

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11390

研究課題名(和文) 特発性肺線維症の局所酸化ストレスマーカーを用いた呼吸リハビリテーション手法の開発

研究課題名(英文) Development of pulmonary rehabilitation method using local oxidative stress markers for idiopathic pulmonary fibrosis

研究代表者

関川 清一 (Sekikawa, Kiyokazu)

広島大学・医系科学研究科(保)・准教授

研究者番号：30363055

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：特発性肺線維症(IPF)患者の局所酸化ストレスの検体分析方法の有効性とその影響因子、呼吸リハビリテーション(呼吸リハ)の実証効果を明らかにし、局所酸化ストレス指標を用いた新たな呼吸リハ手法を開発することである。基礎検証結果、高齢者において、活動量計による歩行以外の日常生活活動の低強度推定において妥当性の高い測定が可能であることが示され、また外来中心での呼吸リハ手法を確立できた。本研究は、特発性肺線維症患者の呼吸リハ効果を検証することができたが、新型コロナウイルス感染症の影響等により、中核となる局所酸化ストレスマーカーを用いた研究成果を得ることができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

活動量計による歩行以外の低強度身体活動強度の推定は、妥当性の高い測定が可能であることが示され、特発性肺線維症に対する呼吸リハビリテーションの効果判定の基盤となる日常生活活動全般における活動量計測が的確に計測できることが明らかとなった。当該患者の身体活動をはじめ運動機能向上のための12週間のリハビリテーションプログラムを確立することができた、社会的意義のある研究成果を得ることができた。一方、当該患者に対する呼吸リハビリテーション実施による生体防御機能向上の学術的意義は明らかにすることができなかった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify the validity of methods for analyzing samples of local oxidative stress in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), its influencing factors, and to establish the usefulness of local oxidative stress indicators necessary for developing new strategy of pulmonary rehabilitation programs. In the elderly, estimation of low-intensity daily activities using an activity meter was shown to be a valid measure of physical activity. In addition, it was found that 12 weeks of pulmonary rehabilitation was effective in improving exercise function, reducing shortness of breath, improving health-related quality of life, and increasing daily physical activity in patients with IPF. Although this study was able to validate the effects of pulmonary rehabilitation in IPF patients, main research results could not be obtained due to the impact of the new coronavirus infection and problems with the investigator.

研究分野：呼吸リハビリテーション

キーワード：呼吸リハビリテーション 特発性肺線維症 局所酸化ストレス

### 1. 研究開始当初の背景

特発性肺線維症の進行に関連する要因として酸化ストレスが挙げられ、疾患重症度は酸化ストレスと関連すると報告されている。病態の進行は、急性呼吸不全をきたし、死にいたるリスクファクターとなり、近年の高齢化、疾患の重症化とともにそのリスクが高まってきている。したがって、特発性肺線維症患者における生活の質や生命予後向上のために、病態進行と関連する酸化ストレス機能といった生体防衛機能を向上させる対策が重要であり、そのための呼吸リハビリテーション（以下、呼吸リハ）を開発することは急務である。

今までの酸化ストレスを示す指標として、血中物質の分析が行われてきた。近年、血液中の酸化ストレス指標のみならず、気管支・肺泡領域を反映する検体である呼気凝縮液中の酸化ストレス指標を用いた検討がなされており、喫煙者や健常者における運動の影響について解明されつつある。また、唾液による局所酸化ストレス機能を検討する報告があるが、唾液検体解析の有用性の検証が不十分である。さらに、肺線維症の病態進行と関連のある酸化ストレスについて唾液といった上気道や肺局所の動態を解明し、呼吸リハの効果検証したものはない。

### 2. 研究の目的

本研究は、特発性肺線維症患者の上気道局所の酸化ストレス指標解析の有用性を検証し、局所酸化ストレスマーカーを使用した新たな呼吸リハ手法を開発することである。本研究の成果により、局所酸化ストレスの検体分析方法の有効性とその影響因子、呼吸リハの実証効果が明らかとなれば、新たな呼吸リハを展開するために必要な唾液中局所酸化ストレス指標の有用性を確立することができる。

