

くことで、胸部 CT 画像の定量的解析による嚢胞性肺疾患の鑑別診断が可能となると考えられた。

1)-2. LAM 病変が高頻度に女性生殖器にみられかつその進展形式が肺同様に LCC を介したものである事を示したと考えられる。

2) VC はマウス肺を酸化ストレスから保護し、肺胞破壊を軽減することが期待されるが、過剰摂取状態では逆にマウス肺での酸化ストレスを亢進し、肺組織傷害を生じることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Odajima N, Betsuyaku T, Nasuhara Y, Inoue H, Seyama K, Nishimura M. Matrix metalloproteinases in blood from patients with LAM. *Respir Med.* In press, 2008.

2. Sugimoto R, Nakao A, Yamane M, Toyooka S, Okazaki M, Aoe M, Seyama K, Date H, Oto T, Sano Y. Sirolimus amelioration of clinical symptoms of recurrent lymphangioleiomyomatosis after living-donor lobar lung transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 27:921-4, 2008.

3. Makino Y, Shimanuki Y, Fujiwara N, Morio Y, Sato K, Yoshimoto J, Gunji Y, Suzuki T, Sasaki S, Iwase A, Kawasaki S, Takahashi K, Seyama K. Peritoneovenous shunting for intractable chylous ascites complicated with lymphangioleiomyomatosis. *Intern Med.*

47:281-5, 2008.

4. Mori H, Nose T, Ishitani K, Kasagi S, Souma S, Akiyoshi T, Kodama Y, Mori T, Kondo M, Sasaki S, Iwase A, Takahashi K, Fukuchi Y, Seyama K. Phosphodiesterase 4 inhibitor GPD-1116 markedly attenuates the development of cigarette smoke-induced emphysema in senescence-accelerated mice P1 strain. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 294:L196-204, 2008.

5. 飛野和則、瀬山邦明. 嚢胞性肺疾患 呼吸器症候群 (第2版) I 新領域別症候群 シリーズ No. 8: 783-791, 2008.

6. 久能木真喜子、瀬山邦明. リンパ脈管筋腫症 呼吸器症候群 (第2版) I 新領域別症候群 シリーズ No. 8: 512-520, 2008.

7. 吉見格、瀬山邦明. COPD の管理 薬物療法 の 面 から COPD FRONTIER 7: 165-172, 2008.

8. 三浦佳代、瀬山邦明、石渡俊次、島田和典 一般病院での禁煙外来の有用性と問題点. *総合臨床* 57: 2269-2273, 2008.

9. 林田美江、藤本圭作、久保惠嗣、瀬山邦明、井上義一、厚生労働省難治性疾患克服研究事業呼吸不全に関する調査研究班. リンパ脈管筋腫症 lymphangioleiomyomatosis(LAM) の治療と管理の手引き *日本呼吸器学会雑誌* 46: 428-431, 2008.

10. 林田美江, 久保惠嗣, 瀬山邦明, 熊坂利夫, 井上義一, 北市正則, 審良正則, 厚生労働省難治性疾患克服研究事業呼吸不全に関する調査研究班. リンパ脈管筋腫症 lymphangioliomyomatosis(LAM) 診断基準. 日本呼吸器学会雑誌 46: 425-427, 2008.

11. 郡司陽子, 熊坂利夫, 瀬山邦明. リンパ脈管筋腫症(LAM)の分子病態と治療への展望. 日本胸部臨床 67: 275-283, 2008.

学会発表

1. Kuniaki Seyama. Lymphangiogenesis in LAM. LAM Foundation 2008 International Research Conference in Cincinnati April 5th (Sat), 2008.

2. 久能木真喜子, 瀬山邦明, 熊坂利夫, 飛野和則, 郡司陽子, 小池建吾, 佐藤輝彦, 秋吉妙子, 高橋和久. GnRH 療法の呼吸機能および血清 VEGF-D 値に対する影響 第48回日本呼吸器学会総会 平成20年6月 神戸

3. 後藤直人, 瀬山邦明, 吉本啓助, 菊地敏樹, 郡司陽子, 久能木真喜子, 佐藤輝彦, 高橋和久. リンパ脈管筋腫症の診断後に妊娠・出産を試みた5症例の臨床的検討. 第12回日本気胸・嚢胞性肺疾患学会総会 平成20年9月6日(土) 東京

4. 飛野和則, 瀬山邦明, 栗原正利, 平井豊博, 秋吉妙子, 郡司陽子, 児玉裕三, 高橋和久. 胸部 CT 画像の定量的解析を用いた

Birt-Hogg-Dubé 症候群とリンパ脈管筋腫症の比較とその鑑別診断 第12回日本気胸・嚢胞性肺疾患学会総会 平成20年9月6日(土) 東京

5. 小池建吾, 瀬山邦明, 袁益明, 秋吉妙子, 久能木真喜子, 飛野和則, 関谷充晃, 天野晶子, 近藤嘉高, 佐藤安訓, 石神昭人, 丸山直記, 高橋和久. SMP30 ノックアウトマウスにおけるビタミンCがマウス肺の老化に及ぼす影響. 第48回日本呼吸器学会総会 平成20年6月 神戸

6. 小池建吾, 瀬山邦明, 袁益明, 秋吉妙子, 岩間水輝, 天野晶子, 佐藤安訓, 近藤嘉高, 細川昌則, 石神昭人, 後藤佐多良, 丸山直記, 高橋和久. 抗酸化剤摂取は SAMP1 の老化を抑制するか? 第23回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会 2008年7月18日(金) 京都大学百年記念館

7. 石神昭人, 瀬山邦明, 小池建吾, 高橋和久, 丸山直記. SMP30 ノックアウトマウスにおけるビタミンCが肺の老化に及ぼす影響 喫煙科学財団研究発表会 平成20年7月23日 東京

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

閉塞型睡眠時無呼吸症候群(OSAS)における Metabolic syndrome (MS)の合併とその検討

研究分担者 赤柴 恒人

日本大学医学部内科学系睡眠学分野 教授

研究要旨

【背景】代謝症候群 (Metabolic syndrome: MS) では、肥満 (内臓脂肪蓄積) とインスリン抵抗性が病態基盤にある。近年、この肥満と独立して、閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (Obstructive sleep apnea syndrome: OSAS) が MS と関連することが示唆されている。【目的】当院での OSAS における MS の合併頻度を検討し、さらに非肥満 OSAS と MS 診断項目にある高血圧、脂質異常、耐糖能異常との関連を評価することを目的とした。【方法】身体測定、血液・生化学・尿検査、肺機能検査、胸部レントゲンを施行し、終夜ポリソムノグラフィ検査 (PSG) にて OSAS と診断した全例男性 416 名が対象である。全症例で MS の合併頻度を検討し、このうち非肥満 OSAS 101 名を選択し、MS 診断項目にある高血圧、脂質異常、耐糖能異常との関連を検討した。【結果】当院 OSAS における MS の合併頻度は 53.9% (213/416) であり、AHI で重症度別に分類すると、OSAS が重症になるほど MS の合併は増加した。非肥満 OSAS 群(平均: 年齢 57.6 歳, Body mass index(BMI) 22.7 kg/m², Apnea-hypopnea index (AHI) 34.3 events/hr, Lowest SpO₂ 79%)では、内臓脂肪蓄積の必須条件を除く MS 診断項目のうち高血圧(69.3%)、脂質異常(42.6%)、耐糖能異常(19.8%)を認め、このうち 39.6% (40/101) で上記 3 項目のうち 2 つ以上を認めた。同様に、非肥満群でさえも、OSAS が重症になるほど高血圧、高脂血症、高血糖のうち 2 つ以上を認める割合が増加し、重症 OSAS では 55.9% に認めた。【考察】本邦でも OSAS における MS の合併に対する考慮は重要である。これは非肥満でさえも同様で、OSAS が高血圧、高脂血症、耐糖能異常に関与し、MS の病態基盤を発症・進展させることを間接的に示すのかもしれない。

