに、誘発喀痰を用いた気道・肺の炎症病態の評価について概説した。誘発喀痰は決して無侵襲な手技ではないため、採取においては十分な知識と熟練、細心の注意が必要であるが、一度の採取で細胞成分と液性成分の両者を検討することができ、繰り返しての採取も可能なことから、気管支喘息や COPD などの炎症性気道・肺疾患の病態解明に非常に有用な方法であり、今後さらなるエビデンスの集積が期待される。

## 文 献

- 1) Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, Dolovich J. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 47: 25-29, 1992
- 2) Pavia D, Thomson ML, Clarke SW. Enhanced clearance of secretions from the human lung after the administration of hypertonic saline aerosol. *Am Rev Respir Dis* 117: 199-203, 1978
- 3) Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanovic R, Maestrelli P, Sterk PJ. Sputum induction. *Eur Respir J* 37(Suppl): 3 s-8 s, 2002
- 4) Tomaki M, Ichinose M, Miura M, Hirayama Y, Yamauchi H, Nakajima N, Shirato K. Elevated substance P content in induced sputum from patients with asthma and patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 151: 613-617, 1995
- 5) 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
- 6) Fahy JV, Liu J, Wong H, Boushey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *Am Rev Respir Dis* 147: 1126-1131, 1993
- 7) in't Veen JC, de Gouw HW, Smits HH, Sont JK, Hiemstra PS, Sterk PJ, Bel EH. Repeatability of cellular and soluble markers of inflammation in induced sputum from patients with asthma. *Eur Respir J* 9: 2441-2447, 1996
- 8) ten Brinke A, de Lange C, Zwinderman AH, Rabe KF, Sterk PJ, Bel EH. Sputum induction in severe asthma by a standardized protocol: predictors of excessive bronchoconstriction. *Am J Respir Crit Care Med* 164: 749-753, 2001
- 9) Pizzichini E, Pizzichini MM, Leigh R, Djukanovic R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J* 37(Suppl): 9 s-18 s, 2002
- 10) Efthimiadis A, Spanevello A, Hamid Q, Kelly MM, Linden M, Louis R, Pizzichini MM, Pizzichini E, Ronchi C, Van Overvel F, Djukanovic R. Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and *in situ* hybrid-

- ization. *Eur Respir J* 37(Suppl) : 19 s—23 s, 2002
- 11) Smith CM, Anderson SD. Inhalation provocation tests using nonisotonic aerosols. *J Allergy Clin Immunol* 84 : 781—790, 1989
  - 12) Wong HH, Fahy JV. Safety of one method of sputum induction in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 299—303, 1997
  - 13) Giannini D, Paggiaro PL, Moscato G, Gherson G, Bacci E, Bancalari L, Dente FL, Di Franco A, Vagaggini B, Giuntini C. Comparison between peak expiratory flow and forced expiratory volume in one second (FEV<sub>1</sub>) during bronchoconstriction induced by different stimuli. *J Asthma* 34 : 105—111, 1997
  - 14) Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, Gleich GJ, Dolovich J, Hargreave FE. Indices of airway inflammation in induced sputum : reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 154 : 308—317, 1996
  - 15) 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
  - 16) Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, Radermecker M, Djukanovic R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 161 : 9—16, 2000
  - 17) Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 95 : 843—852, 1995
  - 18) 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
  - 19) 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
  - 20) Konno S, Gonokami Y, Kurokawa M, Kawazu K, Asano K, Okamoto K, Adachi M. Cytokine concentrations in sputum of asthmatic patients. *Int Arch Allergy Immunol* 109 : 73—78, 1996
  - 21) Yamada H, Yamaguchi M, Yamamoto K, Nakajima T, Hirai K, Morita Y, Sano Y. Eotaxin in induced sputum of asthmatics : relationship with eosinophils and eosinophil cationic protein in sputum. *Allergy* 55 : 392—397, 2000
  - 22) Pavord ID, Ward R, Woltmann G, Wardlaw AJ, Sheller JR, Dworski R. Induced sputum eicosanoid concentrations in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 160 : 1905—1909, 1999
  - 23) 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* 153 : 530—534, 1996
  - 24) Silkoff PE, Martin D, Pak J, Westcott JY, Martin RJ. Exhaled nitric oxide correlated with induced sputum findings in COPD. *Chest* 119 : 1049—1055, 2001
  - 25) Stanescu D, Sanna A, Veriter C, Kostianev S, Calcagni PG, Fabbri LM, Maestrelli P. Airways obstruction, chronic expectoration, and rapid decline of FEV<sub>1</sub> in smokers are associated with increased levels of sputum neutrophils. *Thorax* 51 : 267—271, 1996
  - 26) Pizzichini E, Pizzichini MM, Gibson P, Parameswaran K, Gleich GJ, Berman L, Dolovich J, Hargreave FE. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 158 : 1511—1517, 1998
  - 27) Brightling CE, Monteiro W, Ward R, Parker D, Morgan MD, Wardlaw AJ, Pavord ID. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease : a randomised controlled trial. *Lancet* 356 : 1480—1485, 2000
  - 28) Crooks SW, Bayley DL, Hill SL, Stockley RA. Bronchial inflammation in acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis : the role of leukotriene B<sub>4</sub>. *Eur Respir J* 15 : 274—280, 2000
  - 29) Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A, Profita M, Chanez P, Bellia V, Mautino G, D'Accardi P, Bousquet J, Bonsignore G. 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
  - 30) Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, Koarai A, Tomaki M, Ogawa H, Komaki Y, Barnes PJ, Shirato K, Hattori T. Xanthine oxidase inhibition reduces reactive nitrogen species production in COPD airways. *Eur Respir J* 22 : 457—461, 2003
  - 31) Sugiura H, Ichinose M, Tomaki M, Ogawa H, Koarai A, Kitamuro T, Komaki Y, Akita T, Nishino H, Okamoto S, Akaike T, Hattori T. Quantitative assessment of protein-bound tyrosine nitration in airway secretions from patients with inflammatory airway disease. *Free Radic Res* 38 : 49—57, 2004

## 講座

## バイオマーカー

## 呼気温度測定 の 原理 と 有用性

山縣 俊之 一ノ瀬 正和

**要 旨** 呼気温度の測定は気道の血管拡張の程度、即ち気道の血流の程度を、呼気温度の上昇率の速さとして捉えようとする新しい測定法であり、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患の病態を評価する非侵襲的な方法として注目されている。呼気温度の測定は外気温や呼出流速、口腔内負荷圧などの条件を一定にした状態で、全肺気量位からの呼出により行われ、平衡に達した最大上昇温度の63%まで温度が上昇するポイントにおける時間当たりの温度上昇率( $\Delta e^{\circ}T$ )( $^{\circ}C/sec$ )で表される。気管支喘息では気道における血管増生や血流の増加により、 $\Delta e^{\circ}T$ は健常者に比べ高値を示し、閉塞性障害の程度や呼気NO濃度との相関を認める。一方、慢性閉塞性肺疾患では、気道の血流低下を反映し、 $\Delta e^{\circ}T$ は健常者に比べ有意に低値を示す。今後、種々の気道炎症評価法による指標との関連性を検討することで、日常臨床への応用が期待される。

