

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21590964

研究課題名（和文） 遷延する慢性感染が慢性閉塞性肺疾患の免疫応答に与える影響とその機序の解明

研究課題名（英文） Chronic infection and immune response in COPD patients.

研究代表者

室 繁郎 (MURO SHIGEO)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：60344454

研究成果の概要（和文）：93 名の COPD 患者の観察研究の結果、安定期の測定した歯周病抗体価の高値は、COPD 増悪頻度に抑制的に関連するという、予想とは反対の結果を得た。血清中の IL-4 と IL-7 の濃度は、歯周病抗体価の陰性群で、歯周病抗体価陽性群に比して高値であるという結果であり、抗体産生能力と、液性免疫に関連するサイトカインが増悪の有無に関連する可能性が示唆された。また、肺気腫は増悪を経験することによって進行することが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Our prospective observational study including 93 COPD patients showed that the numbers of exacerbations and the rate of individuals with frequent exacerbations (at least two per year) were significantly lower in patients with higher IgG titer than those with normal IgG titer. Thus in contrast to our hypothesis, normal-IgG titer for periodontitis-related antibody can be an independent predictor of frequent exacerbations suggesting that humoral immune response associates with COPD exacerbations. We also found that COPD exacerbation accelerated the emphysema progression in spite of current additional therapy during exacerbations..

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：COPD 増悪、慢性感染、宿主免疫

1. 研究開始当初の背景

慢性閉塞性肺疾患(COPD)は、慢性進行性の呼吸困難を呈する疾患で、喫煙がその主たる原因である。罹病率は高く（喫煙者の10-20%）、高齢になるほど罹患率は上昇し、死因の上位に位置する（米国では4位、2006年本邦の統計では全体の10位、男性の8位）。このため、今後の高齢化が加速する社会にお

いては、治療戦略の開発・最適化が国民福祉・医療経済の面からも極めて重要である。現時点では COPD の病態の進展を遅らせる唯一の手段は禁煙以外に立証されておらず、また、禁煙後も気道炎症が遷延することも知られており、禁煙のみでは病態の進展抑止が不十分であることも示されている¹。

一方で、COPD 患者においては、気道感染な

どを契機に、急激に気道炎症が悪化し、呼吸機能および全身状態が悪化する急性増悪というエピソードをしばしば経験する。増悪治療は COPD 治療の医療コストの多くを占め、繰り返す増悪は、呼吸機能低下を加速し、不良な予後につながるため、安定期・増悪予防・増悪期治療すべての開発が極めて重要である。

高齢者には誤嚥性肺炎がしばしば見られるが、特に COPD 患者においては嚥下反射が低下し、誤嚥しやすいことが知られている。

Bacteroides 属、*Fusobacterium* 属は、誤嚥性肺炎の主たる起病菌であり、*dental plaque* 中の *Porphyromonas gingivalis* が存在すると介護施設における肺炎発症率が上昇する。一方でまた、歯周病は、血管内皮障害を惹起し、心筋梗塞、脳梗塞の危険性を高めることが示されており、血管内皮・全身への影響が注目されている。近年、COPD 自体が喫煙健常者に比べて脳血管障害や、歯周病など、併存疾患が高いことが知られており、慢性全身炎症症候群と呼ぶことが提唱されようになった⁵。以上のことから、歯周病菌が COPD の病態自体に、安定期・増悪期を通じて関連することが推察される。その機序としては、

- 1 歯周病自体の菌塊を誤嚥することによる、直接的気道感染による増悪への影響
- 2 歯周病合併に伴う慢性微小感染の影響が全身炎症・血管病変を介して安定期の炎症と病態進展へ影響すること

などが想定される。上記を背景に、口腔内菌塊量と菌体に対する免疫反応の指標として、歯周病抗体価を測定し、岡山大学との共同研究で予備的検討を行ったところ、安定期の測定した歯周病抗体価の高値は、COPD 増悪頻度に抑制的に関連するという、予想とは反対の結果を得た。その理由としては、COPD 自体が喫煙者の 20% 程度にしか発症せず、宿主側の要因が想定されていることを踏まえ、第 3 の機序として、

