

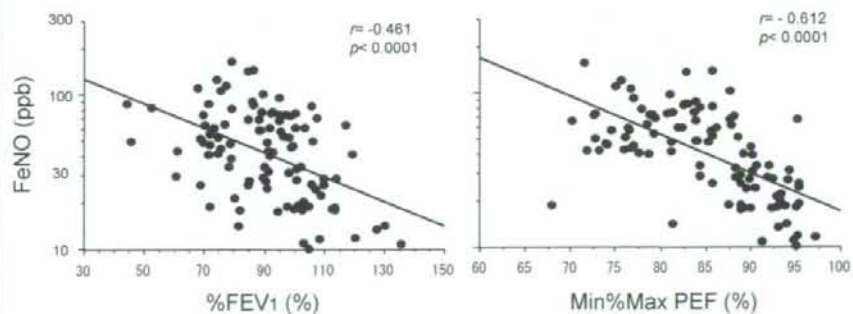
### 喘息患者の呼吸機能異常に対する 呼気NO濃度と症状スコアの感度・特異度

Number	102 (F/M = 60/42)
Age (Years)	47.8±1.5
FVC (L)	3.49±0.10
FEV <sub>1</sub> (L)	2.54±0.08
FEV <sub>1</sub> % (%)	72.6±1.0
%FEV <sub>1</sub> (%)	90.6±1.7
Min%Max PEF (%)	84.8±0.7
FeNO (ppb)	49.6±3.1
ACT score (points)	22.0±0.3

