

って誘導され得るこれらの動脈硬化を促進あるいは防御する因子がOSAS患者における動脈硬化の進展に関与している可能性について検討するために血中のこれらの物質を測定した。

B. 研究方法

〔対象〕

1) 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の phenotype と臨床的特徴

症状安定期において気管支拡張薬吸入後の FEV_1/FVC が 70%未満の COPD 患者を対象とし、肺結核後遺症、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た。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 316 例の内これらの条件を満たし、かつ評価可能な HRCT 画像のある 212 例を対象とした。

2) Impulse Oscillometry (IOS) 法による COPD 患者末梢気道抵抗の評価と COPD phenotype との関係

外来通院加療中の COPD 患者 62 名を対象とした。内訳は男性 58 名、女性 4 名で年齢の平均は 62 ± 23 歳、GOLD の重症度分類では I 期が 22 名、II 期が 20 名、III 期が 17 名、IV 期が 3 名である。62 名中胸部 HRCT を施行した 45 名では気管支の壁肥厚を有する群と有しない群に分けても検討をおこなった。また、呼吸器疾患を持たない 10 名を対照群とした。

3) COPD の phenotype と動的肺過膨張

当科外来通院中の症状安定期にある COPD 患者 63 名 (男性 54 名、女性 9 名、

平均年齢 70 ± 1 才) を対象とした。COPD の診断は日本呼吸器学会 COPD ガイドラインに従った。全員、喫煙が原因と考えられる COPD で、喘息合併例や呼吸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は除外した。COPD 患者の内訳は、GOLD の重症度分類で Stage I が 18 名、Stage II が 24 名、Stage III が 17 名、Stage IV が 4 名で、1 秒量の平均が 1.42 ± 0.09 L、対予測値では $64.0 \pm 3.2\%$ 、1 秒率 (FEV_1/FVC) は $50.7 \pm 1.5\%$ 、残気量は $185.3 \pm 6.5\%$ 、肺拡散能力 (DLco) は $62.9 \pm 3.1\%$ 、 PaO_2 は 72.1 ± 1.4 Torr、 $PaCO_2$ は 40.1 ± 0.6 Torr である。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、非喫煙者 (non-SM) 11 名) を対照とした。

4) ドック検診で行われる低 X 線胸部 CT による COPD 患者の検出

2003 年 2 月 1 日から 2004 年 1 月 31 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 1359 名、女性 888 名を対象とした。

5) Th2 サイトカイン刺激培養ヒト正常気道上皮細胞における MUC5AC と hCLCA1 の関係

<細胞培養> 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) などを正常ヒト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、異常細胞の混入のないよう心がけた。尚、こ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。

6) 肺リンパ脈管筋腫症に関する全国疫学調査

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799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129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16年12月までに84施設(65%)より170症例(重複を除く)の回答が寄せられた。

7) 低酸素により誘導される動脈硬化関連分子と睡眠時無呼吸症候群との関連について

昼間の過眠、傾眠、夜間中途覚醒といった睡眠障害に基づく症状や睡眠中の無呼吸を指摘され、この1年間に外来を受診し、終夜 polysomnograph (PSG) 検査にて無呼吸低呼吸指数(AHI)が10回/時間以上の閉塞性睡眠時無呼吸症候群と診断された患者の内女性を除外した男性60名を対象とした。すべての対象者はOSASに対する治療を受けたことが無く、癌、膠原病、全身性炎症性疾患の無い患者である。また、厚生連篠ノ井総合病院の人間ドッグを受診し、昼間の過眠、傾眠、夜間中途覚醒といった睡眠障害に基づく症状は無いが、希望にてPSGを施行した男性の内、AHI<5回/時間の睡眠時無呼吸症候群(SAS)の無い30名を対照群(コントロール群)とした。本研究への参加は自由意志で、すべて十分な説明と同意が得られた方である。

〔方法〕

1) 慢性閉塞性肺疾患(COPD)の phenotype と臨床的特徴

胸部 High-resolution computed tomography (HRCT)は以下の条件によって撮影した。肺気量位:深吸気位、電圧:120kV、電流:200~250mA、スライス厚: ≤ 3 mm、ウインドウレベル:-700~-900HU、ウインドウ幅:800~1000HU、撮影部位:上・中・下肺野(上:大動脈弓上縁付近 中:気管分岐部付近 下:右横隔膜上1~3cm付近)。肺気腫病変については、Goddardの評価法⁴⁾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低吸収領域(LAA)の程度を以下の5段階に分類しスコア化した。0点: $0\% \leq LAA < 5\%$ 、1点: $5\% \leq LAA < 25\%$ 、2点: $25\% \leq LAA < 50\%$ 、3点: $50\% \leq LAA < 75\%$ 、4点: $75\% \leq LAA$

これらを合計することにより以下の通りにGrade 0から4の5段階に分類した。Grade 0:合計0点、Grade 1:合計1~6点、Grade 2:合計7~12点、Grade 3:合計13~18点、Grade 4:合計19~24点。気道病変についてもBhalla system⁵⁾に基づいて気管支壁肥厚の程度を視覚的に評価し、以下の通りGrade 0から2の3段階に分類した。Grade 0:なし、Grade 1:軽度~中等度(<50% 隣接する肺動脈径)、Grade 2:顕著($\geq 50\%$ 隣接する肺動脈径)。気管支拡張の程度を以下の通りGrade 0から2の3段階に分類した。Grade 0:なし、Grade 1:軽度~中等度(=100~200% 隣接する肺動脈径)、Grade 2:顕著($\geq 200\%$ 隣接する肺動脈径)。気道の評価は右B1・下葉区域枝などのcross sectionを得られやすい部位で行った。なおHRCTの読影は呼吸器科医師2名により臨床情報が一切入らない状況下で独立して行っ

た。これらの分類をもとに COPD 患者を① 気道病変優位型（気腫性病変が全体の 25%以下（Grade 0～1）で、気道病変の有無は問わない）、② 肺気腫優位型（気管支拡張や気管支壁肥厚といった気道病変がなく、Grade 2～4の気腫性病変のみを示す）、③ 混合型（気管支拡張や気管支壁肥厚といった気道病変（Grade 1～2）と Grade 2～4の気腫性病変を併せ持つ）、④ 線維症合併型（気腫性病変に肺野の線維化を伴う群）の 4つの phenotype に分け、COPD 調査票をもとに臨床的特徴につき検討した。

COPD 調査票には、年齢、性別、症状出現年齢、診断時年齢、合併および既往症（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・Brinkman Index・断煙歴）、間接喫煙歴、喫煙以外の粉塵暴露歴、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、血液学的特徴（ $\alpha 1$ -antitrypsin・白血球数・CRP・好酸球数・好酸球比率・IgE・特異的 IgE）、Body Mass Index、呼吸機能検査（%VC、%FEV₁、FEV₁/FVC、%RV、RV/TLC、%DLco）、気管支拡張薬（ $\beta 2$ 刺激薬）吸入に対する反応性、ステロイド治療に対する反応性、1 秒量の経年変化（ Δ FEV₁/ml/year）、誘発喀痰検査（細胞分画）、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、HOT・NPPV 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) Impulse Oscillometry (IOS) 法

による COPD 患者末梢気道抵抗の評価と COPD phenotype との関係

安静呼吸している被検者の口腔側から気流振動を加え、その際に生じた圧と気流速度から呼吸インピーダンスが求められる。IOS法では、広い周波数帯域を含むインパルス状の気流振動を加え、得られた圧・気流速度の信号をインパルスごとにコンピューターが高速フーリエ変換、呼吸器系のインピーダンスが周波数ごとに得られ部位別の呼吸抵抗を解析できる。5HzでのRrs (R5) は全気道抵抗を、20HzでのRrs (R20) は中枢気道抵抗を、R5-R20は末梢気道抵抗を示す。5HzでのXrsは末梢容量性リアクタンスを示す。

