気管支喘息の新しい診断ツール：呼気一酸化窒素濃度測定

要 旨

喘息の病像は多様であるが、気道の慢性炎症は一貫した特徴である。呼気一酸化窒素濃度は、気道的好酸球性炎症を捕捉するバイオマーカーである。喘息を疑わせる呼吸器症状に加え、気道炎症の存在は喘息の診断を支持する。本稿では、気道における一酸化窒素（nitric oxide：NO）の産生機序、呼気NO濃度測定の方法と留意点、喘息の診断や慢性閉塞性肺疾患（chronic obstructive pulmonary disease：COPD）の鑑別における呼気NO濃度測定の役割について最近の話題を提供する。

〔日内会誌 105：950～956, 2016〕

松永 和人

Key words 気道上皮細胞, 好酸球, バイオマーカー, 分子メカニズム, 閉塞性肺疾患

1. 呼気一酸化窒素濃度：気道炎症のバイオマーカー

喘息の病態や病像は多様であるが、気道の慢性炎症は一貫した特徴であり、治療の主たる標的である。従来、気道炎症は喀痰や生検組織を用いて評価されてきたが、被検者への侵襲に加え、迅速性に欠けるという欠点があった。非侵襲的かつリアルタイムに測定が可能な呼気中の一酸化窒素（nitric oxide：NO）濃度は下気道的好酸球性炎症を反映するため、喘息の診断やステロイド薬の反応性の予測に有用である^{1,2)}。また、治療による呼気NO濃度の変化は症状や気流制限の改善と関連するため、喘息のモニタリングや治療ガイドにおける役割が期待されている。呼気NO検査は気道炎症のバイオマーカーとして2013年6月に本邦で保険適用された。

NOは一酸化窒素合成酵素（nitric oxide synthase：NOS）を触媒として、生体内でL-アルギニンがL-シトルリンに転換されるときに産生される（図1）。NOSには3種類のアイソフォームが知られており、その活性化機構、発現様式、および細胞内局在が明らかにされている（表1）。神経細胞、骨格筋細胞等に存在する神経型NOS（neuronal NOS：nNOS）および血管内皮細胞などに存在する内皮型NOS（endothelial NOS：eNOS）は、いずれも構成型NOS（constitutive NOS：cNOS）であり、酵素活性発現にはアゴニスト（アセチルコリンなど）の刺激による細胞質のCa²⁺の濃度上昇が必要であり、Ca²⁺依存性に短時間作用する。一方、炎症性サイトカインやエンドトキシンの刺激によりmRNA（messenger ribonucleic acid）が合成される誘導型NOS（inducible NOS：iNOS）はいったん酵素

山口大学大学院医学系研究科呼吸器・感染症内科学講座

The Latest Information on Respiratory Disease Management. Topics：I. Exhaled nitric oxide measurement：A new diagnostic tool for asthma. Kazuto Matsunaga：Department of Respiratory Medicine and Infectious Disease, Graduate School of Medicine, Yamaguchi University, Japan.

図1 一酸化窒素 (NO) 産生の分子メカニズム

表1 NO合成酵素のアイソフォームと気道における局在部位

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

が合成されると、 Ca^{2+} 濃度に依存せず、cNOSに比べて長期間、大量にNOを産生する。

喘息では、IL (interleukin)-4, IL-5, IL-13を含む炎症性サイトカインを産生するTh2細胞や肥満細胞が活性化している。IL-4やIL-13はSTAT-6 (signal transducer and activator of transcriptoin-6) 転写を介し気道上皮細胞でのiNOS合成を誘導し、多量のNOが産生されるため、喘息患者では健常者に比べ呼気中のNOが高濃度で検出される (図2)³⁾。喘息患者の呼気NO濃度

は喀痰や生検組織を用いて評価した気道の好酸球性炎症の程度と有意に相関し、呼気NO濃度測定は“非侵襲的に下気道の好酸球性炎症を捕捉する検査”と位置付けられている^{1,2)}。一方、同じ炎症性気道疾患でも、慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease : COPD) 患者においては活性酸素によりNOが気道局所で消費されるため、呼気中のNO濃度は高値とならない。

2. 実際の測定方法と留意点

呼気NO濃度は、呼気流速や呼出時の肺気量位など種々の要因による影響を受けるため、測定条件を一定にする必要がある。2005年にアメリカ胸部疾患学会とヨーロッパ呼吸器学会による標準測定法が提唱されている⁴⁾。①呼気NO濃度は呼出の流速に依存して変化するため、測定時

図2 呼気NO濃度と呼吸器疾患

(Ichinose M, et al : Am J Respir Crit Care Med 162 : 701-706, 2000 より改変)