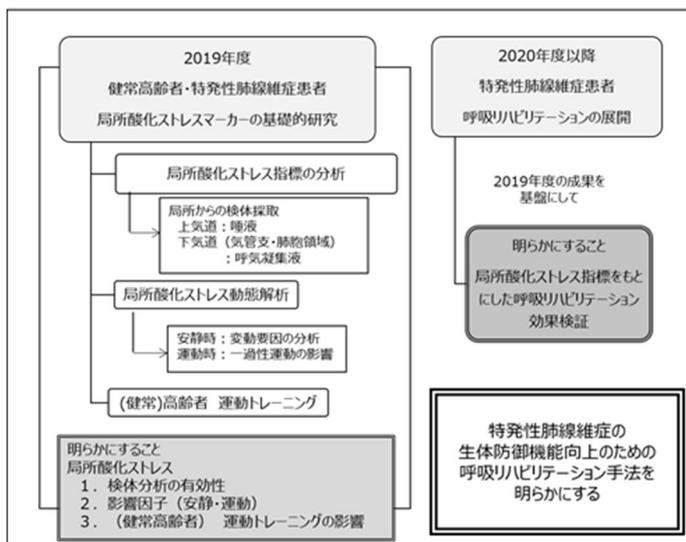


図1. 全体像

### 3. 研究の方法

#### (1)2019年度

##### 一過性運動負荷による口腔内酸化ストレス指標の動態分析

喫煙習慣のない呼吸器疾患患者(年齢:74.4±7.6歳・身長:157.5±8.8cm・体重:45.1±8.8kg・BMI:18.2±3.4)とした。口腔内指標解析には唾液検体を使用する。唾液採取には唾液採取専用ディスポーザブルチューブ(サリベット・Sarstedt)を用いて採取する。サリベットに付属の綿を1秒間に1回、1分間噛むことで、分泌される唾液を綿に吸収させ採取する。採取後に遠心器(2420・KUBOTA)に入れて10分間、3000rpmで遠心した。唾液容量を計測後、分注して、解析まで-80の超低温フリーザー(Biomedical Freezer・SANYO)にて凍結保存する。唾液中抗酸化力の測定は、Biological Antioxidant Potential test kit(Diacron)とフリーラジカル専用吸光度計(FREE carpe diem:Diacron)を用いて行う。

唾液採取のタイミングは運動負荷実施前と実施直後の2回とした。運動負荷実施1時間前より歯磨きを禁止とした。抗酸化力の解析は、運動実施前と実施後に採取した同一検体を3回解析し、平均値を代表値とした。

運動負荷は上下肢の筋力トレーニングと全身持久運動を実施した。

上下肢の筋力トレーニングは、重錘を使用し、息切れが中程度になるように強度を調整し、アメリカスポーツ医学会の方法に従い負荷強度を設定した。持久運動は、歩行もしくは自転車によるインターバル運動とし、息切れの程度が低から中程度になる強度を設定した。この運動強度は総じて、50%vo2max以下でセットした。運動負荷セッションは、休憩をはさみながら40分間実施した。

##### 下気道における参加ストレス指標の分析

下気道におけるマーカー解析は呼気凝集液を使用する。呼気凝縮液採取には、呼気凝縮液採取装置(Jaeger・ECoScreen)を用いる。まず、対象者の鼻をノーズクリップにて塞ぎ、呼気凝縮液採取専用マウスピースをくわえさせて15分程度の呼吸をさせる。対象者の呼気は-30に冷却されラメコンデンサの内側の壁に凝集する。その結果採取用カップ中に液状化し呼気凝縮液として採取される。得られた検体は、採取用カップで蓋をした状態で、解析までに-80にて凍結保存する。呼気凝縮液中過酸化水素濃度、抗酸化力の分析は、唾液検体の分析と同様に、フリーラジカル解析装置を用いた吸光度測定を行う。

#### 特発性肺線維症に対する呼吸リハの効果判定の指標となる身体活動の基礎検証

当該研究では、地域在住の高齢者(86.9±7.2歳)を対象に、象者は身の回り動作として、4つの日常生活活動(タオルたたみ、台拭き、洗濯物干し、モップがけ)を行った。非日常生活活動時に携帯型呼気ガス分析装置(AE-100i, ミナト医科学)で代謝当量(METS)を測定し、右腰に装着した活動量計(HJA-350IT, オムロン)で推定した。すべての参加者が1週間後に同じ時間帯に2回の試行を行った。二元配置反復測定ANOVA(機器と活動を因子とする)を用いて、各METSの機器間の差異を比較した。同値の推定METSと測定METSの比較には、Bland and Altmanプロット分析を使用した。測定方法間の系統的な不一致については、使用したOLP(Ordinary least product)回帰を用いて比例バイアスと固定バイアスを分析した。

