

Sato S, Hajiro T, Mishima M. A comparison of the effects of salbutamol and ipratropium bromide on exercise endurance in patients with COPD. *Chest.* 2003 Jun;123(6):1810-6. 1;167(3):411-7.

8. Hamada K, Nagai S, Ono T, Muso E, Nagao T, Shigematsu M, Izumi T, Mishima M. Sarcoidosis complicated with IgA nephropathy. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* 2003 Mar;20(1):69-73.

9. Handa T, Nagai S, Hamada K, Ito I, Hoshino Y, Shigematsu M, Izumi T, Mishima M. Sarcoidosis with bilateral epididymal and testicular lesions. *Intern Med.* 2003 Jan;42(1):92-7.

10. Hamada K, Nagai S, Kitaichi M, Jin G, Shigematsu M, Nagao T, Sato A, Mishima M. Cyclophosphamide-induced late-onset lung disease. *Intern Med.* 2003 Jan;42(1):82-7.

11. Niimi A, Matsumoto H, Ueda T, Takemura M, Suzuki K, Tanaka E, Chin K, Mishima M, Amitani R. Impaired cough reflex in patients with recurrent pneumonia. *Thorax.* 2003 Feb;58(2):152-3.

12. Mitsunobu F, Ashida K, Hosaki Y, Tsugeno H, Okamoto M, Nishida K, Takata S, Yokoi T, Mishima M, Tanizaki Y. Complexity of terminal airspace geometry assessed by computed tomography in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Feb

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

慢性喫煙曝露による老化促進マウスの肺病変の検討
-抗酸化物質の抑制効果-

分担研究者 福地 義之助
順天堂大学医学部呼吸器内科 教授

研究要旨

自然経過にて肺胞破壊のない気腔拡大を来たし老化肺モデルマウスとなりうることで知られる老化促進モデルマウス (SAM: senescence accelerated mouse、SAMP1 ストレイン) を用い 8 週間のタバコ煙曝露実験を行った。SAMP1 マウスでは、正常加齢を示す対照 SAMR1 マウスに比して平均肺胞径、肺胞破壊指数の増加を認め、肺気腫モデル動物となり得ることが示唆された。また、抗酸化物質であるリコピンを投与しながら同様のタバコ煙曝露を行うと肺胞破壊と気腔拡大が抑制され、タバコ煙による肺気腫発生にオキシダント・アンチオキシダント不均衡の関与が示唆された。

A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は、喫煙に代表される有害微粒子の吸入により生じる気道や肺実質の炎症反応により生じ、プロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡や酸化ストレスによるオキシダント・アンチオキシダント不均衡、肺胞構成細胞のアポトーシスなどの分子メカニズムが報告されている。本研究ではタバコ煙曝露における酸化ストレスに着目し、抗酸化物質であるリコピン投与によりタバコ煙誘導肺病変の発生を抑制されるか否かを検討した。

B. 研究方法

SAMP1 および SAMR1 マウスを用い、タバコ煙曝露実験 (1.5%タバコ煙、30分/日、5日/週、8週間継続) を行った。肺病理所見は平均肺胞径 (MLI、mean linear intercept)、肺胞破壊指数 (DI、destructive index) を計測し検討した。また、タバコ煙曝露と同

時に抗酸化物質であるリコピン (トマトジュースの含有量 5 mg/100g) を投与し、MLI に対するリコピンの効果を検討した。

C. 研究結果

SAMP1 と SAMR1 に 8 週間のタバコ煙曝露を行った結果、SAMP1 では SAMR1 に対して MLI (SAMP1 vs. SAMR1, $86.4 \pm 1.4 \mu\text{m}$ vs. $75.2 \pm 1.7 \mu\text{m}$, $p < 0.05$)、DI ($14.3 \pm 1.9\%$ vs. $6.5 \pm 0.8\%$, $p < 0.05$) 共に有意な増加を認め、SAMP1 が 2 ヶ月間のタバコ煙曝露で肺気腫発症モデルマウスとなり得ることが示唆された。またリコピン投与群に関しては、喫煙に伴う MLI の増加が認められなかったことより、抗酸化物質の投与により肺気腫発症が抑制されることが示唆された。

D. 考察

従来報告では C57/BL6 系マウスを用いて 6 ヶ月間の東コン曝露により

肺気腫を作成する研究が報告されているが、長期間の曝露を要し、肺気腫発生モデルマウスとして治療介入研究や発症予防研究に応用することは困難であった。本研究では、老化促進を背景因子として有するマウスに着目し、従来の1/3の喫煙期間で肺気腫を発生させることが可能であった。また、抗酸化物質の投与によりタバコ煙曝露にもかかわらず肺気腫の発生を抑制できたことは、SAMP1マウスを用いたタバコ煙曝露系が肺気腫の予防研究に有用であることを示唆している。

E. 結論

SAMP1マウスのタバコ煙曝露実験系は有用な肺気腫モデルマウス系であり、病態解析のみならず、治療や予防研究にも有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ohwada A, Tsutsumi-Ishi Y, Yoshioka Y, Iwabuchi K, Nagaoka I, Fukuchi Y. Acid exposure potentiates intercellular adhesion molecule-1 and E-cadherin expression on A549 alveolar lining epithelial cells. *Experimental Lung Research* 29;389-400, 2003

Kaga N, Soma S, Fujimura T, Seyama K, Fukuchi Y, Murayama K. Quantification of elastin cross-linking amino acids, desmosine and isodesmosine, in hydrolysates of rat lung by ion-pair liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical Biochemistry* 318; 25-29, 2003

瀬山邦明, 福地義之助. わが国の COPD 疫学調査結果(NICE study)から. *Home Care Today* 2003;7(2):35-39, メディカルレビュー社

福地義之助. 特集 早期発見と診断のポイント COPD 患者数の動向(疫学). *COPD Frontier* 2003;2(1):8-12, メディカルレビュー社

笠木聡, 瀬山邦明, 福地義之助. 日本人の α_1 -アンチトリプシン欠損症. *臨床検査* 2003; 47(8):894-898, 医学書院

塩田智美, 福地義之助. 肺機能検査 Master Screen Impulse Oscillometry (MS-IOS)の信頼性と肺疾患における有用性. *循環器情報処理研究会雑誌* 2003;18:21-26

