

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

1. 大気汚染粉塵と気道炎症に関する基礎的検討
2. 閉塞型睡眠時無呼吸症候群患者における血中アディポネクチン濃度の検討
3. 閉塞型睡眠時無呼吸症候群患者の Health-related Quality of Life (HRQoL) についての検討

分担研究者 木村 弘
奈良県立医科大学内科学第二講座 教授

研究要旨

(1)大気汚染粉塵である石油燃焼灰燼(residual oil fly ash, ROFA)によって惹起される気道炎症について基礎的検討を行った。健常マウスに対する ROFA のエアロゾル曝露で BAL 中での好中球の一過性増加に続いて気道過敏性の亢進が認められた。その機序として含有金属の影響、活性酸素傷害および nerve growth factor (NGF) の関与が明らかとなった。

(2)閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (OSAS) 患者において、抗動脈硬化作用を有する血漿 adiponectin (ADPN)濃度を測定し、睡眠時低酸素ストレスとの関連を検討した。血漿 ADPN の低下は睡眠時低酸素ストレスと関連し、血漿 tumor necrosis factor- α (TNF- α) の上昇とともに動脈硬化病変の形成に相乗的に作用する可能性が示唆された。しかし、血漿 ADPN 濃度に対して鼻マスクによる持続気道陽圧呼吸 (nasal CPAP) は有意な急性効果を認めず、中長期的な検討が必要と考えられた。

(3)OSAS 患者における Health-related Quality of Life (HRQoL)を Medical outcomes Study Short-Form 36 Health Survey questionnaire (SF-36)にて評価し、各下位尺度と Epworth sleepiness score (ESS)や各種睡眠生理学的指標との関連を検討した。SF-36の6つ下位尺度がESSと有意な相関を示し、Lowest SpO₂は身体機能、全体的健康感と正の相関を認めた。中枢型無呼吸成分 AI (central) が、身体機能、社会生活機能および日常役割機能 (精神) と負の相関を示し、中枢型無呼吸が HRQoL に影響する可能性が示唆された。

A. 研究目的

(1)大気汚染は気道炎症を惹起し、気管支喘息の発症と病態の増悪および COPD の原因としても関与している。特に粒子状浮遊物質 (suspended particulate matter, SPM) が最近注目されている。SPM の原因の一である ROFA 曝露による気道炎症と気道過敏性の亢進についての基礎的検討を目的とした。

(2)OSAS 患者では肥満者が多く、内臓脂肪増加との関連が指摘されている。脂肪細胞から分泌される生理活性物である ADPNは抗動脈硬化作用を有し、肥満者や冠動脈疾患での血中濃度の低下が報告されている。OSAS 患者での心血管イベントにおける ADPN の関与を明らかにする目的で、睡眠時低酸素ストレスと血漿 ADPN との関連を検討した。

(3) OSAS での HRQoL 評価法として generic instrument では SF-36 を用いた先行研究があるものの、検討症例数が少なく結果は必ずしも一致しない。また、重症度や睡眠、呼吸に関する生理学的指標との関連は薄いとされている。OSAS 患者の HRQoL を SF-36 を用いて評価し、各下位尺度と ESS や各種睡眠生理学的指標との関連を多数例で詳細に検討することを目的とした。

B. 研究方法

(1) 6～8 週令の健常雌 BALB/c マウス (日本 SLC (株)、静岡) を用い、ボストン郊外の石油プラントから得られた ROFA (Harvard School of Public Health, J Godleski 準教授より供与) の PBS 溶出液上清を、ネブライザーにより 30 分間エロソール曝露した。メサコリンのエロソール曝露による気道過敏性の評価は非拘束マウス用ボディプレシスモグラフィ (BUXCO 社、米国) を用いて行ない、また気道炎症の評価は BAL にて行った。

気道過敏性亢進の機序の検討に活性酸素スカベンジャーである dimethylthiourea および neurokin-1 拮抗薬 (CP-099, 994) を用い、また neurokin-receptor knockout mouse (Harvard Medical School, N. Gerard 教授より供与) を用いた。神経成長因子の影響は NGF 中和抗体の投与で検討した。

(2) 対象は polysomnography (PSG) を施行し、 $AHI \geq 10$ を呈した OSAS 患者 22 例 (男性 20 例、女性 2 例) で、平均年齢は 48.1 ± 15.5 歳、BMI は 30.4 ± 9.6 (kg/m^2) であった。安静仰臥位での PaO_2 は 80.9 ± 13.8 Torr、 PaCO_2 は 44.1 ± 5.2 Torr であった。PSG は Alice 4 (Respironics 社製) で行い、睡眠時

低酸素は AHI 、 $\text{SpO}_2 < 90\%$ の total sleep time (TST) に占める比率 (% time in $\text{SpO}_2 < 90\%$) および Lowest SpO_2 で評価した。

PSG 施行後と CPAP titration 後の両日の早朝空腹時に採血し、血漿分離後測定日まで -80°C で保存した。血漿 ADPN は Human Adiponectin RIA kit (LINCO 社製)、血漿 $\text{TNF-}\alpha$ は高感度 $\text{TNF-}\alpha$ Human ELISA kit (R&D 社製) を用いて測定した。

(3) 対象は 1999 年から 2000 年に千葉大学で PSG を施行し $AHI \geq 10$ の患者 59 例と 2001 年から 2002 年に奈良県立医科大学で PSG を施行し、 $AHI \geq 10$ の患者 49 例の合計 108 例を対象とした。平均年齢は 46.4 ± 19.8 歳、BMI は 30.2 ± 8.2 (kg/m^2)、 AHI は 42.2 ± 24.6 で apnea index (AI) は 27.1 ± 21.2 、arousal index は 35.1 ± 18.1 であった。入院時の PaO_2 は 81.9 ± 11.2 Torr、 PaCO_2 は 43.4 ± 7.1 Torr であった。PSG 目的入院時に ESS と SF-36 (日本語版) を自己記入させた。SF-36 の各下位尺度と ESS および PSG による各種睡眠生理学的指標、無呼吸・低呼吸など呼吸生理学的指標との関連を検討した。