山縣 俊之 一ノ瀬 正和：呼気温度測定 の 原理 と 有用性，呼吸 24(11)：938—942，2005

キーワード：呼気温度 気道血流 気管支喘息 慢性閉塞性肺疾患

## はじめに

気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease; COPD)などの炎症性気道・肺疾患の病態評価法として、従来、切除肺組織や気管支鏡を用いた生検、気管支肺胞洗浄などの手法が用いられてきた。しかし、近年より侵襲の少ない誘発喀痰、呼気ガス、呼気凝縮液などを用いた評価法が注目されている。このような非侵襲的な評価法の1つとして、最近呼気温度の測定が報告され、気管支喘息やCOPDの病態を評価する新しい方法として注目されている。これは気道の血管拡張の程度、即ち気道の血流の程度を、呼気温度の上昇率の速さとして捉えようとする新しい測定法である。本稿では、呼気温度

測定の実際と、気管支喘息やCOPDにおける臨床応用について概説する。

## I. 呼気温度測定 の 原理

呼気温度の測定は呼出流速や呼出時の口腔内圧を一定に保った状態で、全肺気量レベルから呼出を行い、高速反応(1 msec)・高精度サーモメーターを用いて測定する<sup>1)2)</sup>。実際にはコンピュータと連動した記録計を接続し、呼出時の温度を連続測定する方法が用いられる。全肺気量からの呼出開始後、呼気温度は時間とともに指数関数的に上昇し平衡に達する。しかし、どの時点で呼気温度が最大上昇点に達したかを決定することは難しいため、Parediらは最大上昇温度の63%まで温度が上昇した点において、温度の変化量をかかった時間で除したものを、呼気温度の上昇率( $\Delta e^{\circ}T$ )として評価に用いており、これが最も再現性のよい指標であると報告している<sup>1)2)</sup>。実際の測定時のグラフを図1に示す。

Exhaled breath temperature

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



呼気温度の測定には、測定時の環境における外気温が少なからず影響する可能性があるため、測定前に少なくとも30分以上は、室温を一定(23~24°C)に保った環境で安静にし、その影響を最小限に抑える必要がある。Parediらの検討では、外気温が22°Cでは $\Delta e^{\circ}T$ が $4.45 \pm 0.8^{\circ}C/sec$ であったのに対し、外気温が28°Cでは $5.05 \pm 0.8^{\circ}C/sec$ と、測定時の外気温が高い場合、有意差はないものの呼気温度の上昇が速くなる傾向があったことを示している<sup>2)</sup>。

また呼出流速の変化は気道における気流の変化を来し、気道壁と気流中の温度が平衡に達する状態が変化するため、最大上昇温度は変わらないものの、 $\Delta e^{\circ}T$ に影響を与える。即ち呼出流速が遅くなれば $\Delta e^{\circ}T$ が大きくなる。呼出流速が5~6 l/minでは $\Delta e^{\circ}T$ は $4.45 \pm 0.8^{\circ}C/sec$ であるのに対し、呼出流速を2~3 l/minと遅くすると、 $6.25 \pm 0.4^{\circ}C/sec$ と有意( $p < 0.01$ )に $\Delta e^{\circ}T$ が大きくなる。したがって、呼気温度測定時には呼出流速を一定に保つことが重要で、Parediらは呼出流速を10 l/minに固定して測定を行っている<sup>2)</sup>。

測定時に熱電対(熱センサー)を挿入する位置により呼気温度は影響を受ける。即ち、マウスピースの端から2 cmの位置に挿入した場合、 $\Delta e^{\circ}T$ は $4.45 \pm 0.8^{\circ}C/sec$ に対し、1 cmの位置に挿入した場合 $7.15 \pm 0.2^{\circ}C/sec$ と有意( $p < 0.01$ )に $\Delta e^{\circ}T$ が大きくなる<sup>1)2)</sup>。したがって、測定時の熱センサーの挿入位置を一定に保つ必要がある。

鼻腔からの空気の混入も呼気温度の測定に影響を与える。したがって呼出時に口腔内に一定の圧(10 cmH<sub>2</sub>O)を負荷し、軟口蓋を閉鎖することで、鼻腔からの空気の流入を抑える必要がある。一方、測定時の肺気量や体温は $\Delta e^{\circ}T$ には影響しない。また年齢による $\Delta e^{\circ}T$ の差も認められない<sup>1)</sup>。

同一日、あるいは複数日における複数回の測定で最大上昇温度および $\Delta e^{\circ}T$ を測定した場合の再現性についての検討では、5分間隔での測定や1日後の測定での変動はそれぞれ4.4%、6.8%で、95%以上の再現性であることが報告されている<sup>1)2)</sup>。

## II. 気管支喘息と呼気温度

呼気温度の臨床応用について最も検討されている疾患は気管支喘息である。気管支喘息の気道壁の組織学的検討では血管増生が認められ<sup>3)4)</sup>、また気管支喘息の気道粘膜では血流の増加が認められる<sup>5)</sup>。このような変化は気道の温度調節に影響し、気道の収縮反応にも影響を与えることが考えられる。

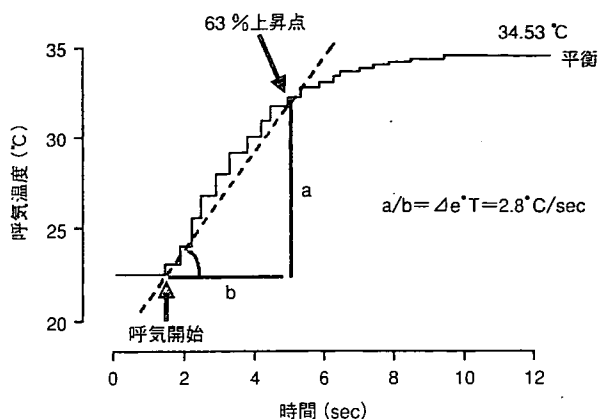


図1 呼気温度の測定

呼気開始時の温度と、最大上昇温度の63%まで温度が上昇したポイントにおいて、呼気温度の変化量(a)と到達点までの時間(b)から傾き(a/b)を算出し、 $\Delta e^{\circ}T$ とする。(Paredi P, et al<sup>1)</sup>. *Am J Respir Crit Care Med* 165: 2002より引用)

気管支喘息患者では運動誘発喘息、即ち運動による過換気に伴う気道収縮反応が知られている。この機序の検討の1つとして冷気の吸入による気道収縮反応がモデルとして用いられる。McFaddenらのグループの検討によれば、冷気吸入時に喘息気道の粘膜では、一過性の温度低下の後に、急峻な温度の上昇を認める。これは喘息気道における粘膜下の血流増加(血管拡張)によると考えられ、喘息気道における重要な病態の1つと位置付けられる<sup>6)</sup>。

気管支喘息患者における検討では、健常者と比べ呼気終末時の平衡に達したときの最大上昇温度は、いずれも約35°Cと差がみられないが、気管支喘息患者では $\Delta e^{\circ}T$ が健常者に比べ有意に高値であり、より速い呼気温度の上昇が認められる(気管支喘息患者 $8.17 \pm 0.83^{\circ}C/sec$ 、健常者 $4.12 \pm 0.41^{\circ}C/sec$ ) (図2)<sup>1)</sup>。この $\Delta e^{\circ}T$ は短時間作用型 $\beta_2$ 刺激薬の必要時吸入のみである軽症間欠型の気管支喘息や、吸入ステロイドを使用している軽症持続型および中等症の気管支喘息でも同程度である。しかし、 $\Delta e^{\circ}T$ は、予測1秒率で表される閉塞性障害の程度と弱いながらも有意な負の相関を示す(図3)<sup>1)</sup>。

