

200/0/95

厚生科学研究研究費補助金
長寿科学総合研究事業

誤嚥性肺炎治療の新戦略

平成 13 年度 総括研究報告書

主任研究者 大類 孝

平成 14(2002)年 3 月

目 次

I. 総括研究報告		
誤嚥性肺炎治療の新戦略	-----	1
大類 孝		
II. 分担研究報告		
1. 誤嚥性肺炎予防介護法	-----	8
関沢 清久		
2. 肺炎危険因子の解明	-----	10
曾根 三郎		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	14
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	別冊

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

誤嚥性肺炎治療の新戦略

主任研究者 大類 孝 東北大学医学部附属病院院内講師

要介護老人 200 万人の基礎疾患は 6 割が脳血管障害を含む脳疾患を有し、直接死因は肺炎を主とする感染症が半数を占める。私共は、これまで本助成を得て、脳血管障害の中で大脳基底核の脳血管障害がある人に誤嚥性肺炎が生じやすいことを見出した。大脳基底核の障害は黒質線状体で作られるドーパミン産生を低下させ、ドーパミン低下は不顕性誤嚥を防御する嚥下反射と咳反射を正常に働かせるサブスタンス P(SP)の合成を低下させる。SP の低下は嚥下反射と咳反射を低下させ不顕性誤嚥を生じさせ、肺炎に至るという一連の病態を解明してきた。本研究では、以上の病態をふまえて関沢班員は①胃液を誤嚥した場合に気道系の上皮細胞に起こる病態生理学的変化を明らかにし、胃酸の暴露によって上皮細胞表面に、肺炎球菌のレセプターである血小板活性化因子受容体が増加し、その結果肺炎球菌感染が助長されることをつきとめ、曾根班員は②老人の免疫能のうち、寝たきり老人では細胞性免疫は低下するが液性免疫は低下しないという私共の成績をふまえて、細胞性免疫低下群が肺炎を起こしやすいことを調査し、免疫能より肺炎予防法を調べた。更に、主任研究者の大類は③肺炎予防のための口腔ケアの有用性およびその作用機序の解明を行い、口腔ケアによって雑菌が減少するだけでなく、嚥下反射の改善効果および ADL の改善効果ももたらされることを明らかにした。今後、医療の現場に私どもの結果を還元すれば、肺炎罹患率を大幅に減らし医療費の抑制がはかれるものと考えられる。

A. 研究目的

肺炎による死亡は、抗生物質の普及した今日においても全疾患別死亡の第 4 位を占め、その 9 割が高齢者で占められる。高齢者における肺炎は再発性かつ難治性で致死率も高く、その予防法の確立が急務である。私どもは、これまで、

老人性肺炎のほとんどは口腔内雑菌を含む唾液や胃液の肺内への不顕性誤嚥に伴って生じることをつきとめ、それに対して口腔ケアを 2 年間行うことによって、老人性肺炎の発症を 40% 減少させ得ることを明らかにしてきた (Lancet 1999)。今回、私どもは、その発現機

序を明らかにすべく、仙台市近郊にある慢性療養型病棟に入院中の患者40名（平均年齢75歳）を対象に、衛生士による口腔内のブラッシングが、嚥下機能、ADLにどのような効果をもたらすかについて検討した。

B. 研究方法

以前より、脳血管障害発症後に肺炎が起り易いことが知られていたが、その中でも特に大脳基底核の脳血管障害を有している人に多く認められる(1-3)。一方、大脳皮質の障害では、肺炎には至りにくいといわれていたがその詳細は不明であった。大脳基底核は穿通枝領域で、もともと脳梗塞を起こしやすい部位であるが、大脳基底核の障害はこの部位にある黒質線状体から産生されるドーパミンを減少させる(4)。ドーパミン産生の減少は、迷走神経知覚枝から咽頭や気管に放出されるサブスタンスP (SP)の量を減少させる(5)。実際、老人性肺炎をおこした患者から得られた喀痰中のサブスタンスPの量は減少していた(6)。SPは嚥下反射の原動力となる物質であるため(7, 8, 9)、SPの減少は嚥下反射と咳反射を低下させる。実際、老人性肺炎患者では嚥下反射と咳反射の低下が認められる(10)。両反射の低下は不顕性誤嚥を生じることになる(11)。そして、脳血管障害発症後1年間のうちに高率に肺炎を起こす結果となり、特に両側大脳基底核の脳血管障害において著しい。以上より、老人性肺炎の多くは基礎疾患として大脳血管障害があり、ドーパミンの低下、SPの低下、そして不顕性誤嚥の結果発症すると考えられた。つまり老人性肺炎の多くは、大脳基底核病変の結果生じるもので、脳

