

⑦呼気凝縮液中サイトカインと患者背景との相関

A, B: 呼気凝縮液中のRANTES発現量は1秒量の%予測値や初期気道抵抗と相関を示す。

C, D: TNF- α やTGF- β は気道過敏性やピークフローの変動性と有意な相関を示す。

RANTES: regulated upon activation, normal T-cell, and secreted

FEV₁: forced expiratory volume in 1st second

TGF- β : transforming growth factor- β

(Matsunaga K, et al. J Allergy Clin Immunol 2006; 118: 84-90¹⁶⁾より引用)

の症状を過小評価しがちであるため (Level 3)、
使用にあたっては十分な病状安定後の継続的なモ
ニタリングにとどめることが現実的と思われる¹⁶⁾。

喘息は、その病態から気道炎症・気道過敏性・

構造変化 (remodeling) の各項目を経時的に評価
する必要がある。従来から行われてきた PEF・喀
痰好酸球による評価に加えて、呼気 NO や呼気凝
縮液といった侵襲性の低い検査法を組み合わせる
ことで、よりキメの細かい患者管理も可能となる。

●文献

1. National Institute of Health. Education and Prevention Program. Expert Panel Report II: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. Pub No. 97-4051, 1997.
2. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2006.
3. Jones KP, Mullee MA, et al. Peak flow based asthma self-management: a randomised controlled study in general practice. Thorax 1995; 50: 851-7.
4. Buist AS, Vollmer WM, et al. A randomized clinical trial of peak flow versus symptom monitoring in older adults with asthma. Am J Respir Crit Care Med 2006; 174: 1077-87.
5. Louis R, Lau LC, et al. The relationship between airways inflammation and asthma severity. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161: 9-16.
6. Ichinose M, Takahashi T, et al. Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component: role of airway inflammation and airway calibre. Eur Respir J 2000; 15: 248-53.

7. Bacci E, Cianchetti S, et al. Low sputum eosinophils predict the lack of response to beclomethasone in symptomatic asthmatic patients. *Chest* 2006; 129: 565-72.
8. Green RH, Brightling CE, et al. Comparison of asthma treatment given in addition to inhaled corticosteroids on airway inflammation and responsiveness. *Eur Respir J* 2006; 27: 1144-51.
9. Green RH, Brightling CE, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1715-21.
10. Persson MG, Zetterstrom O, et al. Single-breath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers. *Lancet* 1994; 343: 146-7.
11. Ichinose M, Sugiura H, et al. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 701-6.
12. Smith AD, Cowan JO, et al. Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 453-9.
13. Smith AD, Cowan JO, et al. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 2005; 352: 2163-73.
14. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1: 217-24.
15. Matsunaga K, Yanagisawa S, 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.
16. Kikuchi Y, Okabe S, et al. Chemosensitivity and perception of dyspnea in patients with a history of near-fatal asthma. *N Engl J Med* 1994; 330: 1329-34.

平成 19 年度

4. 気管支喘息の病態と治療

一ノ瀬正和

Key words : 気道炎症, 気道過敏性, リモデリング, 吸入ステロイド, add-on療法

はじめに

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

1. 気管支喘息の病態

1) 気管支喘息の定義

気管支喘息は、繰り返し起こる喘鳴、呼吸困難等種々に変化する気道狭窄による気流制限を示す疾患である。以前は、抗原により刺激された肥満細胞から放出される化学伝達物質による気道平滑筋の過剰な収縮が重要視されてきた。その後気管支喘息の病態には慢性の気道炎症や構築変化(リモデリング)が関与することが、主として形態学的(或いは病理学的)検討によ

て示されてきた¹⁾。その結果を踏まえ日本アレルギー学会では現在表1のように気管支喘息を定義している²⁾。

現在の喘息の定義は「これまでの気流制限、可逆性、気道過敏性といった生理学的所見に偏った定義」から脱却し、「喘息の発生機序(即ち気道炎症)に基づいた機能変化(気流制限や気道過敏性亢進)及び臨床症状を記載した定義」になっている。こういった定義の改良(進歩)は、病態理解を深め、正しい治療法の一般医療現場への広がりにもつながると思われる。

以下に現在の喘息の定義で強調される基本病態、すなわち炎症、気道過敏性、リモデリングのアウトラインについて簡略に触れる。

2) 気道の慢性炎症

喘息の気道炎症は図1に示したように多彩な細胞群が関与する³⁾。好酸球、リンパ球、肥満細胞といった「浸潤細胞」に加え、気道上皮、神経、気道平滑筋、分泌腺などの「構築細胞」が当てはまる。例えば好酸球は気道平滑筋収縮作用や血管透過性亢進作用を示すロイコトリエンのような化学伝達物質に加え、顆粒蛋白を放出し気道上皮を剥離させる。上皮の剥離は知覚神経末端の露出をきたし、神経系(迷走神経反射や知覚神経の軸策反射)を介し炎症はさらに増強する。

3) 気道過敏性の亢進

気道過敏性とは、種々の刺激に対して気道が

いちのせ まさかず：和歌山県立医科大学内科学第三講座

表 1. 日本アレルギー学会による気管支喘息（成人喘息）の定義（文献1より引用）

成人喘息は気道の慢性炎症と種々の程度の気道狭窄と気道過敏性、そして、臨床的には繰り返し起こる咳、喘鳴、呼吸困難で特徴づけられる。気道狭窄は、自然に、あるいは治療により可逆性を示す。気道炎症には、好酸球、T細胞、肥満細胞などの炎症細胞、気道上皮細胞、線維芽細胞をはじめとする気道構成細胞、および種々の液性因子が関与する。持続する気道炎症は、気道傷害とそれに引き続く気道構造の変化（リモデリング）を惹起し、非可逆性の気流制限をもたらす。気道過敏性を亢進させる。

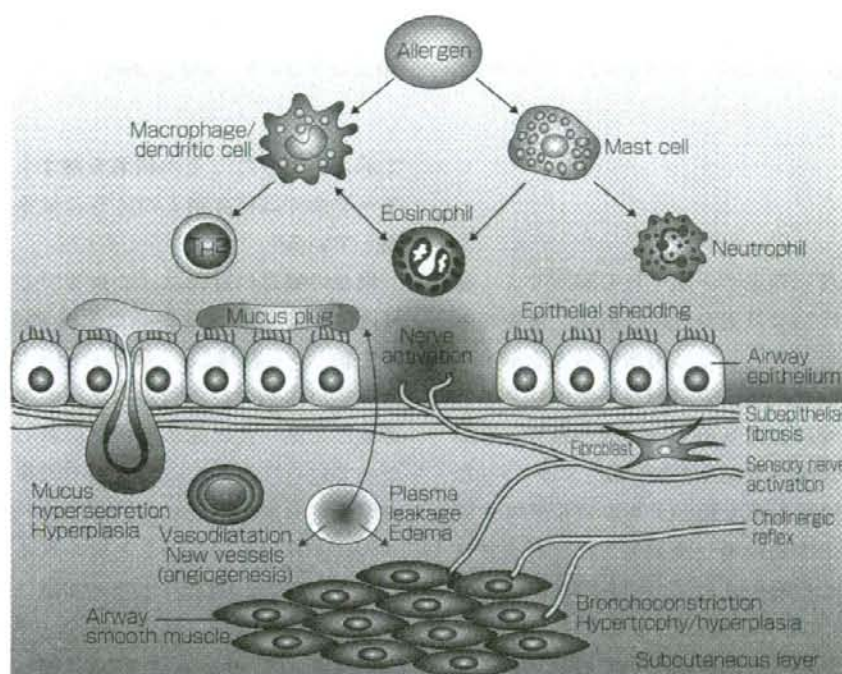


図 1. 現在考えられている気管支喘息の炎症

多くの炎症細胞（肥満細胞，好酸球，Th2 リンパ球等）や構築細胞（気道上皮，気道平滑筋，神経，微小血管等）が喘息の病態に関与する（文献4より引用）

反応する度合いのことであり、喘息患者では亢進している¹⁻³⁾。刺激には、気道平滑筋・血管を直接的に刺激して気道狭窄をおこすもの（アセチルコリン・ヒスタミン）と、肥満細胞のメディエーターや知覚神経刺激による神経伝達物質放出を介して二次的に狭窄をおこすもの（運動による気道粘膜面の高浸透圧刺激や知覚神経刺激）とがある。直接刺激に対する気道過敏性の亢進は気管支喘息だけでなく慢性閉塞性肺疾患（COPD）でも認められるが、間接刺激に対する

