

6. [1] **閉塞型睡眠時無呼吸症候群における血漿プロテオミクス解析に関する研究**
- [2] **パーキンソン病における睡眠呼吸障害と視床下核深部脳刺（STN-DBS）療法によるその長期効果について**
- [3] **多点感圧センサーシート（SD-101）を用いた睡眠時無呼吸症候群診の有用性についての検討**

研究分担者 異 浩一郎 千葉大学大学院医学研究院呼吸器内科学 教授
共同研究者 寺田 二郎、櫻井 隆之、坂尾 誠一郎
千葉大学大学院医学研究院呼吸器内科学

研究要旨

[1]【目的】睡眠時無呼吸症候群の病態およびその併存症の病態生理は何らかの形で分子病態の変化として表されると考えられる。プロテオミクスは、分子病態を評価しうる一つの方法である。肥満を伴った重症閉塞型睡眠時無呼吸症候群にて、何らかのプロテオミクス変化が血漿中に現れるという仮説を検討した。

【方法】無呼吸指数が 60 以上で BMI が 35 を超える高度肥満を伴っていた最重症の睡眠時無呼吸症候群症例と、睡眠時無呼吸がなく BMI が 25 未満の肥満のなかったコントロール症例を選択し、血漿蛋白に関して LC-MS/MS 法により検索した。

【結果】炎症反応と免疫反応に関係していると想定される多くのタンパク質に関して、睡眠時無呼吸症候群とコントロール群との間で差異が認められた。補体関係のタンパク質、急性反応性蛋白質である ceruloplasmin および amyloid P-component の上昇が睡眠時無呼吸症候群で認められた。急性反応性蛋白質である inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1 と H2 は睡眠時無呼吸症候群で減少していた。 gelsolin, N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase, pigment epithelium-derived factor and zinc-alpha-2-glycoprotein も、睡眠時無呼吸症候群で減少していた。

【結論】睡眠時無呼吸症候群における血漿プロテオミクスの変化は、その免疫反応、炎症反応修飾の結果であり、病態生理の結果であると想定された。単一の分子

マーカーの検出はできず、睡眠時無呼吸症候群の病態生理には多くの炎症・免疫蛋白の変化が関与していることが示された。

[2] 【目的】パーキンソン病は多くの症例で睡眠障害を伴うが、その原因は痛み、寝返り困難、夜間頻尿、REM 睡眠行動異常、抑鬱、睡眠呼吸障害、むずむず足症候群など多岐にわたり、未だ有効な治療法は確立されていない。今回我々は、運動症状の変動を伴うパーキンソン病の睡眠呼吸障害の評価と視床下核深部脳刺激 (STN-DBS) 療法の効果について検討した。

【対象と方法】STN-DBS を行った進行期パーキンソン病 21 症例 (男性 11 例、女性 10 例、年齢 65.1 ± 7.0 歳) に対して、治療前 ($n=21$)、3 ヶ月後 ($n=14$)、1 年後 ($n=9$) にアンケート、睡眠ポリグラフィ (PSG) を施行し、夜間の睡眠構築、呼吸、周期性四肢運動などについて解析した。

【結果】DBS 療法導入前は、睡眠効率や深睡眠の低下、閉塞型低呼吸、頻回の覚醒反応が多くの症例で認められた。STN-DBS 後、睡眠効率、総睡眠時間、低呼吸回数の改善がみられ、その傾向は 3 ヶ月後よりも 1 年後の方が強く認められた。一方で覚醒反応の回数や眠気の指標である ESS の改善を認めない例が少なくなかった。DBS 療法後の脳波はアーチファクトが強く、睡眠ステージの評価が困難であった。【結論】DBS 療法は、進行期パーキンソン病の運動障害のみならず、長期に渡り睡眠呼吸障害、睡眠障害を改善させる可能性が考えられた。

[3] 【目的】睡眠ポリグラフ (PSG) 検査よりも簡便、安価、自宅で使用可能、不快感が少ない多点感圧センサーシート (SD-101) を用いて睡眠時無呼吸症候群 (SAS) の診断が可能か否かについて検討する。

【方法】SAS が疑われ、PSG 検査目的で入院された患者 53 人 (男性 40 人、女性 13 人) に対し PSG 検査と同時に SD-101 を使用し、前者の無呼吸・低呼吸指数 (AHI) と、後者の呼吸障害指数 (RDI) を比較、検討した。

【結果】53 人中 49 人が SAS (AHI ≥ 5) と診断された。SD-101 による RDI ≥ 5 をカットオフ値とした際に、PSG 検査での AHI ≥ 5 以上の検出は感度 91.8%、特異度 100%であった。また RDI と AHI に相関関係を認めた。

【考察】SD-101 を用いた RDI は、SAS 診断のスクリーニングに有用であると考えられた。一方、高度肥満群や重症 SAS (AHI ≥ 20) において PSG 検査と SD-101 の結果に乖離が認められたため、今後さらなる検討が必要である。

A. 研究目的

[1] 日本における閉塞型睡眠時無呼吸症候群(OSAS)の有病率は不明であるが、欧米と同様であれば、4~6%とかなりの高率であることが推定される。OSASは睡眠中に一過性の低酸素血症エピソードが繰り返し起こる病態である。OSAS合併症で最も問題になるのは心血管系合併症であり、OSASは高血圧症、冠動脈疾患、心不全、脳血管障害の独立した危険因子になると報告されている。

