

# ウイルス感染誘発 COPD 増悪抑制に関する研究

研究協力者 山谷 睦雄 東北大学先進感染症予防学寄附講座 教授

研究協力者 佐々木陽彦（東北大学大学院医学系研究科呼吸器病態学分野）  
安田浩康（東北大学未来医工学治療開発センター臨床応用部門）  
吉田元樹、浅田成紀（東北大学病院老年科）  
久保裕司（東北大学大学院医学系研究科先進感染症予防学寄附講座）  
新矢恭子（神戸大学大学院医学系研究科人獣共通感染症講座）

## はじめに

インフルエンザウイルス感染はライノウイルスと同様に、慢性閉塞性肺疾患(COPD)増悪を惹起することが報告されてきた<sup>1)</sup>。インフルエンザウイルスは気道上皮細胞に感染して細胞傷害や細胞刺激を生じ、気道炎症を引き起こす。私たちはこれまで、本研究班において、喀痰調整薬であるL-カルボシステインがライノウイルス感染に加えて季節性インフルエンザウイルス感染を抑制することを報告してきた。セリン・プロテアーゼはヘマグルチニンを開離し、細胞内へのウイルス RNA 流入に関与すると報告されている<sup>2)</sup>。このため、本年度はL-カルボシステインのセリン・プロテアーゼ発現抑制作用に関して検討を加えた。本研究班において、喀痰調整薬であるL-カルボシステインがRSウイルス感染を抑制することも報告してきた。RSウイルスの感染受容体としてヘパラン硫酸が報告されている<sup>3)</sup>。本年度はL-カルボシステインのヒト気管上皮細胞におけるヘパラン硫酸発現抑制作用についても検討を加えた。

長時間作用型抗コリン薬はCOPD安定期治療薬の第一選択である。長時間作用型抗コリン薬は気管支拡張作用を介して1秒量の増加や咳・痰、息切れの改善、QOLの改善をもたらす。さらに、長時間作用型抗コリン薬は増悪回数を減少して生存率を向上する作用を有する<sup>4)</sup>。増悪にはラ

イノウイルス感染などの呼吸器ウイルス感染に伴う気道炎症や喀痰増加が関連する。このため、本年度は長時間作用型抗コリン薬のライノウイルス感染抑制効果を検討した。

(倫理面への配慮)

ヒト気管上皮細胞培養は東北大学医学部倫理委員会の承認を得て行なった。

## 対象と方法

1) ヒト気管上皮細胞を6-ウェルプレートに培養し、7~10日目に実験に使用した。さらに、培養液にL-カルボシステイン(10 μM)を添加して細胞を3日間培養した。細胞からRNAを抽出して、transmembrane protease, serine 2 (TMPRSS2) および transmembrane protease, serine 11 (TMPRSS11; = HAT, human airway trypsin-like protease)の mRNA 発現を測定した<sup>5)</sup>。

2) ヒト気管上皮細胞を6-ウェルプレートに培養し、7~10日目に実験に使用した。さらに、培養液にL-カルボシステイン(10 μM)を添加して細胞を3日間培養した。その後、細胞剥離液を用いて細胞を単離した。細胞を一次抗体(Monoclonal anti-heparan sulfate)と二次抗体(goat anti-mouse IgM-FITC)で処理し、フロ

ー・サイトメトリーを用いて細胞表面のヘパラン硫酸発現量を測定した<sup>6)</sup>。

3) ヒト気管上皮細胞を試験管に培養し、ウイルス感染 3 日前からチオトロピウム(10  $\mu$ M)をヒト気管上皮細胞に作用させた。その後、ライノウイルスを  $10^5$  TCID<sub>50</sub> units/ml (TCID<sub>50</sub>; tissue culture infective dose 50) の濃度で準備し、1 時間感染させた。ライノウイルスを感染した気道上皮細胞は、ウイルスを除去、洗浄し、培養液で置換した。ウイルス感染後 33°C で回転培養した。ウイルス感染前、感染後 24 時間、72 時間の時点で培養液を回収し、ウイルス量を評価した。ライノウイルス量の測定は、10 倍希釈した培養液をヒト胎児線維芽細胞に感染させ、50% 細胞変性効果を示す希釈倍率(TCID<sub>50</sub> units/ml)で求めた。

## 結果

1) L-カルボシステイン(10  $\mu$ M)添加による気管上皮細胞培養により、A 香港型インフルエンザウイルスの培養液放出量および細胞内インフルエンザウイルス RNA の複製は抑制された(図 1)(これは昨年度までにすでに報告している)。

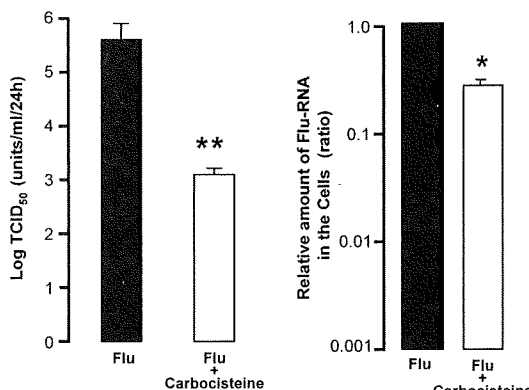


図 1. A 香港型インフルエンザ感染に対する L-カルボシステインの効果  
培養液ウイルス放出量およびウイルス RNA 複製量ともに L-カルボシステイン (Carbocisteine) で減少した。\*P<0.05, \*\*P<0.01;ウイルスのみ(Flu)と比較した有意差。

昨年度まで、感染受容体発現の減少および、ウイルス RNA の細胞内進入部位である酸性エンドゾームの減少を報告した。これに対して、TMPRSS2 および TMPRSS11 のいずれも、L-カルボシステイン(10  $\mu$ M)添加による気管上皮細胞培養 (24 時間) により、mRNA 合成量は変化しなかった(図 2)。

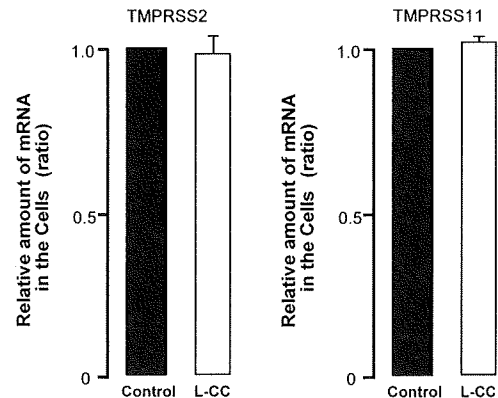
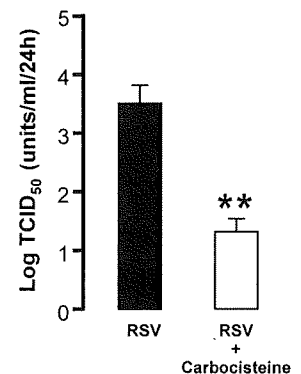


図 2. セリン・プロテアーゼ発現に対する L-カルボシステイン効果

L-カルボシステイン(L-CC)は TMPRSS2 および TMPRSS11 のいずれの mRNA 合成も変化させなかった。

2) L-カルボシステイン(10  $\mu$ M)添加による気管上皮細胞培養により、RS ウイルスの培養液放出量および細胞内 RNA ウイルス RNA の複製は抑制された(図 3)(これは昨年度までにすでに報告している)。

図 3. RS ウイルス感染に対する L-カルボシステインの効果  
培養液ウイルス放出量は L-カルボシステイン (Carbocisteine) で減少した。\*\*P<0.01;ウイルスのみ(RSV)と比較した有意差。



