

機関番号：14301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590921

研究課題名 (和文) 睡眠時無呼吸の間歇的及び持続的低酸素が血小板凝集能及び脂肪細胞に与える影響の検討

研究課題名 (英文) Effects of obstructive sleep apnea with intermittent and sustained hypoxia on platelet aggregability and adipocyte.

研究代表者

陳 和夫 (CHIN KAZUO)

京都大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90197640

研究成果の概要 (和文)：中・重症の閉塞型睡眠時無呼吸(obstructive sleep apnea:OSA)患者では血小板凝集能は亢進しており、心血管障害危険因子保持患者では OSA を伴うことによって血小板凝集能が亢進することが明らかになった。90 日間の持続気道陽圧療法は血小板凝集能を改善した。また、我々が開発した機器により、OSA 類似の間欠的低酸素は HeLa 細胞に TNF- α を誘導し、持続的低酸素は HIF-1 を誘導した。

研究成果の概要 (英文)：We showed that platelet aggregability was increased in patients with moderate-to-severe obstructive sleep apnea (OSA) partly through an intermittent hypoxia and reoxygenation phenomenon, which is pathophysiologically characteristic of OSA. As the effects of the severity of OSA on platelet aggregability were stronger in patients with vascular risk factors, the co-existence of OSA should be examined for the treatment of patients with multiple risk factors. Continuous therapy with continuous positive airway pressure (CPAP) improved platelet aggregability at 90 days. Thus, one of the reasons for the increase in cardiovascular events in OSA could be increased platelet aggregability. Under the hypoxic conditions which were induced by our machine, intermittent hypoxia induced TNF- α , and sustained hypoxia induced hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) in HeLa cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：(1)閉塞型睡眠時無呼吸 (2)血小板凝集能 (3)持続的低酸素
(4)間欠的低酸素 (5)心血管障害

1. 研究開始当初の背景

睡眠時無呼吸の頻度は高く、成人の約 20% は睡眠 1 時間当たり 5 回以上の睡眠時無呼吸・低呼吸を呈しているとされる。睡眠時無

呼吸は 2003 年に米国で高血圧の原因の 1 つと同定され、重症患者を放置すると脳・心血管障害の死亡率が約 3 倍になると報告されている。睡眠時無呼吸により覚醒中も交感神経

系は活動亢進を起こし、睡眠時無呼吸に伴う低酸素・低酸素からの回復 (intermittent hypoxia and reoxygenation: IHR)は組織に虚血・再環流と同様な影響を与え、oxidative stress として転写因子である NF- κ B を介して TNF- α 、炎症性サイトカイン、接着分子などを誘導し、持続する低酸素 (sustained hypoxia) は hypoxia-inducible factor-1(HIF-1)を誘導し VEGF などの産生を増加させる事などが明らかになり、分子生物学的研究領域へと進展しつつある。TNF- α は眠気関連物質としても注目を集めている。NIH(2004年),EU(2007年)では睡眠呼吸障害の研究領域が高血圧、血管障害、過凝固、血栓、冠動脈疾患、心不全、不整脈、インスリン抵抗性、II型糖尿病、脂質代謝・脂肪肝(NASHを含む)にわたり、これらの病態の解明のため酸化ストレスに関連した全身炎症の分子生物学的解析、動物実験による IHR を介する交感神経過緊張、血管内皮障害病態の解明の必要性を強調している。また、一方、心血管障害の発症にメタボリックシンドローム (metabolic syndrome:MS)の重要性が社会的に注目されているが、MS の必須項目には腹部内臓脂肪量に着目した腹囲が入っている。脂肪細胞は各種のサイトカイン、ホルモンを分泌する、内分泌器官としても認識されているが、脂肪細胞由来のレプチンをはじめとするアディポカインは肥満患者の血小板凝集能を高めることが報告されている。

申請者らはかねてより閉塞型睡眠時無呼吸と凝固系⁹、内臓脂肪とアディポカイン^{11,12}、酸化ストレスに注目して研究を行ってきた。今回、未だ報告が少ない血小板凝集能と閉塞型睡眠時無呼吸 (obstructive sleep apnea:OSA) の関連を検討したところ、preliminary ながらも OSA 患者の血小板凝集能は夜間の1時間当たりの3%酸素飽和度低下の頻度(IHR と同等)と有意に関連していた。OSA と血小板活性化度に関する研究は現状までに5-6編みられるが、刺激が変わった時の凝集のおこりやすさ、すなわち凝集能に関連した報告は数報告のみであった。また、その報告も比濁法での検討がほとんどで(しかも重症 OSA は20例未満で評価は一定していない)、全血凝集法(実際の血管内での状況に近い screen filtration pressure method)での報告はみられていなかった。申請者らは血小板凝集能の一つの指標である screen filtration pressure method 法を用いているが、濃度を変えた4つの濃度でのコラーゲンやADP等の刺激による凝集度を測定し、50%の凝集度となる刺激剤の濃度を血小板凝集の指標としていた。OSA に対する従来の方法では1濃度のみでの測定であり、その場合、