血管疾患のケアが重要である事が明らかにされた。本研究により、脳血管障害から肺炎に至るまでの経路が判明したため、その経路に沿って不足している物質を補充することにより不顕性誤嚥を防ぎ、肺炎予防が可能になると考えられる。第一にSPが少ないのであるから、咽頭および食道粘膜においてSPを強力に放出させるカプサイシンの少量投与を行った(12)。カプサイシンを口腔内に少量投与したのみで、嚥下反射は正常化し、著明な改善をみた。このことは、老年者で嚥下反射は正常化し、不顕性誤嚥の予防につながるものと考えられた。カプサイシンは赤唐辛子に多く含まれている。老人性肺炎患者において、低下しているSPを上昇させるもう一つの薬物はアンギオテンシン変換酵素(ACE)阻害剤である(13)。ACE阻害薬はSPの分解酵素をも阻害するためSPが分解されず局所での濃度が高くなり、嚥下反射が低下している老人性肺炎患者でも嚥下反射が正常化した(14)。そこで、高血圧があり大脳基底核に脳血管障害がある老年者440人を対象とし、一方の群(127人)にはACE阻害剤(イミダプリル)を、他方(313人)にはCa拮抗薬や β 遮断薬を投与し降圧効果が得られるまで各薬剤を投与し、それぞれの群におけるその後の肺炎の発症率を比較検討した。また、脳血管障害の80%は脳梗塞であり、その予防には高血圧治療と共に抗凝固療法または抗血小板療法が有効である事が明らかにされている。その中で、薬用薬の一つであるシロスタゾールはadenosine monophosphate phosphodiesterase阻害剤であり、抗凝固作用と共に脳血管拡張作用を持つ日本で開発された薬剤であり、慢性閉塞性動脈硬

化症に使用されている。私共はシロスタゾールの投与が脳梗塞の再発を予防し、脳血管障害を有する患者における肺炎の予防が可能か否かを検討した。対象者は、過去に脳梗塞の既往歴があるが寝たきりではない患者 297 人である。このうち 152 人にはシロスタゾール非投与群とし 145 人は投与群とした。両群共に、降圧剤として Ca 拮抗剤または β 遮断剤を必要に応じて使用した。152 人中 26 人は胃腸出血 (12 人)、動悸 (11 人)、下痢 (1 人) 及び頭痛 (2 人) によりシロスタゾール投与を中止した。さらに、口腔ケアによる肺炎発症の抑制機序を明らかにすべく、仙台市近郊にある慢性療養型病棟に入院中の患者 40 名 (平均年齢 75 歳) を対象に、衛生士による口腔内のブラッシングが、嚥下機能、日常生活動作 (ADL) に与える影響について検討した。まず、嚥下機能の指標である嚥下反射潜時を、直径 2.7 mm の ATOM チューブを仰臥位の被験者の鼻腔より口蓋垂の高さまで挿入し、そのチューブの先端から蒸留水を被験者の咽頭に注入し、確実な嚥下運動が発生するまでの時間として測定した。すべての被験者は脳血管障害に罹患しており、本試験介入を行う前の嚥下反射潜時は、平均 10 秒前後と非常に遅延していた (正常値 3 秒以下)。ブラッシングによる口腔ケアは、歯科衛生士によって、歯、歯肉、歯と歯肉の間を、“水歯磨き”と称する蒸留水をつけた軟毛の歯ブラシ (tuft 24, super soft type, (株) オーラルケア) で一箇所あたり 10 回ずつ行った。舌もやさしく奥から手前にブラッシングした。最後に、うがいのできる対象者はその“水歯磨き”でうがいをした。総入れ歯で歯

がない対象者には、入れ歯は“水歯磨き”で洗浄し、歯茎、歯肉、舌を同様にブラッシングした。これらの口腔ケアを一日三回、毎食後に行った。一方、コントロール群においては特に衛生士などの介入はなしで、自力で行える対象者は自力で、行えない対象者はそのまま経過観察とした。

