

平成 22 年 5 月 27 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007 ～ 2009

課題番号：19500615

研究課題名 (和文) 慢性閉塞性肺疾患患者の運動療法と酸化ストレスに関する検討

研究課題名 (英文) The study about the relationship between exercise therapy and oxidative stress in patients with COPD

研究代表者

大石 修司 (OHISHI SHUJI)

東京医科大学・医学部・教授

研究者番号：00322462

研究成果の概要 (和文)：慢性閉塞性肺疾患(COPD)患者への包括的呼吸リハビリテーション(呼吸リハ)は、呼吸機能を改善することはなかったが、COPD 患者の運動耐容能を有意に増大させた。また、今回用いた運動療法は、血清や赤血球中の主要な抗酸化酵素のいくつかを増加させ、運動によって誘発される酸化ストレスを増大させなかった。さらに、呼吸リハは、QOL を改善するだけでなく、予後指標である BODE index も改善し、予後を改善する可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：Comprehensive pulmonary rehabilitation (PR) program used in the current study significantly improved exercise performance in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). However, there was no significant change in any of respiratory function tests between pre- and post-rehabilitation. This PR also increased the concentrations or activities of some of major antioxidant enzymes in serum and red blood cells, probably leading to not adding to further exercise-induced oxidative stress. Moreover, this program improved not only quality of life (QOL) but also BODE index that is an indicator of prognosis for COPD. These results might suggest that PR improve the prognosis of patients with COPD.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	900,000	270,000	1,170,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

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：運動療法、抗酸化酵素、酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

慢性閉塞性肺疾患(COPD)は、その発症・進展に酸化ストレスが関与する全身性の炎

症性疾患であると理解されている。一方、COPD 患者に対する包括的呼吸リハビリテーション(呼吸リハ)は、HRQOL

(health-related quality of life)を改善、さらには社会活動への復帰も促進されるようになり、ガイドラインでもその重要性和有効性をもとにその実施が強く勧められている。しかしながら、運動療法は、その種類や強度によっては生体へダメージを与えることもある両刃の剣でもある。運動時の酸化ストレスの増大は主要なリスクの1つであり、生体への酸化的ダメージを引き起こすことになる。これまでの急性運動負荷や運動トレーニングと酸化ストレスに対する生体の応答 (Oh-ishi et al. *Respi Physiol* 1996, *Am J Respir Crit Care Med* 1997, *Clin Exp Pharma Physiol* 1997) や老化と運動に関する酸化的応答 (Oh-ishi et al. *Pflugers Arch* 1998; Itoh et al. *Am J Physiol* 2004, Hatao et al. *Mech Ageing Dev* 2006) といった運動、トレーニング、老化と酸化ストレスについての検討から、適切な運動トレーニングは生体の運動耐容能を改善するだけでなく、運動誘発性酸化ストレスを軽減することが示唆されていた。また、COPD患者においても骨格筋の酸化能力を高めることが運動耐容能の改善につながるがすでに示されていたが (Maltais et al. *Am J Respir Crit Care Med* 1996)、COPDに対する運動療法の効果を酸化・抗酸化バランスの面から検討した報告は十分ではないのが現状であった。

2. 研究の目的

COPDに対する呼吸リハは、運動療法を中心としたプログラムであり、呼吸機能や運動耐容能に加えて、COPD患者の運動に伴う酸化・抗酸化バランスの変動を解析・検討することにより、より効率的で酸化的ダメージの少ない適切なリハビリテーション・プログラムの確立に寄与することを目的とする。その有効性を確認するための簡便で信頼性のある指標が必要であるが、本研究では非侵襲的な効果判定の指標を確立することも目的とする。

3. 研究の方法

対象：患者群は、東京医科大学霞ヶ浦病院（現：茨城医療センター）呼吸器内科で臨床症状、呼吸機能検査、画像診断にて慢性閉塞性肺疾患と診断された患者とし、健常対照群は健康診断受診者で年齢が対象とマッチした呼吸機能上閉塞性障害のない既喫煙者とした。上記対象者は、医師による十分な説明の後、書面にてインフォームド・コンセントを得た。

