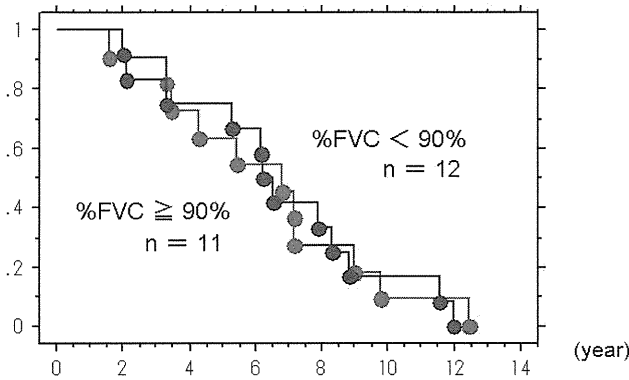
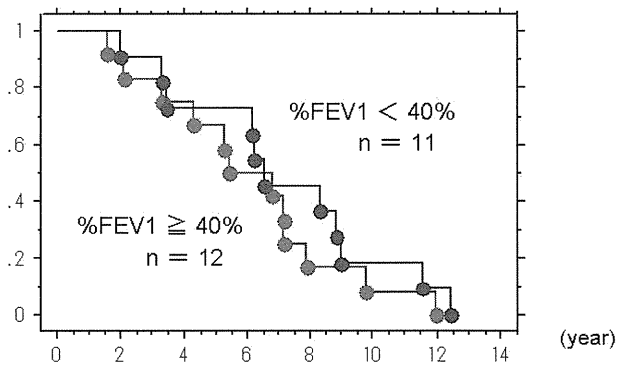


図 2. 生存曲線 : LVRS 後の BMI (n = 23)



(癌, 脳梗塞による死因 (4 名) を除く)

図 3. 生存曲線 : LVRS 後の %FVC (n = 23)



(癌, 脳梗塞による死因 (4 名) を除く)

図 4. 生存曲線 : LVRS 後の %FEV₁ (n = 23)

認めなかった。10L リザーバマスク呼吸下では 20mmHg で 2 群に分けると p=0.053 と予後への影響が示唆された。(図 5)

LVRS 前後の CI の中央値にて 2 群に分けた場

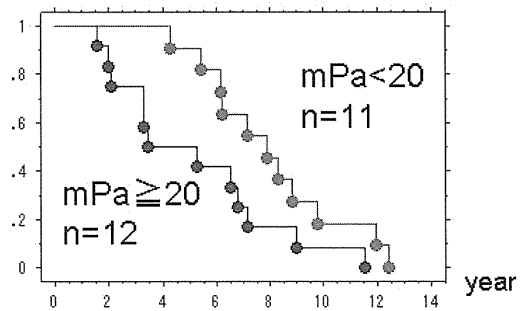
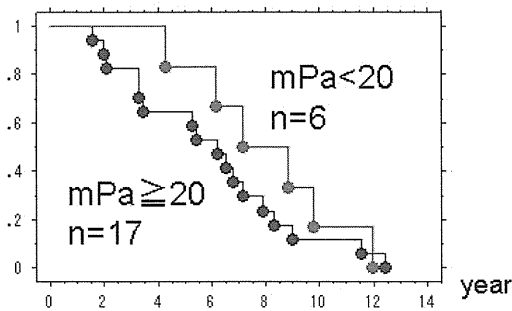
合, 予後に差を認めなかった。(図 6)

LVRS 前後の SI の中央値にて 2 群に分けた場合, LVRS 前は予後に差を認めなかったが, LVRS 後は p<0.05 と予後への影響を認めた (図 7)。

room air 呼吸

10L リザーバマスク 呼吸

P=0.0503



(癌, 脳梗塞による死因 (4 名) を除く)

図 5. 生存曲線 : LVRS 後の平均肺動脈圧 (mPa) n = 23

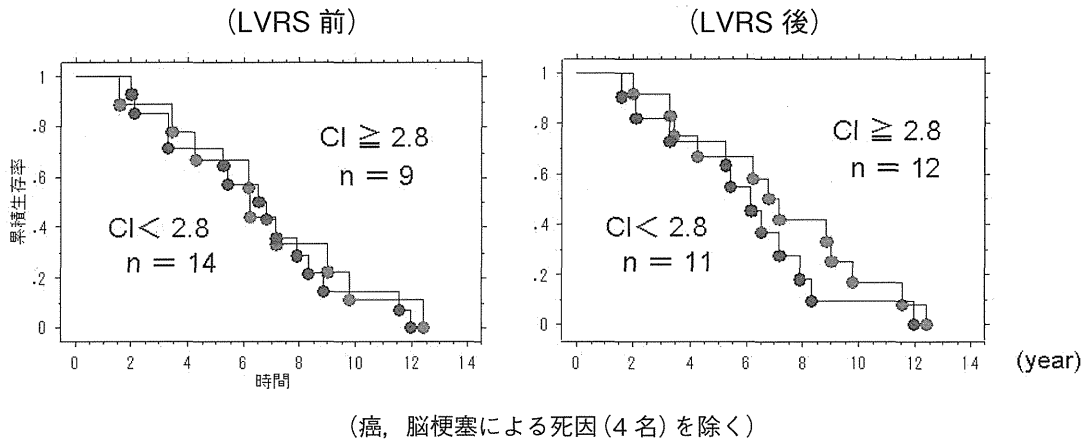


図 6. 生存曲線 : LVRS 前後の心係数 (CI) n = 23

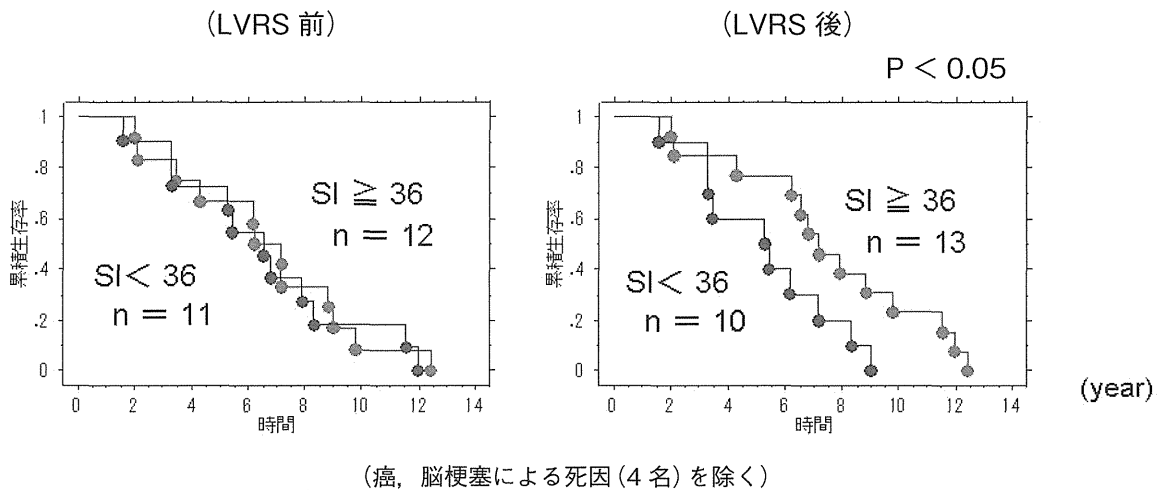


図 7. 生存曲線 : LVRS 前後の 1 回拍出係数 (SI) n = 23

D. 考 察

LVRS 後の気腫型 COPD を対象として、右心カテーター検査を行い肺動脈圧測定、心拍出量測定によって循環系因子を評価し、予後に及ぼす影響を調べた。低酸素性肺血管攣縮の影響を除くために酸素をリザーバマスク 10L/min の流速で 10 分間呼吸し、その呼吸条件のまま測定した。この条件下では低酸素性肺血管攣縮は十分に改善していると考えられる。