#### (2)2020年度

##### 特発性肺線維症に対する呼吸リハ手法確立とその効果検証

新規に診断された外来通院中の特発性肺線維症患者を対象に、12週間の呼吸リハを展開した。呼吸リハ開始にあたり、息切れスケール(mMRC)、健康関連QOL(SGRQ)の聴取を行い、運動機能(6分間歩行距離(6MD)、30秒間椅子立ち上がり回数(CS30)、5回椅子立ち上がり時間(5STS)および膝伸展筋力)を計測した。さらに対象者には1週間、活動量計(HJA-750C, オムロン)を装着してもらい、在宅での活動量を計測した。参加者は朝起床時に活動量計を右腰部に装着し、就寝時に活動量計を外すという生活を7日間連続で行った。

身体活動の強度は解析ソフト(Bi-Link, オムロン)を用いてMETsとして算出し、座りがちな行動(SB)、軽強度の身体活動(LPA)1.6~2.9METs、中・強度の身体活動(MVPA)3METs以上に分類)3軸加速度計で患者の活動を記録した1日に、対象者の酸素飽和度(SpO<sub>2</sub>)を24時間記録した。SpO<sub>2</sub>は、パルスオキシメーター(AnyPal Wal ATP-W03, フクダ電子)を用いて、自宅で取得した。装着と同時に、食事、睡眠、家事、排泄、入浴、外出の基本動作とその時間を記録するよう説明した。SpO<sub>2</sub>データは1秒ごとに記録し、ソフトウェア(フクダ在宅療養管理ビューア ver.1, フクダ電子)を用いて抽出し、グラフ化した。パルスオキシメーターの結果は、基本的な活動およびその時間を照合した。

呼吸リハは12週間、外来での呼吸練習、監視下での筋持久力運動、患者教育を含む内容とした。在宅呼吸リハの指導と実施確認は、外来にて、最初の2週間は週1回、その後は週2回と実施した。理学療法士がリハビリテーション評価とプログラムの効果を説明し、週3回12週間自宅で運動療法を行うよう指導した。在宅での呼吸リハの遵守を確認するため、理学療法士は2週間に1度患者に電話で連絡し、毎日の呼吸リハの実施状況について確認した。12週間のプログラム終了後は、療法士が介入しないプログラムを継続するよう指示したのみであった。さらに終了直後と3ヶ月後に身体機能・活動量の測定を行った。取得したデータのうち、72歳の男性、IPF重症度、グレードに分類される対象者のデータを詳細に検証した。

##### 高齢者の唾液中ストレスマーカーの生理的変動の分析

地域在中の65歳上でADLが自立している高齢者を対象に月1回、6か月間、唾液を採取し、唾液中酸化ストレスマーカーの生理的変動および再現性を明らかにする。唾液の採取は唾液採取専用ディスプレイブルチューブを用い、BAPを解析する。

##### 高齢者の唾液中ストレスマーカーからとらえる運動効果の分析

新規に運動器の機能向上プログラムに参加し、本研究参加に同意する65歳以上のADLが自立している高齢者を対象とする。この場合、全12週のプログラム実施前、実施初回、6週目、終了時および終了12週後に身体活動量および唾液試料取得を行い、唾液中酸化ストレスマーカーを解析する。

#### (3)2021年度

2020年度で構築したプログラムを用いて、呼吸リハ開始前、開始直後、終了後3ヶ月後に唾液を採取し、口腔局所の抗酸化能を検証する。さらに、唾液のみならず、血中の酸化ストレスマーカーを計測し、唾液中抗酸化能との関係性を明らかにする。

#### 4. 研究成果

##### (1)2019年度

##### 一過性運動負荷による口腔内酸化ストレス指標の分析

洗口吐出液中の潜血反応は、全例認めなかった。唾液分泌速度は、運動負荷実施前0.32(0.39)ml/min、実施後0.26(0.34)μmol/Lであり、運動負荷実施により唾液分泌速度は、有意な変化を認めなかった(p=0.59)。抗酸化力は、運動負荷実施前3870.9(2339.2)μmol/L、実施後は2949.8(1725.5)μmol/Lであり、運動負荷実施により抗酸化力が、有意な変化を認めた(p<0.01)下気道における酸化ストレス指標の分析

下気道からの検体採取は、所有機器にて可能であったが、呼気凝集液のBAP解析のための試薬が、入手不可となり、研究開始当初予定していた下気道局所の酸化ストレスマーカーの解析が断念となり、当該研究の成果を得ることができなかった。

