

**原発性肺胞低換気症候群個人調査票**  
**厚生労働省特定疾患調査研究事業 呼吸不全研究班（平成19年度調査）**  
 適切な項目の□をチェックし、\_\_\_\_\_は記入してください。

記入年月日： 西暦 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_ 月 \_\_\_\_ 日

施設名・所属： \_\_\_\_\_

記入者氏名： \_\_\_\_\_

性別： 女性 男性 年齢： \_\_\_\_\_ 歳

生まれた年： 西暦 \_\_\_\_\_ 年

身長： \_\_\_\_\_ cm 体重： \_\_\_\_\_ kg

貴施設初診年月日：西暦 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_ 月 \_\_\_\_ 日

本患者に関して他の医療施設との関係（疫学調査として重複を避けるため）：

①前医の有無

なし

あり（医療機関・科名： \_\_\_\_\_）

② 併診の有無

なし

あるが、セカンドオピニオンのみで定期的受診はしていない

（紹介元医療機関・科名： \_\_\_\_\_）

あり（併診先医療機関・科名： \_\_\_\_\_）

1. 診断時年齢： \_\_\_\_\_ 歳

2. 発症様式：  先天性（CCHS）、  成人発症

3. 症状出現年齢： \_\_\_\_\_ 歳

4. 初発時自覚症状：

呼吸困難感、 全身倦怠感、 昼間眠気、 早朝頭痛、

その他（ \_\_\_\_\_ ）

5. 家族内発症の有無：  あり（具体的に \_\_\_\_\_）、  なし

6. 喫煙歴： あり なし

7. 合併症： 肺性心、 肺高血圧症、 右心不全、 多血症、

Hirschsprung's disease、 洞性徐脈、 精神遅滞、 瞳孔の異常、

筋力低下、 閉塞型睡眠時無呼吸症候群、 神経筋疾患、 左心不全、

胸郭・脊椎の変形、 肺結核後遺症、 COPD

先天性疾患（ \_\_\_\_\_ ）

その他（ \_\_\_\_\_ ）

8. 既往歴： 脳血管障害、 その他（ \_\_\_\_\_ ）

9. 症状：

日中の傾眠、 呼吸困難感、 早朝頭痛、 全身倦怠感

- 労作性呼吸困難 (MRC スケール Grade\_\_\_\_)、 その他 (\_\_\_\_\_)
10. BMI: \_\_\_\_\_ kg/m<sup>2</sup>
11. 下腿浮腫の有無:  あり、  なし
12. チアノーゼ:  あり、  なし
13. 血液検査  
赤血球数 \_\_\_\_\_ x10<sup>4</sup>/μl、Hb \_\_\_\_\_ g/dl、Ht \_\_\_\_\_ %、血小板数 \_\_\_\_\_ x10<sup>4</sup>/μl、  
TSH \_\_\_\_\_ μIU/ml、T3 \_\_\_\_\_ ng/dl、T4 \_\_\_\_\_ μg/dl、
14. 胸部X線写真:  異常なし  異常あり (\_\_\_\_\_)
- 心拡大の有無:  あり、  なし  
肺動脈の拡張の有無:  あり、  なし  
横隔膜の挙上の有無:  あり、  なし
15. 呼吸機能検査:  
肺活量 (VC) : \_\_\_\_\_ L、 %VC : \_\_\_\_\_ %、 努力性肺活量 (FVC) : \_\_\_\_\_ L  
1秒量 (FEV1) : \_\_\_\_\_ L、 1秒率 (FEV1/FVC) : \_\_\_\_\_ %、  
FEV1 (対予測値) : \_\_\_\_\_ %、 肺拡散能力 (DLco) : \_\_\_\_\_ mmHg/L/sec、  
%DLco : \_\_\_\_\_ %、 DLco/VA : \_\_\_\_\_ %  
機能的残気量 (FRC、  He希釈法  Bodyplethysmography法) : \_\_\_\_\_ L、  
残気量 (RV) : \_\_\_\_\_ L、 %RV : \_\_\_\_\_ %、 全肺気量 (TLC) : \_\_\_\_\_ L、  
%TLC : \_\_\_\_\_ %
16. 換気応答能  
 低酸素換気応答能の低下 (VE/SO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_、 P0.1/SO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_)  
 高炭酸ガス換気応答能の低下 (VE/PaCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_、 P0.1/PaCO<sub>2</sub>: \_\_\_\_\_)
17. 動脈血ガス分析  
覚醒時室内気吸入下: pH \_\_\_\_\_、 PaO<sub>2</sub> \_\_\_\_\_ Torr、 PaCO<sub>2</sub> \_\_\_\_\_ Torr、  
HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> \_\_\_\_\_ mmol/L、 酸素吸入下 (\_\_\_L) : pH \_\_\_\_\_、 PaO<sub>2</sub> \_\_\_\_\_ Torr、  
PaCO<sub>2</sub> \_\_\_\_\_ Torr、 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> \_\_\_\_\_ mmol/L
18. 自発的過換気による動脈血ガス分析  
PaO<sub>2</sub> \_\_\_\_\_ Torr → \_\_\_\_\_ Torr、 yPaO<sub>2</sub>: \_\_\_ + \_\_\_\_\_ Torr  
PaCO<sub>2</sub> \_\_\_\_\_ Torr → \_\_\_\_\_ Torr、 yPaCO<sub>2</sub>: \_\_\_ - \_\_\_\_\_ Torr
19. 運動負荷試験  
 経皮的酸素飽和度 or PaO<sub>2</sub>の低下、  PaCO<sub>2</sub>の上昇、  呼吸困難感の欠如
20. 終夜睡眠ポリソムノグラフィ (PSG)  
A. 無呼吸低呼吸指数 (AHI) \_\_\_\_\_ 回/hr (閉塞型無呼吸 \_\_\_\_\_ 回/hr、  
中枢型無呼吸 \_\_\_\_\_ 回/hr、 混合型無呼吸 \_\_\_\_\_ 回/hr、 低呼吸 \_\_\_\_\_ 回/hr)  
B. 睡眠中の4%以上の経皮的酸素飽和度 (SpO<sub>2</sub>) 低下の有無:  あり、  なし  
C. 睡眠中の平均SpO<sub>2</sub> \_\_\_\_\_ %、 CT90 \_\_\_\_\_ %、 SpO<sub>2</sub>の最低値 \_\_\_\_\_ %  
D. 睡眠障害の有無: Arousal index \_\_\_\_\_ /hr、  睡眠構築の異常、  深睡眠の欠如
21. 心電図上右室負荷所見の有無:  あり、  なし
22. 右心カテーテル検査による平均肺動脈圧: \_\_\_\_\_ mmHg
23. 心臓超音波検査:  右室肥大あり、  右室壁肥厚あり、  
推定肺動脈圧: \_\_\_\_\_ mmHg、 その他 (\_\_\_\_\_)
24. Brain CT or MRI:  異常なし  異常あり (\_\_\_\_\_)
25. 脳波検査:  異常なし  異常あり (\_\_\_\_\_)
26. 脳脊髄液検査:  異常なし、  異常あり (\_\_\_\_\_)

27. 治療

- テオフィリン製剤 ( 治療効果あり、  治療効果なし)
- プロゲステロン製剤 ( 治療効果あり、  治療効果なし)
- アセタゾラミド ( 治療効果あり、  治療効果なし)
- $\beta$  刺激薬 ( 治療効果あり、  治療効果なし)
- 横隔膜ペーシング (開始年齢: \_\_\_\_\_ 歳、使用時間 \_\_\_\_\_ 時間)  
( 治療効果あり、  治療効果なし)
- 在宅酸素療法 (開始年齢: \_\_\_\_\_ 歳、使用時間 \_\_\_\_\_ 時間)  
( 治療効果あり、  治療効果なし)
- 鼻マスク持続陽圧呼吸療法 (開始年齢: \_\_\_\_\_ 歳、使用時間 \_\_\_\_\_ 時間)  
( 治療効果あり、  治療効果なし)
- 在宅非侵襲的陽圧換気療法 (開始年齢: \_\_\_\_\_ 歳、使用時間 \_\_\_\_\_ 時間)  
( 治療効果あり、  治療効果なし)
- 在宅気管切開下陽圧換気療法 (開始年齢: \_\_\_\_\_ 歳、使用時間 \_\_\_\_\_ 時間)  
( 治療効果あり、  治療効果なし)
- 陰圧換気療法 (開始年齢: \_\_\_\_\_ 歳、使用時間 \_\_\_\_\_ 時間)  
( 治療効果あり、  治療効果なし)
- その他の治療 ( \_\_\_\_\_ ) (開始年齢: \_\_\_\_\_ 歳)  
( 治療効果あり、  治療効果なし)

28. 入院回数

- 0回、  1回、  2回、  3回、  4回以上

29. 予後

- 改善、  不変、  悪化、  死亡 ( \_\_\_\_\_ 歳時)

分担総合研究報告

# 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業） 分担総合研究報告

## 呼吸不全の病態と治療に関する臨床的検討

主任研究者 久保 惠嗣  
信州大学医学部内科学第一講座 教授

### 研究要旨

#### 1) 肺気腫の発症要因とTransforming growth factor beta1遺伝子多型

TGF- $\beta$ 1は、組織の修復、細胞外基質の産生に関与するサイトカインで、TGF- $\beta$ 1の活性化の機能的変化が気腫化に関与する可能性がある。肺気腫の発症とTGF- $\beta$ 1の遺伝子多型の関連、肺気腫群における呼吸機能データと遺伝子多型との関連を検討した。肺気腫と3' genomic regionの2つの単塩基多型（rs6957、rs2241718）、promoter regionの2つの単塩基多型（rs1800469、rs1982073）と気管支拡張薬吸入後の%FEV1との間に有意な相関を認めた。以上より、TGF- $\beta$ 1遺伝子多型は肺気腫の発症に関与する可能性が示唆された。