気道過敏性は喘息特異的であり、疾患の病態を考える上で重要な意味を持つ³⁾。気道過敏性亢進には気道炎症をはじめいくつかの因子が関与しているがそれらを表2に示す。

喘息患者の気道過敏性は、ウイルス感染、抗原曝露といった気道の炎症増強時にさらに亢進する。また、種々の治療薬の中で気道過敏性を最も強く抑制するものはステロイドである。これらのことは、喘息患者における気道過敏性の規定因子の中で、気道炎症が最も重要であるこ

表2. 気道過敏性亢進に関する因子

1) 気道炎症

●炎症性サイトカインやメディエーターの放出、上皮剝離による知覚神経の露出は以下の各項に述べた機序で気道過敏性を亢進させる。

2) 初期気道内径

●気道抵抗は気道内径の4乗に逆比例する。予め気道平滑筋の収縮、気道壁の肥厚等で気道内径が狭くなっていれば、その後の刺激による気道の狭小化がより顕著に認められる。

3) 気道壁の浮腫及び内腔への液体成分漏出

●気道壁の浮腫は、炎症性メディエーターによる気管支動脈灌流領域の血管拡張（鬱血）、および血管透過性亢進によっておこる血漿成分の気道組織への漏出によって起こる。

●血管透過性亢進、気道分泌、上皮のイオントランスポート亢進によっておこる気道内腔への液体成分貯留は、液性成分の気道内腔占拠および、表面張力により気道過敏性亢進をきたす。

4) 神経系の異常

●気道は、①交感神経（アドレナリン作動性）、②コリン作動性神経、③興奮性非コリン非アドレナリン作動性（excitatory nonadrenergic noncholinergic, e-NANC）神経、④抑制性NANC（inhibitory NANC, i-NANC）神経の4つの神経系によって支配されている。

●これら神経のうち、②・③の神経系の機能亢進或いは①・④の神経系の機能低下は、気道過敏性亢進を引き起こす。

●iNANC神経の伝達物質はVIPとNOであるが、VIPの場合は肥満細胞から放出されるトリプテースにより分解され、NOは炎症細胞由来の活性酸素類により失活化する。

5) 気道上皮傷害

●気道上皮は吸入物質に対してバリアーとなるだけでなく、気道平滑筋拡張物質を放出する。また、上皮にはヒスタミン分解酵素（HMT）やサブスタンスPなどのタキキニン分解酵素（NEP）が密に存在している。さらに、上皮には知覚神経が豊富に分布している。つまり、喘息で認められる上皮の傷害・剝離は、①吸入した気道収縮物質の標的器官（気道平滑筋、血管）への到達の容易化、②内因性気道拡張物質の減弱化、③気道収縮物質（ヒスタミン、サブスタンスP）の分解機能不全等により、気道過敏性亢進をきたす。

6) 遺伝的因子

とを示している。

4) 気道のリモデリング

喘息における慢性の気道炎症は、基底膜、平滑筋細胞、線維芽細胞等に作用し、上皮下に線維化、気道血管床増生、平滑筋増生などを起こし気道の構造変化を引き起こす。好酸球などから産生されるTGF- β （transforming growth factor- β ）やPDGF（platelet-derived growth factor）といった増殖因子の作用により線維芽細胞や筋線維芽細胞が増殖、活性化し、そこから産生されたコラーゲン、フィブロネクチンなどの細胞外マトリックスが基底膜網状層に沈着が生じる。このような気道の構造変化が高度になれば、固定した気流閉塞の進行や気道過敏性亢進へと働くため、気道過敏性亢進や気管支喘息難治化の原因となる。

5) 喘息患者における基本病態と呼吸生理学的異常との関連性

以上述べたように、気管支喘息とは「慢性の

気道炎症」「気道過敏性亢進」「構築変化（リモデリング）」といった基本病態により、「気流制限」「過分泌」「知覚神経過敏状態」といった生理的異常が変動をもって生じる疾患である。この生理的異常とは症状で言えば「喘鳴」「呼吸困難」「喀痰」「咳」「胸部絞扼感」にあたる。

2. 気管支喘息治療

1) 吸入ステロイドが第一選択薬

喘息治療の目標は、気道炎症や気流制限を起こす因子（アレルゲンなど）の回避・除去に加え、適切な薬物療法を行い、可能な限り呼吸機能を正常化し、健常人と変わらない日常生活を送れるようにすることである。前述したように気管支喘息の病態が気道の慢性炎症であるとの知見に基づき、これら多彩な細胞群に広く作用点を持つ吸入ステロイドが第一選択薬とされる（図2）⁴⁾。慢性炎症状態にある喘息気道では、炎

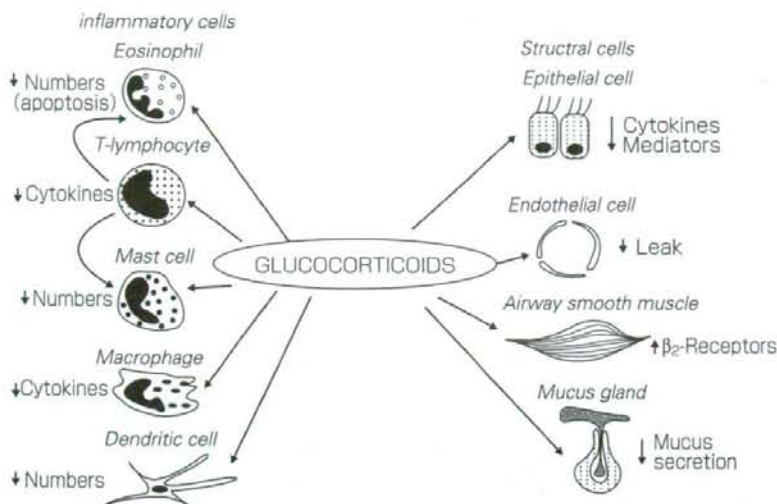


図2. 吸入ステロイドとその作用 (文献4より引用)。



図3. 気管支喘息の治療法。

症性サイトカインにより転写因子の活性化を介し炎症に関与する酵素, 受容体, サイトカイン, 接着因子の発現が高まっているが, ステロイドはこういった炎症の増悪サイクルの抑制に有効である⁴⁾。実際, 呼吸一酸化窒素 (NO) 濃度, 喀痰中の好酸球やメディエーター (プラジキニン) 濃度で気道の炎症をモニタリングすると, 吸入ステロイドは各炎症パラメーターを大きく改善し, その抑制程度は気道の閉塞性障害や過敏性の改善程度とよく相関する⁵⁾。

ステロイドという副作用が常に問題となる

が, 常用量の吸入ステロイドであれば, 発育や骨密度にも悪影響が無いことが報告されている。Hahtela等の吸入ステロイドの導入時期を2年の間隔の早い遅いで検討した報告によれば, 遅れて吸入ステロイドを導入した場合は呼吸機能の改善が早期導入に比べ劣るとされており⁶⁾, 早期導入が推奨される。吸入ステロイドは喘息死を減らすことも報告されている。

