

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 9 月 13 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592654

研究課題名（和文）：メタボリックシンドロームの発症因子としての閉塞型睡眠時無呼吸症候群の病態解析

研究課題名（英文） Pathogenesis of obstructive sleep apnea syndrome for the primary factor inducing metabolic syndrome

研究代表者

大井 久美子 (Oi Kumiko)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：80134732

研究成果の概要（和文）：

閉塞型睡眠時無呼吸症候群の主病態である上気道の機能障害の発症・増悪の機序を解明し、老化・加齢、性差などの各因子が肥満やメタボリックシンドロームの発症因子にどのような影響を及ぼすかを検討した。研究の最終目標である、老化・加齢、睡眠物質の欠如などの影響の探索のため、遺伝子改変マウスを使用する事が前提であったため、全身麻酔の調節呼吸下でのマウス isolated 上気道モデルを構築し、筋弛緩薬投与状態 (passive upper airway) と筋弛緩薬非投与 (active upper airway) の2つの条件下で上気道の閉塞圧と抵抗値を評価し、上気道の代償性神経筋応答性を検討した。その結果、麻酔下でも筋活性が温存される active な上気道開大筋の状態では、passive に比べて閉塞圧が大きく閉塞しにくい事が分かり、ある程度、人の上気道の機能を再現できることが分かった。次に自発呼吸下での whole plethymograph マウスモデルを用いた上気道抵抗値の測定モデルを作成したが、マウスの上気道は解剖学的に予想以上に虚脱しやすく麻酔薬の影響により上気道開大筋の筋活性も著しく抑制されたため、自発呼吸下では再現性のあるデータの測定が不可能であった。そのため自発呼吸下での上気道の機能評価は、23年度当初から兎の上気道機能測定モデルを構築して実験を行い、加齢による上気道の筋活性とサーファクタント局所投与の反応性を検索した。体重3kgの兎と6ヶ月経過した軽度肥満の兎を用いて上気道閉塞圧を測定したところ、全身麻酔下での上気道筋活性に差は無く、サーファクタントの局所投与ではわずかに減少した。

研究成果の概要（英文）：

We have tried to establish the two different mouse upper airway experimental model to explore the pathophysiological factor to induce obstructive sleep apnea syndrome. We have tested the neuromuscular compensatory response under general anesthesia by analysis of passive and active upper airway collapsibility (Pcrit and resistance calculated pressure flow relationship). However, with spontaneous breathing under general anesthesia, the influence of muscle relaxant by anesthetic agent may cause major effect on upper airway. We have also established the rabbit model to test upper airway collapsibility with spontaneous breathing under general anesthesia. We have found moderate increase of body weight did not cause significant change in Pcrit of rabbit upper airway. We have also found that instillation of surfactant into pharyngeal region slightly decrease Pcrit as reported in previous study. In conclusion, we could not exclude the effect of general anesthesia on both mouse and rabbit experiment to evaluate upper airway functions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学・老年歯科学

キーワード：閉塞型睡眠時無呼吸症候群、上気道、メタボリックシンドローム、

1. 研究開始当初の背景

従来は、肥満などを合併するメタボリックシンドロームが閉塞型睡眠時無呼吸症候群（OSA）の発症の危険因子として考えられてきたが、最近の新しい知見では、OSAによる上気道閉塞と不眠・水mん不足そのものが生体のグレリン・レプチン代謝系を傷害して、逆に肥満を惹起し、ひいてはメタボリックシンドロームの発症に関わっている可能性（Ann. Intern. Med. 1004. ;141:846-850）が報告されている。だとすると閉塞型睡眠時無呼吸症候群の予防あるいは増悪の抑制が、メタボリックシンドロームの予防に役立つ可能性が高い。しかしながら、現時点ではOSAがいったいどのような発症メカニズムで起こるかは完全には解明されていない。一方、老化や加齢を促進する因子が、メタボリックシンドロームやOSAの発症・増悪に極めて重要な影響を与えることが報告されている。その中でも、活性酸素の産生抑制・排出促進、成長ホルモン、メラトニンなどの睡眠調節物質、食欲調節物質のグレリン・レプチン代謝系の関与が多く報告されている。

