

C. 研究結果

LVRS に際し、平均手術時間は 60 分、出血量は 20ml 以下で、ドレーン留置期間は 2 日であった。

1 秒量は術前 0.77 ± 0.09 (SE)L から術後 3 ヶ月で 1.03 ± 0.14 L まで約 34% 増加、その後減少傾向を辿り 30 ヶ月では 0.82 ± 0.09 L となった。FRC は術前 6.08 ± 0.27 L から術後 6 ヶ月で 5.25 ± 0.25 L に減少、その後増加傾向を辿り 30 ヶ月では 5.70 ± 0.40 L となった。6 分間歩行距離と歩行後の Borg scale は、術後 3-6 ヶ月で最も改善し 30 ヶ月でほぼ術前値に戻った。呼吸筋機能の指標である MIP、MEP、MVV および動脈血ガス分析結果の推移も、これらと同様の経過を辿った。以上より、肺機能、血液ガス、運動能力、呼吸困難の改善は 3-6 ヶ月をピークに、以後は経時的に術前値に戻る傾向にあることが判明した。

2 度目の staged operation を施行した 4 症例中 1 例は、術後 1 ヶ月の時点で呼吸不全のため亡くなった。他 3 症例の中、1 症例は初回 LVRS を右上葉に対して施行、呼吸困難が著明に改善した例である。しかし、術後 3 年経過し再び労作時呼吸困難が増強したため、2 度目の手術を再度右上葉に対して施行した。1 秒量は、術後 0.79 から 0.96L まで再度改善、自覚的にも呼吸困難は減少、良好な経過を辿っている。一方他の 2 症例は、初回 LVRS にてあまり改善が認められなかった例であるが、2 度目の手術にて 1 秒量は若干改善するも自覚症状の改善には乏しく、1 秒量も初回 LVRS 後のレベルには改善しなかった。ともに 2 度目の LVRS は、初回と異なる部位を target area とした症例

であった。

D. 考察

胸腔鏡を用いた LVRS を、肺を切除することなく折り畳むことによって容量減少する Plication 法は、胸骨正中切開にて target area の切除を行う他の外科療法に比べ、平均手術時間は短く、出血量は少なく、ドレーン留置期間も 2 日と非常に短期間である。慢性肺気腫が高齢者の疾患であることを考えると、本手術療法はその侵襲度の低さから、今後 LVRS の標準的手技として推奨される。

術後 2 年から 3 年の検討から、手術効果は 3-6 ヶ月をピークに徐々に減少することが判明した。呼吸筋機能、運動能力の指標である 6 分間歩行距離、呼吸困難指数(Borg scale)は、2 年半の時点で術前のレベルに戻ったことから、術後 2 年以上経過した時点で、2 度目の staged operation を施行する症例の選択が必要であることが示唆される。

症例数はまだ少ないが、2 度目の LVRS を施行した症例の検討から、Plication 法による LVRS を胸腔鏡にて繰り返し行うことは十分に可能であることが示された。特に、胸腔鏡を用いる点は、手術侵襲の低さから、高齢者に対する LVRS を繰り返し行う際に、極めて理想的な手術手技といえよう。また、片側にて LVRS を施行する点は、より侵襲が少ない点からも推奨されよう。2 度の LVRS を受けた症例の成績から、初回の LVRS にて改善度が良好な症例ほど、staged operation の効果が期待できることが推察される。初回にあまり改善の得られなかった場合は、target area を変えても効果が乏しい可能性があると考えられた。今後 2 度目の手

術を行うにあたり、慎重に target area を再検討する必要があると考えられた。

今年度の基礎的検討を基に、今後さらに症例の蓄積を行っていく予定である。

E. 結論

胸腔鏡下肺容量減少手術を Plication 法にて行う本手術療法は、平均手術時間、出血量、ドレーン留置期間から考え、極めて手術侵襲が少ないと判断できた。従って、高齢者の慢性肺気腫に対し極めて有効な手術手技と考えられる。また長期手術効果の検討から、術後2年から3年にかけて、自覚症状や肺機能、血液ガス、運動能力、呼吸筋機能が術前に戻ることが判明した。2度目の LVRS を施行することは可能であるが、十分に症例を選択し、手術部位を検討する必要があることが示唆された。

F. 研究発表

学会発表

Fold Plication 法による Lung Volume Reduction Surgery (LVRS)の成績. 第5回肺気腫シンポジウム (平成12年10月28日 福岡)

20000248

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので
下記をご参照ください。

肺気腫に対する胸腔鏡下 Fold Plication 法
岩崎正之, 米谷文雄, 加賀基知三, 他
胸部外科 50 卷 11 号 Page928-930(1997.10)

分担研究報告書

包括的呼吸リハビリテーションプログラムの考案と生理学的評価に関する研究

分担研究者 植木 純 順天堂大学医学部呼吸器内科 講師

研究要旨

慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease : COPD)の治療に際しては、包括的な呼吸リハビリテーションの展開が重要な位置を占めるが、本邦では実際に包括的プログラムを実践している施設は極めて限られているのが現状である。本研究では、本邦の COPD の特徴となる高齢 COPD を対象とした包括的呼吸リハビリテーションプログラムを立案し、その feasibility を検討するための検討を開始した。また、健常高齢者を対象として非侵襲的な dynamic MRI を用いた局所の胸郭運動、横隔膜運動の評価を施行した。高齢者の胸郭、横隔膜運動およびそれらの協調性などに関する正常のパターンが判明した。本法を多角的な呼吸生理学的評価法に加えることにより、高齢 COPD の病態評価、リハビリテーションの治療方針の決定に際し有用となる可能性が示唆された。現在 COPD 症例の集積、検討を行っている。

