

モグラフィ法を用いて呼気終末肺容量 (EELV)、最大吸気量(IC)を測定し、過呼吸に伴うEELVの増加、ICの減少量を動的肺過膨張の指標とした。さらにプロカテロール20 $\mu$ g吸入30分後あるいはオキシトロピウム0.2mg吸入1時間後に再度測定を行った。また、18名においてO'Donnellらの方法に準じて、エルゴメーターによる運動前後のIC測定をおこない、体プレチスモグラフィ法と比較した。COPD患者においては過呼吸あるいは運動負荷に伴いEELVの増加およびICの減少がみられ、動的肺過膨張が生じていることを確認したが、両方法との間には有意な相関はみられなかった。この動的肺過膨張は $\beta$ 2刺激薬吸入で有意に抑制されたが、抗コリン薬吸入ではbaselineからICの有意な増加を来したものの、過呼吸に伴うICの減少は抑制されず、動的肺過膨張を抑制出来なかった。これは抗コリン薬と比較して $\beta$ 2刺激薬がより末梢の気道を拡張させる作用に起因するものと思われた。

3) わが国を含め、世界的に COPD の有病率は増加しており、2020 年には死因の上位に位置することが示唆されている。COPD あるいは肺気腫の早期発見、禁煙指導が急務とされる。COPD の診断としてはスパイロメトリーがゴールドスタンダードであるが、肺気腫の早期診断には胸部 HRCT が最も優れている。わが国は低 X 線量スクリーニング CT を用いた肺癌検診や人間ドック、検診が最も普及している国である。そこでこの低 X 線量スクリーニング CT と low attenuation area (LAA) の解析ソフトを用いてどこまで気腫性病変を検出し得るかを検討した。2003 年 2 月 1 日から 2004 年 12 月 20 日までに安曇総合病院健康管理科の健康診断を受診した男性 1269 名、女性 823 名を対象とした。CT 装置は multislice CT (東芝製 Asteion multi) を用い、低 X 線量 CT 撮影条件、8mm スライスでおこなった。気腫性病変の定量的評価は-960HU 以下の肺野面積の割合 (LAA%) を求め、上、中、下肺野の最大値が 30%以上を肺気腫ありと判断した。また、視覚的評価もおこない LAA $\geq$ 5%で肺気腫ありと判断した。LAA $\geq$ 30%を示した者は 117 名 (5.6%) で、visual score 陽性者数は 228 名 (10.9%) であった。内、小葉中心性肺気腫 (CLE) が 116 名、傍中隔性肺気腫 (PSE) が 76 名、混在型が 27 名であった。Visual score 陽性で、且つ LAA $\geq$ 30%を示した者は 54 名と低く、逆に visual score 陰性で LAA $\geq$ 30%を示した者は 63 名であった。LAA $\geq$ 30%は sensitivity が 23.7%、specificity は 96.6%という結果であった。気管支拡張薬吸入後のスパイロメトリーで COPD と診断されたのは 44 名で、内 26 名が visual score 陽性であったが、visual score 陰性者のうち 7 名は LAA%が 30%以上を示した。COPD の診断に対する LAA $\geq$ 30%の感度と特異度は 57%、96%で、visual score のそれは 59%、90%で、さらにその両者のどちらかが陽性であった場合には 75%、86%と感度の上昇を認めた。以上より、LAA $\geq$ 30%の感度は低く、今後同一患者において HRCT を施行し、比較検討する必要がある。

4) COPD の気道炎症惹起、気道粘液過剰産生や杯細胞過形成において IL-13 が重要な役割を果たしていることが示唆されている。以前に、我々は COPD の気道上皮杯細胞過形成に CLCA1 遺伝子の発現が関与していることを報告した。今回我々は培養正常ヒト気道上皮細胞において、IL-13 刺激が MUC5AC と共に CLCA1

発現の inducer となり、杯細胞過形成に関与するかを検討した。肺葉切除を受けた患者切除肺から得られたヒト正常気道上皮細胞を気相培養し、recombinant human IL-13 で刺激をおこない、MUC5AC と hCLCA1 の遺伝子および蛋白発現の有無と、培養細胞の杯細胞化生について組織学的検討をおこなった。至適濃度下で IL-13 の単独刺激によりヒト正常気道上皮細胞は杯細胞過形成を起こし、MUC5AC 発現に遅れて hCLCA1 遺伝子および蛋白発現を誘導することが確認された。MUC5AC および hCLCA1 蛋白発現は PAS 陽性細胞、すなわち杯細胞に一致してみられた。以上より、IL-13 刺激により粘液細胞の過形成が発現し、この過形成を起こした粘液産生細胞において MUC5AC および hCLCA1 の発現がみられること、またその発現時期に相違があることが判明した。

5) 肺リンパ脈管筋腫症 (pulmonary lymphangiomyomatosis, LAM) は妊娠可能年齢の女性に好発する稀な疾患で、平滑筋様細胞 (LAM 細胞) が肺やリンパ管等で増殖し、肺では多発性のう胞を発生させる。自然気胸を反復することが多く、進行すると呼吸不全に陥るが、現在のところ有効な治療法は確立されていない。本邦においても肺移植適応疾患の一つとして LAM に対する認識が高まってきているものの、LAM の実態は不明であり、全国的・体系的な調査研究が待たれている。このような現状を踏まえ、LAM が今年度から厚生労働省、特定疾患対策研究事業の難治性疾患克服研究事業の対象疾患に指定され、呼吸不全に関する調査研究班において平成 15 年 5 月より LAM の全国疫学調査を開始した。本報告では平成 15 年 12 月現在での中間集計と今後の課題について検討を行った。平成 15 年 5 月 15 日付けで全国 200 床以上の 1882 病院 (精神病院を除く) に葉書による一次調査を行った。平成 15 年 8 月までに回答のあった 747 施設中、LAM 患者の診察歴があり、より詳細なアンケート調査が可能と返答のあった 144 施設を対象に二次調査を行ない、平成 15 年 12 月 8 日までに 69 施設 (48%) より 142 症例 (重複を除く) の回答が寄せられた。うち病理診断の得られている 118 症例を対象とし、sporadic LAM (101 例) と TSC-LAM (17 例) に分け、それぞれについて調査票の各事項についての集計を行った。30 歳前後を中心とした女性に発症し、進行する呼吸不全により発症から平均 8.6 年で半数に酸素療法が必要となる現状などが明らかとなった。今後、初発症状や呼吸機能検査所見など予想される予後因子の検討、ホルモン療法や気胸に対する治療と予後との関係、急速に進行する症例と比較的安定した症例の有無、またそれに関連する因子について検討を加えたい。

6) 閉塞性睡眠時無呼吸症候群 (OSAS) と生活習慣病とは密接な関係にあると報告されている。そこで、今回一泊人間ドックを受診した男性に簡易型睡眠ポリソムノグラフ検査 (Portable II) を行い、受診者中の Sleep disordered breathing (SDB) の有症率を調査し、人間ドックで取り上げられる高血圧、高脂血症、肝障害、耐糖能異常といった生活習慣病との関連につき検討をおこなった。平成 13 年 12 月 20 日から平成 14 年 6 月 20 日に一泊人間ドックを受けた男性 824 人から無作為に抽出した 30 歳から 76 歳の 207 人を対象とし調査した。AHI の重症度分布は正常群 (AHI<5) 48 人 (23%)、軽症群 ( $5 \leq \text{AHI} < 15$ ) 100 人 (48%)、中等症

( $15 \leq \text{AHI} < 30$ ) 45 人 (22%)、重症群 ( $30 \leq \text{AHI}$ ) 14 人 (7%) であった。中等症以上の SDB では BMI  $\geq 25$  の肥満、高血圧および高コレステロール血症の有病率は正常群に比べ、有意に頻度が高かった。また、収縮期・拡張期血圧、血中コレステロール値、空腹時血糖、HbA1c の値は正常群に比し、有意に高値であった。SDB は本邦でも高い有病率を示し、本邦の SDB には肥満以外の要素の関与が考えられた。SDB が重症化するにつれて高血圧をはじめ高コレステロール血症、耐糖能異常など生活習慣病と大きな関わりをもつことが考えられた。

#### A. 研究目的

1) COPD は呼吸細気管支より末梢気管腔の破壊による気腫病変と細気管支および中枢側の気道病変を併せ持つ疾患と考えられており、均一の疾患ではなく気腫性病変・気道病変が様々に絡み合い多様な病態を形成している。近年胸部 X 線 CT の精度が向上し HRCT では早期の肺気腫を捕らえることができるようになった。また HRCT により気管支壁肥厚・拡張等の気道病変の評価も可能となった。我々は昨年度より、胸部 HRCT 画像所見より COPD 患者を①気腫性病変がない群 (気道病変型と呼ぶ) ②気管支拡張や気管支壁肥厚といった気道病変がなく、気腫性病変のみを示す群 (肺気腫型と呼ぶ)、③気管支拡張や気管支壁肥厚といった気道病変と気腫性病変を併せ持つ群 (混合型とする呼ぶ)、④気腫性病変に肺野の線維化を伴う群 (線維症合併型と呼ぶ) の 4 つの subtype に分け、臨床的特徴につき検討してきたが、今回はこの 2 年度のまとめとして報告する。

