

## ●原 著

## 気管支喘息診断における呼気中一酸化窒素濃度と喀痰中好酸球の同時測定の意義

宇津木光克<sup>a</sup> 岩下 広志<sup>b</sup> 松崎 晋一<sup>c</sup>  
大澤 翔<sup>a</sup> 小野 昭浩<sup>a</sup>

要旨：気管支喘息診断における非侵襲的検査法である呼気中一酸化窒素濃度（fractional exhaled nitric oxide：FeNO）と喀痰中好酸球との同時測定が診断率向上に寄与するか検討した。対象症例104例のうち、喘息診断のカットオフ値とされるFeNO 22ppb以上は66例（感度63%）、FeNO 22ppb未満の38例のうち喀痰中好酸球陽性は30例で、FeNOと喀痰中好酸球を合わせた感度は92%であった。喀痰中好酸球は迅速染色液での短時間の判定が可能であり、FeNOとの組み合わせにより気管支喘息の迅速かつ有力な補助診断法となり得ると考えられた。

キーワード：気管支喘息、喀痰中好酸球、呼気中一酸化窒素濃度

Bronchial asthma, Sputum eosinophil, Fractional exhaled nitric oxide (FeNO)

## 緒 言

気管支喘息は気道の慢性炎症を本態とし、変動性を持った気道狭窄（喘鳴、呼吸困難）や咳などの臨床症状で特徴づけられる疾患と定義されている。気管支喘息には診断基準はなく、「喘息予防・管理ガイドライン2021」にも「診断の目安」として述べられている<sup>1)</sup>。すなわち、自覚症状（発作性の呼吸困難、喘鳴、咳嗽）、可逆性の気流制限、気道過敏性の亢進、気道炎症（好酸球性）の存在などを組み合わせることで診断を行っている。しかし自覚症状は特異性に欠け、気道可逆性検査は症状を認めない際には陰性となる場合があり、気道過敏性検査はその施行に特殊な装置が必要であるなど、それぞれ問題点があり、さらに鋭敏で簡便かつ低侵襲な検査法の出現が望まれてきた。呼気中一酸化窒素濃度（fractional exhaled nitric oxide：FeNO）は好酸球性気道炎症の直接的なバイオマーカーとして注目され、これまで診断の指標とされてきたピークフロー、1秒量、気道過敏性検査を用いるよりも、FeNOや喀痰中好酸球を用いたほうが気管支喘息の診断には優れているという報告もなされ

た<sup>2)</sup>。現在ではFeNO測定は非侵襲的な検査であること、2013年より保険収載されるようになり、日常診療に広く普及している。

一方、日常臨床では問診や症状によって明らかに気管支喘息が疑われるにもかかわらずFeNOが低値である症例、慢性咳嗽で紹介され結果的には咳喘息であったが、初診時のFeNOが低値である症例など、FeNOのみでは初診時での気管支喘息診断が困難な症例も散見される。したがって、上述の喀痰中好酸球を用い、FeNOと組み合わせることで、これらの症例についても客観的に気管支喘息と診断できる可能性があると考えられた。

喀痰中の好酸球比率は、自然に喀出される喀痰あるいは高張食塩水をネブライザー吸入させて誘発した喀痰を用いて細胞成分を解析するもので、喀痰中好酸球増多のカットオフ値は炎症細胞分画の2～3%とするものが多い。一方で、検査方法が煩雑であること、コストがかかる点、リアルタイムの判断ができないことから、汎用性は高いとは言えず、限られた施設でしか施行できないといった短所がある。

当院では気管支喘息の診断に際して、以前より喀痰中好酸球の解析を行っていた。ただし、上述の細胞分画に対する好酸球比率を求める定量的なものではなく、好酸球のみを染色する定性的なものであった。一方で迅速好酸球染色液を使用し、結果判明までに短時間で済むことから、リアルタイムの判断が可能であり、初診時に結果が判明する長所もあった。

本研究において、我々は迅速好酸球染色液を用いることで喀痰中好酸球とFeNOの同時測定を行い、FeNOの

連絡先：宇津木 光克

〒376-0024 群馬県桐生市織姫町6-3

<sup>a</sup> 桐生厚生総合病院内科

<sup>b</sup> 前橋赤十字病院呼吸器内科

<sup>c</sup> 公立館林厚生病院内科

(E-mail: mutsugi@gaea.ocn.ne.jp)

