

厚生労働科学研究補助金（循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業）  
分担総合研究報告書

1. 閉塞性睡眠時無呼吸症候群における血漿バイオマーカーの検討

**研究分担者** 櫻井 滋 岩手医科大学医学部睡眠医療学科 准教授  
**共同研究者** 西島 嗣生 岩手医科大学医学部睡眠医療学科 講師  
細川 敬輔 岩手医科大学医学部睡眠医療学科 助教

**研究要旨**

閉塞性睡眠時無呼吸症候群(OSAS)は、メタボリックシンドロームを伴う代表疾患であり、その発症要因として肥満あるいは脂肪細胞由来蛋白の関与が報告されている。それに加えて糖尿病等の代謝性疾患、全身性炎症の関連が報告されている。当施設では、閉塞性睡眠時無呼吸症候群患者の血漿を用い、初年度に摂食抑制性物質である nesfatin-1、次年度に抗炎症作用を有すると考えられている vaspin、最終年度にメタボリックシンドローム発症に関連し、OSAS に見られる性腺機能障害にも関与する kisspeptin の各濃度について検討した。

OSAS (n=49:男性 38 名、女性 11 名)における血漿 nesfatin-1 濃度は、PSG で得られた睡眠関連指標との間に一定の関係を認めず、AHI 20 と AHI<20 を基準とした重症度による群間比較でも有意な濃度差を認めなかった。また、男女別に検討した結果、女性群においてのみ血漿 nesfatin-1 と無呼吸指数の間に正の相関関係が得られた ( $p<0.05$ )。

OSAS 群 (n=69) と non-OSAS 群 (n=8) における血漿 vaspin 濃度は、OSAS 群において有意に高値であった ( $p<0.0001$ )。OSAS 群における血漿 vaspin 濃度と PSG から得られた睡眠指標を比較検討すると AHI ( $p<0.0001$ )、arousal index ( $p<0.0001$ )、desaturation index ( $p=0.0025$ ) との間に正の相関を認めた。さらに、AHI 30 と AHI<30 に群別すると重症例において血漿 vaspin 濃度が有意に高値であった ( $p<0.0001$ )。nCPAP 治療前後における血漿 vaspin 濃度比較では治療後の血漿 vaspin 濃度が有意に低下していた ( $p<0.05$ )。

OSAS 群 (男性 122 名、女性 27 名) および睡眠障害のない健常者群 (男性 7 名、女性 7 名) の血漿 kisspeptin 濃度は男女ともに健常者と比べて低値であり、さらに総睡眠時間に占める徐波睡眠の割合 (% stage N3) との間に有意な相関関係を認め

た ( $<0.005$ )。

OSAS におけるメタボリックシンドロームの発症や視床下部下垂体機能調節に関連する蛋白群、すなわち血漿中の nesfatin-1、vaspin、kisspeptin に関する検討を行った。

血漿 nesfatin-1 濃度と OSAS との関連は明らかでなかったが、血漿 vaspin 濃度については、肥満の要素を除外しても呼吸障害、睡眠障害の重症度が高い群で高値を示し、肥満とは独立して重症度依存性に変化する可能性が示唆された。また、OSAS におけるメタボリックシンドローム発症や性欲減退に関連する血漿 kisspeptin 濃度に関する検討では、重症 OSAS に伴う睡眠障害が kisspeptin 分泌の抑制を介して、性腺機能障害の発症に影響を及ぼす可能性が示唆された。

## A. 研究目的

閉塞性睡眠時無呼吸症候群 (Obstructive sleep apnea hypopnea syndrome : OSAS) は睡眠中に繰り返し生じる上気道閉塞により、呼吸気流の減弱や停止を来し、全身の低酸素状態を惹き起こすとともに、呼吸努力に伴う覚醒反応が生じ、深刻な睡眠障害の原因となる疾患である [1]。また、睡眠中の低酸素状態が内分泌・代謝系に影響を及ぼし、その結果、高血圧 [2,3]、糖尿病 [4,5] や脂質代謝異常症を合併する。統計的にも高血圧、糖尿病、心血管疾患等により、生存期間が短縮することが報告されている [6]。

さらに、OSAS と肥満の間には密接な関連があり、BMI 30 以上の肥満者では一般成人では 2-4% とされる OSAS の罹患率を 20-40% に増加させると報告されている [7]。また、肥満による内臓脂肪量の増加は、insulin 抵抗性の増加 [8]、交感神経活

性の亢進 [9]、アディポカイン (adipokine) などの前炎症性物質 (pro-inflammatory agent) の増加を介した全身性の炎症 [10]、耐糖能障害 [8]、凝固系異常を惹起し、心血管系合併症の発症に関与する [11]。さらに、内臓脂肪が多いと OSAS になりやすく、経鼻的持続気道陽圧 (nasal continuous positive airway pressure : nCPAP) による OSAS の治療後には、内臓脂肪の減少が報告されている [12]。

また、ED を代表とする性欲減退も生活習慣病と関連があり、メタボリックシンドロームや糖尿病が原因になる。そして OSAS は中年層に最も多くみられるメタボリックシンドロームの代表疾患で、下垂体性腺機能障害と関係し、LH、total testosterone の低下が起こる [13]。さらに治療の第一選択である nCPAP 療法 [14, 15] および UPP [16] を行うことで LH、total testosterone の増加が認められる症例

があると報告されている。

今回の一連の検討では、初年度に OSAS の摂食行動や内分泌・代謝異常との関連を明らかにする一助として、最近発見された摂食や代謝調節に関与すると考えられている視床下部室傍核由来の神経ペプチドである nesfatin-1 を、次年度に内臓脂肪より分泌され、抗炎症作用を発揮する可能性が示唆されている vaspin を、最終年度にメタボリックシンドロームを基盤として発症すると言われている性腺機能障害に関する kisspeptin を OSAS 患者の血漿を検体として測定した。

## B. 研究方法

### 対象

家族等による睡眠中の無呼吸や強いいびきの指摘、日中の傾眠傾向などの自覚症状のため、岩手医科大学睡眠医療科を受診し、終夜睡眠ポリグラフ (polysomnograph : PSG) 検査を受けた患者を対象とした。入院検査で得られた成績を科学研究に用いることに関して、入院時に対象者全員に対して説明し、文書による同意を得るとともに、研究データおよび病歴等は非公開の認識番号を用いて管理し、第三者には個人の特定ができないよう留意して管理保存した。岩手医科大学の倫理委員会の承認を得て研究を実施した。

初年度の nesfatin-1 の検討では、PSG で OSAS と診断された 49 名 (男性 : 38 名、女性 : 11 名) を対象とした。

次年度の vaspin の検討では、PSG で OSAS と確定診断された 69 名を対象とした。対象

のうち 8 名には治療後の血漿濃度も合わせて測定した。

最終年度の kisspeptin では、OSAS と診断された男性 122 名、および健常者 7 名と女性 OSAS 患者 27 名と女性健常者 7 名を対象とした。