A. 研究目的

人口の高齢化、喫煙、環境の変化にともない COPD は全世界的に増加傾向にあり、欧米においてはすでに疫学統計上、死因の上位を占めるに至っている。その治療に際しては、理学・運動療法や栄養指導をはじめとした包括的な呼吸リハビリテーションの展開が重要となるが、実際に包括的治療を実践している施設は極めて限られているのが現状である。また、本邦の COPD は高齢者がその大半を占め、肺気腫が多いなど欧米とは異なる特徴を有する。本邦の実状に即した高齢 COPD を対象とした包括的呼吸リハビリテーションの指針の作成、さらには多角的な呼吸生理学的評価法に dynamic MRI を加えた COPD の新しい胸郭・横隔膜運動の病態

解析を目的として検討を行った。また、作成した指針の評価および修正を行うための feasibility study も開始する。

B. 研究方法

(1) 高齢 COPD を対象とする包括的呼吸リハビリテーションプログラムは、自・他施設の呼吸リハビリテーションプロトコルを解析し作成の後、本年および次年度に実際にプログラム展開しその feasibility を検討、評価および修正を予定する。包括的アプローチに関しては、多種の専門職が参加した学際的医療チームの編成により多次元の医療サービスを提供する形態を選択する。

(2) dynamic MRI を用いた高齢者 COPD の胸郭、横隔膜運動の解析は呼吸リハビ

リテーショナルプログラム前後での施行を予定する。まず本年度は健常高齢者の胸郭、横隔膜運動パターンを解析、高齢者の正常パターンを明らかにし、高齢 COPD 症例の集積も開始する。スキュンを施行した 5 例の健常高齢者は全例男性で年齢 66 ± 4 (平均 \pm SD) 歳、FEV_{1.0} 2.36 ± 0.34 L、%FEV_{1.0} 90.9 ± 9.6 %である。

(倫理面への配慮)

dynamic MRI スキュンは、全例に対し具体的な検査方法、仰臥位での呼吸方法を本人に説明し、インフォームドコンセントを得た上で施行した。包括的呼吸リハビリテーションプログラムは全例に対し具体的な評価方法、治療方法を本人に説明し、インフォームドコンセントを得た上で施行する。

C. 研究結果

(1) 包括的呼吸リハビリテーションプログラム:

包括的治療プログラムは A) 開始前およびアウトカムの評価、B) 患者教育・指導プログラム、C) 理学・運動療法プログラム、D) 心理社会的支援、E) 終了後のフォローアップより構成する。

医療チームの構成は、医療施設の規模や実状により異なるが、プログラムを包括的に展開する上で最低限、主任医師とディレクター/コーディネーター役のスタッフを専任する。チームがディレクター、コーディネーターにより調整された interdisciplinary team の形態をとり包括的なアプローチを展開するが、患者のニーズと課題を中心に機能するために、チームミーティングにおいて情報・決定の共有化を行う。大学病院では多専門職の参加が可能なため、本研究では、呼

吸器内科、看護部、リハビリテーション室、薬剤部、栄養部、医療福祉相談室、吸入療法室、臨床検査部、HOT プロバイダーが参加する医療チームを編成し、ディレクターは呼吸器内科医、コーディネーターは看護部が担当とした。

A) 開始前およびアウトカムの評価: 1) 病歴、2) 身体所見、呼吸時の姿勢・運動パターンのアセスメント、3) 臨床症状のアセスメント、4) 血液生化学検査、5) 呼吸生理学的検査: a) スパイロメトリー、b) 肺気量分画 [N₂ 洗い出し法、体プレチスモグラフィー]、c) 肺拡散能力、d) 動脈血液ガス分析、e) 最大吸気 (P_Imax)・呼気 (P_Emax) 筋力、f) ピークフローモニター、g) 24 時間 SpO₂ モニター、h) 胸部ダイナミック MRI、6) 運動のアセスメント [6 分間歩行試験、症例によりエルゴメーター]、肺気腫日記 [万歩計など]、7) 栄養のアセスメント [3 日間の食事日記の解析]、8) QOL、ADL、心理社会的アセスメント: a) 100mmVAS [Dyspnea, QOL]、b) SGRQ [St George's Respiratory Questionnaire]、c) アンケート用紙 [日常・社会生活]、面談 9) プログラム終了時までの目標設定

B) 患者教育・指導プログラム: 1) 肺、心臓、呼吸筋など解剖・生理、2) 肺気腫、慢性呼吸不全の病態、3) 栄養指導 [栄養アセスメントに基づく]、4) 薬剤指導、吸入指導、5) 禁煙、再喫煙の予防、6) パニックコントロール、気道浄化法・排痰法、7) 身体所見の観察法、日常あられやすい症状と対応 [急性増悪の早期発見、対応法]、8) 検査 (呼吸機能、胸部 X 線・CT、血液など) の意味、9) 社会的支援、10) 在宅酸素療法、外出や旅行への支援、11) 感染予防、ワクチン、日常生活、住まい

の工夫、12)肺容量減少手術 [LVRS]より構成する。高齢者が主体となる COPD では、理解不十分な個所をディレクターまたはコーディネーターが把握して、繰り返し指導を追加する。ライフスタイルの修正に踏み込んだ指導を目標とし、栄養管理、感染予防に関する自己管理法、修得した日々の体操や運動の習慣づけを重視する。感染予防ではインフルエンザワクチンの接種も推奨する。

C) 理学・運動療法プログラム：1)呼吸時の姿勢・運動パターンの改善、リラクゼーション、2)呼吸訓練 [安静時・歩行時]、3)四肢体幹筋力訓練 [上肢は負荷挙上]、4)呼吸筋訓練 [閾値負荷装置] 5)歩行訓練 [持久力]、症例により自転車エルゴ訓練を施行する。週2回理学療法士による指導を行い、他の5日間はホームプログラムを処方、全6週間施行する。呼吸時の姿勢、運動パターンが改善傾向を示し、呼吸法を修得した後には下肢トレーニングを中心に運動トレーニングを展開する。歩行距離は万歩計で管理し、1日5000歩を目標にする。呼吸筋トレーニングでは、原則として30%P_{Imax}の吸気閾値負荷で1日15分を2回とする。