方法：1 慢性閉塞性肺疾患患者および健常対照群に対して、胸部X線検査、呼吸機能検査、一般血液生化学検査を実施した。また、酸化ストレスの指標として血清および赤血球中の主要な抗酸化酵素（スーパーオキシド

ジスムターゼ：SOD，グルタチオンペルオキシダーゼ：GPX，カタラーゼ：CAT）および酸化物質（過酸化脂質，酸化タンパク（蛋白カルボニル））を測定し、酸化・抗酸化バランスを検討・評価した。

2 患者群においては、リラクゼーション、ストレッチ、呼吸法、20分歩行（6MWDの70%に歩行速度を調整）、上肢・下肢の筋力トレーニングなどからなる運動療法からなる呼吸リハを3ヶ月間実施し、開始前および終了時に酸化ストレスマーカー（血清および赤血球中の抗酸化酵素および酸化物質）を測定し検討した。同時に、その有効性を、臨床症状や身体所見、血液生化学検査、肺機能検査、画像所見、運動耐容能（6分間歩行試験、シャトルウォーク試験（SWT））から評価した。また、St. George 呼吸質問表（SGRQ）を用いて呼吸リハの自覚的評価を実施した。さらに予後指標として有用な BODE index は、体重（BMI）、対標準一秒量（%FEV1.0）、MRC 息切れスケール、および6分間歩行距離（6MWD）から構成されており、呼吸リハ前後で比較・検討した。

3 抗酸化酵素の測定および酸化ストレスの評価：各サンプルの主要な抗酸化酵素 [superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), catalase (CAT)] をそれぞれの常法により分光光学的にまたは酵素免疫法で測定する。各サンプルの過酸化脂質濃度および酸化タンパク（蛋白カルボニル量）を分光光学的にまたは酵素免疫法で測定する。

4. 研究成果

患者群は、安定期 COPD 患者で呼吸リハ・プログラムに参加した14名の男性（GOLDの分類で stage II 1名、stage III 7名、stage IV 6名）で、平均年齢は66.7歳であった。健常対照群10名との比較では、酸化ストレスマーカーのうち、血清中 TBARS は対照群 2.1nmol/ml に対し、患者群 4.8nmol/ml と有意に高く、酸化ストレスが病態に関与していることが推測された。一方、血清中の SOD アイソザイム濃度については有意な変化は観察されなかった。酸化ストレスの増大に関しては、酸化・抗酸化のバランスの問題であり、今後このバランスに関する知見の集積が必要である。

患者群における呼吸リハ前後での比較検討では、BMI および MRC 息切れスケールには有意な変化はなく、呼吸機能検査でも肺活量、努力肺活量、1秒量、対標準一秒量などのパラメーターに有意な変化は見られなかった。一方、6MWD は、平均で53m伸び、SWT でも平均44m改善し、どちらの歩行試験においても有意に歩行距離が伸びた。さらに、血清中の TBARS は、リハビリ前が 4.8nmol/ml で、リハ

ビリ後では 3.8nmol/ml と有意に減少し、酸化ストレスの軽減が示唆された。SGRQ は呼吸リハ前後で、Activity, Impact, Total でそれぞれ 4 ポイント以上の有意な改善を示し、自覚的にも有意な改善が示され、酸化ストレスの軽減と関連することが推測された。さらに、予後指標である BODE index は、リハ前の 5.57 からリハ後 5.07 と有意な改善 ($p=0.048$) を示した。

呼吸リハによる酸化ストレス軽減のメカニズムを明らかにするために、主要な抗酸化酵素を測定した。なかでも活性酸素の消去酵素の最上流にある SOD について、血清中アイソザイム(Mn-SOD、CuZn-SOD、EC-SOD)を測定した。血清 MnSOD が 97.7ng/ml から 110.8ng/ml に有意に増加したが、血清 CuZnSOD は 16.6ng/ml から 16.5ng/ml と変化が見られなかった。MnSOD は細胞内器官のミトコンドリアに局在しており、骨格筋のエネルギー産生とより強く関連している酵素である。したがって、呼吸機能の改善なしに運動耐容能の改善とともに酸化ストレスが軽減され、MnSOD が増加したことから、骨格筋でのトレーニング効果がその一因ではないかと推測された。