MSなどで中性脂肪のため血漿が混濁している場合は、正確な血小板凝集能を測定することは難しかった。

2. 研究の目的

閉塞型睡眠時無呼吸(OSA)による間歇的低酸素または持続的低酸素は血小板凝集能に影響を与え、血小板凝集能に影響を与える因子が睡眠時無呼吸由来と同様な IHR、および IHR により放出される脂肪細胞由来のアディポカインの可能性があると仮説を立てた。

本研究では上記仮説の検証のため、臨床的には OSA と血小板凝集能の関連を明らかにして、さらに、経鼻持続陽圧療法 (continuous positive airway pressure:CPAP) が OSA 患者の血小板凝集能に如何なる影響を与えるかを明らかにすることであった。さらに我々が保持している低酸素曝露装置を用いて、各種細胞、血小板に間歇的低酸素または持続的低酸素を曝露させ、間欠的、持続的低酸素が細胞、血小板に与える影響を検討することも目的であった。

3. 研究の方法

臨床的研究と基礎的研究が行われた。

臨床的検討：対象症例は京都大学医学部附属病院呼吸器内科受診通院中の睡眠時無呼吸症候群(疑い含む)とした。治療前、CPAP 治療後に睡眠中の各種パラメーターの測定と血小板凝集能(下記参照)を測定する。血小板凝集能は治療前、治療3-4日後、1ヶ月後、3ヶ月後に測定した。閉塞型睡眠時無呼吸(OSA)の程度によりコントロール群から重症群まで分類した。

基礎的検討：二つの酸素濃度(各種酸素濃度に変動可能)をもつ液体を作成可能な低酸素曝露装置(科研費、課題番号18603003にて作成)を利用して、

- 1) 種々の間欠的低酸素環境を作成する。
- 2) 各種細胞、血小板に種々の頻度の低酸素を曝露して、その影響を検討する。

4. 研究成果

連続124人の閉塞型睡眠時無呼吸または健康人に夜間の酸素飽和度を測定して、喫煙、高血圧、糖尿病、高脂血症の心血管疾患危険因子のある59人の閉塞型睡眠時無呼吸患者の多変量解析ではODI3が血小板凝集能への有意な寄与因子($p < 0.01$)であり、SpO2 90%以下時間は有意な因子ではなかった。以上の結果から中・重症の閉塞型睡眠時無呼吸患者では血小板凝集能は亢進しており、心血管障害危険因子保持患者ではOSAを伴うことによって血小板凝集能が亢進することが明らか

かになった。その結果を Oga T, Chin K, Horiuchi H et al Effects of obstructive sleep apnea with intermittent hypoxia on platelet aggregability. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2009;16:862-9 として報告した。また、血小板凝集能にも影響を与えうるメタボリックシンドロームと閉塞型睡眠時無呼吸の関連についても、Chin K, Oga T, et al. Associations between obstructive sleep apnea, metabolic syndrome and sleep duration, as measured with an actigraph, in an urban male working population in Japan. *Sleep* 2010; 33:89-95.として報告した。基礎的検討では細胞に間欠的低酸素を暴露する実験を行い、培養細胞において持続的低酸素において Hypoxic inducible factor-1 (HIF-1)が誘導され、間欠的低酸素においては TNF- α が誘導されることを確認し、平成22年日本呼吸器病学会シンポジウムにて発表した。日本呼吸器病学会、麻酔学会、睡眠学会、呼吸療法学会、及び3つの国際学会で本研究関連の発表を行った。

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15件)

- 1) Harada Y, Oga T, Chin K, Takegami M, Takahashi K, Sumi K, Nakamura T, Nakayama-Ashida Y, Minami I, Horita S, Oka Y, Wakamura T, Fukuhara S, Mishima M, Kadotani H. Effects of the presence of hypertension on the relationship between obstructive sleep apnoea and sleepiness. *Journal of Sleep Research* in press. 査読有
- 2) Chihara Y, Egawa H, Tsuboi T, Oga T, Handa T, Yamamoto K, Mishima M Tanaka K, Uemoto S, Chin K. Immediate noninvasive ventilation may improve mortality in patients with hepatopulmonary syndrome after liver transplantation. *Liver Transplantation* 2011; 17:144-148. 査読有
- 3) Aihara K, Chin K, Oga T, Takahashi K, Hitomi T, Takegami M, Handa T, Niimi A, Tsuboi T, Mishima M. Long-term nasal continuous positive airway pressure treatment lowers blood pressure in patients with obstructive sleep apnea regardless of age. *Hypertension Research* 2010;33:1025-1031. 査読有
- 4) Chin K, Oga T, Takahashi K, Takegami M, Nakayama-Ashida Y, Wakamura T, Sumi K, Nakamura T, Horita S, Oka Y, Minami I, Fukuhara S, Kadotani H. Associations between obstructive sleep apnea, metabolic syndrome and sleep duration, as measured

with an actigraph, in an urban male working population in Japan. *Sleep* 2010; 33:89-95. 査読有