OSASの心血管系合併症の病態生理学的機序はおそらく多因子から成っており、その中でも繰り返し起こる間欠的低酸素血症、そして室内気へ戻るといったエピソードは重要と推定される。しかし、OSASで生じている分子機序は明らかではない。OSAS分子病態を解明する重要な疑問の一つは、どの組織を測定対象とするかである。血液は体内の全ての臓器・組織と何らかの形で関係を有しており、障害が及んだ組織の代用として容易にアクセス可能である。OSASにおける何らかの分子機構の変化は、血液にバイオマーカーの変化として捉えられる可能性はある。

プロテオミクスはOSAS分子病態を評価しうるバイオマーカーの一つになりうる。それは、数えきれないくらいの蛋白の表現、あるいは蛋白翻訳後修飾を反映しうる。しかし、遺伝子変異あるいは遺伝子表現型の変化は必ずしも蛋白の変化には直接に繋がらない可能性もあるため、プロテオミクスの結果は分子型として理解する必要がある。OSASにおいてどのような炎症が生じてい

るかを検討するために、典型的な重症OSASとnon-OSAS患者のプロテオミクスを比較検討した。

[2] パーキンソン病は、安静時振戦、寡動、姿勢反射障害、固縮といった運動障害(パーキンソニズム)を特徴とする比較的頻度の高い(100-200人/10万人)慢性進行性の神経変性疾患である。

しかしパーキンソン病はこれら運動障害だけでなく、幻覚、妄想などの精神・行動障害、失念、思考の緩慢さなどの認知障害、便秘、頻尿・尿失禁、心臓交感神経の異常、起立性低血圧、発汗異常などの自律神経障害、下肢の痛みや嗅覚の低下といった感覚障害のほか、不眠、夜叫、悪夢、睡眠障害などをきたすことが報告されており、現在は多彩な運動・非運動障害をきたす疾患であると認識されている。中でもパーキンソン病における睡眠障害は、睡眠の分断化、不眠、日中の眠気などによりQOLの低下をもたらすことが知られているが、その原因は固縮、寡動、ジストニアなどによる寝返り困難、夜間頻尿、抑鬱気分、REM睡眠行動異常、睡眠呼吸障害、むずむず足症候群、薬物療法の副作用/離脱症状、など多岐にわたることから、適切な介入が難しく、未だ有効な治療法は確立されていない。特に睡眠時無呼吸(SAS)は、一般的な肥満に伴う閉塞型SASと異なり、原病に伴う上気道筋周囲または呼吸筋群の固縮、寡動、ジストニアに伴う機序などが考えられているが、その治療法及び効果についての詳細はわかっていない。

従来パーキンソン病の治療は、治療ガイ

ドライン（2011年改訂）に基づいて、levodopa、ドパミンアゴニスト、モノアミン酸化酵素B阻害薬をはじめとした薬物療法と手術療法が行われている。手術療法のひとつであるSTN-DBS療法は、進行期パーキンソン病において広く臨床応用されている確立した治療法であり、運動症状全般およびON期ジスキネジア、OFF期ジストニアといった運動合併症の改善、抗パーキンソン病薬減量、さらには減量による薬剤性の合併症の改善などの点で、有効性が多数確認されている。しかし進行期パーキンソン病の睡眠障害、特にSASに対するSTN-DBS療法の短期効果については散見されるものの、長期効果については、未だ報告されていない。

今回我々は、DBS治療の適応となった運動症状の変動を伴う進行期パーキンソン病の睡眠呼吸障害の特徴とSTN-DBS療法の睡眠障害及び睡眠時無呼吸に対する効果について検討した。

[3] 睡眠時無呼吸症候群（Sleep Apnea Syndrome：SAS）は、睡眠時ポリソムノグラフィ検査（PSG）による睡眠呼吸障害の所見に加えて日中の過度な眠気や疲労などの自覚的な臨床症状を伴う症候群と定義されている。

SASは高血圧、心疾患、糖尿病などの生活習慣病との因果関係があるとされ、適切な診断、治療が不可欠である。日本では推定患者数が300万人と言われているが、自覚症状があまりないため放置されていることが多い。

SASの診断には、原則的にPSGが必須

となっているが、高価、入院が必要、体表への多数のセンサー設置による不快感、本人の自覚症状が少ない場合等により、SASの疑いのある全患者に行なうことは困難である。本研究は、多点感圧センサーシート（SD-101）を用いてPSGと同時に検査・評価することにより、より簡便に睡眠時無呼吸症候群の診断を行なうことを目的とする。

B. 研究方法

[1] 2006年9月から2007年3月までに、睡眠時無呼吸症候群の兆候を有しておりPSG検査を受けた192例を対象とした。鼾ないしは無呼吸の指摘あり、あるいは睡眠時無呼吸症候群疑いにて、睡眠時無呼吸外来を受診した患者を対象とした。症状（徴候）としては、鼾、傾眠、あるいはその双方であった。患者はすべて日本人であり、人種差の可能性を考慮して日本人以外の人種は対象から除外した。

PSG検査施行の時点ですべての患者は臨床的な心不全を呈していなかった。またCOPDなどの慢性呼吸器疾患による労作時息切れなどの呼吸器症状は訴えていなかった。対象症例に対して、睡眠呼吸障害に関する問診を施行、既往歴、服薬に関する情報を聴取した。閉塞型睡眠時無呼吸症候群（OSAS）の診断は臨床症状とPSG結果から行った。AHIは4%以上の酸素飽和度低下を伴う睡眠呼吸障害の数から算出した。臨床症状に加えて、AHIが5以上の場合に、OSASの診断とした。

