

Test (CAT)、精密肺機能検査、MDCT を施行した。撮影された MDCT では、気道壁厚(WA%)、気腫の程度(LAV%)、小血管面積割合(%CSA <5)を評価した。また、当院来院時に未治療であった ACOS20 人に対して budesonide/formoterol 160/4.5 μ g 1 日 2 回、1 回 2 吸入を導入し、上記評価項目が 12 週間後にどのように変化するか検討した。

C. 研究結果

100 人が COPD、40 人が ACOS と診断された。ACOS 患者と COPD 患者の年齢、BMI、喫煙歴、FEV₁、FEV₁/FVC、FEV₁ %predicted に有意差は認めなかったが、ACOS 患者の方が CAT スコアが高く、拡散能(DLCO/VA %predicted)が高く、 β 2 刺激吸入薬に対する気道可逆性が大きく、WA%と%CSA <5 が高値であった。LAV%に差は認めなかった。初診時に未治療であった ACOS 患者 20 人に対して、budesonide/formoterol 160/4.5 μ g 1 日 2 回、1 回 2 吸入を導入したところ、12 週後に CAT スコアと FEV₁ は有意に改善し、WA%と%CSA <5 は有意に低下した。

D. 考察

ACOS 患者は COPD 患者と比較して、より気道病変が病態に占める割合が大きい事が示唆された。COPD に対する吸入ステロイド(ICS)の使用については様々な議論がされている一方、喘息に対しては気管支拡張薬の治療は原則禁忌とされている。両者が合併した ACOS は、budesonide/formoterol 吸入療法により 12 週という短期間において小血管病変割合(%CSA <5)の改善を通して、気道壁厚(WA%)が改善し、その結果 FEV₁ の改善、QOL の改善が認められたと考えられた。

E. 結論

ACOS は COPD と比較して、より気道病変が優位であり、ICS/LABA の有用性に対して前向き RCT の必要性が強く示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Suzuki T, Tada Y, Kawata N, Matsuura Y, Ikari J, Kasahara Y, Tatsumi K. Clinical, physiological, and radiological features of asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap syndrome. International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease 2015;10: 947-54.

慢性閉塞性肺疾患の GOLD カテゴリー分類における気腫病変の影響に関する研究

研究分担者 多田 裕司

千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学 講師

研究要旨

GOLD(the Global initiative for chronic Obstructive Lung Disease)2011 での大幅な改定点は、COPD の重症度を閉塞性換気障害の程度だけではなく、症状や急性増悪の要素を加味して総合的に判断する様にした点であった。症状の評価ツールとしては mMRC と COPD Assessment Test (CAT) が推奨されていたが、GOLD2011 においては、より多角的な評価ができる CAT を第一選択ツールとして提言している。しかし、CAT を用いて分類した各カテゴリーの特徴については未だ未解明の部分が多い。我々は外来 COPD 患者 200 人を集積して、CAT を用いてカテゴリー分類を行い、それぞれのカテゴリーの呼吸機能、CT 画像の評価を比較した。CAT スコアは気腫の程度 (LAV%) と相関を認め、カテゴリー B 又は D はカテゴリー A 又は C と比較して LAV% が高値であり、拡散能 (DL_{CO}/VA %predicted) が低値であり、過膨張の指標 (RV/TLC) が高値であった。GOLD のカテゴリー分類は閉塞性換気障害の程度だけでなく、気腫の程度や過膨張の程度も反映させていることが明らかになった。

共同研究者

鈴木敏夫、川田奈緒子、家里憲、家里由子、西村倫太郎、伊狩潤、笠原康紀、巽浩一郎

A. 研究目的

2011年にGOLDはCOPD患者の重症度を1秒率だけでなく、症状や増悪の頻度も加味して4つのカテゴリーに分類することを提唱した。その際に使用するQOL評価ツールとしてはmMRC又はCATを推奨しているが、これまでのカテゴリー別の研究報告では歴史の古いmMRCが汎用されてきた。しかし、近年の報告ではmMRCはCATと比較して症状の感度が低いとされている。今回我々はCATを用いた GOLD カテゴリー分類を呼吸機能、CT画像の観点から評価した。

B. 研究方法

2010年7月から2015年1月にかけて千葉大学 COPD 外来を受診した 269 人の患者を対象に、呼吸機能検査を行い、 $FEV_1/FVC < 70\%$ であった 244 人のうち、間質性肺炎、喘息、肺癌、心不全を合併した 44 人を除いた 200 人に対して CAT、精密肺機能検査、MDCT を施行した。撮影された MDCT では、気腫の程度 (LAV%) を評価した。

C. 研究結果

CAT スコアは FEV_1 %predicted、 DL_{CO}/VA %predicted と負の相関を示し、LAV%と

正の相関を示した。カテゴリーBはカテゴリーAと比較して、FEV₁ %predictedに有意差は認めなかったが、DLco/VA %predictedが有意に低値で、RV/TLCは有意に高値で、LAV%は有意に高値であった。カテゴリーDはカテゴリーCと比較して、FEV₁ %predictedが有意に低値で、DLco/VA %predictedが有意に低値で、RV/TLCは有意に高値で、LAV%は有意に高値であった。また興味深い事に、カテゴリーBはカテゴリーCよりもLAV%が高値であった。