Values are means±SE

和歌山県立医科大学

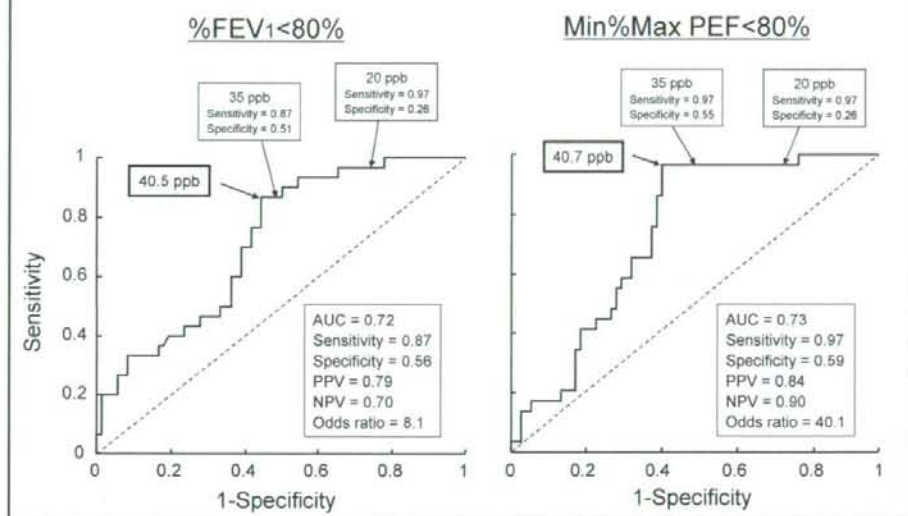
### 閉塞性障害・気道過敏性と呼気NO濃度の関連



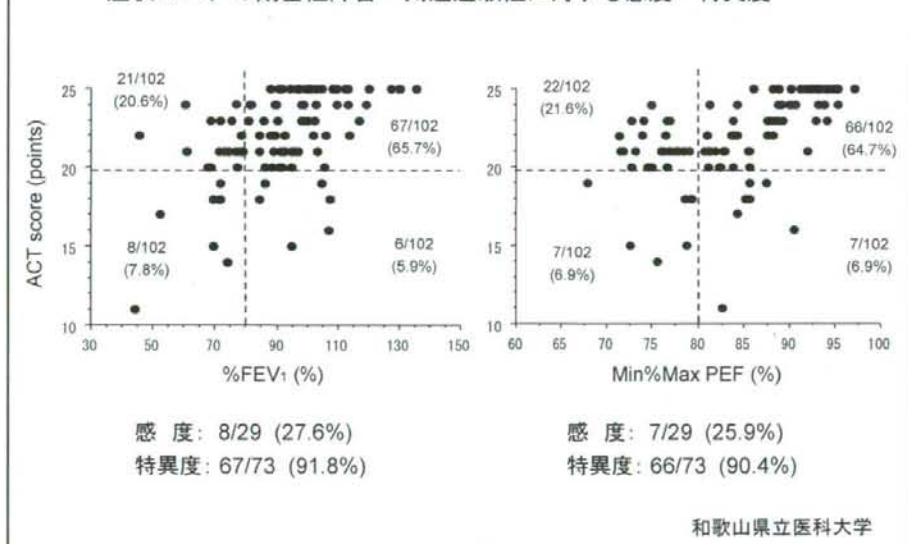
和歌山県立医科大学

閉塞性障害・気道過敏性検出と呼気NO濃度のROC曲線

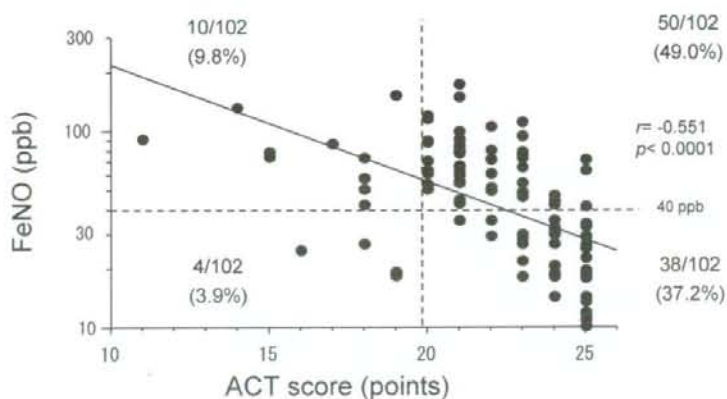
(N=102)