最初のステップとして、AHIの値により

重症 OSAS (AHI ≥ 60) と non-OSAS (AHI < 5) を選択した。この方法は、ほぼ同じサイズの両極端のサンプルを扱うということで、統計学的差異を最大限に引き出す方法の一つである。重症 OSAS 患者 23 例は男性 19 例、女性 4 例であった。Non-OSAS 患者 41 例は男性 31 例、女性 10 例であった。

次のステップとして、典型的日本人 OSAS は肥満男性であること、また対象症例の 78% が男性であったことから、本研究では男性のみを対象とした。

さらに、統計学的差異を最大限とするために、重症 OSAS として BMI > 25 の肥満を伴う 7 症例を、non-OSAS として BMI < 25 の肥満を伴わない 19 症例を選択した。重症 OSAS と non-OSAS 群間で BMI を合わせることは無理であったので、体重に明らかに差のある対象群とした。

最後のステップとして、年齢と対象症例数を有意差のないように二群を選択した。最終的に各群 6 例として、合計 12 の血漿検体を解析した。血漿検体 0.1ml は、睡眠 PSG 検査後に仰臥位にて朝方採血して、解析までは -80 で凍結保存をした。

本研究のプロトコールは千葉大学医学部の倫理審査委員会の許可を得て行った。

睡眠検査 PSG: 終夜 PSG (Compumedics, Melbourne, Australia) を午後 9 時から午前 6 時まで施行した。PSG は、脳波、眼電図、筋電図、心電図、鼻と口気流、胸腹部運動、酸素飽和度、気管音、体位測定 of 連続モニターで構成した。PSG 検査結果は自動解析後に手動解析という形の標準的な解

析をおこなった。

Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) system (液体クロマトグラフィー・質量分析法): 血漿検体のプロテオミクスの質量分析を行い、Pharmaceutical Product Development (PPD) 社の LC-MS system にて蛋白同定を行った。各検体約 40 μ l の血漿サンプルを使用した。それぞれの検体に関して、一次元 (1D) 液相分離法にて解析を行った。両群からの検体をペアにして、しかしランダムオーダーにて測定を行った。検体の質的検証は最初と最後に行った。ヒト血漿には 14 の蛋白が量的に多く含まれており、それらをレジンに吸着させてプロテオミクス解析の精度を上げるようにした。抗体カラムは Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA) 社の model MARS Hu-14 を使用した。除去した蛋白は、アルブミン、IgG、IgA、IgM、トランスフェリン、フィブリノーゲン、アポリポ蛋白 A-1、アポリポ蛋白 A-II、ヘパトグロビン、alpha-1-アンチトリプシン、alpha-1-酸性グリコプロテイン、alpha-2-マクログロブリン、補体 C3、transthyretin の 14 種類である。

これら 14 種類の蛋白除去後、トリプシン処理に先立ち検体の酵素処理を行った。低分子は、3kDa のカットオフフィルターを用いて除去した。PPD 社の方法は label-free quantification と呼ばれており、アイソトープは使用していない。両群の検体から得られた多くのタンパク質そしてその代謝産物を比較解析することにより、バイオマーカーとなる蛋白候補を抽出した。

質量分析器は Model LTQ (Thermo Fisher Scientific 社, Waltham, MA, USA)を用いた。得られた蛋白は下記データベースに照らし合わせた。

RefSeq

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/key.html>)

Swissprot (<http://au.expasy.org>)

PIR (<http://pir.georgetown.edu>)

蛋白の同定には、Mascot software(Matrix Science 社, London, UK)を用いた。

[2] 2008年12月から2011年11月までに、STN-DBS 療法の適応となったパーキンソン病全症例(ヤール重症度分類 4-5 度、男性 11 例、女性 10 例、年齢 65.1 ± 7.0 歳)を対象とし、治療前 (n = 21)、3ヶ月後 (n = 14)、1年後(n=9)に睡眠ポリグラフ検査 (PSG) を施行し、睡眠時間、睡眠効率、SpO₂、鼾、夜間の睡眠構築、SAS の有無、周期性四肢運動について解析した。また対象症例に対して、睡眠呼吸障害に関するアンケートおよび問診を施行し、合わせて既往歴、服薬に関しての情報も聴取した。手術は、当院脳神経外科にて定位脳手術装置を用いて行い、MRI 誘導・微小電極法を組み合わせて標的神経核を同定し、脳深部刺激電極(DBS リード)の埋め込みを行った。全例視床下核を標的神経核とした。DBS リード留置後に体内埋め込み型パルス発生装置を前胸部皮下に埋め込んだ。DBS 療法を開始した症例の中で、2 例が DBS 療法の継続が一旦困難となったため、本研究の対象外とした(1 例目 : 外傷を契機とした感染、2 例目 : 刺激誘発性のジスキネジア、衝動

制御障害のため)。

[3] 2010年4月から2012年4月までに、SAS が疑われ、PSG 目的で入院された患者に対しインフォームドコンセントを行い、同意を得た方に PSG と同時に SD-101 による検査を行なった。

