

201023012B

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 20 年度～平成 22 年度 総合研究報告書

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 20 年度～平成 22 年度 総合研究報告書

研究代表者 一ノ瀬正和

平成 23 (2011) 年 3 月

# 目 次

I. 総合研究報告書	
(総括)	
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 .....	1
(各研究報告)	
1. 呼気ガス・呼気凝縮液分析の一般臨床応用化に向けての検討	
一ノ瀬 正 和 .....	7
2. 呼気中の脂質メディ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 .....	31
3. 喘息管理における呼気凝縮液中液性因子の役割および、 喘息診断における呼気一酸化窒素濃度 (FeNO) の疾患特異性の検証	
大 田 健 .....	37
4. 誘発喀痰を用いた制御性T細胞の評価とその治療反応性についての検討 －喘息の気道炎症評価法として誘発喀痰の有用性の検討－	
相 澤 久 道 .....	49
II. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	61
III. 研究成果の刊行物 .....	65



# I . 総合研究報告書

## 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

気道炎症と気道過敏性は気管支喘息の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なかった。本研究はこれまで呼気ガスや呼気凝縮液を用いて行ってきた基礎的研究を進展させ、気道炎症評価による新しい管理目標を確立し、気道炎症モニタリングを用いた喘息管理を一般臨床応用化することを目的とした。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であり、一般臨床応用が可能な気道炎症マーカーであることが明らかにされた。呼気NO濃度の日本人の正常値および喘息の補助診断、治療における具体的な管理目標値が明確にされた。さらに本研究の成果を取り纏め、一般臨床医向けの「呼気NO(一酸化窒素)測定ハンドブック」を作成した。従来の症状や呼吸機能の評価に、呼気NO測定による気道炎症評価を加えていくことにより、喘息の管理効率がさらに向上することが期待される。一方、標準的治療を行っていても呼気NO濃度が低下しない症例が存在し、症状スコアと一秒量が有意に低値で、PEF変動性が増大していることを示した。呼気NO濃度が治療で低下しない症例の背景因子として過去の喫煙と鼻副鼻腔炎が影響することを明らかにしたが、他の原因や機序については、今後の詳細な検討が必要である。さらに呼気凝縮液中のIL-4、RANTESおよび喀痰好酸球は喘息患者におけるステロイド反応性の予測に臨床応用できる可能性が示された。

### 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

ける検討で、ピークフローの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明らかにした。さらに平成17～19年の「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その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定量評価可能な炎症物質を同定した。

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を一般臨床応用化することを目的とした。具体的には、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気道炎症マーカーである呼気凝縮液や呼気ガスを用いた気道炎症評価を、現在行われている症状スコアや呼吸機

### A. 研究目的

気道炎症と気道過敏性は気管支喘息の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」班にお

能検査に加えた喘息管理における新しい手段として確立することを旨とする。

## B. 研究方法

(平成 20 年度)

### ① 気管支喘息患者における呼気NOと症状スコア、呼吸機能との関連性の検討(一ノ瀬班)

喘息症状の評価指標である Asthma control test (ACT)、スパイロメリー、ピークフロー測定、呼気 NO 測定を行い、喘息症状、閉塞性障害および気道過敏性と呼気 NO 濃度との関連性について検討した。

### ② 呼気凝縮液(EBC)を用いた喘息治療応性の予測因子の検索(一ノ瀬班)

吸入ステロイドの導入前後で、スパイロメリー、気道過敏性測定、呼気凝縮液採取を行い、ステロイド治療による閉塞性障害および気道過敏性の改善を予測するのに有用な呼気凝縮液中の炎症関連物質を Protein array 法および Cytometric beads array 法を用いて検索した。

### ③ 呼気中の脂質メディエーター測定の喘息管理における臨床応用に関するデータ集積(秋山班)

喘息患者に呼気凝縮液および誘発喀痰採取、スパイログラム、気道過敏性検査を行い、呼気凝縮液はカラムにて濃縮、HPLC 精製後に ELISA 法で  $LTB_4$  を測定した。同時に  $LTB_4$  の代謝産物である尿中  $LTB_4$  を測定した。さらに、アトピー型気管支喘息においてダニ抗原吸入負荷試験を行い、前後で呼気凝縮液及び尿の回収を行い、Cysteinyll leukotriene (cysLTs), histamine,  $PGD_2$  を測定し比較した。

### ④ 喘息コントロール状態を反映する呼気中液性因子の検討(大田班)

喘息患者の呼気 NO 測定、呼気凝縮液採取を行い、同時に喘息コントロールを ACT で評価した。呼気凝縮液は 10 倍濃縮し、サイトカインとケモカインの 27 種を Luminex で測定し、呼気凝縮液中液性因子濃度及び呼気 NO と ACT ス

コアとの関連を検討した。

### ⑤ 喀痰中制御性T細胞やサイトカインの喘息治療指標としての有用性の検討(相澤班)

喘息患者を対象に、14 日間の吸入ステロイド療法の前後において、誘発喀採取およびメサコリンによる気道過敏性試験を行なった二重盲検・クロスオーバー試験で、プラセボとの比較を行なった。誘発喀痰中の CTLA-4 陽性  $CD25^+CD4^+$  細胞、好酸球分画および抗炎症サイトカインおよびケモカイン (IL-10, IL-13 および TGF- $\beta$ 1) を測定し、炎症マーカーと気道過敏性の変化率との相関を検討した。

(平成 21 年度)

### ① 日本人の呼気NO濃度正常値(全体研究)

アトピーの既往がなく、喫煙中でない成人健常者 240 名を対象に呼気 NO 濃度測定および人口統計学的データ(年齢、性別、身長、体重、喫煙歴)を調査し、健常者における呼気 NO 濃度の参照範囲を算出した。さらに参照範囲の変動要因として人口統計学データとの関連性を検討した。

### ② 化学発光式呼気NO測定装置と電子化学式ポータブル呼気NO測定装置の比較検討(一ノ瀬班)

20 名の健常者および喘息患者を対象に、呼気 NO を化学発光式測定装置と電子化学式ポータブル測定装置で測定し、妥当性と信頼性を比較検討した。

### ③ 呼気NO測定の疾患特異性の検証(大田班)

喘息、COPD、非結核性抗酸菌症、睡眠時無呼吸症候群、間質性肺炎、気管支拡張症、慢性咳嗽患者、計 135 例を対象に呼気 NO を測定して疾患特異性について検討した。