#### 2) COPDとToll-like receptor 4（TRL4）遺伝子多型との関連

TRL4は、COPDにおける炎症に関連する活性酸素の産生を調節し、肺構造の保持に寄与していると考えられている。今回TRL4遺伝子の4箇所の単塩基多型（promoter region：rs10759930、exon4：rs4986790、3' genomic region：rs11536889、rs7037117）について遺伝子頻度を比較した。COPD群とcontrol群で各SNPsの遺伝子頻度に有意差を認めなかったが、肺気腫群でサブ解析を行うと、3' genomic regionにおけるrs11536889の遺伝子頻度に有意差を認めた。さらに、COPD群、肺気腫群で%TLC(total lung capacity)とpromoter regionにおけるrs10759930に相関（ $p = 0.043$ ,  $p = 0.015$ ）を認めた。また、有意ではなかったが、COPD群、肺気腫群で気流制限を示す各因子とrs10759930、rs11536889に相関の可能性を認めた。以上より、TRL4遺伝子多型は、日本人のCOPDの発症・重症度に関与している可能性が示唆された。

#### 3) 肺線維症合併肺気腫の臨床的特徴

喫煙暴露は肺に気腫病変だけでなく線維化も引き起こすことが示唆されているが、両者が併存している症例を散見する。我々はこの肺線維症合併肺気腫の臨床的特徴を明らかにするために2004年10月より2007年6月までに当科外来を受診し、胸部CT検査にて%LAA $\geq$ 25%および両側肺野に明らかな肺の線維化を認める47名の肺線維症合併肺気腫症例と%LAA $\geq$ 25%の気腫性変化を認め、かつ肺線維症の所見を認めない安定期のstage IICOPD患者90名とを比較した。肺線維症合併肺気腫46名が男性で、1名を除き全例喫煙歴を有し、比較的重喫煙者が多かった。47名中20名でFEV<sub>1</sub>/FVCは70%未満を示した。過膨張の程度は軽く、肺拡散能力の低下が顕著で、労作時のdesaturationも高度であった。気腫は上肺野に優位で傍隔壁型が有意に多い。間質性陰影は下肺野に優位で、蜂巢肺および壁が肥厚した気腫性のう胞を示す例が多い。肺癌の合併が極めて多く22名に認められ、扁平上皮癌が最も多かった。肺線維症合併肺気腫患者は、線維化を伴わない肺気腫COPD患者とは異なった臨床的特徴を有し、特に肺癌の合併には注意を払うべきと考えられた。

#### 4) 気道上皮細胞における粘液産生制御機構の検討

##### a) IL-13 $\alpha$ 2受容体の役割に関する検討

IL-13刺激により、粘液産生およびMUC5ACの発現はday7をピークとして21日後にはコントロールレベルまで低下する一方、IL-13R $\alpha$ 2遺伝子および上清中の可溶性蛋白の発現は7日後に有意に増加し、21日まで持続的に増加を示した。抗IL-13R $\alpha$ 1抗体およびリコンビナントIL-13R $\alpha$ 2の添加によってIL-13刺激によるPAS陽性細胞、杯細胞およびMUC5AC陽性細胞および上清中の可溶性MUC5AC蛋白、STATの活性化は減少し、抗IL-13R $\alpha$ 2受容体抗体の添加はこれらの細胞およびMUC5AC遺伝子発現を増加させた。以上より、可溶性IL-13R $\alpha$ 2はヒト気道上皮細胞において、IL-13R $\alpha$ 1を含む経路を介してIL-13による粘液過剰産生を修飾していると考えられる。また、喫煙者より取得した気道上皮培養細胞は、IL-13刺激による杯細胞形成およびMUC5AC遺伝子発現が少なく、IL-13 $\alpha$ 2遺伝子発現は高いことから、喫煙者の気道上皮細胞では、IL-13 $\alpha$ 2受容体を介した粘液産生に対するネガティブフィードバックの機構がより働いている可能性が示唆された。

##### b) 好中球エラスターゼ刺激による気道粘液産生亢進に対するカルボシステインの効果

肺癌由来の細胞株 (NCI-H292) を用いて好中球エラスターゼ (NE) 刺激により生ずる気道粘液過剰産生に対するカルボシステインの効果について検討した。NE刺激による気道粘液過剰産生はカルボシステインにより抑制され、その機序として活性酸素種産生の抑制、 $\gamma$ -GCS増加による細胞内GSH産生増加が考えられた。

#### 5) 長時間作用型抗コリン薬と $\beta$ 2刺激薬のCOPDに対する臨床効果—動的肺過膨張に 対する効果—

62名の安定期にあるCOPD患者を無作為に2群に振り分け、長時間作用型吸入抗コリン薬チオトロピウムおよび長時間作用型吸入 $\beta$ 2刺激薬サルメテロールのどちらか一方を2ヶ月間投与し、その臨床効果について動的肺過膨張を含め比較検討した。チオトロピウムの2ヶ月間の治療にて、有意に最大吸気量、1秒量、PaO<sub>2</sub>は増加を示し、中枢および末梢気道抵抗は低下し、末梢容量性リアクタンスは上昇を示した。また、過呼吸法による動的肺過膨張を一部軽減させた。6分間歩行距離で評価した運動能力は有意な改善を示し、SGRQの全てのドメインで改善がみられ、HRQoLの改善がみられた。一方、サルメテロール治療群では、有意な呼吸機能および動的肺過膨張および運動能力の有意な改善はみられなかったが、SGRQではチオトロピウム群より劣るが、有意に全てのドメインで改善がみられた。以上より、COPDの治療薬として、単独で使用する場合にチオトロピウムはサルメテロールより優れていると考えられた。

#### 6) 圧力センサシートによる無拘束での睡眠呼吸障害の検出と睡眠時無呼吸症候群スクリーニングツールとしての有用性の検討。

多点圧力センサーを敷き詰めたシートをコンピューター制御にて呼吸運動を検出するSD-101の夜間睡眠時無呼吸スクリーニング機器として応用性を検討した。睡眠時無呼吸症候群 (SAS) が疑われPSGが施行された201例の患者を対象にPSGと同時に測定した結果では、相関係数が0.88と極めて良好な相関が得られた。また、体位による影響は受けない。AHI>5/hrの感受性は100%と特異度は33%と特異度は引くいが、AHI>15/hrだと0.97、特異度は0.60と良好であった。また、某運送会社社員全員165名を対象とした検討においては、PSGにてAHI<5/hrが109名、AHI<15/hrが141名と正常か軽症以下が大半を占める母集団に対して、同時におこなったPSGとSD-101との相関係数は0.92と極めて良好であった。AHI<5/hrに対する感受性は100%、特異度は41%、AHI>15/hrに対する感受性は100%、特異度は91%であり中等症以上のSASの検出には極めて良好であり、スクリーニング機器として有用と考えられた。

## A. 研究目的

### 1) 肺気腫の発症要因とTransforming growth factor beta1遺伝子多型

Transforming growth factor beta1 (TGF- $\beta$ <sub>1</sub>)は、炎症反応、細胞増殖・分化、組織修復、細胞外基質の産生に関与するサイトカインであるが、COPD患者の気道、肺胞上皮において発現が亢進していることやTGF- $\beta$ <sub>1</sub>を過剰発現させたマウスでは、肺の気腫性変化を惹起することから肺気腫の形成にTGF- $\beta$ <sub>1</sub>が重要に関与していることが示唆されている。そこで我々は肺気腫発症に関わる疾患感受性遺伝子としてTGF- $\beta$ <sub>1</sub>の役割を検討するために、気腫性病変を認めるCOPD患者群と喫煙歴のあるControl群でTGF- $\beta$ <sub>1</sub>の遺伝子多型の頻度を比較し、日本人における肺気腫の発症とTGF- $\beta$ <sub>1</sub>の遺伝子多型との関連を検討した。

### 2) COPDとToll-like receptor 4 (TRL4) 遺伝子多型との関連

自然免疫機構において、中心的な役割を果たすToll-like receptors (TLRs)は、気道上皮、type II肺胞上皮、肺胞マクロファージ、血管内皮細胞等、肺を構成する様々な細胞で発現しており、外因性の病原体を認識するだけでなく、障害を受けた細胞から放出される蛋白質、細胞外基質の分解物、サーファクタントプロテインA等、炎症に起因する内因性の因子によっても活性化され、好中球、肺胞マクロファージ、気道上皮による炎症を惹起し、感染症、COPD、気管支喘息、ARDS等の炎症性肺疾患においてTLRsを介するpathwayが病因・病態に関与している可能性が示唆されている。COPDにおいては、喫煙や繰り返す下気道感染による慢性炎症が病因の一つと考えられており、これらの炎症にTLR4が関与している可能性がある。TLR4をノックアウトしたマウスのモデルでは、加齢に伴って、活性酸素の産生が増加し、エラスチンの分解が進むことによって、肺気腫が起こると報告されている。一方、気道細胞にTLR4を過剰発現させたマウスモデルでは、低酸素刺激によるtype I, II肺胞細胞、肺胞マクロファージのアポトーシスが有意に低下することが報告されており、TLR4が酸化ストレスから肺を防御し、気腫化を抑制していることが考えられている。以上から、TLR4遺伝子多型がTLR4の発現・機能に関与し、COPDの発症・重症度に関連している可能性について検討した。

### 3) 肺線維症合併肺気腫の臨床的特徴

頻度は少ないが、肺気腫に特発性肺線維症を含む原因不明の間質性肺炎を合併する症例を経験する。1993年にHiwatariら<sup>1)</sup>は肺気腫例152例中、肺線維症合併9例を報告し、臨床的特徴として全員男性で重喫煙者であると報告した。最近では2005年にCottinら<sup>2)</sup>は61例の肺線維症合併肺気腫症例を報告し、後ろ向き試験でその臨床的特徴につき考察している。すなわち、男性は61例中60例で、気腫性病変を上肺野、線維化病変を下肺野に優位に認めた。閉塞性障害や肺過膨張の程度に比べ、ガス交換障害は顕著であり、47%に肺高血圧を認め、予後を規定する重要な因子であると報告している。本研究班においても、COPD phenotypeの1つとして7例報告した<sup>3)</sup>。そこで、わが国における肺線維症合併肺気腫症例の臨床的特徴を検討するために、我々の施設を過去4年間に受診した肺気腫症例の内、retrospectiveに肺線維症合併症例を抽出して臨床的特徴について検討した。