閉塞性障害の程度は COPD の予後に影響するが、多様性があり、それだけでは規定できないことが指摘されている。今回の研究においては閉塞性障害が強い群の中での検討で有ったため、閉塞

性障害では予後に差が出なかったと考えられる。さらに、今回の症例が気腫型 COPD に限定したことや、死因に感染の合併が少なくほとんどの患者が呼吸不全にて死亡していることも影響した可能性がある。

今回の研究で低酸素性肺血管攣縮の影響を除いた平均肺動脈圧が気腫型 COPD の予後に影響することが示唆された。LVRS 後の内科的治療に関しての個々のデータは無いが、LVRS を行った 1996 年 4 月から 2000 年 3 月までの期間、その後のしばらくの期間の薬物療法は SAMA の吸入またはテオフィリンの内服が中心であり、呼吸状態が悪化すると在宅酸素療法を行っていた。今回検討した症例に在宅酸素に移行した症例も含まれてい

たとえられ、酸素吸入にて平均肺動脈圧が正常となる症例の予後を反映した可能性がある。

LVRs 前後の CI は予後に影響しなかった。今回の右心カテテル検査は安静時に行っており、そのため予後に影響しなかった可能性がある。

一方、LVRs 後の SI は心機能が保たれている群の予後が良かった。CI と同様に安静時の検査であるが、労作時に心拍数が増加した場合、SI と心拍数の積である CI が増加すると考えられ、労作時の CI の指標になっている可能性がある。

LVRs 前の SI が予後に影響しなかったが、LVRs による肺過膨張の改善や肺血管床の減少などにより、LVRs 前後で SI が変化したため予後に影響しなかったと考えられる。

E. 結 論

LVRs の適応となる気腫型 COPD において安静時の心機能検査では、LVRs 後の 1 回拍出係数、および低酸素性肺血管攣縮の影響を除いた状態の肺動脈圧が予後に影響することが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 白石素公, 児玉 多, 平野涼介, 竹田悟志, 吉田祐士, 藤田昌樹, 渡辺憲太朗: 間質性肺炎における肺気腫の合併と肺高血圧, % FEV1 との関連. 日本呼吸器学会雑誌, 49 (11), 810-815, 2011
- 渡辺憲太朗: CPFPE の呼吸機能と循環動態 -

予後規程因子としての肺高血圧症. 医学のあゆみ, 241 (12), 902-905, 2012

- 渡辺憲太朗: COPD の検査と診断. 臨床と研究, 89 (8), 5-10 (1017-1022), 2012
- 渡辺憲太朗: COPD の早期診断. 臨床と研究, 89 (8), 121-128 (1133), 2012

2. 学会発表

国内学会

- 白石素公, 吉田祐士, 石井夏子, 青山 崇, 平野涼介, 松本武格, 田代尚樹, 原田泰志, 藤田昌樹, 渡辺憲太朗: III, IV 期の COPD の予後と換気系, ガス交換系, 循環系因子との関係. 日本呼吸器学会総会, 平成 25 年 4 月
- 白石素公, 吉田祐士, 石井夏子, 平野涼介, 井形文保, 矢次 博, 田中 誠, 石井 寛, 藤田昌樹, 渡辺憲太朗: 気腫型: COPD における LVRs 後の肺動脈圧が予後に及ぼす影響. 日本肺高血圧学会総会, 平成 25 年 10 月
- 白石素公, 吉田祐士, 石井夏子, 平野涼介, 松本武格, 田中 誠, 廣田貴子, 原田泰志, 石井 寛, 藤田昌樹, 渡辺憲太朗: 日本臨床生理学会総会, 平成 25 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

- 特許取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他
なし

非喫煙喘息死患者における炎症細胞・サイトカインに関する研究

研究分担者 星野友昭

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 教授

研究要旨

目的：過去の喘息死の報告では、喫煙歴が不明であり、非喫煙喘息死患者の肺、気道炎症のプロセスに関しての詳細な報告はない。

方法：12人の非喫煙喘息死患者の剖検肺組織（喘息死群）、5人の外科的肺切除後の非喫煙軽症喘息の摘出肺組織（軽症喘息群）、10人の外科的肺切除後の非喫煙者の肺組織（コントロール群）を解析した。喫煙、COPDは厳密に除外した。さらに、各群で肺炎症細胞、炎症性サイトカインIL18、IL18レセプター α の発現を評価した。

結果：喘息死群において好酸球、リンパ球は他の2群と比べ有意に増加していた。また肺好中球は喘息死群とコントロール群では有意差を認めなかったが、喘息死群と軽症喘息群では有意差は認めなかった。CD8陽性T細胞は喘息死群は他の2群と比べ有意に増加していた。さらにIL-18、IL-18Rは喘息死患者肺組織の炎症細胞、気道上皮細胞、平滑筋細胞において他2群と比べ強く発現していた。

考察：好酸球、CD8陽性T細胞、IL-18タンパクの過剰発現は致死性喘息の悪化において重要な役割を果たす可能性があり、またこれまでの喘息死の報告で肺、気道炎症に対する喫煙およびCOPDの影響が否定できない可能性がある。

A. 研究目的

過去の喘息死に関しての報告では、喘息死患者の気道において、好酸球の増加、多量の粘液栓、リモデリングの所見が認められる。更には発症24時間以内に死亡した超急性例では、好酸球浸潤よりも好中球浸潤が優位であることや喘息死患者においてCD8陽性T細胞、IFN- γ の発現増加が認められることが報告されている^{1,2)}。

すなわち、CD4陽性細胞やIL-4, 5, 13などのTh2サイトカインの増加が優位である安定期の喘息と異なる気道炎症の環境が存在することが示唆されている。しかしながら、これらの報告では、喫煙歴についての詳細が明らかではなく、COPDの症例が含まれている可能性を否定できない。

