

結果

試験に参加した COPD 患者は 22 名であり、そのうち男性が 18 名、女性が 4 名、平均年齢は 67 ± 7 歳であった。チオトロピウムの 8 週投与により、CASA-Q スコアの咳症状ドメイン、痰症状ドメイン、咳インパクトドメイン、痰インパクトドメインのいずれについても有意な改善が認められ

た (図 1)。また、サッカリンテストにより測定した鼻クリアランス時間は有意に短縮し (図 2)、喀痰の solid composition も有意に減少した (図 3)。

考察

気道における粘液産生の調節には迷走神経が重要な役割を果たしており、COPD ではそれが過緊張状態にあることがわかっている⁶⁾。したがって、

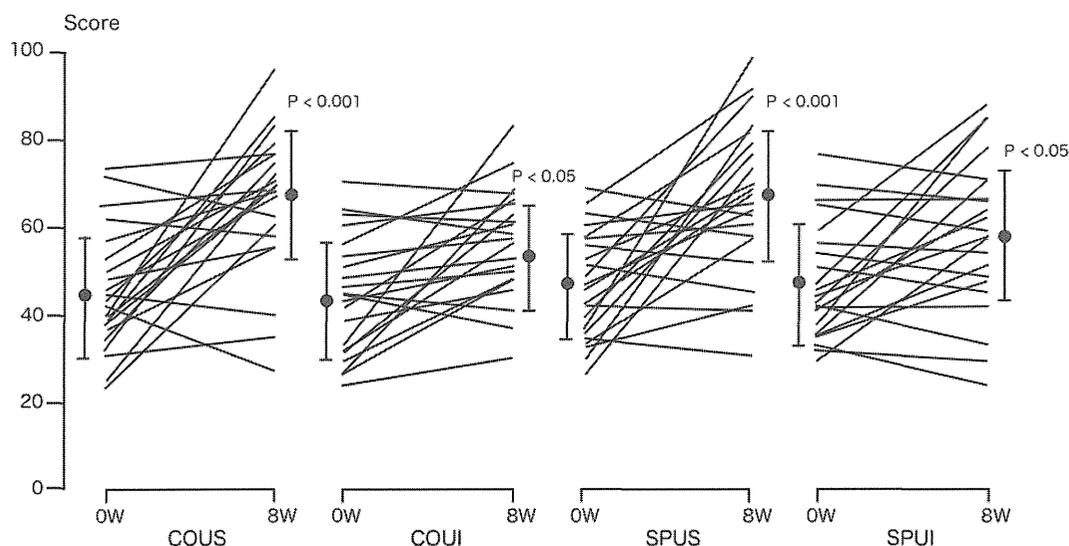


図 1. COPD 患者の CASA-Q ドメインスコアに対するチオトロピウムの効果。薬剤投与前と 8 週後における COUS (咳症状スコア), COUI (咳インパクトスコア), SPUS (痰症状スコア), SPUI (痰インパクトスコア) の各ドメインのスコアを示す。

鼻クリアランス時間 (min)

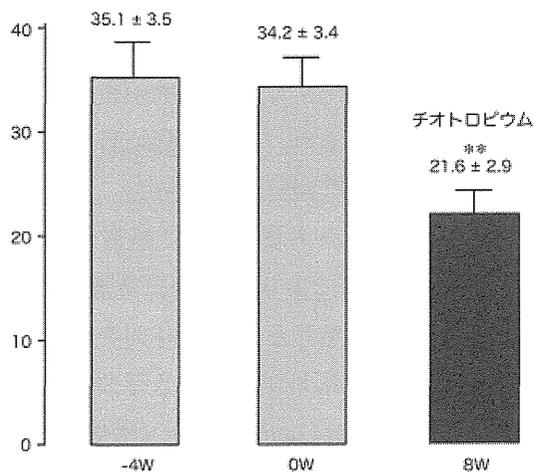


図 2. COPD 患者における鼻クリアランスの変化。チオトロピウム 8 週投与により鼻クリアランス時間は有意に短縮した。**P < 0.01 (投与前 0 W との比較)。

Solid composition (%)

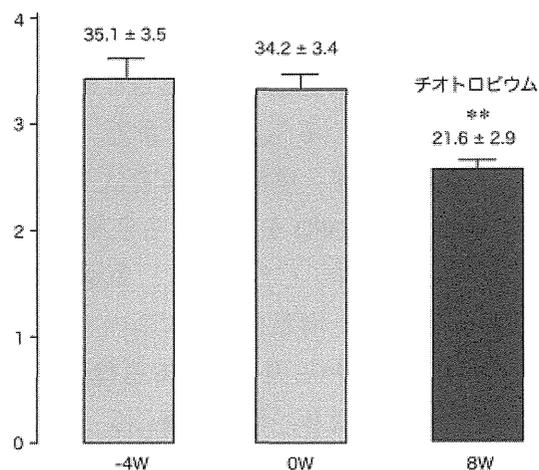


図 3. COPD 患者の喀痰 solid composition の変化。チオトロピウム 8 週投与により solid composition は有意に減少した。**P < 0.01 (投与前 0 W との比較)。

抗コリン薬であるチオトロピウムは、気管支拡張作用以外にも、気道分泌抑制効果を発揮するものと思われる。本研究では、COPD 患者にチオトロピウムを投与することにより、CASA-Q 質問票で評価した咳嗽および喀痰症状の改善が認められた。また、粘液分泌の抑制により喀痰の粘稠度が低下し、そのため気道クリアランスが改善したものと推測された。

結 論

チオトロピウムは COPD 患者に気管支拡張効果をもたらし息切れ・呼吸困難を軽減させるのみならず、気道粘液分泌を抑制することにより気道クリアランスを改善させることが明らかとなった。これらの作用は、COPD の増悪を抑制する可能性も示唆された。

参考文献

1. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott M, Buzatsu L, et al : The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 2645 - 2653
2. Sethi S, Murphy TF : Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2008 ; 359 : 2355 - 2365
3. Lindberg A, Jonsson AC, Rönmark E, Lundgren R, Larsson LG, Lundbäck B : Ten-year cumulative incidence of COPD and risk factors for incident disease in a symptomatic cohort. *Chest* 2005 ; 127 : 1544 - 1552
4. Guerra S, Sherrill DL, Venker C, Ceccato CM, Halonen M, Martinez FD : Chronic bronchitis before age 50 years predicts incident airflow limitation and mortality risk. *Thorax* 2009 ; 64 : 894 - 900
5. Crawford B, Monz B, Hohlfield J, Roche N, Rubin B, Magnussen H, et al : Development and validation of a cough and sputum assessment questionnaire. *Respir Med* 2008 ; 102 : 1545 - 1555
6. Fahy JV, Dickey BF : Airway mucus function and dysfunction. *N Engl J Med* 2010 ; 363 : 2233 - 2247

うつおよび睡眠障害が COPD の QOL および予後に及ぼす影響に関する研究

星野 友昭¹, 岡元 昌樹^{1,2}, 田尻 守拡¹, 北里 裕彦^{1,3}, 川山 智隆¹

久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部門¹, 国立病院機構九州医療センター呼吸器内科²
社会保険久留米第一病院呼吸器内科³

はじめに

COPD は多種多彩な併存症を有する全身疾患として認識されている¹⁾。重症例および長期在宅酸素療法や人工呼吸器管理例では、うつや睡眠障害などの精神衛生面の障害を来すことが知られている^{2,3)}。しかし、我が国における COPD 患者を対象としたうつや睡眠障害併存に関する報告はなかった。

われわれは、COPD 患者を対象にうつ状態や睡眠障害の併存率について検討し、前向き観察試験においてうつおよび睡眠障害併存が COPD 患者予後に及ぼす影響に関する研究を行った。

対象と方法

COPD 患者 85 名と健常者 46 名(非喫煙者 28 名, 喫煙者 18 名)を対象にうつおよび睡眠障害併存率を検討した。ただし、睡眠時無呼吸症候群患者は除いた。COPD の診断および重症度は GOLD¹⁾ に従った。COPD はうつおよび睡眠障害併存の有無で、QOL や運動耐容能の違いや 1 年間の前向きに増悪や入院の観察を行った。うつおよび睡眠障害は Center for epidemiologic studies depression⁴⁾ と Pittsburgh sleep quality index⁵⁾ を用い、それぞれ 16 点以上および 5.5 点以上をカットオフ値とした。QOL と運動耐容能はそれぞれ St. George's Respiratory Questionnaire⁶⁾ と MRC スコア⁷⁾ を使用した。

