

すでに肺過膨張があり横隔膜は平低化し、吸気筋は短縮しており、呼気時間は延長しFRCに戻る前に次の吸気が始まり、PEEPiが発生する。さらに、吸気筋はPEEPiを越える吸気圧を発生しなくてはならず、呼吸仕事量が増加している。運動中にはこの動的肺過膨張がさらに増大し、吸気筋の収縮速度はさらに早くなる。運動中の吸気仕事量が増加するのは、PEEPiが増加し動的肺過膨張を起こすことが重要な因子であり、一回換気量や吸気弾性仕事量の増加によるものでない³⁾。このようにFRCの運動耐容能に与える影響は重要であり、運動中の肺過膨張と運動耐容能の予測には、FEV_{1.0}やFVCよりもICが優れていると報告されている⁴⁾。

これまでの運動療法とNPPVの併用に関する報告から考えると、重度の息切れや運動時低酸素血症のある症例には、運動療法中にNPPVによる換気補助を行いトレーニングをすることで、負荷をかけないでトレーニングできる可能性があると思われる。COPDに対しCPAP(6cmH₂O)でPEEPiが軽減し、運動持続時間と呼吸困難感が改善したとの報告があり⁵⁾、この報告以来BiPAPでのEPAP圧は6cmH₂O以上は必要とされている。また、重度COPD(FEV_{1.0} 0.73ℓ)8例に対しPSV12~16cmH₂Oで換気補助し、運動持続時間、血ガス、息切れが改善している⁶⁾。結核後遺症においては(VC 0.9ℓ)8例に鼻マスクによるVCVと酸素吸入で、SpO₂、PtcCO₂は改善したが、12分間歩行距離は減少したと報告し⁷⁾、結核後遺症(VC 1.03ℓ)7例に鼻マスクによるVCVと酸素吸入で運動持続時間、血ガス、息切れが改善したと報告している⁸⁾。重度COPD(FEV_{1.0}% 32%)15例に対するCPAP、PSV、PAV(8.6cmH₂O/ℓ、3cmH₂O/ℓ/s)による換気補助の比較では、PAVが最も運動持続時間、息切れの改善が大きい⁹⁾。その理由にはPAVは呼吸筋の発生圧に見合ったサポート圧を供給するので最も呼吸筋仕事量を減らすことが出来るからである。さらに、重度COPD(FEV_{1.0} 0.71~)17例でPSVにより吸気筋発生圧(PTPdi)を上昇させないで、歩行距離を改善させている報告や¹⁰⁾、重度COPD(FEV_{1.0} 0.68ℓ)8例でPSVにより運動終了時の乳酸産成量を低下させ、歩行時間を延長させている¹¹⁾。

これらのことから運動中にNPPVを用いることは息切れを軽減させ運動耐容能を改善させることが期待できる。この研究では、COPD8例でNPPVを使用し6分間歩行距離を比較してみると、257.5±63.4が327.6±80.9mと改善し、呼吸数や呼吸困難感が減少し、desaturation及びその回復時間が短縮した。また、NPPVによる改善因子はより肺過膨張のある症例、運動時呼吸困難感の強い症例、運動時呼吸数の増加する症例で有効であると思われた。

今後、運動療法中にNPPVを用いることは息切れを軽減させ運動耐容能を改善させることが期待でき、息苦しさを感じさせないで運動療法が施行できる新しい方策と考えられる。また近年、慢性呼吸不全の運動耐容能の低下と骨格筋障害との関連について、注目されている。慢性呼吸不全の骨格筋障害の原因や特徴として以下のことがあげられ^{12) 13) 14)}、その特徴をあげると、①低い乳酸性アシドーシス閾値、②運動による筋肉内pHの低下、③筋酸素酵素の低下、④遅いO₂Kinetics、⑤筋肉量の低下、⑥肺移植後も運動耐容能の低下が持続する、⑦徐脂肪体重は運動耐容能のよい指標である、⑧deconditioning、⑨骨格筋のミオパチー、⑩低栄養、⑪蛋白同化ホルモンの低下などが関連しているとされる。COPDの骨格筋の特徴では、COPDは同年齢の健常人に比べ、骨格筋の筋力低下を認め、それは大胸筋や広背筋などの上肢筋の筋力低下は少なく、大腿四頭筋や下腿三頭筋などの下肢筋の筋力低下が著しい。筋組成では低酸素血症と長期廃用性によりⅡ型線維の比率の増加を来し、骨格筋の毛細血管の数は同年齢の健常人に比べて少なく、酸素運搬能や酸素利用能は低下しているとされる。これらのことからCOPDの骨格筋代謝障害の主な因子は運動不足によるdeconditioningと低酸素血症により形成されているといえ、下肢筋の筋力強化は運動療法の中でも重要な課題であるといえる。運動耐容能の低下と呼吸機能障害の相関は低いが、大腿四頭筋筋力は6分間歩行距離との相関を認め、骨格筋トレーニングは運動耐容能を改善させることが報告されている。また、低体重のCOPDではクレアチニン身長系数や除脂肪体重は運動耐容能に相関を認め、栄養療法と運動療法の併用は体重の増加のみでなく呼吸筋力や機能の改善を認め、体重増加とbody mass indexの改善、呼吸筋力の増加は予後予測に強く影響している。下肢筋および上肢筋の筋力強化により、筋力とbody mass index、運動耐容能が増加している。さらに、有酸素運動だけを行うよりも有酸素運動と筋力強化の併用により筋力、筋量、運動耐容能はより増加していると報告されている¹⁵⁾。

COPDと栄養状態に関しては以下のことが報告されており^{16) 17)}、①栄養障害と呼吸筋力、FEV_{1.0}、免疫能、運動耐容能、予後と密接な関係がある。②%IBWからみるとCOPDで40%、慢性呼吸不全で70%の症例で栄養障害を認める。③慢性呼吸不全では蛋白・エネルギー障害(筋蛋白・体脂肪の低下、内臓蛋白の軽度低下)を呈する。④FEV_{1.0}、P_{lmax}は%IBW、%AMC、BCAA/AAA、体筋肉量、筋力と正の相関を認める。⑤実測REEは予測REEの20~25%増大しており、それは呼吸筋酸素消費量

と代謝が亢進が原因している。⑦実測REEの亢進例ほどFEV_{1.0}、PImax、筋蛋白量が減少しアミノ酸インバランスが高度である。⑧体重減少は閉塞性障害とは独立した予後決定因子である。しかし、メタ分析の結果、安定期のCOPDに対する栄養療法は形体測定、呼吸機能、運動耐容能の改善はしない¹⁸⁾。

以上の報告からすれば、栄養療法、筋力強化、運動療法の併用は有効である可能性が高いと判断できる。また、我々の先行研究の結果から、呼吸リハビリテーションを施行し長期にわたる臨床経過を比較してみると、呼吸リハビリテーションの効果と臨床経過は栄養状態に関連していることが示唆されていた¹⁾。そこで今回、在宅酸素療法施行中のCOPD8例を対象に呼吸理学療法及び栄養療法を在宅にて8週間施行した²⁾。その結果、REEは有意に減少し、呼吸筋力、HRQLは有意に改善した。また、身体計測(身長、体重、%IBW、BMI)及び生化学検査(血清蛋白成分、血漿アミノ酸分析)および四肢筋力、運動耐容能は改善傾向を示した。この研究の反省点として、在宅で施行したため運動療法の監視が十分でなかったこと、また、対象症例の選択では%IBWが90%以上の症例に施行した結果、かえって体重増加となり運動耐容能が低下してしまった点である。今後、症例を検討し、より効果的な呼吸リハビリテーションプログラムの開発が望まれる。

また、酸素吸入による運動耐容能に及ぼす影響については¹⁹⁾、①運動時低酸素血症の改善、②呼吸筋機能の改善、③低酸素性肺血管攣縮と不整脈、肺高血圧の改善、④低酸素性呼吸困難感の改善、⑤乳酸産成の遅れがあげられる。しかし、長期酸素療法により運動時低酸素血症を改善するかに関しては、運動時のみ低酸素血症のある患者に6週間の酸素投与した結果、6MD、HRQLはわずかに改善するが、運動時の息切れは改善しない²⁰⁾。さらに、長期酸素療法は運動耐容能を改善させるかどうかに関しては、酸素投与だけでは運動耐容能の改善は少なく、酸素療法と運動療法の併用で運動耐容能の改善は大きい²¹⁾。これらのことから、酸素吸入により運動耐容能の直接の改善は少なく、運動療法の併用が望ましいといえる。そして、最近行われたNOTTの再評価では24時間酸素を吸入し、長く歩行している人の方があまり歩かない人より生命予後がよいことが証明され、運動療法の重要性が強調されている¹⁰⁾。

これらの報告からみても、慢性呼吸不全の呼吸リハビリテーションプログラムの中では、如何に効率の良い運動療法を行うべきであるかが、中心的課題である。包括的呼吸リハビリテーションプログラムの中では運動療

法、栄養療法、換気補助の併用が重要な構成要素であると思われ、今後、重症度に合わせた、効果的呼吸リハビリテーションの開発が望まれる。

結 論

新しい運動療法の試みとして、運動療法と栄養療法、運動療法と換気補助の効果について検討した。8週間在宅で運動療法と栄養療法を併用した結果、安静時エネルギー代謝、呼吸筋力、レチノール結合蛋白、HRQLが有意に改善した($p < 0.05 \sim 0.01$)。しかし、形態測定、呼吸機能、動脈血ガスにおいては変化を認めなかったが、四肢筋力、運動耐容能は改善傾向を示した。また、運動療法とNPPVによる換気補助の併用では、運動耐容能、運動時酸素飽和度の低下、呼吸困難感が、有意に改善した($p < 0.05 \sim 0.002$)。換気補助により改善した症例の特徴として、安静時残気率の高いもの、運動時呼吸困難感や呼吸数の増加する症例において、有意な改善を認めた($p < 0.05 \sim 0.01$)。これらの結果から、運動療法、栄養療法、換気補助の併用は、有効であることが示唆された。今後、それぞれの効果およびこれらの併用の効果について検討すべき課題であり、重症度に合わせた効果的な呼吸リハビリテーションの開発が望まれる。