- 3 歯周病抗体価の高値は、正常ないしは、防御的に亢進した免疫反応を示し、増悪に防御的に働いている。歯周病抗体価の低値は、脆弱な免疫反応の反映であり、COPD の進展・増悪に関連する事象ではないか。という着想に至った。実際、歯周病症例のうち治療後抗体価が高値で持続する症例は、低下する症例に比して以降 2 年間の再燃の頻度が少なく、再燃後の治療反応性も良好であることが歯周病領域では報告されている。

私どもは既に、逆流性食道炎症状が COPD 増悪と関連することを前向き検討で示しており、口腔相・消化管疾患と COPD の病態との関連について注目してきた。このたびの宿主側の免疫反応の評価と歯周病菌抗体価、COPD 経過・増悪といった臨床指標との関連を調べることは、COPD 進行・増悪のメカニ

ズムを解明し、新たな治療戦略を作成する上で、重要な知見をもたらすと考えた。

2. 研究の目的

安定期 COPD 患者の歯周病抗体価の変動と末梢血血球細胞での免疫応答、p38 MAPK 活性化の変化を定期的に測定し、呼吸機能の経年変化・増悪頻度・予後との関連を前向きに検討する。

3. 研究の方法

症状日誌をもとに 4 週間以上の安定期を確認できた COPD 患者をエントリーした。エントリー時に、嚥下誘発試験、カプサイシン吸入による、咳嗽感受性試験、咳反射閾値の測定を行った。呼吸機能、症状、QOL などの患者背景情報を収集し、血清を保存し、歯周病菌の血清抗体価は E L I Z A による測定系を開発した共同研究者の岡山大学歯学部歯周病態学講座で測定した。また一部の症例では Bioplex により炎症性サイトカインを網羅的に測定した。1 年以上経過を追うことができた症例を対象に、増悪頻度の関連因子の検討および、増悪による COPD 病態への影響を検討した。

4. 研究成果

エントリー時データの横断的検討および後方視的検討により、胸部 CT 画像上の気腫化の程度が、既報にある呼吸機能・BMI などの予後関連因子とは独立した因子として、COPD の生命予後に関連することを見出した (Chest) また、嚥下反射の低下・咳感受性の亢進が COPD 増悪の関連因子であることも見出した (CHEST, Respiriology)。前向き観察研究にて、呼吸機能の推移や画像上の気腫化の進展の程度・増悪頻度など、COPD の予後に関連する因子との関連についての検討したところ、予備検討と同様に、歯周病抗体価の低値群が、歯周病抗体価高値群に比して増悪回数が頻回であるという結果であった。歯周病抗体価の低値群同時に測定した IL-4, IL-7 が高い傾向にあり、なんらかの液性免疫状態の変化が COPD 増悪と関連していることが示唆された (論文投稿・査読中)。また、細菌菌体成分 (Lipopolysaccharide : LPS) が誤嚥により、気道上皮に接触する状況を仮定し、ヒト気道上皮に LPS 刺激を加えたところ、気道上皮から Connective tissue growth factor の分泌が確認され、気道リモデリングに関与していることが示唆され、感染・増悪に関与すると考えられる自然免疫に関する Pattern Recognition Receptor が COPD の病態に関わっていることを報告した。

(Respirology)。前向き観察研究で並行して施行した臨床項目の解析の結果、肺気腫および併存症である骨密度低下は増悪を経験することによって進行することが明らかとなり、今後の COPD の評価指標として、画像

による気腫評価が重要であることを報告した (AJRCCM・COPD)。

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 11 件)

1. Emphysema distribution and annual changes in pulmonary function in male patients with chronic obstructive pulmonary disease. Tanabe N, Muro S, Tanaka S, Sato S, Oguma T, Kiyokawa H, Takahashi T, Kinose D, Hoshino Y, Kubo T, Ogawa E, Hirai T, Mishima M. *Respir Res.* 2012 Apr 18;13(1):31. [Epub ahead of print][doi:10.1186/1465-9921-13-31]. 査読 : 有