IL-18は、IFN- γ などのTh1サイトカインの産生を誘導する一方で、Th2サイトカイン、IgEの産生も誘導する^{3,4)}。我々は、IL-18がCOPD、間質性肺炎、RAの病態に関与していることを明らかにしている⁵⁻⁸⁾。アレルギー性気管支喘息においても、平滑筋細胞、気道上皮にもIL-18が発現していること、血清IL-18が上昇していることが示されている^{9,10)}。また、IL-18の遺伝子多型が喘息の重症度に関連している¹¹⁾。さらに我々は、IL-18トランスジェニックマウスにおいて、気道過敏性と気道炎症が亢進していることを証明した¹²⁾。しかし、喘息死の病態におけるIL-18の関与は明らかではない。

今回、我々は、COPDの合併のない非喫煙の喘息死における気道炎症のプロセス、喘息死におけ

る IL-18 の関与を明らかにするため、研究を行った。

B. 研究方法

対象症例

- ①喘息死群 (表 1) : 12 例 (男性 9 名, 年齢 : 44.4 ± 7.4 歳) : 1973 年から 1998 年の間に病理解剖が行われた 12 人の非喫煙喘息死患者肺組織
- ②軽症喘息群 : 5 例 (男性 1 名, 年齢 : 66.8 ± 4.1 歳) : 肺癌切除術を施行された 5 人のコントロール良好な非喫煙喘息患者肺組織
- ③コントロール群 : 10 例 (男性 5 名, 年齢 : 62.5 ± 4.9 歳) : 肺癌切除術を施行された 10 人の非喫煙者肺組織

炎症細胞, 炎症性サイトカインの解析

炎症細胞 : メイ・ギムザ染色にて好酸球, 好塩基球, リンパ球, 好中球, 肺胞マクロファージの定量的評価を行った。

免疫染色

- ①抗 CD4 (4B12 [mouse IgG2a], Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK)
- ②抗ヒト CD8 (C8/144B [mouse IgG1], Dako)
- ③抗ヒト IL-18 (clone8 [mouse IgG2a])
- ④抗 IL-18 受容体 α (H44 [mouse IgG1])

上記モノクローナル抗体にて CD4 陽性細胞, CD8 陽性細胞, IL-18 発現細胞を定量的に評価した。

(倫理面への配慮)

個人情報 の 尊 守, 検 体 の 使 用 に 関 して は, 1975 年 の ヘルシンキ宣言に 従い, 同意書 を 取得 し, 当 大学 の 倫理委員会 の 承認 を 得 た。

C. 研究結果 (図 1 ~ 4)

- ①喘息死の気道では, 組織学的に粘液栓形成, 杯細胞増加, 平滑筋過形成などの著明な気道炎症とリモデリングが認められた。全ての症例で組織学的に肺気腫はなかった。
- ②喘息死の気道における好酸球, リンパ球数増加は著明であり, 浸潤細胞数のカウントでは, 喘息死における好酸球数, リンパ球数は軽症喘息群, コントロール群よりも高値であった。
- ③過去の報告とは違い, 喘息死群における好中球の増加は軽度であった。喘息死群における好中球は, コントロール群より有意に増加していたが, 軽症喘息群とは差がなかった。
- ④喘息死群, 軽症喘息群において, 気道における CD4 陽性 T 細胞はコントロール群よりも有意に増加していたが, 2 群間に差はなかった。そ

表 1. 喘息死症例の患者背景

番号	年齢	性別	死亡年	治 療						発作からの時間
				全身ステロイド	ICS	B2 刺激薬	テオフィリン	抗 LT 薬	人工呼吸器	
1	32	M	1973	+	-	-	+	-	-	75 min
2	52	M	1974	+	-	-	-	-	-	5 days
3	5	M	1977	-	-	-	-	-	+	36 hrs
4	67	M	1980	-	-	-	-	-	-	5 hrs
5	43	M	1981	+	-	-	-	-	-	< 24 hrs
6	75	M	1982	+	-	-	-	-	-	20 min
7	16	F	1984	-	-	+	+	-	-	DOA (6 hrs)
8	79	F	1986	+	-	-	-	-	+	7 days
9	57	M	1986	+	-	-	-	-	-	unknown
10	14	M	1994	-	-	-	-	-	-	DOA (13 days)
11	24	M	1998	+	+	+	+	-	-	4days
12	68	F	1998	-	+	-	-	-	+	DOA (7 days)

ICS : inhaled corticosteroid

抗 LT 剤 : 抗ロイコトリエン (leukotriene) 剤

DOA : death on arrival

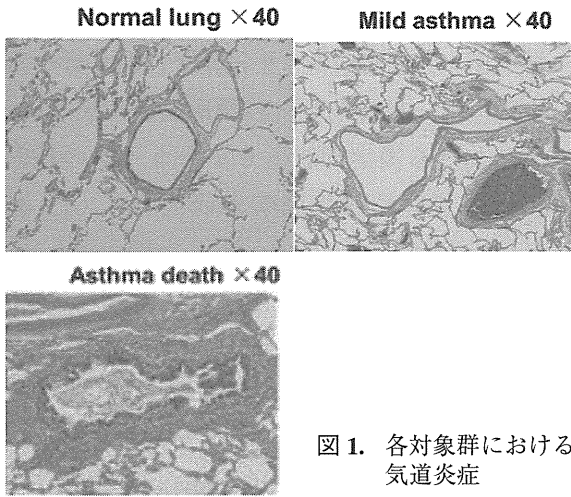
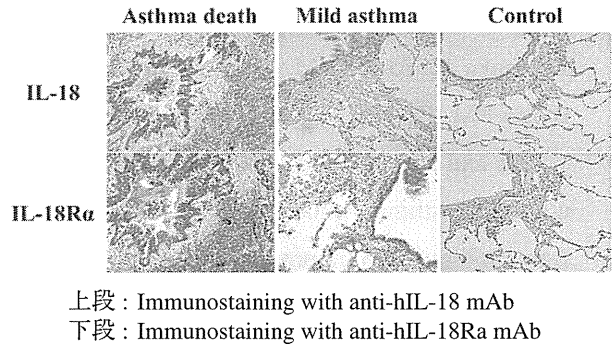