SD-101 は、被験者が就寝する敷布団又はベッドの上に敷設することにより、被験者の呼吸に伴う身体下の微小な圧力変化をシート内に配設された多数のセンサーが感知、この結果をもとに呼吸波形を算出し、夜間睡眠中の呼吸状態を無拘束で連続測定・記録できる装置である。SD - 101 の無呼吸低呼吸判定基準は、10 秒以上の顕著な呼吸振幅の低下、あるいは通常呼吸波形に対して 30%以上の振幅低下が 10 秒以上あり、その後、過換気に伴う鋭角な菱形(または三角)形状の努力呼吸波形がある場合と定義した。

PSG より得られた無呼吸・低呼吸指数 (AHI) と、SD-101 より得られた呼吸障害指数 (RDI) をその他の臨床データも含め比較、解析を行った。

C. 研究結果

[1] AHI と BMI は OSAS 群で有意に高値であった。

一次元液相分離法で、19,745 個の分子が二群間で有意差があるということで比較同定された。同定された 5,924 のコンポーネントは 2,619 のペプチドに関連しており、445 の蛋白に相当した。ある蛋白で 1 つのペプチドだけしか同定されなかった場合は singleton であり、真の有意差でない可能性

が高いと考えられたため、除外した。2 個以上のペプチドを有していたのは 138 蛋白であった。NCBI による The Entrez 遺伝子 ID 番号、the fold-change、effect size を示す。補体 C1q、C5、C8、factor B、factor H、factor I などの多くの炎症性マーカーの上昇が OSAS 群で認められた。急性の炎症性蛋白である ceruloplasmin と amyloid P-component の 2 つが増加していた。一方、急性の炎症抑制性蛋白である inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1 と H2 は減少していた。他に OSAS 群で減少が見られたのは gelsolin、N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase、pigment epithelium-derived factor (PEDF)、zinc-alpha-2-glycoprotein (ZAG) であり、これらは炎症と免疫反応に関係する蛋白であった。

[2] 対象症例の BMI は 20.8 ± 3.6 と肥満を認めなかった。STN-DBS 前は、閉塞型低呼吸優位の SAS、頻回の覚醒反応、深睡眠及び REM 睡眠の低下が多くの症例で認められた。覚醒反応は、AHI に比して高値であった。DBS 療法後に AHI の低下、総睡眠時間、睡眠効率の改善の傾向が認められた (3 ヶ月 < 1 年)。21 症例中 14 人が $AHI > 5/hr$ であり、SAS の診断基準に至った (67%; 平均 AHI : $15.7 \pm 9.4/hr$)。多くの症例で DBS 療法後に (3 ヶ月 < 1 年)、低呼吸回数、睡眠効率、総睡眠時間の改善が認められた。一方で覚醒反応の回数や眠気の指標である ESS の改善を認めない例が少なくなかった。尚、DBS 療法後の脳波は、アーチファクトが重なっていることが

多く、正確な睡眠ステージの解析が困難であった。

[3] PSG 検査による正常 (AHI 5 未満) は 3 人であり、SAS 患者は 49 人であった。AHI が 30 以上の場合の RDI や、RDI が 5 未満の場合の AHI に乖離を認めた。ピアソンの相関係数を用い算出した結果、相関係数は 0.72 と強い相関関係を認めた。

D. 考察

[1] OSAS の病態は、多くは長期 (数年以上) に亘る繰り返す間欠的低酸素血症と睡眠の断片化の結果と考えられる。病態成立に関与しうる主な機序として、交感神経系の活性化、オキシダントストレス、炎症が想定されている。アディポカイン、接着因子は OSAS に影響される別の機序の一部と考えられる。OSAS 血漿中の分子変化は、OSAS 病態生理の結果、あるいはその併存症・合併症を反映しているとも考えられる。本研究では、肥満重症 OSAS の血漿中に多くの炎症・免疫に関与する蛋白が同定された。多くの蛋白が同定されたことより、治療反応性の指標となりうる分子マーカーを予測しうることは困難であることが想定された。しかし本研究の結果は、炎症というプロセスが、OSAS の病態生理学的結果に関与していることを示している。

OSAS と肥満は臨床的には同時に存在し、同様の臨床的病態に繋がることが知られている。特に内臓肥満は、多くの OSAS 併存症の独立した危険因子になっている。さらに肥満症では OSAS と同様ないしは同じ分子機構の変化が生じる。OSAS と肥満を

別々にして、それらの臨床的結果を相対評価することは重要である。さらに、共通する分子機能の中での OSAS と肥満症の相対的役割を評価し、OSAS ないしは肥満症に特異な分子機構が存在するかどうかを明らかにすることは重要である。しかし、OSAS 病態に密接に関連している病態生理学的変化として、炎症、オキシダントストレス、交感神経系の活性化、インスリン抵抗性は、すべて肥満症でも生じている病態である。

プロテオミクスの観点で、OSAS と肥満の影響を別のものとして捉えることは重要であるが、臨床的には不可能である。それが可能な一つの方法は、BMI に差がない OSAS 群と non-OSAS 群を比較することである。しかし、BMI に差がなくても内臓脂肪の量を有意差のないようにするのは困難である。OSAS と肥満症の影響を分離する別の手段は、同一個体内での変化を捉えることである。例えば、CPAP 治療前後での変化を評価することである。しかし、CPAP 治療が成功した場合、内臓脂肪の量は減少するのが一般的である。

