

B. 研究方法 対象

COPD の診断または治療のために 1998 年から 2000 年の間に慶應義塾大学病院外来を受診した十分な喫煙歴を有する日本人の末梢血より DNA を分離した(喫煙群, n=130, 男性 125 名, 女性 5 名)。喫煙群に属するためのクライテリアは (1) 生涯喫煙量 ≥ 10 pack-years, (2) 年令 ≥ 50 才。1 日あたり平均喫煙量 (packs/day) と喫煙年数も解析に用いた。非喫煙日本人健康者を対照とした (非喫煙群, n=123, 男性 109 名, 女性 14 名)。非喫煙群に属するためのクライテリアは (1) 生涯喫煙量 < 100 本, (2) 年令 ≥ 50 才。研究プロトコールは本院倫理委員会により承認を受け、各々の症例より承諾を得た。

肺機能と胸部 CT 上の気腫化の評価

肺機能検査、胸部 CT を喫煙群の全例で施行した。気腫化 (low attenuation area : LAA) は視覚法で評価した。全肺を左右の上、中、下肺野の 6 つに分け、各セクションでの LAA を 0 から 4 点; 0: no LAA, 1: 1-25%, 2: 26-50%, 3: 51-75%, 4: 76-100% でスコア化し、それらの合計点 (0-24) を LAA スコアと定義した。

CYP2A6 の遺伝子型の決定

CYP2A6del アレルは 2 つの方法 (1) 2 ステップ PCR 法 (2) restriction fragment length polymorphism (RFLP) 法で検出した。(3) CYP2A6*2 と CYP2A6*3 は Chen らの報告した RFLP 法で検出を試みた。プライマーと制限酵素は (1) 2Aex7F: 5'- GGCCAACA TGCCCTACATG-3'; 2A6ex8F: 5'-CAC TTCCTGAATGAG-3'; 2A7ex8F: 5'-CATTTCCTGGATGAC -3'; 2A6R1: 5'-

GCACTTATGTTTTGTGAGACATCAG AGACAA-3'; 2A6R2: 5'-AAAATGG GCATGAACGCC-3', (2) 2A6-B6 : 5'-CGATGGAAAAGGGCACAAAAGC A-3'; 2A6-8S : 5'-CA CCGAAGTGTA CCCTATGCTG-3'; 2A7-B1: 5'-CACCCG AAGTGTT CCCTA TGCTG-3'; Bst NI, (3) CYP2A6F03: 5'-CTGATC GACTA GGCGTGGTA-3'; CYP2A6R06: 5'-CGTCCTGGGTGTTTTTCCTTC-3'; Xcm I and Dde I. とした。

C. 研究結果

非喫煙、喫煙群での CYP2A6*3, CYP2A6del アレル頻度

本研究では CYP2A6*1 (wild type allele), CYP2A6*3, CYP2A6del の 3 種類のアレルが検出されたが CYP2A6*2 を持つ症例はなかった。これらの結果をもとに、全症例は *1/*1 (n=167), *1/del (n=75), del/del (n=10), *1/*3 (n=1) の 4 群に分けられた。CYP2A6*1, CYP2A6*3, CYP2A6del のアレル頻度はそれぞれ 0.810, 0.002, 0.188 であった。*1/*3 は 1 例のみであったので、これは以後の解析からは除外し、*1/*1, *1/del, del/del をそれぞれ wild type, heterozygote, homozygous mutant と呼ぶこととした。

CYP2A6 遺伝子型と喫煙習慣

ホモ接合群 (n=8) では野生型 (n=89) に比べ生涯喫煙量 (40 vs. 69 pack-years, $p<0.01$) と 1 日喫煙量 (0.96 vs. 1.68 packs/day, $p<0.01$) が有意に少なかったが、喫煙年数には違いはなかった。

喫煙習慣で分類した場合の CYP2A6del アレル頻度

非喫煙群と喫煙群で全体としてはアレル頻度に差はなかった (0.189 vs. 0.188) が、生涯喫煙量と 1 日喫煙量

により、喫煙群のなかで有意な差が認められた。生涯喫煙量 80 pack-years 以上の喫煙者の *CYP2A6del* アレル頻度は非喫煙者に比べ低かった($\chi^2 = 4.5$, $p=0.03$)。生涯喫煙量 60-79 pack-years の喫煙者では 10-39 または 40-59 pack-years の喫煙者に比べアレル頻度は有意に低かった($\chi^2 = 5.7$, $p=0.02$ ならびに $\chi^2 = 6.5$, $p=0.01$)。同様に生涯喫煙量 80 pack-years 以上の喫煙者では 10-39 または 40-59 pack-years の喫煙者に比べアレル頻度は有意に低かった($\chi^2 = 8.3$, $p=0.004$ ならびに $\chi^2 = 9.8$, $p=0.002$)。生涯喫煙量が 10 から 59 pack-years ($n=68$) の場合、アレル頻度は非喫煙群よりも高かった (0.279, $\chi^2 = 4.2$, $p=0.04$)。反対に 60 pack-years 以上の場合 ($n=62$)、*CYP2A6del* アレル頻度(0.089)は 10-59 pack-years の群 ($\chi^2 = 15.4$, $p<0.0001$) と非喫煙群 ($\chi^2 = 6.3$, $p=0.01$) に比べ有意に低かった。

1日 0.5-0.9 pack の群のアレル頻度は非喫煙群よりも高かった ($\chi^2 = 3.9$, $p=0.048$)。1日 2.0 packs 以上の群のアレル頻度は 0.5-0.9 pack の群の頻度より有意に低かった($\chi^2 = 9.4$, $p=0.002$)。喫煙年数で分類した群間では *CYP2A6del* アレル頻度に差を認めなかった。

CYP2A6del アレル頻度と気腫性変化、閉塞性障害の重症度との関連

LAA 8.0 以上の群のアレル頻度は LAA 0-1.9 の群の頻度より有意に低かった(0.120 vs. 0.263, $\chi^2 = 5.8$, $p=0.02$)が、この 2 群間で年齢と生涯喫煙量に差は認めなかった。これに対し、FEV_{1.0}% で分類した群間では *CYP2A6del* アレル頻度に差を認めなかった。