結果

COPD は健常人と比較して、うつおよび睡眠障害併存率(OR, 95% CI, p value)は、それぞれ 7.6(1.0

-56, p = 0.0303) と 1.8(1.0-3.2, p = 0.0419)であった。COPD 患者の前向き観察では、うつ併存 COPD 患者は早期に増悪や入院を経験し (p < 0.01), うつや睡眠障害併存 COPD 患者は年間の増悪および入院回数が有意に高かった (p < 0.01)。

考察

COPD 患者のうつおよび睡眠障害併存率は健常人に比較して有意に高かった。うつは COPD 患者の QOL や運動耐容を低下させ、増悪や入院の危険因子となり得る。COPD 患者の管理においてうつや睡眠障害などの精神衛生面の管理は重要になると思われる。

結論

COPD はうつや睡眠障害の危険因子で、うつや睡眠障害は、COPD 患者の QOL 低下や予後不良因子として重要である。

謝辞

久留米大学医学部精神神経科の内村直尚教授および小路純央に感謝いたします。

参考文献

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of COPD NHLBI/WHO Workshop report. 2010
2. Fan VS, *et al*: Sex, depression, and risk of hospitalization and mortality in chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Intern Med* 2007; 167: 2345-53
3. Schneider C, *et al*: COPD and the risk of depression. *Chest* 2010; 137: 341-7

4. Zigmond AS, *et al*: The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* 1983; 67: 361-70
5. Doi Y, *et al*: Psychometric assessment of subjective sleep quality using the Japanese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI-J) in psychiatric disordered and control subjects. *Psychiatry Res* 2000; 97: 165-72
6. Jones PW, *et al*: A self-complete measure of health status for chronic airflow limitation. The St. George's Respiratory Questionnaire. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1321-7
7. Mahler DA, *et al*: Evaluation of clinical methods for rating dyspnea. *Chest* 1988; 93: 580-6

高分解能 CT 所見による強皮症合併間質性肺障害の長期予後予測

星野 友昭¹, 岡元 昌樹^{1,2}, 田尻 守拓¹, 北里 裕彦¹, 川山 智隆¹

久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病部門¹, 国立病院機構九州医療センター呼吸器内科²

はじめに

間質性肺障害は、強皮症の約 80% に合併する最も重要な予後規定因子である。強皮症合併間質性肺障害 (SSc-ILD) の予後予測には、外科的肺生検による組織検査が必要であるが、全ての患者に手術を行うのは困難である。本研究では、高分解能 CT などの SSc-ILD の非侵襲的検査による予後予測因子を検出することを目的とした。

対象と方法

対象：過去 33 年間に当院に入院歴のある外科的肺生検を施行していない SSc-ILD 64 例。

解析項目、方法：高分解能 CT (HRCT) パターンを含む各臨床データと SSc-ILD の長期予後、急性増悪発症の有無との関連をレトロスペクティブに解析した。HRCT の解析は、全肺野における GGA, honeycombing などの病変の不均一性を評価した homogeneous or heterogeneous impression の分類¹⁾、副所見の範囲を両肺の上中下葉の 6 ゾーンで定量化したスコアリング (ground glass attenuation (GGA) with or without traction bronchiectasis (TBE), consolidation with or without TBE, reticulation, honeycombing) とした²⁾。HRCT 診断は、経験のある 2 名の呼吸器専門放射線科医師が行った。

結果

SSc-ILD は、観察期間中央値 2008.5 日間で、64 例中 22 例 (34.4%) が死亡した。その死因は、感染症が 31.8%、悪性疾患、ILD 急性増悪が 22.7%、ILD 慢性悪化が 9.1%、その他が 13.6% であった。

多変量解析で、独立した有意な長期予後不良因子であったのは、SSc-ILD では、免疫抑制剤非投与 ($P = 0.0179$)、HRCT 上の heterogeneous impression ($P = 0.0149$) であった。年齢、性別、喫煙歴、ステロイド投与、レイノー現象、抗 Scl 抗体陽性、合併症 (肺高血圧、悪性疾患、消化器疾患、腎障害) の有無、血清 KL-6 値、呼吸機能、HRCT の副所見のスコアリングは独立した長期予後予測因子ではなかった。

考察

HRCT 上の heterogeneous impression が SSc-ILD の独立した長期予後不良因子であることを証明した。従って、非侵襲的検査で、SSc-ILD の長期予後予測が可能であることが示された。

また、免疫抑制剤の非投与が独立した予後不良因子であった。この結果は、SSc-ILD に対する randomized controlled trial³⁾ の結果と一致しており、同疾患に対する免疫抑制剤の有効性を示している可能性がある。

結論

HRCT パターン、免疫抑制剤の投与の有無は、SSc-ILD の独立した長期予後予測因子である。

謝辞

国立病院機構九州医療センター放射線科の古谷清美先生に謝辞を申し上げます。

参考文献

1. Sumikawa H, et al: Usual interstitial pneumonia and nonspecific interstitial pneumonia: Correlation between CT findings at the site of biopsy with pathological

- diagnoses. *Eur J Radiol* 2011 ; 81 : 2919-24
2. Sumikawa H, et al: Computed tomography findings in pathological usual interstitial pneumonia: relationship to survival. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 433-439
3. Tashkin DP, et al: Cyclophosphamide versus placebo in scleroderma lung disease. *N Engl J Med* 2006; 354: 2655-66

リンパ脈管筋腫症患者における血清・乳糜液中 VEGF-D 値と臨床像の検討

安藤 克利¹, 瀬山 邦明¹, 小林 悦子¹, 栗原 正利², 久能木真喜子¹

郡司 陽子¹, 片岡 秀行², 星加 義人¹, 佐藤 輝彦¹, 高橋 和久¹

順天堂大学大学院医学研究科呼吸器内科学¹, 日産玉川病院気胸センター²

はじめに

リンパ脈管筋腫症 (LAM) は, 異常な平滑筋様細胞 (LAM 細胞) が, 肺や体軸中心のリンパ流路で増殖して病変を形成し, 病変内にリンパ管新生を伴う腫瘍性疾患である¹⁾。妊娠可能な年齢の女性に, 肺内で多発性の嚢胞が発生することで, 労作時息切れ, 気胸, 咳, 等, 呼吸器症状を契機に発症することが多いが, 全体の 15% 程度は, 乳び腹水, 腎血管筋脂肪腫 (Angiomyolipoma: AML) や腹部リンパ節腫大に伴う腹部膨満感などの胸郭外病変を契機に発症する¹⁾。

1990 年代, 結節性硬化症の原因遺伝子である *TSC1* と *TSC2* が同定されたことを契機に LAM の病態解明は飛躍的に進歩した^{2,3)}。現在, LAM の基本的病態は, LAM 細胞の増殖と転移, LAM 細胞により誘導されるリンパ管新生, 等のメカニズムで理解される⁴⁾。一般に, 腫瘍細胞が誘導するリンパ管新生やリンパ行性転移ではリンパ管内皮細胞の増殖因子である VEGF-C や VEGF-D が重要な役割を担う事が報告されている^{5,6)}。我々は, LAM の病態において VEGF-D の存在が重要であり⁷⁾, 血清中の VEGF-D 値は, 健常者と比較して高値である事, 一秒率や DL_{CO}/VA など肺機能の指標と負の相関を示す事, を報告した⁸⁾。その後, 慢性閉塞性肺疾患 (COPD), ランゲルハンス細胞組織球症, Sjögren 症候群や Birt-Hogg-Dubé (BHD) 症候群など他の嚢胞性疾患と比較しても有意に高値であり, 鑑別診断の一つとして使用可能であることが明らかにされた⁹⁾。一方, その cut off 値は 1,239 pg/ml との報告があるものの¹⁰⁾, 他の検討では 600 pg/ml 以上の場合, 診断の特異