参考文献

- 1) 宮川哲夫：呼吸リハビリテーションの効果と今後の課題、日呼吸学会誌 9:472-479, 2000
- 2) 島田尚登、石坂彰敏、仲村秀俊、宮川哲夫、田中弥生 他：在宅酸素療法施行中の慢性呼吸不全症例に対する栄養療法・運動療法の併用の効果、日本呼吸器学会雑誌38：164, 2000
- 3) Sliwinski P, Kaminski D, Zielinski J et al: Partitioning of the elastic work of inspiration in patients with COPD during exercise. Eur Respir J 11: 416-421, 1998
- 4) Diaz O, Villafranca C, Ghezzi H et al: Role of inspiratory capacity on exercise tolerance in COPD patients with and without tidal expiratory flow limitation at rest. Eur Respir J 16:269-275, 2000
- 5) O'Donnell DE, Sanni R, Tounes M: Improvement in exercise endurance in patients with chronic airflow limitation using continuous positive airway pressure. Am Rev Respir Dis 138:1185-1191, 1988
- 6) Keilty SEJ, Ponte J, Fleming TA et al: Effect of inspiratory pressure support on exercise tolerance and breathlessness in patients with severe stable chronic obstructive pulmonary disease. Thorax 49:990-994, 1994

- 7) 坪井知正、大井元晴、陳 和男 他:胸郭性拘束性換気不全に対する12分間歩行テストにおける酸素投与および換気補助 (NPPV) の有用性の検討, 日呼吸管理会誌 4:160-163,1995
- 8) Tuboi T, Ohi M, Chin K et al: Ventilatory support during exercise in patients with pulmonary tuberculosis sequelae. Chest 112:1000-07,1997
- 9) Bianchi L, Foglio K, Pagani M et al : Effects of proportional assist ventilation on exercise tolerance in COPD patients with chronic hypercapnia. Eur Respir J 11: 422-427,1998
- 10) Kyroussis D, Polkey MI, Hamnegard C-H et al : Respiratory muscle activity in patients with COPD walking to exhaustion with and without pressure support. Eur Respir J 15:649-655,2000
- 11) Polkey MI, Hawkins P, Kyroussis D et al : Inspiratory pressure support prolongs exercise induced lactataemia severe COPD. Thorax 55: 547-549, 2000
- 12) A Statement of American Thoracic Society and European Respiratory Society: Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 159: S1-S40,1999
- 13) Patessio A: Exercise training in lung disease, Eur Respir Mon 13: 90-98,2000
- 14) Celli BR : Exercise in the rehabilitation of patients with respiratory disease. In: Hodgkin JE et al ed. Pulmonary rehabilitation Guidelines to success 3ed edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, pp147-163,
- 15) Bernard A Whittom F, LEBLANC P et al. Aerobic and strength training in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 159: 896-901,1999
- 16) 米田尚弘 : COPDの病態と治療 — COPDにおける栄養障害の評価とその治療—, 呼吸 16 : 249-261,1997
- 17) Wouters EFM and Schols AMWJ: Nutritional support in chronic respiratory disease, Eur Respir Mon 13: 111-131,2000
- 18) Ferreira IM, Brooks D et al : Nutritional support for individuals with COPD, A Meta-analysis. Chest 117,672-678,2000
- 19) MacIntyre NR: Oxygen therapy and exercise response in lung disease. Respir Care 45:194-203,2000
- 20) McDonald CF, Blyth CM, Lazarus MD et al: Exertional oxygen of limited benefit in patients with chronic obstructive pulmonary disease and mild hypoxia. Am J Respir Crit Care Med 152:1616-1619,1995
- 21) Petty TL, Bliss PL: Ambulatory oxygen therapy, exercise, and survival with advanced chronic obstructive pulmonary disease (The Nocturnal oxygen therapy trial revisited). Respir Care 45:204-213,2000

無麻酔、無拘束ラットの低酸素換気抑制における 延髄孤束核のGABAの役割

田畑 雅央 黒澤 一 菊池 喜博 飛田 渉*
小川 浩正 岡部 慎一 Ye Tun 白土 邦男**

はじめに

ヒトを含む哺乳類が急性の定濃度低酸素に暴露されると、換気反応は二相性となることが知られている¹⁾²⁾。低酸素負荷直後の第一相では換気は上昇し、続く第二相では次第に換気は減少して、低酸素負荷前の値と低酸素負荷による最大換気量の間値で定常状態に至る。この換気の減少は「低酸素換気抑制 (hypoxic ventilatory decline (HVD))」といわれる³⁾⁴⁾。このHVDに関して、その詳細は不明であるが、低酸素下で中枢神経系で放出されるγ-アミノ酪酸 (GABA)⁵⁾、アデノシン⁶⁾、オピオイド⁷⁾などの抑制性の神経伝達/調節物質の関与が示唆されている。特にGABAは、脳室内投与で分時換気量を減少させ⁸⁾、またGABA-A受容体拮抗薬のひとつであるビククリンの全身投与⁹⁾¹⁰⁾により、HVDが消失したという報告もあり、HVDに関する重要な神経伝達物質と考えられる。NTSにおいてもGABAは存在し¹¹⁾、換気抑制の働きを持つことが、いくつかの報告で示唆されている。NTS内のネコの呼吸ニューロンにGABAあるいはGABA作動薬を作用させると神経放電が減少することが報告されており¹²⁾、頸動脈洞神経の電気刺激によって生じるNTS内の神経活動がGABAにより消失あるいは著しく抑制されることも知られている¹³⁾。したがって低酸素換気反応の第一相に末梢化学受容体の刺激によりNTSで増加するグルタミン酸が関与している¹⁴⁾のと同様に、NTS内で末梢化学受容体の刺激に応じてGABAが増加し、低酸素換気応答の第二相であるHVDを調節している可能性が考えられる。本研究では無麻酔、無拘束という生理的条件下でin vivo マイクロダイアリス法を用いて低酸素負荷時のNTS内のGABAを連続的に測定し、またマイクロインジェクション法によりGABA-A受容体、GABA-B受容体に特異的な

作動物質をNTSに投与し、HVDにはNTSにおけるGABAが関与していることを明らかにすることと、末梢化学受容体遮断実験により、その作用には末梢化学受容体の刺激が必要であることを明らかにすることを目的とする。

対象と方法

まず麻酔下 (Nembutal, Abbott, North Chicago, IL, USA, 40mg kg⁻¹ I.P.) の雄ラット (n=87, 250-350g, Sprague-Dawley) に対して下記の外科的処置を行い、麻酔からの回復後に、無麻酔・無拘束の状態で行った。GABAの測定にはマイクロダイアリス法を用い、脳内への薬物投与にはマイクロインジェクション法を用いた。

ガイドカニューレの植え込み

マイクロダイアリスプローブあるいはマイクロインジェクションニードル挿入のために、あらかじめステンレス製のガイドカニューレを脳定位装置を用いてラットの脳内に植え込んだ¹⁵⁾。対照群のラットには延髄網様体に同様にガイドカニューレを植え込み固定した。

末梢化学受容体離断 (Carotid body denervation, CBD)

一部のラットに対して、CBDを実験日の3~5日前に行なった。麻酔から回復後、低酸素負荷を行ない、換気の増加が見られないことをもって、CBDが成功したと判断し、ガイドカニューレを前述の方法で挿入して、後の実験に使用した。偽手術 (sham-operated) ラットに対しては、頸動脈分岐部の露出まで同様に手術を行なうが、頸動脈洞神経は温存し、ガイドカニューレを同様に挿入した。

プロトコールマイクロダイアリス群 (n=21)

グループ1. NTSにおける細胞外液中のGABA濃度の低酸素負荷による変化 (n=15)

低酸素負荷中のNTS中の[GABA]_oの変化を調べるため、

東北大学第一内科

* 「呼吸不全」調査研究班 分担研究者

** 「呼吸不全」調査研究班 研究協力者

マイクロダイアリシスをおこなった。以下の実験は9匹の sham 手術ラットと6匹の CBD ラットで行われた。室内気下で3~4時間灌流し[GABA]_oが一定の値になったのを確認し、45分間の低酸素 (FO₂=10%) 負荷を行なった。低酸素負荷前1時間中に回収した4サンプルのうち、最初の3サンプルの[GABA]_oの平均値を[GABA]_oの基礎値とし、低酸素負荷直前の1サンプルを室内気での NTS での[GABA]_oとした。測定チャンパー内を定流速で灌流している室内気に窒素を混合し、10%低酸素負荷を行なった。チャンパー内のFCO₂は0.6%以下になるように調整した。透析液は15分を1サンプルとして集められた。45分間の低酸素負荷中、15分ごとに3サンプル透析液を回収し、[GABA]_oを測定して低酸素負荷直前の室内気下での[GABA]_oと比較した。45分間の低酸素負荷後、FO₂を室内気レベルに戻した。その後15分間さらに室内気下で1サンプル回収した。これらのラットでは、マイクロダイアリシスと同時に体プレシスモグラフィにより換気も測定した。

グループ2. NTS外における細胞外液中のGABA濃度の低酸素負荷における変化 (n=6)

6匹のラットにガイドカニューレをNTS外(延髄網様体)に植え込んだ。グループ1と同じプロトコールでNTS外でのマイクロダイアリシスを低酸素負荷をしておこなった。

マイクロインジェクション群 (n=66)

グループ3. 低酸素負荷早期の換気増加に対するNTSに投与したGABA作動薬の効果 (n=24)

NTSに投与したGABA作動薬が低酸素負荷早期の換気増加に対して換気抑制作用を持つかどうか検討するため、GABA-A受容体作動薬のmuscimol (n=6)とGABA-B作動薬のbaclofen (n=6)をNTSにマイクロインジェクションした。室内気下で換気の基礎値を測定した後、100nlの薬液あるいは溶媒(PBS) (n=12)を投与した。投与10分後、10%O₂に曝露した。低酸素負荷直前の室内気での換気と、低酸素負荷時の最大換気量をそれぞれ検討した。

グループ4. NTSに投与したGABA拮抗薬のHVDに対する効果 (n=30)

HVDに対するGABA拮抗薬の効果を調べるため、GABA-A受容体拮抗薬の(-)-bicuculline-methiodide (10pmol, n=6), GABA-B受容体拮抗薬の2-OH-saclofen (400pmol, n=6)およびCGP-35348 (2.5nmol, n=6)を

