

# 気管支喘息患者の誘発喀痰中トロンボキサンB2及びロイコトリエンC4と気道過敏性

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/4531">http://hdl.handle.net/2297/4531</a>

## 気管支喘息患者の誘発喀痰中トロンボキサン $B_2$ および ロイコトリエン $C_4$ と気道過敏性

金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻細胞移植学  
(旧講座名：内科学第三)  
(主任：中尾眞二教授)

広 瀬 達 城

症状安定期の気管支喘息患者の気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavages fluid, BALF) 中には、トロンボキサン (thromboxane, TX)  $A_2$  の代謝産物である TXB $_2$  の増加がみられるとの報告や、有症状の気管支喘息患者の BALF ではスルファイド・ロイコトリエン (sulfide-leukotriene, sLT) の増加が認められるとの報告がある。さらに、気管支喘息患者では TXA $_2$  受容体拮抗薬や sLT 受容体拮抗薬の投与によって気道過敏性が改善するとの報告も見られ、これらのアラキドン酸代謝産物が気道過敏性を亢進させる要因の一つであると考えられている。近年、気管支喘息患者の誘発喀痰中の炎症性メディエーターやサイトカインの測定が、誘発喀痰採取の安全性と簡便性から多く報告されるようになった。しかし、喀痰中の TXA $_2$  や sLT を測定した報告はなく、さらにこれらの脂質メディエーターと気道過敏性との関連も不明である。本研究では、気管支喘息患者の誘発喀痰中 TXB $_2$  およびロイコトリエン (leukotriene, LT)  $C_4$  濃度を測定し、これらと気道過敏性、呼吸機能および喀痰中炎症細胞との関係を検討した。安定期の気管支喘息患者 25 名 (男性 16 名、女性 9 名、平均年齢 53 ± 4 歳) を対象とした。呼吸機能とメサコリンに対する気道過敏性 (The methacholine concentration producing a 20% fall in FEV $_1$ , PC $_{20}$ -FEV $_1$ ) を測定した後、誘発喀痰を採取した。喀痰中の TXB $_2$  濃度と LTC $_4$  濃度は ELISA 法により測定した。喀痰中の炎症細胞分画は塗抹標本を作成し、ギムザ染色を施して算定した。喀痰中 TXB $_2$  濃度は、PC $_{20}$ -FEV $_1$  と有意な負の相関を認めたが、努力肺活量 (forced vital capacity, FVC) および一秒量 (forced expiratory volume in one second, FEV $_1$ ) との相関は認めなかった。一方、喀痰中 LTC $_4$  濃度は、FVC, FEV $_1$ , PC $_{20}$ -FEV $_1$  のいずれとも有意な相関を認めなかった。喀痰中好酸球比率もまた、FVC, FEV $_1$ , PC $_{20}$ -FEV $_1$  のいずれとも有意な相関を認めなかった。以上より、TXA $_2$  は気管支喘息の気道過敏性亢進に関与している可能性が示唆された。また、症状の安定している気管支喘息患者の気道過敏性亢進における気道の好酸球と LTC $_4$  の関与は否定的と考えられた。

**Key words** bronchial hyperresponsiveness, thromboxane  $A_2$ , leukotriene  $C_4$ , induced sputum

気管支喘息は可逆性のある気道狭窄をきたす疾患であり、慢性の気道炎症と気道過敏性の亢進<sup>1)</sup>を特徴とする。気道過敏性とは、様々な物理的変化や化学物質、薬剤等に対して、気管支平滑筋が過敏な収縮反応を示す状態と定義される<sup>1)</sup>。これは、先天的な気道過敏性亢進に、気道炎症、気道上皮障害、気道の自立神経の変化、気道壁の肥厚などの後天的な因子による気道過敏性の亢進が加わって形成されると考えられている。気道過敏性亢進の程度が気管支喘息の重症度と相関すること<sup>2)</sup>、ステロイド等を用いた喘息の治療により気道過敏性も改善すること<sup>3)</sup>、気道閉塞の日内変動の程度が気道過敏性の亢進と相関すること<sup>4)</sup>等が報告されており、気道過敏性の評価は気管支喘息の診断、重症度の評価や治療効果の判定に有用であると考えられる。また気道過敏性の亢進には気道炎症が深く関与している可能性がある。

気道炎症は、気道に浸潤する好酸球、好中球、肥満細胞、T

細胞等の炎症細胞と、気道上皮細胞等の気道構成細胞が放出する炎症性メディエーターとサイトカインの相互作用により生じると考えられている。慢性気道炎症の形成に関与するものとして、好酸球顆粒内蛋白 (eosinophil cationic protein, ECP)、好酸球ペルオキシダーゼ (eosinophil peroxidase, EPO)、ミエロペルオキシダーゼ (myeloperoxidase, MPO)、インターロイキン (interleukin, IL) -4 や IL-5 などのサイトカインが注目されており、気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavages fluid, BALF) や誘発喀痰等での増加が報告されている<sup>5)~9)</sup>。スルファイド・ロイコトリエン (sulfide-leukotriene, sLT)、プロスタグランジン (prostaglandin, PG)、トロンボキサン (thromboxane, TX)  $A_2$  などのアラキドン酸代謝産物もまた、気道収縮、気道過敏性亢進、血管透過性亢進、気道分泌亢進などの作用を有し、気管支喘息における慢性気道炎症の形成に深く関与していると考えられている。気管支喘息患者の BALF 中には sLT や TXA $_2$  の代謝産物で

平成 14 年 5 月 21 日受付、平成 14 年 7 月 17 日受理

Abbreviations : BALF, bronchoalveolar lavages fluid; BDP, beclomethasone propionate; 11-DHTXB $_2$ , 11-dehydrothromboxane  $B_2$ ; DTT, dithiothreitol; ECP, eosinophil cationic protein; EPO, eosinophil peroxidase; FEV $_1$ , forced

あるTXB<sub>2</sub>の増加がみられると報告されている<sup>100-103</sup>。

気管支喘息の気道過敏性亢進の成立には、気道炎症などのいくつかの因子が関与しており、気管支喘息の病態に深く関わっていると考えられている。好酸球と気道過敏性亢進との関連は古くより知られており、BALF中や喀痰中の好酸球比率と気道過敏性亢進との間に有意な負の相関関係が認められたと報告されている<sup>104</sup>。サイトカインと気道過敏性との関連も示唆されており、気管支喘息患者のBALF中ECP濃度やIL-5濃度が気道過敏性亢進と負の相関を示すとの報告<sup>97</sup>があり、さらにBALF中のIL-4及びIL-5 mRNA陽性細胞数と気道過敏性亢進の程度が相関すること<sup>99</sup>が報告されている。近年、気管支喘息患者において、TXA<sub>2</sub>拮抗薬やsLT受容体拮抗薬の投与により気道過敏性が改善したとの報告もあり<sup>105,107</sup>、TXA<sub>2</sub>やsLTなどの脂質メディエーターも気管支喘息の気道過敏性の亢進に深く関わっていると考えられる。

以上のように、各種炎症性メディエーターと気道過敏性亢進との関連が報告されていることから、気道過敏性亢進と関連する炎症マーカーの測定は、気管支喘息に対する長期管理の評価にも有用であると考えられる。末梢血や尿を用いてECP、MPO、IL-5等を測定した報告が見られるが<sup>108-110</sup>、これらは検出した炎症マーカーが気道炎症に由来したものなのかどうかの判定が困難であり、気道炎症を評価するには直接的に気道炎症を反映するBALFや喀痰を用いるべきと考えられる。しかしながら、BALFの採取は比較的侵襲的であり、日常診療において繰り返し測定するのは困難である。一方、高張食塩水を用いた誘発喀痰の採取は比較的安かつ簡便であるため、気道炎症を評価する方法として多く報告されるようになった<sup>211-214</sup>。しかし、気管支喘息患者の喀痰中のECP濃度、EPO濃度、MPO濃度などに関する報告はある<sup>7,211-214</sup>ものの、TXA<sub>2</sub>やsLT濃度についての報告はなく、さらには、BALF中のTXA<sub>2</sub>やsLT濃度と気道過敏性との関連についての報告もみられない。