### 4) 気道上皮細胞における粘液産生制御機構の検討

#### a) IL-13 $\alpha$ 2受容体の役割に関する検討

Th2サイトカインであるIL-13およびIL-4は、気道粘液産生亢進、杯細胞過形成において重要な役割を果たしている。IL-4 $\alpha$ 受容体とヘテロダイマーをつくるIL-13 $\alpha$ 1受容体にIL-13が接着すると、その細胞内伝達に関わるJAK、STAT6のリン酸化を介して、核内でNF- $\kappa$ Bの活性化がおり、ムチン遺伝子であるMUC5AC遺伝子が発現し、ムチンが生成される。一方、STAT6のリン酸化のあと、現在明らかとなっていない何らかの経路を介して、ネガティブフィードバックに関わるIL-13 $\alpha$ 2受容体が発現すると考えられている。今回、我々は培養ヒト正常気道上皮において、IL-13刺激によりIL-13 $\alpha$ 2受容体が惹起されるか。これにより、形態学的に杯細胞過形成が抑制されるか、MUC5AC遺伝子発現の抑制が認められるかについて検討を行った。さらに、気道上皮培養細胞を採取した患者の喫煙歴の有無が、培養細胞におけるムチン産生にIL-13R $\alpha$ 2受容体遺伝子発現、アポトーシスや細胞老化を介して影響を与えるかについても検討した。

#### b) 好中球エラスターゼ刺激による気道粘液産生亢進に対するカルボシステインの効果

好中球エラスターゼ(HNE)はCOPD、気管支拡張症、重症喘息など慢性気道炎症症例の気道粘液において高濃度に存在しており、MUC5ACを中心とした粘液過剰産生や杯細胞過形成を惹起することが報告されている。気

道上皮におけるHNEを介した粘液過剰産生の経路としてHNE-Protein kinase C-Reactive oxygen species-TNF $\alpha$  converting enzyme (TACE) activation-TGF $\alpha$ -EGFR-Ras-Raf-MEK 1/2-ERK 1/2-Sp1-MUC5AC transcriptionというカスケードが存在する。カルボシステイン(S-CMC)は喀痰調整薬に分類されている薬剤であるが、近年、ライノウイルス感染抑制効果を有すること、PEACE studyにて併用薬の有無、疾患のフェノタイプを問わず、COPDの急性増悪回数を有意に減じることが報告された。我々はS-CMCが抗酸化作用を有し、HNEによる気道上皮細胞に対する粘液過剰産生作用を抑制しうるのでとは仮説をたて、気道上皮細胞のcell-lineを用いて検討した。

#### 5) 長時間作用型抗コリン薬と $\beta$ 2刺激薬のCOPDに対する臨床効果-動的肺過膨張に対する効果-

COPD患者では、労作や運動による換気増大反応に伴い、肺に空気がトラップされ肺の過膨張が増強される。これを動的肺過膨張と呼び、労作時呼吸困難の増強および運動耐容能の低下につながる。気管支拡張薬は安定期COPDにおいて、症状軽減に対して最も中心的な薬物療法であるが、中でも長時間作用型抗コリン薬は単独で用いた場合、最も有効であるとされる。そのメカニズムとして動的肺過膨張の軽減にあると仮定し、同じくCOPDに対する治療薬である長時間作用型 $\beta$ 2刺激薬であるサルメテロールと長時間作用型抗コリン薬であるチオトロピウムの動的肺過膨張に対する効果について検討した。

#### 6) 圧力センサシートによる無拘束での睡眠呼吸障害の検出と睡眠時無呼吸症候群スクリーニングツールとしての有用性の検討。

睡眠時無呼吸症候群(SAS)は高血圧症、耐糖能異常、高脂血症、肝機能障害、動脈硬化を惹起し、心臓・脳血管障害の原因となっている。また、睡眠障害に基づく日中の過眠は自動車、航空機、船舶等の事故、労働災害、労働生産性低下の重要な原因となっており、生活習慣病との関連を含め社会的問題にまでなっているのが現状であり、早期発見・早期治療が重要な課題となっている。SASの診断においてPSGは標準検査であるが、入院が必要であるためSASが疑われる全例に施行することは困難であり、まずは簡易検査をおこなってからPSGを施行することになっている。しかし、現在汎用されている簡易診断機器は身体に複数のセンサーを装着する必要がある、本来の睡眠が妨げられ、検査中に器具が外れてしまう等

の問題がある。また、機器によっては感受性・特異度ともに低く、スクリーニングには不適當なものもある。KENZMEDICO.CO,LTDは、多点感圧センサーによって呼吸運動を検出することによって、無拘束タイプのSAS簡易検査機器を開発した。この多点感圧センサーシート(SD-101)のSASスクリーニング機器としての有用性を検討することが目的である。

## B. 研究方法

〔対象〕

### 1) 肺気腫の発症要因とTransforming growth factor beta1遺伝子多型

信州大学医学部附属病院に受診し、喫煙歴を有する患者で以下の基準を満たす肺気腫群70名を対象とした。①気管支拡張薬吸入後のFEV<sub>1</sub>/FVC < 70%、②COPD以外の気流制限を呈する疾患を除外、③胸部HRCTをGoddardらの方法に準拠して視覚的にLAAを評価し、grade 1以上(%LAA $\geq$ 5%)の気腫病変を認める。また、健康診断・人間ドック目的で厚生連鹿教湯三才山病院を受診した50歳以上、8 pack years以上の喫煙歴のある健常人でスパイロメトリーが正常(FEV<sub>1</sub>/FVC > 70%、%FVC > 80% of predicted value)の99名を対照コントロールとした。

### 2) COPDとToll-like receptor 4 (TRL4) 遺伝子多型との関連

信州大学医学部附属病院を受診した喫煙者で①気管支拡張薬投与20分後のFEV<sub>1</sub>/FVC < 70%もしくは、②FEV<sub>1</sub>/FVC < 70%且つ%FEV<sub>1</sub> < 60%を満たし、COPD以外の気流制限を呈する疾患を除外した合計151名をCOPD群とした。COPD群の中で、HRCTを施行され、Goddardらの方法で%low attenuation areas(LAA)を評価し、両側上肺野、中肺野、下肺野の計6スライスの評価で5%以上のLAAを1スライス以上に認める71名を肺気腫群とした。一方、当科関連施設の人間ドック、健康診断を受診した、50歳以上10 pack years以上の喫煙歴を有し、FEV<sub>1</sub>/FVC > 70%、%FVC > 80%を満たす健常人98名をcontrol群とした。Control群でHRCTを施行した者のうち、明らかなLAAを有する者は除外した。

### 3) 肺線維症合併肺気腫の臨床的特徴

2004年10月より2007年6月までに信州大学医学部附属病院呼吸器・感染症内科外来を受診し、胸部HRCT検査にてLAA% $\geq$ 25%および両側肺野に明らかな原因不明の



肺の線維化を認める47名の安定期肺線維症合併肺気腫症例とLAA% $\geq$ 25%の気腫性変化を認め、かつ肺線維症の所見を認めない安定期にあるstage IIのCOPD患者90名とを比較した。

#### 4) 気道上皮細胞における粘液産生制御機構の検討

##### a) IL-13 $\alpha$ 2受容体の役割に関する検討

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(DispaseR, 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。さらに喫煙歴の有無などの病歴聴取を問診にて行い、喫煙者の検討には、Blinkman Index 1000以上もしくはcurrent smokerからの検体を使用した。

##### b) 好中球エラスターゼ刺激による気道粘液産生亢進に対するカルボシステインの効果

NCI-H292細胞(a human mucoepidermoid carcinoma cell line)を用いた。

#### 5) 長時間作用型抗コリン薬と $\beta$ 2刺激薬のCOPDに対する臨床効果—動的肺過膨張に対する効果—

信州大学医学部附属病院呼吸器・感染症内科外来通院中の安定期にある慢性閉塞性肺疾患(COPD)患者でインフォームドコンセントが得られた61名の患者(1秒量の平均は $56.5 \pm 2.9\%$ 対予測値)を対象とした。

#### 6) 圧力センサシートによる無拘束での睡眠呼吸障害の検出と睡眠時無呼吸症候群スクリーニングツールとしての有用性の検討。

研究I: SASが疑われ、2004年3月から2007年8月の間に信州大学医学部附属病院及び城西病院にPSG目的で入院した患者のうち、同意が得られた201名を対象とした。

研究II: 長野県内の某運送会社の社員(トラック運転手及び事務担当)松本地区全男性社員165名を対象とした。

#### 〔方法〕

#### 1) 肺気腫の発症要因とTransforming growth factor beta1遺伝子多型

肺気腫群、Control群の血液サンプルをQIA ampR DNA

Blood Mini kit (QIAGEN, Tokyo)にてDNAを抽出。TGF- $\beta$ 1 geneに存在する8ヶ所の単塩基多型(promoter region: rs2241712, rs1982072, rs1800469, exon1: rs1982073, intron2: rs2241716, rs4803455, 3' genomic region: rs6957, rs2241718)について、TaqMan 5' exonuclease assayを用いてGenotypingを行い、肺気腫群・Control群間でCase Control Studyをおこなった。

#### 2) COPDとToll-like receptor 4 (TRL4) 遺伝子多型との関連

COPD群、control群の血液サンプルより、QIA ampR DNA Blood Mini kit (QIAGEN, Tokyo)を用いてDNA抽出を行った。TLR4の4箇所のSNPs(promoter region: rs10759930, exon3: amino acid 299, 3' genomic region: rs11536889, rs7037117)についてTaqManプローブとリアルタイムPCRシステム(ABI7500リアルタイムPCR)を用いてタイピングを行った。Mann-Whitney U testを用いて患者背景を比較、Chi-square testを用いて、各SNPsの遺伝子頻度を比較した。また、肺気腫群とコントロール群で遺伝子頻度について同様の比較を行った。COPD群、肺気腫群において、呼吸機能データとSNPsの相関についてlogistic regressionを用いて年齢・性別・喫煙歴を補正し、検討した。

#### 3) 肺線維症合併肺気腫の臨床的特徴

身体所見、既往歴、合併症、喫煙歴、粉塵暴露歴、症状、呼吸機能検査、血液検査、動脈血ガス分析、HRCT画像所見を評価した。胸部HRCT画像所見の評価として、気腫の評価はGoddardの評価法を用い、それぞれの肺野(左右、上、中、下)を視覚的に評価しscore化し、肺気腫を小葉中心性、小葉中心性+汎小葉性、傍隔壁型、傍隔壁型+小葉中心性の各タイプに分類した。気管支壁肥厚および拡張の評価は隣接する肺動脈と比較する方法を用いた。