2. Computed tomography assessment of pharmacological lung volume reduction induced by bronchodilators in COPD. Tanabe N, Muro S, Oguma T, Sato S, Kiyokawa H, Takahashi T, Kudo M, Kinose D, Kubo T, Hoshino Y, Ogawa E, Hirai T, Mishima M. *COPD.* 2012 Apr 18.[doi:10.3109/15412555.2012.674986]. 査読 : 有

3. Oxidative stress induced Interleukin-32 mRNA expression in human bronchial epithelial cells. Kudo M, Ogawa E, Kinose D, Haruna A, Takahashi T, Tanabe N, Marumo S, Hoshino Y, Hirai T, Sakai H, Muro S, Date H, Mishima M. *Respir Res.* 2012 Mar 14;13:19.

[doi: 10.1186/1465-9921-13-19]. 査読 : 有

4. Impact of COPD Exacerbations on Osteoporosis Assessed by Chest CT Scan. Kiyokawa H, Muro S, Oguma T, Sato S, Tanabe N, Takahashi T, Kudo M, Kinose D, Kondoh H, Kubo T, Hoshino Y, Ogawa

E, Hirai T, Mishima M. *COPD.* 2012 Jun;9(3):235-42. Epub 2012 Feb 23. [doi:10.3109/15412555.2011.650243]. 査読 : 有

5. A NOD2 gene polymorphism is associated with the prevalence and severity of chronic obstructive pulmonary disease in a Japanese population. Kinose D, Ogawa E, Hirota T, Ito I, Kudo M, Haruna A, Marumo S, Hoshino Y, Muro S, Hirai T, Sakai H, Date H, Tamari M, Mishima M. *Respirology.* 2012 Jan;17(1):164-71. [doi: 10.1111/j.1440-1843.2011.02069.x].

査読 : 有

6. Impact of exacerbations on emphysema progression in chronic obstructive pulmonary disease. Tanabe N, Muro S, Hirai T, Oguma T, Terada K, Marumo S, Kinose D, Ogawa E, Hoshino Y, Mishima M. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011 Jun 15;183(12):1653-9. [doi: 10.1164/rccm.201009-1535OC]. 査読 : 有

7. Lipopolysaccharide induced connective tissue growth factor gene expression in human bronchial epithelial cells. Nishioka M, Ogawa E, Kinose D, Haruna A, Ohara T, Ito I, Hoshino Y, Ito Y, Matsumoto H, Niimi A, Mio T, Chin K, Hirai T, Muro S, Mishima M. *Respirology.* 2010 May;15(4):669-76.

[doi: 10.1111/j.1440-1843.2010.01742.x

]. 査読 : 有

8. CT scan findings of emphysema predict mortality in COPD. Haruna A, Muro S, Nakano Y, Ohara T, Hoshino Y, Ogawa E, Hirai T, Niimi A, Nishimura K, Chin K, Mishima M. *Chest.* 2010

Sep;138(3):635-40.[doi:10.1378/chest.09-2836].査読：有

9. Relationship between peripheral airway function and patient-reported outcomes in COPD: a cross-sectional study. Haruna A, Oga T, Muro S, Ohara T, Sato S, Marumo S, Kinose D, Terada K, Nishioka M, Ogawa E, Hoshino Y, Hirai T, Chin K, Mishima M. BMC Pulm Med. 2010 Mar 7;10:10.

[doi:10.1186/1471-2466-10-10].査読：有

10. Abnormal swallowing reflex and COPD exacerbations. Terada K, Muro S, Ohara T, Kudo M, Ogawa E, Hoshino Y, Hirai T, Niimi A, Chin K, Mishima M. Chest. 2010 Feb;137(2):326-32.[doi:10.1378/chest.09-0482].査読：有

11. Cough-reflex sensitivity to inhaled capsaicin in COPD associated with increased exacerbation frequency. Terada K, Muro S, Ohara T, Haruna A, Marumo S, Kudo M, Ogawa E, Hoshino Y, Hirai T, Niimi A, Mishima M. Respirology. 2009 Nov;14(8):1151-5.

