

に移植の状態によって280名の患者さんを3群に分類した。

### C. 研究結果

研究期間中に、32名の患者さんが肺移植を受け（移植後群）、12名の患者さんが肺移植のために入院（移植入院）し、残りの236名の患者さんが肺移植を受けない患者さん（非移植群）であった。非移植群のLAMの患者さんの臨床的背景は今までに報告されていた患者背景と類似していたが、移植に関連した入院患者さんは、下記のような特徴があった。Barthel Indexによる日常生活の障害程度のスコアが、移植後患者さん（89.4 /100）で、移植前の患者さん（64.6 /100）より、有意に高かった。移植後患者さんの死亡率（3.1 %）は、移植前の患者さんの死亡率（25 %）より、有意に低かった。もっとも頻度の高い合併症は、3群間で特に有意な差は認めなかったが、気胸であり、次いで、呼吸不全と血管筋脂肪腫であった。

### E. 結論

入院したLAM患者さんについて、臨床的特徴、合併症、死亡に関して、検討を行った。移植後のLAM患者さんは、移植前の患者より、有意に良好な日常生活レベルを保持しており、肺移植は日常生活を改善させると推察される。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Hasegawa W, Yamauchi Y, Yasunaga H, Sunohara M, Jo T, Matsui H, Fushimi K, Takami K, Nagase T. Clinical features of 280 hospitalized patients with lymphangiomyomatosis in Japan. *Respirology* 2015;20(1):160-5.

## 肺幹細胞におけるニッチェを模倣する *in vitro* ニッチェの構築

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

### 研究要旨

幹細胞周囲のニッチェは恒常性の維持や障害及び感染後に幹細胞の運命を制御する。3次元オルガノイドアッセイは幹細胞自身の能力に基づく自己複製能、分化、様々なメディウムの添加物、薬剤、共培養する支持細胞からの影響を評価するために広く用いられている。我々は *in vitro* で肺及び気管両方の幹細胞を研究するためのアッセイを確立した。まず、基本となる増殖能、分化傾向を特徴づけ、その後に繊維芽細胞、内皮細胞との共培養の影響や、生物学的にニッチェに寄与する可能性がある物質を投与した際の影響を検討した。我々は肺上皮幹細胞がクローナルに増殖、分化を行うために間質細胞との共培養を必要とすることを明らかにした。肺上皮幹細胞の増殖、分化を支持する点で繊維芽細胞は内皮細胞よりもより効果的であり、間質細胞の由来となる組織の違いでこのパターンが異なった。末梢の肺上皮や基底幹細胞に対して FGF2、FGF9、FGF10、LIF、ALK5 阻害薬、ROCK 阻害薬を投与するとコロニー形成能が上昇し、コロニー数、その大きさ、分化傾向に様々な影響をもたらした。このモデル及び知見は肺幹細胞の性質を操作することのできる肺幹細胞におけるニッチェの構成成分や因子を理解することを容易にする。

### A. 研究目的

幹細胞周囲のニッチェは恒常性の維持や障害及び感染後に幹細胞の運命を制御する。3次元オルガノイドアッセイは幹細胞自身の能力に基づく自己複製能、分化、様々なメディウムの添加物、薬剤、共培養する支持細胞からの影響を評価するために広く用いられている。

### B. 研究方法

我々は *in vitro* で肺及び気管両方の幹細胞を研究するためのアッセイを確立した。まず、基本となる増殖能、分化傾向を特徴づけ、その後に繊維芽細胞、内皮細胞との共培養の影響や、生物学的にニッチェに寄与する可能性がある物質を投与し

た際の影響を検討した。

### C, D. 研究結果と考察

我々は肺上皮幹細胞がクローナルに増殖、分化を行うために間質細胞との共培養を必要とすることを明らかにした。肺上皮幹細胞の増殖、分化を支持する点で繊維芽細胞は内皮細胞よりもより効果的であり、間質細胞の由来となる組織の違いでこのパターンが異なった。末梢の肺上皮や基底幹細胞に対して FGF2、FGF9、FGF10、LIF、ALK5 阻害薬、ROCK 阻害薬を投与するとコロニー形成能が上昇し、コロニー数、その大きさ、分化傾向に様々な影響をもたらした。

## E. 結論

このモデル及び知見は肺幹細胞の性質を操作することのできる肺幹細胞におけるニッチェの構成成分や因子を理解することを容易にする。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

AE Hegab, D Arai, J Gao, A Kuroda, H Yasuda, M Ishii, K Naoki, K Soejima , T Betsuyaku. Mimicking the niche of lung epithelial stem cells and characterization of several effectors of their in vitro behavior. Stem Cell Research (2015) 15, 109–121

## インターフェロン及び IL-27 はグループ 2 自然リンパ球の機能を抑制し、2 型自然免疫応答を抑制する

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

### 研究要旨

グループ 2 自然リンパ球(ILC2)は、寄生虫感染やアレルギー疾患における Th2 型免疫反応において重要な役割を担っているが、これまで ILC2 の制御機構に関してはほとんど報告されていない。今回、我々は ILC2 を抑制するサイトカインを探索し、生体内における ILC2 の制御機構について検討を行った。