D. 考察

CATは閉塞性換気障害の程度とだけでなく、気腫の程度、過膨張の程度、拡散能と弱い相関を持つことが示された。そのCATを用いて分類したカテゴリー分類では、症状の強いカテゴリー(カテゴリーB、D)は症状の弱いカテゴリー(カテゴリーA、C)と比較して、気腫の程度が強く、拡散能が低く、過膨張を認める事が明らかになった。これまで1秒率だけで重症度分類がされてきたが、新しいGOLDのカテゴリー分類では、COPDの他の要素も加味した重症度分類になっていることが示唆された。

過去の報告では、カテゴリーBはカテゴリーCよりも予後が悪いという報告があったが、我々の結果では興味深い事にカテゴリーBはカテゴリーCよりも気腫の程度が強かった。今回我々は予後追跡まではできていないが、既報と合わせて考察すると、気腫の程度が予後と関連することが示唆された。

E. 結論

CATを用いたGOLDの重症度カテゴリー分類では、気腫や過膨張の程度も加味した分類になっていることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Suzuki T, Tada Y, Kawata N, Ikari J, Kasahara Y, Sakurai Y, Iesato K, Nishimura R, West J, Tatsumi K. Influence of pulmonary emphysema on COPD assessment-oriented categorization in GOLD document. International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease 2015;10: 1199-1205.

インジウム化合物吸入による肺障害の経年変化-9年間の縦断的解析-

研究分担者 寺田 二郎

千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学 診療講師

研究要旨

【目的】近年、インジウム化合物（indium-tin oxide: ITO）吸入が原因と考えられる肺障害が報告されその研究が進められているが、職場・作業環境対策を含めた肺障害の経時変化の報告はほとんどない。本研究では、2002年より実施してきたITO作業者に対する呼吸器検診の結果を用いて、ITO吸入に伴う肺障害の9年の経時変化について検討する。

【方法】2002年から2010年まで毎年検診を受けたITO作業者84名を対象に、臨床症状、血清インジウム濃度（sIn）、血清KL-6、SP-D、肺機能、胸部HRCTについて9年間の推移を解析した。

【結果】対象者の平均年齢は33.9±7.9歳（2002年度, mean±SD）、ITO作業従事期間は9.7±4.8年（2010年度）であった。職場・作業環境の改善に伴い、sIn、KL-6、SP-Dは経年的に低下した。HRCT所見は間質性変化が部分的に改善したが、気腫性変化は特にsIn高値群で進行が認められた。肺機能検査値の変化はわずかだったが、sIn高値群で1秒率の経年的低下を認めた。

【結論】ITO作業者のインジウム暴露を減らすことは、作業者のsIn、血清KL-6、SP-D、HRCT上の間質性変化は部分的に軽減させうるが、高濃度曝露は肺に不可逆的な気腫性変化を惹起する。したがって、新たなインジウム肺の発生・進展を防ぐ為に、吸入性インジウムへの曝露低減および肺障害の早期発見が重要であると考えられた。

共同研究者 日鉦記念病院 天田敦子、長南達也、
千葉大学 巽 浩一郎

較して約4倍とされている（2007年時点）。

A. 研究目的

インジウムはパソコン、テレビなどの薄型ディスプレイやタッチパネルなどの透明電極に使用されている希少金属の1つである。多くはインジウム・スズ酸化物ITO(indium-tin oxide)と呼ばれるセラミック化合物として、その材料に用いられている。近年液晶ディスプレイの普及とともにインジウムの需要は急速に高まっており、その消費は1999年と比

これまでインジウムは比較的安全な金属と認識されてきたが、2001年にITO研削に従事していた29歳男性が気胸を伴う間質性肺炎で死亡したことが報告された。インジウムに関連する肺障害が考えられた初めての報告であった。この患者が勤務していた工場では、2002年よりITO作業者に対する呼吸器検診が開始され、作業者108名の横断的解析結果からインジウム粒子の吸入と肺障害の関連性が報告された（2007年）。特に血清インジウム濃度（sIn）が高値である作業員は、長期間の曝露があり、胸部

画像、肺拡散能、間質性肺炎血清マーカーの異常があるなどの特徴が示され、インジウムが新たな職業関連肺障害をきたす可能性が示唆された。その後、異なる12のITO工場作業員でも同様の結果が確認され、インジウムと肺障害の関連は確定的と考えられるようになった(2009年)。

2013年には間質性肺炎9例が本邦より、肺胞蛋白症が米国と中国より3例報告され、インジウムによる肺障害とその多様な変化について注目されるようになった。

本研究は、2002年より開始したITO作業員に対する呼吸器検診で横断的解析ができた108名(上記)のうち9年間連続で経過が追えた84名の結果を用いて、ITO吸入に伴う肺障害の経時変化を検討する。

B. 研究方法

2002年から2010年まで検診を毎年受けた84名を対象に、症状、血清インジウム濃度(sIn)、血清KL-6、血清SP-D、肺機能、胸部HRCTについて9年間の推移を、sIn濃度による4群に分けて解析した。

C. 研究結果

対象者の平均年齢は 33.9 ± 7.9 歳(2002年時、 $\text{mean} \pm \text{SD}$)、ITO作業従事期間は 9.7 ± 4.8 年(2010年時)であった。配置転換、作業環境の改善、防塵マスク着用の義務化などに伴い、全体としてsInは 8.6 ± 4.2 (2002年)から 4.9 ± 4.9 ng/mg(2010年)へ減少し、KL-6は 448 ± 2.1 から 275 ± 1.8 U/mlへ、SP-Dは 75.0 ± 1.8 から 39.8 ± 2.3 ng/mlに減少した。HRCT所見は、間質性変化(すりガラス影、網状影)がすべての群において改善傾向が認められた。一方、sIn高値群では、間質性・気腫性変化が共に高度であり、気腫性変化が経時的に

