

201023012A

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

気道炎症モニタリングの一般臨床応用化：

新しい喘息管理目標の確立に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 一ノ瀬 正和

平成 23 (2011) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

気道炎症モニタリングの一般臨床応用化：

新しい喘息管理目標の確立に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 一ノ瀬正和

平成 23 (2011) 年 3 月

目 次

I. 研究班名簿	1
II. 総括研究報告書	
気道炎症モニタリングの一般臨床応用化： 新しい喘息管理目標の確立に関する研究 研究代表者 一ノ瀬 正 和	3
III. 分担研究報告書	
1. 呼気一酸化窒素濃度測定の一般臨床応用化に向けての検討 一ノ瀬 正 和	7
2. 呼気中の脂質メダイエータ測定の喘息管理における臨床応用に関する データ集積 秋 山 一 男	14
3. 閉塞性肺疾患の鑑別における呼気一酸化窒素（FeNO）の有用性の検証 大 田 健	18
4. 誘発喀痰および末梢血を用いた気管支喘息における気道炎症抑制機序に 関する検討 相 澤 久 道	25
IV. 研究報告会（平成23年1月25日）発表資料	33
V. 研究成果の刊行に関する一覧表	49
VI. 研究成果の刊行物	51

I . 研究班名簿

気道炎症モニタリングの一般臨床応用化：新しい喘息管理目標の確立に関する研究

研究班名簿

	氏名	所属	役職	所属住所
研究代表者	一ノ瀬 正和	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	教授	〒641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
研究分担者	秋山 一男	独立行政法人国立病院機構 相模原病院	院長	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	大田 健	帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー学	教授	〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1
	相澤 久道	久留米大学医学部内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科部門	教授	〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67
研究協力者	南方 良章	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	准教授	〒641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	松永 和人	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	講師	〒641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	杉浦 久敏	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	講師	〒641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	平野 綱彦	和歌山県立医科大学 内科学第三講座	助教	〒641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1
	粒来 崇博	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	研究員	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	三田 晴久	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	特別研究員	〒228-8522 神奈川県相模原市桜台 18-1
	東 憲孝	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	特別研究員	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	釣木澤尚実	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	研究員	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	押方智也子	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	研究員	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	谷口 正実	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	研究室長	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	前田 裕二	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	研究室長	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	大友 守	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	研究室長	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	関谷 潔史	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	研究員	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	福富 友馬	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	研究員	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	谷本 英則	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	研究員	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	三井 千尋	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	研究員	〒252-0392 神奈川県相模原市南区桜台 18-1
	長瀬 洋之	帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー学	准教授	〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1
	戸田 貴子	帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー学	大学院生	〒173-8605 東京都板橋区加賀 2-11-1
	星野 友昭	久留米大学医学部内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科部門	准教授	〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67
	川山 智隆	久留米大学医学部内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科部門	講師	〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67
	松永 和子	久留米大学医学部内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科部門	助教	〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67

	坂崎 優樹	久留米大学医学部内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科部門	大学院生	〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67
	澤田 昌典	久留米大学医学部内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科部門	大学院生	〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67
	小田 華子	久留米大学医学部内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科部門	大学院生	〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67
	竹中 慎一	久留米大学医学部内科学講座 呼吸器・神経・膠原病内科部門	大学院生	〒830-0011 福岡県久留米市旭町 67

Ⅱ. 総括研究報告書

気道炎症モニタリングの一般臨床応用化:新しい喘息管理目標の確立に関する研究

主任研究者: 一ノ瀬正和(和歌山県立医科大学内科学第三講座 教授)

研究要旨

気道炎症は気管支喘息の最も重要な病態で主たる治療標的であり、喘息管理向上のためには臨床応用が可能な気道炎症評価法を確立する必要がある。本研究は、我々がこれまで免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業における研究で証明してきた非侵襲的な呼気凝縮液や呼気ガスを用いた気道炎症評価を、症状スコアや呼吸機能検査に加えた喘息管理の新しい手段として確立することを目的とした。平成 22 年度は全体研究として①通常治療を行っていても呼気 NO 濃度が高値である喘息症例の臨床的特徴について検討を行った。呼気 NO 測定は治療中の喘息患者においてコントロール不良症例を検知する方法として有用であり、呼気 NO 濃度が高値である症例は喘息症状がより強く閉塞性障害と PEF 変動性の程度が大きいことが示された。個別研究としては、②喘息診断における呼気 NO 濃度のカットオフ値、③気道炎症が遷延している喘息患者に対するステロイドによる治療強化の意義、④閉塞性肺疾患の鑑別診断における呼気 NO の有用性の検証、⑤呼気凝縮液中の indoleamine-2,3-dioxygenase 活性、⑥誘発喀痰および末梢血を用いた気管支喘息における気道炎症抑制機序、について検討した。本研究により、呼気ガスを用いた気道炎症評価を喘息管理における新しい手段として確立し、喘息の病態をより詳細に評価しうる気道炎症の生化学的指標が一般臨床に応用可能であることを明らかにした。

分担研究者

相澤久道

久留米大学医学部内科学講座教授

秋山一男

独立行政法人国立病院機構相模原病院院長

大田 健

帝京大学医学部内科学講座教授

における検討で、ピークフロー週内変動率が気道過敏性の代用指標として使用できることを検証した。さらに平成 17～19 年度の「呼気凝縮液を用いた気管支喘息の気道炎症評価法の確立と臨床応用に関する研究」班における検討で、呼気凝縮液分析の気道炎症評価における妥当性を検証し、喘息重症度や閉塞性障害と関連し定量測定が可能な炎症関連物質を同定した。