マウスの肺及び腸間膜リンパ組織より ILC2 を採取し、サイトカイン受容体の発現やサイトカインに対する反応を網羅的に検討した。同定した抑制性サイトカインが寄生虫感染や真菌(アルテルナリア)喘息マウスモデルにおいてどのような効果を示すかについて、サイトカイン投与実験及びノックアウトマウスを用いて検討を行った。さらに、抑制性サイトカインの分子機序を調べるために RNA-Sequence 法やノックアウトマウスを用いた検討を行った。

*in vitro* での実験により、インターフェロン(IFN)及び IL-27 が ILC2 の増殖やサイトカイン産生を抑制することを発見した。寄生虫感染や喘息マウスモデルに対してこれらのサイトカインを投与すると ILC2 が抑制され、好酸球性炎症が減弱することが判明した。逆に、IFN が存在しないと、ILC2 が増加し、好酸球性炎症がより遷延することが明らかとなった。IFN や IL-27 の抑制効果は類似の細胞(inflammatory ILC2 や Th2 細胞)と比較して ILC2 において強い抑制効果を認めた。最後に、RNA-Sequencing 法によりこれらのサイトカインが ILC2 における STAT1 を活性化することが判明し、STAT1 ノックアウトマウスを用いた検討の結果、これらのサイトカインが STAT1 依存的に ILC2 を抑制することが示された。

近年、ILC2 を介した免疫反応が様々なアレルギー疾患に関連していることが報告されており、ILC2 による免疫応答が適切に抑制されないことによってアレルギー疾患が増悪や慢性化している可能性が示唆されている。今回、我々は IFN や IL-27 が生体内において ILC2 の制御に関連していることを発見した。喘息患者ではウイルス感染時に気道上皮細胞から産生される IFN が低下していることが報告されており、ILC2 を制御する機構の破綻がアレルギー疾患の病態に寄与している可能性がある。

IFN と IL-27 が STAT1 依存的に ILC2 を抑制し、寄生虫感染やアレルギー疾患における好酸球性炎症を制御する。

共同研究者 茂呂和世、加畑宏樹、田邊將信、古賀諭、岳野なつき、望月美穂、福永興壺、浅野浩一郎、小安重夫

## A. 研究目的

グループ 2 自然リンパ球(ILC2)は、寄生虫感染やアレルギー疾患における Th2 型免疫反応において重要な役割を担っているが、これまで ILC2 の制御機構に関してはほとんど報告されていない。今回、我々は ILC2 を抑制するサイトカインを探索し、生体内における ILC2 の制御機構について検討を行った。

## B. 研究方法

マウスの肺及び腸間膜リンパ組織より ILC2 を採取し、サイトカイン受容体の発現やサイトカインに対する反応を網羅的に検討した。同定した抑制性サイトカインが寄生虫感染や真菌(アルテルナリア)喘息マウスモデルにおいてどのような効果を示すかについて、サイトカイン投与実験及びノックアウトマウスを用いて検討を行った。さらに、抑制性サイトカインの分子機序を調べるために RNA-Sequence 法やノックアウトマウスを用いた検討を行った。

## C. 研究結果

*in vitro* での実験により、インターフェロン(IFN)及び IL-27 が ILC2 の増殖やサイトカイン産生を抑制することを発見した。寄生虫感染や喘息マウスモデルに対してこれらのサイトカインを投与すると ILC2 が抑制され、好酸球性炎症が減弱することが判明した。逆に、IFN が存在しないと、ILC2 が増加し、好酸球性炎症がより遷延することが明らかとなった。IFN や IL-27 の抑制効果は類似の細胞(inflammatory ILC2 や Th2 細胞)と比較して ILC2 において強い抑制効果を認めた。最後に、RNA-Sequencing 法によりこれらのサイトカイン

が ILC2 における STAT1 を活性化することが判明し、STAT1 ノックアウトマウスを用いた検討の結果、これらのサイトカインが STAT1 依存的に ILC2 を抑制することが示された。

## D. 考察

近年、ILC2 を介した免疫反応が様々なアレルギー疾患に関連していることが報告されており、ILC2 による免疫応答が適切に抑制されないことによってアレルギー疾患が増悪や慢性化している可能性が示唆されている。今回、我々は IFN や IL-27 が生体内において ILC2 の制御に関連していることを発見した。喘息患者ではウイルス感染時に気道上皮細胞から産生される IFN が低下していることが報告されており、ILC2 を制御する機構の破綻がアレルギー疾患の病態に寄与している可能性がある。

## E. 結論

IFN と IL-27 が STAT1 依存的に ILC2 を抑制し、寄生虫感染やアレルギー疾患における好酸球性炎症を制御する。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Moro K, Kabata H, Tanabe M, Koga S, Takeno N, Mochizuki M, Fukunaga K, Asano K, Betsuyaku T, Koyasu S. Interferon and IL-27 antagonize the function of group 2 innate lymphoid cells and type 2 innate immune responses. *Nat Immunol.* 2015 Nov 23. doi: 10.1038/ni.3309.