NTSにマイクロインジェクションした。50分の低酸素負荷中、40分の時点で100nlの薬液あるいは溶媒(PBS) (n=12)をマイクロインジェクションした。マイクロインジェクション直前の換気と、インジェクション後の換気を比較検討した。

グループ5. CBDラットのNTSに投与したGABA拮抗薬の換気に対する効果 (n=12)

NTSにおけるGABA拮抗薬のHVDに与える効果がCBDにより変化するかどうか検討するため、bicuculline、saclofenおよびCGPをCBDラット(n=6)のNTSにグループ4と同じプロトコールでマイクロインジェクションした。各々の薬剤は別々の日に、任意の順で投与した。対照実験として、6匹の sham 手術をしたラットに同じ薬剤を同じプロトコールで投与した。

組織学的検討

実験終了後、過量のネンブタールでラットを屠殺し、脳を摘出した。摘出した脳は10%ホルマリン溶液で一昼夜固定した。ビブラトームにて連続切片(50μm)を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を行ない、マイクロダイアリシス・マイクロインジェクションの部位がNTS内にあることを確認した。

統計

すべてのデータは平均値±標準誤差で示した。マイクロダイアリシスのデータは two-way analysis of variance (ANOVA)により分析した。群間に有意差が認められた場合、post hoc Student's unpaired *t*-testにより有意差の存在する点を検出した。低酸素負荷による効果は one-way ANOVAにて有意差を確認した後、post hoc Scheffe testを用い、負荷前の値と低酸素負荷中の値を比較した。マイクロインジェクションのデータはunpaired *t*-testにより検定した。CBDラットへのマイクロインジェクションでは投与前後の値をpaired *t*-testにより検定した。各値間の差は危険率5%未満をもって有意とした。

研究結果

低酸素換気反応

sham手術ラット(n=9)では、分時換気量は低酸素負荷数分以内で最大に達し、その後次第に減少して室内気下の値と最大換気量の間で定常状態に達した。呼吸数は低酸素負荷で上昇し、低酸素負荷中は一定で変化しなかった。一回換気量も低酸素負荷で上昇したが、その後次第に減少した。したがって低酸素負荷中の換気の減少

は主に一回換気量の減少によるものと考えられた。一方 CBD ラット (n=6) では、分時換気量、呼吸数、一回換気量いずれも低酸素負荷で上昇しなかった。分時換気量、呼吸数、一回換気量すべて sham 手術群と CBD 群で有意差があった (p<0.01)。sham 手術群で低酸素負荷40分での分時換気量と一回換気量は低酸素負荷3分のこれらの値と比べ有意に低下していた (共に p<0.01)。

GABA 作動薬の換気に与える効果

GABA-A 受容体作動薬の muscimol、GABA-B 受容体作動薬の baclofen いずれも室内気下での換気は変化させなかった。しかし GABA-A および GABA-B 受容体作動薬はいずれも、低酸素負荷早期に見られる換気増加を溶媒単独の対照群 (Vehicle 群) に比べ有意に減少させた (muscimol 群 : p<0.01、baclofen 群 : p<0.05)。低酸素負荷による呼吸数の増加は GABA 作動薬群と Vehicle 群で有意差は認められなかった。一方、一回換気量の増加は、GABA 作動薬により有意に減少した (muscimol 群 : p<0.01、baclofen 群 : p<0.05)。したがって GABA 作動薬は低酸素負荷時の分時換気量の増加を抑制した。またこれは主に一回換気量の抑制によるものであった。

低酸素負荷による細胞外液中 GABA 濃度の変化

図 1 は低酸素負荷中の細胞外液中の GABA 濃度 ([GABA]_o) の変化を室内気下での基礎値に対する % 値で示したものである。室内気における sham 手術ラットの NTS での [GABA]_o は 61.6 ± 11.8 fmol/μl であった。この値は低酸素負荷最初の 15 分では変化しなかったが、中間の 15 分 (15 ~ 30 min) と最後の 15 分 (30 ~ 45 min) で室内気と比べ有意に増加した (p<0.01)。再度室内気に戻すことにより、[GABA]_o は低酸素負荷前の室内気の値に戻った。一方、図には示していないが、CBD ラットでは NTS での [GABA]_o は低酸素負荷で変化しなかった。また NTS 外の延髄網様体でも、[GABA]_o は変化しなかった。低酸素負荷の中間 15 分と最後の 15 分の NTS における [GABA]_o は sham 手術群と CBD 群、NTS 外群の間で有意差が認められた (15-30 min : CBD 群 : p<0.01, NTS 外群 : p<0.05 ; 30-45 min : 共に p<0.01)。

GABA 拮抗薬の HVD に与える効果

HVD における GABA の関与をより明らかにするため、GABA 拮抗薬を NTS にマイクロインジェクションした。GABA-A 受容体拮抗薬の bicuculline 投与により、換気は増加したが、対照の Vehicle 群では換気は変化しなかった (p<0.01)。saclofen と CGP の 2 つの GABA-B 受容体拮抗薬

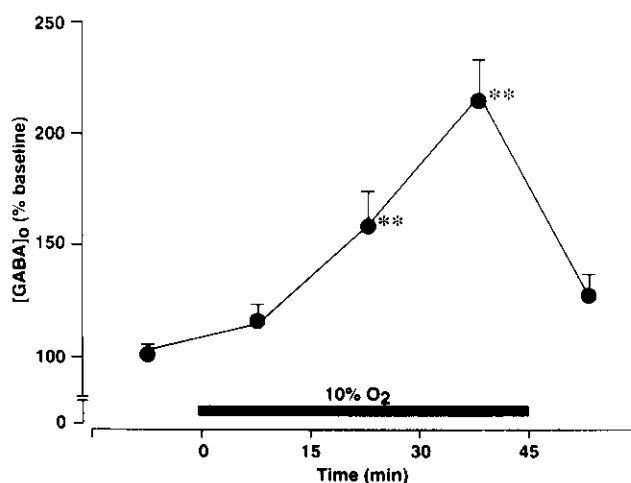


図 1 低酸素による NTS および NTS 外での細胞外液中の GABA 濃度の変化

低酸素負荷による sham 手術ラット (●, n=9) の NTS 内での細胞外液中の GABA 濃度 ([GABA]_o) の変化を示す。sham 手術ラットの NTS では、[GABA]_o は低酸素負荷最初の 15 分では変化しなかった。しかし中間の 15 分、最後の 15 分では室内気での [GABA]_o と比べ有意に増加した (**p<0.01)。この GABA の増加は、再度室内気に戻すことにより前値付近へ戻った。値は平均値 ± 標準誤差であり、[GABA]_o の基礎値に対する 100 分率で示した。

も同様に対照の Vehicle 群と比べ、有意に換気を増加させた (共に p<0.01)。GABA-A および GABA-B 受容体拮抗薬のいずれも、一回換気量を対照と比べ有意に増加させた (共に p<0.01)。それに対し呼吸数は GABA-A、GABA-B 拮抗薬のいずれも Vehicle 群と比べ変化させなかった。したがって、HVD 時の GABA 拮抗薬のマイクロインジェクションによる換気の増加は、主に一回換気量の増加によるものと思われた。

GABA 拮抗薬の換気に与える効果の CBD による変化

sham 手術群では、低酸素負荷40分での NTS に GABA 拮抗薬をマイクロインジェクションすると換気は有意に増加した (p<0.01)。しかしこの GABA 拮抗薬の換気増加作用は、CBD でみられなくなった。

考案・結論

本研究は、低酸素換気応答時の HVD での GABA の役割を、低酸素換気応答に影響を与える麻酔という条件²³⁾を排して、無麻酔・無拘束というより生理的な条件下ではじめて明らかにしたものである。本研究で明らかになったのは以下の点である。1) NTS に投与した GABA 作動薬には換気抑制作用が見られた。2) NTS での [GABA]_o は HVD 時に増加した。3) GABA 拮抗薬は HVD を軽減させた。4) 低酸素負荷による NTS での [GABA]_o の増加は

CBDにより消失した。5) CBDによりGABA拮抗薬のHVDに対する拮抗作用が消失した。

以上の事実から、NTS内のGABAがHVDに関与していることが示唆され、またこれには末梢化学受容体からの刺激が必要であることも示唆された。今回のマイクロインジェクションの実験では、NTSに投与したGABA作動薬は低酸素負荷早期の換気増加を抑制した。以前の報告でも、麻酔下の動物であるが、今回の実験と同様の成績が示されており^{16) 17)}、NTSのGABAが低酸素負荷時の換気に対し抑制作用を有していることを強く示唆している。

本研究ではNTS内のGABAをマイクロダイアリス法を用いて測定した。その結果、NTS内でGABAは低酸素負荷の比較的後半、換気抑制相で増加が認められた。しかしこの低酸素負荷によるGABAの増加は、CBDラットのNTSや、NTS外の網様体では認められなかった。このことによりGABAの増加は、低酸素負荷により中枢神経系内で非特異的にみられる現象ではないことが示唆された。さらにNTSにおいても、CBDによりGABAの増加が認められなかったことから、低酸素負荷によるNTSでのGABAの増加は低酸素による末梢化学受容体からの入力がないとおこらないと考えられた。

この末梢化学受容体刺激によって増加するNTS内のGABAが実際にHVDに関与していることを明らかにするため、NTSにGABA拮抗薬を投与し、HVDに与える効果を検討した。GABA-A受容体拮抗薬であるbicuculline、およびGABA-B受容体拮抗薬であるsaclofenとCGPいずれもHVD時にNTSに投与すると、抑制された換気は増加し、この換気の増加は、主に一回換気量の増加によるものであった。これらの結果は、HVDが主に一回換気量の低下によりおこること²⁾、HVD時にGABA拮抗薬を全身投与すると、一回換気量の増加により、換気が増加するという以前の報告と一致しており^{10) 18)}、低酸素によって増加するNTSのGABAが換気抑制に重要な役割をはたしていることが示唆された。実際、CBDにより、低酸素負荷時のGABAの増加は見られなくなったが、そのCBDラットにGABA拮抗薬を投与しても換気増加がみられなかったことは、末梢化学受容体刺激により増加するGABAがHVDに関与していることを示すものである。