本研究はこれまでの基礎的研究を進展させ、気道炎症評価による新しい喘息管理目標を確立し、気道炎症モニタリングを用いた喘息管理の臨床応用することを目的とする。具体的には呼気凝縮液や呼気ガスを用い評価した気道炎症と、これまで有用性が明らかな閉塞性障害や気道過敏性などの生理学的指標との関連を明らかにする。また喘息症

A. 研究目的

気道炎症と気道過敏性は喘息の重要な病態で主たる治療標的であるが、これまで簡便に臨床応用できる指標がなかった。我々は平成 16 年度の「気道過敏性の簡便な診断法開発とその応用による喘息管理向上に関する研究」班に

状を指標とする治療と比較検討することにより、喘息増悪の抑制や患者 QOL の改善に対する気道炎症モニタリングに基づいた喘息管理の優位性を検証する。

平成 22 年度は研究班の全体研究として①通常治療を行っていても呼気 NO 濃度が高値である喘息症例の臨床的特徴、について検討を行った。さらに個別研究として②喘息の補助診断における呼気 NO のカットオフ値(一ノ瀬班)、③気道炎症が遷延している喘息患者に対するステロイドによる治療強化の意義(一ノ瀬班)、④閉塞性肺疾患の鑑別診断における呼気 NO の有用性の検証(大田班)、⑤呼気凝縮液中の indoleamine-2,3-dioxygenase(IDO)活性(秋山班)、⑥誘発喀痰および末梢血を用いた気管支喘息における気道炎症抑制機序(相澤班)、について検討を行なった。

B. 研究方法

研究方法、予測される結果や危険性について文書で説明し、同意を得られた喘息患者を対象にした。

① 標準的治療を行っていても呼気NOが高値である喘息症例の臨床的特徴(全体研究)

標準的な治療を行っている喘息患者 244 名を対象に、ACT、スパイロメリー、PEF モニタリング、呼気 NO 測定、背景因子の調査を行い、喘息コントロールレベルと呼気 NO との関連を検討し、喘息コントロールが不良である症例を検知する呼気 NO 値を同定した。さらに治療中にも関わらず呼気 NO が高値で遷延している喘息症例の臨床的特徴を検討した。

② 喘息診断における呼気NOのカットオフ値(一ノ瀬班)

142 名のステロイド未治療喘息患者と 224 名の健常者を対象に呼気 NO を国際標準法に基づき測定した。多変量解析により呼気 NO 測定値に影響を与える因子を同定し、その背景因子を加味した喘息補助診断における呼気 NO カットオフ値を算出した。

③ 気道炎症が遷延している喘息患者に対するステロイドによる治療強化の意義(一ノ瀬班)

ガイドラインに基づいた喘息治療を行っていても呼気 NO が 40ppb 以上で遷延している患者 13 例に対してステロイドによる治療強化を行った。治療強化は呼気 NO が 40ppb 以下に低下するまで、(1)吸入ステロイド等用量でのデバイス変更、(2)吸入ステロイド倍量投与、(3)経口ステロイド投与、の 3 つのステップで行った。呼気 NO 濃度および呼吸機能の改善効果とその関連性について検討した。

④ 閉塞性肺疾患の鑑別診断における呼気NOの有用性の検証(大田班)

外来通院中の気管支喘息(BA)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、気管支拡張症(BE)、間質性肺炎(IPF)、睡眠時無呼吸症候群(SAS)患者 141 名を対象に呼気 NO を測定し閉塞性肺疾患の鑑別における呼気 NO の有用性について検証した。さらに、呼気 NO が高値を示す呼吸器疾患における喀痰の炎症プロファイルおよび気道可逆性も検討した。

⑤ 呼気凝縮液中のindoleamine-2,3-dioxygenase(IDO)活性(秋山班)

喘息患者および非喘息慢性咳嗽患者(n=24)を対象とした。呼気 NO 測定、スパイログラム、気道過敏性検査を行い、EBC を採取した。IDO はトリプトファン(w)をキヌレニン(kyn)に代謝する酵素であるため、IDO 活性は d5-w と d5-w から合成した d4-Kyn を内部標準として EBC に添加し、GC-M-NCIにてW濃度、Kyn濃度を定量し、両者の比率でIDO活性を表示した。

⑥ 誘発喀痰および末梢血を用いた気管支喘息における気道炎症抑制機序(相澤班)

軽症喘息患者 13 名および非喫煙健常人 11 名に対し安定期に血清総 IgE 値、アレルギー特異的 IgE、末梢血好酸球数および分画、誘発喀採取、スパイロメリーおよびメサコリンに対する気道過敏性試験(PC₂₀)を測定した。Flowcytometry を用いた末梢血および誘発喀痰制御性 T

細胞分画(CD4⁺CD25^{high}CTLA-4⁺、CD4⁺CD25^{high}Foxp-3⁺および CD4⁺CD25^{high}CTLA-4⁺Foxp-3⁺T 細胞)を測定し各種パラメーターとの相関を検討した。

⑦ 呼気一酸化窒素(NO)測定ハンドブック作成

呼気 NO 測定に関する研究成果をまとめた一般臨床医向けのハンドブックを作成した。

(倫理面への配慮)

検査内容、得られる結果、予測される危険性の項目について文書で説明の上、同意を取得した患者のみ対象とした。またデータは部外者が接触できないよう厳重に管理した。加えて参加者の氏名等、本人が確認できるような形の公表は行わないよう配慮した。

