

平成21年 5月20日現在

研究種目：基盤研究(G)

研究期間：2007年度 ～ 2008年度

課題番号：19590690

研究課題名（和文） 酸化ストレス制御による高齢者呼吸器疾患の新たな治療法の確立

研究課題名（英文） The New Strategies on Controls of Infection and Oxidative Stress for Prevention and Treatment of Pulmonary Diseases in the Elderly.

研究代表者

中山 勝敏 (NAKAYAMA KATSUTOSHI)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40321989

研究成果の概要：

慢性閉塞性肺疾患(COPD)など的高齢者呼吸器疾患は、酸化ストレスやウイルス感染が増悪の要因となる。我々は、気道での酸化ストレスやウイルス誘導性炎症の新たな制御分子確立を検討した。その結果、(1)脂質異常症治療薬ピタバスタチンによる培養気道上皮での抗ライノウイルス効果、(2)喀痰調整薬カルボシステインによる培養気道上皮での抗酸化ストレス効果、(3)プロトンポンプ阻害薬ランソプラゾールによる COPD 患者の急性増悪抑制効果を明らかにした。これ等の成果は国際学会や科学雑誌に発表あるいは掲載予定となった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般(含心身医学)

キーワード：酸化ストレス、ウイルス感染、慢性閉塞性肺疾患、ピタバスタチン、カルボシステイン、ランソプラゾール

1. 研究開始当初の背景

高齢者呼吸器疾患には慢性閉塞性肺疾患、肺癌、特発性肺線維症、喘息、肺感染症等、気道への酸化ストレス暴露およびウイルス感染が病態発症・増悪の要因となるものが多い。これに対し、酸化ストレス制御に関しては禁煙や大気汚染対策以外に確立されたものは存在せず、またウイルス感染についてもウイルス誘導性炎症増悪に対する有効な予防法は確立していない。

2. 研究の目的

酸化ストレスおよびウイルス誘導性炎症の制御分子として我々は、脂質異常症治療薬であるスタチン類、喀痰調整薬であるカルボシステイン、プロトンポンプ阻害薬であるランソプラゾールを候補分子とした。

そして、培養気道上皮における酸化ストレス誘導性細胞死に対する防御効果、培養気道上皮におけるウイルス感染予防効果、臨床研究として COPD 患者に対する急性増悪予防効果等を検討した。

具体的な研究項目・成果としては以下の3つ研究をおこなった

(1) 脂質異常症治療薬スタチン類による培養気道上皮でのウイルス感染予防効果に関する研究

(2) 喀痰調整薬カルボシステインによる培養気道上皮での酸化ストレス誘導性細胞死に対する防御効果に関する研究

(3) プロトンポンプ阻害薬であるラソプラゾールによる COPD 患者の急性増悪に対する予防効果に関する研究

3. 研究の方法

(1) スタチン類による培養気道上皮でのウイルス感染予防効果に関する研究：

ヒト培養気道上皮に対し、ピタバスタチン処理後(1.0 μ M, 3日)ライノウイルス(RV)-14感染を行ない、経時的RV収量を評価した。また、ピタバスタチン処置によるICAM-1発現および酸性エンドゾーム強度の変化を検討した。同様の実験をロバスタチン(日本未発売)においても施行した。

(2) カルボシステインによる培養気道上皮での酸化ストレス誘導性細胞死に対する防御効果に関する研究：酸化ストレスによる細胞傷害に対する、カルボシステイン(CC)の保護作用を検討する。培養ヒト気道上皮細胞をCCで前処理後、過酸化水素(H₂O₂)で刺激した。

(3) ラソプラゾールによる COPD 患者の急性増悪予防効果に関する研究：プロトンポンプ阻害薬ラソプラゾール(LPZ)による COPD 患者の急性増悪に対する効果を検討した。COPD 患者 100 名を 2 群に分け、通常加療群と通常加療+LPZ15mg/日群とした(対照群と LPZ 群、各 50 名ずつ)。1 年観察にて感冒回数と急性増悪回数を記録した。