### ④ 脂質メディエーター測定における希釈補正マーカーの検索(秋山班)

間質性肺炎患者を対象に診断目的で回収された BALF をサンプルとして用いた。BALF 回収前に呼気 NO、スパイログラム、気道過敏性検査を行い、EBC を採取した。EBC は回収と同時に、C18 カラムを用いて濃縮、EIA 法で cysLTs および Tyrosine 濃度を測定した。

⑤ EBC中15-HETEの気道炎症マーカーとしての可能性の検討(秋山班)

安定期の喘息患者(n=20)を対象とした。呼気 NO、スパイログラム、気道過敏性検査を行い、EBC を採取した。15-HETE 濃度は、GC-M-NCI にて定量した。

⑥ 喘息治療における気道バイオマーカーとしての喀痰好酸球および好中球の検討(相澤班)

喘息患者 10 名を対象に吸入ステロイドを使用し、治療前後の肺機能、気道抵抗測定(インパルス・オッシロメトリー: IOS) および誘発喀痰採取を行なった。

(平成 22 年度)

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)

標準的治療を行っている喘息患者 244 名を対象に、ACT、スパイロメトリー、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 喘息補助診断における呼気NOカットオフ値(一ノ瀬班)

142 名の未治療喘息患者と 224 名の健常者を対象に呼気 NO を標準法に基づき測定した。多変量解析により呼気 NO 測定値に有意な影響を与える因子を同定し、背景因子を加味した喘息診断における呼気 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)経ロステロイド投与、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)

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。

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 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、アレルゲン特異的 IgE、末梢血好酸球数および分画、誘発喀採取、スパイロメトリーおよびメサコリンに対する気道過敏性試験(PC<sub>20</sub>)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<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CTLA-4<sup>-</sup>、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>Foxp-3<sup>+</sup>および CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CTLA-4<sup>+</sup>Foxp-3<sup>+</sup>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NO(一酸化窒素)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、予測される危険性について文書で説明の上、同意を取得した症例を対象とした。データは部外者が接触できないよう厳重に管理し、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

(平成 20 年度)

- ① 喘息患者の呼気NO濃度は喘息症状および閉塞性障害や気道過敏性の程度と相関した。対象102例中、88例(86%)はACTスコアではコントロール良好と判定されたが、そのうち50例(56%)は、呼気NO濃度が40ppb以上を呈していた。呼気NOが40ppb以上である症例にステロイド増量を行なったところ、閉塞性障害や気道過敏性を呈する症例の70%にて機能異常の改善を認めた。
- ② 喘息患者の呼気凝縮液にて発現が亢進していたメディエーターの中で、IL-4, RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IL-8およびIL-17はステロイド治療により有意に発現が抑制されたが、TNF- $\alpha$ , IP-10およびTGF- $\beta$ は治療に対し抵抗性を示した。ステロイドによる閉塞性障害の改善程度は、ステロイド治療前のIL-4, RANTES発現レベルと正の相関を、IP-10発現レベルと負の相関を示した。さらにIL-4, RANTESとIP-10の発現レベル比は閉塞性障害の改善とより良好に相関した。
- ③ EBC中LTB $_4$ は有意に重症群で高値であった。尿中LTBGとの比較では相関を認めなかった。抗原吸入において即時反応陽性の群ではEBC中cysLTs, EBC中PGD $_2$ は有意に増加し、尿中でもそれらの代謝産物が増加していたのに対し、陰性群では増加しなかった。抗原吸入による一秒量の低下率とEBC中cysLTs増加量は有意な正の相関を示した。
- ④ EBCで測定可能であった分子は、IP10, VEGF, IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ であった。IP10はACTスコアと有意な正相関を示した。IP10が0.7 pg/ml以上の16症例のうち、15例(93.8%)がACT 20点以上であったIL-1 $\alpha$ が1pg/ml以上の10症例のうち5例(50%)が、IL-1 $\beta$ が0.08 pg/ml以上の16症例のうち9例(56.3%)がACT20点未満であった。
- ⑤ 吸入ステロイドは、プラセボに比較して、誘発喀痰中の好酸球分画を有意に低下させ、気道過敏性も有意に

改善させた。さらに、吸入ステロイドは、誘発喀痰中のリンパ球分画やCD25+CD4+細胞分画には影響を及ぼさなかったが、制御性T細胞のひとつであるCTLA-4陽性CD25+CD4+細胞分画を有意に増加させた。また、誘発喀痰上清中の抗炎症サイトカインおよびケモカインのうち、IL-10は、吸入ステロイドによって、明らかに増加した。しかし、IL-13やTGF-beta1は変化がなかった。さらに、気道過敏性の改善率と誘発喀痰中の好酸球分画低下率とは有意な負の相関を認めたが、CTLA-4陽性CD25+CD4+細胞分画との相関は認めなかった。

(平成 21 年度)

- ① 成人健常者の呼気NO参照範囲は国際標準法にもとづき、①データ分布の左右両裾の2.5%を除いた範囲(95% prediction interval)と②データを正規分布に変換してMean $\pm$ 2SDを算出して逆変換する、二つの方法で設定した。呼気NOの算術平均値は16.9ppbで95% prediction intervalは6.5, 35.0ppbであった。また対数変換することで正規性が確認された呼気NOの幾何平均値は15.4ppbでMean $\pm$ 2SDは6.5, 36.8ppbであった。対数変換した呼気NOを応答変数、人口統計学データを説明変数とした回帰樹木モデルにおいて呼気NOに影響を与える因子は同定されなかった。
- ② 化学発光式測定器で測定した呼気NO値はポータブル測定器の測定値と有意な相関を認めた( $r = 0.925, p < 0.0001$ )。化学発光式測定器の呼気NO値に対するポータブル測定器の呼気NO値の回帰係数は1.38で、呼気NOが高くなるにつれポータブル測定器の測定値が化学発光式測定器の測定値より高くなる傾向であった。
- ③ 呼気NO値は、吸入ステロイド薬(ICS)使用中の安定喘息(49.9 $\pm$ 5.3)、ICS使用中の不安定喘息(74.1 $\pm$ 10.4)、ICS未使用の喘息(83.0 $\pm$ 18.0)、COPD(21.9 $\pm$ 9.8)、非結核性抗酸菌症(14.8 $\pm$ 16.4)、睡眠時無呼吸症候群(18.2 $\pm$ 18.0)、間質性肺炎(20.6 $\pm$ 12.7)、気管