**本邦の実臨床における安定期 COPD 患者の 3 剤治療導入の経緯についての検証**

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

**研究要旨**

近年吸入ステロイド、長時間作用型  $\beta_2$  刺激薬、長時間作用型抗コリン薬による 3 剤治療は COPD の維持療法において選択肢の一つとして注目されつつある。また複数の臨床研究においてその有用性が報告されているが、3 剤治療に至る経緯について個々の症例で検証されたものについては報告がない。3 剤治療群の臨床的な背景を明らかにし、また 3 剤治療に至った経緯を検証する。慶應大学病院と関連病院が協力して COPD 患者の全身併存症を前向きに観察するコホート研究において、COPD 確定症例及び COPD 予備軍と考えられる登録患者から、診療録の内容や質問票の回答内容をもとに解析を行った。445 名の登録患者のうち 21% にあたる 95 名に 3 剤治療が導入されており、肺機能による従来の GOLD 分類では Grade I が 12 名、Grade II が 31 名、Grade III が 38 名、Grade IV が 14 名であった。3 剤治療に至った主な理由としては COPD による呼吸器症状の改善が不十分であった例が半数以上を占め、32% が喘息合併のためであった。また初診時に重度の閉塞性障害を認めたり、急性増悪を呈した状態であったために初期治療から 3 剤が導入されていた例も 8% 認められた。本邦における実臨床では、必ずしも閉塞性障害の程度にとらわれずに、呼吸器症状緩和を目的として 3 剤治療が導入されていることが少なくない。

共同研究者 宮崎雅樹、仲村秀俊、高橋左枝子、中鉢正太郎、佐々木衛、原口水葉、寺井秀樹、石井誠、福永興壺、田坂定智、副島研造、浅野浩一郎、

**A. 研究目的**

近年吸入ステロイド、長時間作用型  $\beta_2$  刺激薬、長時間作用型抗コリン薬による 3 剤治療は COPD の維持療法において選択肢の一つとして注目されつつある。また複数の臨床研究においてその有用性が報告されているが、3 剤治療に至る経緯について個々の症例で検証されたものについては報告がない。3 剤治療群の臨床的な背景を明らかにし、また 3 剤治療に至った経緯を検証する。

**B. 研究方法**

慶應大学病院と関連病院が協力して COPD 患者の全身併存症を前向きに観察するコホート研究において、COPD 確定症例及び COPD 予備軍と考えられる登録患者から、診療録の内容や質問票の回答内容をもとに解析を行った。

**C. 研究結果**

445 名の登録患者のうち 21% にあたる 95 名に 3 剤治療が導入されており、肺機能による従来の

GOLD 分類では Grade I が 12 名、Grade II が 31 名、Grade III が 38 名、Grade IV が 14 名であった。

3 剤治療に至った主な理由としては COPD による呼吸器症状の改善が不十分であった例が半数以上を占め、32%が喘息合併のためであった。また初診時に重度の閉塞性障害を認めたり、急性増悪を呈した状態であったために初期治療から 3 剤が導入されていた例も 8%認められた。

#### D, E. 考察, 結論

本邦における実臨床では、必ずしも閉塞性障害の程度にとらわれずに、呼吸器症状緩和を目的と

して 3 剤治療が導入されていることが少なくない。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

M Miyazaki, HNakamura, S Takahashi, S Chubachi, M Sasaki, M Haraguchi, H Terai, M Ishii, K Fukunaga, S Tasaka, K Soejima, K Asano, T Betsuyaku, Keio COPD Comorbidity Research (K-CCR) group. The reasons for triple therapy in stable COPD patients in Japanese clinical practice. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2015; 10: 1053–1059.

## 日本の COPD 患者の併存症、欧米人と比較して

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

### 研究要旨

日本の COPD 患者は欧米人と表現型が異なる部分がある。併存症においても日本の COPD 患者は欧米の COPD 患者と異なる特徴があるかを疫学的に検討する。日本人・欧米人を対象とした COPD 併存症に関する調査の論文を比較検討する。心血管系疾患・メタボリック症候群の併存は欧米より少なく、骨粗鬆症・筋力低下・やせは欧米より多かった。肺癌・CPFE の併存は欧米と同程度、うつ・喘息に関しては報告が乏しく比較が困難であった。日本の COPD 患者を適切に診療するために、日本の COPD 患者の併存症の特徴を知ることが大切である。

共同研究者 高橋左枝子

### A. 研究目的

日本の COPD 患者は欧米人と表現型が異なる部分がある。併存症においても日本の COPD 患者は欧米の COPD 患者と異なる特徴があるかを疫学的に検討する。

あった。

### D, E. 考察, 結論

日本の COPD 患者を適切に診療するために、日本の COPD 患者の併存症の特徴を知ることが大切である。

### B. 研究方法

日本人・欧米人を対象とした COPD 併存症に関する調査の論文を比較検討する。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Saeko Takahashi, Tomoko Betsuyaku. The chronic obstructive pulmonary disease comorbidity spectrum in Japan differs from that in western countries. *Respir Investig.* 2015;53:259-270.