児玉裕三, 福地義之助. 老年者と発熱性疾患. *Current Therapy* 2003;21(12):72-76, ライフメディコム

笠木聡, 瀬山邦明, 福地義之助. 気道炎症にかかわる蛋白分解酵素の関与. *日本臨床* 2003;61(12):2113-2118, 日本臨床社

児玉裕三, 瀬山邦明, 福地義之助. COPD -現状と将来の方向性. *診断と治療* 91(12):2177-2181, 2003

吉見格, 植木純, 笠木聡, 福地義之助. 長期酸素療法への適応と効果. *治療学* 2003;37(11):38-41, ライフサイエンス出版

笠木聡, 福地義之助. 日常診療における GOLD の位置付け. *内科* 93(1):5-9,

2004

2. 学会発表

Yoshimi K, Ueki J, Kasagi S, Togo S, Fukuchi Y. Does aging affect the outcome of comprehensive pulmonary rehabilitation in patients with COPD? Eur Respir J 22 巻第 suppl 45 号, 426, 2003

Kodama Y, Seyama K, Mori T, Kasagi S, Ishigami A, Soma S, Onai R, Maruyama N, Fukuchi Y. Role of senescence marker protein-30 (SMP30) in the development of cigarette smoke-induced lung pathology in mice. Geriatrics and Gerontology International, 3(suppl 1): S63, 2003 The 7th Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology, Tokyo, Japan

Ueki J, Yoshimi K, Kasagi S, Togo S, Fukuchi Y. Does aging affect the outcome of comprehensive pulmonary rehabilitation in patients with COPD? Geriatrics and Gerontology International, 3(suppl 1): S141, 2003 The 7th Asia/Oceania Regional Congress of Gerontology, Tokyo, Japan

児玉裕三、森貴紀、瀬山邦明、笠木聡、石神明人、丸山直記、福地義之助. 加齢指標蛋白 30 (SMP30) の肺における役割. 日老医誌 40 巻第 Suppl V: 118, 2003.

植木 純、吉見 格、笠木 聡、森 貴紀、福地義之助. ワークショップ 4. 慢性呼吸不全の総合的アプローチ、COPD の急性増悪を回避するための戦

略：予防戦略としての包括的呼吸リハビリテーション、日呼吸会誌 41 巻第 Suppl 号:19, 2003.

植木 純、吉見 格、笠木 聡、塩田智美、森 貴紀、福地義之助. 70 歳以上の高齢 COPD における包括的呼吸リハビリテーションの有用性の検討 日老医誌 40 巻第 Suppl 号: 118, 2003.

植木 純、吉見 格、福地義之助. イブニングシンポジウム 1. COPD の治療、包括的呼吸リハビリテーション、Jpn J Appl physiol 巻第 3suppl 号: 58, 2003.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許権取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

マイクロアレイ法による肺気腫患者肺における
プロテアーゼ・アンチプロテアーゼ遺伝子発現の検討

分担研究者 山口 佳寿博
慶應義塾大学医学部内科学教室 助教授

研究要旨 肺気腫の成因としてプロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡が想定されているが、肺に存在するプロテアーゼ・アンチプロテアーゼの種類は多く、それぞれの因子の役割は明らかになっていない。本研究では、重症肺気腫患者7例、対照喫煙者4例、非喫煙者4例の肺組織を用い、マイクロアレイ法により、セリンプロテアーゼ、メタロプロテアーゼ、システインプロテアーゼとそのインヒビター、計57の遺伝子発現を検討した。喫煙者と非喫煙者間で発現変化は軽微であったが、肺気腫肺ではエラスターゼ活性を有する MMP-7, 9, cathepsin K, S の発現が喫煙者肺に比べ亢進していた。主要なインヒビター TIMP-1, 2, cystatin C の発現上昇は軽度であった。重症肺気腫肺において、複数のプロテアーゼの発現が亢進し、プロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡が存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

肺気腫の病因としてプロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡の存在が想定されているが、肺に存在するプロテアーゼとして多数の分子が同定されており、対応するアンチプロテアーゼも多岐にわたっている。これまでに neutrophil elastase, MMP-9 など個々の因子の関与については報告されてきたが、多数の因子を同時に解析し、いずれの因子が重要であるかについては十分に検討されてこなかった。本研究では近年開発されたマイクロアレイ法を用い、重症肺気腫患者末梢肺組織における多数のプロテアーゼ・アンチプロテアーゼの遺伝子発現を解析し、肺気腫の進展において、いずれの因子が重要であるかを検討することを目的とした。

B. 研究方法

肺癌のために肺葉切除術を施行された患者のうち、1秒率70%以上の非喫煙者4例、過去喫煙者4例の切除肺の正常部の一部を患者の同意のもとに凍結保存した。同様に肺容量減少術を施行された重症肺気腫6例ならびに肺癌手術を施行した重症肺気腫1例、計7例の肺気腫肺（平均1秒率30%）の一部を凍結保存した。

径5-10mm程度の末梢肺組織から total RNA (5 µg/sample) を抽出し、2本鎖 cDNA を作成した。In vitro transcription 反応にてビオチン標識 cRNA を作成し、標識 cRNA を分断後、Affymetrix 社 GeneChip (U95A) とハイブリダイゼーションした。非喫煙者4例、喫煙者4例の total RNA は同量ずつ混合し、それぞれ1つのサンプルとした。全遺伝子発現量を用いてサンプル間の補正を行った。

α_2 -macroglobulin 関連 1, serine proteases 3, serine protease inhibitors 9, MMPs 19, Tissue inhibitors of matrix metalloproteinase (TIMPs) 4, aspartic protease 1 (cathepsin D), cysteine proteases 12, cysteine protease inhibitors 8, 計 57 遺伝子について、喫煙者肺と非喫煙者肺、肺気腫肺 (7 例それぞれ) と喫煙者肺の間で発現を比較した。本研究プロトコールは慶應義塾大学医学部倫理委員会において承認された。

C. 研究結果

serine protease と serine protease inhibitor の発現については、cathepsin G と α_1 -antitrypsin の発現が喫煙者で非喫煙者より亢進していたが、肺気腫と喫煙者の間では有意な変化を認めなかった。MMP と TIMP の発現については、MMP-7, 9, 11, TIMP-2 の発現が喫煙者と非喫煙者では不変であったが、多くの肺気腫患者肺で喫煙者肺より亢進していた (それぞれ 383, 243, 280, 165%)。一方、cysteine protease とその inhibitor については、cathepsin C, Z, cystatin A, B が喫煙者で非喫煙者より亢進し、肺気腫では喫煙者よりもさらに亢進する傾向が見られた。また、cathepsin K, S, W, cystatin F は喫煙者と非喫煙者での発現は同等であったが、肺気腫では喫煙者よりも亢進していた (それぞれ 185, 206, 161, 164%)。肺気腫 7 例のうち 4 例以上で喫煙者より発現が亢進または低下している場合を有意な変化としたところ、喫煙者で非喫煙者より発現亢進していた 10 遺伝子のうち、5 つの遺伝子が肺気腫でさらに発現亢進を認め、喫煙者で非喫煙者と同等の発現であった 45 遺伝子のうち、