症状スコアの閉塞性障害・気道過敏性に対する感度・特異度



## ACTスコアと呼気NO濃度との関連

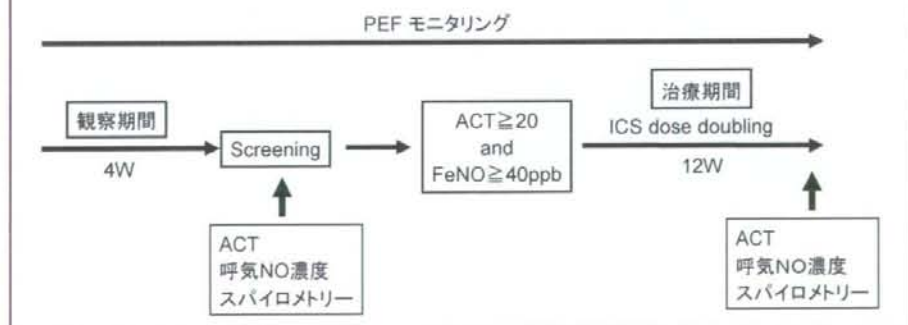


和歌山県立医科大学

## 症状評価 (ACTスコア) が良好でも気道炎症 (呼気NO濃度高値) 症例の呼吸機能障害に対する治療の増強

### プロトコール

従来の喘息症状を指標とした治療を受け、ACTスコアが20以上である88症例のうち、呼気NO濃度が40ppb以上の21症例に対し吸入ステロイド増量を行なった



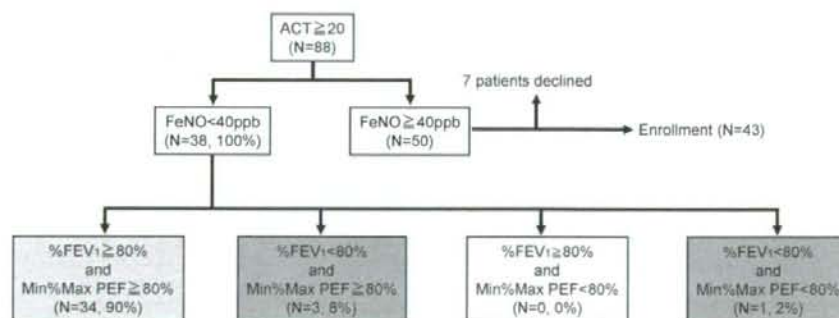
## 症状良好 (ACTスコア > 20) 症例の患者背景

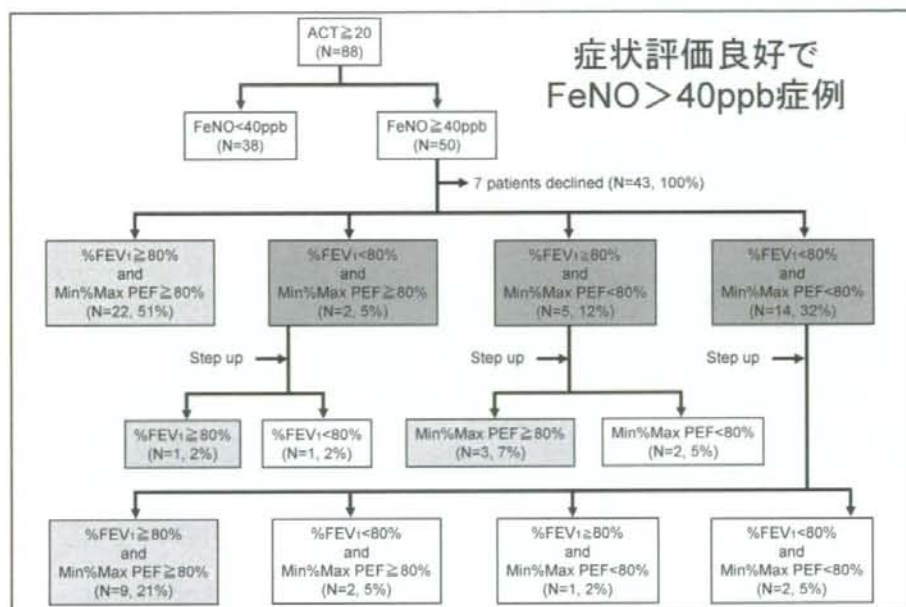
	Total subjects	FeNO < 40ppb	FeNO ≥ 40ppb
Number	88 (F/M = 50/38)	38 (F/M = 26/12)	50 (F/M = 24/26)
Age (Years)	47.4 ± 1.6	46.9 ± 2.5	47.7 ± 2.1
FVC (L)	3.58 ± 0.09	3.43 ± 0.14	3.69 ± 0.14**
FEV <sub>1</sub> (L)	2.62 ± 0.08	2.61 ± 0.12	2.63 ± 0.11
FEV <sub>1</sub> % (%)	73.2 ± 1.1	76.1 ± 1.6	71.0 ± 1.5*
%FEV <sub>1</sub> (%)	92.4 ± 1.7	99.6 ± 2.6	86.9 ± 2.0*
Min%Max PEF (%)	85.4 ± 0.8	91.5 ± 0.6	80.8 ± 0.8*
FeNO (ppb)	47.6 ± 3.1	21.9 ± 1.2	86.9 ± 2.0*
ACT score (points)	22.8 ± 0.2	24.2 ± 0.2	21.8 ± 0.2**

Values are means ± SE. \*p < 0.01, \*\*p < 0.05

和歌山県立医科大学

## 症状評価良好で FeNO < 40ppb 症例の呼吸機能





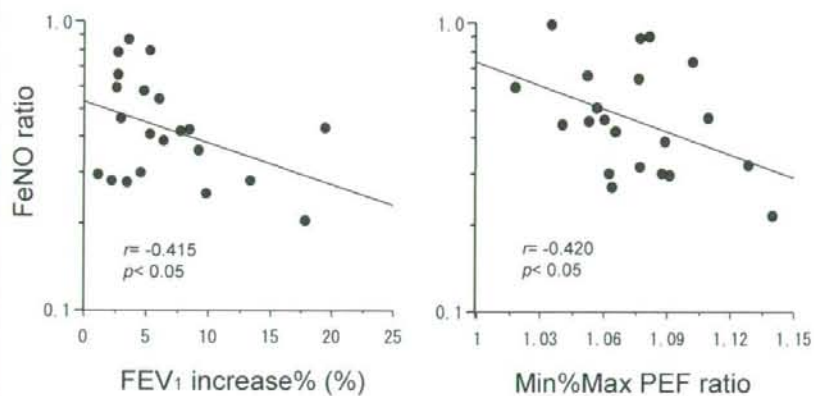
### ステロイド増量による気道炎症と肺機能の改善

Number	21 (F/M = 10/11)	
Age (Years)	50.8 ± 2.7	
	増量前	増量後
FVC (L)	3.28 ± 0.20	3.36 ± 0.20
FEV <sub>1</sub> (L)	2.09 ± 0.13	2.23 ± 0.13
FEV <sub>1</sub> % (%)	64.7 ± 1.8	66.8 ± 1.8
%FEV <sub>1</sub> (%)	78.4 ± 2.0	83.5 ± 2.1
Min%Max PEF (%)	76.1 ± 0.8	81.7 ± 0.7**
FeNO (ppb)	70.4 ± 6.7	42.3 ± 5.3*
FeNO ≥ 40ppb, N (%)	43 (100)	8 (38.1)*

Values are means ± SE. \*p < 0.01, \*\*p < 0.05

和歌山県立医科大学

## ステロイド増量による気道炎症と呼吸機能改善の関連



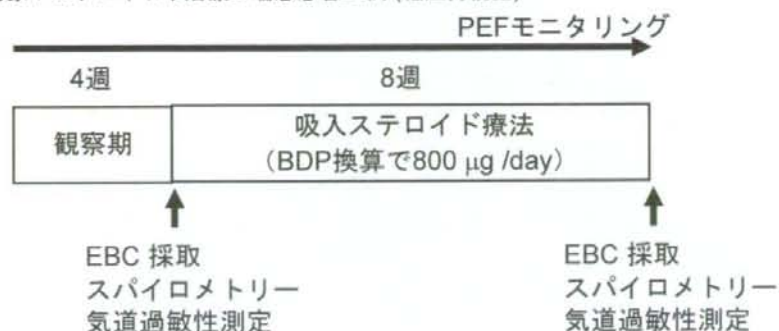
和歌山県立医科大学

## 小括

- 呼気NO値は患者呼吸機能異常の検出に感度が高く、症状スコアは特異度が高いという特性があった。
- 症状スコアのみでの評価では呼吸機能異常を看過する場合（約半数）あるが、呼気NO検査を併用し治療強化することで改善できる。