D. 考察

生涯喫煙量と *CYP2A6del* アレル頻

度との関連の分析により、この欠損型アレルを持つことにより重喫煙者(生涯喫煙量 ≥ 60 pack-years)になることは妨げられることが示された。*CYP2A6del* 遺伝子型と生涯喫煙量、1日喫煙量、喫煙年数の関連より、この欠損型アレルが喫煙年数よりも1日喫煙量を制限し、その結果として生涯喫煙量が制限されていることが示された。1日あたり喫煙本数は欠損型アレルを持つ例における血清ニコチン濃度の上昇により制限されていると考えられる。この結果は *CYP2A6* の機能異常が喫煙量の減少と関連する可能性を示唆した過去の報告と矛盾しない。しかし、この傾向は生涯喫煙量が 60 pack-years 以上の重喫煙者でのみ認められ、10 から 59 pack-years の比較的軽喫煙者では認められなかった。*CYP2A6del* アレル頻度は軽喫煙者(生涯喫煙量 10-59 pack-years)では非喫煙者よりも高く、この欠損型アレルを持つことは習慣的喫煙者となることを妨げていないことが示された。この欠損型多型はニコチンクリアランスを遅延させ、1日喫煙量が少ない場合でも血清濃度が長時間維持されると考えられる。したがって、このアレルをもつ例ではニコチン濃度の持続により喫煙依存になりやすい可能性が考えられる。軽喫煙者において *CYP2A6del* アレル頻度が高いという事実は *CYP2A6* 遺伝子型の喫煙関連疾患での役割を理解する上で極めて重要と考えられる。なぜならば、*CYP2A6del* アレルは生涯喫煙量が 60 pack-years 未満または1日喫煙量が1パック未満の範囲では、習慣性喫煙者になるリスクを減少させるどころか増加させると考えられ、この喫煙量は呼吸器疾患、心血管系疾患などの喫煙関連疾患を増悪させ

るのに十分な量と考えられるからである。

COPD の重症度は年齢、喫煙量、喫煙感受性により決定されると考えられる。*CYP2A6del* アレル頻度が LAA スコアの低い喫煙者で LAA スコアの高い喫煙者よりも有意に高かった点は興味深い。この傾向は FEV_{1.0}% を COPD の重症度の指標とした場合には明らかでなかった。FEV_{1.0}% は気腫性変化に加え、気道壁肥厚、気道過敏性など種々の因子を反映しているため、*CYP2A6* 遺伝子型と FEV_{1.0}% が有意な相関を示さなかったことは不自然なことではないと考えられる。我々が観察した所見は、*CYP2A6* により代謝されるある種の物質が遺伝子型の異なる症例の気腫化の重症度の違いの原因となっており、エラストラーゼ、アンチエラストラーゼ不均衡、オキシダント、アンチオキシダント不均衡など、気腫性変化に特異的な炎症プロセスと関連している可能性を示唆しているものと推察される。肺気腫の進展に関わる喫煙感受性を決定する候補遺伝子はまだ十分に明らかにされていないが、*CYP2A6* が喫煙量の規定因子であるばかりでなく、喫煙感受性に関与する因子のひとつでもあることが示された。

E. 結論

CYP2A6del アレルは喫煙量により異なる作用を示すと考えられ、重喫煙者に対しては喫煙量を制限するが、比較的軽度の喫煙者に対しては喫煙依存を助長する可能性が示された。この欠損型多型の肺気腫に対する防御的な働きは、少なくとも一部には喫煙量への影響とは独立な酵素活性の消失に起因していると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nakamura H, Luster AD, Tateno H, Jedrzkiewicz S, Tamura G, Haley KJ, Garcia-Zepeda EA, Yamaguchi K, Lilly CM.: IL-4 differentially regulates eotaxin and MCP-4 in lung epithelium and circulating mononuclear cells. *Am. J. Physiol. (Lung Cellular and Molecular Physiology)* 281:L1288-1302, 2001.

Minematsu N, Nakamura H, Tateno H, Nakajima T, Yamaguchi K.: Genetic polymorphism in matrix metalloproteinase-9 and pulmonary emphysema. *Biochem. Biophys. Res. Commun. (BBRC)* 289:116-119, 2001.

Yamaguchi K, Soejima K, Koda E, Sugiyama N.: Inhaling gas with different CT densities allows detection of abnormalities in the lung periphery of patients with smoking-induced COPD. *Chest* 120:1907-1916, 2001.

2. 学会発表

仲村秀俊、峰松直人、館野博喜、中島隆裕、藤島清太郎、山口佳寿博： *CYP2A6* 遺伝子多型と喫煙習慣ならびに慢性肺気腫の重症度との関連. 41 回日本呼吸器学会総会. 2001.

仲村秀俊、峰松直人、館野博喜、中島隆裕、福永興彦、小山田吉孝、長谷川直樹、浅野浩一郎、山口佳寿博：慢性肺気腫において喫煙習慣、喫煙感受性を規定する遺伝的因子. 98 回日本内科学会講演会. 2001.

Nakamura H, Minematsu N, Iwata M, Tateno H, Nakajima T, Fujishima S, Yamaguchi K: *CYP2A6del* allele is associated with smoking habit and protective against development of pulmonary emphysema. *International*

Conference, American Thoracic Society.
2001.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

肺気腫における気腫病変の形成機序に関する研究

分担研究者 永井 厚志 東京女子医科大学第一内科 教授

研究要旨 気腫病変の形成におけるアポトーシスの役割を検討するために動物実験を行った。マウスの気管内にカスパーゼ-3 を細胞内蛋白導入剤（Chariot®）と混合して注入すると、2 時間後には肺胞上皮細胞にアポトーシスが生じ、さらに肺胞壁の破壊を伴う気腫病変が形成された。このような気腫化は 15 日後まで観察されたが、線維化は生じなかった。一方、肺容量減少術により得られたヒト気腫化肺組織を検討すると気道上皮細胞や肺胞上皮細胞からの TNF α の産生が増加していた。前年度までの研究結果と併せて考察すると、肺気腫患者では上皮細胞から TNF α が過剰に産生されて慢性炎症が生じ、肺胞上皮のアポトーシスが誘導されて肺胞壁の破壊と気腫化が生じる過程が考えられた。

A. 研究目的

肺気腫病変の形成には肺胞壁の慢性炎症から肺組織の破壊と消失へと至る過程が想定されているがその機序は不明である。私どもは平成 11 年度、12 年度の研究において肺容量減少術により得られたヒト気腫化肺組織を検討して以下の知見を得た。すなわち 1) 肺気腫患者の肺組織ではマクロファージと T リンパ球が増加しているが、特に気腫化領域においては CD4 陽性 T リンパ球が集積していること、2) 気腫化領域ではこのような炎症所見に付随した肺胞壁細胞、特に肺胞上皮細胞のアポトーシスとその修復機転としての細胞増殖がみられること、3) 肺胞壁のアポトーシス数は気流閉塞の程度と相関していることが知られた。以上の知見から、炎症性刺激の持続による肺胞壁のアポトーシスが肺の気腫化の原因である可能性が考えられた。平成 13 年度の研究においては、炎症性および細胞死のメディエーターである TNF α のヒト気腫化肺組織における局在を明らかに

