

図6：非喫煙健常者3例における呼気終末炭酸ガス濃度(ET-CO₂)の推移。試験中ではET-CO₂に有意な変化は認めなかった。

今回の検討において、非喫煙であるにもかかわらず、既喫煙者と同等の呼吸不全を呈した症例が3例あった(図5)。最低 SpO₂ 値は2例で88%、1例で89%であった。最低 SpO₂ 値までの到達時間は2例で1分、1例で11分であり、入室直後の SpO₂ 低下速度は、2例で-4%/分、1例で-9%/分であり、それぞれ既喫煙者と同等の値を示していた。3例とも肺機能検査は正常で既往歴等にも特記すべき事項は含まれておらず、今のところ原因は不明である。

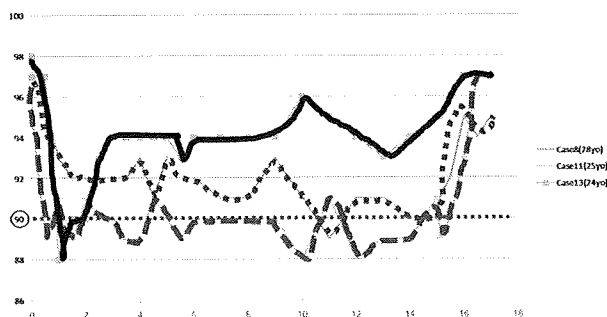


図7：非喫煙者にもかかわらず呼吸不全を呈した3例。Case8は漸減型、Case11は一層性低下型、Case13はdip and plateau型とそれぞれ特徴的なパターンを示していた。

D. 考察

1. 今回検討した症例はすべて剖検肺に病的に気腫病変をもつことが確認された症例であり、肺機能所見やCT画像所見を欠く。しかし臨床情報からCOPD患者の病理所見にアプローチすることは最近ではほとんど不可能であることからすると、肺気腫病変はこうした他疾患が死因となっている剖検肺組織標本か、肺癌摘出手術標本内に見出される気腫病変を検討することが实际的である。その結果、従来示されてきたような肺気腫による呼吸困難で亡くなった患者の肺にみられるような広範に進行した肺気腫病変とは異なって、より軽症な様々な段階の肺気腫病変を観察することができた。

従来の気腫病態の病態形成に関する研究は、破壊される肺胞構造における肺胞上皮細胞の病態や、喫煙によってもたらせられる気道上皮細胞の病態の発症機序を説明するものが多くを占めてきた。しかしこれらの慢性炎症や酸化ストレスといった要因は肺気腫病変形成とおそらくは全く異なる病態の肺線維症の病態発症機序とも重なる要因でもある。このことは最近欧米で話題になっている Combined pulmonary fibrosis and emphysema (CPFE) という疾患概念、そしてそれは20年近くも前から日本においてはすでに肺線維症と肺気腫の合併症例として分類されていた IIP II 型の病態、を説明することが期待される。

本研究における観察で、肺気腫病変の多くは気道周囲と小葉間隔壁に様々な程度の線維化病変を併せ持ち、その程度が相関することが示された。これらの変化は特発性肺線維症でもよく観察されることであり、それぞれ同一の要因が、そしておそらくは喫煙による病態と考えれば理解しやすい。

しかし、肺気腫病変は特発性肺線維症や線

維性非特異性間質性肺炎（fibrosing non-specific interstitial pneumonia, f-NSIP）とも異なって、その病変の場を小葉の中心にもつ。それが最も頻繁に観察される小葉中心性肺気腫（centrilobular emphysema）である。慢性の粉塵吸入による過敏性肺炎を考えると、その変化はやはり末梢気道の末端にあり線維化する。呼吸細気管支炎関連間質性肺炎（respiratory bronchiolitis-interstitial lung disease, RB-ILD）は多くの喫煙者に自覚症状も少なく発症しているが、それは末梢気道周囲の褐色マクロファージの集簇と気道周囲の肺胞壁の線維化病変を特徴とする。今回の病理的な検討から、肺気腫が小葉の内部から肺胞壁の破壊が始まり、最終的には小葉間隔壁に至ることが示唆された。それではなぜ肺気腫病変では呼吸細気管支近傍の肺胞が破壊されるのだろうか。

これを解く鍵はやはり気腫病変のう胞内にはならず確認しうる内腔が閉塞した小肺動脈の断片ではないだろうか。末梢気道の閉塞はほとんど確認されず、むしろ多くの細気管支が拡張していることからするとこの変化はむしろ末梢血管内腔から始まっていることを示唆している。小葉内でも肺胞壁の破壊によるう胞形成が一部分にのみ示されているものからすると、その小肺動脈の閉塞は末梢域に生じていると考えられる。少なくとも肺胞腔内の気流の変化は同様と考えられる同一小葉内部にあってもこのような差が出るとすればやはり末梢肺動脈の血管病変が気腫病変のう胞を形成するものと考えざるを得ない。

肺気腫病変を肺動脈病変から説明する研究報告は Tuder RM らのグループがすでに活発に報告している。中でも肺胞毛細血管を養う小肺動脈内皮細胞が VEGF 産生能を失うことによって肺胞構造が破壊されるという彼らの説は、本研究の観察結果とよく一致して興味

深い。しかし、そもそもなぜ血管に病変が生じるのかに関する機序はまだ解明されていない。そこに様々な肺気腫モデルで示されてきたような酸化ストレスの機序や種々の炎症性サイトカイン、あるいは末梢肺動脈血管のスパズムなどの機序が関与してくる可能性があるのではないだろうか。肺気腫の病態のより深層の本態を解明することによる新しい治療法、あるいは発症予防の開発は、おそらくタバコが消失する近未来においても需要は高まることが予想される。

2. 現時点で 12 名の非喫煙健常者がエントリーしており、3 名が SpO₂ 90%未満となったが有害事象は認めておらず安全であると考えられた。肺機能検査上閉塞性換気障害を呈した既喫煙者も最低 SpO₂ が 88%となったが特に安全性には問題はなかった。今後はさらに安全性を高めるために、無症状既喫煙者での検討を集積し、そののちに軽症および中等症 COPD 患者の検討へと進めていく予定である。

本研究の目的の一つである、喫煙者と非喫煙者で潜在的呼吸不全の有無を区別できるかどうかに関しては、鑑別できる可能性のあるパラメーターとして、①最低 SpO₂ 値 (%)、②最低 SpO₂ 値までの到達時間 (%)、③入室直後の SpO₂ 低下速度 (%/分) の 3 点が考えられた。本研究によっていずれのパラメーターも喫煙者の方でより程度が強いことが示唆された。症例数を重ねて統計学的意義を検討する予定である。

本研究では被検者の安全性および身体的苦痛による負担を極力避けるために、呼吸不全の程度を動脈血ガス分析ではなく SpO₂ 値によって評価している。そのため、換気量の変化によるアーチファクトの有無によってデータの評価に信憑性が乏しくなることを考慮しなければならない。本研究によって非喫煙健