## 喘息患者におけるステロイド反応性・抵抗性 呼気凝縮液を用いた検討

対象：ステロイド未治療の喘息患者30例（軽症持続型）



炎症物質測定: Cytokine protein array (半定量法) n=18

和歌山県立医科大学

## 吸入ステロイドによる呼吸機能の変化

Number	18 (F/M = 12/6)	
Age (Years)	38.9±3.0	
	Pre-steroid	Post-steroid
FVC (L)	3.25±0.15	3.38±0.14**
FEV <sub>1</sub> (L)	2.52±0.12	2.79±0.13*
FEV <sub>1</sub> /FVC (%)	78.1±2.4	83.0±2.1*
FEV <sub>1</sub> %predicted (%)	92.6±2.9	103.4±3.2*
PD <sub>200</sub> (mg/ml)	5.4±1.4	11.8±2.3*

Values are means ± SE. \*p<0.01 versus pre-steroid. \*\*p<0.05 versus pre-steroid.

## ステロイド投与前の炎症物質発現と 治療による呼吸機能変化との関連

(半定量法; n=18)

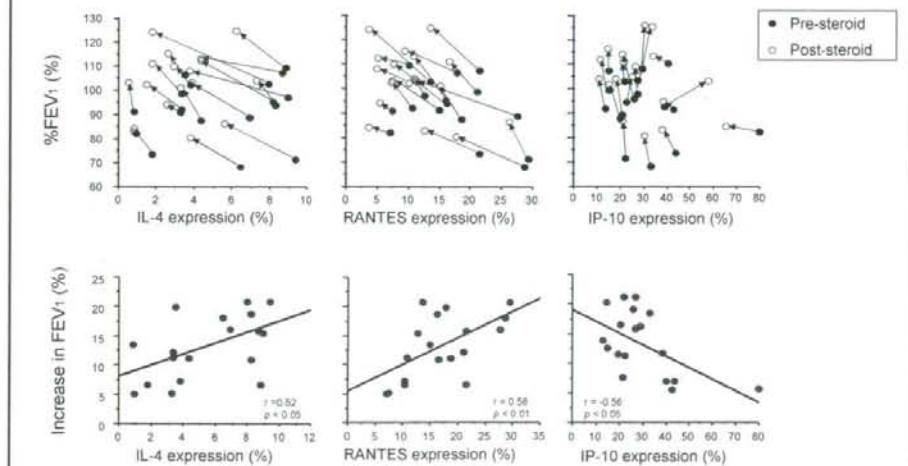
	IL-4	IL-17	TNF- $\alpha$	RANTES	MIP-1 $\alpha$
Increase in FEV <sub>1</sub>	$r = 0.52$ ( $p < 0.05$ )	$r = 0.40$ ( $p = 0.09$ )	$r = -0.18$ ( $p = 0.49$ )	$r = 0.58$ ( $p < 0.01$ )	$r = -0.43$ ( $p = 0.07$ )
PD <sub>200</sub> ratio	$r = -0.05$ ( $p = 0.84$ )	$r = 0.06$ ( $p = 0.83$ )	$r = 0.22$ ( $p = 0.39$ )	$r = 0.19$ ( $p = 0.46$ )	$r = -0.28$ ( $p = 0.27$ )

	MIP-1 $\beta$	IL-8	IP-10	TGF- $\beta$
	$r = 0.08$ ( $p = 0.76$ )	$r = -0.40$ ( $p = 0.10$ )	$r = -0.56$ ( $p < 0.05$ )	$r = 0.41$ ( $p = 0.09$ )
	$r = -0.26$ ( $p = 0.31$ )	$r = -0.32$ ( $p = 0.20$ )	$r = -0.13$ ( $p = 0.62$ )	$r = 0.35$ ( $p = 0.16$ )

## IL-4, RANTES, IP-10発現とステロイドによるFEV<sub>1</sub>の変化

(半定量法)





