

lymphangioliomyomatosis. 18<sup>th</sup> Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology, Yokohama, November 12, 2013

6. Muraki K, Hayashi T, Ando K, Hoshika Y, Sato T, Mitani K, Nagaoka T, Uekusa T, Seyama K, Takahashi K: Diagnostic methods and utility of transbronchial lung biopsy in the diagnosis of lymphangioliomyomatosis. 18<sup>th</sup> Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology, Yokohama, November 13, 2013
7. Yoshimi K, Oh S, Ichikawa M, Suzuki Y, Kodama Y, Sekiya M, Seyama K, Suzuki K, Fukuchi Y, Takahashi K: Impact of airflow limitation on perioperative states of thoracic surgery. 18<sup>th</sup> Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology, Yokohama, November 13, 2013

#### 国内学会

1. 加藤三春, 関谷充晃, 濃沼淑香, 鈴木洋平, 市川昌子, 高木 陽, 佐藤 匡, 吉見 格, 児玉裕三, 瀬山邦明, 高橋和久: 欧米と異なる本邦の COPD 増悪の評価に CAT は有用か? 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2013 年 4 月 19 日
2. 村木慶子, 林大久生, 安藤克利, 星加義人, 佐藤輝彦, 三谷恵子, 長岡鉄太郎, 植草利公, 瀬山邦明, 高橋和久: 当院におけるリンパ脈

管筋腫症 (LAM) の診断方法と経気管支肺生検 (TBLB) の有用性の検討. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2013 年 4 月 19 日

3. 安藤克利, 瀬山邦明, 栗原正利, 片岡秀之, 星加義人, 飛野和則, 郡司陽子, 久能木真喜子, 佐藤弘一, 高橋和久: 50 歳以上のリンパ脈管筋腫症患者における臨床的特徴. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2013 年 4 月 19 日
4. 安藤克利, 瀬山邦明, 栗原正利, 片岡秀之, 江花弘基, 栗山祥子, 星加義人, 郡司陽子, 久能木真喜子, 高橋和久: 肺移植が必要とされる重症リンパ脈管筋腫症患者の臨床的検討. 第 17 回日本気胸・嚢胞性肺疾患学会総会, 東京, 2013 年 9 月 7 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 当科における肥満低換気症候群の臨床的検討

研究分担者 赤 柴 恒 人

日本大学医学部睡眠学・呼吸器内科学分野 教授

### 研究要旨

当科を受診し、睡眠検査（Polysomnography : PSG）で OSAS と診断された症例を分析し、OHS との関連をレトロスペクティブに検討した。OHS 群は 94 例、重症 OSAS は 586 例、軽症～中等症 OSAS は 298 例であった。OHS は全症例の 9.6% で、重症例中 13.8% であった。OHS 群は、有意に若く、OSAS が重症で、拘束性換気障害が強く、肺泡低換気が著明で、肝機能障害、糖尿病、高尿酸血症を認めた。OHS 群と重症 OSAS 群では何が違うのかを検討するため、BMI と PaCO<sub>2</sub> を補正して 2 項ロジステック解析を行なったところ、年齢、ALT、尿酸値、および%VC、%FRC が独立して OHS と重症 OSAS を区別する因子として特定された。

### A. 研究目的

肥満低換気症候群 (obesity hypoventilation syndrome: OHS) は著しい肥満と日中の肺泡低換気 (高炭酸ガス血症と低酸素血症) 及び重症の閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (Obstructive sleep apnea syndrome: OSAS) を併せ持つ特異な病態である。全 SAS 患者中 OHS が占める割合は 10～20% であるが、その罹病率、死亡率は極めて高く近年再度注目を集めつつある。そこで、当科を受診し、睡眠検査 (Polysomnography : PSG) で OSAS と診断された症例を分析し、OHS との関連をレトロスペクティブに検討した。

### B. 研究方法

対象は当院呼吸器内科と睡眠センターを受診し、PSG 上、Apnea-hypopnea index (AHI)  $\geq 5$  で OSAS と確定診断された 978 例を対象とした。PSG は Phillips 社製 Allis-4 を用いて標準的な方法で行い、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、AHI、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  $\geq 5$  を OSAS と診断した。重症度は  $5 \leq \text{AHI} < 15$  を軽症、 $15 < \text{AHI} < 30$  を中等症、 $30 \leq \text{AHI}$  を重症 OSAS とした。呼吸機能検査では、スパイログラフィー、肺気量分画、フローボリューム曲線、及び血液ガス分析を行なった。OHS の診断は、厚生省呼吸不全班 (栗山班)<sup>7)</sup> の定義に従い、Body mass index (BMI)  $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$ 、PaCO<sub>2</sub>  $> 45 \text{ mmHg}$ 、AHI  $\geq 30/\text{h}$ 、日中の著しい傾眠の全てを満たす症例を OHS と診断した。

(倫理面への配慮)

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

### C. 研究結果

対象は男性 858 例、女性 120 例の計 978 例で、平均年齢は  $51.4 \pm 13.4$  歳、平均 Body mass index (BMI) は  $27.9 \pm 5.2 \text{ Kg/m}^2$  であった。PSG の結

果では、平均 AHI は  $47.3 \pm 25.1$ 、平均酸素飽和度 (SpO<sub>2</sub>) は  $93.4 \pm 3.07\%$ 、最低 SpO<sub>2</sub> は  $73.3 \pm 11.9\%$ であった。平均 Epworth Sleepiness Scale は  $9.5 \pm 4.9$  点であった。収縮期血圧は  $133.7 \pm 17.2$  mmHg、拡張期血圧は  $86.5 \pm 12.0$  mmHg であった。一般臨床検査成績は大きな異常は認めなかった。血液ガス分析を含めた呼吸機能検査上も明らかな異常を認めなかった。対象例を、OHS 群、重症 OSAS 群 (AHI  $\geq 30$ )、軽症～中等症 OSAS 群 ( $5 \leq$  AHI  $< 30$ ) に分類すると各々 94 例、586 例、298 例であった。結果的に OHS は全 OSAS 中の 9.6%、重症 OSAS 中 13.8% を占めた。

OHS 群と重症 OSAS 群との差を検討するため、両者の比較検討を行った。OHS 群は、年齢が若く、OSAS の程度が重症で、日中の眠気が強く、使用している CPAP の圧が高く、肥満傾向が強く、血圧が高かった。一般臨床検査では、血算、肝機能、脂質、血糖、腎機能のほとんどが OHS 群で障害されていた。呼吸機能検査では、OHS 群で、%VC、%TLC、%FVC、%FEV<sub>1.0</sub> が有意に低かったが FEV<sub>1.0</sub>% には差を認めなかった。血液ガス分析では、OHS 群で高二酸化炭素血症と低酸素血症が有意に認められた。次に、BMI と PaCO<sub>2</sub> を補整して 2 項ロジステック解析を行なったところ、有意な因子として、年齢、ALT、UA、%VC、%FRC が特定された。

#### D. 考 察

OHS は、近年いくつかのレビューが専門誌に掲載され再び大きな注目を集めている。OHS は著しい肥満と日中の肺胞低換気 (高二酸化炭素血症と低酸素血症)、及び重篤な OSAS の存在により定義されているが、その頻度が 10-20% にかかわらずその予後が極めて悪く、医療資源の大きな負担となっていることが考えられる。さらに、その予後の不良さは明らかで、肺胞低換気のない重症 OSAS 患者の 10 年生存率は 95% 以上であるのに対し OHS 患者の生存率は 80% と有意に低いことが報告されている。しかし、OHS に対

する適切な治療 (陽圧治療) が行なわれれば、非 OHS 患者と同等まで生存率は上昇することも明らかとなっている。従って、OHS を早期に診断し適切な治療を施すことが臨床的に重要となると考えられる。