本研究では気管支喘息におけるTXA<sub>2</sub>とsLTの関与を検討するため、気管支喘息患者の誘発喀痰中のロイコトリエン(leukotriene, LT) C<sub>4</sub>濃度と、TXA<sub>2</sub>の代謝産物であるTXB<sub>2</sub>濃度を測定し、呼吸機能や気道過敏性との関連性を検討した。

## 方法および対象

### I. 対象

金沢大学医学部附属病院血液・呼吸器内科の外来に通院中で、症状が安定している気管支喘息患者25例を対象とした(表1)。気管支喘息の診断は、アメリカ胸部疾患学会(ATS)による気管支喘息の診断基準<sup>29</sup>に従い、発作性の喘鳴、咳嗽、呼吸困難などの症状を反復して起こし、可逆性の気道狭窄を認めるものとした。すべての対象患者において、呼吸器感染症状やステロイドの全身投与を必要とする喘息発作は本研究実施前4週間以内には認めなかった。使用薬に関しては、β<sub>2</sub>刺激薬、テオフィリン薬、吸入ステロイド薬の使用者は対象患者に含めたが、経口ステロイド薬やその他の抗アレルギー薬の使用者は対象患者から除外した。尚、各対象患者に対し、本研究の目的と内容につき十分に説明して同意を得た後、本研究を実施した。症例

の内訳は男性16例、女性9例の計25例であり、平均年齢は53±4歳(中央値59歳、20~83歳)、罹病期間は5.1±1.6年(中央値3年、1ヶ月~39年)であった。また11例はプロピオン酸ベクロメタゾン(beclo-methasone propionate, BDP)を400から800μg/日(平均304±73μg/日、中央値800μg/日)吸入投与されていた。

### II. 試薬

PBSはニッスイ薬品工業(東京)から、ジチオスレイトール(dithiothreitol, DTT)はSigma(St. Louis, USA)から購入した。塩化メサコリンは和光純薬工業株式会社(大阪)から、生理食塩水及び10%食塩水は大塚製薬(東京)から購入した。硫酸サルブタモールはグラクソ・スミスクライン株式会社(東京)から購入した。

### III. 検査方法と検体の処理

呼吸機能とメサコリン気道過敏性を測定した後、誘発喀痰を採取した。

#### 1. 呼吸機能と気道過敏性の測定

誘発喀痰の採取前に、チェスタック11 CYBER(チェスト株式会社、東京)を用いてスパイロメトリーと努力呼気曲線を測定し、努力肺活量(forced vital capacity, FVC)と1秒量(forced expiratory volume in one second, FEV<sub>1</sub>)を呼吸機能の指標とした。

気道過敏性は、日本アレルギー学会の標準法に従い、塩化メサコリンを吸入負荷して測定した<sup>260</sup>。塩化メサコリンを生理的食塩水で倍々希釈して塩化メサコリン溶液(39~16×10<sup>4</sup>μg/ml)を作成し、5l/分の圧縮空気で作動させたDeVilbiss 646ネプライザー(DeVilbiss Co., Somerset, USA)を用いて安静換気下に2分間吸入させ、FEV<sub>1</sub>が基礎値より20%低下するまで順次2倍濃度の塩化メサコリン溶液の吸入を繰り返した。吸入塩化メサコリン濃度とFEV<sub>1</sub>の低下率の濃度反応曲線から、FEV<sub>1</sub>が20%低下した塩化メサコリン濃度(The methacholine concentration producing a 20% fall in FEV<sub>1</sub>, PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>)を算出し、気道過敏性の指標とした。ネプライザーの出力は0.14ml/分であった。

#### 2. 誘発喀痰の採取と処理

誘発喀痰は、Pinら<sup>271</sup>の高張食塩水吸入法に従って採取した。水道水で十分に含嗽をした後、室温の5%食塩水を超音波ネプライザー(オムロンコンプレッサー式吸入器NE-C11, オムロン、大阪)を用いて30分間吸入した。ネプライザーの出力は0.3ml/分であった。3~5分ごとに背部をタッピングし、喀痰の排出を促した。唾液や鼻汁の混入を防ぐために喀痰の喀出前にも含嗽と鼻かみをさせ、喀痰は滅菌容器に喀出させた。高張食塩水の吸入による喘息発作の誘発を予防するために、高張食塩水の吸入前に硫酸サルブタモール200μgの吸入を行なった。

喀出された喀痰からすみやかに上清を分離採取した。滅菌容器中の検体から、唾液と思われる水性の部分を除き、ピペット

expiratory volume in one second; FVC, forced vital capacity; IL, interleukin; LT, leukotriene; MPO, myeloperoxidase; the methacholine concentration producing a 20%, PC<sub>20</sub>; PG, prostaglandin; sLT, sulfide-leukotriene; TX, thromboxane

を用いて喀痰と思われる成分を採取した。その後、Avordら<sup>20</sup>の方法を一部改変して喀痰の均質化を行なった。すなわち、検体の重量を測定し、検体と同量の0.1%DTTを添加し、十分に攪拌後、37℃にて15分間静置した。その後、検体と同量のPBSを添加し、ナイロンガーゼにて濾過した後、1000回転(900g)で10分間遠心して上清を回収した。回収した上清は-80℃にて冷凍保存し、TXB<sub>2</sub>濃度とLTC<sub>4</sub>濃度の測定に用いた。滅菌容器から喀痰成分を採取する際に、検体の一部を塗抹標本とし、ギムザ染色を行なった。炎症細胞を300個カウントし、喀痰中の好酸球と好中球比率を算出した。なお塗抹標本上、マクロファージを含まないものや扁平上皮が多く含まれているものは、唾液成分が多く含まれていると判断されるため、あらかじめ今回の検討から除外した。

### 3. TXB<sub>2</sub>, LTC<sub>4</sub>の測定

凍結保存した誘発喀痰上清中のTXB<sub>2</sub>濃度とLTC<sub>4</sub>濃度をELISA法によって測定した。TXA<sub>2</sub>の化学的半減期は約30秒と短く、速やかにTXB<sub>2</sub>に代謝されるため、TXA<sub>2</sub>産生量の指標としてTXB<sub>2</sub>濃度を測定した。

TXB<sub>2</sub>の測定はNeogen社(Lexington, USA)のELISAキットを用いて実施した。あらかじめ抗TXB<sub>2</sub>ウサギ抗体をコーティングされている96ウェルのマイクロプレートの各ウェルに、喀痰上清50 μlとTXB<sub>2</sub>ホースラディッシュペルオキシダーゼ50 μlを加え、室温で1時間インキュベーションした。その後、洗浄液にて10回洗浄し、150 μlの安定化3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン過酸化水素を加えて30分間反応させた後、自動吸光度計EAR340AT(SLT, Vienne, Austria)を用いて、波長405 nm

における吸光度を測定した。

LTC<sub>4</sub>の測定は、Caymen社(Ann Arbor, USA)のELISAキットを用いて実施した。あらかじめマウス抗LTモノクローナル抗体がコーティングされている96ウェルのマイクロプレートのウェルに、喀痰上清50 μl, LTC<sub>4</sub>アセチルコリンエステラーゼ結合体50 μlおよび抗LTC<sub>4</sub>血清50 μlを加え、室温で18時間インキュベートした。洗浄液にて10回洗浄後、エルマン試薬を200 μl加え、TXB<sub>2</sub>と同様に吸光度を測定した。

吸光度の値から、標準曲線をもとに喀痰上清中のTXB<sub>2</sub>とLTC<sub>4</sub>の濃度を測定した。なお、喀痰中のTXB<sub>2</sub>とLTC<sub>4</sub>濃度は高値であったため、標準曲線を用いて評価できるように、あらかじめ喀痰上清をEIA溶液にて10倍に希釈して測定した。

### IV. 統計学的分析

TXB<sub>2</sub>濃度, LTC<sub>4</sub>濃度, FVC, FEV<sub>1</sub>, 喀痰中好酸球比率および喀痰中好中球比率の結果は、平均±標準偏差で示した。PC<sub>20</sub>FEV<sub>1</sub>値は、幾何平均(幾何標準誤差, GSEM)で示した。2変量間の相関関係は、一次回帰分析を用いて検定した。この際PC<sub>20</sub>FEV<sub>1</sub>値は、底10のlog値を用いて解析した。危険率が0.05未満を統計学的有意差ありと判定した。