進行する傾向が認められた。肺機能検査値の変化はわずかであったが、sIn高値群で1秒率の経年的低下が認められた($81.3 \pm 8.9 \rightarrow 76.5 \pm 10.6\%$)。

D. 考察

インジウム吸入に伴う肺障害の9年にわたる経年変化を明らかにした。配置転換、作業環境の改善、防塵マスクの使用などによりsIn、血清KL-6、SP-D、またHRCT上の間質性変化の部分的改善を認めたが、高濃度暴露があったと考えられるsIn高値群ではHRCT上気腫性変化の進行を認めた。

今回の結果より、配置転換、作業環境の改善、防塵マスク着用の義務化などはインジウムに伴う肺障害を軽減させる可能性が示唆された。一方、ITO高濃度暴露は、職場・環境改善にも関わらず不可逆的な気腫性変化を引き起こす可能性が示唆された。この気腫性変化に関しては、喫煙歴の影響を完全に除外することはできないが、現喫煙者、過去喫煙者、非喫煙者とHRCT上の気腫性変化進行との関連性は認めていない。また本報告における対象者が若年(2002年時 33.9 ± 7.9 歳)であったこと、喫煙歴が比較的短期間(2010年時 14.4 ± 9.0 年)であったことから、本結果と喫煙歴の関連性は少ないものと考えている。

HRCT上の間質性変化が改善した理由については、急性期の肺胞蛋白症が部分的に改善した可能性が挙げられる。Cummingsらは、インジウム関連肺障害の肺病理組織を再評価し、当初肺線維症と診断されていた症例でコレステリン結晶の肺胞領域への沈着及び肺胞蛋白症様の所見を認めたと報告している。一方、sIn高値群のHRCT気腫性変化が進行した理由としては、コレステロール結晶やITO沈着に伴う細気管支閉塞がもたらすチェックバルブ機構の関与などが推測されるが詳細は今だ不明である。一方、肺機能検査上sIn高値群に1秒率の低下

を認めた以外に明らかな傾向を認めなかったのは、上述した間質性変化の改善と気腫性変化の進行が混在していることに起因すると考えられる。したがって、ITO 作業員に対する呼吸器検診においては、血清マーカーや呼吸機能上悪化を認めない場合でも、引き続き注意深い観察が必要と考えられる。

E. 結論

ITO 作業員のインジウム暴露を減少させることで sIn, 血清 KL-6, SP-D, HRCT 上の間質性変化は部分的に軽減させうるが、高濃度曝露は肺に不可逆的な気腫性変化を惹起すると考えられる。したがって、新たなインジウム肺の発生・進展を防ぐ為に、吸入性インジウムへの曝露低減および肺障害の早期発見が重要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

High levels of indium exposure relate to progressive emphysematous changes: a 9-year longitudinal surveillance of indium workers. Amata A, Chonan T, Omae K, Nodera H, Terada J, Tatsumi K. Thorax. 2015 Nov;70(11):1040-6

相対的な脚長の経年変化が身長に基づく呼吸機能の基準値へ及ぼす影響に関する後ろ向き研究

研究分担者 巽 浩一郎

千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学 教授

研究要旨

背景：殆どの人種では Global Lung Function Initiative (GLI) の身長に基づいた呼吸機能の基準値に適合しているが、日本人においては適合しない。本研究では相対的な脚長の変化に伴う身体の割合の経年変化によって呼吸機能にどの程度の変動が生じるかを調査した。方法：17-95 歳の 20,336 人(女性 13,492 人)の健康な日本人の FEV₁ と FVC をヨーロッパの GLI-2012 の基準値と比較した。1949 年から 2012 年の出生コホートから集めた 17 歳の生徒の座高の身長に対する割合 (Cormic index) を身体の割合の変化の評価として用いた。身体の割合の変化が呼吸機能に影響を与えたかを評価するためにコホート特異的 Cormic index を用いた。結果：FEV₁ と FVC は GLI-2012 の基準値と比較し低値であり、35 歳から 40 歳まで進行性に減少したが、その後上昇した。Cormic index は 1942 年まで上昇した後低下し、1970 年を最低値として再び 1995 年まで上昇した。予測値に対する呼吸機能の変動の約半数は出生コホートにおける Cormic index の変動で説明可能であった。結論：低所得の国では、今後日本と同様に、健康状態の改善に伴い相対的な脚長の増加が生じ、身体の割合が経年変化する可能性がある。本研究により、身体の割合が経年変化しうる集団では身長に基づいた予測式は定期的に更新する必要があることが示唆された。

共同研究者

Philip H. Quanjer, 久保田勝, 小林 弘祐, 大森 久光, 金澤 實, Sanja Stanojevic, Janet Stocks, Tim J. Cole

A. 研究目的

呼吸機能の予測値は身長に基づいている。一般的に、社会経済状況の改善により身長は増加するが、その際、身長の増加は座高よりも脚長の増加に基づくため、身体の割合は変化する。多くの研究において、Global Lung Function Initiative (GLI) の基準値が日本人では適合しないことが報告されている。日本人においては過去 80 年間で身体の割合に大きな変化があった。本研究の目的は、日本人の身体の

割合の経年変化が GLI-2012 基準値に日本の呼吸機能データの乖離を説明できるかを明らかにすることである。

B. 研究方法

2007 年 1 月から 2010 年 12 月まで日本の 12 施設で FEV₁、FVC のデータを収集した。対象は年齢が 17 歳から 95 歳まで、身長が 132 cm から 195 cm までの 20,336 人の健常者 (13,492 人女性) であ