昨年度まで、報告されている受容体のうち、細胞接着分子(ICAM-1)の発現の減少を報告してきた。これに対して、ヘパラン硫酸の細胞表面における発現量は L-カルボシステイン(10  $\mu$ M)添加では変化しなかった(図 4)。

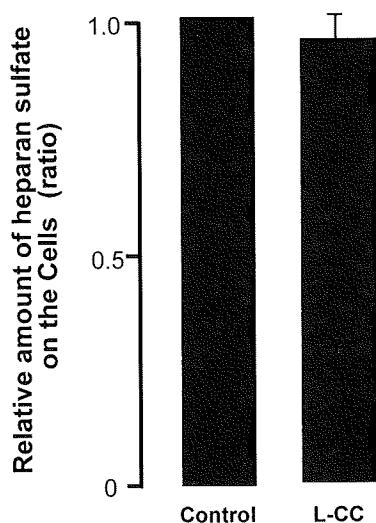


図4. ヘパラン硫酸発現に対するL-カルボシステイン効果

L-カルボシステイン(L-CC)はヘパラン硫酸の発現を変化させなかった。

3) 長時間作用型抗コリン薬チオトロピウム(10 μM)添加による気管上皮細胞培養により、ライノウイルスの培養液放出量は減少した(図5)。

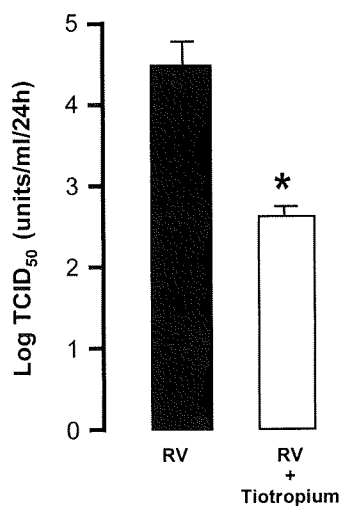


図5. ライノウイルス感染に対するチオトロピウムの効果

培養液ライノウイルス放出量はチオトロピウム(Tiotropium)で減少した。\*P<0.05;ウイルスのみ(RV)と比較した有意差。

チオトロピウムによるライノウイルス感染抑制効果を検討するため、ライノウイルス感染受容体ICAM-1発現に及ぼす影響を調べた。その結

果、ICAM-1 mRNA 細胞内合成量および可溶性ICAM-1(sICAM-1)培養液濃度ともにチオトロピウム(10 μM)添加で減少した(図6)。

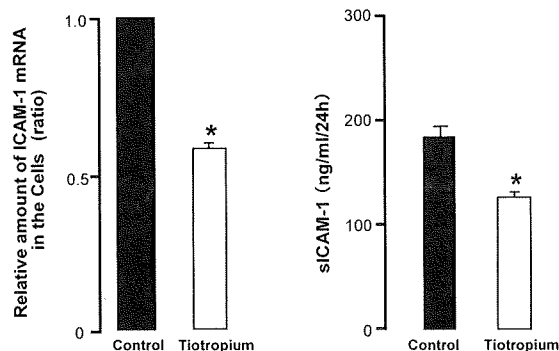


図6. ライノウイルス感染受容体発現に対するチオトロピウムの効果

細胞内ICAM-1 mRNA 発現量および培養液sICAM-1濃度はチオトロピウム(Tiotropium)で減少した。\*P<0.05;培養液のみ(Control)と比較した有意差。

ライノウイルスが受容体に結合した後、ライノウイルスRNAは酸性エンドゾームから細胞質に放出される。酸性エンドゾームは蛍光色素によって緑色顆粒状に染色される(図7A)。

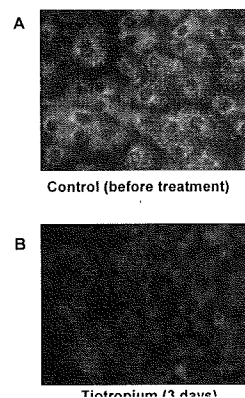


図7. チオトロピウムの酸性エンドゾーム抑制効果

緑色に染色した酸性エンドゾームはチオトロピウム(Tiotropium)で減少した。

チオトロピウムの3日間の添加により、細胞内の酸性エンドゾーム数は減少した(図7B)。さらに、酸性エンドゾームから放出される蛍光強度を測定すると、チオトロピウムの3日間の添加により、蛍光強度は明らかに減少した(図8)。

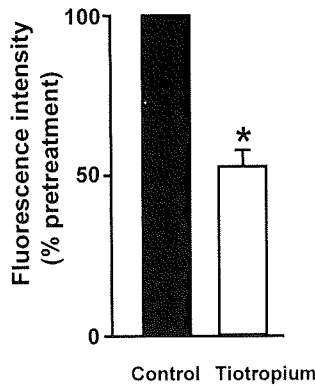


図 8. 酸性エンドゾームから発生する蛍光強度に対するチオトロピウムの効果  
 蛍光強度はチオトロピウム (Tiotropium) の 3 日間の添加で減少した。\*  $P < 0.05$ ; 培養液のみ (Control) と比較した有意差。

ライノウイルス感染により、培養液中のインターロイキン (IL)-1 $\beta$  および IL-6 など、炎症性サイトカインは増加した (図 9)。チオトロピウムの添加によって、これらのサイトカインが減少した (図 9)。

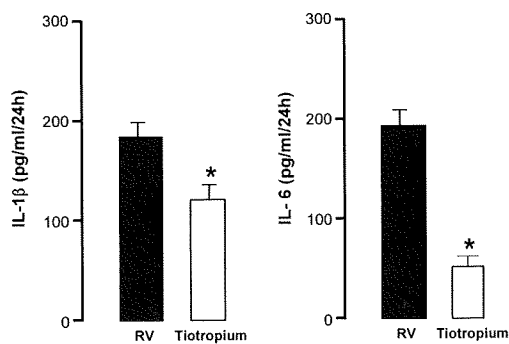


図 9. 炎症性サイトカイン放出に対するチオトロピウムの効果  
 ライノウイルス感染 (RV) で増加したインターロイキン (IL)-1 $\beta$  および IL-6 はチオトロピウム (Tiotropium) で減少した。\*  $P < 0.05$ ; ウイルス感染のみ (RV) と比較した有意差。

## 考察

1) 本研究班において、喀痰調整薬 (去痰薬) である L-カルボシステインが風邪の主因であり、COPD 増悪を引き起こすライノウイルス感染を抑制する効果があることをこれまで報告してきた<sup>7)</sup>。L-カルボシステインはライノウイルス感染受容体の発現を抑制し、ライノウイル

ス RNA 進入経路である酸性エンドゾーム機能を抑制して、気道上皮細胞におけるライノウイルス感染を抑制する効果を有する<sup>7)</sup>。

また、L-カルボシステインが COPD 患者の風邪罹患および増悪回数を減少する効果を有することを、私たちの施設および当研究班の多施設研究で報告がなされている<sup>8)</sup>。COPD 増悪を引き起こすウイルスはライノウイルスはじめ、インフルエンザウイルス、RS ウイルスなど多種が報告されている。

昨年度まで、インフルエンザウイルス感染に対する L-カルボシステインの抑制効果と機序について報告してきた。ヒト型インフルエンザウイルスは気道上皮細胞膜上の受容体 SA $\alpha$ 2,6Gal に結合した後、細胞質の酸性エンドゾームを経由してインフルエンザウイルス RNA を細胞質内に放出し、ウイルスの複製が始まる<sup>9-11)</sup>。私たちは L-カルボシステインのライノウイルス感染抑制研究において、ライノウイルス RNA 進入経路である酸性エンドゾーム機能の抑制を見出している<sup>7)</sup>。したがって、本研究における L-カルボシステインのライノウイルス感染抑制効果の機序の一つとして、インフルエンザウイルス RNA 進入抑制効果が考えられる。