我々の結果では、OHS が 94 例認められ、その頻度は全 OSAS (978 例) 中の 9.6%、重症 OSAS 例 (586 例) 中の 13.8% であった。これまでの報告では 9~20% とされており、大きな差異はないと思われた。肥満の程度が欧米より軽い日本人 OSAS 患者において 13% もの OHS が存在し、しかも OHS 例が若年であるという結果は、早期治療の重要性を示すものであろう。

OHS と重症 OSAS との単純な比較では、OHS は若年で、肥満度が強く、より OSAS が重症で、一般臨床検査でも肝機能、腎機能、脂質、耐糖能などが障害されていた。この結果は OHS 群の肥満度の高さから予想される結果であろう。BMI は、OHS の 34.9 に対し OSAS は 27.9 であり明らかに肥満度に差が認められる。BMI の高い OHS 群は AHI、平均 SpO<sub>2</sub>、最低 SpO<sub>2</sub> ともは、重症 OSAS 群より重症である。PSG 上の指標で肥満に大きな影響を受けるのは睡眠時の desaturation であるが、最近のメタアナリシスによると、肥満度を一致させると、AHI では差がなくなるが、90% 以下に SpO<sub>2</sub> が低下する時間は OHS が 56% であったのに対し、非 OHS では 19% と、両者に有意差を認め、OHS の発症に睡眠時の desaturation の程度が関与する可能性を示唆している。

呼吸機能成績の比較では、%VC、%FVC、%TLC、%FEV<sub>1.0</sub> などの肺気量分画が、すべて OHS 群で有意に低下していた。しかし、FEV<sub>1.0</sub>% は有意差を認めなかった。肥満が肺気量を低下させることはこれまでの報告でも明らかで、呼気予備量の低下が大きく関連し VC や TLC を低下させるとされている。しかし、OHS 患者と同程度の肥満 OSAS 患者の肺機能を比較した報告では、OHS 患者では、肺コンプライアンスが有意に低く、その結果 FRC が低下すると報告されて

いる。胸郭のコンプライアンスの差はさらに大きく、OHS 群で 0.079L/cmH<sub>2</sub>O、肥満群で 0.196L/cmH<sub>2</sub>O であるとされている。本研究においても肺気量分画のほとんどが OHS 群で低下しており、この拘束性障害は肺-胸郭コンプライアンスに由来するものと考えられた。

肥満と PaCO<sub>2</sub> の影響を取り除くため BMI と PaCO<sub>2</sub> を補整して、両者を比較検討すると、年齢、ALT、尿酸値、%VC、%FRC の 5 項目が両者を分ける因子として特定された。意外なことに、OSAS の重症度を表す AHI や desaturation の指標である項目は選択されなかった。この結果をみるかぎり OSAS の重症度は OHS 発症の要因である可能性は少ないことになる。年齢が若い程 OHS を発症し易いという結果は、患者の予後を考える上で重要で、早期に適切な治療を行なうべきであろう。一般臨床検査成績では ALT と尿酸値が OHS に関連する因子として特定されたが、この結果が OHS の病態の本質と関連があるかどうかについては更なる検討が必要であろう。BMI と PaCO<sub>2</sub> を補整しても有意な項目として特定されたのが %VC と %FRC であった。肺気量分画の低下は肥満に大きく関連すると考えられるが、我々の結果は、肥満の影響を取り除いてもなお拘束性の換気障害が OHS 発症に関与する可能性を示唆した。

## E. 結 論

978 例の OSAS 患者を対象に OHS の頻度を検討したところ、94 例に認められ、全 OSAS 中 9.6%、重症 OSAS 中の 13.8% であった。OHS94 例と重症 OSAS586 例との比較検討では、OHS 群が若く、肥満が強く、OSAS が重症で、血液検査上、肝障害、腎障害、脂質異常、耐糖能異常が多く、肺機能上拘束性障害が強かった。BMI と PaCO<sub>2</sub> を補整して比較検討すると、年齢、ALT、尿酸値、%VC、%FRC に有意差が認められ、これら因子が OHS 発症に関与する可能性が考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Ohtsu T, Kaneita Y, Aritake S, Mishima K, Uchiyama M, Akashiba T, Uchimura N, Nakaji S, Munezawa T, Kokaze A, Ohida T : A Cross-sectional Study of the Association between Working Hours and Sleep Duration among the Japanese Working Population. J. Occup. Health 55 : 620-625, 2013
2. 吉澤孝之, 古市祥子, 吉澤明孝, 石黒俊彦, 行田泰明, 岩城 基, 石樽裕之, 赤柴恒人, 細川芳文, 橋本 修 : 慢性呼吸器疾患の終末期医療 肺がんと比較検討. 日本臨床内科医会誌 27 (5) : 620-625, 2013

### 2. 学会発表

#### 国際学会

1. Okamoto N, Akashiba T, Uematsu A, Nagaoka K, Igei K, Kohzu Y, Kiyofuzi N, Katsura K, Hashimoto S : Long-term effects of nasal continuous positive airway pressure (CPAP) on pulmonary functions in patients with obstructive sleep apnea patients (OSAS). 18th Asian-Pacific Society of Respirology. Tokyo, 2013.11

#### 国内学会

1. 吉澤孝之, 古市祥子, 石黒俊彦, 永岡賢一, 植松昭仁, 清藤晃司, 赤星俊樹, 赤柴恒人, 細川芳文, 橋本 修 : COPD と CKD 見過ごされやすい併存症? シスタチン C による検証. 第 110 回日本内科学会講演会, 東京, 2013.4
2. 岩城 基, 吉澤孝之, 古市祥子, 吉澤明孝, 赤柴恒人, 細川芳文, 橋本 修 : 呼吸リハビリテーションにおける CAT の有用性. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2013.4
3. 吉澤孝之, 古市祥子, 吉澤明孝, 岩城 基,

- 行田泰明, 平井菜穂子, 清藤晃司, 赤星俊樹, 赤柴恒人, 細川芳文, 橋本 修: COPDとCKD -見過ごされてきた併存症? シスタチンCによる検証-. 第53回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2013.4
4. 村瀬公彦, 赤柴恒人, 巽 浩一郎, 井上雄一, 佐藤誠, 櫻井 滋, 榊原博樹, 塩見利明, 木村 弘, 宮崎総一郎, 津田 徹, 別所和久, 吉田和也, 陳 和夫: 肥満残存高血圧合併閉塞性無呼吸(OAS)患者に対する防風通聖散及び大柴胡湯の治療効果の比較. 第53回日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2013.4
  5. 降旗隆二, 今野千聖, 鈴木正泰, 金野倫子, 高橋 栄, 内山 真, 兼板佳孝, 大井田隆, 赤柴恒人: 一般成人におけるうつ病と睡眠時間の関連の検討. 第110回日本精神神経学会学術総会, 福岡, 2013.5
  6. 柴崎佳奈, 伊藤有輝, 本間美香, 橋田洋史, 伊藤明芳, 船山欣弘, 石黒俊彦, 鈴木雅明, 吉澤孝之, 赤柴恒人, 橋本 修: OSAS患者のPSG検査時における高血圧リスク因子に関する検討. 第38回睡眠学会定期学術集会, 秋田, 2013.6
  7. 降旗隆二, 今野千聖, 鈴木正泰, 金野倫子, 高橋栄, 内山 真, 兼板佳孝, 大井田隆, 赤柴恒人: 一般成人におけるうつ病と睡眠時間の関連について: 疫学調査の解析. 第38回睡眠学会定期学術集会, 秋田, 2013.6
  8. 梶原恵理子, 吉沢孝之, 酒井厚子, 青木美和子, 桂 一仁, 赤星俊樹, 植松昭仁, 永岡賢一, 権 寧博, 内山 真, 赤柴恒人, 橋本 修: 当院睡眠センターの現状とSAS診療における看護師の役割. 第38回睡眠学会定期学術集会, 秋田, 2013.6
  9. 降旗隆二, 今野千里, 鈴木正泰, 金野倫子, 高橋 栄, 内山 真, 兼板佳孝, 大井田隆, 赤柴恒人: 一般成人における不眠症状と性差について. 第42回日本女性心身医学会学術集会, 東京, 2013.7
  10. 柴崎佳奈, 橋田洋史, 石黒俊彦, 吉澤孝之, 吉澤明孝, 権 寧博, 赤柴恒人, 橋本 修: OSAS患者のPSG検査時における高血圧リスク因子に関する検討. 第23回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会, 東京, 2013.10
  11. 伊藝孔明, 岡本直樹, 神津 悠, 永岡賢一, 植松昭仁, 権 寧博, 赤柴恒人, 橋本 修: CPAP療法の長期使用による肺機能への影響についての検討. 第23回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会, 東京, 2013.10
  12. 神津 悠, 赤柴恒人, 岡本直樹, 伊藝孔明, 永岡賢一, 清藤奈津子, 植松昭仁, 桂一仁, 赤星俊樹, 権 寧博, 橋本 修: 肥満低換気症候群(Obesity-hypoventilation syndrome: OHS)の臨床的検. 第65回日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会, 東京, 2013.10
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- (予定を含む。)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## 肺癌合併 COPD の病態・臨床的特徴に関する研究