4. 研究成果

(1) スタチン類による培養気道上皮でのウイルス感染予防効果に関する研究：

RV 収量はコントロールに比し有意に抑制された(1-3日、ピタバスタチン処置群 1.1 \pm 0.1 log TCID₅₀/mL/日 vs 対照群 4 \pm 0.2 log TCID₅₀/mL/日, p<0.01)。sICAM-1 発現は有意に抑制されたが、酸性エンドゾーム抑制効果は認められなかった。同様の実験をロバスタチン(日本未発売)においても施行した。その結果、ピタバスタチンと同様に ICAM-1 の発現とウイルス収量は有意に抑制したが、酸性エンドゾーム抑制効果は認められなかった。2 種類のスタチンによりライノウイルスの増殖は約 1000 分の 1 にまで抑制された。その機序の一つとして感染受容体の発現抑制が考えられた。スタチンによる、このように強い抗ライノウイルス感染活性が示されたのは、世界で初めてである。従って産業財産権の出願・取得を検討したが、一方でスタチンによる HIV ウイルスに対する抗ウイル

ス活性が近年報告されたばかりであった。ウイルス種が異なるが、特許の取得は叶わなかった。また、その研究の一部は American Thoracic Society 2008 International Conference (米国胸部疾患学会 2008 年国際会議)において発表された。現在、論文投稿準備中である。

(2) カルボシステインによる培養気道上皮での酸化ストレス誘導性細胞死に対する防御効果に関する研究：アポトーシス解析では、CC 処理(1 μ M, 10 μ M)は無処理に比してアポトーシスを 1/1.2、1/1.7 に各々抑制した(p<0.05)。ウェスタン解析によれば、CC 処理群は対照群に比べ Akt リン酸化を 1.6 倍に増加させ、カスパーゼ-9、-3 の活性化を各々約 1/30、1/2.5 に抑えた。これらの結果は CC が Akt リン酸化によるカスパーゼ抑制を通じて、酸化ストレス誘導性アポトーシスを抑制する可能性が示唆された。この研究は、*Respirology* に掲載予定となった。また、その研究の一部は American Thoracic Society 2008 International Conference (米国胸部疾患学会 2008 年国際会議)において発表された。

(3) ラソプラゾールによる COPD 患者の急性増悪予防効果に関する研究：両群間で基礎的背景に有意差はなかった。急性増悪頻度は対照群に比して LPZ 群が有意に低頻度であった(1.18 \pm 0.20 回/年 vs 0.34 \pm 0.10 回/年, p=0.0003)。ロジスティック回帰分析に依れば、年 1 回以上の急性増悪をおこすリスクは対照群に比して LPZ 群が 0.23 倍であった(95%CI=0.08-0.62, p=0.004)。LPZ が COPD 患者の急性増悪を予防するのに有用であることが示唆された。この研究は、*J Am Geriatr Soc* に掲載予定となった。また、その研究の一部は American Thoracic Society 2008 International Conference (米国胸部疾患学会 2008 年国際会議)において発表され、Travel Award を獲得した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

1. Sasaki T, Nakayama K, Yasuda H, Yoshida M, Asamura T, Ohru T, Araya J, Kuwano K, Yamaya M. A randomized, single blind study of lansoprazole for the prevention of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease in older patients. *J Am Geriatr Soc*. Peer Review(+) In prss.
2. Yoshida M, Nakayama K, Yasuda H, Kubo H, Kuwano K, Arai H, and Yamaya M. Carbocisteine inhibits oxidant-induced apoptosis in cultured human airway

