

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591134

研究課題名(和文)慢性閉塞性肺疾患・表現型規定因子の探求 日米比較研究からの発信

研究課題名(英文)A search for determinants of phenotypes in chronic obstructive pulmonary disease; by a collaborative research in Japan and U.S.

研究代表者

山本 佳史(YAMAMOTO, YOSHIKUMI)

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：00458035

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文):慢性閉塞性肺疾患(COPD)には気腫型と非気腫型(慢性気管支炎型)の二つの表現型が存在する本邦では痩せをともなう気腫型、欧米では肥満をともなう非気腫型が多い。しかしこの表現型を規定する因子は明らかにされていない。

本研究ではCOPDに表現型におけるAutophagyの役割を検討する目的で、本邦でのCOPD患者の血中Autophagyマーカーを測定し、気腫病変との関連性について検討した。Autophagyの調節因子LC3Bは健常者、喫煙者、COPD患者の順に低下し、気腫病変が高度な程低下していた。

全身のAutophagyの機能低下が気腫病変の発症・進展に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文):In chronic obstructive pulmonary disease (COPD) there are two phenotypes; emphysema and chronic bronchitis. In Japan most of the patients are emphysema with cachexia while in the West most of those are chronic bronchitis with obese. However it has not been fully elucidated what factors determine the phenotype in COPD.

Autophagy, which is an intracellular degradation system that delivers cytoplasmic constituents to the lysosome, is accelerated on starvation. To elucidate the role of autophagy on the phenotype in COPD, we measured the index of autophagy in plasma of Japanese COPD patients and investigated the relationship between the index and emphysema. LC3B, regulator of autophagy, was decreased in smokers compared with healthy non-smokers. The decrease was accelerated in COPD. In patients with severe emphysema the LC3B levels was inversely correlated with emphysema score.

In conclusion an impaired systemic autophagy can contribute to development and progression of emphysema.

研究分野：呼吸器内科

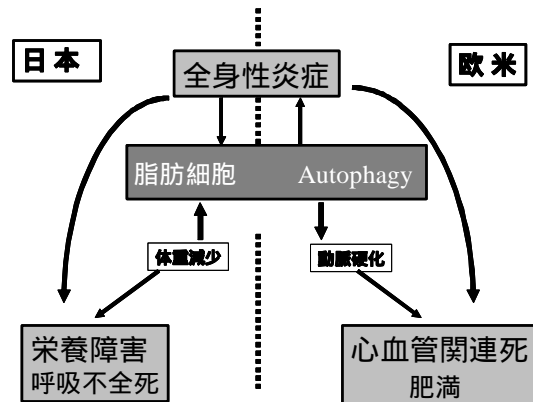
キーワード：慢性閉塞性肺疾患 表現型規定因子 日米比較 気腫

1. 研究開始当初の背景

(慢性閉塞性肺疾患) COPD は喫煙を主因とした気流制限を特徴とするが、痩せ型のピンクパフューアや肥満型のブルブローターという異なる体型上の特徴を有する2群の存在が以前より知られていた。肺病変に関しても、前者は気腫型、後者では非気腫型が多いが、このような表現型の相違については大きな注目を集めていなかった。しかし、表現型によって併存症が異なる可能性があり、全身性疾患としてCOPDを治療する場合、重要な問題と考えられる。表現型または併存症を規定する因子については、人種間での遺伝的要因の関与も考えられているが、いまだ解明されていない。このような背景をもとに申請者は、脂肪細胞から産生されるアディポネクチンに着目した。アディポネクチンは抗動脈硬化作用や抗炎症作用をもち肥満患者では低下することが知られている。本邦での体重減少をともなうCOPD患者ではアディポネクチンは著明に増加し、間接的に心血管関連死の低下と関連していると考えられた。しかも体重低下のないCOPD患者でもアディポネクチンの増加が認められ残気量と負の相関が認められたことからアディポネクチンがCOPDの病態にも関連していると考えられた (Tomoda K, et.al. Chest 2007)。Autophagy (自食) とは細胞内蛋白質を分解するために細胞がもっている仕組みのひとつであり、とくに飢餓状態になると亢進し、蛋白のリサイクルを行い、生体の恒常性維持に参与することが知られている。研究協力者は喫煙に曝露した気道上皮細胞やCOPD患者の肺組織でAutophagyが亢進していることを報告し、AutophagyがCOPDの病態と深く関連していることを明らかにしている (Choi AM, et al. PloS One 2008)。しかしCOPDの併存症としての栄養障害とAutophagyとの関連については明らかにされていない。COPDの表現型を規定する因子を検討する上で、気腫型患者の占める比率が高い本邦のCOPDと、欧米における非気腫型COPDをAutophagyという観点から比較検討することが重要であると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

