

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 23 日現在

機関番号：11101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23650427

研究課題名(和文)呼気ガス成分による健康度推定

研究課題名(英文)Estimation of health status by exhaled gas analysis

研究代表者

中路 重之(Nakaji, Shigeyuki)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10192220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：青森県一般住民(対象992名)の呼気ガスと過敏性腸症候群、好中球機能・ライフスタイルとの関連性を検討。過敏性腸症候群：女性の下痢型過敏性腸症候群の呼気中水素濃度でのみ、正常群、便秘型過敏性腸症候群、中間型過敏性腸症候群、分類不能型過敏性腸症候群と比較、有意に高値が、男女共、ルミノールで血清αソニン化活性と呼気一酸化炭素間に負相関が、女性では、ルシゲニンで血清αソニン化活性と呼気一酸化炭素濃度間に正相関、呼気中一酸化炭素濃度を従属変数、年齢、BMI、アルコール量及び運動習慣を独立変数とし解析、男女共全項目に関連性無。呼気ガスと疾病、病態、健康度、ライフスタイル間に一定の関係あり。

研究成果の概要(英文)：Following results were obtained from the investigation between exhaled gas, irritable bowel syndrome (IBS), neutrophil functions and lifestyles among 992 adults. 1. IBS group - significantly high level of exhaled hydrogen concentration was observed in females with IBS-D (IBS with diarrhea) compared with females in normal group, IBS with constipation or IBS with both diarrhea and constipation. 2. Negative correlations were observed between serum opsonic activity (Luminol-dependent chemiluminescence) and exhaled carbon monoxide in both genders. In addition, positive correlation was observed between serum opsonic activity (Lucigenin-dependent chemiluminescence) and exhaled carbon monoxide in females. 3. As for the association between exhaled carbon monoxide and age, BMI, the amount of alcohol consumption and exercise habit, no significant correlations were observed in any items. Therefore, certain relationships were found between exhaled gas and diseases, health status and lifestyle.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：呼気 水素 メタン 一酸化炭素 好中球機能 過敏性腸症候群 ライフスタイル 活性酸素

1. 研究開始当初の背景

呼吸は多くの成分より構成され、各成分濃度の健康に対する意義づけは十分に解明されていない。しかし近年、腸内細菌と酸化ストレスの健康意義につき注目が集まり、それに連関した呼吸ガスの健康意義が注目されてきた。

2. 研究の目的

青森県の一般住民を対象として、呼吸ガスと以下の疾病・病態・健康度・ライフスタイルとの関連性につき検討した。

過敏性腸症候群

好中球機能(酸化ストレス、すなわち ROS 産生能、貪食能、及び血清オプソニン化活性)

生活習慣(飲酒習慣、運動習慣、肥満度(BMI))

3. 研究の方法

1. 調査地域・対象者

研究対象は、2011年6月、青森県弘前市岩木地区において実施された岩木健康増進プロジェクトに参加した1,067人のうち、日常生活において循環器症状や呼吸器症状を有することなく、悪性腫瘍や消化管手術既往がある者、緩下剤や止瀉薬を使用している者を除外した992人(年齢20-82歳、男性382人(38.5%)、女性610人(61.5%))であった。対象者の平均年齢は、男性56.4±14.6歳、女性57.0±14.0歳であった。

岩木地区在住の20歳以上の全住民は9791人であった。

2. 測定項目

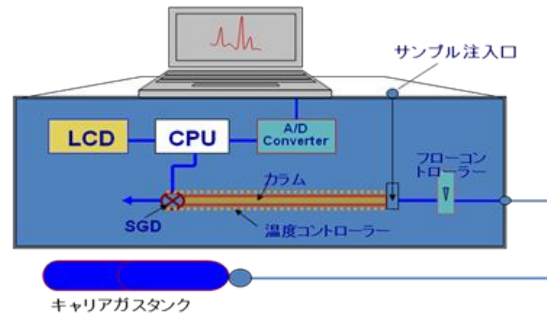
経済状態、家族構成、学歴、生活習慣(喫煙・飲酒・運動・食習慣)、肥満度(BMI、体脂肪率)、腹囲、ウエスト・ヒップ比、既往歴、家族歴、現病歴、薬物服用状況、睡眠状態、休養状況、便通・排尿状況、うつ度(CES-D)、QOL(SF36)、健康管理能力、アレルギー症状

呼吸中の6種類の成分(水素、一酸化炭素、メタン、アセトン、エチルアルコール、イソプレン)の測定(ガスクロマトグラフィーを用いる、下図参照)。呼吸ガスは、対象者を座位にさせ後、専用の呼吸採取バックを用い採取した。