支拡張症/びまん性汎細気管支炎 (23.6±12.1)、胸部X線および1秒率が正常で、喘鳴を聴取しない慢性咳嗽 (13.1±13.8)であった。COPD、間質性肺炎、気管支拡張症/びまん性汎細気管支炎、慢性咳嗽における呼気NO値は不安定喘息に比べ有意に低値であった。

- ④ BALF中とEBC中のCysLTs濃度には相関はなかった。BALFの補正としてよく用いられているurea, total proteinについてはEBCでは測定できなかったが生体に多く存在するtyrosineはEBCにおいても測定可能であった。tyrosine補正後もBALF中のCysLTs濃度は有意に高値で(CysLTs/tyrosine比; 0.23vs0.17, p=0.007)、かつ、EBCとの有意な正の相関を認めた(r=0.547, p=0.043)。
- ⑤ ステロイド治療にも関わらず、EBC中の15-HETEはLT (pg/ml)と比較し、高濃度 (ng/ml)に存在した。健常群と比較して軽症喘息群で有意に高値であったが(p<0.05)、重症喘息群では健常群と同等であった。EBC中15-HETE濃度と気道過敏性は有意な逆相関を示した。
- ⑥ 高用量吸入ステロイドで、1秒量(FEV1)および努力性肺活量25%の流速(V25)は有意に改善した。しかし、IOSによる気道抵抗は改善しなかった。また遅延相の喀痰中好酸球は吸入ステロイド治療後に減少し、その減少率はFEV1(r=-0.51, p=0.03)およびV25変化(r=-0.39, p=0.0954)率と負の相関を認めた。喀痰中好中球数は治療による変化がなく肺機能気とも相関が無かった。

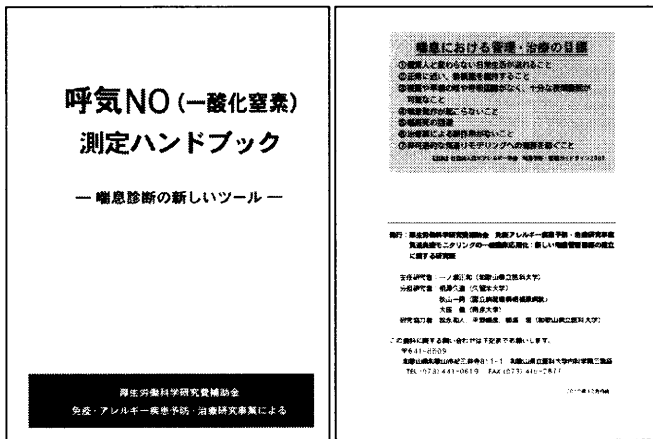
(平成 22 年度)

- 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。標準的な喘息治療にも関わらず呼気NOが40ppb以上の高値で遷延することに有意に影響する因子として喫煙の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。
- 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、いずれも健常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 本研究の成果を取り纏めた「呼気NO(一酸化窒素)測定ハンドブック」を作成した(図)。



図、呼気NO(一酸化窒素)測定ハンドブック

### E. 結論

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であり、一般臨床応用が可能な気道炎症マーカーであることが明らかにされた。呼気NO濃度の日本人の正常値および喘息の補助診断、治療における具体的な管理目標値が明確にされた。さらに本研究の成果を取り纏め、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。従来、用いられてきた症状や呼吸機能の評価に、呼気NO測定による気道炎症評価を加えていくことにより、喘息の管理効率がさらに向上することが期待される。

一方、呼気NO濃度測定の実地臨床での使用における今後の課題も示された。喘息診断における呼気NO濃度のカットオフ値(22ppb)の感度は91%、特異度は84%であり、呼気NO濃度測定だけでは10%程度の喘息を見落とす可能性と15%程度の健常者を喘息と診断する可能性がある。本

研究で現在の喫煙や鼻炎合併は呼気NO濃度測定値に有意な影響を与える因子であることを示したが、非喫煙にも関わらず呼気NO濃度が明らかに低値な喘息症例も存在した。今後、このような症例の臨床的特徴を明確にしていく必要がある。さらに標準的な喘息治療を行っていても呼気NO濃度が低下しない(40ppb以上)症例が存在し、症状スコアと一秒量が有意に低値で、PEF変動性の増大が認められることを示した。多変量解析により過去の喫煙と鼻副鼻腔炎合併が遷延するNO高値に影響する因子であることを明らかにしたが、アドヒアランスや全身性好酸球増多など、他の要因の影響については十分な検討が行われなかった。さらにその機序についても喀痰や呼気凝縮液を用いた基礎的な検討が必要と考えられた。今後の研究においてこれらの課題の解決を目指す。さらに呼気凝縮液中のIL-4、RANTESおよび喀痰好酸球は喘息患者におけるステロイド反応性の予測に臨床応用できる可能性が示された。呼気凝縮液については含有される蛋白濃度が微量であるため、測定や補正の方法に関するさらなる基礎的検討が必要である。

### F.健康危険情報

なし

### G. 研究発表

各研究報告書に個々に記載

### 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。

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  
— 呼気ガス・呼気凝縮液分析の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)

研究要旨

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。本研究は、非侵襲的な呼気ガスや呼気凝縮液を用いた気道炎症評価を、現在行われている症状評価や肺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。呼気 NO 濃度については、①呼気 NO 濃度測定機器の妥当性の検証、②日本人の呼気 NO 濃度の正常値、③呼気 NO 濃度と喘息症状スコア、呼吸機能との関連、④喘息の補助診断における呼気 NO 濃度のカットオフ値、⑤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、⑥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、について検討した。さらに呼気凝縮液については、⑦呼気凝縮液を用いた喘息治療応性の予測因子の検索、を行った。本研究で、呼気 NO 濃度測定は妥当性に問題がなく、喘息の補助診断および管理効率の向上に有用であり、一般臨床応用が可能な気道炎症マーカーであることが明らかにされた。さらに日本人の呼気 NO 濃度正常値、喘息補助診断のためのカットオフ値、喘息管理不良症例を検出するためのカットオフ値が算出され、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。また呼気凝縮液中の IL-4、RANTES および IP-10 は喘息患者におけるステロイド反応性の予測に臨床応用できる可能性が示された。呼気凝縮液については含有される蛋白濃度が微量であり、測定や補正の方法に関するさらなる検討が必要である。