COPDの肺病変は、画像所見上、気腫型と非気腫



—日本と欧米におけるCOPD併存症と死亡原因の相違—
型の2つの表現型に大別される。気腫型は本邦に多くみられ、臨床像の特徴としては、栄養障害を

伴い、呼吸不全死が多い。非気腫型は欧米に多く、肥満を伴い、心血管関連死が多い。栄養障害や心血管疾患は、COPDの予後を規定する重要な併存症であり、COPDの表現型と併存症は深く関連していると推測されている。GOLDにおいても様々な併存症を伴う全身性疾患として治療を行う重要性が明記されており、COPDの表現型に着目した疾患管理が望まれるが、表現型および併存症を規定する因子については未だ解明されていない。米国Harvard大Choi教授の協力を得て、COPDにおける表現型および併存症を規定する因子を探求し、これらの規定因子とCOPDの病態との関連性を明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

本邦におけるCOPD(気腫型 COPD)発症におけるAutophagyの役割を検討するとともにAutophagyと気腫型COPDの病態との関連性について明らかにする。

(1) 対象:奈良県立医科大学および関連施設に通院しているCOPD患者150例を対象とし、健常非喫煙者、健常喫煙者を比較対照として用いた。

(2) 測定項目

呼吸機能検査:一秒量、一秒率、一秒量予測値比。

栄養評価:身体計測よりBody Mass Index (BMI)を算出する

CT画像:気腫の程度をGoddardの方法により評価する。

血漿の解析:血漿を採取し以下の血中濃度を測定する。

(ア) アディポサイトカイン:

高分子量アディポネクチンの血中濃度をELISA法にて測定する。

(イ) Autophagy:

血漿中のAutophagyのマーカーであるLC3Bおよびmitophagy(ミトコンドリアのAutophagy)のマーカーであるmtDNAの発現量をWestern Blot法を用いて測定する。

(Choi AM, et al. PloS One 2008)

(3) 検討項目

健常非喫煙者、健常喫煙者、COPD患者間におけるLC3BおよびmtDNAの相違を検証する。

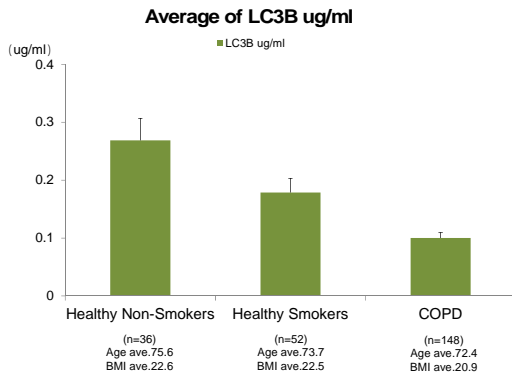
LC3BおよびmtDNAとCOPD患者で測定した上記の測定項目との関連性について検討する。COPD患者の追跡調査を行い死亡例と生存例の相違をLC3BおよびmtDNAについて検討する。