するとともに、動物実験を行い肺胞壁のアポトーシスが肺の気腫化の原因となるかについて検討した。

B. 研究方法

ヒト気腫化肺組織における TNF α の局在を明らかにするために、厚生省特定疾患「呼吸不全調査分科会」協力施設にて行なわれた肺気腫に対する肺容量減少術の際に切除された気腫化肺組織を対象とした（肺気腫群 13 例：男性 10 例、女性 3 例、全例過去に喫煙歴あり）。対照肺組織としては末梢性肺癌の切除時に採取された健常部分の肺組織を用いた（対照喫煙群 8 例：男性 7 例、女性 1 例；対照非喫煙群 11 例、男性 2 例、女性 9 例）。組織の採取にあたっては事前に患者より文書で同意を得た。手術により採取された肺組織断片は注射器に入れて陰圧で拡張し、10%ホルマリン中で固定後パラフィン包埋したのち 3 μ m の薄切切片を作成した。肺組織における TNF α の局在は免疫染色法により検討した。すなわち脱パラフィ

ンした標本切片にオートクレーブ加熱処理を施して抗原を賦活化した後、一次抗体として抗ヒト TNF α 抗体（サントクルズ社）を反応させた（4°C、一晚）。二次抗体としてはビオチン標識抗 IgG 抗体を用い、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンと反応させた。さらに検出感度を増加させるために TSA システム（NEN 社）を用いてチラミド法により増感した後、ジアミノベンジジン（DAB）を用いて発色した。対比核染色としてヘマトキシリンにて標本を染色した。陽性細胞数を定量化するために染色した標本を鏡検して 10 視野を無作為に選び、66 倍率下で切片の顕微鏡写真を撮影した。ただし、視野の半分以上が血管や気道により占められた場合は除き、別視野を無作為に選んだ。キャビネ大に写真を焼き付けたあと気道上皮細胞および肺胞壁細胞あたりの陽性細胞数の割合を算出した。

次に肺胞壁のアポトーシスが肺の気腫化の原因となるかを検討するために動物実験を行った。動物実験の実施にあたっては東京女子医科大学動物実験倫理委員会の承諾を得た。8 週齢の雄 C57BL/6 マウスをペントバルビタール腹腔内注射により麻酔し、気管内にアポトーシス誘導剤を注入した。アポトーシス誘導剤として、1) nodularin（セリン・スレオニンリン酸化酵素阻害剤、1 μ g/body）または 2) 細胞内蛋白導入試薬（Chariot $\text{\textcircled{R}}$ 、アクティブモチーフ社）と active caspase-3（1000 units/body、MBL 社）の混合物を用いた。これらの試薬は使用直前に調整し、一匹あたり 50 μ l の PBS に溶解して注入した。その後、経時的にペントバルビタールによる深麻酔下に脱血屠殺し、経気道的に

10%ホルマリンを 25 cm 水柱圧で注入して肺を拡張固定した。肺を摘出したのちパラフィン包埋して 3 μ m の薄切切片を作成した。TUNEL（TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling）法によるアポトーシス細胞の検出には、Takara in situ Apoptosis Detection kit（タカラ社）を用いた。すなわち標本をプロテナーゼ K にて処理した後、アポトーシス細胞の断片化 DNA の遊離 3'-OH 末端にターミナルトランスフェラーゼ（TdT）を用いてフルオレセイン-dUTP を取り込ませた。

一部の動物では 1 ml の PBS を用いて気管支肺胞洗浄（bronchoalveolar lavage、BAL）を行なった。BAL により回収された細胞成分はサイトスピニング法によりスライドガラスに固定し、メイ・ギムザ染色またはパバニコロウ変法染色を施した。また液性成分は限外濾過して 10 倍に濃縮したのち、FITC 標識エラスチン（エラスチンプロダクト社）ないし DQ エラスチン（モレキュラープローブ社）を基質としてエラスターゼ活性を測定した。さらに細胞局所におけるエラスターゼ活性を検討するために、BAL により回収された細胞成分をスライドガラスに固定して DQ エラスチン溶液を 20 分間添加した。ヘキスト 33342 溶液により核染色を施した後、DQ エラスチンの分解による蛍光を顕微鏡を用いて観察した。

C. 研究結果

ヒトの気腫化肺組織の免疫染色ではマクロファージ、気道上皮細胞、肺胞上皮細胞が抗 TNF α 抗体により陽性に染色された。対照喫煙者および非喫煙者と比較すると、肺気腫患者では気道上皮および肺胞上皮におけ

る陽性細胞率が有意に高値であった。別に行った *in situ hybridization* においても気道上皮細胞や肺胞上皮細胞に TNF α の mRNA シグナルが検出されたことから、これら上皮細胞が気腫化肺組織における重要な TNF α 産生細胞と考えられた。

前年度の研究では肺気腫患者の肺胞壁ではアポトーシスによる細胞死が増加していることが明らかにされた。そこで本年度では肺胞壁のアポトーシスが肺の気腫化の原因となるかを検討するために動物実験を行った。Chariot® (細胞内蛋白導入剤) と active caspase-3 の混合物をマウスの気管内に注入すると 2 時間後には BAL 液中に多数のアポトーシス細胞が観察された。一部のアポトーシス細胞には線毛が観察され、またパパンニコロウ変法染色を行うと II 型肺胞上皮細胞に特徴的な封入体を有するアポトーシス細胞がみられた。このようなアポトーシスは caspase-3 阻害剤である DEVD-CHO の同時注入により抑制された。

肺組織を観察すると Chariot® と混合した active caspase-3 の気管内に注入した 2 時間後には肺胞壁の破壊を伴う気腫病変が形成された。気腫病変の周囲の肺胞壁には TUNEL 法で陽性に染色されるアポトーシス細胞がみられた。このようなアポトーシス細胞の多くは抗サイトケラチン染色で陽性であったことから肺胞上皮細胞と考えられた。同様の気腫性病変はセリン・スレオニンリン酸化酵素の阻害によりアポトーシスを誘導する nodularin の気管内注入によってもたらされた。経時的に観察すると Chariot® と active caspase-3 の混合物の気管内注入によりもたらされた肺の気腫化は 15 日後まで継続してみら

れたが、線維化は観察されなかった。また肺組織への炎症細胞浸潤はほとんど観察されなかった。

このようなアポトーシスによる気腫化の機序を検討するために BAL 液中のエラスターゼ活性を測定した。Chariot® と active caspase-3 の混合物を気管内に注入したマウスでは BAL 液中のエラスターゼ活性が増加していた。さらに BAL により回収された細胞を用いて *in situ* で細胞のエラスチン分解活性を検討するアポトーシスを生じた細胞に一致してエラスチンの分解が観察された。カスパーゼ-1、-2、-3、-6、-7、-8、-9、-10 にはエラスチン分解活性が認められなかったことから、アポトーシスを生じた肺胞上皮細胞からカスパーゼ以外のエラスチン分解酵素が放出されて肺胞壁が破壊されて気腫化が形成される可能性が考えられた。