研究分担者 別 役 智 子

慶應義塾大学医学部呼吸器内科 教授

研究協力者 田 中 希宇人

慶應義塾大学医学部呼吸器内科 助教

### 研究要旨

COPD の悪性腫瘍の合併率は過去の報告では約 6-18%と推定されているが、COPD の死因としては 5-38%が肺癌とされており、重要な合併症であると考えられる。また 1 秒量の減少が大きいほど肺癌のリスクが高いこと、喫煙量や喫煙期間が長いほど肺癌のリスクが高いことが分かっており、COPD と肺癌の関連性が数多く報告されている。また、COPD 患者の CT による肺癌のスクリーニングの有用性は言われているが、発見契機の違いによる COPD 合併肺癌の特徴の違いを指摘している報告はない。

COPD 合併肺癌の発見契機として、肺癌を診断されてから肺機能検査で COPD を指摘される症例と、COPD として経過観察中に肺癌を診断される症例が考えられる。本研究ではこの 2 通りの経過に注目し、発見契機の違いによる関連を患者背景、臨床症状、肺機能、気腫化の面からレトロスペクティブに評価した。

#### A. 研究目的

COPD 合併肺癌の発見契機について検討する。

#### B. 研究方法

「COPD 合併肺癌症例」として、2006 年から 2011 年に当院呼吸器内科で肺癌と診断された症例の中から、

- ① 40 歳以上
- ② 1 秒率 70% 未満
- ③ 20pack-year 以上の喫煙歴

の①から③の基準を満たす 104 症例を抽出した。

COPD 合併肺癌症例中、

- A) 肺癌が発見され、その経過で COPD を指摘された症例（肺癌→COPD 発見群）
- B) COPD の経過中に肺癌が発見された症例

（COPD →肺癌発見群）

の 2 群に分け、年齢、性別、BMI、喫煙歴、基礎肺機能、CT 画像での気腫化の程度、肺癌組織型、肺癌病期など比較検討した。気腫化については Goddard 分類に基づいて各肺野についてスコアリングを行った。

（倫理面への配慮）

データベースにおける各患者はナンバリングされ、解析しているデータから個人は識別不可能となっている。同施設の常時施錠されている部屋内にデータは保存する。カルテは中央閲覧室でのみ閲覧が可能であり、データの収集も同室で行う。データ管理は慶應義塾大学医学部呼吸器内科研究室内の常時施錠された部屋で管理し、個人情報漏洩防止に必要な安全対策を講じる。本研究は研究対象者に対する侵襲的な検査や処置はなく、レト

ロスプレクティブな研究デザインとなっている。

### C. 研究結果

COPD 合併肺癌 104 例のうち男性が 93%，平均年齢は  $71.3 \pm 9.3$  歳，喫煙歴は  $56.6 \pm 28.1$  pack-year であった。肺機能では閉塞性換気障害の程度が高度（%1 秒量が 50% 未満）の症例が 15 例（14.4%）と比較的少数であった。組織型の内訳は非小細胞癌が 89 例（腺癌 51 例，扁平上皮癌 28 例，大細胞癌 2 例，NSCLC-NOS 8 例），小細胞癌が 14 例，診断時の肺癌病期は I/II 期が 37 例，III/IV 期が 67 例であった。外科的治療が行えた症例は 30 例（28.8%）であった。COPD 合併肺癌症例での組織型と肺癌病期の内訳は当院呼吸器内科で診断された全肺癌患者の割合とほぼ同等であることが分かった。

104 症例のうち COPD 合併肺癌の発見契機として，肺癌が見つかった後に肺機能から COPD と診断された症例（肺癌→COPD 発見群）と COPD の経過観察中に肺癌を診断された症例（COPD→肺癌発見群）の 2 群に分類した。発見契機では肺癌→COPD 発見群は 69 例，COPD→肺癌発見群は 35 例であり，肺癌から COPD を指摘された症例が約 2 倍の症例数であった。両群間で年齢，BMI，喫煙歴，CT での肺気腫スコアで差は認めなかったが，肺癌→COPD 発見群で閉塞性換気障害の程度（%1 秒量）が有意に低かった（73.1% vs 88.4%，t-test,  $p < 0.01$ ）。肺癌組織型では肺癌→COPD 発見群では非小細胞癌が 90% 以上を占めていたが，COPD→肺癌発見群は 74% に留まり，小細胞癌が 20% 以上と高率であった。肺癌病期では COPD→肺癌発見群において進行肺癌（III/IV 期）が有意に多く認められた（chi-square test,  $p = 0.05$ ）。さらに，有意差は認められなかったが肺癌→COPD 発見群で外科的治療を行えた症例が 33% いるのに対し，COPD→肺癌発見群では 20% にとどまった。

### D. 考察

過去の報告でも CT による肺癌スクリーニングの有用性は示唆されており，早期からの COPD 診断に CT を用いることや喫煙者の CT 検診の実施を勧める研究者もいる。特に CT での気腫化の程度は COPD や肺癌の予後予測因子となっており，肺癌検出以外の目的としても気腫化の画像的評価を行う上でも CT は有用と考えられる。

発見契機の違いでは，年齢，BMI，喫煙歴，気腫化の程度に差は認められなかった。肺癌から COPD を診断される症例では，有意に閉塞性換気障害の程度が重度であり，肺癌が発見された時には COPD が進行していることが考えられた。逆に，COPD として経過観察中に肺癌が指摘された症例においては，閉塞性換気障害の程度が軽度であるにも関わらず，肺癌病期の進行期で発見される症例が多く存在した。その理由として，COPD として経過を見ている患者に小細胞癌の発生が多く，肺癌が発見される際にすでに進行している症例が多く存在することが考えられた。その他にも，肺気腫の程度では差は認めなかったが，COPD として経過観察されている症例は比較的気腫化の程度が強く，CT 上での気腫化の存在は肺癌の診断を遅らせることや肺癌の進行が速いことなどが考えられた。

### E. 結論

肺癌の診断後に COPD を指摘される症例は，閉塞性換気障害の程度が重く，肺癌が診断された時には COPD も進行していることが考えられた。逆に COPD の経過観察中に発生する肺癌は閉塞性換気障害の程度が軽度であるにも関わらず，進行期で発見されることが多く，組織型では小細胞癌がより多く認められた。