4. 研究成果

(1) 本邦における COPD における LC3B の役割

健康非喫煙者、健康喫煙者、COPD 患者間における LC3B の比較

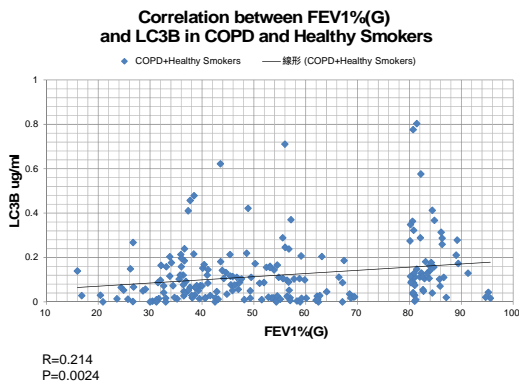
LC3B は健康非喫煙者、健康喫煙者、COPD 患者の順に低下していた。



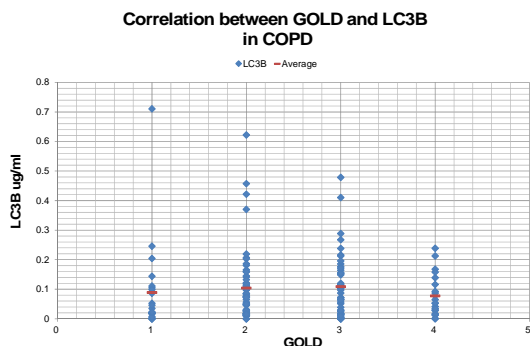
LC3B と COPD の病態との関連性

(ア) 一秒量;FEV1%との関連性

COPD 患者では FEV1% と LC3B は有意の相関は認められなかったが、COPD 患者を含む喫煙者では有意の負の相関が認められた。

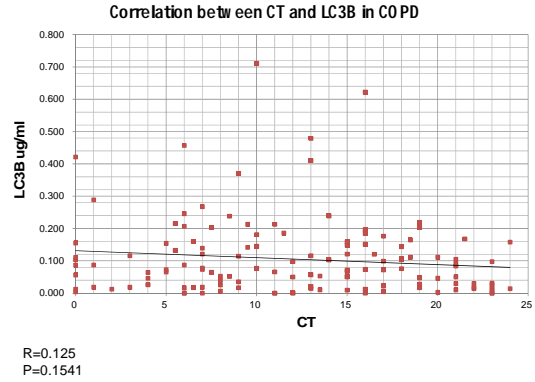


(イ) 一秒量予測値比,GOLD の重症度との関連性
有意の関連性は認められなかった。

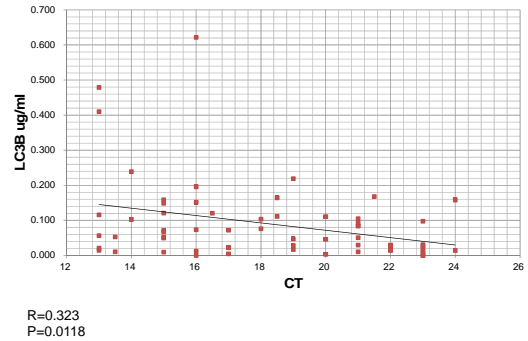


(ウ) 気腫との関連性

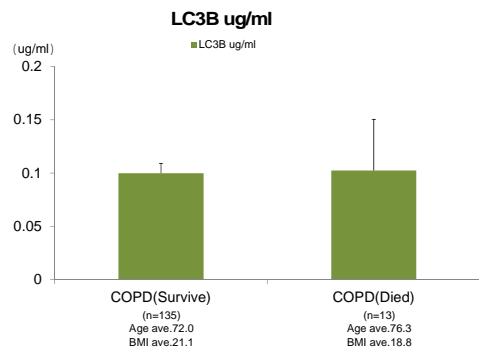
COPD 患者全体では有意な相関は認められなかったがスコア 12 以上の重度の気腫病変を有する群では気腫スコアと LC3B は有意の負の相関が認められた。