さらに、昨年度の研究において、ヒト型インフルエンザ感染受容体である SA $\alpha$ 2,6Gal の発現を検討した。感染受容体はヒト気管上皮粘膜側に認めた。L-カルボシステイン (10  $\mu$ M) 添加による気管上皮培養 (24 時間) により、受容体の発現は抑制された。したがって、酸性エンドゾーム減少に加えて、受容体発現抑制も L-カルボシステインによるインフルエンザ感染抑制作用に関与している可能性が示唆された。

さらに、インフルエンザウイルス感染において、セリン・プロテアーゼはヘマグルチニンを開離し、細胞内へのインフルエンザウイルス RNA 流入を促す。本年度は L-カルボシステインのセリン・プロテアーゼ発現抑制作用に関して検

討を加えた。その結果、セリン・プロテアーゼの細胞内 mRNA 合成に関して、L-カルボシステインは影響を及ぼさないことが明らかとなった。

2) 昨年度まで、RS ウイルス感染に対する L-カルボシステインの抑制効果を報告してきた。すなわち、ヒト気管上皮細胞の培養液中の RS ウイルス放出量は L-カルボシステインで処理された細胞において減少した。この感染抑制の機序を今年度は検討した。主な RS ウイルス感染受容体として、ヘパラン硫酸および活性化 RhoA が存在する<sup>3)</sup>。他方で、これまで、私たちはマクロライドの RS ウイルス感染抑制作用の機序として活性化 RhoA に対する抑制作用を報告してきた<sup>12)</sup>。しかし、L-カルボシステインの RhoA に対する作用に関しては次年度に検討の予定としている。本年度において、フロー・サイトメトリーを用いて細胞表面のヘパラン硫酸の発現を測定した。その結果、L-カルボシステインはヘパラン硫酸の発現に影響を及ぼさなかった。現在のところ、L-カルボシステインは RS ウイルス感染受容体としても作用する細胞接着分子 ICAM-1 の発現を抑制すると報告してきたが、この ICAM-1 発現抑制が RS ウイルス感染抑制にも関与する可能性がある。活性化 RhoA に対する効果に関しても、次年度に明らかにする予定である。

3) 長時間作用型抗コリン薬は COPD 安定期治療薬の第一選択である<sup>13)</sup>。長時間作用型抗コリン薬は気管支拡張作用を介して 1 秒量の増加や咳・痰、息切れの改善、QOL の改善をもたらす。さらに、長時間作用型抗コリン薬は増悪回数を減少して生存率を向上する作用を有する<sup>4)</sup>。増悪にはライノウイルス感染などの呼吸器ウイルス感染に伴う気道炎症や喀痰増加が関連する。これまで、ライノウイルス感染やウイルス感染

誘発の気道炎症に対する長時間作用型抗コリン薬の作用は調べられていなかった。このため、本年度は長時間作用型抗コリン薬チオトロピウムのライノウイルス感染抑制効果を検討した。

本研究において、チオトロピウムは気管上皮細胞から培養液に放出されるライノウイルス量を減少させた。このことから、チオトロピウムのライノウイルス感染抑制効果が示唆される。感染抑制機序として、感染受容体発現とウイルス RNA 浸入部位である酸性エンドゾームに対するチオトロピウムの効果を測定した。その結果、チオトロピウムによるライノウイルス感染受容体 ICAM-1 発現抑制作用を認めた。さらに、チオトロピウムによる酸性エンドゾーム減少効果を認めた。これらの結果より、感染受容体発現抑制および RNA 進入抑制を介したチオトロピウムのライノウイルス感染抑制作用が示唆された。

さらに、ライノウイルス感染により、培養液中に炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ および IL-6) が増加し、チオトロピウムの添加によって減少した。したがって、チオトロピウムがライノウイルス感染による気道炎症を抑制する作用を有している可能性も示唆された。

## 結論

喀痰調整薬 L-カルボシステインはヒト培養気管上皮細胞において、感染受容体発現抑制とウイルス RNA 進入抑制を介したインフルエンザウイルス感染抑制効果を有するが、ヘマグルチニンを活性化するセリン・プロテアーゼ活性には影響しないと示唆された。また、L-カルボシステインの RS ウイルス感染抑制効果には感染受容体であるヘパラン硫酸制御は関与しないと示唆された。長時間作用型抗コリン薬チオトロピウムは感染受容体発現抑制とウイルス RNA 進入抑制を介したライノウイルス感染抑制効果を有すると示唆された。

## 参考文献

- 1) Hayden FG., Gwaltney JM. Jr. Viral infections: Textbook of Respiratory Medicine, Saunders Co., Philadelphia, 1988; pp748-802.
- 2) Palese P, Shaw ML. Orthomyxoviridae. in Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), Fields Virology 5<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 1647-1689, 2006.
- 3) Collins, P.L., Crowe, J.E. Jr. Respiratory syncytial virus and metapneumovirus, in Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds), Fields Virology 5<sup>th</sup> eds. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp1601-1646, 2006.
- 4) Tashkin DP, Celli B, Senn S, et al. A 4-year trial of tiotropium in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 359: 1543-1554, 2008.
- 5) Bottcher E, Matrosovich T, Beyerle M, et al. Proteolytic activation of influenza viruses by serine proteases TMPRSS2 and HAT from human airway epithelium. *J Virol* 80: 9896-9898, 2006.
- 6) Crim RL, Audet SA, Feldman SA, et al., Identification of linear heparin-binding peptides derived from human respiratory syncytial virus fusion glycoprotein that inhibit infectivity. *J Virol* 81: 261-271, 2007.
- 7) Yasuda H, Yamaya M, Sasaki T, et al. Carbocysteine inhibits rhinovirus infection in human tracheal epithelial cells. *Eur Respir J* 28: 51-58, 2006.
- 8) Yasuda H, Yamaya M, Sasaki T, et al. Carbocysteine reduces frequency of common colds and exacerbations in COPD patients. *J Am Geriatr Soc.* 54: 378-380, 2006.
- 9) Rogers GN, Paulson JC. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: Differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology* 127: 361-373, 1983.
- 10) Sieczkarski SB, Brown HA, Whittaker GR. Role of protein kinase C betaII in influenza virus entry via late endosomes. *J Virol* 77: 460-467, 2003.
- 11) Stegmann T, Morselt HW, Scholma J, et al. Fusion of influenza virus in an intracellular compartment measured by fluorescence dequenching. *Biochim Biophys Acta* 904: 165-170, 1987.
- 12) Asada M, Yoshida M, Yamaya M et al. Macrolide antibiotics inhibit respiratory syncytial virus infection in human airway epithelial cells. *Antiviral Res* 83: 191-200, 2009.
- 13) 日本呼吸器学会 COPD ガイドライン第 3 版作成委員会. 安定期の管理. COPD (慢性閉塞性肺疾患) 診断と治療のためのガイドライン. 第 3 版、pp76-85, 2009.