常者 3 例における呼気終末炭酸ガス濃度 (ET-CO₂) の推移からは ET-CO₂ に有意な変化は認めなかったことから今回の程度の低酸素負荷では低酸素換気応答の影響は限定的と考えられる。すなわち得られた SpO₂ の値に対しては換気量の変動は無視できるほど小さく、むしろ被検者の酸素化能の優劣が直接関与していると判断してよさそうである。そういう観点で考えると本研究で示された低酸素血症の発生メカニズムとしては、換気/血流比不均等分布の顕在化が関与しているものと考えられる。なお本実験において著しい低酸素血症を呈した既喫煙者では DLco が正常範囲であった。このことから、潜在的呼吸不全を発見するためには、本法は DLco よりも鋭敏な指標である可能性がある。

非喫煙健常者のなかで特に基礎疾患を有していないにもかかわらず既喫煙者と同等の呼吸不全を呈した症例が 12 例中 3 例 (25%) で検出された。肺機能検査、検査前の SpO₂ の値などには低下はなく、なぜこのような現象が生じるのかは不明である。もしかしたら、これまでの生活環境あるいは生まれながらにして酸素化に不利な肺構造を有しているためかもしれない。本研究の目的からは外れてしまうが、このような症例に対しては、さらなる肺構造および機能的精査を加えその原因を探る必要性を実感したとともに、このような症例が遠い将来、同年代の人たちに比して早期に呼吸不全を呈することがないかどうか慎重に経過を見ていく必要もあるものと考えられた。

最後に、今回は喫煙者および COPD 患者を対象として研究デザインを組んでいるが、他の疾患に対しても応用が可能かもしれないと考えている。かつては難治性の呼吸不全を呈していたびまん性汎細気管支炎 (DPB) はマクロライド少量長期療法の登場により著し

い臨床所見の改善が認められ現在では患者数も激減している。しかしながら、マクロライドによって治療された患者がその後どのような経過をたどったかについては不明な点が多い。非常に興味深い症例報告がある。すなわち、DPB 診断後マクロライド療法によって多くの臨床所見は改善したが、唯一肺機能検査での一秒率 (FEV_{1.0}) は約 65% のままで不変であったという。この症例に他疾患のため開胸肺生検が施行され、肺組織を詳細に検討したところ、37 か所の細気管支領域のうち全カ所でリンパ濾胞は消失していたものの、13 カ所で線維化を認めていたというものである。この症例からは、マクロライドで治療した DPB 患者の多くは細気管支領域に線維化を残し、肺機能検査でも閉塞性換気障害が残存するということが明らかとなった。このような症例が将来的に呼吸不全状態に陥り予後が短縮しているようなことがあるかもしれない。他にも早期の IPF、罹病期間の長い気管支喘息などにも応用し、潜在的呼吸不全の病態解明の可能性を探っていくことができると考えている。

E. 結論

1. 本研究における観察で、肺気腫病変の多くは気道周囲と小葉間隔壁に様々な程度の線維化病変を併せ持ち、その程度が相関することが示された。また気腫病変のう胞内にならず確認しうる内腔が閉塞した小肺動脈の断片の存在から、気腫性病変はむしろ末梢血管内腔閉塞から始まっていることを示唆していた。
2. 実験的に低酸素負荷をかけることにより潜在的な呼吸不全患者を早期に発見することができるかどうか検討した。まだ症例数が少な

いため結論には至っていないが、傾向としては非喫煙健常者に比べて、既喫煙者では著しい低酸素血症を呈し鑑別することができる可能性がある。また、今回の低酸素負荷により有害事象は出現せず安全な検査である可能性も示唆された。さらに非喫煙健常者における低酸素血症の存在も明らかになった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

海老名雅仁. COPD と間質性肺炎の共通点 肺内脈管系から見た気腫化と線維化の病態 (シンポジウム) 第 49 回日本呼吸器学会学術講演会, 2009 年 6 月

H. 知的財産権の出願・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

慢性血栓塞栓性肺高血圧症に関する研究

研究分担者 巽 浩一郎
千葉大学大学院医学研究院 加齢呼吸器病態制御学 教授

研究要旨

1) 基礎的研究：慢性血栓塞栓性肺高血圧症（CTEPH）において、器質化血栓が維持される機序に関しては不明である。CTEPH 患者において、血栓内膜摘除術により摘出された組織より内皮様細胞（EL）、筋線維芽様細胞（MFL）が分離培養された。MFL は増殖能が高く、足場非依存性を示し、高浸潤性および血清飢餓抵抗性を示した。高増殖能を有する筋線維芽細胞が肺血管壁内に存在することは、CTEPH の病理生物学的観点から考慮すると、器質化血栓維持の機序に関与している可能性が示唆された。

2) 臨床的研究：CTEPH の発症因子や予後因子に炎症性疾患の関与が示唆されているが、わが国での検討はない。自験 CTEPH 118 例中、基礎病態として凝固異常ありの症例を除いても、腫瘍や炎症性疾患などの内科的基礎疾患を 37.3%に認めた。内科治療例を含めても、内科的基礎疾患あり群の方が、予後が有意に不良であった。内科的基礎疾患は治療効果に大きな影響を与えたと考えられた。

A. 研究目的

1) 慢性血栓塞栓性肺高血圧症（CTEPH）は、一般に深部静脈血栓症に起因した肺動脈塞栓症から生じるとされるが、抗凝固療法に抵抗し、器質化血栓が維持される機序に関しては不明である。近年、CTEPH における器質化血栓に筋線維芽細胞が含まれていることが示された。今回、CTEPH 患者の器質化血栓より細胞を分離し、これらの細胞学的特徴および血栓存続への関与につき検討した。

2) CTEPH の発症に関連するものとして、海外では associated medical condition (AMC) (摘脾、脳室-心房シャント、永久型中心静脈カテーテル留置、炎症性腸疾患、骨髄炎) や、抗リン脂質抗体症候群、悪性腫瘍、甲状腺ホルモン補充療法が指摘されており、特に AMC は予後と関連することが報告されているが、本邦での検討はない。そのため CTEPH 患者の基礎疾患が発症や

予後に与える影響について検討した。

B. 研究方法

1) 2006 年 4 月から 2008 年 10 月までに血栓内膜摘除術を施行された 10 例の CTEPH 患者(男 4 人：女 6 人)を対象とした。これら CTEPH 患者の器質化血栓より細胞を分離培養し、その細胞学的特徴を免疫染色、BrdU proliferation assay、Colony forming assay、Invasion assay、Serum independent assay にて検討した。

2) 当科における 1999 年から 2008 年の CTEPH 症例 (n=118、女:男=79:39、54.7±13.2 歳) における基礎疾患の種類について検討し、さらに基礎疾患と予後との関連について検討した。

(倫理面への配慮)