C. 結果

① ACT、一秒量およびPEF変動率を組み合わせた指標

により判定された喘息コントロール不良症例を検知する呼気NO値としては40.5ppbが感度(77%)と特異度(80%)に優れていた。呼気NOが40ppb以上の症例と40ppb以下の症例との間に吸入ステロイドの使用量や長時間作用性β刺激薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、テオフィリン薬の使用頻度に差は認めなかったが、呼気NO40ppb以上の症例では有意にACTスコアと一秒量が低値でPEF変動率が增大していた。通常治療にも関わらず呼気NOが40ppb以上の高値に影響する因子として喫煙既往と副鼻腔炎合併が同定された。

② 呼気NOは健常者(16ppb)に比べ喘息患者(47ppb)で有意に高値であった。対象全体の検討では喘息補助診断において22ppbの呼気NOが感度と特異度に優れていた。多変量解析では喫煙、鼻炎、喘息が呼気NOに有意な影響を与える因子として抽出された。喫煙と鼻炎の有無により4群に分別した検討において喘息補助診断における呼気NOカットオフ値は18ppbから28ppbまで変動したが、AUCは全ての群で0.85以上であった。

③ 通常治療を行っても呼気NOが40ppb以上の高値である症例に対して吸入ステロイドを倍量投与することにより、呼気NOは有意に低下し、呼吸機能の改善を認めた。呼気NOは70%の症例で40ppb以下に低下し、呼気NOの変化は一秒量およびΔN2の改善程度と有意に関連した。一方、倍量投与を行っても呼気NOが40ppb以下に低下しなかった症例では、経口ステロイド薬を追加しても呼気NOは有意に低下しなかった。

④ 呼気NOはICS使用中の安定喘息 (sBA, 48.0±5.7), ICS使用中の不安定喘息 (usBA, 73.7±17.8), ICS未使用の喘息 (utBA, 72.3±13.0)、COPD (23.2±4.2)、SAS (22.9±2.1)、IP (21.2±2.9)、BE (32.7±9.4)であり、COPD, IP, SASではutBA, usBAに比して有意に低値であった。ROC曲線による解析でutBAとBE/COPDを鑑別する閾値は45 ppbであった (感度73.3%, 特異度92.9%)。非喘息疾患53例で45 ppbを超えたのはCOPDの1例、BEの2例のみであり、これらの3例では喀痰好酸球が全例陽性であった。BEの1例は気道可逆性陽性で、ICSで1秒量も改善した。

⑤ EBCにおけるIDO活性はGC-M-NCLで測定可能であった。慢性咳嗽群(0.35+/-0.88)に比べ未治療喘息群では低値(0.24+/-0.66)になり、治療中喘息では慢性咳嗽群と同様のレベル(0.35+/-0.61)であることが示された。ICS治療中喘息群で解析すると、ICS少量群(0.28+/-0.16)に比較しICS大量群(0.48+/-0.22)で有意に高値であった。IDO活性は呼吸機能、気道過敏性、EBC中cysLTs濃度、尿中LTE4濃度とは相関しなかった。

⑥ 誘発喀痰中および末梢血好酸球分画は喘息群に有意に高値であった(p<0.0001およびp=0.0006)。喘息群における誘発喀痰中のCTLA-4およびFoxp-3陽性制御性T細胞分画は、いずれも健康人群に比較して有意に低かった(p<0.05)。誘発喀痰中の制御性T細胞分画と気道過敏性、肺機能(%1秒量)および喀痰中好酸球数

との相関はいずれも認められなかった。

- ⑦ 本研究より、呼気NO濃度測定が喘息の補助診断と管理効率向上のツールとして有用であることが明らかにされ、研究成果を取り纏めた「呼気一酸化窒素(NO)測定ハンドブック」を作成した。

D. 考察

本年度は、喘息補助診断における呼気 NO のカットオフ値について詳細な検討を行った。健常者と喘息との鑑別において、呼気NOの測定値は喫煙と鼻炎合併の影響を受けるが、これらの背景因子を加味しても喘息の補助診断に有用なマーカーであることが明らかとなった。また呼気 NO 測定は、喘息を気管支拡張症や COPD 等の他の閉塞性肺疾患から鑑別するにあたり、有用であることが示された。呼気 NO は治療中の喘息患者においてコントロール不良症例を検知する方法としても有用であった。標準的な喘息治療を行っていても呼気 NO が高値(>40ppb)である症例は喘息症状がより強く、閉塞性障害とPEF変動性の程度が大きいことが示された。さらに喫煙の既往と副鼻腔炎合併は、気道炎症が遷延する症例の危険因子であることが明らかにされた。呼気 NO 高値が遷延している症例に対するステロイド治療の強化は気道炎症の抑制と呼吸機能の改善につながり、呼気 NO は喘息の治療標的として重要と考えられた。しかし経口ステロイド薬によっても制御できないステロイド低感受性の気道炎症を有する症例も存在することが示唆された。本研究により、喘息補助診断のカットオフ値および喘息コントロール不良症例を検知する管理目標値が明確となり、呼気 NO 測定の一般臨床応用化に向けて大きく前進した。これらの研究成果を取り纏めた「呼気一酸化窒素 (NO)測定ハンドブック」を作成した。

EBC は水による希釈が大きく、物質の安定度が測定の際に問題となるため、酵素比率測定の試みは、サンプル間のばらつきを抑える可能性がある。IDO 活性測定の結果とし

て未治療の喘息では低値、治療レベルが高くなるにつれて高値となっており、喘息治療効果で制御性 T 細胞由来の IL-10 が増加していることを示していると考えられた。

誘発喀痰および末梢血を用いた喘息における気道炎症抑制機序の検討では、喀痰中好酸球数と気道過敏性との相関を認めたが、気道炎症抑制のマーカーである喀痰あるいは末梢血制御性 T 細胞分画と肺機能あるいは気道過敏性との関連は認められなかった。制御性 T 細胞の低下が喘息病態に果たす役割は、さらに検討を要すると考えられた。