我々は、過去の人を対象とした研究において、閉塞型睡眠時無呼吸症候群の病態を調べると共に、上気道の解剖学的（形態的）機能あるいは上気道の神経・筋調節による上気道開

通性の維持に影響を与える、リスク因子について研究を行ってきた。しかしながら、一連の人での研究結果から明らかになった発症リスクの新たな疑問点を解明するには、倫理的な問題と技術的な限界から、他の実験モデルが必要になった。そこで、我々は圧流量曲線をマウスで再現できる全く新しい実験モデルを確立し、上気道機能障害を伴う、遺伝子改変マウスを用いた、閉塞型睡眠時無呼吸症候群の発症メカニズムの解明に役立てる。

2. 研究の目的

- (1) 人の上気道を対象とした圧流量曲線解析実験モデルをマウス上気道で再現できる全く新しい実験モデルを確立する。
- (2) マウスを用いた上気道機能評価モデルを確立した上で、その測定系を老化・加齢促進因子を標的とした遺伝子改変マウスに応用する。
- (3) どのようなメカニズムで睡眠時無呼吸症候群が重症化していくのか、どのような環境因子が発症因子になるのかを調べる。

3. 研究の方法

①マウスの *isolated* 上気道実験モデル

2%イソフルレン麻酔下（マウス用のフェイスマスクにて麻酔導入・維持）で手術を行う

気管内チューブを挿管し、鼻腔内 (EMGnu), オトガイ舌筋(EMGgg)の筋電図電極用のワイヤーを設置. 入眠したマウスを 30~50ml のシリンジ内に挿入し、頸周囲を漏れの無いようにシールする. 異なるレベルの圧を鼻腔に付与する. 定常流を流すことで、鼻腔からの呼吸回路で生ずるデッドスペースを解消する. 換気量は2種類の方法で測定する.

①マウスの呼吸測定用に、頭部だけを外部に露出した、プラスチックモグラフィ (body plethysmograph)法を用いる. ②鼻に接続してある、流量計からも測定する. 測定は全て、イソフルレン麻酔下の自発呼吸で行う. 鼻腔内圧(Pnasal), 気管内圧(Ptrach), 鼻腔流量 (Nasal flow), プレスチモ流量 (Pleth flow), オトガイ舌筋筋電図 (EMGgg), 鼻翼筋筋電図 (EMGnu) などの測定値を評価する.

気管内に付与する圧を減少させて、最大吸気量 (VImax) を変化させ、それに対応した鼻腔内圧をプロットし、一次相関曲線から、最大吸気量がゼロになった時の、鼻腔内圧、すなわち閉塞圧を算出する. また、傾きから抵抗も同時に算出する. 閉塞圧の解析は、筋弛緩薬投与下でオトガイ舌筋の筋活性が無い呼気中 (Passive condition) とオトガイ舌筋の筋活性が十分に亢進した吸気中 (Active condition) の二つの条件下で行い、上気道閉塞に対する代償性の機能が、どれだけ作用しているかを検討した. さらに、①炭酸ガス負荷、②軽度低酸素症、③咽頭部の陰圧負荷の各条件下で測定を行った.

②マウスの Wholeplethymograph 上気道実験モデル

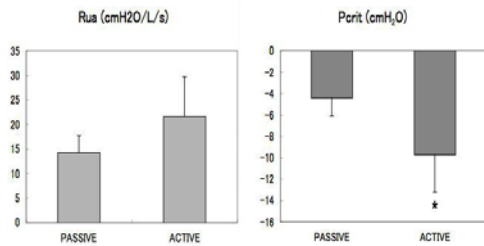
Kuwaki (2003, JAP)らの無拘束モデルを改良して人為的な呼吸負荷を付与できるような実験モデルを作成して睡眠中の呼吸パターンの解析を行う。