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明確にする必要がある。

本研究は、非侵襲的な呼気ガスや呼気凝縮液を用いた気道炎症評価を、現在行われている症状評価や肺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。呼気 NO 濃度については、①呼気 NO 濃度測定機器の妥当性の検証、②日本人の呼気 NO 濃度の正常値、③呼気 NO 濃度と喘息症状スコア、呼吸機能との関連、④喘息の補助診断における呼気 NO 濃度のカットオフ値、⑤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、⑥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、について検討した。

さらに呼気凝縮液については、⑦呼気凝縮液を用いた喘息治療応性の予測因子の検索、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。

### ① 呼気 NO 濃度測定機器の妥当性の検証

呼気 NO 濃度測定は国際的な推奨法に基づいて施行した。20 名の同一患者の呼気 NO 濃度を化学発光式測定装置と電子化学反応式ポータブル測定装置で測定し、両測定値を比較検討した。

### ② 日本人の呼気 NO 濃度正常値

アトピーの既往がなく、喫煙中でない成人健常者 240 名を対象に呼気 NO 濃度測定および人口統計学的データ(年齢、性別、身長、体重、喫煙歴)を調査し、健常者における呼気 NO 濃度の参照範囲を算出した。さらに参照範囲の変動要因として人口統計学データとの関連性を検討した。

### ③ 喘息患者における呼気 NO 濃度と症状スコア、呼吸機能との関連性の検討

喘息患者 102 名を対象に、喘息症状の評価指標である Asthma control test (ACT)、スパイロメトリー、ピークフロー測定、呼気 NO 測定を行い、喘息症状、閉塞性障害および気道過敏性と呼気 NO 濃度との関連性について検討した。

### ④ 喘息の補助診断における呼気 NO のカットオフ値

142 名の未治療喘息患者と 224 名の健常者を対象に呼気 NO を標準法に基づき測定した。多変量解析により呼気 NO 測定値に有意な影響を与える因子を同定し、背景因子を加味した喘息診断における呼気 NO カットオフ値を算出した。

### ⑤ 標準的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

標準的治療を行っている喘息患者 244 名を対象に、ACT、スパイロメトリー、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。

### ⑥ 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

ガイドラインに基づいた標準的な喘息治療を行っていても呼気 NO 濃度が 40ppb 以上で遷延している患者 13 例に対し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

### ⑦ 呼気凝縮液を用いた喘息治療応性の予測因子の検索

吸入ステロイドの導入前後で、スパイロメトリー、気道過敏性測定、呼気凝縮液採取を行い、ステロイド治療による閉塞性障害および気道過敏性の改善を予測するのに有用な呼気凝縮液中の炎症関連物質を Protein array 法および Cytometric beads array 法を用い検索した。

#### (倫理面への配慮)

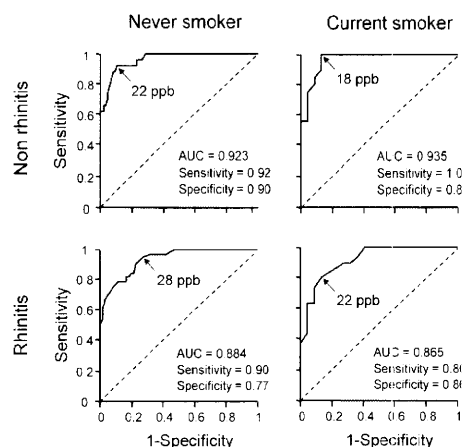
検査内容、得られる結果、予測される危険性の項目について文書で説明の上、同意を取得した患者のみ対象とした。またデータは部外者が接触できないよう厳重に管理した。加えて参加者の氏名等、本人が確認できるような形の公表は行わないよう配慮した。

## C. 結果

① 化学発光式測定器で測定した呼気 NO 値はポータブル測定器の測定値と有意な相関を認めた( $r=0.925$ ,  $p<0.0001$ )。化学発光式測定器の測定値に対するポータブル測定器の測定値の回帰係数は 1.38 で、呼気 NO が高くなるにつれポータブル測定器の測定値が化学発光式測定器の測定値より高くなる傾向であった。

② 成人健常者の呼気 NO 参照範囲は国際標準法にもとづ

き、①データ分布の左右両裾の 2.5%を除いた範囲(95% prediction interval)と②データを正規分布に変換して Mean±2SD を算出して逆変換する、二つの方法で設定した。呼気 NO の算術平均値は 16.9ppb で 95% prediction interval は 6.5, 35.0ppb であった。また対数変換することで正規性が確認された呼気 NO の幾何平均値は 15.4ppb で Mean±2SD は 6.5, 36.8ppb であった。対数変換した呼気 NO を応答変数、人口統計学データを説明変数とした回帰樹木モデルにおいて呼気 NO に影響を与える因子は同定されなかった。



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

#### 日本人の成人における呼気 NO 濃度の正常値と参照範囲

対象	Geometric mean (SD)	90% 信頼区間	Mean±2SD*
全症例	15.44 (1.54)	14.75, 16.17	6.49, 36.76
女性	14.64 (1.59)	13.69, 15.66	5.79, 37.04
男性	16.46 (1.47)	15.48, 17.51	7.60, 35.68
非喫煙者	15.34 (1.56)	14.55, 16.17	6.27, 37.57
既喫煙者	15.91 (1.44)	14.49, 17.48	7.67, 33.02