患者手術検体を用いる 1) 研究は、患者より書面でインフォームドコンセントをとっている。
2) 研究は、基本的に後ろ向き研究であるが、新

規症例については、予後、QOL 調査に関するインフォームドコンセントを得ている。ともに、千葉大学の倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1) ①CTEPH 患者の組織からは 2 種類の細胞が分離され、それらが内皮様細胞 (endothelial-like cells : EL)、筋線維芽様細胞 (myofibroblast-like cells : MFL) であることを確認した。

② BrdU proliferation assay : 各細胞の増殖能を BrdU proliferation assay にて評価した。コントロールに Human pulmonary microvascular endothelial cells (HPMVEC)、normal human lung fibroblasts (NHLF)、手術患者の血栓領域以外の正常肺動脈組織から分離培養した内皮様細胞 (endothelial-like cells from the neighbor tissue : ELNT) をおき、10 例の MFL と比較した。HPMVEC、NHLF、ELNT ではほとんど BrdU の取り込みがみられなかったのに対し、全ての MFL において BrdU の高い取り込みがみられた。

③ Colony forming assay : MFL は contact inhibition を示さず、層状増殖を示したことから、これらの細胞が軟寒天培地において colony を形成するかどうかを Colony forming assay にて評価した。HPMVEC、NHLF、ELNT と比較し、全ての MFL において colony 数の増加がみられた。

④ Invasion assay : EL と MFL を共培養すると、MFL は EL のコロニーを取り囲むように浸潤増殖する傾向がみられた。これより MFL の浸潤能を Invasion assay にて評価した。NHLF、ELNT と比較し、MFL は HT1080 (fibrosarcoma cell line) や A549 (lung cancer cell line) と同等の高い浸潤能を示した。この結果より *in vitro* においては、MFL は sarcoma や癌細胞に近い浸潤能力をもつことが示された。

⑤ Serum independent assay : 無血清培地内では HPMVEC は増殖できず、やがてアポトーシスを

起こした。同様に NHLF や ELNT も無血清下では増殖が止まり、次第にアポトーシスを起こした。これと対照的に MFL は無血清下でも生存し続け、一部の MFL は最初に播種した数の倍以上の細胞数増加を認めた。

2) 77 例 (65.3%) に基礎疾患を認め、疾患として深部静脈血栓症 (45.8%)、急性肺血栓塞栓症の既往 (45.8%)、抗リン脂質抗体症候群 (27.9%)、骨盤内手術 (13.2%) が多かったが、AMC は認めなかった。しかしながら、凝固異常を除く、腫瘍や炎症性疾患など内科的基礎疾患を 44 例 (37.3%) に認め、その内訳として、甲状腺疾患 (11.0%)、悪性腫瘍 (6.8%)、虚血性脳血管障害 (5.9%)、COPD (3.4%)、虚血性心疾患 (3.4%) が挙げられた。凝固異常を除く内科的基礎疾患あり群となし群の予後の比較を行ったところ (基礎疾患による死亡例は除く)、全例 ($p=0.0003$)、内科治療例 ($n=64$) ($p=0.0009$) を含めても、内科的基礎疾患あり群の方が、有意に予後不良であった。

D. 考察

1) CTEPH 患者の器質化血栓より 2 種類の細胞を分離培養し、それらが内皮様細胞 (EL)、筋線維芽様細胞 (MFL) であることを確認した。さらに MFL は増殖能が高く、足場非依存性増殖能をもち、高い浸潤能と血清飢餓抵抗性をもつことを示した。血栓形成や内膜損傷が起きると通常の修復過程においては、線維芽細胞は収縮性と分泌能をもち筋線維芽細胞へと分化し、内膜の修復過程が終了すると自らはアポトーシスを起こし消失する。しかし、筋線維芽細胞の過度の収縮能や過剰な細胞外マトリックス産生は肺線維症や肝硬変といった組織の線維化をきたす病変およびアテローム斑や再狭窄部位の形成に関与しているといわれる。また近年、血栓内膜摘除術により得られた CTEPH 患者の組織は、

PDGF (platelet-derived growth factor) や PDGF 受容体の発現が高いことが報告され、これは同組織内に高増殖性の細胞が存在することを示唆している。CTEPH では、内膜修復過程で分化した筋線維芽細胞が過増殖し、アポトーシス抵抗性をもつことで、結果として抗凝固療法に抵抗性をもつ器質化血栓が維持されるのではないかと推察しうる。また angioproliferative disease としての知見から、本疾患の治療には細胞増殖抑制やアポトーシス誘導、細胞外マトリックスの崩壊といった観点からのアプローチが必要であると考えられる。

2) 凝固異常を除く炎症性疾患などの内科疾患を伴う CTEPH の予後は全例・内科治療例ともに不良であった。この原因として、内科的基礎疾患を持つ例は手術不能例が多く、また血管拡張薬に反応が悪いことが考えられる。内科疾患を伴う CTEPH に対しては、経皮的肺動脈形成術といった、新たな治療法を今後考慮していく必要があると考える。

E. 結論

CTEPH 患者の組織には、高い活動性を有する MFL が存在することを示した。高増殖能を有する筋線維芽細胞が肺血管壁内に存在する事は、CTEPH の病理生物学上、重要なイベントである可能性が示唆された。また、内科的基礎疾患を持つ CTEPH 患者の予後は不良であり、治療効果に影響を与えたと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kunieda T, Nakanishi N, Matsubara H, Ohe T, Okano Y, Kondo H, Nishimura M, Shirato K,

Tanabe N, Homma S, Yoshida S, Inokuma S, Kodama M, Koike T, Hishida, H. Effects of long-acting beraprost sodium (TRK-100STP) in Japanese patients with pulmonary arterial hypertension. *Int Heart J* 50(4):513-29, 2009.

Mizuno S, Takiguchi Y, Fujikawa A, Motoori K, Tada Y, Kurosu K, Sekine Y, Yanagawa N, Hiroshima K, Muraoka K, Mitsushima T, Niki N, Tanabe N, Tatsumi K, Kuriyama T. Chronic obstructive pulmonary disease and interstitial lung disease in patients with lung cancer. *Respirology* 14(3):377-83, 2009.

Shiina Y, Funabashi N, Lee K, Daimon M, Sekine T, Kawakubo M, Sekine Y, Takahashi M, Yajima R, Wakatsuki Y, Tanabe N, Kuriyama T, Komuro I. Doppler imaging predicts cardiac events in chronic pulmonary thromboembolism. *Int J Cardiol* 133(2):167-72, 2009.

Tatsumi K, Shinozuka N, Nakayama K, Sekiya N, Kuriyama T, Fukuchi Y. Hochuekkito improves systemic inflammation and nutritional status in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Am Geriatr Soc* 57(1):169-70, 2009.