(倫理面への配慮)

すべての対象者から同意を得て研究が行われ、また本研究は東北大学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果と考察

2 年間の経過観察の成績では、ACE 阻害剤非投与群では 313 人中 56 人 (18%) に肺炎の発症をみたが、ACE 阻害剤投与群では、127 人中 9 人 (7%) に肺炎の発症をみた。結果として、ACE 阻害剤服用者では、非服用者に比べて肺炎罹患率が約 1/3 に抑制された (15)。老人性肺炎患者において低下している SP を上昇させるもう一つの薬物はドーパミン製剤である。老年者で高血圧があり、脳 CT 上で大脳基底核に脳血管障害が認められ、これまで肺炎に罹患した患者を対象に、ドーパミンを補充投与し、嚥下機能を測定した。即ち、レボドパ 50mg を 20ml の生食に混ぜて 30 分~1 時間かけ点滴静注した後、嚥下反射時間を測定したところ、嚥下反射は有意に改善した (16)。以上の事から、ドーパミンの補充療法は不顕性誤嚥を予防し、肺炎の予防効果を有する可能性が示唆された。そこで、老年者で高血圧があり大脳基底核に脳血管障害を認める患者 163 人を対象に、一群 (n=83) にドーパミン遊離促進剤であるアマンタジン

100mg 分2 を内服させ、肺炎発症の予防効果の有無につき検討した。他群(n=80)にはアマンタジンの投与は行わなかった。その他の薬剤はそのまま継続投与した。3年間の追跡調査の結果、アマンタジン非投与群では22人(28%)肺炎を発症したのに対して、アマンタジン投与群では6人(7%)しか肺炎を発症しなかった(17)。アマンタジンを投与することによって、非投与群に比べて3年間で肺炎の発症を1/5に減少させた。アマンタジンは時に幻覚・せん妄をおこす副作用がある。しかし、それは150mg~200mgと多量投与の場合であり、100mgでは特記すべき副作用はなかった。また、アマンタジンはA型インフルエンザに対する治療成績が報告されている。しかし、インフルエンザは多くの種類があり、流行も一時的である。私共の成績は3年間の長期にわたっており、肺炎の予防効果は、主にドーパミン経路の活性化によってもたらされたと考えられた(18)。

シロスタゾール投与の肺炎予防効果については、2年間の追跡調査の間に、肺炎および一過性脳虚血発作も含めた脳梗塞再発は、シロスタゾール非投与群145人中それぞれ35人(24%)と24人(16%)であり、シロスタゾール投与群ではそれぞれ125人中12人(10%)と9人(7%)であった。シロスタゾール投与による肺炎の予防効果は、Odds比2.15(95%CI 1.37-4.63, P<0.002)であり、脳梗塞の再発予防効果は、Odds比2.30(95%CI 1.10-4.85, P<0.02)でいずれも有意であった(19)。2年間の間に脳梗塞再発例でもシロスタゾールを継続的に投与した。また、肺炎は脳梗塞再発後少なくとも6ヶ月後に発症していた。以上より、

シロスタゾール投与は、脳梗塞の既往歴を有する患者において脳梗塞の再発と肺炎の発症を40%に低下させる事が明らかにされた。抗凝固療法はこれらの患者で肺炎予防に有用と考えられた。

更に、仮に不顕性誤嚥が防げない場合でも、せめて口腔内雑菌が少なければ肺炎成立の機会は少なくなると考えられる。これまでの研究によって、嚥下機能の指標である嚥下反射や咳反射は夜間睡眠中に低下する事を明らかにしてきたが(20, 21, 22)、口腔ケアを確実に実行した群と非実行群を比較すると、口腔ケアによって2年間で肺炎の発生率を40%に減少させ得る事が明らかにされた。要介護老人の口腔ケアが大切であると言える(23)。口腔ケア開始後第3、10、30日目において、嚥下機能の指標である嚥下反射潜時がそれぞれ6.4(SE 1.6)秒、4.4(0.8)秒、4.2(0.7)秒と開始前に比べて有意に改善した。また、ケア開始後30日の時点では、口腔内の知覚機能の指標である唾液中のサブスタンスP濃度の有意な上昇も認められ、さらに歩行、階段昇降、食事、着衣、排泄、入浴、整容など7項目のADLにおいても改善が認められた。(24)。さらに、歩行、階段昇降、食事、着衣、排泄、入浴、整容など7項目の日常生活動作においても軽度改善が認められた。実際、この介入試験において試験開始前は声がけにもなんら反応しなかった対象者も、口腔ケアを開口して待っていたり、舌を前方に出せるようになるなど、次第に前向きの反応が認められた。本研究結果により、ブラッシングを用いた口腔ケアは口腔内雑菌を排除するという効果だけでなく、ブラッシ