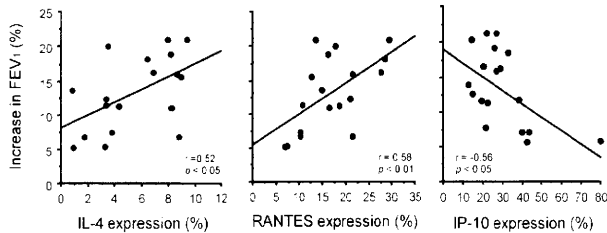
\*対数変換した呼気NO濃度±2×対数変換した呼気NO濃度の標準偏差、を逆変換した値  
Geometric mean = 幾何平均値、SD = 標準偏差

- ③ 喘息患者の呼気 NO 濃度は喘息症状および閉塞性障害や気道過敏性の程度と相関した。対象 102 例中、88 例(86%)は ACT スコアではコントロール良好と判定されたが、そのうち 50 例(56%)は、呼気 NO 濃度が 40ppb 以上を呈していた。呼気 NO が 40ppb 以上である症例にステロイド増量を行なったところ、閉塞性障害や気道過敏性を呈する症例の 70%で改善を認めた。
- ④ 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 群に分け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。

- ⑤ 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。標準的な喘息治療にも関わらず呼気NOが40ppb以上の高値で遷延することに有意に影響する因子として喫煙の既往と副鼻腔炎合併が同定された。
- ⑥ 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。
- ⑦ 喘息患者の呼気凝縮液にて発現が亢進していたメディエーターの中で、IL-4, RANTES, MIP-1α, MIP-1β, IL-8およびIL-17はステロイド治療により有意に発現が抑制されたが、TNF-α, IP-10およびTGF-βは治療に対し抵抗性を示した。ステロイドによる閉塞性障害の



改善程度は、ステロイド治療前のIL-4、RANTES発現レベルと正の相関を、IP-10発現レベルと負の相関を示した。さらにIL-4、RANTESとIP-10の発現レベル比は閉塞性障害の改善とより良好に相関した。



ステロイド治療前の呼気凝縮液中 IL-4、RANTES、IP-10 の発現レベルと治療による一秒量の改善程度との関連性

#### D. 考察

本研究で、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であり、一般臨床応用が可能な気道炎症マーカーであることが明らかにされた。

呼気 NO 濃度測定の妥当性の検証において、化学発光式測定装置により測定した呼気 NO 値は、FDA 認可済みの電子化学式ポータブル測定装置の測定値と良好に相関し、両機種とも臨床応用に耐え得ると考えられた。ただし電子化学式ポータブル測定装置では化学発光式測定装置により正確に測定された呼気 NO 値よりやや高めに値が出る傾向があり注意が必要である。日本人の成人健常者の呼気 NO 濃度は平均で約 15ppb、正常上限値は約 37ppb と算出された。この呼気 NO 濃度は従来報告されてきた白人成人健常者の値とほぼ同水準であり、呼気 NO 測定において人種差の影響は無視し得ると考えられた。呼気 NO 濃度の有用性については、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。喘息補助診断における呼気 NO 濃度のカットオフ値は症例全体では 22ppb と算出された

が、喫煙中で鼻炎のない場合の 18ppb から喫煙なく鼻炎がある場合の 28ppb まで背景因子による変動が認められた。さらに呼気 NO 濃度は喘息患者の閉塞性障害や気道過敏性に関連し、呼吸機能異常の検出に適した指標であることが示された。症状スコアでは喘息コントロール良好と判定される症例の約 50%において呼気 NO が高い水準を示すことが明らかとなり、症状評価で過小評価した患者を呼気 NO 測定で検出し、より良好な治療状態に導くことが可能と考えられた。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。しかし経ロ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明らかにされた。本研究により、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。

呼気凝縮液中の IL-4、RANTES および IP-10 は喘息患者におけるステロイド反応性の予測に臨床応用できる可能性が示された。呼気凝縮液については含有される蛋白濃度が微量であるため、測定や補正の方法に関するさらなる基礎的検討が必要と考えられた。

#### F.健康危険情報

なし

#### G.研究発表

1. 論文発表

英文論文

1. Minakata Y, Sugiura H, Yamagata T, Yanagisawa S, Ichikawa T, Koarai A, Akamatsu K, Hirano H, Matsunaga K, **Ichinose M**: Prevalence of COPD in Primary Care Clinics: Correlation with Non-Respiratory Diseases. *Intern Med* 47: 77-82, 2008
2. Minakata Y, Iijima H, Takahashi T, Miura M, Ogawa H, Kimura K, Koga T, Kinoshita M, Tsuda T, Aizawa H, **Ichinose M**: Efficacy and Safety Formoterol in Japanese Patients with COPD. *Intern Med* 47: 217-223, 2008
3. Kawayama T, Minakata Y, Matsunaga K, Yamagata T, Tsuda T, Kinoshita M, Iwanaga T, **Ichinose M**, Aizawa H: Validation of symptom-based COPD questionnaires in Japanese subjects. *Respirology* 13: 420-426, 2008
4. Yamagata T, Hirano T, Sugiura H, Yanagisawa S, Ichikawa T, Ueshima K, Akamatsu K, Nakanishi M, Matsunaga K, Minakata Y, **Ichinose M**: Comparison of bronchodilatory properties of transdermal and inhaled long-acting  $\beta_2$ -agonists. *Pulm Pharmacol Ther* 21: 160-165, 2008
5. Matsunaga K, Kanda M, Hayata A, Yanagisawa S, Ichikawa T, Akamatsu K, Koarai A, Hirano T, Sugiura H, Minakata Y, **Ichinose M**: 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
6. Sugiura H, **Ichinose M**: Oxidative and nitrative stress in bronchial asthma. *Antioxid Redox Signal* 10: 785-798, 2008
7. Sugiura H, Komaki Y, Koarai A, **Ichinose M**: Nitrative stress in refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 121: 355-360, 2008
8. Togo S, Holz O, Liu X, Sugiura H, Kamio K, Wang X, Kawasaki S, Ahn Y, Fredriksson K, Skold CM, Mueller KC, Branscheid D, Welker L, Watz H, Magnussen H, Rennard SI: Lung fibroblast repair functions in patients with chronic obstructive pulmonary disease are altered by multiple mechanisms. *Am J Respir Crit Care Med* 178:248-260, 2008
9. Kamio K, Sato T, Liu X, Sugiura H, Togo S, Kobayashi T, Kawasaki S, Wang X, Mao L, Ahn Y, Holz O, Magnussen H, Rennard SI: Prostacyclin analogs stimulate VEGF production from human lung fibroblasts in culture. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 294: 1226-1232, 2008
10. Akamatsu K, Yamagata T, Kida Y, Tanaka H, Ueda H, **Ichinose M**: Poor Sensitivity of Symptoms in Early Detection of COPD. *Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* 5: 269-283, 2008
11. Ichikawa T, Sugiura H, Koarai A, Yanagisawa S, Kanda M, Hayata A, Furukawa K, Akamatsu K, Hirano T, Nakanishi M, Matsunaga K, Minakata Y, **Ichinose M**: Peroxynitrite augments fibroblast-mediated tissue remodeling via myofibroblast differentiation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 295: 800-808, 2008
12. Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, Akamatsu K, Koarai A, Hirano T, Sugiura H, Minakata Y, **Ichinose M**: Molecular