図 1. 各対象群における気道炎症



上段：Immunostaining with anti-hIL-18 mAb
下段：Immunostaining with anti-hIL-18Ra mAb

図 4. 抗 IL-18, IL-18 レセプターモノクローナル抗体による免疫組織学的分析

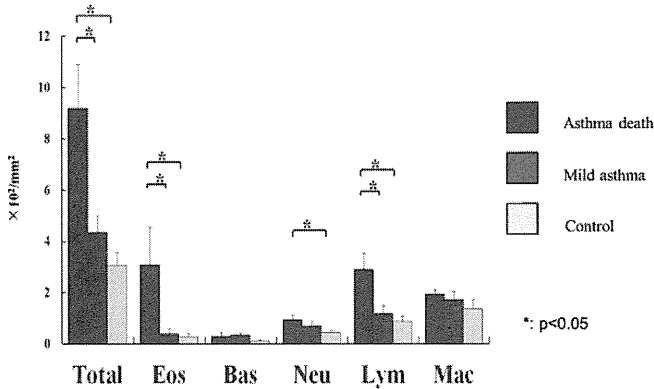


図 2. 浸潤炎症細胞数

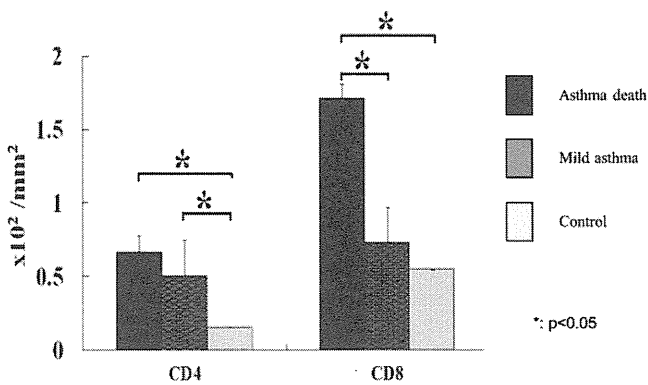


図 3. CD4, 8 陽性 T 細胞数

れに対して、CD8 陽性 T 細胞は、喘息死群では、軽症喘息群、コントロール群よりも有意に増加していた。

- ⑤気管支肺胞上皮細胞，炎症細胞は IL-18, IL-18 受容体が強発現しており，CD8T 細胞でもそれらの発現の増加が認められた。

- ⑥以上の現症は年齢や性別には関係が無く 12 名のすべての喘息死患者でみられた。
⑦喘息死群の 12 例中 5 例は発作から 24 時間以内に死亡していた超急性群であったが，超急性群とそれ以外の症例で炎症細胞数に差はなかった。

D. 考 察

- ①過去の報告と異なり，本研究では喘息死群，軽症喘息群で肺組織中の好中球数の差がなかった。そのため，過去の報告は，喫煙，COPD の関与が否定できない。
②喘息死における CD8 細胞，IL-18 がなんらかの役割を果たしており，新規治療薬のターゲットとなり得る。さらに喘息死におけるそれらの細胞，蛋白の関与のメカニズムの解析が必要である。

E. 結 論

喘息死においては，COPD を除外した上で，その病態を解明する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Oda H, Kawayama T, Imaoka H, Sakazaki Y,

Kaku Y, Okamoto M, Kitasato Y, Edakuni N, Takenaka S, Yoshida M, Iwanaga T, Kato S, O'Byrne PM, Hoshino T : IL-18 expression, CD8+ T cells and eosinophils in lungs of non-smokers 1 with fatal asthma. Annals of Allergy, Asthma and Immunology 2013 (in press)

2. 学会発表

国際学会

1. Sakazaki Y, Hoshino T, Takei S, Okamoto M, Kinoshita T, Imaoka H, Iwanaga T, Kato S, Aizawa H : Inflammatory cells strongly express IL-18 in lungs of asthma death. ERS Annual Congress 2009, Vienna
2. Sakazaki Y, Hoshino T, Kawayama T, Imaoka H, Kinoshita T, Sawada M, Oda H, Takenaka S, Kitasato Y, Iwanaga T, Kato S, Aizawa H : Enhanced expression of IL-18 and increased CD8+ T cells and eosinophils in the airways of asthma death. ERS Annual Congress 2010, Barcelona
3. Sakazaki Y, Hoshino T, Takei S, Okamoto M, Kawayama T, Kinoshita T, Imaoka H, Iwanaga T, Kato S, Aizawa H : Increased CD8 T cells and eosinophils but not CD4 T cells in small airways of asthma death. ATS Annual Congress 2010, New Orleans

国内学会

1. 竹中慎一, 坂崎優樹, 小田華子, 加來庸一郎, 松岡昌信, 星野友昭 : 非喫煙喘息死患者の気道における炎症細胞・サイトカインの検討. 2013年慢性閉塞性肺疾患研究会, 2013年1月
2. 星野友昭, 坂崎優樹, 澤田昌典, 小田華子, 竹中慎一, 木下 隆, 川山智隆, 相澤久道 : 喘息死患者及び COPD における気道リモデリングの類似点と相違点. 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2010年11月
3. 坂崎優樹, 星野友昭, 武井仁子, 今岡治樹, 木下 隆, 岡元昌樹, 川山智隆, 岩永知秋, 相澤久道 : 喘息死患者の肺病変部における T 細胞サブセットとサイトカイン発現の解析. 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2008年6月

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

ウイルス感染誘発慢性閉塞性肺疾患増悪制御法の検討

研究協力者 山 谷 陸 雄

東北大学先進感染症予防学寄附講座 教授

研究要旨

COPD 安定期管理薬である、長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬、吸入ステロイド薬および配合剤のライノウイルス感染抑制作用を検討した。長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬であるホルモテロールおよび吸入ステロイド薬であるブデソニドはライノウイルス培養液放出抑制効果およびウイルス RNA 複製抑制効果を示した。また、抑制の機序として、ホルモテロールおよびブデソニドはライノウイルス感染受容体である細胞接着分子 ICAM-1 の発現を抑制し、ホルモテロールはライノウイルス RNA が細胞質に進入する酸性エンドゾームを減少した。これらの薬剤は単独で炎症性物質である IL-1 β 、IL-6 および IL-8 の培養液放出を減少させた。また、併用により、炎症性物質の放出減少は増強作用を示した。さらに、臨床で使用されている別の種類の長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬であるサルメテロールおよび吸入ステロイド薬であるフルチカゾンのライノウイルス培養液放出抑制効果、および IL-6 放出抑制効果を認め、ウイルス RNA 進入経路である酸性エンドゾームに対するサルメテロールの減少効果を認めた。長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬、吸入ステロイド薬および配合薬はライノウイルス感染受容体の発現抑制あるいはウイルス RNA 進入抑制を介して、ライノウイルス感染抑制効果およびウイルス感染に伴う炎症制御効果を有すると示唆された。

A. 研究目的

ライノウイルスや respiratory syncytial (RS) ウイルス、インフルエンザウイルスなどの呼吸器ウイルス感染は慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪を惹起することが報告されてきた。呼吸器ウイルス感染は気道炎症や喀痰分泌、気道平滑筋収縮などの機序を介して COPD の増悪を引き起こすと考えられている。抗インフルエンザ薬の開発やインフルエンザワクチン接種によってインフルエンザの予防・治療法は発展してきた。一方で、ライノウイルス感染の治療薬やワクチンの開発は遅れている。

COPD の安定期管理薬として長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬や吸入ステロイド薬が使用されている。ラ