## 結 果

### I. 患者背景と呼吸機能

患者背景とFEV<sub>1</sub>, FVC, PC<sub>20</sub>FEV<sub>1</sub>を表1に示す。FEV<sub>1</sub>の平均値は2.53 ± 0.21 l, PC<sub>20</sub>FEV<sub>1</sub>は0.94 (GSEM, 0.17) mg/mlであった。

Table 1. Subject characteristics

Subject No.	Age (yr)	Sex	Smoking	Height (cm)	Weight (kg)	Duration of illness (yr)	FVC (% pred*)	FEV <sub>1</sub> (% pred*)	PC20-FEV <sub>1</sub> ** (mg/ml)	Treatment
1	37	M	NS	183	63	5	113.8	100.3	80	Sa
2	77	F	NS	150	50	2	104.2	103.3	0.181	Sa, BDP 400
3	30	M	NS	166	60	4	116.9	94.3	8.98	Sa
4	42	M	NS	180	95	0.1	153.9	122.3	40	Sa
5	22	M	NS	166	55	1	100.3	81.3	0.11	Sa, BDP 800
6	75	M	EX	156	70	15	93.1	87.5	80	Sa
7	52	F	NS	145	51	5	115.2	95	0.996	Sa, BDP 600
8	25	M	NS	161	85	4	105.6	92.4	0.552	Sa, BDP 800
9	65	M	EX	169	56	3	114.9	105.5	0.803	Sa
10	63	F	NS	155	55	1	132.7	110.1	0.575	Sa, BDP 800
11	20	F	NS	158	46	5	105.1	90.1	0.078	Sa
12	74	M	SM	157	42	3	90.3	52.2	0.137	Sa
13	65	F	NS	151	53	2	93.5	94.8	4.135	Sa, BDP 800
14	27	M	NS	175	63	1	113.3	104.6	1.165	Sa, BDP 800
15	62	M	EX	161	70	7	136.3	116.2	0.163	Sa
16	21	M	NS	175	50	2	111.1	93.1	1.541	Sa
17	75	M	EX	165	55	3	112.5	88.5	0.245	Sa
18	83	M	NS	152	50	1	76.3	85.8	0.316	Sa
19	76	M	NS	160	55	3	95.5	101.7	9.838	Sa, BDP 600
20	40	F	SM	167	53	2	118.5	100.5	0.203	Sa, BDP 400
21	56	F	NS	160	52	3	132.2	77.5	0.078	Sa
22	34	F	SM	153	68	10	121.8	95.9	0.078	Sa, BDP 800
23	59	F	NS	150	53	39	95	65.4	0.25	Sa, BDP 800
24	78	M	SM	155	51	5	114	114.7	0.818	Sa
25	63	M	SM	165	60	1	122.5	96.6	7.05	Sa
$\bar{X}$ +	53			161.4	58.4	5.1	111.5	94.8	0.938	
SEM++	4			2.0	2.4	1.6	3.4	3.1	0.17	

BDP (μg), beclomethasone dipropionate via metered-dose inhaler (daily inhalation dose); CS, current smoker; EX, ex-smoker; F, female; M, male; NS, non-smoker; Sa, salbutamol via metered-dose inhaler on demand.

\* Expressed as percentage of the predicted value, \*\* Methacoline concentration causing a 20% fall on entry day.

+ Geometric mean. ++ Geometric standard error of the mean.

Ⅱ. 誘発喀痰の成績

喀痰中好酸球比率, 喀痰中好中比率, TXB<sub>2</sub>濃度, LTC<sub>4</sub>濃度を表2に示す. TXB<sub>2</sub>濃度は0.60 ± 0.11 ng/ml, LTC<sub>4</sub>濃度は0.90 ± 0.16 ng/mlであった.

Ⅲ. 呼吸機能と誘発喀痰中マーカーの関係

喀痰中TXB<sub>2</sub>濃度とLTC<sub>4</sub>濃度は, いずれも%FEV<sub>1</sub>, %FVCと

有意な相関を認めなかった(図1, 図2). 喀痰中好酸球比率とFEV<sub>1</sub>の間にも有意な相関は認めなかった(図3).

Ⅳ. 気道過敏性と誘発喀痰中マーカーの関係

PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>と誘発喀痰中TXB<sub>2</sub>濃度およびLTC<sub>4</sub>濃度との関係を図4に示す. 喀痰中TXB<sub>2</sub>濃度とPC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>の間には有意な相関を認めた ( $r=-0.480, p=0.017$ ) が, 喀痰中LTC<sub>4</sub>濃度とPC<sub>20</sub>-

Table 2. Cell counts, TXB<sub>2</sub> and LTC<sub>4</sub> levels in induced sputum

Subject No.	Neutrophils (%)	Eosinophils (%)	TXB <sub>2</sub> (ng/ml)	LTC <sub>4</sub> (ng/ml)
1	55.5	0	0.110	0.094
2	17.5	0	1.455	0.582
3	14.0	1	0.640	0.286
4	88.0	1.5	0.245	0.251
5	7.0	41.0	0.832	0.263
6	31.0	8	0.078	0.389
7			0.288	0.418
8	90.0	0	1.605	0.378
9	72.0	0	0.471	1.065
10	27.0	32.0	0.709	1.022
11	4.3	71.3	0.396	0.294
12	56.3	7.3	0.342	1.096
13			0.088	1.207
14	71.3	23.6	0.938	2.751
15	62.8	0.5	1.674	2.078
16	80.0	0	0.346	2.282
17	79.5	0.3	0.203	1.684
18	28.5	43.5	0.307	0.432
19			0.613	0.535
20			0.431	0.222
21	27.0	0	0.924	1.636
22	16.7	9.0	1.779	2.239
23	12.5	0	0.028	0.282
24	5.0	0	0.440	0.092
25			0.054	0.978
$\bar{X}$			0.600	0.902
SEM			0.106	0.157

LTC<sub>4</sub>, leukotrienC<sub>4</sub>; TXB<sub>2</sub>, thromboxaneB<sub>2</sub>.

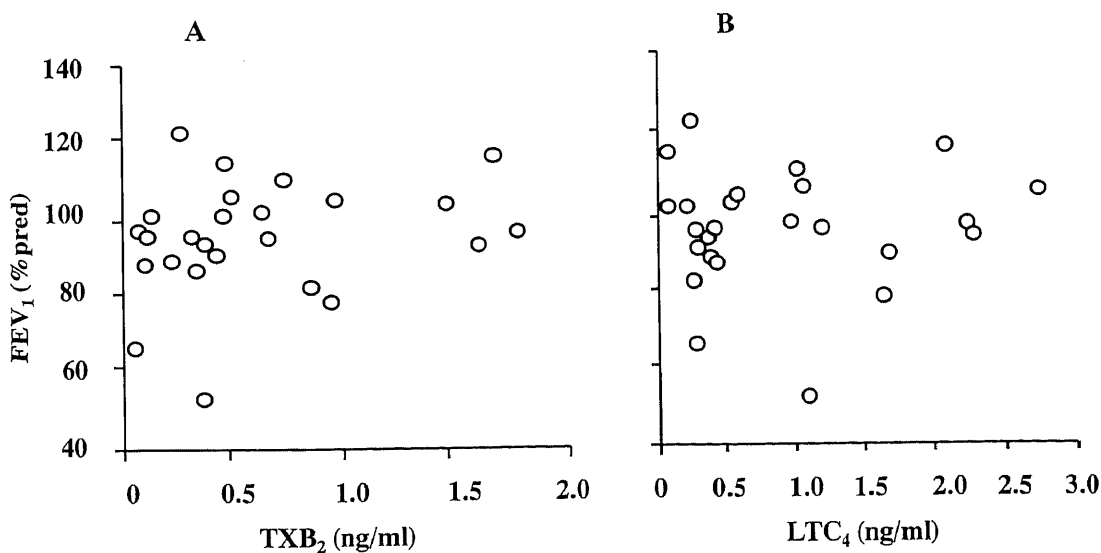


Fig. 1. Correlation of TXB<sub>2</sub> (A) and LTC<sub>4</sub> (B) levels in induced sputum to FEV<sub>1</sub> (% pred). TXB<sub>2</sub> levels in induced sputum was not correlated with FEV<sub>1</sub> (% pred). LTC<sub>4</sub> levels in induced sputum was also not correlated with FEV<sub>1</sub> (% pred).