度は 97.6% と高率で, 800 pg/ml 以上で, HRCT で LAM に典型的な嚢胞性病変を認めた場合には, 診断可能であるとしている¹¹⁾。さらに, シロリムスによる LAM の臨床試験では, シロリムス投与群でのみ血清 VEGF-D 値が低下し, 治療効果判定指標となりうる可能性も示された¹²⁾。

Moss らは, 血清 VEGF-D 値と LAM の臨床像との関連について検討し, リンパ系の LAM 病変 (リンパ流路の拡張, lymphangioliomyoma, 乳び胸水や腹水, 等) を有する患者では健常者と比較して血清 VEGF-D 値が有意に高かったものの (2,277 vs. 657 pg/ml, $p < 0.001$), 肺内病変のみの患者との間 (945 vs. 657 pg/ml, $p = 0.14$) に差を認めなかった事を報告した¹⁰⁾。また, AML の有無は血清 VEGF-D 値に影響しない可能性を示唆した。

血清 VEGF-D は LAM 細胞が産生・分泌すると考えられている。また, 血清 VEGF-D 値が高値を示す疾患は LAM 以外には肺癌, 食道癌などに限られ, LAM ほどの高値を示す疾患はない。従って, VEGF-D は LAM の多彩な臨床像, 病態, 疾患の進展等に重要な役割を担っていると推測されるが, その意義は十分には明らかになっていない。今回我々は LAM における VEGF-D の役割を明らかにするため, 血清中だけでなく乳糜液中の VEGF-D 値を測定し, 患者の臨床像とレトロスペクティブに比較, 検討した。

対象と方法

順天堂大学医学部附属順天堂医院呼吸器内科を受診した LAM 患者の内, 2012 年 10 月までに血清 VEGF-D を測定された 199 例を対象に,

VEGF-D 値と臨床像や診断時の肺機能検査結果の関連性について検討した。乳糜漏を有する症例については、乳糜液中の VEGF-D 値を測定し血清値と比較した。

血清、乳糜液は採取後 -70 度に保存し、VEGF-D は ELISA キットを用いて測定した⁸⁾。血清、乳糜液は採取後 -70°C に保存し測定時に解凍して使用した。

結果

(1) 対象

対象 199 症例 (sporadic LAM 179 例, TSC-LAM 20 例) は全例が女性で、症状出現時、診断時、血清採取時の年齢 (平均±標準偏差) は、それぞれ 34.5±8.3 歳, 36.7±8.9 歳, 38.9±9.1 歳であった。診断は、組織もしくは細胞診にて LAM と確定診断された症例が 158 例 (79.4%)、臨床診断例が 41 例 (20.6%) であった。臨床診断にあたっては、胸部 HRCT で LAM に典型的な嚢胞性病変を有し、TSC や AML などの臨床所見を有する¹³⁾、もしくは、血清 VEGF-D 値が 800 pg/ml 以上の症例とした¹¹⁾。

血清 VEGF-D の平均値、中央値はそれぞれ 2,468 (range 260-16,800), 1,619 pg/ml であった。血清 VEGF-D 値が 600, 800, 1239 pg/ml 以上の症例は、それぞれ 171 例 (85.9%)、154 例 (77.4%)、122 例 (61.3%) であった。

(2) 血清 VEGF-D 値の cut off 値を 800 pg/ml とした際の臨床像の比較

対象の内、組織診断された 158 例を血清 VEGF-D 値が 800 pg/ml 以上 (Group A) の 117 例と未満 (Group B) の 41 例の 2 群に分け、比較検討した (表 1)。両群で症状出現もしくは診断時の年齢に差を認めなかった。初発症状として胸郭外病変を契機に発症した症例は、Group A で有意に多く (13.7 vs. 0%, $p = 0.013$)、呼吸器症状、中でも気胸を契機に発症した症例が Group B で有意に多かった (43.6 vs. 78.0%, $p < 0.001$)。臨床所見で Group A は、乳糜漏を有する症例 (24.3

vs. 2.4%, $p = 0.002$) や後腹膜 (40.9 vs. 7.3%, $p < 0.001$)・骨盤内のリンパ節腫大 (27.8 vs. 2.4%, $p < 0.001$) を有する症例が Group B と比較して有意に多かったが、AML を有する症例は両群で差を認めなかった (23.4 vs. 24.4%, $p = 0.839$)。診断時の肺機能は、Group A が Group B と比較して、一秒率 (73.1 vs. 80.8%, $p = 0.032$) と DLCO (予測値に対する割合 [%pred]; 49.7 vs. 63.9%, $p = 0.001$) が有意に低かった。

(3) 臨床診断例

臨床診断された 41 例の内、血清 VEGF-D 値が 800 pg/ml 以下の症例は 4 例のみで全例、AML を有していた。一方、800 pg/ml 以上の 37 例の内、肺内病変のみの症例は 15 例、後腹膜もしくは骨盤内リンパ節腫大を有する例は 14 例であった。

(4) 血清 VEGF-D 値と臨床像の比較

表 1 で示した結果や既存の報告¹⁰⁾から AML が血清 VEGF-D 値に与える影響は低いと考え、対象 199 例を AML の有無にかかわらず、乳糜漏を有する例 [乳糜漏例 (30 例)]、乳糜漏を有さないが肺外病変を有する症例 (49 例)、肺内病変のみの症例 (120 例)、の 3 群に分類し、血清 VEGF-D 値と発症年齢と肺機能の相関を検討した。

結果 (2) と同様に VEGF-D 値の cut off 値を 800 pg/ml とし、それぞれの病型の割合を算出したところ、乳糜漏例や乳糜漏を有さないが肺外病変を有する症例の割合は 800 pg/ml 以上の症例で有意に多く、800 pg/ml 以下の症例の 91% は肺内病変のみであった (表 2)。血清 VEGF-D 値は、それぞれ 5,326 ± 3,718, 2,644 ± 1,883, 1,645 ± 1,708 pg/ml と乳糜漏例で最も高く (表 3)、次いで乳糜漏を有さないが肺外病変を有する症例、肺内病変のみの症例の順で有意に低くなった ($p < 0.001$)。乳糜漏例では、FVC ($r = -0.401$, $p = 0.038$)、DL_{CO} ($r = -0.380$, $p = 0.073$)、DL_{CO}/VA ($r = -0.413$, $p = 0.056$) の予測値に対する割合 (%pred) と血清 VEGF-D 値との間に負の相関を認めた (表 3)。一方、DL_{CO} %pred は肺内病変のみの症例におい

でも血清 VEGF-D 値と強い負の相関を示したが ($r = -0.250$, $p = 0.009$), 乳糜漏を有さないが肺外病変を有する症例では他の指標を含めて肺機能との間に相関を認めなかった。

(5) 乳糜液中の VEGF 値

乳糜液中の VEGF 値を測定した 11 例 (胸水 9 例, 腹水 2 例) は全例 sporadic LAM で, 症状出現時, 診断時, 血清および乳糜液採取時の年齢 (平均 ±