D. 考察

本研究ではマウスの肺胞上皮細胞にアポトーシスを誘導すると肺の気腫化が生じることが明らかにされた。その機序として、アポトーシスを生じた肺胞上皮細胞からカスパーゼ以外のエラスチン分解酵素が放出されて細胞外基質が分解されることにより気腫化が形成される可能性が考えられた。

過去の私どもの研究を含め、肺気腫患者では肺胞上皮細胞のアポトーシスが増加していることが観察されている。このような肺気腫患者にみられる肺胞上皮のアポトーシスが気腫病変の原因か、あるいは気腫病変が形成された結果であるのかについては不明であったが、本研究ではアポトーシスが気腫病変の原因となりうることを明らかにした。

気腫病変における肺胞上皮細胞のアポトーシスの発生機序は不明であるが、*in vitro* の研究では1) エラスターゼなどによる細胞外基質の分解により上皮細胞の剥離とアポトーシスが生じること、2) 喫煙中のオキシダントにはアポトーシス誘導作用があること、3) 気腫肺における増加が指摘されているCD8陽性Tリンパ球にはアポトーシス誘導作用があること、4) 気腫肺では肺胞上皮細胞が機械的に過伸展されるが、このような細胞伸展はアポトーシスをもたらすことが知られている。気腫肺においてはこのような機序を介して肺胞上皮細胞にアポトーシスが生じている可能性が考えられる。

本研究ではまた、肺容量減少術により得られた肺組織を検討した結果、肺気腫患者の気道上皮細胞や肺胞上皮細胞ではTNF α の産生が増加していることが明らかになった。近年、TNF α は肺気腫における炎症性メディエーターとして肺組織の炎症や肺気腫患者の体重減少の一因として重要視されている。さらに最近ではCD8陽性リンパ球により誘導される肺胞上皮細胞のアポトーシスの実行因子としての役割も報告されている。したがって肺気腫患者においては気道上皮細胞や肺胞上皮細胞からのTNF α が過剰に産生されて肺の慢性炎症に関与している可能性が考えられた。

E. 結論

マウスを用いた実験で肺胞上皮細胞にアポトーシスを誘導すると気腫病変が形成されることが知られた。一方、肺容量減少術により得られたヒト気腫化肺組織の検討では気道上皮細胞や肺胞上皮細胞からのTNF α の産生が亢進していることが明らかに

された。前年度までの研究結果と併せて考察すると、肺気腫患者では上皮細胞からTNF α が過剰に産生されて慢性炎症が生じ、肺胞上皮にアポトーシスが誘導されて肺胞壁の破壊と気腫化が生じる過程が考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Aoshiha K, Yasuda K, Yasui S, Tamaoki J, Nagai A: Serine proteases increases oxidative stress in lung cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 281: L556-L564. 2001.

Aoshiha K, Tamaoki J, Nagai A: Acute cigarette smoke exposure induces apoptosis of alveolar macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 281: L1392-1401. 2001.

永井厚志: 慢性閉塞性肺疾患の病理. 泉孝英編. 最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 1 慢性閉塞性肺疾患 - 慢性気管支炎・肺気腫- 最新医学社、東京、33-38. 2001.

2. 学会発表

永井厚志: 病変と病態の係わりからみたCOPDについて. 第41回日本呼吸器学会総会. 2001.

青柴和徹、横堀直子、永井厚志: 肺胞壁アポトーシス誘導による肺気腫動物モデルの作成. 第41回日本呼吸器学会総会. 2001.

横堀直子、青柴和徹、永井厚志、厚生省特定疾患呼吸不全調査研究班: 肺気腫の成立機序におけるアポトーシスの関与についての検討. 第41回日本呼吸器学会総会. 2001.

鯉沼みゆき、青柴和徹、安井修司、

永井厚志、厚生省特定疾患呼吸不全調査研究班：慢性閉塞性肺疾患における炎症像の解析。第41回日本呼吸器学会総会。2001。

Aoshiha K, Yokohori N, Nagai A : A novel murine model of pulmonary emphysema induced by apoptotic alveolar wall destruction. Am J Respir Crit Care Med 2001: 163:79a American Thoracic Society International Conference. 2001.

Yokohori N, Aoshiha A, Nagai A, et al. Alveolar wall apoptosis in pulmonary emphysema. Am J Respir Crit Care Med: 163:79a American Thoracic Society International Conference. 2001.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

閉塞型睡眠時無呼吸症候群（OSAS）に対する Auto-CPAP の有用性の検討

分担研究者 堀江 孝至 日本大学医学部内科学講座内科一 教授

研究要旨 2種類の Auto-CPAP 装置を用いて、16例の OSAS 患者に titration を行い、その有効性を検討した。その後、manual titration を行って、適正圧と比較検討した。振動感知型 Auto-CPAP 10例では、AHI、arousal index、平均 SaO₂ は有意に低下したが、AHI < 10 まで低下したのは4例と効果が不十分で、適正圧に比し低値であった。流速感知型 Auto-CPAP は6例に施行し、いずれも AHI < 10 へ低下したが、適正圧より高い傾向であった。以上の結果より、Auto-CPAP の有効性は必ずしも十分ではなく、適応には慎重な考慮が必要である。

A. 研究目的

nasal CPAP は、OSAS 治療の第一選択であるが、就寝時に大量の空気を吸入するため不快感が強く治療中断の原因となることがある。近年、開発された Auto-CPAP は、CPAP 機器が、自動的に無呼吸を感知し、無呼吸時にのみ圧を負荷する装置であり、患者の不快感を軽減し、治療の継続を容易にする可能性がある。しかし、その有効性については必ずしも明らかではない。そこで、Auto-CPAP の有効性を検討し、manual titration による適正圧と比較検討することを目的とした。

B. 研究方法

夜間睡眠検査(PSG)で OSAS と確定診断され、かつ Apnea-hypopnea index (AHI) > 20 で nasal CPAP の適応と考えられた 16例を対象とした。10例（男性9例、女性1例）に対しては、PSG 下に、振動感知型 Auto-CPAP 機器 *vertuoso*[®] (Auto-V)を用いて titration study を行い、その数日後に manual titration を行った。6例の男性に対しては、流速感知型 Auto-CPAP 機器

Tranquility-Auto[®] (Auto-T)を用いて同様に titration study を行った後、manual titration を行った。manual titration は固定式 CPAP 機器を用いて、PSG 下に少しずつ圧を上げてゆき、鼾と無呼吸が完全に消失し、酸素飽和度 (SaO₂) が、一晚を通じて 90%以下に低下しないように適正圧を決定した。

（倫理面への配慮）対象患者には、事前に十分な説明を行い、了承を得た患者にのみ本研究を施行した。

C. 研究成果

Auto-V 群 10例の平均年齢は 54.1 歳、平均 body mass index (BMI) は 25.2 kg/m²、AHI は平均 67.2、arousal index 43.7、平均 SaO₂ 92.1%、最低 SaO₂ 71.3% であった。一方、Auto-T 群 6例の平均年齢は 47.3 歳、BMI は 29.3 で、AHI、arousal index、平均 SaO₂、最低 SaO₂ はそれぞれ、59.8、39.3、83.4%、67.0% であった。両群とも重症の OSAS と考えられたが、Auto-T 群の方が肥満傾向が強く、また、desaturation の程度が重症であった。