(Received 10 Mar 2021/Accepted 17 Nov 2021)

みと比較して気管支喘息の診断率向上に寄与するか否か、後方視的な検討を行った。

## 研究対象, 方法

### 1. 対象と方法

2015年10月から2020年6月までの4年9ヶ月間に当院を受診し、FeNO測定および喀痰中好酸球検査が施行された患者を対象とした。診療の流れは以下のとおりである。問診および診察にて気管支喘息や咳喘息が疑われた場合、まずFeNO測定を行い、その後喀痰採取を行った。自然に喀出された喀痰、あるいは生理食塩水10mLとサルブタモール (salbutamol) 400 $\mu$ gとの混合液を超音波ネブライザーにて10分間の吸入後に採取した誘発喀痰を用いて喀痰中好酸球を測定した。喀痰提出から結果判明まで約30分で可能であり、その後、結果説明と結果に応じた投薬を行った。

FeNOの測定はNIOX VERO<sup>®</sup> (Aerocrine AB, Solna, Sweden) を用い、喀痰中好酸球検査に際しては迅速好酸球染色液であるエオジノステイン<sup>®</sup> (鳥居薬品, 東京) を用いた。この染色液は好酸球の顆粒は赤く染まり、対照的に青く染まる好中球や粘液分泌物とは明瞭に区別できるものである。しかし、炎症細胞に対する好酸球比率は測定困難であり、検鏡によって、(-):好酸球を認めない、(±):全視野に数個程度、(1+):全視野に点在、(2+):散在して認める、(3+):群在して認める、に分類した。喀痰中好酸球(2+)以上を喀痰中好酸球陽性とし、(1+)以下を陰性とした。評価は当院臨床検査部の職員2人のみで行い、評価者ごとのバイアスを可能な限り排除した。

気管支喘息・咳喘息の診断については、日本アレルギー学会の「喘息予防・管理ガイドライン2015」および「喘息予防・管理ガイドライン2018」、日本呼吸器学会の「咳嗽に関するガイドライン第2版」、「咳嗽・喀痰の診療ガイドライン2019」を参考とし、治療への反応性などの臨床経過や病歴、血液検査結果等を考慮して各診療医が総合的に診断した。また、その後の治療経過および安定期の治療ステップの評価についてはカルテ内容(処方状況など)と医師記載内容から情報収集を行った。

### 2. 統計学的解析

健常者と気管支喘息患者におけるFeNOの比較は対応のないt検定を用いた。また、喀痰中好酸球陽性患者におけるFeNO高値群と低値群での気管支喘息重症度の比較は $l \times m$ 分割表を用いた $\chi^2$ 検定を行った。すべての解析はGraphPad Prism version 5 (GraphPad Software, San Diego, USA) を用いて検討し、統計学的有意差は $p < 0.05$ とした。

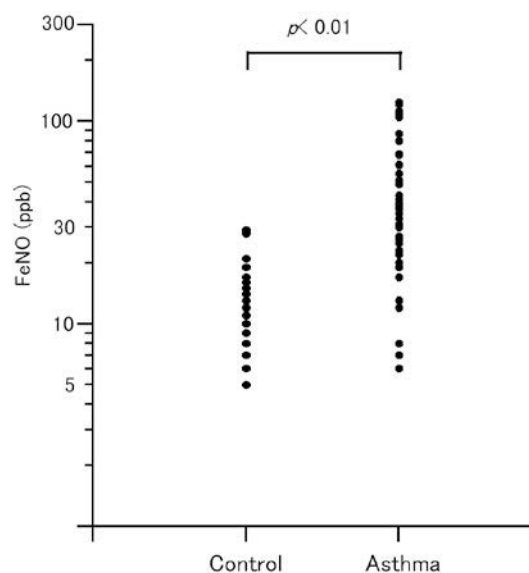


Fig. 1 Scatter blot of fractional exhaled nitric oxide (FeNO) levels in control subjects and in steroid-naive asthmatic patients.