C. 研究結果

(1) ROFA 溶出液のエロソール曝露によって 48 時間後にピークをもった気道抵抗の上昇を認め、気道過敏性亢進が確認された。また、曝露 12 時間後に BAL 中好中球が約 8% と一過性に増加し、気道過敏性亢進と発現時間に差異がみられた。

ROFA のエロソール曝露による気道過敏性亢進の機序に対する検討を行った。ROFA 溶出液の含有する主な金属であるニッケル、バナジウム、亜鉛、コバルト、マンガン、銅の硫酸あるいは

は塩酸塩の溶液を混合してエロソール曝露したところ ROFA 溶出液と同様の気道過敏性亢進が認められたことから含有金属の関与が示された。

気道過敏性の亢進は DMTU により濃度依存性に抑制された。すなわち ROFA 溶出液は酸素傷害を惹起して気道過敏性亢進をきたすことが示された。

一過性の BAL 中好中球増多の後に、炎症細胞は減少しているにもかかわらず気道過敏性亢進を示していることから、神経伝達物質であるニューロキニンの関与を検討した。ニューロキニン受容体 1 の拮抗薬 (CP-099, 994) の投与では気道過敏性に影響なく、またニューロキニン受容体ノックアウトマウスにおいても同様の気道過敏性亢進をきたしたことからニューロキニンの関与は否定的であった。

NGF の中和抗体を投与すると、濃度依存性に気道過敏性亢進が抑制された。ROFA 溶出液のエロソール曝露 6 時間後には肺組織の NGF-mRNA 発現が増強し、48 時間後には血清中 NGF 濃度の有意な上昇を認めたことから NGF が機序に関与することが示された。

(2) CPAP 前の Arousal index は 41.7 ± 22.2 、AHI は 47.7 ± 25.4 、Lowest SpO₂ は $74.9 \pm 8.3\%$ 、%time in SpO₂ < 90 は $20.3 \pm 22.2\%$ であった。血漿 ADPN は平均 $14.0 \pm 12.8 \mu\text{g/ml}$ で、血漿 ADPN は BMI および AHI、%time in SpO₂ < 90% と有意な負の相関を認めた。重回帰分析では、血漿 ADPN は BMI よりも AHI とより強い相関が確認された。血漿 TNF- α (平均 $2.37 \pm 1.06 \text{ pg/ml}$) は AHI と有意な正の相関を認めた。CPAP titration 前後での血漿 ADPN は CPAP 前 $14.0 \pm 12.8 \mu\text{g/ml}$ に対し CPAP 後 $12.2 \pm 11.9 \mu\text{g/ml}$ と有意な変化は認めず、明らかな CPAP 1 日目の急性効

果は確認できなかった。

(3) SF-36 の下位尺度は、身体機能 (physical functioning: PF)、日常役割機能 (身体) (role-physical: RP)、体の痛み (bodily pain: BP)、全体的健康感 (general health: GH)、活力 (vitality: VT)、社会生活機能 (social functioning: SF)、日常役割機能 (精神) (role-emotional: RE) および心の健康 (mental health: MH) の全項目で福原らによる日本人の国民的標準値よりも低下が認められた。GH と VT が 10% 以上低下しており RP および RE も 5% 以上低下していた。ESS と SF-36 の関連では PF、BP、GH、VT、SF、MH が ESS と有意な相関を認めた。さらに ESS は AHI、AI、また AI の中でも obstructive と判定できる部分 AI (obstructive) と正の相関を認め、Lowest SpO₂ と有意な負の相関を認めた。SF-36 では AI と BP に弱いながら正の相関を認め、中枢型無呼吸と判定できる成分 AI (central) が、RP、SF および RE と負の相関を認めた。Lowest SpO₂ は PF、GH と正の相関を認めた。

D. 考察

(1) オキシダントや窒素酸化物などのガス状の大気汚染のみならず、粉塵 (ばいじんや粒子状浮遊物質) もまた気道炎症をきたし、気管支喘息や COPD の原因あるいは悪化要因となる。ROFA は大気汚染粉塵の代表的なものの一つであり、今回の検討より健常マウスに一過性の好中球性炎症をきたし気道過敏性を亢進させることが示された。その機序について結論はでないが、含有金属の影響、活性酸素傷害および NGF の関与が明らかとなった。これらが具体的にどのように気道に

傷害をあたえて気道過敏性をきたすのか機序についての詳細な検討は今後の課題であり、また、より実際的なモデルとしての反復曝露による影響を検討する必要がある。

(2) 血漿 ADPN は血管内皮細胞における接着分子の発現抑制や血管平滑筋細胞の増殖抑制を介して抗動脈硬化作用を示す。従って、血漿 ADPN の低下は動脈硬化を促進し、臨床的には、冠動脈疾患患者での低下や慢性腎不全患者の心血管イベントの予測因子となることが認められている。

今回の検討では健常者と同様に OSAS 患者においても ADPN は、BMI と有意な負の相関を示したが、AHI とより強い相関を認めた。これは、睡眠時低酸素ストレスが ADPN の分泌を抑制している可能性を示唆する。また、血漿 TNF- α は AHI と有意な正の相関を認め、睡眠時低酸素ストレスが TNF- α の産生を亢進させる可能性が推測された。TNF- α は I κ B のリン酸化を介して NF κ B を活性化し、血管内皮細胞での接着分子遺伝子の転写を促進することによって動脈硬化病変の形成に関与する。それに対し ADPN は I κ B のリン酸化抑制によって NF κ B の活性化を阻害し、接着分子の転写を抑制する。従って、睡眠時低酸素ストレスと関連した血漿 TNF- α の上昇と、血漿 ADPN の低下とは接着分子の発現亢進を介して動脈硬化を相乗的に促進すると考えられる。実際に、OSAS 患者では cICAM-1 を中心に可溶性接着分子が健常者と比較して著明に上昇していることが認められている。低酸素ストレスによる ADPN の低下機序の解明には、hypoxia inducible factor (HIF) や NF κ B などの転写因子の作用および種々のサイトカインとの相互作用な