D) 心理社会的支援：ディレクターまたはコーディネーターがセッションに参加し、モチベーションの向上に向けた心理的支援を行う。社会的支援は教育セッションの中で medical social worker(MSW)が担当する。

E) 終了後のフォローアップ：月1回の外来受診、3ヶ月に1回のコーディネーターの面談を行い、病状の把握や修得した体操や運動の施行状況に関する記録(日記)を評価し継続の指導を行う。

(2)dynamic MRI を用いた高齢者 COPD

の胸郭、横隔膜運動の解析：3回(18sec/回)の深吸呼気を行う間の冠状断(気管分岐レベル)、左右の矢状断(鎖骨中線上)を field echo 法、TR/TE = 7.5/1.7 msec、Flip angle = 15 deg.、Matrix = 128 x 256、FOV 40 cm、slice thickness 10mm scanning time 1 sec で 48 sequential image で撮像する。

最大吸気時、呼気時の冠状断では、TRup: 気管分岐レベルでの横径、TRLw: 右 CP angle レベル(深吸気時)での横径、Rt.M: 右肺尖から右横隔膜ドーム間の最大径、Lt.M: 左肺尖から左横隔膜ドーム間の最大径、左右の矢状断では、Rt.APup(Lt.APup): 気管分岐レベルでの右(左)前後径、Rt.APLw(Lt.APLw): 右(左)前 CP angle レベル(深吸気時)での前後径、Rt.SM(Lt.SM): 右(左)肺尖から右(左)横隔膜ドーム間の最大径を計測した。

健常高齢者の最大吸気・最大呼気時の径の変化($\Delta X = X_{insp.} - X_{exp.}$)は、冠状断： $\Delta TRup$ 11.4 \pm 9.2 (SD) mm、 $\Delta Rt.M$ 80.6 \pm 21.2 mm、 $\Delta Lt.M$ 74.6 \pm 21.3 mm、 $\Delta TRLw$ =14.6 \pm 3.9 mm、右矢状断： $\Delta Rt.APup$ 40.4 \pm 4.1 mm、 $\Delta Rt.SM$ 52.6 \pm 20.7 mm、 $\Delta Rt.APLw$ 16.6 \pm 8.7 mm、左矢状断： $\Delta Lt.APup$ 34.8 \pm 8.7 mm、 $\Delta Lt.SM$ 47.2 \pm 21.0 mm、 $\Delta Lt.APLw$ 18.4 \pm 9.6 mm であることが判明した。

また、動画上(cine loop view)、吸気時では上下部胸郭の拡張、肋骨の挙上、肺尖の開大、背部の伸展、横隔膜の下降の同期した協調運動、呼気時では上下部胸郭の狭小化、肋骨の下降、肺尖の狭小化、背部の屈曲、横隔膜の上昇運動の同期した協調運動が明瞭に描出されることが判明した。

D. 考察

本邦の COPD は高齢者がその大半を占め、肺気腫が多いなど欧米とは異なる特徴があり、その実状に即した包括的内科治療プログラムの確立が必要とされている。一方、skeletal muscle dysfunction の概念をはじめとして、COPD が欧米を中心に multi-organ-system disease として認識されつつあり、その観点からも COPD の治療は包括的に展開される必要がある。

立案したプログラムの特徴のひとつとして、ディレクター、コーディネーターにより調整された学際的医療チームによる診療形態がある。チームのサイズは施設により大きく異なることになるが、ディレクターまたはコーディネーター役のスタッフがプログラムに深く関与し、高齢 COPD 患者における個々のプログラムの進行状況の把握や個別プログラムの立て直しを行い、同時に、チームミーティングの主催など情報の共有化を図り、医療チームのアクティビティを維持する役割もはたす。日々の体操や運動の習慣づけ、栄養の自己管理をはじめライフスタイルの修正を目標とする。本研究により、このような新しい形態を有する包括的呼吸リハビリテーションプログラムの有用性や問題点が判明することが期待される。

COPD における運動療法に関して、1997 年に米国 ACCP/AACVPR 共同委員会は、下肢のトレーニングを研究計画や実施要綱が整備された対照試験から得られた科学的根拠で統計的な有意差が示された治療法、上肢のトレーニング・呼吸筋力トレーニングは、観察研究あるいは対照群をおいた試験から得られた科学的根拠であ

るが一貫性が欠けている治療法として位置づけている。米国では high intensity training も近年注目されているが、欧米に比し本邦では高齢の COPD 患者が多く、本研究では万歩計で管理した 5000 歩をターゲットとした下肢運動を運動トレーニングの中心においた。

一方、多くの重症 COPD では、頸部、胸郭、体幹の過度な筋緊張、胸郭の可動性の低下を示すことより、欧米とは対照的に本邦では経験的にリラクゼーション、ストレッチ、胸郭可動域訓練などの肺理学療法広く行われている。治療前後での多角的な呼吸生理学的評価に加え、dynamic MRI による局所の胸郭や横隔膜の運動制限、それらの同調、協調性の障害度の評価により胸郭に対する肺理学療法の有用性が判明することが期待される。

E. 結論

本邦の COPD は欧米とは異なり高齢者がその大半を占め肺気腫が主体となる。その実状に即した高齢 COPD を対象とした包括的呼吸リハビリテーションプログラムを作成し治療を開始した。さらに、dynamic MRI や多角的な呼吸生理学的評価法を加えることにより、プログラムの有用性の評価と同時に胸郭、横隔膜運動制限をはじめとする高齢 COPD の病態がさらに明らかにされることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 植木 純, 高橋英気, 鈴木 勉, 福地義之助: 大学病院における COPD の包括的内科治療プログラム. 日呼吸会誌 10, 2000

2) 植木 純, 高橋英気, 鈴木 勉,

福地義之助: COPD の包括的内科治療. 呼吸 19(7), 747-752, 2000

3) 十合晋作, 植木 純, 熱田 了, 村松正嗣, 高橋和久, 檀原 高, 福地義之助 : Negative Expiratory Pressure(NEP)法. 気管支喘息発作時における気流閉塞の非侵襲的評価. 臨床呼吸生理. 32(1), 15-18, 2000