### C. 研究結果

心血管系疾患・メタボリック症候群の併存は欧米より少なく、骨粗鬆症・筋力低下・やせは欧米より多かった。肺癌・CPFE の併存は欧米と同程度、うつ・喘息に関しては報告が乏しく比較が困難で



**肺炎球菌性肺炎は MMP-12 の過剰な発現を誘導しエラスターゼ誘導肺気腫を悪化させる**

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

**研究要旨**

COPD 急性増悪により肺気腫が進展し予後不良となる機序を解明する。エラスターゼ誘導肺気腫モデルマウスに肺炎球菌を感染させるという COPD 急性増悪モデル動物を作成した。エラスターゼ誘導肺気腫モデルマウスでは健常マウスと比較して肺炎球菌感染による炎症・MMP-12 発現が高度であり肺気腫が進行した。死亡率が高率であった。過剰な MMP-12 は II 型肺胞上皮、肺胞マクロファージ、気管支血管周囲に浸潤したリンパ球から発現されていた。肺炎球菌を感染させたエラスターゼ誘導肺気腫において、デキサメタゾン治療は気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞増加を抑制し、死亡率を改善したが肺気腫の進行を抑制できなかった。一方で汎 MMP 阻害薬による治療は死亡率と肺気腫の進行の両者を劇的に抑制した。COPD 急性増悪においては MMP-12 の過剰発現が肺気腫の悪化と死亡に関与している可能性がある。

共同研究者 高橋左枝子、石井誠、南宮湖、Hegab Armed、浅見貴弘、八木一馬、佐々木衛、原口水葉、佐藤美奈子、亀山直史、朝倉崇徳、鈴木翔二、田坂定智、岩田敏、長谷川直樹

**A. 研究目的**

COPD 急性増悪により肺気腫が進展し予後不良となる機序を解明する。

上皮、肺胞マクロファージ、気管支血管周囲に浸潤したリンパ球から発現されていた。肺炎球菌を感染させたエラスターゼ誘導肺気腫において、デキサメタゾン治療は気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞増加を抑制し、死亡率を改善したが肺気腫の進行を抑制できなかった。一方で汎 MMP 阻害薬による治療は死亡率と肺気腫の進行の両者を劇的に抑制した。

**B. 研究方法**

エラスターゼ誘導肺気腫モデルマウスに肺炎球菌を感染させるという COPD 急性増悪モデル動物を作成した。

**D, E. 考察, 結論**

**C. 研究結果**

エラスターゼ誘導肺気腫モデルマウスでは健常マウスと比較して肺炎球菌感染による炎症・MMP-12 発現が高度であり肺気腫が進行した。死亡率が高率であった。過剰な MMP-12 は II 型肺胞

COPD 急性増悪においては MMP-12 の過剰発現が肺気腫の悪化と死亡に関与している可能性がある。

**F. 研究発表**

1. 論文発表

S Takahashi, M Ishii, Ho Namkoong, AE Hegab,  
T Asami, K Yagi, M Sasaki, M Haraguchi, M  
Sato, N Kameyama, T Asakura, S Suzuki, S  
Tasaka, S Iwata, N Hasegawa, T Betsuyaku.

Pneumococcal Infection Aggravates  
Elastase-Induced Emphysema via Matrix  
Metalloproteinase 12 Overexpression The  
Journal of Infectious Diseases 2015

## 定量的 micro CT を使用した喫煙誘導性肺気腫モデルマウスの評価

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

### 研究要旨

慢性喫煙曝露は肺に様々な変化を起こし、慢性閉塞性肺疾患における重要な病態である肺気腫を引き起こす。他の肺気腫モデルマウスの評価に micro CT を用いた評価が有用であることが報告されているが、喫煙誘導性肺気腫モデルマウスにおける経時的構造変化を観察した報告は数少ない。心拍呼吸同期が可能な micro CT 装置を用いて、喫煙誘導性肺気腫モデルマウスの肺を高精細定量的に観察することを目的とした。生殖可能週齢の C57BL/6J 雌マウスにタバコの主流煙を反復して定量曝露し、0・4・12・20 週に micro CT 装置で撮影を行った。同時に各時点の組織による肺気腫の評価も行った。空気曝露マウス、エラスターゼ気管内投与肺気腫モデルを対照として比較した。機能的残気量の指標となる呼気終末肺容積は、呼気終末におけるエアートラッピングを反映する。呼気終末肺容積は喫煙曝露マウスにおいて 12・20 週で有意に増加し、組織学的定量評価である肺胞腔の拡大や破壊と相関を認めた。しかし、エラスターゼ気管内投与モデルで認めた低吸収域の増加や平均 CT 値の低下は喫煙曝露マウスでは認められなかった。4・12 週の喫煙曝露マウスはむしろ CT 値の上昇を認めた。これらの結果は喫煙誘導性肺気腫の真の病態を反映していると考えられる。喫煙誘導性肺気腫モデルを micro CT を用いて経時的に詳細に観察した初めての報告である。