イノウイルス感染に伴う炎症性物質の気道上皮継代細胞からの放出に関しては、吸入ステロイド薬とは異なり、長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬には抑制作用がないと報告がなされ、臨床効果との乖離が認められている。私たちは、ヒト気管上皮細胞にライノウイルスを感染させる感染系を用いて、平成 23 年度の本研究班において、長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬であるホルモテロール (formoterol) および吸入ステロイド薬であるブデソニド (budesonide) のライノウイルス感染抑制効果および炎症性物質放出抑制効果を報告した。また、平成 24 年度の研究において、貼布型長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬、ツロブテロール (tulobuterol) による感染抑制効果および炎症性物質放出抑制効果を報告した。本年度は、ホルモテロールおよびブデソニドの効果

の詳細、および受容体発現や炎症性物質の合成に関与する転写因子に及ぼす効果を検討した。また、同様の吸入ステロイド薬/長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬配合剤であるフルチカゾン/サルメテロールのライノウイルス感染抑制効果および抗炎症効果を検討した。

B. 研究方法

1) ホルモテロールおよびブデソニドのライノウイルス感染に対する作用を検討するため、ヒト気管上皮細胞を試験管に培養した。ウイルス感染3日前からホルモテロール (10 nM)、ブデソニド (10 nM)、あるいはホルモテロール (10 nM) + ブデソニド (10 nM) をヒト気管上皮細胞に作用させた。使用した薬剤濃度 (10 nM) は、吸入時に観察される気道内の濃度を基準にした。その後、ライノウイルスを 10^5 TCID₅₀ units/ml (TCID₅₀; tissue culture infective dose 50) の濃度で準備し、1時間感染させた。その後、ウイルスを含んだ培養液を除去、洗浄し、新しい培養液で置換した。ウイルス感染後 33°C で回転培養した。ウイルス感染前、感染後 24 時間、72 時間等の時点で培養液を回収し、ウイルス量と炎症性物質であるインターロイキン (IL)-1 β 、IL-6 あるいは IL-8 の放出量、可溶性 ICAM-1 (感染受容体である細胞接着分子 ICAM-1 の可溶成分; sICAM-1) を測定した。ライノウイルス量の測定は、10 倍希釈した培養液をヒト胎児線維芽細胞に感染させ、50% 細胞変性効果を示す希釈倍率 (TCID₅₀ units/ml) で求めた。インターロイキンは ELISA 法で測定した。また、細胞から RNA を抽出し、RT-PCR 法で細胞内ライノウイルス RNA および感染受容体である ICAM-1 を定量測定した。さらに、ライノウイルス RNA の細胞質放出部位である酸性エンドゾームを蛍光色素で染色して、エンドゾーム内の pH に及ぼす薬剤の影響を検討した。

2) サルメテロールおよびフルチカゾンのライノウイルス感染に対する作用を測定するため、ウイルス感染 3 日前からサルメテロール (10 nM)、

フルチカゾン (10 nM)、あるいは サルメテロール (10 nM) + フルチカゾン (10 nM) をヒト気管上皮細胞に作用させた。

(倫理面への配慮)

ヒト気管上皮細胞培養は東北大学医学部倫理委員会の承認を得て行なった。

C. 研究結果

1) ヒト気管上皮細胞培養液において、ライノウイルス感染 3 日目にウイルス放出量は最大となった。また、ホルモテロールおよびブデソニドはライノウイルス放出量を濃度依存性に減少させた。ホルモテロール (10 nM) の抑制効果は $\beta 2$ 受容体阻害薬である ICI 118551 (1 μ M) で阻害され、ブデソニドはホルモテロールに比較して強いウイルス放出抑制効果が観察された。ホルモテロールは 10^{-10} M から、ブデソニドは 10^{-9} M から抑制作用が認められた。

2) ヒト気管上皮細胞で複製されるライノウイルス RNA を感染 24 時間後および 72 時間後で比較した。感染 24 時間後でライノウイルス RNA は検出され、さらに、感染 24 時間から 72 時間にかけてライノウイルス RNA 複製量が増加した。ホルモテロールおよびブデソニドはライノウイルス RNA 複製量を減少させた。ホルモテロールの抑制効果は $\beta 2$ 受容体阻害薬である ICI 118551 で阻害された。ブデソニドはホルモテロールに比較して強いライノウイルス RNA 複製抑制効果が観察された。

3) Major type ライノウイルスは気道細胞の表面に発現する細胞接着分子 ICAM-1 に吸着し、酸性エンドゾームに取り込まれて細胞内に移動する。ヒト気管上皮細胞における ICAM-1 の mRNA 発現は、感染 3 日前からホルモテロールおよびブデソニドで処理することにより減少した。ホルモテロールの ICAM-1 mRNA 発現抑制作用は ICI 118551 で回復した。ホルモテロール + ブデソニドは抑制増強効果を認めた。

細胞接着分子 ICAM-1 の蛋白は可溶成分 (sICAM-1)

として培養液に放出され、上皮細胞で合成される ICAM-1 発現の指標としてきた。ヒト気管上皮細胞から放出される培養液 sICAM-1 濃度は、mRNA 発現と同様に、感染 3 日前からホルモテロールおよびブデソニドで処理することにより減少した。ホルモテロールの sICAM-1 培養液減少作用は $\beta 2$ 受容体阻害薬である ICI 118551 で回復した。ホルモテロール+ブデソニドは抑制増強効果を認めた。

4) ライノウイルス RNA は酸性の環境下でエンドゾーム内から細胞質に放出される。酸性エンドゾーム数は蛍光顕微鏡下で観察される。細胞をホルモテロールで処理すると酸性エンドゾーム数は減少した。ブデソニドは酸性エンドゾーム数を変化させなかった。

ヒト気管上皮細胞の酸性エンドゾームから放出される蛍光強度はエンドゾームの数に関係する。ライノウイルス感染前に 3 日間ホルモテロールで処理をすると、酸性エンドゾームから放出される蛍光の強度が減少した。さらに、ホルモテロールによる蛍光強度の減少作用は ICI 118551 で回復した。また、ブデソニドは蛍光強度を変化させなかった。

5) ライノウイルス感染により、ヒト気管上皮細胞から放出される IL-1 β 、IL-6 および IL-8 の培養液濃度は感染後、時間を追って増加した。また、ホルモテロールおよびブデソニドで処理すると、感染前の放出量もライノウイルス感染後に増加した放出量も減少した。ホルモテロール+ブデソニドで処理した場合、IL-1 β 、IL-6 および IL-8 の放出量減少はホルモテロールあるいはブデソニド単独に比べて減少作用は増強した。

6) 炎症性サイトカイン (IL-1 β 、IL-6) あるいはモノカイン (IL-8)、および細胞接着分子の発現は転写因子 NF- κ B の活性化で促される。ウイルス感染前の気管上皮細胞において、転写因子のうち、p65 はホルモテロールおよびブデソニドで活性化抑制が認められた。ホルモテロール+ブデソニドでさらに抑制が増強された。P50 はこれらの

