

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—

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 粒来 崇博

平成23 (2011) 年 3月

目 次

I. 総括研究報告

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—  
粒来 崇博 ----- 1

II. 分担研究報告書

1. CEIS 法の検討

佐藤 俊 ----- 7

2. EIA 検出における FeNO オフライン法の有用性

熱田 了 ----- 11

3. オフライン法とアンケート調査を組み合わせた喘息有症率調査および  
難治性喘息患者に対する高用量白血球除去療法の有効性の検討

石塚 全 ----- 15

4. 呼吸抵抗およびリアクタンスとの関連, Alveolar NO 測定の意義 (治療による変化,  
肺癌患者への応用)

白井 敏博 ----- 19

5. 専門施設およびかかりつけ医での遠隔地測定、携帯型測定器との比較

粒来 崇博 ----- 22

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 26

## 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—

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。

今年度は最終年度として、本研究班における最終的な目的である「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」を立証するため、かかりつけ医における測定を実際に行い、症例を集積し喘息診療における有用性を検討した。関連施設より計 892 症例が集積された。気管支喘息 (未治療/治療中)、非喘息性慢性咳嗽、健常者の 4 群に分類し検討したところ、喘息患者群は非喘息に比較し有意に高値であり ( $p < 0.001$ )、未治療喘息の検出カットオフは 39.5 ppb と算定された。この結果は院内で測定した結果とほぼ一致しており、当研究班の提唱するオフライン法で回収→冷蔵搬送→中核施設で測定という方法論は妥当な測定値を検出し十分実用可能であると証明された。また、萌芽的研究として大学生の健康診断に平行して測定したところ、ECRHS 質問表により検出された気管支喘息症例の呼気 NO は高値であった。また、近年登場した携帯型測定器の測定値と比較、ある程度の互換性を認めた。本研究班の目的としては十分達成されたが、今後臨床応用に向けていくつかの解決すべき課題、より FeNO を活用できる分野を見出した。

#### 研究分担者

熱田 了 (順天堂大学医学部呼吸器内科 准教授)

石塚 全 (群馬大学医学系研究科 (呼吸器・アレルギー内科) 講師)

佐藤 俊 (福島県立医科大学医学部呼吸器内科助教)

白井 敏博 (静岡県立総合病院呼吸器科 医長)

#### 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模索している。本研究は三年計画であるため、三年間で以下の課題について検討する予定としている。

第一に、方法論の妥当性について、ばらつき、標準的オンライン法との比較を検証する(齋藤、粒来)。第二に気道過敏性検査は気管支喘息病態評価の方法として有用であるが、行える施設に限られるため、eNO である程度の予測ができないか検証する(粒来)。

第三に、気管支喘息の発作を誘発する原因について、抗原による変化は2007年粒来が報告したが、運動誘発性喘息の発作については不明であるため検証する(熱田)。

第四に、臨床において気管支喘息と鑑別を要する閉塞性呼吸障害を呈する疾患は COPD であるが、COPD との鑑別における有用性を検証する(熱田、白井、齋藤)。

第五に、プライマリーケア医における喘息評価を簡便にするため Asthma Control Test (ACT) が期待されているので、ACT との比較もを行い有用性の検証をする(白井、齋藤)。

第六に、気管支喘息の中で難治性喘息と呼ばれるガイドラインの治療で改善しきれない症例群が存在

する。少数ながら、救急外来に頻繁に受診、入院を繰り返し気管支喘息治療の医療費高騰の大きな要因になる。好中球性炎症の併発がこうした難治化につながると考えられる。この症例群における研究段階の治療法として、潰瘍性大腸炎や関節リウマチ治療に行われている好中球除去療法の応用が期待されている。治療適応や治療効果の判定を慎重にする必要があるが、これにおける NO の有用性を検討する(石塚)。これらについては各施設随時協力し行っていく。また、同時期にバッグ運搬時の時間、気温、振動などによる影響についていくつかの条件を比較検討し、最適な運搬条件を設定する。

過去二年間において、初年度は1)オフライン法方法論の検討 2)気管支喘息診断のカットオフ値設定 3)遠隔地測定の実際の条件設定および実際の測定 4)気道過敏性との比較 5)喘息診療における Alveolar NO 測定の意義 6)COPD の診療における FeNO 測定の意義 7)アスリートの運動誘発性喘息検出における FeNO の意義、次年度は1)方法論に用いた機材の耐久性と侵襲性の評価、より有用性を高める工夫、2) FeNO 高値で吸入ステロイドを投与するとしたときの妥当性と評価上注意すべき点、3)慢性咳嗽診断における有用性、4)治療経過における FeNO の変化、5)気道過敏性の治療による変化と FeNO、6) ACT (asthma control test) との比較評価、7)遠隔測定の実際、8)アスリートの喘息自然寛解症例調査への応用の可能性、9)重症喘息における LCAP 療法、10) COPD における FeNO 値と末梢血 T 細胞サブセットとの関連について検討し、方法論を確立し遠隔地測定に必要な条件設定、FeNO の妥当性について検討ができた。また、喘息を取り巻く状況について FeNO の役割について評価しえた。

そこで、本年度は最終年度として本研究班における最終的な目的である「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」を立証するため、かかりつけ医における測定を実際に行い、症例を集積し喘息診療における有用性を検討した。

## B. 方法

以下の 検討を行った。

### 1) 遠隔測定の実際(佐藤、石塚、熱田、白井、粒来)

院外の研究協力施設 12 施設において呼気回収し搬送、FeNO の測定値が院内のものと同かどうかを調査した。

### 2) CEIS 法の改良法の検証、かかりつけ医での FeNO 測定濃度の妥当性 (佐藤)

福島市内の呼吸器科を標榜する診療所において遷延性咳嗽もしくは慢性咳嗽を主訴に受診した患者に対して、Offline 法による FeNO 測定(CEIS 法、死腔分 washout 時間 5 秒間で測定)を 2 回、NIOX-MINO®による FeNO 測定を 1 回施行した。FeNO 測定における、Offline(CEIS)法における死腔分 washout 時間 5 秒の妥当性の検討、Offline 法と Online 法(携帯型 NO 測定器)による測定値の相関や差異についての検討、そして最終的な臨床診断(喘息性疾患と非喘息性疾患)と FeNO 値の関係について検討した。

### 3) 健康診断におけるビタミン D 測定と FeNO (佐藤)

平成 14 年 11 月に小学 5・6 年生に対して行われた疫学調査の際に採取され、当科にて冷凍保存されていた血清を用いて、体内のビタミン D 貯蔵量の指標である、25-hydroxycholecalciferol [25(OH)D] 濃度を測定し、平成 14 年の調査時に施行された Online 法による FeNO 値との関係の有無、反復する喘鳴を自覚していた群と健常群における 25(OH)D 濃度の差異、アトピーとの関係の有無について検討した。

