

令和元年6月17日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09593

研究課題名(和文)慢性閉塞性肺疾患における気腫多様性と治療反応性に関する分子生物学的解析

研究課題名(英文)Molecular biological analysis of emphysema heterogeneity and treatment response in patients with chronic obstructive pulmonary disease

研究代表者

水野 史朗(MIZUNO, Shiro)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：80397281

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々の気腫多様性の検討により、上-下肺野の気腫性変化とADRB2遺伝子のArg16Gly遺伝子変異の違いによって短時間作用型 β_2 刺激剤による気道可逆性が異なることを明らかとした。気腫多様性とADRB2遺伝子多型による個別化治療は β_2 刺激剤によるCOPD患者の治療反応性の予測に有用な意味を持つと想定される。しかしながら、長時間作用型 β_2 刺激剤による治療効果を気腫多様性、またADRB2遺伝子多型の違いによる検討が今後必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

COPDの治療の中心である気管支拡張剤は、気腫病変の構造的違いやCOPDのフェノタイプの違いにより気管支拡張剤の効果が異なる群が混在し、COPD患者群の病態解析には形態学的異常と遺伝的素因の両者をカテゴライズし分析する必要があると考えられる。また気管支拡張剤による気道可逆性が診断根拠の一つに用いられる気管支喘息とCOPDの合併(Asthma COPD overlap syndrome: ACOS)にも、同病態が深く関与していることが想定される。

研究成果の概要(英文)：Our data demonstrated that the emphysema distribution and heterogeneity between the upper and lower lung could affect the BDR. ADRB2 Arg16Gly genotypes in COPD patients may predict the BDR to a short-acting β_2 -agonist in patients with upper lung dominant emphysema. Individualized therapeutic strategies based on the heterogeneity of emphysema distribution and genetic analysis of ADRB2 Arg16Gly polymorphism may play a key role in the treatment of COPD with β_2 -adrenergic agonists. However, additional study to assess treatment of COPD patients classified by ADRB2 genotype with long acting β_2 -adrenergic agonists will be necessary to confirm the clinical value of the utility of measurement of EHI% and ADRB2 Arg16Gly polymorphism in the treatment of COPD patients.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：気腫多様性 気道可逆性 ADRB2遺伝子

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

1. 研究開始当初の背景

COPD はタバコ煙を主とする有害物質を長期に吸入することで生ずる慢性の肺の炎症性疾患であり、呼吸機能検査で正常に復すことのない気流閉塞を示す。COPD は肺胞の破壊により気腫性病変を来す気腫型、慢性気道炎症から気管支の狭窄を生ずる非気腫型 (末梢気道病変優位型) の二つに大別されるが、通常その呼吸機能障害は気腫性病変と末梢気道病変がさまざまな割合で混在し、複合的に影響している。気腫病変に関しても小葉中心性肺気腫、汎小葉性肺気腫、および傍隔壁型肺気腫の三つの亜分類があり、さらに呼吸機能障害の程度はその気腫性病変の肺内分布によっても影響を受けることが知られている¹。

気管支拡張剤は COPD 治療の第一選択薬である。気腫病変の存在しない気管支喘息患者では 2 刺激剤の気管支拡張効果が ADRB2 遺伝子多型により異なることが知られている²。2 刺激剤と同様に COPD の治療の第一選択薬である吸入抗コリン剤の標的受容体であるムスカリン受容体は ADRB2 との相互干渉があるとされており³、COPD 患者においても ADRB2 遺伝子多型により気管支拡張剤による治療効果が異なると予想されるが、過去の報告では COPD 患者における同遺伝子多型による効果に有意な差は認めていない⁴。これは気腫病変の構造的違いや COPD のフェノタイプの違いにより気管支拡張剤の効果が異なる群が混在し、遺伝子多型による影響が判別困難になるためと我々は類推している。つまり、COPD の呼吸機能や治療反応などの病態を単一の形態異常、遺伝子で説明することは困難であり、COPD 患者群の病態解析には形態学的異常と遺伝的素因の両者をカテゴライズし分析する必要があると考えられる。また気管支拡張剤による気道可逆性が診断根拠の一つに用いられる気管支喘息と COPD の合併 (Asthma COPD overlap syndrome: ACOS) にも、同病態が深く関与していることが想定される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者における肺気腫分布の多様性と慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者における主たる治療薬である 2 アドレナリン受容体 (ADRB2) 遺伝子多型を解析し、COPD/肺気腫患者における気管支拡張剤による治療反応に関する、形態的・遺伝的な患者特性を明らかにすること、さらに喘息合併 COPD の診断に関する肺構造的・遺伝的因子を特定することである。

