

気管支喘息の診断、治療判定のための簡便な指標としての簡易な気道炎症マーカーの検討
—呼気 NO 測定オフライン法のかかりつけ医での応用の可能性—

SIEVERS 法の検討

研究代表者 粒来崇博(国立病院機構相模原病院アレルギー科)

研究協力者 秋山一男 釣木澤尚実 押方智也子 小野恵美子 東 憲孝 谷口正実

前田裕二 大友守 関谷潔史 福富友馬 谷本英則 龍野清香

(独立行政法人国立病院機構相模原病院臨床研究センター)

研究要旨 気管支喘息は慢性の好酸球性炎症が惹起する発作性可逆性の気道閉塞を呈する疾患である。診断および治療評価のために簡便かつ客観的な指標が望まれており、好酸球性気道炎症の証明法として、非侵襲的な呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) 測定が期待されている。プライマリーケア医におけるスクリーニングや疫学的な調査への応用可能な方法論として、オフライン法が挙げられ、拠点施設に共有の分析器を置き各診療施設で回収した呼気を運搬し測定することでより安価に測定しうる。しかし、現時点ではオフライン法の報告に乏しい。そこで、本研究班では気管支喘息患者においてオフライン法による eNO 測定を検討、診療応用の可能性について模索している。当施設では、オフライン法のうち、商業販売されている SIEVERS Bag collection kit の妥当性、遠隔地測定における条件設定、気道過敏性との関連について調査した。1) オフライン法方法論の検討 オンライン法、CEIS 法ともよく相関し、安定して測定できたが、キット間にばらつきがあり、各キットごとの調査が必要と報告した。2) 気管支喘息診断のカットオフ値設定 非喫煙者群において、AUC=0.83、30 ppb で感度 78.1%、特異度 73.5%、喫煙者群において、AUC=0.65、40 ppb で感度 67.8%、特異度 70.6%であった。3) 遠隔地測定の実際の条件設定 室温下では車移動でも室温でも結果の推移に変化はなく、4℃で保管すると48時間後まで安定しており、クール便などを用いた搬送条件がよいと考えられた。4) 気道過敏性との比較 eNO 高値群 (n=92) では eNO と PC₂₀ が相関し、PC₂₀ と呼吸機能は相関しない一方、eNO 正常群 (n=100) では PC₂₀ と eNO は相関せず、呼吸機能の指標と相関した。以上より、SIEVERS 法は FeNO 測定法として妥当性を持ち、臨床応用可能と考えられた。また、遠隔測定については保存に留意することで48時間後まで安定して保管することが出来、遠隔地での測定が可能であることを示した。

A 研究目的

気管支喘息は慢性の好酸球性炎症が惹起する発作性可逆性の気道閉塞を呈する疾患である。診断および治療評価のために簡便かつ客観的な指標が望まれており、好酸球性気道炎症の証明法として、非侵襲的な呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) 測

定が期待されている。プライマリーケア医におけるスクリーニングや疫学的な調査への応用可能な方法論として、より汎用性を高くするため、バック内に呼気を回収し測定するオフライン法が挙げられる。この方法では、拠点施設に共有の分析器を置き各診療施設で回収した呼気を運搬し測定することで

より安価に測定しうる。しかし、現時点ではオフライン法の報告に乏しく、この方法論の普及には本邦での基礎的データの集積が不可欠である。そこで、本研究班では気管支喘息患者においてオフライン法による eNO 測定と喀痰好酸球、呼吸機能(一秒量、MMF、可逆性、気道過敏性)、Asthma Control Test などとの比較を行い、また遠隔地における測定の実際の条件について検討を行い、方法としての妥当性、診療応用の可能性について摸索している。当施設では、オフライン法のうち、商業販売されている SIEVERS Bag collection kit の妥当性、遠隔地測定における条件設定、気道過敏性との関連について調査する。