4) 大学生検診における FeNO 測定と喘息検出効果(石塚) 喘息有症率調査について文書による同意の得られた 640 名の群馬大学学生(男性 266 名、女性 318 名、平均年齢 20.4 歳)を対象として ECRHS 調査用紙日本語版によるアンケート調査と CEIS 法による FENO 測定を実施し、回答結果と FENO をもとに、大学生の過去 1 年間における喘息の期間有症率を検討した。

5) モストグラフを用いた呼気抵抗、リアクタンスとの比較(白井) 46 例の成人喘息患者を対象として、オフライン法による FeNO 値とモストグラフを用いた呼吸抵抗およびリアクタンスとの相関について検討した。

6) AlveolarNO の治療による変化(白井) 吸入ステロイドのみではトータルコントロールの得られない成人喘息患者 21 例を対象に、抗ロイコトリエン受容体拮抗薬プラナルカストの追加投与前後の Alveolar NO 値の推移について検討した。

7) AlveolarNO と肺がん、EGFR 遺伝子の関連(白井) 肺癌患者 10 例を対象に Alveolar NO を測定するパイロットスタディを行った。

### 8) 一般住民における喘息の Outgrow 症例の抽出(熱田)

順天堂大学学生及び公募によるボランティア計 232 名について問診、呼吸機能、FeNO を測定した。

### 9) オフライン法と携帯型測定器の比較 (粒来)

ポータブル NO 測定器(NIOXmino)とオフライン 2 法について 39 症例で同時測定し比較した。

10) 難治性喘息患者に対する白血球除去療法の試み(石塚) 難治性喘息を対象として高用量の白血球除去用カラム(セルソーバ®CS-180S、旭化成クラレメディカル社製)を用いた血液体外循環による pulse LCAP を施行した(現在も登録、実施中)。1 週間隔で計 2 回の pulse LCAP を 1 回の血液処理量と

して5Lを目安に行い、抗凝固剤には原則としてヘパリンを用いた。

(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[cmH<sub>2</sub>O]、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[cmH<sub>2</sub>O]、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。COPD調査、Alveolar NOについては、オンライン法で評価した。気道過敏性検査は、相模原病院ではアセチルコリン(Ach)に対する過敏性を標準法で評価し、PC<sub>20</sub>を指標とした。順天堂大学ではアストグラフ法を用いた。

### C. 結果

1) 遠隔測定の実際(佐藤、石塚、熱田、白井、粒来)

院外の研究協力施設12施設において892例を集積した。

気管支喘息(未治療/治療中)、非喘息性慢性咳嗽、健常者の4群に分類し検討したところ、喘息患者群は非喘息に比較し有意に高値であり(p<0.001)、未治療喘息の検出カットオフは39.5ppbと算定された。

2) CEIS法の改良法の検証、かかりつけ医でのFeNO測定濃度の妥当性(佐藤)49人(女性35人、年齢42.7±17.0歳)について検討された。Offline法の測定値については、1回目と2回目の測定値は強い相関関係を認めた(r=0.980, p<0.001)。またOffline法の測定値を1回目と2回目の平均値とし、Online法の測定値と比較すると両値は有意な正の相関を認めた(r=0.731, p<0.001)。Offline法に

おける検体採集と測定までの日数は、(平均±SD)2.49±1.97(0-8)(日)でOffline法の2測定値の%Devは検体採集から測定までの日数と関連を認めなかった(r=-0.014, p=0.927)。同様にOffline法とOnline法の測定値間の%Devについても、この期間と関連を認めなかった(r=-0.037, p=0.799)。

最終診断を喘息性疾患(n=28)、非喘息性疾患(n=21)に分けて、FeNO値を比較したところOffline法、Online法ともに、喘息性疾患が非喘息性疾患と比較して有意に高値を示した(Offline法:喘息性疾患96.4±90.0ppb、非喘息性疾患48.2±46.8ppb; p=0.030, Online法:57.4±47.1ppb, 27.1±23.1ppb; p=0.005)。

3) 健康診断におけるビタミンD測定とFeNO(佐藤)

平成14年に採取した小学5・6年生235人(女性119人)の保存血清中25(OH)D濃度は(Mean±SD)24.0±8.9ng/mlであった。当時Online法で測定したFeNO値は44.7±38.8ppbであった。FeNO値は総IgE濃度(r=0.299, p<0.001)、ダニ特異的IgE濃度(r=0.610, p<0.001)、末梢血好酸球数(r=0.560, p<0.001)とそれぞれ有意な正の相関関係を認めた。一方25(OH)D濃度はFeNO値と有意な負の相関関係を認めた(r=-0.130, p=0.046)。一方、総IgE(r=-0.055, p=0.399)、ダニ特異的IgE(r=-0.077, p=0.240)とは相関関係を認めなかった。また対象中で質問票の回答から繰り返す喘鳴を自覚している群(喘息群)に限って検討すると、25(OH)D濃度とFeNO値に相関関係を認めなかった(n=23; r=0.036, p=0.860)が、繰り返す喘鳴を自覚していない群(健常群)においては、25(OH)D濃度はFeNO値と有意な負の相関関係を認めた(n=206; r=-0.153, p=0.028)。両群間における25(OH)D濃度については有意差を認めなかった(喘鳴群22.0±9.0, 健常群24.3±8.9; p=0.212)。

4) 大学生検診における FeNO 測定と喘息検出効果 (石塚) CEIS 法による喘息診断の感度、特異度は 38.0 ppb をカットオフ値とした場合、感度 86.8%、特異度 74.0 %であった。640 名の学生における過去 1 年間の喘鳴から推定される有症率は 9.5 %であった。喘息にかかったことがあると回答した学生で、現在も症状があると推定される学生は 6.4 %であった。

5) モストグラフを用いた呼気抵抗、リアクタンスとの比較 (白井) オフライン法による FeNO 値と呼吸抵抗およびリアクタンスの各パラメーターとの相関は認められず、単純には相関しなかった。

6) Alveolar NO の治療による変化 (白井) プランルカスト追加後 3 例においてトータルコントロールが得られ、全体でも Alveolar NO 値は有意に改善したが、FeNO 値、Bronchial NO flux 値は不変であった。

7) Alveolar NO と肺がん、EGFR 遺伝子の関連 (白井) 腺癌 6 例、扁平上皮癌 1 例、小細胞癌 3 例について測定したところ、FeNO 高値 (40 ppb 以上) は 2 例のみであった。平均 Alveolar NO 値は 6.5 ppb、Bronchial NO flux 値は 1.1 nl/s であり、自験または文献報告の正常値に比し、Alveolar NO の高値が際立っていた。

8) 大学生検診における喘息の Outgrow 症例の抽出 (熱田) 小児喘息の既往があった 40 例を抽出した。正常群と比較し FeNO は有意に高値 ( $p < 0.01$ ) であり、同症例のうち半数で気道過敏性を認めた。