A 研究目的

閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (Obstructive sleep apnea syndrome: OSAS) は、本邦で少なくとも全人口の約 2%前後は存在すると推測される common disease であり、動脈硬化の進展や心・血管

疾患との合併が重要で、その生命予後に影響する。肥満は OSAS の古典的な危険因子であるが、同時に肥満は高血圧、高脂血症、耐糖能異常と関係し、最終的に心・血管疾患の発症と進展に関与する。

代謝症候群 (Metabolic syndrome: MS)

は、内臓脂肪の蓄積とインスリン抵抗性がその病態基盤となる。インスリン抵抗性は、体内の脂肪蓄積と密接に関連する。脂肪組織は生体内における最大の内分泌臓器であり、多くの分泌蛋白質を発現する。内臓脂肪蓄積により、TNF- α 、IL-6、MCP-1、レプチンやアディポネクチンなどの動脈硬化の進展に関係するアディポサイトカイン異常が生じ、MSの分子基盤を形成する。

OSASは、睡眠中に繰り返し生じる上気道閉塞を特徴とした疾病である。OSASは中年男性に多く、肥満、高血圧、高脂血症、糖尿病など生活習慣病との重複で注目され、OSASとMSとの関連が示唆されてきた。OSASの重症度は、MSの必須条件である内臓脂肪蓄積と関連があり、それゆえMSの病態を容易に進展させるのかもしれない。しかし、この肥満と独立して、OSASがMSの発症や病態進展に関与するのかはまだ明確にされていない。

本研究では、第1に当院におけるOSASとMSの合併を検討し、次に非肥満群でOSASとMS診断項目にある血圧異常、脂質異常、耐糖能異常との関連を検討することにより、OSASがMSの発症や病態の進展に関与するのかを評価することを目的としている。

B 研究方法

対象は、睡眠呼吸障害の徴候である鼾・睡眠中の無呼吸の指摘や日中の眠気を主訴に2007年7月から2008年3月までに当院を受診し、終夜ポリソムノグラフィ検査(Polysomnography: PSG; Alice 4TM; Respironics Inc., Pittsburgh, USA)にて

OSASと診断した日本人男性416名である。診断時に、COPDに代表される呼吸器疾患や明らかな心不全を有する対象患者はいない。睡眠に関する質問と既往歴、服薬内容などの問診後に、身体測定、理学的所見の評価、胸部単純レントゲン撮影、心電図検査を施行した。また、肺機能検査では、スパイロメータにより換気障害の有無を評価し、同時に臥位で動脈血液ガスを採取して、酸素分圧と炭酸ガス分圧の測定を行った。OSASの診断は、日中の眠気などの随伴徴候にくわえて、PSGによりAHI>5 events/hrを満たす場合とした。

PSG検査は、表面電極を用いて脳波、眼電図、筋電図、心電図を測定し、サーミスタによる口鼻気流、マイクロフォンによる気管音測定、インダクタンスプレチスモグラフィによる胸・腹部の呼吸運動とパルスオキシメータによる酸素飽和度を測定した。また、体位センサにより就寝時の体位も記録した。睡眠検査室にて、9:00 PMから6:00 AMまで終夜にわたり各指標を記録し、全症例で学会認定を受けた当院の専従者がマニュアル解析をおこなった。体血圧は、外来受診時(9:00 AMから11:00 AM)に安静5分後の座位で2回測定した。その後、血液・生化学検査(T-Cho, TG, HDL-C, FPG, HbA1C)と尿検査を空腹時に施行した。

MSの定義は、2005年4月より提唱されている本邦の診断基準を用いた(図1)。この基準では、臍周囲径が男性85cm以上、女性90cm以上を必須条件として、血圧異常(収縮期圧 \geq 130mmHgおよび/または拡張期圧 \geq 85mmHg)、脂質異常(TG \geq 150 mg/dlお

図1. The Diagnosis of MS in Japan

Visceral fat accumulation (Required item)	
Waist circumference (The gross area of visceral fat equivalent to $\geq 100\text{cm}^2$)	Male $\geq 85\text{cm}$ Female $\geq 90\text{cm}$
And At least two of the following risk factors	
Triglyceride	$\geq 150\text{mg/dl}$
HDL-Chol	and/or $< 40\text{mg/dl}$
Systolic BP	$\geq 130\text{mmHg}$
Diastolic BP	and/or $\geq 85\text{mmHg}$
Fasting Plasma Glucose	$\geq 110\text{mg/dl}$

表1. Characteristics of Patients with OSAS

Case	416 (M:416, F: 0)
Age (year)	52.8 \pm 13.7
BMI (kg/m ²)	28.0 \pm 4.8
Waist (cm)	95.2 \pm 11.9
Systolic BP (mmHg)	134.3 \pm 17.1
Diastolic BP (mmHg)	86.5 \pm 10.9
AHI (events/h)	46.6 \pm 23.0
Arousal Index (events/h)	41.8 \pm 21.7
mean SpO ₂ (%)	93.6 \pm 3.4
lowest SpO ₂ (%)	74.9 \pm 10.8

よび/または HDL-C $<40\text{mg/dl}$ 、空腹時高血糖(FPG $\geq 110\text{mg/dl}$)の3項目のうち2つ以上を有する場合にMSと診断する。すでに、高血圧、高脂血症、糖尿病で薬物服用があれば、各項目につき有すると判定した。本研究における非肥満OSASとは、BMI $<25.0\text{kg/m}^2$ かつ腹囲 $<85\text{cm}$ を満たすOSASとし、上述した血圧異常、脂質異常、耐糖能異常の3項目との関連を評価した。結果は、

平均値 \pm 標準偏差(mean \pm SD)で表記した。

(倫理面の配慮)

この研究は、日本大学医学部附属板橋病院の臨床研究倫理委員会の承認と全ての患者でインフォームド・コンセントによる承諾を得た。

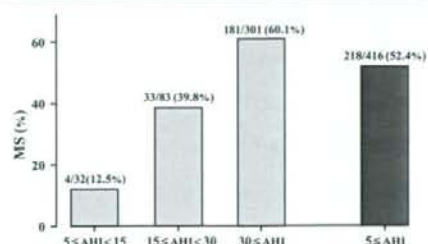
C 研究結果

PSGを施行しOSASと診断した男性416名のprofileを表1にまとめた。平均値では、

表2. Laboratory Findings in Patients with OSAS

IRI (mU/ml)	15.5 \pm 17.9
FPG (mg/dl)	113.2 \pm 27.2
HbA1C (%)	5.7 \pm 0.9
WBC (/ml)	6.9 \pm 1.9
Hb (g/dl)	15.0 \pm 1.3
Ht (%)	44.1 \pm 3.9
T-Chol (mg/dl)	205.7 \pm 36.9
HDL-Chol (mg/dl)	48.7 \pm 12.0
TG (mg/dl)	184.6 \pm 132.9