# スタチンによる肺胞上皮再生メカニズムの検討

慶應義塾大学医学部呼吸器内科<sup>1</sup>、日野市立病院内科<sup>2</sup>、東京電力病院内科<sup>3</sup>

峰松直人<sup>1,2</sup>、仲村秀俊<sup>3</sup>、中鉢正太郎<sup>1</sup>、白畑 亨<sup>1</sup>、高橋左枝子<sup>1</sup>、吉田秀一<sup>1</sup>、続 敬之<sup>1</sup>、辻村周子<sup>1</sup>、中村美穂<sup>1</sup>、館野博喜<sup>1</sup>、佐山宏一<sup>1</sup>、石坂彰敏<sup>1</sup>、浅野浩一郎<sup>1</sup>

はじめに

HMG-CoA還元酵素阻害薬（スタチン）はコレステロール合成阻害作用を有し、脂質代謝異常に広く用いられているが、脂質代謝を介さないpleiotropic effect（多面的作用）が注目され各種病態において検討されている。スタチン効果として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。Leeら<sup>1</sup>及び我々<sup>2</sup>の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。スタチンのCOPD患者に対する複数の臨床研究においてもスタチンはCOPD患者の増悪を減少させ、QOLを改善し、さらには経年的一秒量低下の低減効果を有することが報告されており、臨床的にも重要な将来の治療薬となる可能性がある。

COPDの病理学的特徴である肺胞ユニットの減少に対して再生を試みる研究が盛んであるが、これに関わる液性因子（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トラ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可能性を報告している<sup>2</sup>。

これまでのCOPDにたいする薬物療法は気管

支拡張薬と抗炎症薬に限られているが、疾患進行を抑止するために十分とはいえず、新たな治療戦略が望まれている。スタチンのpleiotropic effectは肺胞上皮細胞の再生に寄与する可能性を有しておりその機序を詳細に検討することは重要な課題である。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、スタチン効果の機序につき検討する。

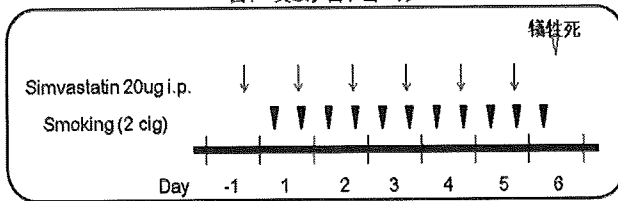
方法

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25cmH<sub>2</sub>O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（図1）。

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。

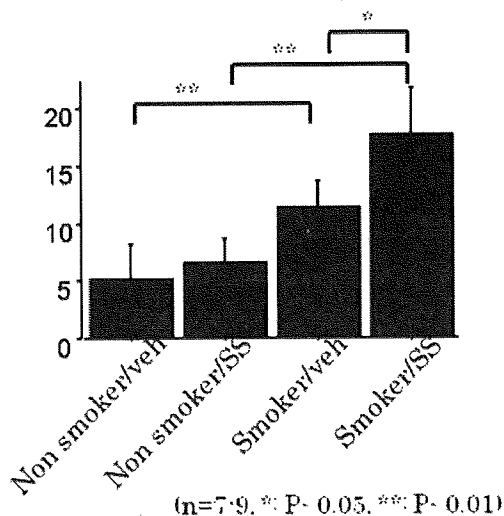
図1 実験プロトコール



## 結果

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。図2に示す通り、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 ( $P < 0.01$ )。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。

図2 マウス肺組織PCNA陽性細胞数 (個/10HPF)



## 考察

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<sup>3</sup>、vascular endothelial growth factor (VEGF) 産生亢進<sup>4</sup>、骨髄由来血管内皮前駆細胞の誘導<sup>5</sup>、ECM産生亢進<sup>6</sup>などが考えられる。

本検討によりスタチン効果の機序の解明のために本モデルが有用である可能性が示されたため、引き続き検討を行う予定である。

## 参考文献

1. Lee, J. H., D. S. Lee, E. K. Kim, K. H. Choe, Y. M. Oh, T. S. Shim, S. E. Kim, Y. S. Lee, and S. D. Lee. 2005. Simvastatin inhibits cigarette smoking-induced emphysema and pulmonary hypertension in rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 172:987-93.
2. Takahashi, S., H. Nakamura, M. Seki, Y. Shiraishi, M. Yamamoto, M. Furuuchi, T. Nakajima, S. Tsujimura, T. Shirahata, M. Nakamura, N. Minematsu, M. Yamasaki, H. Tateno, and A. Ishizaka. 2008. Reversal of elastase-induced pulmonary emphysema



- and promotion of alveolar epithelial cell proliferation by simvastatin in mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 294:L882-90.
3. Weis, M., S. Pehlivanli, B. M. Meiser, and W. von Scheidt. 2001. Simvastatin treatment is associated with improvement in coronary endothelial function and decreased cytokine activation in patients after heart transplantation. *J Am Coll Cardiol* 38:814-8.
  4. Bitto, A., L. Minutoli, D. Altavilla, F. Polito, T. Fiumara, H. Marini, M. Galeano, M. Calo, P. Lo Cascio, M. Bonaiuto, A. Migliorato, A. P. Caputi, and F. Squadrito. 2008. Simvastatin enhances VEGF production and ameliorates impaired wound healing in experimental diabetes. *Pharmacol Res* 57:159-69.
  5. Xu, J., X. Liu, J. Chen, A. Zacharek, X. Cui, S. Savant-Bhonsale, Z. Liu, and M. Chopp. 2009. Simvastatin enhances bone marrow stromal cell differentiation into endothelial cells via notch signaling pathway. *Am J Physiol Cell Physiol* 296:C535-43.
  6. Hatano, H., A. Maruo, M. E. Bolander, and G. Sarkar. 2003. Statin stimulates bone morphogenetic protein-2, aggrecan, and type 2 collagen gene expression and proteoglycan synthesis in rat chondrocytes. *J Orthop Sci* 8:842-8.

# 潜在的呼吸不全の検出方法の確立およびその臨床応用に関する研究

東北大学大学院医学系研究科 呼吸器病態学分野

玉田 勉、海老名 雅仁、貫和 敏博

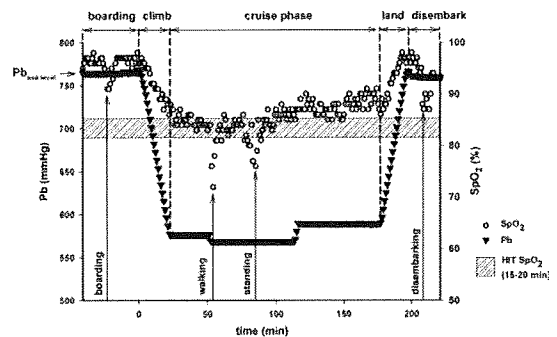
## はじめに

近年、高齢者疾患である COPD（慢性閉塞性肺疾患）患者が増加してきている。2005 年には世界中で年間 300 万人が COPD により死亡し、死亡原因の第 4 位を占めているといわれており、今後さらに増加すると予測されている。日本においても死亡原因の 10 位、男性に限ると 7 位と増加が目立っており社会問題となってきた。

COPD の最大の原因は喫煙であり、喫煙により発症リスクは約 6 倍になるといわれている。しかしすべての喫煙者が発症するわけではなく喫煙者の 15%前後が発症することが知られている。一旦発症すると気流制限およびそれに伴う呼吸困難は通常進行性であるため、最終的には慢性呼吸不全を伴い在宅酸素療法を必要とするようになる。現在のところ COPD の重症度は肺機能検査(予測一秒量： $\%FEV_{1.0}$ )によって 4 段階に規定されており重症度は予後と相関していることが知られている。しかしながら病気の進行度には個人差が大きく、喫煙者の中でどのような群が COPD を発症し、またどのような群が早期に重症化するのかに関して予測することは現時点では不可能である。