### 睡眠検査

脳波 (4 channel、以下 ( ) 内の数値は channel 数を表す) 心電図 (1)、胸壁運動 (1) と腹壁運動 (1)、サーミスターセンサーによる鼻口気流 (1)、パルスオキシメーターによる動脈血酸素飽和度 (1) と脈拍数 (1)、頤筋電図 (1)、下肢筋電図 (1)、気管音 (1) の 10 項目 (全 13) を終夜睡眠ポリグラフ装置 (SomnoStar- $\alpha$ 、SensorMedics 社製) を用いて記録した。全ての睡眠検査は岩手医科大学付属病院の空調装置を備えた専用検査室で行った。PSG 開始を 20 時、終了を 6 時とし、検査条件を可能な限り一定とし、American Association of Sleep Medicine (AASM) の実施基準に準じて行った [17]。測定結果の解析は専用コンピューターに蓄積したデータを解析用ディスプレイ上に再生し、臨床検査技師と医師が Rechtschaffen and Kales の方法で目視的に解析し、結果を得た。

### 血液検体の採取

血液検体は、睡眠検査の終了時 (早朝空腹時) に肘静脈から ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) 入り真空採血管を用いて採取し、4 °C、3000 回転で 15 分間遠心して血漿を分離した後、測定まで 60 分で凍結保存した。

## 各タンパクの測定方法

各タンパクの測定はそれぞれ nesfatin-1 ELISA Kit (Phoenix 社製 EK-003-26)、VASPIN (human) ELISA Kit (AdipoGen 社製、Incheon Korea Cat. No. AD-45A-0017TP-KI01)を用い、ELISA 法で測定した。

血漿 kisspeptin は Kisspeptin-1-Amide/Metastatin-Amide(Human) RIA KIT (Phoenix Laboratories, Inc., Athens-Greece) を用い測定した。

## C. 研究結果

Nesfatin-1

### 血漿 nesfatin-1 濃度と群間比較

PSG を施行した 49 名(男性:38 名、女性:11 名) Table 1 のうち、AHI 20 と判定されたものは 37 名(男性:30 名、女性:7 名) Table 2 であった。AHI<20 の 12 名(男性:8 名、女性:4 名)を比較した。

Table 1  
Characteristics of Subject

	Total	Male	Female	M:F
n	49	38	11	
Age	50.1±2.2	49.3±2.4	52.8±5.6	ns
BMI	27.5±1.0	27.9±1.0	26.1±2.7	ns
ESS	11.9±0.9	12.6±0.9	9.5±2.3	ns
TST	430.3±10.9	433.6±11.8	419.0±26.8	ns
%Stage N1	24.7±3.0	22.1±2.8	33.5±9.2	ns
%Stage N2	58.5±3.0	60.4±3.1	51.9±8.1	ns
%Stage N3	2.2±0.6	1.8±0.4	3.4±2.1	ns
%Stage REM	14.5±1.0	15.4±1.2	11.2±1.8	ns
AHI	48.9±4.9	48.7±4.5	49.6±15.7	ns
Arousal index	45.5±4.0	45.7±3.8	45.0±12.5	ns
Nesfatin-1 (ng/ml)	10.0±0.8	10.3±1.0	9.0±1.4	ns

Table 2  
Characteristics of Subject (AHI≥20)

	Total	Male	Female	M:F
n	37	30	7	
Age	51.9±2.4	50.6±2.4	57.3±7.0	ns
BMI	29.7±1.1	29.8±1.0	29.3±3.7	ns
ESS	12.2±0.9	12.9±0.9	9.4±2.9	ns
TST	429.8±13.2	433.5±13.6	414.1±40.3	ns
%Stage N1	27.5±3.8	24.4±3.3	40.8±13.7	ns
%Stage N2	56.9±3.8	58.8±3.8	48.9±12.2	ns
%Stage N3	1.6±0.4	1.6±0.5	1.7±1.1	ns
%Stage REM	14.0±1.2	15.2±1.3	8.6±2.2	0.034
AHI	62.9±4.4	59.9±3.6	76.0±18.1	ns
Arousal index	55.1±4.2	53.3±3.7	63.1±15.9	ns
Nesfatin-1	9.8±1.0	9.9±1.1	9.7±2.1	ns

全ての解析対象 (n=49) における血漿 nesfatin-1 値は最大 33.2 (ng/μL、以下同じ) から最低 2.8 の間に分布し、平均±標準誤差 (mean±SE) は 10.0±0.8 であった。うち全男性 (n=38)、全女性 (n=11) の値はそれぞれ 10.3±1.0、9.0±1.4 であり、統計的有意差を認めなかった (p=0.519) AHI 20 群 (n=37) と AHI 20 未満群 (n=12) の値はそれぞれ 9.8±1.0、10.4±1.5、男性 AHI 20 群 (n=30) と男性 AHI 20 未満群 (n=8) では 9.9±1.1 と 11.8±2.0、女性 AHI 20 群 (n=7) と女性 AHI 20 未満群 (n=4) では 9.7±2.1 と 7.7±0.9 であり、いずれの群間も統計的有意差を認めなかった (p=0.759、p=0.431、p=0.498)。

### 血漿 nesfatin-1 濃度と睡眠指標

解析対象全体および全男性では SAS の重症度にかかわらず、血漿 nesfatin-1 値と各睡眠指標の間に一定の関係はみられず、女性対象群全体において AHI (r=0.606、p=0.05)、BMI (r=0.701、p=0.014) と血漿 nesfatin-1 値の間に有意な正相関を認められた (Fig.1a.1b)。

Fig. 1a  
Relationship between Plasma Nesfatin vs AHI  
(Female)

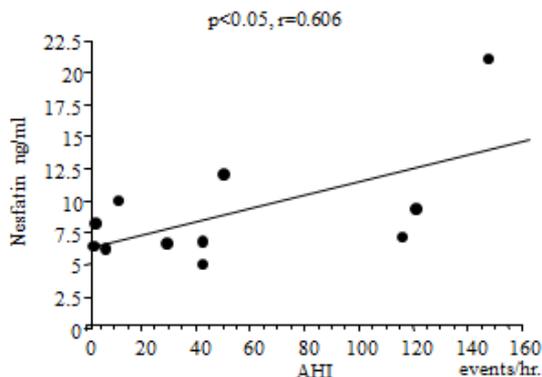
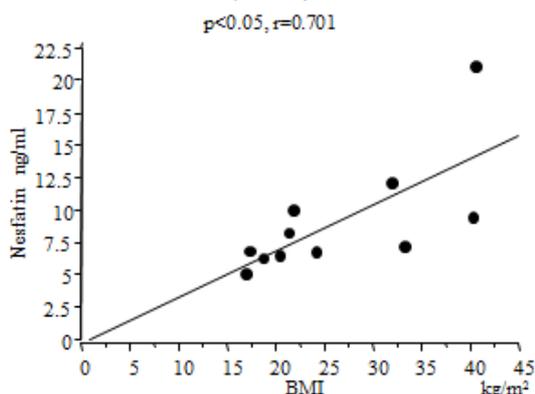