4) 児玉裕三, 植木 純, 高橋英気, 蓮沼紀一, 檀原 高, 熊坂利夫, 植草利公, 福地義之助. 約 12 年間経過観察し複種類(3種類)の感染をみた非結核性抗酸菌症の1例. 日呼吸会誌 38(1): 67-72, 2000

5) 高橋伸宜, 植木 純, 福地義之助: COPD のステロイド療法. 慢性安定期の吸入ステロイドおよび急性増悪期の全身投与に関する大規模試験. 内科 86, 199-201, 2000

6) 植木 純, 福地義之助: COPD の包括的内科療法. BIO Clinica. 15(12), 77-81, 2000

7) 植木 純, 福地義之助: ぜんそくとまぎらわしい病気 順天堂医学 45, 524-527, 2000

8) 福地義之助, 植木 純: COPD のガイドラインの国際比較. Pharma Medica 18: 173-180, 2000

9) 植木 純, 福地義之助: COPD の治療ガイドライン. Prog. Med. 20(4), 796-800, 2000

10) 植木 純, 福地義之助: 包括的内科治療とステロイド投与 臨床検査 44(7), 768-770, 2000

11) 植木 純, 福地義之助: 慢性閉塞性肺疾患診療における QOL の評価. 臨床成人病 31(1), 73-77, 2001

12) 植木 純, 福地義之助: COPD の包

括的呼吸リハビリテーション. 呼と循. 49(3), 249-256, 2001

13) 植木 純, 福地義之助: 慢性閉塞性肺疾患. 新 QOL 調査書と評価の手引き, 監修 漆崎一郎. メディカルレビュー社, 東京, 347-352, 2001

14) 植木 純: 疾患別吸入療法のポイント. 吸入療法ハンディマニュアル, 編修 福地義之助, 植木 純, 深澤伸慈, 株式会社インターサイエンス社, 大阪, 3-4, 2000

15) 木田厚瑞, 植木 純, 桂 秀樹, 谷口博之, Casaburi R.: わが国の呼吸リハビリテーションをどのように構築するか. THE LUNG perspectives 8, 402-412, 2000

16) 植木 純: COPD の診断、管理、予防のガイドライン : GOLD による workshop report. Congress Report 呼吸器 20, 編修 福地義之助, 相澤久道, 足立 満, 井上洋西, 木田厚瑞, ライフサイエンス社, 東京, 7-9, 2001.

17) 植木 純: タバコの体への影響. Home Oxygen Therapy 22, 6-7, 2001

2. 学会発表

1) 植木 純, 檀原 高: 呼吸器画像診断の進歩 超音波診断の応用. 日呼吸会誌, 38(Suppl), 21, 2000.

2) Fukasawa S, Ueki J, Suzuki T, Fukuchi Y : Assessment of the spontaneous breathing mode of ventilator by using novel lung simulator. Eur Respir J 16(suppl 31), 134s, 2000

3) Sekiya M, Ueki J, Nagaoka T, Tamaki S, Obata K, Mikami M, Yoshioka Y, Iwakami S, Takahashi S, Dambara T and Fukuchi Y : Usefulness of a color angio

ultrasonography for the management of loculated pleural effusion : differentiation between free and organized effusion. Eur Respir J 16(suppl 31), 61s, 2000

4) Takahashi S, Iwakami S, Obata K, Ueki J, Tamaki S, Dambara T and Fukuchi Y : Ultrasonographic grades of pleural invasion by primary lung cancer, compared with histopathological findings of resected lung specimens. Eur Respir J 16(suppl 31), 60s, 2000

5) Atsuta R, Akiyama K, Ueki J, Togo S, Harada N, Shirasawa T, Okumura K, Ra C, Fukuchi Y : Possibility for an alteration of mast cell function by aging through Fc receptor in the elderly-onset asthmatics. Eur Respir J 16(suppl 31), 103s, 2000

6) Mori T, Ueki J, Dambara T, Shiota T, Takahashi S, Fukuchi S : Assessment of thoracic motion following pulmonary rehabilitation in patients with moderate to severe COPD : evaluation with dynamic MRI of thoracic cage. Eur Respir J 16(suppl 31), 30s, 2000

7) 深澤伸慈, 植木 純, 福地義之助 : 呼吸シュミレータ ALS5000 を用いた Bi-LEVEL 装置動作性の比較検討 日呼吸管誌 10(1), 106, 2000

8) 山口聖子, 滝沢真季子, 植木 純, 高橋伸宜, 福地義之助 : 包括的呼吸リハビリテーションの現状と課題、コーディネーターナースの立場から 日呼吸管誌 10(1), 49, 2000

20000248

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので
下記をご参照ください。

COPD の包括的内科治療

植木純, 高橋英気, 鈴木勉, 福地義之助
呼吸 19 巻 7 号 Page747-752(2000.07)

分担研究報告書

1. 煙草による肺細胞傷害に対する Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) の効果。
2. 高齢者慢性閉塞性肺疾患の抗コリン薬吸入療法に対する QOL の定量的評価法の試み。

分担研究者 寺本信嗣 国際医療福祉大学保健学部 助教授

研究要旨

- 1) 高齢者慢性閉塞性肺疾患(COPD)の遺伝的病因の検討を目的として、喫煙感受性遺伝子の候補遺伝子と考えられる Glutathione S-transferase P1 (以下 GSTP1 と略) 遺伝子の機能について肺細胞への遺伝子導入法を用いて検討した。その結果、試験管内実験では喫煙抽出液暴露により肺細胞に細胞死が誘導されるが、この細胞死 necrosis は GSTP-1 の高発現により減少し、antisense vector の遺伝子導入により増加した。したがって、喫煙が肺細胞死を誘導して肺のリモデリングを生ずる時、GSTP1 遺伝子は防御的に重要な役割を果たすと考えられる。今回の研究によりこのための新たな試験管内実験系を確立した。
- 2) 高齢 COPD 患者の薬物療法につき、抗コリン薬の吸入療法が生活の質 Quality of life (以下 GSTP1 と略) の改善に有効なことを QOL の定量的評価法である QOL を評価する St. George's Hospital Respiratory Questionnaire (SGRQ) 質問紙票により解明し、肺機能指標のみならず、QOL 指標の評価が不可欠であることを示した。