その他の測定項目

体組成(マルチ周波数体組成計、MC-190, TANITA, 東京)、動脈硬化(PWV、ABI)、頸動脈エコー検査、眼底検査、心電図、肺機能、骨密度、血清元素10種、聴力、認知症(長谷川式)、好中球機能(活性酸素種産生能、貪食能、血清オプソニン化活性)、整形外科の所見

【呼吸ガス成分測定器】
Biogas Analyzer™ BAS-1000 (Gas Chromatography-SGD)



(変形性膝関節症・股関節症、後縦靭帯骨化症) 血液所見(白血球数、血色素量、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、GOT、GPT、ガンマGTP、クレアチニン、BUN、血糖、HbA1c、尿酸、免疫グロブリン、補体) 体力運動機能(ファンクショナルリーチ、握力、反復横とび、長座体前屈、上体起こし(腹筋)、立ち幅とび、自転車エルゴメーター、開眼片足立ち、長座体前屈、棒反応など)

IBS 診断

回収した質問紙の記載症状から Rome 診断基準に準拠して IBS を診断した。また、IBS の基準に当てはまる対象者を、Bristol 便形状尺度の頻度に基づいて 4 型(便秘型 IBS、下痢型 IBS、混合型 IBS、分類不能型 IBS)に分類した。

水素、一酸化炭素など 6 種類の呼吸ガス成分濃度とその他の調査・測定項目との関連性につき検討した。

4. 研究成果

1. 呼吸水素とメタン濃度と IBS との関係

男性対象者における IBS サブタイプ別の各呼吸ガス濃度を表 1 に示した。IBS 群全体およびサブタイプ別でも、呼吸水素とメタン濃度どちらも群間の差はみられなかった。

女性対象者における IBS 別の各呼吸ガス濃度を表 2 に示した。IBS 群全体では、呼吸水素とメタン濃度どちらも群間の差はみられなかった。一方、下痢型 IBS 群の呼吸水素濃度において、正常群、便秘型 IBS、中間型 IBS、分類不能型 IBS と比較して、有意に高値を示した(それぞれ $P < 0.001$ 、 $P = 0.001$ 、 $P = 0.01$ 、 $P = 0.001$)。呼吸メタン濃度では、各群間で差はみられなかった。

2. 呼吸一酸化炭素濃度と好中球関連機能の関係

男性においては、ルミノールを指標とした

血清オプソニン化活性においては P=0.017 と負の相関関係が認められた (表 3)。

女性においては、ルシゲニンを指標とした血清オプソニン化活性においては統計学的に P=0.013 と正の相関関係を認め、Im を指標とした血清オプソニン化活性においては P=0.000 と負の相関関係が認められた。ROS 産生能に関しては統計学的に優位な関連はみられなかったが、P=0.055 と優位傾向がみられ

た (表 4)。

3. 呼気一酸化炭素濃度と年齢、飲酒量、運動習慣、BMI との関係 (表 5)

呼気中一酸化炭素濃度を従属変数、年齢、BMI、アルコール量および運動習慣を独立変数として解析した結果、男女ともに全ての項目に関連性を認めなかった。

表 1 IBS タイプ別の呼気中水素とメタン濃度(男性)

IBS サブタイプ	対象者数	呼気水素濃度 (ppm)	呼気メタン濃度 (ppm)
正常	358	11.5±0.6	4.0±0.5
全 IBS	24	12.8±2.3	4.1±0.5
便秘型 IBS	4	12.8±5.6	3.5±1.8
下痢型 IBS	11	10.8±3.4	3.0±4.3
中間型 IBS	4	14.7±5.7	3.4±2.6
分類不能型 IBS	5	15.6±5.0	3.1±3.9

平均値±標準誤差

年齢、BMI、喫煙量、飲酒量で調整

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

表 2 IBS タイプ別の呼気中水素とメタン濃度(女性)

IBS サブタイプ	対象者数	呼気水素濃度(ppm)	呼気メタン濃度 (ppm)
正常	568	12.9±0.6***	4.9±0.5
全 IBS	42	14.0±2.3	3.8±1.8
便秘型 IBS	17	10.7±3.5**	6.3±2.8
下痢型 IBS	5	39.4±6.4	1.6±5.1
中間型 IBS	7	11.4±5.5*	3.2±4.4
分類不能型 IBS	13	9.6±4.0**	1.6±3.2

平均値±標準誤差

年齢、BMI、喫煙量、飲酒量で調整

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

表 3 呼気中一酸化炭素濃度と好中球関連機能との関連(男性)