Fig. 1b  
Relationship between Plasma Nesfatin vs BMI  
(Female)



しかし、女性 AHI 20 群では AHI (  $r=0.651$ 、 $p=0.12$  )、arousal index (  $r=0.580$ 、 $p=0.18$  )、BMI (  $r=0.696$ 、 $p=0.08$  ) と有意な関係はみられず、全ての群において総睡眠時間、各%stage などの睡眠指標との間に有意な相関関係を認めなかった。また、男性対象群では全男性、男性 AHI 20 群とともに TST、%stage N1、%stage N2、%stage N3、%stage REM、AHI、arousal index、BMI との間に有意な関係を認めなかった。

なお、本研究で解析から除外した糖尿病

疑い群 (  $n=18$  )  $11.1 \pm 2.0$  と非糖尿病疑い群 (  $n=49$  )  $10.0 \pm 0.8$  の間にも有意差は無く (  $p < 0.54$  )、糖尿病疑い+AHI 20 群 (  $n=18$  )  $11.1 \pm 2.0$ 、非糖尿病疑い+AHI 20 群 (  $n=37$  )  $9.8 \pm 1.0$  でも有意差は見られなかった ( $p < 0.54$ )。

## Vaspin

### 1. 患者背景と PSG 結果および種々の蛋白血漿中濃度との関係

PSG で OSAS と確定診断された 69 名の血漿 vaspin 濃度は、 $0.8 \pm 0.8$  ( ng/mL mean  $\pm$  SEM ) であり、non-OSAS と診断された 8 名の  $0.4 \pm 0.1$  と比較し有意に高値 ( $p < 0.0001$ ) であった ( Table 3 )。血漿 vaspin 濃度と AHI、arousal Index、desaturation Index の間には、それぞれ推計学的に有意 (  $p < 0.0001$ 、 $p < 0.0001$ 、 $p < 0.01$  ) な正の相関関係を認めた ( Fig.2A,B,C )。

Table 3. Background and PSG data of OSAS and non-OSAS patients

	OSAS (n=69)	non-OSAS (n=8)	p-value
Age (year)	$58.2 \pm 13.0$	$51.0 \pm 15.5$	N.S
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$26.9 \pm 4.6$	$24.6 \pm 4.0$	N.S
HbA1c (%)	$5.2 \pm 0.4$	$4.8 \pm 0.3$	N.S
ESS (points)	$9.4 \pm 5.6$	$7.5 \pm 4.6$	N.S
Sleep study			
TST (mins)	$415.4 \pm 87.2$	$429.6 \pm 86.3$	N.S
%stage1	$20.5 \pm 13.6$	$15.7 \pm 8.3$	N.S
%stage2	$58.7 \pm 14.1$	$59.6 \pm 6.7$	N.S
%stage3+4	$4.5 \pm 4.3$	$6.0 \pm 7.3$	N.S
%stageR	$5.1 \pm 7.1$	$12.7 \pm 8.7$	<0.005
AHI (events/hr)	$38.2 \pm 23.7$	$2.3 \pm 1.5$	<0.0001
Ari (events/hr)	$41.1 \pm 21.4$	$13.5 \pm 5.3$	<0.0005
SpO <sub>2</sub> (mean)(%)	$92.3 \pm 3.9$	$94.7 \pm 1.8$	<0.05
SpO <sub>2</sub> (minimum)(%)	$78.5 \pm 11.9$	$91.0 \pm 2.4$	<0.0001
Desat. Index (events/hr)	$31.1 \pm 21.4$	$1.9 \pm 1.0$	<0.0001
Vaspin (ng/mL)	$0.8 \pm 0.8$	$0.4 \pm 0.1$	<0.0001

Data are means  $\pm$  SE

Fig. 2A Association of Plasma Vaspin Concentration with AHI in Patients with OSAS

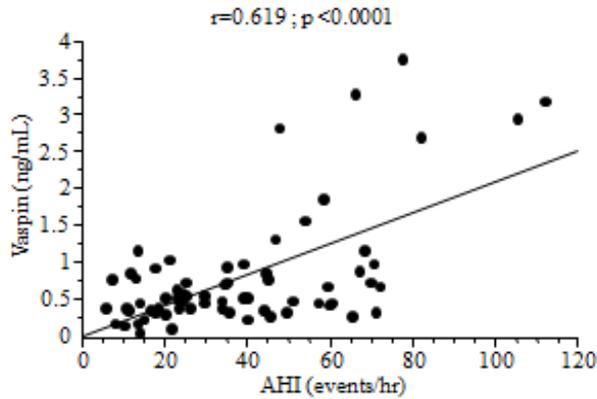


Fig. 2B Association of Plasma Vaspin Concentration with Arousal index in Patients with OSAS

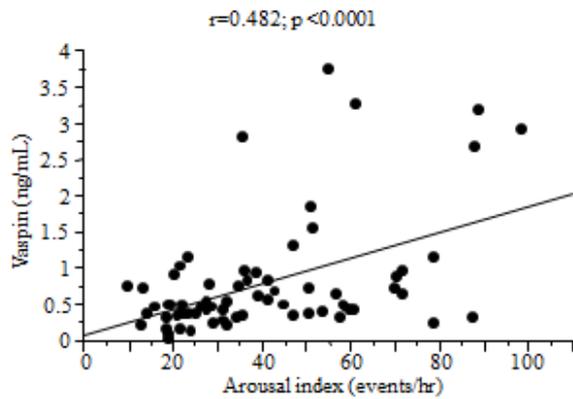
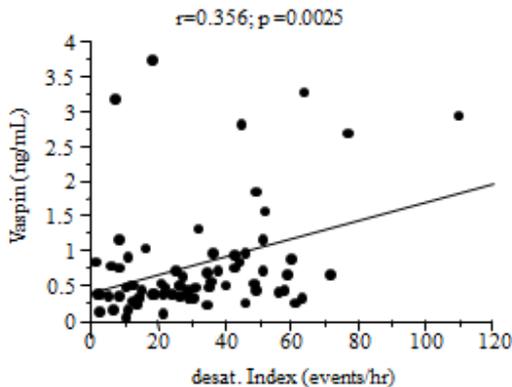


Fig. 2C Association of Plasma Vaspin Concentration with Desaturation Index in Patients with OSAS



## 2. nCPAP 治療後の血漿 vaspin 濃度変化

約 3 か月間 nCPAP 治療を行った OSAS のうち、同意が得られた 8 名 (Table 4) では、治療後の血漿 vaspin 濃度を測定した。治療前の血漿 vaspin 濃度が  $0.6 \pm 0.06$