### 3. 倫理的配慮

本研究実施にあたり、桐生厚生総合病院の倫理委員会の承認を得た(承認番号1-K022)。本研究は後方視的研究であり、すでに実施された診療に関して診療録を用いて解析したものである。個人のデータ収集に関しては匿名化し、研究結果の公表に際しては個人が特定できる情報は含まない形で行った。

## 成績

Matsunagaらは気管支喘息診断において、FeNOの至適閾値は22 ppb(感度91%, 特異度84%)であると報告している<sup>3)</sup>。当院においても先行研究として、健常者50人と気管支喘息(咳喘息を含む)患者49人を対象にFeNOの検討を行った(Fig. 1)。健常者と比較し気管支喘息患者はFeNOが有意に高く(12.1 ppb vs 43.8 ppb,  $p < 0.01$ )、FeNOのカットオフ値を22 ppbとした場合、気管支喘息診断に対するFeNOの感度は73%, 特異度は96%であった。

調査期間中にFeNO測定と喀痰中好酸球検査を同時に施行された症例は114人であった。患者背景をTable 1に示す。そのうち気管支喘息・咳喘息と診断された症例は104人(91%)で、気管支喘息・咳喘息症例をFeNOと喀痰中好酸球で分類した結果をTable 2に示す。FeNOの平均は44.7 ppb(5~300 ppb)で、気管支喘息診断のカットオフ値とされる22 ppb以上の症例は66人(感度63%)であった。一方、喀痰中好酸球陽性[(2+)以上]の症例は85人(感度82%)であった。FeNO 22 ppb

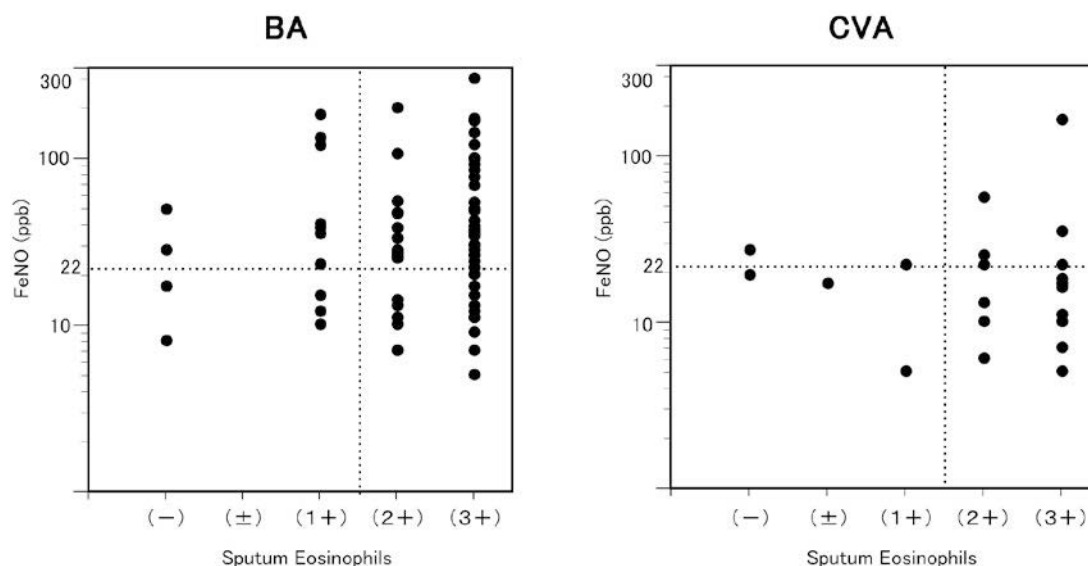
**Table 1** Characteristics of patients

All patients	114
Asthmatic patients	104
Bronchial asthma	81
Cough-variant asthma	23
Non-asthmatic patients	10
Age (year), mean (range)	59 (20-88)
Gender	
Male	48
Female	66
Smoking patients	13 smokers; 27 ex-smokers

**Table 2** Levels of FeNO and sputum eosinophils in BA and CVA group (n=104)

	Number (%)
FeNO $\geq$ 22ppb, with sputum eosinophilia	55 (53%)
FeNO<22ppb, with sputum eosinophilia	30 (29%)
FeNO $\geq$ 22ppb, without sputum eosinophilia	11 (10%)
FeNO<22ppb, without sputum eosinophilia	8 (8%)

FeNO: fractional exhaled nitric oxide, BA: bronchial asthma, CVA: cough-variant asthma.