今回の実験でGABAは低酸素負荷でNTSにおいて次第に上昇してきた。この低酸素負荷により徐々に増加するメカニズムとして、まず低酸素時にNTS内で増加するグルタミン酸からGABAが変換され増加した可能性が考えられる。中枢神経系でGABAは主にグルタミン酸からグルタミン酸脱炭酸酵素 (glutamic acid decarboxylase, GAD) により合成され、GABA- α -oxoglutarate

transaminase (GABA-T) により分解される。ラット海馬のスライスで、低酸素負荷を行なうとGABAの増加が認められるが、あらかじめGAD阻害剤で処理しておくこと、このGABAの増加が抑えられるという報告があり¹⁹⁾、低酸素によるGABAの増加には、GAD活性の上昇が関与している可能性が示唆されている。また低酸素はGABA-Tの活性を抑制し、GABAの増加に関与していることも知られている。低酸素では組織のpHは酸性側に傾くと考えられるが、GADの至適pHは7以下の酸性領域にあり、一方GABA-Tの至適pHは8.3とアルカリ性領域にある。したがって低酸素による組織のpHの低下は、GADの活性を高める一方、GABA-Tの活性を抑制すると考えられる。以上のことからグルタミン酸からのGABAの合成は低酸素で促進され、またその分解が抑制されるため、NTS内で低酸素負荷時にGABAが次第に蓄積する可能性が考えられる。

また以前の報告で、低酸素負荷の早期に、NTSで化学受容体の刺激により低酸素負荷時に換気増加に働くグルタミン酸が増加することが示されており¹⁴⁾、酵素活性は不変でも基質の増加によるGABAの増加もおこりうると考えられる。以上をまとめると、低酸素負荷による化学受容体の刺激によりNTSで換気増加に働くグルタミン酸の増加がおこり、活性が上昇したGADによりGABAに変換されるがそのGABAの分解はGABA-T活性が低下しているためあまりおこらず、その結果低酸素負荷後半にかけてGABAが蓄積し増加した可能性が考えられる。Richterら²⁰⁾はネコの腹側呼吸ニューロン群で低酸素によるGABAの増加はグルタミン酸の増加と関係していることを示しており、これは上記の仮説を支持するものと考えられる。

今回の研究ではNTSでGABA-AおよびGABA-B両受容体を介した機構を調べた。しかしながら、これら両受容体を関した機構に、明らかな違いは認められなかった。なぜGABA-A受容体とGABA-B受容体を介した機構がHVDに対して同じ効果を示したかという理由は明らかではなく、今後の研究が必要であると思われた。本研究において、無麻酔・無拘束のラットでHVDにNTSでのGABAが関与しており、覚醒動物で実際に機能していることが示唆され、またこのGABAの増加には、化学受容体からの刺激が必要であることも示唆された。

(In Press)

文 献

- 1) Weil JV, Zwillich CW: Assessment of ventilatory response to hypoxia. Chest 1976; 70 (Suppl 1): 124-128.

- 2) Neubauer JA, Melton JE, Edelman NH : Modulation of respiration during brain hypoxia. *J Appl Physiol* 1990; 68: 441-451.
- 3) Cherniack NS, Edelman NH, Lahiri S : Hypoxia and hypercapnia as respiratory stimulants and depressants. *Respir Physiol* 1970/71; 11: 113-126
- 4) Morrill CG, Meyer JR, Weil JV : Hypoxic ventilatory depression in dogs. *J Appl Physiol* 1975; 38: 143-146.
- 5) Kazemi H, Hoop B: Glutamic acid and γ -aminobutyric acid neurotransmitters in the central control of breathing. *J Appl Physiol* 1991; 70: 1-7.
- 6) Winn HR, Rubio R, Berne RM : Brain adenosine concentration during hypoxia in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1981; 241: H235-H242.
- 7) Wardlaw SL, Stark RI, Baxi L, et al: Plasma β -endorphin and β -lipotropin in the human fetus at delivery: Correlation with arterial pH and pO₂. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 49: 888-891.
- 8) Kneussl MP, Pappagianopoulos P, Hoop B, et al : Reversible depression of ventilation and cardiovascular function by ventriculocisternal perfusion with gamma-aminobutyric acid in dogs. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133: 1024-1028.
- 9) Melton JE, Neubauer JA, Edelman NH : GABA antagonism reverses hypoxic respiratory depression in the cat. *J Appl Physiol* 1990; 69: 1296-1301.
- 10) Huang J, Suguihara C, Hehre D, et al: Effects of GABA receptor blockage on the respiratory response to hypoxia in sedated newborn piglets. *J Appl Physiol* 1994; 77: 1006-1010.
- 11) Saha S, Batten TFC, McWilliam PN : Glutamate, γ -aminobutyric acid and tachykinin-immunoreactive synapses in the cat nucleus tractus solitarii. *J Neurocytol* 1995; 24: 55-74.
- 12) Champagnat J, Denavit-Saubie M, Moyanova S, et al : Involvement of amino acids in periodic inhibitions of bulbar respiratory neurons. *Brain Res* 1982; 237: 351-365.
- 13) McWilliam PN, Shephard SL : A GABA-mediated inhibition of neurons in the nucleus tractus solitarius of the cat that respond to electrical stimulation of the carotid sinus nerve. *Neurosci Lett* 1988; 94: 321-326.
- 14) Mizusawa A, Ogawa H, Kikuchi Y, et al: In vivo release of glutamate in nucleus tractus solitarii of the rat during hypoxia. *J Physiol (Lond)* 1994; 478: 55-65.
- 15) Paxinos G, Watson C : *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2 nd ed, Academic Press, New York, 1986
- 16) Chitravanshi VC, Kachroo A, Sapru HN: A midline area in the nucleus commissuralis of NTS mediates the phrenic nerve responses to carotid chemoreceptor stimulation. *Brain Res* 1994; 662: 127-133.
- 17) Suzuki M, Tetsuka M, Endo M: GABA B receptors in the nucleus tractus solitarii modulate the carotid chemoreceptor reflex in rats. *Neurosci Lett* 1999; 260: 21-24.
- 18) Soto-Arape I, Burton MD, Kazemi H: Central amino acid neurotransmitters and the hypoxic ventilatory response. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1113-1120.
- 19) Madl JE, Royer SM: Glutamate dependence of GABA levels in neurons of hypoxic and hypoglycemic rat Hippocampal slices. *Neuroscience* 2000; 96: 657-664.
- 20) Richter DW, Schmidt-Garcon P, Pierrefiche O, et al : Neurotransmitters and neuromodulators controlling the hypoxic respiratory response in anesthetized cats. *J Physiol (Lond)* 1999; 514: 567-578.

呼吸不全治療に関する分子生物学的研究

鈴木 陽一 玉置 正勝 白澤 卓二*

はじめに

慢性呼吸不全症では、種々の換気不全により末梢臓器が慢性の低酸素状態に暴露されている。本プロジェクトでは、この組織低酸素状態を改善させる方法の一つとして、組織への酸素運搬を担うヘモグロビン分子の酸素親和性に着目している。ヒトにおいて報告されている様々な酸素親和性異常ヘモグロビン症の中で、低酸素親和性を示すPresbyterian型ヘモグロビン症¹⁻⁵⁾は、グロビン4量体中心部に配向する β 108AsnがLysに変異することにより、ヘモグロビン中心窩へCl⁻を囲い、脱酸素状態で安定化するようになる⁶⁻⁸⁾。またこの変異によってBohr効果は保たれるため、大腸菌⁹⁾、トランスジェニック動物¹⁰⁾によるリコンビナントヘモグロビン生産や人工血液¹¹⁾の分野においても、Presbyterian型変異の導入が既に検討されている。我々は右方移動ヘモグロビンが組織へ及ぼす効果をin vivoにて検討するため、Presbyterian型変異をマウス β グロビン遺伝子に導入したノックインマウスを作製した¹²⁾。作製されたヘモグロビン遺伝子改変マウスが産生するヘモグロビン分子の生理学的特性および生体に及ぼす影響について検討したので報告する。

方法

Presbyterian型ヘモグロビンの酸素解離特性

昨年作製したPresbyterian変異ヘテロマウス(モデルマウス)由来の赤血球およびヘモグロビンを精製し、ヘモックスアナライザーを用いて、37°C、pH7.4の条件下における酸素解離特性を解析した。またBohr効果を検討する為、pH7.0、7.4、7.8、50mM HEPES buffer、100mM NaClの条件で酸素解離特性を調べP₅₀よりBohr効果を検討した。クロライド効果は0、50、150、500mMのNaCl濃度条件のP₅₀より解析した。

走行実験

Presbyterian変異ヘモグロビンの低酸素親和性が運動に及ぼす効果を検討するため、16週齢マウスを1日12時

間、4週間、Running Wheelを用いて¹³⁾、自主的に走行させ、モデルマウスおよび野生型マウスの走行距離を比較した。

酸化系酵素活性

4週間走行群、無走行群の前脛骨筋を凍結切片とし、深層・中層・浅層それぞれの筋線維を酸性条件下(pH4.5)におけるATPaseを用いた免疫組織学的手法¹⁴⁾によりミオシン重鎖タイプIIA・IIB線維に分類した。また、石原らの方法¹⁵⁾に基づき、酸化系酵素活性の指標として筋線維中のSDH(サクシネートデヒドロゲナーゼ)活性を解析した。

結果

Presbyterian型ヘモグロビンの酸素解離特性

Presbyterian変異ヘテロマウス由来赤血球の酸素解離特性は野生型マウス由来の赤血球と比較して、右方移動を呈した(P₅₀ = 47.0Vs44.0mmHg, pH7.4, 37°C)(図1a)。この傾向は精製したPresbyterianヘモグロビンでも同様であり(P₅₀ = 30.5Vs22.5mmHg, pH7.4, 37°C)、 β グロビン遺伝子への変異導入による効果と考えられた。またHill係数、Bohr効果は野生型と比較して優位な差を認めなかったことから(図1b, c)、モデルマウスヘモグロビンが協調性を保っていると考えられた。またClイオンに対してP₅₀ = 41.0Vs30.5mmHg(100mMCl⁻, pH7.4, 37°C)と強いアロステリック効果を示した(図1d)。

自主的走行実験

野生型マウスおよびPresbyterianモデルマウスの走行群はいずれも、走行期間が経過するにしたがい走行距離が増大した。しかしながら、走行開始日より4週間後まで常に、モデルマウスの方が走行距離が長く、その平均走行距離(7580m/day, n=5)は野生型マウスの平均走行距離(3768m/day, n=5)の2倍以上の値を示した(図2)。