2) add-on療法

一方, 吸入ステロイドで気道炎症が抑制されていても, ウイルス感染等により喘息発作は起

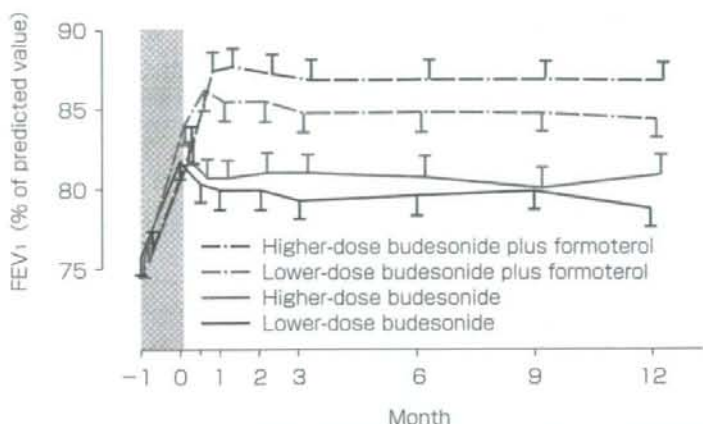


図4. コントロール不十分な喘息患者に対する吸入ステロイド増量(4倍)と吸入ステロイド+LABA(フォルモテロール)の比較。吸入ステロイド増量よりLABA追加の方が効果が大きいことが分かる(文献7より引用)。

こりうる。これは、喘息患者が先天的に持つ気道過敏性や、炎症に続発して起こった気道壁の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抑制システムとして、長時間作用型 β_2 刺激薬(long acting β_2 agonist, LABA)、テオフィリン、抗ロイコトリエン薬が用いられ、add-on療法と称される(図3)。その根拠として、低用量吸入ステロイドでコントロール不良の患者群に対して、高用量吸入ステロイドと低用量吸入ステロイドに前述した3つのadd-on薬のいずれかの投与で比較した場合の呼吸機能や症状の改善がadd-on療法群で優れているという多くのエビデンスが挙げられる。add-on薬の中でもっとも作用が強力なのはLABAであり、図4にその結果を示す⁷⁾。テオフィリンや抗ロイコトリエン薬は内服で服薬コンプライアンスが良好という利点がある。患者の状態(病状や理解度)に応じた対応が望まれる。

3) 新規薬剤への期待

最近、抗IgE(immunoglobulin E)抗体が喘息患者の即時型及び遅発型気道反応を抑制することが報告された⁸⁾。さらに抗IgE抗体は血清IgEの低下、中等症及び重症の喘息患者において、吸入ステロイド減量効果や発作頻度減少といっ

た有用性も確認されている。本邦での臨床応用も近く予定されており期待される。

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(interleukin 4)やIL5を初めとした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⁹⁾。しかし、こういったサイトカイン調節薬は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。

おわりに

以上述べてきたように、気管支喘息の病態理解が進み吸入ステロイドを第一選択とし、効果が不十分な症例にはadd-on療法を行う治療法が確立してきた。さらに抗IgE抗体や抗サイトカイン療法のような将来展望もなされるようになった。

治療(疾患管理)の最終目標は患者が健常人と全く変わらない生活をおくれるようにすることである。国際喘息ガイドライン(GINA)でもこの点を強調しており、表3に提示したような項

表3. 喘息管理の国際ガイドライン (GINA) における喘息治療の到達目標 (文献1より引用)

1. 夜間症状を含めて慢性症状がほとんど(できれば全く)ない
2. 喘息発作がほとんど(稀にしか)発生しない
3. 救急外来を受診することがない
4. β_2 刺激薬の頓用をほとんど(できれば全く)必要としない
5. 運動を含めて活動に対する制限がない
6. PEF値の日内変動が20%未満である
7. PEF値が正常(ほぼ正常)である
8. 薬剤の副作用がほとんど(または全く)ない

PEF: peak expiratory flow

目を喘息管理の最終目標としている。本稿で述べた治療法を行えば、ほとんどの喘息患者でその達成は可能であることを強調して、稿を終える。

文 献

- 1) Global strategy for asthma management and prevention (revised 2006). Available on www.ginasthma.org
- 2) 喘息予防・管理ガイドライン 2006. 日本アレルギー学会作成. 協和企画.
- 3) 一ノ瀬正和: 気道過敏性における最近の知見. 内科 93: 794-799, 2004.
- 4) Barnes PJ, et al: Efficacy and safety of inhaled corticosteroids: new developments. *Am J Respir Crit Care Med* 157: S1-S53, 1998.
- 5) Ichinose M, et al: Baseline airway hyperresponsiveness and its reversible component: role of airway inflammation and caliber. *Eur Respir J* 15: 248-253, 2000.
- 6) Haahtela T, et al: Effects of reducing or discontinuing inhaled budesonide in patients with mild asthma. *N Engl J Med* 331: 700-705, 1994.
- 7) Pauwels RA, et al: Effect of inhaled formoterol and budesonide on exacerbations of asthma. *N Engl J Med* 337: 1405-1411, 1997.
- 8) Fahy JY, et al: The effect of an anti-IgE monoclonal antibody on the early- and late-phase responses to allergen inhalation in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 155: 1828-1834, 1997.
- 9) Ichinose M, Barnes PJ: Cytokine-directed therapy in asthma. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy* 3: 263-269, 2004.



話題

難治性喘息と気道炎症マーカー*

一ノ瀬正和**

Key Words: exhaled NO, exhaled breath condensate, sputum

はじめに

「難治性喘息」は、「コントロール困難な喘息」, 「重症喘息」, 「ステロイド抵抗性喘息」などと, さまざまな表現をされる. 現在もっとも一般的な定義は, 「ガイドラインで推奨されている範囲で最高用量の吸入ステロイドを用いても6~12か月以上, コントロール不全の状態が続く喘息」というものである. こういった疾患群の中には, 吸入ステロイドに反応しない炎症を有する喘息, 気道のリモデリングが進行して閉塞性障害がある程度固定化してしまった喘息が含まれる. さらに, 処方された薬剤を服用しない患者や喘息以外の疾患[たとえば慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease: COPD)を合併する喘息, 他疾患(声帯機能不全)]が喘息と誤診されている場合もある.

よって, 標準的な療法が無効な難治性喘息患者の場合, 喘息診断の正当性, 患者のアドヒアランス, 環境危険因子の有無などを検討し, その上でコントロール困難な喘息としての表現型を解析することが重要となる. 本稿で述べる「気道炎症マーカー」は, 喘息の診断, 治療効果判定, 患者アドヒアランスのチェックに有効な手段となるだけでなく, 真の難治性喘息の病態解明の観点からも重要である.

喀痰検査

気管支喘息の本態は「慢性的気道炎症」であり,

多くの炎症細胞が関与するが, 臨床で喀痰の好酸球の検鏡は診断に有用である. 喘息患者の中には喀痰のない患者もいるが, その場合は誘発喀痰検査を行う^{1)~3)}.

誘発喀痰採取は検査の約15分前に短時間作用型β2刺激薬を患者に吸入投与したあと, 超音波ネブライザーを用いて3~5%の高張食塩水を, 5分間ずつ計20~30分間吸入させ喀痰を1~2 ml採取する. 短時間作用型β2刺激薬吸入を検査前に行うのは, 高張食塩水による気道収縮反応の予防のためである.

誘発喀痰検査では, 臨床では細胞成分(好酸球の増加)の検討を主に行うが, 上清中サイトカイン, 化学・神経伝達物質の検討も可能である²⁾³⁾(図1). 吸入ステロイド治療を行うと喀痰中の好酸球数は著明に減少し, 上清中の炎症性メディエータ(たとえばブラジキニン)も減少し, 抗炎症効果の程度を知ることができる. こういった抗炎症効果の程度と, 気流閉塞(1秒量)や気道過敏性の改善の程度とは有意な相関がみられることから(図2), 治療効果の指標としても有用である³⁾.

最近, 誘発喀痰検査を治療の指標として用いる検討が行われ, 吸入ステロイドを中止2週間後の誘発喀痰中の好酸球数が低値であれば, そのまま吸入ステロイドを中止しても, 少なくとも14週後の増悪率は増加しないことが報告されている⁴⁾. このことは, 誘発喀痰検査を用いた直接的な気道炎症の評価を行うことが, より喘息

* Difficult asthma and marker of airway inflammation.