Auto-V 群では、CPAP 治療により、

AHI は 67.2 ± 21.7 から 29.0 ± 27.7 へ、arousal index は 4.37 ± 14.8 から 23.2 ± 13.6 へ有意に ($p < 0.01$) 低下したが、治療の有効域と考えられる $AHI < 10$ となった例は 4 例のみであった。平均 SaO_2 は $92.1 \pm 4.7\%$ から $94.8 \pm 2.4\%$ へと有意に ($p < 0.02$) 上昇したが、最低 SaO_2 は有意な変化を認めなかった。 SaO_2 が全睡眠経過を通じて 90% 以上であった例はわずか 2 例であった。睡眠構築に関しては、浅睡眠、深睡眠、REM 睡眠とも有意な変化を認めなかった。

Auto-T 群では、AHI は 59.8 ± 15.3 から 2.9 ± 2.7 へ、arousal index は 39.3 ± 17.6 から 9.6 ± 2.7 へと有意に ($p < 0.01$) に低下し、全例で $AHI < 10$ に低下した。 SaO_2 に関する平均 SaO_2 は $83.4 \pm 7.4\%$ から $96.7 \pm 1.1\%$ へ、最低 SaO_2 も 67.0 ± 88.3 から $88.3 \pm 4.2\%$ へと有意に上昇した。しかし、睡眠構築に関しては有意な変化を認めなかった。

manual titration による適正圧に比較すると、Auto-V 群の適正圧が 8.3 ± 2.1 cmH_2O であったのに対し、Auto-CPAP の平均圧は 4.8 cmH_2O と低く、Auto-T 群では、適正圧 9.6 ± 1.5 cmH_2O に対して Auto-CPAP の平均圧は 11.8 ± 2.0 cmH_2O と高い傾向であった。

D. 考察

近年、開発された Auto-CPAP 機器は、CPAP 機器自体が無呼吸を感知し、無呼吸時にのみ圧を負荷して上気道閉塞（閉塞型無呼吸）を防止するシステムである。現在、使用可能な主な機種は 2 種類で、上気道の狭窄時の振動（鼾）を感知して作動するタイプと流速の停止（無呼吸）を感知して作動するタイプがある。結果に示したように、振動感知型の Auto-

CPAP では、AHI、arousal index、平均 SaO_2 を有意に改善させたが、その効果は十分ではなく、有効域とされる $AHI < 10$ まで改善させたのは 4 例のみであった。desaturation に関しては、さらに効果が不十分で、最低 SaO_2 は有意な変化がみられず、平均 SaO_2 も有効と考えられる全睡眠経過 90% 以上を達成できたのはわずか 2 例であった。その理由は明かで、manual titration による適正圧と比較すると、Auto-V 使用時の平均圧は明らかに低く、完全に上気道閉塞を予防できなかったためと考えられる。

一方、流速感知型の Auto-T では、全例が、 $AHI < 10$ まで低下しており、desaturation に対する効果も十分であった。しかし、その平均圧は、適正圧よりも高い傾向にあり、患者の不快感を増大させる可能性が危惧された。ほぼ完全に上気道閉塞を予防しているにもかかわらず、睡眠構築において有意の改善が認められないのは、例数が少ないこともあるが、高い圧設定が睡眠障害を引き起こしている可能性も考えられた。

Auto-CPAP 機器の登場以後、manual titration の煩雑さをさけるため、Auto-CPAP によって圧を決定し、その圧で CPAP を継続させるというシステムをとっている施設がみられる。しかし、本研究で示したように、振動感知型の Auto-CPAP は、重症例において有効性が低く、manual titration の代用にはなりえない。また、流速感知型の Auto-CPAP は、重症例でも有効性は十分であるが、高圧のため、患者への不快感を増大させる可能性があり、これも manual titration と比較して優れているとは言い難い。従って、現段階では、Auto-CPAP を使用して titration を行うことには慎重に

ならなければならないと考えられる。

E. 結論

現在使用可能な Auto-CPAP 機器は、その無呼吸感知のアルゴリズムの違いによって有効性が大きく左右され、その有効性も必ずしも十分ではない。従って、現段階で、Auto-CPAP を manual titration の代用とするには、慎重な配慮が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

H. Yamamoto, T. Akashiba, N. Kosaka, D. Ito, T. Horie: Long-term effects nasal continuous positive airway pressure on daytime sleepiness, mood, and traffic accidents in patients with obstructive sleep apnoea. *Respiratory Medicine* 94: 87-90, 2000.

山本仁、赤柴恒人、堀江孝至：睡眠時無呼吸症候群における交通事故。
The Lung: Perspectives 8: 184-187, 2000.

D. Ito, T. Akashiba, H. Yamamoto, N. Kosaka, T. Horie: Craniofacial abnormalities in Japanese patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *Respirology* 6: 157-161 2001.

T. Akashiba, N. Kosaka, H. Yamamoto, D. Ito, O. Saito, T. Horie: Optimal continuous positive airway pressure in patients with obstructive sleep apnoea: Role of craniofacial structure. *Respiratory Medicine* 95: 393-397 2001.

T. Akashiba, S. Kawahara, N. Kosaka, D. Ito, O. Saito, T. Majima, T. Horie: Determinants of chronic hypercapnia in Japanese men with obstructive sleep apnea syndrome. *Chest* 2001 (in press)

2. 学会発表

D. Ito, T. Akashiba, S. Kawahara, O. Saito, T. Horie: Craniofacial abnormalities in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome (OSAS). The 11th World Congress of Bronchoesophagology, 2000.

S. Kawahara, T. Akashiba, O. Saito, T. Majima, T. Horie: The quality of life (QOL) in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) and the effects of nasal continuous positive airway pressure (CPAP). World Congress on Lung Health, 2000.

A. Koitabashi, T. Akashiba, S. Kawahara, T. Akahoshi, T. Horie: Determinants of chronic hypercapnia in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) American Thoracic Society, 2001.

M Uematsu, O. Saito, T. Akashiba, T. Akahoshi, T. Horie: Risk factors in patients with obstructive sleep apnea syndrome. American Thoracic Society, 2001.