に50 ml/秒の呼気流速を保つ、②全肺気量位から呼出する、③鼻腔など上気道由来のNOを下気道由来のNOから分離するため、呼出時に口腔内圧を5～15 cmH₂Oに高めて軟口蓋を閉鎖する、④呼気NOは呼出初期に鼻腔や死腔由来のNOが混入したピーク相を形成し、その後、一定のプラトー相を形成する。このプラトー相のNOは、呼出時に適切な口腔内圧がかけられ、呼出速度が一定であれば安定した値を示し、これを下気道由来の呼気NO濃度とする(図3)^{4,5)}。

2016年1月時点で本邦において保険承認されている呼気NO濃度測定機器は、NIOX MINO[®]、NIOX VERO[®] (ともにチェスト社)、NObreath[®] (原田産業) の3機種がある。

3. 喘息の診断やCOPDとの鑑別における役割

喘息の診断では、夜間や早朝に出現しやすい発作性の喘鳴や呼吸困難、反復する咳嗽などの特徴的な症状に加え、可逆性の気流制限や気道過敏性の亢進が目安として重要である。アトピー素因や気道炎症の存在(喀痰中好酸球増多、呼気NO濃度上昇)は喘息の診断を支持す

図3 呼気NO濃度の実際の測定波形

(平野綱彦, 他: 呼吸 28 : 753-758, 2009)

図4 日本人の呼気NO濃度の正常値と正常上限値
(Matsunaga K, et al : Allergol Int 59 : 363-367, 2010)

る¹⁾(表2)。

呼気NO検査の臨床応用に向けては具体的な基準値が必要である。日本人における正常値の算出試験では成人健常者における呼気NO濃度の平均値は15 ppb, 統計学的な正常上限値は37 ppbと算出された(図4)⁶⁾。成人において、性別、身長、BMI (body mass index)などの因子は呼気NO値に有意な影響を与えなかった。さらに、喘息診断の目安となる呼気NO値を算出するために、呼吸器症状がなく呼吸機能が正常な成人健常者と喘息を疑う呼吸器症状があり気道可逆性かつ/または気道過敏性亢進を有するステロイド未治療喘息患者の呼気NO濃度が比較された⁷⁾。喘息患者の呼気NO濃度は健常者と比べて有意に高値であり(図5)、両群を弁別するカットオフ値は22 ppb(感度91%, 特異度84%)

と算出された。ROC (receiver operating characteristic) 解析での曲線下面積 (area under the curve : AUC) は0.90であり、喘息を疑わせる症状に加えて呼気NO値が22 ppb以上ならば喘息の可能性が高いことがわかる。一方、健常者の正常上限値である37 ppbの喘息診断における感度は52%, 特異度は99%であり、この値を適用した場合は、非喘息患者を喘息と診断する可能性は極めて低く、ほぼ確実に喘息と診断できるものの、喘息を見落とす危険性は高くなる点に留意する必要がある。

さらに、この集団を対象とした多変量解析では、現在の喫煙と鼻炎合併が呼気NO濃度に有意な影響を与える個体因子として抽出された。喘息の有無にかかわらず、鼻炎を有する症例は鼻炎がない症例に比べて呼気NO濃度が有意に上

図5 喘息の補助診断における呼気NO濃度の参照値
(Matsunaga K, et al : Allergol Int 60 : 331-337, 2011)

表2 喘息診断の目安 (日本アレルギー学会：喘息予防・管理ガイドライン2015より)

1. 発作性の呼吸困難，喘鳴，胸苦しさ，咳（夜間，早朝に出現しやすい）の反復
2. 可逆性の気流制限
3. 気道過敏性の亢進
4. アトピー素因の存在
5. 気道炎症の存在
6. 他疾患の除外

上記の1, 2, 3, 6が重要である。
4, 5の存在は症状とともに喘息の診断を支持する。
5は通常，好酸球性である。

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⁷⁾。喫煙および鼻炎合併の有無で対象を4つの群に分けたサブ解析において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22 ppb，鼻炎がある非喫煙者で28 ppb，鼻炎のない現喫煙者で18 ppb，鼻炎のある現喫煙者では22 ppbであった（図6）。このようにカットオフ値は宿主因子の影響で変動したが，全ての群で感度と特異度は高く，AUCも0.85以上に保たれており，呼気NO濃度測定は喘

息補助診断のツールとして十分信頼性がある⁷⁾。

吸入されたタバコなどの有害粒子により肺や気道が傷害され，持続性の気流閉塞が生じる疾患であるCOPDは，喘息において鑑別に注意を要する疾患であるとともに，合併症としても重要な疾患である。喘息とCOPDはともに炎症性気道疾患であるが，喘息では好酸球やCD4⁺リンパ球などを中心とする炎症であるのに対し，COPDでは好中球，マクロファージ，CD8⁺リンパ球が主要な炎症細胞であり，両疾患の炎症は質的に異なる^{8,9)}。症状や呼吸機能のみの評価では診断が困難な場合でも，気道炎症の評価は鑑別に有用である。喘息患者とCOPD患者の年齢と気流制限の程度を適合させた比較試験では，喘息患者の呼気NO濃度はCOPD患者よりも有意に高値で，両疾患の鑑別における呼気NO濃度（35 ppb）の感度は91%，特異度は77%と報告されている⁹⁾。