マウス前脛骨筋の筋線維タイプ分類をする為、抗ATPase抗体を用いて免疫組織染色した。図3a, c及び図4aに無走行群前脛骨筋の深層部の結果を示す。Presbyterianモデルマウスの前脛骨筋は野生型マウスに比べ、酸化系酵素の豊富なIIAタイプ線維(図3a, cの1)

東京都老人総合研究所分子遺伝学部門

*「呼吸不全」調査研究班 研究協力者

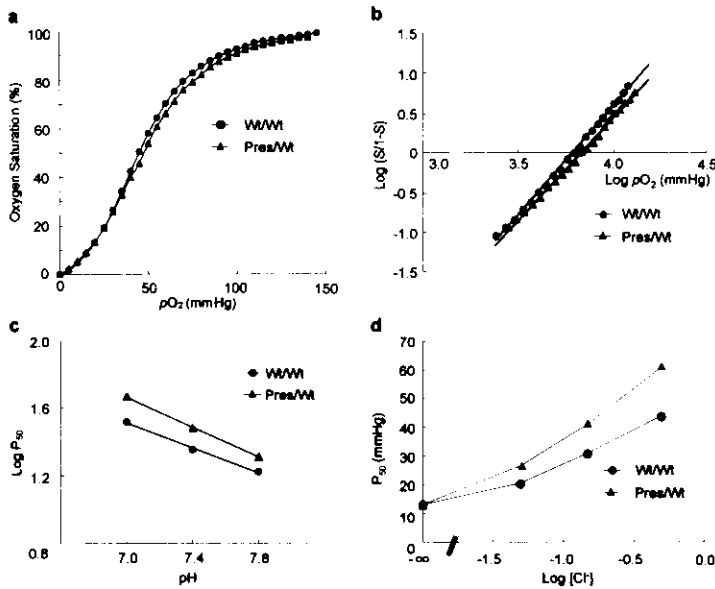


図1 Presbyterian Hbの生理学的性質。a, 赤血球中のPresbyterianマウスと野生マウスの酸素解離曲線。Presbyterian赤血球は酸素解離曲線が右側にシフトしている。b, Presbyterian赤血球と野生赤血球のHill'sプロット。Hill's係数はPresbyterianマウスで保存されている。c, Presbyterianマウスと野生マウスのヘモリソメートのBohr効果。Bohr効果もPresbyterianマウスで保存されている。d, Presbyterianマウスと野生マウスのヘモリソメートにおけるCl⁻濃度の酸素解離への影響。Presbyterianマウスでは増強されたCl⁻濃度依存性が見られる。

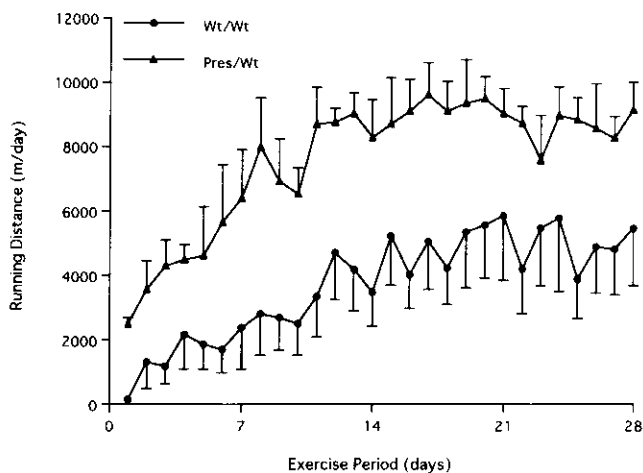


図2 Wt/WtとPres/Wtマウスの走行距離。値は平均±SE(n=5)を示す。

の増加を認めた。この所見は中層部でも有意な差として認められた。野生型マウスおよび変異ヘテロマウスいずれにおいても、走行群の筋線維構成と無走行群の筋線維構成との間には有意な差を認めなかった(未発表データ)。次に、マウス前脛骨筋の酸化系酵素活性の指標であるSDH活性を測定した。図3b, dに示すように、無走行群の前脛骨筋の深層部においては、モデルマウス前脛

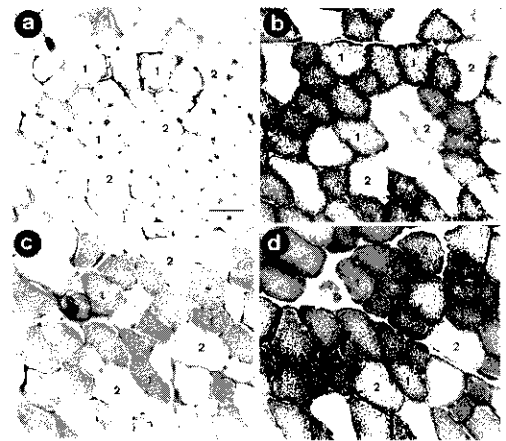


図3 tibialis anterior筋の深層部の横断切片。Wt/Wt(a, b)とPres/Wt(c, d)マウス。ATPaseをpH 4.5で前処理した(a, c)とsuccinate dehydrogenase(b, d)活性を染色した。1, type II A線維; 2, type II B線維。aのスケールバーは50µmを示す。

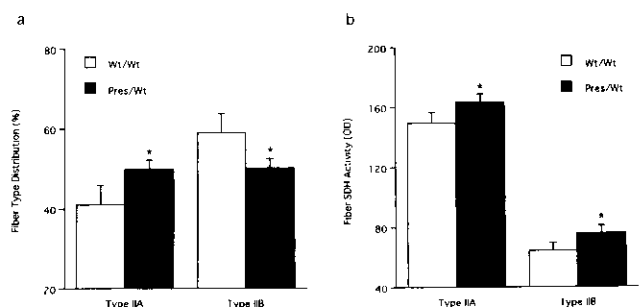


図4 tibialis anterior筋の繊維タイプ分布(a)とsuccinate dehydrogenase活性(b)。値は平均±SD(n=5)を示す。SDH, succinate dehydrogenase; OD, optical density。*P<0.001。

骨筋のSDH活性は野生型マウスと比較して、酸化系酵素活性が本来高いIIA線維ばかりかIIB線維でも増加していた(図3b, d, 図4b)。またモデルマウスのSDH活性は、前脛骨筋中層部のIIAタイプ線維においても有意に高値を示した(未発表データ)。モデルマウスおよび野生型マウスともに、16週齢から4週間走行群と無走行群の間では、SDH活性に有意な差を認めなかった。

考 察

作製したPresbyterian型Hb症 (β 108Asn \rightarrow Lys) モデルマウスのヘモグロビンは低酸素親和性を示し、Hill 係数やBohr効果に影響を与えないことから、ヒトPresbyterianヘモグロビンの生理学的特性を再現していることを確認できた。またClイオンに対する新たなアロステリック効果を獲得していた。この結果は、Presbyterianヘモグロビンが末梢において産生された代謝産物に対して強いアロステリック効果を示し、より効率的に酸素分子を解離する可能性を示唆した。またPresbyterianマウスは前脛骨筋の深層部および中層部において酸化系酵素活性の高いIIAタイプ線維の割合が多く、さらに全てのタイプの筋線維中での酸化系酵素活性も高いことが明らかになった。このように低酸素親和性モデルマウスは、末梢組織において高い酸化能力を持ったことにより、野生型マウスより酸素分子を効率よく組織に運搬・供給出来る能力を有し、低酸素状態や運動中のエネルギー代謝の面で生体に優位性を与え、自発的な行動量を増加させることに関与していると示唆された。また本モデルマウスが代謝測定実験において呼吸商の変化を伴わない酸素摂取量の増加を示すこと（未発表データ）にも矛盾しない結果であると考えられた。

今後は低酸素親和性ヘモグロビンの臨床応用を視野に、Presbyterian型Hb症モデルマウスに対する心虚血・脳虚血実験等を検討し、負荷条件下での効果を明らかにしていく予定である。また組織への酸素供給と運動量、行動パターンとの関連に関しては、我々が調べる限り報告されておらず、野生型マウスへの右方移動薬投与実験を検討している。

更にはマウスばかりでなく、ヒトPresbyterian Hb症家系についても、可能な限り動脈血液ガス、代謝効率測定、換気応答も含めた肺機能検査を行い、ヒトでの機能獲得、マウスとの相違について検討していきたい。

最後に、最近のサラセミアモデルマウスの自家骨髄移植の報告¹⁵⁾の中には、正常な β グロビン遺伝子を導入した自家骨髄を移植することにより、安定した β グロビン産生が可能になり極めて有効な治療効果を得たという特筆すべき技術の進歩が見られる。本プロジェクトも将来の呼吸不全症患者への遺伝子治療を目指し更に動物レベルでの具体的な治療法の検討を積み重ねたい。

参考文献

- 1) Moo PW, Wolff JA, Simon G, et al: Hemoglobin Presbyterian: beta 108(G10)asparagine leads to lysine, A

- hemoglobin variant with low oxygen affinity. *Febs Lett* 1978; 92: 53-56.
- 2) Horst J, OheneR, Kleihauer, et al: DNA restriction mapping identifies the chromosome carrying the mutant Hb Presbyterian β -globin gene. *Human Genet* 1983; 64: 263-266.
- 3) Villegas A, Wilson TB, Chen SS, et al: Hemoglobin Presbyterian [beta 108(G10)Asn \rightarrow Lys] in a Spanish family. *Acta Haematol* 1986;76:161-163.
- 4) Schnee J, Aulehla SC, Eigel A, et al: Hb D Los Angeles (D-Punjab) and Hb Presbyterian: analysis of the defect at the DNA level. *Human Genet* 1990; 84: 365-367.
- 5) Harano K, Harano T, Shibata S, et al: Hemoglobin Presbyterian [beta 108(G10)Asn \rightarrow Lys] found in Japan. *Acta haematol* 1986;76:161-163.
- 6) O' Donnell JK, Birch P, Parsons CT, et al: Influence of the chemical nature of side chain at beta 108 of hemoglobin A on the modulation of the oxygen affinity by chloride ions. Low oxygen affinity variants of human hemoglobin expressed in transgenic pigs: hemoglobins Presbyterian and Yoshizuka. *J Biol Chem* 1994; 269:27692-27699.
- 7) Tsai CH, Shen TJ, Ho NT, et al: Effects of substitutions of lysine and aspartic acid for asparagine at beta 108 and of tryptophan for valine at alpha 96 on the structural and functional properties of human normal adult hemoglobin: roles of alpha 1 beta and alpha 1 beta 2 subunit interfaces in the cooperative oxygenation process. *Biochemistry* 1999;38:8751-8761.
- 8) Gottfried DS, Manjula BN, Malavalli A, et al: Probing the diphosphoglycerate binding pocket of HbA and Hemoglobin Presbyterian (beta 108 Asn \rightarrow Lys). *Biochemistry* 1999;38:11307-11315.
- 9) Looker D, Abbott BD, Kozart P, et al: A human recombinant hemoglobin designed for use as a blood substitute. *Nature* 1992;356:258-260.
- 10) Kroeger KS, Kundrot CE: Structure of a hemoglobin-based blood substitute: insights into the function of allosteric proteins. *Structure* 1997;5:227-237.
- 11) 鈴木陽一、清水孝彦、小泉健一、他：呼吸不全治療に関する分子生物学的研究。厚生省呼吸不全調査研究班平成11年度研究報告書 2000;96-100.
- 12) Ishihara A, Roy RR, Ohira Y, et al: Hypertrophy of rat plantaris muscle fibers after voluntary running with increasing loads. *J Appl Physiol* 1998;84:2183-2189.