桂一仁、赤柴恒人、川原誠司、赤星俊樹、堀江孝至：重症閉塞型睡眠時無呼吸症候群に対する Auto-CPAP の有用性の検討。第 53 回日本気管食道科学会総会 2001.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

Presbyterian 型ヘモグロビンを有する遺伝子改変マウスの生理的検討

分担研究者 本間 生夫 昭和大学医学部第2生理 教授

研究要旨 酸素消費量は Presbyterian 型ヘモグロビン遺伝子導入マウス（Presbyterian マウス）で上昇していた（吸入気酸素濃度 21%, 15%）。また、Presbyterian マウスでは動脈血二酸化炭素分圧が上昇していることが明らかとなっており、呼吸調節系の変化が予想される。高炭酸ガス換気応答検査（吸入気二酸化炭素濃度 5%）では、動脈血二酸化炭素分圧に対する分時換気量が Presbyterian マウスで低下していた。低酸素換気応答検査（吸入気酸素濃度 10%）では、急性期の換気量増加が低下していた。低酸素負荷を継続すると、野性マウスとともに分時換気量は減少したが、吸入気酸素濃度 15% のとき、検査終了直前の分時換気量は Presbyterian マウスで有意に高く保たれていた。Presbyterian マウスでは、1) 無呼吸閾値の増大、2) 低酸素換気応答の低下、3) 低酸素換気抑制の減少、が認められた。

A. 研究目的

ヘモグロビン（Hb）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。Hb 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 Hb 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。Hb Presbyterian 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。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 Presbyterian 型 Hb 遺伝子導入マウス（Presbyterian マウス）を作製した。

Presbyterian マウスでは、マイルドな低酸素環境下での酸素供給を増加させることを報告した。高度な低酸素環境では酸素親和性が低下していることにより肺での酸素の取り込みが低下し、むしろ組織への酸素供給には不利であることも考えられる。したがって、Presbyterian マウスにおいて、より高度な低酸素環境でも酸素供給の改善が得られるのか検討した。また酸素供給の問題に絡み、中枢の低酸素がもたらすと考えられている低酸素換気抑制に影響を与えるのか検討した。

また既に報告したように、Presbyterian マウスでは動脈血二酸化炭素分圧が高値を示していた。このことは、このマウスにおける換気調節異常の存在を示唆する。今回はこのマウスにおける高炭酸ガス換気応答について検討を加えた。さらに慢性の組織高酸素が低酸素換気応答に与える影響についても検討した。な

ぜなら、現在までに動脈血酸素を変化させることなく組織への酸素供給が増加している動物モデルは存在しない。呼吸の主たる目的のひとつである組織への酸素供給が既に高いレベルで行われているこのモデルにおいて、この検討を行うことは換気調節のメカニズムの解明にとって大変興味深い結果を得る可能性がある。

B. 研究方法

1. 代謝量の測定

Open-circuit system (ARCO-1000, ARCO system)を用い、吸入気酸素濃度 21%, 15%, 10%での Presbyterian マウスと野生型マウスの酸素消費量及び二酸化炭素産生量を測定した。

2. 高炭酸ガス換気応答検査

分時換気量は Whole body plethysmograph (PLY3211, Buxco Electronics)を用いて測定した。吸入気二酸化炭素濃度 0%, 5%, 7%, 9%での分時換気量を測定し、両群で比較した。さらに二酸化炭素濃度 0%, 5%のときの動脈血二酸化炭素分圧を測定し、その分圧に対する分時換気量をプロットし、両群で比較した。

3. 低酸素換気応答検査

吸入気酸素濃度 21%における分時換気量を測定した後、酸素濃度を 10%あるいは 15%に変え 15 分間の低酸素負荷を行った。その際、分時換気量の変化を測定して二群間で比較した。また負荷終了前 1 分間の換気量を同様に比較した。

4. 短時間高酸素換気応答検査

末梢化学受容器の反応性を見るため、吸入気酸素濃度 10%を 45 秒負荷した後、酸素濃度を 100%に速やかに

切り替えて 20 秒間負荷し、その際、分時換気量の変化を両群間で比較した。換気量は Double-chamber plethysmograph で測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、研究の実施前に、動物実験に関する倫理委員会の承諾を得た。

C. 研究結果

1. 代謝量の測定

吸入気酸素濃度 21%, 15%では、酸素消費量、二酸化炭素産生量のいずれもが Presbyterian マウスで高値を示した。しかしながら、酸素濃度 10%では両群で有意な差を認めなかった。

2. 高炭酸ガス換気応答検査

吸入気二酸化炭素濃度に対する分時換気量は両群間で差を認めなかった。しかし、動脈血二酸化炭素分圧に対する分時換気量は野生型マウスで高値であった。高炭酸ガスに対する換気の反応性はほぼ同一であった。

3. 低酸素換気応答検査

吸入気酸素濃度 10%における分時換気量の変化は、時間とマウスの種差の間に統計学的に交互作用を認め、両群間で異なるパターンを示した ($P < 0.05$, two-way ANOVA for repeated measures)。一方、酸素濃度 15%では分時換気量の変化に有意な差を認めなかった。また、低酸素負荷 15 分後の分時換気量は、酸素濃度 15%のときに Presbyterian マウスで高値を示した。10%では有意な差を認めなかった。

4. 高酸素換気応答

低濃度酸素吸入から純酸素の吸入に切り替えると両群とも換気量の低

下をきたした。しかしながら、その低下の度合いには有意な差を認めなかった。

D. 考察

1. 低酸素下での酸素供給能の改善

Presbyterian マウスの酸素消費量測定に基づくと、吸入気酸素濃度 15% までの低酸素環境下では組織の酸素供給に有効に働くと考えられる。しかし、10%まで低下させると、その有用性は失われてしまう。末梢での Hb からの酸素放出によって酸素親和性が低下することが有利であることは明らかであるが、一方肺での酸素飽和にとってはむしろ逆効果であることも明らかである。したがって、呼吸不全を改善するという目的に Hb の酸素親和性を変化させるという方法を採用する場合、Hb の酸素の飽和と放出のバランスを考慮することが重要である。この Hb Presbyterian は吸入気酸素濃度 15%ではバランスされていると考えられ、このレベルの呼吸不全に応用することは適当であると考えられる。しかしながら、補助的に酸素吸入を加えることにより、より高度な低酸素環境でも応用可能と考えられる。

2. 炭酸ガス換気応答の低下

Presbyterian マウスでは、野生型マウスに比べ動脈血炭酸ガス分圧に対する分時換気量が低下し、無呼吸閾値が上昇していた。このことは高炭酸ガス血症の原因と考えられるが、このメカニズムは明らかではない。

3. 低酸素換気応答の低下

Presbyterian マウスでは、野生型マウスに比べ低酸素に対する急性の換気応答が低下していた。この原因として末梢化学受容器の反応性の低下を予想したが、短時間高酸素負荷による換気量低下はほぼ同一であり、末梢化学受容器の反応性の低下は無いと考えられる。中枢性のメカニズムが関与していると予想されるが、詳細は今後の検討が必要である。

E. 結論

Hb Presbyterian は低酸素環境での酸素供給を改善する。そのことは呼吸不全の治療に対して有用であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Iwase M, Izumizaki M, Kanamaru M and Homma I: Involvement of central histaminergic neurons in polypnea induced by hyperthermia in rabbits. *Neurosci Lett* 298: 119-122, 2001.