A. 研究目的

1) COPD の病態形成において最も重要なリスクファクターは喫煙であるが、慢性的重度喫煙者のうち10-20%のみがCOPDに発症することから、喫煙による肺障害の感受性に個人差があることが示唆され、この個人差に遺伝因子の関与する可能性が考えられる。この際、喫煙刺激による肺障害を促進する遺伝要因と喫煙肺障害を防御するシステムの破綻にかかわる遺伝要因とが考えられる。前者の代表はTNFなどの炎症性サイトカインの遺伝子多型

性であり、後者の代表は、epoxides や benzo[a]pyrene などの煙草に含まれる xenobiotics の解毒酵素の遺伝子多型である。我々は、すでにヒトでの喫煙感受性遺伝子の候補遺伝子のGlutathione S-transferase P1 (以下GSTP1と略) 遺伝子の多型がCOPD発症とかかわることを報告したが(Thorax 1999; 54: 693)その遺伝子の機能やたんぱく質の機能について特に肺細胞での役割は不明である。そこで、GSTP1遺伝子をリボソーム遺伝子導入法を用いて肺細胞に発現させ、cigarette

smoke extract (以下CSEと略)を暴露後の細胞死に対する防御能を中心にGSTP1遺伝子の機能を検討した。

2)慢性肺気腫を初めとする慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease, 以下 COPD と略す)患者においては、抗コリン薬に対する気道拡張反応が β 刺激薬よりも大きいことからコリン作動性神経線維による高い気道系のトーンが病態に関与する。すでに、吸入抗コリン薬が COPD 患者の肺機能、呼吸困難感、運動耐容能を改善することが知られている。しかし、この吸入抗コリン薬による生理学的改善が、生活の質の改善に寄与するか否かについては具体的に検討されていない。特に、COPD は治癒しない life-long disease であるため、短期的な生理学的改善効果よりは、治療による長期の QOL の維持が治療の大きな目標である。そこで、80 歳以上の高齢 COPD 患者を対象として最も臨床的有用性の高い吸入抗コリン薬が高齢者についても有効であるか否かを、吸入前後の短期効果と吸入療法を 1 ヶ月間施行した前後の慢性効果について、肺機能指標とともに生活の質(QOL)の側面から変化があるか否かを検討した。

B. 研究方法

1) ヒト肺線維芽細胞由来の cell line である HFL-1 を用いて、異なった濃度の cigarette smoke extract (CSE)を培地より調整し希釈系列を作成、各濃度の CSE 下における HFL-1 肺細胞の生存能を経時的に検討し、その過程における apoptosis, necrosis の関与について検討した。

CSE は Dulbecco modified eagle's medium (DMEM) 培地を市販タバコ及び

pump-smoke machine (Humburg II machine)を用いて bubbling し、その後 0.22 μ m pore filter にてフィルタをかけ末梢気道に到達し得ないと考えられる粗大粒子を除外、この液体を 100% CSE と定義した。これを無血清の DMEM に加えて希釈系列を作成、異なる濃度の CSE における HFL-1 の生存能について検討を行った。Apoptosis についてはその早期変化として細胞膜外表面に出現する phosphatidyl serine をこれに特異的に結合する Annexin V に蛍光物質である phycoerythrin (PE)を結合させることにより認識、necrosis 7-amino-actinomycin D の細胞内への取り込みにて細胞膜の障害を検討、この双方の蛍光を flow cytometry により別々の波長を認識する fluorescence channel を用いて検出し検討した。すなわち annexin-V (-) かつ 7-AAD (-) の細胞を viable, annexin-V (+) かつ 7-AAD (-) の細胞を apoptotic、そして 7-AAD (+) の細胞を necrotic と認識した。

次に人工的に internal ribosomal entry site (IRES) 及び enhanced green fluorescent protein (EGFP) の配列を導入された eukaryotic bicistronic vector を基礎骨格とし、GSTP1 の発現量を同時に発現する EGFP の蛍光強度でモニターできるように sense 及び antisense expression vector を作成した。これらのベクターについて HFL-1 への transient transfection を行い、この transfectant への CSE の影響を先述の方法により認識、GSTP1 の役割について検討を行った。

2) 80 歳以上の高齢 COPD 患者 20 名 (82.3

±0.2歳)を対象とした。COPDは1秒量が予測肺活量の70%未満、肺拡散能Dlcoが予測値の60%未満で、胸部X線写真上、肺過膨張所見が明らかなものとした。まず、急性効果の試験として吸入抗コリン薬(oxitropium bromide, OTB)を0.2mg吸入させ吸入前後で肺機能の変化、運動時呼吸困難感の変化について検討した。肺機能検査はCHESTAC 55V(チェスト社)を用い肺活量FVC, 1秒量FEV1を測定した。呼吸筋力測定は、Black & Hyattの方法に従い、口腔内圧法で座位にて全肺気量位における最大呼気圧(P_Emax)、残気量位における最大吸気圧(P_Imax)を測定した。運動時呼吸困難感については、自転車エルゴメータを用い10ワット漸増法による運動負荷試験を自覚的 maximum 負荷量にまで行い、質量分析計(WLCS-1400, Westron corp., Japan)と気流計で分時換気量V_E、酸素摂取量V_{O₂}、炭酸ガス排泄量V_{CO₂}を計測した。運動時の呼吸困難度をBorg scale(BS)により評価し、既報(Teramoto S, et al. Chest 103:1774, 1993)のごとく、BS-V_{O₂}回帰直線から、その傾き(Borg scale slope, BSS)、X切片(Threshold load of dyspnea(TLD))を算出し定量的に比較した。