Sakao S, Tatsumi K, Voelkel NF. Endothelial cells and pulmonary arterial hypertension: apoptosis, proliferation, interaction and transdifferentiation. *Respir Res.* 10:95, 2009

Shiina Y, Funabashi N, Lee K, Daimon M, Sekine T, Kawakubo M, Takahashi M, Yajima R, Tanabe N, Kuriyama T, Komuro I. Right atrium contractility and right ventricular diastolic function assessed by pulsed Tissue Doppler Imaging can predict brain natriuretic peptide in adults with acquired

pulmonary hypertension. Int J Cardiol. 135:53-59, 2009.

Kominami S, Tanabe N (equally contributed to the first author), Ota M, Naruse TK, Katsuyama Y, Nakanishi N, Tomoike H, Sakuma M, Shirato K, Takahashi M, Shibata H, Yasunami M, Chen Z, Kasahara Y, Tatsumi K, Kuriyama T, Kimura A. HLA-DPB1 and NFKBIL1 may confer the susceptibility to chronic thromboembolic pulmonary hypertension in the absence of deep vein thrombosis. J Hum Genet. 54:108-114, 2009.

寒竹政司, 田邊信宏, 伊狩潤, 齊藤美弥子, 杉浦寿彦, 北園聡, 重田文子, 小西建治, 外山真一, 山内圭太, 矢野利章, 坂尾誠一郎, 笠原靖紀, 滝口裕一, 巽浩一郎. 慢性血栓塞栓性肺高血圧症における深部静脈血栓症の部位と肺血栓の関連について. Therapeutic Research 30(5):589-590, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

1)リンパ脈管筋腫症に関する研究

リンパ脈管筋腫症の診断後に妊娠・出産を経験した症例の検討

2) COPDに関する研究

SMP30 ノックアウトマウスにおけるビタミン C の肺気腫予防効果の検討

研究分担者 瀬山 邦明

順天堂大学医学部呼吸器内科 准教授

研究要旨

1)リンパ脈管筋腫症(LAM)はほぼ女性に限って発症する希少疾患であり、その発症と進展には女性ホルモンが深く関与すると考えられている。そのため、エストロゲン濃度が高値で推移する妊娠や外因性のエストロゲン投与により症状の増悪や病状の進行が見られる例が報告されている。しかし、妊娠は LAM の進行度や病状に拘わらず常に LAM の増悪のリスクになりうるのか、明らかではない。本研究では、LAM と診断された後に妊娠・出産を試みた8症例の合計 9 回の妊娠出産に際し、前後での肺機能と胸部 CT の推移、妊娠中や出産後に渡っての LAM 関連病態や症状の出現について検討した。その結果、妊娠前の肺機能が良好で、胸部 CT での嚢胞性変化が軽度の症例は経膈・自然分娩で出産し、出産後も急速な LAM の増悪を認めない可能性が示唆された。しかし、このような症例は気胸を初発症状として LAM と診断された症例がほとんどで、妊娠中には外来管理で対応可能な程度の気胸を合併する頻度が高かった。

2)慢性閉塞性疾患(COPD)の発症には酸化ストレスが重要である。強力な抗酸化物質であるビタミン C (VC) の摂取量と呼吸機能の低下と負の相関があり、VC 摂取量が少ないほど COPD が重症になる傾向がある。VC 合成酵素 gluconolactonase として機能する SMP30 を遺伝子操作により破壊した SMP30 ノックアウト(KO)マウスは VC を合成できないため、食餌により VC 摂取量を制御することにより、VC の喫煙による肺気腫の予防効果を検討する事ができる。VC 少量投与群(0.0375g/L の VC 水)では2ヶ月間の喫煙により再現性よく肺気腫を作成でき、また肺内酸化ストレスが亢進していた。一方、VC 十分量投与群(1.5g/L の VC 水)

A. 研究目的

1) LAM と診断後に妊娠・出産を経験した症例における妊娠・出産前後での肺機能、胸部 CT 像の変化、LAM 関連合併症の頻度をレトロスペクティブに検討する。

2)酸化ストレスおよび強力な抗酸化物質であるビタミン C(VC)は喫煙により生じる SMP30 ノックアウト(SMP30KO)マウスの肺気腫を予防できるかどうか検討する。

B. 研究方法

1)当院及び他院で 2001~2009 年の間に LAM と診断された後に妊娠・出産を試みた8例を後ろ向きに検討した。妊娠前肺機能検査では、1 例は妊娠 12 ヶ月前のデータであるが、それ以外の症例では妊娠前4ヶ月以内のデータであった。5 例では出産後あるいは妊娠断念後の肺機能が検討できた。また、5 例では妊娠前後で胸部 CT を撮影し、視覚的に嚢胞性変化を評価した。嚢胞性変化は、肺野に占める嚢胞の割合が 25%未満(グレード1, G1)、

25%以上 50%未満(G2)、50%以上 75%未満(G3)、75%以上(G4)と分類した。

2) SMP30KO マウスを使用した。離乳(1ヶ月齢)までは通常食で飼育し、その後は VC 欠乏食餌(CL-2)(日本クレア株式会社)に変更した。VC 水は、アスコルビン酸を超純水製造装置(Milli-Q)から得られた超純水で 10 μ M EDTA(pH8.0)液を調整し、これに VC 濃度が 1.5g/L となるように希釈し、濾過滅菌(0.45 μ m filter)を行った。SMP30 KO マウスを A~D (n = 6)の 4 群に設定し、3ヶ月齢まで十分量の VC を摂取させた(1.5g/L VC 水)。その後、A と B 群のみ VC 欠乏状態(壊血病予防量の 0.0375g/L VC 水)に変更して飼育した(以下、A と B 群、VC 少量投与群; C と D 群、VC 十分量投与群)。さらに、4ヶ月齢~6ヶ月齢の 8 週間にわたって新鮮大気(A と C 群)あるいはタバコ煙(B と D 群)に曝露させた。肺組織中の酸化ストレス評価(VC 濃度、活性酸素(ROS)、過酸化脂質(TBARS)、抗酸化酵素(GSH-Px)、等を測定した。肺組織の形態計測では、肺胞壁間平均直線距離(MLI)、肺胞破壊指標(DI)を測定した。

C. 研究結果

1) 対象 8 例臨床的特徴は、LAM 診断時の年齢は 29.8 \pm 5.2 歳(平均 \pm 標準偏差)、出産時年齢は 33.1 \pm 4.5 歳であった。全例が sporadic LAM であり、病理学的に LAM と診断されている(VATS 肺生検 7 例、TBLB1 例)。LAM の初発症状(重複あり)は気胸 4 例、胸部異常陰影 2 例、息切れ 2 例、喘鳴 1 例、腎血管筋脂肪腫(AML)による血尿 1 例、であった。気胸発症の 4 例と AML 発症の 1 例は、LAM 診断時を含めて妊娠までに平均 5 \pm 2 回の気胸を反復していた。妊娠前の胸部 CT では、嚢胞の程度は G1 が 4 例、G1+肺のリンパ浮腫が 1 例、G2 が 2 例で、G3 が 1 例であった。妊娠前の肺機能検査では、換気機能は正常 5 例、中等度気流閉塞 1 例、高度気流閉塞 1 例、軽度拘束性換気障害 1 例、