### F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

国際学会

なし

国内学会

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



## 呼吸不全に関する基礎研究：COPDを中心に

研究分担者 長 瀬 隆 英

東京大学大学院医学系研究科呼吸器内科学 教授

研究協力者 石井 聡<sup>1</sup>, 山内 康宏<sup>2</sup>

秋田大学大学院医学系研究科教授<sup>1</sup>, 東京大学医学部附属病院<sup>2</sup>

### 研究要旨

COPD, 特発性間質性肺炎, 気管支喘息などは, 呼吸不全を呈する呼吸器疾患であり, 治療の困難さや発症頻度から, 社会的にも極めて重大な疾患群である。これらの疾患の病態機序・治療標的は未だに不明であるため, 画期的な新治療法の開発が急務とされている。本研究では, COPDを中心として発生工学・分子生物学を駆使した基礎研究を遂行することにより, 呼吸不全を呈する難治性肺疾患の病態解明, 治療標的の同定, および新治療法の開発を目指す。その結果, 以下の新知見が得られた。

- 1) 脂質性メディエーターに着目し, 炎症性肺疾患発症との関連を探索した。
- 2) 肺の発生・機能への関与が示唆されている新規転写コアクチベーター TAZに着目し, 炎症性肺疾患発症との関連を探索した。
- 3) 炎症性肺疾患研究の新たなアプローチとして, 上皮間葉転換 (EMT) に注目し, モデルを確立するとともに関連遺伝子を検討した。

その結果, 各々のメディエーターが, 肺疾患病態に重要な役割を呈している可能性が示された。本知見は, 呼吸不全を呈する難治性の呼吸器系疾患に対する新しい治療薬・治療法開発の実現化に寄与することが期待される。

### A. 研究目的

COPD, 特発性間質性肺炎, 気管支喘息などは, 呼吸不全を呈する呼吸器疾患であり, 治療の困難さや発症頻度から, 社会的にも極めて重大な疾患群である。これらの疾患の病態機序・治療標的は未だに不明であるため, 画期的な新治療法の開発が急務とされている。本研究では, COPDを中心として, 発生工学を駆使した基礎研究を遂行することにより, 呼吸不全を呈する難治性肺疾患の病態解明, 治療標的の同定, および新治療法の開発

を目指す。

発生工学を駆使した基礎研究：

COPD, 特発性間質性肺炎, 気管支喘息などは, 呼吸不全を呈する呼吸器疾患である。これらの肺疾患発症に関しては, 種々の化学物質が複雑に関与していると考えられ, TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8等のサイトカインなどが関与している可能性が報告されている。しかし, サイトカイン以外のメディエーターとの関連については, 十分な検討がなされていない。また, 治療の標的が不明確であるため, 有効な治療法, 治療薬も存在せず, 画

期的な新治療法の開発が急務とされている。本研究では、近年、その生理学的意義が注目されている脂質性メディエーター、さらに発生への関与が示唆されている転写コアクチベーター TAZ に着目し、炎症性肺疾患発症との関連を発生工学的的手法を駆使して探索する。

脂質性メディエーター：

本研究では、発生工学的的手法を応用し、脂質性メディエーターの炎症性肺疾患発症機序における重要性について検討する。特に、COPD、特発性間質性肺炎、気管支喘息などにおける、PAF およびエイコサノイド関連遺伝子の意義を明らかにする。

脂質性メディエーターであるプロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなどはエイコサノイドと総称され、アラキドン酸を起点とする代謝経路の代謝産物である。アラキドン酸は、炭素数 20 よりなる構造をもち、生体ではリン脂質から細胞質型ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>) によって切り出される。この際に、同時にリゾ PAF (lyso-PAF) が生成され、リゾ PAF から血小板活性化因子 (platelet-activating factor, PAF) が作られる。アラキドン酸は、図 1 に示すように、アラキドン酸カスケードと呼ばれる代謝経路を経て様々なエイコサノイドを生成する。その 2 つの大きな経路が、シクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase, COX) 系および、5-リポキシゲナーゼ (5-lipoxygenase, 5-LO) 系である。

アラキドン酸カスケード

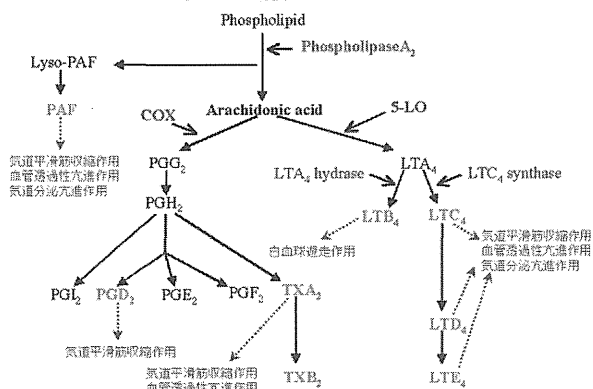


図 1. アラキドン酸カスケードの模式図

プロスタグランジン、トロンボキサンはシクロオキシゲナーゼ系の代謝物であり、ロイコトリエンは 5-リポキシゲナーゼ系の代謝物である。

アラキドン酸カスケードの代謝産物であるエイコサノイドは、ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴である。呼吸器系においても、エイコサノイドは極めて重要な生理的意義を有することが示唆されている。例えば気管支喘息は、気道平滑筋収縮、血管透過性亢進、血管拡張等による気管支収縮を主体とする病態であり、種々の化学物質が複雑に関与していると考えられるが、近年、特にトロンボキサン、ロイコトリエンなどのエイコサノイドが重要な発症因子とされ、有効な治療標的となりつつある。

特にロイコトリエン (LT) 系は、好中球遊走因子としての LTB<sub>4</sub> 受容体 (BLT1, BLT2 の 2 種類) や、炎症・免疫関連疾患に関わることが想定されている CysLT 受容体 (CysLT1-R, CysLT2-R, の 2 種類) が発見され (Nature, 1997, 1999), 現在、本グループが遺伝子改変マウスを作成・解析中である。

本研究では、発生工学的的手法を応用し、脂質性メディエーターの高齢者肺疾患発症機序における意義を明らかにし、治療薬の開発および実用化を目指す。

転写コアクチベーター TAZ：

転写コアクチベーター TAZ (transcriptional co-activator with PDZ-binding motif) は、14-3-3 protein をはじめとする、PDZ domain を持つ転写因子と結合しその活性を制御する分子として同定・報告されたものである (EMBO J 19: 6778-91, 2000)。TAZ は、WW domain を有しており、PPXY モチーフと結合することにより、転写コアクチベーターとしての機能を発現する。

また最新の研究により、転写コアクチベーター TAZ が、TTF-1 (thyroid transcription factor-1) や Pax3 と協調的に働くことにより、発生に大きく関与することが明らかにされつつある (J Biol Chem 279: 17384-90, 2004) (Biochem Biophys Res

*Commun* 339:533-9, 2006)。

また、神経管、神経堤、骨格筋などの発生に重要な役割を持つ Pax3 と協調的に働く因子を探す目的で、酵母 Two hybrid 法により Pax3 に結合する分子をスクリーニングした結果、TAZ タンパクが同定されている。さらに *in vitro* アッセイの結果、Pax3-TAZ の結合には、Pax3 C 末端側の PPXY モチーフ及び TAZ N 末端側の WW domain が深く関わっていることが示された。TAZ の発現を *in situ* hybridization で調べると、胎生 10.5 日マウス胚において神経管内側、鰓丘の外胚葉性間葉、体節で発現が見られており、TAZ は Pax3 などの転写因子と相互作用して形態形成に関わっている可能性が考えられる。転写コアクチベーター TAZ は、発見当初より、腎臓および肺において強く発現していることが報告されている。本研究では、転写コアクチベーター TAZ の遺伝子改変マウスを作成し、呼吸器系における病態生理学的意義および呼吸器疾患発症への関与の可能性を検討する。