(ng/mL)であったのに対し、治療後は  $0.4 \pm 0.02$  (ng/mL)であり、統計学的に有意 ( $p=0.025$ ) に低値であった (Fig.3)

Table 4. PSG data before and after nCPAP treatment in 8 patients with OSAS

	Pre treatment	Post treatment	p-value
Sleep study			
TST (mins)	462.3 ± 93.2	477.9 ± 67.8	N.S
%stage1	8.7 ± 3.9	9.5 ± 4.0	N.S
%stage2	73.4 ± 8.7	67.1 ± 5.7	N.S
%stage3+4	3.5 ± 3.6	6.4 ± 3.9	N.S
%stageR	10.6 ± 6.6	17.0 ± 5.9	N.S
AHI (events/hr)	65.7 ± 33.3	2.1 ± 1.4	<0.0001
ArI (events/hr)	56.1 ± 31.1	14.8 ± 8.4	<0.001
SpO <sub>2</sub> (mean)(%)	92.4 ± 1.9	96.6 ± 1.0	<0.005
SpO <sub>2</sub> (minimum)(%)	77.4 ± 5.2	90.1 ± 1.9	<0.0001
Desat.index (events/hr)	43.9 ± 21.8	1.2 ± 0.9	<0.0001
Vaspin (ng/mL)	0.6 ± 0.06	0.4 ± 0.02	0.025

Data are means ± SE

Fig. 3 Plasma Vaspin Concentrations before and after nCPAP treatment

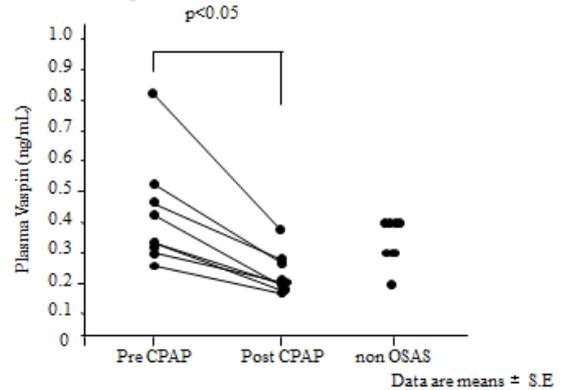


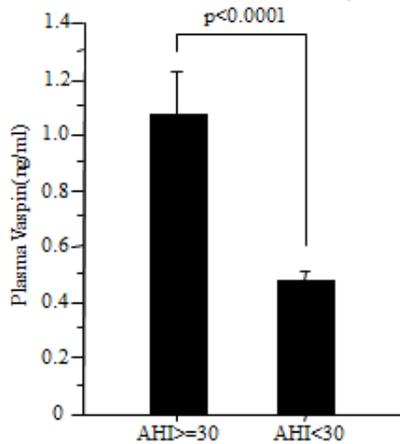
Table 5. OSAS patient background by severity

	OSAS (AHI ≥ 30)	OSAS (AHI < 30)	p-value
n	37	32	
Age (year)	59.9 ± 12.1	56.1 ± 13.8	N.S
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.1 ± 3.8	26.7 ± 5.4	N.S
ESS (points)	9.8 ± 5.8	8.9 ± 5.4	N.S
Sleep study			
TST (mins)	399.0 ± 100.2	434.9 ± 64.9	N.S
%stage1	24.1 ± 16.9	16.2 ± 6.1	<0.0001
%stage2	57.9 ± 17.3	59.7 ± 9.2	N.S
%stage3+4	3.5 ± 4.4	5.5 ± 4.1	N.S
%stageR	6.1 ± 7.3	3.9 ± 6.9	N.S
AHI (events/hr)	55.3 ± 19.0	18.1 ± 6.5	<0.0001
ArI (events/hr)	54.8 ± 19.4	24.9 ± 8.7	<0.0001
SpO <sub>2</sub> (mean)(%)	90.8 ± 4.5	94.0 ± 2.0	<0.0001
SpO <sub>2</sub> (minimum)(%)	72.9 ± 13.4	85.0 ± 4.1	<0.0001
Desat.Index (events/hr)	44.3 ± 19.4	15.5 ± 10.4	<0.0005
Vaspin (ng/mL)	1.1 ± 1.0	0.5 ± 0.3	<0.0001

Data are means ± SE

3. 血漿 vaspin と OSAS の重症度との関係  
 AHI 30 events/hr で群別した( Table 5 ),  
 AHI<30 群と AHI ≥30 群の間での血漿  
 vaspin 濃度の比較では、AHI<30 群では  $0.5 \pm 0.3$  ( ng/mL )、AHI ≥30 群では  $1.1 \pm 1.0$  ( ng/mL ) と AHI ≥30 群が統計学的に有意 (  $p<0.0001$  ) な高値を示した。( Fig.4 )

Fig. 4 Association between Plasma Vaspin Concentration as an index and OSAS Severity



### Kisspeptin

1: OSAS と Control の血漿 Kisspeptin 濃度

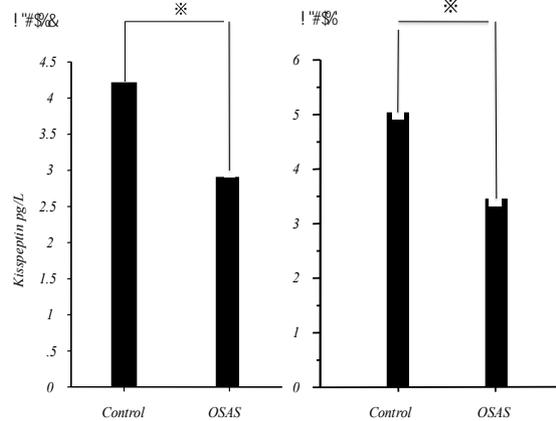
**男性の** OSAS と Control の患者背景と PSG データを Table 1 に示す。OSAS の血漿 Kisspeptin 濃度は  $2.9 \pm 0.1$  pg/L で Control では  $4.2 \pm 0.8$  pg/L と有意に低値であった[ $p<0.005$ ]。(Fig. 1A)

Table 1: Patient backgrounds, PSG data, and plasma kisspeptin levels of patients with OSAS and healthy controls of man

	OSAS	Controls	p value
Age(years)	37.0 ± 1.0	43.0 ± 3.0	>0.005
BMI(Kg/m <sup>2</sup> )	28.3 ± 0.5	19.6 ± 0.5	<0.001
%fat(%)	6.9 ± 0.8	23.9 ± 0.8	NS
ESS	12.5 ± 0.5*	4.0 ± 0.2	>0.0005
Total sleep time(min)	420.1 ± 1.1	432.7 ± 3.4	NS
Stage N1(%)	24.3 ± 1.8	20.5 ± 1.7	NS
Stage N2(%)	57.3 ± 1.9	48.3 ± 3.4	NS
Stage N3(%)	4.1 ± 0.6#	15.6 ± 2.2	<0.0001
Stage R(%)	14.4 ± 0.6 †	14.1 ± 1.2	NS
AHI(events/hr)	54.4 ± 2.5 ‡	2.0 ± 0.7	<0.0001
Arousal index(events/hr)	48.5 ± 2.1*	14.7 ± 1.8	<0.0005
Plasma Kisspeptin (pg/L)	2.9 ± 0.1	4.2 ± 0.8	<0.05

Backgrounds and PSG data vs Plasma Kisspeptin: \* $p<0.05$ , † $p<0.01$ , ‡ $p<0.0005$ , # $p<0.0001$ . Plasma kisspeptin level was significantly lower in the OSAS group. Values are mean ± S.E.