**Fig. 2** Scatter blot of fractional exhaled nitric oxide (FeNO) and sputum eosinophil levels in bronchial asthma (BA) (left panel) and cough-variant asthma (CVA) (right panel) patients.

未満の38人のうち喀痰中好酸球陽性は30人であり、FeNOと喀痰中好酸球を組み合わせた気管支喘息診断の感度は92%であった。喘息と診断されなかった10例の内訳は百日咳4例、胃食道逆流が3例、感染後咳嗽が2例、アトピー咳嗽1例であった。FeNO 22ppb未満かつ喀痰中好酸球陰性 [(1+) 以下] の症例が6例であり、特異度は60%であった。残りの4例の内訳は、喀痰中好酸球陽性でFeNO 22ppb未満が2例、FeNO 22ppb以上で喀痰中好酸球陰性が2例、FeNO 22ppb以上かつ喀痰中好酸球陽性の症例は認めなかった。

次に気管支喘息と咳喘息それぞれの検討を行った。気管支喘息 (81例) においては、FeNO 22ppb以上の症例は58人 (感度72%)、喀痰中好酸球陽性の症例は67人 (感度83%)、FeNOと喀痰中好酸球を組み合わせた気管支喘息診断の感度は94%であった。現喫煙者や慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease :

COPD) 患者はFeNOが低値となる傾向があると報告されている<sup>3)4)</sup>。今回の検討において気管支喘息症例のうち現喫煙者が12例、COPD合併例は7例存在したが、現喫煙者のうち9例 (75%) およびCOPD合併例のうち6例 (86%) はFeNO 22ppb以上であったことから、喫煙やCOPD合併による気管支喘息診断におけるFeNOの感度低下に対する影響は少ないと考えられた。気管支喘息症例におけるFeNOと喀痰中好酸球の分布をFig. 2左に示す。一方、咳喘息 (23例) においては、FeNO 22ppb以上の症例は8人 (感度35%) と少なく、喀痰中好酸球陽性の症例は18人 (感度78%)、FeNOと喀痰中好酸球を組み合わせた気管支喘息診断の感度は87%であった。現喫煙者およびCOPD合併例は認めなかった。咳喘息症例におけるFeNOと喀痰中好酸球の分布をFig. 2右に示す。

最後に喘息診断後の治療経過について検討した。気管支喘息・咳喘息症例のうち喀痰中好酸球陽性であったが



FeNOが22ppb未満の症例(30例)において、治療開始後安定期の治療ステップの割合はステップ1が5例(17%)、ステップ2が15例(50%)、ステップ3が5例(17%)、ステップ4が5例(17%)であった。一方、喀痰中好酸球陽性かつFeNO 22ppb以上の症例(55例)における治療ステップの割合はステップ1が14例(25%)、ステップ2が19例(35%)、ステップ3が14例(25%)、ステップ4が8例(15%)であり、これら2群の治療ステップの割合には有意差を認めなかった( $p=0.46$ )。ステップ4のうち症状コントロールのために生物学的製剤を使用した症例が5例[オマリズマブ(omalizumab):1例、ベンラリズマブ(benralizumab):4例]存在したが、そのうち3例(オマリズマブ:1例、ベンラリズマブ:2例)は診断時のFeNOが22ppb未満(7ppbが2例、20ppbが1例)で、喀痰中好酸球陽性であった。

## 考 察

気管支喘息・咳喘息の診断においてFeNO測定は非侵襲的であり有力なツールである。本研究で使用したNIOX VERO®の前機種であるNIOX MINO®を用いた検討において、日本人の成人健常者の上限値は約37ppbとされている<sup>5)</sup>。気管支喘息診断におけるFeNOの至適閾値は22ppb(感度91%、特異度84%)であり<sup>3)</sup>、気管支喘息治療前で発作性喘鳴などの喘息を疑わせる症状に加えてFeNOが22ppb以上であれば喘息である可能性が高く、37ppb以上であればほぼ確実に喘息と診断できる。また、慢性咳嗽患者の咳喘息診断におけるFeNOの有用性も報告されている<sup>6)7)</sup>。一方で、我々の検討(Fig.1)、および上記の各報告における気管支喘息・咳喘息患者のFeNO分布をみると、FeNO低値の患者が存在しており<sup>3)6)7)</sup>、FeNO以外の診断ツールの活用が必要と考えられる。