であった。拡散障害(80%未満)は 6 例で認め、50%未満の高度換気障害を 3 例で認めた。

7 例 8 回の妊娠は出産した。帝王切開 2 例、経膈・自然分娩は 5 例 6 回であった。帝王切開は、1 例は 2 絨毛膜双胎、先進児足位、臍帯下垂のためであった。多嚢胞性卵巣症候群(PCOS)を合併していた症例 JLR97 は妊娠を目指した不妊治療中に息切れが増強、低酸素血症の進行、肺機能の低下を認め、不妊治療 7 ヶ月目で妊娠を断念し、GnRH 療法を開始した。

4 例 5 回の妊娠に際し、妊娠中に気胸を計 5 回、気胸を疑わせる症状を 2 回認め、1 例 1 回の気胸は入院・胸腔ドレーン管理を要した。2 例は出産後に気胸を合併したが安静のみで軽快する程度であった。妊娠中・出産後に気胸を合併した者は全例妊娠前に気胸を合併していた症例に限られていた。

5 例の出産 4 回および 1 例の妊娠断念後の肺機能や胸部 CT の推移が検討できた。妊娠を断念した JLR97、出産後に在宅酸素療法導入となった JLR191 では肺機能各指標の悪化が見られた。症例 JLR61 では FVC%、FEV₁% pred は減少せず、%RV、%DL_{co}/VA が減少した。胸部 CT では、妊娠前に G3 の嚢胞化を認めた症例 JLR191 では嚢胞化の顕著な増悪を出産後 11 ヶ月の時点で認めた。軽度の拘束性換気障害があり、気腫化は軽度であるが肺にリンパ浮腫像を認め PCOS を合併していた症例 JLR97 ではリンパ浮腫像と気腫化の増悪を認めた。他の 6 症例では嚢胞性変化に明らかな増悪を認めなかった。乳び胸水や腹水は 1 例も認めなかった。

2) 肺組織中の VC 濃度は、VC 少量投与群(A と B 群)では VC 十分量投与群(C と D 群)と比較して、有意に肺組織中の VC 濃度が低値であった。また、2 ヶ月間の喫煙負荷では VC 濃度の有意な変化は認めなかった。肺の形態計測では、VC 少量投与群において喫煙負荷によって有意な MLI、DI の増大を認めた。一方、VC 十分量投与群においては喫煙負荷によって有意な MLI の増大を認めたが

VC 少量投与群と比較すると MLI の変化は軽度であった。そして、DIも10%未満でありVCを十分量投与することによって喫煙による肺気腫発生は予防された。ROS ならびに酸化ストレス障害マーカーであるTBARS を測定した結果、VC 少量投与群では喫煙負荷によって有意な肺組織中のROS、TBARSの増加を認めた。一方、VC 十分量投与群では喫煙負荷を行っても有意なROS・TBARSの増加は認めず、十分量のVCを投与することによって喫煙による酸化ストレスの亢進も抑えられた。

D. 考察

1) LAM は生殖年齢にある女性に好発し、これまで幾つかの報告では妊娠中に気胸や乳び胸の合併、呼吸困難の増強など病状の悪化や進行を来たす事が報告されている。Urban らによる69例のLAM患者を対象とした報告では、妊娠歴のあったのは75%で、その内で妊娠中にLAMに伴う呼吸器症状の発現がみられたのは20%であった。更に、その内の2例では妊娠中に著明な増悪を来たした。Johnson らの50例のLAM患者を対象とした報告では、28例が妊娠し、その内の27例が出産に至った。妊娠に際してLAMの初発症状を認めたのは7例であったが、3例はLAMの診断がなされた後の妊娠症例であった。4例では妊娠中や産後に気胸や乳び胸などを認めた。更に、この報告の中で妊娠中と非妊娠中の両時期における気胸・乳び胸等の合併症の発生頻度が比較検討され、妊娠中に合併症が高頻度で認められる事が述べられている。しかし、UrbanやJohnsonらの報告では妊娠前後の呼吸機能やCTでの嚢胞性変化への影響は検討されていない。一方、幾つかの症例報告では、複数回の妊娠を経ても著名な増悪を来たさず、長期にわたり生存した症例が報告されている。すなわち、LAM臨床症状や進行スピード、肺外病変合併の有無などが症例毎に多様であることが広く認識されてきたが、妊娠・出産に伴うLAM関連合併症の出現や基礎病態の増悪も、同様に症例毎に多様である

ことが期待される。

自験例のまとめでは、8回の出産のうち6回は自然分娩であり、帝王切開は産科的適応によるものであった。4例5回の妊娠に際し、妊娠中に気胸を計7回(疑い2回も含め) + 出産後に2回認めたが、8/9回は外来管理が可能な軽症のものであった。また、全例、妊娠前に気胸を反復していた症例であった。肺機能、胸部CTについても妊娠前に肺機能が良好でCT上嚢胞性変化が軽い症例では、明らかな病勢の進行は認めなかった。

少数例の検討であるが、妊娠・出産前後の肺機能やCT所見を比較検討した結果では、LAMの進行度や病状に拘わらず常に妊娠・出産がLAM増悪のリスクになりうるわけではないようである。その違いは、妊娠志向時点での肺機能障害や、CTでの嚢胞性変化の重症度が影響している可能性があると考えられた。すなわち、妊娠志向時点での肺機能や胸部CT画像を評価することにより、比較的安全に出産可能である症例を選択できる可能性が示唆される。

2) SMP30 KOマウスのVC少量投与群では2ヵ月間の喫煙で酸化ストレスの亢進による肺気腫が生じたが、VCを十分量投与することによって酸化ストレスの亢進は抑制され肺気腫は生じなかった。以上の結果から、VC不足は喫煙による肺気腫発症のリスクであり、VCには喫煙による肺気腫発生を予防する効果があることが示唆された。本研究では酸化ストレスに焦点をあてて評価を行った。しかしながら、COPD発症には加齢、炎症、酸化ストレス、プロテアーゼ・アンチプロテアーゼ不均衡、vascular endothelial growth factor (VEGF)の活性阻害、アポトーシス等の様々な因子の関与が考えられている。今後は酸化ストレスやアポトーシス以外の因子についても評価することが必要である。

E. 結論

1) 妊娠直前の肺機能が良好でHRCTでの嚢胞形成が軽度であれば、出産後も良好な経過を期待で

きる可能性がある。

2) VC を自身では全く合成できないマウスを用いた研究では、VC 不足は喫煙による肺気腫発症のリスクとなり、十分量の VC には喫煙による肺気腫発生を予防する効果があ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

Mitani K, Kumasaka T, Takemura H, Hayashi T, Gunji Y, Kunogi M, Akiyoshi T, Takahashi K, Suda K, Seyama K. Cytologic, immunocytochemical and ultrastructural characterization of lymphangioliomyomatosis cell clusters in chylous effusions of patients with lymphangioliomyomatosis. *Acta Cytol* 2009; 53:402-409.