次に慢性効果の評価するため、吸入抗コリン薬(OTB)を1日3回、計0.6mg吸入させる吸入療法を1ヶ月間施行し、吸入療法開始前と吸入療法施行後の肺機能変化、生活の質(QOL)の変化について検討した。QOLの評価はSt. George's Hospital Respiratory Questionnaire (SGRQ)を用いた。

測定値は、平均値±標準誤差で示した。統計学的検討はStat View 4.0(Abacus concept, aldesly,

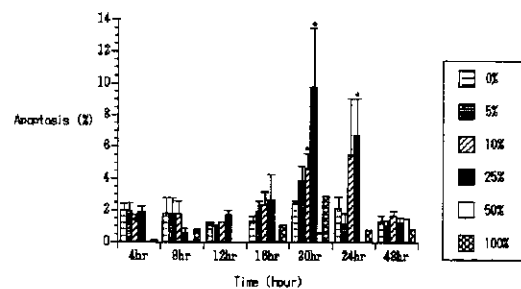
California)を用いて、吸入薬吸入前後の変化については、Paired t testで検討し、個々の測定値の相関関係には、単相関分析を行いp<0.05をもって有意とした。

(倫理面への配慮)

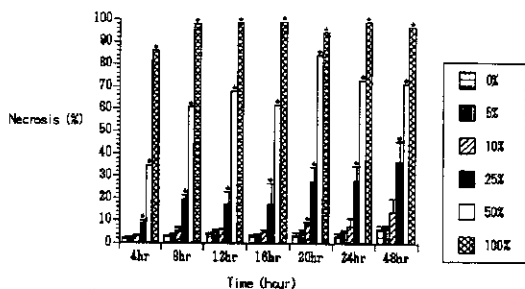
2)の高齢COPD患者の研究においては、全例で研究の内容について本人に説明し、文書でインフォームドコンセントを得た上で行った。

B. 研究結果

1)肺細胞HFL1において、CSE暴露により細胞死が誘導された。しかし、誘導させた細胞死は、CSE濃度により異なり、10-25%の低濃度においては優位にアポトーシスapoptosisを、また50-100%の高濃度においては優位にネクローシスnecrosisを引き起こした(図1)。10-25%CSEにおいては時間依存性にnecrosisの細胞死の割合が増加した。



(図1、 Each value is a mean±S.D. (The number of experiments is three. The bars with a star (★) are significantly different from that of the zero percent cigarette smoke extract (p < 0.05))



(図2)

次にGSTP1のsense及びantisense vectorについて、EGFPの蛍光強度に従ってGSTP1の発現量が亢進及び抑制していることについての確認を行った。各transfectantについて、細胞膜を透過性にしてから抗GSTP1抗体を一次抗体とし、またPEの結合している二次抗体を用いてimmunofluorescent flow cytometryの方法を用い、細胞内GSTP1濃度を蛍光強度にて間接的に検討した。その結果、GSTP1発現量がsense及びantisense vectorのtransfectantにおいて、それぞれ優位に増加及び減少していることが確認された(表1)。

表1 (The intracellular GSTP1 level of the transfectants of the vectors. (The proportion of the cells of the "Low", "Moderate", and "High" group of intracellular GSTP1 is shown. n = 3)

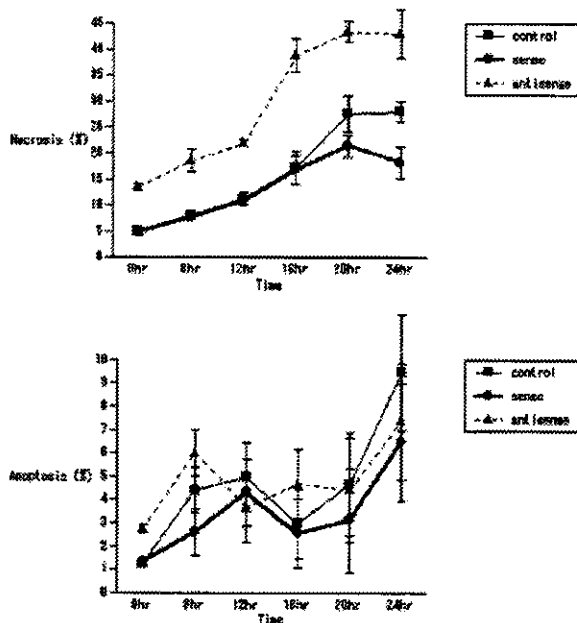
	Low	Moderate	High
Control	12.69 ±	79.21 ± 6.78	8.10 ±
Sense vector	6.48 ±	54.59 ± 6.92	38.94 ±
Antisense	74.55 ±	25.02 ±	0.42 ±
Negative	95.16 ±	3.20 ± 0.89	1.64 ±

Each value is a mean ± S.D. (n = 3).

*: p = 0.0087 †: p = 0.0062 ‡: p = 0.0001

その後、CSEによる細胞障害に対するGSTP1の防御能に関して検討を行った。

Apoptosis, necrosis 双方について検討するために25% CSEを用いた。HFL-1のnecrosisはGSTP1の高発現により減少し、逆にantisense vectorのtransfectionにより増加した。Apoptosisについては、各transfectant間にて有意な差は認められなかった。GSTP1の発現量を亢進、及び抑制させることにより、HFL-1に対するCSEの細胞毒性がそれぞれ抑制、及び増強された。



(図3, 4 The kinetics of 25% CSE-induced apoptosis and necrosis of the transfected cells are shown in Figure 3 and 4, respectively. Each value is a mean ± S.D. (n = 3)