Plasma kisspeptin levels of patients with OSAS and healthy controls



血漿 Kisspeptin 濃度と PSG で得られた睡眠ステージとの関係は、ESS、AHI、Arousal index、%Stage R の間にはそれぞれ有意さを認めたとが相関関係は得られなかった。(ESS vs 血漿 Kisspeptin 濃度[ $p<0.05$ ,  $r=-0.203$ ]: Arousal index vs 血漿 kisspeptin 濃度[ $p<0.05$ ,  $r=-0.210$ ]: Apnea hypopnea index (AHI) vs 血漿 kisspeptin 濃度[ $p<0.005$ ,  $r=-0.324$ ]: %Stage R vs 血漿 Kisspeptin 濃度[ $p<0.01$ ,  $r=-0.240$ ])。また、%stage N3 と血漿 kisspeptin 濃度の間には有意な相関関係を認めたと[ $p<0.0001$ ,  $r=0.476$ ]。(Fig. 2A)

女性の OSAS と Control の患者背景と PSG データを Table 2 に示す。

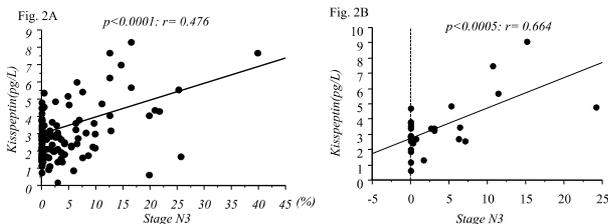
Table 2: Patient backgrounds, PSG data, and plasma kisspeptin levels of patients with OSAS and healthy controls of woman

	OSAS	Control	p-value
<b>Background</b>			
Age(year)	33.4 ± 3.2	40.2 ± 3.8	NS
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	28.1 ± 1.6	19.6 ± 0.5	<0.0001
ESS	11.0 ± 1.0	4.0 ± 2.0	<0.005
<b>PSG data</b>			
TST(min)	410.0 ± 19.0	443.1 ± 24.6	NS
%Stage N1	26.5 ± 5.3	21.4 ± 4.7	<0.005
%Stage N2	58.9 ± 4.6	47.9 ± 5.2	NS
%Stage N3	3.7 ± 1.1*	12.4 ± 7.3	<0.005
%Stage R	10.4 ± 1.2	16.8 ± 1.3	<0.01
AHI(events/hr)	43.5 ± 7.6	2.3 ± 0.6	<0.0001
Arousal Index(events/hr)	44.5 ± 6.2	13.6 ± 2.7	<0.0005
Plasma Kisspeptin (pg/L)	3.5 ± 0.3	5.1 ± 0.7	<0.05

Backgrounds and PSG data vs Plasma Kisspeptin: \*<0.0005.  
Plasma kisspeptin level was significantly lower in the OSAS group.  
Values are mean ±S.E.

女性 OSAS の血漿 kisspeptin 濃度は、3.5±0.3 pg/L で Control 群では 5.1±0.7 pg/L と有意に OSAS 群で低値であった(p=0.048)。(Fig. 1B) 血漿 kisspeptin 濃度と PSG で得られて睡眠ステージとの関係は、%stage N3 と血漿 kisspeptin 濃度の間にのみ有意な相関関係を認めた [p<0.0005, r= 0.644]。(Fig. 2B)

Relationship of plasma kisspeptin level and %Stage N3 with OSAS patients



OSAS における血漿 kisspeptin 濃度の性差は、男性が 2.9±0.1 pg/L、女性が 3.5±0.3 pg/L、Control における血漿 kisspeptin 濃度の性差は、男性が 4.2±0.8 pg/L、女性が 5.1±0.7 pg/L と OSAS、Control 両者において有意ないが、女性において高い傾向が見られた。

血漿 kisspeptin 濃度と徐波睡眠 (slow wave sleep)

男性と女性の OSAS において、Slow wave sleep (%stage N3) と有意な相関関係が得られたことより、OSAS の中には呼吸を犠牲にしながらも、深い睡眠を得ている群が見られることより、男女の OSAS において呼吸を犠牲にして寝ている群 (slow wave sleep preserved) 無呼吸イベントにより睡眠が分断され、睡眠構築が傷害されている群を (impaired slow wave sleep) に分け、血漿 Kisspeptin 濃度を比較した。

男性 OSAS 患者 122 名中 42 名で Slow wave sleep の割合が保たれ、80 名で無呼吸イベントにより睡眠が分断され、睡眠構築が傷害されていた (Table 3)

Table 3: Patient backgrounds, PSG data, and plasma kisspeptin level of preserved slow wave sleep group and impaired slow wave group of man's OSAS

	Group A	Group B	p-value
<b>Background</b>			
Age(year)	37.0 ± 2.0	37.0 ± 2.0	NS
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	26.9 ± 0.8	30.0 ± 0.7	NS
%fat(%)	27.0 ± 1.2	26.8 ± 1.0	NS
ESS	10.6 ± 0.9	12.9 ± 0.6	<0.05
<b>PSG data</b>			
Slow wave sleep(percentage)	23.0 ± 1.1	14.2 ± 1.0	NS
Stage N1(%)	18.3 ± 2.3	20.5 ± 2.3	<0.05
Stage N2(%)	58.1 ± 2.5	56.9 ± 2.6	NS
Stage N3(%)	10.6 ± 1.2	0.6 ± 0.1	<0.0001
Stage R(%)	13.5 ± 0.9	14.9 ± 0.8	NS
AHI(events/hr)	40.5 ± 3.9	61.7 ± 2.9	<0.0001
Arousal index(events/hr)	36.7 ± 2.9	54.7 ± 2.6	<0.0001
Plasma Kisspeptin (pg/L)	3.6 ± 0.3	2.6 ± 0.1	<0.0001

Group A is an OSAS group maintaining slow wave sleep.  
Group B is an OSAS group with a low level of slow wave sleep. Plasma kisspeptin level in Group B was significantly lower than in Group A [3.6±0.13pg/L vs. 2.6±0.1 pg/L, P<0.0001]. Backgrounds and Values are mean ±S.E.