	標準回帰係数	P 値	R ²
異物刺激前 ROS 産生, CFI	-0.036	0.734	0.028
貪食能, CFI	0.057	0.669	0.028
血清オプソニン化活性, PH			
ルシゲニン, 10 ⁴ photon/sec	0.085	0.401	0.034
ルミノール, 10 ⁴ photon/sec	-0.258	0.017	0.082

調整項目: 年齢、BMI、飲酒習慣、運動習慣、労働時間、好中球数

表 4 呼気中一酸化炭素濃度と好中球関連機能との関連(女性)

	標準回帰係数	P 値	R ²
異物刺激前 ROS 産生, CFI	0.088	0.055	0.010
貪食能, CFI	0.014	0.781	0.002
血清オプソニン化活性, PH			
ルシゲニン, 10 ⁴ photon/sec	0.112	0.013	0.015
ルミノール, 10 ⁴ photon/sec	-0.179	0.000	0.033

調整項目: 年齢、BMI、飲酒習慣、運動習慣、労働時間、好中球数

表 5 呼気中一酸化炭素濃度と年齢、アルコール摂取量、運動頻度、BMI との関係 (重回帰分析)

	標準回帰係数	P 値	R ²
男性			0.012
年齢	0.080	0.115	
アルコール摂取量	0.028	0.576	
運動頻度	-0.069	0.176	
BMI	-0.022	0.664	
女性			0.003
年齢	-0.001	0.977	
アルコール摂取量	-0.039	0.230	
運動頻度	-0.030	0.348	
BMI	0.027	0.403	

【考察】

1. 過敏性腸症候群について

先行研究で、発酵基質である lactulose を負荷した実験において、多くの IBS 患者で、水素呼気試験の結果が陽性を示した。このことは、小腸内細菌の異常増殖の存在を示唆し、小腸内細菌過剰繁殖 (SIBO) と IBS に関連性があることを示唆するものであった。しかし、現実には一般住民においては、通常の食事を摂取していた状態で IBS の症状を有する者と有さない者が存在している。したがって、本研究では発酵基質などの負荷がかかっていない通常の食事摂取下の一般住民の呼気ガス濃度と IBS の関連を検討した。

今回の結果では、正常群 (IBS なし) と IBS 全体群間の呼気水素とメタン濃度に男女とも有意な差はみられなかった。したがって、今回の対象者において、IBS 全体群と正常群の間には、水素やメタン産生の腸内細菌叢の構成やそれに起因する発酵状況に大きな差がなかった可能性が考えられる。

一方、IBS のサブグループ別に各呼気濃度を比較したところ、女性対象者の下痢型 IBS 群でのみ正常群や他の IBS 群と比較して、呼気水素濃度が有意に高値を示した。これはすなわち、水素産生細菌の相対的あるいは絶対的増加が女性の下痢型 IBS を惹起する可能性を示唆していた。しかし、男性の下痢型 IBS ではそのような傾向は観察されず、この相違の理由は不明である。

ここで考察されるべきことに、Rome 診断基準による IBS のサブタイプ判定の限界がある。多くの先行研究で、IBS 群をサブグループ別にみると、男性に比較し女性の下痢型 IBS の割合は圧倒的に少ない。したがって、Rome

診断基準により診断された下痢型 IBS は男女でその本質的病態に大きな差が存在する可能性がある。すなわち、女性の下痢型 IBS は男性の下痢型 IBS より、ラクターゼ欠損症、憩室炎、消化不良または吸収不良、子宮内膜症などの IBS 類似症状の原因となる器質性障

害がより多く存在する可能性が否定できない。このような下痢型 IBS の男女差が今回の呼気水素の男女差を惹起した可能性が考えられた。

本調査では、今回検討した集団を全体的に捉えると、IBS と呼気水素やメタン濃度には、明確な関連性はみとめなかった。すなわち、IBS 全体群と正常群との間に、水素やメタンを産生する腸内細菌の構成には大きな違いがなかった可能性が考えられた。

一方、女性における下痢型 IBS では、呼気水素濃度がコントロールや他の IBS 群と比較して、有意に高値であり、水素産生細菌の相対的あるいは絶対的増加が示唆された。

2. 好中球機能 (酸化ストレス) について

本研究では、酸化ストレス状態の指標である呼気中一酸化炭素濃度と好中球関連機能 (ROS (活性酸素種) 産生能、貪食能、血清オプソニン化活性) との関係について検討した。

好中球の貪食能は異物に対する反応であり、貪食した際に産生される ROS は異物の破壊に用いられる。一方、この ROS が過剰に産生された場合には酸化ストレスになることが指摘されている。しかし、本結果から、男女共に貪食能は呼気中一酸化炭素濃度と有意な関係はみられなかった。すなわち、好中球の異物反応による全身性の酸化ストレスへの影響は少ない可能性が示唆された。