3) COPD の phenotype と 動的肺過膨張

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上で検査をおこなった。スパイロメトリーおよび DLco の測定は CHEST 製 Chestac-55 V を用いて測定し、肺気量分画および動的肺過膨張の測定は Med Graphics TM 社製 Body Plethysmography system 1085 を用いて、ボディプレチスモグラフィ法にて測定した。呼吸抵抗は VIASYS 社製、MS-IOS を用いて測定した。

1. 過呼吸法による動的肺過膨張の測定

Body Box 内で呼気・吸気を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 EELV、IC、予備呼気量 (ERV) を測定した。引き続いて 30 回/分、40 回/分と呼吸数を増やし、同様の測定をおこなった。動的肺過膨張の指標として 20 回/分の呼吸時の IC から 30 回/分あるいは 40 回/分過呼吸時の IC を引いた IC の減少量（各々 Δ IC30 およ

び△IC40) で表した。

II. COPD phenotype と動的肺過膨張の比較

胸部 HRCT 画像より以下の如く3つの phenotype に分けた。気腫性病変については、Goddard の評価法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 Grade 1 以下の気腫病変が目立たない気道病変優位型(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、grade 2 以上の気腫性病変のみを示す肺気腫優位型、③気管支拡張や気管支壁肥厚といった気道病変と grade 2 以上の気腫性病変を併せ持つ混合型に分類し、動的肺過膨張を比較した。

III. 短時間作動型吸入 β_2 刺激薬および吸入抗コリン薬の動的肺過膨張に対する効果

体プレチスモグラフィ法での動的肺過膨張測定および MS-IOS による呼吸抵抗の測定終了後、COPD 患者45名においてプロカテロール $20\mu\text{g}$ を吸入させ、30分後に再び20、30、40回/分での EELV、IC、ERV を測定した。COPD 患者31名においてはオキシトロピウム 0.2mg を吸入させ、吸入1時間後に再度20、30、40回/分での EELV、IC、ERV を測定した。両群間で呼吸機能および動脈血液ガス上差を認めていない。また、各々20名では IOS 法による呼吸抵抗も測定した。

IV. 末梢気道抵抗と中枢気道抵抗の評価

MS-IOS を用いて 5 Hz および 20 Hz の周波数での呼吸抵抗を IOS 法によって測定し、5 Hz での呼吸抵抗 (R5) を全気道の呼吸抵抗とし、20 Hz での呼吸抵抗 (R20) を中枢気道抵抗とし、両者の差である R5-R20 を末梢気道抵抗として評価した。また、5 Hz でのリアクタンスである X5 は末梢肺のコンプライアンスを表す指標として測定した。

4) ドック検診で行われる低X線胸部CTによるCOPD患者の検出

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)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。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。Low attenuation area (LAA) の評価は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)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%)で評価した。気腫性病変の視覚的評価はGoddardらの分類法に基づきvisual scoreを算出した。フクダ電子社製Spiroshift SP-700を用いて、 β_2 吸入薬吸入後およそ15-45分後にスパイログラムを測定した。COPDの診断はGOLDの基準に従った。統計学的検討は2群間の検討を、単変量解析に関してはt検定ないしは χ^2 乗検定を用い、 $p < 0.05$ で、有意差ありと判断した。また、多変量解析(stepwise法で変数選択)をおこない、スクリーニング式を作成した。

5) Th2サイトカイン刺激培養ヒト正常気道上皮細胞におけるMUC5ACとhCLCA1の関係

ヒト正常気道上皮細胞の培養は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細胞増殖にはtype IVコラーゲン(Cellgen®, KOKEN)をコーティングした細胞培養用プレートを用い、培養液はLHC-9®(Biofluid)を用いた。継代時の細胞密度は $4 \sim 7 \times 10^3 / \text{cm}^2$ で行った。②細胞分化のためには培養用インサート(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にも培養液をいれ、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))を用いた。細胞密度は1インサートにつき $3 \times 10^5 / \text{cm}^2$ 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), Endothelial cell growth supplement (8.34 $\mu\text{g/ml}$, UBI), Retinoic acid (10^{-7}M , Wako), Bovine serum albumin (2.0 $\mu\text{g/ml}$, ITOHAM FOODS), Hydrocortisone (0.5 $\mu\text{g/ml}$, Wako), Triiodothyronine (10ng/ml, ICN), Antibiotic-Antimycotic (1%, GIBCO)を添加して用いた。ALI作成後、14日間培養を行った。また、培地の交換は①および②のALI前までは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・分化の方法はYamayaら、Grayらの原著^{17), 18)}を参照した。

< IL-4, IL-13 刺激 > IL-4 (10ng/ml, recombinant human IL-4, PeproTec), IL-13 (10ng/ml, recombinant human IL-13, BIOTEC)を細胞分化用培養液に添加してALI以降14日間刺激した。

<細胞解析>

杯細胞過形成の有無を検討するため、ALIにて培養したヒト正常気道上皮細胞を20%中性緩衝ホルマリン液で固定した。このPAS染色標本において任意に場所を選択し、250 μm 範囲の細胞核数を異なる5検体で計測し、総細胞核数に占めるPAS陽性細胞数の割合を検討した。

<RT-PCR> IL-4、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、MUC5ACおよび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。各プライマー (MUC5AC, hCLCA1) (表 1) を用いて遺伝子増幅を行った。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。

〈免疫染色〉IL-4、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免疫染色を行った。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, Lab Vision Corporation) および抗 hCLCA1 ウサギ抗体¹⁹⁾ (1:200) を用いて 4°C, overnight でインキュベートした。PBS で洗浄し、MUC5AC は 100 倍希釈した anti-Mouse immunoglobulins / HRP (DAKO) で、hCLCA1 は 200 倍希釈した anti-Rabbit immunoglobulins / HRP (DAKO) 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。サイトカイン刺激の代わりに PBS を加えたものを無刺激コントロールとした。

〈蛍光免疫二重染色〉上記 2 種のサイトカインで刺激したヒト正常気道上皮細胞に発現する MUC5AC および hCLCA1 蛋白の局在と関係を検討するために蛍光免疫二重染色を行った (コントロールは上記に同じ)。一次抗体処理の後、FITC 抗 MUC5AC マウス抗体 (1: 200, Jackson ImmunoResearch laboratories) および Cy3 抗 hCLCA1 ウサギ抗体 (1: 500, Jackson ImmunoResearch laboratories) を用いて二重染色した。尚、核染色は DAPI

(Sigma) を用いた。Leica 社レーザー共焦点顕微鏡 (TCS SP2 AOBS) を用いて観察を行った。〈統計〉PAS 陽性細胞比率の解析に unpaired t 検定を用いた。

6) 肺リンパ脈管筋腫症に関する全国疫学調査

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。調査票の各事項についての集計を行い、Kaplan-Meier 法を用いて長期予後を算出した。また、予後に関する因子につき、generalized Wilcoxon's test と Cox の比例ハザードを用いて解析を行った。

《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

7) 低酸素により誘導される動脈硬化関連分子と睡眠時無呼吸症候群との関連について

PSG 検査終了の早朝6～7時に肘静脈より採血をおこない、血清および血漿分離をおこなった後に -80°C で凍結保存した。血清中の高感度CRP (hs-CRP) はラテックス比濁法により、血清TF、MCP-1、Hsp-70、HGF および血漿VEGFはELISA法にて測定した。