我々の研究は、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可能かどうか検討することを目的としている。平地では呼吸不全をきたさない程度の COPD 患者が標高 2500m 前後の高地において健常者以上に高度の呼吸不全をきたすという報告<sup>(1)</sup>や COPD 患者の航空機利用中の動脈血酸素飽和度( $SpO_2$ )の事前評価のための Hypoxic inhalation test (HIT) として  $FiO_2=0.15$  で検討し

た報告<sup>(2)</sup>を参考に実験計画を立てている(図 1)。



(図 1) 機内では 2500m 程度の高地と同様の気圧に調整されており酸素分圧は 108torr となる。これは大気圧下での  $FiO_2=0.15$  に相当する。機内での  $SpO_2$  は  $86.4 \pm 4\%$  で推移し、歩行するとさらに  $78 \pm 6\%$  に低下する。HIT(大気圧下、 $FiO_2=0.15$ )では  $84 \pm 4\%$  となり機内での状況をよく反映していることが確認された。負荷中に有害事象は確認されなかった。

COPD の罹患および死亡を減少させるためには禁煙が最も有効であり、しかもその禁煙による効果は若年者であるほど大きいことも知られている<sup>(3)</sup>。本研究によって自覚症状の乏しい喫煙者あるいは軽症の COPD 患者が健常者よりも低酸素負荷に対して反応性が大きいことが判明すれば、その患者群に対して現時点で唯一 COPD に対する予後改善効果をもつ"禁煙"への強い動機付けになり得ることが予想され、また必要に応じて長時間作用型抗コリン薬吸入療法などによる積極的かつ重点的な早期介入が可能となり、医療資源の効率化も可能となると考えられる。また、機能的診断である COPD の形成機序、病型分類へも重要な研究となる。

## 対象と方法

### <対象>

正常対照群として非喫煙者の男性約 30 名程度。正常喫煙群として無症状で COPD の定義を満たさない喫煙男性約 30 名程度。COPD 患者群として GOLD の Stage I (軽症) または Stage II (中等症) の患者約 50 名程度。いずれも過去に航空機での移動を経験し体調変化がなかった成人とする。

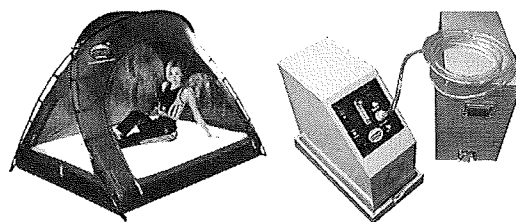
今回の検討では安全面を考慮して GOLD の Stage III (重症) および Stage IV (最重症) の患者は対象外とする。

また、同意を得たすべての被検者は心肺機能に関して十分な医療面接を行い、事前に肺機能検査・心電図検査などで検査に支障がないことを確認する。なお、正常対照群および正常喫煙群に対しての検査費用として必要なら呼吸器内科委任経理金を使用する予定である

### <方法>

低酸素発生器により実験スペースに定常的な低酸素環境を作り出し、低酸素負荷時の生体反応を鋭敏にとらえ検討する。低酸素負荷には低酸素テントによる方法を用いる。本研究に用いるテント (Hypoxic Tent System) および低酸素発生器 (HYPOXIC GENERATOR) はスポーツ選手の高地トレーニング用として開発された携帯用高度シミュレーション・システムであり機器の安全性は問題ないと考えられる(図 2)。

本低酸素発生器はテント内の酸素濃度を 21% から 15% 程度まで自由に設定できる (ちなみに  $FiO_2=14.5\%$  は約 2800m の高山に相当する酸素濃度である)。経皮的動脈血酸素飽和度 ( $SpO_2$ ) の測定には連続記録が可能なパルスオキシメーターを使用し解析用コンピューターで解析する。



(図 2) 左は実際の低酸素テント (Hypoxic Tent System) で、右が低酸素発生器 (HYPOXIC GENERATOR) である。テント内の酸素分圧が定常状態になるのに約 1 時間かかる。

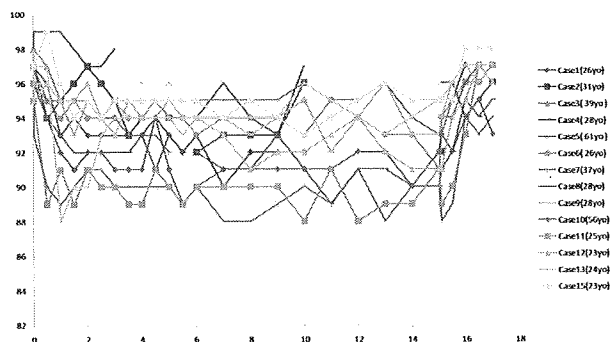
本 具体的には、被検者の定常状態の  $SpO_2$ , Pulse rate を前値として測定後、 $FiO_2=0.15$  に調整した低酸素テント内に 15 分間入って安静座位の姿勢で  $SpO_2$ , Pulse rate 等を連続測定する。15 分後に速やかにテント外に出て、各パラメーターが検査前値に戻ったところで終了する。本研究は動脈血ガス分析ではなく  $SpO_2$  で評価するため換気量が一定であることを確認するため呼気終末炭酸ガス濃度 ( $ET\text{-}CO_2$ ) も同時測定する。検査中に呼吸困難、頭痛、吐き気など高山病様の症状が出現する兆候が現れるとき、本人の意思で検査を中止したいときなどなすぐに中断し、テント外に出る。必要に応じて酸素吸入も行う。得られたデータを統計学的に処理し、健常者はそれほど低酸素血症にならないが COPD 患者は容易に呼吸不全をきたし得るかどうか、またその程度は GOLD 分類の重症度と相関し得るかどうか検討する。可能であれば、肺機能上は正常範囲であっても低酸素負荷をかけることによって著しい呼吸不全をきたす一群を見出し、将来的に COPD を発症しうるかどうか追跡調査もしたいがそれは別途研究計画を立てる予定である。テント内で安静では明らかな差異が検出されない場合には、エルゴメーターを用いた運動負荷をかけて、同様の実験を繰り返すことも検討する。

## 結果

### 1. 喫煙の有無と潜在的呼吸不全の関係

非喫煙健常者 12 名 (年齢 26~39 歳、平均 30.3 歳) および既喫煙者 2 名 (年齢 56~61 歳、平均 58.5 歳) で測定を行った段階での中間報告とする。全例男性で、喫煙指数は後者で  $205 \pm 5$  であった。試験開始時の  $SpO_2$  は非喫煙健常者 97.1% に対して既喫煙者では 94.5% と若干低下傾向を認めていた。肺機能検査では、予測肺活量 (%VC) は非喫煙健常者  $118.2 \pm 4.2\%$ 、既喫煙者 77.5% さらに、一秒率は非喫煙健常者  $85.8 \pm 4.4\%$ 、既喫煙者 52.4% と後者で肺機能低下を認めていた。

低酸素テント環境において非喫煙健常者と既喫煙者を  $SpO_2$  の連続測定によるデータから鑑別できる可能性のあるパラメーターとして、①最低  $SpO_2$  値 (%)、②最低  $SpO_2$  値までの到達時間 (%)、③入室直後の  $SpO_2$  低下速度 (%/分) の 3 点に関して解析を行った。非喫煙健常者において①  $91.0 \pm 0.5\%$ 、②  $9.0 \pm 1.2$  分、③  $2.6 \pm 0.7\%/分$  であったのに対して、既喫煙者では①  $88.5 \pm 0.5\%$ 、②  $6.5 \pm 0.5$  分、③  $7.7 \pm 4.3\%/分$  と、後者の方がより容易に呼吸不全に陥りやすい傾向があることが示唆された (図 3)。