学会発表

1. Seyama K, Kikkawa M, Kunogi M, Akiyoshi T, Gunji Y, Kurihara M, Shigihara T, Shindo N, Takahashi K. Mutation analysis of the Birt-Hogg-Dubé gene in patients with multiple lung cysts. Seoul in Korea, Nov 16. APSR meeting.
2. Koike K, Kondo Y, Sekiya M, Tobino K, Takahashi K, Maruyama N, Seyama K, Ishigami A. Complete lack of vitamin C intake generates pulmonary emphysema in senescence marker protein 30 knock-out mice. Seoul in Korea, Nov 17. APSR meeting.
3. 瀬山邦明. Lymphangioliomyomatosis (LAM) に関する最近の知見. 第 101 回 ACCP 日本部会定期教育講演会 仙台. 平成 21 年 10 月 31 日
4. 小池建吾、瀬山邦明、石神昭人、近藤嘉高、児玉裕三、関谷充晃、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 摂取による COPD 発症リスク軽減効果の検討. 第 49 回日本呼

吸器疾患学会総会、平成 21 年 6 月 東京.

5. 久能木真喜子、秋吉妙子、瀬山邦明、郡司陽子、児玉裕三、嶋原貴子、吉川美加、新藤典子、小林敏之、樋野興夫、高橋和久. 嚢胞性肺疾患 Birt-Hogg-Dubé (BHD) における遺伝子解析. 第 49 回日本呼吸器疾患学会総会、平成 21 年 6 月 東京.
6. 飛野和則、瀬山邦明、栗原正利、平井豊博、久能木真喜子、星加義人、高橋和久. Birt-Hogg-Dubé 症候群における嚢胞性変化と呼吸機能の検討. 第 13 回日本気胸・嚢胞性肺疾患学会総会. 平成 21 年 9 月 11・12 日 大阪.
7. 久能木真喜子、瀬山邦明、吉川美加、小林悦子、飛野和則、栗原正利、熊坂利夫、高橋和久. 新たな嚢胞性肺疾患の病因解明を目指して. 第 13 回日本気胸・嚢胞性肺疾患学会総会. 平成 21 年 9 月 11・12 日 大阪.

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

非肥満OSAS症例における内臓脂肪と代謝機能異常との関連

研究分担者 赤柴 恒人
日本大学医学部睡眠学・呼吸器内科 教授

研究要旨 非肥満男性 OSAS 患者 10 例を対象に腹部 CT で内臓脂肪面積 (VFA) を計測し、OSAS の重症度、代謝機能との関連を検討した。VFA は無呼吸低呼吸指数(AHI)と覚醒指数とに有意に相関したが低酸素の指標は関連をみとめなかった。10 例中 7 例に高血圧と高脂血症、3 例に耐糖能異常を認め、6 例に代謝症候群の 3 要素中 2 要素以上の異常を認めた。以上の結果より、OSAS は、肥満と独立して代謝機能を障害する可能性が示唆された。

A. 研究目的

閉塞型睡眠時無呼吸症候群(obstructive sleep apnea syndrome: OSAS)が肥満とは独立して代謝機能障害を生じ得るか否かを検討するために、肥満 OSAS 例を対象として内臓脂肪と OSAS の重症度および代謝機能との関連を検討することを目的とした。

B. 研究方法

対象は睡眠検査(polysomnography: PSG)で OSAS と確定診断された非肥満の男性 10 例である。臍部で腹部 CT を撮影し内臓脂肪面積(VFA)と皮下脂肪面積(SFA)を測定した。同時に代謝症候群(MetS)の構成要素である随時血圧、中性脂肪、HDL コレステロール、空腹時血糖を測定し、VFA と OSAS の重症度および各代謝機能指標との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

対象患者には本研究の意義を十分に説明し informed consent を得た。

C. 研究結果

平均年齢は 58.4 歳、平均 body mass index(BMI)²であった。平均 apnea-hypopnea index(AHI)は 34.2、arousal index は 78.5%であった。平均 VFA は 126.6 cm² SFA は 117.1 cm² であ

った。VFA は AHI($r=0.646$, $p<0.05$)、arousal index($r=0.660$, $p<0.05$)と各々有意の相関を示したが、平均 SaO₂、最低 SaO₂、90%>SaO₂ 時間など低酸素の指標とは関連を認めなかった。SFA は PSG 指標のいずれとも有意な関連を認めなかった。MetS の構成要素について検討すると、高血圧、脂質異常は 7 例に、耐糖能異常は 3 例に認められ、3 要素のうち少なくとも 2 つ以上の異常を示したのは 6 例であった。

D. 考察

OSAS 患者に MetS の合併が多いことは従来より知られており、欧米の報告では 80%、本邦の報告でも約半数の OSAS 例に MetS の合併が報告されている。MetS は肥満を基盤とした内臓脂肪の増大が基本的病態である。肥満はまた OSAS の最大のリスクファクターでもあることから両者の合併は当然高頻度となることが考えられる。しかし、前回の研究で、我々は、非肥満者においても OSAS 患者では一般人に比し MetS の合併が多いことを示した。これまでの報告でも、OSAS は肥満と独立してインスリン抵抗性を高め代謝障害を惹起することがしされている。今回の検討では、非肥満例においても VFA の増加(>100 cm²)が多く例で認められた。また、AHI と arousal index は VFA と有意に相関し、OSAS

が肥満とは独立して内臓脂肪の増大に関与する可能性が認められた。しかし、間欠的低酸素の指標である平均 SaO₂ や最低 SaO₂ は VFA と関連せず、従来の報告と異なる結果であった。

MetS の構成要素である、高血圧、脂質異常、耐糖能異常は高頻度に認められ、3 項目のうち 2 項目の異常は 60% に認められた。従って、非肥満例においても、OSAS の存在は代謝機能異常を助長すると考えられた。

E. 結論

非肥満 OSAS 男性の内臓脂肪面積は増大しており、睡眠中の無呼吸の程度と覚醒指数と有意に関連した。高血圧、脂質異常、耐糖能異常が高頻度に認められ、非肥満であっても MetS を合併する可能性が高いと考えられた。以上の結果から、OSAS は、肥満と独立した MetS のリスクファクターである可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Akahoshi, T, Akashiba T, Kawahara S, Uematsu A, Nagaoka K, Kiyofuzi, K, Okamoto N, Hattori T, Takahashi N, Hashimoto S: Predicting optimal continuous positive airway pressure in Japanese patients with obstructive sleep apnea. *Respirology* 14(1): 1-13, 2009
- 2) Takegami M, Hayashino Y, Chin K, Sokejima S, Kadotani H, Akashiba T, Kimura H, Ohi M, Fukuhara S: Simple four-variable screening tool for Identification of patients with sleep-disordered breathing. *Sleep* 32:939-48 2009
- 3) 赤柴恒人:【睡眠時呼吸障害と循環器疾患】睡眠呼吸障害の病態とその診方. *Cardiac*