3. 研究の方法

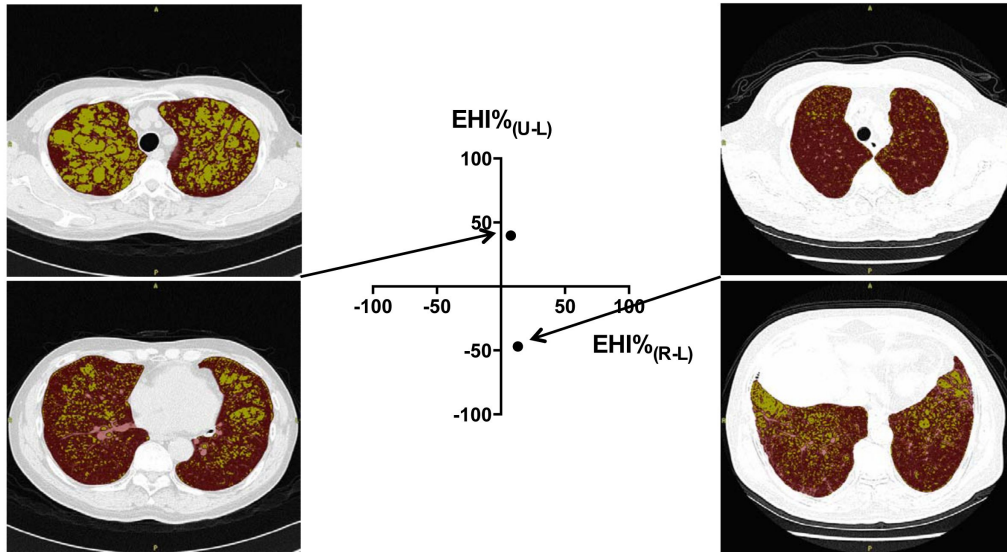
(1) 気腫分布多様性と呼吸機能障害・治療反応性との関係

金沢医科大学呼吸器内科通院中の 10 pack year 以上の喫煙歴のある 211 名の患者群の胸部 High resolution computed tomography (HRCT) 画像より、肺気腫分布 (上肺野-下肺野、右肺-左肺、肺野中心-胸膜辺縁) に対する偏りを、画像解析ソフトを用いて計算し (Emphysema heterogeneity index: EHI)、EHI と procaterol 20 µg 吸入後の一秒量の改善量 (FEV1) と改善率 (Bronchodilator response: BDR) の関連を解析することにより、気腫性病変の分布、多様性が呼吸機能に及ぼす影響を検討した。

気腫多様性に関しては、胸部 HRCT 画像の DICOM データより胸部 CT 画像解析ソフト (LungVison™ ver 2.1, Cybernet 社) を用いた画像処理により、撮影された全肺野から気腫病変の肺野に占める割合 (%Low attenuation area: %LAA) を部位別に測定し、各患者の %LAA の分布から EHI を以下の様に算定した。