- 5) Oga T, Chin K, Tabuchi A, Sumi K, Takahashi K, Handa T, Takahashi K, Taniguchi R, Kondo H, Kawato M, Morimoto T, Mishima M, Kita T, Horiuchi H. Effects of obstructive sleep apnea with intermittent hypoxia on platelet aggregability. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2009;16:862-869. 査読有
- 6) Takahashi K, Chin K, Akamizu T, Morita S, Sumi K, Oga T, Matsumoto H, Niimi A, Tsuboi T, Fukuhara S, Kangawa K, Mishima M. Acylated ghrelin level in patients with obstructive sleep apnoea before and after nasal CPAP treatment. *Respirology* 2008; 13:810-816. 査読有
- 7) Takahashi K, Chin K, Nakamura H, Morita S, Sumi K, Oga T, Matsumoto H, Niimi A, Fukuhara S, Yodoi J, Mishima M. Plasma thioredoxin, a novel oxidative stress marker, in patients with obstructive sleep apnea before and after nasal continuous positive airway pressure. *Antioxidants & Redox Signaling* 2008; 10:715-726. 査読有

[学会発表] (計15件)

- 1) 陳 和夫、睡眠呼吸障害、第20回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会学術集会、教育講演12. 2010年10月2日、長崎ブリックホール(長崎)
- 2) 陳 和夫、睡眠呼吸障害と循環器疾患及びその関連病態、日本睡眠学会第35回定期学術集会ランチョンセミナー5、2010年7月1日、名古屋国際会議場(名古屋)
- 3) 陳 和夫、睡眠呼吸障害の頻度、病態生理および合併症、第55回日本透析医学会学術集会・総会「よくわかる透析科学2 透析患者の見過ごしやすいい合併症1.」、2010年6月18日、神戸ポートピアホテル(神戸)
- 4) 陳 和夫、睡眠呼吸障害と呼吸・循環生理、日本麻酔科学会第56回学術集会:招待講演17、2009年8月18日、神戸ポートピアホテル(神戸)
- 5) Chin K、 Association between obstructive sleep apnea, metabolic syndrome and sleep duration with an actigraph in an urban male working population. THE XIth OXFORD CONFERENCE ON MODELING AND CONTROL OF BREATHING-NEW FRONTIERS IN RESPIRATORY CONTROL: Session 9. Sleep apnea. 2009年7月26日、Nara Prefectural New Public Hall(奈良)
- 6) 陳 和夫、中枢性睡眠時無呼吸症候群の病態と新規ストラテジー、第30回生涯教

育講演会(呼吸器セミナー)、日本呼吸器学会、2009年7月25日、名古屋国際会議場(名古屋)

- 7) 陳 和夫、睡眠呼吸障害と呼吸管理、第31回日本呼吸療法学会学術総会、2009年7月10日、天童ホテル(山形)
- 8) Chin K, Obstructive sleep apnea and metabolic syndrome. APSC-JCS Joint Session: Sleep disordered breathing and cardiovascular disease. 17th Asian Pacific Congress of Cardiology. 2009年5月22日、International Conference Hall(京都)
- 9) Chin K, Sleep-disordered breathing in Japan: Symposium Sleep-disordered breathing in Asia and elsewhere-Diagnosis and treatment. 13th Congress of The Asian Pacific Society of Respirology. 2008年11月21日 Bangkok, Thailand.
- 10) 陳 和夫、NPPV(非侵襲的陽圧換気療法)ガイドライン。呼吸管理・睡眠時無呼吸ガイドライン、第48回日本呼吸器学会、2008年6月16日、神戸ポートピアホテル(神戸)

[図書](計4件)

- 1) 陳 和夫、名古屋大学出版会、基礎からの睡眠医学、「生活習慣病:各種疾患と睡眠障害」、2010年、456のうちの365-372
- 2) 陳 和夫、診断と治療社、睡眠呼吸障害(SDB)を見逃さないために、「SDB発症の病態生理」2010年、252頁のうちの21-26
- 3) 陳 和夫、日本臨牀社、日本臨牀68巻増刊号2(肥満症第2版)「睡眠時無呼吸症候群・肥満低換気症候群」、2010年、776頁のうちの398-403
- 4) 陳 和夫、朝倉書店、睡眠学:日本睡眠学会編、「肥満と生活習慣病」2008年、735頁のうちの473-477

○出願状況(計0件)

○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) 研究代表者

陳 和夫 (CHIN KAZUO)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 90197640

(2) 研究分担者

小賀 徹 (OGA TORU)
京都大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 90378670

堀内 久徳 (HORIUCHI HISANORI)
東北大学・加齢研究所・教授
研究者番号: 90291426