ステロイドは血管収縮により気道の血流低下をもたらすことが報告されているが<sup>7)</sup>、ステロイド治療の有無は気管支喘息における $\Delta e^{\circ}T$ に影響を与えない<sup>1)</sup>。これはステロイドの血管収縮作用に対し、 $\beta_2$ 受容体由来の血管拡張により、気道の血管径や血流の増加が相殺されることが考えられるが、ステロイドの呼気温度に対する効果についてはさらなる検討が必要である。

また血管拡張作用を持つ短時間作用型の $\beta_2$ 刺激薬を吸

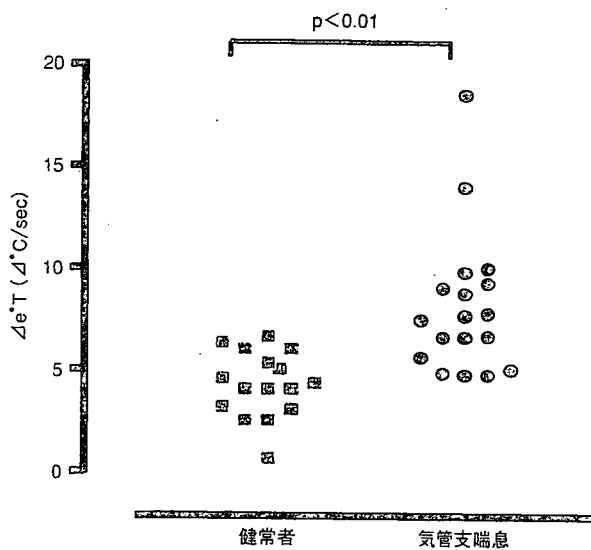


図 2 気管支喘息における呼気温度

気管支喘息患者では、健常者に比べ $\Delta e^{\circ}T$ は有意に高値を示す。

(Paredi P, et al<sup>11</sup>). *Am J Respir Crit Care Med* 165 : 2002 より引用)

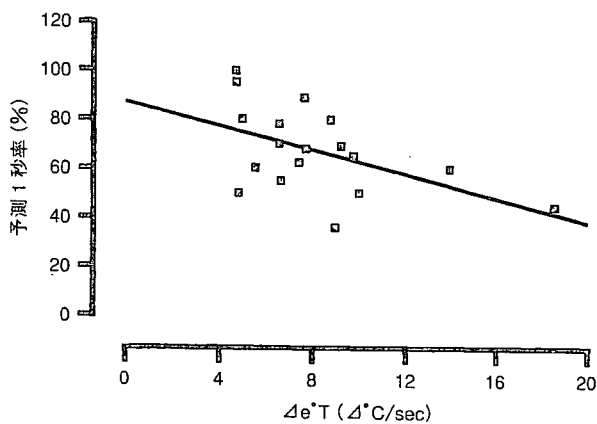


図 3 気管支喘息における呼気温度と閉塞性障害の関連性

気管支喘息患者における $\Delta e^{\circ}T$ と予測 1 秒率で表される閉塞性障害の程度には有意な負の相関を認める ( $r = -0.47$ ,  $p < 0.05$ )。

(Paredi P, et al<sup>11</sup>). *Am J Respir Crit Care Med* 165 : 2002 より引用)

入すると、健常者では有意な $\Delta e^{\circ}T$ の増加がみられるが、気管支喘息患者ではこのような反応を示さない(図 4)<sup>11</sup>。これは、 $\beta_2$ 刺激薬の吸入により、健常者の気道では血管拡張に伴う血流増加が起こり $\Delta e^{\circ}T$ が増加するが、喘息気道では既に炎症に伴う血管拡張が最大限に存在するため、 $\beta_2$ 刺激薬の吸入によってもさらなる血管拡張が起こらず、

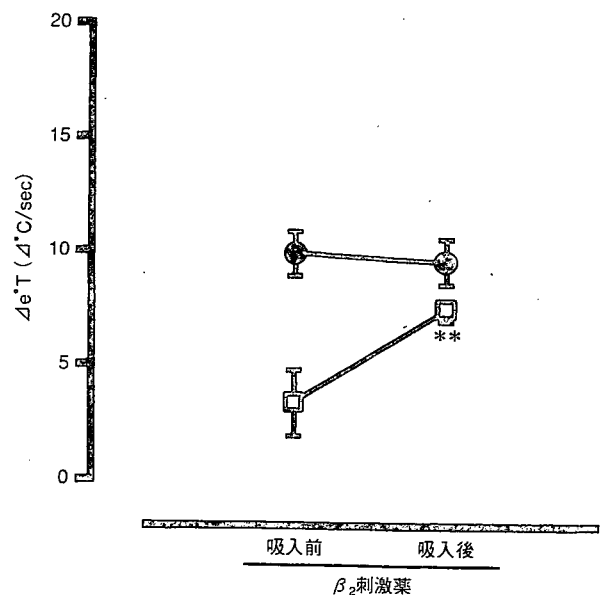


図 4  $\beta_2$ 刺激薬に対する呼気温度の変化

健常者(□)では $\beta_2$ 刺激薬吸入後に $\Delta e^{\circ}T$ は有意に増加するが、気管支喘息患者(●)では $\beta_2$ 刺激薬に対する反応はみられない(\*\* :  $p < 0.01$ )。

(Paredi P, et al<sup>11</sup>). *Am J Respir Crit Care Med* 165 : 2002 より引用)

$\Delta e^{\circ}T$ に変化を来さないものと考えられる。

さらに気管支喘息患者における $\Delta e^{\circ}T$ と気道炎症の指標である呼気 NO 濃度の間には有意な相関を認める(図 5)<sup>11</sup>。NO は強力な気道拡張物質であり<sup>9</sup>、気道における NO の増加は血管拡張から血流を増加し、呼気温度の上昇に影響すると考えられる。また喘息気道における NO 産生には誘導型 NO 合成酵素(iNOS)の活性化が主として関与しているが、この iNOS の活性化は温度依存性であることが報告されている<sup>9</sup>。したがって、喘息気道における温度の上昇はさらなる iNOS の活性化から NO 産生誘導をもたらす可能性があり、呼気温度の上昇にも影響することが考えられる。

以上のように呼気温度は気道の血流と密接な関連があると考えられる。気道の血流は閉鎖回路内でアセチレンなどの不活化ガスを混和したガスを用いて呼吸を行い、呼気中の不活化ガスの濃度を質量分析計を用いて測定し、非侵襲的に算出することが可能である<sup>7</sup>。Paredi らはこの方法を用いて気道血流を測定し、実際の血流量と $\Delta e^{\circ}T$ との関連について検討を行っているが、気管支喘息患者における気道血流は健常者に比べ有意に増加しており、 $\Delta e^{\circ}T$ とは有意な正の相関を示す(図 6)<sup>10</sup>。したがって、 $\Delta e^{\circ}T$ は気道の血管拡張の程度や気道の血流量を反映する有用な非侵