[doi: 10.1111/j.1440-1843.2009.01620.x

].査読：有

[学会発表] (計 23 件)

①2012 年 5 月 23 日 American Thoracic Society Poster Session Annual Changes Of "Lung Age". Validation Of Lung Age Equation By 5-Year Follow Up Study In Japan/S. Sato, S. Muro, T. Takahashi, T. Hirai, M. Mishima, A. Sato, Kyoto, Japan

②2012 年 5 月 22 日 American Thoracic Society Poster Session Correlation Of Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 With Pulmonary Function And Emphysematous Change In Early Chronic Obstructive Pulmonary Disease/T. Takahashi, E. Ogawa, A. Haruna, M. Kudo, H. Kiyokawa, N. Tanabe, D. Kinose, S. Sato, Y. Hoshino, T. Hirai, H. Sakai, Y. Nakano,

S. Muro, M. Mishima, Kyoto, Japan, p.A4553
③2012 年 5 月 22 日 American Thoracic Society Poster Discussion Session Impact Of COPD Exacerbations On Osteoporosis Assessed By Chest CT Scan/H. Kiyokawa, S. Muro, T. Oguma, S. Sato, N. Tanabe, T. Takahashi, M. Kudo, D. Kinose, Y. Hoshino, E. Ogawa, T. Hirai, M. Mishima, Kyoto, Japan,

④2012 年 5 月 20 日 American Thoracic Society Thematic Poster Session Increased TLR3 Gene Expression In Epithelial Cells Of COPD Patients/D. Kinose, E. Ogawa, S. Muro, W.M. Elliott, J.C. Hogg, M. Mishima, Kyoto, Japan, p. A2010

⑤2012 年 4 月 22 日 第 52 回日本呼吸器学会 International Symposium Comorbidities of chronic obstructive pulmonary disease 室 繁郎

⑥2011 年 5 月 13 日-18 日 American Thoracic Society Long Term Effect Of Tiotropium On Airway Dimension Assessed By Computed Tomography In COPD Patients

Efficient Early Detection Of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Using Electrocardiogram

Antibody For Periodontal Bacteria And Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbation

Animal Model Of Cigarette Smoke Induced Airway Disease Without Emphysema In Mice And Effect Of Dexamethasone On It

⑦2011 年 4 月 23 日- 第 51 回日本呼吸器学会 シンポジウム「COPD の臨床的諸問題」 COPD の病型分類 室 繁郎

⑧2010 年 9 月 21 日 European Respiratory Society

Effects of thioredoxin-1 on accelerated emphysema progression in cigarette smoke-exposed mice challenged with polyinosine-polycytidylic acid N. Tanabe, Y. Hoshino, H. Kiyokawa, S. Marumo, E. Ogawa, S. Muro, T. Hirai, J. Yodoi, M. Mishima

⑨2010 年 9 月 19 日 European Respiratory Society Barcelona

A single nucleotide polymorphism in NOD2 gene was associated with pathogenesis and severity of COPD D. Kinose, E. Ogawa, T. Hirota, I. Ito, S. Muro, Y. Hoshino, T. Hirai, H. Sakai, M. Tamari, M. Mishima

⑩2010 年 5 月 19 日 American Thoracic Society 口頭発表

Oxidative stress augmented IL-32 gene upregulation in airway epithelial cells.,

M. Kudo, MD, E. Ogawa, MD, PhD, A. Haruna, MD, D. Kinose, MD., Y. Hoshino, MD, PhD, S. Muro, MD, PhD., T. Hirai, MD, PhD, M. Mishima, MD, PhD

⑪2010年5月18日 American Thoracic Society 口頭発表

Distinct responses against polyinosine-polycytidylic acid in smoke-exposed mouse strains with different susceptibility to emphysema, N. Tanabe, MD, Y. Hoshino, MD, PhD, H. Kiyokawa, MD, S. Marumo, MD, E. Ogawa, MD, PhD, S. Muro, MD, PhD, T. Hirai, MD, PhD, M. Mishima, MD, PhD