安静時の好中球 ROS 産生は酸化ストレスに関与することが指摘されている。本調査では、男性の好中球 ROS 産生と呼気中一酸化炭素濃度に有意な関係はみられなかったが、女性では正の関係がある可能性が示唆された。すなわち、全身性の酸化ストレスレベルが高い女性では好中球の ROS 産生量は高く、好中球の ROS 産生が女性の酸化ストレスの亢進に寄与している可能性が推測された。

一方、好中球 ROS 産生に対する血清の影響を調査するために、2 種類の化学発光増感剤を用いて血清オプソニン化活性を測定した。生体内で好中球膜の NADPH oxidase により産生された最初の活性酸素種であるスーパーオ

キシドはその後 SOD、MPO により次亜塩素酸などのより酸化力の強い活性酸素種へ変化していく。ルシゲニンは活性酸素種の最初の産生種であるスーパーオキシド産生を主に反映し、ルミノールはスーパーオキシドから派生した次亜塩素酸など酸化力の強い活性酸素種を主に反映する。

本調査では、ルシゲニンを増感剤として用いたオプソニン化活性測定では、女性でのみ呼気中一酸化炭素一酸化炭素濃度とオプソニン化活性に有意な正の関係が認められた。すなわち、酸化ストレスレベルが高い女性では好中球のスーパーオキシドの産生量が高い可能性が示唆された。既に、好中球機能には性差があり、ROS 産生量や炎症に関係するアラキドン酸の代謝や合成は女性で高いことが報告されている。そして、その機序としては女性ホルモンの影響が指摘されている。本調査においても、好中球 ROS 産生能は男性に比べて女性で有意に高値であった。女性でのみ呼気中一酸化炭素濃度と好中球 ROS 産生能が有意な関係を示した要因として、女性ホルモンの関与があるかもしれない。

一方、ルミノールを増感剤として用いたオプソニン化活性測定では、男女共に呼気中一酸化炭素濃度とオプソニン化活性に負の関係がみられた。ルミノールを増感剤としたオプソニン化活性の低下は、好中球の産生した活性酸素種が強い酸化力をもつ活性酸素種に変化することを抑制すると考えられる。したがって、酸化ストレスが高い状態では、酸化ストレスの増悪を抑制する機構が働き、好中球による活性の高い活性酸素種産生を抑制する可能性が推測された。すなわち、生体内の酸化 - 抗酸化バランスの調整機構として、好中球機能の制御が含まれると考えられる。

女性においては、呼気中一酸化炭素濃度に対する関係がルミノールを増感剤としたオプソニン化活性とルシゲニンを増感剤としたオプソニン化活性で正反対であり、全身性の酸化ストレスと好中球活性酸素種産生が同期しても、反応活性の高い活性酸素種に変化することは抑制されていると考えられる。

3. 生活習慣（飲酒習慣、運動習慣、肥満度（BMI））について

Cheng らは、4139 人を対象に 4 年間のコホート調査を行い、心血管疾患、メタボリックシンドロームと呼気中一酸化炭素濃度の関係を検討した。その結果、呼気中一酸化炭素濃度と年齢は負の相関関係にあり、また男性は女性よりも呼気中一酸化炭素濃度が高かったと報告している。Jones らもまた、1032 人の健常者を対象として呼気中一酸化炭素濃度を検討した結果、年齢と性別による同様の違い

を報告している。この結果に関して彼らは、年代間の呼気中一酸化炭素濃度の違いには生活環境（exposure to microenvironmental CO）による外因性一酸化炭素が関与していると考察した。外因性一酸化炭素の影響とは、大気中に含まれる一酸化炭素を直接吸引することで生体内に一酸化炭素が吸収され、それを呼気中に排泄するということである。これについて Chau らは室内環境が一酸化炭素の暴露環境であると報告している。また、男女間の違いについて、Ariyoshi らの動物モデルの研究より、雄の H₂O₂ 活性が雌よりも高まっていることを報告しており、Cheng らはこの H₂O₂ 活性の男女差が原因であると考察している。その一方で、Cunnington らは男女間の違いはあるものの、それは軽微なものでありかつその原因は明らかではないと報告した。