表 1. 血清 VEGF-D 値の cut off 値を 800 pg/ml とした際の組織診断 156 例の比較

	Group A ≥800 (n = 117)	Group B <800 (n = 41)	p 値
発症年齢 (歳)	33.7 ± 7.6	33.0 ± 8.8	0.652
診断年齢 (歳)	35.3 ± 7.9	35.0 ± 9.1	0.832
血清 VEGF-D 値測定時期 (歳)	37.7 ± 8.0	37.0 ± 9.2	0.585
Sporadic/TSC-associated LAM	106/11	39/2	0.517
初発症状 -N (%)			
呼吸器症状	93 (79.5)	41 (100)	<0.001
気胸	51 (43.6)	32 (78.0)	<0.001
呼吸困難	26 (22.2)	4 (7.3)	0.105
咳嗽	4 (3.4)	1 (2.4)	1.0
血痰	5 (4.3)	0	0.328
健診異常	7 (6.0)	4 (9.8)	0.478
乳糜漏	8 (6.8)	0	0.113
胸郭外症状	16 (13.7)	0	0.013
臨床的特徴 - no. (%)			
乳糜漏	28 (24.3)	1 (2.4)	0.002
胸水	21 (18.3)	0	0.002
腹水	17 (14.8)	1 (2.4)	0.043
縦隔リンパ節腫大	7 (5.2)	0	0.191
腎血管筋脂肪腫	31 (23.5)	10 (24.4)	0.839
後腹膜リンパ節腫大	47 (40.9)	3 (7.3)	<0.001
骨盤内リンパ節腫大	32 (27.8)	1 (2.4)	<0.001
リンパ浮腫	11 (9.6)	0	0.068
診断時の肺機能			
VC (L)	2.94 ± 0.58	2.76 ± 0.76	0.259
VC (% predicted)	95.7 ± 18.9	88.6 ± 24.6	0.071
FVC (L)	2.87 ± 0.61	2.64 ± 0.78	0.165
FVC (% predicted)	93.9 ± 27.4	83.7 ± 24.2	0.162
FEV ₁	2.10 ± 0.62	2.09 ± 0.74	0.610
FEV ₁ /FVC	73.1 ± 15.7	80.8 ± 23.3	0.032
FEV ₁ (% predicted)	81.0 ± 22.8	79.2 ± 27.1	0.978
DL _{CO} (mmol/min/mmHg)	11.1 ± 4.0	14.2 ± 5.5	0.001
DL _{CO} (% predicted)	49.7 ± 17.1	63.9 ± 25.7	0.001

表 2. 血清 VEGF-D 値の cut off 値を 800 pg/ml とした際の全対象 199 例の臨床像

	計	≥800 (n = 154)	<800 (n = 45)	p 値
乳糜漏を有する例	30 (15.1)	29 (18.8)	1 (2.2)	0.004
乳糜漏を有さないが肺外病変を有する症例	49 (24.6)	46 (29.9)	3 (6.7)	0.001
肺内病変のみの症例	120 (60.3)	79 (51.3)	41 (91.1)	<0.001

表 3. 血清 VEGF-D 値と臨床像の比較

血清 VEGF-D 値	乳糜漏を有する例 (n = 30)		乳糜漏を有さないが肺外病 変を有する症例 (n = 49)		肺内病変のみの症例 (n = 120)	
	r	p value	r	p value	r	p value
血清 VEGF-D 値	5,326 ± 3,718		2,644 ± 1,883		1,645 ± 1,708	
症状出現年齢	0.102	0.593	-0.097	0.506	0.052	0.576
VC %pred	-0.332	0.084	-0.032	0.831	0.158	0.094
FVC %pred	-0.401	0.038	0.032	0.833	0.186	0.054
FEV ₁ /FVC	-0.072	0.715	0.035	0.812	-0.186	0.045
FEV ₁ %pred	-0.317	0.100	0.041	0.783	-0.047	0.623
DL _{CO} %pred	-0.380	0.073	-0.129	0.398	-0.250	0.009
DL _{CO} /VA %pred	-0.413	0.056	-0.082	0.598	-0.251	0.011

標準偏差)は,それぞれ 29.4 ± 4.6 歳, 31.7 ± 4.8 歳, 34.6 ± 4.8 歳であった。

乳糜液中の VEGF-D 値は, 平均, 中央値がそれぞれ 10,839 (range 5,580-17,639), 9,072 pg/ml であった。同時期に採取した血清 VEGF-D の平均値, 中央値は, 5,098 (range 976-6,380), 4,140 pg/ml で, 乳糜液中の VEGF-D 値と正の相関を認めた ($r = 0.700$, $p = 0.016$)。VEGF-D の乳糜液/血清比は 2.95 ± 2.03 (range 1.04-8.90) といずれの症例も乳糜液中の VEGF-D は血清より高値であった。

考 察

今回我々は, 当院に受診歴を有する LAM 患者の血清もしくは乳糜液中 VEGF-D 値と臨床像の比較検討を行った。前述の通り, 血清 VEGF-D 値の cut off 値に関する報告は複数なされているものの^{10,11)}, 本研究では病理診断例の内, 800 pg/ml 以下の症例は全体の 22.6%であった。また本値が 800 pg/ml 以上の症例 (Group A) は, 800 pg/ml 未満の症例 (Group B) と比較して乳糜漏や肺外病変を有する症例が有意に多く, 診断時の DL_{CO} は有意に低かった。一方, AML を有する割合は両群で差がなく, 既存の報告と類似していた^{10,11)}。

LAM の臨床像との関連性を検討したところ,

血清 VEGF-D は乳糜漏例で最も高く, 次いで乳糜漏を有さないが肺外病変を有する症例, 肺内病変のみの症例の順で有意に低くなる事が判明した。肺機能との相関では, 肺内病変のみの症例や乳糜漏例では, 1 秒率や %DL_{CO} との間に負の相関が認められたため, 血清 VEGF-D 値は LAM の病勢 (肺機能を指標とした重症度) と関連すると考えられた。

LAM で血清 VEGF-D が高値を示すのは, LAM 細胞が VEGF-D を産生・分泌するためと考えられる¹⁰⁾。しかし, 肺胞洗浄液では高値ではないことが報告されている。今回の検討では, 乳糜液中 (胸水 9 例, 腹水 2 例) の VEGF-D 値は, 血清値と比較して有意に高く (平均 10,839 vs. 5,098 pg/ml, $p < 0.001$), 血清値と相関していた。従って, LAM 細胞が産生する VEGF-D はリンパ液中に放出され, LAM 病態の形成に関与している可能性が示唆される。

結 論

- 1) 血清 VEGF-D 値は, 肺内病変のみの症例や乳糜漏例において, LAM の病勢と関連している。
- 2) LAM 細胞は VEGF-D をリンパ液中に放出することで, リンパ管新生やリンパ行性転移を誘導している可能性がある。

参考文献

1. 林田美江, 藤本圭作, 久保恵嗣, 他: 肺リンパ管筋腫症に関する全国疫学調査, 追跡調査および第 2 回目全国横断調査. 厚生労働省難治性疾患呼吸不全に関する調査研究. 平成 19 年度総括・分担研究報告書, 2008 ; 37-41
2. Carsillo T, Astrinidis A, Henske EP : Mutations in the tuberous sclerosis complex gene TSC2 are a cause of sporadic pulmonary lymphangioleiomyomatosis. Proc Natl Acad Sci USA 2000 ; 97 : 6085-90
3. Sato T, Seyama K, Fujii H, et al : Mutation analysis of the TSC1 and TSC2 genes in Japanese patients with pulmonary lymphangioleiomyomatosis. J Hum Genet 2002 ; 47 : 20-8
4. 安藤克利, 瀬山邦明 : リンパ管筋腫症 (LAM) の分子病態学. 分子呼吸器病, 2012 ; 16 : 47-51
5. Achen MG, Jeltsch M, Kukk E, et al: Vascular endothelial growth factor D (VEGF-D) is a ligand for the tyrosine kinases VEGF receptor 2 (Flk1) and VEGF receptor 3 (Flt4). Proc Natl Acad Sci U S A. 1998; 95 (2): 548-53
6. Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, et al: VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. Nat Med. 2001 ; 7 (2) : 186-91
7. Kumasaka T, Seyama K, Mitani K, et al: Lymphangiogenesis in lymphangioleiomyomatosis: its implication in the progression of lymphangioleiomyomatosis. Am J Surg Pathol 2004 ; 28 : 1007-16
8. Seyama K, Kumasaka T, Souma S, et al: Vascular endothelial growth factor-D is increased in serum of patients with lymphangioleiomyomatosis. Lymphat Res Biol 2006 ; 4 : 143-52
9. Young LR, Inoue Y, McCormack F: Diagnostic potential of serum VEGF-D for lymphangioleiomyomatosis. N Engl J Med. 2008 ; 358 (2) : 199-200
10. Glasgow CG, Avila NA, Lin JP, et al: Serum vascular endothelial growth factor-D levels in patients with lymphangioleiomyomatosis reflect lymphatic involvement. Chest 2009 ; 135 : 1293-300
11. Young LR , VanDyke R, Gulleman PM, et al: Serum vascular endothelial growth factor-D Prospectively distinguishes lymphangioleiomyomatosis from other diseases. CHEST 2010 ; 138 : 674-81
12. McCormack FX, Inoue Y, Moss J, et al: Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioleiomyomatosis. N. Engl. J. Med. 2011 ; 364 : 1595-606
13. 林田美江, 瀬山邦明, 井上義一, 他: 特定疾患治療研究事業対象疾患 リンパ管筋腫症 (LAM) 認定基準の解説. 日呼吸会誌, 2011 ; 49 (2) : 67-74