今回我々は迅速好酸球染色液を使用し喀痰中好酸球を短時間で検出することで、FeNOと合わせた気管支喘息・咳喘息の診断率についての検討を行った。迅速好酸球染色液は好酸球のみを染色する定性的なものであるが、今回、検鏡による好酸球の程度によって5段階に分類し、そのうち喀痰中好酸球陽性を(3+)と(2+)の上位2段階のみとし、可能な限り偽陽性を避けるようにした。実際、喀痰中好酸球(1+)以上を喀痰中好酸球陽性としたときの気管支喘息・咳喘息における感度は93%、特異度は70%、喀痰中好酸球(2+)以上を喀痰中好酸球陽性としたときの感度は82%、特異度は80%、喀痰中好酸球(3+)以上を喀痰中好酸球陽性としたときの感度は57%、特異度は80%であった。このことから感度と特異度を考慮すると喀痰中好酸球(2+)以上を喀痰中好酸球陽性とするのが適当であると考えられた。この感度はFeNO 22ppbをカットオフとしたときの感度(63%)よ

りも上昇していた。さらに、喀痰中好酸球とFeNOを組み合わせた気管支喘息・咳喘息診断の感度は92%であった。次に気管支喘息と咳喘息それぞれについても検討を行ったところ、咳喘息に関してはFeNOの感度が35%と低値であった。Asanoらは咳喘息や咳優位な喘息において、FeNOがカットオフ値を下回る割合が40%(咳喘息のみでは50%)でありFeNOが低値の場合には咳喘息や咳優位な喘息を除外できないと報告している<sup>7)</sup>。今回、咳喘息において、喀痰中好酸球とFeNOとの組み合わせによりその感度は87%まで上昇していた。以上のことから、気管支喘息、特に咳喘息の診断において、FeNOと喀痰中好酸球との同時測定は迅速かつ有力な補助診断法となり得ると考えられた。喀痰採取に関しては、自然に喀出できない場合は喀痰誘発が必要となる。その方法についてはEuropean Respiratory Societyのワーキンググループで以下のように報告されている<sup>8)</sup>。①1mL/min程度の出力流量の超音波ネブライザーを用いる。②採取前に200~400 $\mu$ gのサルブタモール吸入を行う。③吸入する食塩水の濃度は固定濃度、あるいは漸増濃度のいずれかを用いる。食塩水の濃度は文献により0.9~7%と変動がある。④1回の吸入は5分間とし、計20分以内とする。⑤吸入前後に1秒量を測定し、20%以上の低下がみられたら中止する。

当院では上記を参考に気道攣縮のリスクを回避しつつ喀痰採取の確率を上げるため、生理食塩水10mLとサルブタモール400 $\mu$ gとの混合液を超音波ネブライザーにて10分間吸入後に喀痰を採取する方法を行った。生理食塩水を用いた本法でも喀痰誘発は可能であったが、喀出困難の症例も認められた。気管支喘息診断における喀痰中好酸球の感度を検討した報告においても、17症例中3例で喀痰採取が困難であったと記載されている<sup>2)</sup>。このため、気管支喘息診断においては喀痰中好酸球のみではなく、より侵襲の少ないFeNOとの併用が望ましいと考えられた。一方で、気管支喘息患者において自然に喀出された喀痰と誘発喀痰との炎症細胞分画はほぼ同様との報告があり<sup>9)</sup>、自然に喀出できる場合の喀痰誘発は不要であると思われた。

次に診断後の治療経過について考察する。喀痰中好酸球陽性の気管支喘息・咳喘息患者において、FeNO 22ppb以上と22ppb未満の群に分け、治療開始後安定期の治療ステップの割合を検討したが、その割合は同様であった。逆にFeNO 22ppb未満の群のほうが生物学的製剤使用の割合が多かった(5例中3例)。メタ解析において、喀痰中好酸球を指標とした気管支喘息のコントロールは増悪を減少させる一方で、FeNOは対照群と比較して有意差を認めなかったと報告されている<sup>10)</sup>。このため、喀痰中好酸球測定は気管支喘息・咳喘息の診断のみならず、気

管支喘息・咳喘息のコントロールの指標となる有力なツールであると考えられた。実際、当院では経口ステロイド内服中にもかかわらず喀痰中好酸球陽性の症例に対して生物学的製剤を導入することでコントロール良好となった症例を多く経験している。