Correlation between CT(>12) and LC3B in COPD



LC3B と COPD 患者の予後との関連性
生存例と死亡例との間に相違は認められなかった。

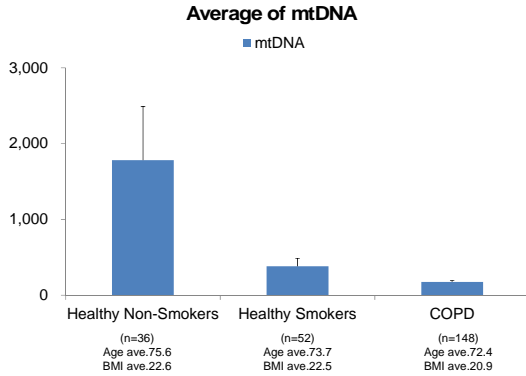


なお、COPD 患者における LC3B と BMI 及びアディポネクチンの間には関連性は認められなかった。

(2) 本邦における COPD における mtDNA の役割

健康非喫煙者、健康喫煙者、COPD 患者間における mtDNA の比較

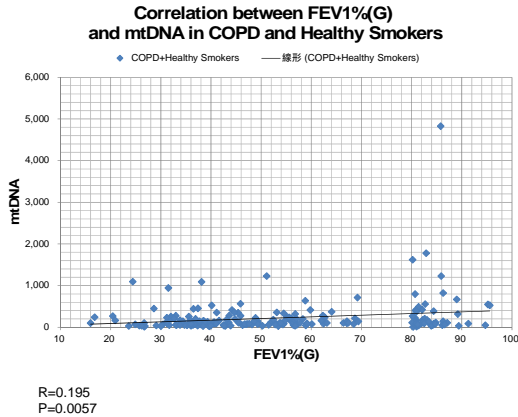
mtDNA は健康非喫煙者、健康喫煙者、COPD 患者の順に低下していた。



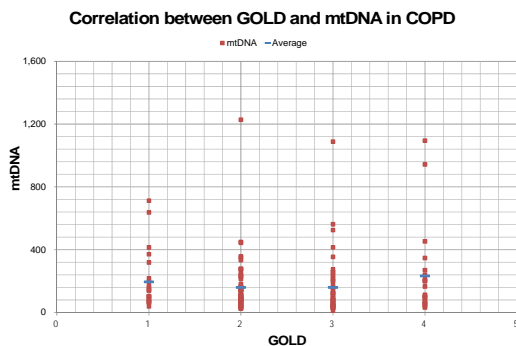
mtDNA と COPD の病態との関連性

(ア) 一秒量;FEV1%との関連性

COPD 患者では FEV1% と mtDNA は有意の相関は認められなかったが、COPD 患者を含む喫煙者では有意の負の相関が認められた。

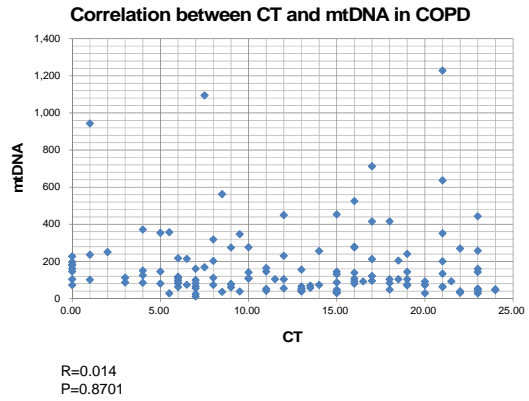


(イ) 一秒量予測値比,GOLD の重症度との関連性
有意の関連性は認められなかった。

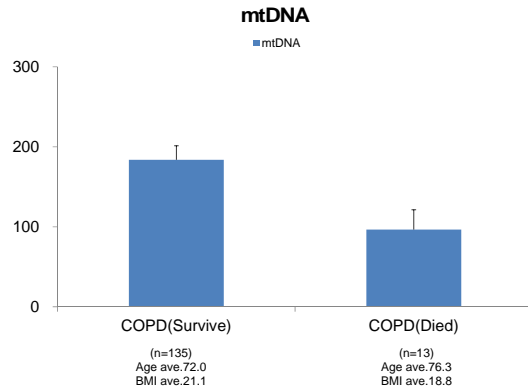


(ウ) 気腫との関連性

COPD 患者全体では有意な相関は認められなかった。スコア 12 以上の重度の気腫病変を有する群でも mtDNA は気腫スコアと相関は認められなかった。

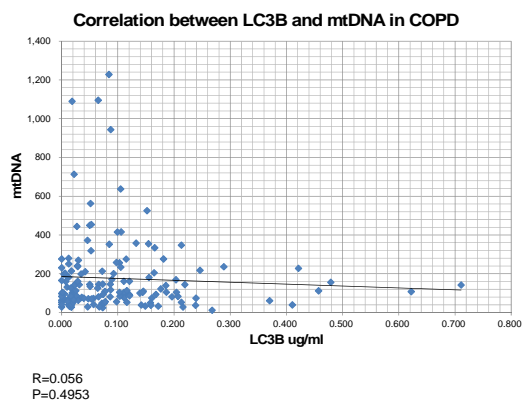


mtDNA と COPD 患者の予後との関連性
死亡例では、低下した mtDNA がさらに低下した。



なお、COPD 患者における mtDNA と BMI 及びアディポネクチンの間には関連性は認められなかった。

(3) COPD 患者における LC3B と mtDNA の関連性
関連性は認められなかった。



(4) 考案

Autophagy と気腫との関連性については未だ明らかにされていない。本研究の結果は全身における Autophagy 機能は喫煙により低下し、さらに低下すると気腫病変が発症する可能性が示唆された。喫煙者の約 20% しか COPD は発症しないとされているが、喫煙感受性と Autophagy 機能低下と関連していると考えられた。

Autophagy は飢餓状態で亢進することが知られている。本研究では COPD 患者では BMI と LC3B 及び mtDNA とは関連を認めなかった。この結果は栄養障害とは独立して Autophagy が気腫病変の発症・進展に関与していると考えられた。

本検討ではミトコンドリアの Autophagy のマーカー mtDNA が死亡例でさらに低下していることが明らかになった。Autophagy が発症・進展のみならず予後にも関与していると考えられた。この機序についてはさらなる検討が必要であると思われる。

今後は日米の COPD 患者の Autophagy 機能を比較することで COPD の表現型規定に Autophagy がいかに関与しているかを明らかにしたいと考えている。

(5) 結論

COPD とくに気腫型では全身における Autophagy の低下が発症・進展に関与していると考えられた。

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 7 件)

- (1) Distribution of bone mineral content is associated with body weight and exercise capacity in patients with chronic obstructive pulmonary disease.