⑫2010年5月17日 American Thoracic Society Thematic Poster Session

The effect of telling smokers their "lung age" on smoking quit rate at annual health checkup., S. Marumo, MD, S. Muro, MD, PhD, A. Haruna, MD, A. Sato, M.D., Ph.D.2, E. Ogawa, MD, PhD, Y. Hoshino, MD, PhD, T. Hirai, MD, PhD, M. Mishima, MD, PhD, A. Sato, MD, PhD

⑬2010年5月17日 American Thoracic Society Thematic Poster Session

NOD2 SNPs associated with Crohn's disease were not found in Japanese COPD patients, D. Kinose, MD., E. Ogawa, MD, PhD, M. Nishioka, MD., Y. Hoshino, MD, PhD, T. Hirai, MD, PhD, S. Muro, MD, PhD., M. Mishima, MD, PhD

⑭2010年6月25日 第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 血清歯周病抗体価とCOPD(慢性閉塞性肺疾患)増悪との関連性 高橋珠紀、室 繁郎、三嶋理晃 北九州国際会議場

⑮2009年11月21日 GERD研究会 第14回学術集会 胃食道逆流症症状とCOPD増悪 室 繁郎

⑯2009年7月25日 第59回日本体質医学会総会 シンポジウム 体質とCommon diseases 体質とCOPD 室 繁郎

M. Mishima, MD,

⑰2009年5月19日 Mini-Symposium

Increased NOD1 and NOD2 Gene Expressions in Bronchial Epithelial Cells in COPD, : D. Kinose, MD, E. Ogawa, MD, PhD, S. Muro, MD, PhD, A. Takahashi, MD, H. Sakai, MD, PhD, W. M. Elliott, PhD, J. C. Hogg, MD, PhD, M. Mishima, MD, PhD,

⑱2009年5月20日 Poster Discussion

Three-Dimensional Lobar Distribution of Emphysema Assessed Using Computer Tomographic Data, Y. Nakano, MD, PhD., S. Muro, MD, PhD., S. Saita, PhD., T. Oguma, MD., H. Wada, MD., S. Marumo, MD., M. Kudo, MD., A. Haruna, MD., K. Terada, MD., E.

Ogawa, MD, PhD., Y. Hoshino, MD, PhD., T. Hirai, MD, PhD., M. Osawa, MD., T. Nagao, MD, PhD., Y. Kawata, PhD., N. Niki, PhD., ⑲2009年5月17日 Thematic Poster Session

Systemic Immune Activation by Polyinosine-Polycytidylic Acid Evokes Lung Inflammation Similar to COPD Exacerbation in Cigarette Smoke-Exposed Mice, N. Tanabe, MD, Y. Hoshino, MD, Ph, S. Marumo, MD, I. Ito, MD, Ph, E. Ogawa, MD, Ph, S. Muro, MD, Ph, T. Hirai, MD, Ph, M. Mishima, MD, Ph,

⑳2009年5月17日 Mini-Symposium

Pathophysiology of Cigarette Smoke Induced Emphysema after Smoking Cessation in a Murine Model, S. Marumo, MD, Y. Hoshino, MD, PhD, N. Tanabe, MD, A. Sato, MD, PhD, I. Ito, MD, PhD, E. Ogawa, MD, PhD, S. Muro, MD, PhD, T. Hirai, MD, PhD, M. Mishima, MD, PhD,

6. 研究組織

(1) 研究代表者

室 繁郎 (MURO SHIGEO) 京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：60344454

(2) 研究分担者

伊藤 功朗 (Ito Isao) 京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：40447959

成石 浩司 (Naruishi Koji) 岩手医科大学・歯学部・准教授

研究者番号：00346446

佐藤 晋 (Sato Susumu) 京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：40378696

(3) 連携研究者

高柴 正悟 (Takashiba Shogo) 岡山大学・歯学部・教授

研究者番号：50226768

三嶋 理晃 (Mishima Michiaki) 京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：60190625