ングそのものが口腔内にはりめぐらされている知覚神経終末を刺激し、末梢性あるいは中枢性にサブスタンス P をはじめとする神経伝達物質の放出を促進し、嚥下反射を改善することが示唆された。

D. 結論

老人性肺炎は、要介護老人が死亡する直前に罹患するもので、それ以外の人には無縁と思われてきた。しかし、近年、MRIによる脳ドック検診の普及に伴い、65歳以上の健常人の約半数に、大脳基底核のロイコアライオーシスなどの脳虚血所見が認められると報告されており、このような人では大脳基底核のドーパミンの減少があり、肺炎発症の可能性が高いと考えられる。口腔ケアは、肺炎の起炎菌となり得る嫌気性菌を口腔内から排除すると共に、ブラッシングによる脳内への知覚神経の刺激を介して、嚥下機能さらには ADL および意識レベルにまで前向きな効果をもたらす事が明らかにされ、今後医療および介護の場で積極的に活用すべきであると考えられた。

老人性肺炎は、日本のような高齢化社会ではより身近な疾患であり、しかも私共の成績により医療従事者の努力によって、かなりの程度予防が可能である事が明らかにされた。

参考文献

1. Osler W: The principles and practice of medicine. D Appleton and CO, New York, 1898.
2. Kikuchi R, Watabe N, Konno T et al: High incidence of silent aspiration in

elderly patients with

community-acquired pneumonia. Am J Respir Crit Care Med 150:251-253, 1994.

3. Nakagawa T, Sekizawa K, Arai H et al: High incidence of pneumonia in elderly patients with basal ganglia infarction. Arch Intern Med 157:321-324, 1997.
4. Ito M, Ido T, Sasaki H et al: First signs of Alzheimer' s ? Science 259:898, 1993.
5. Jia YX, Sekizawa K, Ohru T et al. Dopamine D1 receptor antagonist inhibits swallowing reflex in guinea pigs. Am J Physiol Reg Integ Comp Physiol 274:R76-R80, 1998.
6. Nakagawa T, Ohru T, Sekizawa K et al: Sputum substance P in aspiration pneumonia. Lancet 345:1447, 1995.
7. Ujiie Y, Sekizawa K, Aikawa T et al: Evidence for substance P as an endogenous substance causing cough in guinea pigs. Am Rev Respir Dis 148:1628-1632, 1993.
8. Sekizawa K, Ebihara T, Sasaki H et al: Role of substance P in cough during bronchoconstriction in awake guinea pigs. Am J Respir Crit Care Med 151:815-821, 1995.
9. Jin Y, Sekizawa K, Fukushima T et al: Capsaicin desensitization inhibits swallowing reflex in guinea pigs. Am J Respir Crit Care Med 149:261-263, 1994.

