

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591123

研究課題名(和文)心肺連関を基盤とする慢性閉塞性肺疾患の包括的治療戦略の確立

研究課題名(英文) Establishment of the comprehensive medical treatment strategy of chronic obstructive pulmonary disease based on the concept of cardio-pulmonary connection

研究代表者

金澤 博 (KANAZAWA, HIROSHI)

大阪市立大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90332957

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：COPD患者の肺の生理機能及び右心・左心機能を包括的に評価し、心肺連関という概念の論理性を確立するとともに、心肺連関の病態を鋭敏かつ非侵襲的に評価可能なバイオマーカーを同定した。さらには、我々がこれまで注目してきたCOPD患者の心肺循環動態を規定する候補遺伝子を網羅的に検討し、特定の候補遺伝子を決定した。そして、このような成果をもとに、COPD患者の治療戦略上に、心機能の改善を考慮した薬剤選択も導入し、末梢筋への効率的酸素運搬能に起因した運動耐容能の向上を実現化するための理論を新規に構築した。

研究成果の概要(英文)：We comprehensively examined the physiologic lung function and right and left ventricular function in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and established the rationale of the concept of cardio-pulmonary connection. Subsequently, we identified the selective biomarker which can be sensitively reflected this concept. Furthermore, we determined the candidate gene which specifies the dynamics of pulmonary circulation in patients with COPD. And the drug selection in consideration of the improvement of right and left ventricular function was introduced on medical treatment strategy based on the concept of heart-and-lung connection. We newly demonstrated the theory for realizing improvement in the exercise capacity resulting from the efficient oxygen transport ability to the peripheral muscles.

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：閉塞性肺疾患 肺血管リモデリング 左室拡張障害 肺過膨張

### 1. 研究開始当初の背景

従来 COPD の心機能に及ぼす影響に関しては、肺高血圧症に由来する右心不全に加えて、右心負荷を契機に左室機能障害を誘導するという機序が提唱されてきた。実際、我々も免疫組織学的な検討から、COPD に併存する肺血管リモデリングと肺高血圧症の重症度との有意な相関関係の存在を報告しており、肺血管リモデリングの制御は、COPD 患者の心機能改善に対する有効な治療戦略の一つになりうる可能性を報告してきた (Kanazawa H, et al. Am J Respir Crit Care Med 2000, Kanazawa H, et al. Chest 2002, Kanazawa H, et al. Thorax 2003)。しかしながら、COPD 患者の詳細な心肺循環動態の機能解析の結果から、肺高血圧症から右心負荷への経路のみでは説明できない左室機能障害の存在の可能性を示唆する知見を得ている。さらに興味深いことに、肺の過膨張が直接左室拡張障害を誘導しうる可能性を明らかにした報告がなされ (Barr RG, et al. N Engl J Med 2010)、我々の仮説の妥当性が支持されつつある。

### 2. 研究の目的

COPD 患者の肺の生理機能及び右心・左心機能を包括的に評価し、心肺連関という概念の論理性を確立するとともに、心肺連関の病態を鋭敏かつ非侵襲的に評価可能なバイオマーカーの探索に努める。さらには、我々がこれまで注目してきた COPD 患者の心肺循環動態を規定する候補遺伝子を網羅的に検討する。特に、COPD に併存する左室拡張障害の成立・進展を規定する候補遺伝子の確立は、予防的薬物療法を必要とする患者群の抽出に極めて有用な知見となりうるものと思われる。そして、このような成果をもとに、COPD 患者の治療戦略上に、心機能の改善を考慮した薬剤選択も導入し、さらには末梢筋への効率的酸素運搬能に起因した運動耐容能の向上を実現化するための理論構築を推進する。このように COPD 患者の右心・左心機能低下に及ぼす肺の構造的・機能的障害の原因を、細胞生物学、モデル動物実験、患者対象研究、薬剤による介入試験を通して明らかにし、COPD における“心肺連関”という基本概念の確立とその臨床への応用を通して、斬新な治療戦略を構築することを目的とする。

### 3. 研究の方法

我々の施設が多くのデータを集積してきた右心カテーテル挿入下運動負荷法、肺の上皮被覆液の検体採取法としてのマイクロサンプリング法、摘出肺の免疫組織学的手法、細胞生化学実験やモデル動物を用いた成長因子の機能解析法等を実施する。さらに、心肺連関を基盤とした治療モデルの実践が、個々の患者の末梢筋への酸素運搬能や酸素利用効率の向上に寄与していることの評価のた