この結果より、気道細胞において、GSTP1は喫煙に対する防御効果を有していることが示された。

2) 高齢者COPD患者の抗コリン薬OTBの吸入療法の効果

OTB吸入後、1秒量は吸入前1.21 ± 0.08(SE)Lから術後3ヶ月で1.35 ± 0.11Lまで増加し、肺活量も増加した。呼吸筋力はPEmaxは変化を示さなかったが、PImaxは吸入後に増加した。運動時呼吸困

難感はTLDは有意の変化を示さなかったが、BSSは 27.1 ± 2.6 (BS/L/min)から 20.1 ± 2.1 へと有意に低下した。BSSと呼吸困難感との相関を検討すると、PEmaxとは相関はないが、PImaxとは有意の負の相関を示した。SGRQで評価したQOLスコアは、symptom、impact、activityの3項目すべてに低下がみられ、吸入療法1ヶ月によって吸入前と比べ多面的なQOLの改善がみられた。

C. 考察

1) 本研究では、ヒト肺線維芽細胞由来の肺細胞においてCSEによるapoptosis及びnecrosisの誘導を検討することで、CSEによる細胞毒性を細胞死によって検討した。煙草にはoxidant、発癌性物質や他のxenobioticsを含む約4000種類の種々の物質が含有されており、antioxidant、xenobiotic enzymeが喫煙からの肺の防御について重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

本研究において、喫煙の肺線維芽細胞に対する細胞毒性の効果がnecrosisの減少を介してGSTP1により抑制されることが見出された。これらの結果より、xenobiotic enzymeの一つであり肺胞、呼吸細気管支を含む末梢気道に強く発現しているGSTP1が喫煙による肺障害に対する防御の能力を有し、肺気腫を含む喫煙関連肺疾患の発症を防ぐ上で重要な役割を果たしていることが示唆された。

今年度の基礎的検討を基に、今後は、GSTP1遺伝子、たんぱく質の機能を生体内で検討するため、GSTP1 null mouseに対する喫煙肺障害、肺リモデリングさに対する影響を検討していく予定である。

2) 高齢 COPD 患者の薬物療法につき、抗コ

リン薬の吸入療法の有効性を検討した。COPD患者において息切れは、もっとも重要なひとつであり、その軽減はQOLの改善に重要と考えられる。すでに、抗コリン薬の投与によって肺機能、呼吸筋力が増加し、呼吸困難が軽減することが報告されているが、高齢患者についても同様の改善が得られるかについては十分に検討されていない。今回の検討から、80歳以上の高齢 COPD 患者についても、吸入抗コリン薬は肺機能、呼吸筋力を改善し、呼吸困難の軽減をもたらした。呼吸困難の軽減が、吸気呼吸筋力の改善と有意の相関を示したことから、同じ神経入力に対する呼吸筋の発生圧の増加が、呼吸困難の改善に一部寄与するものと考えられる。

呼吸困難は重要な症候のひとつであるが、これが日常生活動作のすべてを代表するものではない。そこで、吸入抗コリン薬による薬物療法が真に生活の質の改善に有効であるか否かをQOLの定量的評価法であるSt. George's Hospital Respiratory Questionnaire (SGRQ)質問紙票により検討した。その結果、高齢COPD患者についてQOLスコアは、symptom、impact、activityの3項目すべてで改善し、吸入療法を1ヶ月継続することによって吸入前と比べ多面的なQOLの改善がみられることを示した。しかし、これらの改善は、肺機能指標では評価されないことから、QOL指標の評価が不可欠であると考えられる。

しかしながら、今回の検討は、1ヶ月間の短期的治療であるため、今後治療期間を延長した場合にQOL指標が変化するか否かについての評価が必要と考えられる。また、薬剤による治療についても、他の

治療薬、キサンチン製剤、 β 刺激薬、吸入ステロイド薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬などについて、単独療法、併用療法との比較が必要と考えられる。今年度の基礎的検討を基に、今後は、薬物療法の長期効果と他の薬剤との併用療法の効果について比較検討を進める予定である。

結論

1) 本研究において、GSTP1 遺伝子の肺細胞死における役割を解明した。in vitro において喫煙が肺細胞死を誘導して肺のリモデリングを生ずる時、GSTP1 遺伝子は防御的に重要な役割を果たすことを定量的に示した。本研究によって、この GSTP1 遺伝子の機能を肺細胞において評価するための新たな試験管内実験系を確立した。

2) 高齢 COPD 患者の薬物療法につき、抗コリン薬の吸入療法が生活の質の改善に有効なことを QOL の定量的評価法である St. George's Hospital Respiratory Questionnaire (SGRQ) 質問紙票により解明し、肺機能指標のみならず、QOL 指標の評価が不可欠であることを示した。

D. 研究発表

論文発表

1) Ishii T, Matsuse T, Igarashi H, Masuda M, Teramoto S, Ouchi Y. Tobacco Smoke reduces viability in human lung fibroblasts: protective effect of glutathione S-transferase P1. *Am J Physiol. Lung Cell Mol Physiol* 280 In press, 2001

2) Ishii T, Matsuse T, Teramoto S, Matsui H,

Miyao M, Hosoi T, Takahashi H, Fukuchi Y, Ouchi Y. Neither IL-1beta, IL-1 receptor antagonist, nor TNF-alpha polymorphisms are associated with susceptibility to COPD. *Respir Med.* 2000;94:847-851.

3) Ishii T, Matsuse T, Teramoto S, Matsui H, Hosoi T, Fukuchi Y, Ouchi Y. Association between alpha-1-antitrypsin polymorphism and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Clin Invest.* 2000 ;30:543-8.