** Masakazu ICHINOSE, M.D.: 和歌山県立医科大学内科学第三講座(☎641-8509 和歌山市紀三井寺811); Third Department of Internal Medicine, Wakayama Medical University, Wakayama 641-8509, JAPAN

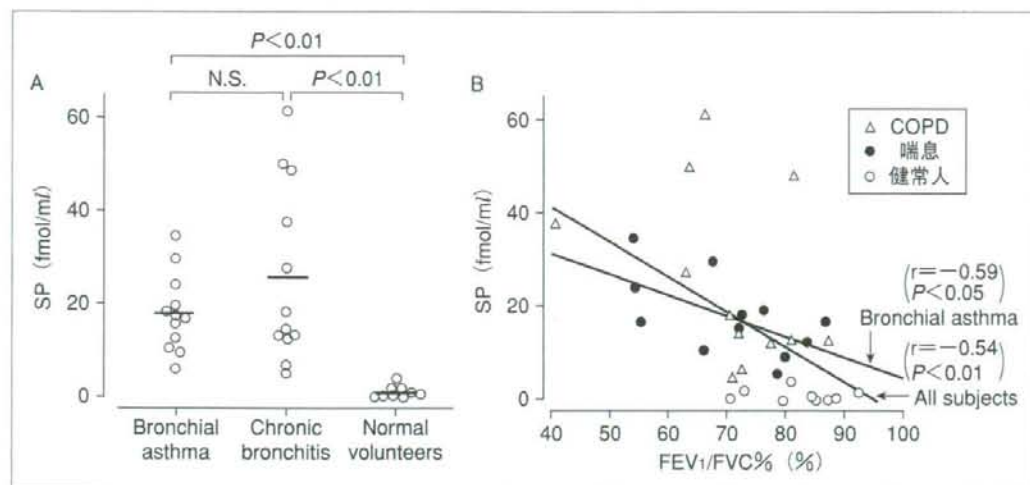


図1 喀痰中のサブスタンスP(SP)含量

Aで示すようにCOPD(chronic bronchitis), 気管支喘息(bronchial asthma)ではSP含量が健常人より有意に上昇しており, BのようにSP含量の増加は閉塞性障害の重症度と有意に相関する。(文献²⁾より改変引用)

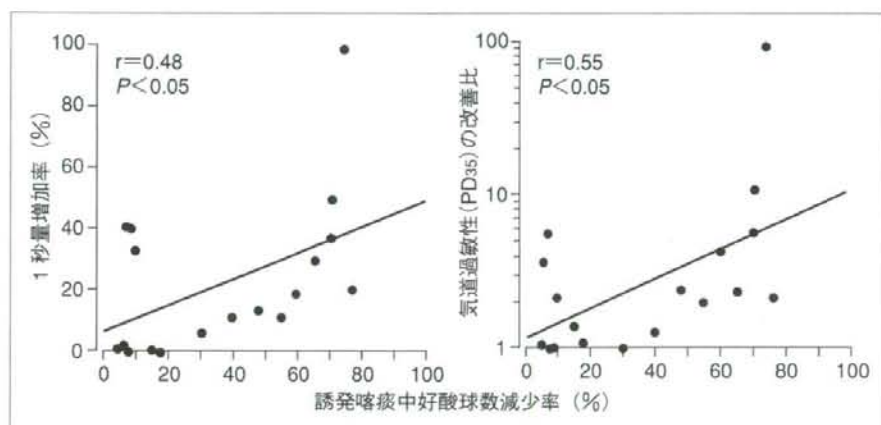


図2 吸入ステロイドによる誘発痰中好酸球の変化と呼吸機能変化の関係

気管支喘息患者への吸入ステロイド投与は喀痰中好酸球の現象をきたし, その程度は閉塞性障害や気道過敏性の改善程度と相関する。(文献³⁾より引用)

の管理を向上させる可能性があることを示唆している。

喀痰検査の短所としては, すべての喘息患者で自発痰が得られるわけではないこと, 誘発喀痰検査の場合は高張食塩水吸入で咽頭痛がみられることがあげられる。

呼吸一酸化窒素測定

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(図3)が, NOSは気道にも存在し(表1), 喘息の炎症関連物質の一つと考

えられる。実際, 気管支喘息患者の呼気ガス中のNO濃度は上昇している³⁾⁵⁾⁶⁾(図4)。

気道でのNOの作用は, 気道平滑筋弛張作用や血流の保持といった生理的作用と, 誘導型NO合成酵素(iNOS)由来の大量のNOによる炎症惹起物質としての働きがある。NOSの阻害薬による遅発型アレルギー反応の抑制⁷⁾や選択的iNOS阻害薬前投与⁸⁾やiNOS欠損マウスによる, 抗原抗体反応後の好酸球浸潤と気道過敏性亢進の抑制は喘息によるNOの炎症作用の優位性を支持する⁹⁾。

NOによる炎症反応あるいは組織障害性に関し

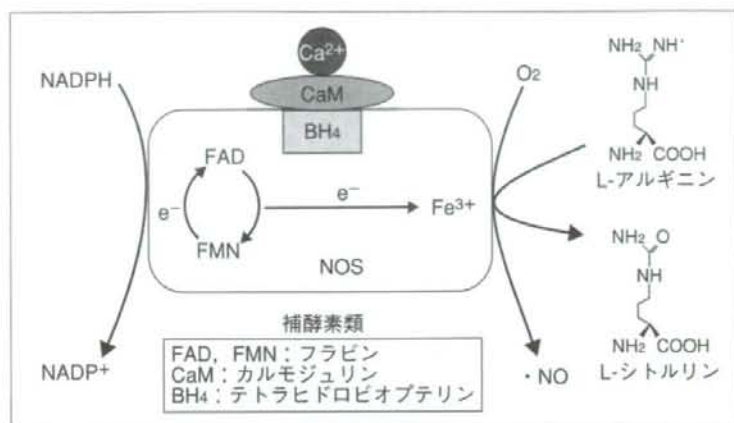


図3 NOの産生経路

NOはNO合成酵素(NOS)の作用によりL-アルギニンからL-シトルリンへの変換過程で産生される。

表1 NOSの種類と局在

アイソフォーム	type I (nNOS)	type II (iNOS)	type III (eNOS)
染色体の位置	12q24.2	17q11.2-q12	7q35-q35
分子量	160kDa	130kDa	133kDa
カルモジュリン依存性	+	+	+
カルシウム依存性	+	-	+
主な発現部位	神経	マクロファージ	血管内皮
気道での存在部位	神経線維, 気道上皮, 好中球	マクロファージ, 気道上皮, 線維芽細胞, 血管平滑筋細胞, 好中球(炎症部位), 血管内皮細胞, 肥満細胞, 好酸球	血管内皮細胞, 気道上皮, 血小板

喘息の気道炎症に関連すると思われる大量のNO産生に関与する誘導型NOS(iNOS)は気道上皮, 好酸球, 好中球, マクロファージに発現している。この発現にはIL-1などの炎症性サイトカインが転写レベルでかかわっている。

では、NOとスーパーオキシドのすみやかな反応によって生成されるパーオキシナイトライトが重要である。モルモットの遅発型アレルギー反応時の気道微小血管透過性亢進を指標として検討した場合、NOS阻害薬、ザンチンオキシダーゼ阻害薬、パーオキシナイトライト消去薬はそれぞれ抑制効果を示した。さらに、パーオキシナイトライトによるチロシンのニトロ化を利用し、その局在を検討したところ、気道に浸潤した好酸球および血管内皮が重要と考えられる⁷⁾。

こういったNOの炎症反応が喘息の病態に深くかかわっていることは、臨床的には喘息呼吸中のNO濃度の吸入ステロイドによる減少程度が、1秒量(FEV1)で示した気道閉塞や、気道過敏性(メサコリンに対する反応閾値, PD35)といった呼吸機能の改善程度とよく相関する事実からも支持される(図5)³⁾。最近、呼気NOをモニタリ