## 小括

- 呼気凝縮液検査は、ステロイド反応性・抵抗性の検知に有用な可能性がある。

### 抗原吸入試験による呼気凝縮液中LT、PGの変化

Ono et al. 2008 JACI

#### 対象

アトピー型喘息患者 31例。  
ダニに皮膚試験陽性かつRAST score 2以上。

#### 抗原吸入試験

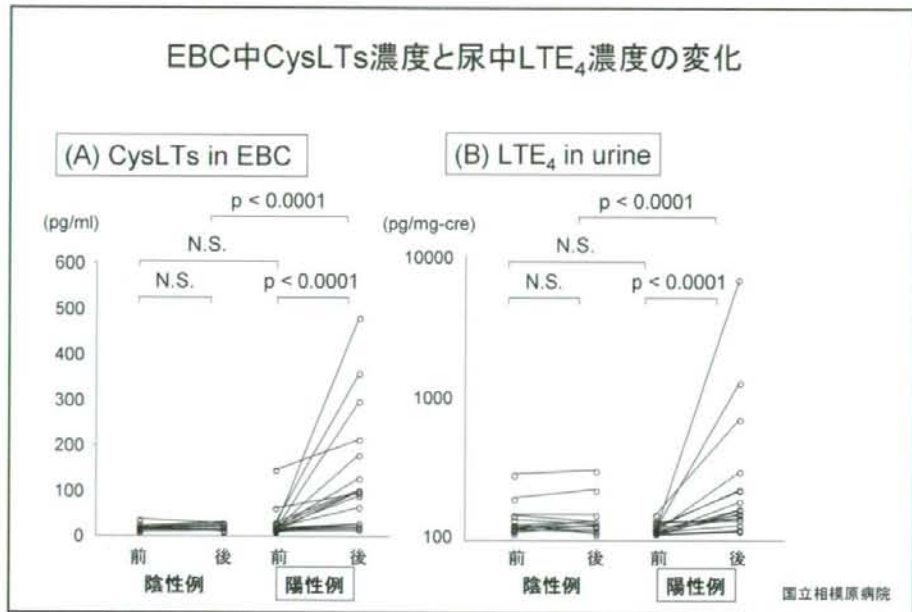
吸入抗原はDerp1を使用。

#### Sample collection

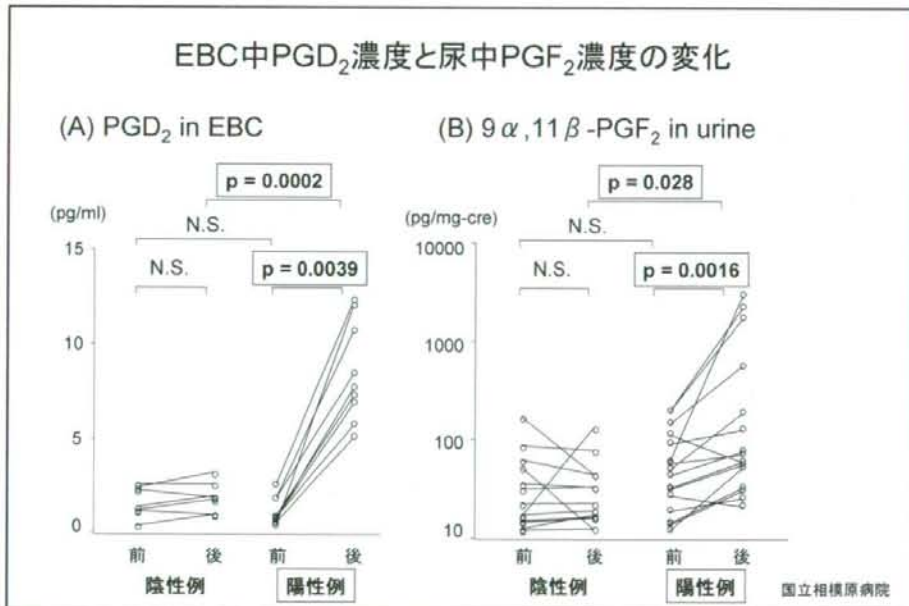
- EBC: Ecoscreenを使用し15分間で採取。  
抗原吸入試験前と終了後に採取。
- Urine: 試験前と終了後(1時間以内)に採取。

国立相模原病院

## EBC中CysLTs濃度と尿中LTE<sub>4</sub>濃度の変化

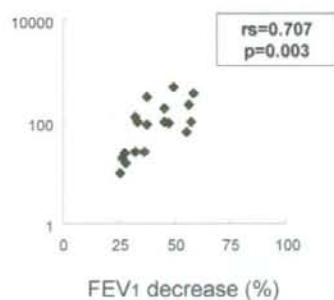


## EBC中PGD<sub>2</sub>濃度と尿中PGF<sub>2</sub>濃度の変化

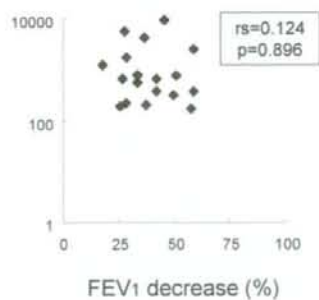


FEV<sub>1</sub>低下率とEBC中CysLTs増加および尿中LTE<sub>4</sub>増加 (n=18)

CysLTs in EBC (pg/ml)



LTE<sub>4</sub> in urine (pg/mg-cre)