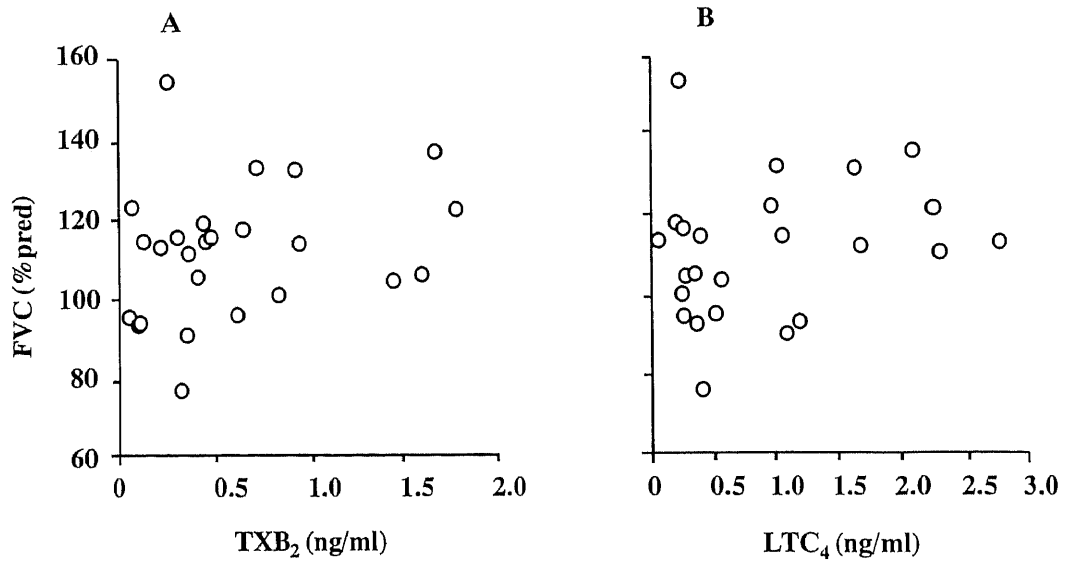


Fig. 2. Correlation of TXB<sub>2</sub> (A) and LTC<sub>4</sub> (B) levels in induced sputum to FVC (% pred). TXB<sub>2</sub> levels in induced sputum was not correlated with FVC (% pred). LTC<sub>4</sub> levels in induced sputum was also not correlated with FVC (% pred).

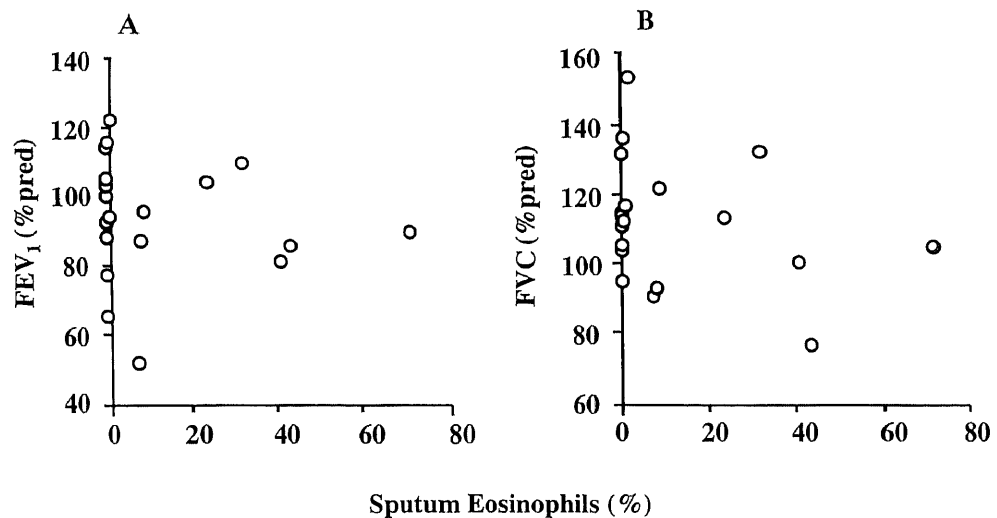


Fig. 3. Correlation of eosinophil percentage in induced sputum to FEV<sub>1</sub> (% pred) (A) and FVC (% pred) (B). Eosinophil count in sputum was not related to FEV<sub>1</sub> (% pred) or FVC (% pred).

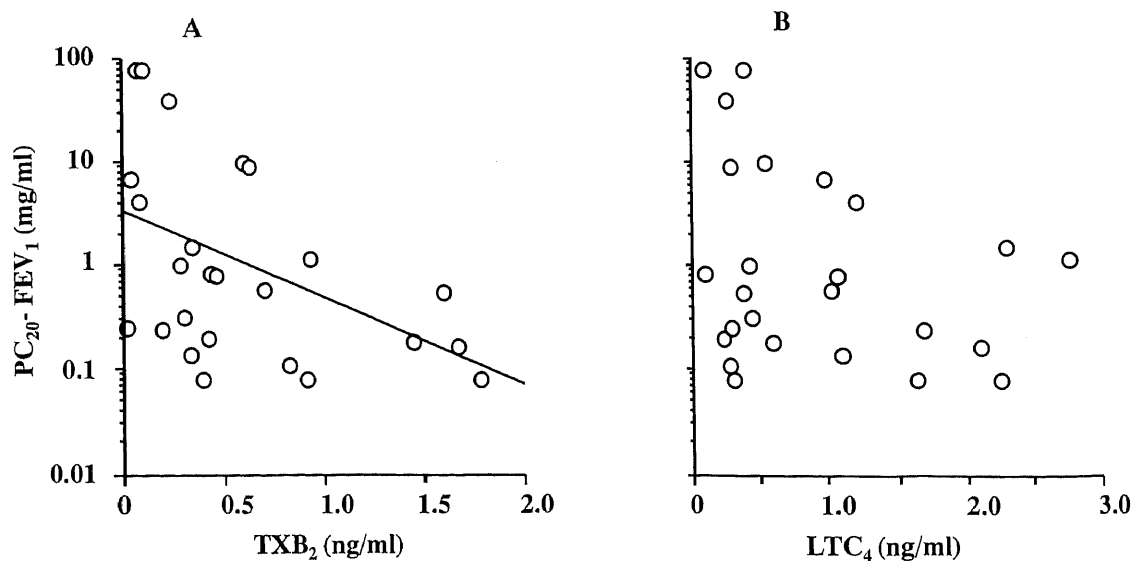


Fig. 4. Correlation of TXB<sub>2</sub> (A) and LTC<sub>4</sub> (B) levels in induced sputum to bronchial responsiveness to methacoline. TXB<sub>2</sub> levels in induced sputum was significantly correlated with PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub> ( $r = -0.486$ ,  $p = 0.017$ ), but LTC<sub>4</sub> was not.

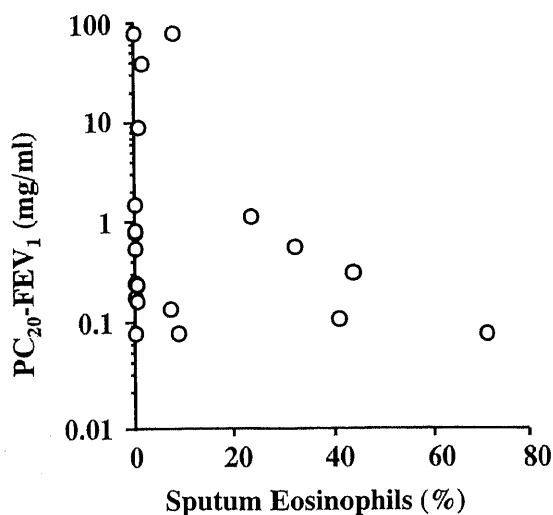


Fig. 5. Relationship between bronchial responsiveness to methacholine and eosinophils in induced sputum. Eosinophil count in sputum was not correlated with PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>.