#### **In vitro** 気道リモデリングおよび EMT :

COPD の病変は、末梢気道および間質における炎症が主因と想定されている。

その炎症進展の機序は、喫煙など外的刺激物質の関与により炎症細胞と生理活性物質が相互反応を繰り返す炎症カスケードであると考えられる。しかしながら COPD 発症の分子機構については未だ解明されていない。今回我々は、COPD の病変を、「異常な線維化による臓器障害」という視点からアプローチすることを試みる。COPD は、肺胞壁・間質における弾性組織の不可逆的な変性・減少を特徴とするが、これは末梢気道および間質における炎症・線維化異常が極まった状態である可能性がある。一方、逆方向の線維化異常の場合は、肺線維症へと向かうものである。

近年、COPD、間質性肺炎、気管支喘息などは、いずれも免疫・炎症を主体とする病態であると想定されている。これらの免疫・炎症性肺疾患発症に関しては、種々の化学物質が複雑に関与し

ていると考えられる。今回、我々は、その機序を解明する手法の一端として、*In vitro* 気道リモデリング解析法を開発・応用した。これは、1 種類の蛋白質と 1 種類の細胞系よりなる、究極に単純化された人工的肺・気管支モデルであり、Gel contraction 法と呼ばれる。

さらにまた、近年、EMT が注目されている。EMT は上皮細胞が間葉系細胞に転換する現象で、呼吸器系では気道リモデリングに関わる可能性が指摘されている。我々は、EMT に関するモデルを構築し、関連遺伝子を探索した。

#### **B. 研究方法**

##### <CysLT2 受容体遺伝子ノックアウトマウスの作成>

LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub> など cysteinyl LT の受容体 (CysLT1-R, CysLT2-R) は肺・気管支に豊富に存在し、気管支喘息を含めた呼吸器疾患発症への関与が示唆される。特に、CysLT2-R は大きく注目されているが、その機能は未だに解明されていない。本研究では、この CysLT2-R を標的とした KO, Tg マウスの新規作成にも着手する。これらのマウスを用いて、脂質性メディエーターと炎症性肺疾患との関連について評価・検討を加える。

##### <転写コアクチベーター TAZ ノックアウトマウスの作成と解析>

転写コアクチベーター TAZ の遺伝子改変マウスを作成し、呼吸器系における病態生理学的意義および呼吸器疾患発症への関与の可能性を探索した。まず、TAZ ノックアウトマウスの作成を行い、次にその解析に着手した。

#### **In vitro** 気道リモデリングと EMT :

##### <Gel contraction 法>

Type I collagen 作成 : Rat の Tail から腱を摘出し腱鞘、その他の結合組織を注意深く取り除いた後、0.9% NaCl 10 mM Tris pH 7.5, 50% Ethanol, 75% Ethanol, 95% Ethanol で洗浄する。6 mM HCl 300 ~ 400 ml 4℃で一昼夜 Staring することにより Type I collagen を抽出する。Sodium dodecyl sulfate

(SDS)-PAGE で type I collagen 以外の蛋白が混入していないことを確認する。collagen 濃度はそれぞれの lot から乾燥重量を測定して求めた。

<3 次元的培養 :>

抽出した Type I collagen を 4 倍濃度の DMEM と蒸留水とで生理的浸透圧に調整する。最終 collagen 濃度を 0.75 mg/ml に調節後  $3 \times 10^5$  cells/ml 細胞濃度でゲル内に線維芽細胞を加える。24 well プレートで 0.5ml/well になるようゲルを入れ 20 分でゲル化させる。固まったゲルの周囲を plate 壁から切り離し、各種試薬が添加された 6 cm dish (5ml DMEM) 内に浮遊させる。

<収縮能測定 :>

上記方法により線維芽細胞は Type I collagen 内で 3 次元的に培養される。そして線維芽細胞はこのゲルのなかでその収縮能によりゲルを引っ張る。その収縮能はゲルのサイズを計測することにより求めることができる。変化するゲルのサイズは CD カメラでコンピューターに取り込み計測する。

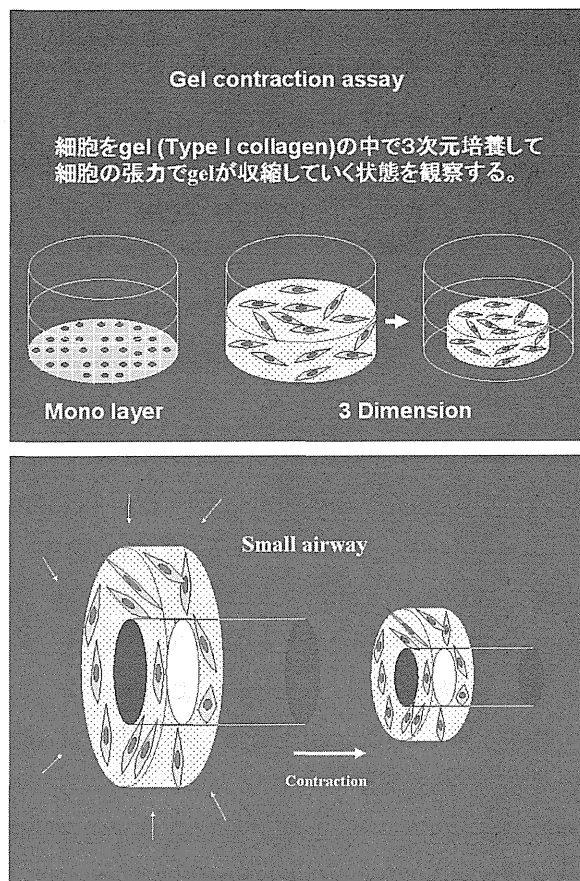
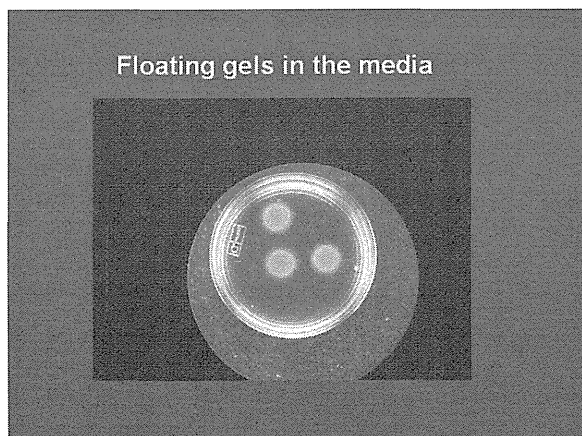
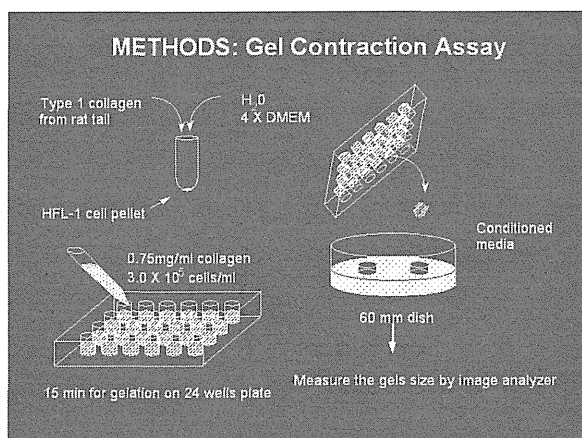


図 2. Gel contraction 法。  
線維芽細胞は Type I collagen 内で 3 次元的に培養される。



<EMT>

確立された肺癌細胞の系を用いて検討した。  
(倫理面への配慮)

本研究では、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究における危険の排除、説明と理解 (インフォームドコンセント) について、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) に基づき、研究を進める。