共同研究者 佐々木衛、中鉢正太郎、亀山直史、佐藤美奈子、原口水葉、宮崎雅樹、高橋左枝子

### A. 研究目的

慢性喫煙曝露は肺に様々な変化を起こし、慢性閉塞性肺疾患における重要な病態である肺気腫を引き起こす。他の肺気腫モデルマウスの評価に micro CT を用いた評価が有用であることが報告されているが、喫煙誘導性肺気腫モデルマウスにおける経時的構造変化を観察した報告は数少ない。心拍呼吸同期が可能な micro CT 装置を用いて、喫煙誘導性肺気腫モデルマウスの肺を高精細定量的に観察することを目的とした。

### B. 研究方法

生殖可能週齢の C57BL/6J 雌マウスにタバコの主流煙を反復して定量曝露し、0・4・12・20 週に micro CT 装置で撮影を行った。同時に各時点の組織による肺気腫の評価も行った。空気曝露マウス、エラスターゼ気管内投与肺気腫モデルを対照として比較した。

### C. 研究結果

機能的残気量の指標となる呼気終末肺容積は、呼気終末におけるエアートラッピングを反映する。

呼気終末肺容積は喫煙曝露マウスにおいて 12・20 週で有意に増加し、組織学的定量評価である肺胞腔の拡大や破壊と相関を認めた。しかし、エラストラーゼ気管内投与モデルで認めた低吸収域の増加や平均 CT 値の低下は喫煙曝露マウスでは認められなかった。4・12 週の喫煙曝露マウスはむしろ CT 値の上昇を認めた。

#### D, E. 考察, 結論

これらの結果は喫煙誘導性肺気腫の真の病態を反映していると考えられる。喫煙誘導性肺気腫モデルを micro CT を用いて経時的に詳細に観察し

た初めての報告である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

M Sasaki, S Chubachi, N Kameyama, M Sato, M Haraguchi, M Miyazaki, S Takahashi, T Betsuyaku. Evaluation of cigarette smoke-induced emphysema in mice using quantitative micro-computed tomography. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 308: L1039–L1045, 2015.

慢性閉塞性肺疾患患者の気腫性変化の進行と有酸素運動能力低下との関連

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

研究要旨

慢性閉塞性肺疾患（COPD）の患者では、CTにより気腫性変化や気道病変の評価が可能であり、呼吸機能や6分間歩行距離と相関を示すことが知られている。CT上の低吸収域(LAA)の拡がりや運動負荷検査成績との関連性についてはこれまで評価されていない。

81名のCOPD患者を対象とし、高分解能CT（HRCT）とトレッドミルによる漸増運動負荷試験を施行し、平均約3年半の経年変化を評価した。HRCTについては、大動脈弓、気管分岐部、横隔膜直上の3つのレベルでGoddardらの方法によりLAAのスコア化を行い、スコアの総和を総LAAスコアとした。

総LAAスコアはpeak  $VO_2$ と有意な負の相関を示した( $p < 0.001, r = -0.485$ )。また上肺（大動脈弓レベル）と下肺（横隔膜直上レベル）のLAAスコアはいずれもpeak  $VO_2$ と有意に相関した。総LAAスコアはpeak  $VCO_2$ と有意な負の相関を示した( $p < 0.001, r = 0.433$ )。総LAAスコアは、最大運動時の酸素飽和度( $p < 0.001, r = -0.634$ )と $V_D/V_T$  ( $p < 0.001, r = 0.416$ )との間に相関を認めた。総LAAスコアの経年変化はpeak  $VO_2$  ( $p < 0.001, r = -0.546$ )やpeak  $VCO_2$  ( $p < 0.001, r = -0.488$ )の経年変化と負の相関があった。

今回の検討結果から、HRCTで評価した気腫性変化の程度が運動耐容能と相関することが示された。運動耐容能の経年変化も総LAAスコアの経年変化と同様の負の相関があった。HRCTによりCOPD患者の有酸素運動能力を非侵襲的に予測できる可能性が考えられた。

共同研究者 山澤稚子, 田坂定智, 山口佳寿博

A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患（COPD）の患者では、CTにより気腫性変化や気道病変の評価が可能であり、呼吸機能や6分間歩行距離と相関を示すことが知られている。CT上の低吸収域(LAA)の拡がりや運動負荷検査成績との関連性についてはこれまで評価されていない。

81名のCOPD患者を対象とし、高分解能CT（HRCT）とトレッドミルによる漸増運動負荷試験を施行し、平均約3年半の経年変化を評価した。HRCTについては、大動脈弓、気管分岐部、横隔膜直上の3つのレベルでGoddardらの方法によりLAAのスコア化を行い、スコアの総和を総LAAスコアとした。

B. 研究方法

C. 研究結果

総 LAA スコアは peak  $VO_2$  と有意な負の相関を示した( $p<0.001, r=-0.485$ )。また上肺(大動脈弓レベル)と下肺(横隔膜直上レベル)の LAA スコアはいずれも peak  $VO_2$  と有意に相関した。総 LAA スコアは peak  $VCO_2$  と有意な負の相関を示した( $p<0.001, r=0.433$ )。総 LAA スコアは、最大運動時の酸素飽和度 ( $p<0.001, r=-0.634$ )と  $V_D/V_T$  ( $p<0.001, r=0.416$ )との間に相関を認められた。総 LAA スコアの経年変化は peak  $VO_2$  ( $p<0.001, r=-0.546$ ) や peak  $VCO_2$  ( $p<0.001, r=-0.488$ )の経年変化と負の相関があった。

#### D, E. 考察, 結論

今回の検討結果から、HRCT で評価した気腫性変化の程度が運動耐容能と相関することが示された。運動耐容能の経年変化も総 LAA スコアの経年変化と同様の負の相関があった。HRCT により COPD 患者の有酸素運動能力を非侵襲的に予測できる可能性が考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Yamasawa W, Tasaka S, Betsuyaku T, Yamaguchi K. Correlation of a decline in aerobic capacity with development of emphysema in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a prospective observational study. PLoS One. 2015 Apr 24;10(4):e0125053.