#### 4) 気道上皮細胞における粘液産生制御機構の検討

##### a) IL-13 $\alpha$ 2受容体の役割に関する検討

ヒト正常気道上皮細胞の培養は、細胞増殖をおこなった後、Air-liquid-interface (ALI)法を用いた。ALI作成後、IL-13を細胞分化用培養液に添加して、7日間刺激群、14日間刺激群、21日間刺激群の3群に分け経時的な変化をHE, PAS染色にて組織学的に評価するとともに、MUC5ACおよびIL-13R $\alpha$ 2遺伝子発現、IL-13R $\alpha$ 2受容体蛋白発現を検討し、Anti-human IL-13 R $\alpha$ 2

Antibodyを添加し、IL-13単独刺激群と比較検討した。さらに、IL-13 R $\alpha$ 2の発現および細胞のアポトーシスおよび老化について肺組織で検討すると共に、ヒト気道上皮細胞を非喫煙者からえられた細胞と喫煙者から得られた細胞に分け、IL-13刺激に対する反応の違いについて検討した。

#### b) 好中球エラスターゼ刺激による気道粘液産生亢進に対するカルボシステインの効果

肺癌由来の細胞株 (NCI-H292) を培養し、100nMのNE刺激(30分間)を行った。この刺激に対しカルボシステイン (10, 100  $\mu$ M) 添加、非添加の条件の違いによる粘液過剰産生の程度をMUC5AC遺伝子、蛋白レベルで評価した。また、細胞に発生する活性酸素種 (ROS) の多寡および細胞内  $\gamma$ -GCS遺伝子、細胞内GSH量を測定した。ROSの産生程度はIntracellular oxidation indicatorと称されるDichlorodihydrofluorescein (DCF) を用いて、生細胞におけるROS産生の程度を評価した。

#### 5) 長時間作用型抗コリン薬と $\beta$ 2刺激薬のCOPDに対する臨床効果-動的肺過膨張に対する効果-

対象患者61名を無作為に2群に分け、チオトロピウム群は18  $\mu$ gを1日朝1回、サルメテロール群は50  $\mu$ gを1日朝、夜の2回の吸入を指示した。治療開始前および治療開始2ヶ月後に呼吸機能検査、動脈血ガス分析、impulse oscillation systemを用いた呼吸インピーダンス、中枢気道および末梢気道抵抗および末梢容量性リアクタンスの測定、動的肺過膨張の測定、6分間歩行試験、疾患特異的健康関連QOL (St. George's Respiratory Questionnaire, SGRQ) の評価をおこなった。動的肺過膨張の評価はメトロノームに合わせ、20回/分、30回/分、40回/分のtidal breathを各々30秒間行い、各々の回数で呼吸した直後に体プレチスモグラフィー法を用いて呼気終末肺気量 (EELV)、最大吸気量 (IC) を測定した。動的肺過膨張は呼吸数増加に伴うICの減少量で評価した。

#### 6) 圧力センサシートによる無拘束での睡眠呼吸障害の検出と睡眠時無呼吸症候群スクリーニングツールとしての有用性の検討。

研究 I : 21時から翌朝6時まで終夜PSG(アリスIII ; チェスト株式会社)を施行すると同時に、シート状のSD-101をベッドとシーツの間に敷き、PSGの機器と時間を同期させ同時に検査した。PSGによる無呼吸の判定は10秒以上持続する気流停止とし、低呼吸は4%以上の経皮的酸素飽和度 (SpO<sub>2</sub>) の低下を伴う口・鼻の気流ま

たは呼吸努力の30%以上の減少が10秒以上持続する場合とした。解析は自動及びマニュアル解析を組み合わせを行い、1時間あたりの無呼吸・低呼吸の平均回数を無呼吸低呼吸指数 (Apnea and hypopnea index: AHI) とした。また、SD-101による無呼吸・低呼吸の判定は、圧力センサーで検知された呼吸運動に伴う圧力変化から、解析コンピューターで呼吸波形が合成され、呼吸圧力変化が30%以下に減少し、10秒以上持続した場合に無呼吸・低呼吸とした。尚、無呼吸と低呼吸の区別は出来ない。1時間あたりの無呼吸・低呼吸の平均回数を呼吸障害指数 (Respiratory disturbance index: RDI) とし、これらの解析をコンピューター解析ソフトにより自動解析で行った。

研究 II : 日中勤務の方は夜間に、夜間勤務の方は昼間に、8時間のPSGとSD-101による測定を同時に施行した。PSGの解析は、自動及びマニュアル解析を組み合わせで行った。SD-101の解析は解析ソフトによる自動解析で行った。

## C. 研究結果

### 1) 肺気腫の発症要因とTransforming growth factor beta1遺伝子多型

今回、日本人におけるTGF- $\beta$ 1 geneのSNPsの解析で、①rs6957、rs2241718 (3' genomic region)と肺気腫、②rs1800469(promoter region), rs1982073(exon1)とpost-BD %FEV<sub>1</sub>の間に相関を認めた。

### 2) COPDとToll-like receptor 4 (TRL4) 遺伝子多型との関連

Control群は50歳以上で抽出したが、肺気腫群と比較し、低年齢で喫煙指数が有意に低いという結果であった。Amino acid 299における多型については今回検討したすべてのサンプルでAAのhomozygoteであった。COPD群とcontrol群で各SNPsの遺伝子頻度に有意差を認めなかったが、肺気腫群でサブ解析を行うと、3' genomic regionにおけるrs11536889の遺伝子頻度に有意差を認めた。さらに、COPD群、肺気腫群で%TLC(total lung capacity)とpromoter regionにおけるrs10759930に相関 (p = 0.043, p = 0.015) を認めた。また、有意ではなかったが、COPD群、肺気腫群で気流制限を示す各因子とrs10759930、rs11536889に相関の可能性を認めた。

### 3) 肺線維症合併肺気腫の臨床的特徴

肺線維症合併肺気腫症例47名中の46名が男性で、平均年齢は70歳、女性の1名を除き全例に喫煙歴を有し、比較的喫煙者が多かった(平均BI: 58.7 pack・year)。13名に喫煙に加えて喫煙以外の粉塵暴露歴を有した。中でもアスベストが6例、農薬が5例に認められた。12例にバチ指を認めた。呼吸機能検査では47名中20名において、気管支拡張薬吸入後のFEV<sub>1</sub>/FVCは70%未満とCOPDを示した。全体的に肺過膨張の程度は軽く、肺拡散能力の低下が顕著で、労作時のdesaturationも高度であった。肺気腫は傍隔壁型肺気腫が有意に多く、両側上肺野に優位であり、間質性変化は両側下肺野に優位であった。肺線維症の所見は全例下肺野優位であり、蜂巣肺および壁が肥厚した気腫性のう胞を示す例が多い。KL-6は41名中31名で上昇を示し、平均で1058 U/mlであった。肺癌の合併が極めて多く22名に認められた。肺癌の組織型は扁平上皮癌12名、腺癌7名、小細胞癌2名、LCNECが1名であった。12名は外科的治療を受けたが、8例で再発を示した。

#### 4) 気道上皮細胞における粘液産生制御機構の検討

##### a) IL-13 $\alpha$ 2受容体の役割に関する検討

IL-13刺激により、PAS陽性細胞、杯細胞の過形成およびMUC5AC遺伝子および蛋白の発現がday7をピークにみられた後、徐々に減少し、21日後には培養液上清中のMUC5AC蛋白および上皮細胞細胞質のMUC5AC遺伝子発現量はコントロールレベルまで低下した。一方、IL-13R $\alpha$ 2遺伝子の発現は7日後に有意に増加し、21日まで持続的に増加を示した。また上清中の可溶性IL-13R $\alpha$ 2蛋白も同様に有意な上昇を示した。抗IL-13R $\alpha$ 1抗体およびリコンビナントIL-13R $\alpha$ 2の添加によってIL-13刺激によるPAS陽性細胞、杯細胞およびMUC5AC陽性細胞および上清中の可溶性MUC5AC蛋白は減少し、抗IL-13R $\alpha$ 2受容体抗体の添加はこれらの細胞およびMUC5AC遺伝子発現を増加させた。IL-13により誘導される細胞内伝達およびSTAT6の活性化は抗IL-13R $\alpha$ 1抗体およびリコンビナントIL-13R $\alpha$ 2の添加によって抑制された。一方、IL-4によって誘導される粘液産生・分泌、STAT6の活性化に関してはIL-13R $\alpha$ 2によって抑制されなかった。以上より、可溶性IL-13R $\alpha$ 2はヒト気道上皮細胞において、IL-13R $\alpha$ 1を含む経路を介してIL-13による粘液過剰産生を修飾していると考えられる。

外科手術検体の気管支組織においても、気道上皮細胞の細胞質にIL-13 $\alpha$ 2受容体遺伝子および蛋白発現を認

めたが、喫煙者からの検体で非喫煙者の検体よりMUC5AC遺伝子発現が少ない結果が得られた。一方、IL-13 $\alpha$ 2遺伝子発現は、逆に喫煙者で高い傾向が得られた。喫煙者から取得した気道上皮培養細胞では、IL-13 $\alpha$ 2受容体を介した粘液産生に対するネガティブフィードバックの機構がより働いている可能性が示唆された。尚、喫煙者気道上皮細胞からのIL-13による粘液産生の抑制に、アポトーシスの関与はないと考えられた。

##### b) 好中球エラストラーゼ刺激による気道粘液産生亢進に対するカルボシステインの効果

100nMのHNE刺激によって有意なMUC5AC遺伝子発現および蛋白量の亢進がおり、S-CMCはこの遺伝子発現および蛋白発現亢進を濃度依存性に抑制し、10, 100 $\mu$ Mの濃度で有意に抑制された。活性酸素種の産生は100 $\mu$ Mのカルボシステインにより有意に抑制された。細胞内 $\gamma$ -GCS遺伝子および細胞内GSHの産生はカルボシステイン添加群で上昇、非添加群で低下する傾向がみられた。