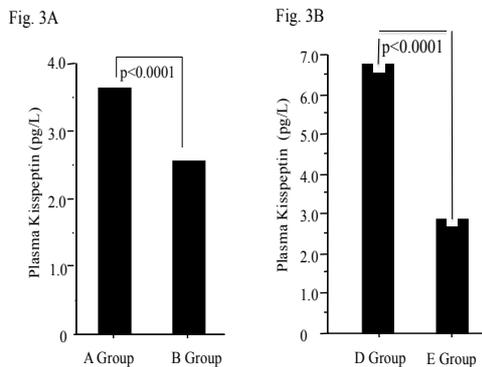
A 群 (slow wave sleep preserved) 血漿 Kisspeptin 濃度は 3.6±0.3pg/L で B 群 (impaired slow wave sleep) では 2.6±0.1 pg/L と B 群で有意に Plasma kisspeptin levels が低値 [p<0.0001] であった (Fig. 3A)。A 群と Control 群の血漿 Kisspeptin 濃度は有意差を認めなかった。

Table 4: Patient backgrounds, PSG data, and plasma kisspeptin level of preserved slow wave sleep group and impaired slow wave group of woman's O

	Group D	Group E	n-value
Age(years)	43.2±12.0	37.3±2.1	NS
BMI(Kg/m <sup>2</sup> )	24.7±2.9	28.7±1.6	NS
%fat(%)	27.0±4.7	31.4±3.2	NS
FSS	8.0±4.0	17.0±1.0	NS
total sleep time(min)	302.3±27.3	413.0±21.0	NS
Stage N1(%)	17.5±6.1	30.7±6.0	NS
Stage N2(%)	55.6±5.7	57.4±5.3	NS
Stage N3(%)	15.3±3.1	1.6±0.5	<0.0001
Stage R(%)	9.0±2.0	10.2±1.3	NS
AHI(events/hr)	22.7±3.4	50.9±8.1	<0.001
Arousal index(events/hr)	18.7±3.0	49.0±6.9	<0.001
Plasma Kisspeptin (pg/L)	6.8±1.0	2.8±0.2	<0.0001

Group D is an OSAS of woman with group maintaining slow wave sleep.  
Group E is an OSAS of woman group with a low level of slow wave sleep.

Plasma kisspeptin level in preserved slow wave sleep group and impaired slow wave group with sleep OSAS.



Group A is an OSAS of man with group maintaining slow wave sleep. Group B is an OSAS of man group with a low level of slow wave sleep. Group D is an OSAS of man with group maintaining slow wave sleep. Group E is an OSAS of man group with a low level of slow wave sleep.

女性の OSAS では、深睡眠を保っている slow wave sleep preserved OSAS 群(D 群) 4 名と impaired slow wave sleep OSAS(E 群) 23 名の血漿 Kisspeptin 濃度を比較すると (Table 4) D 群では 6.8±1.0 pg/L、E 群では 2.8±0.2 pg/L と無呼吸イベントにより睡眠が分断され、睡眠構築が傷害されている群で有意に低値であった (p<0.001)(Fig 3B)。D 群と Control 群の血漿 Kisspeptin 濃度は有意差を見とめなかった。

## D. 考察

### 1. Nesfatin-1

血漿 nesfatin-1 の値は 33.2 ng/μl から 2.8 ng/μl の間に分布し、中央値は 10.0 ng/μl であった。男女差は見られず、年齢との関係は見られなかった。肥満の影響を BMI で見ると、有意ではないが各群で正相関の傾向が見られる。

睡眠呼吸障害の影響は無呼吸指数および睡眠障害の指標をもって評価したが、いずれも nesfatin-1 との関係性は見いだせなかった。女性対象群においてのみ統計的には AHI および BMI と正の相関傾向を認めたが、対象者数が少ないうえ、他の群とは逆に無呼吸を有する群の平均値が、対照群よりも高いという傾向にあり、無呼吸を有する群のみとした場合には関係性が見られないことから、本結果をもって直ちに有意な関係性ありと解釈することは妥当とはいえないであろう。また、この原因として、女性特有の脂肪分布や内分泌環境との関連も考えられる。

### 2. Vaspin

本研究では、血漿 vaspin 濃度は non-OSAS 群に比べ、OSAS 群で有意に高値だった。また、各 PSG 指標と比較すると、AHI、arousal index、desaturation index と正の相関関係を認めた。さらに、OSAS 群における検討では、nCPAP 治療を施行することにより有意な低下を認めた。

vaspin は生体内で抗炎症作用を担うと考えられているが、本検討においても非 OSAS 群との比較で OSAS 群がより高値で

あり、OSAS の炎症に対して vaspin が大量に発現している可能性がある。さらに、nCPAP 治療により、vaspin が低下したことから、nCPAP 療法による OSAS と全身炎症の改善が vaspin を down regulate したと考えることもできる。

これらの関係を明らかにするため、今後の研究では nCPAP 治療前後に TNF $\alpha$ 、IL-6 等の炎症性サイトカインを同時に測定して比較する必要がある。

さらに、本研究では対象者の内蔵脂肪量を定量していないが、血漿 vaspin 濃度は内蔵脂肪量に依存する可能性が指摘されていることから、内蔵脂肪量との比較を要すると考えられる。また、vaspin が OSAS における生物学的マーカーとなりうるかについては、より大規模な集団や正常者集団における検討を行い、血漿 vaspin 濃度の再現性や cut off 値を求める必要もあろう。さらに、血漿 orexin 濃度との間で感度や特異度の比較を行い、臨床的有用性を検討する必要がある。

### 3. Kisspeptin

本研究は、対象者を男女 OSAS、さらに睡眠障害のない男女の Control を測定した。男性 OSAS では、Control に比べて血漿 kisspeptin 濃度は低値であった。このことから、OSAS では性腺機能障害に対して kisspeptin の feedback 作用は働いていないことが示唆された。これは、脳循環・脳代謝に関与していることが考えられ、脳循環については、無呼吸に伴う酸素分圧の低下、二酸化炭素分圧の上昇により脳血管を