- 13) Hori A, Ishihara A, Kobayashi S, et al; Immunohistochemical classification of skeletal muscle fibers. *Acta Histochem Cytochem* 1998;31:375-384.
- 14) Hirofuji C, Nakatani T, Ishihara A, et al: Cell size and succinate dehydrogenase activity of different types of fibers in different regions of the tibialis anterior muscle in mice and rats. *Acta Histochem Cytochem* 2000;33: 295-303.
- 15) May C, Rivella S, Callegari J, et al: Therapeutic hemoglobin synthesis in β -thalassemic mice expressing lentivirus-encoded human β -globin. *Nature* 2000; 406: 82-86.

Presbyterian型Hbを有するマウスにおける、 急性低酸素負荷に対する組織低酸素の改善

泉崎 雅彦^{1) 2)} 岩瀬みち子¹⁾ 木村 弘²⁾ 栗山 喬之^{2) *}
本間 生夫^{1) **}

はじめに

ヘモグロビンは α グロビンサブユニットと β グロビンサブユニットをそれぞれ2個ずつ含む蛋白質であり、赤血球中において酸素を運搬する機能を担っている。ヘモグロビンの酸素に対する親和性は、種々の生理的因子、例えばpH、温度、2, 3-diphosphoglycerate (2, 3-DPG) の濃度などによって変化することが知られている。さらに、 α グロビンや β グロビンの遺伝子変異によるいくつかの異常ヘモグロビン症においても酸素親和性が変化していることが報告されている¹⁾。Hb Presbyterian (HB^{pres}) は、そのような異常ヘモグロビンのひとつであり、 β 108Asn \rightarrow Lys の変異が存在し、酸素親和性が低下していることが明らかになっている^{2) 3) 4) 5)}。酸素親和性の低下が生体に及ぼす効果を検討するために、遺伝子工学的手法を用いて HB^{pres} をもつヘモグロビン改変マウス (Presbyterianマウス) を作製した。

呼吸不全において問題となるのは、組織への酸素供給が低下してしまうことである。肺におけるヘモグロビンの酸素飽和度があるレベル以上に保たれているならば、酸素親和性の低下は末梢での酸素解離が進み、理論的には組織酸素化にとって有用であると考えることができる。事実、高地や慢性低酸素曝露により、2, 3-DPGが増加し、酸素親和性の低下がもたらされる^{6) 7) 8) 9)}。このことは低酸素に対する防御システムの一つであるとされている。さらに、酸素解離曲線の右方シフトが組織酸素分圧を上昇させるということもすでに示されている¹⁰⁾。一方において、その左方シフトの方が組織酸素化にとってむしろ有用である場合もある。非常に高度な低酸素環境下では、左方シフトにより肺での酸素の取り込みが多く

なり、動脈血酸素含量が増え、最終的には組織の酸素化に有利になるという¹¹⁾。これらのことを踏まえ、右方シフトでは、むしろ中程度の低酸素環境下において、肺での酸素取り込みと末梢での酸素解離がバランスされるのではないかと考えた。

我々は、このPresbyterianマウスを使い、 $FI_{O_2}=0.15$ の低酸素環境下における、筋組織酸素分圧、分時換気量、動脈血液ガス分圧、酸素消費量、二酸化炭素産生量の測定を行い、wildマウスと比較し、Hb^{pres}が組織酸素化に有用であるか検討を行った。

方法

1. 1. 組織酸素分圧 (PtiO₂) の測定

雄性Wildマウス8匹、Presbyterianマウス9匹 (12週齢) を用いた。エーテル麻酔下にマウスをダブルチャンバープレティスモグラフィ内に固定し、温度変化対応型のClark型ポーラログラフィック式針状酸素電極 (ユニークメディカル) を、ガイドカニューレを用いて左腓腹筋内へ刺入して留置固定した。出力は連続的にモニターし、テープレコーダに記録した。実験開始前後に大気にて電極のキャリブレーションを行った。

1. 2. 分時換気量 (\dot{V}_E) の測定

過去に報告したように、呼吸パラメータはダブルチャンバーボディプレティスモグラフィにて測定した¹²⁾。分時換気量は体重10gにて標準化した。

1. 3. ボディプレティスモグラフィ内の腓腹筋への酸素電極の刺入を終え、麻酔からの覚醒を待った。覚醒後マウスがチャンバーに慣れ、 $FI_{O_2}=0.21$ にて、酸素電極が安定した値を示すまでに少なくとも1時間を必要とした。その後急性低酸素負荷の実験を開始した。実験では、 $FI_{O_2}=0.21$ (O₂ in N₂) での測定終了後、 $FI_{O_2}=0.15$ の低酸素ガスを5分間吸入させた。測定は、負荷後30秒、1分、2分、3分、4分、5分に行った。吸入気の酸素濃度

1) 昭和大学医学部第二生理

2) 千葉大学医学部呼吸器内科

* 「呼吸不全」調査研究班 主任研究者

** 「呼吸不全」調査研究班 分担研究者

は、酸素分析器 (Respina 1H26, NEC San-ei) で常時モニターした。PtiO₂については、各時点における実験開始時の値との差を計算し、 Δ PtiO₂とした。

2. 動脈血液ガス分析

雄性Wildマウス5匹、Presbyterianマウス5匹 (12週齢) を用いた。事前に麻酔下 (sodium pentobarbital 25mg/kg, ip) にて血管カテーテルを左内頸動脈に留置固定した。同様な急性低酸素負荷を行い、同カテーテルから動脈血を採取し、pH、PaCO₂、PaO₂ の測定 (OPTI CCA, AVL Scientific Corporation) を行った。

3. 代謝パラメータの測定

雄性Wildマウス4匹、Presbyterianマウス5匹 (12週齢) を用いた。低酸素負荷中の酸素消費量 ($\dot{V}O_2$)、二酸化炭素産生量 ($\dot{V}CO_2$) をIndirect open-circuit method (ARCO-1000, ARCO system) にて測定した。FIO₂=0.21にて測定値が安定した後、マウス用チャンパーへの低酸素ガス (FIO₂=0.15) の流入を開始した。チャンパー内の吸入気濃度と代謝パラメータが安定するまでに約20分を要した。安定後更に5分間 $\dot{V}O_2$ と $\dot{V}CO_2$ の測定を継続した。測定値は体重1kgにて標準化した。

結果

1. 1. PtiO₂の測定 (Fig. 1)

低酸素負荷前 (FIO₂=0.21) の PtiO₂には、Presbyterianマウス (53.61±2.58mmHg) とWildマウス (49.60±1.84 mmHg) の間に有意差は認めなかった。一方低酸素負荷時では、PresbyterianマウスのPtiO₂は、Wildマウスに比べると高く保たれていた (p<0.05, a two-way ANOVA for repeated measures)。

1. 2. \dot{V}_E の測定 (Fig. 2)

換気量による代償が働き、PtiO₂の改善がもたらされる可能性も考え、PtiO₂の測定とともに \dot{V}_E も平行して測定した。しかし、Presbyterianマウスの方がむしろ低いものの、二群間に有意な差は認めなかった。

2. 動脈血液ガス分析 (Table 1)

PaO₂ は、いずれの酸素濃度でも二群間に差を認めなかった。Presbyterianマウスにおいて、両酸素濃度で、pHが低く、PaCO₂が高かった。

3. 代謝パラメータの測定 (Table 1)

FIO₂=0.21では、 $\dot{V}O_2$ と $\dot{V}CO_2$ のいずれにも二群間に差

を認めない。しかし、FIO₂=0.15では、 $\dot{V}O_2$ と $\dot{V}CO_2$ ともに Presbyterianマウスの方が高く保たれていた。

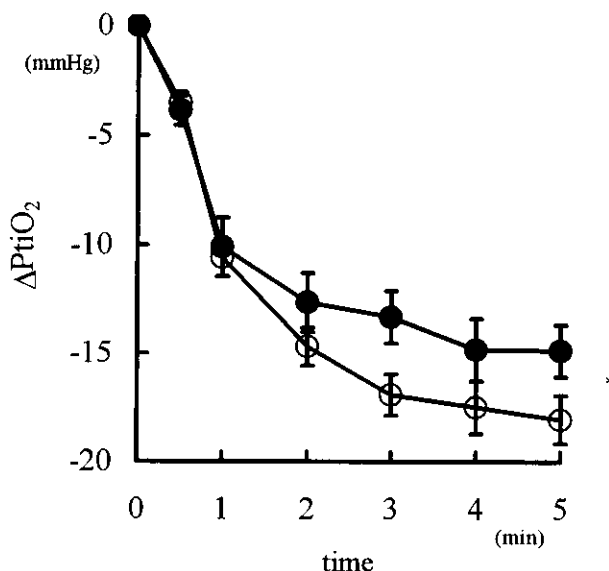


Fig. 1 Δ PtiO₂ response to the hypoxia in wild-type (open circle, n=8) and Presbyterian mice (filled circle, n=9). Data are mean \pm s.e.m. and were analyzed by a two-way analysis of variance for repeated measures. Statistical interaction between time and group (*P<0.05).