#### 5) 長時間作用型抗コリン薬と $\beta$ 2刺激薬のCOPDに対する臨床効果—動的肺過膨張に対する効果—

チオトロピウムの2ヶ月間の治療にて、有意に最大吸気量、1秒量、PaO<sub>2</sub>は増加を示し、中核および末梢気道抵抗は低下し、末梢容量性リアクタンスは上昇を示した。また、過呼吸法による動的肺過膨張を一部軽減させた。6分間歩行距離で評価した運動能力は有意な改善を示し、SGRQの全てのドメインで改善がみられ、HRQoLの改善がみられた。一方、サルメテロール治療群では、有意な呼吸機能および動的肺過膨張および運動能力の有意な改善はみられなかったが、SGRQではチオトロピウム群より劣るが、有意に全てのドメインで改善がみられた。

#### 6) 圧力センサシートによる無拘束での睡眠呼吸障害の検出と睡眠時無呼吸症候群スクリーニングツールとしての有用性の検討。

SASが疑われPSGを施行した201例の患者を対象として、PSGと同時にSD-101で測定した結果では、相関係数0.88と極めて良好な相関が得られた。また、臥位および側臥位の体位に分けて分析した結果においてもPSGの結果と極めて良好な相関が得られ、体位による影響は受けなかった。AHI >5/hrを検出する感度は100%、特異度は33%で、特異度は低かったものの、AHI >15/hrの感度は97%、特異度は60%と良好であった。次に、一般住

民でも同様の結果が得られるかを検証するために、某運送会社松本地区の社員165名全員を対象とした検討をおこなった。PSGによるAHI <5/hrが109名、AHI <15/hrが141名の正常～軽症以下が大半を占める母集団に対して、同時に行ったPSGとSD-101との相関係数は0.92と極めて良好であった。AHI >5/hrに対する感度は100%、特異度は41%で、AHI >15/hrに対する感度は100%、特異度は91%で、中等症以上のSASの検出には極めて良好であり、スクリーニング機器として有用と考えられた。

## D. 考 察

### 1) 肺気腫の発症要因とTransforming growth factor beta1遺伝子多型

CaucasianのCase control studyでは、①重症肺気腫とrs1800469, rs1982073に関連。Family based studyでは、②気流制限とrs6957, rs2241718に相関を認めたと報告されている。今回の我々の結果と異なるが、TGF- $\beta$ 1遺伝子多型が肺気腫優位なCOPDの発症に関与している点では同様と考えられる。しかし韓国人での解析では、rs2241712, rs1800469, rs1982073について、COPDと関連を認めなかったと報告されている。また、ハプロタイプの解析でもCaucasian、韓国人、日本人では相違を認めた。これらの結果の相違は、人種の違いによる可能性とCOPDのphenotypeに分けた解析であるかどうかによって依存していると思われる。今後さらに症例を増やすとともに、若年発症肺気腫について検討をおこなう。

### 2) COPDとToll-like receptor 4 (TLR4) 遺伝子多型との関連

今回の検討で、3' genomic regionにおけるrs11536889と肺気腫、promoter regionにおけるrs10759930と%TLCの間に有意な相関関係を認め、rs10759930, rs11536889と気流制限が相関する傾向を認めた。今回解析したTLR4のSNPsの中で、Amino acid 299における多型ではアスパラギン酸 (Asp) からグリシン (Gly) ヘアミノ酸が変化することによって、TLR4の細胞外ドメインの構造変化を来す事が知られている。Gly alleleの保持者は、LPSへの反応性の低下や炎症性サイトカインの産生低下、重症感染症のリスク増加が報告されており、ドイツ人では、COPD群でGly allele保持者が少なかった。また、イギリスのグループは、喫煙者においてこの多型と1秒量に有意な相関を認めなかったと報告している。今回の解析では、すべての対象者において、機能変化をともの

うAmino acid 299に変異を認めなかった。その他のSNPsについては、検索した範囲内ではCOPDとの関連を解析した報告はなく、その機能についても不明で、どのような機序で、COPDに関与しているか今後検討が必要と考えられる。

### 3) 肺線維症合併肺気腫の臨床的特徴

喫煙暴露は肺に気腫病変だけでなく線維化も引き起こすことが示唆されているが、両者が併存している症例を散見する。Hiwatariらは1993年に肺気腫例152例中、肺線維症合併9例を報告し、臨床的特徴について報告し、Odaniらは2004年に胸部CT検査を施行した14900症例中、肺気腫と特発性間質性肺炎の併存例31例のCT所見について検討し、内13例(41.9%)に肺癌を合併したと報告している。海外においては、2005年にCottinらが61例の肺線維症合併肺気腫症例を報告し、60例が男性で気腫性病変を上肺野、線維化病変を下肺野に優位に認め、43%にばち指を認めたこと、閉塞性障害や肺過膨張の程度に比べ、ガス交換障害は顕著であり、47%に肺高血圧を認め、予後を規定する重要な因子であると報告している。今回の我々の検討においても同様の結果であり、男性に多く、重喫煙および粉塵暴露と関連する症例が多く、気腫は上肺野、線維化は下肺野に優位な分布を示した。気腫の程度に比べ、閉塞性換気機能障害、肺過膨張の程度は軽く、肺拡散能力の低下が顕著で、労作時のdesaturationも高度であるといった特徴を示した。肺高血圧の有無に関しては全例に心エコーや右心カテーテルをおこなっておらず、評価はできないが、肺高血圧が目立ち症例はそれほど多くは無かった。HRCT画像上、傍隔壁型肺気腫が有意に多く、蜂巢肺を伴うUIPのパターンが多く、壁が肥厚した気腫性のう胞は特徴的な所見であった。また、肺癌の合併が極めて多く半数弱に認められた。肺癌の組織型に特徴は無いが、進行例が多く、線維症の存在によって肺癌の存在が隠されてしまう傾向がある。また、治療に関しても、線維症の合併による顕著なガス交換障害のため手術不能例や、化学療法が出来ずbest supported care (BSC)になる症例も多い。肺線維症合併肺気腫患者は、線維化を伴わない肺気腫COPD患者とは異なった臨床的特徴を有し、特に肺癌の合併には注意を払うべきと考えられた。今後、どのような背景で両者が混在して生じえるのか、遺伝的要因も含めて検討したい。

### 4) 気道上皮細胞における粘液産生制御機構の検討

#### a) IL-13 $\alpha$ 2受容体の役割に関する検討

ヒト気道上皮細胞の気相培養においても、液体培養と同様にIL-13刺激によって気道上皮細胞の粘液過剰産生、杯細胞過形成、MUC5ACの発現および分泌増強とIL-13R $\alpha$ 2受容体遺伝子発現および可溶性IL-13R $\alpha$ 2分泌亢進を認め、これらの反応はIL-13R $\alpha$ 1、STAT6を介して生じることを証明した。また、IL-13R $\alpha$ 2の発現はSTAT6を介することも示した。気道上皮細胞内において、STAT6はIL-13や、IL-4が生物活性を生じるための重要な細胞内転写因子であるが、このSTAT6がリン酸化された後、未知の細胞内蛋白や転写因子を介して、IL-13R $\alpha$ 2が惹起されることが明らかとなっている。現在、マイクロアレイを使ってこれらの蛋白、転写因子に対する解析が進められている。今回、我々は、IL-13R $\alpha$ 2中和抗体によってIL-13で惹起される粘液産生およびMUC5AC遺伝子発現の亢進を認めた。これは、decoy receptorであるIL-13R $\alpha$ 2をブロックしたところIL-13シグナルが過剰に細胞内に入り細胞内STAT6のリン酸化を介してMUC5AC遺伝子発現が亢進したことを意味する。IL-13R $\alpha$ 2遺伝子発現もMUC5ACと同様にSTAT6のリン酸化を介することから、IL-13R $\alpha$ 2遺伝子発現の亢進も認めている。これらは、IL-13刺激培養ヒト正常気道上皮における粘液産生制御機構にIL-13R $\alpha$ 2発現が深く関わっていることを示唆する結果である。また、IL-13によって惹起されるIL-13R $\alpha$ 2のup regulationによって細胞内IL-13R $\alpha$ 2蛋白は不変であったが、培養上清中の可溶性IL-13R $\alpha$ 2が増加を示したこと、また、IL-4によって誘導される粘液産生・分泌、STAT6の活性化に関してはIL-13R $\alpha$ 2によって抑制されなかったことは、可溶性IL-13R $\alpha$ 2がIL-13R $\alpha$ 1を介せずに直接作用して粘液産生を抑制したことになる。可溶性IL-13R $\alpha$ 2はIL-13と結合し、IL-13の働きをブロックすることが報告されている。また、動物実験においてOAで感作されたマウスに可溶性のIL-13R $\alpha$ 2を投与すると、遅発型喘息反応、気道過敏性亢進、粘液産生および気道炎症を抑制することが報告されている。これらから、可溶性IL-13R $\alpha$ 2が直接IL-13に結合してその生理活性を失活させることによってフィードバック機構として作用していると考えられる。

今回我々は、喫煙者より取得した気道上皮培養細胞では、非喫煙から取得した検体よりIL-13刺激による杯細胞の形成が不良であり、MUC5AC遺伝子発現も少なくIL-13R $\alpha$ 2遺伝子発現量が相関する結果となり、喫煙者の気管支組織に多数の杯細胞を認めるという実際の臨床像と、明らかに乖離がある。ひとつの原因として、喫

煙者からの検体でDNAに対する直接障害があるのではないかと考え、TUNEL染色を検討したが、TUNEL陽性細胞数に喫煙背景による有意な差を認めなかった。もう一つの要因として、実際の生体内においては、酸化ストレス、TNF- $\alpha$ 、LPS、好中球エラスターゼ、TGF- $\alpha$ 、EGF、Th2サイトカインなど、さまざまなムチン産生刺激因子がオーバーラップして作用していることが想定される。また、これらリガンドが接着する受容体は、Th2サイトカイン受容体およびEGF受容体に代表されるが、接着後のシグナル伝達も生体内では同時に複雑に関わり合っている可能性がある。今回の我々の検討は、培養ヒト気道上皮細胞におけるIL-13単独刺激での結果であり、実際の生体内での現象と乖離が生じる原因となっていると思われる。しかし、喫煙者からの培養気道上皮におけるIL-13刺激の検討において、IL-13R $\alpha$ 2発現が非喫煙者に比べ亢進していることは、喫煙者の気道でIL-13R $\alpha$ 2を介した粘液産生に対する生体防御機構の獲得が生じている可能性が考えられる。これまでIL-13R $\alpha$ 2と、喫煙やCOPD、粘液産生との関係に関する報告はなく、今回その一端を報告した。本受容体のリガンドとの高い親和性をもつという特性から、COPD診療においてもその治療の糸口として期待が持てるのではないかと考える。