どを検討する必要がある。

さらに、今回の検討では血漿 ADPN は CPAP titration 後の急性効果としては、有意な変化を認めなかったが、さらに中長期的な評価が必要と考えられる。

(3) OSAS 患者における SF-36 の HRQoL 評価は、いくつかの先行研究があるが少数例での検討で必ずしも結果が一致していない。今回は 108 例と従来の報告の中では最も多数例での検討である。すべての下位尺度で国民的標準値より低下しており、特に日常役割機能(身体)と全体的健康感および日常役割機能(精神)とが低下していた。大規模試験の Sleep Heart Health Study (SHHS) では RDI (respiratory disturbance index) ≥ 30 の重症 SDB 患者 (284 例) で重症度が SF-36 の全体的健康感、身体機能、活力、社会生活機能と負の相関があるとしており、今回の検討とも一部傾向が一致している。症例数の増加で全体的健康感や活力の低下が明らかになってきており、OSAS 患者の HRQoL の低下の特徴といえるかも知れない。

一般に HRQoL は AHI とはほとんど相関を示さず、重症度と独立した因子であると言われている。最近、slow-wave sleep (SWS) と身体役割機能(精神)との相関、Medical Outcomes Study (MOS) で評価した HRQoL と total sleep time (TST) との相関が報告された。今回の検討では SWS や TST とは相関を示さなかったが、AI (central) が身体機能、社会生活機能および日常役割機能(精神)と負の相関を示した。このことは、中枢性無呼吸は、その出現頻度が低値であっても HRQoL への影響が無視できない可能性を示唆している。また、この所見は PSG 検査において、AHI や AI

のみならず中枢性無呼吸を評価する意義を示している。HRQoL の検討には SF-36 は有効であったが、詳細な検討や縦断的検討には疾患特異的質問表が必要と考えられる。

E. 結論

(1) ROFA エロソール曝露は健常マウスに一過性の好中球性の気道炎症をきたし気道過敏性を亢進させた。含有金属の影響、活性酸素傷害および NGF の関与が明らかとなったが、具体的な機序については今後の課題であり、より実際的なモデルとしての反復曝露による影響を検討する必要がある。

(2) OSAS 患者において血漿 ADPN の低下は睡眠時低酸素ストレスと関連する可能性が示唆された。血漿 ADPN 濃度に対する CPAP 効果に関しては中長期的な検討が必要である。

(3) OSAS 患者では SF-36 で評価した HRQoL は低下していた。中枢性無呼吸が HRQoL に影響する可能性が示唆された。HRQoL の評価に SF-36 は有効であったが、詳細な検討や縦断的検討には疾患特異的質問表が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Omori S, Takiguchi Y, Hiroshima K, Tanabe N, Tatsumi K, Kimura H, Nagao K, Kuriyama T. Peripheral Pulmonary Diseases: Evaluation with Endobronchial US Initial Experience. *Radiology* 224 : 603-608, 2002.

木村 弘、福岡篤彦：内科 100 年のあゆみ（呼吸器）I. 呼吸器領域の 100 年. 8. 睡眠時無呼吸症候群. *日本内科学会雑誌* 91 : 1685-1689, 2002.

木村 弘、濱田 薫：実践診断指針 I. 呼吸器・胸壁・縦隔疾患 肺塞栓症. *日本医師会雑誌* 128 : S36-S37, 2002.

木村 弘、濱田 薫：実践診断指針 I. 呼吸器・胸壁・縦隔疾患 肺高血圧症. *日本医師会雑誌* 128 : S38-S39, 2002.

吉川雅則、竹中英昭、福岡篤彦、玉置伸二、木村 弘、米田尚弘：呼吸器疾患の栄養治療—慢性閉塞性肺疾患（COPD）を中心に. *栄養—評価と治療* 19 : 273-279, 2002.

吉川雅則、木村 弘：慢性閉塞性肺疾患の管理—日本呼吸器学会 COPD ガイドラインを中心に. COPD の管理—栄養管理を中心に *日本医師会雑誌* 127 : 7-9, 2002.

福岡篤彦、吉川雅則、竹中英昭、玉置伸二、米田尚弘、木村 弘：閉塞性肺疾患—COPD 患者における栄養管理の意義と実際. *Medical Practice* 19 : 671-674, 2002.

竹中英昭、吉川雅則、福岡篤彦、木村 弘：プライマリケアのための慢性閉塞性肺疾患（COPD）の管理 COPD の栄養障害—食餌療法のコツ—治療 84 : 67-73, 2002.

福岡篤彦、宮本謙一、玉置伸二、竹中英昭、吉川雅則、木村 弘：日本

の慢性閉塞性肺疾患(COPD)の現状と GOLDのインパクトー全身性疾患としてのCOPDにおける栄養の臨床的意義. 最新医学 57:82-87, 2002.

山内基雄、木村 弘:睡眠呼吸障害の評価と意義. 現代医療 34:2231-2234, 2002.

2. 学会発表

Fukuoka A, Takenaka H, Yoshikawa M, Tamaki S, Yoneda Ikuno M, Kobayashi A, Tomoda K, Kimura H: Serum antioxidative vitamin level on patients with

chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The3rd international conference of the APCNS, 2002.

Hamada K, Majima T, Itoh T, Suzaki Y, Tsujimoto S, Kimura H, Kobzik L: Nerve growth factor (NGF) contributes to airway hyper responsiveness induced by airpollutant aerosol in mice.

American thoracic society 2002
International conference.

木村 弘:教育講演ー肺高血圧症の病因解明にむけた臨床の場からのアプローチ. 第42回日本呼吸器学会総会, 2002.

吉川雅則、竹中英昭、福岡篤彦、玉置伸二、木村弘、米田尚弘:シンポジウムー呼吸リハビリテーションの進歩:栄養治療の有効性と継続治療の意義. 第42回日本呼吸器学会

総会, 2002.