9) オフライン法と携帯型測定器の比較 (粒来) ポータブル NO 測定器 (NIOXmino) とオフライン 2 法について 39 症例で同時測定し比較、お互いに強い正の相関を認めた。NIOXmino は CEIS 法の 70%、SIEVERS 法の 85% の値となり、既報告と一致した。

10) 難治性喘息患者に対する白血球除去療法の試み (石塚) Pulse LCAP による臨床試験は 2010 年 11 月末までに、すでに 5 名 (予定症例数 10 名) で試験を終了した。Pulse LCAP 施行前後で全例において ACT スコアの改善、起床時の PEFR の増加に加えて、FENO の低下が観察されている。また、就寝前の PEFR も 5 名中 4 名で増加した。全身性ステロイド薬の実使用量は 5 名中 4 名において減少、1 名では不変であった。

#### D. 考察

研究班の主目標であったかかりつけ医での測定について、実際に 800 症例を越える評価を行い、解析の結果院内と同様の傾向、および喘息検出のカットオフ値を得た。3 年の研究の積み重ねにより、方法論の妥当性、喘息評価基準の検討を踏まえ、かかりつけ医における検証が実際に可能であったことは、本研究班におけるオフラインを応用した方法論が実用性が高く運用が可能であることを示している。今まで呼気 NO は期待されながら実験的検査の域を出なかったが、こうした研究班という形式で共通した方法論で広範囲のデータを集積できたことは意義深い。方法論においても福島県立医大の調査により CEIS 法の改良版がかかりつけ医でも有用であることが実証され、また携帯型測定器で測定しても一致していたことから、本研究班の方法論の妥当性は証明されたと考えられる。

一方で、こうした研究により新たな疑問点、解決すべき点が浮かび上がる。実際に広範囲に使用された場合の誤診の危険性、コストに見合った効果が得られるかどうか、である。本研究班は診断の正確性を期するためにかかりつけ医の中でもアレルギー/呼吸器専門医における検証となったため、実地医療における誤診の程度は不明である。使用されるであろう薬剤 (吸入ステロイド) は副作用が極めて少ない

ため、リスクは少ないだろうが、こうした疑問に答えるためには住民ベースでの調査による喘息の検出率と誤診率の評価が不可欠となる。順天堂大と群馬大でパイロット的に行った結果では、FeNOを用いることでそれなりに正確な評価が可能であること、気管支喘息の予備群の抽出に期待が持てる結果ではあったが、横断的かつ少ない症例での評価であったため、数年の経過観察および症例の蓄積が必要であると考えられる。

さらに、喘息診療には他の呼吸器疾患との関連調査が不可欠であるが、そうした検証としても COPD、肺がんの調査をある程度しえた。ただし、さらなる追跡調査が必要である。また、LCAPによる最重症喘息の治療については症例が精力的に登録されたが、解析途中であるために結果は後日の解析が必要となる。また、閉塞性呼吸障害の新たな生理学的指標として強制オッシレーション法が注目されつつあるが、強制オッシレーション法自体の位置づけがこれからであり、今後の研究の蓄積が必要である。

近年登場した携帯型 NO 測定器との比較では、お互いの相関を認めたが補正式が必要と考えられた。今後オンライン法に比較して安価である携帯型測定器は普及が見込まれるが、こうした位置づけについては本邦における検証の蓄積が不可欠であり、確立した互換式の作成にまでは至っていない。

## E. 結論

我々の検討により、SIEVERS法、およびCEIS法の2法はFeNO評価法として、安定して評価できること、遠隔地測定が可能であること、一都四県にまたがって同じ方法論を用いて同様の値を得ることが判明した。これらの結果により、かかりつけ医で応用していくための基本的条件がそろい、プライマリーケアでの応用が十分可能であると考えられた。しかしながら臨床で安全確実に応用していくためにはいくつかの課

題があり、特に疫学的調査、携帯型測定器との互換性、他の呼吸器内科疾患と比較したデータの蓄積により、位置づけの明瞭化が必要であり、そうした検証を踏まえ保険診療に組み込んでいくべきであると考えられる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

研究分担者ごとに記載



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—

## CEIS 法の検討

研究分担者 佐藤俊（福島県立医科大学医学部呼吸器内科）

研究協力者 斎藤純平，福原敦朗（福島県立医科大学医学部呼吸器内科）

佐久間文隆（さくま内科クリニック）

**研究要旨** これまで気管支喘息の診断における Offline 法（CEIS 法）による呼気 NO（FeNO）測定の有用性が検証されてきたが、本年度はかかりつけ医（診療所）での咳嗽の診断における Offline 法（CEIS 法）の有用性の検討を行った。また近年気管支喘息の重症度やアトピーとの関連が示唆されている血清ビタミン D 濃度に着目し、血液中のビタミン D 濃度と FeNO の関係について、当科が過去に採取した小学 5・6 年生の保存血清を用いて 25(OH) ビタミン D 濃度を測定し、当時 Online 法で測定した FeNO 値との関連の有無を検討した。福島市内の呼吸器科を標榜した診療所を受診した咳嗽患者 49 名に対して Offline 法（CEIS 法）による FeNO 測定を施行した。診療所で呼気をバックに採集したのちに冷蔵保存され、1 週間以内に福島県立医科大学まで搬送され測定した。最終的に喘息性疾患（気管支喘息，咳喘息）と診断された 28 名の FeNO 値は、非喘息性疾患と診断された 21 名と比較して、有意に FeNO 値が高値であった（喘息性疾患  $96.4 \pm 90.0$ ppb，非喘息性疾患  $48.2 \pm 46.8$ ppb； $p=0.030$ ）。また同時に施行された Online 法（Aerocrine 社製 NIOX-MINO®）による FeNO 測定結果と有意な強い正の相関関係を示した（ $r=0.731$ ， $p<0.001$ ）。また、平成 14 年に採取した小学校 5・6 年生 235 名に対して行われた疫学調査の際に採取された保存血清を用いて 25(OH) ビタミン D 濃度を測定したところ、25(OH)D 濃度は FeNO 値と有意な負の相関関係を認め（ $r=-0.130$ ， $p=0.046$ ）。遠隔地の診療所における Offline 法（CEIS 法）FeNO 測定は咳嗽の診断に有用である。また、血液中ビタミン D 濃度は FeNO 値と有意な負の相関関係を認め、ビタミン D 欠乏のアレルギー性気道炎症への関与が示唆される。

### A. 研究目的

前年度は遠隔地における遷延性咳嗽の鑑別において Offline 法（CEIS 法）測定が有用であること、FeNO 測定機器間における測定値は良好な相関関係を示すが測定値には機種差があり補正式による変換が必要であること、Offline 法（CEIS 法）の測定において死腔分の呼気 washout 時間は 5 秒以上でよいことを報告した。

本年度は、遠隔地の診療所での咳嗽診断における Offline（CEIS）法の有用性の検討、昨年報告した携帯型 FeNO 測定器（Aerocrine 社製 NIOX-MINO®）と Offline（CEIS）法の遠隔地における測定値の比較を行った。また近年気管支喘息の重症度やアトピーとの関連が注目されている血清ビタミン D 濃度に着目し、血液中のビタミン D 濃度と FeNO の関係の有無について、当科