った。身体の割合の変化の影響を評価するため、日本の学校保健統計調査で毎年発行される 5-17 歳の生徒の平均の身長、座高、体重のデータを用いた。1949年から2012年の報告から17歳の生徒の座位の身長に対する割合 (Cormic index)の平均値を抽出した。本研究はレトロスペクティブな研究で、非特定化されたものであり、地元の倫理委員会の承認の必要はなかった。日本人の FEV_1 と FVC は GLI ソフトウェアを用いてヨーロッパ人のための GLI-12 予測方程式に基づく Z スコアに変換した。

C. 研究結果

全体では日本人の FEV_1 と FVC の GLI-2012 Z スコアはヨーロッパ系の人種よりもそれぞれ 0.32 単位と 0.45 単位(4.35%と 6.12%)低値であった。年齢別にみると、Z スコアは年齢により変化を示し、40 歳を最低値として 80 歳まで上昇した。老若間で 0.7 単位上昇した。17 歳の日本人の男女の Cormic index の平均値は 1942 年まで上昇した後低下し、1970 年を最低値として再び 1995 年まで上昇した。年齢特異的な Cormic index を対応する FEV_1 と FVC の Z スコアの差に転換すると、経年変化は前述の Z スコアと同様のカーブを描いており、老若間での変動が最大 0.4 単位であったことから、Cormic index の変動が FEV_1 と FVC の Z スコアの変動の 50%までを説明できることが判明した。

D. 考察

GLI は年齢と身長を用いて呼吸機能を予測し、ほとんどの人種では適応するが、日本人においては適合せず、予測値から大幅に偏りがみられることが知られている。本研究では、日本人において経済社会状況の変化に伴い座高の身長への割合が変化し、それが老若間の FEV_1 と FVC の違いの約半分を説明示することを示した。その結果、呼吸機能の予測には、

座高の身長への割合が変化することを考慮すると、身長よりも座高で近似される上半身部位の長さのほうがより肺容量を規定しうることを意味示唆した。また、低所得の国では、今後日本と同様に、健康状態の改善に伴い相対的な脚長の増加が生じ、身体の割合が経年変化する可能性がある。そうした集団では身長に基づいた予測式は定期的に更新する必要があることが示唆された。

E. 結論

本研究によって身体の割合の経年変化が呼吸機能の予測値に対する乖離に影響を及ぼすことが判明した為、身体の割合が経年変化しうる集団では身長に基づいた呼吸機能の予測式を定期的に更新する必要があることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Quanjer PH, Kubota M, Kobayashi H, Omori H, Tatsumi K, Kanazawa M, Stanojevic S, Stocks J, Cole TJ. Secular Changes in Relative Leg Length Confound Height-Based Spirometric Reference Values. *Chest*. 2015;147:792-797.

肺線維化病態における IL-6 シグナルの双方向性役割

研究分担者 巽 浩一郎

千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学 教授

研究要旨

肺線維化の成立には、多様な細胞内シグナルが介在することが知られている。われわれは、ブレオマイシン（BLM）による肺障害マウスモデルを用いて、肺の炎症早期に顕著に動員される細胞内シグナルを同定するとともに、そのシグナルが、炎症期に続き誘導される肺線維化において、どのような病態的機能を果たすかを解析した。リン酸化蛋白アレイ解析および免疫組織化学的解析から、BLMによる肺炎症早期に、IL-6 受容体の下流シグナルである Stat3 や、それに付随した Akt の活性化が II 型肺胞上皮細胞（AEC II）に集約していること、また、IL-6 の産生も、その 7 割を AEC II が担うことを見出した。この事実に基づいて、培養 AEC II を BLM によって刺激すると、内因性 IL-6 が発現誘導され、それに伴う IL-6 シグナル：Stat3 と Akt の活性化が、BLM による AEC II の細胞死に対して抵抗性を演出することを確認した。さらに、BLM による肺炎症早期に IL-6 中和抗体を肺内に投与すると、AEC II の細胞死が亢進するとともに、その後に確認される肺線維化が、コントロール抗体投与群に比べて著しく進展していた。一方、BLM を投与された肺胞内の IL-6 の産生を詳細に検討したところ、上述の肺炎症早期（0.5-3 日）のみならず、肺線維化初期（投与後 8-10 日）にも再び産生ピークを示し、二相性の発現誘導が認められた。そこで、IL-6 産生が 2nd ピークを迎える肺線維化初期に IL-6 中和抗体を肺内に投与すると、コントロール抗体投与群に比べ、むしろ肺線維化は軽減するとともに、マウスの生存率も改善された。肺線維化初期の IL-6 産生細胞の多くはマクロファージであり、一部は線維芽細胞であった。加えて、リン酸化 Stat3 の局在から、IL-6 が作用する細胞は、ほぼ大部分が α -SMA 陽性細胞であった。これらの結果から、時空間的に異なる 2 つの IL-6 産生制御が、肺線維化に対して対極の機能を発揮することが明らかとなった。

共同研究者：小林健、千葉大学大学院医学研究院・分子生体制御学：粕谷 善俊

A. 研究目的

特異性肺線維症の病態進展機構を念頭に、BLM 誘導性肺線維症マウスモデルを用いて、肺線維化介在因子の同定とその関与様式の解明を目的とした。

B. 研究方法

10 週令オスマウスに BLM（3 mg/Kg）を単回投与し、経時的に肺をサンプリングし、western blot（WB）法、網羅的 WB 蛋白アレイ、アポトーシス検出 dye および EIA などの生化学的手法を用いた発現蛋白等の定性的・定量的解析；免疫組織化学的手法により目的分子局在の解析；線維化巣のマッソント