リンパ脈管筋腫症における各種血清バイオマーカーの検討

井上 義一, 広瀬 雅樹, 松室 昭子, 新井 徹, 杉本 親寿
小橋 保夫, 橋 和延, 北市 正則, 審良 正則, 岡田 全司

国立病院機構近畿中央胸部疾患センター

はじめに

リンパ脈管筋腫症 (LAM) は主に妊娠可能な女性の肺に嚢胞形成を伴う進行性の稀少肺疾患である。我々は、これまでに LAM 患者の血清中 vascular endothelial growth factor (VEGF)-D 濃度が診断、経過観察のバイオマーカーとして有用であることを報告してきた。①以前報告した LAM の診断に有用と考えている血清 VEGF-D 値 800 pg/ml のカットオフについて検討, VEGF-D 高値 (> 800 pg/ml) を示しながら, LAM と診断出来なかった症例 (2 例) の検討を行う。②予後不良例 (死亡例 5 例) における, VEGF-D を中心とする血清バイオマーカーの変動を検討する。

対象と方法

対象の臨床的背景を表 1 に示す。

(A) 我々の既報に症例を追加し血清 VEGF-D 800 pg/ml 以上を呈した症例の診断と臨床像を確認する。

(B) また死亡例 5 例 (弧発性 LAM 死亡 4 症例,

TSC 合併 LAM1 症例) の血清中の VEGF-D, KL-6, SP-A, SP-D, アンギオテンシン変換酵素 (ACE) 等の各種血清バイオマーカーを測定, 呼吸機能等との関係を検討する。

結果

(A) 血清 VEGF-D 800 pg/ml 以上の症例の検討:

今回の検討において血清中の VEGF-D 値が 800 pg/ml 以上を示した症例の 98% は LAM であった。以下の 2 例の患者は 800 pg/ml 以上であったが LAM と診断しなかった。

- 53 歳女性: VEGF-D 600 ~ 4300 pg/ml と変動。右下肺に限局した肺嚢胞症。気胸時の病路組織で LAM 所見認めず。
- 63 歳, 男性。シェーグレン症候群, 間質性肺炎。VEGF-D は 1185 pg/ml と増加。

(A) LAM 死亡例 5 例における血清中の各種バイオマーカーの変動:

- 25 歳女性, 結節性硬化症 LAM。てんかん発作を繰り返し死亡した。VEGF-D は経過を通じ

表 1. 対象症例の背景。下段は死亡例。

		N (F/M)	Nationality	*Age (yrs)			Smoking	
				mean ± SD	Current	Ex	Never	Unknown
LAM (alive)	Sporadic-	88 (88/0)	Japanese	41 ± 9	1	17	68	2
	TSC-	12 (12/0)	Japanese	40 ± 12	1	2	9	0
LAM (dead)	Sporadic-	4 (4/0)	Japanese	38 ± 8	0	4	0	0
	TSC-	1 (1/0)	Japanese	25	0	0	1	0
Total LAM		5 (5/0)		41 ± 10	0	4	1	0
Control		66 (40/26)	Japanese	44 ± 10	8	13	32	13

*Age at the first visit to our hospital

て100000 pg/ml前後の高値を維持した。AML破裂時に血清 VEGF-Dが増加した(図 1a)。

- (2) 45歳女性。孤発性LAM。呼吸不全が進行し肺移植登録。またシロリムスを開始した。呼吸不全のため死亡。VEGF-Dはシロリムス投与開始後6000から1000 pg/mlまで低下した(図 1b)。
- (3) 32歳女性。孤発性LAM。呼吸不全のため死亡。気胸を2回発症。VEGF-Dは2000 pg/ml前後で持続していた(図 1c)。
- (4) 29歳女性。孤発性LAM。乳び胸と下肢リンパ浮腫が著明であった。抗エストロゲン療法、食餌療法を行い軽快。腹部腫瘍の破裂で死亡。VEGF-Dは4000 pg/ml前後で安定持続するも、誘因不明の増加あり(図 1d)。

- (5) 42歳女性。孤発性LAM。肺移植登録。抗エストロゲン療法を行うも呼吸不全が進行し死亡。VEGF-Dは2000～4000 pg/ml前後比較的安定(図 1e)。

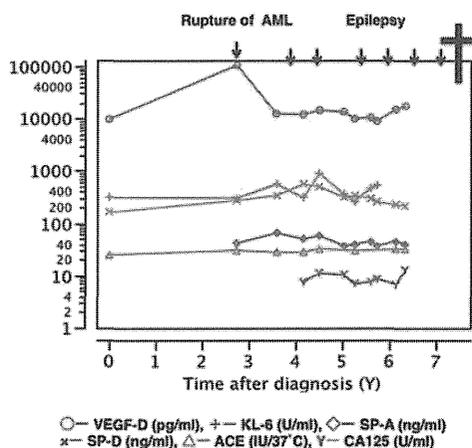


図 1a. 血清バイオマーカーの変動

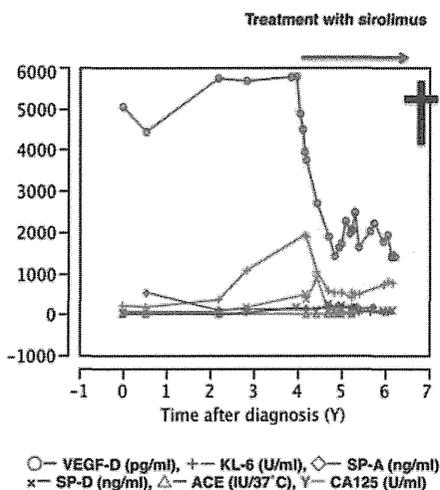


図 1b. 血清バイオマーカーの変動

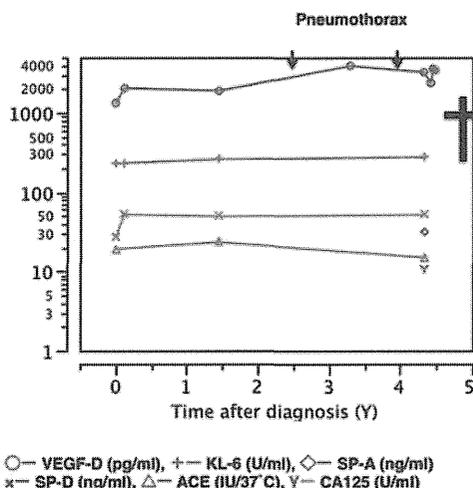


図 1c. 血清バイオマーカーの変動

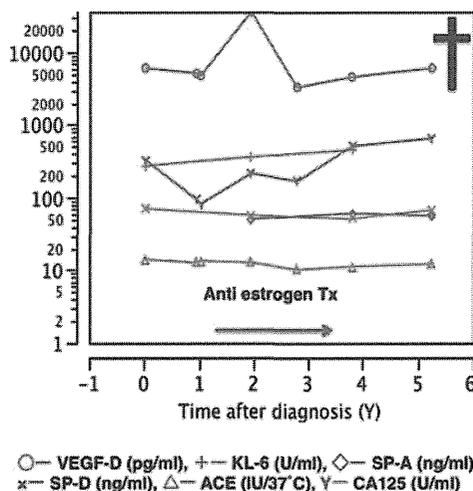


図 1d. 血清バイオマーカーの変動

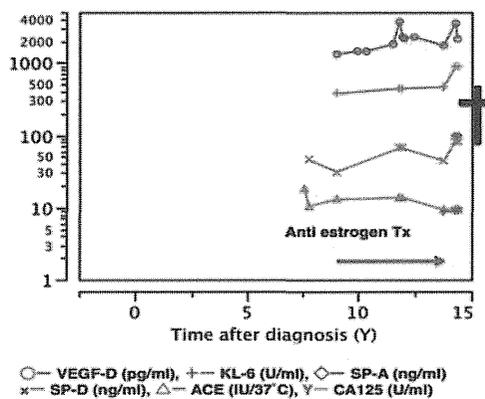


図 1e. 血清バイオマーカーの変動

考 案

LAM 死亡症例において、血清中の各種バイオマーカーを検討した結果、VEGF-D は病状の悪化にも係わらず、高値で持続していた。VEGF-D は AML の破裂時、他に特に誘因無く増加する事があった。また、血清中の VEGF-D 値が 800 pg/ml 以上を示すも LAM の診断が出来なかった 2 症例を認めた。