9 つの遺伝子が肺気腫では発現亢進を認めた。肺気腫で喫煙者より発現低下を認めたのは MMP-15 のみであった。

D. 考察

本研究の結果より、多くのプロテアーゼ・アンチプロテアーゼ遺伝子の発現が喫煙者肺で非喫煙者肺よりも亢進しており、肺気腫肺においてはさらに上昇傾向を認めた。発現増強を認めた遺伝子数、発現増加の程度はプロテアーゼでアンチプロテアーゼよりも顕著であった。このことは直ちにプロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡の存在を示唆する所見ではないが、少なくとも進行した肺気腫肺においても、プロテアーゼ遺伝子の発現亢進とこれに伴うアンチプロテアーゼ遺伝子の発現増強が継続していることが示された。具体的には、エラスターゼ活性を有する MMP-7, 9, cathepsin K, S の発現が亢進していることが確かめられたのに加え、cathepsin C, D, Z, W, MMP-11 など、これまでに肺気腫との関連が予想されていなかったプロテアーゼ遺伝子の関与の可能性が示された。アンチプロテアーゼの発現低下による肺気腫の進展の可能性は今回の検討からは否定的と考えられた。

本研究で用いた末梢肺組織には様々な種類の細胞が含まれ、肺気腫肺と正常肺ではその構成比率も異なると考えられる。しかしながら、肺気腫進展における肺実質でのプロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡は、肺胞上皮、血管内皮、炎症細胞などから産生される多数のメディエーターの相互作用によるものと考えられ、症例も気腫性変化が著明な肺容量減少術施行患者を主体としており、気腫病変の進行に焦点をあてたマイクロアレイサンプルとしては適切なものと考え

えた。

E. 結論

本研究により、重症肺気腫患者肺においてプロテアーゼ・アンチプロテアーゼ双方の発現亢進状態が継続していることが確認された。MMP-7, 9, cathepsin K, S などのエラスターゼ活性を有するプロテアーゼの直接的な肺気腫進行への関与の可能性が示されたのに加え、cathepsin C, D, Z, W, MMP-11 など、肺気腫における役割が明らかとなっていないプロテアーゼの関与の可能性も示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Naoki, K., Suzuki, K., Kudo, H., Takeshita, K., Miyao, N., Ishii, M., Sato, N., Suzuki, Y., Tsumura, H. and Yamaguchi, K. Constitutive isoforms of NOS and COX mediate abnormal microvessel responses to CO₂ and H⁺ in hyperoxia-injured lungs. *Eur. Respir. J.* 20(1):43-51, 2002.

Takeshita, K., Suzuki, Y., Takeuchi, O., Nishio, K., Toda, K., Kudo, H., Miyao, N., Ishii, M., Sato, N., Naoki, K., Aoki, T., Suzuki, K., Hiraoka, R. and Yamaguchi, K. Hypercapnic acidosis attenuates endotoxin-induced nuclear factor- κ B activation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 29(1):124-132, 2003.

Minematsu, M., Nakamura, H., Iwata, M., Tateno, H., Nakajima, T., Takahashi, S., Fujishima, S. and Yamaguchi, K. CYP2A6 deletion polymorphism is associated with

smoking habit and development of pulmonary emphysema. *Thorax* 58(7):623-628, 2003.

学会発表

Nakamura, H., Nakajima, T., Takahashi, S., Minematsu, N., Tateno, H., Inoue, T. and Yamaguchi, K.: Differential expression of matrix metalloproteinases between severe emphysema patients and control smokers by a microarray analysis. (2003 ATS International Conference, Seattle, Washington, U. S. A.).

高橋佐枝子、仲村秀俊、中島隆裕、峰松直人、舘野博喜、井上卓、山口佳寿博：マイクロアレイ法による肺気腫患者肺組織における Matrix Metalloproteinases (MMPs) 遺伝子発現の解析、(43 回日本呼吸器学会総会、福岡、2003、3月)。

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

COPD の細胞老化に関する研究

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 これまでの研究成績から肺気腫患者の肺胞壁ではアポトーシスによる細胞死と細胞増殖が生じていることが知られた。本研究では、喫煙による細胞老化が肺胞壁における細胞死と増殖の不均衡の原因になるのではないかと考えて検討した。II 型肺胞上皮様（A549）細胞と正常ヒト肺胞上皮細胞にタバコ煙濃縮液を曝露すると senescence-associated (SA) β -galactosidase、細胞の巨大・扁平化、リソゾームの増加、細胞周期停止などの老化変化がもたらされた。またマウスにタバコ煙を曝露すると SA β -galactosidase 陽性の II 型上皮細胞がみられた。さらにヒト肺組織を用いた研究では肺気腫患者と喫煙者では非喫煙者に比べて II 型肺胞上皮細胞の p16 蛋白の発現が有意に増加していた。以上の結果から喫煙刺激は細胞老化を誘導することにより、肺胞壁細胞の消失を促進する可能性が示唆された。

A. 研究目的

COPD の主要病変である肺気腫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経路が想定されているがその機序は不明である。私どものこれまでの研究から、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、特に気腫化領域では CD4 陽性 T リンパ球が集積していること (1)、2) このような炎症所見とともに肺胞壁細胞、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亢進していること (2)、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、4) マウスを用いた動物実験において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 (3) が知られた。以上の研究成績から、炎症性刺激の持続による肺胞壁細胞のアポトーシスが肺気腫の形成に関与することが明らかにさ

れた。さらに気腫病変の肺胞壁では、アポトーシスと同時に細胞増殖も亢進していたことから、肺気腫の病態は従来想定されていたような肺胞壁細胞が一方的に消失するという静的な病態ではなく、細胞死と細胞増殖が繰り返された動的な病態であると考えられた。このような考察から、気腫病変の形成には肺胞壁細胞の死が細胞増殖に比べて過剰に生じた結果、細胞消失が徐々に進行していく過程が推測された。私どもは、かかる肺胞壁細胞の消失には、細胞老化 (cellular senescence) による細胞増殖の抑制が関与しているのではないかと考えた。すなわち慢性的な喫煙刺激や細胞周期の回転亢進が細胞老化を誘導するために細胞増殖が停止して、細胞の補填が行われなくなるために気腫病変が形成されるのではないかとこの仮説を立て、以下の研究を行った。

B. 研究方法

1. 細胞および動物を用いた研究

肺気腫の主因である喫煙刺激が肺胞上皮細胞の細胞老化をもたらすかを明らかにするために、II型肺胞上皮様 (A549) 細胞と正常ヒト II 型肺胞上皮細胞 (ScienCell, San Diego, CA) を培養してタバコ煙濃縮液 (cigarette smoke extract: CSE) に曝露した。細胞老化の指標として細胞形態、酸性β-ガラクトシダーゼ [senescence-associated (SA) β-galactosidase] 活性、細胞内リソゾーム量、BrDUの核内とりこみについて検討した(4)。動物実験においては喫煙チャンバー内で8週齢雄性ICRマウスにタバコ主流煙(ハイライト®)を一日あたり3本、週5日、2週間継続して吸入させた。その後、肺組織を摘出し、OCTコンパウンドを経気道的に注入して肺を拡張させたのち、急速凍結後3μmの凍結切片を作成した。以上の実験は東京女子医科大学動物実験倫理委員会の審査許可を受けた。