拡張させ、脳内血流量を増加させ、加えて胸腔内圧の陰圧が中心静脈の増加をきたし、脳内圧の上昇に繋がる。さらに、無呼吸終末の血圧の上昇がさらなる脳内圧の上昇に繋がる。脳内圧の上昇と脳血流のインピーダンス、さらに無呼吸による低酸素血症が脳虚血の背景にあると考えられる(18)。また、PET、SPECT を用いた研究、プロトン MRS を用いた研究(19)により OSAS とくに中高年期の重症例における脳循環・代謝の変化が報告されている。中高年期の重症例では無呼吸エピソード中に嫌気性代謝の亢進(20)を示すことも報告されており、OSAS による低酸素負荷に対する脳代謝の予備能が低下していることが考えられる。このことは、OSAS の ED の合併例に対して nCPAP は 20%の患者で満足が得られているが、Sildenafil が優れていたとの報告もしくは hypogonadal の OSAS ではすべてのヒトに Sildenafil が効果的であった(21)ということからも、OSAS による脳循環・代謝機能障害が起こることによる不可逆性の変化かもしれない。しかし、この見解に関しては慎重にかつ系統的な検討が必要である。次に、OSAS の理学所見と PSG データと血漿 kisspeptin 濃度関係を検討すると ESS、AHI、Arousal index、%Stage Rの間にはそれぞれ有意さを認めたが相関関係はみられず、唯一%Stage N3 とのみ有意な相関関係が認められた。睡眠呼吸障害を示す指標の AHI、Arousal index と有意な相関関係が見られないと言うことは、呼吸障害イベントではなく睡眠そのもの特に深睡眠に関与していることが示唆された。さ

らに、呼吸を犠牲にして寝ている群 (slow wave sleep preserved)、無呼吸イベントにより睡眠が分断され、睡眠構築が傷害されている群 (impaired slow wave sleep) に分け、血漿 kisspeptin 濃度を比較すると slow wave sleep preserved では impaired slow wave sleep と比べて有意に高値であった。すなわち、血漿 kisspeptin 濃度は深睡眠と関係し、さらには OSAS の ED の発症率に関与する要因である、朝の疲労感に繋がっているかもしれない。

そして、女性の OSAS においても男性と同様の検討を行ったところ、男性 OSAS 同様に Control に比べて血漿 kisspeptin 濃度は低値であり、PSG データと血漿 kisspeptin 濃度の関係では、%Stage N3 とのみ有意な相関関係が認められた。女性においては、性および思春期に関与する peptide であるため、閉経前、閉経後に関して OSAS および Control を対象に検討してみると、閉経前後の Control 群を比較してみても両群の濃度に有意差は無く、また OSAS 群においても同様に閉経前後間に濃度差は見られなかった。閉経前後の OSAS 群と Control 群の濃度を比較すると閉経前では有意に OSAS 群で低値であるのに対して閉経後では有意差は得られなかったが、OSAS 群で低い傾向にあった。これは、閉経後の Control の対象者が少数であったためと考えられた。女性 OSAS における slow wave sleep preserved 群と impaired slow wave sleep 群を比較するとやはり、slow wave sleep preserved では impaired slow wave sleep と比べて有意に高値で男性

OSAS と同様の結果が得られた。このことから、男女差無く OSAS の病態が血漿 kisspeptin 濃度に影響を与えていることが示唆された。

最後に、kisspeptin の動態は、まだ解明されていないが、睡眠障害に伴う ED を含めた性腺機能障害に関与があることが示唆された。また、OSAS の中には呼吸を犠牲にして睡眠を取っている危険な症例も存在することより、眠気を評価するスクリーニング検査で該当しない例でも kisspeptin を測定することで呼吸を犠牲にして睡眠を得ている患者を認知するマーカーになる可能性も示唆される。前述した nCPAP と Sildenafil による治療効果での変化を検討する必要があるが、今回の報告は、性腺刺激ホルモンの feedback の役割を果たすとされている kisspeptin の動態に関して性腺機能障害を合併するとされる OSAS 群で検討した初の研究であり、予備的結果として報告する。

## E. 結論

メタボリックシンドロームである OSAS において血漿中の nesfatin-1、Vaspin、kisspeptin の検討をおこなった。血漿 nesfatin-1 は残念ながら OSAS との関係は見られなかったが、OSAS 患者における血漿 vaspin 濃度は、呼吸障害および睡眠障害の重症度が高い群では肥満度とは無関係に高値を示し、重症度に依存して変化する可能性が示唆された。nCPAP による治療後に血漿 vaspin 濃度が低下した事から、血漿 vaspin 濃度は OSAS の重症度を表現し、さ

らに重症度の変化を反映する、新たなバイオマーカーとなる可能性が示唆された。さらに、kisspeptin は、深睡眠と関係して、深睡眠の欠如により視床下部の下垂体性腺機能 feed back が機能しないことが示唆された。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 高橋進，西島嗣生，櫻井滋：睡眠障害にまつわる患者さんの訴えに正しく対処する 各診療科からの一言 消化器内科 Mebio 29(3)：122-125, 2012.
- 2) 櫻井滋：睡眠呼吸障害の最近の話題 睡眠呼吸障害患者の長期管理の最近の話題 震災時の対応も含む：内科医の立場から睡眠医療 6(1)：63-69, 2012.
- 3) 高橋進，櫻井滋：呼吸管理とケアがわかる！新人ナースのための呼吸器疾患ノート 睡眠時無呼吸症候群 呼吸器ケア 10(4)：60-65, 2012.
- 4) 櫻井滋：睡眠を「臨床化学」する 睡眠のバイオマーカーを追って 臨床化学 41(1)：77, 2012.
- 5) 西島嗣生，細川敬輔，美藤文貴，木澤哲也，高橋進，諏訪部章，櫻井滋：心房性利尿ペプチド高値および不整脈を合併した睡眠時無呼吸症候群における血漿 adipokines 濃度の検討 臨床化学 41(1)：219, 2012.
- 6) 細川敬輔，西島嗣生，美藤文貴，木澤

哲也，高橋進，諏訪部章，櫻井滋：閉塞性睡眠時無呼吸症候群における血漿 vaspin 濃度の新たな意義 臨床化学 41(1)：219, 2012.

- 7) 横田美貴，武内克也，三條克巳，福本健太郎，吉田智之，小泉範高，富沢秀光，佐藤瑠美子，佐賀雄大，細川敬輔，西島嗣生，櫻井滋，酒井明夫：不眠の臨床 精神疾患の予防・改善にむけて 慢性不眠の訴えに対する睡眠薬・抗不安薬の多剤大量投与で過鎮静を呈していた 1 症例 アクチグラフと polysomnography による客観的睡眠評価の有効性 精神科治療学 27(9)：1271-1222, 2012.

### 2. 学会発表

- 1) 西島嗣生：循環器疾患における睡眠時無呼吸症候群の位置づけ，花巻高血圧セミナー，花巻，2012.3.14.
- 2) 櫻井滋，近藤哲理：睡眠呼吸障害 病態生理・治療（ポスター発表座長），第52回日本呼吸器学会学術講演会，神戸，2012.4.21.
- 3) Mito F, Kizawa T, Hosokawa K, Takahashi S, Nishijima T, Suwabe A, Sakurai S：CURRENT SITUATION OF NASAL CONTINUOUS POSITIVE AIRWAY PRESSURE THERAPY AFTER THE EAST JAPAN MEGAQUAKE DISASTER 26th Annual Meeting of the Associated Professional Sleep Societies, LLC Boston,

Massachusetts 2012.6.12.