③兎の isolated 上気道実験モデル

兎を用いた上気道開通性の定量的な実験系の構築は、予備実験を経た上で、最終段階に入っている。体重3kg前後の兎を用いて、ケタミンおよびセラクターによる麻酔導入後気管切開し、人工呼吸を行う。麻酔維持はケタミンおよびセラクターの間欠的投与にて行う。気管の下断端から上方にカニューレーションを行い、口を結紮して空気の漏れが内容にした上で、鼻腔・口腔に装着した動物用マスクとの間に、上気道の閉鎖回路を作成する。マスクに設けた圧のポートと、下方に伸ばしたカニューレーションの圧ポートから上流圧（鼻腔圧）と下流圧（咽頭部圧）を測定する。5mlの注射シリンジを用いて上気道へ吸気流量に相当する空気を送り込み、上実際に気道へ送り込まれる流量の測定はlinear potentiometerを用いて行った。鼻腔圧と咽頭部圧、さらに流量の測定値はPCに取り込み、測定データから、上気道の閉塞圧と開通圧を算出・評価した。6ヶ月の加齢による上気道の筋活性の変化とサーファクトン局所投与の反応性を検索した

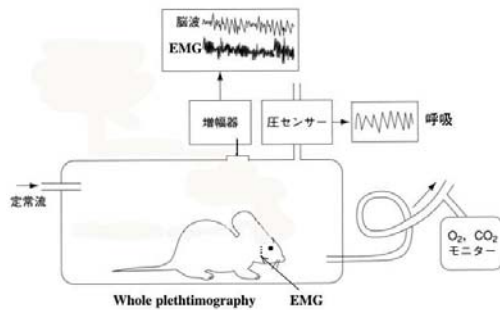
4. 研究成果

①マウスの isolated 上気道実験モデルの結果
全身麻酔の調節呼吸下でのマウス isolated 上気道モデルを構築し、筋弛緩薬投与状態 (passive upper airway) と筋弛緩薬非投与 (active upper airway) の2つの条件下で上気道の閉塞圧と抵抗値を評価した。その結果、マウス麻酔下でも人での麻酔中と同様に筋活性が温存される active な上気道開大筋の状態では、passive に比べて閉塞圧が減少し、上気道が閉塞しにくい事が分かった。



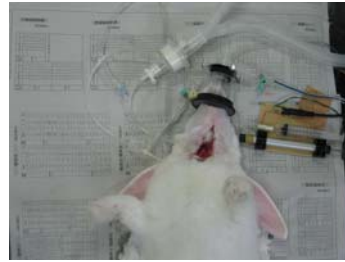
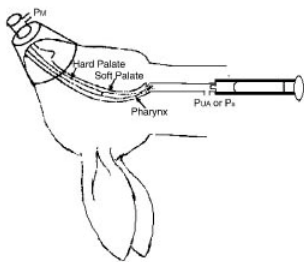
②マウスの Wholeplethymograph 上気道実験モデルの結果

Kuwaki (2003, JAP) らの無拘束モデルを作成して睡眠中の呼吸パターンの解析を行った結果、連続した呼吸の呼吸数と換気量の計算値は得られたが、上気道の開通性の定量的評価は困難であった。

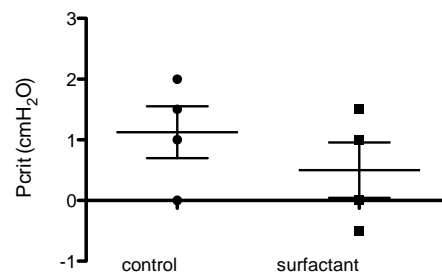


③ 兎を上気道実験モデルの結果

兎の全身麻酔下での上気道機能測定モデルを用いて実験を行い、加齢による上気道の筋活性とサーファクタント局所投与の反応性を検索した。まず加齢と肥満の上気道に与える影響では体重 3 kg の兎と 6 ヶ月経過した軽度肥満の兎を用いて上気道閉塞圧を測定したところ、全身麻酔下での上気道筋活性に差は認められなかった。自然睡眠中の上気道の筋活性を測定する必要があるとの結論に達した。



また、加齢と共に唾液中および咽頭部の表面張力を調節するサーファクタントの分泌が変化することが示唆されているため、サーファクタントの局所投与の影響を検討した。その結果、過去の研究と同様に閉塞圧の軽度低下 (1cmH₂O 以下) が認められ、上気道開通性がやや改善したが、これも麻酔薬による筋弛緩作用で、測定値の評価は自然睡眠とは異なることが想定された。