10. Sekizawa K, Ujiie Y, Itabashi S et al: Lack of cough reflex in aspiration pneumonia. *Lancet* 335:1228-1229, 1990.
11. Nakazawa H, Sekizawa K, Ujiie Y et al: Risk of aspiration pneumonia in the elderly. *Chest* 103:1636-1637, 1993.
12. Ebihara T, Sekizawa K, Nakazawa H et al: Capsaicin and swallowing reflex. *Lancet* 341:432, 1993.
13. Ebihara T, Sekizawa K, Ohru T et al: Angiotensin-converting enzyme inhibitor and danazol increase sensitivity of cough reflex in female guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 153:812-819, 1996.
14. Nakayama K, Sekizawa K, Sasaki H et al: ACE inhibitor and swallowing reflex. *Chest* 113:1425, 1998.
15. Sekizawa K, Matui T, Nakagawa T et al: ACE inhibitors and pneumonia in elderly people. *Lancet* 352:1937-1938, 1998.
16. Kobayashi H, Nakagawa T, Sekizawa K et al: Levodopa and swallowing reflex. *Lancet* 348:1320-1321, 1996.
17. Nakagawa T, Wada H, Sekizawa K et al: Amantadine and pneumonia. *Lancet* 353:1157, 1999.
18. Sekizawa K, Yanai M, Yamaya M et al: Amantadine and pneumonia in elderly stroke patients. *Lancet* 353:2157, 1999.
19. Yamaya M, Yanai M, Ohru T et al: Antithrombotic therapy for prevention of pneumonia. *J Am Geriatr Soc* 49:687-688, 2001.
20. Pint A, Yanai M, Nakagawa T et al: Swallowing reflex in the night. *Lancet* 344:820-821, 1994.
21. Wang HD, Nakagawa T, Sekizawa K et al: Cough reflex in the night. *Chest* 114:1496-1497, 1998.
22. Zhent S, Yanai M, Matsui T et al: Nocturnal cough in patients with sputum production. *Lancet* 350:864-865, 1997.
23. Yoneyama T, Yoshida M, Matsui T et al: Oral care and pneumonia. *Lancet* 345:515, 1999.
24. Yoshino A, Ebihara T, Ebihara S et al: Daily oral care and risk factors for pneumonia among elderly nursing home patients. *JAMA* 286:2235-2236, 2001.

E. 研究発表

論文発表

1. Yoneyama T, Yoshida M, Ohru T et al., Oral care reduces pneumonia of elderly patients in nursing homes *J Am Geriatr Soc* (in press)
2. Ohara Y, Ohru T, Morikawa T and Sasaki H, Parental attitudes towards passive smoking in Japan *Lancet* 2002, 359:1159.
3. Ohru T, Arai H, Ichinose M, Matsui T, Yamaya M and Sasaki H, Relationship between asthma severity and progression of Alzheimer's disease *Thorax* (in press)

4. Yoshino A, Ebihara T, Ebihara S, Fuji H and Sasaki H, Daily oral care and risk factors for pneumonia among elderly nursing home patients *JAMA* 2001, 286:2235-2236.
5. Nakamura M, Matsui T, Ohruai T, Kida K, Yamaya M and Sasaki H, Gender crossover of lung function *Geriatr Gerontol Internat* (in press)
6. Yamaya M, Ohruai T, Kubo H, Ebihara S, Arai H and Sasaki H, Prevention of respiratory infections in the elderly *Geriatr Gerontol Internat* (in press)
7. Matsui T, Yamaya M, Ohruai T, Arai H and Sasaki H, Sitting position to prevent aspiration in bed-ridden patients *Gerontology* (in press)
8. Wang HD, Yamaya M, Okinaga S, Jia YX, Kamanaka M, Takahashi H, Guo LY, Ohruai T and Sasaki H, Bilirubin ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats *Am J Respir Crit Care Med* 2002 165:406-411.
9. Ohruai T, Namima T, Yamaya M, Sato T, Matsui T and Sasaki H, Risk of prostate cancer in the Japanese elderly asthmatics *J Am Geriatr Soc* 2002 50:202.
10. Sato E, Ohruai T, Matsui T, Arai H and Sasaki H, Folate deficiency and risk of pneumonia in the elderly *J Am Geriatr Soc* 2001 49:1739-1741.
11. Yamaya M, Yanai M, Ohruai T, Arai H, Sekizawa K and Sasaki H, Antithrombotic therapy for prevention of pneumonia *J Am Geriatr Soc* 2001 49:687-688.
12. Wada H, Nakajoh K, Satoh-Nakagawa T, Suzuki T, Ohruai T, Arai H and Sasaki H, Risk factors of aspiration pneumonia in Alzheimer' s disease patients *Gerontology* 2001 47:271-27.
13. Jia YX, Li JQ, Matsui T, Yamaya M, Ohruai T, Sekizawa K and Sasaki H, Neurochemical regulation of swallowing reflex in guinea pigs *Geriatr Gerontol Internat* 2001 1:56-61.
14. Yamaya M, Yanai M, Ohruai T, Arai H and Sasaki H, Interventions to prevent pneumonia among older adults *J Am Geriatr Soc* 2001 49:85-90.

誤嚥性肺炎治療の新戦略

分担研究者 関沢 清久 筑波大学臨床医学系呼吸器内科教授

研究要旨 人気管培養上皮細胞に低濃度の酸を投与すると、肺炎球菌が気道上皮細胞に付着する際に必要な血小板活性化因子受容体が増加し、肺炎球菌感染が助長される。この現象は胃液誤嚥後におこる肺炎球菌肺炎の発症機序の一つと考えられる。

A. 研究目的

市中肺炎の代表的起炎菌である肺炎球菌が誤嚥性肺炎を発症する機序は不明である。本研究は、胃酸の不顕性誤嚥が肺炎球菌感染を助長するという仮説を検証することを目的とする。

B. 研究方法

人気管培養上皮細胞に pH 1.5, pH 2.5, pH 3.0, pH 4.0 濃度の酸を投与した後、種々の濃度の肺炎球菌を培養上清に加えた。その後、上皮細胞に付着した肺炎球菌数を数えた。肺炎球菌付着の理由を検討するため、上皮細胞における血小板活性化因子(PAF)受容体の発現、培養上清中の各種サイトカイン濃度、核内転写因子である NF- κ B の発現調べた。(倫理面への配慮)本研究は学内倫理委員会により承認されている。

C. 研究結果

検討したすべての濃度の酸により上皮細胞に付着する肺炎球菌数は増加した。付着肺炎球菌

数は時間依存性、菌濃度依存性に増加した。酸は培養上清中の IL-1 α , IL-1 β 濃度を増加し、上皮細胞の PAF 受容体、NF- κ B 発現を増強した。しかし、抗 IL-1 α 抗体、抗 IL-1 β 抗体の前処置は付着肺炎球菌数に影響を与えなかった。

D. 考察

低濃度の酸でも核内転写活性を高め、肺炎球菌が気道上皮細胞に付着するための PAF 受容体の発現を増強し肺炎球菌感染を助長すると考えられた。このことより、胃液の不顕性誤嚥により肺炎球菌感染が起こり易くなる可能性が高く、寝たきり患にみられる肺炎球菌肺炎の原因の一つとして胃液の不顕性誤嚥が挙げられる。

E. 結論

酸は気道上皮細胞 PAF 受容体の発現を増強して、肺炎球菌感染を助長する。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ishizuka S, Yamaya M, Suzuki T, Nakayama K, Kamanaka M, Ida S, Sekizawa K, Sasaki H. Acid exposure stimulates the adherence of *streptococcus pneumoniae* to cultured human airway epithelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol 24: 459-468, 2001

研究要旨

加齢による免疫能低下に伴い肺癌の増加が重要な臨床的課題となっている。本研究は免疫能増強による抗腫瘍効果強化法の確立を目的として肺癌患者における樹状細胞の誘導と機能解析、および抗原提示能の強化法の開発研究を行った。今回の検討で樹状細胞の自然免疫系への賦活作用が明らかになるとともに、樹状細胞への遺伝子導入による抗原提示能の増強が可能であることが示唆された。

研究分担者：曾根三郎

所属：徳島大学医学部第三内科

職名：教授

A. 研究目的

加齢により免疫能が低下することはよく知られており、これに伴い悪性疾患の増加が認められている。とくに肺癌は治療に抵抗性をもち高い死亡率を示す難治療性癌であり、その要因として早期での遠隔転移形成と化学療法剤に対する耐性獲得が挙げられる。これらの問題を克服し肺癌の新しい治療法確立は重要な臨床的課題である。本研究では免疫能増強による抗腫瘍効果強化法を検討することを目的として肺癌患者末梢血単球からの樹状細胞（抗原提示細胞）誘導条件の検討と機能解析、肺癌患者のエフェクター細胞の自己癌細胞に対するキラー誘導とその強化法の開発研究を行う。

B. 研究方法

肺癌患者末梢血単球からの樹状細胞誘導とその機能解析：肺癌患者末梢血より純化したCD14+単球からGM-CSF及びIL-4を用いて樹状細胞を誘導し、その機能解析を行った。特に

今年度は末梢血リンパ球より磁気ビーズを用いてNK細胞を分離し、樹状細胞によるNK活性増強効果について検討した。また樹状細胞機能の増強を目的に、ヒト樹状細胞へのアデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入法を検討した。作成したサイトカイン遺伝子導入樹状細胞の抗原提示能について遺伝子導入していない樹状細胞と比較検討した。患者からの血液採取においては、口頭で研究内容を説明し了解を得た。