## 異なる抗原による好酸球性気道炎症における内因性インターロイキン-23 の効果の相違について

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

### 研究要旨

インターロイキン (IL) -23 の喘息病態における役割については現在も意見が分かれています。我々は IL-23 欠損マウスを用いて、異なる 2 種類の抗原に対する気道炎症における IL-23 の役割を検討した。

研究方法：アレルギー性気道炎症を野生型あるいは IL-23 欠損マウスで評価した。マウスを腹腔注射で卵白アルブミン (OVA) あるいはダニ (HDM) に感作させたのち、同じ抗原に気道から曝露した。Enzyme-linked immunosorbent assay あるいは定量 polymerase chain reaction を用いて、抗原特異的血清抗体価や、気管支肺胞洗浄液中、腹腔洗浄液中または肺組織中のサイトカインを測定した。

IL-23 の欠損は、OVA 処置後マウスで気管支肺胞洗浄液の好酸球数と Th2 サイトカインを減少させたが、HDM 処置後マウスでは気管支肺胞洗浄液の好酸球数を増加させた。OVA とアラムの腹腔注射は局所の IL-6、IL-10、IL-23 の産生を促進したが、HDM では促進しなかった。全身性の抗原特異的 IgG1 の産生は部分的に IL-23 依存性であった。対照的に、HDM の気道曝露は IL-23p19 の mRNA 発現を肺内で誘導したが、OVA ではおこらなかった。IL-23 欠損マウスでは、HDM 曝露後の肺において、好酸球性炎症を抑制する IL-17A の誘導はおこらなかった。

我々の似通った喘息モデルでは異なる抗原が体内の異なった場所で IL-23 を誘導した。感作部位での内因性 IL-23 産生は 2 型免疫反応を促進する一方、気道内での IL-23 産生とそれに引き続く IL-17A 合成はアレルギー性炎症を抑制する。

共同研究者 小川里佳、鈴木雄介、加川志津子、正木克宜。福永興壱、吉村昭彦、藤島清太郎、寺嶋毅、浅野浩一郎

### A. 研究目的

インターロイキン (IL) -23 の喘息病態における役割については現在も意見が分かれています。我々は IL-23 欠損マウスを用いて、異なる 2 種類の抗原に対する気道炎症における IL-23 の役割を検討した。

### B. 研究方法

アレルギー性気道炎症を野生型あるいは IL-23 欠損マウスで評価した。マウスを腹腔注射で卵白アルブミン (OVA) あるいはダニ (HDM) に感作させたのち、同じ抗原に気道から曝露した。Enzyme-linked immunosorbent assay あるいは定量 polymerase chain reaction を用いて、抗

原特異的血清抗体価や、気管支肺胞洗浄液中、腹腔洗浄液中または肺組織中のサイトカインを測定した。

### C. 研究結果

IL-23 の欠損は、OVA 処置後マウスで気管支肺胞洗浄液の好酸球数と Th2 サイトカインを減少させたが、HDM 処置後マウスでは気管支肺胞洗浄液の好酸球数を増加させた。OVA とアラムの腹腔注射は局所の IL-6、IL-10、IL-23 の産生を促進したが、HDM では促進しなかった。全身性の抗原特異的 IgG1 の産生は部分的に IL-23 依存性であった。対照的に、HDM の気道曝露は IL-23p19 の mRNA 発現を肺内で誘導したが、OVA ではおこらなかった。IL-23 欠損マウスでは、HDM 曝露後の肺において、好酸球性炎症を抑制する IL-17A の誘導はおこらなかった。

### D, E. 考察, 結論

我々の似通った喘息モデルでは異なる抗原が体内の異なった場所で IL-23 を誘導した。感作部位での内因性 IL-23 産生は 2 型免疫反応を促進する一方、気道内での IL-23 産生とそれに引き続く IL-17A 合成はアレルギー性炎症を抑制する。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

R Ogawa, Y Suzuki, S Kagawa, K Masaki, K Fukunaga, A Yoshimura, S Fujishima, T Terashima, T Betsuyaku, K Asano. Distinct effects of endogenous interleukin-23 on eosinophilic airway inflammation in response to different antigens. *Allergology International* 2015;64:S24-29.