本研究で行う予定の遺伝子組換え実験は、平成 16 年 9 月 10 日の東京大学医学部組換え DNA 実験安全委員会において承認を受けた生化学分子生物学・細胞情報学講座「脂質メディエーター受容体、合成酵素遺伝子欠損マウスならびにタンパク質過剰発現細胞を用いた脂質メディエーター機能の解明、セマフォリン遺伝子欠損マウスを用いた嗅覚系神経回路形成機構の解明」に含まれており、

適切な拡散防止措置がとられる。

C. 研究結果

<CysLT2 受容体遺伝子ノックアウトマウスの作成>

キメラマウスの中で, germ line にノックアウト DNA コンストラクトが移行したのを選び, ヘテロ接合体を得た (図4)。このヘテロ接合体からさらにホモ接合体ノックアウトマウスが得られた。ホモ接合体 CysLT2-R ノックアウトマウスは, 胎内死亡および周産期死亡を呈さず, 生育も野生型マウスと差異を認めていない。

<転写コアクチベーター TAZ ノックアウトマウスの作成と解析>

転写コアクチベーター TAZ ノックアウトマウスの作成に着手した。キメラマウスの中で, germ line にノックアウト DNA コンストラクトが移行したのを選び, ヘテロ接合体を得た。このヘテロ接合体からさらにホモ接合体 TAZ ノックアウトマウスが得られた。なお外表所見上では重大な奇形を生じていないが, 9ヶ月令 TAZ ノックアウトマウス個体の肺の組織標本において, 肺胞の異常が示された。

次に, 胎生期から成体までの, 野生型マウスと TAZ ノックアウトマウスの肺組織所見を検討した。その結果, TAZ ノックアウトマウスの肺は, 胎生期においては, ほぼ正常の発育であるが, 生後5日以降には気腔の拡張が認められ, その後, 気腔の拡張が増大していた。

<TAZ ノックアウトマウス肺における遺伝子発現の解析>

胎生期から成体までの, 野生型マウスと TAZ ノックアウトマウスの肺における各種遺伝子発現を real time RT-PCR を用いて検討した。その結果, 肺の発達・成長に必須とされる TTF-1 の発現が, TAZ ノックアウトマウスにおいても野生型と変わらないことが示された。

一方, 2ヶ月令の TAZ ノックアウトマウスの肺では, MMP 12 (macrophage elastase) が著明に

発現していることが明らかになった。

次に, 胎生期の野生型マウスと TAZ ノックアウトマウスの肺における各種遺伝子発現を microarray 解析を用いて検討した。その結果, TAZ ノックアウトマウスにおいて発現低下が認められた遺伝子を5つ選び, さらに real time RT-PCR を用いて検討した。その結果, 2ヶ月令の TAZ ノックアウトマウスの肺では, Fbln5 と CTGF の発現が有意に低下していることが明らかになった。

<TAZ siRNA を用いた検討：培養細胞における遺伝子発現の解析>

次に, 培養細胞 LA4 および TAZ siRNA (TAZ-994) を用いて, TAZ ノックアウト細胞における各種遺伝子発現を real time RT-PCR を用いて検討した。その結果, TAZ ノックアウト細胞では, CTGF の発現が有意に低下していることが明らかになった。

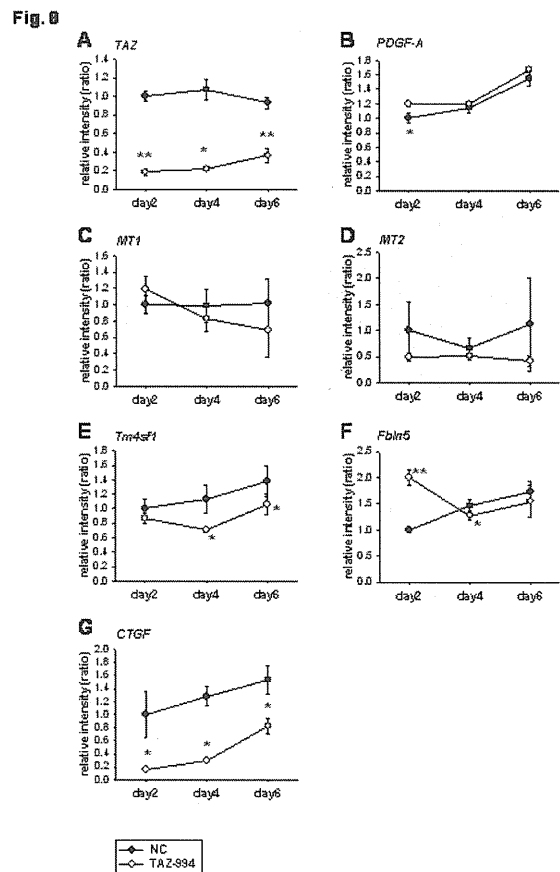


図3. TAZ siRNA (TAZ-994) による TAZ ノックアウト細胞における各種遺伝子発現

<TAZ ノックアウトマウス肺における CTGF 発現の解析>

胎生期の、野生型マウスと TAZ ノックアウトマウスの肺における CTGF の発現を免疫組織染色を用いて検討した。その結果、TAZ ノックアウトマウスの肺では、CTGF の発現が低下していることが明らかになった。

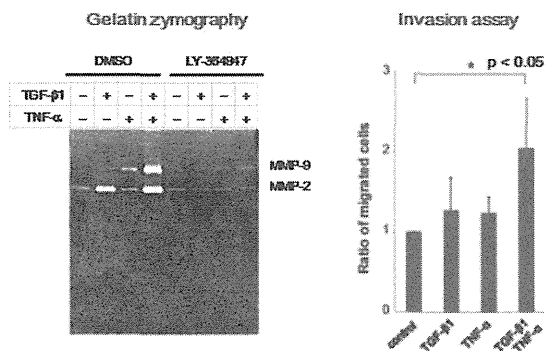
In vitro 気道リモデリングと EMT :

Gel contraction 法の開発がなされ、再現性の確認がなされた。

A549 細胞に、TGF-beta および TNF-alpha を添加することにより、EMT が誘導された。またこの EMT は、smad に依存することが示された。

また、TNF super family のひとつである LIGHT に注目し、培養細胞系および gel contraction 法を用いて検討したところ、LIGHT が EMT において重要な役割を果たす可能性が示唆された。

TNF- $\alpha$  enhances TGF- $\beta$ -mediated EMT in A549 lung cancer cells



TGF- $\beta$ -mediated EMT is Smad-dependent

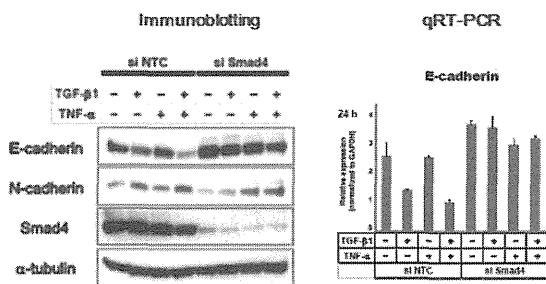
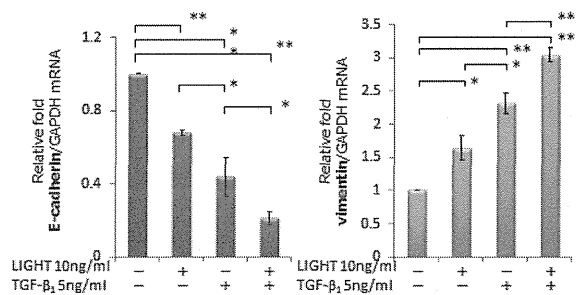