C. 研究結果

1) 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の phenotype と臨床的特徴

気道病変優位型は48例(22.6%)、肺気腫優位型は90例(42.5%)、混合型は65例(30.7%)、線維症合併型は9例(4.2%)であった。気道病変優位型の内、気腫病変を画像上全く認めないCOPDは28例(13.2%)にみられた。線維症合併型は例数が少ないため、気道病変優位型、肺気腫優位型、混合型の3群で比較をおこなった。胸部HRCTにおけるLAAのgradeについては肺気腫優位型と混合型との間には有意な差をみとめなかったが、気管支壁肥厚・気管支拡張の程度は気道病変優位型と比較して混合型で強かった。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、喘息合併が肺気腫優位型に比較して気道病変優位型や混合型で多かった。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。間接喫煙歴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、混合型と比較して、肺気腫優位型において喀痰、咳嗽、喘鳴のない症例が有意に多く、気道病変優

位型と混合型において発作性咳嗽や安静時および労作時ともに喘鳴を有する例が多かった。呼吸機能検査では、気道病変優位型において1秒率および肺拡散能力(DLco)は高く、全肺気量(TLC)は低値であった。 β_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。ステロイド投与による気流制限の可逆性は、混合型において肺気腫優位型と比較して有意に高かった。誘発喀痰中の細胞分画では、肺気腫優位型と比較して気道病変優位型および混合型において好酸球の比率が高く、混合型で有意な差を認めた。

次に、気管支壁肥厚・拡張といった気道病変を有するCOPDと有しないCOPDとに分けて検討をおこなった。気道病変を有するCOPDでは以下の特徴を有する。① 喘息の合併や既往を有する者が多い。② 喀痰、湿性咳嗽および発作性咳嗽、安静時・労作時の喘鳴を有する者が多い。③ 症状の増悪頻度や入院回数が多い。④ CRPが高値。⑤ 閉塞性障害が強いが肺拡散能は保たれ、肺過膨張も顕著ではない。⑥ 吸入ステロイド治療に対する1秒量の改善が比較的良好で喀痰中の好酸球が増加を示す例が多い。また、気管支拡張のみを有する例では慢性副鼻腔炎の合併が多くみられた。

2) Impulse Oscillometry (IOS) 法によるCOPD患者末梢気道抵抗の評価とCOPD phenotypeとの関係

COPD患者では、呼吸器疾患を持たない対照者と比較して全気道抵抗を示すR5、中枢気道抵抗を示すR20、末梢気道抵抗を示すR5-R20の有意な高値を認め、肺エラストランスを示すX5は有意な低値を示した。COPD患者では、%FEV₁とR5、R5-R20の間に有意な負

の相関関係を認めた (R5; $r=0.55$, R5-R20; $r=0.68$)。また%FEV₁とX5の間に正の相関関係を認めた ($r=0.47$, $p<0.01$)。COPD症例の中でも、胸部CT上明らかな気管支壁肥厚を認める群は気管支壁肥厚を認めない群よりも全気道抵抗を示すR5・中枢気道抵抗を示すR20・末梢気道抵抗を示すR5-R20が有意に高値を示した。吸入 β_2 刺激薬に対する反応性をみると、気管支壁肥厚を有する例、すなわち気道抵抗が高値を示す症例では有意に全気道抵抗および末梢気道抵抗の低下は顕著に現れより有効である可能性が示唆された。

3) COPDのphenotypeと動的肺過膨張

I. COPDにおける動的肺過膨張とその規定因子

COPD患者において、20、30、40回/分で測定されたEELVは非喫煙健常人およびCOPDの無い喫煙群と比較して有意に高値で、ICは有意に低値を示した。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($r=0.59$, $p<0.01$)。また、COPD患者群において動的肺過膨張の指標である Δ IC30および Δ IC40は、%DLco/VAと有意な負の相関がみられ($r=0.41$, $r=0.31$, $p<0.01$)、DLco/VAが低値であるほど動的肺過膨張が大きかった。1秒量との関係では Δ IC30とのみ有意な負の相関がみられた($r=0.30$, $p<0.05$)。HRCT画像による

COPDのphenotypeとの関係をみると、いずれの群も%1秒量の平均値に差はないが気道病変優位型に比べ、肺気腫優位型において有意に Δ IC40は大きく、動的肺過膨張は顕著であった。また気道病変の有無には差を認めない。

II. 短時間作動型吸入 β_2 刺激薬および吸入抗コリン薬の効果

β_2 刺激薬であるプロカテロール20 μ gの吸入前後でIC20は変化がなかったが、IC30およびIC40は有意に上昇した。さらに過呼吸に伴う動的肺過膨張を完全に抑制することはできなかったが、IC40の減少量(Δ IC40)は有意に抑制された。一方、吸入抗コリン薬であるオキシトロピウム0.2mg吸入前後ではIC20、IC30およびIC40はいずれも有意に上昇を示した。しかし、過呼吸にともなうIC30およびIC40の減少量は不変であり動的肺過膨張は抑制されなかった。IOSによる呼吸抵抗への効果をみると、 β_2 刺激薬および吸入抗コリン薬いずれの吸入にても全呼吸抵抗および末梢呼吸抵抗を表すR5-R20は有意に抑制された。つまり、拡張部位については薬理的に差を認めなかった。

4) ドック検診で行われる低X線胸部CTによるCOPD患者の検出

男性1359名、女性888名が胸部CT検査と肺機能検査を含んだ健康診断を受診した。平均年齢は53.7 \pm 12.7歳であった。喫煙歴は、男性1088名(80.1%)、女性108名(12.2%)で、過去喫煙者数は457名、現喫煙者数739名であった。それぞれの喫煙指数は22.7および30.7(pack/years)であった。自覚症状は咳のみが504名、痰のみが547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1525名であった。呼吸機

能検査の結果から48名が GOLD stage I以上に分類された。男性が40名、女性が8名で、うち喫煙者数は男性34名、女性2名であった。呼吸器症状を有する722名のうち104名は stage 0に分類された。LAA%と visual scoreにおいて、スクリーニングとして最適なカットオフポイントを設定するために、それぞれのROC曲線を作成した。LAA%においては、カットオフ値を10%とした場合、感度93.8%、特異度52.9%、20%とした場合、感度72.9%、特異度83.1%、30%とした場合は、感度58.3%、特異度95.7%であった。visual scoreでは、カットオフ値を1(平均のLAA \leq 25%)とした場合、感度66.7%、特異度90.1%、2(LAA \leq 50%)とした場合、感度58.3%、特異度92.2%、3(LAA \leq 75%)とした場合は、感度47.9%、特異度95.8%であった。さらに、LAA%と visual scoreを説明変数としたロジスティック回帰分析から求められた予測確率をカットオフ値としたROC曲線を作成した。LAA%のオッズ比は1.1(95%CI: 1.06-1.14)であり、visual scoreのオッズ比は1.3(95%CI: 1.12-1.42)であった。ROC曲線下面積は0.90であった。また、モデルの適合度検定は、 $P>0.15$ (χ^2 乗値12.0, 自由度8)であった。有意確率を0.009とした場合、感度は95.8%、特異度58.2%であった。また、有意確率0.0017では、感度83.3%、特異度80.0%、有意確率0.0338では、感度75.0%、特異度92.7%であった。LAA%と Visual scoreのそれぞれのカットオフポイントを用いた組み合わせの検討を行なった場合、LAA%=10陽性 and Visual score=1陽性をスクリーニング陽性とした場合、感度62.5%、特異度94.0%であった。本調査対象における positive predictive values (PPV)は

18.6%、negative predictive values (NPV)は99.1%であった。2つの検査で両方陽性の患者をスクリーニングテスト陽性とした場合、他の組み合わせでこれ以上に感度が高いものはなかった。LAA%=10陽性 or Visual score=1陽性をスクリーニング陽性とした場合、感度97.9%、特異度48.6%、PPV4.0%、NPV99.9%であった。LAA%=20陽性あるいは Visual score=1陽性では、感度87.5%、特異度76.6%、PPV7.6%、NPV99.6%、LAA%=30陽性あるいは Visual score=1陽性では、感度81.3%、特異度87.5%、PPV12.5%、NPV99.5%であった。

Stage 0に関しては喫煙、性別、Visual score やいくつかの肺機能検査が有意差を示したが、多変量解析では、前3者のみが有用であり、それを基にしてROC曲線が作成可能であった。モデルの適合度検定は、 $P<0.0001$ (χ^2 乗値34.6, 自由度3)であった。有意確率を0.0587とした場合、感度は44.7%、特異度79.8%であった。有意確率0.0387では、感度65.1%、特異度52.2%であった。また、有意確率0.0327では、感度87.4%、特異度33.4%であった。

5) Th2サイトカイン刺激培養ヒト正常気道上皮細胞におけるMUC5ACとhCLCA1の関係

I. IL-4, IL-13 刺激による杯細胞過形成

IL-4, IL-13 刺激の両者とも、10ng/mlの刺激により著明なPAS陽性細胞の増加が認められた。このいずれもPBS添加サイトカイン刺激無しの検体に比べ有意にPAS陽性細胞数の増加が見られた。IL-13刺激による杯細胞過形成については前年度に報告したが今回IL-4単独刺激によるPAS陽性

細胞比率の検討においても同様の結果が得られた。

II. IL-4, IL-13 刺激による MUC5AC、hCLCA1 遺伝子・蛋白発現

各々10ng/ml の IL-4 または IL-13 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。無刺激コントロールでは MUC5AC の弱い発現はみられたが hCLCA1 の発現は陽性バンドとして認識できなかった。また、免疫染色においても RT-PCR と同様の条件でサイトカイン刺激を行った結果、IL-4、IL-13 のどちらも10ng/ml の刺激で杯細胞の PAS 陽性部分に一致して MUC5AC および hCLCA1 蛋白の発現を認め、無刺激コントロールでは MUC5AC、hCLCA1 陽性所見は得られなかった。以上により、IL-4、IL-13 は共に、ヒト正常気道上皮細胞において MUC5AC、hCLCA1 遺伝子・蛋白の発現亢進を惹起することが示された。

III. MUC5AC および hCLCA1 蛋白の局在と関係

蛍光免疫二重染色法により、これら二者の蛋白発現の関係と局在について検討した。蛋白発現の関係についてはいずれも過形成を起こした杯細胞にのみその発現が認められ、両者陽性、MUC5AC陽性—hCLCA1陰性の杯細胞はみられたが、MUC5AC陰性—hCLCA1陽性の杯細胞はみられなかった。両者陽性の杯細胞における蛋白の局在については強拡大および共焦点顕微鏡の焦点面を変化させることにより、MUC5AC 蛋白は粘液顆粒そのものに陽性所見として観察され、hCLCA1 蛋白はその各々の MUC5AC 陽性の部分の周囲を取り巻くように発現が認められることが示唆された。

6) 肺リンパ脈管筋腫症に関する全

国疫学調査

I. 診断方法

肺からの病理診断のある症例は全体の82%で、内わけは胸腔鏡下肺生検が最も多く6割程度、経気管支肺生検と開胸肺生検がそれぞれ2割程度、剖検によるものが少数含まれた。症状と呼吸機能検査、胸部 CT 検査からの臨床診断は13%、肺外病変からの病理診断と臨床像を併せて診断されているものは3%であった。

II. 患者背景

170 例中 169 例が女性、TSC-LAM の1例のみ男性であった。症状出現年齢は平均31.6歳で20~35歳にピークがあった。診断年齢は平均33.9歳で、症状出現から診断までの期間は平均2.4年であった。喫煙歴は過去も含めると21%であった。妊娠歴は46%、出産歴は43%であった。3人に閉経後の症状出現があり、1人に経口避妊薬、9人にエストロゲン製剤の使用歴があった。

III. 症状

初発症状は気胸が最も多く42%、次いで労作時息切れ35%、胸部異常陰影12%、腹部腫瘤に関連した症状が5%、その他、胸水、血痰、咳嗽が少数みられた。ただし、全観察期間中では72%の症例で気胸の発症を認め、75%の症例で労作時息切れの訴えがあった。肺外病変としては、腎血管筋脂肪腫が25%、腹部のリンパ節腫大が22%で認められ、乳び腹水、乳び胸水はそれぞれ7%と12%であった。

IV. 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38%、Sporadic LAM では8%であった。HMB-45 免疫染色は全体の73%、エストロゲンレセプターは41%、プロゲステ

ロンレセプターは 61%で陽性であった。

V. 検査結果

動脈血ガスでは、初回検査での酸素吸入下の割合は 12%、低酸素血症 ($\text{PaO}_2 < 80\text{Torr}$) は全体の 63%にみられ、さらに最終検査では酸素吸入のある割合が 51%へ増加していた。また、経過中 pH が低下、 PaCO_2 が増加する傾向がみられた。呼吸機能検査では、 $\%FEV_1$ 、 FEV_1/FVC の低下傾向がみられ、特に閉塞性障害 ($FEV_1/FVC < 70\%$) は初回検査 (診断から平均 0.7 年) で 46%、最終検査 (初回検査から平均 3.5 年) で 58%に認めた。肺拡散能の低下 ($\%DLco < 80\%$) は初回検査で 86%程度にみられ、 $\%DLco$ 、 $DLco/V_A$ 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 の増加が著明であり、初回検査で 43%、最終検査で 59%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。

VI. 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 56%、プロゲステロンの使用歴は全体の 36%、抗 Gn-RH が 28%、タモキシフェンと外科的卵巣摘出術がそれぞれ 8%であった。

VII. 気胸に対する治療

全経過で気胸を発症した症例は 72%であり、1 人あたりの平均治療回数は 3.0 ± 2.6 回であった。手術または胸腔鏡手術を受けた症例は 42%、胸膜癒着術を受けた症例は 38%であった。

VIII. 在宅医療

在宅酸素療法が開始されたのは全体の 38%で、1%で在宅人口呼吸療法も行われていた。

IX. 肺移植

回答のあった症例のうち、肺移植を考慮しているかまたは脳死肺移植登録済みである症例は 12%であった。移植後の症例は 5 例で、生体肺移植 3 例、脳死肺移植 2 例であった。