E. 結論

本研究により、呼気 NO 濃度測定は喘息の補助診断および管理効率の向上に有用な気道炎症マーカーであることを明らかにした。日本人の呼気 NO 濃度正常値(平均 15ppb、正常上限値 37ppb)、喘息補助診断におけるカットオフ値(22ppb)、治療中の患者においてコントロール不良を検知するカットオフ値(40ppb)が算出され、目的に応じた呼気 NO の管理目標値を明確にした。さらに、これらの研究成果を取り纏め、一般臨床医向けの「呼気一酸化窒素(NO)測定ハンドブック」を作成した。呼気ガスを用いた気道炎症評価を喘息管理における新しい手段として確立し、喘息の病態をより詳細に評価しうる気道炎症の生化学的指標が一般臨床に応用可能であることを明らかにした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

各研究報告書に個々に掲載

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

特許取得、実用新案登録、その他ともなし

Ⅲ. 分担研究報告書

気道炎症モニタリングの一般臨床応用化:新しい喘息管理目標の確立に関する研究
— 呼気一酸化窒素濃度測定の一一般臨床応用化に向けての検討 —

分担研究者:一ノ瀬正和 (和歌山県立医科大学内科学第三講座 教授)

研究協力者:南方良章 (准教授) 松永和人 (講師) 杉浦久敏 (講師) 平野綱彦 (助教)

和歌山県立医科大学内科学第三講座

研究要旨

気道炎症の簡便な評価法を一般臨床に応用することは、喘息管理の向上に不可欠である。本研究は、我々がこれまで免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業における研究で証明してきた非侵襲的な呼気凝縮液や呼気ガスを用いた気道炎症評価を、現在行なわれている症状アンケートや呼吸機能検査に加えた喘息管理の新しい手段として確立することを目的とした。平成 22 年度の研究では、①喘息の補助診断における呼気 NO 濃度のカットオフ値、②通常治療を行っていても呼気 NO 濃度が高値である喘息症例の臨床的特徴、③気道炎症が遷延している喘息患者に対するステロイドによる治療強化の意義、について検討を行った。呼気 NO 濃度は喫煙と鼻炎合併の影響を受けるが、これらの背景因子を加味しても喘息の補助診断に有用なマーカーであることが明らかにされた。さらに呼気 NO 測定は治療中の喘息患者においてコントロール不良症例を検知する方法としても有用であった。標準的な喘息治療を行っていても呼気 NO 濃度が高値である症例は、喘息症状がより強く閉塞性障害と PEF 変動性の程度が大きいことが示された。呼気 NO 濃度が高値で遷延している症例に対するステロイド治療の強化は気道炎症の抑制と呼吸機能の改善につながり、呼気 NO 濃度は喘息治療の標的として重要と考えられた。呼気 NO 濃度は喘息の補助診断および管理効率の向上に有用な気道炎症マーカーであり、重要な治療標的であることが明らかにされた。

A. 研究目的

気道炎症は喘息の最も重要な病態で主たる治療標的であるが、これまで臨床上有用な指標が無かった。我々は平成 16 年度の「気道過敏性の簡便な診断法開発とその応用による喘息管理向上に関する研究」班における検討で、ピークフロー週内変動率が気道過敏性の代用指標として使用できることを検証した。さらに平成 17~19 年度の「呼気凝縮液を用いた気管支喘息の気道炎症評価法の確立と臨床応用に関する研究」班における検討で、呼気凝縮液分析の

気道炎症評価における妥当性と定量可能な炎症物質を同定した。気道炎症評価の喘息管理における臨床応用に向けては具体的な管理目標を確立することが重要である。

平成 22 年度の研究では、①喘息の補助診断における呼気 NO 濃度のカットオフ値、②通常治療を行っていても呼気 NO 濃度が高値である喘息症例の臨床的特徴、③気道炎症が遷延している喘息患者に対するステロイドによる治療強化の意義、について検討を行った。

B. 研究方法

健常者および外来通院中の喘息患者に十分な説明を行い文書にて同意を得て対象とした。

142名のステロイド未治療喘息患者と224名の健常者を対象に呼気NOを国際標準法に基づき測定した。多変量解析により呼気NO測定値に影響を与える因子を同定し、その背景因子を加味した喘息補助診断における呼気NOカットオフ値を算出した。

次に標準的な治療を行っている喘息患者244名を対象に、ACT、スパイロメリー、PEFモニタリング、呼気NO測定、背景因子の調査を行い、喘息コントロールレベルと呼気NOとの関連を検討し、喘息コントロールが不良である症例を検知する呼気NO値を同定した。また治療中にも関わらず呼気NOが高値で遷延している喘息症例の臨床的特徴について検討を加えた。

さらに、ガイドラインに基づいた喘息治療を行っていても呼気NOが40ppb以上で遷延している患者13例に対してステロイドによる治療強化を行った。治療強化は呼気NOが40ppb以下に低下するまで、(1)吸入ステロイド等用量でのデバイス変更、(2)吸入ステロイド倍量投与、(3)経口ステロイド投与、の3つのステップで行った。呼気NO濃度および呼吸機能の改善効果とその関連性について検討した。

(倫理面への配慮)

研究方法、予測される結果や危険性は文書で説明し、自由意志の下で同意が得られた方のみ対象とした。研究への不参加や棄権があっても、医療を受ける上で不利益を被ることはなく、個人情報確認される形の公表は行なわない。

C. 結果

1) 喘息の補助診断における呼気NO濃度のカットオフ値

呼気NOは健常者(16ppb)に比べ喘息患者(47ppb)で有意に高値であった。対象全体の検討では喘息補助診断において22ppbの呼気NOが感度と特異度に優れていた。多変