めに近赤外線分光器を用いた末梢循環レベルでの循環動態についても検討する。

#### (1) COPD における肺血管リモデリング強度の非侵襲的評価法の確立

組織学的に評価した肺血管リモデリングの程度を手術摘出肺を用いて定量化し、このリモデリングの強度と肺組織に発現する growth factor との相関関係を明らかにする。我々は、既に血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor; VEGF) の肺血管内膜での発現量が、肺血管リモデリングの強度を鋭敏に反映していることを明らかにしている。さらに、この血管内膜上での発現量は、末梢気道上皮細胞での同因子の発現量と極めて高い相関関係を有しており、経気道的な検索から肺血管リモデリングの程度を推測できる可能性も示した (Kanazawa H, et al. Respir Res 2007)。そこで、今回 COPD 患者に対して、我々の施設が考案した中枢・末梢気道から各々個別に気道上皮被覆液を採取するマクロサンプリング法を用いて、検体中の growth factor を網羅的に探索する。同時に、右心カテーテル挿入下の運動負荷試験を施行し、運動に伴う肺循環動態から見た肺高血圧の程度を、最も鋭敏に反映するバイオマーカーを決定する。さらに、ヒト肺血管内皮細胞を用いて、各種 growth factor によって刺激した際の増殖活性を測定し、患者対象研究から選別したバイオマーカーのスクリーニング結果との整合性を図る。また、肺高血圧症のモデルマウスを用いて、アンジオテンシン受容体阻害薬、PPAR $\gamma$  刺激薬、スタチン等の投与が及ぼす growth factor の発現量の変化、growth factor の阻害薬投与実験による肺血管リモデリングの退縮効果についても検討を加え、COPD 患者を対象とした肺血管リモデリングの進展予防に対する効果が有望視される薬剤を決定する。

#### (2) COPD における左室拡張障害の評価とその臨床的意義についての検討

左室拡張障害については、安静時での評価と運動時での評価に分けて行う。安静時での左室拡張障害の評価は、主に心臓超音波検査、MRI 検査にて行う。しかしながら、COPD では、運動時に肺過膨張が増強し、左室拡張障害が顕在化するものと考えられ、右心カテーテル挿入下運動負荷試験にて経時的な心行動態を測定し、右心不全とは独立した左室拡張障害を定量的に評価し、合わせて ANP, BNP, エンドセリン等の心血管作動物質のバイオマーカーとしての可能性を検討する。また、COPD の重症度と左室拡張障害との関連性を評価するのみならず、左室拡張障害の成立・進展を規定する可能性のある遺伝子を網羅的に検索し、ハイリスクグループの抽出に努める。

#### (3) 気管支拡張薬投与による左室拡張障害の改善効果

吸入抗コリン薬、 $\beta_2$  刺激薬の投与前後における運動時の肺過膨張低下率と左室拡張障害

の改善度を比較検討し、肺過膨張軽減の左室拡張障害に及ぼす臨床的意義を明らかにする。この際に、侵襲的な右心カテーテル検査を複数回繰り返す必要性を回避するために、連続的呼気ガス分析から得られた  $VO_2/HR$  ( $O_2$  pulse;  $SV \times [CaO_2 - CvO_2]$ ) の左室拡張障害の生理学的指標としての有用性を実測した一回心拍出量との比較により明らかにし、左室拡張障害を反映する生理学的指標としての意義を明確化する。また、COPD 患者の併存症としての心血管疾患には、左室機能障害以外にも、血管弾性能の低下が重要視されている。そこで血管弾性能の低下を誘導し、増悪させる因子についても検討を加える。近年、心筋組織や血管壁内の間質構造に蓄積することで、心臓・血管の弾性能を喪失させる因子の存在が明らかにされており、我々も当因子の COPD 患者での生体内過剰状態を確認している。この因子の組織への過剰集積が血管弾性能の低下、ひいては左室拡張能障害の進展を誘導するとの仮説を実証し、当因子の測定を速やかに臨床応用へと導いてゆく。