吉川雅則、竹中英昭、福岡篤彦、玉置伸二、木村弘、米田尚弘、成田亘啓:ワークショップー呼吸器疾患と栄養:COPD患者の栄養障害と病態生理. 第42回日本呼吸器学会総会, 2002.

濱田 薫、須崎康恵、伊藤利洋、真島利匡、玉置伸二、辻本 晋、三笠桂一、木村 弘:大気汚染粉塵 (residual oil fish :ROFA) 吸入による気道過敏 性亢進. 第42回日本呼吸器学会総会, 2002.

竹中英昭、吉川雅則、福岡篤彦、玉置伸二、生野雅史、小林 厚、斧原康人、森山彰啓、米田尚弘、木村弘:慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者の骨塩量と 栄養状態、運動能の関連. 第42回日本呼吸器学会総会, 2002.

福岡篤彦、竹中英昭、吉川雅則、玉置伸二、生野雅史、小林 厚、斧原康人、川口剛史、木村通孝、根津邦基、谷口繁樹、米田尚弘、木村 弘:肺容量縮 小術後の運動耐容能を規定する因子に関する検討. 第42回日本呼吸器学会 総会, 2002.

山内基雄、千崎 香、鈴木崇浩、大西徳信、岡本行功、前川純子、中野博、木村 弘:非肥満閉塞型睡眠時無呼吸症候群患者における経口糖負荷試験の検討. 第42回日本呼吸器学会総会, 2002.

鈴木崇浩、千崎 香、山内基雄、大西徳信、岡本行功、前川純子、中野 博、木村 弘:閉塞型睡眠時無呼吸症候

群(OSAS)と頸動脈内膜中膜複合体
(IMC)肥厚に関する検討. 第42回
日本呼吸器学会総会, 2002.

H. 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 |

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

The Epworth Sleepiness Scale (ESS) の一般集団における標準値の測定

研究協力者 福原俊一

京都大学大学院医学研究科社会健康医学系専攻理論疫学分野 教授

研究要旨

日本の一般集団における主観的な日中の眠気について ESS を用いて測定し、EDS(Excessive daytime sleepiness:過度の眠気)の有病率を明らかにし、日本における標準化された EDS 有病率の推定を試みた。

A. 研究目的

本研究の目的は、日本の一般集団における主観的な日中の眠気について ESS を用いて測定し、本邦ではこれまで得られていない標準値を得ることである。また、ESS を用いて EDS(Excessive daytime sleepiness:過度の眠気)の有病率を明らかにし、日本における標準化された EDS 有病率を推定することを目的としている。

B. 研究方法

北海道地方の人口約1万人のある自治体における20歳以上の全住民を対象とし、自記式質問票を用いた悉皆調査を行った。日本版 ESS を含んだ質問票は、2000年8月から自治体の保健推進員によって、訪問配布、回収された。ESS は、1 から 8 までの質問項目がある。5項目以上回答が得られたものについては、5つの回答を用いて8項目に補正を行った。ESS の各スコアと合計スコアの平均値と標準偏差は、性年齢階級別に多変量分析を行い、差をみるためにF検定を行った。EDS の有病率は、これまでの研究でよく用いられている ESS の合計スコア 10 点を閾値として推定した。また、この有病率を国勢調査の人口分布を基準人口と

して一般化した。

C. 研究結果

調査表回収数 6197 名のうち、スコアすべてに回答し合計スコアが得られたものは 3893 名 (62.8%) であった。有効回答者と欠損とされた回答者間において、性別に関しては両集団に差はなかったが、年齢については差がみられた ($P < 0.001$)。欠損していたのが、20-60代では 22.3-37.1% であるのに対し、70代では 56.8%、80歳以上では 67.7% であった。補正後欠損値の有効回答数は 4412 名 (71.2%) であった。結果は図のようであった。男性、女性ともに各年齢階層において差が見られた。補正前欠損値の合計スコアに比べて、男性、女性ともに 40 歳以上は特に、80歳以上ではより顕著に合計スコアが高くなっていた。ESS の合計スコア 10 点を閾値とした場合の EDS の有病率は、12.1% であった。昭和 60 年のモデル人口を基準人口として一般化した EDS の有病率は、11.7% であった。

D. 考察

本研究では、日本人の一般集団を対象とした ESS スコアの平均値と EDS 有

病率を提示した。これは、本邦で初めて推定されたものであり、睡眠障害をきたす種々の疾患に対する診療や治療上の評価の面から臨床家に待望されたものである。また、疫学研究において比較する際にも活用されることが期待される。ESS スコアによる日中の眠気が性年齢階級で違いがあることが明らかになった。これについては、加齢、職業などの要因が関係していると考えられ、更なる研究が求められる。

E. 結論

今後、本研究班 SAS 研究グループ（日大・堀江、赤柴、奈良県立医大・木村、京大・陳の各班員）で ESS のスコア方法（欠損値の扱い）の標準化や PSG の結果との関連性などについて検討を加える予定である。

F. 研究発表

特記すべきことなし。

G. 知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

閉塞性睡眠時無呼吸症候群(OSAS)が肥満患者のアミノトランスフェラーゼ値に与える影響に関する臨床的検討

研究協力者 陳 和夫
京都大学医学部附属病院理学療法部 助教授

研究要旨：

OSAS 患者の多くに肥満が存在する，原因不明の肝障害の多くは脂肪肝であるが，OSAS と肝機能との関連についての報告はみられない。40 名の重症 OSAS 患者の AST 値は前日の午後値に比し睡眠直後の午前中に有意に上昇し，上昇の程度は早朝時の AST 値に相関していた。重症 OSAS 患者の 35%は肝機能異常を示した。AST の上昇は nCPAP 治療により有意に改善した。治療 1 ヶ月，6 ヶ月後にも AST は継続的に改善していた。肥満患者に肝機能障害がみられた場合，OSAS の関与の有無を考慮する必要がある。