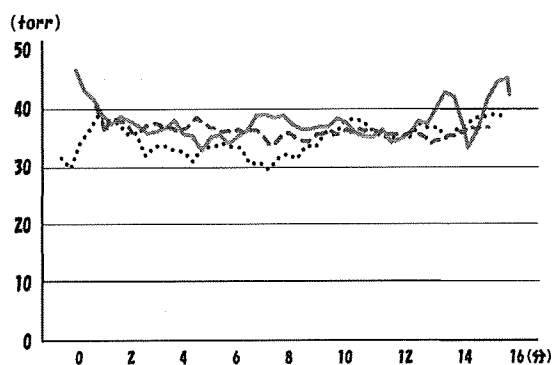


(図 3) 非喫煙者 12 名、既喫煙者 2 名を含む全例の測定結果。既喫煙者である Case 5 および Case 10 は、非喫煙者より容易に低酸素

血症に陥りやすい傾向があることが示唆された。

### 2. 低酸素テント下における低酸素換気応答の影響

低酸素テントに入っている間に換気量が一定であることを確認するため、呼気終末炭酸ガス濃度 (ET- $CO_2$ ) を同時測定した。非喫煙健常者 3 例における検討では ET- $CO_2$  値に有意な変動は確認されなかった (図 4)。また、呼吸困難、頭痛、意識障害などの低酸素負荷による有害象は認めなかった。

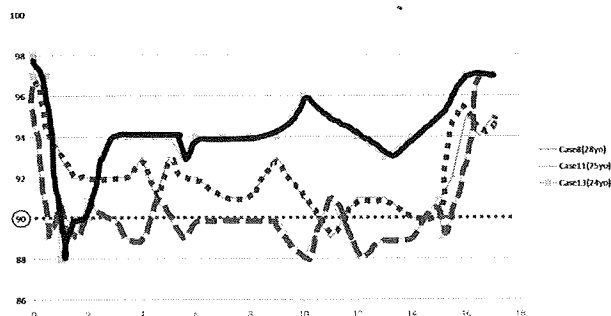


(図 4) 非喫煙健常者 3 例における呼気終末炭酸ガス濃度 (ET- $CO_2$ ) の推移。試験中では ET- $CO_2$  に有意な変化は認めなかった。今回の程度の低酸素負荷では低酸素換気応答の影響は限定的と考えられる。

### 3. 非喫煙健常者で潜在的呼吸不全をきたした症例の検討

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  $SpO_2$  値は 2 例で 88%、1 例で 89% であった。最低  $SpO_2$  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  $SpO_2$  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 5) 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。

### 考案

今回の検討対象は、非喫煙健常者 12 名、既喫煙者 2 名であり、統計学的な考察をするにはまだまだ例数が足りない。本研究は被検者を低酸素テント下 ( $FiO_2=0.15$ ) の環境に 15 分間入ってもらうという点からは、安全性に対する十分な配慮が必要となっている。本研究を立案するにあたっては、この程度の低酸素環境は一般旅客機での機内の酸素濃度と同等であることから、被検者の条件として過去に航空機での移動を経験したことがあかつ体調変化がなかった成人としている。また COPD 患者では安全面を考慮して GOLD の Stage III (重症) および Stage IV (最重症) の患者は対象外としている。また、同意を得たすべての被検者は心肺機能に関して十分な医療面接を行い、事前に肺機能検査・心電図検査などで検査に支障がないことを確認するなど十分な配慮をしている。それにもかかわらず不測の事態が生じないとも限らないため、まずは若年成人で非喫煙健常者での症例を数多く検討しておく必要がある。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  $SpO_2$  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  $SpO_2$  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  $SpO_2$  値 (%)、②最低  $SpO_2$  値までの到達時間 (%)、③入室直後の  $SpO_2$  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  $SpO_2$  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。前述した重症 COPD 患者が航空機利用の前に行う Hypoxic inhalation test に関する報告<sup>(2)</sup>によると、 $FiO_2=0.15$  での検査中の動脈血炭酸ガス濃度 ( $PaCO_2$ ) に有意な変動はなかった。しかしながら、本研究においては健常者および軽症 COPD を対象としており、低酸素に対する換気応答が検査結果に影響を及ぼす可能性は否定できない。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 ( $ET-CO_2$ ) の推移からは  $ET-CO_2$  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  $SpO_2$  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 SpO<sub>2</sub> 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関しては不明な点が多い。非常に興味深い症例報告がある<sup>(4)</sup>。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<sub>1.0</sub>) 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しうる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。

## 結論

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。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたってご協力いただいたボランティアの方々に深謝申し上げます。

## 参考文献

- (1) A.M. Luks and E.R. Swenson. *Eur Respir J*, 29: 770-792, 2007
- (2) P.T. Kelly, M.P. Swanney, L.M. Seccombe et al, *Chest*, 133(4): 920-926, 2007
- (3) R. Doll, R. Peto, J. Boreham et al. *BMJ*,

328: 1519-1528, 2004.

(4) 見元 達朗他、日胸疾会誌 29(7), 893-899,  
1991.

# 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

日本大学医学部睡眠学<sup>1</sup>、呼吸器内科<sup>2</sup>

赤柴恒人<sup>1,2</sup>、赤星俊樹<sup>2</sup>、永岡賢一<sup>2</sup>、植松昭仁<sup>2</sup>、野村奈津子<sup>2</sup>、清藤晃司<sup>2</sup>、岡本直樹<sup>2</sup>、伊芸孔明<sup>2</sup>、  
桂 一仁<sup>2</sup>、橋本 修<sup>2</sup>

## はじめに

閉塞型睡眠時無呼吸症候群(obstructive sleep apnea syndrome: OSAS)は、睡眠時の上気道の閉塞により無呼吸を惹起し著しい低酸素血症と睡眠障害を呈する病態である<sup>1)</sup>。近年、このOSAS患者にmetabolic syndrome (MetS)<sup>2)</sup>の合併が多いことが報告されており<sup>3)4)</sup>、両者の直接的な関連が示唆されている。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り、インスリン抵抗性、脂質異常、高血圧をもたらし、将来的には予後を左右する<sup>5)6)</sup>。OSASもまたその発症に肥満が大きく関与し、患者の多くは肥満を伴っている。従って、両者の合併する頻度は高くなると考えられる。事実、欧米からの報告では、OSAS患者の約87%にMetSの合併を認めたと報告されている<sup>3)</sup>。一方、わが国においては、一般的に欧米人に比し肥満度は低いと考えられており、実際、重症OSAS患者でも1/4は非肥満者であることが報告されている<sup>7)</sup>。しかし、前年度のわれわれの検討<sup>8)</sup>では、非肥満のOSAS例においても、MetSとの合併頻度は一般人に比し高いことが認められ、OSASが肥満とは独立してMetSのリスクファクターとなっている可能性が考えられる。

MetSの基本的病態は内臓脂肪の蓄積と考えられており、直接的な内臓脂肪面積(visceral fat accumulation: VSA)の測定は、MetSの発症の解明に大きく関わると考えられる。そこで、今回、われわれは重症OSAS例の中で非肥満例を抽出してその内臓脂肪面積を測定し、これとOSASの重症度、MetSとの関連について検討した。