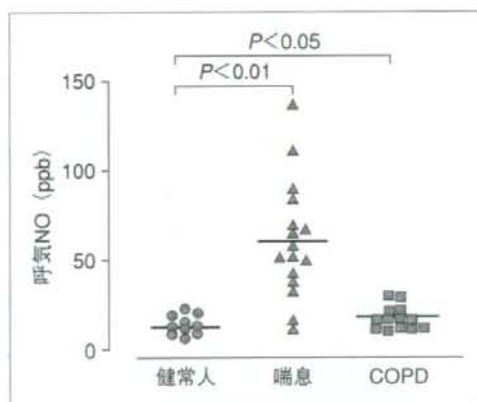


図4 呼気NO濃度と呼吸器疾患
健康人やCOPD(慢性閉塞性肺疾患)に比べ喘息では呼気NOの上昇が認められる。(文献⁶⁾より引用)

ングしながら吸入ステロイドの量を調節すれば喘息の管理効率の上昇と使用ステロイド量の抑

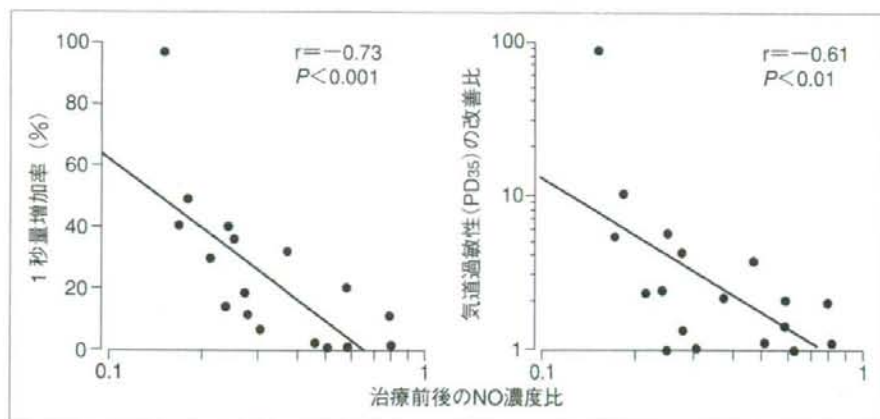


図5 治療による呼気NO濃度変化と呼吸機能の改善

吸入ステロイド治療で呼気NO濃度は低下するが、その程度は閉塞性障害や気道過敏性改善程度とよく相関する。(文献¹⁰より引用)

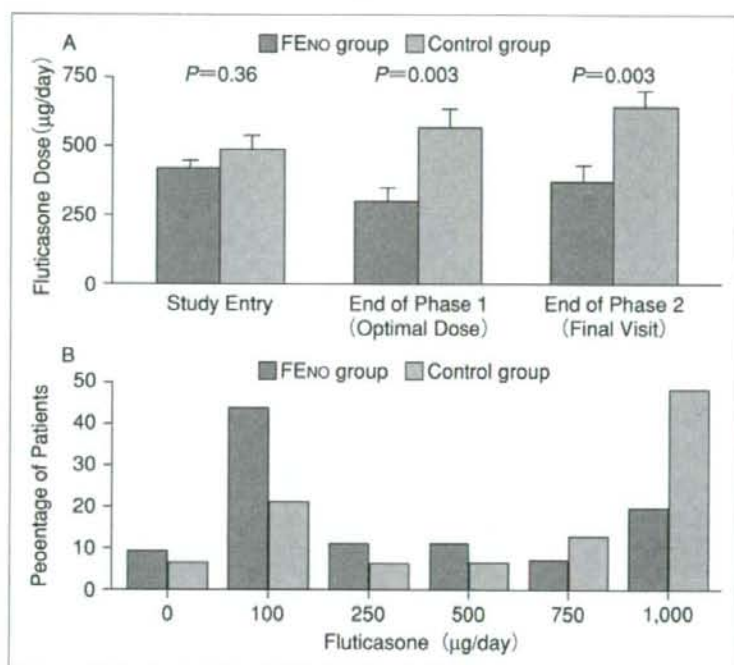


図6 呼気NOを目安として喘息管理を行った場合とそうでない場合との比較
Aに示したように呼気NO (FE_{No})を目安として治療した群の方が最終観察日での吸入ステロイド量が少なくてすむ。Bは呼気NOモニタリング群と対照群との治療最終日の吸入ステロイドの量の分布を示す。(文献¹⁰より引用)

制につながるとい報告もされている(図6)¹⁰。

呼気NO濃度測定的一般臨床応用は、測定機器の簡素化も進んでおり、間近に迫っている。一方、抗NO薬の喘息治療への臨床応用に関してはもう少し時間がかかりそうである。

呼気凝縮液検査

呼気凝縮液(exhaled breath condensate)検査は、呼気を冷却(-20℃)し得られた液体成分を検討する新しい検査である。呼気凝縮液中には

揮発性物質だけではなく、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、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。

われわれはCytokine Array kitを用い、呼気凝縮液中のIL-4, IL-8, IL-17, TNF- α , RANTES, IP-10, TGF- β 1, MIP-1 α , MIP-1 β の発現が気管支喘息患者で増加していることを示した¹¹⁾。このうちRANTESは閉塞性障害と、TNF- α およびTGF- β 1は気道過敏性との相関が認められた。呼気凝縮液中のCys-LTsが気管支喘息患者で増加しており、重症度との関連があるとの報告もある。

以上述べたように、呼気凝縮液検査は侵襲性の低さは大きな利点であるが、呼気中の水蒸気で成分が希釈されているため、分子の定量化にあたっては今後の検討課題である。

終わりに

以上、喘息の診断、治療の効果判定に有用なだけでなく、難治性喘息の病態解明にも役立つと考えられる気道の炎症マーカーに関して解説した。気道炎症マーカーの検討から難治性喘息の機序として、たとえば過剰な酸化ストレスの関与など新見解が明らかとなっているが¹²⁾、今後この分野でのさらなる発展が期待される。

文 献

- 1) Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47 : 25.
- 2) Tomaki M, Ichinose M, Miura M, et al. Elevated substance P content in induced sputum from patients with asthma and patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151 : 613.
- 3) 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* 2000; 15 : 248.
- 4) Deykin A, Lazarus SC, Fahy JV, et al. Sputum eosinophil counts predict asthma control after discontinuation of inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115 : 720.
- 5) Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, et al. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343 : 133.
- 6) 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 : 701.
- 7) Sugiura H, Ichinose M, Oyake T, et al. Role of peroxynitrite in airway microvascular hyperpermeability during late allergic phase in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160 : 663.
- 8) Koarai A, Ichinose M, Sugiura H, et al. Allergic airway hyperresponsiveness and eosinophil infiltration is reduced by a selective iNOS inhibitor, 1400W, in mice. *Pulm Pharm Ther* 2000; 13 : 267.
- 9) Koarai A, Ichinose M, Sugiura H, et al. iNOS depletion completely diminishes reactive nitrogen species formation after allergic response. *Eur Respir J* 2002; 20 : 609.
- 10) Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, et al. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 2005; 352 : 2163.
- 11) 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.
- 12) Sugiura H, Komaki Y, Koarai A, et al. Nitritative stress in refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121 : 355.