遺伝子移入を用いた閉塞性肺疾患の新しい治療法の開発に関する研究

（分担）研究者 鈴木基好 横浜市立大学第一内科

研究要旨 閉塞性肺疾患ではその病態において気道の好中急性炎症が重要な役割を担っていると推測され、炎症に伴い肺細胞に与えられる刺激が肺胞のアポトーシスを惹起すると考えられる。ヘムオキシゲナーゼ(HO)は、好中急性炎症の抑制効果をもたらす一酸化炭素(CO)と細胞保護作用を有するビリルビンを産生する酵素である。本研究では遺伝子移入による肺内HO過剰発現によって著明な肺内好中球炎症の抑制が得られること、そのメカニズムには肺胞マクロファージからのインターロイキン-10(IL-10)の誘導が重要であることが動物モデルで示され、閉塞性肺疾患の新たな治療戦略として有用である可能性が示された。

A. 研究目的

閉塞性肺疾患の発生機序はいまだ完全には解明されていない。しかし肺内への好中球の遊走に始まる好中急性炎症と、それに続く肺上皮のアポトーシスが肺気腫、慢性気管支炎の病態に重要であると考えられている。近年循環器、腎、脳神経の領域において臓器保護効果、炎症の終息効果を有するガス性のメディエーターであるCOが注目されており、その産生の律速段階にある酵素がHOである。本研究ではHOの肺内好中球遊走の抑制効果を評価する目的で、実験動物にリポポリサッカライド(LPS)を吸入させて好中球の肺内遊走モデルを作成し、これにHOを過剰産生するアデノウイルスベクター(Ad, HO)を肺内に直接投与した。

B. 研究方法

肺内への好中球遊走はBALB/cマウスにLPSをネブライザーで吸入して作成した。肺内での外因性HOの過剰発現のため、Grahamらの方法でratHO-1遺伝子を発現するアデノウイルスベクターを作成、マウスに気管注で与え、肺上皮に遺伝子移入した。肺内に遊走した好中球は、LPS吸入24時間後に評価した。評価項目は気管支肺胞洗浄液中の好中球数とサイトカイン濃度、組織像、肺ミエロペルオキシダーゼ活性である。

C. 研究結果

LPS吸入後の気管支肺胞洗浄では、回収された細胞のうち好中球が約35%であった。これはAd.HOベクターをLPS吸入48時間前に気管注しておくことにより、60%抑制された。一方HOを発現しないemptyな対象アデノウイルス(Ad.null)を前処置しておくことLPS吸入後の好中球数はLPS単独群より増加してむしろ炎症を悪化させていた。同様の傾向は、組織学的評価、肺ミエロペルオキシダーゼ活性でも確認された。興味深いことに気管支肺胞洗浄液中の抗炎症性サイトカインIL-10の濃度がAd.HO前処置群でのみ10倍以上に増加していた。免疫組織学的手法により、このIL-10の産生細胞はマクロファージであることも確認された。さらにIL-10ノックアウトマウスではAd.HOによる好中急性炎症の抑制が見られないことから、HO移入・過剰発現を応用した治療効果にはマクロファージからのIL-10産生が不可欠であることが明らかとなった。

D. 考察

ヘムオキシゲナーゼは過酸化脂質による動脈硬化の進展を抑制する他、種々の細胞傷害性のストレス刺激から心筋細胞、脳神経、腎を保護することが報告されている。呼吸器においては薬剤(hemin)による内因性HO発現誘導やHO酵素反応の結果生じるCOを持続的に吸入させることにより肺内好中球遊走が抑制されることが知られていた。本研究では、ウイルスベ

クターを用いた外因性HOの過剰発現によっても好中球遊走が著明に抑制されること、更にそのメカニズムにはマクロファージからのIL-10の発現誘導が重要であることが示された。免疫組織学的検索では、気管注で与えられたウイルスベクターは気道上皮とマクロファージの両者においてHOを発現していた。気管支肺胞洗浄でこのマクロファージを回収して培養し、ここにLPSを加えることでマクロファージから放出されたサイトカインを解析するとやはりIL-10産生が誘導されていた。以上からIL-10の産生は、気道上皮、あるいはマクロファージで発現した外因性HOによって産生されたCOによってIL-10の分泌が促進されたものと推察される。

E. 結論

HO遺伝子を移入することによりマクロファージからのサイトカイン産生プロフィールに変化が生じ、起炎物質に対する生体の反応が著しく抑制される。この酵素の産生を何らかの方策でヒトにおいて増加させることによって、閉塞性肺疾患の発症、進展の抑制に応用可能であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Inoue, S., Suzuki, M., Nagashima, Y., Suzuki, S., Hashiba, T., Tsubura, T., Ikehara, K., Matsuse, T. and Ishigatsubo, Y. Transfer of the heme oxygenase-1 cDNA by a replication-efficient adenovirus enhances IL-10 production from alveolar macrophages that attenuates LPS-induced acute lung injury in mice. Hum Gene Ther 2001 (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishii T, Matsuse T, Teramoto S, Matsui H, Hosoi T, Fukuchi Y, Ouchi Y.	Association between alpha-1-antichymotripsin polymorphism and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease.	Eur J Clin Invest	30	543-548	2000
Ishii T, Matsuse T, Teramoto S, Matsui H, Miyao M, Hosoi T, Takahashi H, Fukuchi Y, Ouchi Y.	Neither IL-1beta, IL-1 receptor antagonist, nor TNF-alpha polymorphisms are associated with susceptibility to COPD	Repir Med	94	847-851	2000
Kuwahiro I, Iwasaki M, Kaga K, Iwamoto T, Tazaki G, Ishii M, Inoue H, Ohta Y.	Effectiveness of fold plication method in lung volume reduction surgery.	Internal Medicine	39	381-384	2000
植木 純、高橋英気、鈴木 勉、福地義之助	大学病院における COPD の包括的内科治療プログラム	日本呼吸管理学会誌	9	346 - 351	2000
植木 純、福地義之助	COPD の包括的呼吸リハビリテーション	呼吸と循環	49	249 - 256	2001
Ishii T, Matsuse T, Igarashi H, Masuda M, Teramoto S, Ouchi Y.	Tobacco smoke reduces viability in human lung fibroblasts: protective effect of glutathione S-transferase P1	Am J Pysiol Lung Cell Mol Physiol	280	In press	2001

20000248

以降のページは雑誌／図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。