国立相模原病院

## 小括

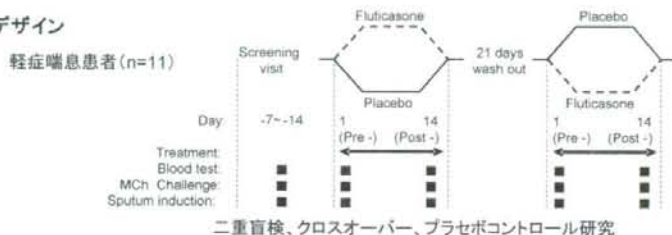
- 呼気凝縮液検査は、喘息発作関連物質の検索に利用できる。

## 気管支喘息における誘発喀痰中の制御性T細胞および抗炎症サイトカインのバイオマーカーとしての意義に関する検討 —吸入ステロイドの治療効果による反応—

### 研究目的

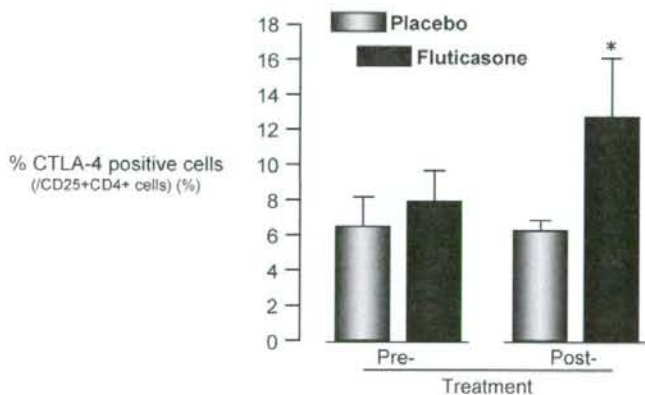
制御性T細胞は、アレルギー反応を抑制する細胞として注目されている。喘息において、喀痰中CTLA-4+CD4+CD25+ T細胞が減少していることを報告した(Kawayama T, et al. Am J Respir Crit Care Med 2005, A289)。今回、喘息治療の第一選択薬である吸入ステロイドが、喀痰中のCTLA-4+CD4+CD25+ T細胞およびサイトカンやケモカインにどのような影響を及ぼすかを検討した。

### 研究デザイン



久留米大学

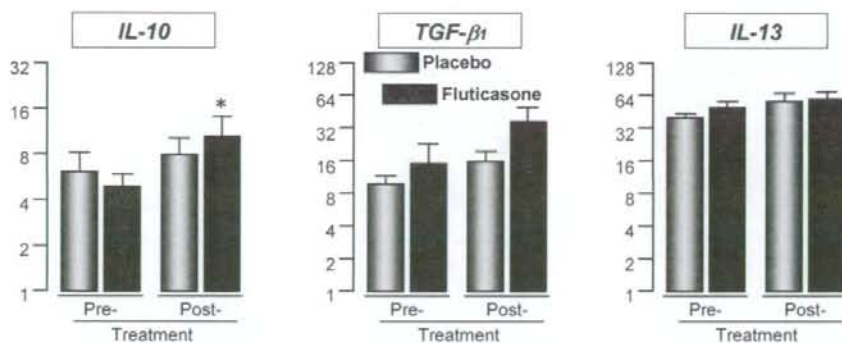
## 吸入ステロイドが喀痰中CD4+CD25+CTLA-4+T細胞に及ぼす影響



With fluticasone treatment, the percentage of CD4+CD25+ cells in sputum co-expressing CTLA-4 increased from 7.9(1.8)% at Day 1 to 12.7(3.3)% at Day 14 (\*p<0.05). In contrast, there were no significant changes in the percentage of CD4+CD25+ cells in sputum co-expressing CTLA-4 with placebo treatment, being 6.4(1.6)% at Day 1 and 6.2(0.6)% at Day 14 (p>0.05).

久留米大学

### 吸入ステロイドが喀痰上清中IL-10, IL-13 & TGF-betaに及ぼす影響



There was a significant increase in the mean (GSEM) IL-10 levels in supernatant of sputum after treatment with fluticasone, increasing from  $6.1 \pm 2.0$  pg/ml at Day1 to  $16.2 \pm 5.7$  pg/ml at Day 14 ( $p < 0.05$ ). The TGF- $\beta_1$  levels with fluticasone showed a tendency to be increased, but this did not reach statistical significance ( $p=0.087$ ). There were no changes in the IL-13 levels with fluticasone treatment, and there were no changes in the IL-10, TGF- $\beta_1$ , or IL-13 levels with placebo treatment.

### 各種バイオマーカーと気道過敏性の相関

	TGF- $\beta_1$	IL-13	IL-10	%CTLA-4	%CD25	%Lym	%Eos
PC <sub>20</sub>	-0.04	0.05	0.44†	0.11	-0.30	-0.18	-0.59**
%Eos	0.09	0.26	-0.29	-0.20	0.10	0.37	
%Lym	0.01	0.02	-0.17	0.07	-0.11		
%CD25	-0.07	-0.08	-0.14	-0.07			
%CTLA-4	0.47	0.28	0.01				
IL-10	0.31*	0.33					
IL-13	0.75***						

All were expressed as r. Each correlation was analyzed by parametric spearman test.