## 対象と方法

対象は、夜間睡眠検査(polysomnography: PSG)によりOSASと確定診断された症例のうち、body mass index (BMI) <25 Kg/m<sup>2</sup>の非肥満例10例である。全例男性で平均年齢は58.4 ± 13.7歳であった。PSGは、標準的な方法で行ない、脳波、眼電図、筋電図の他、口・鼻の流速、胸腹部の呼吸運動、心電図、体位、パルスオキシメーターによる酸素飽和度(SpO<sub>2</sub>)を睡眠時に連続的に測定した。これらの結果から、無呼吸低呼吸指数(apnea-hypopnea index: AHI)、覚醒指数(arousal index)、平均酸素飽和度(mean SpO<sub>2</sub>)、最低酸素飽和度(lowest SpO<sub>2</sub>)を算出し、AHI > 15/時をOSASと診断した。臍部のレベルで腹部CTを行い、標準的な方法により、内臓脂肪面積と皮下脂肪面積を測定した。

早朝空腹時に採血を行ない、一般臨床検査により、総コレステロール値、HDLコレステロール値、中性脂肪値、空腹時血糖値、HbA1c、インスリン値を測定した。同時に血圧を測定し、130 / 85 mmHg以上を高血圧ありとした。

## 結果

対象の背景とPSGの結果を表1に示す。平均BMIは23.6 ± 0.9 Kg/m<sup>2</sup>、平均腹囲径は85.3 ± 4.6 cmであった。PSGの結果では、平均AHIは34.2 ± 17.6、最低SpO<sub>2</sub>は78.5%と重症例が多かった。図1に腹部CTの一例を示す。64歳の非肥満の重症OSAS例であるが、VSAは206 cm<sup>2</sup>と高値を示している。全体の結果は、表2に示すように平均VFAが126.6 ± 38.3 cm<sup>2</sup>とSFAの117.1 ± 21.1 cm<sup>2</sup>を上回っていた。



血圧の平均は 132.4/73.8 mmHg あったが、血液検査では、HDL コレステロールと空腹時血糖の上昇が認められた。

図 2 に VFA と AHI の相関を示したが、図に示すように両者は有意な正相関を示した( $r=0.646$ ,  $P<0.05$ )。しかし、VFA と SFA の比(VFA/SFA) は AHI と関連を認めなかった。また、覚醒指数も AHI と同様の関連を認めた(図 3)。VFA と低酸素状態を示す指標との関連では、図 4 に示す

ように、平均 SpO<sub>2</sub>、最低 SpO<sub>2</sub>、90%以下を示した時間のいずれとも有意の関連を認めなかった。

MetS を構成する 3 要素について検討すると、高血圧は 10 例中 7 例、脂質異常は 7 例、高血糖は 3 例に認められた。3 要素のうち少なくとも 2 要素以上に異常が認められたのは 6 例であった。

表1 対象の背景と睡眠検査の結果

Case	10 (M:10, F:0)
Age (year)	58.4 ± 13.7
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.6 ± 0.9
Waist (cm)	85.8 ± 4.6
AHI (events/h)	34.2 ± 17.6
Arousal Index (events/h)	36.8 ± 15.5
mean SpO <sub>2</sub> (%)	96.1 ± 1.3
lowest SpO <sub>2</sub> (%)	78.5 ± 7.4

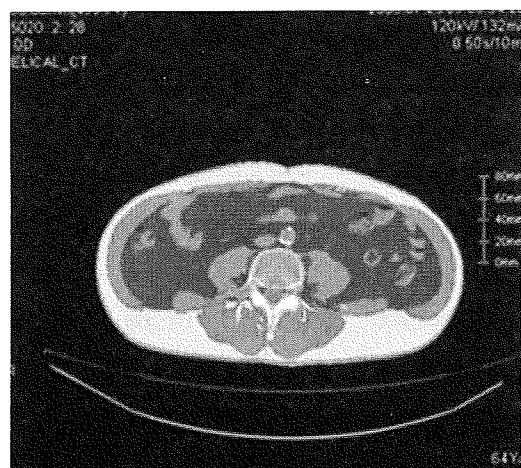
表2 腹部CTと血液検査結果

The areas of VFA (cm <sup>2</sup> )	126.6 ± 38.3
The areas of SFA (cm <sup>2</sup> )	117.1 ± 21.1
Visceral/subcutaneous fat ratio	1.13 ± 0.45
Systolic BP (mmHg)	132.4 ± 12.5
Diastolic BP (mmHg)	73.8 ± 8.5
HDL-Chol (mg/dl)	53.5 ± 12.2
TG (mg/dl)	148.5 ± 68.7
fasting plasma glucose (mg/dl)	116.4 ± 40.5

#VFA : Visceral fat accumulation  
#SFA : Subcutaneous fat accumulation

図1 症例

CT scan  
(at the level of the umbilicus)



Age 64 yrs  
BMI 23.5 kg/m<sup>2</sup>  
Waist 81.0cm  
AHI 48.5/h  
Arousal index 53.6/h  
mean SpO<sub>2</sub> 95%  
lowest SpO<sub>2</sub> 77%

■ Visceral fat accumulation 206.5cm<sup>2</sup>  
□ Subcutaneous fat accumulation 131.0cm<sup>2</sup>

図2 内臓脂肪面積とAHIの相関

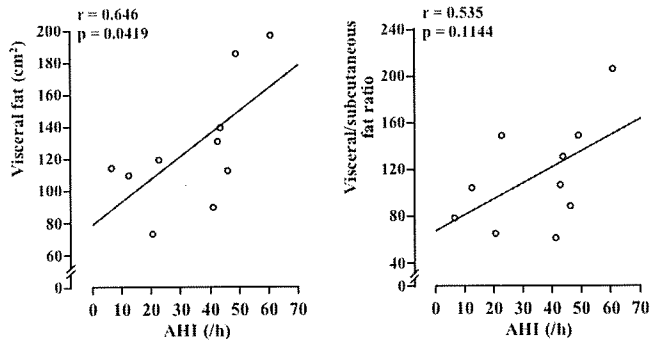


図4 内臓脂肪と低酸素の指標との相関

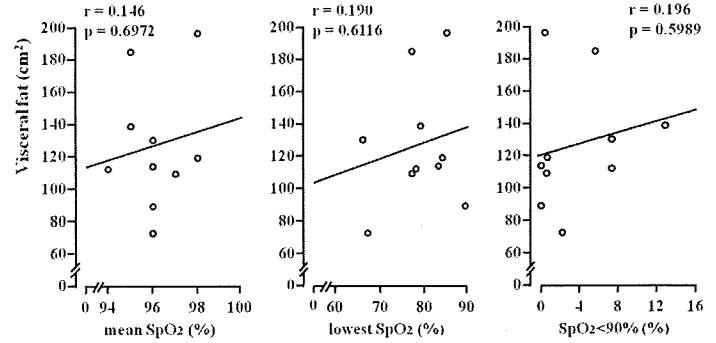
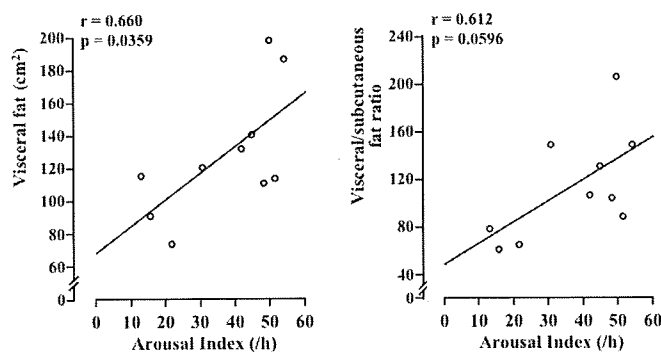