次に、運動誘発性酸化ストレスの標的臓器として赤血球の酸化・抗酸化バランスについて検討した。赤血球酸化ストレスマーカーとして過酸化脂質 (TBARS)、蛋白カルボニルおよび抗酸化酵素 (SOD, GPX, CAT) を測定・評価した。赤血球中の SOD は CuZn-SOD であり、赤血球中の SOD 活性と濃度を測定したが変化はなく、同時に測定した GPX 活性も呼吸リハ前後で有意な変化は認められなかった。一方、CAT 活性は呼吸リハ後で有意に上昇した ($p<0.05$)。同時に測定した TBARS や蛋白カルボニルには有意な変化を認めなかった。赤血球中には SOD や GPX が多量に存在しているが、呼吸リハによりさらに CAT 活性が上昇したことにより、運動療法によっても赤血球の酸化ストレスが増加しなかった可能性が示唆された。一方、赤血球中 CAT に関しては、以前に Ohno らにより健康成人への運動トレーニングが赤血球中 CAT を増加させたとする報告 (Eur J Appl Physiol 1988;57:173-176) がある。CAT は、もともと細胞内のペルオキシソームに局在する酵素であり、その基質特異性などにより他の抗酸化酵素とは異なる動態を示しているものと思われるが、詳細なメカニズムは不明であり、今後さらなる検討が必要と思われた。

まとめ：今回の検討により、COPD 患者への包括的呼吸リハビリテーションは、呼吸機能の改善なしに健康関連 QOL や運動耐容能を改善するとともに酸化ストレスを軽減することが示唆された。運動療法による血清 MnSOD の増加は骨格筋のトレーニング効果に由来

する可能性があり、これにより酸化ストレスを高めることなく、運動能力を改善するのではないかと推測された。さらに、酸化ストレスの標的臓器においては、SOD や CAT といった主要な抗酸化酵素が運動療法により誘導される可能性があり、適切な運動療法は、COPD 患者においても、骨格筋機能を改善するだけでなく、抗酸化能を改善し、BODE index の改善に示されるように予後の改善につながることを推測された。今後、運動能力だけでなく、抗酸化能の改善を考慮した運動療法プログラムは、COPD 患者の予後に大いに寄与する可能性があり、その確立が待たれるところである。

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 0 件)

〔学会発表〕 (計 4 件)

①大石修司、運動と呼吸器と活性酸素、第 49 回東北防衛衛生学会、2009/11/26、むつ

② OHISHI, S. Effect of pulmonary rehabilitation on serum superoxide dismutase isoenzymes and oxidative stress in patients with COPD. European Respiratory Society Annual Congress 2009, 2009/09/15, Vienna

③伊藤昌之、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者へのチオトロピウム吸入療法は酸化ストレスを軽減するか？ 第 49 回日本呼吸器学会総会、2009/06/14, 東京

④伊藤昌之、COPD のリハビリテーションにおける SOD アイソザイム測定の意義、第 48 回日本呼吸器学会総会、2008/06/16, 神戸

〔図書〕 (計 2 件)

①大石修司、中外医学社、現場の疑問に答える呼吸リハビリ 徹底攻略 Q&A、2009、p 7-12

②大石修司、ナップ、運動と免疫、2009、P113~7,190~4

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大石 修司 (OHISHI SHUJI)
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号：00322462

(2) 研究分担者

伊藤 昌之 (MASAYUKI ITOH)
東京医科大学・医学部・助教
研究者番号：10419731
(H19→H20：連携研究者)
松崎 靖司 (YASUSHI MATSUZAKI)
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号：50209532
(H19→H20：連携研究者)

(3) 連携研究者（平成20-21年度）

伊藤 昌之 (MASAYUKI ITOH)
東京医科大学・医学部・助教
研究者番号：10419731
松崎 靖司 (YASUSHI MATSUZAKI)
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号：50209532

(4) 研究協力者

根本 健司 (KENJI NEMOTO)
東京医科大学・医学部・大学院生