OSAS は通常徐々に慢性的に進行する病態であり、通常診断に至る前には数年以上はその病態が継続している。一つの臨床的結果として、年余の単位で生じる血管壁の改築（リモデリング）がある。それ故に、一晩の CPAP 治療による分子変化を検討しても、限られた情報しか得られないと推定される。本研究前の仮説として、肥満重症 OSAS ではより高いレベルのバイオマーカーが得られるとした。重症 OSAS 患者では、CRP、IL-6、レプチンなどの値が、肥満の

みで OSAS のない例、OSAS はあるが肥満のない例と比較すると、より高値であることが報告されている。

プロテオミクスは、遺伝子プロファイリングの解析と同様に、蛋白、蛋白の翻訳後修飾を発見しうる有望な戦略である。しかし、遺伝子表現レベルの差異、遺伝子多型はプロテオミクスの変化として反映しない可能性もあり、プロテオミクスには真の分子病型は表現されないかもしれない。ジェノミクス（遺伝子解析）はマイクロアレイで解析可能かもしれないが、プロテオミクスはより複雑である可能性が高い。DNA、mRNA と比較しても、プロテオミクスには多くのタンパク質が含まれている。本研究でも最初に、off-line 免疫除去クロマトグラフィーにより多くの蛋白を除去した。トリプシン処理後、ペプチドは Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) system により、プロファイルされた。両群間の比較により分離された蛋白は、fold change が 1 近くのものも含まれているが、有意差の認められたものはリストに含めてある。それらにはトリプシン処理された蛋白、されなかった蛋白などが含まれ、機能として逆に作用しうるものも含まれている。それらの蛋白は蛋白分解の過程で産生されたものである可能性も、また翻訳後修飾で産生されたものである可能性もある。それらは重要な生物学的活性を有している可能性もあるし、処理過程で生じたもので、生物学的活性は弱い可能性もある。

本研究では、重症 OSAS 血漿中で C1q、C5、C8、factor B、factor H、factor I など

の補体の増加を認めた。また、急性の炎症性蛋白である ceruloplasmin と amyloid P-component の 2 つが増加していた。一方、急性の炎症抑制性蛋白である inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1 と H2 は減少していた。これらの蛋白は、肥満重症 OSAS の病態に特異的に関係した蛋白であるとも考えられる。

肥満重症 OSAS 群では gelsolin、N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase、pigment epithelium-derived factor (PEDF)、zinc-alpha-2-glycoprotein (ZAG) の減少が認められた。これらは炎症・免疫反応に関係する蛋白である。Gelsolin は主に筋肉で産生され、Ca による調節を受けている、アクチンフィラメントのプラス端に結合し、アクチン重合を抑制する蛋白である。血漿中の Gelsolin は種々の炎症性物質と結合し、敗血症などの炎症反応を修飾している。Gelsolin のリガンドとして、PAF (血相板活性化因子) およびグラム陰性・陽性菌の菌体の一部が同定されている。血漿中 Gelsolin の低下は種々の急性傷害後に認められている。Gelsolin の生物学的機能として炎症性メディエーターの修飾が想定されている。本研究では重症 OSAS にて、Gelsolin の低下を認めている。

OSAS に関連してプロテオミクスを検討して研究は少ない。小児 OSAS の血清プロテオミクス研究では、3 個の蛋白が OSAS と鼾症で異なることを認めている。1 つの蛋白は osteocalcin であり、成長遅延のバイオマーカーとされている

gamma-carboxyglutamic

acid-containing protein の前駆体であった。別の研究では早朝尿のプロテオミクスを検討しており、2 つの蛋白の増加を認めている。一つは本研究の重症 OSAS で低下を認めた Gelsolin であり、もう一つは prelecan であった。

N-acetylmuramoyl-L-alanine は、細菌 peptidoglycan (PGN) のアミノ基を加水分解する酵素である。PGN はほとんどすべての細菌細胞壁の重要な構成成分であり、自然免疫反応系の重要な標的になっている。PGN とその受容体の相互作用は、多くのケモカイン・サイトカインの分泌を誘導することから、炎症に関与した蛋白である。一方 N-acetylmuramoyl-L-alanine の機能は抗炎症である。本研究では N-acetylmuramoyl-L-alanine の減少を認めている。

PEDF は血管形成の阻害因子である。PEDF は抗炎症性物質であり、網膜症のある糖尿病患者では、PEDF は眼房水において減少が認められている。本研究において、PEDF は低下していた。

ZAG はアディポカインの一つであり、不妊、脂質代謝に関係する。ZAG は免疫反応に関係している。また、種々の悪性腫瘍におけるバイオマーカーとなっている。本研究では、ZAG の低下を認めている。

[2] 本研究における運動症状の変動を伴う進行期パーキンソン病では、これまでの報告と同様に、睡眠呼吸障害、頻回の覚醒反応、睡眠時間や睡眠効率、睡眠の質の低下を認めた。また睡眠呼吸障害及び睡眠時間、睡眠効率は、STN-DBS により改善

し、その効果が長期間（1年後）持続する可能性が示唆された。

睡眠呼吸障害は、肥満に合併する閉塞型 SAS が最も一般的であり、有病率は 4-10% 程度とされる。一方パーキンソン病は、肥満を伴うことはまれであるにも関わらず、健常者と同程度もしくはより高率に SAS を合併し、タイプも閉塞型であると報告されている。その発生機序は、原病に伴う上気道筋や呼吸筋の固縮、協調運動障害、不随意運動（ジストニア、ジスキネジアなど）などが推測されている。本研究の結果では、20/21 例が非肥満（BMI < 25）であったが、67%（14/21 例）と高率に SAS（AHI > 5）の合併を認めた。これは、本研究の対象例が、STN-DBS 療法の適応となった進行期パーキンソン病であったため、上気道開存の機能または呼吸筋の運動機能が、夜間のおそらく OFF 時ということもあり、より低下していたことを反映した結果だと考えられた。