2. ヒト気腫化肺組織を用いた研究

ヒト気腫化肺組織における細胞老化を評価するために、厚生科学研究費補助金特定疾患対策研究事業「呼吸不全に関する調査研究(平成11~13年度主任研究者栗山喬之教授)」協力施設にて行われた肺気腫に対する肺容量減少術の際に採取された肺組織を対象とした(肺気腫群8例、全例既喫煙者)。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(対照喫煙者群7例、対照非喫煙者群7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3μmの薄切切片を作成し

た。本年度の研究では、細胞老化の評価として老化関連 cyclin dependent kinase inhibitor (CDKI) である p16 および p21 蛋白の発現を免疫組織化学的に検討した。免疫染色にはオートクレーブ処理にて抗原賦活化した切片を抗ヒト p16 抗体と抗ヒト p21 抗体(ともにダコジャパン社)と反応させた後、二次抗体としてポリマー化ペルオキシダーゼ標識抗体(Envision、ダコジャパン社)を用いてジアミノベンチジン(DAB)反応により発色した。さらに同一標本を抗ヒト SP-A 抗体(ダコジャパン社)を用いて二重染色した後 NBT/BCIP 反応により発色させた。染色した標本を鏡検して 10 視野を無作為に選び、200 倍率下で II 型肺胞上皮細胞(SP-A 染色陽性細胞)における p16 および p21 蛋白の発現率を算出した。

C. 研究結果

1. 細胞および動物を用いた研究

A549 細胞および正常ヒト肺胞上皮細胞に CSE (0.0001~0.1%) を 12~24 時間曝露すると濃度および時間依存性に SA β-galactosidase 活性の増加がみられた。また CSE を曝露した細胞では、細胞の扁平・巨大化、細胞内リソゾームの増大など老化の特徴的な形態学的変化が観察された。さらに CSE を除去した後に再度血清刺激を負荷しても BrDU の核内取り込みは観察されず、細胞周期の不可逆的な停止が生じたと考えられた。さらに CSE による細胞老化の誘導は、N-アセチルシステインにより部分的に抑制されたことから、CSE 中のオキシダントが細胞老化に関与すると考えられた。

2. ヒト気腫化肺組織を用いた研究

ヒト気腫化肺組織の免疫染色では II 型肺胞上皮細胞が抗 p16 抗体およ

び抗 p21 抗体により染色された。II 型肺胞上皮細胞における p16 蛋白の陽性率は COPD 患者 (65.9 ± 12.5%) と対照喫煙者 (52.9 ± 25.8%) では対照非喫煙者 (29.6 ± 8.9%) に比べて有意に高値であった ($p < 0.05$)。しかし COPD 患者と対照喫煙者の間には有意差はみられなかった。一方、p21 蛋白の発現率は 3 群間に有意差はみられなかった。以上の結果からヒト肺組織においても喫煙による肺胞上皮の細胞老化が生じている可能性が示された。

D. 考察

細胞老化とは、いかなる増殖刺激によっても細胞がもはや増殖しえない状態と定義されている。本研究では、1) 細胞および動物実験で喫煙刺激が肺胞上皮細胞の細胞老化 (stress-induced senescence) を誘導すること、2) ヒト喫煙者および肺気腫患者の肺組織では II 型肺胞上皮細胞における p16 蛋白の発現が亢進していることが知られた。p16 蛋白は細胞老化を誘導する CDKI のひとつであることからヒトの肺組織においても細胞老化が生じている可能性が考えられた。

本研究では喫煙による直接刺激が肺胞上皮細胞の細胞老化 (stress-induced senescence) を誘導することが示されたが、肺気腫患者ではそれ以外の機序によっても細胞老化がもたらされる可能性がある。すなわち 1) 肺気腫患者の多くは高齢者であることから加齢に伴う細胞周期の回転が蓄積していること、さらに 2) 肺気腫患者では肺胞上皮細胞の細胞死と細胞増殖が繰り返されていることから細胞周期の回転が亢進し (2)、その結果としてテロメア長が短縮している可能性が考えられる。したがっ

て喫煙の直接刺激による細胞老化機序 (stress-induced senescence) 以外にもテロメア長の短縮による細胞老化機序 (replicative senescence) が生じている可能性が考えられる。かかる細胞老化について詳細に検討するために現在、fluorescence in situ hybridization (FISH) 用いたヒト肺組織におけるテロメア長の測定が進められている。

肺胞壁に老化細胞が蓄積すれば、たとえ細胞死により細胞が消失しても細胞増殖による細胞の補填が行われないために、肺胞壁の細胞数が徐々に減少していくものと想定される。かかる肺気腫の発症仮説における細胞老化という概念の導入は、肺気腫が高齢者に好発し、年余をかけて徐々に進行する理由の一端を説明しうる可能性があると考えられる。

E. 結論

喫煙刺激は細胞老化を誘導して肺気腫における肺胞壁細胞の消失を促進する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

喫煙による健康被害を再確認した研究である。

G. 研究発表

1 論文発表

Aoshi K, Tsuji T, Nagai A. Bleomycin induces cellular senescence in alveolar epithelial cells. *Eur Respir J* 2003;22:436-443.

2 学会発表

辻隆夫、青柴和徹、永井厚志 タバコ煙による II 型肺胞上皮細胞の細胞老化の誘導 第 43 回日本呼吸器学会総会 2003

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

肺動脈肺高血圧症例における遺伝子変異に関する研究

分担研究者 友池 仁暢
国立循環器病センター 院長

研究要旨

本院にて治療中の肺動脈肺高血圧症 69 例を対象に、患者の末梢血から genomic DNA を抽出し、肺高血圧症の発症に関連があると報告されている Bone Morphogenetic Protein Receptor 2 (BMPR2) 及び Activin Receptor Like Kinase 1 (ALK1) 遺伝子の変異の有無を検討した。結果：肺動脈肺高血圧症中の原発性肺高血圧症 (PPH) については 45 例中 21 例 (47%) に BMPR2 の遺伝子変異が検出された。また特に家族性 PPH と診断されている 5 家系 6 例については全例に BMPR2 遺伝子変異の存在が確認された。一方、膠原病性肺高血圧症、先天性心疾患合併肺高血圧症、肝疾患合併肺高血圧症などの二次性肺動脈肺高血圧症 24 例中では 1 例の BMPR2 遺伝子変異も発見されなかった。ALK1 遺伝子については PPH 45 例中 2 例 (4%) に変異が発見されたが、二次性肺動脈肺高血圧症については ALK1 遺伝子の変異は認められなかった。以上を総合すると肺動脈肺高血圧症中の PPH にのみ 45 例中 23 例 (51%) と高頻度に何らかの遺伝子変異が確認され、PPH の発症にはこれらの遺伝子変異が強く関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