Kanamaru M, Iwase M and Homma I: Neuronal histamine release elicited by hyperthermia mediates tracheal dilation and pressor response. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280: R1748-1754, 2001.

2. 学会発表

第 78 回日本生理学会大会

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

Hb Presbyterian 血症症例呼吸機能の検討

分担研究者 白澤 卓二 東京都老人総合研究所分子遺伝学部門 室長

研究要旨 昨年までの Presbyterian Hb (β 108Asn \rightarrow Lys) モデルマウスの解析で、低酸素親和性ヘモグロビンが、in vivo で効率的な組織酸素供給を可能にする事を示唆した。今年度はヒトの Presbyterian ヘモグロビン血症で、呼吸換気応答を検討した。症例は 29 歳女性で、31 歳の姉を対照に、呼吸機能を比較・検討した。その結果、低酸素換気応答、二酸化炭素換気応答共に反応性が低下し、呼吸数が有意に少なくモデルマウスのデータを支持した。運動負荷時の呼吸商は減少、換気応答が低く、高い換気効率を示した。これらの所見は末梢における酸素供給能の増大を示したモデルマウスのデータを支持する所見であった。

A. 研究目的

ほとんどの肺疾患の最終的な病像として、低酸素血症とそれに伴う組織低酸素が問題となる。肺疾患は、非可逆的変化をきたすことが多いことから、組織低酸素に対するアプローチとして、肺から組織への酸素の運搬効率を改善させるということが考えられる。このことから、我々はこれまで ODC (Oxygen Dissociation Curve) が右方移動するとされる Hb Presbyterian モデルマウスを作成し解析してきた。その結果、低酸素に対して組織酸素分圧の低下の程度が低く、動脈血液ガス分析で高二酸化炭素血症、呼吸性アシドーシスを呈すること、筋肉の組成で好氣的な線維が増加していること、自発的走行距離の増大などの種々の生理学的特性を示した。これらのことは Hb Presbyterian が組織低酸素の病態に有用である可能性を示唆した。

そこで、臨床応用の際に予想される長所・短所を明らかにするために、このモデルマウスのもともとのモデ

ルであるヒト Hb Presbyterian 症例でヒトでの生理学的特性を調べた。

B. 研究方法

現在まで日本では Hb Presbyterian を持つ家系が数家系存在することが分かっており、そのうちの 1 家系の方々に協力を頂き、検査を施行した。本研究における遺伝子解析に関しては当研究所倫理委員会の承認を受けている。

84 歳の祖母が Hb Presbyterian を保持していることが明かとなっていたため、長男の 60 歳男性と娘に当たる二人の女性 (31 歳;case 1、29 歳;case 2) について Hb Presbyterian の保持の有無を調べた。被検者から EDTA-2K 採血管にて採血し、Gen とるくん(宝酒造)を用い、DNA を採取した。DNA は、5'プライマー(5'-acc cag agg ttc ttt gag tc-3')、3'プライマー(5'-tct gat agg cag cct gca ct-3')を用い、94℃ 1 分、61℃ 1 分、72℃ 1 分を 40 サイクル、40 サイクル終了後 72℃ 5 分というプログラムにて PCR を施行し、変異部

位を含む DNA の増幅を施行し、シークエンスのための試料とした。

シークエンスはフナコシ株式会社に依頼した。シークエンスプライマー(5'-cac tgg tgg ggt gaa ttc-3')を用い、ダイレクトシークエンスを施行した。

EDTA-2K による全血を 2 倍量の生理食塩水で 5 回洗浄し、20 倍の精製水にて溶血させ、そのライセートをろ過し、そのうち 10ml を用いて、クロマトグラフィーを行った。溶媒は 0.1%トリフルオロ酢酸加アセトニトリルを用い、36%から 52%までの濃度勾配にて、Develosil ODS300C4-HG-5 カラム (4.6×150mm,野村ケミカル) より溶出させ、グロビンのピークを解析した。

血液生化学・血算・動脈血液ガス分析は、岩手医科大学附属病院検査部にて測定し、乳酸・エリスロポエチンは SRL に依頼し、測定した。

換気応答検査はソラコグラフヘラクレス (チェスト社) にて施行した。

C. 研究結果

Hb Presbyterian 保有の確認：シークエンス、クロマトグラフィーにより家系における Hb Presbyterian 保有の有無を調べ、case 1 は Hb Presbyterian を保有せず、case 2 が保有することが確認された。

血算・血液生化学・エリスロポエチン：血算では case 2 で軽度の貧血を認め、網状赤血球の軽度の増加もみられた。血液生化学では明らかな異常はなく、鉄欠乏は認めなかった。また、エリスロポエチンの増加は認めなかった。乳酸値も正常であった。

呼吸機能検査・動脈血液ガス：呼吸機能検査・動脈血液ガスのいずれの検査でも case 1、case 2 とともに異常を認めなかった。

換気応答検査：低酸素換気応答検査で case 2 の反応性は低下し、呼吸数が case 1 の半分程度で推移した。二酸化炭素換気応答検査でも case 2 の反応性は低下し、呼吸数はやはり、半分程度で推移した。

D. E. 考察および結論

これまで、アメリカ、ドイツ、日本、スペインで Hb Presbyterian の 4 家系が報告されている。報告は血液学的な検査が中心で生理学的な検索はこれまで行われてこなかった。我々がこれまで、Hb Presbyterian モデルマウスを解析した結果、低酸素に対する抵抗性の増大、好氣的運動能力の改善などの機能獲得が示唆された。このことから、新たに Hb Presbyterian 家系を調査し、Hb A のみを保有する case 1 をコントロールとして、呼吸生理学的な視点から検査を行った。

血算・血液生化学の結果は従来報告されている症例と同様、軽度の貧血を認めるものの鉄欠乏などは認めなかった。また、今回従来報告のないエリスロポエチンを測定したが上昇は認められなかった。好気代謝が亢進している可能性から乳酸を測定したが、正常範囲で安静時に好気代謝が亢進しているかどうかは明らかにならなかった。

モデルマウスでは高二酸化炭素血症、アシドーシスを呈したが、ヒト症例では認められなかった。高二酸化炭素血症をきたしている原因として二酸化炭素に対する感受性の低下などが関係しているのではないかと考えられたため、低酸素換気応答検査、二酸化炭素換気応答検査を行った。case 2 で低酸素換気応答、二酸化炭素換気応答の反応性の低下が認められ、マウスと共通する点として変