薬剤で活性化は変化しなかった。

7) 本年度は、ブデソニド/ホルモテロールに先行して臨床の場で COPD の管理薬として使用されてきたフルチカゾン/サルメテロールも用いて、ヒト気管上皮細胞におけるライノウイルス感染抑制作用と抗炎症作用を検討した。長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬サルメテロール (10 nM) および吸入ステロイド薬フルチカゾン (10 nM) は、いずれもライノウイルス放出量を減少させた。サルメテロール+フルチカゾンはライノウイルス放出量を減少させたが、単独使用に比較した減少増強効果は認めなかった。

同様に、サルメテロールおよびフルチカゾンは、いずれも炎症性サイトカイン IL-6 の培養液放出量を減少させた。サルメテロール+フルチカゾンもライノウイルス放出量を減少させた。

8) サルメテロールおよびフルチカゾンのライノウイルス放出抑制の作用機序を検討するため、ウイルス RNA が細胞質に放出される部位である酸性エンドゾームを測定した。サルメテロールは細胞内の酸性エンドゾーム数を減少させた。また、酸性エンドゾームから放出される蛍光の強度を減少させた。これに対して、フルチカゾンは酸性エンドゾーム数および蛍光の強度を変化させなかった。

D. 考 察

COPD の安定期管理薬として長時間作用性抗コリン薬 (チオトロピウム) に加えて長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬および吸入ステロイド薬が使用され、さらに $\beta 2$ 刺激薬/吸入ステロイド配合薬の COPD 増悪抑制効果が報告されている。また、吸入ステロイドの抗炎症作用が報告されている。他方で、長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬のライノウイルス感染に伴う炎症性物質の気道上皮継代細胞からの放出に関しては抑制作用がないと報告がなされ、臨床効果との違いが認められている。私たちはこれまで COPD 急性期の治療に用いられる経口あるいは点滴静注されたステロイドの濃度にお

いて、ステロイドがライノウイルス感染を抑制し、炎症性物質の放出を減少させることを報告してきた。また、本邦で $\beta 2$ 刺激薬として内服や吸入で使用されているプロカテロール、および長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬の貼付薬として使用されているツロブテロールがライノウイルス感染を抑制し、炎症性物質の放出を減少させることを報告してきた。

本年度の研究において長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬であるホルモテロールおよび吸入ステロイド薬であるブデソニドがライノウイルス培養液放出抑制、およびウイルス RNA 複製抑制をもたらすことを明らかにした。また、抑制機序として、ホルモテロールおよびブデソニドは感染受容体の ICAM-1 の発現を抑制した。さらに、ホルモテロールはライノウイルス RNA が細胞質に進入する酸性エンドゾームを減少することを報告した。また、これらの薬剤は単独で炎症性物質である IL-1 β 、IL-6 および IL-8 の培養液放出を減少させた。さらに、併用により、炎症性物質の放出減少は増強作用を示した。

また、長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬であるサルメテロールおよび吸入ステロイド薬であるフルチカゾンのライノウイルス培養液放出抑制、および IL-6 放出抑制が明らかとなった。作用機序に関しては今後検討が必要であるが、ウイルス RNA 進入経路である酸性エンドゾームに対するサルメテロールの減少効果を確認した。

これまでの海外の報告では長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬のライノウイルス感染に伴う炎症性物質の気道上皮継代細胞からの放出に関しては抑制作用がないと報告がなされていた。また、ヒト気道上皮細胞を用いた研究において、ライノウイルスの放出に変化がないとの報告も最近なされている。細胞実験の結果の違いの原因は不明であるが、研究に使用した細胞が継代細胞でなく、初代培養細胞であったこと、および培養液の組成の違いが考えられる。本研究により、長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬、吸入ステロイド薬および配合薬の COPD 増悪抑

制機序として、ライノウイルス感染抑制と気道炎症抑制が関与していることが明らかとなった。

E. 結論

長時間作用性 $\beta 2$ 刺激薬、吸入ステロイド薬および配合薬は感染受容体発現抑制あるいはウイルス RNA 進入抑制を介して、ライノウイルス感染抑制効果を有すると示唆された。また、炎症性サイトカインの減少作用も示唆された。これらの結果は COPD 増悪抑制効果などの臨床成績を裏付けるものである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamaya M, Nishimura H, Nadine L, Kubo H, Nagatomi R : Tulobuterol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Physiol Reports* 1 : e00041, 2013
2. Yamaya M, Nishimura H, Deng X, Nadine LK, Ota C, Sasaki T, Kubo H, Nagatomi R : Ambroxol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Arch Pharm Res* DOI 10.1007/s12272-013-0210-7

2. 学会発表

国際学会

1. Yamaya M, Hatachi Y, Kubo H, Nadine LK, Nishimura H : Serine protease inhibitors suppress influenza virus infection in human airway epithelial cells. *American Thoracic Society International Conference, Philadelphia, USA, 2013 (5/17-5/22)*

国内学会

1. 山谷陸雄 : 呼吸器感染症における新たな治療戦略 - 気道クリーニングと呼吸器感染症 -. 第 116 回日本小児科学会学術集会教育セミナー 9 (ES9), 平成 25 年 4 月 19 日, 広島

市

2. 山谷陸雄:呼吸器感染症と気道クリーニング,
第 11 回インフルエンザ夏季セミナー, 平成
25 年 7 月 20 日, 東京都

Ⅱ. 知的財産権の出願・登録状況

なし

研 究 報 告

呼吸不全に関する基礎研究：COPDを中心に

長瀬 隆英¹, 山内 康宏¹, 石井 聡²

東京大学大学院医学系研究科呼吸器内科学¹, 秋田大学大学院医学系研究科生体防御学²

はじめに

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。

呼吸不全を呈する呼吸器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 α , IL-1 β , 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。

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 (図 1)。

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。

本研究では, 近年, その生理学的意義が注目されている各種メディエーターなどに着目し, 呼吸不全を呈する呼吸器疾患発症との関連を探索する。

炎症・異常線維化と呼吸器疾患

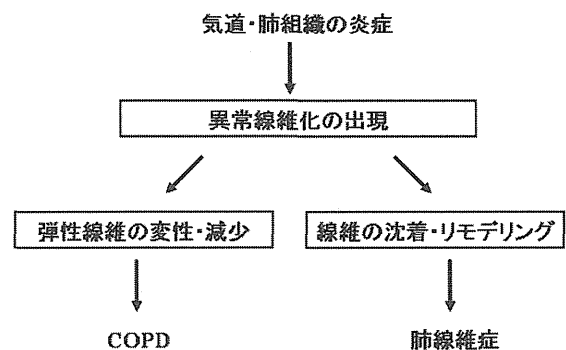


図 1. COPD 病変を, 「異常な線維化による臓器障害」として捉える

対象と方法

<CysLT2 受容体遺伝子ノックアウトマウスの作成>

LTC₄/D₄/E₄ 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する。まず始めに、TAZ ノックアウトマウスの作成と解析に着手する。