原発性肺高血圧症 (PPH) はこれまでその発症は極めて希でかつ、原因不明の予後不良の疾患として知られている。また先天性心疾患に合併する肺高血圧症や膠原病に合併する肺高血圧症も PPH と類似した臨床症状や病理学的所見を呈することからその発症には PPH と共通の要因が関与している可能性が示唆され、1998 年の WHO 専門家会議でこれら二次性肺高血圧症は PPH とともに肺動脈肺高血圧症としてまとめて取り扱うことが提案された。一方 1997 年、家族性 PPH 例には 2q31-32 染色体上の遺伝子に変異が存在し、2000 年にはこれが Bone Morphogenetic Protein Receptor 2 (BMPR2) 遺伝子であることが報告された。しかし、BMPR2 遺伝子変異が PPH

に特異的所見か否か、本邦 PPH 例の発症、さらには肺動脈肺高血圧症の発症にどのように関与しているかは明らかでなく、また他の PPH 関連遺伝子変異の有無についての検討も無い。そこで本研究の目的は、可能な限り多数の本邦肺動脈肺高血圧症を対象に BMPR2 遺伝子変異の有無を検討し、また文献上肺高血圧症の発症に関連すると報告されている Activin receptor like kinase 1 (ALK1) 遺伝子など他の遺伝子変異の有無についても搜索し、肺動脈肺高血圧症発症に関わる遺伝子変異の実態を明らかにすることにある。

B. 研究方法

対象：本院で治療/経過観察中の肺動脈肺高血圧症の発端者 69 例 (PPH：45 例、膠原病性肺高血圧症：5 例、先

天性心疾患合併肺高血圧症：11例、肝疾患合併肺高血圧症：4例、その他肺高血圧症：4例)を対象とした。PPH例の男女比は9:36で女性が多く、PPH以外の二次性肺動脈肺高血圧症例は全例女性であった。PPHの肺血行動態は、肺動脈平均圧(PAm) 53 ± 12.2 mmHg、心拍出量(CO) 3.0 ± 1.1 L/min、全肺血管抵抗(TPR) 1700 ± 663 dyne sec cm^{-5} であった。また二次性肺動脈肺高血圧症例の肺血行動態は、PAm 57 ± 15.1 mmHg、CO 3.0 ± 1.0 L/min、TPR 1695 ± 857 dyne sec cm^{-5} とPPHと同様の高度肺高血圧が存在した。PPHと二次性肺動脈肺高血圧症の発症年齢はそれぞれ平均28.9歳(7-52歳)と29.6歳(3-60歳)であった。18歳未満の発症例を小児PPHとすると小児PPH例は11例、成人PPH例は34例であった。PPH例には家族性PPH(5家系で6名のPPH発病者)及び弧発性PPH39例が存在した。家族性PPHは同一家系内に臨床的にPPHと診断された患者が2名以上存在している例とした。

方法：BMPR2遺伝子変異は、末梢血より抽出したDNAを分離し、BMPR2遺伝子のイントロンから作成したプライマーにより13個のエクソンを増殖した。更にPCRにより増殖後、ダイレクトシーケンス法によりBMPR2内の変異を同定した。また同様の方法によりALK-1の遺伝子変異についても検討を行った。肺動脈肺高血圧症の各原疾患別にBMPR2、ALK1遺伝子変異の有無と発症年齢の対比を行い、遺伝子変異の有無、発現頻度と発症年齢との関係について検討した。本研究は当院倫理委員会(受付番号15-14、肺高血圧症の病因解明のための遺伝子解析)の承認を得て行った。

C. 研究結果

BMPR2：解析結果が得られたPPH45例中21例(47%)にBMPR2の遺伝子変異が検出された。一方、膠原病性肺高血圧症、先天性心疾患合併肺高血圧症、肝疾患合併肺高血圧症、その他の肺高血圧症例ではBMPR2遺伝子変異は一例も発見されなかった。5家系計6例の家族性PPH例では全例(100%)にBMPR2遺伝子変異の存在が確認された。弧発性PPH39例では15例、38%に遺伝子変異が認められた。BMPR2遺伝子は大きく分けて、Ligand binding / extracellular、Transmembrane、Kinase、Cytoplasmic tailの各ドメインに分けられることが報告されている。BMPR2遺伝子内の変異部位は家族性PPH、弧発性PPH合わせて17カ所に認められ、Ligand binding / extracellularドメインに4カ所、Transmembraneドメインに1カ所、Kinaseドメインに6カ所、Cytoplasmic tailドメインに6カ所存在した。同じ変異を持つ患者が4組存在し、同一変異を持つ患者1組は親子であったが、他の3組は聞き取り調査で判明した限り血縁関係は認められなかった。発症年代別の遺伝子変異陽性率は、17歳以下は12例中6例(50%)、18-39歳で24例中14例(58%)、40歳以上9例中1例(13%)で、若年発症例でBMPR2遺伝子変異の陽性率が高かった。

ALK1：PPH45例中2例(4%)にALK1の遺伝子変異が検出された。一方、膠原病性肺高血圧症、先天性心疾患合併肺高血圧症、肝疾患合併肺高血圧症、その他の二次性肺高血圧症例では一例のALK1遺伝子変異も発見されなかった。今回対象例中5家系の家族性PPHにはALK1遺伝子の変異は認められず、変異は弧発性PPHに限定された。

同定された ALK1 遺伝子変異は同一変異ではなかった。ALK1 遺伝子変異が陽性の PPH 例 2 例は、いずれも 10 歳代に高度の肺高血圧を主訴として発症し若年 PPH としか診断できなかつた症例で、一人に頻回の鼻出血の既往は存在するが、遺伝性出血性毛細血管拡張症と診断できる所見は存在しなかつた。

以上今回検出された遺伝子変異の頻度をまとめると、BMP2, ALK1 何れかの遺伝子変異を有する肺動脈肺高血圧症は PPH と診断された例に限局され、二次性肺動脈肺高血圧症には一例の BMP2, ALK1 変異も検出されなかつた。遺伝子変異を有する PPH 症例の頻度は 45 例中 23 例 (51%) と高率で、特に家族性 PPH の 5 家系計 6 例では全例 (100%) に BMP2 遺伝子変異が存在し、弧発性 PPH でも 39 例中 17 例 (44%) と高率であった。さらに年代別発症率を見ると、40 歳以下の発症例では実に 36 例中 22 例 (61%) に何らかの遺伝子変異を有することが認められた。