\* $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , and \*\*\* $p < 0.001$ . † $p = 0.053$ .

%CD25=the frequency of positive cells was on CD4+ cells; %CTLA-4=the frequency of positive cells was on CD4+CD25+ cells. Eos=eosinophil, Lym=lymphocyte, IL=interleukin, TGF=transforming growth factor.

## 小括

- 喀痰中CTLA-4+CD4+CD25+T細胞やIL-10は喘息治療の効果判定に利用できるバイオマーカーと考えられた。

## 喘息コントロール状態と気道炎症マーカーとの関連

### 【目的】

喘息コントロール良好群と不良群における気道炎症の差異を非侵襲的、網羅的手法を用いて明らかにする。

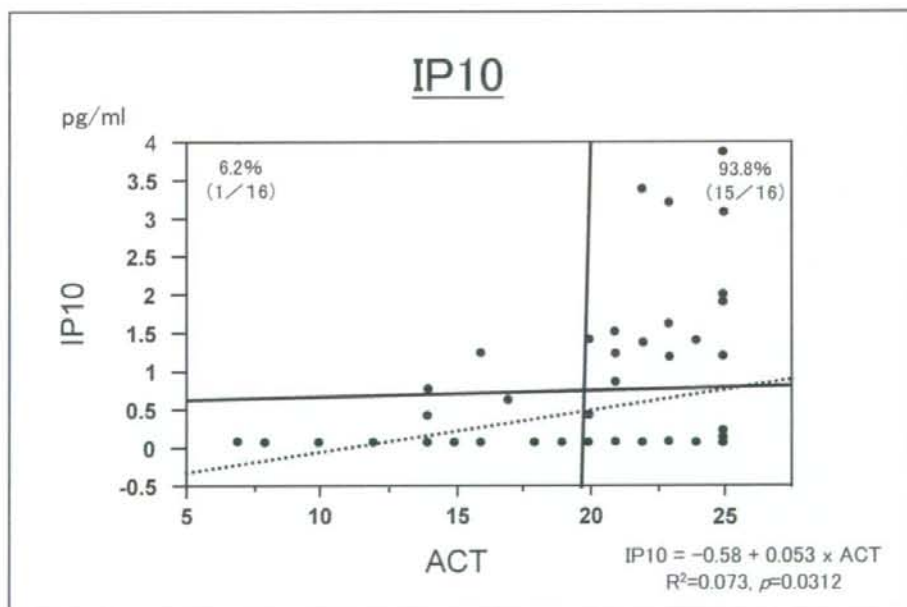
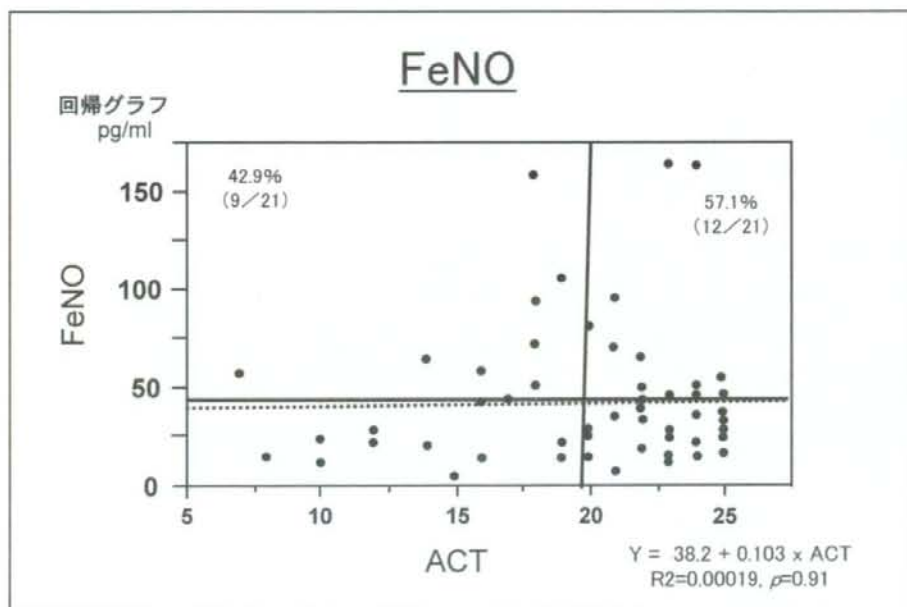
### 【方法】

外来通院中の喘息患者からEcoScreen®を用いて呼気凝縮液を収集し、10倍濃縮の後にLUMINEX® systemを用いて液中の27種のサイトカイン/ケモカインを網羅的に測定した。また、同時に呼気NO濃度を測定した。