A. 研究目的

低酸素血症を伴う閉塞性睡眠時無呼吸症候群(obstructive sleep apnea syndrome: OSAS)が肝機能に影響を与えるか否かを検証する。

B. 研究方法

40 名 (47±12 歳：平均年齢±標準偏差) の経鼻持続気道陽圧(nasal continuous positive airway pressure: nCPAP) 治療適応の重症 OSAS を対象とした。nCPAP 治療前後にポリソムノグラフィーを施行した。ポリソムノグラフィー前後に，AST，ALT，血糖，インスリン，レプチンを測定した。

C. 研究結果

nCPAP 治療前には AST は早朝に睡眠前の午後値に比し有意に上昇していた。早朝の AST，ALT の上昇の程度は治療前早朝の AST，ALT に有意に一次相関した(p=0.0001)。AST と ALT の上昇の程度は nCPAP 治療により有意に改善し

た。40 名の OSAS 患者中，14 名(35%) は AST が正常値の 1.5 倍以上の異常値(≥49 IU/L)を示していた。HOMA-IR は治療前の AST(r=0.51, p=0.002)，ALT(r=0.70, p=0.0001)に有意に相関していた。血中レプチン濃度は nCPAP 初日に有意に低下していた。nCPAP 治療により 1 ヶ月後，6 ヶ月後の AST，ALT も有意に低下していた。

D. 考察

早朝のアミノトランスフェラーゼ値は睡眠前の前日の午後値よりも有意に高く，OSAS が OSAS 患者の肝機能に影響を与えている可能性が示唆された。また，アミノトランスフェラーゼ値は HOMA 法にて測定したインスリン抵抗性と有意に相関していた。肥満は OSAS の成因に大きく関与する。肝臓への非アルコール性脂肪浸潤を示す 80%は肥満を示している。従って，肥満者の多くは OSAS と脂肪肝を併存している可能性がある。

E. 結論

肥満患者で肝機能異常を示している患者に対しては OSAS 合併の有無を考慮する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

I. 原著

1) Shimizu K, Chin K, Nakamura T, Nohara R, Nakao K, Mishima M, Ohi M. Plasma leptin levels and cardiac sympathetic function in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Thorax* 2002; 57:429-434.

2) Chin K, Nakamura T, Takahashi K, Sumi K, Ogawa Y, Masuzaki H, Muro S, Hattori N, Matsumoto H, Niimi A, Chiba T, Nakao K, Mishima M, Ohi M, Nakamura T. Effects of obstructive sleep apnea syndrome on amino-transferase levels in obese subjects. *American J Med* in press.

II 著書

1) 陳和夫. 肥満と睡眠時呼吸障害. 睡眠呼吸障害 Update エビデンス・課題・展望. 山城義広, 井上雄一編集, 日本評論社, 東京, 2002, pp93-100.

2) 陳和夫, 大井元晴. 呼吸不全例の呼吸管理の実際. 「第7回3学会合同呼吸療法認定士」認定講習会テキスト. 3学会合同呼吸療法認定士認定委員会, 2002, pp281-293.

III 総説

1) 陳和夫, 三嶋理晃, 大井元晴, 急性呼吸不全に対する NPPV 療法. 特集: 人工呼吸管理の最近の進歩. 日本胸部臨床. 印刷中

2. 学会発表

1) Chin K, Nakamura T, Mishima M, Nakamura T, Ohi M. Obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome and multiple risk factors for cerebro and cardiovascular diseases. In Symposium: Cardiovascular morbidity in sleep apnoea syndrome: cellular and biochemical mechanisms. 16th Congress of the European Sleep Research Society, 3-7 June 2002, Reykjavik.

2) Chin K, Nakamura T, Miyaoka F, Muro S, Mishima M, Ohi M, Nakamura T. Hyperleptinemia and effects of obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome on liver function in obesity. 98th International Conference ATS 2002, 5.19, 2002, Atlanta.

3) Nakamura T, Chin K, Shimizu, K, Ohi M, Mishima M. Effects of nCPAP therapy on QT dispersion in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome.

International Conference APSR 2002.10. 26. 2002. Taipei.

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

慢性肺気腫発症あるいは呼吸不全におけるウイルス感染

研究協力者 山谷 睦雄
東北大学医学部附属病院老人科助教授

(1) 培養ヒト気管上皮細胞および粘膜下腺細胞のムチン合成に対するライノウイルス感染の作用を調べた。培養ヒト気管上皮細胞および粘膜下腺細胞はそれぞれ MUC1-3、MUC5AC、MUC5B、MUC6 6種類および MUC7 を加えた 7種類のムチン mRNA を合成した。ライノウイルス感染は気管上皮細胞の発現する 6種類すべてのムチン mRNA 合成と、気管粘膜下腺細胞における MUC5AC mRNA を含む 3種類のムチン mRNA 合成を亢進した。培養液ムチン量もライノウイルス感染で増加した。マクロライド抗生物質エリスロマイシンが気管上皮細胞のムチン分泌を抑制した。(2) 慢性閉塞性肺疾患急性増悪時の気道ウイルスと細菌同時感染について検討を開始した。慢性肺気腫 4 症例においてインフルエンザ感染およびライノウイルス感染と細菌感染を認めた。

A. 研究目的

(1) 気管支喘息や慢性肺気腫はウイルス感染が引き金になって急性増悪し、呼吸不全をきたすことが多い。ライノウイルス、インフルエンザウイルス、RS ウイルスなどが同定され、二次性の細菌感染が更に症状を悪化させる。ウイルス感染は気道上皮の剥離脱落や気道壁の浮腫を介して気道内腔を狭窄すると言われている。また、炎症性サイトカイン、ヒスタミンやキニンが気道炎症や気管支平滑筋収縮、喀痰分泌を生じて気流障害を促すと考えられている。ムチンは MUC2、MUC5AC、MUC5B、MUC6 などの分泌型ムチンと、細胞内および細胞膜内ドメインからなる MUC1、MUC3、MUC4、MUC12 などの細胞貫通型ムチンに分類される。このうち、分泌型ムチンは気道粘液の主成分として、喀痰の主なゲル成分を構成する。ムチン合成は気道炎症で増加し、ライノウイルス感染時の増加が指摘されている。また、杯細胞などの分泌