パーキンソン病における SAS については多数報告されており、高頻度の合併率であるにも関わらず AHI 及び低酸素の程度が軽度であり、臨床的に問題となることが少ないことが特徴とされている。そのため、日中の眠気、睡眠分断化、睡眠障害に苦しむ多くのパーキンソン病症例においても、SAS はその原因の一つに過ぎず、SAS 治療が同症状の改善に直接寄与しないと考えられている。本研究の DBS 療法後の AHI 改善例においても、覚醒反応の回数や眠気の指標である ESS の改善を認めない例が少なくなかった。以上より、パーキンソン病

における睡眠関連の症状に関しては、AHI だけでなく原病に伴う痛み、夜間頻尿、抑鬱気分、REM 睡眠行動異常、むずむず足症候群、薬物療法の副作用/離脱症状など多方面に亘る客観的評価が必要であると再認識させられた。しかし DBS 治療後の AHI 低下症例においては（特に 1 年後）「長く眠れるようになった」「熟眠感が得られるようになった」という睡眠症状軽快例が多く、本研究の睡眠時間、睡眠効率が改善している結果からも、DBS 療法による AHI 低下が一定の睡眠状態及び QOL 改善に寄与している可能性が考えられた。

本研究では残念ながら DBS 療法後の脳波解析に難渋したため、睡眠ステージの正確な評価を行えなかったが、今後は周波数解析を加えて、睡眠の質の解析を試みたい。これまで「パーキンソン病における DBS 療法と PSG による睡眠呼吸障害」に関する報告は海外において 4 報しかない。それらは、DBS 療法後の睡眠時間、睡眠効率、睡眠の分断化、AHI の改善を報告しているが、いずれも 10 例以下のパーキンソン病 SAS における DBS 療法の短期効果（数ヶ月）についての報告であり、本研究のような 20 例以上の長期効果（1 年以上）を示した研究はなされていない。今後この「進行期パーキンソン病における睡眠障害および睡眠呼吸障害の DBS 療法による長期効果」の研究を完遂させたい。

[3] PSG の AHI と SD-101 の RDI とは、強い相関関係があると考えられる。しかし一部の患者においては PSG の AHI と測定結果が乖離していることが認められ、それ

らは高度の肥満患者において顕著であった。SD-101 の場合、呼吸検出は圧変化の差を検知しているが、肥満患者ではセンサーに常に強い力が加えられているため、呼吸振幅の低下を感知できていない可能性が考えられた。

また、AHI の値 48 ± 90 に対し、RDI の値は 26 ± 42 と、低値となることが多い。これは、RDI は計測時間にカウントした無呼吸・低呼吸数を計測時間で除するのに対し、AHI は脳波モニターから検知した実睡眠時間で除するためと考えられる。

以上より、SD-101 による睡眠時無呼吸症候群の検査結果 (RDI) を AHI と比較検討するには、BMI の考慮と測定値の適切な補正 (カットオフ値) が必要と考えられる。

RDI が 5 以上をカットオフ値とした時に、PSG 検査での AHI 5 以上を検出するスクリーニング能は感度 91.8% 特異度 100% となっており、スクリーニングとしては非常に有用と考えられる。しかし、CPAP 適応の AHI 20 以上を、同様に RDI 20 以上をカットオフ値とした場合、感度 70% 特異度 100% と感度の低下が著明となっている。現段階では、RDI 13 以上をカットオフ値とした場合に AHI 20 以上の診断能は感度 87.5% 特異度 100% と良好だが、今後の症例数によりさらなる検討が必要と考えられる。

次に BMI との関連を調べるため、BMI 25 以上の肥満者と BMI 25 未満の非肥満者に分けて検討を行った。BMI 25 未満では、AHI と RDI の相関係数は 0.85 とさらに強い相関関係を認めた。AHI 5 以上の診断能

を検討すると、BMI 25 以上では感度 93.1% 特異度 100% に対し BMI 25 未満では感度 90.0% 特異度 100% と非肥満者において感度の低下が認められた。

基本的に BMI 高値であれば SAS の有病率も増加する。BMI 25 未満では全症例と比較し真陽性は 18 減少したのに対し、偽陰性が 2 しか減少しないため相対的に感度の低下を招いたと考えられた。

BMI による AHI と RDI の乖離はより高値の BMI で認められるため、同様の検討を BMI 40 にて行なった。BMI 40 未満では相関係数は 0.92 と強い相関関係を認めた。BMI 40 以上では、感度 87.5% 特異度は条件を満たすものがおらず計測不能、BMI 40 未満では感度 92.7% 特異度は 100% であった。

今後の課題として、今回検査を行なった症例は元々睡眠時無呼吸症候群を疑われて入院した人のため、選択バイアスがかかっており、非常に高い特異度も、有病率自体が 94% と高いことより導き出されたものと考えられた。AHI と RDI の計測結果の差異に関しても、より多くの症例により適切なカットオフ値の設定が必要と思われる。BMI が高値の場合、一部の症例では AHI と RDI の乖離が著明であったが、BMI のカットオフによる感度、特異度の増加は認められなかった。これも今後、より多くの BMI 高値の症例を集め検討することが必要と考えられる。

