

令和元年6月21日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K20545

研究課題名(和文) 唾液中のリン脂質活性化療法を用いた新しい睡眠時無呼吸症候群の薬物療法の開発

研究課題名(英文) Development of a new drug therapy for sleep apnea syndrome using phospholipid activation in saliva

研究代表者

河井 真理 (KAWAI, Mari)

長崎大学・病院(歯学系)・助教

研究者番号：30728572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：閉塞型睡眠時無呼吸症候群(OSA)では、唾液中の表面活性物質(内因性サーファクタント)の中でホスファチジルコリン(PC)の濃度上昇が上気道粘膜の表面張力を低下させ、呼吸をしやすくさせていることがわかった。唾液中のPCを主成分とするサーファクタントの局所補充療法という新しい治療法の方向性を見出すため、唾液中のPCに影響を与える因子について検討した。女性ホルモンの影響を受け、PCが表面張力を調整している可能性が示唆された。また、ダウン症候群の唾液表面張力は健康被検者と比べ有意に低く、先天性の解剖学的特徴により幼少期からの上気道開通性の低下を補うために代償的に低くなっている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唾液中のPCを主成分とする内因性サーファクタントが上気道開通性の維持に大きな役割を持っていること、また、唾液中のリン脂質の変化が表面張力を調節し「低呼吸の改善」に有効であることを報告し、新しい治療法の重要な手がかりを得た。初期症状である「いびき」や「低呼吸」を唾液中のPCを主成分とするサーファクタントの局所補充療法で改善することができれば、極めて初期の段階から予防治療を開始でき、重症化を防ぐことが可能になると考える。

研究成果の概要(英文)：An increase in salivary phosphatidylcholine concentration may decrease upper airway patency in obstructive sleep apnea through a reduction in surface tension. In order to find out the direction of the new treatment of topical replacement therapy of PC-based surfactant in saliva, we examined factors affecting PC in saliva. It was suggested that PC may be adjusting the surface tension under the influence of female hormones. The lower surface tension of saliva in patients with Down syndrome might compensate for an anatomical predisposition towards upper airway collapsibility and other risk factors.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：睡眠時無呼吸症候群 唾液 ホスファチジルコリン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

閉塞型睡眠時無呼吸症候群 (OSA) は睡眠中の無呼吸・いびき、昼間の異常な眠気が、二次的に狭心症などを合併する危険性が指摘され、社会的に大きな問題となっている。睡眠中に“いびき”や“無呼吸”が起こった場合、閉塞した上気道を再開通させるために、上気道開大筋群の筋活性の亢進など覚醒反応を伴わない中枢・局所の神経・筋調節系も重要であることが分かっている。また唾液と咽頭粘膜に局在する表面活性物質 (内因性サーファクタント) は主にリン脂質とタンパク質で構成されるが、この成分が重要な役割を果たす事が報告され、いびきや低呼吸などの病態では、唾液中の内因性サーファクタントが表面張力を低く保ち“息がしやすい”状況を維持していることがわかってきた。

OSA 患者では、上咽頭部の粘膜および口腔内の唾液の表面張力が高く、上気道が閉塞しやすい状態であり、外因性のサーファクタントを咽頭粘膜に滴下させることで、表面張力が低下するとの学術報告がある。(Kirkness JP, Sleep 2005;28:457-63.) 現在、人工的に調整されたサーファクタント製剤は小児急性呼吸促進症候群の治療に用いられている。しかしながら非常に高価で、OSA の治療に応用することは現実的ではない。我々は、これまでに、唾液の表面張力を変化させている内因性サーファクタントの特定を行い、OSA 患者での上気道の開通性と内因性サーファクタントの関係を評価してきた。最新の我々の知見では、OSA 患者では、内因性サーファクタントの1つである唾液中のホスファチジルコリン (PC) 濃度の上昇が上気道粘膜の表面張力を低下させ“息をしやすく”することを報告した。(Kawai M, et al. J.Oral.Rehabil. 40(10),758-766,2013)Stichtenothら (pediatric pulmonology.2014;49:751-6) は、新生児の気道の表面張力を調節している主要な物質として、同様にホスファチジルコリン (PC) の関与を示唆している。また、Bohmら (PLOS ONE2014;9(4):e93148) は、メタボリックシンドロームの病態が重症化するとホスファチジルコリン (PC) の産生酵素活性が低下することを報告している。これらの研究成果から内因性サーファクタント (PC 等) の局所補充療法をいびきの治療に応用できる可能性が出てきた。

### 2. 研究の目的

内因性サーファクタントの生理学的作用の解明を健康被験者および OSA 患者の唾液サンプルから行う。

(1) PC を主成分とする内因性サーファクタントの産生酵素に影響を与える生理学的因子(性、年齢)や環境的因子(喫煙など)を検討する。

(2) PC 以外の内因性サーファクタントの因子(サーファクタントプロテイン)などとの関連性を検討する。

OSA の初期症状である“いびき”や低呼吸に対して唾液中の PC を主成分とするサーファクタントの局所補充療法という新しい治療法の方向性を見出すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 細いポリエチレンチューブを用いて 100  $\mu$ l の唾液サンプルを口腔内の舌下および咽頭部粘膜より採取する。表面張力は pull-off force 解析法(シリカ板に唾液を置き、2つのシリカ板を吸着させる。その後、上下方向の力を徐々に加え、2つのシリカ板が離れるまでに要する力を測定する。)を用いて測定する。

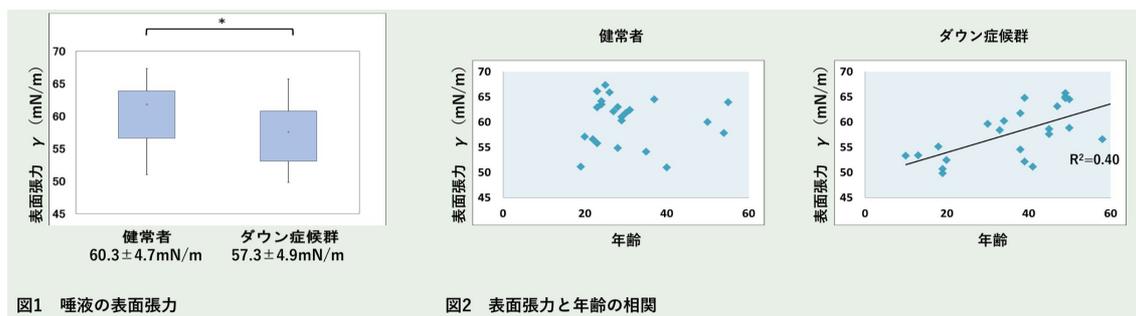
(2) 内因性サーファクタントの組織の検討は、その主たる成分であるホスファチジルコリン(PC)の他、ホスファチジルセリン(PS)などのリン脂質の濃度を液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS/MS)および測定キットによって評価する。

唾液サンプルの表面張力、リン脂質と夜間ポリソムノグラフィ(PSG)検査の各解析データ(無呼吸指数 AI、低呼吸指数 HI、無呼吸・低呼吸指数 AHI) さらに年齢、性別、体重(BMI)、首周り径、合併疾患の有無、生理周期、喫煙歴、飲酒歴などの生理学的因子と環境因子との関連性を検討するために、多変量解析を行う。

### 4. 研究成果

(1) ダウン症候群患者は、睡眠中のいびきや無呼吸の回数が多く、OSA の発症リスクが高くなっている。顎が未発達、低い鼻、巨舌等の解剖学的因子を含め、骨格に対する軟組織の相対的な不適合が原因とされているが、明確な発症因子は特定されていない。“ダウン症候群で OSA の発症リスクが高いのは、唾液の表面張力が高いためである”という仮説に基づきダウン症候群の唾液の表面張力を健康成人と比較した。ところが、ダウン症候群の唾液表面張力は、健康者と比較して仮説に反して有意に低いという結果であった。(図1) また、ダウン症候群では、年齢と表面張力の間に関連のある正の相関があり、年齢が高くなると表面張力が増加する傾向にあった。(図2)

このことから、ダウン症候群患者では、いびき等の上気道の閉塞を生じることが多いが、巨舌や顎形態異常だけでなく、唾液による表面張力の変調も原因である可能性が考えられた。ダウン症候群が先天的に有する形態的因子により発生する幼少期からの上気道開通性の低下を補うために、代償的に表面張力を低下させて上気道開通性を維持しているものの、加齢により表面張力が次第に上昇し、表面張力による調節機能も変調している可能性が示唆された。



OSA は 20~40 歳代の女性には稀にしか認められない。しかし、閉経後にはその発症率が増加する。エストロゲンやプロゲステロンなどの女性ホルモンは、上気道開通性に影響しており、これまでに卵胞期に比べ黄体期ではプロゲステロンの分泌により上気道は閉塞しやすいことを報告した。また、健常成人では、卵胞期と比較して黄体期では PSG 検査の AHI が高くなること言われている。唾液表面張力、PC の濃度も女性ホルモンの影響を受け生理周期で変化しているのではないかとこの仮説に基づき、生理周期(月経期、卵胞期、黄体期)で唾液採取を行い、PC 濃度、表面張力を測定し、PSG 検査結果と比較検討した。月経期に PC 濃度が上昇し、卵胞期で徐々に低下し、黄体期で最も低下する傾向にあることがわかった。

(2) PC 以外の内因性サーファクタントの検討を標準品が入手可能なホスファチジルエタノールアミン(PE)、ホスファチジルセリン(PS)、ホスファチジルイノシトール(PI)、ホスファチジルコリン(PC)などの生理活性脂質を標的として定量解析を LC-MS/MS を用いて行っていた。精密な定量が困難で難渋していたところ、唾液中の代謝産物を一斉に測定できる技術があることがわかった。CE-MS によるメタボローム解析は、イオン性代謝産物を一斉に測定できることが特徴である。この解析法を行っている慶應義塾大学先端生命科学研究所との共同研究が可能となり、唾液中の成分を網羅的に解析している。OSA 患者と無呼吸のない健常者との間、あるいは OSA の重症度で特異的なマーカーとなる物質が解明されれば、将来的に、OSA の初期症状である“いびき”や低呼吸に対し唾液中の PC を主成分とするサーファクタントの局所補充療法という新しい治療法の可能性がより現実的なものになる可能性がでてきた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Changes in surface tension of saliva in Down syndrome. Kawai M, Ito N, Ayuse T. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 査読有 22(19):6469-6474(2018) IF=2.387  
doi: 10.26355/eurrev\_201810\_16060.

〔学会発表〕(計 1 件)

河井真理、伊藤七虹、鮎瀬卓郎、長田豊：ダウン症候群患者の唾液中の表面張力の変調について、第 35 回日本障害者歯科学会総会および学術大会、2018 年

〔図書〕(計 1 件)

河井真理、鮎瀬卓郎：OSA の病態に関する唾液中物質の役割と応用、北隆館、BIO Clinica. 依頼原稿, 31(9):89-94, 2016

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

なし

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：鮎瀬 卓郎

ローマ字氏名：AYUSE, Takao

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。