X. 長期予後と予後因子に関する検討

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、全患者で 6.6 ± 6.0 年 (平均 \pm SD) ($n=153$)、生存患者で 6.5 ± 6.1 年 ($n=138$)、死亡患者で 7.4 ± 5.5 年 ($n=30$) であった。Kaplan-Meier 法による予測生存率は 5 年後 91%、10 年後 76%、15 年後 68%であった。初発症状が労作時呼吸困難であった症例 ($n=62$) と気胸であった症例 ($n=71$) とで生存率を計算すると、前者では 5 年生存率 85%、10 年生存率 60%、15 年生存率 47%であったのに対し、後者ではそれぞれ 95%、89%、89%であり、両者には generalized Wilcoxon's test にて有意差 ($p < 0.01$) を認めた。同時に労作時呼吸困難発症は気胸発症より発症年齢の高い傾向がみられたため、Cox の比例ハザードを用いて初発年齢も同時に説明変数としたところ、初発年齢とは独立に症状による有意差 (ハザード比 5.731, $p < 0.01$) を認めた。初回と最終の 2 回分で記入されている呼吸機能検査結果から、一秒率と一秒量の変化率を算出し、労作時呼吸困難発症例と気胸発症例別に検討すると両群ともに、一秒率、一秒量のどちらにおいても初回検査で著名に低下している症例ではその後の変化率が小さく下がり止まっている傾向がみられた。初回検査で一秒率 40% 以上または一秒量 1000mL 以上の症例

に限定した上で労作時呼吸困難発症と気胸発症とに分けて検査値と変化率を比較したところ、労作時呼吸困難発症では気胸発症に比べて有意に初回一秒率が低く（ウィルコクソンの順位和検定、 $p < 0.01$ ）、さらにその後の低下率も大きかった（ $p < 0.05$ ）。同様に一秒量についても労作時呼吸困難発症では気胸発症に比べて有意に初回の値が低く（ $p < 0.01$ ）、その後の低下率も大きかった（ $p < 0.01$ ）。

7) 低酸素により誘導される動脈硬化関連分子と睡眠時無呼吸症候群との関連について

OSAS 群ではさらに重症度を軽症（ $10 \leq \text{AHI} < 30$ 回/時間）、中等症（ $30 \leq \text{AHI} < 60$ 回/時間）、重症（ $60 \leq \text{AHI}$ ）の3群に分けて検討をおこなった。喫煙歴はいずれの群においても有意な差を認めなかった。年齢は重症群において最も低く若年であった。Body mass index (BMI)、高血圧および耐糖能異常を有する頻度、血中 HbA1c 値および尿酸値は OSAS 群で有意に高く、重症群で最も高値を示した。また、重症群では高脂血症を有する頻度、血中中性脂肪の値はコントロール群と比較し有意な高値を示した。表2に PSG の結果と動脈硬化関連因子の結果を示す。重症度に応じて 3%ODI（経皮的酸素飽和度（ SpO_2 ）が3%以上低下する1時間あたりの回数）、CT90（ SpO_2 が90%未満を占める全睡眠に対する割合）は増加を示し、睡眠効率（（徐派睡眠+REM睡眠）/全睡眠）は有意に低下を示した。OSAS 患者において、血漿 VEGF および血清 HGF の有意な上昇はみられなかったが、血清中の hs-CRP, TF, MCP-1 および HSP-70 は有意な高値を示した。さらに hs-CRP, TF および HSP-70 は OSAS の重症度に応じて上昇を示し、

hs-CRP は肥満（ $r = 0.65$, $p < 0.01$ ）、高脂血症罹患率（ $r = 0.29$, $p < 0.05$ ）、耐糖能異常（ $r = 0.30$, $p < 0.05$ ）、総コレステロール値（ $r = 0.40$, $p < 0.01$ ）、HbA1c 値（ $r = 0.29$, $p < 0.05$ ）、AHI（ $r = 0.35$, $p < 0.05$ ）、3% oxygen desaturation index (ODI)（ $r = 0.59$, $p < 0.01$ ）および CT90（ $r = 0.56$, $p < 0.01$ ）と有意な正の相関がみられ、BMI に次いで 3%ODI が良い相関を示した。TF は BMI（ $r = 0.31$, $p < 0.05$ ）、高脂血症罹患率（ $r = 0.28$, $p < 0.05$ ）、AHI（ $r = 0.67$, $p < 0.01$ ）、3%ODI（ $r = 0.53$, $p < 0.01$ ）、CT90（ $r = 0.39$, $p < 0.01$ ）と有意な正の相関を示した。MCP-1 はいずれの指標とも有意な相関を示さなかった。Hsp-70 は BMI（ $r = 0.37$, $p < 0.01$ ）、AHI（ $r = 0.58$, $p < 0.01$ ）、3%ODI（ $r = 0.51$, $p < 0.01$ ）、CT90（ $r = 0.43$, $p < 0.01$ ）、睡眠効率（ $r = -0.30$, $p < 0.05$ ）と有意な相関を示した。血漿 VEGF は高尿酸血症罹患率（ $r = 0.51$, $p < 0.01$ ）、HbA1c 値（ $r = 0.51$, $p < 0.01$ ）、尿酸値（ $r = 0.40$, $p < 0.01$ ）と有意な正の相関を示した。血清 HGF は BMI（ $r = 0.42$, $p < 0.01$ ）、高脂血症罹患率（ $r = 0.33$, $p < 0.05$ ）、3%ODI（ $r = 0.26$, $p < 0.05$ ）、CT90（ $r = 0.47$, $p < 0.01$ ）と有意な正の相関がみられた。各々の血中因子がどのような因子によって規定されているかを multiple stepwise regression analysis によって解析をおこなった。高感度 CRP に関しては BMI、3%ODI が、TF に関しては AHI が、Hsp-70 に関しても AHI が有意な決定因子であり、いずれも睡眠中の無呼吸低呼吸および周期的な低酸素が独立した決定因子として重要に関与していた。MCP-1 に関しては HGF および高感度 CRP のみが有意な決定因子であった。血漿 VEGF については高尿酸血症、HbA1c 値、高脂血症といった従来から言われている動脈硬化危険因子が有意な決定因

子であった。血清 HGF についてはコントロール群と有意な差を認めなかったが、MCP-1, 高感度 CRP に加えて CT90 値が有意な決定因子であり、夜間の低酸素が有意な決定因子となっていた。

D. 考察

1) 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の phenotype と臨床的特徴

従来 COPD の定義において慢性気管支炎および肺気腫という分類が用いられてきた。前者は長期の咳・痰の症状に基づく診断名で、後者は肺胞壁の破壊といった解剖学的診断名であり、全く異なった視点からの分類であって不適当な分類であった。2001年に発表された国際的な COPD ガイドラインである GOLD ではこの両者を分けて取り扱うことは無意味とされ、一括して COPD として治療戦略がたてられており、日本呼吸器学会のガイドラインも GOLD に追従している。COPD は呼吸細気管支より末梢気腔の破壊による肺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・気道病変が様々な割合に絡み合い多様な病態を形成している。これは原因物質の違い、複数の障害因子の関与や障害を受ける宿主側の遺伝的な要因によって障害を受けやすい部位が異なるのではないかと考えられる。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検討することが将来の研究の方向付けに有用である。我々は胸部 HRCT 所見にて視覚的判別が可能な比較的中枢側の気管支壁肥厚および拡張といった気道病変と肺野の低吸収領域として認識される気腫性病変により分類を試みた。気道病変に関しては気流制限に重要な

末梢気道の評価は今のところ HRCT 画像では不可能であり径が 2mm 以上の比較的中枢側の気道しか評価できないが、CT という簡便かつ侵襲の少ないモダリティで評価・分類しその臨床的特徴をとらえ、治療に役立てることができれば非常に意義深いと考えた。気道病変については気管支壁肥厚および気管支拡張の有無・程度を視覚的に右 B 1・下葉区域枝などの cross section を得られやすい部位で評価した。これは全ての症例で同一の気管支で cross section が得られるとは限らず、複数箇所でも評価するのが望ましいと思われたためである。また気管支拡張については下葉枝に最も頻度高く認められるという報告があり少なくとも下葉枝は評価の対象にすべきと考えた。また気管支喘息と比較して COPD は気管支壁肥厚および気管支拡張の両所見が多く見られるという報告があり一括して気道病変として扱う方が良いと考えた。我々は気腫病変がほとんど見られない COPD (気道病変優位型)、気管支壁肥厚や拡張といった気道病変のない気腫病変が主体をなす COPD (肺気腫優位型)、明らかな気腫性病変と気道病変を有する COPD (混合型)、肺野に線維化を伴う COPD (線維症合併型) に分類した。肺気腫優位型が 42.5% と最も多く、気道病変優位型の約半数に可視的な気道病変を認めた。4.2% に明らかな下肺野優位の線維症合併 COPD が認められた。Hiwatari らは 9 例の肺気腫・肺線維症合併例について報告しているが、今回の検討と同様に全例男性で、ヘビースモーカーであり、画像上の所見は蜂巢肺を伴い特発性肺線維症同様 UIP のパターンであった。特発性肺線維症と COPD は全く別の病態であるが、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。肺線維症は肺泡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泡間質の線維化によって特徴づけられる。一方でCOPDは喫煙により好中球や肺泡マクロファージが気道や肺泡腔に集積・活性化し、産生遊離される蛋白分解酵素によって肺泡破壊が生じるという説が成因の一つとして提唱されており、この両疾患は共通した障害過程を経ており、気腫化に線維化を合併しても不思議ではない。残りの3群の比較において臨床的特徴を検討した結果と気道病変の有無によって2群に分けた場合とほとんど差がなく、むしろ気腫性病変の有無に関わらず気道病変の有無によって分けたほうがより差が明確となった。つまり、気道病変を有する群では、気道病変に由来する咳嗽・喀痰が多く、CRPも有意に高値を示した。また臨床的に喘息の合併と判断された症例が8名、現在喘息症状はないが小児喘息を含め喘息の既往を有する症例が8名、合計16名（18.6%）と気道病変の無い群の5.2%と比較して有意に多かった。さらに喘息様症状である発作性の咳嗽や安静時にも喘鳴を伴う症例が有意に多く、誘発喀痰中の好酸球比率も有意に高かった。 β_2 刺激薬に対する可逆性に関しては有意な差を認めなかったが、吸入ステロイドに対する閉塞性障害に対する改善効果も有意に顕著であった。喘息患者や喘息の既往を有する者では気管支壁肥厚が生じ得ることが報告されており、気道病変を有するCOPDでは喘息の合併や既往の有無を考慮する必要がある。しかしながら、多くの気道病変を有するCOPDの中には喘息の合併や既往がないが好酸球性の気道

炎症やステロイドに対する反応性を示すCOPDが存在した。喘息様症状を伴わない安定期COPD患者の約20%前後でステロイドに対して1秒量の改善がみられるresponderが存在し、このステロイドに対する反応性と好酸球性の気道炎症との間に有意な相関があり、喀痰中の好酸球比率の増加を示す患者ではステロイドに反応性を示すことが報告されている。このような患者を喘息合併と考えるのかどうかコンセンサスは得られていないが、吸入ステロイドによる治療戦略を考える上で重要な所見であると考えられる。また、興味あることに気道病変を有する群では有しない群と比較して、症状の増悪頻度や入院回数が多かった。COPDの症状増悪頻度に関して、重症例で症状増悪の頻度が高いことが報告されている。しかし、気道病変を有する群では1秒量は低値の傾向にはあったが有意な差はみられていない。一方、喀痰の多いCOPDでは増悪頻度が高いことが報告されている。気道病変を有する群において慢性下気道感染の有無は不明であるが、喘息様症状を伴う例が多く、咳嗽・喀痰を有する症例が多い点がこの症状増悪に関係していると思われる。

気道病変優位型は気腫性変化が目立たないCOPDで、気管支壁肥厚や拡張を有する症例は21例であるが残りの27例では所見を認めず閉塞性細気管支炎の病態と考えられる。剖検例や手術摘出肺標本の検討において、COPD患者のほとんどの細気管支の壁肥厚や粘液貯留、細胞浸潤といった細気管支病変を認めており、肺気腫病変が目立たず細気管支病変が主体のCOPDが存在してもおかしくはないが、不可逆性の気流閉塞を呈する気管支喘息やCOPD以外の閉塞性細気管支炎との鑑

別が問題となる。気道病変優位型では喫煙歴を有しない比率が有意に高く、48例の中8例において喫煙歴が無い。この8例の内、3例で気管支喘息の既往があり喘息によるリモデリングの可能性が示唆されるが、残りの5例に関しては2例で間接喫煙歴があり、2例は喫煙以外の粉塵暴露歴を有していたが明らかな原因は不明であり、気道病変優位型では喘息、喫煙以外の原因による細気管支炎も考える必要があると考えられる。この気道病変優位型ではその特徴として体重減少が少ない。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 α が考えられる。喫煙による急性炎症と組織破壊の中心的役割を果たすのが、TNF α であり、COPD患者の血液中ではTNF α が増加しており、一方でTNF α は筋芽細胞が活性化され筋肉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、肺気腫病変を有する群においてより高度である可能性が考えられる。肺気腫タイプのCOPDにおいて組織の低酸素状態に伴い血清中TNF α の上昇があり、体重減少を来す一因となっているとする報告もあり、今後の研究に期待したい。

2) Impulse Oscillometry (IOS) 法によるCOPD患者末梢気道抵抗の評価とCOPD phenotypeとの関係

COPD患者剖検例や手術摘出肺標本の検討において、COPD患者のほとんどに細気管支の壁肥厚や粘液貯留、細胞浸潤といった細気管支病変を認めている。また、以前より喫煙者ではフローボリューム曲線で末梢気道閉塞性パターンを示し、small airway

diseaseとして細気管支病変の存在が示唆されている。我々がおこなってきたHRCT画像による形態学的変化の検出では2mm以下の末梢気道の評価は今のところ無理である。そこで今回IOS法を用いて末梢気道を評価した。IOS法はまだ臨床的有用性が確立されているわけではないが、COPD患者では全呼吸抵抗、中枢側呼吸抵抗と共に末梢気道抵抗の有意な上昇を認めた。末梢容量性リアクタンスを示すX5は有意な低値を示し、末梢気道の閉塞を示す所見と考えられる。これらのパラメーターと閉塞性障害と有意な相関関係が得られ、特に末梢気道抵抗と%1秒量との間に $r=0.68$ と最も良好な相関が得られたことや、HRCT画像上明らかな気管支壁肥厚を認める群では気管支壁肥厚を認めない群よりも中枢気道抵抗と共に末梢気道抵抗が有意に高値を示したことは、IOS法によるR5-R20がCOPD患者の閉塞性障害を最も反映し、末梢気道病変を表していると考えられた。また、主に末梢気道に分布するといわれている β_2 受容体に対する刺激薬の吸入にて、中枢気道抵抗より末梢気道抵抗が顕著に低下を示したこと、気管支壁肥厚を有する例、すなわち末梢気道抵抗が高値を示す症例では β_2 刺激薬吸入により、その改善が顕著であったこともR5-R20が末梢気道抵抗をよく反映している証拠である。以上よりIOS法による末梢気道病変の検出は有用であり、COPDの末梢気道病変の評価および気管支拡張薬を含めた治療効果判定に有用である可能性が示唆された。