リクローム染色と Ashcroft Scale 評価 ; RT-PCR による TGF- β 1 mRNA の発現解析等に供した。

C. 結果

BLM 投与による肺炎症早期および肺線維化初期に、肺胞内 IL-6 の発現が二相性に上昇した。肺炎症早期の IL-6 の産生細胞とその作用点は AEC II であり、初代培養 AEC II および A549 細胞を用いた解析から、内因性 IL-6 は Stat3 および Akt の活性化を介して、BLM による細胞死に対して、代償性に細胞保護作用を示すことが確認された。さらに、IL-6 中和抗体の投与によって、BLM 刺激に应答して AEC II から放出される線維化促進サイトカイン : IL-13 の発現が有意に上昇するとともに、抗線維化サイトカイン : IL-9 と THPO の発現が有意に低下したことから、IL-6 による AEC II の保護作用の遮断は、線維化促進に繋がると想定された。事実、BLM 投与による肺炎症早期に IL-6 中和抗体を投与すると、コントロール抗体投与群に比して短時間で肺線維化の病理所見が顕在化し、これは Ashcroft Scale 解析および α -SMA の発現上昇からも裏付けられた。この現象のメカニズムとして、少なくとも、IL-6 シグナル阻害による AEC II の細胞死亢進とともに TGF- β 1 発現亢進が確認された。

一方、BLM 投与による肺線維化初期における IL-6 の二相性目の上昇は、多くがマクロファージを起源とし、肺炎症早期に見られるような AEC II からの IL-6 産生は観察されなかった。また、IL-6 の作用点は、ほぼ α -SMA 陽性細胞に集約されていた。さらに、BLM 投与による肺線維化初期に IL-6 中和抗体を投与すると、コントロール抗体投与群に比して肺線維化は軽減するとともに、マウスの生存率も改善された。

D. 考察

IL-6 およびその受容体下流シグナル因子である gp130 の遺伝子改変マウスを用いた解析から、IL-6/gp130/Stat3 シグナル連関が肺線維化に積極的に関与することが示されており、TGF- β 1/smad3 シグナルと同じく IL-6 が線維化促進因子として認知されつつある。一方、培養細胞を用いた解析から、IL-6 が Stat3 や Akt の活性化を介して細胞保護作用を示すことが報告され、近年確立された AEC II 傷害-肺線維化成立機構に照らすと、IL-6 による AEC II 保護作用が抗線維化能を示すことが想起されたが、これまで証明されていなかった。

本研究成果は、肺線維化初期に発現誘導された IL-6 の線維化促進因子としての機能を確認するとともに、肺炎症早期に AEC II において産生された IL-6 がオートクライン/パラクラインの挙動に準じて AEC II を細胞死から保護する働きを演じ、代償性に抗線維化作用を示すことを個体レベルで実証した。

E. 結論

時空間的に異なる 2 つの IL-6 産生制御が、肺線維化に対して対極の機能を発揮することが明らかとなった。自覚症状を訴えて病院を訪れる特発性間質性肺炎患者の多くが FVC の低下を示す事実は、すでに肺線維化を抱えていることを意味する。したがって、線維化 phase の IL-6 シグナルを阻害する抗 IL-6 ストラテジーは、肺線維症に有効と期待される。しかしながら、IL-6 による AEC II 保護作用を介した抗肺線維化能は、抗 IL-6 ストラテジーを施行する上で無視できない側面であると結論づけられる。

F. 研究発表

1. 論文

Kobayashi T, Tananka K, Fujita T, Umezawa H, Amano H, Yoshioka K, Naito Y, Hatano M, Kimura S, Tatsumi K, Kasuya Y. Bidirectional

role of IL-6 signal in pathogenesis of lung fibrosis. *Respir Res* **16**:99 (14 pages), 2015.

2. 学会発表

Kobayashi T, Tanaka K, Amano H, Fujita T, Kimura S, Tatsumi K, Kasuya Y. Role of IL-6

signal in the epithelial injury-based mechanisms of lung fibrosis. American Thoracic Society (ATS) 2014 International Conference 2014.5.16-21, San Diego (Publication Number: A5437)

喫煙者の CT における気腫性病変と閉塞性換気障害のしきい値が与える影響

研究分担者 巽 浩一郎

千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学 教授

研究要旨

慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者における肺気腫は一つの表現型であり、胸部 CT では低吸収域 (low attenuation volume 以下 LAV) として認識される。しかしながら、LAV はしきい値により変化し、現状のしきい値では必ずしも閉塞性換気障害の程度を的確に反映していない可能性がある。そこで、吸気および呼気の胸部 MDCT を用いて測定した各しきい値 (threshold) における気腫病変と呼吸機能（閉塞性換気障害）との関係を検討した。

COPD を疑われ当院を受診した患者 76 名について最大吸気時および呼気時に CT 撮影を施行し、得られた Volume データを解析した。肺野容積を求め、さらに最小値 -1000HU から -750HU まで 10 HU ごとにしきい値を変化させて各しきい値における LAV を求めた。また、肺野容積における LAV の割合 (LAV%) を算出し、呼吸機能検査との関連を検討した。