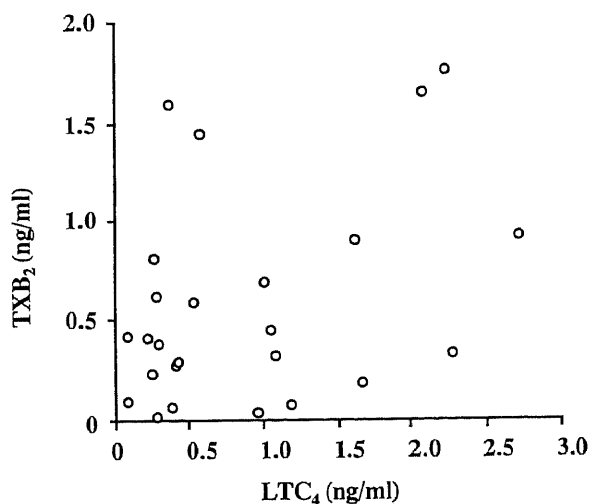


Fig. 6. Relationship between TXB<sub>2</sub> and LTC<sub>4</sub> levels in induced sputum. There were no correlations between TXB<sub>2</sub> and LTC<sub>4</sub> levels in induced sputum.

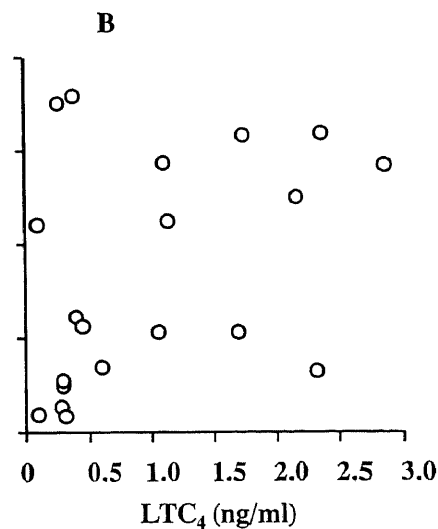
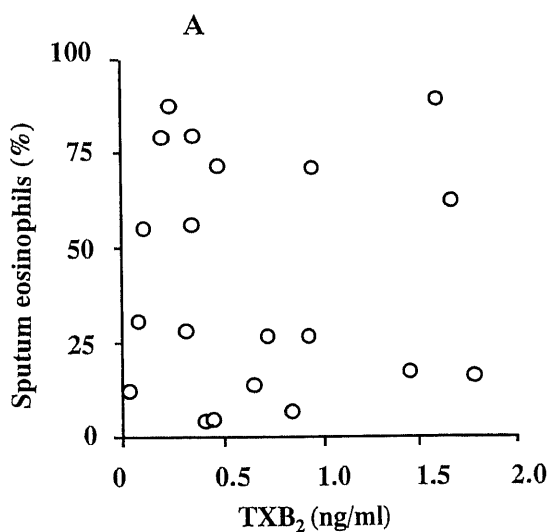


Fig. 7. Correlation of eosinophils and TXB<sub>2</sub> (A) and LTC<sub>4</sub> (B) levels to eosinophil percentage in induced sputum. Eosinophil count in sputum was not related to TXB<sub>2</sub> or LTC<sub>4</sub> levels in induced sputum.

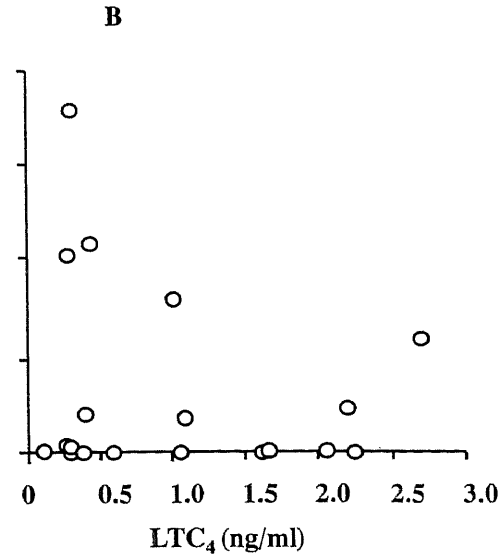
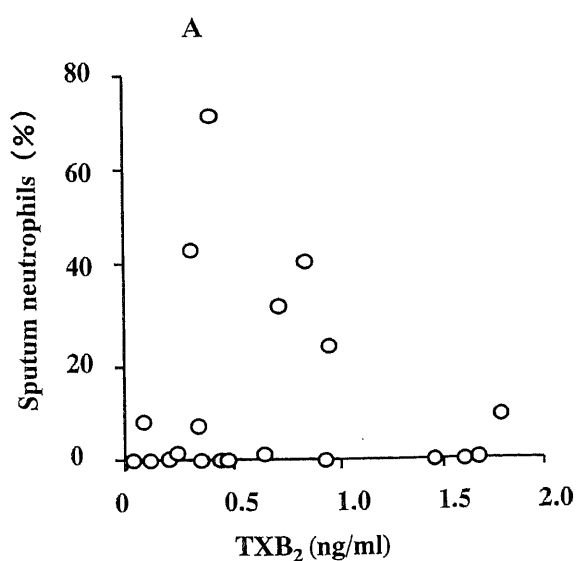


Fig. 8. Correlation of TXB<sub>2</sub> (A) and LTC<sub>4</sub> (B) levels to neutrophil percentage levels in induced sputum. Neutrophil count in sputum was not related to TXB<sub>2</sub> or LTC<sub>4</sub> levels in induced sputum.

FEV<sub>1</sub>との間には明らかな相関は認めなかった。喀痰中好酸球比率とPC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>には、有意な相関はみられなかった(図5)。

#### V. 誘発喀痰中の各指標の関係

喀痰中TXB<sub>2</sub>濃度とLTC<sub>4</sub>濃度の間に有意な相関は認められなかった(図6)。また、喀痰中TXB<sub>2</sub>濃度とLTC<sub>4</sub>濃度は、いずれも喀痰中好酸球比率や喀痰中好中球比率との間に有意な相関を認めなかった(図7, 図8)。

#### 考 察

本研究では、気管支喘息の気道局所で産生されるTXA<sub>2</sub>とsLTの喘息病態における重要性を検討するため、安定期の気管支喘息患者の誘発喀痰を採取し、喀痰中のTXB<sub>2</sub>濃度およびLTC<sub>4</sub>濃度の測定を行い、呼吸機能と気道過敏性との相関について検討するとともに、喀痰中の炎症細胞比率と呼吸機能および気道過敏性との相関についても検討を行った。この結果、喀痰中TXB<sub>2</sub>濃度は、PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>と有意な負の相関を認めたが、FVCおよびFEV<sub>1</sub>との相関は認めなかった。一方、喀痰中LTC<sub>4</sub>濃度は、FVC, FEV<sub>1</sub>, PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>のいずれとも有意な相関を認めなかった。喀痰中好酸球比率も、FVC, FEV<sub>1</sub>, PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>のいずれとも有意な相関を認めなかった。

近年、TXA<sub>2</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>などの脂質メディエーターの気管支喘息病態への関与が注目されている。これらの脂質メディエーターは、生体膜に存在するリン脂質より、リポキシゲナーゼやシクロオキシゲナーゼ等の酵素で代謝され生成されるアラキドン酸代謝産物である。アラキドン酸は細胞膜の構成成分であるリン脂質に含まれているが、様々な刺激により活性化されたホスホリパーゼA<sub>2</sub>によってリン脂質から分離したのち、シクロオキシゲナーゼによりPGG<sub>2</sub>, さらにはPGH<sub>2</sub>へと転換される。PGH<sub>2</sub>はさらに特異的な合成酵素によりPGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>α, PGI<sub>2</sub>やTXA<sub>2</sub>へと代謝される。一方、アラキドン酸が5リポキシゲナーゼを初発酵素とする経路により代謝されると、LTA<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>およびLTE<sub>4</sub>が生成される。

TXA<sub>2</sub>は血小板から多く産生されると考えられるが<sup>28)</sup>、マクロファージや好中球からも産生されることが知られている<sup>29)</sup>。症状安定期の気管支喘息患者のBALF中にはTXB<sub>2</sub>の増加がみられるとの報告や<sup>12)</sup>、TXB<sub>2</sub>の代謝産物である11-デヒドロTXB<sub>2</sub>(11-dehydro TXB<sub>2</sub>, 11-DHTXB<sub>2</sub>)が喘息発作中に増加しており、症状軽快時には低下するとの報告もみられる<sup>30)</sup>。また、気管支喘息患者を対象とした検討では、抗原誘発気道収縮後に血漿中のTXB<sub>2</sub>濃度が上昇することが報告されている<sup>31)</sup>。さらに、TXA<sub>2</sub>類似物質であるU46619の吸入は喘息患者の気道を収縮させると報告されている<sup>22)</sup>。以上より、TXA<sub>2</sub>は気道平滑筋の収縮に関連があると考えられる。