で過去に採取した小学5・6年生の保存血清を用いて 25(OH)ビタミン D 濃度を測定し、当時 Online 法で測定した FeNO 値との関連の有無を検討した。

## B. 方法

- 1) 福島市内の呼吸器科を標榜する診療所において遷延性咳嗽もしくは慢性咳嗽を主訴に受診し、測定の同意が得られた患者に対して、Offline 法による FeNO 測定 (CEIS 法, 死腔分 washout 時間 5 秒間で測定) を 2 回、NIOX-MINO®による FeNO 測定を 1 回施行した。Offline 法で呼気を回収したミラーバックは 4°C で保管され、採取後 1 週間以内に 4°C の状態のまま福島県立医科大学まで搬送された後に測定された。測定機には紀本電子工業社製 NA623N®を使用した。この結果から、まず FeNO 測定における、Offline (CEIS) 法における死腔分 washout 時間 5 秒の妥当性の検討、Offline 法と Online 法 (携帯型 NO 測定器) による測定値の相関や差異についての検討、そして最終的な臨床診断 (喘息性疾患と非喘息性疾患) と FeNO 値の関係について検討した。
- 2) 平成 14 年 11 月に小学 5・6 年生に対して行われた疫学調査の際に採取され、当科にて冷凍保存されていた血清を用いて、体内のビタミン D 貯蔵量の指標である、25-hydroxycholecalciferol [25(OH)D] 濃度を測定し、平成 14 年の調査時に施行された Online 法による FeNO 値との関係の有無、反復する喘鳴を自覚していた群と健常群における 25(OH)D 濃度の差異、アトピーとの関係の有無について検討した。

## C. 結果

- 1) 診療所を受診し、FeNO を測定した患者 49 人 (女性 35 人, 年齢  $42.7 \pm 17.0$  歳) について検討した。Offline 法 (CEIS 法) の測定では、1 回

目と 2 回目の測定値に強い相関関係を認めた ( $r=0.980$ ,  $p<0.001$ )。また Offline 法 (CEIS 法) の測定値を 1 回目と 2 回目の平均値とし、Online 法の測定値と比較すると両値は有意な正の相関を認めた ( $r=0.731$ ,  $p<0.001$ )。Offline 法 (CEIS 法) における検体採集と測定までの日数は、(平均  $\pm$  SD)  $2.49 \pm 1.97$  (0-8) (日) で Offline 法 (CEIS 法) の 2 測定値の %Dev は検体採集から測定までの日数と関連を認めなかった ( $r=-0.014$ ,  $p=0.927$ )。同様に Offline 法 (CEIS 法) と Online 法の測定値間の %Dev についても、この期間と関連を認めなかった ( $r=-0.037$ ,  $p=0.799$ )。

- 最終診断を喘息性疾患 ( $n=28$ )、非喘息性疾患 ( $n=21$ ) に分けて、FeNO 値を比較したところ Offline 法 (CEIS 法)、Online 法ともに、喘息性疾患が非喘息性疾患と比較して有意に高値を示した (Offline 法 (CEIS 法): 喘息性疾患  $96.4 \pm 90.0$  ppb, 非喘息性疾患  $48.2 \pm 46.8$  ppb;  $p=0.030$ , Online 法: 喘息性疾患  $57.4 \pm 47.1$  ppb, 非喘息性疾患  $27.1 \pm 23.1$  ppb;  $p=0.005$ )。
- 2) 平成 14 年に採取した小学 5・6 年生 235 人 (女性 119 人) の保存血清中 25(OH)D 濃度は (Mean  $\pm$  SD)  $24.0 \pm 8.9$  ng/ml であった。当時 Online 法で測定した FeNO 値は  $44.7 \pm 38.8$  ppb であった。FeNO 値は総 IgE 濃度 ( $r=0.299$ ,  $p<0.001$ )、ダニ特異的 IgE 濃度 ( $r=0.610$ ,  $p<0.001$ )、末梢血好酸球数 ( $r=0.560$ ,  $p<0.001$ ) とそれぞれ有意な正の相関関係を認めた。一方 25(OH)D 濃度は FeNO 値と有意な負の相関関係を認めた ( $r=-0.130$ ,  $p=0.046$ )。一方、総 IgE ( $r=-0.055$ ,  $p=0.399$ )、ダニ特異的 IgE ( $r=-0.077$ ,  $p=0.240$ ) とは相関関係を認めなかった。

また対象中で質問票の回答から繰り返す喘鳴を自覚している群 (喘息群) に限って検討すると、25(OH)D 濃度と FeNO 値に相関関係を認めなかった ( $n=23$ ;  $r=0.036$ ,  $p=0.860$ ) が、繰り返

返す喘鳴を自覚していない群(健常群)においては, 25(OH)D 濃度は FeNO 値と有意な負の相関関係を認めた(n=206; r=-0.153, p=0.028). 両群間における25(OH)D 濃度については有意差を認めなかった(喘鳴群 22.0±9.0, 健常群 24.3±8.9; p=0.212).

#### D. 考察

- 1) 遠隔地における Offline(CEIS)法による FeNO 測定は, 呼気 washout 5 秒の条件下で有意な強い正の相関を認め, 大きな測定誤差もなく測定することが可能であった. この測定値は同時に測定された Online 法(Aerocrine 社製 NIOX-MINO®)による測定値とも有意な正の相関を認めていた. また呼気採集から測定までの期間については最長8日間であったが, この期間内において2測定値の大きな誤差や Online 法による測定値との乖離を認めなかった. Offline 法による測定値は喘息性疾患では非喘息性疾患よりも有意に高値であり, 診療所における咳嗽の診断に有用と考えられた.
- 2) 血液中ビタミン D 濃度は気管支喘息をはじめとするアレルギー性疾患との関連が示唆されているが, 今回の検討では喘息を疑わせる反復する喘鳴を自覚する群と自覚しない健常群について, 25(OH)D 濃度に有意差を認めなかった. しかしながら, 全体の検討では25(OH)D 濃度とアレルギー性の気道炎症の指標である FeNO 値は有意な負の相関を認めた. 25(OH)D は食物摂取や日照によって合成されるが, その欠乏がアレルギー性の気道炎症の指標となっている可能性が示唆された.

#### E. 結論

遠隔地の診療所において Offline 法(CEIS 法)による FeNO 測定は咳嗽の診断に有用である. また, 血液中ビタミン D 濃度は FeNO 値と有意な負の相関関係を認め, ビタミン D のアレ

ギー性の気道炎症への関与が示唆される.