細胞の過形成や肥大との関係も指摘されている。慢性肺気腫や気管支喘息患者に生ずる呼吸不全増悪においては喀痰増加が原因の 1 つであり。慢性呼吸器疾患患者の急性増悪の原因に気道ウイルス感染が考えられている。しかし、ムチンは分子生物学的構造の複雑さもあって、これまで研究が進んでいなかった。

(2) インフルエンザやライノウイルスなどの気道ウイルス感染時に肺炎球菌やインフルエンザ菌が混合感染することは急性気管支炎や肺炎の患者で報告されている。しかし、慢性肺気腫や気管支喘息の急性増悪時に気道ウイルス感染と二次性細菌感染を生ずるかどうかは明確でなかった。このような背景をもとに、本年度は 1. ムチン合成に対するライノウイルス感染の作用とマクロライド抗生物質の抑制作用について、培養ヒト気管上皮細胞および気管粘膜下腺細胞を用い

て検討した。また、2. 慢性肺気腫急性増悪時のウイルス感染と細菌感染について検討した。

(倫理面への配慮)

ヒト気管上皮細胞培養について東北大学医学部倫理委員会の承認を得て行なった。臨床研究は患者に研究内容を説明し、同意を得て行なった。

B. 研究方法

1. ヒト気管上皮細胞および粘膜下腺細胞を試験管に培養し、ライノウイルス14型を感染させた。ライノウイルス感染前、感染後8時間、および24時間の時点でRNAを抽出し、また、培養液を回収した。ムチン蛋白遺伝子MUC1-MUC3、MUC5AC、MUC5B、MUC6、MUC7、MUC8についてmRNA発現量を定量的RT-PCR法で測定した。培養液ムチン量についてはMUC5ACおよびMUC17Q2について市販の抗体を用いてELISA法で測定した。エリスロマイシン10 μ Mをライノウイルス感染前から培養液に加えMUC mRNAおよび培養液ムチン量を測定した。2. 慢性肺気腫患者8症例および慢性閉塞性肺疾患(COPD)患者2症例の風邪による急性増悪の際に、咽頭ぬぐい液と喀痰を採取した。喀痰の細菌は通常の方法で培養・同定した。気道ウイルスは咽頭ぬぐい液あるいは鼻汁を用いて、細胞培養法あるいはライノウイルスにおいてはRT-PCR法を用いて同定した。風邪の評価は、Jacksonの方法に従って、発熱、咽頭痛などの症状をスコア化して5点以上とした。急性増悪はRodrigues-Roisinの方法に従って、判定した。

C. 研究結果

1. 試験管に培養したヒト気管上皮細胞はMUC1-MUC3、MUC5AC、MUC5B、MUC6

の6種類のムチン遺伝子を発現した。ライノウイルス感染後4時間で、培養ヒト気管上皮細胞はMUC1-MUC3、MUC5AC、MUC5B、MUC6の6種類のムチン遺伝子発現が増加した。24時間後にはライノウイルス感染前の発現量に戻った。培養ヒト気管上皮細胞の培養液中のムチン分泌量はライノウイルス24時間後においてMUC5AC、MUC17Q2ともに増加した。上皮細胞にエリスロマイシン10 μ Mを感染3日前から作用させると、ライノウイルス感染後24時間後の培養液MUC5AC、およびMUC17Q2量はともに減少した。また、培養ヒト気管粘膜下腺細胞はMUC1-MUC3、MUC5AC、MUC5B、MUC6およびMUC7の7種類のムチン遺伝子を発現した。ライノウイルス感染4時間後に、ヒト気管粘膜下腺細胞においてはMUC2、MUC3、MUC5ACおよびMUC5BのmRNA発現が増加した。

2. 慢性肺気腫8例およびCOPD2症例の急性増悪のうち、A型インフルエンザが3症例、ライノウイルスが2症例、およびアデノウイルスが1例に同定された。また、喀痰中にH. influenzaeが2例に、S. pneumoniaeが2例に、また、Serratia、S. aureus、M. Catarrharis、P. aeruginosaが各1例に同定された。このうち、ウイルスと細菌が同じ症例に検出されたのは4例で、そのうち、インフルエンザA型が同定された1症例でS. pneumoniaeが検出され、もう1症例でS. pneumoniae検出された。ライノウイルスが同定された1症例でH. influenzaeが、もう1症例でSerratiaが検出された。

D. 考察

1. ムチンは全身の粘膜面において合

成・分泌されている。ムチンには MUC2、MUC5AC、MUC5B、MUC6 などの分泌型ムチンと、細胞内および細胞膜内ドメインからなる MUC1、MUC3、MUC4、MUC12 などの細胞貫通型ムチンに分類される。このうち、MUC2、MUC5AC、MUC5B、特に MUC5AC および MUC5B は気道粘液の主成分として、喀痰の主なゲル成分を構成する。ムチン合成は気道炎症で増加し、ライノウイルス感染時の増加が指摘されている。また、杯細胞などの分泌細胞の過形成や肥大との関係も指摘されている。

ムチンの構成成分の 7-8 割は炭化水素、2 割が蛋白質、1-2% は糖鎖である。分泌型ムチンはジスルフィド結合でモノマーが重合し、3 次元構造をとったオリゴマーで、ゲル状になって強い粘着性を示す。気道粘膜では少なくとも 8 種類のムチンが合成され、そのうち、MUC5AC と MUC5B が主なゲルの成分である。ムチンは分子生物学的構造の複雑さもあって、これまで研究が進んでいなかった。しかし、慢性肺気腫や気管支喘息患者に生ずる呼吸不全増悪においては喀痰増加が原因の 1 つであり。慢性呼吸器疾患患者の急性増悪の原因に気道ウイルス感染が考えられている。したがって、気道ウイルス感染によるムチン合成亢進の病態解明は治療法に繋がるため、重要な意味を持つ。

本研究において、培養ヒト気管上皮細胞および気管粘膜下腺細胞は数種類の分泌型および細胞貫通型ムチンを合成することが明らかとなった。さらに、風邪の主因であるライノウイルス感染が mRNA および蛋白いずれのレベルでも、ムチン合成を亢進した。培養ヒト気管上皮細胞は MUC1-MUC3、MUC5AC、MUC5B、および MUC6 の 6 種類のムチンを合成し、そのすべてのムチ