<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 3×10^5 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 (5 ml 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。

(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。

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ものを選び、ヘテロ接合体を得た (図 1)。このヘテロ接合体からさらにホモ接合体 CysLT2-R 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。目下、バッククロスによる遺伝的純化が完了し、疾患モデルを用いた解析が進行中である。

<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 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ものを選び, 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。

また呼吸生理学的にも, TAZ ノックアウトマウスでは, PV カーブにおいて典型的な「肺気腫」型の所見 (PV カーブの上方移動, コンプライアンス増加) を認めた。

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。

<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。

また 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。

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, ARDS, 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¹⁻¹²⁾。

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。

謝 辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）の助成によりなされたものである。

参考文献

1. Makita R, Uchijima Y, Nishiyama K, et al: Multiple renal cysts with concentration defects and pulmonary emphysema in mice lacking TAZ. *Am J Physiol* 2008; 294: F542–53
2. Mitani A, Nagase T, Fukuchi K, et al: Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif is essential for normal alveolarization in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 326–338
3. Kohyama T, Yamauchi Y, Takizawa H, et al: Histamine stimulates human lung fibroblast migration. *Mol Cell Biochem* 2010; 337: 77–81
4. Yamauchi Y, Kohyama T, Takizawa H, et al: Tumor necrosis factor- α enhances both epithelial-mesenchymal transition and cell contraction induced in A549 human alveolar epithelial cells by transforming growth factor- β 1. *Exp Lung Res* 2010; 36: 12–24
5. Kage H, Sugimoto K, Sano A, et al: Suppression of transforming growth factor β 1 in lung alveolar epithelium-decells using adeno-associated virus type 2/5 vectors to carry short hairpin RNA. *Exp Lung Res* 2011; 37: 175–185
6. Kamitani S, Yamauchi Y, Kawasaki S, et al: Simultaneous stimulation with TGF- β 1 and TNF- α induces epithelial mesenchymal transition in bronchial epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155: 119–128
7. Yamauchi Y, Kohyama T, Jo T, et al: Dynamic change in respiratory resistance during inspiratory and expiratory phases of tidal breathing in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2012; 7: 259–269
8. Mikami Y, Yamauchi Y, Horie M, et al: Tumor necrosis factor superfamily member LIGHT induces epithelial-mesenchymal transition in A549 human alveolar epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 428: 451–457
9. Saito A, Suzuki HI, Horie M, et al: An integrated expression profiling reveals target genes of TGF- β and TNF- α possibly mediated by microRNAs in lung cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e56587
10. Noguchi S, Hijikata M, Hamano E, et al: 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
11. Noguchi S, Hamano E, Matsushita I, et al: 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
12. Narumoto O, Niikura Y, Ishii S, et al: 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

特定健診を用いた COPD 検診による COPD 患者の早期発見の試み

安藤 守秀^{1,2}, 古井 秀彦^{1,3}, 小嶋昭次郎^{1,4}, 山川 隆司^{1,5}, 和田 育穂^{1,6}
吉田 麗己^{1,7}, 進藤 丈^{1,2}, 野村 竜司^{1,8}, 前田 晃男^{1,9}, 西脇 慶治^{1,10}
塚本 達夫^{1,11}, 西脇 了^{1,12}, 井上 義一¹³, 鈴木 克洋¹³

西濃地区 COPD 対策委員会¹, 大垣市民病院呼吸器内科², 古井医院³, 小嶋内科クリニック⁴, 山川医院⁵
和田医院⁶, 吉田内科⁷, 野村クリニック⁸, 西美濃厚生病院呼吸器内科⁹, 西脇医院¹⁰, 揖斐厚生病院¹¹
ケンコー薬局¹², 近畿中央胸部疾患センター臨床研究センター¹³

はじめに

我が国でも COPD 患者は近年増加傾向にある。しかし我が国での COPD の診断率は 10% 前後とされており¹⁾, 欧米のそれ (30-40%) と比較して低いレベルにある。これはスパイロメトリーの普及の遅れもあるが, 社会における認知の不十分さ, 早期発見のためのシステムが確立されていないことなども原因であると考えられる。これに対し COPD 早期発見のための検診システムとしては, 特定健診と結びつけた IPAG-COPD 質問票²⁾ によるスクリーニングと肺機能検査による二次検査を組み合わせた方法が呼吸器学会から推奨されている³⁾。

私たちは大垣市民病院および岐阜県西濃地域の各地区医師会を母体として西濃 COPD 対策委員会 (委員長: 古井秀彦) を平成 23 年より組織し, その活動の一環として平成 24 年度より大垣市 (総

人口約 16 万人) における特定健診に COPD 検診を組み入れた。この COPD 検診では呼吸器学会の推奨の通り IPAG-COPD 質問票による一次検診とスパイロメトリー検査の組み合わせを用いることとした。私たちはこの検診事業で得られたデータを用いて COPD 検診事業の成果を検証するとともに, この検診方法の問題点についても検討したので報告する。

対象と方法

1. 平成 24 年度大垣市特定健診事業について

大垣市特定健診は大垣市が運営主体となり, 大垣市在住の平成 24 年 4 月 1 日現在の国保加入者で, 40 才から 74 才までの人 29435 人を対象とし, 大垣市内の登録施設 57 施設 (病院 4 施設, 診療所 53 施設) で実施された。健診内容は表 1 に示した通りで, 例年実施されている身体計測, 理学所見, 血圧, 一般採血, 検尿に加え平成 24 年度

表 1. 特定健診の内容と対象者数

検診内容:					
問診 (食事, 運動週間, 服薬歴, 喫煙歴など)					
身体計測 (身長, 体重, BMI, 腹囲)					
理学所見, 血圧, 血液検査 (TG, HDL-Cho, LDL-Cho, FBS, HbA1c, GOT, GPT, γ -GPT, CRE, 血算)					
尿検査 (尿糖, 尿タンパク) + COPD 検診 (IPAG 質問票, 平成 24 年度より)					
対象者					
	40-49 才	50-59 才	60-69 才	70-74 才	計
男性	2217	1892	5677	3982	13768
女性	2055	2373	7070	4169	15667
計	4272	4265	12747	8151	29435

からは IPAG 質問票を用いた COPD のスクリーニング検査を実施した（この項目追加に際しては大垣市より約 30 万円の予算が新規につけられている）。健診対象者には 4 月より誕生日別に受診案内票が順次送付され、その受診案内票の案内に従って登録医療施設（多くはかかりつけ医）を受診するよう指示された。