2) COPD は、気管支拡張薬によって完全に可逆性でない進行性の気道閉塞を有する疾患と特徴付けられている。COPD 患者ではしばしば労作時の息切れのために Quality of life が障害される。COPD 患者における運動時の息切れの原因は多元的で、労作時の呼吸困難の程度や運動耐容能動を安静時の

肺機能検査から完全に推測する事は困難と言われているが、重要な要因の一つとして動的肺過膨張が関与していることはすでに明らかであり、O' Donnell らはその評価に最大吸気量を用いている。我々は昨年度より動的肺過膨張の評価に体プレチスモグラフィ法を用いた過呼吸法が有効であることを報告してきた。今回は O' Donnell らの方法と我々の方法を比較すると共に、動的肺過膨張に対する短時間作動型吸入  $\beta 2$  刺激薬および吸入抗コリン薬の効果について検討した。

3) わが国を含め、世界的に COPD の有病率は増加しており、2020 年には死因の上位に位置することが示唆されている。現時点では、禁煙のみが唯一 COPD への進展、進行を阻止することが可能である。しかしながら、相変わらず喫煙率は高く、禁煙活動も効を奏してはいないが、何とか COPD の早期あるいは前段階で発見し、積極的に禁煙を指導することが、COPD の重症化を阻止する方法と考えられる。COPD の診断としてはスパイロメトリーがゴールドスタンダードであるが、肺気腫の早期診断には胸部 HRCT が最も優れている。わが国はこの CT を用いた肺癌検診や人間ドック、検診が最も普及している国である。しかし、検診で使用されている CT は低 X 線量スクリーニング CT であり、肺気腫病変の検出に

は HRCT より劣ることは明らかであるが、どの程度感度、特異性があるかは十分に検討されていない。また、膨大な検診データを視覚的に1つ1つ評価することは不可能であり、コンピューターソフトによる自動解析が望ましい。そこで本研究の目的は、低 X 線量スクリーニング CT を用いて胸部 CT 画像の視覚的評価と low attenuation area (LAA) の解析ソフトを用いた気腫性変化の評価を比較し、その有用性を明らかにすることである。

4) 気道上皮は気管・気管支内腔と気道との間に存在する多種類の細胞で構成される組織であり、気道表面の水分量や粘液成分の調節、粘液分泌および線毛運動からなる気道クリアランスによって外界からの病原体や煙草などの有害物質に対するバリアーとして重要な生体防御システムを形成している。気道粘液過剰産生は気道のクリアランスを悪化させ、換気およびガス交換障害をきたし、COPD や気管支喘息患者においては生命に関わる重症病態を招来しうるが、近年これら疾患の炎症惹起、気道粘液過剰産生や杯細胞過形成において IL-13 が重要な役割を果たしていることが報告されている。気道粘液の蛋白成分は主にムチンという糖蛋白であり、現在までに 16 のヒトの気道に発現しているムチンが報告されている。この中でも MUC5AC 遺伝子はヒト気道上皮におけるムチン産生に重要であり、COPD や気管支喘息の気道上皮において発現量は増加していると報告されている。一方、Cystic fibrosis の粘液過剰産生に関する研究から気道上皮の Cl<sup>-</sup>チャンネルを介した Cl<sup>-</sup>のトランスポートを制御する蛋白である Ca<sup>2+</sup> activated chloride channel (CLCA)

family の気道粘液過剰産生における役割が注目されている。この CLCA ファミリーの一つである CLCA1 は気道過敏性亢進、気道粘液過剰産生に密接に関与している可能性が示唆されており、我々はこれまでにこの CLCA1 が COPD 患者の気道上皮に発現していることを誘発喀痰および手術摘出肺標本を用いて示してきた。今回我々は培養正常ヒト気道上皮細胞において、IL-13 刺激が CLCA1 発現の inducer となり、MUC5AC と共に杯細胞過形成に関与するかどうかを検討することが目的である。

5) 肺リンパ脈管筋腫症 (pulmonary lymphangiomyomatosis, LAM) は妊娠可能年齢の女性に好発する稀な疾患で、平滑筋様細胞 (LAM 細胞) が肺やリンパ管等で増殖し、肺では多発性のこの胞を発生させる。自然気胸を反復することが多く、進行すると呼吸不全に陥るが、現在のところ有効な治療法は確立されていない。最近の研究により、LAM は TSC 遺伝子という癌抑制遺伝子の異常により発生することが明らかとなり、病態の解明や治療法の開発を目指して世界的に研究がなされている。本邦においても肺移植適応疾患の一つとして LAM に対する認識が高まってきているものの、LAM の実態は不明であり、全国的・体系的な調査研究が待たれている。このような現状を踏まえ、LAM が今年度から厚生労働省、特定疾患対策研究事業の難治性疾患克服研究事業の対象疾患に指定され、呼吸不全に関する調査研究班において平成 15 年 5 月より LAM の全国疫学調査を開始した。本報告では平成 15 年 12 月現在での中間集計と今後の課題について検討を行った。

6) 睡眠呼吸障害(Sleep Disordered Breathing, SDB)あるいは昼間の眠気を伴う自覚症状のある睡眠時無呼吸症候群(Sleep Apnea Syndrome, SAS)は一般に男性で4%、女性で2%にみられると言われている。最近では労働中の事故などにも関連するケースが取り上げられるようになり、社会的にも問題が生じてきている。自覚症状に乏しく家族からの指摘で受診し検査を受ける場合が多く、実際の有病率はもっと高いと考えられる。また、閉塞性睡眠時無呼吸症候群(OSAS)と生活習慣病とは密接な関係にあると報告されている。そこで、今回一泊人間ドックを受診した男性に簡易型睡眠ポリソムノグラフ検査を行い受診者中のSDBの有症率を調査し、人間ドックで取り上げられる高血圧、高脂血症、肝障害、耐糖能異常といった生活習慣病との関連につき検討したので報告する。

## B. 研究方法

### 〔対象〕

1) 症状安定期において気管支拡張薬吸入後の1秒率( $FEV_1/FVC$ )が70%以下のCOPD患者を対象とした。著しい胸膜肥厚・胸郭形成術施行など明らかな呼吸機能障害を来すほどの陳旧性肺結核病変を有している肺結核後遺症やびまん性汎細気管支炎、気管支拡張症など、明らかなCOPD以外の閉塞性肺疾患は除外している。病歴その他から明らかに喘息のみと思われる症例は除外しているが、喘息様症状のあるものや、喘息合併例については含めて解析をおこなった。研究分担者から送付されたCOPD個人調査票219例の内これらの条件を満たし、かつHRCT画像のある168名を対象とした。

2) 当科通院中の症状安定期のCOPD患者38名を対象とし、胸部画像および呼吸機能で異常を認めず、喘息・アレルギーの既往のない健常人20名(うち喫煙者(SM)9名、健常非喫煙者(non-SM)11名)を対照とした。COPD患者は全例①年齢>50、②20packyear以上の喫煙歴を有し、気管支拡張薬投与後の $FEV_{1.0}/FVC < 70\%$ を満たすものとした。除外条件としては、肺機能測定に影響を与える他の活動性心・肺疾患や胸郭変形を有するもの、過去3ヶ月以内に急性増悪あるいはcorticosteroidsの全身投与を受けた患者(ただし、喘息性背景を有するものも含む。)は除外した。COPD患者の内訳は、軽症から中等症( $50 \leq FEV_1\%pred.$ )が25名、重症( $35 \leq FEV_1\%pred. < 50$ )が6名、最重症( $FEV_1\%pred. < 35$ )が7名であった。

3) 2003年2月1日から2004年12月20日までに安曇総合病院健康管理科の健康診断を受診した方を対象とした。胸部CTはオプションであり、患者の自由意志により胸部CTを受診するか判断させ、受診者すべてに対して呼吸機能検査を追加した。受診者に対する質問事項は生活スタイル、呼吸器疾患の有無(咳、痰、呼吸困難)、喫煙歴、既往歴などであり、すべて自己申告の形式をとった。呼吸器疾患の質問事項に関しては以下のとおりである。①呼吸器症状の頻度(なし、ときどき、いつも)、②その期間(1週間以内、1ヶ月以内、3ヶ月以上)、③症状の状態(進行、不変)とに分けた。なお、気管支喘息の既往、高度の閉塞性肺疾患を有する気管支拡張症、びまん性汎細気管支炎、肺結核後遺症はこの検討からすべて除外した。

4) 肺癌などの診断の下、肺葉切除を受けた患者切除肺から区域～亜区域気管支を採取し、0.1%プロテアーゼ (Dispase®, GIBCO) 処理を行い気道上皮細胞を得た。この気道上皮細胞採取に当たっては末梢発生の肺癌症例を選択するなど、異常細胞の混入の無いよう心がけた。尚、手術検体からのヒト正常気道上皮採取・培養および体細胞遺伝子解析に関しては信州大学医学部倫理委員会、遺伝子倫理委員会の承認を受け、文書で同意を得た上で行った。