ンをライノウイルス感染が増加した。培養ヒト気管粘膜下腺細胞は MUC1-MUC3、MUC5AC、MUC6、および MUC7 mRNA を合成し、MUC2、MUC3、MUC5AC、および MUC5B がライノウイルス感染で増加した。いずれのムチン遺伝子もライノウイルス感染 4 時間前後で発現のピークを示し、24 時間後には感染前の発現量に戻った。

本研究において、ムチン mRNA 発現が 4 時間でピークを示したことは、ライノウイルス感染の短時間の超急性期に既にムチン遺伝子が増加したことを意味している。これまでの私たちの研究で、培養液ライノウイルスは感染 12 時間で増加が認められている。したがって、24 時間以降に増加を認めるインターロイキン (IL)-1 β 、IL-6、IL-8 などの炎症性サイトカイン合成に比べて、短時間で増加する傾向があると認められる。風邪を引いてまもなく喀痰増加が惹起されることを意味している。実験的にライノウイルス感染をおこして気道分泌を測定した研究では、ライノウイルス感染後 2-5 日において鼻腔洗浄液ムチン分泌増加が報告されている。したがって、ライノウイルスによる喀痰合成は比較的長時間継続する。本研究においても、炎症性サイトカイン合成増加を認める 24 時間以降のムチン合成の変化について、今後研究課題として残っている。

昨年度報告した通り、エリスロマイシンにはライノウイルス感染抑制作用があり、慢性肺気腫患者における風邪および急性増悪予防効果がある。今年度研究、エリスロマイシンにはこのほかにムチン合成抑制作用があることが明らかになった。エリスロマイシンはライノウイルス感染・増殖抑制効果や NF- κ B 抑制効果があり、これが細

胞接着分子 ICAM-1 や炎症性サイトカイン減少に関連している。ムチン合成抑制も同様の機序の関与が想定される。今後の研究課題である。

2. インフルエンザやライノウイルスなどの気道ウイルス感染時に肺炎球菌やインフルエンザ菌が混合感染することは急性気管支炎や肺炎の患者で報告されている。気道ウイルス感染時に二次性細菌感染を生ずるかどうかは抗生物質の使用の是非に関係するため、臨床上問題となる。本年度は数例しか調査該当者がなかったため、今後症例を増加して、継続調査する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Suzuki T, Yamaya M, Sekizawa K, Hosoda M, Yamada N, Ishizuka S, Yoshino A, Yasuda H, Takahashi H, Nishimura H, Sasaki H: Erythromycin inhibits rhinovirus infection in cultured human tracheal epithelial cells. *Am J Respir Crit Care Med* 165: 1113-1118, 2002.

Hosoda H, Yamaya M, Suzuki T, Yamada N, Kamanaka M, Sekizawa K, Butterfield JH, Watanabe T, Nishimura H, Sasaki H: Effects of rhinovirus infection on histamine and cytokine production by cell lines from human mast cells and basophils. *J Immunol* 169: 1482-1491, 2002.

Yasuda H, Yamaya M, Yanai M, Ohru T, Sasaki H: Increased blood carboxyhaemoglobin concentrations in inflammatory pulmonary diseases.

Thorax 57: 779-783, 2002.

Yamaya M: Pathogenesis and management of virus infection-induced exacerbation of senile bronchial asthma and chronic pulmonary emphysema. *Tohoku J Exp Med* 197: 67-80, 2002.

Yamaya M, Hosoda M, Suzuki T, Yamada N, Sasaki H. Human airway epithelial cell culture. *Methods in Molecular Biology* 9-26, 2002.

Nakayama K, Jia YX, Hirai H, Shinkawa M, Yamaya M, Sekizawa K, Sasaki H: Acid stimulation reduces bactericidal activity of surface liquid in cultured human airway epithelial cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 26: 105-113, 2002.

G. 知的所有権の取得状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

執著者氏名	論文題名	雑誌名(巻：頁、年)
Yu X, Fujimoto K, Urushihata K, Matsuzawa Y, Kubo K.	Cephalometric analysis in obese and non-obese patients with obstructive sleep apnea syndrome.	Proceedings of the 7 th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology. (K.T. Luh ed), Monduzzi Editore, Bologna, Italy pp 25-28, 2002.
藤本圭作、久保恵嗣	安定期および急性増悪時のステロイド治療	肺気腫症の診断と治療. 吉田稔、白日高歩編 pp: 45-50, 2002.
Kaneki T, Koizumi T, Yamamoto H, Fujimoto K, Kubo K, Shibamoto T.	Effects of resuscitation with hydroxyethyl starch (HES) on pulmonary hemodynamics and lung lymph balance in hemorrhagic sheep; comparative study of low and high molecular HES.	Resuscitation 52:101-108,2002
Fujimoto K, Matsuzawa Y, Yamaguchi S, Koizumi T, Kubo K.	Benefits of oxygen on exercise performance and pulmonary hemodynamics in COPD with mild hypoxemia.	Chest 122:457-463,2002
松沢幸範、藤本圭作、漆畑一寿、山口伸二、久保恵嗣	職場内に酸素濃縮器を設置した二次性肺高血圧症の1例。	日本呼吸管理学会雑誌 11: 450-453,2002
藤本圭作、久保恵嗣	臨床：慢性閉塞性肺疾患の治療-ステロイド薬の役割	現代医療 34: 2243-2247,2002
宮澤英樹、中塚厚史、倉科憲治、藤本圭作、漆畑一寿、久保恵嗣	閉塞型睡眠時無呼吸症候群に対するスリープスプリント (SS) 治療	信州医誌 50: 71-75,2002
中塚厚史、宮澤英樹、倉科憲治、藤本圭作、漆畑一寿、久保恵嗣	スプリント療法が著効を示した重症閉塞型睡眠時無呼吸症候群の2症例	信州医誌 50: 13-18,2002