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. 斎藤純平, 福原敦朗, 佐藤康子, 佐藤俊, 齋藤香恵, 仲川奈緒子, 猪腰弥生, 石井妙子, 谷野功典, 石田卓, 棟方充. 呼気一酸化窒素濃度(FeNO)測定値には機種差がある. 日本呼吸器学会雑誌, 2010;48(1):17-22.
2. 佐藤俊, 二階堂雄文, 猪腰弥生, 齋藤香恵, 仲川奈緒子, 福原敦朗, 石井妙子, 王新涛, 齋藤純平, 谷野功典, 石田卓, 田中学, 棟方充. 線毛の超微構造異常を確認しえた immotile cilia syndrome の1例. Therapeutic Research. 2010; 31(8):1089-1091.

##### 学会発表

1. 佐藤俊, 二階堂雄文, 猪腰弥生, 齋藤香恵, 仲川奈緒子, 福原敦朗, 石井妙子, 齋藤純平, 谷野功典, 石田卓, 棟方充. 肺結核患者における血液中 Vitamin D 濃度の検討. 第50回日本呼吸器学会総会. 2010.4.24
2. 佐藤俊, 福原敦朗, 齋藤純平, 棟方充. 教育コース 14(基礎・その他)ワークショップ 14-4 気管支喘息における呼気 NO と IOS の評価. 第22回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2010.5.9
3. Suguru Sato, Atsuro Fukuhara, Takefumi Nikaido, Yayoi Inokoshi, Kazue Saito, Naoko Nakagawa, Taeko Ishii, Xintao Wang, Junpei Saito, Yoshinori Tanino, Takashi Ishida, Mitsuru Munakata. The level of serum vitamin D is a good predictor of prolonged hospitalization in patients with tuberculosis. European Respiratory Society 2010. 2010.9.20

4. Atsuro Fukuhara, Junpei Saito, Yasuko Sato, Takefumi Nikaido, Yayoi Inokoshi, Kazue Saito, Naoko Nakagawa, Taeko Ishii, Xintao Wang, Yoshinori Tanino, Takashi Ishida, Mitsuru Munakata. Comparison of fractional exhaled nitric oxide (FeNO) levels measurements between now portable analyzer and stationary analyzer. European Respiratory Society 2010. 2010.9.21
5. 福原敦朗, 谷野功典, 斎藤純平, 佐藤俊, 二階堂雄文, 猪腰弥生, 仲川奈緒子, 石井妙子, 棟方充. 喘息患者における呼気凝縮液(EBC)中各種成長因子の網羅的解析. 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010.11.26

#### 総説, 学術講演など

1. 佐藤俊, 二階堂雄文, 猪腰弥生, 斎藤香恵, 仲川奈緒子, 福原敦朗, 石井妙子, 王新涛, 斎藤純平, 谷野功典, 石田卓, 棟方充. 線毛の超微構造異常を確認しえた Immobile cilia syndrome の一例. 第8回DPB・難治性気道疾患研究会. 2010.2.6
2. 佐藤俊, 斎藤純平, 福原敦朗, 佐藤康子, 二階堂雄文, 猪腰弥生, 斎藤香恵, 仲川奈緒子, 石井妙子, 王新涛, 谷野功典, 石田卓, 棟方充. 新規携帯型 FeNO 測定器 NObreath®と他 FeNO 測定器との機種差の検討. 第6回呼吸器バイオマーカー研究会. 2010.3.27
3. 佐藤俊. オマリズマブ(ゾレア)8例の使用経験. 福島 IgE Forum for asthma. 2010.4.13
4. 棟方充, 奈良正之, 柴田陽光, 村松康成, 佐藤俊. 座談会 気管支喘息治療における吸入ステロイド療法 —効果的な治療・管理に向けたノウハウ—. Progress in Medicine. 2010;30: 1147-1154.
5. 佐藤俊, 棟方充. 特集/呼吸器疾患 診断技術の進歩 12. NO. 呼吸器内科. 2010;18(5): 555-563.

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—

## EIA 検出における FeNO オフライン法の有用性

研究分担者 熱田 了（順天堂大学呼吸器内科）

### 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。そのため、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 FeNO 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、運動選手の EIA と FeNO の関連と気管支喘息自然寛解の解析を行っている。運動選手の EIA の有病率は一般人に比し高いと報告されているが、本邦においてその検討は充分でない。EIA においても好酸球性慢性気道炎症が認められ、重症度と相関している。近年、好酸球性気道炎症の評価に呼気中一酸化窒素濃度（FeNO）を用い、本邦における EIA の疫学的・病態学的検討を行った。アンケートによる問診、運動負荷前後に聴診、呼吸機能検査、FeNO 濃度を行い、後日に気道過敏性検査を行った。平成 21 年度までに EIA の頻度は 30.5% と非常に高値であり、呼吸機能低下を認めないが、EIA を示唆する自覚症状と FeNO 高値・気道過敏性陽性の潜在性 EIA が 10.2% 含まれ、EIA の確実な診断と治療が必要であると報告した。平成 22 年度は運動誘発性喘息診断のための検査方法として気道過敏性検査と呼気 NO 測定の有用性の比較を行った。気道過敏性検査は侵襲性がありかつ一般人に比し運動選手全般でも気道過敏性が高値であり、スクリーニングとしては FeNO 測定が優れていると考えられた。FeNO は非 EIA 群に比べ EIA 群で有意に高く（25.0 ppb vs 36.3 ppb）EIA 診断に有用と考えられた。

また、小児気管支喘息の過半数は青年期には症状が消失し、out-grow すると言われている。運動選手の多くは運動能力の peak 時は青年期であり、小児喘息の既往を有する out-grow 群も多く存在する。しかしながら out-grow の呼吸機能・好酸球性気道炎症に関しての評価は十分にされていない。そのため、本邦における out-grow 群の呼吸機能や FeNO の解析を行った。当学所属の学生 181 名に対し、アンケートによる問診、呼吸機能、FeNO を測定した。喘息を除く通年性アレルギー疾患を有さない 148 例中、喘息群は 8.1%、out-grow 群は 14.1% であった。各群において呼吸機能では有意な変化は認めなかった。正常群に比較して喘息群、out-grow 群共に FeNO は有意に高値であった。また out-grow 群中の 10 例に対して気道過敏性を測定し、FeNO  $\geq$  20ppb であった 6 例中 4 例で気道過敏性を認め、FeNO < 20ppb であった 4 例中 1 例に気道過敏性を認めた。

## A. 研究目的

運動選手のEIAの有病率は一般人に比し高いと報告されている。EIAの病態の首座は通常の気管支喘息同様、気道の慢性好酸球性気道炎症であるが、その重症度は気道過敏性や好酸球性気道炎症と相関する。近年、好酸球性炎症の評価に呼気中一酸化窒素濃度(FeNO)測定の有用性が認められてきている。しかしながら遠隔地であつ屋外のグラウンドに於いてFeNOをEIAスクリーニング目的で測定するためには、オンライン法では測定機器自体の問題やコストの問題からFeNOの測定は困難である。そこで拠点施設に分析器を置き各施設で回収した呼気を運搬し測定するオフライン法を用いて、本学スポーツ健康科学部の陸上競技部の所属選手におけるEIAを、オフライン法を用いたFeNOの観点から検討する。