LAM 患者に対する臨床診断において血清中の VEGF-D 値の有用性が示され¹⁾、カットオフ値として 800 pg/ml が有望と報告されている²⁻³⁾。これらの報告では 800 pg/ml 以下の LAM 患者も示されているが、LAM 患者以外で 800 pg/ml 以上を示す症例は報告されていなかった。今回の検討で 800 pg/ml 以上を示した 2 症例は肺嚢胞症とシェーグレン症候群に伴う間質性肺炎の症例であった。

LAM 死亡症例におけるバイオマーカーの検討において VEGF-D が最も有用なマーカーと考えられ、またシロリムスをはじめとする mTOR 阻害剤の治療ではその効果の指標になりうると考えられる⁴⁾。

結 論

血清 VEGF-D は LAM の診断に有用であり、mTOR 阻害剤の効果判定に有用である可能性がある。非喫煙者、女性で、典型的な HRCT 所見を認め、血清中 VEGF-D > 800 pg/ml である場合、LAM の診断的価値があるが、非典型例では、診断は慎重を要する。

参考文献

1. Young LR, Inoue Y, McCormack FX: Diagnostic potential of serum VEGF-D for lymphangioliomyomatosis. *N Engl J Med.* 358 (2) : 199-200, 2008
2. Seyama K, Kumasaka T, Souma S, Sato T, Kurihara M, Mitani K, Tominaga S, Fukuchi Y: Vascular endothelial growth factor-D is increased in serum of patients with lymphangioliomyomatosis. *Lymphat Res Biol.* 4 (3): 143-52, 2006
3. Young LR, Vandyke R, Gulleman PM, Inoue Y, Brown KK, Schmidt LS, Linehan WM, Hajjar F, Kinder BW, Trapnell BC, Bissler JJ, Franz DN, McCormack FX: Serum vascular endothelial growth factor-D prospectively distinguishes lymphangioliomyomatosis from other diseases. *Chest.* 138 (3) : 674-81, 2010
4. McCormack FX, Inoue Y, Moss J, et. al.: Efficacy and safety of sirolimus in lymphangioliomyomatosis. *N Engl J Med.* 364 (17) : 1595-606, 2011

非肥満の閉塞型睡眠時無呼吸症候群における メタボリックシンドロームの検討

赤柴 恒人^{1,2}, 永岡 賢一², 赤星 俊樹², 植松 昭仁², 岡本 直樹², 伊芸 孔明²
神津 悠², 清藤奈津子¹, 清藤 晃司², 桂 一仁², 橋本 修²

日本大学医学部睡眠学¹, 呼吸器内科学分野²

はじめに

閉塞型睡眠時無呼吸症候群(Obstructive sleep apnea syndrome: OSAS)の多くは肥満を伴っているため Metabolic syndrome (Mets)の合併が多いことが報告されている¹⁾。しかし、近年の研究で、OSASは、肥満とは独立してMets発症のリスクファクターであることが報告されている^{2,3)}。我々もこれまでの報告で、非肥満のOSAS患者でも、高率にMetsを合併すること⁴⁾、非肥満OSAS患者の内臓脂肪量がOSASの指標である無呼吸-低呼吸指数(Apnea-hypopnea index: AHI)と有意に関連することを報告し⁵⁾、肥満とは無関係に内臓脂肪がOSASの発症に重要な役割を果たしている可能性を示唆した。しかし、非肥満のOSAS患者の内臓脂肪が正常者と差があるかどうかはほとんど報告がなく不明であった。ごく最近、非肥満のOSAS患者と健常コントロールの内臓脂肪を検討した研究が報告されたが⁶⁾、それによると、男性では内臓脂肪が、女性では皮下脂肪がOSAS患者で有意に大きいことが報告されている。しかしわが国での検討は未だ報告されていない。そこで非肥満のOSAS患者と健常コントロールの内臓脂肪を比較検討し、非肥満者におけるOSASとMetsとの関連を検討することを目的として本研究を行った。

対象と方法

対象は著明なイビキや日中の眠気などを主訴に日本大学板橋病院睡眠センターを受診し、終夜睡眠ポリグラフィー(Polysomnography: PSG)の結果、AHI>5を示しOSASと確定診断された症例のう

ち Body mass index (BMI) < 25 kg/m²であった男性18例である。外来受診時に安静座位で血圧を測定し、朝の空腹時に中性脂肪、HDL-Cholesterol、血糖値を測定した。腹部CTは臍部で測定し、通常の方法で内臓脂肪面積、皮下脂肪面積を算出した。

OSAS患者と年齢が近似し、BMI < 25 kg/m²の健常男性10例をコントロールとした。全例睡眠中の著明なイビキや日中の眠気などOSASにもとづく臨床症状を認めなかった。睡眠検査は簡易睡眠モニター機器(日本光電社製SAS2100)を用いて、2晩施行し、2日間のAHIを平均して算出した。コントロール群も早朝空腹時に採血し同様の検査を行い、安静時に座位で血圧を測定した。腹部CT検査も同様に検査を行った。

結果

図1に患者群におけるAHIと内臓脂肪面積との関係を示す。両者には $r=0.61$ の有意な正の相関が認められた。しかし、desaturationとの関連は認められなかった。(図2)

OSASとコントロール群の背景の比較を表1に示す。年齢、BMI、ウエスト径は有意差がなく、患者群のAHIが平均36.0であったのに対し、コントロール群の平均は5.0と有意な差を認めた。SpO₂の低下の程度も患者群で有意に大きかった。表2に腹部CTの結果を示すが、内臓脂肪面積、皮下脂肪面積とも両者に差を認めなかった。収縮期血圧、拡張期血圧、HDLコレステロール値は両者に差を認めなかった。中性脂肪と空腹時血糖は有意な差は認めなかったが、患者群で高い傾向

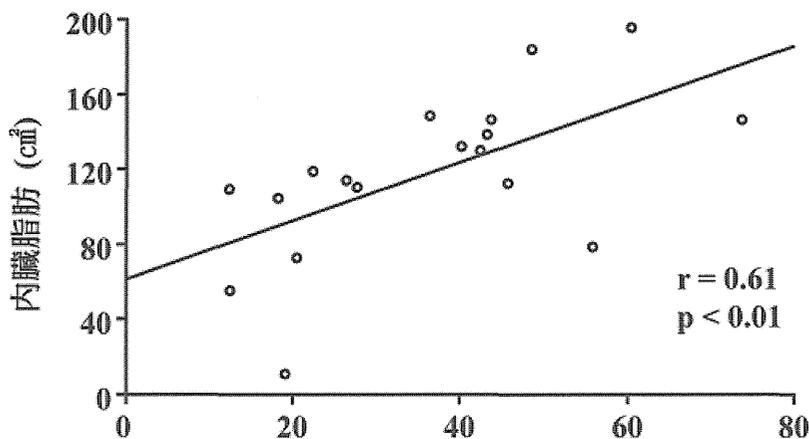


図1. 内臓脂肪とAHIの関係

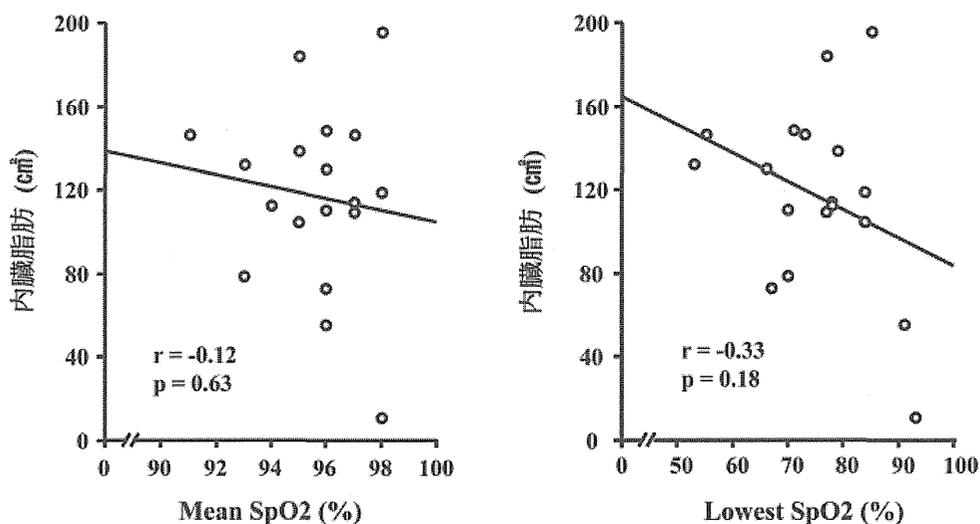


図2. 内臓脂肪と酸素レベルの関係

表1. 背景の比較 (1)