図2. The Association of MS with OSAS



年齢52.8歳(20~75歳)で、BMI 28.0 kg/m²である。睡眠検査からAHI 46.6 events/hr、Lowest SpO₂ 74.9%と重症OSASが多い。脂質と血糖を含めた生化学検査結果と血圧を含めたMetabolic propertyの概要を表2に示す。全症例でのOSASにおけるMSの合併は53.9%(213/416例)であり、各症例数は異なるがAHIによる重症度分類では、MSの合併を軽症12.5%(4/32)、中等症39.8%(33/83)、重症60.1%(181/301)に認め、OSASが重症になるほどMSの合併は明らかに増加をした(図2)。

次に、全症例416名の中からBMI $<25.0\text{kg/m}^2$ かつ腹囲 $<85\text{cm}$ を満たす非肥満OSASの検討結果を示す。症例101名の男性非肥満OSASのprofileを表3に示した。平均値は、年齢57.6歳(23~78歳)で、BMI 22.7 kg/m²である。睡眠検査の結果が

表3. Characteristics of Patients with OSAS in Non-obese

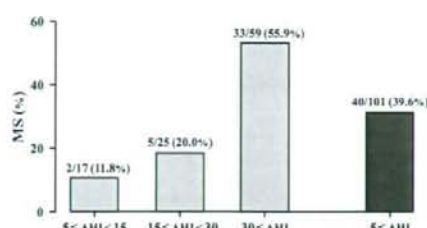
Case	101 (M:101, F: 0)
Age (year)	57.6 ± 13.5
BMI (kg/m ²)	22.7 ± 1.8
Waist (cm)	79.1 ± 5.3
Systolic BP (mmHg)	131.4 ± 17.5
Diastolic BP (mmHg)	83.1 ± 9.8
AHI (events/h)	34.3 ± 16.7
Arousal Index (events/h)	34.0 ± 14.6
mean SpO ₂ (%)	95.4 ± 1.7
lowest SpO ₂ (%)	79.4 ± 7.3

図3. Metabolic Property in Non-obese Patients with OSAS

a. Systolic BP, mmHg	131.4 ± 17.5
Diastolic BP, mmHg	83.1 ± 9.8
Subjects with hypertension	70/101 (69.3%)
b. Serum TG, mg/dl	154.0 ± 153.4
Serum HDL-C, mg/dl	52.0 ± 12.9
Subjects with dyslipidemia	43/101 (42.6%)
c. FPG, mg/dl	103.7 ± 17.0
Subjects with hyperglycemia	20/101 (19.8%)
⇒ at least two of a,b,c	40/101 (39.6%)

ら、AHI 34.3 events/hr、Lowest SpO₂ 79.4 %と重症 OSAS が多い。脂質と血糖を含めた生化学検査結果と血圧を含めた Metabolic property の概要を図 3 に示す。非肥満 OSAS で、MS 診断項目にある血圧異常(収縮期圧 ≥ 130mmHg および/または拡張期圧 ≥ 85mmHg)、脂質異常(TG ≥ 150 mg/dl および/または HDL-C < 40 mg/dl)、空腹時高血糖(FPG ≥ 110 mg/dl) の 3 項目のうち、高血圧を 69.8%、脂質異常を 42.6%、高血糖を 19.8% に認めた。また、この 3 項目のうち 2 つ以上有する頻度を 39.6% に認めた。各症例数は異なるが、OSAS 重症度を AHI で分類すると、上述した 3 項目のうち 2 つ以上有する割合は、軽症 11.8% (2/17)、中等症 20.0% (5/25)、重症 59.9% (33/59)であり、非肥満群でも OSAS が重症になるほど、高血圧、高脂血症、高血糖の

図4. The Association of Some Components of MS with OSAS in Non-obese Patients



うち 2 つ以上有する割合が増加した(図 4)。

D 考察

MS は、内臓脂肪蓄積に伴うインスリン抵抗性を基盤に、血圧異常、脂質異常と耐糖能異常のうち 2 つ以上が累積した病態であり、心血管疾患の発症において重要な疾患である⁶⁾⁷⁾。一方で、以前より OSAS はこれら危険因子を重複することが指摘されてきた。本研究の主な結果は、以下の 2 点に要約される。まず、全症例 OSAS 416 名のうち 213 名 (53.9%) に MS の合併を認め、これを AHI で重症度分類し MS の合併を検討すると、OSAS が重症になるほど MS の合併が増加した点である。さらに、重症 OSAS の 61.8% に MS の合併を認めた。厚生労働省が公表した 2004 年国民健康・栄養調査 (n=1549, 年齢分布: 20~74 歳, <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2006/05/h0508-1.html>) の結果をみると、異なる母集団であることや直接統計学的な検討はできないが、当院の OSAS 症例は一般人口における MS 発症頻度 (23.4%) に対して相対的に高いのかもしれない (53.9% *v.s.* 23.4%)。第 2 点目は、非肥満 OSAS 101 名の検討で、MS 診断項目にある血圧異常、脂質異常、空

腹時高血糖のうち、高血圧 69.8 %、脂質異常 42.6 %、耐糖能異常 19.8 % の割合でそれぞれに認めた点である。さらに、この 3 項目のうち 2 つ以上を 39.6 % に認め、非肥満 OSAS といえども、すでに複数の代謝機能異常を併せ持つ可能性が示唆され、肥満(内臓脂肪蓄積)と独立して、OSAS が MS の病態進展を促進させる可能性が本研究結果より間接的に示唆される。

肥満(内臓脂肪蓄積)は、OSAS と MS の双方において重要な因子である。2005 年“Sleep in America”の調査結果からは、米国成人の 4 人に 1 人の割合で肥満を認め、肥満者 57% に OSAS の可能性が示された。さらに、30-69 歳の約 17% に睡眠呼吸障害(AHI>5)を認めた米国からの報告では、軽～中等症 OSAS の 41～58% が体重増加と関連を示した。内臓脂肪蓄積は、OSAS 重症度の指標となる AHI や Lowest SpO₂ と有意な相関を示し、すでに確立された OSAS の治療である経鼻持続気道陽圧(nasal continuous positive airway pressure: CPAP)療法では、体重変化を認めずに内臓脂肪蓄積量の減少と血清レプチン濃度の低下が示されている。このように、OSAS は MS の基盤をなす肥満(内臓脂肪蓄積)と深く関連し、OSAS では有意に MS の合併が多い。英国での報告では、OSAS の 87% に MS を認め、我々が検討した頻度に比べ高い。しかし、この報告では、検討した OSAS 群の BMI は $35.8 \pm 0.9 \text{ kg/m}^2$ であり、本研究では BMI $28.0 \pm 4.8 \text{ kg/m}^2$ である。欧米人とアジア人との人種による BMI の相違が、OSAS における MS の合併に差異を生じさ

せたのかもしれない。一方、本邦での報告では、OSAS での MS の合併は男性 ($n=719$, BMI = $27.7 \pm 0.2 \text{ kg/m}^2$) 49.5 %、重症 OSAS 59% に MS を認めた。我々の検討でも、OSAS 416 名 53.9% に MS を認め、重症 OSAS 61.8% に MS を認めた。対象群での差異はあるものの、本邦 OSAS における MS の合併は、篠邊らの報告と大きな差異は認められない。