異ヘモグロビンが呼吸中枢に影響を及ぼすことが明らかとなった。モデルマウスでは呼吸数が野生型に比べ有意に少ない（未発表データ）ということが分かっていたため、呼吸数にも着目したところ case 1 に比べ case 2 の呼吸数は低酸素、二酸化炭素の負荷にも関わらず、約 2 分の 1 で推移するという結果がでた。このことも変異ヘモグロビンが呼吸中枢に影響を及ぼすということを裏付けるものと考えられた。最近ヘモグロビンが一酸化窒素 (NO) を介して呼吸調節に影響を及ぼすとの報告があったが、我々の得た結果も機序は明らかでないが同様の可能性を示すもの

であり、呼吸調節のメカニズムの解明へ繋がるものと考えられた。

F. 研究発表

2. 学会・研究会発表

玉置正勝、鈴木陽一、清水孝彦、黄菲、泉崎雅彦、石原明彦、本間生夫、白澤卓二. 変異ヘモグロビン導入ノックインマウスの解析. 第 24 回日本分子生物学会年会

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

我が国における呼吸リハビリテーションの効果
—メタ分析の結果から—

分担研究者 宮川 哲夫 昭和大学医療短期大学理学療法学科 助教授

研究要旨 欧米における運動療法を中心とした呼吸リハビリテーションでは、呼吸困難、運動耐容能、HRQoL は改善するが、呼吸機能は改善しないとする報告がほとんどである。しかし、我が国の特徴として、対象は COPD だけでなく TB 後遺症を含んでいること、呼吸筋ストレッチ体操などの胸郭可動域訓練を含んでいること、呼吸機能が改善することなどが異なっていると思われる。そこで本邦の呼吸リハビリテーションの効果について、メタ分析を行い効果量を算出した。医学中央雑誌の 1991 年～2000 年から 840 件が検索されたが、無作為化比較対照試験の研究がなく、呼吸リハビリテーション介入前後の成績について検討した 9 文献を対象とした。有意な効果が得られたものと効果量はそれぞれ、%VC (0.26)、P_{lmax}(0.61)、PE_{max}(0.56)、胸郭拡張差(0.76)、6MD(0.45)、呼吸困難(0.90)、情動(0.65)、疲労(0.59)、克服(0.58)であり、RV(-0.24)は低下傾向にあるが有意差を認めなかった。また、拘束性換気障害を対象とした結果では、%VC(0.45)、6MD(0.60)、呼吸困難(0.92)、情動(0.72)と有意な改善が認められた。今後、我が国において、呼吸リハビリテーションのプログラムと評価項目を統一した多施設間無作為化比較対象試験を行う必要がある。

A. 研究目的

欧米における呼吸リハビリテーションプログラムは、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) を対象にした運動療法が中心となっている。1997 年に発表された ACCP/AACVPR のガイドラインでは、下肢のトレーニングが A (研究計画や実施要領が整備された対照試験 [無作為化の有無は問わない] から得た科学的証拠で勧告の根拠となる統計学的な有意差を示す)、上肢筋および呼吸筋トレーニングが B (観察研究あるいは対照群を置いた試験から得られた科学的根拠であるが、勧告の根拠としては一貫性が欠ける) と判定されている。呼吸リハビリテーションの効果については、呼吸困難の軽減と運動耐容能の向上が

A、HRQOL の改善が B の判定であり、下肢のトレーニングを中心とした運動療法は包括的呼吸リハビリテーションの不可欠の要素であると強調されている。

一方、我が国においては、対象が COPD のみでなく結核後遺症などの拘束性肺疾患も含んでいること、また施行するプログラムも運動療法のみが主体でないことなど、欧米の報告と異なっているところがみられる。現在、わが国で行われている呼吸リハビリテーションプログラムには、(1) リラクゼーション：呼吸補助筋のストレッチ、呼吸介助法など、(2) 呼吸訓練：腹式呼吸、口すぼめ呼吸、パニックコントロールなど、(3) 呼吸筋トレーニング、(4) 胸郭可動域訓練：

呼吸筋ストレッチ体操、棒体操、徒手胸郭伸張法、(5) 運動療法：下肢筋トレーニング、上肢筋トレーニング、歩行訓練、(6) 排痰法（排痰体位と squeezing）、(7) 日常生活指導などがあげられる。特に理学療法士が関与するプログラムには、呼吸介助法、呼吸筋ストレッチ体操、棒体操、徒手胸郭伸張法など胸郭に対する直接的なアプローチが含まれていることが多く、胸郭可動域の改善にも重点が置かれているところが大きい違いである。

このような特徴を有する本邦の呼吸リハビリテーションの効果に関しては、COPD 患者を中心に、呼吸困難の軽減、運動耐容能の向上、HRQoL(健康に関連した生活の質)の改善、呼吸機能の改善、という報告が認められる。これは、一般に呼吸機能の改善を認めないとする欧米の報告と異なっているところである。さらに近年では、結核後遺症などの拘束性換気障害に対しての有効性を示唆するデータも報告されている。こうした背景から、我が国においても Evidence-based Medicine(EBM)に基づいた呼吸リハビリテーションが求められている。今回我々は、欧米にはない我が国の特徴を踏まえたうえで、本邦の呼吸リハビリテーションの効果についてメタ分析を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 文献の検索と選択

文献の収集は、医学中央雑誌の 1991～2000 年から検索した。キーワードと検索結果はそれぞれ、呼吸リハビリテーション 67 件、呼吸理学療法 79 件、肺理学療法 369 件、胸部理学療法 8 件、心肺理学療法 28 件、および

呼吸訓練 289 件で、合計 840 件が検索された。また、脱落文献を避ける目的で、呼吸管理学会誌、理学療法学など関連の研究が発表されると思われる雑誌については、実際に手作業で調査した。

メタ分析では、無作為化比較対照試験 (randomized control trial ; RCT) を用いるべきであるが、検索された文献に RCT の研究がなかったため、今回は呼吸リハビリテーションの介入前後の成績について検討した文献を対象とした。このうち、少なくとも呼吸訓練、運動療法、および胸郭可動域訓練を含む呼吸理学療法が実施された研究を 9 文献を選択した。なお、文献を選択する際、同じ著者らによる第一報、第二報に準じたような報告が存在した場合は、対象の経過観察期間が重複していないかを調べ、結果に偏りをもたらすことのないよう最新の報告のみを採用するなど、各研究が独立するように配慮した。

2. 分析方法

メタ分析とは、独立した複数の研究結果を併合し総合評価を行う手法であり、Peto 法と称される固定効果モデルと DerSimonian と Laird の方法 (D&L 法) と呼ばれる変量効果モデルの二つがある。今回は D&L 法に基づいて、選択された各文献の研究結果を統合し、呼吸リハビリテーション介入前後での効果量 (effect size : ES) を算出した。ES は、0.2 以下では効果が小さく、0.5 では中等度、0.8 以上では効果が大きいと判断する。さらに、得られた ES の有意差を検討するため、95% 信頼区間 (Confidence Interval : CI) を求めた。ES の場合の 95%CI は評価スケールが比率の差なので、0 を含まなければ有意であるこ