D. 考察

今回我々の肺動脈肺高血圧症を対象とした遺伝子検査では、PPH の 51% に BMP2, ALK1 何れかの遺伝子変異の存在が確認され、特に家族性であることが明らかな PPH 例では 100% に BMP2 遺伝子変異が検出された。一方、肺動脈肺高血圧症には含まれるが PPH 以外の二次性肺動脈肺高血圧症例では、一例の BMP2, ALK1 遺伝子変異の存在も確認されなかつた。

以前より PPH 例には弧発性 PPH と家族性 PPH 例が存在することが知られ、家族性 PPH の頻度は PPH の約 6-7% と報告されている。本所見は PPH の発症には遺伝性素因が存在する可能性を

示唆し、これまで本症発症にかかわる遺伝子変異の研究が進められてきた。そして 1997 年によく家族性 PPH 例の 2q31-32 染色体上にある特定の遺伝子が責任遺伝子である可能性が示され、2000 年にはこれが BMP2 遺伝子であることが同定された。また 2001 年には弧発性 PPH 例にも BMP2 遺伝子変異が存在することが報告された。現在までの報告を総括すると家族性 PPH の 60%、弧発性 PPH では 25% 程度に本遺伝子変異が存在することが報告されている。今回我々の結果は従来の報告に比して高頻度に BMP2 遺伝子変異が存在した。この原因は不明であるが、二次性肺動脈肺高血圧症には一例の BMP2 遺伝子変異は検出されず、PPH にのみ本遺伝子変異が認められたことは、BMP2 遺伝子変異が PPH の発症と深く関連している可能性を示すとともに、PPH の発症原因と二次性肺動脈肺高血圧症の発症原因には本質的な差が存在する可能性を示唆するものと考えられた。

近年、遺伝性出血性毛細血管拡張症 (hereditary hemorrhagic telangiectasia、Osler-Rendu-Weber syndrome) の発症に ALK1 遺伝子変異が関与する可能性が示され、また極めて希であるが本症に高度肺高血圧症が合併することも報告されている。そこで今回我々が対象とした症例について、BMP2 とともに ALK1 についても平行して遺伝子解析をおこなった。この結果、PPH45 例中 2 例に本遺伝子変異が確認されたが、二次性肺高血圧症には遺伝子変異は存在しなかつた。ALK1 変異が存在した 2 例中 1 例は頻回の鼻出血の既往を有するが、いずれも遺伝性出血性毛細血管拡張症の存在を示唆する皮膚や粘膜の血管病変は認められず臨床的には PPH と診断をせ

ざる得ない症例であった。PPH 中には ALK1 変異を基礎とする症例は含まれる可能性が示された。

特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

E. 結論

【結語】本邦肺動脈肺高血圧症例の遺伝子解析を行った結果、PPH 例では極めて高頻度に BMPR2、ALK1 の遺伝子変異が存在した。一方、二次性肺動脈肺高血圧症では一例の BMPR2、ALK1 変異も認められなかった。本結果は肺動脈肺高血圧症例において、PPH と二次性肺高血圧症の発症原因には根本的な差が存在する可能性を示すとともに、遺伝的素因の観点から PPH についてもその個々の例については発症要因には大きな差が存在する可能性を示す結果となった。

共同研究者

国立循環器病センター心臓血管内科
中西宣文・京谷晋吾
国立循環器病センター研究所
バイオサイエンス部
森崎裕子・森崎隆幸

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

Morisaki H, Nakanishi N, Kyotani S, Takashima A, Tomoike H, Morisaki T. BMPR2 mutations found in Japanese patients with familial and sporadic primary pulmonary hypertension. Human Mutation in revision.

学会発表：なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

- a. 当院における在宅人工呼吸療法の現状
ー全国呼吸ケア実態アンケート調査のデザイン構築に向けてー
- b. COPD データベースによる女性患者と若年性患者の検討
- c. COPD 患者におけるシャトルウォーキングテストの歩行距離の検討
- d. 肺リンパ脈管筋腫症におけるマスト細胞の役割
- e. 肺リンパ脈管筋腫症をめぐる問題点と今後の展望

分担研究者 坂谷 光則
国立療養所近畿中央病院 院長

研究要旨 a. 当院の在宅人工呼吸療法の現状を、全国調査の結果と対比し、今後の課題を検討した。在宅人工呼吸症例数は増加傾向にあるが、特にNPPV症例数の増加が顕著であった。TPPV症例数は相対的に減少傾向にあるが、介護・在宅ケア資源の不足などの問題点が明らかになった。

b. COPDは喫煙歴のある高齢の男性が大多数を占めているが若年発症の患者や女性患者も少数ながら確かに存在する。今回は若年性患者と女性患者の特性を在宅酸素療法(HOT)開始後の予後で検討した。HOT開始後の5年生存率は男性患者約46.3%、女性患者44.1%と斉藤らの報告と異なり性別による予後の違いは見られなかった。また若年性患者は5年生存率は60.1%と良好だが約55.9歳でHOTが必要となりその後の平均生存期間が約5.9年ではADLは低く短命で予後良好とは考えにくく社会的、経済的負荷は最も大きい。死因についてはCOPDが関連した呼吸不全が約半数を占め患者にとっても重大な疾患であると思われる。

c. COPD患者(n=39)を対象にシャトルウォーキングテストを実施し、その歩行距離(SWD)と肺機能、血液ガス、身体計測値、臨床症状との相関をもとめ、さらに歩行距離の予測式を、ステップワイズ回帰分析を用いて導いた。その結果、 $SWD = 591.1 - 7.95 * age + 0.074 VC + 17.35 * DLco$ という回帰式が導かれた($r=0.749$)。

d. 肺リンパ脈管筋腫症(LAM)の肺組織では、LAM細胞の増殖部位に一致して、chymase陰性タイプのマスト細胞が著増しておりbasic fibroblast growth factor (bFGF)を発現していた。更にLAM細胞他LAM肺で増殖する細胞群はFlgやBekなどのFGF receptorsを発現していた。特にBekはLAM細胞に特異的に発現していた。マスト細胞がLAMの病態形成に関与している可能性が示唆された。

e. 肺リンパ脈管筋腫症(LAM)は本邦では2003年に難病対策事業の調査対象疾患に取り上げられ、昨年から本研究班によりLAMの全国実態調査が進行中である。海外では米国のLAM foundationが中心となり各国のLAM患者団体間の交流が開始され、本邦でも2003年4月に患者団体(J-LAM)が組織された。更に稀少肺疾患の国際研究協力体制も整備されつつある。