- Mechanism of the Additive Effects of Leukotriene Modifier in Asthmatic Patients Receiving Steroid Therapy. *Allergol Int* 58: 89-96, 2009
13. Yanagisawa S, Sugiura H, Yokoyama T, Yamagata T, Ichikawa T, Akamatsu K, Koarai A, Hirano T, Nakanishi M, Matsunaga K, Minakata Y, **Ichinose M**: The possible role of hematopoietic cell kinase in the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 135: 94-101, 2009
  14. Nagaoka M, Nara M, Tamada T, Kume H, Oguma T, Kikuchi T, Zaini J, Moriya T, **Ichinose M**, Tamura G, Hattori T: Regulation of adenosine 5'-triphosphate (ATP)-gated P2X<sub>4</sub> receptors on tracheal smooth muscle cells. *Respir Physiol Neurobiol* 166: 61-67, 2009.
  15. Sugiura H, Ichikawa T, Koarai A, Yanagisawa S, Minakata Y, Matsunaga K, Hirano T, Akamatsu K, **Ichinose M**: Activation of Toll-Like Receptor 3 Augments Myofibroblast Differentiation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 40: 654-662, 2009
  16. **Ichinose M**: Differences of Inflammatory Mechanisms in Asthma and COPD. *Allergol Int* 58: 307-313, 2009
  17. Yanagisawa S, Koarai A, Sugiura H, Ichikawa T, Kanda M, Tanaka R, Akamatsu K, Hirano T, Matsunaga K, Minakata Y, **Ichinose M**: Oxidative stress augments toll-like receptor 8 mediated neutrophilic responses in healthy subjects. *Respir Res* 10: 50, 2009
  18. Togo S, Liu X, Wang X, Sugiura H, Kamio K, Kawasaki S, Kobayashi T, Ertl RF, Ahn Y, Holz O, Magnussen H, Fredriksson K, Skold CM, Rennard SI. The PDE4 inhibitors roflumilast and rolipram augment PGE<sub>2</sub> inhibition of TGF- $\beta$ <sub>1</sub> stimulated fibroblasts. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 296: L959-69, 2009
  19. Sugiura H, Liu X, Ichikawa T, **Ichinose M**, Rennard SI: 3-Nitrotyrosine inhibits fibroblast-mediated collagen gel contraction and chemotaxis. *Eur Respir J* 34: 1452-1460, 2009
  20. Matsunaga K, Ichikawa T, Yanagisawa S, Akamatsu K, Koarai A, Hirano T, Sugiura H, Minakata Y, **Ichinose M**, Clinical Application of Exhaled Breath Condensate Analysis in Asthma: Prediction of FEV<sub>1</sub> Improvement by Steroid Therapy. *Respiration* 78: 393-398, 2009
  21. Yamagata T, Yamagata Y, Nishimoto T, Hirano T, Nakanishi M, Minakata Y, **Ichinose M**, Dagenais A, Berthiaume Y: The regulation of amiloride-sensitive epithelial sodium channels by tumor necrosis factor-alpha in injured lungs and alveolar type II cells. *Respir Physiol Neurobiol.* 166(1): 16-23, 2009
  22. Sugiura H, Ichikawa T, Liu X, Kobayashi T, Wang XQ, Kawasaki S, Togo S, Kamio K, Mao L, Ann Y, **Ichinose M**, Rennard SI: N-acetyl-L-cysteine inhibits TGF- $\beta$ <sub>1</sub>-induced profibrotic responses in fibroblasts. *Pulm Pharma Ther* 22: 487-491, 2009
  23. 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
24. 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
  25. 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
  26. 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
  27. 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**: 気道の反応性との関係. 宮本昭正, 小林節雄, 中島重徳 編集, 喘息の増悪化とその対応. ライフサイエンス出版, p45-p52, 2008
  2. **一ノ瀬正和**: 薬物療法. 江藤文夫, 上月正博, 植木純, 牧田 茂 編集, 呼吸・循環障害のリハビリテーション. 医歯薬出版, p76-p79, 2008
  3. 南方良章: 呼気ガス分析(NO, CO, CO<sub>2</sub>), 呼気凝縮液. 日本呼吸器学会肺生理専門委員会 編集, 臨床呼吸機能検査 第7版. メディカルレビュー社, p213-p221, 2008
  4. 平野綱彦, **一ノ瀬正和**: COPD の病因と病態. 桑平一郎 編著, COPD ハンドブック. 中外医学社, p8-p15, 2008
  5. 工藤翔二, 永井厚志, **一ノ瀬正和** 編集: 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p1-p335, 2008
  6. **一ノ瀬正和**: 今日の COPD の定義. 工藤翔二 監修, 永井厚志, **一ノ瀬正和** 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p6-p8, 2008
  7. **一ノ瀬正和**: COPD 発症と炎症. 工藤翔二 監修, 永井厚志, **一ノ瀬正和** 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p40-p43, 2008
  8. 杉浦久敏: 酸化窒素化ストレス. 工藤翔二 監修, 永井厚志, **一ノ瀬正和** 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p44-p45, 2008
  9. **一ノ瀬正和**: COPD と喘息の合併. 工藤翔二 監修, 永井厚志, **一ノ瀬正和** 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p92-p93, 2008
  10. 杉浦久敏: 喀痰検査. 工藤翔二 監修, 永井厚志, **一ノ瀬正和** 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p146-p150, 2008
  11. **一ノ瀬正和**: 増悪の減少. 工藤翔二 監修, 永井厚志, **一ノ瀬正和** 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p173-p174, 2008
  12. 柳澤 悟, **一ノ瀬正和**: COPD 患者の死亡を取り巻く状況. 工藤翔二 監修, 永井厚志, **一ノ瀬正和** 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p175-p177, 2008
  13. **一ノ瀬正和**: 安定期 COPD の薬物療法の原則. 工藤