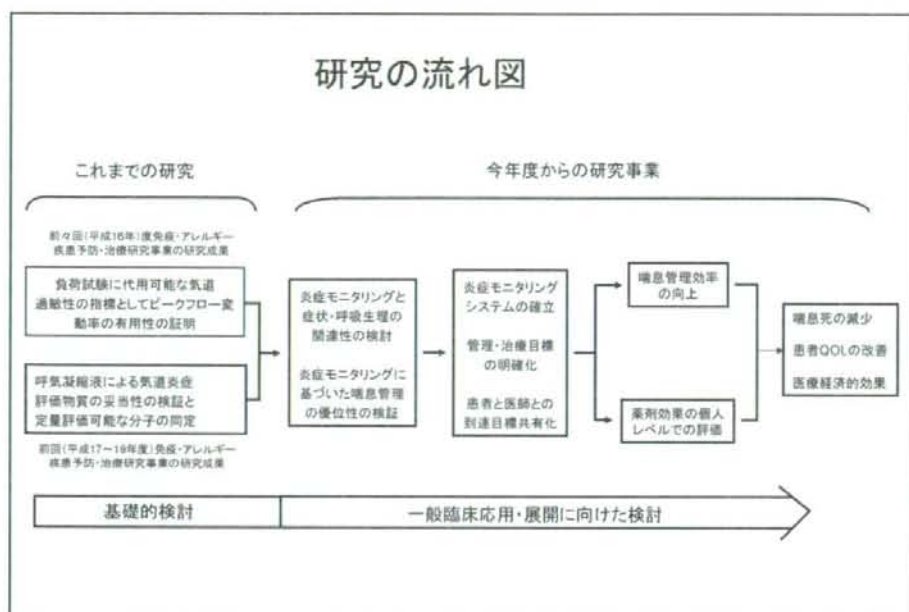
### 【対象】

外来通院中の喘息患者 64例

帝京大学



## 研究の流れ図



## 本年度研究のまとめ

- 気道炎症モニタリングの一般臨床応用化にむけて、呼気NO、呼気凝縮液、喀痰検査と呼吸機能、症状スコアの関連性に関して検討した。
- 呼気NO値は患者呼吸機能異常の検出に感度が高く、症状スコアは特異度が高いという特性があった。
- 呼気凝縮液検査で、吸入ステロイド反応性・抵抗性が識別できる可能性が示された。
- 呼気凝縮液検査の喘息発作関連物質検討や安定期治療の薬剤選択への有用性が示された。
- 喀痰検査は、炎症関連物質に加え、細胞検索に有効であった。



## 次年度以降の課題

- 全体研究  
全施設で呼気NO検査の臨床応用に向け、正常値、治療強化の基準値等を検討。
- 個別研究  
各気道炎症モニタリングの特性を生かし、種々の喘息病態（難治性、増悪期）解明、及び個別治療（テーラーメイド医療）への可能性を探る。

## V. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsunaga K, Ichinose M, et al	Molecular Mechanism of the Additive Effects of Leukotriene Modifier in Asthmatic Patients Receiving Steroid Therapy.	Allergol Int	58	89-96	2009
Yanagisawa S, Ichinose M, et al	The possible role of hematopoietic cell kinase in the pathophysiology of COPD.	Chest	135	94-101	2009
Matsunaga K, Ichinose M, et al	Peak Expiratory Flow Variability Adjusted by Forced Expiratory Volume in One Second is a Good Index for Airway Responsiveness in Asthmatics.	Intern Med	47	1107-1112	2008
Sugiura H, Ichinose M	Oxidative and nitrative stress in bronchial asthma.	Antioxid Redox Signal	10	785-798	2008
Sugiura H, Ichinose M, et al	Nitrative stress in refractory asthma.	J Allergy Clin Immunol	121	355-360	2008
Ichikawa T, Ichinose M, et al	Peroxynitrite augments fibroblast-mediated tissue remodeling via myofibroblast differentiation.	Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol	295	800-808	2008
松永和人, 市川朋宏, 一ノ瀬正和	気道炎症を評価する・呼気凝縮液を用いた検討	THE LUNG perspectives	16	80-85	2008
柳澤 悟, 一ノ瀬正和	喘息治療効果のモニタリング法	EBM ジャーナル	9	76-81	2008
一ノ瀬正和	気管支喘息の病態と治療	日本内科学会雑誌	97	103-108	2008
一ノ瀬正和	難治性喘息と気道炎症マーカー	呼吸器科	13	557-561	2008
松永和人, 一ノ瀬正和	呼気 NO 濃度測定の基礎と臨床	検査と技術	36	1073-1079	2008
一ノ瀬正和	気管支喘息	呼吸	27	965-972	2008
一ノ瀬正和	気道病態の評価	喘息	21	46-51	2008
一ノ瀬正和	呼気 NO・呼気凝縮液分析	日胸	67	104-108	2008
一ノ瀬正和	気管支喘息と COPD の異同: 病態・治療の面から	アレルギー	57	1124-1133	2008

## VI. 研究成果の刊行物