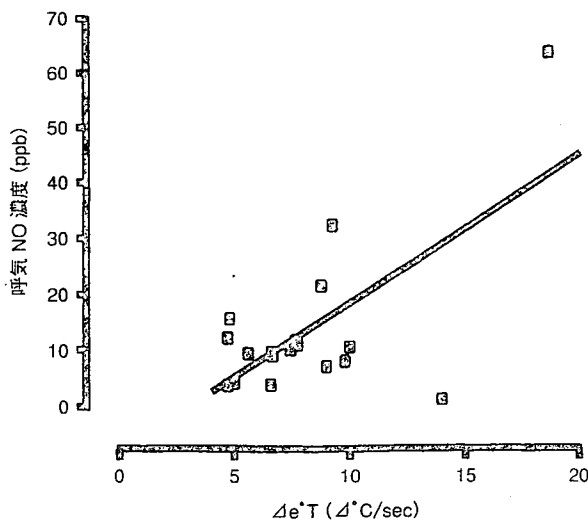


図5 気管支喘息における呼吸温度と呼吸NO濃度の関連性  
 気管支喘息患者における $\Delta e^{\circ}T$ と気道炎症の指標である呼吸NO濃度の間には有意な正の相関を認める( $r=0.65$ ,  $p<0.05$ )。  
 (Paredi P, et al<sup>11</sup>). *Am J Respir Crit Care Med* 165:2002より引用)

襲的指標であると考えられる。

### III. COPD と呼吸温度

COPDでは組織学的な変化として、気道壁の血管減少が認められる<sup>11)12)</sup>。このような変化は気道壁の器質的な変化やCOPDの病態形成に関与するものと考えられる。COPDの気道では血管減少に加え、種々の血管収縮物質の作用や肺過膨張の影響により血流が減少していることが考えられる<sup>2)</sup>。

COPD患者における呼吸温度の検討では、健常者と比べ呼吸終末時の平衡に達したときの最大上昇温度は、いずれも約 $34.5^{\circ}C$ と差がみられず、1秒率などの呼吸機能との相関も認められない。しかし、COPD患者では $\Delta e^{\circ}T$ は健常者に比べ有意に低値であり、より呼吸温度の上昇が遅い(COPD患者 $1.86 \pm 0.15 \Delta^{\circ}C/sec$ , 健常者 $4.00 \pm 0.26 \Delta^{\circ}C/sec$ ) (図7)<sup>2)</sup>。このことはCOPDの気道における炎症や血管減少に伴う血流の程度あるいは温度の伝達状態の変化を反映している可能性がある。

ステロイド治療の有無では $\Delta e^{\circ}T$ に有意な差は認められない<sup>2)</sup>。これは前項で述べたように、ステロイドの血管収縮作用が他の要因による血管拡張作用に相殺される可能性が考えられる。一方、気管支喘息とは異なり、血管拡張作用を持つ短時間作用型の $\beta_2$ 刺激薬を吸入すると、COPD

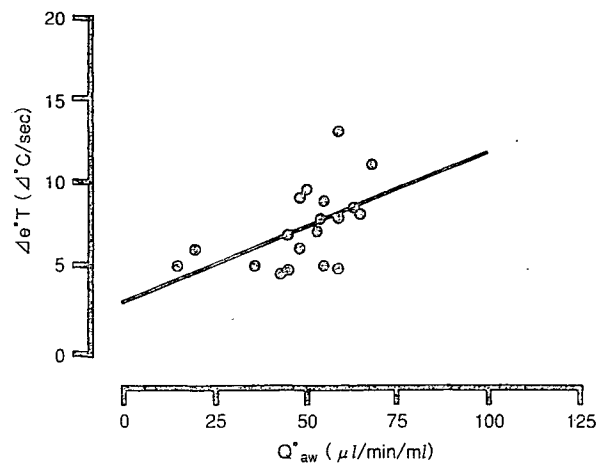


図6 気管支喘息における呼吸温度と気道血流量の関連性  
 気管支喘息患者における $\Delta e^{\circ}T$ と気道血流量( $Q^{\circ}_{aw}$ )には有意な正の相関を認める( $r=0.57$ ,  $p<0.05$ )。  
 (Paredi P, et al<sup>10</sup>). *Respir Res* 6:2005より引用)

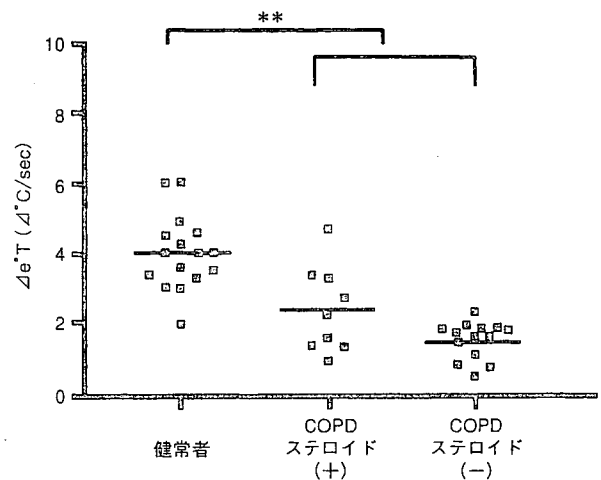


図7 COPDにおける呼吸温度

COPD患者では健常者に比べ $\Delta e^{\circ}T$ は有意に低値を示す。ステロイド治療の有無では $\Delta e^{\circ}T$ に差は認められない( $** : p<0.01$ )。  
 (Paredi P, et al<sup>2)</sup>. *Eur Respir J* 21:2003より引用)

患者、健常者ともに有意な $\Delta e^{\circ}T$ の増加が認められる<sup>2)</sup>。しかしCOPD患者における上昇の程度は健常者と比べると小さく、COPD気道における血管の減少を反映している可能性がある。

### おわりに

気道の血管拡張、血流の程度を呼吸温度の変化量で測定するという、新しい評価法について概説した。この方法は

まったくの非侵襲的な方法であり、再現性よく気道の血流を評価し得ると考えられる。代表的な炎症性肺疾患である気管支喘息や COPD では、その気道における血管分布や血流の程度を反映し、 $\Delta e^{\circ}T$  に変化をもたらす。今後他の種々の気道炎症評価法による指標との関連性を検討することで、疾患の病態解明や診断・治療のよりよい指標としての臨床応用が期待される。

#### 文 献

- 1) Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Faster rise of exhaled breath temperature in asthma: a novel marker of airway inflammation? *Am J Respir Crit Care Med* 165: 181-184, 2002
- 2) Paredi P, Caramori G, Cramer D, Ward S, Ciaccia A, Papi A, Kharitonov SA, Barnes PJ. Slower rise of exhaled breath temperature in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 21: 439-443, 2003
- 3) Carroll NG, Cooke C, James AL. Bronchial blood vessel dimensions in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 155: 689-695, 1997
- 4) Li X, Wilson JW. Increased vascularity of the bronchial mucosa in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 156: 229-233, 1997
- 5) Kumar SD, Emery MJ, Atkins ND, Danta I, Wanner A. Airway mucosal blood flow in bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 158: 153-156, 1998
- 6) Gilbert IA, McFadden ER Jr. Airway cooling and rewarming. The second reaction sequence in exercise-induced asthma. *J Clin Invest* 90: 699-704, 1992
- 7) Brieva JL, Danta I, Wanner A. Effect of an inhaled glucocorticosteroid on airway mucosal blood flow in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 161: 293-296, 2000
- 8) Fagan KA, Tyler RC, Sato K, Fouty BW, Morris KG Jr, Huang PL, McMurtry IF, Rodman DM. Relative contributions of endothelial, inducible, and neuronal NOS to tone in the murine pulmonary circulation. *Am J Physiol* 277: L 472-478, 1999
- 9) Venturini G, Colasanti M, Fioravanti E, Bianchini A, Ascenzi P. Direct effect of temperature on the catalytic activity of nitric oxide synthases types I, II, and III. *Nitric Oxide* 3: 375-382, 1999
- 10) Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ. Correlation of exhaled breath temperature with bronchial blood flow in asthma. *Respir Res* 6: 15, 2005
- 11) Cudkovicz L, Armstrong JB. The bronchial arteries in pulmonary emphysema. *Thorax* 8: 46-58, 1953
- 12) Reid A, Heard BE. Preliminary studies of human pulmonary capillaries by India ink injection. *Med Thorac* 19: 215-219, 1962