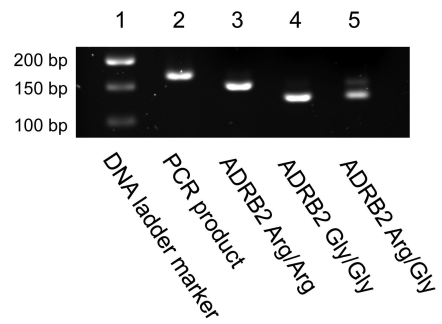
$$\text{EHI\% (upper-lower)} = \{ \%LAA(\text{上肺野}) - \%LAA(\text{下肺野}) \} / \{ \%LAA(\text{上肺野}) + \%LAA(\text{下肺野}) \} \times 100(\%)$$

$$\text{EHI\% (right-left)} = \{ \%LAA(\text{右肺}) - \%LAA(\text{左肺}) \} / \{ \%LAA(\text{右肺}) + \%LAA(\text{左肺}) \} \times 100(\%)$$
 (下図)



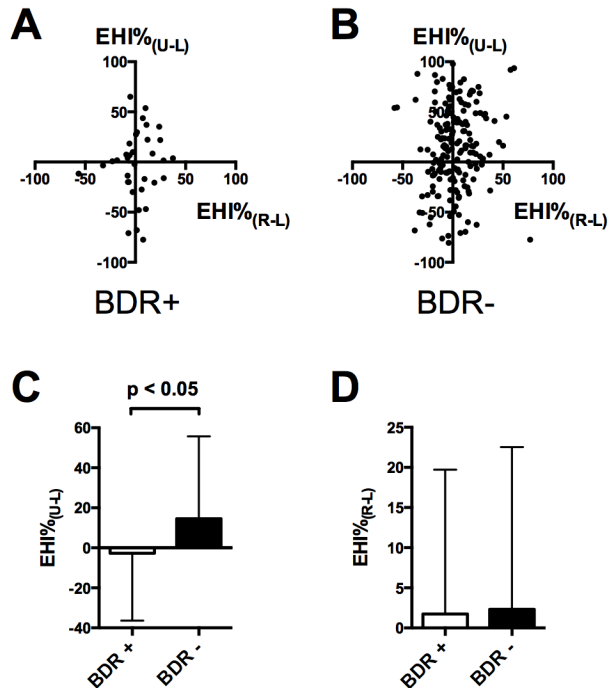
(2) ADRB2 遺伝子多型と気腫多様性との関係

同様の患者群より PAXgene DNA 採血管を用いて採取した血液検体より genomic DNA を抽出し ADRB2 遺伝子多型 (ADRB2 Arg16Gly) を PCR-RFLP 法により測定し、遺伝子多型の違いと気腫分布の多様性を比較検討し、遺伝子多型が原因と考えられる COPD のフェノタイプを上述の気腫多様性を組み合わせて検討した (右図)。