	Control	Patient	p-value
No. of Case	10	18	
Age (years)	61.9 ± 10.1	59.3 ± 12.2	NS
Waist (cm)	82.9 ± 5.6	84.7 ± 4.4	NS
BMI (kg/m ²)	22.3 ± 1.0	23.5 ± 0.9	NS
AHI (no./h)	5.0 ± 1.6	36.0 ± 17.4	<0.01
Mean SaO ₂ (%)	96.8 ± 1.3	95.6 ± 1.9	<0.05
Lowest SaO ₂ (%)	86.3 ± 4.7	75.1 ± 10.8	<0.01

表2. 背景の比較 (2)

	Control	Patient	p-value
内臓脂肪面積 (cm ²)	95.6 ± 33.2	117.3 ± 44.1	NS
皮下脂肪面積 (cm ²)	106.6 ± 39.8	115.9 ± 33.4	NS
内臓/皮下脂肪比	0.97 ± 0.34	1.03 ± 0.42	NS
収縮期血圧 (mmHg)	118.9 ± 20.1	133.9 ± 11.9	NS
拡張期血圧 (mmHg)	72.3 ± 11.9	77.9 ± 10.0	NS
HDL-Chol (mg/dl)	59.7 ± 17.1	57.7 ± 16.4	NS
中性脂肪 (mg/dl)	77.4 ± 39.5	114.4 ± 57.0	<0.1
空腹時血糖 (mg/dl)	90.3 ± 10.2	112.5 ± 35.9	<0.1

を認めた (p<0.1)。

次に両群における Mets の発症頻度を検討した。内臓脂肪面積 >100 m² に高血圧, 脂質異常, 耐糖能異常のうちの2項目以上を Mets とすると,

表3に示すようにコントロール群では Mets が一例も認められなかったのに対し, 患者群では18例中7例, 38.9%に Mets が認められ, この差は統計学的に有意であった。

表 3. MS 発症頻度の比較

	OSAS N = 18 n (%)	non-OSAS N = 10 n (%)	p value
内臓脂肪面積 ≥ 100 (cm ²)	14 (77.8)	5 (50)	N.S
sBP ≥ 135 and/or dBP ≥ 85 (mmHg)	13 (72.2)	5 (50)	N.S
TG ≥ 150 and/or HDL-cholesterol < 40 (mg/dl)	10 (55.6)	1 (10)	P < 0.05
FBS ≥ 110 (mg/dl)	4 (22.2)	0 (0)	N.S
Metabolic Syndrome	7 (38.9)	0 (0)	P < 0.05

考 察

近年, OSAS と糖代謝異常との関連が注目され, OSAS は Mets 発症のリスクファクターであることが明らかになっている⁷⁾. Mets は肥満をベースとした耐糖能異常がその本質として考えられている。OSAS 患者の多くが肥満していることを考えれば, OSAS に Mets が合併し易いのは当然とも考えられる。事実, 欧米の報告では OSAS 患者の 80% 以上が Mets を合併していることが報告され⁸⁾, わが国の検討でも, 約 50% の OSAS 患者に Mets が認められるとされている⁹⁾。しかし, 最近の検討では, 肥満とは独立して OSAS 自体が耐糖能異常に関与することが明らかになっている^{2,3)}。また, Mets の発症には肥満度や腹囲よりも内臓脂肪が直接的に関連することが報告され, OSAS との関連も報告されている¹⁰⁾。そこで我々は肥満のない比較的重症の OSAS 例に注目し, その内臓脂肪との関連を検討した。図 1 に示すように, AHI は内臓脂肪面積と有意に相関し, 非肥満においても内臓脂肪の存在が OSAS と直接的に関連することが示唆された。しかし, 図 2 に示すように低酸素の指標とは関連を認めなかった。これまでの報告では, OSAS 患者に認められる間欠的な低酸素状態が耐糖能異常を惹起させ糖尿病発症のリスクにつながることを示されている。我々の結果は, これまでの報告とは一致せず低酸素状態よりも AHI が内臓脂肪の増加に関与した結果であった。肥満がなくとも内臓脂肪の増加に OSAS が関与する可能性が考えられ, 今後更なる検討が

必要であろう。

本研究の第一の目的は肥満のない健常コントロールと OSAS 患者を比較することである。年齢と肥満度を一致させたコントロール 10 例については Polysomnography を行うことが難しく簡易睡眠モニターで AHI を測定したが, AHI は平均 5.0 であり健常コントロールの条件を満たしていた。両者の比較では, 表 1-2 に示すように, 内臓脂肪面積, 皮下脂肪面積, 血圧, コレステロール, 中性脂肪, 血糖値のいずれにも有意差は認められず, 肥満がない場合には, コントロール群と患者群では各指標に差がないと考えられた。最近, Kritikou ら⁶⁾ は, 我々と同様に健常者と OSAS 患者の内臓脂肪面積を比較し, 男性においては, 年齢, 肥満度を一致させても患者群の内臓脂肪面積はコントロール群に比較して有意に増大していると述べている。我々も, 当初は肥満度を一致させても患者群で内臓脂肪は増加していると考えていたが, 本研究の結果では両群間で差がなく非肥満群では, 内臓脂肪と OSAS との関連は否定的と考えられた。しかし, 両群における Mets の発症頻度を検討してみると, 表 3 に示すように, コントロール群には 1 例も認められなかったのに対し, 患者群の 18 例中 7 例, 38.9% に Mets が認められた。その差は有意であり, 患者群では, 肥満度, 内臓脂肪面積とは独立して, OSAS 自体が Mets の発症に関与する可能性が示唆された。その原因については未だ明らかではなく, 今後, 更なる検討が必要であろう。

結 論

非肥満の OSAS 患者と健常コントロールの内臓脂肪と Mets との関連を検討した。患者群の内臓脂肪面積は AHI と有意に相関し、OSAS が内臓脂肪蓄積に大きな役割を果たしていると考えられた。健常コントロールとの比較では、内臓脂肪面積や血圧、HDL コレステロール、中性脂肪、血糖値に有意差を認めなかった。しかし、Mets の合併率を検討したところ、コントロール群では 1 例も認められなかったのに対し、患者群では 18 例中 7 例 (38.9%) と高頻度に認められ、Mets の合併は肥満度や、内臓脂肪とは独立して OSAS に関連する可能性が示唆された。

参考文献

1. 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
2. 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
3. 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
4. Akahoshi T, Umematsu A, Akashiba T, et al: Obstructive sleep apnoea is associated with risk factors comprising the metabolic syndrome. *Respirology* 2010; 15: 1122-1126
5. 赤柴恒人他: 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. 厚生労働省研究費補助金, 難治性疾患克服事業呼吸不全に関する調査研究班 平成 21 年度報告書, 267-271, 2010
6. Kritikou I, Basta M, Tappouni R et al: Sleep apnea and visceral adiposity in middle-aged men and women. *Eur Respir J* June 27. 2012 (Epub ahead of print)
7. Levy P, Bonsignore MR, Eckel J: Sleep, sleep-disordered breathing and metabolic consequences. *Eur Respir J* 2009; 34: 243-260
8. Coughlin SR, Mawdley 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
9. Sasanabe R, Banno K, Otake K, et al: Metabolic syndrome in Japanese patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Hypertens Res* 2006; 29: 315-322
10. 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

舌筋と舌下神経核の活動調節におけるオレキシンとアデノシンの役割

黄 志力, 裏出 良博

(公財) 大阪バイオサイエンス研究所

はじめに

現代社会では、日本人の5人に1人は睡眠障害を抱え、9人に1人が睡眠薬を服用していると言われ、不眠症などの睡眠障害が大きな社会問題になっている。2003年に起きた新幹線運転士の居眠り運転は、睡眠障害のひとつである睡眠時無呼吸症候群が原因であった。また、トラック運転手で超過勤務の多い人ほど睡眠障害があるとの調査結果があり、睡眠に関する問題が原因とみられる産業事故の調査・対策ならびに睡眠障害に対する研究が急務となっている。

睡眠時無呼吸症候群（睡眠呼吸障害）は、睡眠中に無呼吸あるいは低呼吸（呼吸の減弱）が起こる疾患であり、数%以上の罹患率を示す頻度の高い睡眠障害である。この疾患の病態を分子、細胞レベルで調べるためには適切な動物モデルが必要である。現在、一般的に用いられている睡眠時無呼吸症候群（睡眠呼吸障害）の動物モデルは、マウス・ラットなどの齧歯類を対象に、一定の時間間隔でケージ内に間欠的に低酸素を導入する間欠的低酸素モデルである。このモデルは簡便かつ長期的に低酸素状態を起こせるが、睡眠・覚醒状態に関係なく低酸素ガスに曝露するため、睡眠時にのみ低酸素状態になる睡眠時無呼吸症候群とは大きく状況が異なる。しかも、睡眠時無呼吸症候群において覚醒の引き金になるのは低酸素より高二酸化炭素であると考えられるが、従来モデルでは高二酸化炭素ガスに曝露しておらず、二酸化炭素の睡眠障害への影響は調べられていない。従って、ヒトの睡眠時無呼吸症候群により近いモデルの開発が求められている。

我々は、マウスの脳波・筋電図を測定しながら

全自動で継続的に睡眠・覚醒を解析し、睡眠時に特異的に低酸素と高二酸化炭素をケージ内に導入する実験系を開発した（特開 2006-014729）。一昨年度までに、この睡眠時無呼吸症候群の病態に近いモデル実験系を用いて、睡眠時の呼吸障害はマウスにおいても、ヒトと同様に高血圧及び高血糖を来すことを報告した。また、LC-MS/MS法を用いてPGD₂代謝物である Tetranor-PGDM を測定したところ、睡眠呼吸障害再現後では尿中 Tetranor-PGDM 量が減少していた。このモデルは睡眠呼吸障害における二次性の高血圧及び糖尿病の発症メカニズムの解明に有効である。

一方、オレキシン欠損マウスはレム睡眠中に無呼吸発作を起こす。しかし、オレキシンの呼吸制御における役割は解明されていない。そこで、オレキシンの舌筋と舌下神経核の活動調節における役割を調べた。昨年度、オレキシシン A を舌下神経核に投与すると舌筋の活動が増加し、この効果がオレキシシン A 受容体拮抗剤の前処理により減衰することを見出した。また、外側視床下部もしくは舌下神経核のオレキシシン受容体発現神経の損傷が、舌下神経核と舌筋の活動を顕著に減少させることも見出した。これらの結果は、オレキシシン A が舌下神経核において舌筋の活動を促進する可能性を示している。そこで、本年度は、これらの実験を継続した。

対象と方法

(1) 動物

11 週齢の雄の Sprague-Dawley ラット（体重 250-350 g）を使用した。ラットは、温度 22.0 ± 0.5°C、12 時間の明暗周期で飼育し、放射線滅菌飼料と水を自由に摂取させた。また、本研究で行

う動物実験については、研究機関等における動物実験等の実施に関する基本方針 (H18.6.1) に従い、当研究所の実験動物委員会の審査を受け、承認を得ている。

(2) 舌筋と舌下神経核の活動測定

ウレタン (1g/kg) の腹腔内投与による麻酔を行なった後、ラットの気管切開を行った。大腿動脈と頸静脈それぞれに血圧測定と静脈内注入用の挿管を行った。実験期間中のラットの体液を安定させるために 0.1ml/h の流速で生理食塩水を静脈内に点滴した。深部体温は直腸プローブを用いてモニターし、加熱パットを用いて、体温を 37 ± 1.0 °C に維持した。両側の迷走神経は切断した。

ラットを仰向けにし、顎下を切開して舌筋の腹側を露出させた。2つの絶縁したステンレススチールワイヤーを偏側性に舌筋に埋め込み、縫合固定した。手術中の電極の設置を確認するために、舌筋と舌下神経核のシグナルをモニターした。呼吸関連シグナルも同時に測定した。舌下神経の内側の切断後、舌筋の活性は顕著に減少し、ほとんど消失した。したがって、得られた信号は電極を設置した舌筋からの記録信号であることを確認した。

(3) 薬物投与

ラットを脳定位固定装置に固定し、ステンレススチールチューブ (外径 0.2mm) を偏側に挿入した。偏側の舌下神経を剥離し、双極のプラチナ・イリジウム電極を用いて神経活動を記録した。舌下神経核に生理食塩水を局所投与し、舌筋と舌下神経の活動を最低 1 時間記録した後、オレキシン A もしくは B を含む生理食塩水を 0.2ml 投与した。記録終了後、投与部位の確認のためにポンタミンスカイブルー色素 (2%, 0.2 μ l) を投与した。オレキシン-1 受容体拮抗薬 (SB334867, 10 mM DMSO 溶液) およびオレキシン-2 受容体拮抗薬 (TCS OX2 29, 10 mM DMSO 溶液) を同様に舌下神経核に投与した。

(4) オレキシンサポリンによるオレキシン受容体発現神経の損傷

含水クロラル (420 mg/kg) の麻酔下にラットを脳定位固定装置に固定し、微小ガラスピペットを用いて、神経毒であるオレキシンサポリン (0.43 mg/ml) を外側視床下部あるいは舌下神経核へ投与した。14 日後に舌筋と舌下神経の活動を記録した。

(5) 脳幹スライスを用いた舌下神経核の運動神経の whole-cell patch-clamp 記録

Whole-cell patch-clamp 記録用のガラス電極 (臭化ガラス, 1.5mm 外径, 0.86mm 内径) は、Brown-Flaming ミクロピペット・ピューラー (Model P-97, Sutter Instrument, Novato, CA) を用いて作製した。電極ピペット内は人工脳脊髄液で満たし、4-6 M Ω の抵抗値に電位固定した。舌下神経核を含む脳幹の前額断面スライスを切り出し、記録用チャンバー (0.4ml) に移してプラチナリングで固定した。正立型顕微鏡 (BX-51, オリンパス社製) を用いて、40 倍の浸漬対物レンズ下に視察的に神経細胞を同定し、赤外線感受性 CCD カメラを用いた観察画像をモニターに表示した。神経細胞を電位固定して自発活動電位と膜電位を測定した。直列抵抗 (3-5 M Ω) と入力抵抗 (300-400 MO) は細胞記録期間中を通じて記録した。

結 果

オレキシン A を麻酔下のラットの舌下神経核に、投与部位あたり 50, 100, 及び 200 μ mol/l (0.1 μ l) 投与すると、定常時と呼吸反応性のいずれの舌筋電位も用量依存的に増加した。

ラットの舌下神経核にオレキシン-1 受容体拮抗薬 SB 334867 (10 mmol/l, 0.1 μ l) を事前投与すると、呼吸反応性電位の舌筋電位が低下した。同様に、舌下神経核にオレキシン-2 受容体拮抗薬である TCS OX2 29 (1 mmol/l, 0.1 μ l) を前処理した場合も、呼吸反応性電位が減少した。

さらに、両側の外側視床下部のオレキシン神経細胞の損傷は、呼吸反応性の舌筋電位を著しく抑