#### b) 好中球エラスターゼ刺激による気道粘液産生亢進に対するカルボシステインの効果

今回の検討から、HNEによる気道粘液過剰産生がS-CMCによって抑制されることが示された。この作用機序として、S-CMC添加による細胞に対する $\gamma$ -GCS遺伝子産生亢進作用とこれに引き続く細胞内GSH量増加が酸化ストレスを減弱させることで粘液過剰産生抑制がおこる可能性が示唆された。生体内で起こる酸化ストレスの制御はCOPDなど慢性気道炎症を主体とする疾患の治療に重要であると考えられる。GSHは生体内において豊富に存在する抗酸化物質であり、気道被覆液中には血清に比べて極めて多量(100 $\mu$ M)に存在し、各種外来有害物質や炎症細胞由来の酸化ストレス制御に働いている。 $\gamma$ -GCS(別名Glutamate cysteine ligase(GCL))はGSH合成の第一段階かつ律速段階に位置する酵素であり、その酵素活性によりGSH合成の程度が決定される。また、 $\gamma$ -GCSの分解は合成されたGSHによりfeedback-inhibitionを受ける。以上のことから、HNE刺激による酸化ストレスの増加は気道上皮細胞においてROS産生を亢進させることによって気道粘液過剰産生を惹起するが、この作用に対しS-CMCを事前に添加しておくことで細胞内で利用可能なcysteineが供給され

$\gamma$ -GCS産生増加→GSH産生増加がおり、気道粘液過剰産生が抑制されうると考えられる。

#### 5) 長時間作用型抗コリン薬と $\beta$ 2刺激薬のCOPDに対する臨床効果—動的肺過膨張に対する効果—

動的肺過膨張は呼気時の気流制限に起因し、呼気が終了する前に吸気に移行するため、肺に空気がトラップされる現象である。呼吸数に依存し、特に呼気時に末梢気道が虚脱するCOPD患者にみられる。重症のCOPD患者においては安静時の呼吸においても既にエアートラッピングが認められる。このエアートラッピングおよび動的肺過膨張はCOPD患者における息切れおよび運動耐容能の低下の重要な原因になっており、1秒量よりも運動耐容能の低下およびQoLの低下と密接な関係にあると言われる。COPDの治療薬である長時間作用型吸入抗コリン薬と $\beta$ 2刺激薬との比較において、その呼吸機能改善効果はいずれの報告をみても長時間作用型抗コリン薬が勝っているが、共に動的肺過膨張を抑制すると報告されている。しかし、今回の日本人を対象とした検討では、長時間作用型吸入抗コリン薬チオトロピウムは呼吸機能の改善はもとより、有意に30回/分過呼吸時の動的肺過膨張を抑制した。一方、長時間作用型 $\beta$ 2刺激薬であるサルメテロールは抑制を示さなかった。勿論、チオトロピウム治療群では気流閉塞および肺過膨張の改善を示し、IOSでは末梢気道抵抗、末梢容量性リアクタンスおよび吸気・呼気でのリアクタンスの差である安静呼吸における呼気気流制限も改善を示している。しかしサルメテロール治療群では全く呼吸機能の有意な改善が得られておらず、その結果に起因すると考えられる。運動耐容能についてもチオトロピウム治療群のみに有意な改善が認められている。動的肺過膨張の評価法が従来の報告と異なる点に起因する可能性もある。従来はトレッドミルなどの運動負荷装置を用いて運動負荷を行い、経時的に最大吸気量を測定するといった方法である。これは勿論、息切れの影響を強く受け、最大吸気努力が可能かどうか疑問である。また、様々な要因が加味される。しかし我々の方法ではこのような影響を受けず、客観的に定量評価することができる。以上より、チオトロピウムによる気管支拡張効果は末梢気道における気流制限の改善にあり、エアートラッピングを改善し、より運動耐容能およびQOLを改善するものと考え、安定期COPDの管理において単剤でもっとも有効な薬剤というコンセンサスを裏付ける物である。

#### 6) 圧力センサシートによる無拘束での睡眠呼吸障害の検出と睡眠時無呼吸症候群スクリーニングツールとしての有用性の検討。

既存の一般診療で汎用されている簡易検査機器は口・鼻フローセンサー、胸壁および腹壁運動感知センサー、経皮的酸素飽和度測定センサーの3~4センサーで測定される機器であり、PSGと比較して脳波などの電極の装着が無いだけで、多くのセンサーが体に装着される。Full PSGで測定された無呼吸低呼吸指数(AHI)との相関は、相関係数で約0.7~0.9と報告されている。本研究で使用したSD-101は1つのセンサー、圧力センサーのみで測定されていることから、Level IVの検査機器(1センサーのみ)に相当し、これまで睡眠障害を正確に診断することはできないと言われている。しかし今回の検討より、SD-101はオート解析にもかかわらず、full PSGとの相関は極めて良好であり、従来のLevel IVの機器である経皮的酸素飽和度のモニタリングや口・鼻呼吸モニターだけのものとは比較にならない程、検出感度および特異度に優れ、既存のLevel IIIの簡易検査機器と同等かそれ以上の結果が得られた。また、現在多く使用されている簡易検査機器は、各センサーを身体に装着し測定するため、正常な睡眠を妨げる可能性や被検者に苦痛を強い可能性があるばかりか、睡眠中の寝返りなどの動きによりセンサーが外れてしまい正確に測定できないこともある。SD-101はベッドとシーツの間に敷くだけの無拘束の機器であり、しかも体位による影響を受けず、自然な睡眠下で検査ができる点から、その有用性は従来の簡易検査機器に勝ると考えられた。今回、SASが疑われた集団に加えて健康人がほとんどである一般人を対象としても検討をおこない、 $r=0.92$ と極めて良好な相関を認めた。特にAHIが15回/時間以上の中等症以上のSAS検出能力は極めて良好であり、軽症群を含めても非常に良好な感度を示し、スクリーニング機器としての必須条件である「異常を見落とさずに拾い上げる能力」を備えていることが示された。日本ではSAS患者が約200万人いると推定されているが、治療を受けているのは約2万人で、多くが診断されず無治療で放置されているのが現状である。SASは生活習慣病や心血管障害の重要な危険因子であり、潜在する患者を見つけ出し、早期治療を行うためにも、SD-101のような無拘束で高齢者を含めた全年代層で簡便に操作でき、更にPSGと高い相関が得られる検査機器によるスクリーニングが有用であると考えられた。

## E. 結 論

### 1) 肺気腫の発症要因とTransforming growth factor beta1遺伝子多型

TGF  $\beta$  1遺伝子多型は、日本人の肺気腫発症に関与している可能性がある。

### 2) COPDとToll-like receptor 4 (TRL4) 遺伝子多型との関連

Toll-like receptors 4遺伝子多型は、日本人のCOPDの発症・重症度に関与している可能性がある。

### 3) 肺線維症合併肺気腫の臨床的特徴

肺線維症合併肺気腫患者は、線維化を伴わない肺気腫患者とは異なった臨床的特徴を持っており、特に肺癌の合併には注意を払うべきである。

### 4) 気道上皮細胞における粘液産生制御機構の検討

#### a) IL-13 $\alpha$ 2受容体の役割に関する検討

可溶性IL-13 $\alpha$  R2はIL-13による気道上皮細胞の粘液産生亢進に対して抑制的に作用し、フィードバック機構として作用する。

#### b) 好中球エラスターゼ刺激による気道粘液産生亢進に対するカルボシステインの効果

好中球エラスターゼ刺激による気道粘液過剰産生のカルボシステインによる抑制機序として、活性酸素種産生の抑制、 $\gamma$ -GCS増加による細胞内GSH産生増加が考えられた。

### 5) 長時間作用型抗コリン薬と $\beta$ 2刺激薬のCOPDに対する臨床効果—動的肺過膨張に対する効果—

長時間作用型抗コリン薬は呼吸機能のみならず有意動的肺過膨張も改善し、運動耐容能およびQolの改善に繋がる。

### 6) 圧力センサシートによる無拘束での睡眠呼吸障害の検出と睡眠時無呼吸症候群スクリーニングツールとしての有用性の検討。

SD-101はPSGの結果と良好な相関関係が得られ、SAS検出に関しても高い感度・特異度を示したため、SASスクリーニング検査として有用な無拘束性検査機器と考えられた。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 論文発表

### 1. 論文発表

- 藤本圭作, 久保恵嗣: 【COPDと気管支喘息 接点の問題】 COPDと気管支喘息の生理学的相違点. THE LUNG—perspectives 15: 296—299, 2007
- 漆畑一寿, 久保恵嗣: 【睡眠時無呼吸症候群】 睡眠時無呼吸症候群の病態・合併症 睡眠時無呼吸症候群と肺循環. Mebio 24: 60—65, 2007
- 久保恵嗣, 藤本圭作: 呼吸不全診療の現状—在宅呼吸ケアを中心に—.呼吸 26: 1107—1112, 2007
- Fujimoto K, Yoshiike F, Yasuo M, Kitaguchi Y, Urushihata K, Kubo K, Honda T: Effects of bronchodilators on dynamic hyperinflation following hyperventilation in patients with COPD. Respiriology 12: 93—9, 2007
  - Hatayama O, Kobayashi T, Fujimoto K, Kubo K: Utility of single—slice high—resolution CT in upper lung field combined with low—dose spiral CT for lung—cancer screening in the detection of emphysema. Intern Med 46: 1519—25, 2007
- Hayashida M, Seyama K, Inoue Y, Fujimoto K, Kubo K: The epidemiology of lymphangioliomatosis in Japan: a nationwide cross—sectional study of presenting features and prognostic factors. Respiriology 12: 523—30, 2007
- Konno S, Hizawa N, Betsuyaku T, Yasuo M, Yamamoto H, Koizumi T, Nishimura M: Adult Langerhans cell histiocytosis with independently relapsing lung and liver lesions that was successfully treated with etoposide. Intern Med 46: 1231—5, 2007
- Tanabe T, Fujimoto K, Yasuo M, Tsushima K, Yoshida K, Ise H, Yamamya M: Modulation of mucus production by interleukin—13 receptor  $\alpha$  2 in the human airway epithelium. Clinical and Experimental Allergy 38: 122—134, 2007.
- 久保恵嗣, 井上義一: 【肺リンパ脈管筋腫症(LAM)をめぐって】 本邦におけるLAMの治療, 予後の現状と問題点. 日本胸部臨床 65: 150—155, 2006