3) COPDのphenotypeと動的肺過膨張

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。このICの減少程度は DL_{co}/V_A といった気腫病変を反映する指標と最も良い相関が得られたことと、HRCT画像によって分類されたphenotypeでは気道病変優位型と比較して肺気腫優位型で動的肺過膨張が顕著であったこと、さらに同程度の気腫病変を有する肺気腫優位型と混合型で差がなく、気管支壁肥厚や拡張といった比較的中枢気道病変の有無では差がみられなかった。また今回、IOSにて呼吸抵抗を47名で検討したが、 ΔIC_{30} 、 ΔIC_{40} ともに全呼吸抵抗(R5)、中枢および末梢気道抵抗(R20, R5-R20)、リアクタンス(X5)と有意な相関関係はみられなかった。以上のことから動的肺過膨張は気道病変よりも気腫性病変と密接な関係があると考えられる。つまり、

気腫病変によって肺弾性収縮圧は低下し、末梢気道が虚脱しやすくなっているため、air-trapが生じやすい。このことが動的肺過膨張を生じやすくしている可能性がある。しかし、ICの減少は1秒率が正常の喫煙者群にも認められており、また気腫性病変がほとんどみられないCOPDにおいてもみられることから、末梢気道病変も動的肺過膨張を生じさせる一因ではあると考えられる。

β_2 刺激薬および抗コリン薬いずれも運動負荷時のICを増加させ、動的肺過膨張を軽減することが報告されている。我々の検討でも両薬剤ともにIC30およびIC40を有意に増加させ動的肺過膨張の程度を軽減させた。しかしながら、吸入 β_2 刺激薬では呼吸数依存性のIC減少量を有意に抑制したが、抗コリン薬の吸入では抑制せずIC20を増加させることによってIC30、IC40を増加させ全体を底上げしたかたちとなっている。この両薬剤の動的肺過膨張に対する効果の差が薬理学的作用部位の違いによるものかを検討するためにIOS法によって中枢および末梢気道抵抗を分けて評価をおこなったが、両薬剤ともに末梢気道抵抗を低下させた。よって両薬剤の作用部位による違いは考えにくいかもしれない。しかしながら、IOS法による末梢気道抵抗は換気不均等の影響を受けるため、末梢気道の抵抗だけを反映しているわけではない。また、我々の運動負荷をおこなわず、過呼吸法にて動的肺過膨張を評価しているため、過呼吸にともなう動脈中炭酸ガス分圧の低下が影響する可能性がある。いずれにしてもさらに症例を増やして検討する必要がある。

4) ドック検診で行われる低X線胸部

CTによるCOPD患者の検出

本研究の統計学的検索結果から、CTを用いて COPD をスクリーニングできる可能性が示唆された。LAA%、visual score とともに COPD のスクリーニングに用いる指標としての有用性が示唆された。どちらの検査もカットオフ値をどこにとるかで感度、特異度が大きくことなるが、この CT によるスクリーニング後の肺機能検査は、侵襲がない検査であることから感度は高い方がよいと考えられる。そのため、ここで推奨するカットオフ値はLAA%が10%、visual score は1となるが、臨床的にLAA%が10%というのは合致せず問題が残る。LAA%およびvisual score を用いたロジスティックモデルの結果より、ROC 曲線下は 0.9 となり、LAA%、visual score の2つの指標を用いることによって、スクリーニング精度はより高まることがわかった。ロジスティックモデルの予測確率をカットオフ値としてスクリーニングを行うことも可能ではあるが、臨床の現場においてはより簡便性が求められ、適切ではないと考えた。そのため、LAA%、visual score のカットオフ値を組み合わせ合わせたスクリーニングの検討を実施した。組み合わせにより、感度、特異度が異なる。組み合わせをえることにより、COPD の拾い上げを重視するか、また、より確実な診断を重視するかなどの異なる目的に対応することができる。本調査では、PPV が非常に低かった。これは、検査で陽性と判定されたもののうち、COPD である患者をどれぐらいの効率で発見できるかという指標であるが、対象とする集団の有病割合により大きく異なるものである。今回、対象とした集団の COPD の有病割合は 2.1%と一般に報告されている日本の有病割合と比べても非

常に低かった。これについては、対象とした集団が人間ドッグを受診した集団であり、地域住民に比べて年齢層が低いことが考えられる。これらのことにより、住民を対象とする場合、本研究の対象集団に比べるとより効率的に患者を発見できる可能性があると考ええる。

Stage 0 に関しては、患者からの問診のみで抽出することは可能である。この概念は、Vestbo らが言うように、at risk の定義が簡便なため COPD を認知させることに大いに役に立ち、さらに、禁煙を勧めることに関しても有用であることがわかる。しかし、彼らは、stage 0 と診断された患者群を 10 年間経過観察したところ、そのうちの半分は症状がなくなり、新たに stage 0 となった 14%と stage 0 であった 18%が stage 1 以上の COPD になったと報告し、at risk 群自体を嚴重にフォローアップしなくてはいけないのかということに関しては疑問を投げかけている。今回の検討の中で、stage 0 のうちより risk の高い群の検討が存在するかに関して統計学的手法を用いて検討を試みた。健常者群と比較すると性別、喫煙、さらには胸部CT所見において有意差を示し、ROC 曲線を作成することが可能であった。しかし、多変量解析では、ROC 下面積は 0.6 と低値を示したが、解析の目的自体が現在の at risk の分類からパラメータを抽出することから、現在の分類の中に真の at risk がいる(偽の at risk も)とするならば、当然 ROC 下面積は低くなると考えられた。また、今回、ロジスティックモデル変数の一つとして採用した visual score の統計学的な有意確率は余り高くなかったが、その原因としては喫煙との交絡・現在の分類上の問題が考えられた。かつ、

visual score が肺の器質的な変化を示している事、その臨床的意義からは、(COPD への進展が予想され得る) at risk 群の因子として採用できうると考えた。この検討のために、今後、実際に COPD へと進展した群を retrospective に検討し、その適合を検討する必要があると思われた。

5) Th2サイトカイン刺激培養ヒト正常気道上皮細胞におけるMUC5ACとhCLCA1の関係

今回の検討から、IL-4 と IL-13 は各々単独で培養ヒト正常気道上皮細胞において杯細胞過形成を惹起し、MUC5AC および hCLCA1 遺伝子・蛋白発現を亢進させることが示された。更にその両サイトカイン刺激によって形成された杯細胞のPAS陽性部分に局在して上記2種の蛋白発現がみられ、両者陽性、MUC5AC陽性-hCLCA1陰性のパターンのみがみられた。また、両者陽性の杯細胞における各々の蛋白の局在についても示した。この蛋白発現の関係から、これら2者のTh2サイトカインによる刺激によって、まずMUC5AC蛋白の発現が起こり、これに引き続いてhCLCA1蛋白の発現が起こるものと思われた。

MUC5AC 遺伝子の発現は非喘息者に比べて喘息患者で60%の発現亢進がみられるとする報告などがあり、現在16のムチン遺伝子が同定されているが、この内MUC5ACは気道上皮細胞が分泌する粘液に最も関係の深いものである。近年CLCAファミリーに属するCLCA1がヒトの喘息およびCOPDの気道上皮における粘液分泌に重要な役割を演じていることが報告されている。Zhouらは、hCLCA1遺伝子導入したNCI-H292細胞株がムチン産生を亢進させることおよびClチャンネル阻