* * *

E 呼吸機能検査

4. 呼気 NO 濃度測定的基础と臨床

まつなが かずと いちのせ まさかず
松永 和人*・一ノ瀬 正和*

はじめに

呼気中に検出される一酸化窒素(nitric oxide, NO)は気道内の上皮細胞やマクロファージにより産生されたNOに由来すると考えられており、健康人においても定常的にNOが呼気中に検出される^{1,2)}。NOは一酸化窒素合成酵素(nitric oxide synthase, NOS)によって産生されるが、気管支喘息などの炎症性肺疾患では炎症性サイトカインなどによりNOSが誘導され、多量のNOが産生されるため、呼気中のNOが健康者に比較し高濃度で検出される。このため呼気NOは喘息の診断や治療効果の判定において有用な指標となる³⁾。呼気NO濃度測定は鋭敏に気道炎症をモニターできるだけでなく、簡便かつ非侵襲的であるため小児や高齢者においても繰り返し施行が可能である。そのため今後、呼気NO測定の重要性はますます高くなっていくと考えられる。ここでは呼気NO濃度測定について、原理と具体的な測定方法や臨床上の意義について述べる。

○ 肺におけるNOの産生

NOはアミノ酸の一種であるL-アルギニンを基質として、L-シトルリンに転換されるときに同時に産生される。この反応を触媒するのがNOSであり、L-アルギニン、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)が利用され、またその補酵素としてカルモジュリン(calmodulin, CaM)、フ

ラビン(flavin adenine dinucleotide, FAD/flavin mononucleotide, FMN)、テトラヒドロピオプテリン(tetrahydrobiopterin, BH₄)を必要とする(図1)。

NOSには、3種類のアイソフォームが知られており、その活性化機構、発現様式、および細胞内局在が明らかにされている(表)。神経細胞、骨格筋細胞などに存在する神経型NOS(neuronal NOS, nNOS)および血管内皮細胞などに存在する内皮型NOS(endothelial NOS, eNOS)は、いずれも構成型NOS(constitutive NOS, cNOS)であり、酵素活性発現にはアゴニスト(アセチルコリン、ヒスタミンなど)の刺激による細胞質中のCa²⁺の濃度上昇が必要であり、Ca²⁺依存性に短時間で作用する。

一方、炎症性サイトカインやエンドトキシンによる刺激を受けて初めてmRNAが発現される誘導型NOS(inducible NOS, iNOS)がある。iNOSはいったん酵素が合成されると、Ca²⁺濃度に依存せず、cNOSに比べて長期間、大量にNOを産生する。ヒト肺組織におけるNOSの局在について、cNOSは神経線維および太い血管の内皮などに存在し、iNOSは気道上皮、炎症部位でのマクロファージや血管内皮などに存在すると報告されている。

○ 検査の原理

呼気中のNOは化学発光法で測定する。NOはオゾンと反応してNO₂(二酸化窒素)の励起体

* 和歌山県立医科大学医学部内科学第三講座 641-0012 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1

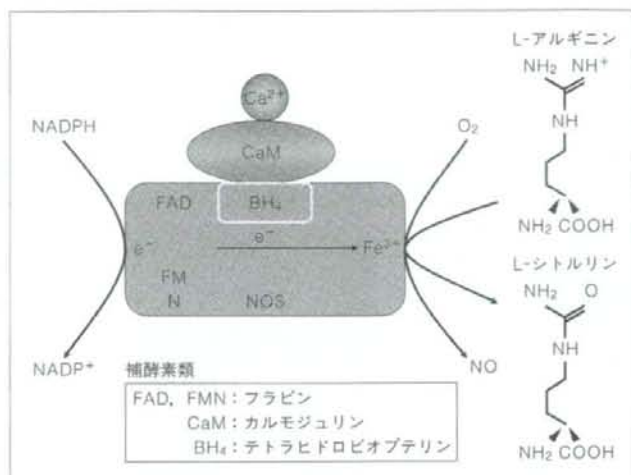


図1 NOの産生経路 (文献3から転載)
NOはNO合成酵素(NOS)の作用によりL-アルギニンからL-シトルリンへの変換過程で産生される。

表 NOSの種類と局在

アイソフォーム	type I (nNOS)	type II (iNOS)	type III (eNOS)
染色体の位置	12q24.2	17q11.2~q12	7q35~q36
分子量	160 kDa	130 kDa	133 kDa
カルモジュリン依存性	+	+	+
カルシウム依存性	+	-	+
主な発現部位	神経	マクロファージ	血管内皮
気道での存在部位	神経線維 気道上皮 好中球	マクロファージ 気道上皮 線維芽細胞 血管平滑筋細胞 好中球(炎症部位) 血管内皮細胞 肥満細胞 好酸球	血管内皮細胞 気道上皮 血小板

喘息の気道炎症に関連すると思われる大量のNO産生に関与する誘導型NOS(iNOS)は気道上皮、好酸球好中球、マクロファージ発現している。この発現にはインターロイキン1などの炎症性サイトカインが転写レベルでかかわっている。

を生成し、この高エネルギーの活性種が化学発光を示す。この反応は気相中だけで起こり、その検出感度は非常に高いため、直接呼吸中のNOを測定するのに適している。

測定方法

1. 測定装置

代表的な呼吸NO測定装置であるSEIVERS社のNITRIC OXIDE ANALYZER NOA™280

(図2)と測定装置の模式図(図3)を示す。最近、Aerocrine社が開発したNIOX MINO®は非常に小型で特別な保守、管理を必要としないため、近い将来のわが国での臨床応用が期待されている。

2. 1回呼吸法(オンライン法)

全肺気量位から呼出された呼吸を直接NO分析器で測定する方法である。具体的には、①被検者は座位でマウスピースをくわえる、②最大呼吸



図2 実際の呼気NO測定装置
SEIVERS社のNITRIC OXIDE ANALYZER NOA™
280.

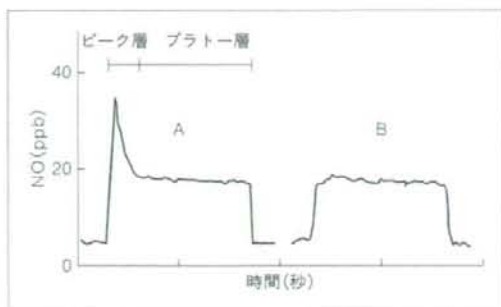


図4 呼気NO濃度の測定モニター画面(文献2から転載)
A. 息こらえ後、または鼻からの吸気後の呼気NO。
B. 口からの吸気後の呼気NO。

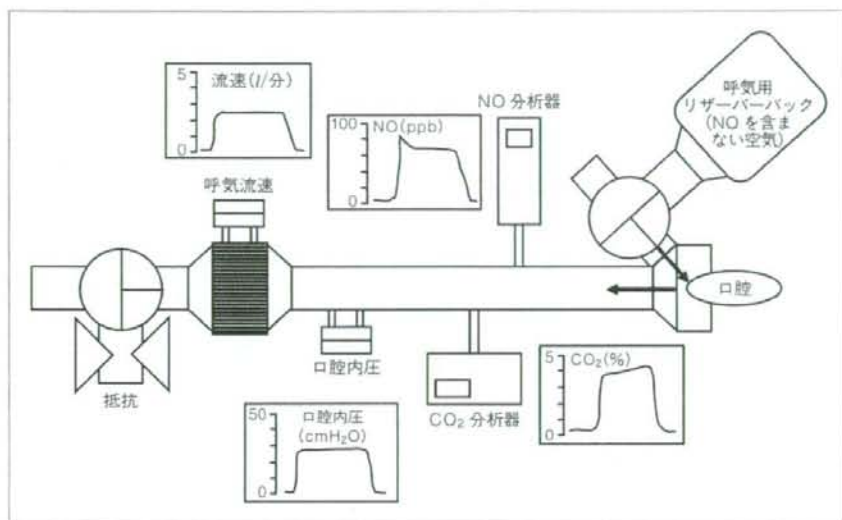


図3 呼気NO測定装置の模式図

(文献2から改変して転載)

位から呼出を始める。その際に呼気の一部をサンプリングポートから分析器に導き、化学発光法によりNO濃度を測定する、③被検者はモニターに表示される呼気流速と口腔内圧を見ながら、一定の流速と圧を維持したまま20秒間程度の呼出を行う、④呼気中のNO濃度は連続的にモニターされる(図4)。

3. サンプルバッグ法(オフライン法)

全肺気量位からの呼気をいったんバッグに収集し、後でNO濃度を測定する方法である。その場に分析器がなくてもよいため簡便に効率よくNOを測定できるが、1回呼吸法で見られたピーク相の部分までバッグに収集してしまう点が問題であり、この影響を避けるためNOフリーエアーを吸気し、ノーズクリップをつけるなど、外