当院では気道過敏性試験が施行できないため、慢性咳嗽患者に対する咳喘息の診断を主に気管支拡張剤や吸入ステロイドの反応性で評価している。このため、吸入ステロイドの効果があるようなアトピー性咳嗽を完全に除外することができない。また、好酸球性気道炎症が軽度な好中球主体の気管支喘息症例では陽性とならない可能性もある。一方で、当院は地域医療支援病院であり、慢性咳嗽を主訴に診療所から紹介となる患者も多く、適切な診断と治療が求められている。慢性咳嗽にて紹介され、FeNO低値のみで咳喘息を診断から除外し、吸入ステロイド導入が遅れてしまうことは避けるべきであると考えられる。喀痰中好酸球検査は気道の好酸球炎症を直接的に反映できる点において重要な検査法の一つである。しかし喀痰採取が難しい場合には誘発喀痰が必要な場合があることや、採取後の処理のため技術や手間が必要であることが本検査の難点である。本研究は、喀痰誘発法の簡素化や迅速好酸球染色液の使用により喀痰中好酸球検査を簡便かつ迅速に行うことで、気管支喘息診断における有用性を示したものである。今回は後ろ向き研究であったが、今後は前向き研究を行い、その確固たる有用性を示していきたい。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関して申告なし。

## 引用文献

- 1) 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、「喘息予防・管理ガイドライン2021」作成委員。喘息予防・管理ガイドライン2021。2021；5-7。

- 2) Smith AD, et al. Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 473-8.
- 3) Matsunaga K, et al. Exhaled nitric oxide cutoff values for asthma diagnosis according to rhinitis and smoking status in Japanese subjects. *Allergol Int* 2011; 60: 331-7.
- 4) Ichinose M, et al. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 701-6.
- 5) Matsunaga K, et al. Reference ranges for exhaled nitric oxide fraction in healthy Japanese adult population. *Allergol Int* 2010; 59: 363-7.
- 6) Chatkin JM, et al. Exhaled nitric oxide as a noninvasive assessment of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1810-3.
- 7) Asano T, et al. Diagnostic utility of fractional exhaled nitric oxide in prolonged and chronic cough according to atopic status. *Allergol Int* 2017; 66: 344-50.
- 8) Paggiaro PL, et al. Sputum induction. *Eur Respir J Suppl* 2002; 37: 3s-8s.
- 9) Pizzichini MM, et al. Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 866-9.
- 10) Petsky HL, et al. A systematic review and meta-analysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils). *Thorax* 2012; 67: 199-208.

**Abstract****Diagnostic utility of measuring both fractional exhaled nitric oxide and sputum eosinophils simultaneously in bronchial asthma**

Mitsuyoshi Utsugi<sup>a</sup>, Hiroshi Iwashita<sup>b</sup>, Shinichi Matsuzaki<sup>c</sup>,  
Shou Ohsawa<sup>a</sup> and Akihiro Ono<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Department of Internal Medicine, Kiryu Kosei General Hospital

<sup>b</sup>Department of Respiratory Medicine, Japanese Red Cross Maebashi Hospital

<sup>c</sup>Department of Internal Medicine, Tatebayashi Kosei General Hospital

We investigated whether simultaneous measurements of fractional exhaled nitric oxide (FeNO) and sputum eosinophils, which are noninvasive tests for the diagnosis of bronchial asthma, contribute to improving diagnostic accuracy in bronchial asthma. We retrospectively analyzed 104 patients diagnosed with bronchial asthma. Among 104 patients, 66 cases (sensitivity 63%) were positive for FeNO levels at 22 parts per billion (ppb), which is the optimal cutoff value reported previously, or more, and 85 cases (sensitivity 82%) were positive for sputum eosinophils. Of 38 cases with FeNO levels less than 22 ppb, 30 cases were positive for sputum eosinophils. The sensitivity was 92% when FeNO levels were 22 ppb or higher or when patients tested positive for sputum eosinophils. We conclude that simultaneously measuring FeNO and sputum eosinophils is superior to measuring FeNO alone in the diagnosis of bronchial asthma, because the measurement of sputum eosinophils is quick and easy to perform using a rapid staining solution.