5) 平成 15 年 5 月 15 日付けで全国 200 床以上の 1882 病院 (精神病院を除く) に葉書による一次調査を行った。平成 15 年 8 月までに回答のあった 747 施設中、LAM 患者の診察歴があり、より詳細なアンケート調査が可能と返答のあった 144 施設を対象に二次調査を行った (信州大学医学部倫理委員会承認、受付番号 416)。平成 15 年 12 月 8 日までに 69 施設 (48%) より 142 症例 (重複を除く) の回答が寄せられた。うち病理診断の得られている 118 症例を今回の対象とした。

6) 平成 13 年 12 月 20 日から平成 14 年 6 月 20 日に一泊人間ドックを受けた男性 824 人から無作為に抽出した 30 歳から 76 歳の 207 人を対象とし調査した。

#### [方法]

1) 気腫性病変については、Goddard の評価法<sup>1)</sup>に基づいて左右それぞれ上・中・下肺野の計 6 部位について視覚的に各肺野の肺気腫病変の程度を 5 段階に分類、それらを合計することにより Grade 0 から 4 の 5 段階に分類した。気道病変についても Bhalla

system に基づいて気管支壁肥厚・拡張を視覚的に評価し、Grade 0 から 2 の 3 段階に分類した。これらの分類をもとに COPD 患者を①気腫性病変がない気道病変型 (気道病変の有無は問わない) ②気管支拡張や気管支壁肥厚といった気道病変がなく、気腫性病変のみを示す肺気腫型、③気管支拡張や気管支壁肥厚といった気道病変と気腫性病変を併せ持つ混合型、④気腫性病変に肺野の線維化を伴う群 (線維症合併型と呼ぶ) の 4 つの subtype に分けた。COPD 調査票には、年齢、性別、出現年齢、診断時年齢、合併症 (慢性副鼻腔炎、喘息)、既往歴 (慢性副鼻腔炎・喘息・小児喘息・アレルギー性鼻炎)、喫煙歴 (喫煙開始年齢・喫煙本数・喫煙期間・Brinkmann Index・断煙歴)、症状 (喀痰・咳嗽・息切れ・喘鳴)、症状増悪 (定期外受診) の頻度、入院を要した症状増悪の頻度、血清学的特徴 ( $\alpha$ 1-antitrypsin・白血球数・CRP・好酸球数・好酸球比率・IgE・特異的 IgE)、身長、体重、Body Mass Index、安定期肺機能 (%VC・FEV1・%FEV1・FEV1%・%DLco・DLco・%RV)、気管支拡張剤吸入に対する反応性 ( $\Delta$ FEV1・% $\Delta$ FEV1・ $\Delta$ FVC・% $\Delta$ FVC)、ステロイド治療に対する反応性 ( $\Delta$ FEV1・% $\Delta$ FEV1・ $\Delta$ FVC・% $\Delta$ FVC)、1 秒量の経年変化 ( $\Delta$ FEV1/ml/year)、誘発喀痰検査 (Total cell・Macrophage・Lymphocyte・Neutrophil・Eosinophil)、気腫性病変のタイプ、肺過膨脹所見の有無、心電図上右室負荷所見の有無、下肢浮腫の有無、在宅酸素療法施行の有無、Lung volume reduction surgery 施行の有無の各項目があり、各研究分担者によって記入された。我々は COPD 調査票に基づき、上記の 4 つの subtype で各項目について検討した。

2) 検査前12時間以内の抗コリン薬、 $\beta 2$  刺激薬の吸入および内服は中止させた。対象者全例にまず、スパイロメトリー、プレチスモグラフィ、DLco測定を行った。マウスピース、鼻クリップを着用し、FEV1、FVCはスパイロメーター (CHEST 製 Chestac-65V)、機能的残気量は He ガス希釈法、DLcoは一回呼吸法(それぞれ CHEST 製 Chestac-55V)および Body Box 法 (Med Graphics TM Body Plethysmography system 1085)をそれぞれ用いて測定した。

**I. 過呼吸法による動的肺過膨張の測定:** Body Box 内でメトロノームに合わせ、20回/分の呼吸を30秒間行い、体プレチスモグラフィ法を用いて呼気終末肺容量 (EELV)、最大吸気量 (IC)、予備呼気量 (ERV)を測定した。30回/分、40回/分の過呼吸条件でも同様の測定を行い、過呼吸に伴う IC の減少量 ( $\Delta$ IC) を動的肺過膨張の指標とした。

**II. エルゴメーターによる動的肺過膨張の測定:** COPD 患者のうち了解を得られた 18 名では、上記による体プレチスモグラフィ法での動的肺過膨張測定と同日に、エルゴメーターによる運動負荷前後での IC 測定を行った。エルゴメーター上で鼻クリップ、マウスピースを着用しスパイロメーターを用いて IC を含む各肺気量分画を測定後、鼻クリップ、マウスピースを外して 20W の運動を 5 分間行った直後に、次いで 40W を 5 分間行った直後に、運動前と同様に各肺気量分画を測定した。また、検査前および開始後から終了時まで 1 分間ごとに SpO<sub>2</sub>、脈拍数、息切れの自覚症状 (Borg スケール) を記録した。

**III. 短時間作動型吸入  $\beta 2$  刺激薬および吸入抗コリン薬の効果:** 体プレチス

モグラフィ法での動的肺過膨張測定終了後、プロカテロール 20  $\mu$ g を吸入。30 分後に再び 20、30、40 回/分での EELV、IC、ERV を測定した。また、12 名の患者では、別の日のほぼ同時刻に同様の測定を行い、オキシトロピウム 0.2mg を吸入。吸入 1 時間後に再度測定を行った。

**3) I. マルチスライス CT:** CT 装置は multislice CT (東芝製 Asteion multi) を使用した。撮影は、低 X 線量 CT 撮影で、管電圧 120kV、管電流 25mA、コリメーション 8mm、1 回転速度 0.75 秒、4 multi-slice、テーブルスピード 10mm/秒、ピッチ 5.5 で施行した。胸部 CT 画像の読影はフィルムレスのシネモードで 1 名以上の放射線科医ないしは呼吸器科医師により行われ、肺野、気管支、縦隔条件はそれぞれ幅 1000HU、レベル 700HU、幅 1500HU、レベル 550HU、幅 300HU、レベル 20HU に設定した。

**II. Low attenuation area (LAA):** 全撮影スライスから検査部位として上、中、下肺野 (上: 大動脈弓上縁、中: 気管分岐部付近、下: 右横隔膜上 1-3cm 付近) でおこなった。気腫性病変の定量的評価方法として、Sakai らの提唱している LAA%の方法を選択した。肺野面積の CT 閾値以下の部分 (-960HU 以下) の部分を気腫性病変 (LAA) とみなして、その面積の同一スライスの全肺野面積に対する相対値 (LAA%) をとった。本検討では、各スライスの LAA%のうち最大値をその受診者の LAA%として選択し、30%以上を陽性とした。

**III. Visual score:** 視覚的評価法は Goddard らの分類法に基づいた。すなわち、定量的評価部位と同一のスライスを用いて、気腫性病変の程度を次の 5 段階: 0 点; 気腫性病変なし (LAA < 5%)、

1点;5%LAA<25%、2点;25LAA<50%、3点;50%LAA<75%、4点;LAA75%に分類した。本検討では visual score 陽性(1点以上)と陰性(0点)に分けた。また、気腫性病変のCT所見の違いとして、小葉中心性肺気腫(centrilobular emphysema, CLE)、傍壁在性肺気腫(paraseptal emphysema, PSE)、汎小葉性肺気腫(panlobular emphysema, PLE)、さらにそれぞれの混在型に分けた。

**IV. 呼吸機能検査:** 装置はフクダ電子社製 Spiroshift SP-700 を使用し、 $\beta$ 2吸入薬服用後およそ15-45分経過した時点で測定を開始した。VC、FEV1を測定し、%VC、FEV1/FVC、%FEV1は算出した。

**V. COPD criteria:** COPDの診断は臨床症状と GOLDの基準に従いスパイロメトリーの結果に基づき、5つに分類: Stage 0 = at risk (presence of chronic cough and sputum production, FEV1/FVC>70), Stage I = Mild (FEV1/FVC <70, FEV1  $\geq$  80%pred); Stage II = Moderate (FEV1/FVC <70, 50%pred  $\leq$  FEV1<80%pred), Stage III = severe (FEV1/FVC<70, 30%pred  $\leq$  FEV1<50%pred), Stage IV = very severe (FEV1/FVC<70, FEV1 <30%pred)した。なお、GOLD stage 0に分類された方はすべて慢性的な喀痰の喀出を自覚症状に持っていた。