量解析では喫煙、鼻炎、喘息が呼気NOに有意な影響を与える因子として抽出された。喫煙と鼻炎の有無により4群に分別した検討において喘息補助診断における呼気NOカットオフ値は18ppbから28ppbまで変動したが、AUCは全ての群で0.85以上であった(図1)。

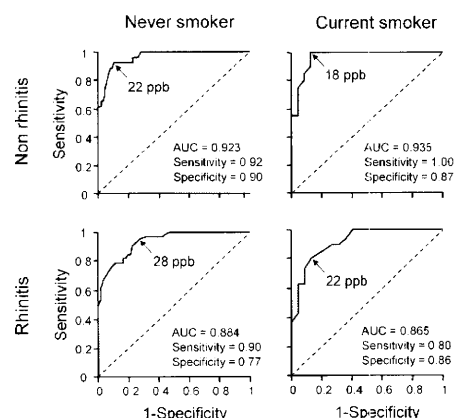


図1. 鼻炎および喫煙状況に基づいた、喘息診断における呼気NO濃度のカットオフ値

2) 標準的治療を行っていても呼気NOが高値である喘息症例の臨床的特徴

ACT、一秒量およびPEF変動率を組み合わせた指標を用いて判定された喘息コントロール不良症例(54ppb)はコントロール良好症例(31ppb)に比べて有意に呼気NO濃度が高値であった($p < 0.001$)。コントロール不良例を検知する呼気NO濃度としては40.5ppbが感度(77%)と特異度(80%)に優れていた(図2)。

呼気NO濃度が40ppb以上の症例と40ppb以下の症例との間に吸入ステロイドの使用量や長時間作用性 β 刺激薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、テオフィリン薬の使用頻度に差は認めなかったが、呼気NO濃度が40ppb以上の症例では有意にACTスコアと一秒量が低値でPEF変動率が增大していた。標準的治療にも関わらず呼気NO濃度が40ppb以上の高値を呈することに影響する因子としては過去の喫煙歴と副鼻腔炎合併が同定された。

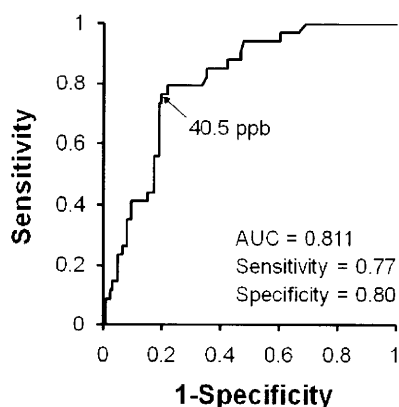


図2. 標準的な治療を行っている症例において喘息コントロール不良症例を検出する呼気 NO 濃度カットオフ値

3) 気道炎症が遷延している喘息患者に対するステロイドによる治療強化の意義

通常治療を行っても呼気 NO 濃度が 40ppb 以上の高値である症例に対して吸入ステロイドを倍量投与することにより、呼気 NO 濃度は有意に低下し、呼吸機能の改善を認めた。呼気 NO 濃度は 70%の症例で 40ppb 以下に低下し、呼気 NO 濃度の変化量は一秒量および ΔN_2 の改善程度と有意に関連した。一方、倍量投与を行っても呼気 NO 濃度が 40ppb 以下に低下しなかった症例では、経口ステロイド薬を追加しても呼気 NO 濃度は有意に低下しなかった。

D. 考察

今年度の検討で、呼気 NO 濃度は健常者に比べ喘息患者で有意に高値であり、対象全体における ROC 曲線による検討で 22ppb の呼気 NO 濃度が最も感度(91%)と特異度(84%)に優れたカットオフ値であることが示された。多変量解析では現在の喫煙と鼻炎が呼気 NO 濃度に有意な影響を与える因子として抽出された。健常者と喘息患者のいずれも、鼻炎合併症例は鼻炎のない症例に比べて呼気 NO 濃度が有意に上昇しており、現在、喫煙中の症例は呼気 NO 濃度が有意に低値であった。さらに現在の喫煙と鼻炎合併

の有無により対象を4つの群に分けたサブ解析により喘息診断におけるカットオフ値は、鼻炎のない非喫煙者では 22ppb、鼻炎がある非喫煙者では 28ppb、鼻炎のない喫煙者では 18ppb、鼻炎のある喫煙者では 22ppb であり、至適なカットオフ値は鼻炎合併および喫煙の影響により 18 から 28ppb まで変動した。ただし、全ての群において感度および特異度は十分高い水準に保たれており、呼気 NO 濃度測定は実地臨床における喘息補助診断のツールとして十分信頼性があると考えられた。

また呼気 NO 濃度測定は治療中の喘息患者においてコントロール不良症例を検出する方法としても有用であった。標準的な喘息治療を行っていても呼気 NO 濃度が高値である症例は、喘息症状がより強く閉塞性障害と PEF 変動性の程度が大きいことが示された。さらに喫煙の既往と副鼻腔炎の合併は、気道炎症が遷延する症例における独立した危険因子であることが明らかにされた。

標準的な治療を行っていても呼気 NO 濃度が高値で遷延している症例に対するステロイド治療の強化は気道炎症の抑制と呼吸機能の改善につながり、呼気 NO 濃度は喘息治療の標的として重要と考えられた。しかし経口ステロイド薬によっても制御できないステロイド低感受性の気道炎症を有する症例も存在する可能性が示された。