Yamamoto Y, Yoshikawa M, Tomoda K, Fujita Y, Yamauchi M, Fukuoka A, Tamaki S, Koyama N, Kimura H. Respiration. 2014; 87(2):158-64. doi: 10.1159/000355095. (査読あり)
- (2) The impact of obstructive sleep apnea and nasal CPAP on circulating adiponectin levels.
Yoshikawa M, Yamauchi M, Fujita Y, Koyama N, Fukuoka A, Tamaki S, Yamamoto Y, Tomoda K, Kimura H. Lung. 2014 Apr; 192(2):289-95. doi: 10.1007/s00408-013-9550-9. (査読あり)
- (3) Mini Nutritional Assessment Short-Form predicts exacerbation frequency in patients with chronic obstructive pulmonary disease.
Yoshikawa M, Fujita Y, Yamamoto Y, Yamauchi M, Tomoda K, Koyama N, Kimura H. Respirology. 2014 Nov; 19(8):1198-203. doi: 10.1111/resp.12380. (査読あり)
- (4) Branched-chain amino acid-rich diet improves skeletal muscle wasting caused by cigarette smoke in rats.
Tomoda K, Kubo K, Hino K, Kondoh Y, Nishii Y, Koyama N, Yamamoto Y, Yoshikawa M, Kimura H. J Toxicol Sci. 2014 Apr; 39(2):331-7. (査読あり)
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/39/2/39_331/_article
- (5) 山本佳史, 吉川雅則, 木村 弘 :【すぐ役に立つ-呼吸器薬の標準的使い方】COPD 【安定期の治療】吸入薬以外の治療 テオフィリン,嗜痰調整薬,マクロライド系抗菌薬,栄養療法 .Medicina 2014,51:1850-1853.(査読なし)
- (6) Changes of ghrelin and leptin levels in plasma by cigarette smoke in rats.
Tomoda K, Kubo K, Nishii Y, Yamamoto Y, Yoshikawa M, Kimura H. J Toxicol Sci 2012;37:131-138. (査読あり)
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/37/1/37_1131/_article
- (7) Suppressed anti-oxidant capacity due to a cellulose-free diet declines further by cigarette smoke in mice.
Tomoda K, Kubo K, Asahara T, Nomoto K, Nishii Y, Yamamoto Y, Yoshikawa M, Kimura H. J Toxicol Sci. 2012; 37:575-85. (査読あり)
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jts/37/3/37_575/_article