B. 方法

以下の4検討を行った。

- 1) オフライン法方法論の検討 SIEVERS off line kit 8個を比較、ばらつきについて検討した。
- 2) 気管支喘息診断のカットオフ値設定 当院外来において、60名のステロイド未治療の気管支喘息患者 (bronchial asthma; BA; 非喫煙者32名、喫煙者28名)、及び59名の非喘息慢性咳嗽患者 (chronic cough; CC; 非喫煙者42名、喫煙者17名)を対象に FeNO 測定、呼吸機能、気道過敏性を施行し、カットオフについて検討した。
- 3) 遠隔地測定の実際の条件設定 患者より回収した呼吸気を室温で車搬送と室内保管を比較、24時間後まで追跡。また、4°C下でのバック内濃度変化について、48時間後まで測定し、比較した。
- 4) 気道過敏性との比較 当院外来で治療中の192名の治療で安定した喘息患者において、FeNO、呼吸機能、気道過敏性(Ach)を評価、比較した。

(FeNO、気道過敏性検査について)

FeNO はオフライン法で測定した。SIEVERS 法は、SIEVERS 社オフラインキットを用い、最大吸気から一定流量(10[cmH₂O]、70[ml/sec])で呼出、死腔分を排気後ミラーバックに回収した。CEIS 法では CEIS 法用キットを用い、最大吸気から一定流量(15[cmH₂O]、50[ml/sec])で呼出、死腔分を排気後ミラーバックに回収した。回収後18時間以内に SIEVERS 社 NO analyzer (280NOA)で測定した。気道過敏性検査は、アセチルコリン(Ach)に対する過敏性を標準法で評価し、PC₂₀を指標とした。

C. 結果

- 1) オフライン法方法論の検討 粒来ら(日呼会誌2007)の報告に従い測定したところ、オンライン法、CEIS 法ともよく関連し、安定して測定できたが、キット間にばらつきがあり、各キットごとの調査が必要と報告した(粒来、日呼会誌2008)。
- 2) 気管支喘息診断のカットオフ値設定 ROC 曲線では、非喫煙者群において、AUC=0.83、30 ppb で感度78.1%、特異度73.5%、喫煙者群において、AUC=0.65、40 ppb で感度67.8%、特異度70.6%であった。カットオフ値は非喫煙者では30 ppb、喫煙者では40 ppb だが、喫煙者では有用性が低下すると考えられた。(押方ら、日呼会誌2008)
- 3) 遠隔地測定の実際の条件設定 室温下では車移動でも室温でも結果の推移に変化はなく、4°Cで保管すると48時間後まで安定しており、クール便などを用いた搬送条件がよいと考えられた。
- 4) 気道過敏性との比較 ICS 治療中192名において、PC₂₀は SIEVERS 法、CEIS 法の両方とも有意な逆相関をした(SIEVERS: $r=-0.31$, $p<0.001$, CEIS: $r=-0.23$, $p=0.0013$)。SIEVERS 法の FeNO 値を基に高値群と正

常群の二群に分けて分析したところ、FeNO 高値群 (n=92) では eNO と PC₂₀ が逆相関し、PC₂₀ と呼吸機能は相関しない一方、eNO 正常群(n=100)では PC₂₀ と FeNO は相関せず、呼吸機能の指標と逆相関した。(Tsuburai et al Allergology International 2008)

D. 考察

(1)については、FeNO 測定法として、SIEVERS 法は臨床応用可能な安定性を示しているが、そもそも高流量 (375ml/s) を想定し設計されているため、低流量使用時はばらつき可能性があるが、今回の検討によりばらつきを極力排するためキットごとに流量の調査が必要であることが判明した。

また、(2) SIEVERS 法を用いたカットオフの設定では、30ppb が最もよく、また感度、特異度とも既報告と同等レベルの精度を示し、臨床応用の可能性を示した。また、同検討により喫煙者では精度が下がること、それでも FeNO 高値の症例は喘息である可能性が高いことが示されたが、これはオンライン法における既報告と一致する。

(3)搬送条件については、4°C下で 48 時間以内を推奨とした。室温であれば24時間以内となるため、搬送距離が限られるが、48 時間であれば、クール宅配便などを利用することでかなりの広範囲で対応でき、その分分析器の設置が少なくて済み、将来的にコストダウンが可能になると考えられた。また、院内測定時も 4°Cで保管することを推奨し、時間外測定などにも対応できる可能性を示した。