人を対象とした圧流量曲線解析実験モデルをマウスで再現できる全く新しい実験モデルを確立するために、研究期間中の最初の 2 年間で上気道機能を測定・評価できる段階までに達した。しかしながら、マウスの上気道は解剖学的に予想以上に虚脱しやすく麻酔薬の影響により上気道開大筋の筋活性も著しく抑制されたため、自発呼吸下では再現性のあるデータの測定が不可能であった。加齢や老化遺伝子をターゲットに定めた遺伝組み換えマウスを用いた実験では、マウスを慢性的に飼育して数回に及ぶ全身麻酔下での再現性のある正確なデータを評価できる実験モデルが必要で、残念ながら本研究期間中に遺伝子改変マウスを用いて科学的に証明するための実験モデルの完成には至らなかつ

った。今後は、動物でも自然睡眠中に上気道機能を評価できる非侵襲の上気道開通性の評価モデルの開発が必要であると考えられた。我々の研究グループが人での関連研究で得られた知見では、上気道の神経・筋活性には性差が存在し、さらに性周期でも異なることが次第に明らかになってきた。今後は、本研究で得られた実験的な知見を元に自然睡眠状態でのマウスを用いた上気道開通性の測定モデルを確立し、病態発症に関連する遺伝子改変マウスを用いて、閉塞型睡眠時無呼吸症候群の病態解明に役立てたい。

5. 主な発表関連論文等

(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4件)

1. Ayuse T, Ayuse T, Ishitobi S, Yoshida H, Nogami T, Kurata S, Hoshino Y, Oi K. The mandible advancement may alter the coordination between breathing and the non-nutritive swallowing reflex. *J Oral Rehabil*, 37(5): 336-345, 2010.
 2. Hoshino Y, Ayuse T, Kobayashi M, Kurata S, Kawai M, Schneider H, Patil SP, Schwartz AR, Kirkness JP, Oi K. The effects of hormonal status on upper airway patency in normal female subjects during propofol anesthesia. *J Clin Anesth*, 23(7): 527-533, 2011.
 3. Kobayashi M, Ayuse T, Hoshino Y, Kurata S, Moromugi S, Schneider H, Kirkness JP, Schwartz AR, Oi K. Effect of head elevation on passive upper airway collapsibility in normal subjects during propofol anesthesia. *Anesthesiology*, 115(2): 273-281, 2011.
 4. 鮎瀬卓郎、上気道閉塞のメカニズムを理解する。麻酔, 第59巻増刊別刷、2010.
- [学会関連発表、招待講演] (計7件)
1. 鮎瀬卓郎, 「自発呼吸下での全身麻酔中および周術期に起こる上気道閉塞をどのように評価し、管理するか?」第10回麻酔科学ウィンターセミナー IN TOMAMU, 北海道, 2010.
 2. 鮎瀬卓郎, 「鎮静時の上気道開通性の維持と気道モニターへの展望」第21回日本臨床モニター学会総会, 大阪, 2010.
 3. 鮎瀬卓郎, 「睡眠時無呼吸症候群の患者に対する呼吸管理」日本麻酔科学会第57回学術集会, 福岡, 2010.
 4. 鮎瀬卓郎, 「上気道閉塞のメカニズム」日本麻酔科学会第57回学術集会, 福岡, 2010.
 5. Ayuse T. Obstruction during Sleep and Anesthesia. Symposium: Anesthesia and Respiration. Effect of Gender on Mechanical Properties and Compensatory Neuromuscular Responses to Upper Airway International Symposium for Academic Exchange between Anesthesiologist and Basic Scientists (2011 ISAE-ABS), Chiba, Japan, 2011.
 6. Ayuse T. Structure and function of the upper airway. Special lecture: Airway management for dental procedure and oral and maxillofacial surgery. The 4th Annual Meeting of the Federation of Asian Dental Anesthesiology Societies (FADAS2011), Kobe, Japan, 2011.
 7. Ayuse T. Mechanical Properties and Compensatory Neuromuscular Responses of the Upper Airway in Obstructive Sleep Apnea. Symposium: Comprehensive Updates on Sleep Disordered Breathing. World sleep, Kyoto, Japan, 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大井 久美子 (Oi Kumiko)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：80134732

(2) 研究分担者

鮎瀬 卓郎 (Ayuse Takao)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・

准教授

研究者番号：20222705