Fujimura<sup>15)32)</sup>らやHoshino<sup>33)</sup>は、気管支喘息患者において、TXA<sub>2</sub>合成阻害薬であるOKY-046やTXA<sub>2</sub>受容体拮抗薬であるS-1452やAA-2414の投与により気道過敏性が有意に改善されたと報告している。またU46619の吸入は、吸入後1時間以内と短時間ではあるが、気管支喘息患者のメサコリン気道過敏性を亢進させる<sup>22)</sup>ことも報告されていることより、TXA<sub>2</sub>は気道過敏性亢進に関与している可能性が考えられる。

LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>およびLTE<sub>4</sub>はsLTと呼ばれている。LTB<sub>4</sub>は主に好中球で産生され、好酸球や肥満細胞は主にLTC<sub>4</sub>を産生する<sup>16)</sup>。LTC<sub>4</sub>はγ-グルタミルトランスぺプチダーゼによりLTD<sub>4</sub>に、さ

らにジベプチダーゼによりLTE<sub>4</sub>に代謝される。気管支喘息患者では、BALF中のLTB<sub>4</sub>とLTC<sub>4</sub>は発作中にのみ有意な上昇を認め、安定期の喘息患者では上昇をしていないと報告されている<sup>13)</sup>。またBALF中のLTE<sub>4</sub>が喘息発作中に増加しており、症状軽快時には低下するとの報告もみられる<sup>30)</sup>。気管支喘息患者では、抗原誘発気道収縮後に尿中LTE<sub>4</sub>濃度が上昇するとの報告もある<sup>34)</sup>。これらより、sLTは気道平滑筋の収縮に関与していると考えられる。また気管支喘息患者にLTE<sub>4</sub>を吸入させると、ヒスタミン気道過敏性を亢進させたとの報告もみられる<sup>35)</sup>。さらにFujimura<sup>36)</sup>は、sLT受容体拮抗薬であるブランルカストの投与によって気道過敏性が改善することを示しており、sLTは気管支喘息の気道過敏性亢進に関与していると考えられる。さらに喘息患者の気管支肺生検での検討において、ブランルカストの投与により、気道中の好酸球、T細胞および肥満細胞数が減少したとの報告があることから<sup>17)</sup>、sLTは気管支喘息の慢性気道炎症にも関与している可能性がある。

以上のように、TXA<sub>2</sub>とsLTは気管支喘息の慢性気道炎症や気道過敏性亢進に深く関わっていると考えられ、気管支喘息患者のBALF、血清中のTXB<sub>2</sub>やsLTの測定は、気管支喘息の病態を理解するうえで非常に有用であると思われる。しかし、実際に気管支喘息患者のBALFや血清、あるいは尿中のTXB<sub>2</sub>やsLTを測定し、気道過敏性との関連を検討した報告は、Smith<sup>37)</sup>の尿中のLTE<sub>4</sub>を測定した報告以外みられない。Smith<sup>37)</sup>は、尿中のLTE<sub>4</sub>とヒスタミン気道過敏性との相関を検討しているが、両者の間には有意な相関は認めない。

本研究では、気道局所におけるTXA<sub>2</sub>とsLTの気管支喘息病態への関与を検討するという目的のため、誘発喀痰を検討材料に選択した。血清や尿を用いる検討では、測定されたTXA<sub>2</sub>とsLTが気道炎症に由来したものなのかどうか不明であり、BALFや誘発喀痰の方が材料として優れていると考えられる。また、BALFを採取するための気管支鏡検査は比較的侵襲的であり、さらにBALFは気道から肺胞領域までの病態を反映するため、肺胞領域の病態を比較的含まないとされる誘発喀痰の方が本研究目的に適していると考えられる。

Fujimura<sup>36)</sup>は、sLTs受容体拮抗薬であるブランルカストの投与によって気道過敏性が改善したと報告しているが、本研究では、喀痰中のLTC<sub>4</sub>濃度と気道過敏性の間には有意な相関を認めなかった。これまでの報告では、喘息患者ではBAL中のLTB<sub>4</sub>濃度とLTC<sub>4</sub>濃度は発作中にのみ有意な上昇を認めているが、安定期の喘息患者では上昇は見られない<sup>13)</sup>。また、症状の安定している喘息患者を対象としたSmith<sup>37)</sup>の検討でも、尿中のLTE<sub>4</sub>濃度とヒスタミン気道過敏性との間には有意な相関は認められていない。sLTと呼吸機能との関係について、Oosaki<sup>38)</sup>は、喘息患者の発作中の尿中LTE<sub>4</sub>濃度が%FEV<sub>1</sub>と相関したと報告している。しかし、症状安定期の喘息患者を対象とした本研究では、誘発喀痰中LTC<sub>4</sub>濃度は%FVC, %FEV<sub>1</sub>などの呼吸機能と相関しなかった。さらに、誘発喀痰中のLTC<sub>4</sub>濃度は喀痰中好酸球比率とも相関しなかった。これらの所見は、少なくとも症状安定期の喘息患者においては、誘発喀痰中sLTが気道炎症のマーカーとはなりえない可能性を示唆する。

気道過敏性亢進は気管支喘息の臨床的特徴の一つである。この気道過敏性亢進は、慢性気道炎症などさまざまな因子がかかわっていると思われる。今回の検討でも喀痰中のTXB<sub>2</sub>濃度と気道過敏性とは有意な負の相関関係を認めたことから、気道局



所のTXA<sub>2</sub>が気道過敏性亢進に関与していると考えられる。Fujimuraら<sup>15)</sup>は、気管支喘息患者において、TXA<sub>2</sub>合成阻害薬であるOKY-046の投与によって気道過敏性亢進が有意に改善されたと報告している。さらに、4日間のOKY-046投与によって呼吸機能には変化がみられなかったことより、気管支平滑筋を収縮させない程度の量のTXA<sub>2</sub>が気道過敏性を亢進させる重要な因子の一つであると結論している。TXA<sub>2</sub>が気道過敏性を亢進させる機序は明らかではないが、コリン作動性副交感神経からのアセチルコリンの遊離を節前性に増強することが一因と考えられている<sup>39)~41)</sup>。Hoshinoら<sup>32)</sup>は、TXA<sub>2</sub>受容体拮抗薬であるセラトログastを4ヶ月間投与し、その前後に気管支生検を実施して組織学的検討を行ったが、セラトログastの投与によって、喘息症状、ピークフロー値および気道過敏性が改善するとともに、気管支粘膜のEG2陽性細胞、エオタキシン陽性細胞、RANTES陽性細胞などの炎症細胞が減少したと報告している。TXA<sub>2</sub>の気道平滑筋に対する作用と気道炎症に対する作用もまた、この気道過敏性の亢進にかかわっている可能性が示唆される。以上より、TXA<sub>2</sub>は気管支喘息の気道収縮、気道炎症および気道過敏性亢進に関与していると考えられる。今回の検討において、喀痰中のTXB<sub>2</sub>濃度が気道過敏性と有意な負の相関関係を認めたことから、喀痰中TXB<sub>2</sub>の測定は、安定期の気管支喘息患者において、気道炎症のマーカーとなる可能性が強く示唆された。

古くから、気管支喘息の病態に深く関与しているとして気道局所の好酸球が注目されている。Pizzichiniら<sup>14)</sup>は、気管支喘息患者では喀痰中好酸球比率が気道過敏性およびFEV<sub>1</sub>と有意に相関したが、正常者ではこれらの相関が認められなかったと報告している。Spanevelloら<sup>39)</sup>もまた、喀痰中好酸球比率とFEV<sub>1</sub>の間に相関があったと報告しているが、喀痰中好酸球比率と気道過敏性との間には相関を認めていない。本研究では、喀痰中好酸球比率は、気道過敏性やFEV<sub>1</sub>との間に有意な相関関係を認めなかった。本研究の成績は、喀痰中好酸球比率が気道過敏性やFEV<sub>1</sub>と相関しなかったというRonchiら<sup>42)</sup>とCrimiら<sup>43)</sup>の報告や、症状が安定している気管支喘息患者のBALF中好酸球数が気道過敏性と相関しなかったとの報告<sup>6)</sup>に合致する。さらに最近、気管支喘息患者に抗IL-5モノクローナル抗体を投与したところ、喀痰中の好酸球比率は著明に減少したが、気道過敏性亢進は改善しなかったという報告もあり<sup>44)</sup>、気道局所の好酸球が気道過敏性亢進に重要な役割を担っていない可能性が示唆される。