(4) 肺血管リモデリング・左室拡張障害の進展予防薬の検討

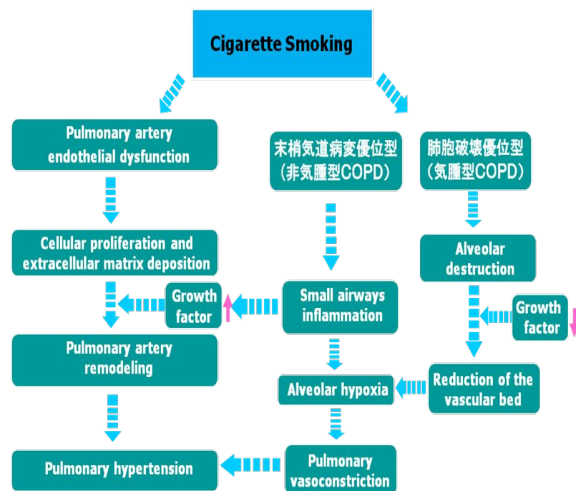
有望視される薬剤における臨床試験を進める。心肺機能の相互的な機能障害は、末梢骨格筋への酸素運搬能障害として総合的に評価される。その際の評価項目に、従来用いられてきた動脈血中乳酸値、混合静脈血酸素濃度以外に、今回の研究にて有用性を明らかにしたバイオマーカーや左室拡張障害を反映する生理学的指標に合わせて、近赤外線分光器 (near-infrared spectroscopy; NIRS) を用いて、非侵襲的に末梢循環系から見た末梢筋への酸素運搬能を評価し、心肺連関に基づいた治療成果を客観的に評価する。

#### 4. 研究成果

(1) COPD における肺高血圧症の成因・進展に関するバイオマーカー

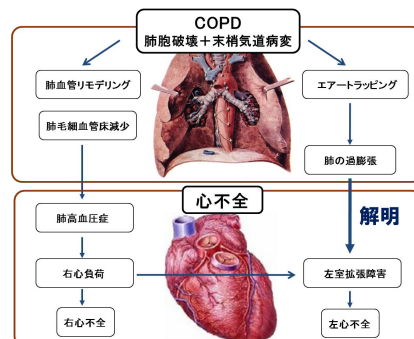
我々が独自に開発した右心カテーテル挿入下運動負荷試験法を用いて定量化した肺血管リモデリングの強度が、組織学的に評価した指標と極めて強い相関関係を有するという知見を明らかにした。さらに、この知見を発展させて、肺血管リモデリング強度を鋭敏に反映する非侵襲的バイオマーカーを同定することに成功した。我々は、COPD フェノタイプ (非気腫型・気腫型 COPD) により、各種 growth factor に対する肺血管リモデリングの動態が異なることを明らかにした。このように COPD をフェノタイプに分類し、その病態生理学的特徴を明らかにすることは、現在の世界レベルでの呼吸器病学領域の最も注目されている研究課題の一つである。このような点からも、今回の研究結果をもとに COPD フェノタイプの相違による肺血管リモデリングの病態メカニズムの顕著な差異を示したことの臨床的意義は大きく、その臨床面への応用への可能性を切り開くもので

ある。



(2) 肺過膨張に起因する左室拡張障害

左室拡張機能を心臓超音波・MRI 検査等を用いて定量的に評価し、COPD の解剖学的・生理学的指標との相関関係を明らかにした。さらに、右心カテーテル挿入下運動負荷試験を施行し、経時的な肺循環動態と左心機能の連続測定を通して、運動中の右心・左心系の機能障害発現の時間経過を明らかにし、右心負荷に依存しない左心系の機能障害の存在を明確なものとし、さらに左心循環動態のバイオマーカーとしての候補物質と左室拡張障害を規定する候補遺伝子を決定した。



(3) 末梢骨格筋への酸素運搬能の効率化

COPD 患者の血管弾性能の低下・左室拡張障害に対する有効な治療薬および予防薬を、細胞生化学的実験・モデル動物を用いた検討より明らかにした。我々は、COPD 患者の運動負荷試験時における、微小循環系及び末梢筋への酸素運搬能を経時的・定量的に評価する複数の方法を既に確立しており、これらの手法を応用して心肺連関の観点から見た画期的な治療戦略を確立した。

さらに、心肺連関から見た末梢骨格筋への酸素運搬能の効率化戦略として、COPD 患者の血管弾性能の低下・左室拡張障害に対する有効な治療薬および予防薬を、細胞生化学的実験・モデル動物を用いた検討より明らかにし、その成果を臨床試験へと発展させた。COPD 患者の管理の中で、“心肺連関”という概念をもとに肺の生理機能及び右心・左心機能の包括的評価を推進し、有効な治療モデルを構