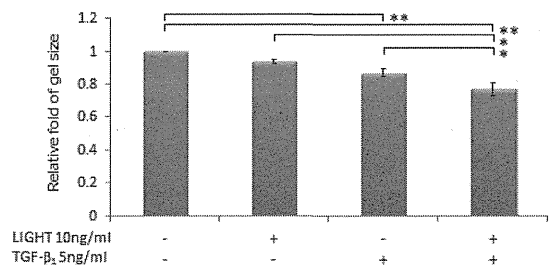
図 4. EMT は TGF-beta および TNF-alpha により誘導され、smad に依存する

The Effect of LIGHT on TGF- $\beta$ 1-induced EMT



The expression of mRNA for E-cadherin and vimentin in A549 cells stimulated with LIGHT and/or TGF-beta1 for 48 hours. The expression of E-cadherin decreased significantly in the combination of LIGHT and TGF- $\beta$ 1 compared with TGF- $\beta$ 1 alone while simultaneously increasing expression of vimentin. N = 5 separate experiments. \* means p<0.05, \*\* means p<0.01 THE UNIVERSITY OF TOKYO

Gel contraction assay



The effect of LIGHT and/or TGF-beta1 on collagen gel contraction mediated by A549 cells. The gel size significantly decreased the combination of TGF- $\beta$ 1 and LIGHT compared with TGF- $\beta$ 1 alone. EMT-induced cells obtained contractility. Gels size were measured 72 hours after gelation. N = 6 separate experiments. \* means p<0.05, \*\* means p<0.01 THE UNIVERSITY OF TOKYO

図 5. LIGHT は、EMT に関与する。

D. 考 察

呼吸不全を呈する炎症性肺疾患は、社会的に極めて重大な疾患となっている。特に、COPD、特発性間質性肺炎は、難治性において他に類をみない程、重篤な疾患であり、治療薬の開発が切実に待たれている。肺炎や気管支喘息は、世界的にも発症頻度、死亡率が増大しつつあり、画期的な治療薬の開発が期待されている。これら炎症性呼吸器疾患の発症分子機構は、極めて複雑であり、より一層の研究が必要である。

COPD は、高齢者における重要な炎症性呼吸器疾患であり、その発症には喫煙など外的刺激物質の関与が想定されている。しかしながら、COPD の発症機序については未解明の部分が多く、その解明には関連遺伝子の探索を含めた研究が必須と考えられる。一方、近年、遺伝子改変マウスが次々

と開発されており、疾患関連遺伝子の解明に有用であることが報告されている。

また、呼吸器系において、正常の肺・気管支では、線維芽細胞は炎症後の創部へと遊走し、コラーゲンなどの細胞外器質を産生し欠損部をうめる。さらに創傷治癒の終盤には創部を収縮させて創傷治癒を完成させる。しかし、この過程に異常が生じた場合は組織修復はうまくいかず、機能障害を引き起こす。とくに末梢気道周囲で過度の収縮が生じた場合は気流制限を引き起こし COPD や気管支喘息の増悪に関与する。今回開発に着手した *in vitro* 気道リモデリング系は、末梢気道周囲において増加した線維芽細胞とコラーゲンが作り出す収縮について検討できるモデルであると考えられる。また、EMT も実際に末梢気道病変形成に関与している可能性が高い。

今日まで、COPD の病態を理解するためには呼吸生理学的アプローチが必須であり、その成果は COPD ガイドラインの作成という形で結実している。一方、まさしくガイドラインにあるように、COPD 発症分子機構の解明のためには、多様な学問領域を結集・統合したアプローチを必要とするであろう。

本研究の成果により、脂質性メディエーター、転写コアクチベーター TAZ などをはじめとして、炎症抑制治療の標的を明確にした場合、有効な治療法・治療薬の開発および実用化は近いことが期待される。

## E. 結 論

発生工学的手法を用いたアプローチは、難治性炎症性肺疾患の病態解明および未知の遺伝子機能解析において新しい視点を提供する独創的なものであり、本研究の成果は呼吸不全を呈する肺疾患治療の展開に重要な寄与をなすものと考えられる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Saito A, Suzuki HI, Horie M, Ohshima M, Morishita Y, Abiko Y, Nagase T : An integrated expression profiling reveals target genes of TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$  possibly mediated by microRNAs in lung cancer cells. *PLoS One* 2013 ; 8 : e56587
2. Noguchi S, Hijikata M, Hamano E, Matsushita I, Ito H, Ohashi J, Nagase T, Keicho N : MxA transcripts with distinct first exons and modulation of gene expression levels by single-nucleotide polymorphisms in human bronchial epithelial cells. *Immunogenetics* 2013 ; 65 : 107 – 114
3. Noguchi S, Hamano E, Matsushita I, Hijikata M, Ito H, Nagase T, Keicho N : Differential effects of a common splice site polymorphism on the generation of OAS1 variants in human bronchial epithelial cells. *Hum Immunol* 2013 ; 74 : 395 – 401
4. Narumoto O, Niikura Y, Ishii S, Morihara H, Okashiro S, Nakahari T, Nakano T, Matsumura H, Shimamoto C, Moriwaki Y, Misawa H, Yamashita N, Nagase T, Kawashima K, Yamashita N : Effect of secreted lymphocyte antigen-6/urokinase-type plasminogen activator receptor-related peptide-1 (SLURP-1) on airway epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013 ; 438 : 175 – 179

### 2. 学会発表

#### 国際学会

1. Cellular and molecular mechanisms of epithelial mesenchymal transition in airway epithelial cells under airway inflammation. The 18th APSR Meeting, Yokohama. (発表者：山内康宏, 招待講演), 2013

#### 国内学会

1. モデルマウスを用いた呼吸器疾患の病態解明：第 53 回日本呼吸器学会総会（発表者：

長瀬隆英, 教育講演), 2013

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## 気道リモデリングとしての杯細胞増生の維持機構に関する研究

研究分担者 玉 置 淳

東京女子医科大学第一内科学 教授

### 研究要旨

慢性閉塞性肺疾患（COPD）の重症度を規定する因子の1つに、気道粘膜における杯細胞増生があり、粘液分泌の増加は疾患を増悪させ呼吸不全の誘因ともなる。しかし、その発現様式や、いったん惹起された気道リモデリングの維持に関する分子メカニズムは不明な点が多い。本研究では、培養ヒト気道上皮細胞をタバコ煙あるいは  $TGF\alpha$  で刺激し、PAS/Alcian blue 陽性細胞および MUC5AC 陽性細胞の発現が増加した。また、これらの反応は EGFR チロシンキナーゼ阻害薬の前投与によりほぼ完全に抑制された。さらに、*in vivo* の系においてラットにタバコ煙を曝露し、気道粘膜における杯細胞増生と EGFR リン酸化について定量評価を行ったところ、タバコ煙によって上記リモデリングが誘導され、その効果は EGFR チロシンキナーゼ阻害薬によって抑制された。

### A. 研究目的

COPD 患者における喀痰量は個人差が大きく、1日あたり数 ml の症例から 100ml 以上のもので分布するが、喀痰中に占めるムチンの割合は一概に高値を占めるといわれている。従来より、慢性気管支炎患者では、病気が早期の例であっても進行例と同様に気道内に多くの粘液がみられることがわかっており、また剖検例の形態計測においては、COPD 患者ではとくに末梢気道で粘液の気腔内貯留が著明であることが知られている。また、気管支洗浄液中のムチン濃度は、喫煙者では非喫煙者の4倍にも増えていることも報告されており、COPD におけるムチン産生の亢進の重要性が窺われる。

一方、慢性気管支炎患者の気道では粘膜下腺の肥大と杯細胞の過形成があり、粘膜下腺肥大の程度と気腔内粘液や1日あたりの喀痰量との間には有意な相関が認められる。さらに、杯細胞の過形成は、喀痰を有さない健常喫煙者や肺気腫におい