E. 結論

本研究により、呼気 NO 濃度測定は喘息の補助診断および管理効率の向上に有用な気道炎症マーカーであることが明らかにされた。昨年度の研究で算出された日本人の呼気 NO 濃度正常値(平均 15ppb、正常上限値 37ppb)に加え、喘息診断におけるカットオフ値(22ppb)、治療中の喘息患者においてコントロール不良を検出するカットオフ値(40ppb)が算出された。一般臨床における喘息管理への応用・展開に向けて、目的に応じた呼気 NO 濃度の具体的な管理目標値が明確にされた。

F.健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文論文

1. Koarai A, Sugiura H, Yanagisawa S, Ichikawa T, Minakata Y, Matsunaga K, Hirano T, Akamatsu K, **Ichinose M**: Oxidative Stress Enhances Toll-like Receptor 3 Response to Double-stranded RNA in Airway Epithelial Cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 42: 651-660, 2010
 2. Sugihara N, Kanada S, Haida M, **Ichinose M**, Adachi M, Hosoe M, Emery C, Higgins M, Kramer B: 24-h bronchodilator efficacy of single doses of indacaterol in Japanese patients with asthma: A comparison with placebo and salmeterol. *Respir Med* 104: 1629-1637, 2010
 3. Kamio K, Liu XD, Sugiura H, Togo S, Kawasaki S, Wang X, Ahn Y, Hogaboam C, Rennard SI: Statins inhibit MMP release from human lung fibroblasts. *Eur Respir J* 35: 637-646, 2010
 4. Togo S, Sugiura H, Nelson A, Kobayashi T, Wang X, Kamio K, Kawasaki S, Bitterman P, Rennard SI, Liu X: Hepatic growth factor (HGF) inhibits cigarette smoke extract induced apoptosis in human bronchial epithelial cells. *Exp Cell Res* 316: 3501-11, 2010
 5. Matsunaga K, Hirano T, Kawayama T, Tsuburai T, Nagase H, Aizawa H, Akiyama K, Ohta K and **Ichinose M**: Reference ranges for exhaled nitric oxide fraction in healthy Japanese adult population. *Allergol Int* 59: 363-367, 2010
- 和文論文
1. **一ノ瀬正和**: 薬物によるコントロールについて. 滝澤 始 編集 気管支喘息. p43-p49, 2010
 2. 平野綱彦, **一ノ瀬正和**: 新しい末梢気道評価法 呼気 NO. *アレルギー・免疫* 17 (1): 74-81, 2010
 3. **一ノ瀬正和**: 喘息・COPD 治療薬 アドエア®(フルチカゾン / サルメテロール配合剤). *分子呼吸器病* 14: 32-35, 2010
 4. **一ノ瀬正和**: ブデソニド / ホルモテロール配合剤 (シムビコート® タービュヘイラー®)の安全性. *アレルギー・免疫* 17: 138-148, 2010
 5. **一ノ瀬正和**: 気道炎症モニタリング:気管支喘息の新しい管理目標. *感染・炎症・免疫* 17(4): 98-100,2010
 6. **一ノ瀬正和**: 喘息・COPD の合併の実態とその鑑別 — バイオマーカーを中心として. 喘息の診断と治療における問題点 29: 151-155, 2010
 7. 松永和人, **一ノ瀬正和**: 抗コリン薬の位置付け. *アレルギーの臨床* 29(14): 45-50, 2010
 8. **一ノ瀬正和**: 喘息予防・管理ガイドライン 2009 -薬物療法のポイント-. *アレルギー* 59(2): 92-97, 2010
 9. **一ノ瀬正和**: 気管支喘息の管理効率向上について. *IgE practice in asthma* 4(2): 1, 2010
 10. 松永和人, **一ノ瀬正和**: One airway, one disease の治療戦略 -ロイコトリエン受容体拮抗薬-. *喘息* 23: 44-49, 2010
 11. 平野綱彦, **一ノ瀬正和**: 呼吸器検査 呼気 NO の測定方法とその意義. *アレルギー・免疫* 17(6): 116-123, 2010
 12. **一ノ瀬正和**: 抗 IgE 抗体の臨床研究による疾患メカニズムの究明: *IgE practice in asthma* 4 (3): 19-26, 2010
 13. 松永和人: 呼気分析による気道炎症評価. *日本臨床*