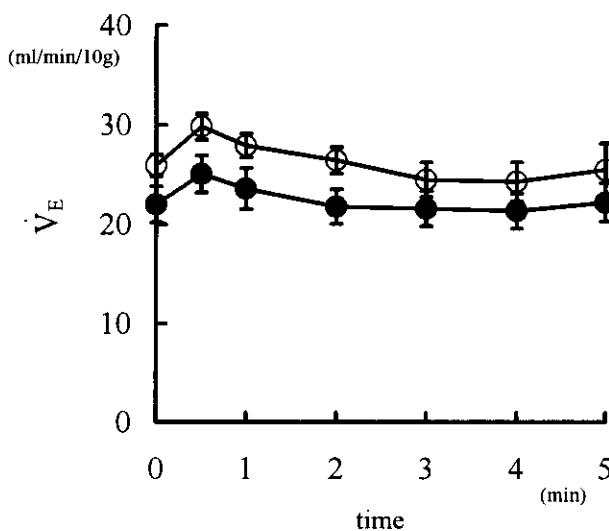


Fig. 2 Changes in \dot{V}_E to the hypoxia in wild-type (open circle, n=8) and Presbyterian mice (filled circle, n=9). Data are mean \pm s.e.m.

Table 1

		Wild-type	Presbyterian
Blood gas analysis			
n		5	5
pH	Room air	7.423 ± 0.002	7.341 ± 0.021**
	Hypoxia	7.439 ± 0.007	7.395 ± 0.013*
PaCO ₂ , mmHg	Room air	39.8 ± 0.6	47.2 ± 1.7**
	Hypoxia	39.6 ± 0.1	44.2 ± 0.6***
PaO ₂ , mmHg	Room air	90.6 ± 1.8	90.0 ± 5.1
	Hypoxia	54.8 ± 1.4	60.0 ± 4.5
Metabolic parameters			
n		4	5
CO ₂ production, ml/min/kg	Room air	316.1 ± 34.8	329.6 ± 17.6
	Hypoxia	212.5 ± 17.9	272.1 ± 12.5*
O ₂ consumption, ml/min/kg	Room air	370.3 ± 39.7	391.1 ± 6.0
	Hypoxia	257.3 ± 22.2	336.8 ± 10.0**
Respiratory exchange ratio	Room air	0.85 ± 0.02	0.84 ± 0.04
	Hypoxia	0.83 ± 0.02	0.81 ± 0.03

Arterial blood gas analysis and metabolic parameters. Significant differences between wild-type and Presbyterian mice (*P<0.05, **P<0.01 and ***P<0.001; unpaired Student's t-test). Data are mean ± s.e.m.

考察

Presbyterianマウスでは、Wildマウスに比較して、FIO₂ = 0.15の低酸素環境下において組織酸素分圧が高く保たれていることを示した (Fig. 1)。そして、この効果は、Hb^{Pres}の特性である酸素親和性の低下によるものと考えられる。一般的に組織酸素分圧の上昇は、1) 組織酸素消費の減少あるいは2) 組織酸素供給の増加によってもたらされる。この実験で観察された組織酸素分圧の上昇は、1) 組織酸素消費の減少によるものではないと考えられる。なぜなら、Presbyterianマウスでは、低酸素環境下で $\dot{V}O_2$ がむしろ高い値を示していた (Table 1)。それゆえ、2) 組織酸素供給の増加によることが示唆される。2) 組織酸素供給の増加は主に次の2つの生理学的因子によってもたらされる。毛細管の血流量増加もしくはヘモグロビンからの酸素解離の増加である。通常、低酸素の負荷時には酸素供給量の低下を補う目的で血流量が増大するといわれる。一方、酸素親和性の低下は、心拍出量の低下と血管抵抗の増大をもたらすという^{13) 14)}。これらを考慮すると、Presbyterianマウスにおける低酸素に対する代償性の血流量増大が、Wildマウスより多いとは考えにくい。また、 \dot{V}_E や肺での酸素移行の差によって、そもそもPaO₂が異なり、そのために組織酸素分圧差を引き起

こしているということも考慮に入れる必要があったが、 \dot{V}_E (Fig. 2) やPaO₂ (Table 1) は、いずれの酸素濃度でも二群間に差を認めなかった。したがって、Presbyterianマウスでは、酸素親和性の低下によるヘモグロビンからの酸素解離の増加が組織酸素化を促進したと考えられる。動脈血液ガス分析 (Table 1) にて、Presbyterianマウスが、両酸素濃度においてpHが低く、PaCO₂が高かったということは予想外のことであった。低酸素環境下で $\dot{V}CO_2$ が高いにもかかわらず、換気量の増大が見られないことから、二酸化炭素の換気応答が低下している可能性がある。あるいは、末梢からの二酸化炭素の運搬能が低下しているのかもしれない。このことに関しては、さらに検討する必要がある。

参考文献

- 1) Chui DH, Hardison R, Riemer C, et al : An electronic database of human hemoglobin variants on the World Wide Web. *Blood* 1998; 91: 2643-2644.
- 2) Moo-Penn WF, Wolff JA, Simon G, et al : Hemoglobin Presbyterian: beta108 (G10) asparagine leads to lysine, A hemoglobin variant with low oxygen affinity. *FEBS Lett* 1978; 92: 53-56.
- 3) Kohne E, Behnken LJ, Leupold D, et al : Hemoglobin Presbyterian [beta 108 (G10) Asn replaced by Lys] in a German family. *Hemoglobin* 1979; 3: 365-370.
- 4) Harano K, Harano T, Shibata S, et al : Hemoglobin Presbyterian [beta 108(G10) Asn-Lys] found in Japan. *Hemoglobin* 1984; 8: 407-411
- 5) Villegas A, Wilson JB, Chen SS, et al : Haemoglobin Presbyterian [beta 108 (G 10) Asn-Lys] in a Spanish family. *Acta Haematol* 1986; 76: 161-163.
- 6) Lenfant C, Torrance J, English E, et al: Effect of altitude on oxygen binding by hemoglobin and on organic phosphate levels. *J Clin Invest* 1968; 47: 2652-2656.
- 7) Lenfant C, Ways P, Aucutt C, et al : Effect of chronic hypoxic hypoxia on the O₂-Hb dissociation curve and respiratory gas transport in man. *Respir Physiol* 1969; 7: 7-29.
- 8) Miller LD, Oski FA, Diaco JF, et al : The affinity of hemoglobin for oxygen: its control and in vivo significance. *Surgery* 1970; 68: 187-194; discussion 194-195.
- 9) Maillard D, Fleury B, Housset B, et al : Decreased oxyhemoglobin affinity in patients with sleep apnea syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 486-489.

- 10) Khandelwal SR, Randad RS, Lin PS, et al : Enhanced oxygenation in vivo by allosteric inhibitors of hemoglobin saturation. *Am J Physiol* 1993; 265: H1450-1453.
- 11) Schumacker PT, Suggestt AJ, Wagner PD, et al : Role of hemoglobin P50 in O₂ transport during normoxic and hypoxic exercise in the dog. *J Appl Physiol* 1985; 59: 749-757.
- 12) Izumizaki M, Iwase M, Kimura H, et al: Central histamine contributed to temperature-induced polypnea in mice. *J Appl Physiol* 2000; 89: 770-776.
- 13) Teisseire B, Ropars C, Villereal MC, et al: Long-term physiological effects of enhanced O₂ release by inositol hexaphosphate-loaded erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 6894-6898.
- 14) Liard JF, Kunert MP: Hemodynamic changes induced by low blood oxygen affinity in dogs. *Am J Physiol* 1993;

睡眠時無呼吸症候群の健康関連QoLにおける 睡眠関連因子の検討

木村 弘 巽 浩一郎 岡田 修 栗山 喬之*

【はじめに】

睡眠時無呼吸症候群 (SAS) に関する、疾患特異的な健康関連QoLの評価方法は、欧米では近年報告されているものの、本邦ではまだ確立していない^{1) 3)}。これまで、SAS患者27例を対象としたnasal CPAP治療により、日中の傾眠の指標である、Epworth Sleepiness Score (ESS) と一部のSF-36サブスケールにて改善がみられることが、赤柴らにより報告されている⁴⁾。しかし、一般的に、健康関連QoLは生理学的指標との相関は弱いといわれている。

本報告では、睡眠時無呼吸症候群 (SAS) や肥満低換気症候群 (OHS) における、病態生理学的指標に基づく睡眠時の重症度は、健康関連QoLの一般的尺度であるSF-36による評価に反映されるか否かについて検討した。

【対象と方法】

1999-2000年に新たにPSGを施行し、AHI \geq 10を呈した53症例のSAS患者 (OHSの5症例とSASの48症例) を対

象として検討した。平均年齢は46.8 \pm 13.5歳、Body mass index (BMI) は30.8 \pm 8.7kg/m²、PaO₂は83.7 \pm 10.3 Torr、PaCO₂は42.4 \pm 5.3Torr、AHIは39.4 \pm 18.5、AIは25.6 \pm 16.9、Arousal Indexは33.1 \pm 15.0、Lowest SpO₂は67.5 \pm 12.2%、ESSは11.8 \pm 4.1、平均SF-36は69.5 \pm 16.6であった。

これらの患者について、日中の傾眠の程度をESSにて、健康関連QoLをSF-36にて評価し、PSG所見とSF-36評価票およびESSとの関連を解析した。

【結 果】

ESSとPSG所見との相関係数、およびESSとSF-36サブスケールとの相関係数を表2に示す。また、SF-36サブスケールとPSG所見との相関係数を表3に示す。尚、PSG所見としては、無呼吸低呼吸指数 (AHI)、覚醒指数 (Arousal I)、無呼吸指数 (閉塞型) (AI, obstructive)、無呼吸指数 (中枢型) (AI, central)、酸素飽和度最低値 (Lowest SpO₂)、浅睡眠出現率 (SWS / TST)、REM睡眠出現率 (REM / TST) を用いた。SF-36サブスケールとしては、身体機能 (Physical Func-