**VI. 統計学的検討:** 本検討では2群間比較をおこない、Fisher's exact probability testを用い、 $p<0.05$ で、有意差ありと判断した。

4) **I. 細胞培養:** ヒト正常気道上皮細胞 (Normal human bronchial epithelial cells (NHBECS))の培養は①細胞増殖、②細胞分化のために各々異なる方法を用いた。①細胞増殖のた

めには組織培養用プレートに type IV コラーゲン(Cellgen®, KOKEN)をコーティングし、培養液として LHC-9®(Biofluid)を用いて液相培養(Submerge(SUB))を行った。継代のための細胞密度は $5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4 / \text{cm}^2$ で行った。②細胞分化のためには 24well 用インサート(Transwell®, Costar)を同様に type IV コラーゲンでコーティングしたのち最初の7日間はインサート上面と底部の 24well マルチウェルプレートの両方に培養液をいれ、8日目以降はインサート上面の培養液を取り去る気相培養(Air-liquid-interface (ALI))を行った。細胞密度は1インサートにつき $1 \times 10^5$ 個で行った。培養液は DMEM (Sigma): Ham's F-12 (Sigma) = 1 : 1 をベースとし、これに EGF (recombinant human EGF, 0.5ng/ml, GIBCO), ITS-A (GIBCO), ECGS (8.34  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , UBI), RA ( $10^{-7}\text{M}$ , Wako), BSA (2.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , ITOHAM FOODS), HC (0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , Wako), T3 (10ng/ml, ICN), Antibiotic-Antimycotic (1%, GIBCO)を添加して用いた。この方法で細胞分化のために必要な培養期間は14~21日であった。また、培地の交換は①および②のSUBは2日に一回、②のALI以降は毎日行った。尚、この細胞取得および細胞増殖・分化の原法は東北大学老年呼吸器科・山谷睦雄先生に御教示いただくと共に、同先生の原著を参照した。

**II. IL-13 刺激:** IL-13(recombinant human IL-13, BIOTEC AG)を $1 \times 10^{-11} \sim 1 \times 10^{-8}\text{M}/\text{ml}$ となるように細胞分化用培養液に添加して Day 8 以降培養終了時まで刺激した。

**III. 細胞解析:** 杯細胞過形成の程度を検討するために、オリンパス社光学顕微鏡(BX-51)、同デジタルカメラ



(DP-70)を用いて、PAS 染色標本において任意に場所を選択し、250  $\mu$ m 範囲の細胞核数を異なる 5 検体で計測した。この総細胞核数に占める PAS 陽性細胞数の割合を計測した。

**IV. RT-PCR** : IL-13 で刺激したヒト正常気道上皮細胞が気道粘液を産生し、hCLCA1 遺伝子を発現することを確認するために、培養した細胞に ISOGEN (Wako) を加え、添付書に従って RNA 抽出・精製を行った。分光光度計を用いて RNA 量を測定した後、100ng の RNA を用いて cDNA を作製した。これに MUC5AC および hCLCA1 プライマーを用いて遺伝子増幅を行った。陽性コントロールとして COPD 患者の誘発喀痰由来の細胞に同様の処理を行って使用した。アニーリング温度はいずれも 60°C、サイクル数 35 サイクルで行った。PCR 産物は 2%アガロースゲルにて泳動し 0.005%エチジウムブロマイド水溶液にて染色した。検出バンドの観察は Printgraph (AE-6905H, ATTO) を用いて行った。また、MUC5AC および hCLCA1 の発現を時系列でみた検討においてはデンシトグラフィー (CS Analyzer Version 2.0, ATTO) を行い、GAPDH に対する各々の遺伝子発現量を解析し検出バンドの定量化を行った。

**V. 免疫染色** : IL-13 で刺激したヒト正常気道上皮細胞が MUC5AC 及び hCLCA1 蛋白を発現していることを確認するために Transwell 上に ALI で培養したヒト正常気道上皮細胞を剪刀で切り出し、20%中性緩衝ホルマリン液で固定した。1%BSA 含有 PBS を用いて抗体を希釈した。細胞標本を抗 MUC5AC マウス抗体 (1:200, NOVOCASTRA) および抗 hCLCA1 ウサギ抗体 (1:200, 武田薬品工業より供与) を用いて 4°C, overnight でインキュベートした。これを PBS で洗浄し、MUC5AC

は 100 倍希釈した anti-Mouse immunogloblins / HRP (DAKO) で、hCLCA1 は 200 倍希釈した anti-Rabbit immunogloblins / HRP (DAKO) を各々を用いて室温で 1 時間インキュベートした。PBS にて洗浄後、この抗体をジアミノベンジン四塩酸塩 (DAB) (Wako) によって発色・可視化し各々の蛋白の発現を観察した。

**VI. 走査型電子顕微鏡** : IL-13 により刺激したヒト正常気道上皮細胞の微細構造を検討するために走査型顕微鏡 JSM-6000F (日本電子) を用いて観察した。詳細は別に譲るが Transwell 上に ALI で培養したヒト正常気道上皮細胞を剪刀で切り出した。グルタルアルデヒド/オスミウムで固定した後脱水し、t-ブチルアルコールに 25°C で一晩浸透した。この検体を凍結乾燥し検鏡した。

5) 二次アンケート協力施設にて、以下に示す内容の LAM 個人調査票に担当医師により記入、返送していただいた。今回の対象 118 例を sporadic LAM (101 例) と TSC-LAM (17 例) に分け、それぞれについて調査票の各事項についての集計を行った。Sporadic LAM の患者を対象に Kaplan-Meier 法を用いて長期予後を算出した。

#### 《LAM 個人調査票》

**I. LAM の診断、治療に関する質問** : 1. LAM の診断 (sporadic LAM / TSC-LAM)、2. LAM の診断根拠、3. LAM 診断の契機となった症状と診断確定時年齢、4. 初発症状と年齢、5. 病理組織学的所見 (①MNPH あるいは MMPH、②HMB-45 免疫染色、③エストロゲンレセプター、④プロゲステロンレセプター)、6. LAM 肺外病変、7. その他の合併症および既往歴など、8. TSC 遺伝子解析、9. 治療歴 (①無治療、②ホルモン治療、

③気管支拡張療法、④ステロイド、⑤気胸に対する治療、⑥その他外科手術、⑦在宅医療、⑧肺移植)、10. 検査結果他お経過(初診時と最新データでの症状、血算・生化学、動脈血ガス、呼吸機能検査)、11. 治療効果、12. 予後

**II. 臨床背景に関連した質問事項:** 1. LAM 診断までの病名、2. 喫煙歴、3. 粉塵吸入歴、4. 職業歴、5. 家族歴、6. 妊娠・出産歴、7. 月経

6) 帝人社製簡易型睡眠ポリグラフ (Portable II) を用い、鼻カヌラを気流のセンサーとして装着し、指に SpO<sub>2</sub> モニターをつけて両者を簡易ポリグラフに接続し、約 8 時間の睡眠をとって、就寝時の無呼吸低呼吸指数 (Apnea Hypopnea Index AHI) と酸素飽和度が 90% 以下となる時間の睡眠時間に対する割合 (CT90) を測定した。AHI による重症度分類を、AHI 5 未満を正常群、5 以上 15 未満を軽症群、15 以上 30 未満を中等症、30 以上を重症群とし、それぞれにつき CT90、body mass index (BMI)、高血圧、高脂血症、肝機能障害、耐糖能異常との関連を比較検討した。今回の調査での高血圧とは高血圧の治療をすでに受けている者、あるいは収縮期血圧が 140mmHg 以上または拡張期血圧が 90mmHg 以上の者とし、高脂血症はコレステロール値が 220mg/dl 以上、または中性脂肪値が 140mg/dl 以上の者とした。肝機能障害については AST40U/l または ALT45U/l 以上とし、耐糖能異常は空腹時血糖 120mg/dl 以上あるいは HbA1c が 5.8% 以上の者とした。

## C. 研究結果

1) 年齢、性別、症状出現年齢については、有意差を認めなかった。Body

Mass Index については、気道病変型において他の群と比較して有意に高値であった。合併症および既往歴については、気道病変型と混合型においてのみ喘息合併が認められた。気道病変型においてアレルギー性鼻炎既往が有意に多く、慢性副鼻腔炎合併についても多い傾向にあった。喫煙歴については、気道病変型は他の群と比較して喫煙歴のない症例が有意に多かった。Brinkmann Index についても低値を示した。混合型に 1 例だけ喫煙歴のない症例があったが、間接喫煙歴は存在した。間接喫煙および粉塵暴露歴については有意差を認めなかった。

症状については、肺気腫型において喀痰、咳嗽、喘鳴のない症例が有意に多かった。気道病変型と混合型において喀痰が有意に多く、この 2 群においてのみ発作性咳嗽を認めた。気道病変型において喘鳴が労作・安静時ともに認める症例が有意に多かった。息切れ (Hugh-Jones 分類) については、混合型および肺線維症合併型において有意に強く、気道病変型において弱かった。