- 生理学会雑誌 40: 15-20, 2010
14. 南方良章: 喫煙のステロイドに及ぼす影響. 呼吸器内科 17: 456-463, 2010
 15. 松永和人: 喘息発作の治療 高齢者喘息への対応. Mebio 27: 64-71, 2010
 16. 一ノ瀬正和: 重症喘息: 過去 10 年間における前進: IgE practice in asthma 4 (4): 20-23, 2010
 17. 市川朋宏, 杉浦久敏: 喘息と COPD をめぐって ～類似点と相違点～ I. 疫学. アレルギー・免疫 17 (12): 12-22, 2010
 18. 一ノ瀬正和: 喘息と COPD の類似点と相違点 : 病態から. 呼吸器内科 18: 193-20, 2010
 19. 一ノ瀬正和, 内科領域の診療ガイドライン概観 6 呼吸器. 日本内科学会雑誌 2010; 99: 56-64
2. 学会報告
- 国際学会
1. H. Sugiura, M. Ichinose. Nitrate Stress in inflammatory lung diseases. The 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, 2010.06.15, Kyoto.
 2. H. Sugiura, X. Liu, T. Ichikawa, M. Ichinose, SI. Rennard. Thematic Poster Session: 3-Nitrotyrosine inhibits fibroblast-mediated collagen gel contraction and chemotaxis. 2010 ATS Annual Congress, 2010.05.16-19, New Orleans, USA.
 3. M. Nakanishi, O. Holz, T. Sato, M. Farid, AJ. Nelson, J. Michalski, N. Kanaji, XQ. Wang, H. Basma, X. Liu, S. Togo, ML. Toews, K. Mueller, H. Magnussen, and SI. Rennard. Poster session : PGE₂ Stimulates Human Lung Fibroblast IL-8 Production Through the EP2 Receptor. ATS International Conference, 2010.5.14-19, New Orleans, USA.
 4. S. Yanagisawa, A. Koarai, H. Sugiura, T. Ichikawa, M. Kanda, K. Akamatsu, T. Hirano, K. Matsunaga, Y. Minakata, M. Ichinose: Oxydative Stress Augments Toll-Like Receptor 8 Mediated Neutrophilic Responses. The 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, 2010.06.16, Kyoto.
 5. A. Koarai, H. Sugiura, S. Yanagisawa, T. Ichikawa, Y. Minakata, K. Matsunaga, T. Hirano, K. Akamatsu and M. Ichinose. Oxidative stress enhances TLR3 response to double-stranded RNA in airway epithelial cells. The 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, 2010.06.16, Kyoto.
 6. T. Ichikawa, H. Sugiura, A. Koarai, S. Yanagisawa, M. Kanda, K. Akamatsu, T. Hirano, K. Matsunaga, Y. Minakata, M. Ichinose. Peroxynitrite augments fibroblast-mediated tissue remodeling through NF-K β activation. The 6th International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide, 2010.06.18, Kyoto.
 7. A. Koarai, H. Sugiura, S. Yanagisawa, T. Ichikawa, Y. Minakata, K. Matsunaga, T. Hirano, K. Akamatsu and M. Ichinose. Oxidative stress enhances TLR3 response to double-stranded RNA in airway epithelial cells. COPD symposium in ASIA 2010 Tokyo, 2010.07.31, Tokyo.
 8. M. Ichinose, H. Aizawa, Y. Fukuchi, M. Mishima,

- M. Nishimura, M. Bogdan. Thematic Poster
Session: Pharmacological modulation of
biomarkers and management Patient-reported
outcomes (PROs) and reliever use in Japanese
and European patients with chronic obstructive
pulmonary disease receiving formoterol 4.5 and
9µg twice daily: Results of the OCEAN phase III
study. 2010 ERS Annual Congress, 2010.09.18-22,
Barcelona, Spain.
9. A. Koarai, S. Yanagisawa, H. Sugiura, T.
Ichikawa, M. Kanda, K. Furukawa, K. Akamatsu,
T. Hirano, K. Matsunaga, Y. Minakata, M.
Ichinose. Expression of toll-like receptor 3 in
alveolar macrophages from patients with COPD.
2010 ERS Annual Congress, 2010.09.18-22,
Barcelona, Spain.
- 国内シンポジウム、ワークショップ等
1. 一ノ瀬正和: 喘息 / COPD 合併. 第 30 回吸入療法
研究会 (シンポジウム), 東京, 2010.02.13
2. 杉浦久敏: 慢性閉塞性肺疾患の発症機序に関する
研究 - 活性酸素種の役割と新たな発症機序の探究.
第 50 回日本呼吸器学会(熊谷賞受賞特別講演), 京
都, 2010.04.25
3. 一ノ瀬正和: 成人喘息. 第 50 回日本呼吸器学会, 京
都, 2010.04.23
4. 一ノ瀬正和: 喘息気道炎症の検査法と評価. 第 22 回
日本アレルギー学会春季臨床大会, 京都,
2010.05.09
5. 一ノ瀬正和: COPD 合併喘息の病態と治療. 第 20 回
国際喘息学会 日本・北アジア部会 (ランチョンセミナ
ー), 東京, 2010.07.02
6. 松永和人: 呼気 NO 濃度測定的一般臨床応用に向け
て. 第 17 回西日本喘息治療研究会(特別講演), 神戸,
2010.08.21
7. 松永和人: 気管支喘息における気道炎症評価.
Respiratory Executive Meeting in 2010 (特別講演),
岡山, 2010.11.19
8. 一ノ瀬正和: ぜんそく長期管理のための炎症モニタリ
ング. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (教
育講演), 東京, 2010.11.25
9. 杉浦久敏: ウイルス感染と増悪. 第 60 回日本アレル
ギー学会秋季学術大会 (シンポジウム), 東京,
2010.11.26
10. 一ノ瀬正和: 神経からみたアレルギー性炎症. 第 60
回日本アレルギー学会秋季学術大会 (シンポジウム),
東京, 2010.11.27
11. 杉浦久敏: 高齢者喘息と COPD 類似点・相違点「疫
学」. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (ワ
ークショップ), 東京, 2010.11.27
12. 松永和人: 気管支喘息における気道炎症評価.
Asthma Forum in Nagoya (特別講演), 名古屋,
2010.12.22
- 国内学会
1. 松永和人, 神田匡兄, 柳澤 悟, 市川朋宏, 小荒井晃,
赤松啓一郎, 平野綱彦, 杉浦久敏, 南方良章, 一ノ
瀬正和: 喫煙喘息における呼気 NO 濃度. 第 50 回日
本呼吸器学会学術講演会, 京都, 2010.04.23
2. 小荒井晃, 柳澤 悟, 杉浦久敏, 市川朋宏, 平野綱
彦, 赤松啓一郎, 松永和人, 南方良章, 一ノ瀬正和:
酸化ストレスのヒト気道上皮における dsRNA ウイルス刺
激応答に対する影響の検討. 第 50 回日本呼吸器学
会学術講演会, 京都, 2010.04.23-25
3. 杉浦久敏, 市川朋宏, 小荒井晃, 柳澤 悟, 南方良
章, 松永和人, 平野綱彦, 赤松啓一郎, 神田匡兄,
一ノ瀬正和: 3-ニトロチロシン(3-NT)の組織修復能に
及ぼす効果. 第 50 回日本呼吸器学会総会, 京都,