# 呼気ガス・呼気凝縮液による 閉塞性肺疾患 (COPD・喘息) の評価

KEYWORDS

和歌山県立医科大学内科学第三講座 南方 良章, 一ノ瀬正和

- ◎気管支喘息
- ◎COPD
- ◎呼気ガス
- ◎呼気凝縮液

## はじめに

ついて概説する。

慢性の気道・肺炎症性疾患である慢性閉塞性肺疾患 (Chronic Obstructive Pulmonary Disease ; COPD) と気管支喘息の病態評価法には、従来よりさまざまな検査が行われてきた。切除肺組織、気管支鏡下生検、気管支肺胞洗浄液などは、得られる情報は多いものの、侵襲性が高く、繰り返しの検査が困難という欠点を有する。誘発喀痰による評価法は比較的侵襲性が低く、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直接刺激や気道攣縮の危険性などもあり、重症患者では施行が難しく、また24時間以内の再検査が困難などの問題点も存在する。これに対し、近年、ほとんど侵襲を伴わずに気道・肺炎症を評価する方法として、呼気ガスならびに呼気凝縮液を測定する方法の検討が行われるようになってきた。本稿ではこれらの方法の現状に

## I. 呼気ガス分析

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。呼気ガス中で測定可能な物質は、分子量が小さく、揮発性であることが必要であり、NO (分子量30.01)、CO (分子量28.01)、炭化水素類 (エタン ; 分子量30.07) などが報告されている。

### 1. 呼気一酸化窒素(NO)

内因性のNOはNO合成酵素 (NO synthase ; NOS) の働きにより、L-arginineがL-citrullineに変換される過程で産生される。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ている。

Evaluation of obstructive lung disease by exhaled gas and exhaled breath condensate  
Yoshiaki Minakata (助教授)  
Masakazu Tachinose (教授)

呼気NO濃度には、呼気流速、呼出時の肺気量位、鼻腔内で産生されるNOの混入などが影響を及ぼす。これらの因子を除外あるいは統一するために、ヨーロッパ呼吸器学会<sup>1)</sup>やアメリカ胸部疾患学会<sup>2)</sup>において、呼気NO測定の方法が提唱されている。

呼気流速は、遅くなるほど呼気NO濃度が上昇する。したがって、呼気NO測定時には呼気速度を一定に保つことが重要である。これに対し、ヨーロッパ呼吸器学会では全肺気量位から10~15 L/分(167~250 mL/秒)<sup>1)</sup>、アメリカ胸部疾患学会ではより低い50mL/秒の呼出流速を推奨している<sup>2)</sup>。呼出時の肺気量位は、一般的には全肺気量位からの呼出が推奨されているが、連続性に呼気NO濃度を測定する場合は、死腔由来のNOや鼻腔由来のNOの影響を除外するため、呼出初期の死腔部分の容量を取り除くことが推奨されている<sup>1)</sup>。鼻腔由来の高濃度のNO流入を制限するため、呼出時に口腔内に5~20 cmH<sub>2</sub>Oの陽圧負荷をすることで、軟口蓋を閉鎖させる方法<sup>1)</sup>がとられている。

### 1) 気管支喘息における呼気NO

気管支喘息患者の呼気NO濃度は健康者に比べ有意に増加しているが<sup>3)-5)</sup>、これは主に下気道に由来しており<sup>6)</sup>、気道上皮や炎症細胞におけるiNOS(誘導型NOS)活性化が関与していると考えられる<sup>7)8)</sup>。気管支喘息以外の原因の慢性咳嗽患者では呼気NO濃度は上昇せず、慢性咳嗽の鑑別にも有用である<sup>9)</sup>。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、喘息の重症度と有意な相関を示し、疾患の診断や病態把握に有用である<sup>5)10)</sup>。さらに、吸入ステロイ

ド治療による症状や呼吸機能の改善との相関より、治療効果のモニタリングとして<sup>5)11)12)</sup>、また増悪時や喘息コントロール不良の指標としても有用である<sup>13)</sup>。

### 2) COPDにおける呼気NO

安定期COPD患者では、健康者に比べ呼気NO濃度は高値であり、増悪期にはさらに高値となる(図1)<sup>14)</sup>。しかしこの値は、喘息患者に比べ明らかに低値である<sup>15)</sup>。COPDにおいては、酸化ストレス、特にスーパーオキシド(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)により、産生されたNOがすぐに消費され強力な活性窒素種であるパー

オキシナイトライト(ONOO<sup>-</sup>)を形成し、結果として呼気NO濃度が低くなるものと考えられる<sup>16)</sup>。このことは、COPD患者の誘発喀痰では喘息と同程度にiNOS陽性細胞が増加しているにもかかわらず、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では相関がみられない(図2)<sup>16)</sup>ことから示唆される。

### 2. 呼気一酸化炭素(CO)

COの大部分は、ヘモグロビン中のヘムが酵素反応(heme oxygenase; HO)により代謝されることで産生され、

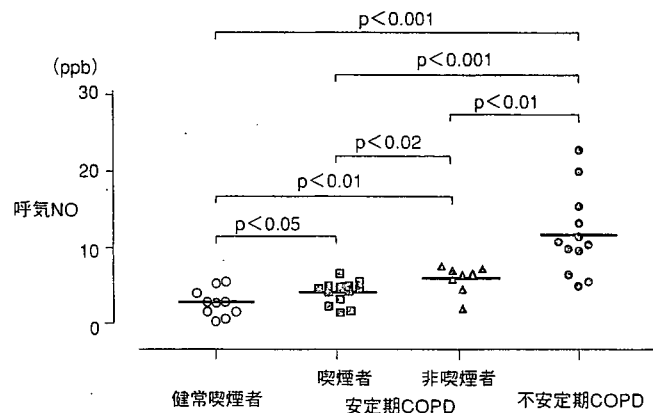


図1. COPDにおける呼気NO<sup>14)</sup>

呼気NO濃度は、健康喫煙者に比べCOPDで有意に高値を示すが、特に不安定期ではさらに高値となる。

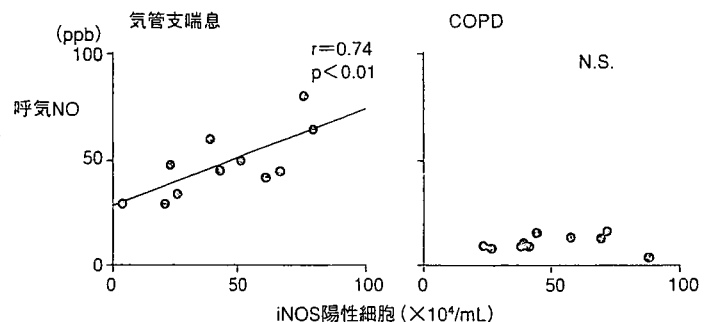


図2. 呼気NO濃度と誘発喀痰中iNOS陽性細胞数の関連<sup>16)</sup>

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ではこの相関は全く認められない。

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<sup>17)</sup>。

### 1) 気管支喘息における呼気CO

ステロイド未治療の気管支喘息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<sup>18)19)</sup>、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<sup>17)</sup>、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。