表1 Coefficient of correlation

ESS vs.	r	ESS vs.	r
AHI	0.432	身体機能 (PF)	- 0.393
AI	0.431	日常役割機能 / 身体 (RP)	0.004
AI, obstructive	0.464	体の痛み (BP)	- 0.243
AI, central	- 0.069	全体的健康感 (GH)	- 0.380
Arousal Index	- 0.026	活力 (VT)	- 0.219
Lowest SpO ₂	- 0.523	日常役割機能 / 精神 (RE)	- 0.189
SWS/TST	0.084	社会生活機能 (SF)	- 0.282
REM/TST	- 0.142	心の健康 (MH)	- 0.058

(r = 53)

千葉大学医学部呼吸器内科

* 「呼吸不全」調査研究班 主任研究者

表 2 Coefficient of correlation

身体機能 (PF)	r	体の痛み (BP)	r	活力 (VT)	r	社会生活機能 (SF)	r
AHI	- 0.259	AHI	0.003	AHI	- 0.041	AHI	- 0.042
Arousal I	0.055	Arousal I	0.108	Arousal I	- 0.083	Arousal I	- 0.149
AI, obst.	- 0.245	AI, obst.	0.123	AI, obst.	- 0.022	AI, obst.	- 0.145
AI, central	- 0.074	AI, central	- 0.083	AI, central	- 0.251	AI, central	- 0.276
Lowest SpO ₂	0.407	Low SpO ₂	0.026	Lowest SpO ₂	0.106	Low SpO ₂	0.115
SWS/TST	- 0.078	SWS/TST	- 0.062	SWS/TST	0.094	SWS/TST	0.104
REM/TST	- 0.204	REM/TST	- 0.097	REM/TST	- 0.343	REM/TST	- 0.197
日常役割機能 / 身体 (RP)		全体的健康感 (GH)		日常役割機能 / 精神 (RE)		心の健康 (MH)	
AHI	- 0.045	AHI	- 0.117	AHI	- 0.092	AHI	- 0.094
Arousal I	- 0.154	Arousal I	- 0.088	Arousal I	- 0.151	Arousal Index	- 0.294
AI, obst.	- 0.170	AI, obst.	- 0.100	AI, obst.	- 0.237	AI, obst.	- 0.048
AI, central	- 0.453	AI, central	- 0.217	AI, central	- 0.216	AI, central	- 0.265
Lowest SpO ₂	0.040	Low SpO ₂	0.259	Lowest SpO ₂	0.115	Low SpO ₂	0.042
SWS/TST	0.246	SWS/TST	0.155	SWS/TST	0.135	SWS/TST	0.093
REM/TST	- 0.223	REM/TST	- 0.251	REM/TST	- 0.269	REM/TST	- 0.336

(n = 53)

tioning; PF)、日常役割機能/身体 (Role Functioning-Physical; RP)、体の痛み (Bodily Pain; BP)、全体的健康感 (General Health Perceptions; GH)、活力 (Vitality; VT)、社会生活機能 (Social Functioning; SF)、日常役割機能/精神 (Role Functioning-Emotional; RE)、心の健康 (Mental Health; MH) を用いた。

ESSは無呼吸指数 (r=0.431)、とりわけ、閉塞型無呼吸指数 (r=0.464) や睡眠時低酸素血症 (r=-0.523) と強い相関を認め、さらに身体機能 (r=-0.393)、全体的健康感 (r=-0.380)、社会生活機能 (r=-0.282) と相関した。日常役割機能/身体は中枢型無呼吸指数と負相関 (r=-0.453) を認め、心の健康と日常役割機能/精神は、各々、Arousal indexとAIと弱い負相関を認めた。さらに、REMの出現率は活力 (r=-0.343) や心の健康 (r=-0.336) と負の相関を認めた。つまり、REMの出現が多いほど、活力や心の健康のサブスケールが低下することが示唆された。しかし、これらの関連性において、一般のSAS患者と比べてOHS患者の分布の特徴は認めなかった。

【まとめ】

1. SASにおけるESSは、全体的健康感 (GH)、身体機能 (PF)、社会生活機能 (SF) と相関 (p<0.05) が認められ、この点では治療目標として使用しうることが示唆された。
2. 睡眠時パラメーター (病態生理学的指標) とSF-36のサブスケールとの間では、以下の項目間では相関を認めたものの、全般としては単発的な相関にとどまった。
 - ・身体機能 (PF) はlowest SpO₂と正の相関を認めた。

・REM/TSTは、活力 (VT)、心の健康 (MH) と負の相関を認めた。つまり、REM睡眠割合が多くなるとこれらのサブスケールによる評価は低下した。

・心の健康 (MH) はArousal index、REM/TSTと負相関を認めた。

3. PSG所見とSF-36評価票およびESSとの関連においては、一般のSAS患者と比べてOHS患者の分布の特徴性は認めなかった。

【考察】

今回の検討より、SF-36による健康関連QoLの評価は、SASの病態生理学的重症度を必ずしも反映しておらず、SF-36による評価は鋭敏な方法とはいきれない。これより、より疾患特異的な健康関連QoLの必要性も示唆された。

しかし、一部のSF-36サブスケールとの関連からは、中枢性無呼吸や過度のREM睡眠の出現等の『中枢機能の変調』は、QoLに影響する可能性も示唆された。より疾患特異的な健康関連QoLの開発のためにも、さらに症例を追加して検討を続ける必要があると考えられた。

【文献】

- 1) Flemons WW, Reimer MA. Development of a disease-specific health-related quality of life questionnaire for sleep apnea. Am J Respir Crit Care Med. 158:494-503, 1998.
- 2) D'Ambrosio C, Bowman T, Mohsenin V Quality of life in patients with obstructive sleep apnea: effect of nasal continuous positive airway pressure-A prospective study.

Chest;115:123-129,1999.

- 3) Bennett LS, Barbour C, Langford B, Stradling JR, Davies RJ. Health status in obstructive sleep apnea:relationship with sleep fragmentation and daytime sleepiness, and effects of continuous positive airway pressure treatment. *Am J Respir Crit Care Med.* 159:1884-1890, 1999.

- 4) 赤柴恒人、川原誠司、小山昌三、齊藤 修、馬島 徹、堀江孝至. 閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (OSAS) 患者のQuality of Life (QOL) と、それに及ぼすnasal CPAPの効果. 厚生省特定疾患呼吸不全研究班 平成11年度研究報告書、131-135, 2000.

COPDにおける疾患特異的健康関連QoL評価尺度Chronic Respiratory Disease Questionnaire (CRQ) の

経年的な変化の検討：random effect modelを使用した解析

西村 浩一* 小賀 徹 佐藤 晋 月野 光博

はじめに

COPD（慢性閉塞性肺疾患）患者の管理において、気流制限と健康関連QoLの相関は低いことから、別々に評価すべきであることが指摘されている。しかしながら、COPD患者において、1秒量（FEV₁）で測定される気流制限の低下の長期経過については、欧米で行われたいくつかの大規模臨床試験のアウトカムとしての評価をはじめとして多くの知見が集積されつつあるが、健康関連QoLの長期経過に関してはまだ十分に明らかにされていない。

縦断的研究における問題点のひとつとして脱落者についての解析があげられる。本研究では、ランダム効果モデル（random effect model）¹⁾²⁾を用いて欠損値を取り扱い、COPD患者を対象として、疾患特異的な健康関連QoL評価尺度であるChronic Respiratory Disease Questionnaire（CRQ）³⁾と肺機能の3年間の経過について検討した。また、検討からの脱落例を含めて解析し、それが健康関連QoLと肺機能の長期経過にどのように影響するかについても評価した。

対象と方法

1993年9月から1997年9月の間に、当院呼吸器内科通院中のCOPD患者224名を対象とした。COPDの診断基準はアメリカ胸部学会（ATS）の定義⁴⁾に基づいた。この検討の対象選択基準は、1）20 pack-year以上の喫煙歴があり、2）1秒量が予測値の80%未満、3）最良のFEV₁/FVC（努力肺活量）が70%未満、4）過去6週間にわたり気流制限の悪化がない、5）過去4週間以内に治療内容の変更がない、6）当院に定期的に6か月以上通院して治療・管理をうけている、患者とした。

COPDの薬物治療は、ステップ1はβ₂刺激薬と抗コリン薬の吸入の併用、ステップ2はステップ1に高用量吸入ステロイド薬を併用、ステップ3はステップ2に経口ステロイド薬を併用、として段階的に評価した。対象患者は、検査当日には、肺機能、喫煙歴、健康関連QoLの評価を行った。肺機能検査は通常使用している気管支拡張薬を12時間以上中止した状態で、1秒量、努力肺活量、残気量、拡散能を測定した。また、気管支拡張薬（サルブタモール400μg + 臭化イプラトロピウム80μg）吸入後15分と60分の1秒量と努力肺活量を測定した。喫煙歴は、自己申告とともに、スモーカーライザーの酸化炭素濃度と血清コチニン濃度もあわせて評価した。健康関連QoLの評価にはGuyatt⁵⁾による疾患特異的な健康関連QoL評価尺度であるCRQ日本語版を用いた。CRQは全部で20項目からなり、4つの領域（domain）から構成され、“呼吸困難(dyspnea)”（5項目），“疲労(fatigue)”（4項目），“感情(emotional function)”（7項目），“病気による支配感(mastery)”（4項目）となっている。各項目は1（最大の障害）から7（全く障害なし）の7段階のスコアで標記され、各領域において、スコアの合計を項目数で除して評価した。対象患者は縦断的に3年間にわたり6か月毎に肺機能、喫煙歴、健康関連QoLの再評価を行った。再評価は過去4週間に治療に変化のない状態で行った。COPDの悪化があった場合には、最低4週間は延期し、安定した状態で施行した。各検査日には、1）1秒量が予測値の80%未満、2）最良のFEV₁/FVCが70%未満の基準を満たすことを確認した。原疾患の悪化や合併症や死亡などの医学上の問題、患者の拒否、未来院により、検討の継続がなされなかった場合は、脱落者とみなした。

以下特記がなければ、平均±SDにて記載する。2群の比較には検定またはWilcoxonの符号付順位検定を使用した。2群間の関係はSpearmanの順位相関係数で評価した。欠損値を扱いながら健康関連QoLと肺機能の変化率を推定するため、SAS(Statistical Analysis System)の PROC

京都大学大学院医学研究科 呼吸器病態学

* 「呼吸不全」調査研究班 分担研究者