**低比重リポタンパク(LDL)受容体関連タンパク 5 の遺伝子多型と肺気腫の重症度は日本人 COPD 患者とその予備群に併存する骨粗鬆症に関連する**

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

研究要旨

骨粗鬆症は慢性閉塞性肺疾患(Chronic Obstructive Pulmonary Disease: COPD)の重要な併存疾患である。しかし骨粗鬆症併存のリスク因子やメカニズムに関する報告は少ない。閉経後骨粗鬆症において、Low density lipoprotein receptor related protein 5 (LRP5) の遺伝子多型は骨粗鬆症と関連があることが報告されているが COPD に併存する骨粗鬆症と LRP 5 遺伝子多型との関連は明らかになっていない。私は本研究において、COPD に併存する骨粗鬆症の LRP5 遺伝子多型を含めた危険因子を明らかにすることを目的とした。

COPD もしくは COPD リスク群のために慶應義塾大学病院に通院中の 270 名を対象とした。喫煙歴や生活習慣についてのアンケート調査、服用薬の確認、肺機能検査、胸部 CT での気腫化の程度 (percent of low attenuation areas ; LAA%) と気管支壁肥厚 (percentage of airway wall area ; WA%) の定量化、Dual X-ray absorptiometry による骨密度 (T スコア) の測定、胸腰椎レントゲン上の圧迫骨折の有無の確認を行った。また患者血清から抽出した DNA を用い LRP5 A1330V 遺伝子多型をリアルタイム PCR 法により解析を行った。

骨粗鬆症群 (T スコア  $\leq$  -2.5)、骨量減少群 (-2.5 < T スコア < -1)、骨密度正常群はそれぞれ 15.2%、35.9%、48.9%であった。LRP5 遺伝子多型による群間比較を行ったところ、TT 群は CC もしくは CT 群と比較して有意に T スコアが低値であった。次に骨粗鬆症のリスク因子として気腫化の程度、LRP5 遺伝子多型だけでなく喫煙歴、年齢、性別等の臨床的特徴を合わせてロジスティック解析を行った。単変量ロジスティック解析では高齢であること、性別が女性であること、貧血、身体活動の低下、気腫化の程度が重症であること、LRP 遺伝子多型が TT 群であることが骨粗鬆症もしくは骨量減少症と関連を認めた。有意差があった項目を多変量解析で検討したところ、性別が女性であること、気腫化の程度が重症であること、LRP5 遺伝子多型が TT 群であることはそれぞれ独立して骨粗鬆症もしくは骨量減少症のリスク因子であった。

これらの結果から COPD に合併する骨粗鬆症の病態は複雑であり、性別、臨床的な病型、遺伝的素因が関与することが確認された。

共同研究者 中鉢正太郎、他

## A. 研究目的

骨粗鬆症は慢性閉塞性肺疾患 (Chronic Obstructive Pulmonary Disease: COPD)の重要な併存疾患である。しかし骨粗鬆症併存のリスク因子やメカニズムに関しての報告は少ない。閉経後骨粗鬆症において、Low density lipoprotein receptor related protein 5 (LRP5) の遺伝子多型は骨粗鬆症と関連があることが報告されているが COPD に併存する骨粗鬆症と LRP5 遺伝子多型との関連は明らかになっていない。私は本研究において、COPD に併存する骨粗鬆症の LRP5 遺伝子多型を含めた危険因子を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

COPD もしくは COPD リスク群のために慶應義塾大学病院に通院中の 270 名を対象とした。喫煙歴や生活習慣についてのアンケート調査、服用薬の確認、肺機能検査、胸部 CT での気腫化の程度 (percent of low attenuation areas ; LAA%) と気管支壁肥厚 (percentage of airway wall area ; WA%) の定量化、Dual X-ray absorptiometry による骨密度 (T スコア) の測定、胸腰椎レントゲン上の圧迫骨折の有無の確認を行った。また患者血清から抽出した DNA を用い LRP5 A1330V 遺伝子多型をリアルタイム PCR 法により解析を行った。

## C. 研究結果

骨粗鬆症群 (T スコア $\leq$ -2.5)、骨量減少群 (-2.5<T スコア<-1)、骨密度正常群はそれぞれ

15.2%、35.9%、48.9%であった。LRP5 遺伝子多型による群間比較を行ったところ、TT 群は CC もしくは CT 群と比較して有意に T スコアが低値であった。次に骨粗鬆症のリスク因子として気腫化の程度、LRP5 遺伝子多型だけでなく喫煙歴、年齢、性別等の臨床的特徴を合わせてロジスティック解析を行った。単変量ロジスティック解析では高齢であること、性別が女性であること、貧血、身体活動の低下、気腫化の程度が重症であること、LRP5 遺伝子多型が TT 群であることが骨粗鬆症もしくは骨量減少症と関連を認めた。有意差があった項目を多変量解析で検討したところ、性別が女性であること、気腫化の程度が重症であること、LRP5 遺伝子多型が TT 群であることはそれぞれ独立して骨粗鬆症もしくは骨量減少症のリスク因子であった。

## D, E. 考察, 結論

これらの結果から COPD に合併する骨粗鬆症の病態は複雑であり、性別、臨床的な病型、遺伝的素因が関与することが確認された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Chubachi S, Nakamura H, Sasaki M, Haraguchi M, Miyazaki M, Takahashi S, Tanaka K, Funatsu Y, Asano K, Betsuyaku T. Polymorphism of LRP5 gene and emphysema severity are associated with osteoporosis in Japanese patients with or at risk for COPD. COPD 2015; 12: 233-239.