- 久保恵嗣: 【慢性閉塞性肺疾患(COPD) 実地医家による早期診断と適切な治療で大きな治療効果をあげよう】 慢性閉塞性肺疾患(COPD)・治療 呼吸不全への対処法 安定期と増悪期. Medical Practice 23: 1049-1055, 2006
- 久保恵嗣: わが国におけるリンパ脈管筋腫症の現状. 医療60: 545-549, 2006
- 笠原靖紀, 田邊信宏, 巽浩一郎, 栗山喬之, 久保恵嗣: 臨床調査個人票を用いた原発性肺高血圧症の解析. Progress in Medicine 26: 314-318, 2006
- 林田美江, 藤本圭作, 久保恵嗣, 瀬山邦明, 井上義一: 【肺リンパ脈管筋腫症(LAM)をめぐる】 わが国におけるLAMの疫学. 日本胸部臨床 65: 113-119, 2006
- Fujimoto K, Kitaguchi Y, Kubo K, Honda T: Clinical analysis of chronic obstructive pulmonary disease phenotypes classified using high-resolution computed tomography. Respirology 11: 731-40, 2006
- Kitaguchi Y, Fujimoto K, Kubo K, Honda T: Characteristics of COPD phenotypes classified according to the findings of HRCT. Respir Med 100: 1742-52, 2006
- Okada M, Takamizawa A, Tsushima K, Urushihata K, Fujimoto K, Kubo K: Relationship between sleep-disordered breathing and lifestyle-related illnesses in subjects who have undergone health-screening. Intern Med 45: 891-6, 2006
- Tsushima K, Sone S, Yoshikawa S, Furuya S, Yasuo M, Suzuki T, Yamazaki Y, Koizumi T, Fujimoto K, Kubo K: Clinical differences in the Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease Stage 0. Respir Med 100: 1360-7, 2006
- 久保恵嗣: 在宅呼吸ケア白書. 2005
- Hayashi M, Fujimoto K, Urushibata K, Takamizawa A, Kinoshita O, Kubo K: Hypoxia-sensitive molecules may modulate the development of atherosclerosis in sleep apnoea syndrome. Respirology 11: 24-31, 2006
- Hayashi M, Fujimoto K, Urushibata K, Imamura H, Kinoshita O, Kubo K: Nocturnal oxygen desaturation as a predictive risk factor for coronary restenosis after coronary intervention—serial quantitative coronary angiography study—. Circ J 69: 1320-1326, 2005
- Fujimoto K, Yasuo M, Urushibata K, Hanaoka M, Koizumi T, Kubo K: Airway inflammation during stable and acutely exacerbated chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 25: 640-6, 2005
- Kashima Y, Koizumi T, Yamamoto H, Honda T, Kubo K: Hepatobiliary and pancreatic: Langerhans' cell histiocytosis. J Gastroenterol Hepatol 20: 1619, 2005
- Koizumi T, Takizawa M, Nakai K, Yamamoto Y, Murase S, Fujii T, Kobayashi T, Hatayama O, Fujimoto K, Kubo K: Trial of remote telemedicine support for patients with chronic respiratory failure at home through a multistation communication system. Telemed J E Health 11: 481-6, 2005
- 久保恵嗣, 藤本圭作: 呼吸不全研究の現状. 呼吸(0286-9314) 24: 99-105, 2005
- 久保恵嗣, 林田美江, 藤本圭作, 瀬山邦明, 井上義一: Pulmonary lymphangiomyomatosis. 日本呼吸器学会雑誌(1343-3490) 43: 14, 2005
- 久保恵嗣, 林田美江, 藤本圭作: 【肺LAMを探る 分子生物学から臨床まで】 肺LAM診療をめぐる新しい展開 臨床例, 疫学をみる. 分子呼吸器病(1342-436X) 9: 391-396, 2005
- 久保恵嗣: COPD臨床Q&A 最近行われた疫学調査, NICE Studyとその結果について教えて下さい. COPD FRONTIER(1347-6564) 4: 156, 2005
- 久保恵嗣: COPD臨床Q&A 気道可逆性の測定方法とCOPD患者における検査の必要性について教えて下さい. COPD FRONTIER(1347-6564) 4: 157, 2005
- 松沢幸範, 藤本圭作, 久保恵嗣: 【先生!ご存知ですか?知って得する各科の”ノウハウ” 日常診療で役立つ,各専門領域のコツや定石を集めました!】 呼吸器 COPDを見逃さない. 治療(0022-5207) 87: 1113-1116, 2005
- 高見澤明美, 長沢正樹, 田村克彦, 神田慎太郎, 岡田光代, 久保恵嗣: 腹膜透析患者における睡眠呼吸障害の実態. 日本呼吸管理学会誌(0916-9253) 14: 487-490, 2005
- 藤本圭作, 久保恵嗣: 【COPD】 COPDをめぐるトピックス 若年発症COPDの臨床像. 化学療法の領域(0913-2384)21: 188-196, 2005



## 2. 学会発表

### 国内学会

- 高見澤明美, 吾妻俊彦, 久保恵嗣: 閉塞性睡眠時無呼吸症候群(OSAS)患者における経鼻的持続陽圧呼吸(nCPAP)療法による降圧効果の検討. 日本呼吸器学会雑誌45: 267, 2007
- 松澤幸範, 藤本圭作, 漆畑一寿, 久保恵嗣: 禁煙外来受診者の禁煙導入に影響する因子の検討. 日本呼吸器学会雑誌45: 284, 2007
- 伊東理子, 花岡正幸, 藤本圭作, 安尾将法, 小松佳道, 北口良晃, 久保恵嗣: 肺気腫の発症要因と Transforming growth factor beta 1遺伝子多型. 日本呼吸器学会雑誌45: 166, 2007

### 国際学会

- Fujimoto K, Kanda S, Komatsu Y, Ito M, Yoshikawa S, Yasuo M, Urushihata K, Kubo K: Evaluation of respiratory impedance by impulse oscillometry in COPD, asthma, bronchiolitis, and obstructive sleep apnea syndrome. Am J Res Crit Car Med 175: A610, 2007
- Ito M, Hanaoka M, Droma Y, Katsuyama Y, Ota M, Fujimoto K, Kubo K: Association of transforming growth factor  $\beta$  1(TGF- $\beta$  1)gene polymorphisms with chronic obstructive lung disease (COPD) and emphysema phenotype. Am J Res Crit Car Med 175: A652, 2007
- Yasuo M, Fujimoto K, Tanabe T, Kanda S, Yoshida K, Kubo K: Effect of S-Carboxymethylcysteine on human neutrophil elastase induced MUC5AC gene expression in cultured airway epithelial cells. Am J Res Crit Car Med 175: A885, 2007

## H. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: 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） 分担総合研究報告

1. COPDの病型分類の臨床的特徴と増悪に関与する因子の解析
2. 肺リンパ脈管筋腫症（Lymphangiomyomatosis：LAM）におけるMatrix metalloproteinases（MMPs）とその誘導に関わる因子の検討

分担研究者 西村 正治  
北海道大学大学院医学研究科呼吸器内科学分野 教授

## 研究要旨

1. COPDには多くの臨床病型が存在することが知られており、その病型によって疾患の自然経過や薬物反応性が異なる可能性がある。そこで、多施設共同研究による北海道COPDコホート研究を計画し、すべてのCOPD症例において肺CT検査を施行し定量化した結果、同じ病期のCOPD症例でも、肺気腫病変の程度は様々であり、また、慢性気管支炎症状の有無も、肺気腫病変の存在には依存しないことが明らかとなった。 $\beta_2$ 刺激薬による薬物効果は肺気腫の程度にかかわらず期待でき、重症肺気腫症例でも認められる。1秒量の改善率には、COPDの重症度、喫煙状況、 $\beta_2$ アドレナリン受容体の遺伝子多型が関与することを明らかにした。さらに、北海道COPDコホート調査2年間追跡時点で、COPD増悪に関連する因子を解析すると、処方の変更追加により判定された増悪では、気流制限に加え、BMIが重要な因子であった。
2. LAMは妊娠可能な年齢の女性に好発し、進行すると呼吸不全に至る疾患である。マトリックスメタロプロテアーゼ（matrix metalloproteinases:MMPs）の中で、IV型コラーゲン分解酵素であるMMP-2（gelatinase A、72kD）やMMP-9（gelatinase B、92kD）が関与することがすでに報告されている。本研究では、その他のMMP-7や、MMPs誘導能を有するExtracellular matrix metalloproteinase（EMMPRIN）に注目し、そのLAM細胞における発現を明らかにし、BAL液中EMMPRIN量がLAM患者では高値であることを示した。

## A. 研究目的

1. 気道病変優位型COPDと肺気腫病変優位型COPDは、薬物治療に対する反応性、QOL、自然経過（増悪の頻度、1秒量の経年変化、生命予後、合併症）などの臨床的特徴が異なる可能性がある。また、COPDは全身性疾患であり、気流制限の重症度に加えて呼吸困難度、BMI、運動耐容量がCOPDの予後に影響する。そこで、現在進行中の北海道COPDコホート調査に登録された症例を対象として、（1）登録症例に関する肺気腫病変の程度からみたCOPD症例の臨床的特徴、（2）2年間追跡時点でのCOPDの増悪頻度と増悪を規定する因子の2点について明らかにする。
2. MMPs誘導能を有するExtracellular matrix metalloproteinase（EMMPRIN）、それにより誘導されるMMP-7、EMMPRINの糖鎖修飾を阻害しMMPsの発現を調節するcaveolin-1に注目し、そのLAM細胞における発現を明らかにするため、免疫組織学的に検討し、LAM結節におけるmRNA発現やBAL液中における定量を試みる。

oproteinase（EMMPRIN）、それにより誘導されるMMP-7、EMMPRINの糖鎖修飾を阻害しMMPsの発現を調節するcaveolin-1に注目し、そのLAM細胞における発現を明らかにするため、免疫組織学的に検討し、LAM結節におけるmRNA発現やBAL液中における定量を試みる。