〔学会発表〕(計 10 件)

- (1) 山本佳史, 吉川雅則, 友田恒一, 熊本牧子, 藤田幸男, 児山紀子, 山内基雄, 岡本 希, 車谷典男, 木村 弘. 藤原京スタディーにおける高齢一般住民の COPD 有病率とその実態
第 54 回日本呼吸器学会学術講演会 . 2014.4.25-27.大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル(大阪府・大阪市)
- (2) 山本佳史, 吉川雅則, 友田恒一, 熊本牧子, 藤田幸男, 児山紀子, 山内基雄, 岡本 希, 車谷典男, 木村 弘. 高齢一般住民における COPD 有病率とその実態—藤原京スタディからの検討
第 24 回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会学術集会 . 2014.10.24-25. なら 100 年會館・ホテル日航奈良(奈良県・奈良市)
- (3) 山本佳史, 吉川雅則, 友田恒一, 熊本牧子, 藤田幸男, 児山紀子, 山内基雄, 岡本 希, 車谷典男, 木村 弘. 藤原京スタディにおける高齢一般住民における呼吸機能の検討 .
第 111 回 日本内科学会総会・講演会 . 2014.4.11-13. 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)
- (4) Yamamoto Y, Yoshikawa M, Fujita Y, Tomoda K, Yamauchi M, Koyama N, Fukuoka A, Kimura H. Mini nutritional assessment short-form (MNA-SF) can predict exacerbation in COPD independently of COPD assessment test(CAT). The 18th congress of the Asian Pacific Society of Respiriology, 2013.11.11-14.パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)
- (5) 山本佳史, 吉川雅則, 友田恒一, 藤田幸男, 山内基雄, 児山紀子, 熊本牧子, 大屋貴広, 中村篤宏, 木村 弘. 慢性閉塞性肺疾患 (COPD)患者における骨粗鬆症と QOL および予後との関連. 第 53 回日本呼吸器学会学術講演会, 2013.4.19-21.東京国際フォーラム(東京都・千代田区)
- (6) 山本佳史, 吉川雅則, 友田恒一, 藤田幸男, 山内基雄, 児山紀子, 熊本牧子, 中村篤宏, 木村 弘. 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者における骨粗鬆症関連因子と予後との関連. 第 23 回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会学術集会, 2013.10.10-11.東京ドームホテル(東京都・文京区)
- (7) 吉川雅則, 木村 弘. COPD における栄養障害と増悪. 第 22 回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会学術集会. 福井, 2012.11.23-24. 福井フェニックス・プラザ(福井県・福井市)
- (8) 山本佳史, 吉川雅則, 藤田幸男, 友田恒一, 山内基雄, 児山紀子, 福岡篤彦, 木村 弘. 慢性閉塞性肺疾患 (COPD)患者における腰椎骨密度の関連因子. 第 109 回日本内科学会総会・講演会, 2012.4.13-15 みやこめっせ(京都府・京都市)
- (9) 山本佳史, 吉川雅則, 藤田幸男, 友田恒一, 山内基雄, 児山紀子, 福岡篤彦, 木村 弘. 慢性閉塞性肺疾患 (COPD)患者における骨密度の規定因子. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会, 2012.4.20-22.神戸コンベンションセンター(兵庫県・神戸市)
- (10) 大屋貴広, 吉川雅則, 山本佳史, 友田恒一, 藤田幸男, 山内基雄, 児山紀子, 福岡篤彦, 木村 弘. COPD アセスメントテスト(CAT)と Mini nutritional assessment (MNA)による栄養評価との関連. 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会, 2012. 4.20-22.神戸コンベンションセンター(兵庫県・神戸市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 佳史 (YAMAMOTO, Yoshifumi)
奈良県立医科大学・医学部・助教
研究者番号: 0 0 4 5 8 0 3 5

(2) 研究分担者

木村 弘 (KIMURA, Hiroshi)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 2 0 1 9 5 3 7 4

吉川 雅則 (YOSHIKAWA, Masanori)
奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 8 0 2 7 1 2 0 3

友田 恒一 (TOMODA, Koichi)
奈良県立医科大学・医学部・講師
研究者番号: 9 0 3 6 4 0 5 9