C. 研究結果

肺癌患者末梢血より誘導した樹状細胞は健康人から誘導した樹状細胞と同等の抗原提示能を示した。また、ヒト単球由来樹状細胞に対するアデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入法を検討した結果、遺伝子導入時に遠心法を併用することで遺伝子導入効率の増強が認められた。さらにIL-12遺伝子導入樹状細胞は、混合リンパ球反応においてコントロールの樹状細胞に比較してT細胞刺激効果が有意に増強していた。一方、樹状細胞の新たな機能としてNK活性増強効果が確認され、自然免疫系の賦活作用も樹状細胞による抗腫瘍効果に重要な因子であると考えられた。

D. 考察

本研究により樹状細胞へのサイトカイン遺伝子導入は、抗腫瘍免疫誘導を増強する手法として有用と思われた。今後導入遺伝子の検討およびさらに効率のよい遺伝子導入法の検討により新しい免疫遺伝子治療の一つとして発展が期待される。また、樹状細胞のNK活性増強効果という面から免疫療法に最適な樹状細胞サブセットの解析を行なうとともに肺癌患者の樹状細胞によるNK活性増強効果を検討したい。

E. 結論

樹状細胞へのアデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入において、遠心法を併用することで有意に遺伝子導入効率が上昇すること、またIL-12遺伝子を導入することで樹状細胞の抗原提示能が増強することが明らかとなった。今後、臨床で使用可能なより簡便で効率のよい遺伝子導入法の開発が必要と思われる。さらに、樹状細胞による自然免疫系の賦活作用も今後の樹状細胞機能解析において重要と思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Goto, H., Kohno, K., Sone, S., Akiyama, S., Kuwano, M. and Ono, M. Interferon γ -dependent induction of thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial growth factor through γ -activated sequence-like element in human macrophages. *Cancer Res.* 61:469-473, 2001.

Sone, S., Shinohara, S. Nishioka, Y. and Yano, S. Molecular pathogenesis of lung cancer and

its molecular targeted therapy. *Int. Med.* 40:167-170, 2001.

曾根三郎 Annual Review 呼吸器 2001 II 疾患の病因と病態 7. 肺がんの新たな分子標的治療 中外医学社 P99-107, 2001

Ge, N., Nakamura, Y., Nakaya, Y. and Sone, S. Interferon- γ activates outwardly rectifying chloride channels in the human bronchial epithelial cell line BEAS-2B. *J. Med. Invest.* 48:97-101, 2001.

Hanibuchi, M., Yano, S., Nishioka, Y., Yanagawa, H., Miki, T., and Sone, S: Immunological circumvention of multiple organ metastases of multidrug resistant human small cell lung cancer cells by mouse-human chimeric anti-ganglioside GM2 antibody KM966. *Clin. Exp. Metastasis* 18:353-360, 2001.

Nishimura, N., Nishioka, Y., Shinohara, T. and Sone, S. Enhanced efficiency by centrifugal manipulation of adenovirus-mediated interleukin 12 gene transduction into human monocyte-derived dendritic cells. *Hum. Gene Ther.* 12:333-346, 2001.

Nokihara, H., Yano, S., Nishioka, Y., Hanibuchi, M., Higashida, T., Tsuruo, T., and Sone, S: A new quinoline derivative MS-209 reverses multidrug resistance and inhibits multiorgan metastases by P-glycoprotein-expressing human small cell lung cancer cells. *Jpn. J. Cancer Res.* 92:785-792, 2001.

Nishimura, N., Nishioka, Y., Shinohara, T., Ogawa, H., Yamamoto, S., Tani, K., and Sone, S.: Novel centrifugal method for simple and highly efficient adenovirus-mediated green fluorescence protein gene transduction into human monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol Methods* 253:113-124, 2001.

西岡安彦、曾根三郎:肺癌に対する特異的免疫療法. *分子呼吸器病* 5(4): 70(342) - 72(344), 2001.

Nishioka, Y., Nishimura, N., Suzuki, Y. and Sone, S: Human monocyte-derived and CD83+ blood dendritic cells enhance NK cell-mediated cytotoxicity. *Eur. J. Immunol.* 31:2633-2641, 2001.