(4)気道過敏性との比較では、有意な逆相関を示した。ももとのオンライン法の既報告で気道過敏性との相関は報告されており、未治療の場合相関がよく、ICS 治療によりそれがはっきりしなくなる、というのがコンセンサスであったが、本研究により治療で安定した喘息の中

には、完全に安定し気道炎症、閉塞性障害、気道過敏性いずれも寛解になっている症例群のほか、見かけ上安定し気道炎症が残存、気道過敏性が亢進している群、見かけ上閉塞性障害があるが主としてリモデリングであり気道炎症のコントロールは出来ている群、が含まれており、既存の検査に加えて FeNO を追加したときにそうした治療不足の症例を検出する可能性を示した。気道過敏性は専門施設でしか行えないが精度の高い検査であり、それを侵襲のない FeNO と呼吸機能で予測することは臨床で大きな有用性を秘めている。また、気道過敏性と FeNO の比較の論文の中で本研究の参加人数は最大規模であり、オフライン法の妥当性を強く示唆するものである。

E. 結論

以上より SIEVERS 法は FeNO 測定法として妥当性を持ち、臨床応用可能と考えられた。また、遠隔測定については保存に留意することで 48 時間後まで安定して保管することが出来、遠隔地での測定が可能であることを示した。今後は、これを踏まえ関連施設による遠隔地測定の実際の運用を始める予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tsuburai T, et al. Relationship between exhaled nitric oxide measured by two offline methods and bronchial hyperresponsiveness in Japanese adults with asthma. Allergology International 2008 Sep;57(3):223-9.

粒来崇博他 成人気管支喘息患者における鼻腔気及

び呼気一酸化窒素濃度(Nasal Nitric Oxide,Exhaled Nitric Oxide)測定の実際 アレルギー57 巻 8 号 Page1012-1021(2008.08)

粒来崇博 オフライン法(SIEVERS 法)を用いた呼気一酸化窒素濃度測定(FeNO)に関する注意(短報)
日本呼吸器学会雑誌 46 巻 8 号 Page684-685(2008.08)

押方智也子、粒来崇博他 呼気一酸化窒素濃度測定(オフライン法)の気管支喘息のカットオフ値と喫煙の影響 日本呼吸器学会雑誌 46 巻 5 号 Page356-362(2008.05)

2・学会発表

粒来崇博他 吸入ステロイド(ICS)治療中気管支喘息における気道過敏性と呼気中一酸化窒素濃度(eNO) 第48 回日本呼吸器学会総会 ミニシンポジウム (2008.6 月 神戸)

3. 総説、学術講演など

粒来崇博

喘息管理の現状と課題ーバイオマーカーを用いた、新しい喘息長期管理の可能性ー

第二回神奈川喘息長期管理研究会 2008.8 月 横浜

気管支喘息の診断、治療判定のための簡便な指標としての簡易な気道炎症マーカーの検討
—呼気 NO 測定オフライン法のかかりつけ医での応用の可能性—

Alveolar NO の検討、COPD の鑑別

研究分担者 白井敏博（静岡県立総合病院呼吸器科）

研究要旨 気管支喘息は慢性的好酸球性炎症が惹起する発作性可逆性の気道閉塞を呈する疾患である。診断および治療評価のために簡便かつ客観的な指標が望まれており、好酸球性気道炎症の証明法として、非侵襲的な呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) 測定が期待されている。プライマリーケア医におけるスクリーニングや疫学的な調査への応用可能な方法論として、オフライン法が挙げられ、拠点施設に共有の分析器を置き各診療施設で回収した呼気を運搬し測定することでより安価に測定しうる。しかし、現時点ではオフライン法の報告に乏しい。そこで、本研究班では気管支喘息患者においてオフライン法による eNO 測定を検討、診療応用の可能性について模索している。当施設では、オンライン法を用いて気管支喘息管理上重要な末梢気道の好酸球性炎症評価に有用とされる Alveolar NO を測定し、喘息評価の有用性について検討し、また、臨床上喘息と鑑別を要する COPD について調査した。