気や鼻腔のNOの混入を防ぐ必要がある。

4. 測定における注意事項

呼気NO濃度は呼気流速や呼出時の肺気量位などのさまざまな要因による影響を受ける、そのため測定条件を統一する必要がある、2005年にはアメリカ胸部疾患学会とヨーロッパ呼吸器学会による標準測定法の共同声明が示されている⁹⁾。
①気道内で産生されたNOは呼出流速が高くなれば多量の呼気で希釈されるため検出濃度が低くなり、その濃度は呼出流速に依存して変化する(図5)。測定時には小児、成人ともに50ml/秒の呼気流速を保つことが推奨されている。②呼出時の肺気量位としては全肺気量位からの呼出が推奨されている。③鼻腔では高濃度のNOが産生されており、測定の際には鼻腔由来のNOを下気

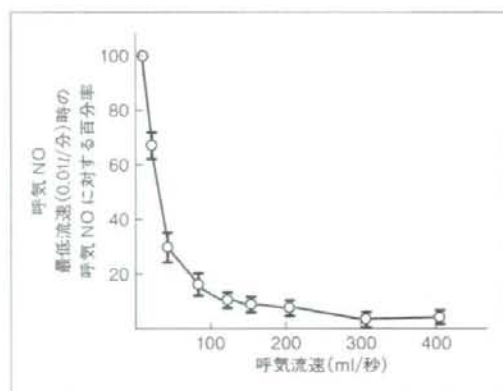


図5 呼気 NO と呼気流速の関係 (文献 2 から転載)

道由来の NO から分離する必要がある。そのために呼出の際に口腔内圧を高め軟口蓋を閉鎖し鼻腔からの影響をなくす方法がとられ、少なくとも 5 cm H₂O の陽圧付加が推奨される。実際の測定ではマウスピースに抵抗管を接続し口腔内の圧力を上げる。④呼気 NO は呼出初期に鼻腔あるいは気道死腔由来の NO によるピーク相を形成し、その後一定のプラトー相を形成する(図 4)。このプラトー相の NO 値は呼出の際に適当な抵抗がかけられ、呼出速度が一定であれば安定した値を示す。この値は下気道由来の NO 値であり、これを呼気 NO 値として表す。

○ 気管支喘息と NO

気管支喘息は慢性持続性の気道炎症を特徴とする疾患であり、その気道炎症の程度は喘息重症度や気道過敏性の程度とも相関することから、気管支喘息患者において気道炎症をモニタリングすることは極めて重要と考えられる。

これまで気道炎症は気管支鏡を用いて採取する気管支生検組織および気管支肺胞洗浄液や高張食塩水の吸入後に採取する誘発喀痰などの検体を用いて評価されてきた。これらの方法は細胞由来の情報が見られるものの、侵襲性があり反復して行うことや重症例に実施することは困難であった。そのため、最近では非侵襲的な気道炎症のバイオマーカーとして、呼気 NO 濃度測定や呼気凝縮液分析が注目されている。なかでも呼気 NO 濃度測定は、簡便かつ非侵襲的で、再現性にも優れていることから最も臨床応用に近い気道炎症評価

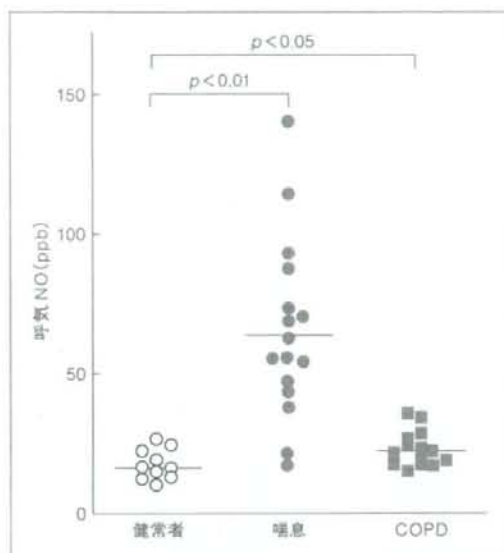


図6 呼気 NO 濃度と呼吸器疾患 (文献 5 から転載) 健康人や COPD(慢性閉塞性肺疾患)に比べ喘息では呼気 NO 濃度の上昇が認められる。

法である。

NO は NOS によって産生されるが、前述したように NOS は気道にも存在し、喘息の炎症関連物質の一つと考えられる。実際、喘息患者では健康人や慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)患者に比べて呼気 NO 濃度が上昇しており(図 6)、この仮説を支持する⁹⁾。気道での NO の作用は気道平滑筋拡張作用や血流の保持といった生理的作用と、iNOS 由来の大量の NO による炎症惹起物質としての作用がある。動物実験では NOS 阻害薬による遅発型アレルギー反応の抑制¹⁰⁾や気道の好酸球浸潤抑制、気道過敏性亢進の抑制¹¹⁾が認められており、喘息における NO の炎症作用の優位性が示唆される。また、喘息気道において過剰に産生された NO がスーパーオキシドと速やかに反応することで形成されるパーオキシナイトライトは組織障害性が強く、喘息の気道炎症や難治化メカニズムにおける関連が示唆されている¹²⁾。

8 週間以上咳嗽が持続する慢性咳嗽は臨床での頻度が高い症状である。肺癌や肺結核など胸部画像検査で異常を呈することが多い疾患は比較的診断が容易であるが、胸部画像検査で異常を呈することのない喘息、逆流性食道炎、後鼻漏などは鑑

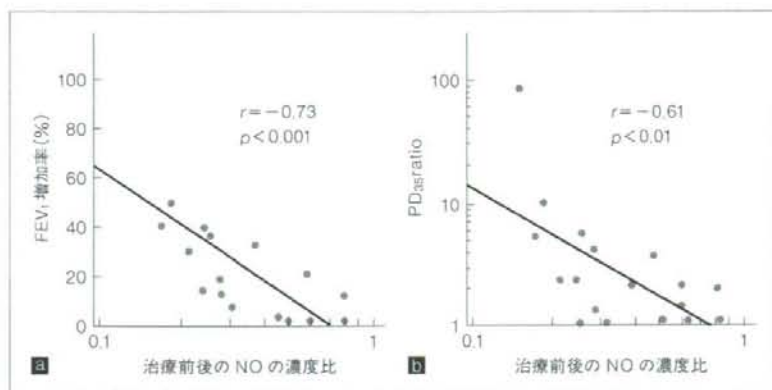


図7 呼気NO濃度と閉塞性障害、気道過敏性の関連 (文献11から転載)
気管支喘息ではステロイド治療による呼気NO濃度の減少が、閉塞性障害(a)や気道過敏性(b)の改善程度と相関する。

別診断に苦慮することがある。前述したように、喘息患者の呼気NO濃度は上昇しているが、他の原因による慢性咳嗽においては呼気NO濃度の上昇はみられず、慢性咳嗽の鑑別に有用であることが報告されている⁹⁾。

気管支喘息患者において、呼気NO濃度は一秒量やピークフローを用いて評価される閉塞性障害や気道過敏性(気道収縮物質であるメサコリン刺激に対する反応閾値)の程度と有意な相関を示すことが報告されており¹⁰⁾、重症度や病態の把握にも有用である。

○ 喘息管理における呼気NO濃度測定

呼気NO濃度は誘発喀痰中の好酸球数とも有意に相関するが、NOの炎症反応が喘息の病態にかかわっていることは、呼気NO濃度の吸入ステロイドによる減少の程度が、閉塞性障害や気道過敏性の改善程度とよく相関することからも支持される(図7)¹¹⁾。この結果は、呼気NO測定が喘息の治療効果のモニタリングに有用であることを示している。最近の報告では、呼気NO濃度が47 ppbを超える喘息患者ではステロイド治療に対する反応性がより良好であることが示されており、治療反応性の予測指標としての有用性も報告されている¹²⁾。

また、喘息患者の呼気NO濃度を35 ppb以下に低下させることを目標に喘息治療を行った場合、従来の喘息ガイドラインに基づいた治療と比べて、同程度の喘息コントロールを得るために必