## B. 研究方法

1. 対象は2003年から北海道COPDコホート研究に登録された40歳以上の臨床的に安定したCOPD患者（274名）、また2年間追跡し得た238名（Stage1: 57名、Stage2: 108名、Stage3-4: 73名）。診断はGOLDガイドラインに基づき、臨床的に診断された気管支喘息、肺癌、肺線維

症、気管枝拡張症などを除外した。全例喫煙歴を有し、 $\alpha_1$ アンチトリプシン欠損症例は認めなかった。全例で詳細な病歴、息切れ、慢性の咳嗽・喀痰症状の有無、喫煙状況を聴取し、気管支拡張薬 (Salbutamol, 0.4mg) 吸入前後での肺機能検査を半年ごとに、肺高分解能CT検査、SGRQによるQOL調査、血液生化学検査は1年ごとに施行した。肺気腫病変は、高分解能肺CT画像を視覚的に評価しスコア化した。増悪の判定は毎月の往復葉書と電話による症状確認およびカルテ調査により行い、臨床症状による基準で判定した増悪と、臨床症状の増悪かつ処方追加変更で判断した増悪の2つの基準で行った。これらの指標を用い、1秒量、息切れ、慢性咳嗽・喀痰症状、喫煙状況、BMIなどの増悪に寄与する因子を解析した。

(倫理面への配慮)

北海道大学「医の倫理委員会」に「慢性閉塞性肺疾患の新たな病型分類の特徴と自然経過の解明に関する研究」として審査を申請し、既に平成14年12月付けで承認されている。また、すべての患者において、調査開始時に同意説明文章を用いてコホート調査と遺伝子検査の内容を説明し、それぞれ書面で同意を取得した。

2. 臨床病理学的に診断されたLAM患者、妊娠可能年齢の健常コントロール各5名の肺組織を用いてMMP-2、MMP-9、MMP-7、EMMPRIN、caveolin-1の免疫染色を施行した。また、laser capture microdissection (LCM)を用いてLAM結節を採取しそれらのmRNA発現を検討した。LAM患者9名と健常コントロール9名のBAL液を用いて、ELISA法でEMMPRIN、MMP-2、MMP-9、MMP-7量を測定した。

(倫理面への配慮)

北海道大学「医の倫理委員会」に「気管支肺胞洗浄を用いた慢性肺疾患の病態生理の解明」として審査を申請し、既に平成12年5月付けで承認されている。

## C. 研究結果

1. ・肺気腫病変と1秒量の相関は緩いものであり ( $r = -0.302, p < 0.001$ )、対象患者を病期・重症度別に分けて観察すると、肺気腫の程度は個体差がきわめて大きいこと、肺気腫のない重症COPD症例も少なからず存在することが明らかとなった。COPD症例を肺

気腫の重症度により、軽症または非肺気腫群、中等症肺気腫群、重症肺気腫群の3群に分類すると、年齢、喫煙指数、慢性の咳嗽・喀痰症状には3群間で有意差を認めなかった。慢性の咳嗽あるいは喀痰症状を有するCOPD症例は全体の20%程度に過ぎず、また両者を有するいわゆる慢性気管支炎症例は3群とも10%前後に過ぎなかった。

- ・ $\beta_2$ 刺激薬吸入による1秒量の可逆性は、肺気腫の重症度による3群間で同等であった。この1秒量の可逆性は、1秒量、現在の喫煙状況、 $\beta_2$ 受容体遺伝子多型が1秒量の可逆性と関連があった。一方、肺気腫の重症度はCOPD患者のBMIとQOLに有意に影響していた。
- ・臨床症状によるCOPDの増悪は2年間で94名40% (合計173回) の症例に認め、処方の追加変更による基準では68名29% (合計125回) の症例に認めた。COPDの病期別にみると、どちらの増悪基準で検討しても、重症のCOPD症例ほど増悪する症例が有意に多かった。増悪を規定する因子をロジスティック回帰分析すると、処方の追加変更で定義した増悪には、1秒量とBMIが関与していた。

2. ・免疫染色法にて、EMMPRIN、MMP-2、MMP-9、MMP-7がLAM結節に高発現し、caveolin-1は低発現していた。

- ・健常人とLAM患者で、全肺組織homogenateをサンプルとした場合、EMMPRIN mRNAの発現に差を認めなかったが、LCM法にて選択採取したLAM結節ではLAMの全肺組織と比べ有意にその発現が上昇していた。
- ・LAM患者のBAL液中のEMMPRIN値は健常コントロールと比較して上昇していたが、MMPsについては有意差を認めなかった。

## D. 考察

1. 本研究ではCOPD症例における肺気腫病変の重症度に着目し、その程度の違いによるCOPDの病型分類の特徴を検討した。対象患者を病期・重症度別に分けて観察すると、同程度の気流制限にもかかわらず、その肺気腫の程度は個体差がきわめて大きいこと、肺気腫のない重症COPD症例も少なからず存在することが明らかとなった。年齢、喫煙指数、慢性の咳嗽・喀痰症状には肺気腫の程度による症例間で有意差を認めない。これは、従来

の慢性気管支炎優位型 (Blue bloater) あるいは肺気腫優位型 (pink puffer) の概念では説明ができない。つまり、気道病変優位型COPDは必ずしも従来言われている慢性気管支炎優位型と同じものではなく、中枢気道病変の存在には必ずしも依存しないことが明らかとなった。しかも、慢性の咳嗽あるいは喀痰症状を有するCOPD患者は全体の1~2割に過ぎないことが明らかとなった。また、 $\beta_2$ 刺激薬吸入による気流制限の可逆性は、予想に反して肺気腫の重症度による3群間で同等であり、 $\beta_2$ 刺激薬の吸入による薬物効果は、肺気腫の重症度には依存せず、気流制限が強い重症肺気腫でも充分薬物効果が期待できることを明らかにした。一方、肺気腫の重症度はCOPD患者のBMIとQOLに有意に影響しており、COPDの重症度である気流制限以外の臨床的意義を肺気腫病変が示しているものと考えられた。

次にCOPDの気流制限の可逆性に着目し検討した。本研究登録COPD症例の約31%の患者がGOLDの定義による気流制限の可逆性 (200ml以上かつ12%以上) を示した。気流制限が強く重症なほど気管支拡張薬に対する反応が良好であり、現在喫煙者は有意に1秒量の改善が少なかった。16番目のアミノ酸における $\beta_2$ アドレナリン受容体 ( $\beta_2$ ADR) 遺伝子多型の検討では、1秒量の改善量は、野生型ホモ (Arg/Arg) で有意に低下した。

最終年である本年は、北海道COPDコホート研究登録者2年間追跡時点での増悪の頻度と関連する因子について検討した。増悪の頻度は増悪の定義、つまり増悪の重症度によって頻度は異なる。そこでCOPDの増悪を臨床症状の悪化による定義と、臨床症状の増悪かつ処方の変更による定義を用いて解析した。COPDの病期別にみると、どちらの基準で検討しても、軽症、中等症COPDに比較し、重症または最重症のCOPD症例は増悪する症例が有意に多かった。しかし、増悪を発症したCOPD症例1人あたりの増悪の頻度を検討すると、COPD病期の間で有意差はなかった。慢性の咳嗽や喀痰を有するCOPDは全体の11%と少数であるが、増悪が有意に多く高率に増悪を認めた。また、BMIの違いによる増悪の発現に有意差はなかったが、BMIが低いCOPD症例では、増悪の発現頻度が高い傾向にあった。増悪を規定する因子をロジスティック回帰分析したところ、処方の追加変更で定義した増悪には、1秒量とBMIが関与していた。今後、さまざまな病型に基づいたCOPD増悪の発現頻度や増悪に関連する遺伝的背景に関する解明が期待される。

2. 今回の検討から、EMMPRINがLAM細胞の一部に発現しMMPsを誘導し、嚢胞形成に関与している可能性が示唆される。また、VEGFがLAM細胞に高発現し病態に関与することが報告されているが、EMMPRINはVEGFも誘導することが近年報告されており、EMMPRINはLAM細胞においてMMPsだけでなくVEGF誘導にも関与している可能性がある。LAM患者におけるLAM結節のMMP-7発現が高発現しており、EMMPRINがLAM細胞においてMMP-7を誘導している可能性がある。また、caveolin-1発現の低下は、LAM細胞におけるEMMPRINのMMP誘導能に関与している可能性とLAM細胞の増殖を促進している可能性を示唆する。しかし、その発現程度には個体差があることから、LAM患者の病態や病勢にEMMPRINがどの程度関与するのかの検討が必要である。

## E. 結論

1. COPDは同じ病期にもかかわらず肺気腫の程度は様々である。肺気腫の程度によらず $\beta_2$ 刺激薬の薬物効果は期待でき、気流制限、禁煙、 $\beta_2$ アドレナリン受容体遺伝子多型がこの薬物効果に関与する。また、COPD増悪の危険因子としては気流制限の重症度に加えてBMIの低下が重要であり、肺気腫の重症度は関与しない。
2. 我々は、LAM患者の肺組織に存在するLAM細胞にEMMPRIN、MMP-2、MMP-9、MMP-7が高発現し、BAL液中に、EMMPRIN濃度が上昇していることを報告した。

## G. 研究発表

### 論文発表

- Odajima N, Betsuyaku T, Nasuhara Y, Itoh T, Fukuda Y, Senior RM, Nishimura M. Extracellular matrix metalloproteinase inducer in interstitial pneumonias. *Hum Pathol.* 2006;37:1058-65
- Hasegawa M, Nasuhara Y, Onodera Y, Makita H, Nagai K, Fuke S, Ito Y, Betsuyaku T, Nishimura M. Airflow limitation and airway dimensions in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173:1309-15
- Nagai K, Betsuyaku T, Kondo T, Nasuhara Y, Nishimura M. Long term smoking with age builds up excessive oxidative stress in bronchoalveolar