2. COPD 検診について

IPAG 質問票は受診案内票に同封して健診対象者に送付された。受診者には IPAG を受診時に持参してもらい健診実施中に記載し提出してもらった。IPAG の集計は他の項目と合わせて健診委託業者に依頼した。集計結果は一覧表の形で健診医療施設に報告され、そこで施設医によって判定（17 点以上は要精査）が行われた。判定結果は受託業者を經由して保健センターでとりまとめが行われ、他の検査結果とともに受診者に送付された。IPAG で要精査とされた者は他の要精査項目と同様に原則健診実施施設で医療保険を用いての二次検査（COPD の場合は気管支拡張剤吸入後のスパイロメトリー検査）を受けることとした。

スパイロメトリー検査結果は 1-5 に区分し、それに対応した事後指導の実施を各施設に依頼した。具体的には、1. 非 COPD および 2. 軽度の気流閉塞を有する COPD については次年度の健診受診の指導および喫煙者については禁煙指導を、3. 中等度の気流閉塞を有する COPD については医療的介入の開始を、4. 重度以上の気流閉塞を有する COPD については専門施設（大垣市民病院への紹介）を、そして 5. 判定困難なスパイロメトリー異常については肺機能の精査を行うこととした。

3. スパイロメトリー実施施設の確保

平成 23 年度末に気管支拡張剤吸入後のスパイ

ロメトリーによる二次検査が実施可能かどうかのアンケート調査を大垣市内の特定健診指定医療機関を対象として実施した。その結果 14 施設が可能と回答したが、この施設数では 500-1000 例と見積られる検査数をこなすことは困難と考えられたため、平成 24 年 5 月 19 日に指定医療機関を対象としてスパイロメトリー講習会を実施した。この講習会には医師 33 名、看護師 36 名、臨床検査技師 9 名、保健師 1 名が参加し、大垣市民病院および西美濃厚生病院生理機能検査室の臨床検査技師による気管支拡張剤吸入（MDI のスパーサーを用いての吸入）下でのスパイロメトリー実施手技の指導および最新のスパイロメトリー機器の紹介が行われた。これにより最終的にスパイロメトリー実施可能施設は 37 施設となった。

4. 特定健診受診状況

平成 24 年度の特定健診の受診状況を表 2 に示した。受診率は 25.6% と例年（30 前後%）と比較してやや低調であった。特に若年者、男性の受診率が低く、その結果受診者の構成は 60 才以上が 81.1%、女性が男性の 1.5 倍と高齢、女性にやや偏ったものとなった。

5. この受診者層における COPD 患者の期待発見数

この受診者集団より発見が期待される COPD 患者数は、NICE study に基づく我が国の COPD 有病率と大垣市の平成 24 年度の住民台帳ベースの人口統計から推計される大垣市における COPD 患者数から平成 24 年 4 月の時点での大垣市民病院通院中の大垣市内在住の COPD 患者数を差し引き、さらにそれを今回の特定健診の受診者の数、年齢、性別構成で補正して算出した。その結果、期待発見数は stage I 約 460 人（受診者中 6.1%）、stage II 約 290 人（同 3.9%）、stage III 以上 35 人（同 0.45%）、合計約 790 人（同 10.4%）と見積も

表 2. 特定健診の受信者数（受診率）

	40-49	50-59	60-69	70-74	計
男性	292 (13.2%)	264 (14.0%)	1283 (22.6%)	1185 (29.8%)	3024 (22.0%)
女性	361 (17.6%)	513 (21.6%)	2169 (30.7%)	1480 (35.5%)	4523 (28.9%)
計	653 (15.3%)	777 (18.2%)	3452 (27.1%)	2665 (32.7%)	7547 (25.6%)

られた。

6. 検討項目

健診委託業者のもとに集約された一次検診の IPAG 調査表の集計結果と各地区保健センターに集められた二次検査のスパイロメトリー結果を retrospective に調査し、一次検診受診者数、受診率、一次検診陽性者数、二次検査受診者数とその判定結果、COPD 患者の発見数と事後指導内容について検討を行った。さらに文書によって同意の得られた受診者については年齢、性別、喫煙歴などの個別データの解析も実施した。

スパイロメトリーの結果については 1 名の呼吸器内科医が全例についてチェックを行い、日本呼吸器学会の呼吸機能検査ガイドライン⁴⁾に則ってその妥当性を確認した。

この研究は岐阜県医師会治験審査（倫理）委員会および大垣市民病院治験審査委員会の承認を得て実施し、対象者についてはこの研究の主旨および意義について文書で説明を行った上で研究参加については文書による同意を得た。

結 果

1. 一次検診の結果（表 3）

特定健診受診者中の IPAG 回答者数は 6306 人（男性 2516 人、女性 3790 人）で、健診受診者の 83.6% に COPD 検診への参加が得られた。このうち IPAG の得点が 17 点以上の陽性者は 4420 人で、IAPG 回答者の 70.1% であった。

2. 二次検査の実施状況（表 4）

二次検査としてのスパイロメトリー検査層実施数は 712 件で、IPAG 陽性者の 16.1% に対して実

表 3. IPAG 実施数、陽性者数と陽性率

IPAG 実施者数	6306 人 (男性 2516 人, 女性 3790 人)	受診者の 83.6%
IPAG 陽性者数	4420 人 (男性 2436 人, 女性 1984 人)	
IPAG 陽性率	70.1% (男性 64.3%, 女性 78.9%)	

施されていた。検査は大垣市内特録施設 37 施設中 34 施設と市外 3 施設で行われていた。気管支拡張剤吸入は 461 例（64.7%）で実施されていた。スパイロメトリー検査の精度に問題があると思われたものは 34 例、4.8% であった。また指示通りに呼出ができず実施不能のものが 1 例あった。

3. COPD の発見状況（表 5）

スパイロメトリー検査によって COPD と判定されたものは 137 名で、軽度の気道閉塞が 66 名、中等度が 55 名、高度以上が 16 名であった。これを先に示した期待発見数（stage I 460 人、stage II 290 人、stage II 以上 35 人の計約 790 人）と比較すると、発見率は stage I で 14.4%、stage II で 18.8%、stage III 以上で 45.7%、全体では 17.3% であった。

4. 事後指導の状況（表 6）

二次検診で異常とされた者の事後指導の内容を見ると、軽度の気道閉塞ではほぼ方針が遵守されていたが、中等度の気道閉塞では 18 例（33%）、高度の気道閉塞では 8 例（50%）で対処不十分であると思われた。

5. 個別データ解析（表 7）

文書による同意の得られた者については個別データの解析も行った。個別解析に対する同意獲

表 4. スパイロメトリー検査実施状況

スパイロメトリー検査実施数	712 人
気管支拡張剤吸入	
あり	461 人 (64.7%)
なし	165 人 (23.2%)
不明・記載なし	86 人 (12.1%)
判定困難	34 人 (4.8%)
実施不能	1 人 (0.1%)

表 5. COPD と判定された者の内訳

判 定	発見数/期待数 (発見率)
軽度の気道閉塞	66/460 (14.4%)
中等度の気道閉塞	55/290 (18.8%)
高度以上の気道閉塞	16/35 (45.7%)
計	137/790 (17.3%)