E. 結論

[1] 本研究においては、OSAS と

non-OSAS において、血漿蛋白発現において多くの蛋白で差が認められた。それらの多くは炎症・免疫反応に関与していると想定された。単一のバイオマーカーは認められなかったが、大規模研究によりこれらが確認できれば、OSAS の原因・素因ないしは結果に免疫反応に関与しているとも考えられる。

[2] DBS 療法は、進行期パーキンソン病の運動障害のみならず、長期に渡り睡眠呼吸障害、睡眠障害を改善させる可能性が考えられた。

[3] SD-101 は、PSG や現在用いられている簡易検査と比べ、マット上で就寝するのみなのでモニターが外れる等の計測上の問題や、患者の苦痛の問題も改善が期待される。適切なカットオフ値の設定と、肥満度による評価をすることにより、スクリーニング、診断能とも有用となりうると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanabe N, et al : Subpleural perfusion as a predictor for a poor surgical outcome in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Chest* 141(4):929-934, 2012.
- 2) Li Q, et al : Upregulated p53 expression activates apoptotic

pathways in wild-type p53-bearing mesothelioma and enhances cytotoxicity of cisplatin and pemetrexed. *Cancer Gene Ther.* 19 (3): 218-228, 2012.

- 3) Johnson JA, et al : Cytoskeletal defects in Bmpr2-associated pulmonary arterial hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 302(5): L474-484, 2012.
- 4) Sakao S, et al : Survival of Japanese patients with pulmonary arterial hypertension after the introduction of endothelin receptor antagonists and/or phosphodiesterase type-5 inhibitors. *Intern Med* 51:2721-2726, 2012.
- 5) Nagakawa H, et al : Expression of a murine homolog of apoptosis-inducing human IL-24/MDA-7 in murine tumors fails to induce apoptosis or produce anti-tumor effects. *Cell Immunol.* 275:90-97, 2012.
- 6) Ashinuma H, et al : Antiproliferative action of metformin in human lung cancer cell lines. *Oncol Rep* 28:8-14, 2012.
- 7) Yamanaka M, et al : E1B-55 Kda-Defective Adenoviruses Activate p53 in Mesothelioma and Enhance Cytotoxicity of Anticancer Agents. *J Thorac Oncol.* 7(12):1850-1857, 2012.
- 8) Maruoka M, et al : Characterization

of myofibroblasts in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* 159: 119-127, 2012.

- 9) Kitazono-Saitoh M, et al : Interaction and cross-resistance of cisplatin and pemetrexed in malignant pleural mesothelioma cell lines. *Oncol Rep* 28:33-40, 2012.
- 10) Okamoto S, et al : Zoledronic acid produces antitumor effects on mesothelioma through apoptosis and S-Phase arrest in p53-independent and ras prenylation-independent manners. *J Thorac Oncol.* 7(5):873-882, 2012.
- 11) Ishizaki S, et al : Role of CD69 in acute lung injury. *Life Sci* 90:657-665, 2012.
- 12) Jujo T, et al : Characterization of sarcoma-like cells derived from endarterectomized tissues from patients with CTEPH and establishment of a mouse model of pulmonary artery intimal sarcoma. *Int J Oncol* 41:701-711, 2012.
- 13) Kono C, et al : Historical changes in epidemiology of diffuse panbronchiolitis. *Sarcoidosis vasculitis and diffuse lung diseases.* 29: 16-25, 2012.
- 14) Shigeta A, et al : CD40 amplifies Fas-mediated apoptosis: a mechanism contributing to emphysema. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 303(2):L141-151, 2012.
- 15) Igari H, et al : Immunogenicity of a monovalent A/H1pdm vaccine with or without prior seasonal influenza vaccine administration. *Clin Vaccine Immunol.* Epub Aug 1, 2012.
- 16) Sugiura T, et al : Role of 320-slice computerd tomography in the diagnostic of patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Chest.* Epub Oct 22, 2012.
- 17) Fessel JP, et al : Metabolomic analysis of bone morphogenetic protein receptor type 2 mutations in human pulmonary endothelium reveals widespread metabolic reprogramming. *Pulmonary Circulation* 2(2):201-213, 2012.
- 18) Ishida K, et al : Long-term outcome after pulmonary endarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *J Thorac Cardiovasc Surg* 144(2):321-326, 2012.
- 19) Sakairi Y, et al : Evaluation of a learning system for endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Respir Investig* 50(2):46-53, 2012.
- 20) Kawabata Y, et al : Desquamative interstitial pneumonia may progress to lung fibrosis as characterized

- radiologically. *Respirology* 17: 1214-1221, 2012.
- 21) Sakao S, et al : Molecular mechanisms of lung-specific toxicity induced by epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Oncol Lett* 4(5): 865-867, 2012.
- 22) Jujo T, et al : Metastatic gastric cancer from squamous cell lung carcinoma. *Intern Med* 51:1947-1948, 2012.
- 23) Yamano Y, et al : Antitumor activity of satraplatin in cisplatin-resistant oral squamous cell carcinoma cells. *Head Neck* 33(3): 309-17, 2011.
- 24) Yamaguchi K, et al : Clinical Implication of the Antidiuretic Hormone (ADH) Receptor Antagonist Mozavaptan Hydrochloride in Patients with Ectopic ADH Syndrome. *Jpn J Clin Oncol.* 41(1): 148-52, 2011.
- 25) Iwasawa S, et al : Upregulation of thioredoxin reductase 1 in human oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 25(3): 637-44, 2011.
- 26) Kitamura A, et al : Synergistic effect of non-transmissible Sendai virus vector encoding the c-myc suppressor FUSE-binding protein-interacting repressor plus cisplatin in the treatment of malignant pleural mesothelioma. *Cancer Sci* 102: 1366-1373, 2011.
- 27) Nagayoshi M, et al : Inhalation of *Stachybotrys chartarum* evokes pulmonary arterial remodeling in mice, attenuated by Rho-kinase inhibitor. *Mycopathologia* 172(1): 5-15, 2011.
- 28) Sakao S, et al : The effects of antiangiogenic compound SU5416 in a rat model of pulmonary arterial hypertension. *Respiration* 81 (3): 253-61, 2011.
- 29) Maruoka M, et al : Characterization of myofibroblasts in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* (Epub 2011.3.17)
- 30) Uehara M, T et al : Detailed distribution of acute pulmonary thromboemboli; Direct evidence for reduction of acquisition length and radiation dose for triple rule-out CT angiography. *Int J Cardiol* 147: 234-238, 2011.
- 31) Ishida K, et al : Long-term outcome after pulmonary endarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *J Thorac Cardiovasc Surg* (Epub 2011 Oct 10)
- 32) Tanabe N, et al : Subpleural perfusion as a predictor for a poor surgical outcome in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Chest* (Epub 2011 Sep 29)
- 33) Kantake M, et al : Association of

deep vein thrombosis type with clinical phenotype of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* (Epub 2011 Sep 17)

- 34) Tagawa M, et al : A Possible Anticancer Agent, Type III Interferon, Activates Cell Death Pathways and Produces Antitumor Effects. *Clin Dev Immunol* (Epub 2011 Oct 16)
- 35) Yamauchi K, et al : Attenuation of lung inflammation and fibrosis in CD69-deficient mice after intratracheal bleomycin. *Respir Res* 12:131-140, 2011.
- 36) Yano T, et al : Serum level of fibrinogen- α chain fragment increases in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ J* 75(11): 2675-82, 2011.
- 37) Yasuda T, et al : Rho-kinase inhibition alleviates pulmonary hypertension in transgenic mice expressing a dominant-negative type II bone morphogenetic protein receptor gene. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 301(5): L667-674, 2011.
- 38) Tsuyusaki J, et al : Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation is attenuated in CD69-deficient mice. *J Recep Signal Transduct Res*. 31(6): 434-439, 2011.
- 39) Sakao S, et al : The importance of epigenetics in the development of chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology* 16(7): 1053-1063, 2011.
- 40) Ikari J, et al : ACTH deficiency and PGI₂ therapy in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* 146(3): 449-450, 2011.
- 41) Saitoh M, et al : An early event of EGFR mutation in pleomorphic carcinoma of the lung. *Int J Clin Oncol*. 16(6): 770-773, 2011.
- 42) Chen Z, et al : Susceptibility to chronic thromboembolic pulmonary hypertension may be conferred by miR-759 via its targeted interaction with polymorphic fibrinogen alpha gene. *Human Genetics* 128(4): 443-452, 2010.
- 43) Tazawa R, et al : Inhaled granulocyte/macrophage-colony stimulating factor as therapy for pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Respir Crit Care Med* 181(12): 1345-1354, 2010.
- 44) Kobayashi H, et al : Radiation pneumonitis following twice-daily radiotherapy with concurrent carboplatin and paclitaxel in patients with stage III non-small-cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol* 40(5): 464-469, 2010.
- 45) Taniguchi H, et al : Pirfenidone in

idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 35(4): 821-829, 2010.

- 46) Takiguchi Y, et al : Phase I/II study of docetaxel and S-1, an oral fluorinated pyrimidine, for untreated advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 68 (3): 409-14, 2010.
- 47) Igari H, et al : Immunogenicity of a monovalent pandemic influenza A H1N1 vaccine in health-care workers of university hospital in Japan. *54(10): 618-624, 2010.*
- 48) Ma G, et al : Combinatory cytotoxic effects produced by E1B-55kDa-deleted adenoviruses and chemotherapeutic agents are dependent on the agents in esophageal carcinoma. *Cancer Gene Ther.* 17(11): 808-813, 2010.
- 49) Suzuki H, et al : Efficacy of perioperative administration of long-acting bronchodilator on postoperative pulmonary function and quality of life in lung cancer patients with chronic obstructive pulmonary disease. Preliminary results of a randomized control study. *Surg Today.* 40(10):923-30, 2010.
- 50) Sakao S, et al : Vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension: multiple cancer-like pathways and possible treatment modalities. *Int J Cardiol* 147(1): 4-12, 2010.
- 51) Sakao S, et al : Reversible or

Irreversible Remodeling in Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* 43 (6):629-34, 2010.

- 52) Nakamura M, et al : Early detection of COPD in patients with dyspnea on exertion in general practice. *Jpn J Clin Physiol* 40(4):199-205, 2010.
- 53) Yano T, et al : Juvenile pulmonary hypertension associated with fibromuscular dysplasia. *Internal Medicine* 49(22): 2487-92, 2010.
- 54) Amano H, et al : A case of the isolated peripheral pulmonary artery branch stenosis associated with multiple pulmonary artery aneurysms. *Internal Medicine* 49: 1895-1899, 2010.

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