また、小児気管支喘息の5~7割程度は青年期には症状が消失し、自然寛解(out-grow)すると言われている。運動選手の多くは運動能力のpeak時である青年期に属しているが、小児喘息の既往を有するout-grow群も多く存在する。しかしながらout-growの呼吸機能・好酸球性気道炎症に関しての評価は十分にされていない。そのため、本邦におけるout-grow群の呼吸機能をFeNOの観点から検討する。

## B. 研究方法

EIAの検討に関しては順天堂大学スポーツ健康科陸上部所属の128名のアスリートに対し、運動誘発性喘息に関する問診票によるアンケート調査、運動負荷前後に聴診・呼吸機能検査・FeNO、後日に気道過敏性検査を測定した。Out-growの検討に関しては順天堂大学の学生(医学部、スポーツ健康科学部)181名に対し

てアンケートによる問診、呼吸機能、FeNOを測定した。

また、遠隔地であるグラウンド/スポーツ健康科学部におけるオフライン法でのFeNO測定値と拠点施設でのオンライン法によるFeNO測定値を比較し、そのばらつきを検討した。

## C. 結果

陸上部所属全128例のうちEIAは30.5%(39例/128例)と非常に高値であったが治療例は4.7%であった。そのうち運動負荷による呼吸機能低下を認めないが、EIAを示唆する自覚症状とFeNO高値・気道過敏性陽性の潜在性EIAを10.2%(13例/128例)認め、確実な診断と治療が必要であると考えられた。FeNOは非EIA群に比べEIA群で有意に高く(25.0ppb vs 36.3ppb; p=0.008)、EIA診断に有用と考えられた。本年度はEIA診断のための検査方法として気道過敏性検査と呼気NO測定の有用性の比較に関して検討した。メサコリン負荷による気道過敏性検査は侵襲性がありかつ一般人に比し運動選手全般でも気道過敏性陽性となる頻度が高く(46%)、施行可能施設も限られる。一方、オフライン法でのFeNO測定は非侵襲性であり、屋内/屋外を問わず呼気ガスを回収できるため、スクリーニングとしてはFeNO測定が優れていると考えられた。またグラウンドでのオフライン法によるFeNO値と拠点施設でのオンライン法によるFeNO値の間には有意な差がなかった。

また本年度は、out-growにおける好酸球性気道炎症をFeNOの観点からも検討した。当学所属学生のout-grow症例は14.1%であり、喘息症例は8.1%であった。各群において呼吸機能に関しては有意な変化は認めなかったが、正

常群に比較して喘息群、out-grow 群共に FeNO は有意に高値であった（正常群 vs. 喘息群；22.5ppb vs. 50.0 ppb； $p < 0.01$ 、正常群 vs. out-grow 群；22.5ppb vs. 32.6ppb； $p < 0.05$ ）。out-grow 群中では FeNO 高値症例で気道過敏性陽性症例を多く認めた（FeNO $\geq$ 20ppb；4/6 例、FeNO $<$ 20ppb；1/4 例）。

#### D. 考察

順天堂大学スポーツ健康科陸上部は国内有数の選手を輩出しており、わが国のトップアスリート集団といえる。そのため、運動能力が極めて高く、またトレーニングも常人にくらべ厳しい条件で行われていると考えられる。そうした集団において、EIA の症例が多く存在した。トップアスリートにおける気道過敏性の亢進は特に冬季スポーツで顕著であるが既報告でも同様の現象が報告されており、厳しい運動による過換気などが原因と考えられている。また、そうしたアスリートは心肺能力が高いため、自覚症状に乏しいと考えられる。本研究の中で潜在的 EIA が少なからず存在したのはそのためと考えられる。潜在的な EIA に対して適切な治療を行うことは発作の予防のみならず本来持っている運動能力を十分発揮することにつながるため、適切に治療する必要がある。しかしながら、そうした症例に気道過敏性を行うことは現実的でなく、今回用いた FeNO によってスクリーニング的に気道炎症を検出することは臨床上有意義な結果であると考えられる。また、当学における out-grow 群は呼吸機能検査上では正常群に比して気流制限は認めなかったが、FeNO は有意に高値であり、3 年間無治療・無症状であっても好酸球性気道炎症の残存が示唆された。FeNO 高値群では気道過敏性陽

性例を多く認め、将来的に気管支喘息再燃のマーカースとなりうる可能性が期待できた。

これらの症例に関して FeNO を測定することは気道炎症の惹起を検出しうるため有用と予測されていたが、機械を移動する、もしくは運動負荷を病院環境の中でかける、という条件上の制約があり、研究事態が困難であった。今回、オフライン法を応用することでこうした制約なく、通常の練習量の中での気道炎症をモニタリングできたことは大変有意義であったと考えられる。

また、今回のように遠隔地で測定する試み自体が今まで報告されておらず、我々が今回行った約 300 例の測定実績は、本研究班全体で今後行うオフライン法を用いた FeNO 測定のかかりつけ医への普及の可能性を開いたものである。千葉県から東京都への搬送によっても測定が可能であったことは、拠点施設を中心として広範囲で測定が可能であることを強く示唆する。

#### E. 結論

運動誘発性喘息の診断に FeNO 測定は有用であった。Out-grow 症例では好酸球性気道炎症や気道過敏性が残存しており、気管支喘息再燃のマーカースになる可能性が期待できる。また、遠隔地の屋外／屋内におけるオフライン法での FeNO 測定は可能であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 原著

Wadsworth SJ, Atsuta R, McIntyre JO, Hackett

TL, Singhera GK, Dorscheid DR. IL-13 and Th2 cytokine exposure triggers matrix metalloproteinase 7-mediated Fas ligand cleavage from bronchial epithelial cells. *J Allergy Clin Immunol.* 126(2):366-374, 2010

## 2. 学会報告

Atsuta R, Makino F, Ishimori A, Ito J, Harada N, Takahashi K.: An investigation of exercise-induced asthma in athletes. *European Respiratory Society Meeting 2010 in Barcelona, 2010/9/18-9/22*

Ishimori A, Atsuta R, Makino F, Ito J, Harada N, Takahashi K.: Pulmonary function test and fraction of exhaled nitric oxide of asthma in remission. *European Respiratory Society Meeting 2010 in Barcelona, 2010/9/18-9/22*

Ito J, Harada N, Nagashima O, Makino F, Yagita H, Okumura K, Atsuta R, Akiba H, Takahashi K. Secretion of wound-induced TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 2 enhance airway epithelial repair via HB-EGF and TGF- $\alpha$ . *European Respiratory Society Meeting 2010 in Barcelona, 2010/9/18-9/22*

鯉川なつえ, 熱田了, 仲村明, 原田紀宏, 桜庭景植: 長距離ランナーにおける運動誘発性喘息(EIA)に関する研究 順天堂医学 56 巻 1号 Page74, 2010