### 2) COPDにおける呼気CO

COPDにおいても、健常非喫煙者に比べ呼気CO濃度が上昇し、ステロイド治療症例では低値であることが報告されているが<sup>20)21)</sup>、既喫煙者COPDの上昇は現喫煙者COPDに比べ有意に低く<sup>20)</sup>、疾患の鑑別診断や病態把握法としてはまだ問題が残る。

### 3) 呼気COの問題点

呼気CO濃度に対し、喫煙が大きな影響を及ぼす。呼気CO濃度は、非喫煙者で平均1.83 ppm、喫煙者で17.4 ppmと報告されており<sup>22)</sup>、気管支喘息やCOPDが6 ppmである<sup>18)21)</sup>ことを考えると、喫煙が病態診断の妨げとなり、炎症の指標としてはまだ不十分である。

## 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もつ薬剤の効果の評価として有用な可能性がある。エタンやペンタン、イソブレンなどの報告がみられる。

### 1) 気管支喘息における呼気炭化水素類

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<sup>23)</sup>。また呼気ガス中エタンはステロイド未治療の軽症喘息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<sup>24)</sup>。

### 2) COPDにおける呼気炭化水素類

COPDでは呼気エタン濃度の上昇が認められ、ステロイド治療群では低下し<sup>25)</sup>、閉塞性障害の程度と相関する<sup>26)</sup>ことも報告されている。

呼気ガス中の炭化水素類は、呼気NOに比べエビデンスは少なく、今後さらなる検討が必要である。

## II. 呼気凝縮液分析

安静換気下において、吸気に伴い気道に生じた乱流により気道表面の液体がエアロゾル化され、呼気の気流により排出される。この呼気を急速冷却し、呼気中の水蒸気・霧状粒子を液化させることで回収された検体が、呼気凝縮液である。呼気凝縮液の採取法は、一方向弁付きのチューブをくわえ安静換気を行うのみであり、15分程度で2~4 mLの呼気凝縮液を採取することが可能である。採取機器としては据え置き型 (ECoScreen<sup>®</sup>; Jaeger社製)のみでなくポータブル型 (RTube<sup>®</sup>; RESPIRATORY RESEARCH社製)も開発され、より簡便に施行することが可能となった。

呼気凝縮液の長所は、操作が簡便、

非侵襲的で増悪期にも採取可能であること、繰り返し採取が容易であること、ポータブル型では携帯可能で在宅でも施行可能であること、誘発喀痰検査よりも再現性に優れること、換気パターンの影響が少ないこと、などがある。一方、短所としては、得られる検体中の各測定物質の含有量が非常に微量であること、気道のどの部分の情報を反映しているかが不明確であること、などがある。

これまでの呼気凝縮液を用いた炎症関連物質の測定では、脂質メディエーター、酸化ストレスおよび窒素化ストレスのマーカー、サイトカインなどが、気管支喘息やCOPDなどにおいて検討されている(表)。

### 1. 脂質メディエーター

呼気凝縮液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<sup>26)27)</sup>、COPD患者では明らかな増加はみられない<sup>28)</sup>。また強力な好中球遊走作用をもつLTB<sub>4</sub>は、COPD患者では健常者と比較して有意な増加が認められる<sup>28)</sup>。

### 2. 酸化ストレスのマーカー

呼気凝縮液中の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1秒量、ピークフロー値の低下、気道過敏性の亢進<sup>29)</sup>と、COPDでは喀痰中の好中球数や予測1秒量率との相関<sup>30)</sup>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

表. 気管支喘息・COPDにおける呼気凝縮液中の炎症関連物質

	気管支喘息		COPD	
	安定期	不安定期	安定期	不安定期
脂質メディエーター				
LTC <sub>4</sub> , E <sub>4</sub> , D <sub>4</sub>	↑	↑↑	↑	?
LTB <sub>4</sub>	↑	↑↑	↑↑↑	?
酸化ストレス				
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	↑	↑↑	↑	↑↑
8-インプロスタン	↑	↑↑↑	↑	?
窒素化ストレス				
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	↑	↑↑	↑	?
ニトロタイロシン	↑	?	?	?
サイトカイン				
IL-6	↑		↑	
IL-4	↑			
IFN-γ	↓			

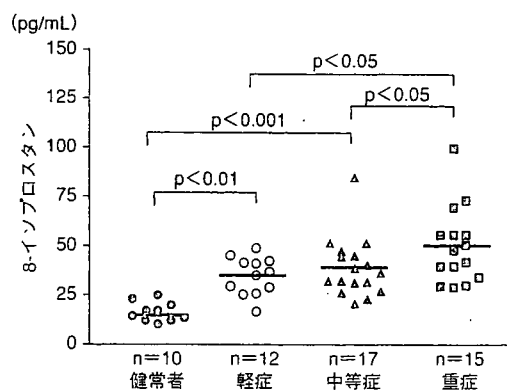


図3. 気管支喘息における呼気凝縮液中8-インプロスタン<sup>31)</sup>

呼気凝縮液中8-インプロスタンは、気管支喘息で高値を示し、重症度が増すにしたがってさらに高値を示す。

ンは、呼気凝縮液中において、気管支喘息<sup>31)</sup>や喫煙者、COPD<sup>32)</sup>で増加し、特に気管支喘息では重症度との関連が報告されている(図3)<sup>31)</sup>。COPDでは喫煙者に比べ有意に増加しているが、現在の喫煙状況とは関連がなく、また呼吸機能との相関もみられず<sup>32)</sup>、吸入ステロイド薬による減少効果も認められない<sup>30)</sup>。

### 3. 窒素化ストレスのマーカー

活性窒素や窒素関連化合物は、気管支喘息において、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、S-ニトロソチオール<sup>33)</sup>、3-ニトロタイロシン<sup>26)</sup>などの増加が報告されている。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<sup>33)</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>については有意な増加は認められない<sup>34)</sup>。

### 4. サイトカイン

呼気凝縮液中のサイトカインは、小児喘息における検討で、IL-4の増加とIFN-γの低下が報告されている<sup>35)</sup>。COPDにおいてもIL-6の増加が報告されているが<sup>36)</sup>、含有量が微量なことも

あり、脂質メディエーターや酸化・窒素化ストレス関連物質の検討に比べ、サイトカインについてはまだ十分な検討がなされておらず、報告も少ない。

## おわりに

呼気ガスや呼気凝縮液の測定は侵襲が少なく、繰り返し施行が可能のため、気道炎症の病態や治療効果を評価する有用な方法であり、日常臨床への応用も可能な手法であると考えられる。現時点では、呼気NOは標準法も提唱され1つの有用な炎症マーカーと考えられるが、その他のガスおよび呼気凝縮液に関しては、今後のさらなる検討が必要である。

## 文 献

1) 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

2) 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. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. Am J Respir Crit Care Med 160 : 2104-2117, 1999

3) Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, et al : Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. Lancet 343 : 133-135, 1994