Kubo K, Ge RL, Koizumi T, Fujimoto K, Yamanda T, Haniuda M, Honda T.	Pulmonary artery remodeling modifies pulmonary hypertension during exercise in severe emphysema.	Respir Physiol 12: 71-9,2000
藤本圭作	COPDの急性増悪への対処 －診断と治療のポイント－	治療 84 : 2373-2377,2002
藤本圭作	COPDの治療に副腎皮質ステロイド剤は有用なのか教えてください？	治療 84 : 2418-2420,2002
Yu X, Fujimoto K, Urushihata K, Matsuzawa Y, Kubo K.	Cephalometric analysis in obese and non-obese patients with obstructive sleep apnea syndrome.	Chest (in press)
Tanino M, Betsuyaku T, Takeyabu T, Tanino Y, Yamaguchi E, Miyamoto K, and Nishimura M.	Increased levels of interleukin-8 in BAL fluid from smokers susceptible to pulmonary emphysema.	Thorax 57: 405-411, 2002
Betsuyaku T, Takeyabu K, Tanino M, Nishimura M.	Role of secretory leukocyte protease inhibitor in the development of subclinical emphysema.	Eur Respir J 19: 1051-1057, 2002
Saito H, Nishimura M, Shibuya E, Makita H, Tsujino I, Miyamoto K, Kawakami Y	Tissue hypoxia in sleep apnea syndrome assessed by uric acid and adenosine.	Chest 122: 1686-94,2002
Iioka Y, Tatsumi K., Sugito, Moriya T, Kuriyama T.	Effects of insulin-like growth factor on weight gain in chronic hypoxic rats.	J Cardiovasc Pharm 39: 636-642, 2002.
Iioka Y, Tatsumi K, Sugito K, Moriya T, Kuriyama T.	Effect of insulin-like growth factor on nitrogen balance during hypoxic exposure.	Eur Resp J. 20: 293-299, 2002
Sakao S, Tatsumi K, Igari H., Watanabe R, Shino Y, Shirasawa H, Kuriyama T.	Association of tumor necrosis factor- α gene promoter polymorphism with low attenuation areas on high-resolution CT in patients with COPD.	Chest 122: 416-420, 2002.

Suzuki Y, Shimazu T, Sakai H, Tamaki M., Koizumi K, Kuriyama T , Tsuchida E, Koseki H, Shirasawa, T.	Model mice for Presbyterian hemoglobinopathy (Asn ^{β108} →Lys) confer hemolytic anemia with altered oxygen affinity and instability of Hb.	BBRC 295: 869-876, 2002.
Tatsumi K, Takiguchi Y, Tanabe N, Uruma T, Igari H, Kurosu K, Kasahara Y, Kuriyama T .	Effects of long-term oxygen therapy on HRQoL.	Proceedings of the 7 th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology. (K.T. Luh ed), Monduzzi Editore, Bologna, Italy pp 61-63, 2002.
田辺信宏、岡田修、吉見誠至、笠原靖紀、潤間隆宏、巽浩一郎、栗山喬之	慢性血栓塞栓性肺高血圧症の長期予後およびQOLについて—末梢および中枢血栓例の比較—.	臨床呼吸生理 34: 23-26, 2002.
栗山喬之	「呼吸不全」研究の展望.	HOME CARE TODAY 6: 1-2.2002
笠原靖紀、田辺信宏、栗山喬之	血管新生とアポトーシス.	The LUNG perspectives 10: 332-337.2002
笠原靖紀、巽浩一郎、栗山喬之	肺気腫とアポトーシス.	現代医療 34: 2155-2160. 2002
Akashiba T , Kawahara S, Kosaka N	Diurnal hypercapnia in patients with obstructive sleep apnea syndrome.	Chest 122: 1101, 2002
Akashiba T , Kawahara S, Akahoshi T	Relationship between quality of life (QOL) and mood or depression in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome.	Chest 122: 861-865, 2002
Akashiba T , Kawahara S, Kosaka N	Determinants of chronic hypercapnia in Japanese men with obstructive sleep apnea syndrome.	Chest 121: 415-421,2002
鈴木良一、赤柴恒人、斉藤修、堀江孝至	睡眠時無呼吸症候群のリスクファクターに関する研究—簡易診断機器を用いた多数例の検討—.	日本呼吸器学会雑誌 40: 653-659, 2002

Akashiba T, Kosaka N, Yamamoto H	Optimal continuous positive airway pressure in patients with obstructive sleep apnoea: Role of craniofacial structure.	Respiratory Medicine 95: 393-397, 2001
Oga T, Nishimura K, Tsukino M, Sato S, Hajiro T, Ikeda A, Mishima M.	Health status measured with the CRQ does not predict mortality in COPD	Eur Respir J. 20(5): 1147-1151, 2002.
Oga T, Nishimura K, Tsukino M, Hajiro T, Ikeda A, Mishima M.	Relationship between different indices of exercise capacity and clinical measures in patients with chronic obstructive pulmonary disease.	Heart Lung 31(5): 374-381, 2002.
Shimizu K, Chin K, Nakamura T, Nohara R, Nakao K, Mishima M, Ohi M.	Plasma leptin levels and cardiac sympathetic function in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome.	Thorax 57: 429-434,2002
Chin K, Nakamura T, Takahashi K, Sumi K, Ogawa Y, Masuzaki H, Muro S, Hattori N, Matsumoto H, Niimi A, Chiba T, Nakao K, Mishima M, Ohi M, Nakamura T.	Effects of obstructive sleep apnea syndrome on amino-transferase levels in obese subjects.	Am J Med (in press)
三嶋理晃	COPDの診断：画像診断。-CT検査の有用性-	治療 84(9): 61-65, 2002.
三嶋理晃	胸部CTを用いたCOPDにおける気道病変の評価。	最新医学 57(10): 36-42, 2002.
陳和夫	肥満と睡眠時呼吸障害	睡眠呼吸障害 Update エビデンス・課題・展望. 山城義広, 井上雄一編, 日本評論社, 東京, pp93-100, 2002