- epithelial cells. *Respirology*. Peer Review(+) *In press*.
3. Tatsumi K, Shinozuka N, **Nakayama K**, Sekiya N, Kuriyama T, Fukuchi Y. Hichuekikito improves systemic inflammation and nutritional status in obstructive pulmonary disease. *J Am Geriatr Soc*. Peer Review(+) 2009 57: 169-170.
 4. Kuwano K, Araya J, **Nakayama K**. Epithelial cell fate following ling injury. *Expert Rev Resp Med*. Peer Review(+) 2008 2: 573-582.
 5. Nakao I, Kanaji S, Ohta S, Matsushita H, Arima K, Yuyama N, Yamaya M, **Nakayama K**, Kubo H, Watanabe M, Sagara H, Sugiyama K, Tanaka H, Toda S, Hayashi H, Inoue H, Hoshino T, Nakajima A, Inoue M, Suzuki K, Aizawa H, Okinami S, Nagai H, Hasegawa M, Fukuda T, Green ED, Izuhara K. Identification of pendrin as a common mediator for mucus production in bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol*. Peer Review(+) 2008 180: 6262-9
 6. Iwasaki K, Kato S, Manma Y, Niu K, Ohru T, Okitsu R, Higuchi S, Ozaki S, Kaneko N, Seki T, **Nakayama K**, Furukawa K, Fujii M, Arai H. A pilot study of banxia houpu tang, a traditional Chinese medicine, for reducing pneumoni risk in older adults with dementia. *J Am Geriatr Soc*. Peer Review(+) 2007 55: 2035-2040.
 7. Yamaya M, Sasaki T, Yasuda H, Inoue D, Suzuki T, Asada M, Yoshida M, Seki T, Iwasaki K, Nishimura H, **Nakayama K**. Hochu-ekki-to inhibits rhinovirus infection in human tracheal epithelial cells. *Br J Pharmacol*. Peer Review(+) 2007 150: 702-710.
 8. 桑野和善、木下陽、**中山勝敏** 高齢者の間質性肺炎 *日本老年医学会雑誌* 査読(一) 2008年 46巻 298-301頁
 9. **中山勝敏**、齊藤桂介、桑野和善 I 感染症呼吸器疾患 高齢者肺炎 *別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.8 呼吸器症候群(第2版)I* 査読(一) 2008年 298-301頁
 10. **中山勝敏** COPDの診断と治療 *港区*
- 医師会報* 査読(一) 2008年 117巻 27-28頁,
11. **中山勝敏**、安田浩康、佐々木陽彦、吉田元樹、山谷睦雄. [肺炎—高齢者社会を迎えて 高齢者肺炎の特徴] 基礎疾患別の肺炎像(誤嚥性肺炎を除く) *カレントセラピー*. 査読(一) 2007年 25巻2号 32-36頁
 12. 山谷睦雄、安田浩康、吉田元樹、西村秀一、**中山勝敏**. [特集:慢性閉塞性肺疾患(COPD)] 急性増悪への対応 *日本臨床*. 査読(一) 2007年 65巻4号 734-739
 13. 山谷睦雄、吉田元樹、矢満田慎介、**中山勝敏**. [特集:咳と痰] 咳と痰の発生メカニズム *呼吸器科*. 査読(一) 2007年 11巻6号 595-600
- [学会発表] (計 13件)
1. **Nakayama K**, Asamura T, Sasaki T, Yoshida M, Yasuda H, Asada M, Ohru T, Kuwano K, Yamaya M. An inhibitor of HMG-CoA reductase, pitavastatin, inhibits rhinovirus infection in human tracheal epithelial cells. American Thoracic Society 2008 International Conference. Toronto. May 16-21, 2008.
 2. Yamaya M, **Nakayama K**, Asada M, Yoshida M, Asamura T, Kubo H, Nishimura H, Carbocisteine inhibits infection of type A influenza virus and respiratory syncytial virus in human airway epithelial cells. American Thoracic Society 2008 International Conference. Toronto. May 16-21, 2008.
 3. Sasaki T, **Nakayama K**, Yasuda H, Yoshida M, Inoue D, Yamaya M. A proton pump inhibitor, lansoprazole, reduces frequency of exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). American Thoracic Society 2008 International Conference. Toronto. May 16-21, 2008. This abstract was honored as a Travel Award.
 4. Yoshida M, **Nakayama K**, Yasuda H, Asada M, Asamura T, Sasaki T, Yamanda S, Ohru T, Kuwano K, Yamaya M. Carbocisteine, a mucolytic drug, induces phosphorylation of Akt, inhibits activation of caspase, and prevents apoptosis induced by oxidative stress in human tracheal epithelial cells. American Thoracic Society 2008 International Conference. Toronto. May 16-21, 2008.

5. **中山勝敏**. COPDにおける炎症と遺伝リスクの臨床評価指標としてのHO-1/CO経路の重要性 第17回Pneumo Forum. 於:東京経団連会館、2008年11月15日、本発表においてPneumo Forum賞受賞
6. **中山勝敏**、佐々木陽彦、安田浩康、吉田元樹、荒屋潤、桑野和善、山谷睦雄. プロトンポンプ阻害薬による慢性閉塞性肺疾患増悪の抑制 第77回閉塞性肺疾患研究会. 於:東京ステーションコンファレンス 5F、2008年7月19日
7. 吉田元樹、**中山勝敏**、安田浩康、浅田成紀、浅村孝昭、佐々木陽彦、矢満田慎介、大類孝、桑野和善、山谷睦雄. カルボシステインはAktリン酸化を介してカスパーゼの活性化を抑え、酸化ストレスによるヒト気道上皮細胞のアポトーシスを抑制する 第48回日本呼吸器医学会学術講演会. 於:神戸コンベンションセンター、2008年6月15-17日
8. 荒屋潤、北村英也、皆川俊介、**中山勝敏**、野元吉二、桑野和善. 気道リモデリングにおける扁平上皮化生の役割 第48回日本呼吸器医学会学術講演会. 於:神戸コンベンションセンター、2008年6月15-17日
9. 吉田元樹、**中山勝敏**、安田浩康、浅田成紀、浅村孝昭、佐々木陽彦、矢満田慎介、大類孝、桑野和善、山谷睦雄. L-カルボシステインはAktリン酸化を介してカスパーゼの活性を抑え、酸化ストレスによるヒト気道上皮のアポトーシスを抑制する 第76回閉塞性肺疾患研究会. 於:東京ステーションコンファレンス 5F、2008年1月12日
10. **中山勝敏**、浅村孝昭、佐々木陽彦、吉田元樹、安田浩康、浅田成紀、大類孝、荒屋潤、桑野和善、山谷睦雄. 培養気道上皮へのライノウイルス感染に対するピタバスタチンの抑制効果 第48回日本呼吸器医学会学術講演会. 於:神戸コンベンションセンター、2008年6月15-17日
11. 吉田元樹、安田浩康、**中山勝敏**、佐々木陽彦、山谷睦雄. 培養肺癌細胞株におけるカルボシステインの抗アポトーシス効果 第49回日本老年医学会学術集会. 於:ロイトン札幌、2007年6月20-22日
12. **中山勝敏**、吉田元樹、佐々木陽彦、安田浩康、山谷睦雄. 培養気道上皮へのライノウイルス感染に対する補中益気湯の抑制効果 第49回日本老年医学会学術集会. 於:ロイトン札幌、2007年6月20-22日
13. 佐々木陽彦、山谷睦雄、**中山勝敏**、安田浩康、井上大輔、吉田元樹、荒井啓行. 培養ヒト気道上皮細胞におけるライノウイルス感染に対するランソプラゾールの効果 第8回炎症とPPI研究会. 於:京都ホテルオークラ 4F暁雲の間、2007年8月25日
- [図書] (計 1件)
1. **中山勝敏**、齊藤桂介、桑野和善 I 感染症呼吸器疾患 高齢者肺炎 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.8 呼吸器症候群 (第2版) I. 査読(一) 298-301頁 2008年
- [産業財産権]
- 出願状況 (計 0件)
なし
- 取得状況 (計 0件)
なし
- [その他]
- 研究会招待講演 (計 2件)
1. **中山勝敏**. COPD急性増悪に対する予防戦略 第1回みなと呼吸器疾患研究会. 於:ホテルパシフィック東京 1F桔梗、2008年1月19日
2. **中山勝敏**. 誤嚥性肺炎の機序とその予防 第1回呼吸器臨床フォーラム. 於:東京プリンスホテル 3F紅梅、2007年10月5日
6. 研究組織
- (1)研究代表者
中山勝敏
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授
研究者番号:40321989
- (2)研究分担者
なし
- (3)連携研究者
なし