本邦においては、TXA<sub>2</sub>受容体拮抗薬が気管支喘息患者の気道過敏性を有意に改善したとの報告が多い<sup>19)25)32)33)45)</sup>が、気道過敏性に対するTXA<sub>2</sub>受容体拮抗薬の効果は欧米では確認されていない。すなわち欧米でのTXA<sub>2</sub>受容体拮抗薬に関する報告では、気道過敏性改善効果は認めるものの、統計学的有意水準には達しなかったという報告が多い<sup>46)47)</sup>。本邦では、喘息治療におけるTXA<sub>2</sub>合成阻害薬および受容体拮抗薬の有用性は、多くの臨床研究によって確立されている。Fujimuraら<sup>33)</sup>は、ベクロメサゾン800 $\mu$ g/日の吸入を行っても十分にコントロールできない喘息患者に対し、TXA<sub>2</sub>合成阻害薬である塩酸オザレルを4週間投与したところ、明らかにピークフローが増加し、54%の症例ではピークフローが15%以上増加したと報告している。さらに松村ら<sup>48)</sup>は、TXA<sub>2</sub>受容体拮抗薬であるセラトログastの臨床効果と尿中11-DHTXB<sub>2</sub>濃度との相関を検討したと

ころ、著効群の尿中11-DHTXB<sub>2</sub>濃度が有意に高値を示したと報告している。これらの所見は、TXA<sub>2</sub>の喘息病態への関与には人種差が存在する可能性を示唆している。さらに、患者間や病態間にも差が存在する可能性がある。気管支喘息の最近の基本戦略は、慢性的な気道炎症を抑制するという観点から、吸入ステロイド薬が中心となっている。しかし、吸入ステロイド薬を使用しても気道過敏性が十分抑制されず、気管支喘息発作を繰り返す症例も少数ではあるが認められる。このような症例にTXA<sub>2</sub>の合成阻害薬や受容体拮抗薬が有効であることも報告されている<sup>33)</sup>。喀痰中TXB<sub>2</sub>濃度の測定は、TXA<sub>2</sub>合成阻害薬やTXA<sub>2</sub>受容体拮抗薬の有効性を予測しうる可能性があることから、今後も検討を続けることが重要と思われる。

## 結 語

気管支喘息患者の誘発喀痰中の炎症細胞分画、TXB<sub>2</sub>濃度およびLTC<sub>4</sub>濃度を測定し、気管支喘息病態における好酸球、TXA<sub>2</sub>およびLTC<sub>4</sub>の関与について検討した。

- 1) 喀痰中の好酸球比率は、呼吸機能や気道過敏性と相関しなかった。
- 2) 喀痰中のTXB<sub>2</sub>およびLTC<sub>4</sub>濃度は、喀痰中好酸球比率や喀痰中好中球比率とは無関係であった。
- 3) 喀痰中のTXB<sub>2</sub>濃度は、呼吸機能とは相関しなかったが、気道過敏性との間には有意な負の相関を認めた。
- 4) 喀痰中のLTC<sub>4</sub>濃度は、呼吸機能や気道過敏性とは無関係であった。

以上より、TXA<sub>2</sub>は気管支喘息の気道過敏性亢進に関与している可能性が示唆された。また、症状の安定している気管支喘息患者の気道過敏性亢進における気道の好酸球とLTC<sub>4</sub>の関与は否定的と考えられた。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師中尾眞二教授に深甚なる謝意を表します。終始、御指導頂きました藤村政樹助教授、笠原寿郎講師に心より感謝の意を捧げます。また、御協力いただきました金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学講座の教室員の皆さまに厚く御礼申し上げます。

尚、本研究の要旨の一部は、第40回日本呼吸器学会総会(1999年11月)、第10回欧州呼吸器会議(イタリア、2000年10月)において発表した。

## 文 献

- 1) Standard for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive disease (COPD) and asthma. The official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, November 1986. *Am Rev Respir Dis* 136: 225-244, 1987
- 2) Juniper EF, Frith PA, Hargreave FE. Airway responsiveness to histamine and methacoline: relationship to minimum treatment to control symptoms of asthma. *Thorax* 36: 575-9, 1981
- 3) Woolcock AJ, Yan K, Salome CM. Effect of therapy on bronchial hyperresponsiveness in the long-term management of asthma. *Clin Allergy* 18: 165-176, 1988
- 4) Woolcock AJ. Use of corticosteroids in treatment of patients with asthma. *Allergy Clin Immunol* 84: 975-978, 1989
- 5) Quakenboss JJ, Lebowitz MD, Krzyzanowski M. The normal range of diurnal changes in peak expiratory flow rates-

- relationship to symptoms and respiratory disease. *Am Rev Respir Dis* 143: 323-330, 1991
- 6) Oddera S, Silvestri M, Balbo A, Jovovich BO, Penna R, Crimi E, Rossi GA. Airway eosinophilic inflammation, epithelial damage, and bronchial hyperresponsiveness in patients with mild-moderate stable asthma. *Allergy* 51: 100-107, 1996
  - 7) Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, Radermecker M, Djukanovic R. The relationship between inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 161: 9-16, 2000
  - 8) Marcia M. M. Pizzichini, Emilio Pizzichini, Lynda Celand, Ann Efthimiadis, James Mahony, Jerry Dolovich, F E Hargreave. Sputum in severe exacerbation of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 155: 1501-1508, 1997
  - 9) Robinson DS, Ying S, Bentley AM, meng Q, North J, Durham SR, kay AB, Hamid Q. Relationship among number of bronchoalveolar lavage cell expressing messenger ribonucleic acid for cytokines, asthma symptoms, and airway methacholine responsiveness in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 92: 379-403, 1993
  - 10) Samuelson B. Leukotrienes : mediators of hypersensitivity reactions and inflammation. *Science* 220: 568-575, 1983
  - 11) Wenzel SE, Westcott JY, Smith HR, Larsen G: Spectrom of prostanoid relaeae after bronchoalveolar allergen challenge in atopic asthmatic and in control groups. *Am Rev Respir Dis* 139: 450-457, 1989
  - 12) 小林 淳, 星 朗, 大野章二. 気管支喘息症例における気管支肺胞洗浄液中のアラキドン酸代謝産物. *炎症* 9: 115, 1989
  - 13) Wardlaw AJ, Hay H, Cromwell O, Collins JV, Kay AB. Leukotrienes, LTC4 and LTB4, in bronchoalveolar lavage in bronchial asthma and other respiratory diseases. *J Allergy Clin Immunol* 84: 19-26, 1989
  - 14) Pizzichi E, Pizzichi MMM, Efthimiadis A, Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 308-17, 1996
  - 15) Fujimura M, Sasaki S, Matsuda T. Attenuating effect of thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) on bronchiak responsiveness to methacholine is specific to bronchial asthma. *Chest* 98: 656-660, 1990
  - 16) Mtunobu F, Mifune T, Hosaki Y, Ashida K, Tsugeno H, Okamoto M, Harada S, Takata S, Tanizaki Y, Harada M. Enhanced peripheral leukotriene production and bronchial hyperresponsiveness in asthmatics. *Eur Respir J* 13: 504-508, 2000
  - 17) Nakamura Y, Hoshino M, Sim JJ, Ishii K, Hosaka K, sakamoto T. Effect of the leukotriene receptor antagonist pranlukast on cellular infiltration in the bronchial mucosa of patients with asthma. *Thorax* 53: 835-841, 1998
  - 18) Hedman J, Moilanen E, Poussa T, Niemine MM. Serum ECP and MPO, but not urinary LTE4, are associated witu bronchial hyper-responsiveness. *Respir Med* 93(8): 589-596, 1999
  - 19) Vatrella A, Ponticello A, Rarrella R, Romano L, Zofra S, DiLeva A, Bariffi F. *Allergy* 51: 547-555, 1996
  - 20) Van der Veen MJ, van Neerven RJ, De jong EC, Aalberse RC, JansenHM, van der Zee JS. The late asthmatic response is associated with baseline allergen-specific proliferative responsiveness of peripheral T lymphocytes in vitro and serum interleukin-5. *Clin Exp Allergy* 29: 217-227, 1999
  - 21) Avord ID, pizzichini MMM, Pizzichini E, Hargreave. F E. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 52: 498-501, 1997
  - 22) John V. Fahy, Hofer Wong, Jane Liu, Homer A. Boushey. Comparison of samples collected by sputum induction and bronchoscoy from asthmatic and healthy subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 53-58, 1995
  - 23) Pizzichini MM, Popov TA, Efthimiadis A, Hussack P, Evans S, Pizzichini E, Dolovich J, Hargreave FE. Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation in athma. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 866-869, 1996
  - 24) Spanevello A, Beghe B, Bianchi A, Migliori GB, Ambrosetti M, Neri M, Ind PW. Comparison of two method of processing induced sputum: Selected versus entire sputum. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 665-668, 1998
  - 25) American Thoracic society. Standard for diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. *Am Rev Respir Dis* 136: 225-244, 1987
  - 26) 吸入試験標準化研究会および「吸入試験標準化に関する研究」班—気管支喘息および過敏性肺臓炎における吸入試験の標準法—アレルギー 31: 1074-1076, 1982
  - 27) Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, Dolovich J. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorx* 47: 25-29, 1992
  - 28) Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B. Thromboxanes: a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Proc Natl Acad Sci USA* 72: 2994-2998, 1975.
  - 29) Higgs GA, Moncada S, Salmon JA, Seager K. The source of thromboxane and prostaglandins in experimental inflammation. *Br J Pharmacol* 79: 863-868, 1983
  - 30) Oosaki R, Mizushima Y, Kawasaki A, Mita H, Akiyama Kand Kobayashi M. Correlation among urinary eosinophil protein X, leukotriene E4, and 11-dehydrothromboxane B2 in patints with spontaneous asthmatic attack. *Clin Exp Allergy* 28: 1138-1144, 1998
  - 31) Shephard EG, Malan L, Macfarlane CM, Mouton W, Joubert JR. Lung function and plasma levels of thromboxane B2, 6-ketoprostaglandin F1 alpha and beta-thromboglobulin in antigen-induced asthma before and after indomethacin pretreatment. *Br J Clin Pharmacol* 19: 459-70, 1985
  - 32) Fujimura M, Nakatsumi Y, Nishi K, Matsuda T. Effect of a thromboxane synthetase inhibitor, ozagrel hydrochloride, on peak expiratory flow in stable asthmatics treated with beclomethasone diprionate, *J Investing Allergol Clin Immunol* 46: 25-28, 1997
  - 33) Hoshino M, Sim J, Shimizu K, Nakayama H, Koya A. Effect of AA-2414, a thromboxane A2 receptor antagonist, on airway