- 翔二 監修, 永井厚志, 一ノ瀬正和 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p185-p187, 2008
14. 小荒井晃, 一ノ瀬正和: 長時間作用型抗コリン薬. 工藤翔二 監修, 永井厚志, 一ノ瀬正和 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p195-p199, 2008
  15. 杉浦久敏, 一ノ瀬正和: テオフィリン薬. 工藤翔二 監修, 永井厚志, 一ノ瀬正和 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p204-p205, 2008
  16. 杉浦久敏, 一ノ瀬正和: テオフィリン薬の抗炎症作用. 工藤翔二 監修, 永井厚志, 一ノ瀬正和 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p208, 2008
  17. 杉浦久敏, 一ノ瀬正和: COPD の新しい治療薬の展望. 工藤翔二 監修, 永井厚志, 一ノ瀬正和 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p209-p211, 2008
  18. 市川朋宏, 一ノ瀬正和: 吸入ステロイド. 工藤翔二 監修, 永井厚志, 一ノ瀬正和 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p214-p217, 2008
  19. 市川朋宏, 一ノ瀬正和: LABA との配合剤. 工藤翔二 監修, 永井厚志, 一ノ瀬正和 編集, 呼吸器 common disease の診療 COPD のすべて. 文光堂, p218-p219, 2008
  20. 杉浦久敏, 一ノ瀬正和: 活性窒素と炎症性呼吸器疾患. 工藤翔二, 土屋了介, 金澤 実, 大田 健 編集, Annual Review 呼吸器. 中外医学社, p17-p25, 2008
  21. 小川浩正, 一ノ瀬正和: COPD の呼吸困難感とエアートラッピング. 工藤翔二, 土屋了介, 金澤 実, 大田 健 編集, Annual Review 呼吸器. 中外医学社, p70-p82, 2008
  22. 一ノ瀬正和: 気道過敏性検査. 工藤翔二 監修, 相澤久道, 大田 健, 川崎一輝, 弦間昭彦, 酒井文和, 中田絃一郎, 永武 毅, 貫和敏博 編集, 呼吸器疾患診療マニュアル. 日本医師会, p138-p139, 2008
  23. 杉浦久敏, 一ノ瀬正和: 最近話題の特殊検査. 工藤翔二 監修, 相澤久道, 大田 健, 川崎一輝, 弦間昭彦, 酒井文和, 中田絃一郎, 永武 毅, 貫和敏博 編集, 呼吸器疾患診療マニュアル. 日本医師会, p160-p161, 2008
  24. 市川朋宏, 一ノ瀬正和: COPD. 高橋敬治監修, 薬物吸入療法研究会編集, 21 世紀の吸入療法. 仙台気道研究所, p163-p175, 2008
  25. 南方良章: 喫煙, ガス, 無機粉塵による気道炎症-メカニズムから考える-. THE LUNG perspectives16: 25-31, 2008
  26. 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 perspectives16: 80-85, 2008
  27. 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
  28. 小荒井晃, 一ノ瀬正和: 喘息治療における抗コリン薬の作用機序とその位置づけ. 分子呼吸器病 12: 25-30, 2008
  29. 一ノ瀬正和: COPD の病態に応じた薬物療法. Current Therapy 26: 14-18, 2008
  30. 一ノ瀬正和: シクレソニド. 呼吸 27: 164-168, 2008
  31. 一ノ瀬正和: Pulmonary biomarkers in COPD を聴いて. COPD Frontier 7: 38-42, 2008
  32. 一ノ瀬正和: COPD 治療の新展開-症状改善から疾患修飾へ-. 内科 101: 202-207, 2008
  33. 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