喘息患者の中には，労作時呼吸困難を主訴とし，正常に復することのない気流閉塞を示す場合がある。一方，COPD患者の中には気管支拡張薬で一秒率が正常化しなくても，気道可逆性を

図6 鼻炎合併と喫煙状況を加味した呼気NO濃度カットオフ値
(Matsunaga K, et al : Allergol Int 60 : 331-337, 2011)

表3 COPDで喘息合併を疑う診断の目安 (日本呼吸器学会：COPD診断と治療のためのガイドライン第4版より)

1	喘息症状	発作性の呼吸困難，喘鳴，咳（夜間，早朝に出現しやすい）の反復
2	可逆性気流制限	自然に，あるいは治療により寛解する．PEF値の日内変動20%以上， β_2 刺激薬吸入により1秒量が12%以上増加かつ絶対量で200 mL以上増加
3	気道過敏性の亢進	アセチルコリン，ヒスタミン，メサコリンに対する気道収縮反応の亢進
4	アトピー素因	環境アレルゲンに対するIgE抗体の存在
5	気道炎症の存在	喀痰，末梢血中の好酸球数の増加，呼気中NO濃度上昇
6	鑑別診断疾患の除外	症状が他の心肺疾患によらない

上記項目が1つでも認められ，他の合併症が除外される場合は喘息の合併を疑い，治療方針に反映する
PEF: peak expiratory flow

認める場合がある。このように，喘息とCOPDの特徴を併せ持ち，持続性の気流閉塞を有する症例をasthma-COPD overlap syndrome (ACOS)と呼称する¹⁾。COPD患者では心不全や肺癌などの他疾患を除外したうえで，発作性の呼吸困難や喘鳴，可逆性気流制限，気道過敏性の亢進，アトピー素因，喀痰中好酸球増多や呼気NO濃度の上昇などの気道炎症の存在の1つでも認めれば喘息の合併を考慮し，治療方針に反映すること

が推奨されている (表3)⁸⁾。臨床的には，COPDと診断されている場合でも好酸球性気道炎症を有する症例は少なからず存在する。実際，COPDの患者集団における呼気NO濃度は，平均値で20 ppb程度であるものの幅広い分布を示している (図7)¹⁰⁾。気道炎症からみた場合に喘息合併が強く疑われる35 ppb以上の呼気NO濃度の上昇が，COPD患者の約16%に認められたことが報告されている¹⁰⁾。今後，従来から行われてきた

図7 COPD患者における呼気NO濃度のヒストグラム

(Tamada T, et al : Int J COPD 10 : 2169-2176, 2015)

症状や呼吸機能の評価に、呼気NO濃度による気道炎症評価を加えていくことにより、閉塞性肺疾患（喘息，COPD，ACOS）の管理効率率はさらに向上することが期待される。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：松永和人；講演料（アステラス製薬，アストラゼネカ，MSD，キョーリン製薬，日本ベーリンガーインゲルハイム，ノバルティスファーマ）

文献

- 1) 喘息予防・管理ガイドライン2015. 一般社団法人日本アレルギー学会喘息ガイドライン専門部会監修. 共和企画, 東京, 2015.
- 2) American Thoracic Society, European Respiratory Society : ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. Am J Respir Crit Care Med 171 : 912-930, 2005.
- 3) Ichinose M, et al : Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. Am J Respir Crit Care Med 162 : 701-706, 2000.
- 4) Dweik RA, et al : An official ATS clinical practice guideline : interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. Am J Respir Crit Care Med 184 : 602-615, 2011.
- 5) 平野綱彦, 他 : 新高速応答呼気一酸化窒素濃度測定機器 NA-623N (R) とNIOX-MINO (R) との比較. 呼吸 28 : 753-758, 2009.
- 6) Matsunaga K, et al : Reference ranges for exhaled nitric oxide fraction in healthy Japanese adult population. Allergol Int 59 : 363-367, 2010.
- 7) Matsunaga K, et al : Exhaled nitric oxide cutoff values for asthma diagnosis according to rhinitis and smoking status in Japanese subjects. Allergol Int 60 : 331-337, 2011.
- 8) 日本呼吸器学会COPDガイドライン第4版作成委員会編 : 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4版, メディカルレビュー社, 東京, 2013.
- 9) Fabbri LM, et al : Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 167 : 418-424, 2003.
- 10) Tamada T, et al : Biomarker-based detection of asthma-COPD overlap syndrome in COPD populations. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis 10 : 2169-2176, 2015.