- inflammation in subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 103(6): 1054-61, 1999
- 34) Smith CM, Christie PE, Hawksworth RJ, Thien FC, Lee TH. Urinary leukotriene E<sub>4</sub> levels after allergen and exercise challenge in bronchial asthma. *Am Rev Respir Dis* 144: 1411-1413, 1991
- 35) Arm JP, Spur BW, Lee TH. The effects of inhaled leukotriene E<sub>4</sub> on the airway responsiveness to histamine in subjects with asthma and normal subjects. *J Allergy Clin Immunol* 82: 654-660, 1988
- 36) Fujimura M, Sasaki S, Kamio Y, Matsuda T. Effect of a leukotriene antagonist, ONO-1078, on bronchial hyperresponsiveness in patients with asthma. *Respir Med* 87: 133-138, 1993
- 37) Smith CM, Hawksworth RJ, Thien FC, Christie PE, Lee TH. Urinary leukotriene E<sub>4</sub> in bronchial asthma. *Eur Respir J* 5: 693-699, 1992
- 38) Spanevello A, Migliori GB, Sharara A, Ballardini L, Bridge P, Pisati P, Neri M, Ind PW. Induced sputum to assess airway inflammation: a study of reproducibility. *Clin Exp Allergy* 27: 1138-1144, 1997
- 39) Munoz NM, Shioya T, Murphy TM, Primack S, Dame C, Sands MF, Leff AR. Potentiation of vagal contractile response by thromboxane mimetic U-46619. *J Appl Physiol* 61: 1173-1179, 1986
- 40) Tamaoki J, Sekizawa K, Osborne ML, Ueki IF, Graf PD, Nadel JA. Platelet aggregation increases cholinergic neurotransmission in canine airway. *J Appl Physiol* 62: 2246-2251, 1987
- 41) Saroea HG, Inman MD, O'Byrne PM. U46619-induced bronchoconstriction in asthmatic subjects is mediated by acetylcholine release. *Am J Respir Crit Care Med* 151: 321-324, 1995
- 42) Ronchi MC, Piragino C, Rosi E, Stendardi L, Tanini A, Galli G, Duranti R, Scano G. Do sputum eosinophils and ECP relate to the severity of asthma? *Eur Respir J* 10: 1809-13, 1997
- 43) Crimi E, Spanevello A, Neri M, Ind PW, Rossi GA, Brusasco V. Dissociation between airway inflammation and airway hyperresponsiveness in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 4-9, 1998
- 44) Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, Mathur AK, Cowley HC, Chung KF, Djukanovic R, Hansel TT, Holgate ST, Sterk PJ, Barnes PJ. Effect of interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyperresponsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 356: 2144-2148, 2000
- 45) Aizawa H, Shingyo M, Nogami H, Hirose T, Hara N. BAY u3405, a thromboxane A<sub>2</sub> antagonist, reduces bronchial hyperresponsiveness in asthmatics. *Chest* 109: 338-342, 1996
- 46) Gardiner PV, Young CL, Holmes K, Hendrick DJ, Walters EH. Lack of short-term effect of the thromboxane synthetase inhibitor UK-38, 485 on airway reactivity to methacholine in asthmatic subject. *Eur Respir J* 6: 1027-1030, 1993
- 47) Stenton SC, Young CA, Harris A, Palmer JB, Hendrick DJ, Walters EH. The effect of GR32191 (a thromboxane receptor antagonist) on airway responsiveness in asthma. *Pulm Pharmacol* 5: 199-202, 1992
- 48) 松村弘康, 古田島里佐, 佐藤哲夫. 気管支喘息患者におけるセラトログダストの臨床効果と尿中/喀痰中11-デヒドロトロンボキサンB<sub>2</sub>値との相関. *アレルギー* 50: 540-546, 2001

**Correlation of leukotriene C<sub>4</sub> and thromboxane B<sub>2</sub> levels in induced sputum to bronchial hyperresponsiveness in stable asthmatic patients** Tatsuki Hirose, Department of Cellular Transplantation Biology, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. J. J. Med Soc.*, **111**, 208 — 217 (2002)

**Key words** bronchial hyperresponsiveness, thromboxane A<sub>2</sub>, leukotriene C<sub>4</sub>, induced sputum

#### Abstract

Thromboxane receptor antagonists and cysteinyl leukotriene receptor antagonists have been shown to reduce baseline non-specific bronchial hyperresponsiveness in asthmatic patients. To determine which of thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) and leukotriene C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) is more important in the development of non-specific bronchial hyperresponsiveness of asthma, the correlation of TXB<sub>2</sub> and LTC<sub>4</sub> levels in induced sputum with the bronchial responsiveness to methacholine was examined in 25 patients with stable asthma. The provocative concentration of methacholine causing a 20% fall in FEV<sub>1</sub> (PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>) was measured, and then sputum was induced with a hypertonic saline solution (5%). The inflammatory cell differential in the induced sputum was determined and the concentrations of TXB<sub>2</sub> and LTC<sub>4</sub> were measured by the competitive enzyme immunoassay. TXB<sub>2</sub> concentration in the induced sputum was significantly correlated with PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub> (r = -0.486, p = 0.017), but LTC<sub>4</sub> was not. Eosinophil count in sputum was not related to either FEV<sub>1</sub> or PC<sub>20</sub>-FEV<sub>1</sub>. These findings suggest that TXA<sub>2</sub>, but not LTC<sub>4</sub>, is involved in the development of baseline non-specific bronchial hyperresponsiveness of asthma.