- 1) 喘息診療における Alveolar NO 測定の意義 80%以上の患者で alveolar NO 濃度と bronchial NO flux は測定可能であり、健康人対照よりも有意な高値を示した。また、alveolar NO 濃度はピークフロー値 (Min%Max) と有意な負の相関を示した。
- 2) COPD の診療における FeNO 測定の意義 FeNO 高値群(57 ppb 以上) 12 例と低値群 (57 ppb 未満) 30 例に分類された。高値群は低値群と比較して、喘息既往や夜間症状の比率、末梢好酸球数などが有意に高値であった。また、高値群の 5 例 (42%) で吸入ステロイド投与後の FeNO の低下と症状の改善が確認された。
- 3) オフライン法の遠隔地測定の実際 Sievers 社 kit で翌日測定可能であり、測定データも施設内測定と同様の値であった。以上より、Alveolar NO 測定は気管支喘息患者の末梢気道炎症を示し、喘息コントロールの指標として有用であると考えられた。また、COPD は高値群では好酸球炎症を合併しており、吸入ステロイド反応性を示していると考えられた。

A 研究目的

気管支喘息は慢性的好酸球性炎症が惹起する発作性可逆性の気道閉塞を呈する疾患である。診断および治療評価のために簡便かつ客観的な指標が望まれており、好酸球性気道炎症の証明法として、非侵襲的な呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) 測定が期待されている。プライマリーケア医におけるスクリーニングや疫学的な調査への応用可能な方法論として、より汎用性を高くするため、バック内に呼気を回収し測定するオフライン法が挙げられるが、現時点では報告が乏しく、この方法論の普及には本邦での基礎的データの集積が不可欠である。そこで、本研究

班では気管支喘息患者においてオフライン法による eNO 測定と喀痰好酸球、呼吸機能 (一秒量、MMF、可逆性、気道過敏性)、Asthma Control Test などとの比較を行い、また遠隔地における測定の実際の条件について検討を行い、方法としての妥当性、診療応用の可能性について模索している。当施設では、まずオンライン法を用いて気管支喘息管理上重要な末梢気道の好酸球性炎症評価に有用とされる Alveolar NO を測定し、喘息評価の有用性について検討し、また、臨床上喘息と鑑別を要する COPD について調査した。

B. 方法

1) 喘息診療における Alveolar NO 測定の意義
52 例の ICS 治療で安定した成人喘息患者について、Two-compartment model に基づく

Tsoukias and George の方法(呼気流速 50,100,150,200,250ml/s の FeNO 測定を行った後解析)により測定し、健康人対照と比較した。

また、呼吸機能、PEF 変動率との関連について調査した。
2) COPD の診療における FeNO 測定の意義
喘息と COPD を合併する患者はしばしば経験されることから、COPD 患者 42 例を対象に FeNO 測定の意義について検討した。COPD の診断は日本呼吸器学会のガイドラインに基づいた。FeNO 測定後、同意を得られた症例に関して吸入ステロイドを投与し、治療反応性をその後の経過観察により確認した。

3) オフライン法の遠隔地測定の実際

オフライン法について、パイロット的に遠隔地(約 50km の富士宮市立病院)における呼気回収を行い、翌日測定し、既報告の測定値と違いがあるか検討した。

(FeNO について)

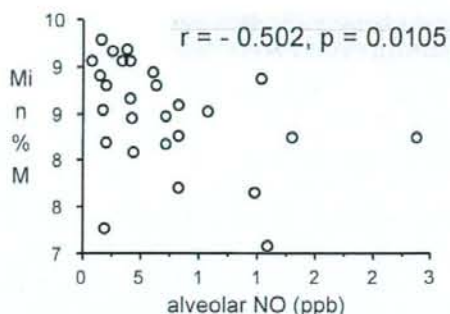
FeNO はオフライン法(SIEVERS 法、CEIS 法)およびオンライン法で測定した。SIEVERS 法は、SIEVERS 社オフラインキットを用い、最大吸気から一定流量(10[cmH₂O]、70[ml/sec])で呼出、死腔分を排気後ミラーバックに回収した。CEIS 法では CEIS 法用キットを用い、最大吸気から一定流量(15[cmH₂O]、50[ml/sec])で呼出、死腔分を排気後ミラーバックに回収した。回収後 18 時間以内に SIEVERS 社 NO analyzer (280NOA) で測定した。オンライン法は ATS の基準に基づき最大吸気から一定流量(15[cmH₂O]、50[ml/sec])で機械に直接呼出、測定を行った。Alveolar NO、Bronchial NO については、オンライン法を応用し、Two-compartment model に基づく Tsoukias and George の方法(呼気流速 50,100,150,200,250ml/s の FeNO 測定を行った後解析)とした。