図3 内臓脂肪面積とArousal indexとの相関



### 考案

近年、肥満にもとづくインスリン抵抗性を基盤とした MetS が将来的に大きな健康被害をもたらす可能性が指摘され注目を集めつつある<sup>2)</sup>。また、OSAS に関して、近年わが国で極めて高い罹患率が報告<sup>9)</sup>されており早期の診断治療の重要性が強調されている。OSAS 患者に肥満例が多く、肥満が OSAS の最大リスクファクターの一つであることは周知の事実である。従って、OSAS 患者には MetS が高頻度で見られると考えられる。実際、欧州からの報告では、OSAS 患者の 87% に MetS の合併が認められたと報告されている<sup>2)</sup>。我が国の多数例の OSAS 例での MetS の合併を検討した報告<sup>4)</sup>では、700 例以上の検討で 49% に合併がみられたと報告されている。われわれも、前年度の班研究において、416 名の OSAS 例中 213 例 (53.9%) に MetS の合併を認め、一般健常者の 23.4% に比

し明らかに高いことを報告している<sup>8)</sup>。以上の様に、肥満患者に MetS 合併例が多いのは当然と考えられるが、最近では、肥満とは無関係に OSAS 自体がインスリン抵抗性など代謝機能障害を引き起こすことが明らかになっている<sup>10)</sup>。

米国で行なわれている大規模臨床研究である Sleep Heart Health Study (SHHS)<sup>11)</sup>では、多数の一般人を対象として睡眠検査を行ない、AHI と耐糖能との関連を検討したところ、 $5 < \text{AHI} < 15$  の軽症 SAS 群は  $\text{AHI} < 5$  の健常者に比し、有意に高い耐糖能異常が認められた。この研究では、対象の性別、年齢、肥満度は一致させてあるため、この差は SAS 自体によるものと考えられた。別の大規模研究<sup>12)</sup>でも、 $\text{AHI} > 15$  の SAS 例は  $\text{AHI} < 5$  の健常者に比し糖尿病の発症が 2.3 倍であったと報告している。これらの研究からは、OSAS が肥満とは独立してインスリン抵抗性などの代謝機能障害をもたらす可能性が考えられる。そこで、今回我々は、重症な OSAS 例のうち非肥満例に着目して、検討を行った。肥満は一般的に BMI によって規定されるが、我々は腹部 CT により内臓脂肪面積(VFA)と皮下脂肪面積(SFA)を求め、VFA をもって真の肥満の指標として OSAS との関連を検討した。その結果、図 1 に示すように、BMI 上非肥満ながら内臓肥満の基準である  $100 \text{ cm}^2 < \text{VFA}$  を大きく上回る症例が認められた。Vgontzas ら<sup>13)</sup>は、肥満 OSAS 患者と、無呼吸のない肥満コン

トロールの腹部 CT を測定して、我々と同様に脂肪面積を算出し、総脂肪面積と SFA は両者間で差がなかったが、VFA は OSAS 群で有意に大きいことを認めた。BMI は、総脂肪面積と SFA と有意に相関したが VFA とは相関しなかった。VFA は AHI( $r=0.70, p<0.01$ )と最低 SpO<sub>2</sub>( $r=0.6, p<0.01$ )と強く相関したと報告している。肥満症例における VFA の検討は以前にも報告されており、OSAS 患者が有意に肥満コントロールより大きいとされている<sup>14)15)</sup>。しかし、非肥満例を対象とした検討は報告されていない。我々の検討は 10 例と対象が少数ではあるが、非肥満例においても VFA の明らかな増大を認め、かつ、図 2,3 に示すように VFA が AHI, arousal index と有意に相関したことは注目に値すると思われる。しかし、図 4 に示すように、VFA は、間欠的低酸素の指標である平均 SpO<sub>2</sub>、最低 SpO<sub>2</sub>、総睡眠時間に対する SpO<sub>2</sub><90%の時間などとは有意な相関を認めなかった。AHI だけでなく arousal index が VFA と有意に相関したのは、睡眠障害が MetS に関連する可能性を示唆しているのかもしれない。睡眠障害に関しての詳細な検討は未だ行なっていないが、非肥満例では間欠的低酸素より睡眠障害の方が MetS の発症に大きな役割を果たしている可能性は否定できない。睡眠障害に起因する過眠症状が高血圧や代謝障害など MetS の構成要素に関連するとする報告もあり、睡眠の障害との関連の検討が必要と考えられる。

非肥満例においても、OSAS 患者の 60%は、MetS の 3 要素のうち 2 項目を満たしていた。従って、肥満がなくとも、OSAS 患者では、MetS の存在を考慮し適切なケアを行なっていく必要があると考えられる。

## 結論

非肥満 OSAS 男性の内臓脂肪面積(VFA)は増大しており、睡眠中の無呼吸の程度(AHI)と覚醒指数

と有意に相関した。しかし、間欠的な低酸素の指標とは関連を認めなかった。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。

## 参考文献

- 1) White DP. Pathogenesis of obstructive and central sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med*:2005 ;172:1363-1370
- 2) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome: a new world-wide definition: a consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006;23: 469-480
- 3) Coughlin SR, Mawdsley L, Mugarza JA, et al. Obstructive sleep apnoea is independently associated with an increased prevalence of metabolic syndrome, *Eur Hear J* 2004; 25: 735-741
- 4) Sasanabe R, Banno K, Otake K, et al. Metabolic syndrome in Japanese patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Hypertens Res* 2006; 29: 315-322
- 5) Ford ES, Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005; 28: 1769-1778
- 6) Sundstom J, Riserus U, Byberg I, et al. Clinical value of the metabolic syndrome for long term prediction of total and cardiovascular mortality: prospective, population based cohort study .*BMJ* 2006; 332: 878-882
- 7) 佐藤誠。日本人睡眠時無呼吸症候群。山城義

広、井上雄一 (編) 睡眠呼吸障害 Up-date  
日本臨床社 東京 2002 pp101-107

8) 赤柴恒人他。閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (OSA) における Metabolic syndrome (MS) の合併とその検討。厚生労働科学研究補助金。呼吸不全に関する調査研究。平成 20 年度研究報告書 2009

9) Nakayama-Ashida Y, Takegami M, Chin K, et al. Sleep-disordered breathing in the usual lifestyle setting as detected with home monitoring in a population of working men in Japan. *Sleep* 2008; 31: 419-425

10) Levy P, Bonsignore MR, Eckel J. Sleep, sleep-disordered breathing and metabolic consequences. *Eur Respir J* 2009; 34: 243-260

11) Punjabi NM, Shahar E, Redline S, et al. Sleep-disordered breathing, glucose intolerance, and insulin resistance: The Sleep Heart Health Study. *Am J Epidemiol* 2004; 160: 521-530

12) Reichmuth KJ, Austin D, Skatrud JB, et al. Association of sleep apnea and type II diabetes: a population-based study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 172: 1590-1595

13) Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, et al. Sleep apnea and daytime sleepiness and fatigue: relation to visceral obesity, insulin resistance, and hypercytokinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1151-1158

14) Shinohara E, Kihara S, Yamashita M, et al. Visceral fat accumulation as an important risk factor obstructive sleep apnea syndrome in obese subjects. *J Int Med* 1997; 241: 11-18

15) Schafer, Pauleit D, Sudhop T, et al. Body fat distribution, serum leptin and cardiovascular risk factors in men with

obstructive sleep apnea. *Chest* 2002; 122: 829-839