OSAS とインスリン抵抗性との関連は、以前より指摘されている。一方、MS は内臓脂肪蓄積とこのインスリン抵抗性を基盤として、複数の代謝機能異常が生じる疾病である。近年、肥満(内臓脂肪蓄積)と独立して、OSAS とインスリン抵抗性との関連が指摘された。米国での Sleep Heart Health Study では、AHI<5 群に比べて、 $5 \leq \text{AHI} < 15$ 群では耐糖能異常の相対寄与度は 1.27 倍であり、AHI ≥ 15 群では 1.46 倍と増加する。興味深いことに、睡眠呼吸障害に随伴する低酸素状態がインスリン抵抗性と有意な相関を認めた。脂質異常でも、同様に AHI の増加に伴いコレステロールを除く脂質異常が増加した。異なる疫学研究である Wisconsin Sleep Cohort Study では、AHI<5 群に比べて AHI ≥ 15 群では糖尿病の相対寄与度は 2.30 倍であった。一方、CPAP 治療効果の検討では、治療導入後 2 日目と 3 ヶ月後でそれぞれ有意にインスリン感受性の改善を認め、OSAS に合併した II 型糖尿病群では、30-90 日間の CPAP 治療により HbA_{1c} 値の減少やコンプライアンス良好群では、朝食後血糖値の著しい改善を認めた。脂質異常の変化は、4 週間の

CPAP 治療によりコレステロール値の改善を認めるなどの報告もある。OSAS と高血圧との関連では、大規模疫学研究や CPAP 治療効果の検討から、OSAS は高血圧の独立因子と考えられ、実際に難治性高血圧でも OSAS の合併頻度が高いことから、米国の第 7 次高血圧合同委員会の勧告で OSAS は 2 次性高血圧の原因疾患に特定された。OSAS と高血圧、インスリン抵抗性や耐糖能異常、脂質異常との包括的な病態解明はまだであるが、OSAS が直接的に代謝機能に悪影響を与える一方で、適切な OSAS の治療は可逆的に作用する可能性を示している。本研究では、肥満（内臓脂肪蓄積）と独立して、OSAS と複数の代謝機能異常との関連を評価したが、非肥満 OSAS 101 名の検討結果は、MS 診断項目にある血圧異常 69.8%、脂質異常 42.6%、耐糖能異常 19.8% に認めた。さらに、この 3 項目のうち 2 つ以上有する頻度は 39.6% であり、2004 年国民健康・栄養調査での一般人口における MS の発症頻度と比べても、非肥満群であるにもかかわらず、相対的に高い頻度なのかもしれない (39.6% *vs.* 23.4%)。それゆえ、非肥満 OSAS といえども、代謝機能異常をすでに併せ持つことを留意すべきであろう。この結果は、肥満(内臓脂肪蓄積)と独立して、OSAS が MS の病態進展に関与し促進させる可能性を間接的に支持する結果と考える。

OSAS を MS の危険因子とするならば、病態生理の機序は多岐にわたる。交感神経系活動の亢進、間欠的低酸素、睡眠の断片化・睡眠不足、視床下部-下垂体-副腎軸

の調節異常、血管内皮機能不全、炎症性サイトカインやアディポカイン産生異常などがある。なかでも、OSAS 特有の間欠的低酸素と睡眠の断片化・睡眠不足は、代謝機能に悪影響を与えているのかもしれない。睡眠中に反復する間欠的低酸素は、酸素レベルの動揺による化学受容体を介した交感神経系活動の亢進や虚血・再灌流による傷害が全身に生じ、酸化ストレス、炎症性サイトカインや膜脂質過酸化などが代謝機能異常に関与する。しかし、間欠的低酸素を曝露したヒトでの検討は限られるため、動物実験モデルを用いた報告がある。非肥満マウスに間欠的低酸素を曝露すると、自律神経活動と独立して、インスリン抵抗性が増大したとされている。非肥満マウスに間欠的低酸素を曝露すると脂質異常も認め、T-Chol、TG、リン脂質や肝 TG の増加を認める。昨年には、間欠的低酸素を曝露したマウスに高コレステロール食を与えると、脂質異常と血管内動脈硬化性変化が確認された。このように、実験的な間欠的低酸素の曝露による検討では、代謝異常を誘導・促進しうる可能性を強く示唆している。

一方、OSAS に生じる覚醒反応は、睡眠全体の質・量を低下させる。この睡眠の断片化・睡眠不足が、MS の危険因子と考えられる。Spiegel らは、若年健常者に 6 日間にわたり夜間 4 時間までの睡眠制限をした結果、交感神経系活動の亢進と急性インスリン分泌能の低下や糖のクリアランス低下を認めた。さらに、音刺激により深睡眠を抑制するとインスリン感受性が低下し、睡眠断片化の指標と血漿カテコラミン分泌量と

が有意に相関したとの報告がある。OSAS の睡眠不足・睡眠の断片化は、睡眠呼吸障害と独立して、血漿カテコラミン分泌を促し交感神経活動を亢進させ、インスリン感受性や代謝機能にも悪影響を与えるのであろう。興味深いことに、睡眠不足・睡眠の断片化は、空腹や食欲を調節するレプチンやグレリンなどの神経内分泌物質にも影響を与える。食欲減退作用のレプチンと食欲促進作用のグレリンは、脳に体内エネルギーバランスの情報を伝える“陰陽仮説”の中で注目されるが、睡眠制限は血清レプチン値を減少させて血清グレリン値を増加させる。機序として睡眠制限による交感神経系活動の亢進の関与が指摘されるが、OSAS の睡眠不足・睡眠の断片化は、体内のエネルギーバランスに影響を与えて、過体重や肥満（内臓脂肪蓄積）を誘導する危険因子となり、睡眠呼吸障害と独立して、MS の病態基盤をより促進助長させて代謝機能異常に関与すると考えられる。

このように、OSAS 特有の間欠的低酸素と睡眠の断片化・睡眠不足は、代謝機能に悪影響を与える可能性があるが、本研究の結果もこれに矛盾しないと考えられる。当院 OSAS における MS の合併頻度は 53.9% と高く、非肥満群の OSAS でも、内臓脂肪蓄積の必須条件を除く MS 診断項目のうち高血圧 69.3%、脂質異常 42.6%、耐糖能異常 19.8% を認め、このうち 39.6% (40/101) で上記 3 項目のうち 2 つ以上を認めた。非肥満群でさえも、OSAS が重症になるほど 2 つ以上を認める割合が増加し、とくに重症 OSAS では 55.9% に認めた。これら頻度は、

OSAS 特有の病態生理が代謝機能に影響することを示す結果なのかもしれない。しかし、本研究の解釈には、いくつかの制限がある。まず第 1 に、本研究結果は、OSAS が直接的に MS に関与する潜在的な機序を確立するものではない。OSAS と MS は、肥満（内臓脂肪蓄積）以外にも共通する病態も多く、動脈硬化性疾患の発症と進展に関わる病態の解明が今後必要とされる。しかし、肥満（内臓脂肪蓄積）は、高血圧、脂質異常、耐糖能異常と OSAS との関連で、大きな交絡因子である。それゆえ、肥満（内臓脂肪蓄積）やそれ以外の潜在的な交絡因子を十分に配慮した厳格な研究対象の選択と、より大規模な研究が必要であろう。第 2 に、本研究は日本人男性 OSAS が対象であり、健常者を対照とした比較検討はない。また、性別やアジア人種間での検討も含まれず、くわえて 2004 年国民健康・栄養調査との統計上の比較や類推は困難である。第 3 に、本研究は非肥満として BMI < 25.0 kg/m² かつ腹囲 < 85 cm と定義した。これは、本邦での国民健康・栄養調査で用いる“中心型肥満症の疑い”に合致しない基準として採択した。しかし、対象とした非肥満男性 OSAS が、腹部 CT で呼気終末時に計測される臍レベルの内臓脂肪面積 < 100cm² であるかは明確にできない。このような制限の下、本研究が行われている。