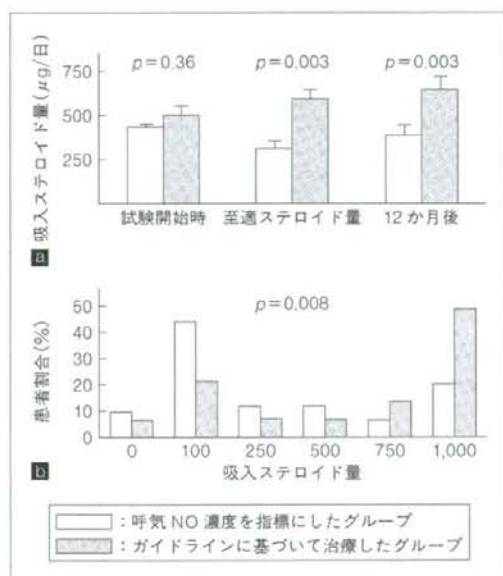


図8 呼気NO濃度を指標にした喘息管理 (文献13から改変して転載)
呼気NO濃度を指標としたグループではガイドラインに基づいて治療をしたグループに比べて有意に吸入ステロイド量が少なく(a)、患者分布でもより少ないステロイド量でコントロールできていることがわかる(b)。

要な吸入ステロイドの維持量を有意に抑制することができることが報告されている(図8)¹³⁾。このことは、呼気NO濃度のモニタリングが喘息管理効率の向上に結び付くことを示している。

これまでの喘息管理において、モニタリングは喘息症状と肺機能(一秒量、ピークフロー)を指標に行われてきたが、簡便かつ非侵襲的に気道炎症

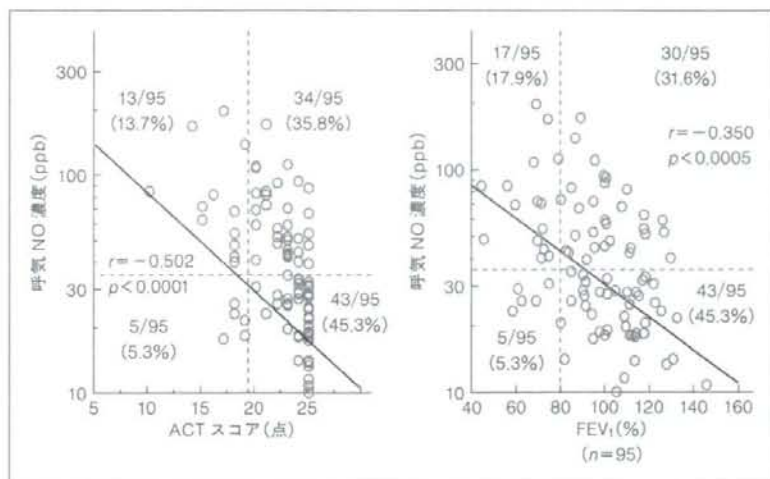


図9 呼気NO濃度と症状、閉塞性障害との関連

従来の喘息モニタリングの指標で自覚症状(ACTスコアで20点以上)や閉塞性障害(一秒量が80%以上)が良好にコントロールされていると判定される症例でも呼気NO濃度が高値(35 ppb以上)である症例が少なからず存在する。

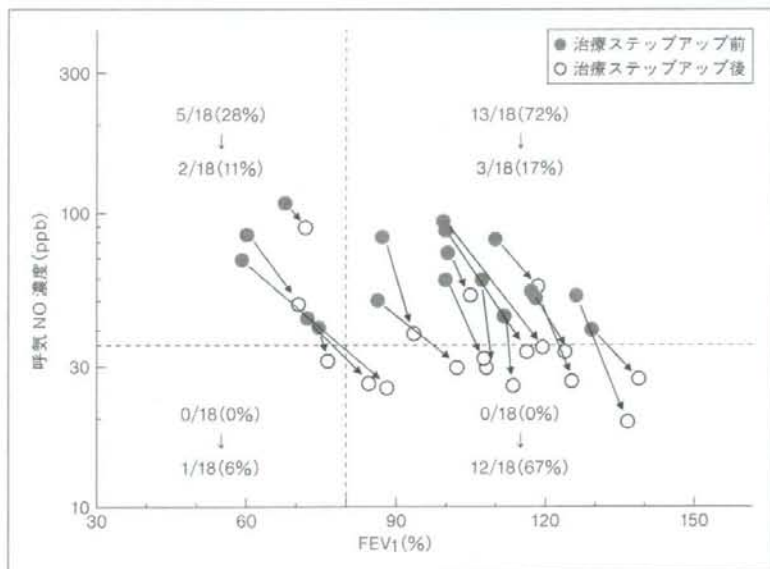


図10 治療ステップアップによる呼気NO濃度と閉塞性障害の改善

呼気NO濃度が高値である症例に喘息治療を強化すれば、呼気NO濃度の改善に伴い、一秒量が正常化する症例が少なからず存在する。

の評価が可能な呼気NO測定が臨床応用されれば、喘息病態の本態で最も重要な治療標的である気道炎症もモニタリングすることが可能となる。われわれは、吸入ステロイドで治療中の喘息患者を対象に肺機能、症状(ACT(asthma control test)スコア：患者自身による喘息コントロール

の評価法で20点以上であれば良好なコントロール状態であると判定される)と呼気NO濃度との関連について検討した。

喘息患者の呼気NO濃度はACTスコアや閉塞性障害の程度と有意な相関を示したが、患者自身は喘息コントロールが良好と判定している症例の

44% (77例中34例), 一秒量が正常域(80%以上)である症例の41% (73例中30例)において呼気NO濃度が35 ppb以上のレベルで残存していることが明らかとなった(図9). さらに, 呼気NO濃度が35 ppb以上の症例において喘息治療の強化を行うことにより72%の症例で呼気NO濃度が35 ppb以下に制御され, 40%の症例で一秒量が正常化することが明らかになった(図10).

この結果から, 従来の症状と肺機能を指標とした喘息状態の評価ではコントロール良好と判定される症例においても, 呼気NO測定による気道炎症評価に基づいた治療介入を行うことにより, 肺機能をより改善できる症例が少なからず存在することが示唆された.

おわりに

肺におけるNO産生機序, 呼気NO濃度測定 の原理と方法, 呼気NO濃度測定 の喘息管理における臨床的意義について述べてきた. NOは炎症性肺疾患, 特に気管支喘息の病態において重要な位置を占めていると考えられる. 呼気NO濃度の測定機器の簡便化も進んでおり, 一般臨床応用は間近に迫っている. 呼気NO濃度測定は具体的な喘息の管理目標を医療者と患者が共有できる点からも喘息管理の向上に寄与することが期待され, 早急な普及が望まれる.

文献

- 1) 一ノ瀬正和: NOと気管支喘息. 内科 76: 626-629, 1995
- 2) 一ノ瀬正和: 呼気ガス分析法. 吉村哲彦(編): 生体内一酸化窒素(NO)実験プロトコル. 共立出版, pp 252-257, 2000
- 3) 一ノ瀬正和: NOの病態での位置づけ. 工藤翔二(監), 大田健, 一ノ瀬正和(編): 気管支喘息のすべて. 文光堂, pp 152-153, 2006
- 4) American Thoracic Society, European Respiratory Society: ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 171: 912-930, 2005
- 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* 162: 701-706, 2000
- 6) Sugiura H, Ichinose M, Oyake T, et al: Role of peroxynitrite in airway microvascular hyperpermeability during late allergic phase in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 160: 663-671, 1999
- 7) Koarai A, Ichinose M, Sugiura H, et al: Allergic airway hyperresponsiveness and eosinophil infiltration is reduced by a selective iNOS inhibitor, 1400W, in mice. *Pulm Pharmacol Ther* 13: 267-275, 2000
- 8) Sugiura H, Komaki Y, Koarai A, et al: Nitrate stress in refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 121: 355-360, 2008
- 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) 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
- 12) Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, et al: Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response. *Am J Respir Crit Care Med* 172: 453-459, 2005
- 13) 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