本研究では表 1 に示したように、年齢、BMI、運動習慣およびアルコール摂取量は全て男性が女性を上回っていたため、これらの影響を共分散分析により取り除いて比較したが、有意な男女差は認められなかった。本研究の結果が、先行研究とは異なり、性差がみられなかった理由として、本研究の対象者が、農村部において一酸化炭素曝露の性差の少ない生活環境にあったため、先行研究のような比較的一酸化炭素曝露の性差の大きい対象者とは異なった結果が出た可能性がある。だとすれば、内因性一酸化炭素の産生量には本来的に性差が存在しない可能性がある。この理由は、先行研究（呼気一酸化炭素濃度の年齢差あり）と本研究結果（呼気一酸化炭素濃度の年齢差なし）の差異にも適用できるであろう。つまり、都会地域では若年者ほど一酸化炭素曝露の機会が増えると推測されるからだ。以上より、本研究にて先行研究と異なる結果が得られた要因は、一酸化炭素曝露という環境要因が取り除かれたことに起因する可能性が考えられた。

一方、生活習慣病の発症や動脈硬化の進行のメカニズムについての先行研究では、加齢や肥満などの身体的要因や飲酒、運動習慣などの生活習慣と生体内の酸化ストレスとの関連性が指摘されている。Paredi らは、実際に糖尿病患者の呼気中一酸化炭素濃度が、血糖値に応じて上昇したと報告している。彼らは、高血糖状態が酸化ストレスとなり H₂O₂ を活性化させたためと考察した。これらは、生活習慣は呼気中一酸化炭素濃度を増加させうる可能性が想定された。

しかし、これらの項目と呼気中一酸化炭素濃度との間には、有意な関連性は認められなかった。このことは、次のような可能性を示唆している。本研究の対象者の生活習慣は、ストレスが急激・短時間に引き起こされる気管支喘息や各種感染症などと異なり、酸化ス

トレスを引き起こすが、ひとつの生活習慣の酸化ストレス強度は統計学的に有意差を生むほどの大きさを持たなかった。すなわち、呼気中一酸化炭素濃度を上昇させうる程度のもものではなかったという可能性である。しかし、生活習慣病は、このような小さなストレスの長年の蓄積によって惹起される可能性があることを考慮する必要がある。加えて、いくつかの生活習慣が複合してより大きなストレスとなる可能性もある。

このような理由を考慮して、飲酒、肥満、運動の3生活習慣を各々得点化(各々の項目を50%パーセントイルで0点、1点とした)し、3項目の合計点でとの間で呼気一酸化炭素濃度を比較したところ、もっとも良好な生活習慣を有する群(3点)と劣悪な生活習慣を有する群(0点)の間に有意差はみられなかった。

ただし、統計学的解析にひっかからないような微細な男女差や個人差が、長い時間の経過によって、健康に影響を与える可能性はなお否定できない。予防医学的観点ではそこに何らかの意義が存在する可能性がある。今後、より長期間の経過を置き、多くの対象者をもちいてこれを解明する必要がある。

以上より、一般健常者において、呼気中一酸化炭素濃度には年齢や性別による違い、また生活習慣による違いは存在しない可能性が示唆された。

以上のように呼気ガスと疾病、病態、健康度、ライフスタイルとの関係が明らかになった。今後はさらに詳細な検討を行う必要がある。

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 5 件)

1. Mikami M, Takahashi I, Matsuzaka M, Danjo K, Yamai K, Inoue R, Iwane K, Umeda T, Nakaji S. The relationship between exhaled carbon monoxide and human neutrophil function in the Japanese general population. *Luminescence*. 2011;26(3):162-6.
2. Kumeta K, Danjo K, Matsuzaka M, Takahashi I, Watanabe K, Iwane K, Tsuya, R, Umeda T, Sato K, Fukuda S, Nakaji S. Prevalence of irritable bowel syndrome and its relation to lifestyle and depression quotient in a Japanese general population. *Hirosaki Med J* 2011;62:144-65.

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 岩根かほり、高橋一平、大久保礼由、梅

田孝、中路重之. 一般健常人の呼気中一酸化炭素濃度と生活習慣の関連. 第4回日本安定同位体・生体ガス医学応用学会大会. シンポジウム 生体ガス診断 その医学応用の最先端. 20121027 日本慈恵会医科大学.

2. 津谷亮佑, 梅田孝, 佐藤真樹, 瀬尾京子, 須田芳正, 宮澤真紀, 熊坂義裕, 中路重之. 呼気中一酸化炭素濃度と各種他因子の関連について. (第81回日本衛生学会、Web開催 20110323-1003)

〔図書〕(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://social.med.hirosaki-u.ac.jp/greeting.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中路 重之 (NAKAJI, Shigeyuki)
弘前大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 10192220

(2) 研究分担者

松坂 方士 (MATSUZAKA, Masashi)
弘前大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 70431434

(2) 研究分担者

檀上 和真 (DANJO, Kazuma)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 90463760