E 結論

本邦 OSAS には MS の合併は多く、OSAS は重症であるほど MS の合併が増加し、重症 OSAS で最も MS の合併は多くなると考えられる。非肥満 OSAS においても、MS

の診断項目にある代謝機能異常をすでに併せ持つことを留意すべきであろう。OSAS が MS の病態基盤の進展に関与する可能性が示唆される一方で、もしそうならば、代謝機能異常を併せ持つことが多い OSAS への適切な早期治療介入の選択が今後極めて重要であろう。

G 研究発表

1. 論文発表

赤柴恒人。CPAP 治療における治療圧の決定方法。Clinical Engineering 19: 1153-1157, 2008

赤柴恒人。ポリソムノグラフィー。簡易検査と精密検査。呼吸器疾患マニュアル。日本医師会雑誌 137: S135-S137, 2008

赤柴恒人。睡眠と呼吸のかかわり。呼吸 27:753-754, 2008

赤柴恒人。睡眠時無呼吸症候群の検査と診断のポイント-外来における診断の実際。Medical Practice 25: 1151-1154, 2008

2. 学会発表

Uematsu A, Akashiba T, et al. Obstructive sleep apnea syndrome, rather than obesity, is associated with metabolic abnormalities in Japanese patients. Asian-Pacific Society of Respirology, Bangkok, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況なし。

- 1、シンバスタチンによる気道被覆液中サイトカインの減少
- 2、タバコ煙の E-cadherin 発現に対する影響

研究分担者 石坂 彰敏

慶應義塾大学医学部呼吸器内科 教授

研究要旨

- 1、スタチンには血中脂質低下作用以外に、抗炎症・抗酸化・血管内皮機能改善など多彩な作用がある。本研究では COPD 患者 5 名・喫煙者 11 名に 3 ヶ月間シンバスタチンを投与し、治療前後で気道上皮被覆液を採取し、18 種類の炎症性サイトカイン・ケモカイン・増殖因子濃度を測定した。シンバスタチン投与後、気道被覆液中 IL-4・IL-6・IL-8・IL-10・GM-CSF・IFN γ ・IL-1 β ・IL-7・IL-12 p70・MCP-1・VEGF (P \leq 0.01)、GCSF (P \leq 0.05) 濃度の低下を認めた。スタチンは喫煙による気道の炎症を抑え、COPD の病態を改善する可能性が示唆された。
- 2、上皮細胞間接着因子 E-cadherin は MMP により分解され可溶性 sE-cadherin が放出される。これまでの検討で血漿 sE-cadherin 濃度は COPD 患者で健常者に比べ高値であった。一方、sE-cadherin は気道上皮細胞に作用し、MMP-2, 9 などを誘導し、基底膜損傷を惹起する可能性が示唆されている。本研究では気道上皮細胞をタバコ抽出液で刺激し、アポトーシスの誘導過程における E-cadherin の動態を検討した。10%タバコ抽出液による BEAS2B 細胞の 24 時間刺激により、約 30% の MTT 活性の低下を認め、上清中に sE-cadherin が検出された。気道上皮細胞のアポトーシスへの移行に伴い、sE-cadherin が放出されたと考えられた。

A. 研究目的

- 1、スタチンには血中脂質低下作用以外に、抗炎症・抗酸化・血管内皮機能改善など多彩な作用がある。近年、スタチン投与による動物モデルにおける肺気腫の改善や、疫学的検討での COPD 患者の肺機能の改善が報告されている。本研究では臨床検体を用い、その機序の解明を目的とした。
- 2、上皮細胞間接着因子 E-cadherin は

MMP-3, 7 等により分解され、可溶性 sE-cadherin が細胞外に放出される。これまでの検討により、血漿 sE-cadherin 濃度は COPD 患者で健常者に比べ高値であり、患者気道被覆液中では血漿の約 20 倍と高濃度であった。一方、sE-cadherin は気道上皮細胞に作用し、MMP-2, 9 などを誘導し、基底膜等の損傷を惹起する可能性が示唆されている。本研究では気道上皮細胞をタバコ抽

出液で刺激し、アポトーシスの誘導とその過程における E-cadherin の動態と MMPs の発現の関連について検討する。

B. 研究方法

1、COPD 患者 5 名・喫煙者 11 名に 3 ヶ月間シンバスタチン 20mg を投与した。投与前後でマイクロサンプリングプローブを用いて気道上皮被覆液を採取し、ルミネックスシステムを使用して 18 種類の炎症性サイトカイン・ケモカイン・増殖因子濃度を測定した。また、動脈血液ガス分析・肺機能検査を施行し、臨床的評価も行った。

2、はじめに BEAS2B 細胞を 0, 5 または 10% のタバコ抽出液で 24 時間刺激後、MTT アッセイを行った。次に、細胞を 0, 5, 10% 抽出液で 4, 10, または 24 時間刺激し、培養上清中の sE-cadherin を ELISA 法で測定した。

C. 研究結果

1、シンバスタチン投与後、気道被覆液中 IL-4・IL-6・IL-8・IL-10・GM-CSF・IFN γ ・IL-1 β ・IL-7・IL-12 p70・MCP-1・VEGF (P \leq 0.01)、GCSF (P \leq 0.05) 濃度の低下を認めた。一秒量は改善傾向であった (約 70ml 増加・P=0.14)。1 名での皮疹以外に副作用を認めなかった。

2、10% タバコ抽出液による BEAS2B 細胞の 24 時間刺激により、約 30% の MTT 活性の低下を認めた。また、10% 抽出液による 10 または 24 時間刺激後に、上清中の sE-cadherin が検出された。

D. 考察

1、今回測定したサイトカイン、ケモカイン、増殖因子は線毛細胞、杯細胞、クララ細胞、炎症細胞などから産生されたと考えられる。COPD 患者では、喫煙による histone deacetylase (HDAC) の機能低下などにより、多数の炎症性遺伝子発現が亢進するため、その治療には多数の因子を同時に抑制する必要があると考えられる。今回の結果は喫煙による広範な炎症の出現とスタチンによるその制御の可能性を明らかにしたものと考えられる。臨床研究において、その強力な抗炎症作用を提示しえた点に意義があると考えられる。その要因として、近年の検体採取におけるマイクロサンプリング法とサイトカイン測定におけるルミネックスシステムの発展があげられる。

2、気道上皮系 cell line の培養上清にて sE-cadherin が検出可能であった。その量は細胞の種類、培養条件、細胞密度、タバコ抽出液濃度と刺激時間により大きく異なっていた。今後、タバコ煙刺激による気道上皮のアポトーシスの誘導過程において、E-cadherin の細胞内動態、MMPs, TIMPs の発現の推移について検討を行う予定である。

E. 結論

1、スタチンは喫煙による気道の炎症を抑え、COPD の病態を改善する可能性が示唆された。

2、タバコ抽出液刺激による気道上皮細胞のアポトーシスへの移行に伴い、sE-cadherin が放出されたと考えられた。

F. 健康危険情報
現在のところなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Takahashi S, Nakamura H, Seki M, Shiraishi Y, Yamamoto M, Furuuchi M, Nakajima T, Tsujimura S, Shirahata T, Nakamura M, Minematsu N, Yamasaki M, Tateno H, Ishizaka A. Reversal of elastase-induced pulmonary emphysema and promotion of alveolar epithelial cell proliferation by simvastatin in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008, 294(5):L882-90.

Minematsu N, Nakamura H, Furuuchi M, Nakajima T, Takahashi S, Tsujimura S, Tateno H, Ishizaka A. Common functional polymorphisms in cathepsin S promoter in Japanese subjects; possible contribution to pulmonary emphysema. *Respirology* 2008, 13: 498-504.

中村美穂, 仲村秀俊, 石坂彰敏:【呼吸器疾患の臨床検査 up to date】内視鏡 気管支鏡下マイクロサンプリング法。日本胸部臨床 67 巻増刊 S166-S170(2008.11)

仲村秀俊, 中村美穂, 渡辺真純, 石坂彰敏: マイクロサンプリング。呼吸器科 13 巻 4 号 Page366-372(2008.04)

2. 学会発表

白畑亨, 仲村秀俊, 中村美穂, 辻村周子, 高橋左枝子, 中島隆裕, 舘野博喜, 石坂彰敏:

COPD における Soluble E-/VE-Cadherin 測定の意義。日本呼吸器学会総会、神戸、2008 年 6 月

高橋左枝子, 仲村秀俊, 舘野博喜, 山本美由紀, 関誠, 辻村周子, 中村美穂, 白畑亨, 中島隆裕, 石坂彰敏: elastase 気道内投与マウスを用いた simvastatin による肺気腫改善機序の検討。日本呼吸器学会総会、神戸、2008 年 6 月

仲村秀俊, 中村美穂, 白畑亨, 中島隆裕, 辻村周子, 高橋左枝子, 舘野博喜, 渡辺真純, 小林紘一, 石坂彰敏: 気道病変における内視鏡下での分子生物学的アプローチ マイクロサンプリングによる気道被覆液中蛋白を用いた COPD の病態解析。日本呼吸器内視鏡学会、大阪、2008 年 6 月

Toru Shirahata, Hidetoshi Nakamura, Yasuyuki Honda, Shuko Tsujimura, Miho Nakamura, Saeko Takahashi, Takahiro Nakajima, Hiroki Tateno, Akitoshi Ishizaka. Plasma Soluble E-cadherin and VE-cadherin levels in patients with COPD. International Conference of American Thoracic Society (2008 年 5 月、トロント)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 特になし
2. 実用新案登録 特になし
3. その他 特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

呼吸不全に関する基礎・臨床研究：COPD を中心に

研究分担者 長瀬隆英

東京大学大学院医学系研究科呼吸器内科学 教授

研究要旨

COPD、ARDS、特発性間質性肺炎、気管支喘息などは、呼吸不全を呈する呼吸器疾患であり、治療の困難さや発症頻度から、社会的にも極めて重大な疾患群である。これらの疾患の病態機序・治療標的は未だに不明であるため、画期的な新治療法の開発が急務とされている。本研究では、COPD を中心として、1) 呼吸リハビリテーションをテーマとした臨床研究、および2) 発生工学を駆使した基礎研究、を遂行することにより、呼吸不全を呈する難治性肺疾患の病態解明、治療標的の同定、および新治療法の開発を目指す。その結果、以下の新知見が得られた。

1) 血流制限下レジスタンストレーニング（加圧トレーニング）は、特殊なベルトを四肢の付け根に巻いて適度に血流を制限した状態でレジスタンストレーニングを行う方法で、この加圧トレーニングにより健常者において著明な筋肥大と筋力増大を認めることが知られる。COPD 患者を中心として、呼吸器疾患患者の呼吸リハビリテーションにおける加圧トレーニング運動療法のプロトコールが検討された。

2) 脂質性メディエーターや、肺の発生・機能への関与が示唆されている新規転写コアクチベーターTAZ に着目し、炎症性肺疾患発症との関連を発生工学的手法を駆使して探索した。その結果、各々のメディエーターが、肺疾患病態に重要な役割を呈している可能性が示された。

以上の知見は、呼吸不全を呈する難治性の呼吸器系疾患に対する新しい治療薬・治療法開発の実現化に寄与することが期待される。

A. 研究目的

研究協力者

石井 聡・東京大学大学院医学系研究科准教授

永田泰自・東京大学医学部附属病院講師

COPD、ARDS、特発性間質性肺炎、気管支喘息などは、呼吸不全を呈する呼吸器疾患であり、治療の困難さや発症頻度から、社会的にも極めて重大な疾患群である。これらの疾患の病態機序・治療標的は未だ

に不明であるため、画期的な新治療法の開発が急務とされている。本研究では、COPD を中心として、1) 呼吸リハビリテーションをテーマとした臨床研究、および2) 発生工学を駆使した基礎研究、を遂行することにより、呼吸不全を呈する難治性肺疾患の病態解明、治療標的の同定、および新治療法の開発を目指す。

1) 呼吸リハビリテーションをテーマとした臨床研究:

運動療法を中心とした呼吸リハビリテーションの COPD 患者に対する有効性は、多くの科学的な証拠に裏づけされている。国際的ガイドラインである GOLD によれば、運動能力の改善、呼吸困難感の軽減、健康関連 QOL の向上、入院回数・日数の減少、不安・抑うつ軽減が証明されており、さらには生存率の改善も報告されている。しかし、いまだに標準的な運動療法は確立されておらず、安全性・有効性においてより質の高い運動処方が求められている。

近年スポーツ医学の分野では、血流制限下レジスタンストレーニング（登録商標名：加圧トレーニング）という筋力トレーニングが注目されている。これは特殊なベルトを四肢の付け根に巻いて適度に血流を制限しながら行うもので、低負荷かつ短時間の筋力トレーニングにより筋肥大と筋力増強効果が得られることが特徴である。また同時に筋持久力が増加することも報告されている。

加圧トレーニングは血中の成長ホルモン（GH）を著しく増加させることも報告

されており、筋肥大のメカニズムの一つと考えられている。四肢の血行制限により筋組織が低酸素状態となり、乳酸などの代謝産物の蓄積を介して下垂体からの GH の分泌が活性化される可能性が推測されている。東京大学医学部附属病院においても本法のメカニズムの解明と臨床応用を目指して虚血循環生理学講座が開設され研究が進められている。加圧トレーニングは既にスポーツ外傷など整形外科領域のリハビリテーションにも用いられているが、呼吸リハビリテーションへの応用はこれまでに報告がない。

このように低負荷かつ短時間で筋力増強と持久力改善を期待できる加圧トレーニングの特徴は、呼吸困難で運動が制限されている COPD 患者にこそ特に適している可能性がある。運動療法に加圧トレーニングを応用して、より安全かつ有効な呼吸リハビリテーションを開発できる可能性は十分に期待できる。本研究では、COPD 患者に実際に加圧トレーニングを行い、その有効性と安全性を検討する。