4) Persson MG, Zetterstrom O, Agrenius V, et al : Single-breath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers. Lancet 343 : 146-147, 1994

5) 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

6) Kharitonov SA, Chung KF, Evans D, et al : Increased exhaled nitric oxide in asthma is mainly derived from the lower respiratory tract. Am J Respir Crit Care Med 153 : 1773-1780, 1996

7) Hamid Q, Springall DR, Riveros-Moreno V, et al : Induction of nitric oxide synthase in asthma. Lancet 342 :



- 1510-1513, 1993
- 8) Saleh D, Ernst P, Lim S, et al : 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
  - 9) Chatkin JM, Ansarin K, Silkoff PE, et al : Exhaled nitric oxide as a noninvasive assessment of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 159 : 1810-1813, 1999
  - 10) Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, et al : Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 53 : 91-95, 1998
  - 11) 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
  - 12) Kharitonov SA, Yates DH, Chung KF, et al : Changes in the dose of inhaled steroid affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *Eur Respir J* 9 : 196-201, 1996
  - 13) 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
  - 14) Maziak W, Loukides S, Culpitt S, et al : Exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 157 : 998-1002, 1998
  - 15) Kharitonov SA, Robbins RA, Yates D, et al : Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 152 : 609-612, 1995
  - 16) 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* 162 : 701-706, 2000
  - 17) Lim S, Groneberg D, Fischer A, et al : 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
  - 18) Zayasu K, Sekizawa K, Okinaga S, et al : Increased carbon monoxide in exhaled air of asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 1140-1143, 1997
  - 19) Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, et al : 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
  - 20) Montuschi P, Kharitonov SA, Barnes PJ : Exhaled carbon monoxide and nitric oxide in COPD. *Chest* 120 : 496-501, 2001
  - 21) Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, et al : Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 369-373, 2000
  - 22) Middleton ET, Morice AH : Breath carbon monoxide as an indication of smoking habit. *Chest* 117 : 758-763, 2000
  - 23) Olopade CO, Zakkar M, Swedler WI, et al : Exhaled pentane levels in acute asthma. *Chest* 111 : 862-865, 1997
  - 24) Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ : Elevation of exhaled ethane concentration in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 1450-1454, 2000
  - 25) Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, et al : Exhaled ethane is elevated in cystic fibrosis and correlates with carbon monoxide levels and airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 161 : 1247-1251, 2000
  - 26) Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ : Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 1273-1276, 2000
  - 27) Cap P, Chladek J, Pehal F, et al : Gas chromatography/mass spectrometry analysis of exhaled leukotrienes in asthmatic patients. *Thorax* 59 : 465-470, 2004
  - 28) Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattini G, et al : Exhaled leukotrienes and prostaglandins in COPD. *Thorax* 58 : 585-588, 2003
  - 29) Emelyanov A, Fedoseev G, Abulimity A, et al : Elevated concentrations of exhaled hydrogen peroxide in asthmatic patients. *Chest* 120 : 1136-1139, 2001
  - 30) Kostikas K, Papatheodorou G, Psathakis K, et al : Oxidative stress in expired breath condensate of patients with COPD. *Chest* 124 : 1373-1380, 2003
  - 31) Montuschi P, Corradi M, Ciabattini G, 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
  - 32) Montuschi P, Collins JV, Ciabattini G, et al : Exhaled 8-isoprostane as an *in vivo* biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 162 : 1175-1177, 2000
  - 33) Corradi M, Montuschi P, Donnelly LE, et al : Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 163 : 854-858, 2001
  - 34) Corradi M, Pesci A, Casana R, et al : Nitrate in exhaled breath condensate of patients with different airway diseases. *Nitric Oxide* 8 : 26-30, 2003
  - 35) Shahid SK, Kharitonov SA, Wilson NM, et al : Increased interleukin-4 and decreased interferon-gamma in exhaled breath condensate of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 165 : 1290-1293, 2002
  - 36) Bucchioni E, Kharitonov SA, Allegra L, et al : High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate of patients with COPD. *Respir Med* 97 : 1299-1302, 2003

### 3. 新規薬剤による治療の趨勢

一ノ瀬正和

気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患（COPD）は、両疾患とも罹患率が高く、日常臨床でよく遭遇する。両者とも慢性的な気道・肺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。近年、研究の進展によりこれら疾患の概念も変化し、治療手段も変わってきている。本稿では、最近臨床応用された薬剤や、今後導入が予定されている薬剤を紹介し、両疾患の治療の趨勢を解説する。

#### 気管支喘息

##### ◎最新の治療の趨勢

##### 吸入ステロイドとAdd-on療法

気管支喘息の病態が多彩な細胞群（好酸球、リンパ球、肥満細胞、気道上皮、神経など）が関与する気道の慢性炎症であるとの知見に基づき、これらの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。実際、呼気一酸化窒素（NO）濃度および喀痰中の好酸球やメディエーター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1）<sup>1)</sup>。

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イキングシステムとして、長時間作動型 $\beta_2$ 刺激薬、テオフィリン、抗ロイコトリエン薬が用いられる（Add-on療法）（図2）。

##### ◎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IL4やIL5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3）<sup>2)</sup>。表1に示すように、かなりの数のサイトカイン、ケモカイン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<sup>2)</sup>、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。

いちのせ まさかず／和歌山県立医科大学内科学第3講座教授

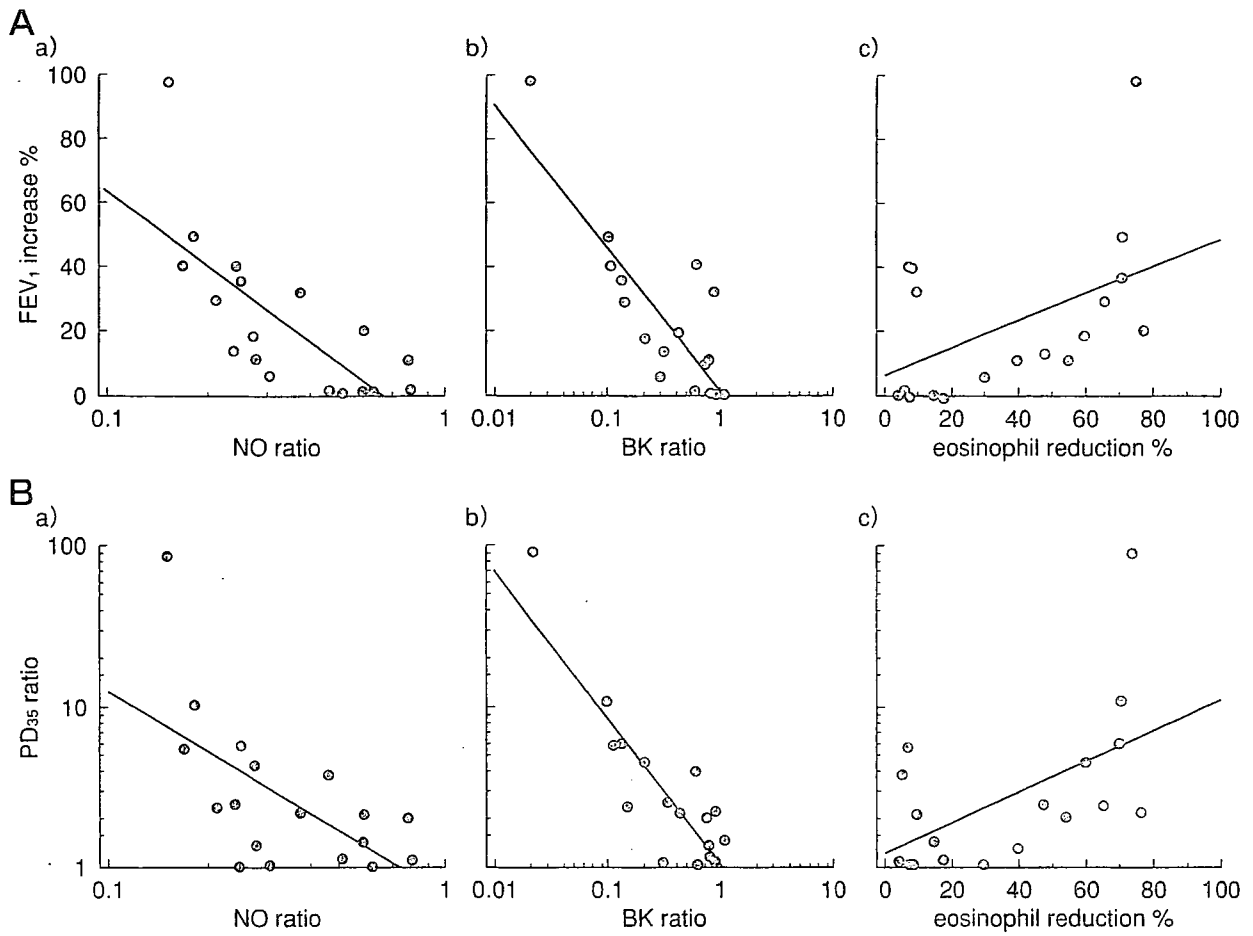


図1 吸入ステロイドによる気道の炎症パラメーター改善効果と一秒量改善 (A) および気道過敏性改善の相関 (B)<sup>1)</sup>

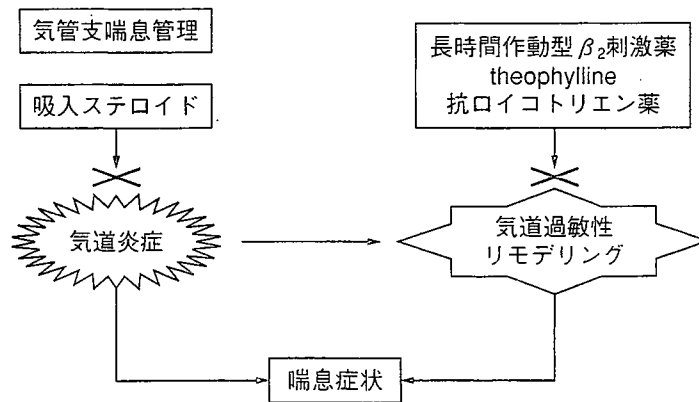


図2 安定期の気管支喘息管理の模式図

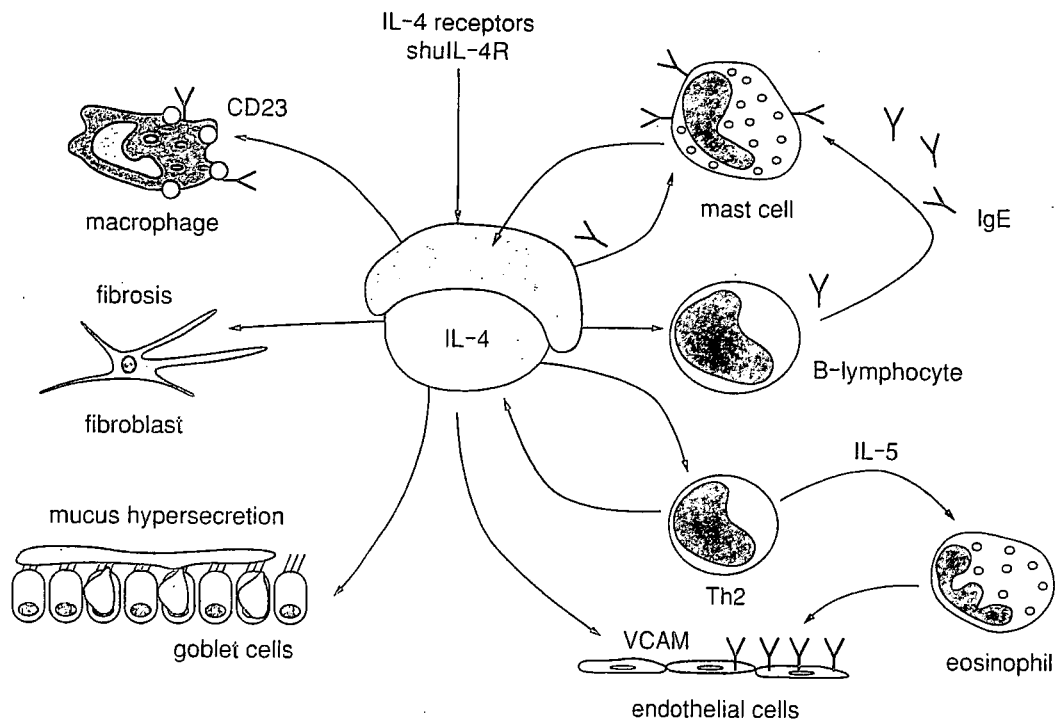


図3 IL4の多彩な生物活性と可溶性IL4受容体による喘息気道炎症抑制の可能性<sup>2)</sup>

表1 喘息に関連すると考えられるサイトカイン  
ケモカイン

anti-cytokines	inhibitory cytokines
anti-IL-5	IL-1 receptor antagonist
anti-IL-4	IL-10
anti-IL-13	IL-12
anti-IL-9	interferons (IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ )
anti-IL-25	IL-18
anti-IL-1	IL-23
anti-TNF- $\alpha$	
chemokine inhibitors	cytokine synthesis inhibitors
CCR3 antagonists	Corticosteroids
CCR2 antagonists	Immunomodulators
CCR4 antagonists	Phosphodiesterase-4 inhibitors
CCR8 antagonists	NF- $\kappa$ B inhibitors (IKK2 inhibitors)
	p38 MAP kinase inhibitors

### COPD治療の趨勢と新規薬剤

#### 最新の治療の趨勢

##### 悲観主義から積極管理への変換

COPDの治療薬としては2つのカテゴリーがある。1つは、本疾患の病態そのものに対して有効な薬剤、すなわち分泌腺の過形成・肥大や肺胞の破壊の進行抑制薬、あるいは、可能であればすでに起こった傷害の修復薬である。しかし残念ながら、現在こういった作用をもつ薬剤で臨床応用されているものはない。もう1つは、すでに起こった機能障害（気道の閉塞性障害）を少しでも改善する薬剤、すなわち気管支平滑筋拡張作用を示す

気管支拡張薬であり、現在の治療の中心をなす。近年登場した、長時間作動型気管支拡張薬（ $\beta_2$ 刺激薬や抗コリン薬）は、作用が12~24時間持続し、患者の息切れをはじめとした症状改善効果が顕著である（図4）<sup>3)</sup>。さらに、呼吸不全に対する長時間酸素療法や呼吸器リハビリテーションが、それぞれCOPD患者の生存率やQOLの改善効果を示す報告も多い。気管支拡張薬の改良やこういったエビデンスの集積から、COPD管理はこれまでの悲観主義から積極管理の時代へと変わってきた。