呼吸機能検査に関して、%FEV<sub>1</sub> は気道病変型において高く、混合型に対し有意差が認められた。FEV<sub>1</sub>% については、やはり気道病変型において高く、肺気腫型と混合型に対し有意差が認められた。%RV については、気道病変型において低く、肺気腫型と混合型に対し有意差が認められた。%FRC については、有意差は認められなかったが、気道病変型と線維症合併型において低い傾向にあった。%TLC については、肺気腫型において高く、気道病変型および混合型に対し有意差が認められた。%DLco については、気道病変型において有意に高かった。PaCO<sub>2</sub> については、混合型において高く、肺気腫型

および線維症合併型と有意差が認められた。 $\beta$  2 刺激薬に対する可逆性については、有意差が認められなかったが絶対値を見ると気道病変型において高い傾向にあった。

ステロイド投与による気流制限の可逆性は、線維症合併型において有意に低く、気道病変型および混合型において高い傾向にあった。

誘発喀痰中の細胞分画では、混合型において好酸球の比率が有意に高く、気道病変型も高い傾向にあった。

胸部HRCTにおけるLAAのgradeについては、有意差はないものの線維症合併型にて高値であった。気道病変型と混合型を比較すると混合型の方がより気管支壁肥厚・気管支拡張の程度が強かった。

2) 20, 30, 40 breaths/min での IC の量をそれぞれ IC20, IC30, IC40 (L) と表記する。20 breaths/min に対する 30, 40 breaths/min での IC の増加量を  $\Delta$ IC30,  $\Delta$ IC40 そしてその増加率を % $\Delta$ IC30, % $\Delta$ IC40 と表記する。

**I. 過呼吸法による動的肺過膨張の測定：** COPD 患者において、体プレチスモグラフィ法を用いて 20、30、40 回/分いずれの呼吸数において測定された EELV および IC は、非喫煙および喫煙健常対照群と比較して有意に高値を示した。COPD 患者群および健常喫煙者群 (SM 群) では過呼吸に伴い EELV の有意な上昇および IC の有意な低下が認められ、動的肺過膨張の存在が示された。しかし、健常非喫煙者群 (non-SM 群) では変化なく、動的肺過膨張は認められなかった。COPD 患者群において、20 回/分呼吸での IC 値 (IC20) は、これまでの報告と同様に %1 秒量と有意な正の相関が認められた ( $r=0.61$ ,  $p<0.01$ )。また、COPD 患者群

の過呼吸に伴う IC の変化率 (IC20 からの減少率 : % $\Delta$ IC40) は、DLco と有意な負の相関が認められた。一方、% $\Delta$ IC30 および % $\Delta$ IC40 は、%1 秒量、1 秒率、%FVC、%RV および %TLC とは有意な相関を示さなかった。

**II. エルゴメーターによる運動負荷によって測定された動的肺過膨張との比較：** エルゴメーターによる運動負荷

試験前後での IC を ICergPre、ICergPost と表記する。IC20 と ICergPre の実測値はそれぞれ、 $1.53 \pm 0.08$ 、 $1.95 \pm 0.09$  (平均  $\pm$  SEM) と IC20 の方が低値であるが、両者には相関関係が認められている ( $r=0.64$ ,  $p<0.01$ )。20W の負荷量では有意な差はなかったが、40W の負荷後に IC の有意な低下を認め、動的肺過膨張を示した。この運動負荷による動的肺過膨張の程度、すなわち 40W 運動負荷後の IC 変化量と  $\Delta$ IC30 あるいは  $\Delta$ IC40 との間には有意な相関は得られなかった。変化率についても同様であった。

**III. 短時間作動型吸入  $\beta$  2 刺激薬および吸入抗コリン薬の効果：**  $\beta$  2 刺激薬

であるプロカテロール  $20 \mu\text{g}$  の吸入により、過呼吸に伴う IC の減少は有意に抑制され、有意な動的肺過膨張がみられなくなった。一方、吸入抗コリン薬であるオキシトロピウム  $0.2\text{mg}$  吸入により、IC20 および IC40 は有意に増加を示したが、過呼吸に伴う IC の減少、すなわち動的肺過膨張は抑制されなかった。

3) 男性 1269 名、女性 823 名の平均年齢は  $53.5 \pm 9.9$  歳であった。喫煙歴は、男性 1004 名 (79.1%)、女性 96 名 (11.7%) で、過去喫煙者数は 433 名、現喫煙者数 670 名であった。それぞれの喫煙指数は 23.1 および 30.6 (pack/years) であった。自覚症状

は咳のみが165名、痰のみが202名、咳および痰が328名、呼吸困難が6名であった。自覚症状の無いものが1391名(66.5%)であった。LAA%が30%以上の陽性者数は117名(5.6%)で、男性91名、女性26名、うち喫煙者数は男性69名、女性1名であった。

Visual score 陽性者数は228名

(10.9%)で、男性189名、女性39名、うち喫煙者数は男性174名、女性11名であった。気腫性病変のCT所見は116名がCLE、76名がPSEで、その両者の混在型27名を含めた割合が約96%を占めた。Visual score 陽性で、且つLAA% $\geq$ 30%を示した者は54名と低く、逆にvisual score 陰性で

LAA% $\geq$ 30%を示した者は63名であった。LAA% $\geq$ 30%はsensitivityが23.7%、specificityは96.6%、visual scoreはsensitivityが46.%、specificityは91.2%という結果であった。気管支拡張薬吸入後のスパイロメトリーでCOPDと診断されたのは44名で、内GOLD stage Iが21名(男性17名、女性4名)、stage IIが21名(男性18名、女性3名)、stage IIIが2名

(全例男性)で、増悪する呼吸困難を自覚症状に有していた。呼吸器症状を有する701名のうち534名は粘調痰の喀出を自覚し、77名(14.4%)が慢性的に持続する咳および喀痰の症状を有し、stage 0に分類された。男性は60名、女性は17名で平均年齢は55.0歳であった。Stage I以上のCOPDと診断された患者の26名がvisual score 陽性であったが、男性12名、女性6名が胸部CT上異常を認めなかった。しかし、この18名のうち7名はLAA%が30%以上を示した。COPDの診断に対するLAA%30%の感度と特異度は57%、96%で、visual scoreのそれは59%、90%で、さらにその両者のどち

らかが陽性であった場合には75%、86%と感度の上昇を認めた。COPDと診断された患者を除外した呼吸器症状を有する患者群で、LAA%とvisual scoreを検討すると、GOLD stage 0群と呼吸器症状有する群とはLAA%とvisual scoreにより有意差を持って鑑別可能であるが、stage 0に対するそれぞれの感度は9%と23%と低値であった。

#### 4) I. IL-13 刺激による杯細胞過形成

：培養気道上皮細胞におけるIL-13長期間刺激による杯細胞過形成は既報であるが、当施設で行った培養条件では $1 \times 10^{-9}$ M/ml濃度で初めて杯細胞過形成が起こり、 $1 \times 10^{-8}$ M/mlでは上皮細胞の配列の乱れが認められた。このことから、IL-13単独刺激によりヒト正常気道上皮細胞は杯細胞過形成を起こし、それは一定以上の濃度になると発現すること、本培養条件における至適刺激濃度は $1 \times 10^{-9}$ M/mlであることが確認された。また、走査型電子顕微鏡によりIL-13刺激による線毛の変性も確認された。

#### II. IL-13 刺激によるMUC5AC、hCLCA1

遺伝子・蛋白発現：RT-PCRにおいて、IL-13の $1 \times 10^{-9}$ M/ml濃度以上で刺激したヒト正常気道上皮細胞ではMUC5ACの発現と共に、hCLCA1の発現も認められた。また、この発現についてIL-13無刺激およびIL-13の $1 \times 10^{-9}$ M/mlの場合にALI直前をDay 0とし、以後Day1, 2, 4, 7, 14でISOGEN処理を行った検体に対しRT-PCRを行ったところ、MUC5ACの遺伝子発現が先行し、遅れてhCLCA1の発現がみられるという所見が得られた。デンシトグラフを用いたGAPDHに対する検出バンドの定量においても同様の結果が得られた。抗MUC5AC抗体、抗hCLCA1抗体による免

疫染色ではPAS陽性細胞の部分が陽性となった。これらのことから一定濃度以上のIL-13刺激により粘液細胞の過形成が発現し、この過形成を起こした粘液産生細胞においてMUC5ACおよびhCLCA1の発現がみられること、またその発現時期に相違があることが判明した。

5) 1. 性別、症状出現年齢、診断年齢、喫煙歴、妊娠・出産歴、経口避妊薬・エストロゲン製剤の投与歴について：sporadic LAMでは全例が女性、TSC-LAMでは一例を除いて女性であった。症状出現年齢はsporadic LAMでは平均32.4歳、ピークは25～30歳の間にみられ、TSC-LAMでは平均29.3歳、ピークは20～35歳にみられた。診断年齢は前者で平均34.7歳、後者で平均30.5歳であり、症状出現から診断までの期間は前者で平均2.4年、後者で1.3年であった。喫煙歴はsporadic LAM、TSC-LAMとも非喫煙者が多かった。妊娠・出産歴はsporadic LAMの約半数に、TSC-LAMの2割程度にみられた。Sporadic LAMの2人に閉経後の症状出現があり、数人に経口避妊薬またはエストロゲン製剤の使用歴があった。