害剤であるNiflumic acidの添加によりMUC5ACの産生が低下することを示した。また、マウスに経鼻的に*Aspergillus fumigatus* extract antigenを吸入させて発症したマウス気道の杯細胞にmCLCA3(ヒトのhCLCA1に相当)が発現亢進していることを報告している。しかし、Th-2サイトカインがヒト気道上皮に及ぼす影響におけるhCLCA1の役割に関しては未だ不明瞭であり今後とも検討が必要である。我々は昨年、IL-13がヒト正常気道上皮細胞に単独で杯細胞過形成を起し、MUC5ACとほぼ同様の様式でhCLCA1遺伝子も発現亢進することを報告した。培養ヒト正常気道上皮を用いて14日間のIL-4およびIL-13刺激を行い、杯細胞過形成を起こしうるとはAthertonらが報告しているが、今回の我々の検討によってIL-4およびIL-13とともにMUC5ACとともにhCLCA1の発現も亢進させることが示された。更に今回蛋白レベルでの発現に関して検討したが、この結果、遺伝子発現にならって、MUC5AC→hCLCA1発現という順序が示唆された。このことを確認するための蛋白発現のtime-courseや発現定量およびIL-4とIL-13によって亢進するこれら二者の遺伝子・蛋白量に差があるかどうかについては今後の検討課題である。

6) 肺リンパ脈管筋腫症に関する全国疫学調査

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例のそれぞれまとまっ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、今回前段階として行われた一次調査（アンケート回収率42%）にて現在診察中である患者が159例であり、患者の重複（二次調査での患者の重複率は4%）や回収率を考慮すると150～300例の症例が現在診療を受けていると予想された。

臨床症状や呼吸機能検査所見、治療内容については、平成15年度に行った中間報告で考察を行ったが、平均観察期間 6.6 ± 6.0 年の全経過で75%の症例が労作時呼吸困難の症状を呈し、拡散能の低下と閉塞性障害、低酸素血症の進行から、最終的に38%で在宅酸素療法となっている現状などが明らかとなった。

予後に関する検討では、初発症状が労作時呼吸困難である症例と気胸である症例の間で生存率の大きな差を認めた。これまで、佐藤らの自験例での報告において、気胸発見群と非気胸発見群（うち8割が労作時呼吸困難での発症）との比較で気胸発見群の生存率が有意に高かったことが示されている。一方でこのような群分けは同一疾患の異なった病期を捉えている可能性も指摘されていた。今回の集計において労作時呼吸困難発症群では気胸発症群に比べて初発年齢の平均が高かったことから、労作時呼吸困難発症群はより進行した病期での発見群との見方もできた。しかし、Coxの比例ハザードを用いた解析により初発年齢とは独立の有意差が得られ、予後の違う群が存在することが示唆された。さらに、呼吸機能検査結果の解析では、検査値に変化の現れにくい著明低値の症例を除いて労作時呼吸困難

発症群と気胸発症群との比較を行ったところ、一秒率、一秒量において初回の検査結果、その後の変化率ともに有意差を認め、労作時呼吸困難発症群では初回の検査から低値を示した上にその後の低下率も低いことが示された。このことは生存率の違いに関連していると考えられ、二群の間に肺病変の進行速度の違いが存在することが考えられた。しかしまた、全観察期間では労作時呼吸困難発症群の60%において発症から平均3.3年で気胸を発症しており、気胸発症の69%においても労作時呼吸困難の症状が出現していた。気胸を反復した症例の割合は労作時呼吸困難発症群では37%、気胸発症群では63%と違いを認めしたが、一人当たりの反復回数は前者で2.8回、後者で3.3回と有意な差を認めなかった。異なった病型の存在する可能性がある一方で、個人差の大きい疾患が初発症状によって二極化された可能性も否定できない。これまで病理学的には、のう胞性病変とLAM細胞の浸潤とを合わせたパーセンテージをスコア化し（LAM histologic score ; LHS）、これが予後因子となることが報告されている。同時に、LHSに比べて予後との相関が弱いながらのう胞性病変のみの占拠率も予後と相関することが示されている。また、北一らの報告では、病理所見においてのう胞の優位な症例では平滑筋浸潤の優位な症例に比べて予後が悪いという結果が示されている。これら病理所見でのLHSまたはのう胞性病変が初発症状の違いと関連するかについては不明であり、さらに他の病理所見上またはCT画像上の違いが認められるかについても今後の検討を要する。

7) 低酸素により誘導される動脈硬

化関連分子と睡眠時無呼吸症候群との関連について

本研究において従来から言われているような肥満、高血圧、耐糖能異常、尿酸値の上昇といった心臓血管疾患の古典的な危険因子が OSAS 患者で高頻度でみられ、特に重症な患者で顕著であったことはこれらの因子が OSAS における動脈硬化の進展に重要に関与していることを示唆している。これらの危険因子に加えて、低酸素によって誘導され、動脈硬化や心臓脳血管障害と密接に関連があるとされる CRP、TF および MCP-1 といった分子が OSAS 患者で有意な上昇を示した。特に CRP および TF の血中レベルは OSAS の重症度に応じて上昇を示し、AHI や周期的な低酸素と有意な正の相関関係を示し、重回帰分析ではこれらの因子が血中 CRP、TF レベルの独立した重要な決定因子であることが示された。CRP は動脈硬化や冠動脈疾患の重要な危険因子であり、血管内皮細胞における接着分子の発現やケモカインの産生を誘導する。OSAS 患者において血中 CRP および IL-6 の上昇および単球からの IL-6 産生の亢進があり、nCPAP 治療によって改善すること、また我々の結果と同様に CRP が独立した因子として OSAS の重症度と関連することが報告されている。しかしながら、CRP は肥満と最も良い相関があり、高感度 CRP の上昇が nCPAP 治療では低下しないとの報告もあることから単に肥満を反映している可能性もあるが、周期的な低酸素によって up-regulation された CRP が動脈硬化に寄与している可能性も示唆される。低酸素あるいは低酸素血症は TF の発現や血小板の活性化によって血液凝固の前段階を活性化させる。また頻回の交感神経活動の亢進が血小板の活性化を助長し、血管内皮

障害を引き起こす。以上のことから OSAS において凝固能の亢進が虚血性心疾患や脳血管障害発症において重要な役割を果たしていると考えられる。実際、OSAS 患者では血小板の凝集能の亢進および活性化がみられ、nCPAP 治療によって抑制されることが報告されている。今回、我々は OSAS 患者において血清 TF レベルが AHI や低酸素と密接に関連して上昇していること、また MCP-1 は OSAS 重症度との関係はみられなかったが高値を示すことを報告した。MCP-1 も低酸素によって血管内皮から産生され、TF の発現を増強させるとともに動脈硬化病変(プラーク)の形成に関与している。Ohga さんも OSAS 患者で血中 MCP-1 の上昇を報告している。このように周期的な低酸素や交感神経活動の亢進による凝固能の亢進が動脈硬化を促進させ、心臓脳血管障害の発症に関わっていると考えられる。一方、様々なストレスによって up-regulation される Hsp が OSAS 患者で上昇し、AHI や低酸素、睡眠障害と密接に関連していることを示した。Hsp は細胞の修復や生存、正常な細胞機能の維持に重要な役割を果たし、酸化ストレスに対して防御的に働く。OSAS 患者の末梢血単球において Hsp レベルが上昇していることも報告されている。以上より夜間睡眠中の低酸素、無呼吸による睡眠障害によって Hsp が up-regulation され、酸化ストレスや動脈硬化への進展に対して血管内皮を防御するように働いてい可能性が示唆される。低酸素によって誘導され、血管新生に重要に関わり、虚血性心疾患に対して防御的に働くと考えられる VEGF および HGF に関しては有意な上昇がみられなかった。血清の VEGF は OSAS 患者で CT90 が 20% 以上の重症な低酸素を示す患者にお