桂蓉子, 古田島正樹, 石森絢子, 糸魚川幸成, 牧野文彦, 伊藤潤, 長島修, 梶山雄一郎, 原田紀宏, 熱田了, 高橋和久: Master Screen IOS-JとMostGraph-01の比較検討 アレルギー59巻3-4 Page463, 2010. 第22回日

本アレルギー学会春季臨床学術大会 国立京都国際会館 2010/5/8-2010/5/9  
梶山雄一郎, 熱田了, 桂蓉子, 石森絢子, 糸魚川幸成, 牧野文彦, 伊藤潤, 長島修, 原田紀宏, 長岡鉄太郎, 高橋和久; 中等度持続型気管支喘息患者におけるSuplatast tosilateの気道炎症に対する長期検討 日本呼吸器学会雑誌48巻増刊 Page177, 2010. 第50回日本呼吸器学会学術講演会 国立京都国際会館 2010/4/23-2010/4/25  
石森絢子, 牧野文彦, 桂蓉子, 糸魚川幸成, 伊藤潤, 長島修, 原田紀宏, 熱田了, 高橋和久; 呼吸機能検査・呼気一酸化窒素濃度(FeNO)からみたout-grow群 石森絢子, 牧野文彦, 桂蓉子, 糸魚川幸成, 伊藤潤, 長島修, 原田紀宏, 熱田了, 高橋和久 日本呼吸器学会雑誌48巻増刊 Page179, 2010. 第50回日本呼吸器学会学術講演会 国立京都国際会館 2010/4/23-2010/4/25  
伊藤潤, 牧野文彦, 原田紀宏, 熱田了, 奥村康, 秋葉久弥, 高橋和久; TIM-4の喘息モデルマウスにおける役割の検討 日本呼吸器学会雑誌48巻増刊 Page267, 2010. 第50回日本呼吸器学会学術講演会 国立京都国際会館 2010/4/23-2010/4/25



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—

## オフライン法とアンケート調査を組み合わせた喘息有症率調査および 難治性喘息患者に対する高用量白血球除去療法の有効性の検討

研究分担者 石塚 全 (群馬大学大学院医学系研究科 病態制御内科学 講師  
兼 群馬大学医学部附属病院 呼吸器・アレルギー内科 院内臨床教授)

研究協力者 久田剛志 (群馬大学医学部附属病院 呼吸器・アレルギー内科 助教)

松崎晋一、青木 悠、矢富正清、上出庸介  
(群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学 大学院生)

**研究要旨** 呼気 NO 濃度 (FENO) 測定にはオンライン法またはオフライン法が用いられるが、オフライン法は多くの被検者より呼気検体を採取し、一度に多数の検体の NO 濃度測定ができるという点において優れている。特に、本研究班で採用している環境情報科学センターで開発された呼気採取キットを用いた方法 (CEIS 法) ではオンライン法と同一の条件で呼気検体を採取できることより、FENO 測定値の施設間でのばらつきが少なく、オンライン法による測定値との相関も良好である。そこで大学生の喘息有症率を調査するにあたり European Community Respiratory Health Survey (ECRHS) 調査用紙と CEIS 法による FENO 測定を同時に行い、解析した。喘息有症率調査について文書による同意の得られた 640 名の群馬大学学生 (男性 266 名、女性 318 名、平均年齢 20.4 歳) を対象として ECRHS 調査用紙日本語版によるアンケート調査と CEIS 法による FENO 測定を実施し、回答結果と FENO をもとに、大学生の過去 1 年間における喘息の期間有症率を検討した。640 名の学生における過去 1 年間の喘鳴から推定される有症率は 9.5%であった。喘息にかかったことがあると回答した学生で、現在も症状があると推定される学生は 6.4%であった。過去 1 年間に喘鳴、胸のつまり、息切れ発作、咳発作のいずれかをありと回答した学生は 14.1%で、喘息の既往、FENO を加味して推定される期間有症率は 8.3%であった。有症率は男性で若干高かった。また、難治性喘息患者を対象として血液体外循環と高用量白血球除去カラムを用いた高用量白血球除去療法 (Pulse LCAP) による臨床試験を実施中であるが、2010 年 12 月末までに、すでに 5 名 (予定症例数 10 名) で試験を終了した。Pulse LCAP 施行前後で全例において Asthma control test (ACT) スコアの改善、起床時のピークフロー値 (PEFR) の増加に加えて、FENO の低下が観察されている。また、夜の PEFR も 5 名中 4 名で増加した。全身性ステロイド薬の実使用量は 5 名中 4 名において減少、1 名では不変であった。

## A 研究目的

呼気 NO 濃度 (FENO) は好酸球性気道炎症の程度を反映するバイオマーカーであり、FENO 測定は気管支喘息の診断には有用である。オフライン法による FENO 測定は呼気採取法と検体の保存の問題点をクリアできれば、同時に多数の被検者の呼気 NO 濃度を測定する場合、オンライン法に比べて、手技的にも簡便であり、経済性にも優れる。本研究班ではオフライン法の有用性を検討するために粒来らの報告に従い、SIEVERS 社の呼気採取キットを用いて、口腔内圧を $\sim 10$  cmH<sub>2</sub>O、推定呼気流速を約 70mL/s として呼気を採取する方法(SIEVERS 法)と環境情報科学センター (Center for Environmental Information Science) が開発した呼気採取キットを用いたオフライン法 (CEIS 法) を検討してきた。特に、CEIS 法ではオンライン法と同一の条件で呼気を採取し、FENO を測定できる利点がある。そこで今年度は疫学調査においてオフライン法 (CEIS 法) による FENO 測定を行うことを目的として喘息の有症率調査を計画、実施した。また、平成 20~21 年度に引き続いて、難治性喘息患者を対象とした血液体外循環と高用量白血球除去用カラムを用いた高用量白血球除去療法 (Pulse LCAP) の安全性と有効性に関する研究を症例追加して検討した。

## B. 方法

### 1. ECRHS 調査用紙によるアンケート調査と CEIS 法による FENO 測定を組み合わせた喘息有症率調査

2010 年 4 月 1 日から 4 月 9 日に実施された群馬大学学生の定期健康診断時において、受検者 3247 名のうち、本研究に対して説明を行い、文書による同意の得られた 640 名(男性 296 名、女性 344 名、平均年齢 20.4 歳) の学生を対象とし

てアンケート調査と呼気の採取を実施した。アンケート調査には渡辺らにより翻訳、作成された ECRHS stage 1 repeat: The one-page Questionnaire (日本語版) から、渡辺らが新たに追加した COPD に関する 2 つの質問事項を除いて用いた。FENO の測定は CEIS 法によった。すなわち、深吸気位より、口腔内圧が 1.5 kPa で呼気流速 50 mL/s となるように呼気採取キットを調節し、被検者に圧力計の針が 1.5 kPa になるのを目視しながら 10 秒以上息をはいてもらい、5 秒後から 10 秒後までの 5 秒間に呼出された約 250ml の呼気を採取した。4°C で保存したサンプルを 8 時間以内に NO 分析器 (NOA 280, SIEVERS 社製) で測定した。