##### 特発性肺線維症に対する呼吸リハの効果判定の指標となる身体活動の基礎検証

機器(F=19.091, p<0.001)、活動(F=33.542, p<0.001)に有意な主効果があり、機

器と活動量計の間の交互作用 ( $F = 0.993, p = 0.401$ ) は認められなかった。これらの結果は、活動量計で測定した MET 値が、携帯式呼気ガス分析装置と比較して、すべての活動時に有意に大きいことを意味している。Bland-Altman プロットは、図 2 に示す。2 つの方法間の METS の平均差は  $0.22 \pm 0.28$  (95% CI, 0.159 to 0.278) であった。上部の誤差許容範囲 (limits of agreement; LOA) は 0.767 (95%CI, 0.3895 to 1.1453) 下部 LOA は -0.331 (95%CI, -0.7089 to 0.0469) であった。OLP 解析の結果、比例バイアスは認められなかった (95%CI for slope: OLP 解析の結果、加速度計からの運動強度の推定値には、比例バイアス (傾きの 95%CI: 0.829 ~ 1.2243) と固定バイアス (y 切片の 95%CI: -0.1659 ~ 0.4043) が認められなかった (table2)。

以上の結果より、高齢者において、活動量計による歩行以外の日常生活活動の低強度推定は妥当性の高い測定が可能であることが示された。

## (2)2020 年度

### 特発性肺線維症に対する呼吸リハビリ手法確立とその効果検証

呼吸リハによって、運動機能が向上し (前後、CS30; 14.6 17.8、5STS; 9.4 8.3、6MWD; 462 509) 息切れ (mMRC1.8 0.8, 前後) および SGRQ (37.1 33.6) の改善を認めた。さらに、呼吸リハによって坐位行動時間の減少と、軽度および中程度から活発な身体活動時間の増加を示し、日常生活の中で歩行活動増加を認めた。リハ終了 12 週間後の評価において、リハ開始値に戻ることなく、運動機能向上の維持、息切れの軽減を認めていた。呼吸リハ開始前に 6 分間歩行試験や日常生活動作で高度の労作性低酸素血症を認めたため、在宅酸素療法と抗線維化剤の導入を行った。3 ヶ月間の呼吸リハの結果、座位行動時間が減少し、軽度および中・強度の身体活動時間が増加したことが確認された。また、日常生活を通しての歩行活動も増加した。

以上の結果より、12 週間の呼吸リハが運動機能さらには息切れの軽減、健康関連 QOL の改善、日常身体活動量向上に効果を認めることが明らかとなり、本効果指標を加味し、局所酸化ストレスマーカーを用いた検証を展開する必要性が確認された。

当該年度は、特発性肺線維症に対する呼吸リハ実施の効果検証を行った。これは当初の研究の目的および研究計画の進行を達成することができた。一方、本研究を推進するための測定・解析機器の準備なら

びに対象者の選定方法はすでに完了したが、新型コロナウイルス感染症の影響により研究が中断され、特発性間質性肺線維症者の局所酸化ストレスマーカーの検証成果をまとめるまでには至らなかった。

		pre Rehab	post Rehab	3mo follw up
Step count	(steps/day)	10836 (15101-4889)	17182 (20770-5634)	17765.5 (20495-12285)
SB	(min/day)	381.5 (565-265)	294 (345-185)	297.5 (388-208)
Non-locomotive activity				
	LPA (min/day)	354.5 (380-263)	243.5 (387-178)	353.0 (374-277)
	MVPA (min/day)	21.5 (45-16)	35.0 (39-10)	24.0 (52-18)
Locomotive activity				
	LPA (min/day)	144.5 (252-68)	215.5 (311-145)	198.5 (276-189)
	MVPA (min/day)	60.5 (81-15)	72.0 (95-5)	79.0 (98-70)

図 2 . 呼吸リハによる身体活動量変化

### 高齢者の唾液中ストレスマーカーの生理的変動の分析

当初の研究計画のとおり研究倫理の承認を受け、研究開始の準備は整っていたが、新型コロナウイルス感染症の影響により高齢者の測定不可となり、成果を得ることができなかった。

### 高齢者の唾液中ストレスマーカーからとらえる運動効果の分析

当初の研究計画のとおり研究倫理の承認を受け、研究開始の準備は整っていたが、新型コロナウイルス感染症の影響により高齢者の測定不可となり、成果を得ることができなかった。

## (3)2021 年度

2020 年度に引き続き、新型コロナウイルス感染症の影響により高齢者ならびに特発性肺線維症者の呼吸リハビリプログラムの実施が不可能であった。また、研究代表者の長期間の療養の必要があったことにより研究継続実施の断念となり、成果を得ることができなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	馬屋原 康高  (Umayahara Yasutaka)  (60746395)	広島都市学園大学・健康科学部・准教授(移行)    (35416)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関