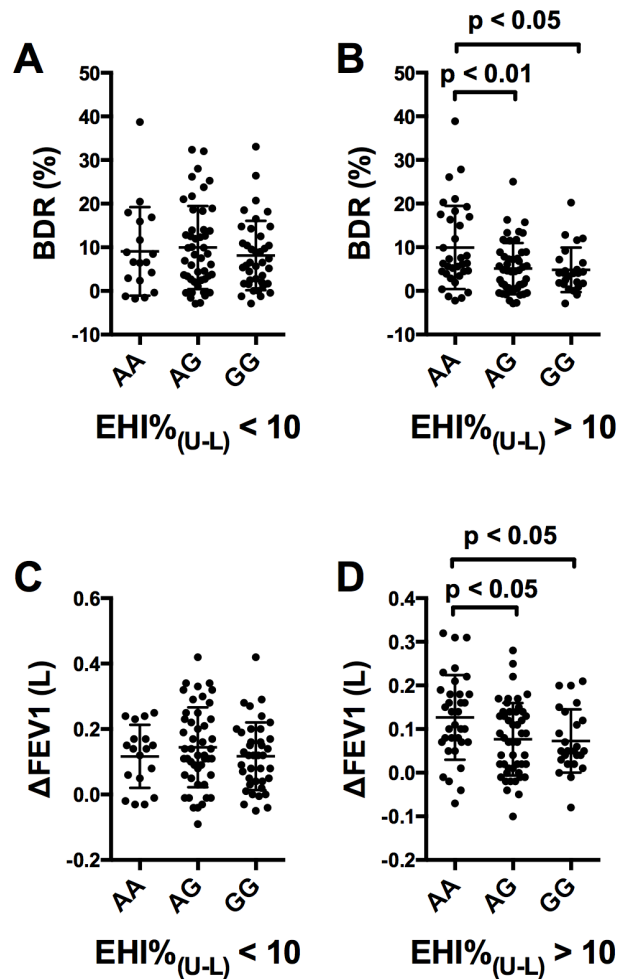


4. 研究成果

気腫多様性と気道可逆性の検討では、気道可逆性陽性群 (FEV1 \geq 200 ml かつ BDR \geq 12%) において、EHI% (upper-lower) が気道可逆性陰性群 (FEV1 < 200 ml または BDR < 12%) に比して有意に低下しており、上肺野有意の気腫病変を持つ群は procaterol による気管支拡張効果が弱いことが明らかとなった (右図)。また、気腫性病変の程度 (%LAA) と一秒量は弱い負の相関を持ち ($r = -0.17, p < 0.05$) 気道可逆性陰性群では一秒量と %LAA との間に負の相関を認めていた ($r = -0.270, p < 0.0001$)。気腫多様性の左右差 EHI% (right-left) については、前述の気道可逆性に有意な差は認めなかった。



気道可逆性陽性群と陰性群では、気腫の重症度、血清 IgE 値や末梢血好酸球分布を含む患者背景に有意な差は認められなかった。また、ADRB2 Arg16Gly 遺伝子多型群間での検討では、COPD 患者群における FEV1、BDR%とも多型間での有意な差は認めなかった。しかしながら、上述の気腫多様性を組み合わせて患者群を上肺野有意である EHI% (upper-lower)>10 と気腫分布に偏りの少ない EHI% (upper-lower) 10 群に分けて検討した場合には、ADRB2 Arg16Gly 遺伝子多型の Arg/Arg 遺伝子群が Arg/Gly、Gly/Gly 遺伝子群に比して procaterol 投与後の FEV1、BDR%いずれもが有意に高いことが判明した(右図)。



本研究の結果より、肺気腫の分布による気道可逆性に影響を与える因子を胸部 CT 画像よりある程度推定することが可能であることが明らかとなった。COPD は気道病変と気腫病変が存在し、いずれの因子も閉塞性換気障害による呼吸不全をもたらす。気腫病変の多様性は現在の CT 画像の解析から容易に測定、検討することが可能であり、治療反応性に関する予測もある程度可能と考えられる。しかしながら、本研究の気腫多様性の検討結果のみでは気道病変優位の COPD 患者群における気道可逆性の予想は困難である。気管支喘息患者や欧米で多い Cystic Fibrosis 患者では、刺激剤の気道拡張効果は ADRB2 Arg16Gly 遺伝子多型により影響を受ける事は過去の報告でも認められているが、COPD 患者では上述のように気腫病変の多様性が、遺伝子多型による気道可逆性に影響し、遺伝子多型のみでの検討では刺激剤の効果を推定することは困難であることが示唆される。しかしながら、COPD 患者においても気腫による呼吸機能の影響が比較的弱い上肺野優位の気腫を持つ群においては、ADRB2 Arg16Gly 遺伝子多型の影響が刺激剤による反応性の違いが認められることが明らかとなった。

気腫病変の多様性の検討には、上肺野-下肺野、右肺-左肺の他、肺門-辺縁部の分布が呼吸機能に影響することが報告されている。本研究では、肺門-辺縁部の分布に関する検討は CT の三次元的データ解析の困難さから現時点では行っていない。肺門部の気腫は気道周囲の支持組織の低下より、胸膜下の気腫性病変に比して閉塞性障害を発症しやすく、この形態的变化が気管支拡張剤に対する影響を受けるであろう事は容易に想定される。今後、同病変の変化による検討を追加し、さらなる COPD フェノタイプのさらなる検討を行っていきたい。