てもみられる。このような所見は、杯細胞が本来ならほとんど存在しないはずの細気管支レベルで顕著であり、これは気道炎症の重症度と相関があることがわかっている。しかし、杯細胞増生の発現機序や、かかる気道リモデリングの維持機構については不明な点が多いのが現状である。そこで本研究では、杯細胞増生の分子メカニズムを *in vitro* および *in vivo* の系で検討し、とくに EGFR リン酸化の関与を解明することを目的とした。

### B. 研究方法

*In vitro* の検討では気道上皮培養細胞株 NCI-H292 細胞を用い、タバコ煙、EGFR の代表的なリガンドである  $TGF\alpha$  をはじめ、喫煙刺激関連物質であるオキシダント（過酸化水素）、好中球を  $TNF\alpha$  で刺激した際の上清などで刺激を行った。次いで、上皮細胞の EGFR リン酸化を観察し、さらに EGFR 遺伝子、MUC5AC 遺伝子および蛋白発現を *In situ* hybridization, Northern blotting, Western blotting などで検討した。また、それらの

効果に対する EGFR リン酸化阻害薬 (BIBX 1522, AG 1478) の影響も検討した。

in vivo の検討ではラットを用い、タバコ煙曝露チャンバーにより 1 日 8 本 (1 本 3 分で 30 分間隔) で曝露を 20 日間行うことにより COPD の疾患モデルを作成し、気道組織の形態計測を行った。また、タバコ煙曝露によって誘導される組織変化に対する EGFR リン酸化阻害薬の影響も検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は東京女子医科大学動物実験倫理委員会の許可を得て行われた。

### C. 結果

培養気道上皮細胞 NCI-H292 を用いた in vitro の系では、タバコ煙曝露や TGF $\alpha$  刺激により EGFR のリン酸化が誘導されることが確認された。また、*In situ* hybridization および Northern blotting では、上記のいずれの刺激によっても EGFR 遺伝子の発現が亢進した。また、MUC5AC の遺伝子発現もタバコ煙、TGF $\alpha$ 、過酸化水素、活性化好中球上清などの刺激により亢進し、その効果は BIBX1522 の存在下でほぼ完全に抑制された。さらに、タバコ煙曝露は MUC5AC 蛋白発現を用量依存的に増加させ、その効果は BIBX1522 あるいは AG1478 によって完全に抑制され、ラジカルスカベンジャーである DMSO やスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) によっても部分的に抑制された。

一方、喫煙刺激により作成したラットの COPD 疾患モデルを用いた in vivo の検討では、20 日間の喫煙曝露により、気道粘膜における著明な杯細胞過形成と粘液による気道内腔の閉塞が広範に認められた。また、かかる組織学的変化は、あらかじめ BIBX1522 を経気道投与することによって有意に抑制された。

### D. 考察

COPD では、その発症機転や臨床表現型の構築メカニズムを解明することが、治療薬開発のた

めの課題といえる。とくに、気道上皮における粘液分泌細胞の増加は、COPD の重症度や予後に影響を与えるきわめて重要な因子の 1 つである。本研究の in vitro および in vivo 双方の成績より、喫煙刺激は気道粘膜の杯細胞増生を惹起させるとともに、気道上皮細胞におけるムチン遺伝子 MUC5AC の発現を亢進させ、気道分泌亢進の病態を引き起こす可能性が示唆された。また、このような気道リモデリングの形成には、EGFR のリン酸化が必須であることが明らかとなり、COPD における気道分泌亢進の予防あるいは治療に EGFR リン酸化抑制薬の有効性が推測された。

### E. 結論

COPD における気道分泌亢進には EGFR のリン酸化が重要な役割を果たしている。また、選択的なムチン遺伝子の発現調節は杯細胞過形成の成立・維持機構の阻害につながり、COPD の新しい治療戦略として期待される。

### F. 健康危惧情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. 玉置 淳 : COPD の診断と治療の進歩 : COPD の疫学と病態. 東京都医師会誌 66 : 1401 - 1407, 2013.

#### 2. 学会発表

国際学会

1. Tamaoki J : Invited lecture: Regulation of airway cleaning in inflammatory airway diseases. 8th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology. Nov 2013, Yokohama

2. Tamaoki J : Symposium: Management of mucus secretion airway diseases: Role of airway hypersecretion in COPD exacerbations. 16<sup>th</sup> Asian Research Symposium in Rhinology. Aug 2013, Yokohama

3. Tamaoki J : Symposium: Novel action of macrolide antibiotics: The mechanism of action & future prospects: Regulation of airway clearance in inflammatory airway diseases. The 28<sup>th</sup> International Congress of Chemotherapy and Infection. June 2013, Yokohama

国内学会

1. 玉置 淳 : シンポジウム : COPD と喘息の相違 : 病態・病理学の立場から. 第 63 回日本アレルギー秋季学術大会, 2013 年 11 月, 東京
2. 玉置 淳 : シンポジウム : 気道クリアラン

ス : 気道における粘液線毛輸送系の制御機構と病態. 第 23 回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会学術集会, 2013 年 10 月, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## COPD と CPFE における呼吸抵抗と QoL の相違

研究分担者 久保 恵 嗣

信州大学医学部内科学第一講座 特任教授

### 研究要旨

近年、患者の呼吸努力に依存せずに呼吸抵抗を測定する、強制オシレーション法の閉塞性肺疾患における有用性が認知されてきている。今回、CPFE と COPD との相違を検討するため、強制オシレーション法や健康関連 QoL を調査した。その結果、CPFE では COPD と比較して強制オシレーション法の低周波領域における異常は有意に軽度である一方、健康関連 QoL の障害の程度は同程度であることがわかった。また息切れについては、CPFE では拡散能力がより低下している疾患であるにも関わらず、COPD 患者に比べて自覚に乏しい可能性も示唆された。

### A. 研究目的

同一肺に気腫性病変と線維化病変を合併し、両者の肺病変を併せ持つために拡散能がそれぞれの疾患よりもより低下するとされる CPFE における強制オシレーションおよび健康関連 QoL における COPD との相違について検討する。

### B. 研究方法

2013 年 4 月 1 日～10 月 31 日に信州大学附属病院にて精密呼吸機能検査を行った、COPD 患者 53 名、CPFE 患者 17 名を対象とした。CPFE の選択は Kitaguchi らの選択基準に準拠した。

呼吸抵抗測定機器として、マスタースクリーン IOS-J（フクダ産業：以下 IOS）および MostGraph-01（チェスト株式会社：以下 MostGraph）を用いた。

また健康関連 QoL 調査票として St. George's Respiratory Questionnaire (SGRQ) および COPD Assessment Test (CAT) を使用した。

（倫理面への配慮）

本研究は COPD および CPFE 診療に必要な精密呼吸機能検査および健康関連 QoL 調査の結果

をもとに解析したものであるため、倫理面での配慮は問題とならない。個人情報管理については患者データに新たな番号を付して連結可能匿名化を行った。

### C. 研究結果

#### (1) MostGraph と呼吸機能検査

CPFE においては共振周波数と予測一秒量が最も良い相関 ( $r = -0.74$ ) を示した (図 1A)。COPD においては共振周波数と %RV/TLC が最も良い相関 ( $r = 0.58$ ) であった (図 1B)。

#### (2) IOS と呼吸機能検査

MostGraph の場合と同じく、CPFE においては共振周波数と予測一秒量が ( $r = -0.65$ )、COPD においては共振周波数と %RV/TLC が最も良い相関を示した ( $r = 0.77$ )。強制オシレーション法と呼吸機能検査との間の相関係数が 0.50 以上を示した項目を表 1 に示す。

#### (3) 強制オシレーション法における COPD と CPFE の相違

IOS、MostGraph のいずれも、CPFE と比較して COPD の方が、有意に呼吸抵抗が大きく、リアク