### 2. 難治性喘息患者に対する高用量白血球除去療法(Pulse LCAP) の安全性と有効性に関する研究

白血球除去効率および 1 回の血液処理能力の大きい、高用量の白血球除去用カラム (セルソーバ®CS-180S、旭化成クラレメディカル社製) を用い、難治性喘息患者を対象として 1 週間隔で計 2 回の白血球除去療法を施行した。1 週間間隔で計 2 回、1 回の血液処理量 5L を目安に Pulse LCAP 行い、LCAP 施行前 4 週間と施行後 4 週間における PEFr、ACT スコアを比較するとともに、副次的項目として FENO の変化を評価した。抗凝固薬としてはメシル酸ファミスタットによるアナフィラキシーのリスクを回避するために原則としてヘパリンを使用し、Activated coagulation time 200 秒を目安として体外循環を行った。

## C. 結果

### 1. 群馬大学学生における気管支喘息期間有症率

アンケートの回答結果から群馬大学学生 640 名において、喘息による 1 年間の期間有症率を推

定すると、14.1%の学生が過去1年間に何らかの喘息様症状（喘鳴、夜間の胸のつまり、夜間の息切れ発作、夜間の咳発作のいずれか）を自覚していたので、有症率は最大で14.1%と推定された。症状別に検討すると喘鳴が9.5%、夜間の胸のつまりが1.9%、夜間の息切れ発作が1.4%、夜間の咳発作が4.2%で認められた。喘息の既往を考慮すると、喘息の既往があると思われる学生が17.7%で、現在も症状がある学生は6.4%であり、小児期に喘息であった学生の3分の1以上が現在も症状があると予想された。さらに、喘息の既往がなく、何らかの喘息様症状を有し、FENOが38.0ppb以上の学生も喘息有症者と判断した。以上、FENOと喘息の既往を加味した1年間の期間有症率は8.3%であった。男女別では男性の有症率の方が大きかった。また、症状別、男女別にFENOとの関連を検討すると、喘鳴に比べ、夜間の咳発作を自覚している学生のFENOは38.0ppb未満の比率が大きく、特に夜間の咳発作は女性に多く、夜間の咳発作を自覚している女性ではFENOは38.0ppb未満の比率が大きかった。

## 2. 難治性喘息に対するセルソーバCS-180Sを用いた高用量白血球除去療法の有効性

今年度2症例で試験を行い、現在までに計5症例で試験を実施した（目標症例数10症例）。現在までにpulse LCAPを施行した5症例中、4症例では高用量の吸入ステロイド薬、LABA、ロイコトリエン拮抗薬に加えて、経口ステロイド薬（プレドニゾン5-10mg/日）を使用しているにもかかわらずFENOが高値であったが、1症例では健常人並であった。Pulse LCAP施行前と2回目のpulse LCAP施行2週間後のオンライン法によるFENO測定値を比較すると、5症例全例でpulse LCAP施行後におけるFENOの低下が観察された。Primary end pointのPulse LCAP施行前4週間と施

行後4週間のPEFRの平均値に関しては、朝のPEFRは5症例全例で、夜のPEFRは5症例中4症例で増加した。Secondary end pointのpulse LCAP施行前4週間と施行後4週間のACTの合計点の比較においても全例で増加した。

## D. 考察

オフライン法によるFENO測定はクリニックにおける外来診療や疫学調査のように、NO測定器から離れた場所で多数の被検者の呼気検体を測定するのに簡便で、経済性においても優れている。今回の喘息有症率調査においても1日100検体以上のFENO測定を容易に実施することが可能であったこと、今後、喘息に関連した健診や疫学調査への利用が期待される。

また、白血球除去療法（LCAP）はステロイド抵抗性の潰瘍性大腸炎や関節リウマチに有効性が証明されていることより、ステロイド抵抗性の気道炎症が病態に関与する難治性喘息には効果が期待できる可能性がある。今までに臨床試験を終了した5症例中4症例のように高用量吸入ステロイド薬と経口ステロイド薬を使用してもFENOが高値を示し、好酸球性気道炎症が十分に抑制できないようなタイプの難治性喘息では、LCAP施行後にFENOの低下が確認されたことより、LCAPはこのような難治性喘息のサブタイプには臨床効果が期待できるかもしれない。また、FENOの増加が観察されないサブタイプも含め、LCAPの有効性や持続効果に関してさらなる症例の追加と検討をしていきたい。

## E. 結論

喘息有症率調査におけるオフライン法によるFENO測定の有用性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Ichimonji I, Tomura H, Mogi C, Sato K, Aoki H, Hisada T, Dabashi K, Ishizuka T, Mori M, Okajima F: Extracellular acidification stimulates IL-6 production and Ca<sup>2+</sup> mobilization through proton-sensing OGR1 receptors in human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 299: L567-577, 2010.

2) Aoki H, Hisada T, Ishizuka T, Utsugi M, Ono A, Koga Y, Sunaga N, Nakakura T, Okajima F, Dobashi K, Mori M: Protective effect of resolvin E1 on the development of asthmatic airway inflammation. *Biochem Biophys Res Commun* 400: 128-133, 2010.

3) Matsuzaki S, Ishizuka T, Hisada T, Aoki H, Komachi M, Ichimonji I, Utsugi M, Ono A, Koga Y, Dobashi K, Kurose H, Tomura H, Mori M, Okajima F: Lysophosphatidic acid inhibits CC chemokine ligand 5/RANTES production by blocking IRF-1-mediated gene transcription in human bronchial epithelial cells. *J Immunol* 185: 4863-4872, 2010.

### 2. 学会報告

1) 石塚 全ほか. ヒト臍帯血由来培養好塩基球の IgE Fc レセプター発現とサイトカイン産生. 第 50 回日本呼吸器学会学術講演会 2010.4.25

2) 石塚 全ほか. パネルディスカッション 重症喘息の治療. 難治性喘息に対する白血球除去療法の抗炎症作用と有効性に関する検討. 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2010.5.8

3) 石塚 全ほか. 呼気 NO 濃度測定を利用した

喘息有症率調査の試み. 第 65 回臨床アレルギー研究会 2010.6.12

4) 石塚 全ほか. 難治性喘息患者における高用量白血球除去療法の安全性と有効性に関する検討. 第 20 回国際喘息学会 日本・北アジア部会 2010.7.2

5) 石塚 全. シンポジウムー職業アレルギー疾患ガイドラインの作成の試み. 職業性喘息. 第 41 回日本職業・環境アレルギー学会総会 2010.7.16

6) 石塚 全ほか. ミニワークショップ 9 呼気 NO による気道病態の評価. ECRHS 調査用紙と呼気 NO 濃度を用いた大学生の喘息有症率調査. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2010.11.26