我々は最近、患者を交えた勉強会を行い、前後して患者の質問、要望を調査し対応した。患者の質問は妊娠、出産、ホルモン療法など実生活にかかわるも

のも多かった。要望の中で重要なものは標準的な診断治療管理法（ガイドライン）の確立、医療費補助などがあった。

A. 研究目的

a. 当院では 1984 年在宅人工呼吸療法（以下 HMV）自験第 1 例以来 20 年が経過し、100 症例以上の経験を通して本療法の意義を強く認識するに至った。また、急増傾向にある HMV の実態を把握し、問題点と今後の作業目標⁴⁾を明らかにする目的で、4 回の全国アンケート調査を実施し報告した。今回は、当院での HMV の実態を実施し、全国調査のデザイン構築に向けての課題を検討した。

b. COPD は喫煙歴のある高齢の男性が大多数を占めているが若年発症の患者や女性患者も少数ながら確かに存在する。今回は若年性患者と女性患者の特性を在宅酸素療法（HOT）開始後の予後で検討した。

c. シャトルウォーキングテスト（SWT）は簡便な運動負荷試験として慢性呼吸器疾患患者の運動耐容能や薬剤やリハビリテーションなどの効果の評価に頻用されているが、呼吸器疾患患者の SWT 歩行距離（SWD）のめやすはまだ示されていない。今回 SWT の COPD 患者における標準値を求めるため、安定期にある COPD 患者に SWT を実施し、その歩行距離と臨床各パラメーターとの関係から回帰式を導いたので報告する。

d. 肺リンパ脈管筋腫症（LAM）では肺の中で平滑筋様細胞である LAM 細胞の増殖、嚢胞性変化、II 型肺胞上皮細胞の増殖があり肺の脈管や抹消気道はリモデリングの異常により傷害される。我々は最近ヒトマスト細胞が basic fibroblast growth factor（bFGF）を産生し、肺線維症の肺で筋線維芽細胞や平滑筋細胞増殖と同じ部

位で増殖していることを明らかにした。さらに線維化部位で増殖する II 型肺胞上皮、間質細胞（線維芽細胞、筋線維芽細胞、平滑筋細胞等）に bFGF のレセプターである FGFR1（F1g）と FGFR2（Bek）が発現している事も明らかにした。マスト細胞から産生される bFGF は線維化の病態、組織リモデリングに関与しているものと考えられている。我々は平滑筋様細胞が増殖する LAM でもマスト細胞が増加し同様の役割を担っていないか明らかにするために、患者肺組織を用いて免疫組織学的にマスト細胞、bFGF およびそのレセプターの発現を検討した。

e. 本邦において、肺リンパ脈管筋腫症（LAM）は 2003 年に難病対策事業の調査対象疾患に取り上げられ、同年 4 月には患者団体（J-LAM）も組織され活動を開始している。また昨年から本研究班により LAM の全国実態調査が進行中である。海外では米国の LAM foundation が中心となり各国の LAM 患者団体間の交流が開始され、更に稀少肺疾患研究の国際協力体制も整備されつつある。

我々は最近、海外の LAM 研究者を交えて患者も参加できる LAM に関する勉強会を行った。会に前後して LAM 患者団体から質問、要望を聞くことができた。

本報告では患者団体から得られた質問と要望の内容を紹介し、今後の課題と展望について述べる。

B. 研究方法

a. 2003 年 11 月現在、当院で在宅人工呼吸療法を実施中の患者 60 名を対象にアンケート表を送付した。調査内容

は、診療体制、介護状況、在宅ケア資源の利用状況、経済状況などである。

b. 1998年より当科で作成している COPD 患者データベースより HOT を実施している患者を抽出し 1998年に行った HOT 患者の予後調査の COPD 患者を加えた 575名を対象とした。若年性患者は日本呼吸器学会の COPD ガイドラインの定義に従い分類した。また今回は HRCT 画像で気腫性変化を認める COPD 患者のみを対象とした。

男性患者（若年発症は除く）と女性患者、若年性患者の3群のHOT開始後の生存率をKaplan-Meier法で検討した。

c. 安定期にある COPD 患者で安静時に低酸素血症のないもの 39例（男性 37例、女性 2例）を対象とした。身体計測、臨床症状および肺機能、血液ガスを評価した後に標準プロトコールに従って SWT を実施した。年齢、身長、BMI、BDI、PaO₂、PaCO₂、VC、FEV₁、RV/TLC、DLco の各指標と SWD との相関を検討した後、これらの指標と SWD との間でステップワイズ回帰分析を行い回帰式を求めた。（倫理面への配慮：本研究を行うにあたり、国立療養所近畿中央病院倫理委員会へ研究プロトコールを申請し承認を受けた。患者へは研究成果が発表される事について同意を書面で頂いた）

d. 外科的肺生検で LAM 患者から得られた肺組織 (n=9)、コントロール肺（肺癌健常部位等、n=10）を対象とした。

(1) HE 染色およびコラーゲン、エラスチン等の細胞外基質の染色のため Movat's Pentachrome 染色を行った。

(2) ABC 法による免疫染色 (smooth muscle actin (SMA)、tryptase, chymase、bFGF、Flg、Bek) を行った。また一部肺組織を用い tryptase と bFGF、bFGF と SMA の二

重染色を行った。

(3) 肺組織は point counting を行い半定量し、肺組織重量あたりの volume density で表現した。

倫理面への配慮：本研究は施設内倫理委員会で承認後、対象患者から同意を得て研究を行った。

e. 2003年9月16日、Dr. Joel Moss, MD (NIH, USA) を交え、リンパ脈管筋腫症勉強会 [I] を開催、2003年10月25日、Francis McCormack, MD (Cincinnati, USA) を交えリンパ脈管筋腫症勉強会 [II] を開催した。患者の参加も可能とし、特に10月の会では、患者団体 (J-LAM) の協力のもと事前に質問を調査し勉強会でとりあげた。さらに患者団体からの要望もいただいた。

C. 研究結果

a. 1. 集計結果

今回実施したアンケート集計結果の回収率は 78% であった。換気モードは、TPPV 23%、NPPV 77% と、全国調査の結果と同じ傾向を示した。

2. 基礎疾患

TPPV 群の基礎疾患は、全例神経筋疾患である ALS (11%) であった。残りの 89% は NPPV 群で、COPD 36%、肺結核後遺症 26%、脊髄性進行性筋萎縮症 2%、その他 11% であった。

3. 診療体制

HMV 実施施設の診療体制は、往診に関しては、TPPV 症例では全例、NPPV 症例では 11% で実施されていた。往診施設は、病院からの往診が 24%、診療所からの往診が 28% であった。訪問看護に関しても、TPPV 症例では全例で確保されていたが、NPPV 症例では 36% で実施されていた。実施施設は、訪問看護ステーション 88%、自施設 4%、診療所 8% であった。また、保健師に