2010.04.24

4. 松永和人, 神田匡兄, 柳澤悟, 市川朋宏, 小荒井晃, 赤松啓一郎, 平野綱彦, 杉浦久敏, 南方良章, 一ノ瀬正和: 喫煙喘息における呼気 NO 濃度. 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2010.05.08
5. 松永和人, 神田匡兄, 柳澤 悟, 市川朋宏, 小荒井晃, 赤松啓一郎, 平野綱彦, 杉浦久敏, 南方良章, 一ノ瀬正和: 喘息診断における呼気 NO 濃度のカットオフ値. 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2010.05.08
6. 平野綱彦, 松永和人, 古川加奈子, 神田匡兄, 柳澤悟, 市川朋宏, 赤松啓一郎, 小荒井晃, 杉浦久敏, 南方良章, 一ノ瀬正和: 安定期気管支喘息患者におけるドライパウダー製から超微細粒子製の吸入ステロイドシクレソニドへの切り替え効果. 第 20 回国際喘息学会 日本・北アジア部会, 東京, 2010.07.02
7. 平野綱彦, 松永和人, 杉浦久敏, 南方良章, 中西正典, 小荒井晃, 赤松啓一郎, 市川朋宏, 柳澤 悟, 神田匡兄, 古川加奈子, 菊池崇史, 川端宏樹, 一ノ瀬正和: 難治性喘息～治療標的としての呼気 NO の有用性. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2010.11.26
8. 松永和人, 平野綱彦, 川端宏樹, 神田匡兄, 柳澤悟, 市川朋宏, 小荒井晃, 赤松啓一郎, 中西正典, 杉浦久敏, 南方良章, 一ノ瀬正和: 喘息診断に用いる呼気 NO 濃度カットオフ値の提唱. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2010.11.26

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

特許取得、実用新案登録、その他ともなし。

「気道炎症モニタリングの一般臨床応用化:新しい喘息管理目標の確立に関する研究」

－呼気中の脂質メディエータ測定 of 喘息管理における臨床応用に関するデータ集積－

分担研究者 秋山一男 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 センター長

研究協力者 粒来崇博 三田晴久 谷口正実 釣木澤尚実 押方智也子

前田裕二 大友守 関谷潔史 福富友馬 谷本英則 三井千尋

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 気管支喘息は好酸球性気道炎症を原因とし気道の過敏性が亢進、様々な刺激により可逆性の気道閉塞を来す疾患である。そのため、気道炎症を評価する方法論が求められている。一方で、今まで気管支肺胞洗浄でしか得ることができなかった気道上皮被覆液を非侵襲的に回収反映できる方法として、呼気を冷却し凝縮液を回収する方法が考案された(呼気凝縮液(exhaled breath condensate: EBC))。平成16年度に「気道過敏性の簡便な診断法開発とその応用による喘息管理向上に関する研究」班において気道過敏性を評価する簡便な方法としてのEBCの可能性、平成17-19年度には「呼気凝縮液を用いた気管支喘息の気道炎症評価法の確立と臨床応用に関する研究」班において、EBC回収時の方法論、EBC中Cysteinyl Leukotriene(cysLTs)の喘息重症度との関連、EBC中cysLTs濃度の予後予測における有用性、EBC中Leukotriene B₄(LTB₄)濃度が重症例で高値になることについて報告した。平成20年度より、呼気中の脂質メディエータ測定 of 喘息管理における臨床応用に関するデータ集積を目的としている。平成20年度では、EBC中LTB₄は有意に重症群で高値、喀痰好中球が多いほど高値になる傾向があったこと、抗原吸入において即時反応陽性の群ではEBC中cysLTs、EBC中PGD₂は有意に増加し、FEV₁低下率とEBC中cysLTs増加量は有意な正の相関を示すこと、平成21年度は、IPF対象ではあるが、BALFとの比較でTyrosineが補正マーカーとして有望であること、気管支喘息症例においてヒスタミンを用いた気道過敏性と15-HETE様物質が相関することを示した。本年度は、希釈に左右されないアミノ酸のうちアレルギー炎症に密接に関与すると注目されているIDO活性について評価した。IL-10と相関、好酸球性炎症と逆相関すると考えられているが、未治療の喘息では低値で治療すると高値になることを示した。

A 研究目的

気管支喘息は好酸球性気道炎症を原因とし気道の過敏性が亢進、様々な刺激により可逆性の気道閉塞を来す疾患である。現在気道で起きている炎症を評価するには気道上皮の情報が必要であるが、確立された簡便な方法はない。現在診療上行えるものとしては、気管支鏡を用いて直接気道上皮組織を採取し、また気管支肺胞洗浄で気道上皮被覆液を回収するのが最も精度が高いといえるが、侵襲が大きく、実際の日常診療における検査には適当ではない。一方で、今まで気管支肺胞洗浄でしか得ることができなかった

気道上皮被覆液を非侵襲的に回収反映できる方法として、呼気を冷却し凝縮液(呼気凝縮液: exhaled breath condensate: EBC)を回収する方法が考案された。EBC中に、Leukotriene(LT)をはじめとした気管支喘息に直接関わるメディエーターが増加しており、重症度との関連や、cytokineの変化がみられる等の報告が多数なされている。平成16年度に「気道過敏性の簡便な診断法開発とその応用による喘息管理向上に関する研究」班において気道過敏性を評価する簡便な方法としてのEBCの可能性について報告した。また、平成17-19年度には「呼気凝縮液を用いた気管支喘