なお、本研究はヘルシンキ宣言を遵守して施行された。

C. 結果

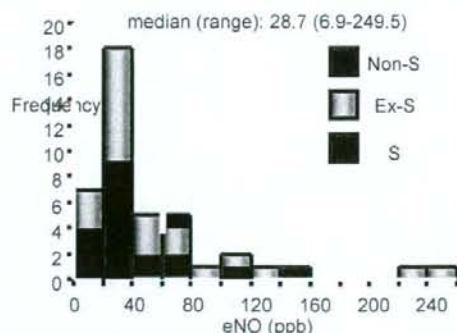
1) 喘息診療における Alveolar NO 測定の意義
80%以上の患者で alveolar NO 濃度と bronchial

NO flux は測定可能であった。喘息と健康者の比較では、喘息患者では健康人対照よりも有意な高値を示した。また、alveolar NO 濃度はピークフロー値 (Min%Max) と有意な負の相関を示した。呼吸機能の各指標とは有意な相関は認めなかった。



2) COPD の診療における FeNO 測定の意義

COPD は FeNO 高値群(57 ppb 以上) 12 例と低値群 (57 ppb 未満) 30 例に分類された。高値群は低値群と比較して、喘息既往が有意に多く、夜間症状の比率、末梢好酸球数などが有意に高値であった。また、高値群の 5 例 (42%) で吸入ステロイド投与後の FeNO の低下と症状の改善が確認された。



3) オフライン法の遠隔地測定の実際

Sievers 社 kit で翌日測定可能であり、測定データも施設内測定と同様の値であった。

D. 考察

(1)については、呼気中 NO 濃度がほぼ正常でも alveolar NO が高値を示す症例、bronchial NO の高値が優位な症例などが示され、喘息の

phenotype の推定に有用な可能性が示唆された。ピークフロー値と負の相関を示したことは、日常の診療における喘息の活動性を表していると考えられた。なお、測定不可能な症例の要因については今後の検討が必要である。

(2)では呼気 NO 測定により COPD 症例における喘息因子の検出が可能であり、高値症例では吸入ステロイド反応が良好な症例が存在するが、ステロイド治療反応性の完全な予測は困難であることが示唆された。本項目は現在進行中であり、さらに症例を追加し詳細な解析を行い報告していく予定である。

(3)搬送条件の検討は、すでに主任研究者の粒来らが実施している。当分担の追試でも 50 km の距離では十分測定可能であり、臨床上有用であることが確認された。さらに症例を集積し検討を行う予定である。

E. 結論

Alveolar NO 測定は気管支喘息患者の末梢気道炎症を示し、喘息コントロールの指標として有用であると考えられた。また、COPD は高値群では好酸球炎症を合併しており、吸入ステロイド反応性を示していると考えられた。また、オフライン法は遠隔地でも測定可能であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1・論文発表

Uchiyama H, Suda T, Nakamura Y, Shirai M, Gemma H, Shirai T, Toyoshima M, Imokawa S, Yasuda K, Ida M, Nakano Y, Inui N, Sato J, Hayakawa H, Chida K.

Alterations in smoking habits are associated with acute eosinophilic pneumonia

Chest. 2008 May;133(5):1174-80.