- 4) 西島嗣生, 細川敬輔, 美藤文貴, 木澤哲也, 高橋進, 遠藤文代, 櫻井滋: 心房性利尿ペプチド高値および不整脈を合併した睡眠時無呼吸症候群における血漿 adipokines 濃度の検討、第 37 回日本睡眠学会、横浜、2012.6.28.
- 5) 櫻井滋, Winfried J. Randerath: Long-Term Therapy with Continuous Positive Airway Pressure in Obstructive Sleep Apnea: Adherence, Side Effects and Predictors of Withdrawal、第 37 回日本睡眠学会の学術集会、横浜、2012.6.28.
- 6) 木澤哲也, 美藤文貴, 細川敬輔, 三上山紗樹子, 遠藤文代, 西島嗣生, 高橋進, 櫻井滋, 佐藤嘉洋, 中村元行: 循環器科医による簡易検査結果をもとに、睡眠医療科紹介となった患者の最終診断分類について、第 37 回日本睡眠学会の学術集会、横浜、2012.6.29
- 7) 櫻井滋: 睡眠を「臨床化学」する～睡眠のバイオマーカーを追って～(教育講演)、第 52 回日本臨床化学会年次学術集会、盛岡、2012.9.6
- 8) 西島嗣生, 細川敬輔, 美藤文貴, 木澤哲也, 高橋進, 遠藤文代, 櫻井滋: 心房性利尿ペプチド高値および不整脈を合併した睡眠時無呼吸症候群における血漿 adipokines 濃度の検討、第 52 回臨床化学会、盛岡、2012.9.7
- 9) 細川敬輔, 西島嗣生, 美藤文貴, 木澤哲也, 高橋進, 諏訪部章, 櫻井滋: 閉塞性睡眠時無呼吸症候群における血漿

vaspin 濃度の新たな意義、第 52 回日本臨床化学会、盛岡、2012.9.7

- 10) 高橋進: いびきと眠りの公開講座 in 宮古、岩手県宮古市、2012.9.15.

## 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
3. その他  
特になし

## 参考文献

- 1) Guilleminault C, Eldridge FL, Dement WC. Insomnia with sleep apnea: a new syndrome Science. 1973 Aug 31;181(102):856-8.
- 2) Kales A, Cadieux RJ, Shaw LC III, Vela-Bueno A, Dixler EO, Schneck DW, Locke TW, Soldatos CR. Sleep apnea in hypertensive population. Lancet 1984; ii: 1005 - 1008.
- 3) Koskenvuo M, Kaprio J, Partinen M, Langivainio H, Sarna S, Heikkila K. Snoring as a risk factor for hypertension and angina pectoris. Lancet 1985; i: 89- 95.
- 4) Brooks B, Cistulli PA, Borkman M, Ross G, McGhee S, Grunstein RR, Sullivan CE, Yue DK. Obstructive sleep apnea in obese noninsulin-dependent diabetic patients: effect of continuous positive

- airway pressure treatment on insulin responsiveness *J Clin Endocrinol Metab.* 1994 Dec; 79(6):1681-5.
- 5) Botros N, Concato J, Mohsenin V, Selim B, Doctor K, Yaggi HK. Obstructive sleep apnea as a risk factor for type 2 diabetes *Am J Med.* 2009 Dec; 122(12):1122-7.
  - 6) Partinen M, Jamieson A, Guilleminault C. Long-term outcome for obstructive sleep apnea syndrome patients. Mortality *Chest.* 1988 Dec; 94(6):1200-4.
  - 7) Kyzer S, Charuzi I. Obstructive sleep apnea in the obese. *World J Surg* 1998; 22:998-1001.
  - 8) Nagaretani H, Nakamura T, Funahashi T, et al: Visceral fat is a major contributor for multiple risk factor clustering in Japanese men with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 24(12), 2127-2133, 2001.
  - 9) Alvarez GE, Beske SD, Ballard TP, et al.: Sympathetic neural activation in visceral obesity. *Circulation* 106(20), 2533-2536, 2002.
  - 10) Samaras K, Botelho NK, Chisholm DJ, et al.: Subcutaneous and visceral adipose tissue gene expression of serum adipokines that predict type 2 diabetes. *Obesity (Silver Spring)* 18(5), 884-889, 2010.
  - 11) Faber DR, van der Graaf Y, Westerink J, et al.: Increased visceral adipose tissue mass is associated with increased C-reactive protein in patients with manifest vascular diseases. *Atherosclerosis* 212(1), 274-280, 2010.
  - 12) Shinohara E, Kihara S, Yamashita S, et al.: Visceral fat accumulation as an important risk factor for obstructive sleep apnoea syndrome in obese subjects. *J Intern Med* 241(1), 11-18, 1997.
  - 13) Mah PM, Wittert GA. Obesity and testicular function. *Mol Cell Endocrinol.* 2010 Mar 25;316(2):180-6. Epub 2009 Jun 18.
  - 14) Luboshitzky R, Lavie L, Shen-Orr Z, Lavie P. Neuro Endocrinol Lett. Pituitary-gonadal function in men with obstructive sleep apnea. The effect of continuous positive airways pressure treatment. 2003 Dec;24(6):463-7.
  - 15) Grunstein RR, Handelsman DJ, Lawrence SJ, Blackwell C, Caterson ID, Sullivan CE. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989 Feb;68(2):352-8. Neuroendocrine dysfunction in sleep apnea: reversal by continuous positive airways pressure therapy.
  - 16) Santamaria JD, Prior JC, Fleetham JA. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1988 May;28(5):461-70. Reversible

reproductive dysfunction in men with obstructive sleep apnoea.

- 17) The AASM Manual for the scoring of sleep and associated events AASM Manual for scoring sleep, 2007.
- 18) Franklin KA. Cerebral haemodynamics in obstructive sleep apnoea and Cheyne-Stokes respiration. *Sleep Med Rev.* 2002 Dec;6(6):429-41.
- 19) Kamba M, Suto Y, Ohta Y, Inoue Y, Matsuda E. Cerebral metabolism in sleep apnea. Evaluation by magnetic resonance spectroscopy. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997 Jul;156(1):296-8.
- 20) Kamba M, Inoue Y, Higami S, Suto Y. Age-related changes in cerebral lactate metabolism in sleep-disordered breathing. *Neurobiol Aging.* 2003 Sep;24(5):753-60.
- 21) Perimenis P, Karkoulas K, Markou S, Gyftopoulos K, Athanasopoulos A, Barbaliás G, Kiriazopoulou V, Spiropoulos K. Erectile dysfunction in men with obstructive sleep apnea syndrome: a randomized study of the efficacy of sildenafil and continuous positive airway pressure.