II. 症状：初発症状は気胸が最も多く、次いで労作時息切れ、胸部異常陰影、胸水の順であった。診断の契機となった症状も同じ傾向がみられたが、TSC-LAMでは気胸に次いで胸部異常陰影が26%と多かった。アンケート協力施設初診時での症状の評価（診断からsporadic LAMで平均1.0±1.7年、TSC-LAMで平均2.3±3.1年）においては、sporadic LAMでの労作時呼吸困難が75%、咳嗽32%、喀痰19%、血痰10%、喘鳴7%で、TSC-LAMでの労作時呼吸困難が73%、咳嗽38%、喀痰

19%、血痰6%、喘鳴19%であった。また、最新の評価（初診時評価からsporadic LAMで平均4±3.9年、TSC-LAMで平均4±3.2年）では、sporadic LAMでの労作時呼吸困難が85%、咳嗽33%、喀痰29%、血痰10%、喘鳴7%で、TSC-LAMでの労作時呼吸困難が90%、咳嗽50%、喀痰25%、血痰15%、喘鳴25%と、特に労作時呼吸困難の頻度が増加しており、咳嗽や喀痰も比較的多くみられる。肺外病変としては、腎血管筋脂肪腫がsporadic LAMの13%、TSC-LAMの88%にみられ、TSC-LAMでは両側性が多かった。腹部または骨盤内のリンパ節腫大はsporadic LAMの25%、TSC-LAMの12%にみられた。乳び腹水はsporadic LAMの3%、乳び胸水はsporadic LAMの9%、TSC-LAMの6%にみられた。

III. 病理組織学的所見：MNPHあるいはMMPH (Multifocal micronodular pneumocyte hyperplasia) の合併率はTSC-LAMで高かった。Sporadic LAMではHMB-45免疫染色陽性が7割程度、エストロゲンレセプターが4割、プロゲステロンレセプターが6割程度にみられたが、それに比べてTSC-LAMでは特にエストロゲンレセプターが低めの割合であった。

IV. 検査結果：sporadic LAMについて示した。動脈血ガスでは、経過中pHが低下、PaCO<sub>2</sub>が増加する傾向がみられた。低酸素血症(PaO<sub>2</sub><80Torr)は初回検査で6割にみられ、さらに経過中酸素吸入のある患者の割合が増加している。呼吸機能検査では、%VC、%FEV<sub>1.0</sub>、FEV<sub>1.0</sub>/FVCの低下傾向がみられ、特に閉塞性障害(FEV<sub>1.0</sub>/FVC<70%)は最終検査で6割以上に認めた。肺拡散能の低下(%DLco<80%)は初回検査で9割程度にみられ、%DLco、DLco/VAの値は経過中さら

に低下傾向がみられた。全肺気量については、洗い出し法では肺の過膨張と拘束性障害の両方の症例がみられる一方で、ボディーボックス法では TLC の増加が著明で、最終検査で7割程度に肺の過膨張(%TLC>120%)を認めた。残気量、残気率においても、ボディーボックス法にて高い値を示した。

**V. ホルモン治療：**抗 Gn-RH、プロゲステロン、タモキシフェンによる抗エストロゲン療法と外科的卵巣摘出術があり、上記中からの単独の治療と併用とがみられた。全患者中ホルモン治療を受けた患者は sporadic LAM で 57%、TSC-LAM で 47%、1 人あたりの平均治療回数は sporadic LAM で  $1.4 \pm 0.8$  回、TSC-LAM で  $2 \pm 1.3$  回であった。

**VI. 気胸に対する治療：**全経過で気胸を発症した症例は sporadic LAM の 73%、TSC-LAM の 71%であり、1 人あたりの平均治療回数は sporadic LAM で  $4.1 \pm 2.4$  回、TSC-LAM で  $5 \pm 3.9$  回であった。LAM 診断時以降に始めて気胸を発症した症例は sporadic LAM の 22%、TSC-LAM の 12%であった。

**VII. 在宅医療：**sporadic LAM の 36%、TSC-LAM の 41%で在宅酸素療法が行われていた。

**VIII. 肺移植：**回答のあった症例のうち、肺移植を考慮している症例は sporadic LAM で 11%、TSC-LAM では 0%であった。移植後の症例は回答のあった症例中 sporadic LAM の 1 例のみであった。

**IX. 長期予後：**sporadic LAM について示した。症状発現から最終生存確認（打ち切り）または死亡までの follow-up 期間は、全患者 (n=95) で  $6.9 \pm 5.4$  (0-23) 年（平均±SD、範囲）、生存患者 (n=76) で  $6.8 \pm 5.6$  (0-23) 年、死亡患者 (n=19) で  $7.4 \pm 4.9$  (1-21) 年であった。Kaplan-Meier 法による生存

曲線によると、予測生存率は 5 年後 88%、10 年後 73%、15 年後 59%であった。

6) 一泊人間ドック受診者の年齢分布と AHI 5 以上の SDB の割合は 30 代で 15 人中 6 人 (40%)、40 代で 59 人中 44 人 (75%)、50 代で 86 人中 66 人 (77%)、60 代で 41 人中 36 人 (88%)、70 代で 7 人中 7 人 (100%) であり年齢が上がるにつれその頻度も高くなった。そして、AHI の重症度分布は正常群 48 人 (23%)、軽症群 100 人 (48%)、中等症 45 人 (22%)、重症群 14 人 (7%) であった。今回は中等症、重症群をまとめ中等重症群とし、正常群・軽症群と比較した。AHI の重症度と CT90 については正常群と中等症以上の群とに CT90 が 5%以上となる頻度に有意差がみられた。しかし、BMI については 25%以上となる頻度に有意差が認められなかった。高血圧については治療群と収縮期圧 140mmHg 以上、拡張期圧 90mmHg 以上を高血圧とし、その合併頻度とそれぞれの値につき比較した。中等症以上の群において、有病率は正常群に比べ有意に頻度が高かった (12.5% vs. 33.9%)。また、収縮期および拡張期血圧は正常群に比し、有意に高値であった (収縮期血圧 :  $113.2$  vs.  $120.4$  mmHg, 拡張期血圧 :  $73.8$  vs.  $79.0$  mmHg)。糖尿病および耐糖能異常 (75gOGTT で 2 時間後の血糖が 200mg/dl 以上) の有病率は SDB 群で頻度が高い傾向にあったが、有意な差を認めなかった (糖尿病 : 6.3 vs. 11.9%, 耐糖能異常 : 21.0 vs. 37.0%)。しかし、空腹時血糖および HbA1c の値は中等症以上の群で有意な高値を示した (FBS :  $98.9$  vs.  $102.6$  mg/dl, 5.0 vs. 5.2 %)。肝機能障害については AST40U/l、ALT45U/l 以上を肝機能障害として比較した。肝機能障害の有病率

は中等症以上のSDB群で多い傾向にあったが有意な差を認めず(8.3 vs. 20.3%)、また値の平均も正常群と中等症以上の群では有意差が認められなかったが(AST: 24.2 vs. 27.0 U/L, ALT: 26.7 vs. 30.1 U/L)、軽症群と中等症以上の群で有意差が認められた(AST: 24.8 vs. 27.0 U/L, ALT: 26.1 vs. 30.1 U/L)。腹部超音波で検出された脂肪肝につき合併率を比較したがAHIの重症度と脂肪肝の合併については有意差は認められなかった。高脂血症については治療群と総コレステロール値 220mg/dl、中性脂肪値 140mg/dl 以上を高脂血症とし比較した。高コレステロール血症の有病率(29.2 vs. 50.8%) および平均値(206.9 vs. 217.2 mg/dl) 共に、正常群と比較し有意に中等症以上の群で高値を示したが、中性脂肪に関しては有意な差は認められなかった。

#### D. 考察

1) COPDは呼吸細気管支より末梢気管腔の破壊による気腫性病変と細気管支および中枢側の気道病変を併せ持つ疾患と考えられており、均一の疾患ではなく気腫性病変・気道病変が様々な絡み合い多様な病態を形成している。したがってCOPDと一括するよりは可能な限り病型を分けて分類することが将来の研究の方向付けに有用である。今回我々は4つのsubtypeに分け検討したところ気腫性病変のない気道病変型のCOPDが17.3%、気道病変および気腫性病変の両方を有する混合型のCOPDは25.6%に認められた。これら2群において喀痰、発作性咳嗽が有意に多く認められ、気道病変が主体のCOPDあるいは中枢気道病変を有するCOPDにおいてこれらの呼吸器症状が強いと言えそうである。またステロ