白井敏博, 池田政輝, 穂積宏尚, 朝田和博, 鈴木研一郎, 須田隆文, 千田金吾 重症

持続型喘息におけるサルメテロール/フルチカゾンプロピオン酸エステル配合剤(SFC)の有用性 単一デバイスによる相乗作用 アレルギー・免疫 15 巻 10 号

Page1424-1429

古橋一樹, 池田政輝, 穂積宏尚, 鈴木研一郎, 白井敏博, 須田隆文, 千田金吾 肺アスペルギルス症における I 型アレルギーの意義 アレルギーの臨床 28 巻 9 号 Page784-789

2・学会発表

白井敏博ら 喘息の日常診療における Alveolar NO 測定の意義 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (平成 20 年 11 月 東京)

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
斎藤純平、棟方充	呼気NOと喘息	工藤翔二ほか	Annual Review 呼吸器	中外医薬社	東京	2009	156-167

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tsuburai T, et al.	Relationship between exhaled nitric oxide measured by two offline methods and bronchial hyperresponsiveness in Japanese adults with asthma	Allergology International	57(3)	223-229	2008
粒来崇博 他	成人気管支喘息患者における鼻腔気及び呼気一酸化窒素濃度(Nasal Nitric Oxide, Exhaled Nitric Oxide)測定の実際	アレルギー	57(8)	1012-1021	2008
粒来崇博	オフライン法(SIEVERS法)を用いた呼気一酸化窒素濃度測定(FeNO)に関する注意(短報)	日本呼吸器学会雑誌	46(8)	684-685	2008
押方智也子、粒来崇博 他	呼気一酸化窒素濃度測定(オフライン法)の気管支喘息のカットオフ値と喫煙の影響	日本呼吸器学会雑誌	46(5)	356-362	2008
Inoue K, Wang X, Saito J, et al.	Plasma UGRP1 levels associate with promoter G-112A polymorphism and the severity of asthma	Allergol Int	57	1-20	2008
Sato S, Saito J, et al.	Clinical usefulness of fractional exhaled nitric oxide for diagnosing prolonged cough	Respir Med	102	1452-1459	2008
斎藤純平 他	COPD(慢性閉塞性肺疾患)の病態と治療。呼気凝集液のバイオマーカー	カレントセラピー	26(3)	74	2008
斎藤純平 他	呼気凝縮液	呼吸器科	13	354-361	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
齋藤純平 他	気道アレルギー炎症のモニタリング法としての呼気NOの有用性	アレルギーの臨床	29	53-60	2008
Yoshioka M, Atsuta R, et al.	Role of multidrug resistance-associated protein 1 in the pathogenesis of allergic airway inflammation	Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol	296	L30-36	2008
熱田了	MMP-7による気道上皮細胞アポトーシスの制御	日本呼吸器学会雑誌	46(1)	65	2008
熱田了	ステロイドによる気道上皮細胞アポトーシスとMMP	日本呼吸器学会雑誌	46(1)	66	2008
Aoki H, Hisada T, Ishizuka T, et al.	Resolvin E1 dampens airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine model of asthma.	Biochem Biophys Res Commun	367	509-515	2008
Utsugi M, Ishizuka T, Hisada T, et al.	Hypoxemia with high alveolar-arterial oxygen gradient but no lung involvement in a patient with Churg-Strauss syndrome: case report.	Int J Immunopathol Pharmacol	21(1)	251-253	2008
Zhao JJ, Shimizu Y, Dobashi K, Kawata T, Ono A, Yanagitani N, Kaira K, Utsugi M, Hisada T, Ishizuka T, Mori M	The relationship between oxidative stress and acid stress in adult patients with mild asthma.	J Investig Allergol Clin Immunol	18(1)	41-45	2008
Ishizuka T, Hisada T, Aoki H, Mori M.	Resolvin E1: a novel lipid mediator in the resolution of allergic airway inflammation	Expert Rev Clin Immunol	4(6)	669-672	2008
Ono A, Utsugi M, Masubuchi K, Ishizuka T, et al	Glutathione redox regulates TGF- β -induced fibrogenic effects through Smad3 activation	FEBS Lett	583	357-362	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Uchiyama H, Shirai M, et al.	Alterations in smoking habits are associated with acute eosinophilic pneumonia	Chest	133(5)	1174-1180	2008
白井敏博 他	持続型喘息におけるサルメテロール/フルチカゾンプロピオン酸エステル配合剤(SFC)の有用性 単一デバイスによる相乗作用	アレルギー・免疫	15(10)	142-147	2008
古橋一樹, 白井敏博 他	肺アスペルギルス症におけるI型アレルギーの意義	アレルギーの臨床	28(9)	784-789	2008