よる訪問指導体制は、15%しか確保されていなかった。

4. 介護状況

介護状況では、介護の人手が足りないとの回答は、TPPV 群で 70%、NPPV 群で 22%と両群間で差を認め、介護支援の必要度における両群間の差異が明らかになった。特に、TPPV 群では人手が足りないとの回答が増加傾向にあり、TPPV 群の介護状況に関しては、ほとんど改善がみられない現状が明らかになった。

また、介護の人手が足りない症例のうち、公的介護の利用が 73%、ボランティア 7%、自己負担で人手を確保している例が 7%、人手が足りないままになっている例が 13%であった。介護保険に関しては、利用している症例が 49%で、そのうち介護保険の利用前後で改善が認められた症例は、半数以下の 43%であった。

5. 社会福祉資源利用状況

社会福祉資源の利用状況は、身体障害者手帳を取得している症例が 54%と最も多く、以下特定疾患の認定 18%、障害年金受給 14%、医療券の利用 8%、生活保護を受けている症例 5%であった。

6. 患者・家族の感想

経済的負担に関しては、何とかしのげるとの回答が 64%と最も多く、以下負担が大きい 13%、余裕がある 10%であった。負担が大きいとの回答は改善傾向がみられた。この一因は、例えば人工呼吸器のレンタル供給に保険が適用されたことなどがあげられる。

また、患者・介護者の HMV に対する満足度は、満足している 54%、不安である 30%であった。入院している方がよいとの回答が 2%認められ、在宅の適応について今一度検討する必要があると思われた。

b. HOT 開始年齢は男性患者約 72.3 歳、女性患者約 71.4 歳、若年性患者約 55.9 歳で性別による違いは見られなかった。HOT 開始後の平均生存日数は男性患者約 1587 日、女性患者約 1516 日、若年性患者約 2163 日で性別による違いはなく若年性患者の生存日数は長かった。5 年生存率は男性患者約 46.3%、女性患者 44.1%、若年性患者 60.1%と性別では差がなく若年性患者は生存率は良好であった。50%生存日数は男性患者約 4.86 年、女性患者約 4.37 年、若年性患者 6.37 年と男性患者が女性患者よりやや良好で若年性患者が最も長かった。

今回の対象患者 575 名のうち生存者は 180 名 (31.3%) だった。死因は呼吸不全が約 47%を占め次いで癌が 6.3%だった。(図 2) 性別による死因の割合に違いはなく若年性患者では呼吸不全が 81.2%でほとんどが COPD によると考えられた。

c. 対象症例は年齢平均 68 才、身長 165cm, BMI21.2, 安静時の PaO_2 76.5Torr, PaCO_2 41.0Torr, FEV_1 1160ml, % FEV_1 48.2%で GOLD の stage は I が 2 例, II が 12 例, III が 18 例, IV が 7 例であった。肺気量分画は 28 例で測定され, RV/TLC は 47.0%, DLco は 31 例で測定され, 平均 8.39ml/min/mmHg, %DLco は 54.1%であった。BDI の focal score は平均 7.1 であった。SWD は平均 406m で年齢, VC, FEV_1 , BDI, PaCO_2 および RV/TLC と有意の相関を示した。ステップワイズ回帰分析を用いて SWD 予測値を求めたところ, $\text{SWD} = 591.1 - 7.95 \cdot \text{age} + 0.074 \text{VC} + 17.35 \cdot \text{DLco}$ という式が導かれた ($r=0.749$)。さらに DLco と RV/TLC を除いた指標で再度解析を行ったところ, $\text{SWD} = 695.5 - 7.13 \cdot \text{age} + 0.080 \cdot \text{VC}$ という式が導かれた ($r=0.694$)。

- (1) d. LAM患者肺ではLAM細胞(SMA陽性)の増殖部位に一致し、LAM細胞間とその周辺で tryptase 陽性 chymase 陰性タイプのマスト細胞が著増。
- (2) LAM細胞、マスト細胞増殖病変部位ではコラーゲンの沈着と2型肺胞上皮細胞の増殖が認められた。
- (3) マスト細胞の多くはbFGFを発現していた。LAM細胞はFGF receptorsであるFlgとBekを発現していたが、特にBekはLAM細胞に特異的に発現していた。FlgはLAM細胞以外に2型肺胞上皮細胞、血管内皮細胞、他間質細胞でも陽性。
- (4) bFGF陽性マスト細胞の量、Flg陽性細胞の量、Bek陽性細胞の量はコントロールに比べ有意に増加($p < 0.05$)。
- e. (1)患者からの質問を以下に列挙する。
- 日常生活、運動の程度はどの程度行っているのか？
 - 運動により病気自体は悪化しないか。
 - 呼吸リハビリは有効か？
 - 仕事、結婚、出産に関する質問。
 - 検査に関する質問。
 - 遺伝子検査(TSC遺伝子)の質問。
 - 医師によって言うことが違う？
 - 患者によって進行予後が違う？
 - 気胸の治療に関する質問。
 - ホルモン療法の効果、副作用、開始時期と方法(特に卵巣摘出術)。
 - 新しい治療法(ラパマイシン療法等)に関する質問？
 - 米国、他の海外LAM事情について？
 - 肺移植の現状について。

- (2)患者からの要望は以下の通り。
- “若い女性が苦しんでいる不治の病、そして死と向き合う毎日から一

刻も早く救ってほしい。”

- 難病(特定疾患)の研究対象疾患に取り上げられたが、早くLAMの病態が解明され新しい治療法を確立してほしい。
- 早く医療費補助の対象になるよう要望。(医療費負担のため治療できない患者、諦めている患者もいるとのこと)。
- 地域、施設で治療方法が異なり統一されていない。標準的診断治療方針(ガイドライン)の確立を要望。
- 移植医療に関する要望：
 - (a) 臓器移植のための提供施設、移植施設数の増加を。
 - (b) 臓器提供カードの見直しは必要ないか？
 - (c) 移植治療(費用、術後の経過情報等)の詳しい情報の提示。
- 治療等の最前線の報告、講演、研究会セミナーなどで情報が患者にも提供されるよう要望。
- 医療費の自己負担減免など緊急な生活支援を要望。
 - (a) 在宅酸素療法に伴う経費の軽減。
 - (b) 在宅酸素療法の改善(費用、機械の改善、酸素飽和度計の提供等)
 - (c) 呼吸機能障害者が住みやすい住宅改造への助成。
 - (d) 車椅子等の福祉用具の充実。
- LAMと告知された後の、きめ細かいフォロー。
- LAM患者向けハンドブックの作成(日常の注意点、治療方針のガイドライン、食生活、運動療法、呼吸リハビリテーション等)

尚、今回、質問と要望をまとめたいただいた患者団体(J-LAM)は、当時会員数31人、平均年齢 37 ± 9 才、68%