イドに対する反応性が高い傾向にあること、喀痰中の好酸球の増加が認められることもこれら2群における共通点であり、喘息に類似した特徴を有している可能性が示唆された。一般的にCOPDは好中球性の気道炎症、喘息は好酸球性の気道炎症が特徴的とされ、それぞれ病態が明らかに異なり、病理学的にも気道変化の機序の相違が指摘されている。しかしCOPD患者においても喘息ほどでないが、健康人と比較すると喀痰中の好酸球は増加を示す。またCOPD患者において喀痰中の好酸球比率が増加を示す症例ではステロイド治療に対してある程度気流閉塞の可逆性を示すとの報告もあり、必ずしも喘息が合併しているとは断定できない。

肺気腫に線維症を合併するタイプは全例男性で重症の気腫性病変を伴っていた。多くの症例で肺気腫は上肺野優位、肺線維症は下肺野優位で見られた。肺気腫は教科書的には呼吸細気管支より末梢の気腔が拡大し、肺胞壁の破壊を伴うが明らかな線維化は認められない病態と定義されているが、今回168例中7例に線維化の所見を認め、必ずしもこの定義が当てはまらないと言えそうである。Hiwatariらは9例の肺気腫・肺線維症合併例について全例男性で、ヘビースモーカーであったと報告している。今回、我々の検討においても全例男性で、統計学的に有意差は出なかったが、Brinkmann indexは他のsubtypeと比較して高値を示し、症例数が増えると有意差が出る可能性がある。ステロイドに対する反応性が他の群と比較し有意に低かったことの病的意義は不明であるが、可逆性が消失する機序が存在する可能性がある。特発性肺線維症とCOPDは現時点では全く別の病態であると考

えられているが、動物実験ではこれらの疾患の病理学的解析にて共通点があるとの報告がある。肺線維症は肺胞マクロファージの活性化とそれに伴う化学走化性因子の放出によって導かれた好中球浸潤による肺障害および肺胞間質の線維化によって特徴づけられる。一方で肺気腫は喫煙により好中球や肺胞マクロファージが気道や肺胞腔に誘出増加し、これらの蛋白分解酵素によって肺胞破壊が生じるという説が成因の一つとして有力視されており、この両疾患は同様の障害過程を経ている可能性が指摘されている。

気道病変型において他の型と比較して有意にBMIが高いのは、肺気腫病変を生み出すメカニズムと体重減少を生じるメカニズムに共通点がある可能性を示唆している。その一つの可能性としてTNF $\alpha$ を介した変化が考えられる。COPD患者の血液中ではTNF $\alpha$ が増加しており、一方でTNF $\alpha$ は筋芽細胞が活性化され筋繊維に分化するときこれを阻害する。その結果筋肉喪失、ひいては体重減少を来すとされており、肺野病変を有する型においてより高度である可能性が考えられる。今後検討していきたい。

2) COPD患者における息切れの原因は多元的であり、その要因として換気制限、肺循環障害、低酸素血症、筋の萎縮、アシドーシス、動的肺過膨張などが挙げられる。動的肺過膨張の発生は末梢気道における気流閉塞に起因する。労作時の換気要求に対して健常人では一回換気量と呼吸数を増加させ、一回換気量の増加に伴い呼気終末肺気量(EELV)を低下させるように反応するが、COPD患者では気道の機械的刺激受容器

からの感覚入力に反応して呼気時の力学的平衡に達する前に吸気が開始され、逆にEELVの上昇を生じる。また、気流制限が存在するため、呼吸数の増加は一回換気量と呼出するのに要する呼気時間を減少させ、さらなるEELVの上昇をもたらす動的肺過膨張が生じる。ここで、全肺気量は大きな変化を示さないため、ICの減少は動的なEELVの増加を反映する、すなわち、ICの減少は動的肺過膨張を反映するとされている。

今回我々の検討では、呼吸数の増加に伴いCOPD患者で有意なEELVの増加およびICの減少が認められた。今回の結果で興味深いことには、IC減少の程度と閉塞性障害の程度とは相関を示さず、またICの減少は1秒率が正常の健常喫煙者群にも認められており、これは1秒量の減少としては完全に反映されない末梢気道病変を示している可能性も考えられた。方法は喫煙などによる軽微な細気管支の変化を検出する一方法ではないかとも考えられた。

同一患者でのエルゴメーターによる運動前後のIC測定では、体プレチスモグラフィ法での結果と同様にICの低下を示し、いずれも動的肺過膨張を見ているものと考えられた。運動負荷前IC量がIC20と一致せず、やや高値であったが、このときの呼吸数が20回より少ない(平均 $18.2 \pm 1.2$ /分)ことが影響していたと考えられた。Joseらの6分間歩行試験を用いた検討でも我々の結果と同様に、運動負荷によってICは有意に減少し、この時の息切れの程度と良い相関を示すと報告している。また、それぞれのIC変化に相関は示されなかったが、今



回のプロトコールでは運動時の呼吸数は指定していないため、変化の程度が異なると考えられた。

$\beta 2$  刺激薬吸入によって IC の低下は有意に抑制された。Michael らも同様に、 $\beta 2$  刺激薬吸入によって動的肺過膨張を減少させたと報告しており、この動的肺過膨張の減少と neuroventilatory coupling を改善させることが、 $\beta 2$  刺激薬による息切れの改善に結びつくことを示唆している。これに対して、抗コリン薬吸入では過呼吸に伴う IC の減少は抑制されなかったが、baseline も含めた IC の絶対値を増加させた。この反応の違いは  $\beta 2$  刺激薬は、より末梢の気道を、抗コリン薬は比較的中枢の気道を拡張させるためではないかと推測された。

3) 慢性閉塞性肺疾患は増加の一途をたどり、日本では男女の喫煙率を反映し、欧米と同様に公衆衛生上の重大な問題となってきた。しかし、近年までは公衆衛生的なニーズとしてこの疾患に目を向けることは少なく、比較的軽視されがちであった。しかし、福地らによる NICE study の結果、わが国における有病率は、欧米と比べても決して低くはなく、また、その割合も喫煙率を反映し、本邦では、COPD の約 9 割は男性で残り 1 割が女性であった。

GOLD の重症度分類にしたがうと、その診断にはスパイロメトリーが推奨され、5 段階に分類されている。しかし、スパイロメトリーは疾患によって引き起こされた呼吸機能障害がおよそ 30% 以上破壊された時点で明らかになり、症状が発現する前にその存在を同定する事は困難であるとされている。それゆえ、慢性的な咳や喀痰な

どの呼吸器症状を有する患者群を GOLD stage 0 に分類し、すべてが COPD へと移行するわけではないがリスク群としての喚起を呼び起こした。このような早い病態で、患者教育をおこなうことで COPD への移行を抑制しようと試みている。特に、喫煙はそのリスクファクターとして明らかであり、COPD の発症、その進行を停止させる唯一の手段であるとされている。今回、われわれはこのような初期の COPD が同定できるかに関して、スクリーニング CT を用いて LAA% および visual score を用いて検討を試み、禁煙指導へと繋げた。

LAA% の算出に関しては、従来は thin slice による検討が推奨されてきたが、今研究はスクリーニング CT を利用しているため 8mm slice としている。肺気腫病変の閾値に関しては当院での正常者を対象にした検討の結果平均 -952HU 以下に正常肺が分類されたため、-960HU に設定した。また、肺気腫患者 24 名に対してこの、8mm によるスクリーニング CT を施行したところ、LAA% が平均 46% であった。このことから cutoff レベルを従来のとおり 30% 以上として検討しようと判断した。この結果、COPD と診断できた患者に対する LAA% の感度は 57%、特異度は 96% であり、偽陽性者が多く認められた。この原因としては、正常肺野にもかかわらず、血管影が乏しい症例が散見されたこと、また喘息を含む細気管支病変による air-trapping による肺過膨張が存在し、それを見ていた可能性も否定できない。

視覚的評価法は、明らかな肺病変の有無を確認している。本研究では、CLE と PSE が主体であった。これは、PLE タイプの気腫性病変が日本では少ないことと合致していた。また、両群と

もに喫煙との関連が深い結果となった。データには示していないが、PSE群は、肺機能へ与える影響がより進行した群で現れてきており、また、その群ほど喫煙指数と関連が深く、喫煙指導がより必要な群であると考えられた。本検討では、8mm スライスを使用しているためか、明らかな気腫性病変を示さない群が18名存在していた。これは、実際に気腫性病変が優位では無く、細気管支を含む気道病変が優位なCOPD群が含まれるのか、8mmでは微小な気腫性病変を同定できないのかは確認されていない。しかし、LAA%を併用することにより、そのうちの7名はCOPDとして拾うことが可能であった。そこで、この低X線量スクリーニングCTで、気腫性病変をスクリーニングする際にLAA%30%以上ないしはvisual score陽性を使用することで、感度は75%、特異度は86%まで上げることが可能であった。したがって、この両者によるスクリーニング方を我々は推奨する。