吸気 LAV% および呼気 LAV% はしきい値にて大きく変化した。どのしきい値でも吸気 LAV% は呼気 LAV% より高かった。呼吸機能正常群と COPD 重症および最重症患者群との比較では、前者で吸気および呼気 CT で LAV% 値が大きく変化した。吸気 LAV% および呼気 LAV%、平均肺野濃度比 (呼気/吸気) はそれぞれ一秒率、対標準 1 秒量 (重症度) と強い負の相関を認めしたが、呼気 CT の方がやや一秒率、対標準 1 秒量をよく反映した。吸気 LAV% では -930HU が気流制限との相関が高く、呼気ではそれよりも高いしきい値 -880HU 付近で相関が強くみられた。

しきい値の設定により LAV% は変化することから、CT 画像で描出される気腫病変と閉塞性換気障害の関係の評価では、吸気および呼気をはじめとする呼吸状態、しきい値を考慮すべきことを示すものである。

共同研究者

梁川範幸、川田奈緒子、松浦有紀子、杉浦寿彦、鈴木敏夫、笠井大、入江亮介、家里憲、多田裕司、田邊信弘、鈴木洋一

A. 研究目的

慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者では気腫は一つの表現型であり、胸部 CT では低吸収域 (low attenuation volume ;LAV) として認識される。し

かしながら、LAV はしきい値により変化し、現状では -950HU 付近のしきい値が用いられるが、病理学的な検討から算出されたしきい値であり、必ずしも閉塞性換気障害の程度を的確に反映していない可能

性がある。そこで、今回、喫煙者（呼吸機能正常群 + COPD 群）において、吸気および呼気の胸部 MDCT を用いて各しきい値（threshold）における気腫病変と呼吸機能（閉塞性換気障害）との関係を検討した。

B. 研究方法

対象は喫煙歴があり COPD を疑われ当院を受診した患者 76 名。最大吸気時および呼気時に CT 撮影を施行し、得られた Volume データを解析した。解析ソフトウェアを用いて肺野容積を求め、さらに気腫病変について最小値 -1000HU から最大値 -750HU まで 10 HU ごとにしきい値を変化させて low attenuation volume (LAV) を求めた。また、肺野容積における LAV の割合 (LAV%) を算出し、閉塞性換気障害との関連を検討した。

本研究は、千葉大学倫理委員会（NO857）の承認を得ている。

C. 研究結果

吸気 LAV% および呼気 LAV% はしきい値にて大きく変化した。各しきい値での吸気 LAV% は呼気 LAV% より高値であった。呼吸機能正常群と COPD 重症および最重症患者群との比較では、前者で吸気および呼気 CT で LAV% 値が大きく変化した。吸気 LAV% および呼気 LAV%、平均肺野濃度比（呼気/吸気）はそれぞれ一秒率、対標準 1 秒量（重症度）と強い負の相関を認めた。呼気 CT の方がやや一秒率、対標準 1 秒量をよく反映した。吸気 LAV% では -930HU が気流制限との相関が高く、呼気ではそれよりも高いしきい値 -870HU または -880HU 付近で相関が強くみられた。

D. 考察

吸気 LAV% は呼気 LAV% よりもつねに高値であっ

たことから、MDCT で測定する気腫性病変は病理学的な肺気腫だけでなく、air-trapping の領域や気腫まではいたらないが、微小血管の破壊を伴い正常肺よりも低吸収をしめす領域を含んでいる可能性があると考えられた。機能正常喫煙者群で比較すると COPD 重症 + 最重症群で有意に LAV の変化が少なく、COPD における air-trapping を示していると考えられた。

閉塞性換気障害を最も反映するしきい値は呼気 CT のほうが高く、吸気と呼気で異なることを示した。また、吸気および呼気 LAV% はともに閉塞性換気障害と有意な相関を認めたと、呼気 LAV% のほうが吸気 LAV% よりも閉塞性換気障害をやや強く反映していた。

E. 結論

しきい値の設定により LAV% は変化することから、CT 画像で描出される気腫病変と閉塞性換気障害の関係の評価では、吸気および呼気をはじめとする呼吸状態、また、しきい値を考慮すべきことが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yanagawa N, Kawata N, Matsuura Y, Sugiura T, Suzuki T, Kasai H, Irie R, Iesato K, Tada Y, Tanabe N, Suzuki Y, Tatsumi K. Effect of threshold on the correlation between airflow obstruction and low attenuation volume in smokers assessed by inspiratory and expiratory MDCT. *Acta Radiol.* 2015 **56**: 438-446.

慢性閉塞性肺疾患肺線維芽細胞における *In vitro* でのマイクロ RNA 発現変化の検討

研究分担者 巽 浩一郎

千葉大学大学院医学研究院 呼吸器内科学 教授

研究要旨

慢性閉塞性肺疾患（COPD）を含む呼吸器疾患において、*In vitro* で、培養細胞を用いたマイクロ RNA（miRNA）解析がしばしば行われる。培養条件によって miRNA の発現が変容する可能性があるがその影響に関する検討は限られている。本研究では、コントロール、COPD 患者より単離した肺線維芽細胞を複数の培養条件（細胞密度、継代、炎症性サイトカイン刺激）で培養し、miRNA の変化をマイクロアレイ法により網羅的に解析した。コントロール（n=5）、COPD(n=5)患者由来肺線維芽細胞を 3 回、8 回継代（LP, HP）、細胞密度を低密度（LD）、高密度（HD）の 4 条件で培養した。また、HD 群は IL-1 β および TNF- α 24 時間刺激した。各種条件により培養した肺線維芽細胞細胞から RNA を単離し miRNA 発現をマイクロアレイ法により解析した。培養条件の違いにより 1.25 倍以上の発現の変化を認めた miRNA を（変化群）、1.25 倍未満を（非変化群）と定義した。結果、総計 2226 の miRNA のうち、39.0%が細胞密度、40.7%が継代、29.4%が両条件下で非変化群であった。又、IL-1 β および TNF- α 存在下において 38.1%は非変化群であった。次に、コントロールおよび COPD 間で発現が異なる miRNA を解析した。結果、IL-1 β および TNF- α 存在、非存在下で上位 34 の miRNA を同定し、そのうち 32 の miRNA は培養条件による差異以上に COPD で発現が変化した。以上より、*In vitro* において培養条件はヒト肺線維芽細胞の miRNA の発現に影響を及ぼすことが明らかとなった。一方、異なる培養条件のもとでも、COPD 肺線維芽細胞の一部の miRNA 発現変異は維持され、*In vitro* での miRNA 解析は有用と考えられた。

共同研究者 伊狩潤、岩澤俊一郎、Stephen Rennard、他

A. 研究目的

近年、マイクロ RNA（miRNA）は複数の標的遺伝子の発現を制御し、COPD、肺高血圧症を含む様々な呼吸器疾患の病態に関与することが明らかになった。しかしながら、miRNA の COPD 病態への関与、特に細胞単位でどのような役割を果たすのかは明らかになっていない。また、*In vitro* での各種肺細胞における遺伝子発現解析はしばしば用いられる手法

であるが、培養条件により miRNA の発現が変容する可能性についての検討は限られている。そこで、本研究では、COPD 肺線維芽細胞を通常、基礎研究で用いられる培養条件の違い（細胞密度、継代、刺激）と miRNA 発現への影響を明らかにすることを目的とした。同時に、COPD 肺線維芽細胞で発現が異なる miRNA を同定し、培養条件による影響を評価することを目的とした。

B. 研究方法

本研究では、コントロール、COPD 患者肺より単離した肺線維芽細胞を複数の培養条件（細胞密度、継代）で培養し、miRNA の変化を網羅的に解析した。コントロール (n=5)、COPD(n=5)患者由来肺線維芽細胞を 3 回、8 回継代 (LP, HP)、細胞密度を低密度 (LD)、高密度 (HD) の 4 条件で培養した。また、HD 群は IL-1 β および TNF- α 24 時間刺激による影響も検討した。培養細胞から RNA を抽出し miRNA 発現をマイクロアレイ法により解析した。培養条件の違いにより 1.25 倍以上の発現変化を認めた miRNA を (変化群)、1.25 倍未満を (非変化群) と定義した。なお、本研究は、研究協力施設であるネブラスカ大学医療センター倫理委員会の承認を得て行われた。

C. 研究結果

まず、細胞密度の miRNA 発現への影響を解析した結果、LP においては 56.3%が、HP では 52.8%の miRNA が細胞密度の影響を受けなかった。LP、HP いずれにおいても非変化だった割合は 39.0%であった。次に、継代の miRNA 発現への影響を解析した。LD においては 51.8%、HD においては 59.7%の miRNA が継代の影響を受けなかった。LD、HD いずれにおいても非変化群だった miRNA の割合は 40.7%であった。また、細胞密度、継代いずれの影響も受けない miRNA は 29.4%であった。以上より 7 割以上の miRNA 発現は細胞密度または継代により発現が変化すると考えられた。次に各種培養条件下 (LD/LP、LD/HP、HD/LP、HD/HP) でのコントロール、COPD 間の miRNA 発現を解析した。結果、複数の miRNA (LD/LP : 144miRNA、LD/HP : 137miRNA、HD/LP:115miRNA、HD/HP:140 miRNA) が有意に COPD で変化した。次に、培養

条件による影響を除外した mixed effect model による統合解析では、計 64miRNA が COPD で変化した。また、IL-1 β および TNF- α 存在下での、継代では 38.1%の miRNA は非変化であった。各種培養条件下 (HD/LP、HD/HP) でコントロール、COPD 間の miRNA 発現を解析した結果、複数の miRNA (HD/LP: 264miRNA、HD/HP:210miRNA) が有意に COPD で変化した。同様に、mixed effect model による統合解析では、計 79miRNA が COPD で変化していることが明らかになった。さらに、IL-1 β および TNF- α 存在、非存在下において COPD で発現が変化している上位 34 の miRNA を同定した。うち 32 の miRNA は培養条件による差異以上に COPD での miRNA 発現が変化した。

D. 考察

In vitro における培養条件とヒト肺線維芽細胞の miRNA 発現への影響を明らかにした。本研究では、通常の培養実験で変化する因子として、細胞密度、継代およびサイトカイン刺激の影響を評価した。いずれの条件も半数以上の miRNA の発現が変化し、影響を受けなかった miRNA は 3 割に満たなかった。よって、培養実験を用いた miRNA 解析の解釈において、培養条件を加味する必要性が示唆される。また、本研究では COPD 肺線維芽細胞の複数の miRNA 発現が有意に変化していることを明らかにした。さらに、培養条件によって影響を受けにくい miRNA を同定した。よって、これらの miRNA は COPD で発現が変化し、*In vitro* での解析が許容されると考えられた。肺線維芽細胞は肺組織修復やリモデリングに関与し、その機能異常が COPD で指摘されている。よって、miRNA 発現の変化が COPD 肺線維芽細胞の機能変容に影響している可能性が示唆された。これまで培養条件と miRNA 変化を非 COPD、COPD 検体で比較した検討は我々が知る限りはなく、今後の *In vitro* での miRNA 解析を促進する結果が得ら