西岡安彦、曾根三郎:樹状細胞—肺樹状細胞の特徴と呼吸器疾患—*分子呼吸器病学* 5(6): 13(497)-16(500), 2001

西岡安彦、曾根三郎:肺癌の特異的免疫療法. *内科* 88(5): 873-878, 2001

曾根三郎:ここまできた肺癌の分子標的治療. *内科* 88(5): 796-797, 2001

Suzuki, Y., Yanagawa, H., Nishioka, Y., Nishimura, N., Takeuchi, E., and Sone, S: Efficient generation of dendritic cells from alveolar and pleural macrophages as well as blood monocytes in patients with lung cancer. *Lung Cancer* 34:195-205, 2001

2. 学会発表

Nishimura, N., Nishioka, Y., Sone, S. Human

dendritic cells transduced with interleukin-12 gene enhanced T cell activation: Centrifugal enhancement of the efficacy of adenovirus-mediated gene transduction. 92nd AACR Annual Meeting. New Orleans, LA, USA. 2001年3月24日-28日

Nishioka, Y., Nishimura, N., Tahara, H., Sone, S. Intratumoral injection of dendritic cells genetically modified to express interleukin 12 inhibits spontaneous metastases of Lewis lung carcinoma. ATS 2001 97th International Conference. San Francisco, CA, USA. 2001年5月18日-23日

西岡安彦、西村直樹、曾根三郎:アデノウイルスベクターを用いたヒト末梢血単球由来樹状細胞へのIL-12遺伝子導入と免疫増強効果. 第5回基盤的癌免疫研究会総会. 2001年7月18日-19日

曾根三郎:肺癌に対する新たな分子標的治療. 第38回日本臨床分子医学会学術総会特別講演. 2001年08月2日-3日

西岡安彦、西村直樹、曾根三郎:ヒト単球由来樹状細胞によるNK活性増強効果. 第60回日本癌学会総会. 2001年9月26日-28日

Sone, S.:EGFR tyrosine kinase inhibitor ZD1839. The 6th International Symposium on Cancer Chemotherapy. New Antitumor Agents under Development in the US, Europe and Japan. 2001年11月13日-14日

曾根三郎:抗転移薬の開発と現状. 第60回日本癌学会シンポジウム. 2001年11月15日-16日

西岡安彦, Wen Hua, 西村直樹, 曾根三郎: ヒト
単球由来樹状細胞による NK 活性増強効果. 第 14
回日本バイオセラピー学会学術集会総会ワーク
ショップ. 2001 年 12 月 6 日-7 日

西岡安彦, 西村直樹, 田原秀晃, 曾根三郎: 樹状
細胞における NO 産生と IL-12 の免疫調節作用に
おける役割. 第 31 回日本免疫学会総会ワークシ
ョップ. 2001 年 12 月 11 日-13 日

発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Ohara Y, Ohrui T, Morikawa, T, Sasaki H.	Parental attitudes towards passive smoking in Japan	Lancet	359	1159	2002
Wang HD, Yamaya M, Okinaga S, Jia YX, Kamanaka M, Takahashi H, Guo LY, Ohrui T, Sasaki H.	Bilirubin ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats	Am J Respir Crit Care Med	165	406-411	2002
Yamaya M, Yanai M, Ohrui T, Arai H, Sasaki H.	Interventions to prevent pneumonia among older adults	J Am Geriatr Soc	49	85-90	2001
Wada H, Nakajoh K, Satoh-Nakagawa T, Suzuki T, Ohrui T, Arai H, Sasaki H.	Risk factors of aspiration pneumonia in Alzheimer's disease patients	Gerontology.	47	271-276	2001
Yamaya M, Yanai M, Ohrui T, Arai H, Sekizawa K, Sasaki H.	Antithrombotic therapy for prevention of pneumonia	J Am Geriatr Soc	49	687-688	2001
Sato E, Ohrui T, Matsui T, Arai H, Sasaki H.	Folate deficiency and risk of pneumonia in the elderly	J Am Geriatr Soc	49	1739-1741	2001
Ohrui T, Higuchi M, Kanda A, Matsui T, Sato E, Sasaki H.	A patient with exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis which was resolved probably due to the coexisting hyperbilirubinemia?	Tohoku J Exp Med	193	245-249	2001
Jia YX, Li JQ, Matsui T, Yamaya M, Ohrui T, Sekizawa K, Sasaki H.	Neurochemical regulation of swallowing reflex in guinea pigs	Geriatr Gerontol Internat	1	56-61	2001