早期の気腫性病変患者群ないしは慢性呼吸器症状自覚群(GOLD stage 0)をこのCTスクリーニングで同定可能かに関しては、COPDと診断された患者を除外し、呼吸器症状を有する群をGOLD stage 0として解析をおこなったが、呼吸器症状を有す群からstage 0を選出することは感度が低く、それほど有効では無いかと考えられた。しかし、現時点では、stage 0群が、どのくらいの割合でstage I以上のCOPDとなるかは明らかにされてはいない。我々が提示した方法でstage 0のなかで選び出された21名に関しては、気腫性病変の明らかな存在とLAA%の上昇を持ちあわせているため、従来のat riskよりもよりhigh riskな群とみなしうるのでは無いかと思われた。こ

の群の今後の追跡調査によると思われる。

最後に、本研究に参加した群は、一般におこなわれた安曇および大北地区の住民検診受診者よりも平均年齢が10歳ほど若い。これは、病院でおこなわれる人間ドックの特性であり、健康検診を目的とするactive workerが中心となってしまう。このため、実際に治療中の肺気腫患者や高齢者が少ないという結果につながり、COPD有病者率が2.1%という結果につながったと考えられる。

4) かつて培養気道上皮細胞においてはIL-13刺激では杯細胞過形成は起こらないとする報告がいくつかなされたが、いずれも24~48時間という短時間の刺激であった。2002年にKondorらが、guinea pigの気道上皮細胞を用いてALI培養期間中継続的にIL-13で刺激するとIL-13単独で杯細胞過形成を起こすことを報告し、in vivoの結果と同様の現象をin vitroで確認することに成功した。培養ヒト正常気道上皮を用いてIL-13長期間刺激を行い、杯細胞過形成を起こしうることはAthertonらが初めて報告している。今回我々は培養ヒト正常気道上皮を用いてIL-13刺激を行い、 $1 \times 10^{-9}$ M/ml濃度において杯細胞過形成が起こることを確認したが、Athertonらは1ng/ml濃度が至適濃度であり、10ng/mlでは杯細胞形成が阻害されると報告した。これらの濃度は我々の刺激濃度に換算すると各々おおむね $1 \times 10^{-10}$ M/ml、 $1 \times 10^{-9}$ M/mlにあたる。また、 $1 \times 10^{-8}$ M/mlでも杯細胞形成の阻害は起こらず、上皮細胞の配列の乱れがみられた。この違いは培養条件などの違いによるとおもわれるが、杯細胞過形成のための刺激濃度は10ng/mlとして

いる報告が大多数である。また、我々の行った時系列でみた MUC5AC および hCLCA1 遺伝子発現の検討結果からも、短時間刺激では杯細胞過形成の現象を確認できないことが推測された。

Laoukili らはヒト鼻腔粘膜上皮を suspension culture 法によりスフェロイドを作製し、線毛上皮を分化させた。これに 10ng/ml の IL-13 を細胞分化が起こる段階で添加し続けると粘液産生細胞の増加と線毛細胞数の減少・線毛運動の低下が起こることを報告している。我々の行った ALI 法においても細胞分化の段階で、IL-13 で刺激し続けたヒト正常気道上皮細胞の走査型電子顕微鏡像で線毛の変性を認めた。これらのことから COPD および気管支喘息における気道分泌物亢進・喀出困難は IL-13 刺激によって粘液産生細胞の過形成が惹起され、気道分泌物の粘稠度が増加することに加え、線毛の変性による気道クリアランス低下も関与していることが示唆される。

今回の我々の検討によって IL-13 が hCLCA1 発現のトリガーになっていることが証明された。CLCA1 が COPD や気管支喘息時の病態にどのように関わっているかは解明されていないが、喘息モデルのマウスにおいて、杯細胞に一致して CLCA1 の発現が見られること、気管支喘息患者の気道において CLCA1 遺伝子および蛋白の発現は気道上皮の粘液産生細胞にあること、我々が以前報告したように COPD 患者肺の気道上皮・粘膜下腺に CLCA1 の発現を認めたこと、今回の検討において、気管支喘息や COPD の病態形成に重要と考えられる IL-13 刺激によりヒト正常気道上皮細胞の杯細胞に CLCA1 の発現を認めたことから、CLCA1 が COPD や気管支喘息の病態に重要に関与しているこ

とは間違いないものと思われる。また、以前の我々の報告において、非喫煙健康人の気道には hCLCA1 の発現はほとんど見られず、PAS 陽性細胞の過形成の見られる COPD を発症していない喫煙者においても hCLCA1 の発現亢進を認めていることから、喫煙刺激などの慢性気道炎症と hCLCA1 発現の関わりも示唆される。今後、IL-4, 9 など杯細胞過形成に関与しうる他のサイトカインにおいて hCLCA1 の発現が見られるかどうか検討していきたい。

Atherton らは IL-13 刺激によって起こる杯細胞過形成は EGFR 阻害剤 AG-1478 や、MAP kinase pathway 阻害剤 PD-98058, U-0126, SB-202190、PtdIns 3-kinase 阻害剤 LY-294002 などでは抑制できなかったと報告しており、IL-13 による杯細胞過形成がどの経路を主としているのか現時点で不明であるが、IL-13 による hCLCA1 発現の経路がどの受容体を介し、どのような経路で起こるのかを解明することは今後の検討課題である。

5) 本疾患は 1940 年前後から記載され始め、Silverstein ら (1974 年) により 32 例、Corrin ら (1975 年) により 28 例のそれぞれの臨床病理学的特徴がまとめられた。その後 Taylor ら (1990 年) による 32 例の報告に続き、1995 年に北一らが日本、韓国、台湾から 46 例、Chu ら (1999 年) が 35 例、Urban ら (1999 年) が 69 例のそれぞれまとめた症例での臨床病理学的検討を行った。いずれの報告においても有病率や罹患率などの正確なデータは得られていないが、今回の調査でアンケート回収率 48% の現段階において、生存していると考えられる LAM 患者 (病理診断のないものを含む) は 112 人程度であり、全国での有病者は

200人程度またはそれ以上が予想された。これまでの報告でほぼ全例が女性であるが、結節性硬化症においては男性のLAM合併も報告されている。今回TSC-LAMとして1人の男性が含まれており、臨床的背景や診断についての検討の余地はあるものの、男性の発症も否定できないと考えられた。これまでの報告で症状出現の平均年齢が32～36歳、診断までの平均期間が3～3.6年であるのに比べて、今回の結果では診断までの期間が若干短縮していた。年代別のLAM診断数はここ10年程で急激に増加しており、調査の対象からもれた可能性があるものの、診断技術の向上や疾患に対する認識が高まった可能性も考えられた。妊娠・出産歴や経口避妊薬・エストロゲン製剤の投与歴については特に著明とは思われなかった。また、ごく少数ながら閉経後に症状の出現した例もみられた。

初発症状としては、これまでの報告では労作時息切れが最も多く患者の47～57%、次いで気胸が43～52%であった他、咳が12～33%、血痰が7～9%であった。これに比べて今回の集計では労作時息切れが低い頻度であったが、診断からの平均期間が1年と5年にあたる症状評価では労作時息切れが75%、85%程度と著明に増加していた。また、経過中に咳嗽や喀痰といった症状も予想より多くみられた。肺外病変について、Chuらの報告では腹部CTまたは腹部エコー検査を行ったsporadic LAMの患者で腎血管筋脂肪腫を認めたものは51%、後腹膜リンパ節腫大は77%、骨盤腔内リンパ節腫大は11%であった。これに比べて今回の集計では低い値となっているが、腹部の検索が行われた頻度が不明であり、実際はさらに高い合併率も予想される。

LAM肺での病理組織学的所見はびまん性のう胞性変化と非典型的な平滑筋細胞(LAM細胞)のびまん性の増殖が特徴的なものである。その他に主にTSC-LAMで散発的に報告されている所見としてII型肺胞上皮細胞の多巢性、結節性の過形成があり、MNPHあるいはMMPH(Multifocal micronodular pneumocyte hyperplasia)と呼ばれ、過誤腫性の病変と考えられている。今回の集計でもTSC-LAMで比較的高率にみられたが、sporadic LAMでも少数にみられた。抗HMB-45抗体はヒトのメラノーマ細胞に存在している糖蛋白を認識する抗体であるが、LAM細胞においても結合することがわかっている。HMB-45は正常な肺組織や正常な平滑筋細胞、肺線維症など他の疾患で見られる平滑筋増殖では陰性であり、LAM細胞ではある一定の頻度で陽性になると考えられている。特に経気管支鏡的にのみ組織の得られている場合などで有力なマーカーとなり得る。抗HMB-45免疫染色には高い技術が要求されることなどもあり、陽性率は報告によりまちまちで、全患者でHMB-45陽性のLAM細胞を認めたとするものから、ほとんどの患者で診断時の手がかりとはならなかったとするものまであったが、今回の結果では比較的高い陽性率が得られており診断における有用性が示唆された。エストロゲンレセプター、プロゲステロンレセプターは正常の肺組織では認められないがLAM細胞では陽性となることから、これらのホルモンがLAM細胞になんらかの影響を与えることが考えられている。今回の陽性率は5割前後であるが、ホルモン治療の反応性との相関などにつき検討を行う必要がある。

動脈血ガス所見では、進行する低酸素血症が確認され、経過に伴ってCO<sub>2</sub>