Practice 20(1): 21-25, 2009

- 4) 赤柴恒人:【睡眠時無呼吸症候群の臨床 up-to-date 2009 睡眠時無呼吸症候群のトータルマネジメント】病態 肥満低換気症候群と睡眠時無呼吸症候群. *Modern Physician* 29(8): 1135-1137, 2009
- 5) 赤柴恒人:【睡眠時無呼吸 最新の進歩と展望】治療 CPAP 治療と治療アドヒランス (adherence) 向上の工夫. *最新医学* 64(1): 42-49, 2009
- 6) 赤柴恒人:【実地医家のための呼吸管理】臨床場面別の呼吸管理 睡眠時無呼吸症候群. *診断と治療* 97(1): 139-147, 2009
- 7) 赤柴恒人:【呼吸器疾患診療ガイドラインのエッセンス】睡眠時無呼吸症候群 診断と治療のためのガイドライン. *呼吸器科* 15(3): 208-214, 2009

2. 学会発表

- 1) Umematsu A, Akahoshi T, Nagaoka K, Nomura N, Okamoto N, Akashiba T, Hashimoto S: Obstructive sleep apnea is associated with both metabolic abnormalities and visceral fat accumulation. *Asia-Pacific Society of Respirology, Soaul* 2009
- 2) Akashiba T, Pathophysiology in upper airway during sleep. (Educational Workshop) *World Congress of Sleep Apnea Soaul* 2009
- 3) 赤柴恒人: 睡眠呼吸障害に対する治療が生活習慣病 (特に心血管疾患) に及ぼす影響。第 34 回日本睡眠学会 大阪 2009

H. 知的財産権の出願・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。

- 1、スタチンによる肺胞上皮再生メカニズムの検討
- 2、COPD 患者気道における soluble E-cadherin 濃度上昇と MMP-7 の関連

研究分担者 浅野 浩一郎

慶應義塾大学医学部呼吸器内科 准教授

研究要旨

1、スタチンの多面的作用が慢性閉塞性肺疾患の病態を改善する可能性が指摘されているがその機序は明らかではない。これまでの検討でスタチンはエラスターゼ誘導肺気腫モデルにおいて上皮細胞の再生を促進した。本研究ではスタチンが喫煙により傷害された上皮細胞の修復に関わるか否かを検討した。スタチンは短期タバコ煙曝露マウスにおいて肺胞上皮細胞の増殖を促すことが示された。

2、E-cadherin は上皮細胞間接着因子であり、気道上皮の形態形成・維持・創傷治癒・アポトーシスに関与する。その細胞外ドメインは MMP-7 により遊離されると考えられている。本研究では気道被覆液の解析により、COPD 患者気道において MMP-7 が増加し、soluble E-cadherin の放出に関与する可能性が示唆された。一方、ヒト由来気道上皮細胞のタバコ煙刺激により培養上清中に sE-cadherin が放出されるのが観察された。COPD の病態において MMP-7 と E-cadherin の相互作用が重要な可能性が示唆された。

A. 研究目的

1、HMG-CoA還元酵素阻害薬（スタチン）の pleiotropic effect（多面的作用）は近年、各種病態において好ましい作用を有することが知られている。スタチン効果である抗プロテアーゼ作用、抗酸化作用、細胞外マトリックス（ECM）増加作用、抗線維化作用など慢性閉塞性肺疾患（COPD）の病態改善を期待できるものが多く報告されている。マウス肺気腫モデルでの検討においてスタチンは肺気腫化抑制効果を示し、その機序としてMMP9産生抑制、肺胞上皮細胞再生促進が推察されている。COPDの病理学的特徴である肺胞ユニットの減少に関わる液性因子（growth factors, cytokines, proteinases）、再生細胞（Ⅱ型肺胞上皮、クララ細胞、気管支肺胞幹細胞、骨髄由来血管内皮前駆細胞、上皮

前駆細胞など）の制御に関してはまだ多くが不明である。我々は以前にエラスターゼ誘導マウス肺気腫モデルにおいてスタチンが肺胞上皮細胞の増殖を促進することを報告した。本研究においては短期タバコ煙曝露を用いたモデルを作成し、スタチンの効果の機序につき検討した。

2、cadherin は分子量 120-135kDa の細胞間接着因子であり、Ca²⁺ 依存性の細胞間接着を担い、形態形成・維持・創傷治癒・アポトーシスに関与する。cadherin は superfamily を形成し、気道上皮には E-cadherin が存在する。その動態はたえず調整されており、転写レベルの制御、局在の変化、細胞内ドメインの結合による調節、MMP による細胞外からの分解などの機序が知られている。cadherin が細胞表面で分解され、放出された約 80 kDa の可溶性断片(soluble

form)は上皮系癌細胞における MMP-2, 9, 14 の発現亢進と細胞浸潤促進機能を有すると報告されている。しかし、COPD や喫煙による E-cadherin の動態変化に関する報告は少ない。我々のこれまでの検討により、COPD 患者の血漿 sE-cadherin 濃度は健常喫煙者、非喫煙者に比べ上昇していた。また、気道上皮細胞由来の cell line において、タバコ抽出液(cigarette smoke extract: CSE)刺激により、培養上清中の sE-cadherin 濃度が上昇していた。これらの所見より、我々は E-cadherin による細胞間接着の調節はタバコ煙刺激後の上皮細胞の傷害、アポトーシス、再生に深く関与すると考えた。本年度の研究では、COPD 患者および対照患者の気道被覆液中 sE-cadherin ならびに MMP-7 濃度を測定し、病態への関与について検討した。また、ヒト由来気道上皮細胞からの CSE 刺激による sE-cadherin の遊離についても検討した。

B. 研究方法

1、8週齢のC57Bl/6雌を用いて、喫煙チャンバー内でday1から5までの5日間1日2回、各2本のタバコ煙（ケンタッキー大学研究用タバコ3R4F）を曝露し、day6に2本最終曝露を行い、その2時間後に犠牲死させた。摘出した肺を25cmH₂Oの定圧でホルマリン固定した。タバコ煙曝露群および非曝露群の各々に20μgのシンバスタチン(SS群、CalBiochem)またはvehicle (Veh群)をday-1からday5まで1日1回腹腔内投与した。

マウス肺標本はproliferating cell nuclear antigen (PCNA)に対する免疫染色を行い、顕微鏡下に陽性細胞数をカウントした。10視野における陽性細胞の平均値をそのマウスにおけるindexとして各群で比較検討した。本研究プロトコールは慶應義塾大学医学部における動物実験プロトコールとして承認済みである。