## COPD 患者におけるチオトロピウム長期継続使用の決定因子

研究分担者 別役 智子

慶應義塾大学医学部 呼吸器内科学 教授

### 研究要旨

チオトロピウム、長時間作用型吸入抗コリン薬は慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者において呼吸機能および QOL を改善する。我々は後方視的にチオトロピウムの薬剤の長期継続につながる因子を調査した。2006 年から 2009 年の間に当院呼吸器内科で行われた 6301 例の呼吸機能検査を行った患者のうち、①40 歳以上、②20pack-year 以上の喫煙歴、③1 秒率 70%未満の患者 644 例を対象とした。チオトロピウムの処方歴を含む臨床情報を診療録から抜き出した。チオトロピウムは 255 例（40%）に処方されており、48 例（19%）で 1 年以内にその処方が中止されていた。そして 65 例（25%）で中央観察期間 32 か月以内に中止されていた。35 例（73%）では薬剤の効果が実感できないこと、13 例（27%）では薬の副作用が中止の原因であった。若いこと、喫煙歴、呼吸器症状の軽減が実感できないことのほか、閉塞性換気障害が軽度、気腫が軽度、治療開始後 COPD の増悪がないことが薬剤中止の要因であった。

共同研究者 田中希宇人、他

### A. 研究目的

長時間作用型吸入抗コリン薬は慢性閉塞性肺疾患（chronic obstructive pulmonary disease, COPD）患者の呼吸機能と QOL を改善し、急性増悪や死亡率を減少させることが報告されている。そのため、長時間作用型吸入抗コリン薬は COPD のガイドラインでも薬物治療における第 1 選択薬となっている。しかしながら臨床試験においてさえ高い脱落率（16-42%）が報告されており、実臨床においてはさらにアドヒアランスの低さが問題となると考えられている。そこで実臨床において、日本人 COPD 患者における長時間作用型吸入抗コリン薬継続率の決定因子を検討する。

### B. 研究方法

慶應義塾大学病院では 2006 年に長時間作用型吸入抗コリン薬としてはじめて、チオトロピウム臭化物（以下、チオトロピウム）が使用されるようになった。そこで 2006 年から 2009 年に同院呼吸器内科で呼吸機能検査を施行した 6301 例のうち、①40 歳以上、②20pack-year 以上の喫煙歴、③1 秒率 70%未満の 3 つの基準を満たす 644 例を COPD 患者として抽出し、2006 年から 2012 年までの間のチオトロピウム処方の有無とその継続、中止を診療録から調査した。さらに上記患者について、性別、年齢、身長、体重、BMI、喫煙歴、初診時の呼吸器症状、肺機能、胸部 CT 所見、在宅酸素療法の有無、その他の COPD 治療薬（吸

入ステロイド薬、長時間作用型β刺激薬)の処方歴、COPDの急性増悪、チオトロピウム処方後の自覚症状改善の有無、副作用の有無、などについて、診療録からデータを後ろ向きに収集した。チオトロピウム処方を1年以上継続している群を「継続群」、1年以内に処方を中止した群を「中止群」とし、上記パラメーターとの関連を単変量および多変量ロジスティック解析によって解析した。さらに前記解析において有意となったパラメーターについてはログランク検定、Cox 比例ハザード解析を用いた検討も行った。

### C. 研究結果

COPD患者644人中40%にあたる255人がチオトロピウムの処方されていた。チオトロピウムの継続期間の中央値は32カ月であった。そのうち190例がチオトロピウムを1年以上継続、転院等により追跡不能となった13例と死亡例4例以外に48例が1年以内にチオトロピウムを中止していた。単変量解析では若年、現喫煙者、副作用あり、治療開始後1年以内の増悪なし、軽度閉塞性換気障害、軽度肺気腫、自覚症状改善効果なし、などの因子を有する患者に有意に中止例が多かった。多変量解析においても現喫煙者、1秒率50%

以上、副作用あり、治療開始後1年以内の増悪なし、という因子がチオトロピウム中止と関連した。チオトロピウムの継続率を生存解析で検討した場合においても、すでに禁煙している、1秒率50%未満、チオトロピウムにより自覚症状改善あり、チオトロピウム開始後1年以内の急性増悪あり、などの因子が治療継続率と関連を認めた。

### D, E. 考察, 結論

チオトロピウムを処方された患者のうち、現喫煙者、軽度閉塞性換気障害、薬剤使用で副作用のある、治療後1年以内に増悪を経験しなかった患者群は途中中止しやすいと考えられた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

Tanaka K, Kamiishi N, Miyata J, Kabata H, Masaki K, Ogura-Tomomatsu H, Tomomatsu K, Suzuki Y, Fukunaga K, Sayama K, Betsuyaku T, Asano K. Determinants of Long-Term Persistence with Tiotropium Bromide for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. COPD 2015; 12: 233-239.