れたと考える。

E. 結論

In vitro で、細胞培養条件はヒト肺線維芽細胞の miRNA 発現に影響する。一方、異なる培養条件のもとでも、COPD 肺線維芽細胞の一部の miRNA 発現変異は維持され、*In vitro* での miRNA 解析は有用と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ikari J, Smith LM, Nelson AJ, Iwasawa S, Gunji Y, Farid M, Wang X, Basma H, Feghali-Bostwick C, Liu X, DeMeo DL, Rennard SI. Effect of culture conditions on microRNA expression in primary adult control and COPD lung fibroblasts in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2015 Apr;51(4):390-9

平成27年度
研究成果の刊行に関する一覧表

平成 27 年度 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1. 三嶋 理晃・平井 豊博					
Oguma T, Hirai T, Fukui M, Tanabe N, Marumo S, Nakamura H, Ito H, Sato S, Niimi A, Ito I, Matsumoto H, Muro S, <u>Mishima M.</u>	Longitudinal shape irregularity of airway lumen assessed by CT in patients with bronchial asthma and COPD.	Thorax	70	719-24	2015
2. 伊達 洋至					
<u>Date H</u> , Sato M, Aoyama A, Yamada T, Mizota T, Kinoshita H, Handa T, Tanizawa K, Chin K, Minakata K, Chen F.	Living-donor lobar lung transplantation provides similar survival to cadaveric lung transplantation even for very ill patients	Eur J Cardiothorac Surg.	47	967-72	2015
3. 木村 弘					
Tomoda K, Kubo K, Dairiki K, Yamaji T, Yamamoto Y, Nishii Y, Nakamura A, Yoshikawa M, Hamada K, <u>Kimura H.</u>	Whey peptide-based enteral diet attenuated elastase-induced emphysema with increase in short chain fatty acids in mice.	BMC Pulm Med.	15	64	2015
Yamauchi M, Fujita Y, Kumamoto M, Yoshikawa M, Ohnishi Y, Nakano H, Strohl KP, <u>Kimura H.</u>	Nonrapid Eye Movement-Predominant Obstructive Sleep Apnea: Detection and Mechanism.	J Clin Sleep Med.	11	987-93	2015

Kai Y, Tomoda K, Yoneyama H, Yoshikawa M, <u>Kimura H.</u>	RNA interference targeting carbohydrate sulfotransferase 3 diminishes macrophage accumulation, inhibits MMP-9 expression and promotes lung recovery in murine pulmonary emphysema	Respir Res.	16	146	2015
Matsumoto N, Miki K, Tsubouchi H, Sakamoto A, Arimura Y, Yanagi S, Iiboshi H, Yoshida M, Souma R, Ishimoto H, Yamamoto Y, Yatera K, Yoshikawa M, Sagara H, Iwanaga T, Mukae H, Maekura R, <u>Kimura H</u> , Nakazato M, Kangawa K.	Ghrelin administration for chronic respiratory failure: A randomized dose-comparison trial.	Lung	193	239-47	2015
4. 西村 正治					
Nagai K, Makita H, Suzuki M, Shimizu K, Konno S, Ito YM, <u>Nishimura M</u> ; Hokkaido COPD Cohort Study Investigators.	Differential changes in quality of life components over 5 years in chronic obstructive pulmonary disease patients.	Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.	10	745-57	2015
Shimizu K, Makita H, Hasegawa M, Kimura H, Fuke S, Nagai K, Yoshida T, Suzuki M, Konno S, Ito YM, <u>Nishimura M.</u>	Regional bronchodilator response assessed by computed tomography in chronic obstructive pulmonary disease.	Eur J Radiol.	84	1196-201	2015

5. 陳 和夫					
Murase K, Tabara Y, Ito H, Kobayashi M, Takahashi Y, Setoh K, Kawaguchi T, Muro S, Kadotani H, Kosugi S, Sekine A, Yamada R, Nakayama T, Mishima M, Matsuda S, Matsuda F, <u>Chin K.</u>	Knee Pain and Low Back Pain Additively Disturb Sleep in the General Population: A Cross-Sectional Analysis of the Nagahama Study.	PLoS One	10	e0140058	2015
Matsumoto T, Tomii K, Tachikawa R, Otsuka K, Nagata K, Otsuka K, Nakagawa A, Mishima M, <u>Chin K.</u>	Role of sedation for agitated patients undergoing noninvasive ventilation: clinical practice in a tertiary referral hospital.	BMC Pulm Med.	15	71	2015
Tsuboi T, Oga T, Sumi K, Machida K, Ohi M, <u>Chin K.</u>	The Importance of Stabilizing PaCO ₂ during Long-term Non-invasive Ventilation in Subjects with COPD.	Intern Med.	54	1193-8	2015
Toyama Y, Tanizawa K, Kubo T, Chihara Y, Harada Y, Murase K, Azuma M, Hamada S, Hitomi T, Handa T, Oga T, Chiba T, Mishima M, <u>Chin K.</u>	Impact of Obstructive Sleep Apnea on Liver Fat Accumulation According to Sex and Visceral Obesity.	PLoS One	10	e0129513	2015
Chihara Y, Akamizu T, Azuma M, Murase K, Harada Y, Tanizawa K, Handa T, Oga T, Mishima M, <u>Chin K.</u>	Among Metabolic Factors, Significance of Fasting and Postprandial Increases in Acyl and Desacyl Ghrelin and the Acyl/Desacyl Ratio in Obstructive Sleep Apnea before and after Treatment.	J Clin Sleep Med.	11	895-905	2015