さらに、加圧トレーニングの効果が筋組織の低酸素状態や乳酸蓄積などに依存している可能性を考えれば、もともと低酸素状態となりやすく乳酸が蓄積しやすい COPD 患者に対しては健常人以上に有効な可能性がある。そして GH の増加を介して、呼吸筋など全身筋組織に影響を与える可能性もある。本研究では下肢のみの筋力トレーニングによる、GH 等の血中物質の変動、上肢筋力と呼吸筋力の変化など、副次的効果も合わせて検討する。

2)発生工学を駆使した基礎研究:

COPD、ARDS、特発性間質性肺炎、気管支喘息などは、呼吸不全を呈する呼吸器疾患である。これらの肺疾患発症に関しては、種々の化学物質が複雑に関与していると考えられ、 $TNF\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$ 、 $IL-8$ 等のサイトカインなどが関与している可能性が報告されている。しかし、サイトカイン以外のメディエーターとの関連については、十分な検討がなされていない。また、治療の標的が不明確であるため、有効な治療法、治療薬も存在せず、画期的な新治療法の開発が急務とされている。本研究では、近年、その生理学的意義が注目されている脂質性メディエーター、さらに発生への関与が示唆されている転写コアクチベーターTAZに着目し、炎症性肺疾患発症との関連を発生工学的手法を駆使して探索する。

脂質性メディエーター:

本研究では、発生工学的手法を応用し、脂質性メディエーターの炎症性肺疾患発症機序における重要性について検討する。特に、COPD、ARDS、特発性間質性肺炎、気管支喘息などにおける、PAFおよびエイコサノイド関連遺伝子の意義を明らかにする。

脂質性メディエーターであるプロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなどはエイコサノイドと総称され、アラキドン酸を起点とする代謝経路の代謝産物である。アラキドン酸は、炭素数20よりなる構造をもち、生体ではリン脂質から細胞質型ホスホリパーゼA₂(cytosolic p-

hospholipaseA₂, cPLA₂)によって切り出される。この際に、同時にリゾPAF(lyso-PAF)が生成され、リゾPAFから血小板活性化因子(platelet-activating factor, PAF)が作られる。アラキドン酸は、図1に示すように、アラキドン酸カスケードと呼ばれる代謝経路を経て様々なエイコサノイドを生成する。その2つの大きな経路が、シクロオキシゲナーゼ(cyclooxygenase, COX)系および、5-リポキシゲナーゼ(5-lipoxygenase, 5-LO)系である。プロスタグランジン、トロンボキサンはシクロオキシゲナーゼ系の代謝物であり、ロイコトリエンは5-リポキシゲナーゼ系の代謝物である。

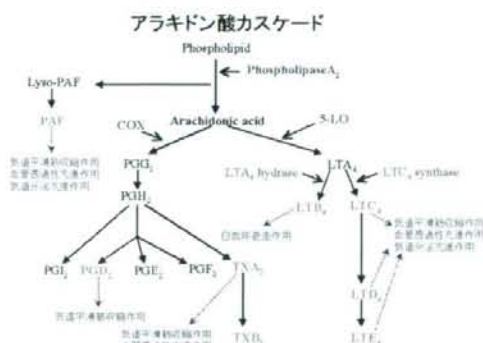


図1アラキドン酸カスケードの模式図

アラキドン酸カスケードの代謝産物であるエイコサノイドは、ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴である。呼吸器系においても、エイコサノイドは極めて重要な生理的意義を有することが示唆されている。例えば気管支喘息は、気道平滑筋収縮、血管透過性亢進、血管拡張等による気管支収縮を主体とする病態であり、

種々の化学物質が複雑に関与していると考えられるが、近年、特にトロンボキサン、ロイコトリエンなどのエイコサノイドが重要な発症因子とされ、有効な治療標的となりつつある。

特にロイコトリエン(LT)系は、好中球遊走因子としてのLTB₄受容体(BLT1, BLT2の2種類)や、炎症・免疫関連疾患に関わることが想定されているCysLT受容体(CysLT1-R, CysLT2-R,の2種類)が発見され(*Nature*, 1997, 1999)、現在、本グループが遺伝子改変マウスを作成中である。

本研究では、発生工学的手法を応用し、脂質性メディエーターの高齢者肺疾患発症機序における意義を明らかにし、治療薬の開発および実用化を目指す。

転写コアクチベーターTAZ:

転写コアクチベーターTAZ(transcriptional co-activator with PDZ-binding motif)は、14-3-3 proteinをはじめとする、PDZ domainを持つ転写因子と結合しその活性を制御する分子として同定・報告されたものである(*EMBO J* 19: 6778-91, 2000)。TAZは、WW domainを有しており、PPXYモチーフと結合することにより、転写コアクチベーターとしての機能を発現する。

TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif)

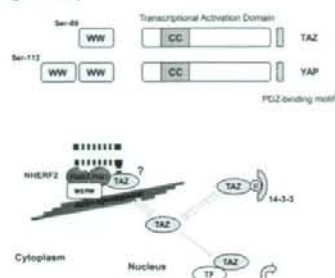


図2 転写コアクチベーターTAZは、WW domainを有し、PPXYモチーフと結合して機能を発現する。

また最新の研究により、転写コアクチベーターTAZが、TTF-1(thyroid transcription factor-1)やPax3と協調的に働くことにより、発生に大きく関与することが明らかにされつつある(*J Biol Chem* 279: 17384-90, 2004) (*Biochem Biophys Res Commun* 339: 533-9, 2006)。

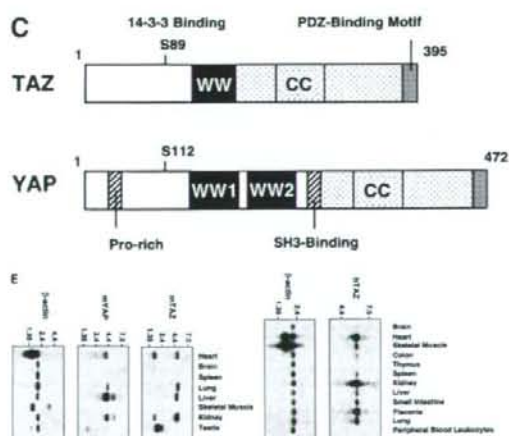


図3 転写コアクチベーターTAZは、Yes-associated protein (YAP)とホモロジーを有する。また、肺にも強く発現している(*EMBO J* 19: 6778-91, 2000)。

また、神経管、神経堤、骨格筋などの発生に重要な役割を持つ Pax3 と協調的に働く因子を探す目的で、酵母 Two hybrid 法により Pax3 に結合する分子をスクリーニングした結果、TAZ タンパクが同定されている。さらに in vitro アッセイの結果、Pax3-TAZ の結合には、Pax3 C 末端側の PPXY モチーフ及び TAZ N 末端側の WW domain が深く関わっていることが示された。TAZ の発現を in situ hybridization で調べると、胎生 10.5 日マウス胚において神経管内側、鰓丘の外胚葉性間葉、体節で発現が見られており、TAZ は Pax3 などの転写因子と相互作用して形態形成に関わっている可能性が考えられる。転写コアクチベーター-TAZ は、発見当初より、腎臓および肺において強く発現していることが報告されている。本研究では、転写コアクチベーター-TAZ の遺伝子改変マウスを作成し、呼吸器系における病態生理学的意義および呼吸器疾患発症への関与の可能性を検討する。

B. 研究方法

1) 呼吸リハビリテーションをテーマとした臨床研究:

外来通院中の中等症または重症 (1 秒量が予測値の 30%以上 80%未満) の COPD 患者を対象とした。過去 3 ヶ月以内の増悪あるいは経口ステロイド使用のあった例は除外した。また「呼吸リハビリテーションマニュアルー運動療法ー」(日本呼吸管理学会・日本呼吸器学会・日本理学療法士協

会)に基づき、運動療法あるいは運動負荷試験の禁忌症例(不安定狭心症、重度肺高血圧等)も除外した。さらに、加圧が血管病変を誘発する可能性を考慮し、深部静脈血栓症の既往、肺血栓塞栓症の既往、閉塞性動脈硬化症の既往、下肢静脈瘤、血栓傾向のある症例も対象から除外した。全例で運動療法前に心電図、心臓超音波検査、下肢超音波検査を施行し、明らかな虚血性心疾患、肺高血圧症、深部静脈血栓症のないことを確認した。

呼吸リハビリテーションの前後で、筋力、筋量、運動耐容能、ADL、健康関連 QOL の変化を評価した。

上下肢の筋量は四肢周径、上肢筋力は握力、下肢筋力は等速性筋力測定器(トルクマシーン)による膝伸展筋力と膝屈曲筋力で評価し、呼吸筋力は最大吸気圧(PImax)と最大呼気圧(PEmax)で評価した。運動耐容能は 6 分間歩行試験で評価した。ADL は千住らの ADL スコア、健康関連 QOL は日本語版 St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ) を用いて評価した。

さらに加圧トレーニングによる短期的な全身への影響を評価するために、トレーニング直前・直後・15 分後・30 分後・60 分後の上肢静脈血中の乳酸・GH・インスリン様成長因子 I (IGF-I)・血管内皮細胞増殖因子(VEGF)を測定した。乳酸は乳酸オキシダーゼ酵素法、GH と IGF-I は RIA 固相法、VEGF は ELISA 法で測定した。

週 2 回の通院による運動療法を 10 週間行った。初めの 2 週間は、呼吸法習得とストレッチを中心としたコンディショニングを行った。その後の 8 週間は、20%1RM

の低負荷で下肢の加圧筋力トレーニングを行った。具体的には、圧力センサーを組み込んだ特製の弾性ベルトを両側大腿近位部に巻き下肢血流を制限しながら、20% 1RM の負荷で、原則として1セット30回、3セットの膝伸展筋力トレーニングを行った。運動療法中は医師が付き添い、脈拍とSpO₂を連続的にモニターしながら安全に配慮した。

2) 発生工学を駆使した基礎研究

<CysLT2 受容体遺伝子ノックアウトマウスの作成>

LTC₄/D₄/E₄など cysteinyl LT の受容体 (CysLT1-R, CysLT2-R)は肺・気管支に豊富に存在し、気管支喘息を含めた呼吸器疾患発症への関与が示唆される。特に、CysLT2-R は大きく注目されているが、その機能は未だに解明されていない。本研究では、この CysLT2-R を標的とした KO、Tg マウスの新規作成にも着手する。これらのマウスを用いて、脂質性メディエーターと炎症性肺疾患との関連について評価・検討を加える。

<転写コアクチベーターTAZ ノックアウトマウスの作成と解析>

転写コアクチベーターTAZ の遺伝子改変マウスを作成し、呼吸器系における病態生理学的意義および呼吸器疾患発症への関与の可能性を探索する。まず始めに、TAZ ノックアウトマウスの作成と解析に着手する。

(倫理面への配慮)

本研究では、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究における危険の排除、説明と理解 (インフォームドコンセント) について、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) に基づき、研究を進める。

1) 呼吸リハビリテーションをテーマとした臨床研究

研究課題「呼吸リハビリテーションにおける血流制限下レジスタンストレーニングの有効性に関する検討」として、東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会にて審議のうえ H17 年 6 月 27 日に許可されている。

2) 発生工学を駆使した基礎研究

本研究で行う予定の遺伝子組換え実験は、平成 16 年 9 月 10 日の東京大学医学部組換え DNA 実験安全委員会において承認を受けた生化学分子生物学・細胞情報学講座「脂質メディエーター受容体、合成酵素遺伝子欠損マウスならびにタンパク質過剰発現細胞を用いた脂質メディエーター機能の解明、セマフォリン遺伝子欠損マウスを用いた嗅覚系神経回路形成機構の解明」に含まれており、適切な拡散防止措置がとられる。

C. 研究結果

1) 呼吸リハビリテーションをテーマとした臨床研究:

今回は、10 週間の呼吸リハビリテーションを完遂した 2 症例の経過を報告する。2 症例の臨床的背景を表 1 に示す。

	症例 1	症例 2
年齢/性別	66/M	69/M
身長 (cm)	166	165
体重 (kg)	82.5	62.8
COPD の重症度	重症	重症
修正 MRC スケール	grade 2	grade 3
呼吸機能		
FVC (L)	3.08	4.57
FEV ₁ (L)	1.04	0.95
%FEV ₁ (%)	40.0	39.5
RV/TLC (%)	43.6	29.0
%DLCO (%)	103	42.4
動脈血液ガス		
PaO ₂ (Torr)	77.3	64.4
PaCO ₂ (Torr)	41.5	45.4

表 1 症例の臨床的背景

呼吸リハビリテーション前後の下肢筋力の変化では、症例 1 の膝伸展筋力と膝屈曲筋力は左右ともに増加した。一方、症例 2 の伸展筋力は左では増加したが右ではむしろ減少した。症例 2 の屈曲筋力は左右ともに増加した。膝上 15cm で測定した大腿周径 (cm) は、両症例ともにわずかながら増加した (症例 1、右 51.5→52.6、左 52.6→52.7; 症例 2、右 44.3→45.3、左 45.2→45.8)。下腿周径は症例 1、症例 2 ともに明らかな変化がなかった。

呼吸筋力では、症例 1、症例 2 ともに、PI_{max} と PE_{max} の増加がみられた。

運動耐容能の指標とした 6 分間歩行距離 (m) は、症例 1 で増加がみられた (487

→541)。症例 2 は初回の 6 分間歩行テストで SpO₂ < 85% となる著明な低酸素血症を呈したため、以後は同検査を中止した。

ADL スコアは、症例 1 ではリハビリテーション前後で変化しなかったが (96→96)、症例 2 では改善がみられた (89→92)。SGRQ スコアは、2 症例とも合計点の減少がみられ QOL の改善を示した。個別の項目でも、症例 1 の「症状」が不変であった他は全項目が改善した。

加圧トレーニングの前後に測定した乳酸、GH の血中濃度の経時変化に関しては、症例 1 では乳酸は運動直後に、GH は 15 分後にピークを示す増加がみられた。症例 2 では乳酸が 15 分後をピークとして増加したものの、GH はほとんど変化しなかった。IGF-I および VEGF は、両症例ともに運動に伴う変化はみられなかった。

2) 発生工学を駆使した基礎研究

<CysLT₂ 受容体遺伝子ノックアウトマウスの作成>

キメラマウスの中で、germ line にノックアウト DNA コンストラクトが移行したものを選び、ヘテロ接合体を得た (図 4)。このヘテロ接合体からさらにホモ接合体 LTB₄R ノックアウトマウスが得られた。ホモ接合体 LTB₄R ノックアウトマウスは、胎内死亡および周産期死亡を呈さず、生育も野生型マウスと差異を認めていない。目下、バッククロスによる遺伝的純化が完了し、疾患モデルを用いた解析が進行中である。