COPD 患者における気道可逆性有無は、喘息合併 COPD(ACO)の診断に重要な意味をもつ。

過去の報告では、COPD 患者群の数割が喘息を合併するとの報告が多い。しかしながら本研究で明らかとなったように、気道可逆性には気腫多様性が関与しており、好酸球性炎症である気管支喘息の因子を持たないものの、気道可逆性陽性であることより、ACO として診断される病態が存在することが示唆される。喀痰好酸球や呼気一酸化窒素濃度の測定により好酸球性炎症の存在が明らかに確認される群以外の ACO として診断される群には、気腫多様性と ADRB2 遺伝子多型の違いによる気管支拡張剤の効果が異なる群の存在を考慮する必要がある。

本研究は短時間作用性の 2 刺激剤である procaterol の気道拡張作用を検討したものである。実際の臨床では、短時間作用性 刺激剤は軽症 COPD や喘息患者の発作時の屯用として用いられる事が多く、長期間作用性 刺激剤の効果を判定し、本研究で認められた影響が実際の臨床の場で有用であるかを検討する必要がある。また、COPD で 刺激剤と同様に重要な気管支拡張剤である抗コリン剤の効果についても今後同様に ADRB2 Arg16Gly 遺伝子多型による呼吸機能改善効果が認められるかどうかの検討が必要である。

引用文献

1. Mair, G. *et al.* Computed tomographic emphysema distribution: relationship to clinical features in a cohort of smokers. *Eur. Respir. J.* 33, 536-542 (2009).
2. Bleecker, E. R. *et al.* Effect of ADRB2 polymorphisms on response to longacting beta2-agonist therapy: a pharmacogenetic analysis of two randomised studies. *Lancet* 370, 2118-2125 (2007).
3. Roux, E., Molimard, M., Savineau, J. P. & Marthan, R. Muscarinic stimulation of airway smooth muscle cells. *Gen. Pharmacol.* 31, 349-356 (1998).
4. Yelensky, R. *et al.* A pharmacogenetic study of ADRB2 polymorphisms and indacaterol response in COPD patients. *Pharmacogenomics J.* 12, 484-488 (2012).

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Nojiri M, Mizuno S, Nishiki K, Kato R, Nakagawa K, Oikawa T, Iguchi M, Osanai K, Ishizaki T, Toga H. ADRB2 gene polymorphism and emphysema heterogeneity can modulate bronchodilator response in patients with emphysema. *Pulm Pharmacol Ther.* 2018 Feb;48:80-87. doi: 10.1016/j 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

1. COPD における ADRB2 遺伝子多型と気腫性病変の分布の検討. 野尻正史, 水野史朗, 佐久間貴士, 西木一哲, 中瀬啓介, 加藤 諒, 四宮祥平, 高原 豊, 齋藤雅俊, 小島好司, 及川卓, 中川 研, 長内和弘, 梅 博久. 第 57 回日本呼吸器学会総会. 2017.
2. Effect of Emphysema Heterogeneity and ADRB2 Polymorphisms on Bronchodilator Response in Patients with COPD. Masashi Nojiri, Shiro Mizuno, Taku Oikawa, Ken Nakagawa, Kazuhiro Osanai, Takeshi Ishizaki, Hirohisa Toga, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2017;195:A5003.

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：石崎 武志

ローマ字氏名：(ISHIZAKI, Takeshi)

所属研究機関名：金沢医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：80151364

(2)研究協力者

研究協力者氏名：安齋 正樹

ローマ字氏名：(ANZAI, Masaki)

研究協力者氏名：門脇 麻衣子

ローマ字氏名：(KADOWAKI, Maiko)

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。