34. 一ノ瀬正和: 気管支喘息と COPD の鑑別診断と治療. 内科医誌(福岡市内科医会) 132: 2-3, 2008
35. 一ノ瀬正和, 一和多俊男, 桑平一郎, 三浦元彦: COPD の併存症とその対策 (座談会). 呼吸 27: 446-453, 2008
36. 一ノ瀬正和: 抗コリン薬. 薬局 59: 24-27, 2008
37. 一ノ瀬正和: 重症喘息は気道平滑筋の疾患か? IgE practice in asthma 2: 18-19, 2008
38. 一ノ瀬正和: 重症喘息の表現型解析の改善に向けて. IgE practice in asthma 2: 20-21, 2008
39. 一ノ瀬正和: コントロール困難な喘息の評価と管理. IgE practice in asthma 2: 22-24, 2008
40. 平野綱彦, 一ノ瀬正和: 血液検査, 喀痰検査, 呼気ガス検査. 診断と治療 96: 1067-1072, 2008
41. 一ノ瀬正和: 呼吸機能検査. 日本内科学会雑誌 97: 1206-1213, 2008
42. 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
43. 一ノ瀬正和: ATS2008. 呼吸 27: 843-844, 2008
44. 南方良章: COPD、気管支喘息における抗コリン薬、 $\beta_2$ -刺激薬の使用法の類似点・相違点. COPD Frontier 7: 20-21, 2008
45. 南方良章, 一ノ瀬正和: 治療による“肺年齢”の取り戻し-COPD における 1 秒量の改善-. 日胸 67: 849-859, 2008
46. 一ノ瀬正和: COPD(慢性閉塞性肺疾患)診断と治療のためのガイドライン第 2 版(2004). 診断と治療 196: 165-170, 2008
47. 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
48. 南方良章: COPD の急性増悪と治療. 日本医事新報 4409: 57-62, 2008
49. 一ノ瀬正和: 気管支喘息. 呼吸 27: 965-972, 2008
50. 一ノ瀬正和: 気道病態の評価. 喘息 21: 46-51, 2008
51. 一ノ瀬正和: 重症喘息研究プログラム: 重症喘息とは? IgE practice in asthma 2: 21-23, 2008
52. 一ノ瀬正和: 重症喘息における重要な問題点. IgE practice in asthma 2: 24-25, 2008
53. 松永和人: 大気汚染への対策とは? Q&A でわかるアレルギー疾患 4: 498-500, 2008
54. 市川朋宏, 一ノ瀬正和: Mendelson 症候群(acid aspiration pneumonia). 呼吸器症候群(第 2 版) I: 282-284, 2008
55. 一ノ瀬正和: 呼気 NO・呼気凝縮液分析. 日胸 67: 104-108, 2008
56. 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
57. 一ノ瀬正和: COPD 治療薬のすべて. Medical Practice 25: 2049-2053, 2008
58. 一ノ瀬正和: COPD 安定期の治療. Pharma Medica 26: 41-45, 2008
59. 一ノ瀬正和: ERS2008. 呼吸 27: 1207-1209, 2008
60. 一ノ瀬正和: 本邦における喘息コントロールおよび治療の現況~喘息患者を対象としたインターネット調査~. 医薬ジャーナル 44: 119-129, 2008
61. 井上博雅, 相澤久道, 石坂彰敏, 一ノ瀬正和, 植木純, 大田健, 大森久光, 小川浩正, 金澤實, 川山智隆, 黒澤一, 小林弘祐, 榊原博樹, 玉置淳, 陳和夫, 梅博久, 南須原康行, 飛田渉, 藤本圭作, 南方良章, 工藤翔二: 生活習慣病対策における COPD の重要性 -「特定健康診査・特定保健指導」への提言-. 日呼吸会誌 46: 583-591, 2008
62. 一ノ瀬正和, 三嶋理晃, 増子寿久, 永井厚志: COPD 患者におけるサルメテロールからサルメテロール/フルチカゾンプロピオン酸エステル配合剤(SFC)への切り替えによる有効性と安全性の臨床的検討. 呼吸 27:

- 1091-1099, 2008
63. 三嶋理晃, 一ノ瀬正和, 増子寿久, 永井厚志: COPD 患者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)の長期投与試験. 呼吸 27: 1179-1191, 2008
64. 一ノ瀬正和: GOLD からみた増悪の捉え方. INFECTION FILE 25: 9-10, 2008
65. 杉浦久敏, 一ノ瀬正和: NITRATIVE STRESS TIED TO REFRACTORY ASTHMA. ATS NEWS 34: 4, 2008
66. 一ノ瀬正和: 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) SFC(salmeterol/fluticasone 配合薬)への期待. MEDICAMENT NEWS 第 1958 号: 13-15, 2008
67. 一ノ瀬正和: COPD 治療を変える新しいエビデンス! 日経 CME 11 月号: 2-3, 2008
68. 松永和人, 一ノ瀬正和: 和歌山県立医科大学内科学 第三講座のアレルギー診療と研修内容. IgE practice in asthma 2: 29-31, 2008
69. 一ノ瀬正和: 内科領域 現在. JOURNAL OF CLINICAL RESPIRATORY PHYSIOLOGY 40: 16-17, 2008
70. 一ノ瀬正和: 気管支喘息と慢性閉塞性肺疾患 (COPD)の相違点: 病態・治療. PTM 最新の疾患別治療マニュアル 12 月号: 2 (2), 2008
71. 一ノ瀬正和: COPD との判別に優れる呼気 NO 測定. Japan Medicine 1345: 23, 2008
72. 平野綱彦, 功力亜美, 一ノ瀬正和: 新高速応答呼気一酸化窒素測定機器 NA-623N と NIOX-MINO との比較. 呼吸 28(7): 753-758, 2009
73. 藤野文崇, 南方良章, 小荒井晃, 赤松啓一郎, 一ノ瀬正和: COPD 患者における運動耐容能と薬剤による改善効果の規定因子に対する検討. 呼吸 28: 653-661, 2009
74. 田中里江, 平野綱彦, 一ノ瀬正和: 気管支喘息における気道炎症マーカー. 医療ジャーナル 45: 77-81, 2009
75. 一ノ瀬正和: バイオマーカー. 森川昭廣, 足立 満, 秋山一男, 大田 健, 東田有智 編集, 難治性喘息をめぐって. ライフサイエンス出版, p44-p49, 2009
76. 南方良章: 6 身体所見 チアノーゼはなぜ起こるのでしょうか?. 現場の疑問に答える呼吸リハビリ徹底攻略 Q&A. 塩谷隆信、高橋仁美編, 中外医学社, p27-p28, 2009
77. 南方良章: 6 身体所見 聴診によって、痰のある場所を肺区域まで固定したいのですが、可能でしょうか? 現場の疑問に答える呼吸リハビリ徹底攻略 Q&A. 塩谷隆信、高橋仁美編, 中外医学社, p29-p30, 2009
78. 松永和人, 一ノ瀬正和: 喘息治療管理のモニタリング法の今後の見通しは? EBM アレルギー疾患の治療 2010-2011. 中外医学社 p69-p73, 2009
79. 松永和人, 一ノ瀬正和: 高齢者における喘息管理の問題点と留意点. International Review of Asthma 11(2): 34-41, 2009
80. 足立 満, 松永和人, 一ノ瀬正和: 本邦における高齢者喘息の現況と課題. アレルギー・免疫 16: 110-121, 2009
81. 松永和人, 一ノ瀬正和: 吸入療法の指導方法. 呼と循 57: 71-77, 2009
82. 一ノ瀬正和: 気道炎症とリモデリング. Prog.Med. 29: 45-49, 2009
83. 小荒井晃, 杉浦久敏: 増悪からの回復期の喘息治療. 呼と循 57: 169-174, 2009
84. 一ノ瀬正和: 新規作用機序の喘息治療薬登場にあたって. IgE practice in asthma 2: 1, 2009
85. 一ノ瀬正和, Peter J. Barnes, 秋山一男: 病態生理学の最新の知見に基づいた重症喘息の管理-抗 IgE 抗体製剤の位置づけを含めて-. IgE practice in asthma