2、Control症例(12名)と COPD 患者(14名)より気管支鏡下マイクロサンプリング法により気

道被覆液 (epithelial lining fluid: ELF) を採取した。ELF 中の sE-cadherin(R&D), MMP-7(Boster)濃度を ELISA 法で測定した。本研究プロトコールは慶應義塾大学医学部倫理委員会において承認済みである。

また、細胞実験として Small airway epithelial cells(SAEC, Lonza) を 0, 2, 5,10% CSE で 24h 刺激し、培養上清中の sE-cadherin 濃度を測定した。

C. 研究結果

1、タバコ煙曝露に対するマウスの耐用性は良好で、曝露によるマウスの死亡は約10%であった。喫煙曝露によりPCNA陽性細胞は有意に増加し、本法によるタバコ煙曝露は気道・肺胞上皮に対する障害・再生を惹起するに十分な強度であり、スタチン効果を評価するモデルとなりうると考えた。タバコ煙曝露群での比較でシンバスタチン投与群においてPCNA陽性細胞はさらに56%増加した。非曝露群においてはスタチンによる有意な効果はみられなかった。

2、COPD 群(14名：平均年齢71歳、FEV_{1.0}% = 58)では、Control 群(12名：平均年齢66歳、FEV_{1.0}% = 80)と比べ ELF 中 MMP-7 濃度は有意に高かった (p<0.05)。また、%FEV_{1.0} と相関傾向を認めた(r=0.14)。一方、ELF 中の Soluble E-Cadherin と MMP-7 は強い相関を認めた (r=0.75, p<0.0001)。

SAEC は 24 時間の CSE 刺激により、濃度依存的に sE-cadherin を遊離した。また、SAEC は非刺激でも一定量の soluble form を放出していた。

D. 考察

1、本検討に用いた短期タバコ煙曝露モデルは COPD の最大の原因であるタバコ煙により惹起される肺障害の初期を検討するために有用な方

法であり、短期に成果を得ることができる利点がある。過去の報告でも単回から2週間のタバコ煙曝露によりECM分解、細胞老化など長期曝露による肺気腫モデルにおいてみられる生理・病理学的変化の一部が見られることが知られている。本検討により5.5日間のタバコ煙曝露によりマウス肺におけるPCNA陽性細胞数は有意に増加していた。これはタバコ煙により傷害された気道・肺胞上皮細胞のturn overが亢進していることを示唆している。タバコ煙曝露群においてスタチン投与が惹起するPCNA陽性細胞は増加しており、気道・肺胞上皮細胞のturn overがスタチンにより促進していることを示している。このスタチン効果は長期タバコ煙曝露により生じる上皮細胞再生不良を改善しうる可能性を示している。スタチン効果の機序はこれまでに明らかでないが、過去の文献からは、血管内皮細胞機能の改善、vascular endothelial growth factor (VEGF) 産生亢進、骨髄由来血管内皮前駆細胞の誘導、ECM産生亢進などが考えられる。

2、本研究の結果、COPD 患者気道において、MMP-7 が増加し、E-cadherin の細胞外ドメインの放出に関与する可能性が示唆された。一方、ヒト由来気道上皮細胞のタバコ煙刺激により、培養上清中に sE-cadherin が放出されるのが観察された。この系における MMP-7 の関与については、今後検討を加える必要があるが、タバコ煙が直接 E-cadherin の細胞内動態に影響を与えた可能性に加え、上皮細胞からの MMP-7 産生を増加させた可能性が考えられる。

sE-cadherin は気道上皮細胞において 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。今後は CSE との相互作用により、こうしたメカニズムが増強されるか否かも検証する予定である。詳細なメカニズムについては検討を要するが、本研究により、MMP-7 及び E-Cadherin が COPD の病

態と密接に関わっている可能性が示唆された。

E. 結論

1、スタチンが喫煙により傷害された肺胞上皮の再生を促進する可能性が示唆された。

2、気道で増加した MMP-7 及び sE-Cadherin が COPD の病態に関与する可能性が示唆された。

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

Asano K, Nakade S, Shiomi T, Nakajima T, Suzuki Y, Fukunaga K, Oguma T, Sayama K, Fujita H, Tanigawara Y, Ishizaka A. Impact of pharmacokinetics and pharmacogenetics on the efficacy of pranlukast in Japanese asthmatics. *Respirology* 2009 ;14(6):822-7.

原田尚子, 浅野浩一郎. COPD、気管支喘息における吸入ステロイド薬の使用法の類似点・相違点. *COPD FRONTIER* 2009; 8(1): 24-30

浅野浩一郎. COPD と肥満：体重減少だけが問題か. *LUNG-perspectives* 2009; 17(1) : 45-48

2、学会発表

辻村周子, 高橋左枝子, 仲村秀俊, 白畑亨, 小熊剛, 上石修史, 宮庄拓, 峰松直人, 舘野博喜, 大曾根康夫, 秋月哲史, 石坂彰敏: シンバスタチンの気道炎症に対する効果. 日本呼吸器学会学術講演会、東京、2009年6月

吉田秀一, 中島隆裕, 仲村秀俊, 峰松直人, 白畑亨, 続敬之, 辻村周子, 中村美穂, 高橋左枝子, 舘野博喜, 石坂彰敏: COPD の診断と重症度判

定における血漿中カテプシン S 濃度測定の意義.
日本呼吸器学会学術講演会、東京、2009 年 6 月

小倉裕美, 浅野浩一郎, 宮田純, 友松克允, 堀内
奈緒, 樹神元博, 上田壮一郎, 滝原崇久, 加行淳
子, 新美京子, 若木美佐, 福永興壺, 小熊剛, 佐
山宏一, 石坂彰敏: 在宅酸素療法中の慢性呼吸
不全患者における骨粗鬆症予測マーカーの検討.
日本呼吸器学会学術講演会、東京、2009 年 6 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1、特許取得 特になし
 - 2、実用新案登録 特になし
- その他 特になし

分担研究報告書

呼吸不全に関する基礎研究：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 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) 脂質性メディエーターに着目し、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。
- 2) 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。

研究協力者

石井 聡・東京大学大学院医学系研究科准教授
幸山 正・東京大学医学部附属病院講師
三谷明久・東京大学医学部附属病院

A. 研究目的

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、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。

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 phospholipase A₂, 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。

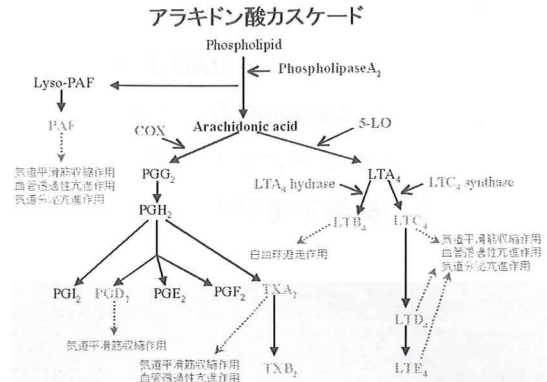


図1 アラキドン酸カスケードの模式図

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