築してゆくという研究は、世界的にも皆無である。特に、肺血管リモデリングの程度を非侵襲的に評価する手法は全く報告がなく、我々の成果が臨床的に応用されれば、COPD患者の管理において画期的な進歩を促し、その臨床的有用性は極めて高いと考えられる。また、左室拡張障害・血管弾性能の喪失やその進展予防に関する評価・治療法の確立は、COPD患者の死因の約3割を占めると言われている心血管疾患死の減少に寄与するところは大きいと思われる。心肺機能の精度の高い評価法として、運動負荷検査は必須であると広く認識されているものの、その検査にかかる多大な労力と経験・必要とされる高価な設備のために、実施可能な施設は国内外において極めて限定されているという現状を考慮すると、今回の研究の独創性・独自性および、研究成果の信頼性と有用性は極めて大きいものと思われる。

#### 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)

Kanazawa H, Tochino Y, Asai K, Hirata K. Simultaneous assessment of HGF and VEGF in epithelial lining fluid from patients with COPD. Chest (in press). 査読有

Yoshikawa T, Kanazawa H. Clinical application of epistatic analysis to asthma research. Med Sci Monit 2014;20:64-71. 査読有

Kanazawa H, Kyoh S, Tochino Y, Asai K, Hirata K. Potential role of pentosidine on susceptibility to small airway closure in elderly and smoking asthma. Respir Med 2014;108:709-715. 査読有

Yoshikawa T, Kanazawa H. Cellular signaling crosstalk between multiple receptors for investigation of pathophysiology in multifactorial diseases. What is clinically-relevant cross-talk? Curr Med Chem 2013; 20: 1091-1102. 査読有

Yoshikawa T, Kanazawa H. Integrated effect of EGFR and PAR-1 signaling crosstalk on airway hyperresponsiveness. Int J Mol Med 2012; 30: 41-48. 査読有

Kanazawa H, Tochino Y, Asai K, Ichimaru Y, Watanabe T, Hirata K. Validity of HMGB1 measurement in epithelial lining fluid in patients with COPD. Eur J Clin Invest 2012; 42: 419-422. 査読有

Yoshikawa T, Kanazawa H. Association of plasma adiponectin levels with cellular hydration state measured by bioelectrical impedance analysis in patients with COPD. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis 2012; 7: 515-521. 査読有

Tamagaki G, Kanazawa H, Hirata K. Association of airway pentosidine levels with bronchodilator response mediated by salbutamol administration in asthmatic patients. Pulm Pharma Ther 2012; 25: 478-482. 査読有

Yoshikawa T, Kanazawa H. Phenotypic differences between asymptomatic airway hyperresponsiveness and remission of asthma. Respir Med 2011; 105: 24-30. 査読有

Watanabe T, Asai K, Fujimoto H, Tanaka H, Kanazawa H, Hirata K. Increased levels of high mobility group box 1 and endogenous secretory receptor for advanced glycation end products in induced sputum from asthmatic patients. Respir Med 2011; 105: 519-525. 査読有

Kanazawa H, Tochino Y, Ichimaru Y, Kyoh S, Asai K, Hirata K. Potential roles of pentosidine on age- and disease-related impairment of pulmonary functions in asthmatic patients. J Allergy and Clin Immunol 2011; 127: 899-904. 査読有

Kobayashi D, Tochino Y, Kanazawa H, Ichimaru Y, Kyoh S, Asai K, Hirata K. Comparison of alveolar nitric oxide concentrations using two different methods for the assessment of small airways inflammation in asthma. Respiriology 2011; 16: 862-868. 査読有

Shiratsuchi N, Asai K, Kanazawa H, Kyoh S, Tochino Y, Kodama T, Hirata K. Measurement of soluble perforin, a marker of CD8+ T lymphocyte activation in epithelial lining fluid. Respir Med 2011; 105: 1885-1890. 査読有

[学会発表](計 1 件)

Kanazawa H. Role of HMGB1 in the pathogenesis of COPD. KATRD. November 21, 2013. Seoul, Korea.

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

金澤 博 (KANAZAWA Hiroshi)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：90332957

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし