

(2) COPDに関する調査研究

② 喫煙及び受動喫煙のCOPD等における健康被害の評価

喫煙及び受動喫煙のCOPD等における健康被害の評価

研究代表者：相良 博典（昭和大学）

【第12期環境保健調査研究の概要・目的】

喫煙および受動喫煙は慢性閉塞性肺疾患（COPD）やぜん息など種々の呼吸器疾患の原因となる。世界保健機関（WHO）の予測によると、主に喫煙により引き起こされるCOPDが2030年には死因の第三位となる可能性がある。日本における喫煙率は2018年で男性29.0%、女性8.1%であった（厚生労働省「国民健康・栄養調査」から）。以前よりも喫煙者数は低下傾向にあるものの女性喫煙者数の減少率は緩やかであり、特に50歳代の女性では増加傾向にあるなど、依然として喫煙および受動喫煙による健康被害は無視できないものである。近年、加熱式たばこの普及が進んでおり、20-30歳の男性の50%が加熱式たばこを利用している。加熱式たばこの普及による若年層や女性における喫煙行動の変化の結果、今後長期的な健康被害が危惧される事態となりつつあるが、その実態は不明な点が多い。

喫煙及び受動喫煙による健康被害の一つとして、COPD およびそれに伴ったフレイルという状態があげられる。フレイルとは身体的機能の衰弱のみならず、認知能の低下などの精神心理的問題や独居・経済的困窮などの社会的問題を含んだ包括的概念であり、介入により脱却できる可逆的な疾患概念でもある。フレイルに関連して、サルコペニアという筋肉量の低下はCOPD患者のADL低下に直結しており、健康寿命の延伸のためには正確なサルコペニアの評価と介入が必要と考えられる。

2020年には全世界で新型コロナウイルス肺炎が蔓延し、喫煙者やCOPDの合併が重症化のリスク因子であることが示された。改めて喫煙や受動喫煙による健康被害が浮き彫りになり、禁煙の重要性がこれまで以上に高まっていると考えられる。

喫煙や受動喫煙を予防することで、将来のCOPDなど呼吸器疾患患者を減少できると考える。世界に先駆けた健康的な高齢化社会の基盤整備のために、加熱式たばこを含む喫煙環境がCOPDなどの呼吸器疾患、さらにはフレイルに与える影響について実態調査と客観的評価手法の確立、そして包括的健康管理手法の策定を本研究の目的とする。また、加熱式たばこの有害性を基礎的実験で示すことにより、禁煙行動をうながすきっかけを提示することを目的とする。

1 研究従事者（○印は研究代表者）

- 相良 博典（昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門）
- 大西 司（昭和大学江東豊洲病院）
- 小田 成人（山梨赤十字病院）
- 鈴木慎太郎（昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門）
- 本間 哲也（昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門）
- 井上 英樹（昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門）
- 平井 邦朗（昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門）
- 大田 進（昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門）
- 三國 肇子（昭和大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学部門）
- 藤原 明子（昭和大学江東豊洲病院）

2 令和2年度の研究目的

COPDに関連する健康被害の客観的評価や健康管理手法の確立のために以下の目的を立案した。

1. COPD患者を対象としたフレイルの評価のための客観的指標の探索
2. COPD患者を対象とした筋肉量低下（サルコペニア）の評価
3. COPD患者を対象としたフレイルに対する薬物介入の検討：漢方薬（人参養栄湯）の検討
4. 加熱式たばこの気道上皮細胞への影響に関する基礎的実験

3 令和2年度の研究対象及び方法

【1. COPD患者を対象としたフレイルの評価のための客観的指標の探索：筋肉量低下（サルコペニア）の評価】

前年度の検討でCOPD患者において、Kihon Checklist（KCL）がフレイルの状態をより簡便かつ高感度で検出できることを示した。本年度は、外来通院中のCOPD患者を対象として、血清クレアチニン/シスタチンC比（Cr/CysC）がサルコペニアの指標やCOPDの増悪頻度と関連があるか検討を行った。サルコペニアの診断基準として、サルコペニア・アジアワーキンググループの基準である低筋肉量、低筋力、低身体機能を用いた。低筋肉量として、InBody770を用いて測定し7.9kg/m²以下、低筋力として、握力26kg未満、低身体能力として、歩行速度0.8m/秒未満と定義した。その他、年間のCOPD増悪頻度を前向きに観察した。血清Cr/CysC、Cr、CysC、アルブミン値それぞれについてAUC曲線を作成し、サルコペニアの指標として有用性を検証した。

【2. COPD患者を対象としたフレイルに対する薬物介入の検討：漢方薬（人参養栄湯）の検討】
COPD患者などに合併するフレイルに対して、特異的な治療方法は未だ確立されていない状況である。フレイルは食思不振、低栄養や気分障害など従来の薬物療法では対処しにくい症候を特徴としている。漢方薬の中にはこれらのフレイルの症状を改善するものがあり、特に人参養栄湯には地黄、当帰、白朮、茯苓、人参、桂皮、遠志、芍薬、陳皮、黄耆、甘草、五味子などの多様な成分が含まれておりフレイルへの効果が期待される（Uto et al. Front Nutr 2018, 5:126）ため、COPD患者に対する治療効果を検証した。昭和大学呼吸器アレルギー内科外来通院中のCOPD患者を対象とし、人参養栄湯による治療介入群と通常のCOPD治療を行うコントロール群の2群に割り付けた。主要評価として、フレイル指標（KCL）の24週後の改善度を設定し、副次評価項目として24週後のSNAQスコア（食欲の評価）、COPDアセスメントテスト（CAT：COPDのQOL指標）、HADS（不安や抑うつの評価）を設定した。統計手法として、Wilcoxon順位和検定を24週後の変化量の2群間比較に用いた。

本研究は昭和大学病院倫理委員会の承認を受けた（承認番号：2268）。また、臨床研究レジストリー（UMIN-CTR、000034582）に登録後に実施した。

【3. 加熱式たばこの気道上皮細胞への影響に関する基礎的実験】

気道上皮細胞としてCalu-3細胞を用い、気相-液相培養（Air-liquid interface：ALI）にて7から10日間培養することで細胞間接着が分化した状態を作成した。加熱式たばこ煙抽出液として、アイコス・マールボロ・ヒートスティック・レギュラーをアイコス（IQOS）にて加熱し、バキュームにて吸引し、吸引回路の途中で細胞培地（25ml）に通すことで、加熱式たばこ抽出液（HTE）を作成した。同様の手順で実験用紙巻きたばこである3R4Fによる紙巻きたばこ抽出液（CSE）も作成した。得られたたばこ抽出液をALI培養の気相面に50μl添加し、実験に供した。

評価項目として、搔抓創傷治癒アッセイを用いた上皮修復能の測定、細胞間接着因子（Z0-1）、上皮成長因子受容体 ErbB2 の蛍光免疫染色による観察、細胞上清中の炎症性サイトカイン（IL-8、IL-6）の ELISA による測定を行い、コントロール細胞、HTE 曝露細胞、CSE 曝露細胞それぞれでの反応の差異を検討した。

4 令和2年度の研究成果

【1. COPD 患者を対象としたフレイルの評価のための客観的指標の探索：筋肉量低下（サルコペニア）の評価】

201 名の COPD 患者（年齢中央値：76 歳）を横断的に検討した。KCL で評価した場合、フレイルと評価された患者数は 76 名（38%）であり他の指標より多かった（図 1）。身体因子や精神的因子との関連をみたところ、KCL は J-CHS、SOD と比較して、COPD アセスメントテスト（CAT：COPD の QOL 指標）、mMRC（運動耐用能）、HADS（不安や抑うつの評価）、SNAQ（食欲の評価）、ADO スコア（身体機能評価）においてより強い相関を認めた（図 2）。KCL は COPD 診療においてフレイルを簡便に拾い上げることができる問診票としての有用性が示唆された。COPD に関連した QOL や運動耐用能を評価するとともに、通常診療では見逃されやすい因子である「気分障害」、「認知機能障害」、「社会的活動力低下」を検出できる指標であると考えられた（発表論文 1）。

図 1. 各指標におけるフレイルの割合

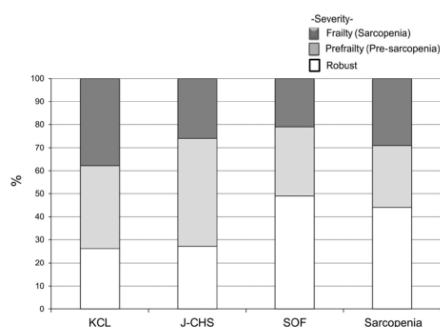
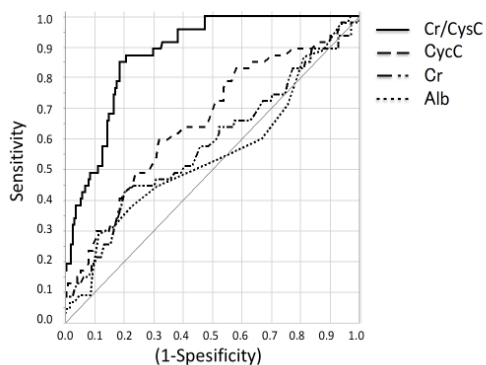


図 2. 各指標と身体・精神的因子との関連

	Kihon Checklist		J-CHS		SOF	
	r	P	r	P	r	P
BMI	-0.2795	<0.0001	-0.329	<0.0001	-0.3593	<0.0001
CAT	<u>0.6014</u>	<0.0001	0.4051	<0.0001	0.3492	<0.0001
mMRC	<u>0.589</u>	<0.0001	<u>0.4753</u>	<0.0001	0.3464	<0.0001
HADS-Anxiety	<u>0.4703</u>	<0.0001	0.2047	0.0039	0.2273	0.0013
HADS-Depression	<u>0.457</u>	<0.0001	0.2661	0.0002	0.2907	<0.0001
HGS	<u>-0.411</u>	<0.0001	<u>-0.5536</u>	<0.0001	-0.3448	<0.0001
SNAQ	<u>-0.4749</u>	<0.0001	-0.39	<0.0001	-0.3412	<0.0001
%FEV ₁	-0.2452	0.0005	-0.2823	<0.0001	-0.2102	0.003
ADO score	<u>0.5291</u>	<0.0001	<u>0.5064</u>	<0.0001	0.3812	<0.0001

これらの結果を踏まえ、成人男性 COPD 患者 234 名を対象としフレイルの構成因子であるサルコペニアの指標との関連を前向きに検討した。血清 Cr/CysC は握力 ($r=0.53$, $P<0.01$)、筋肉量 ($r=0.44$, $P<0.01$) とそれぞれ有意な正相関を認めた。サルコペニアについて、血清 Cr/CysC、CysC、Cr、アルブミン値のそれぞれの AUC 値は、0.87、0.63、0.61、0.57 であり、Cr/CysC が最も感度・特異度が高くサルコペニアを検出できた (図 3、発表論文 2)。多変量解析の結果、Cr/CysC の低値は入院が必要な急性増悪のリスクであることが示された。Cr/CysC のカットオフ値として 0.71 以下を用いると、低身体機能や COPD の重症増悪を予測できる可能性が示唆された。以上の結果より、サルコペニアの指標としての Cr/CysC は日常診療においてより簡便で迅速に測定できるサルコペニアの早期検出マーカーとして有用であることが示唆された。

図3. サルコペニアと各指標のAUC曲線



【2. COPD 患者を対象としたフレイルに対する薬物介入の検討：漢方薬（人參養榮湯）の検討】

昭和大学病院に通院中の COPD 患者 62 名（男性 53 名、女性 9 名）を対象とした。フレイルに対する治療介入として人參養榮湯内服群（7.5g/日、31 名）と通常治療群（31 名）に非盲検ランダム化割り付けを行った。24 週の治療介入によって、主要評価項目である KCL スコアは人參養榮湯内服群で改善傾向が認められた ($P=0.09$)。副次評価項目である CAT スコア、SNAQ スコア、HADS 不安スコア、HADS 抑うつスコアについては人參養榮湯内服群で有意差をもって改善を認めた ($P<0.05$ 、図 4)。有害事象として、人參養榮湯内服群で下痢が 4 名で認められたが、内服量の減量により対処できた。これらの結果から、COPD 患者における人參養榮湯の内服は、QOL や食欲、気分障害などによるフレイル状態を改善させる可能性が示唆された (図 5、発表論文 3)。

図4. フレイルCOPD患者に対する人參養榮湯内服による治療介入

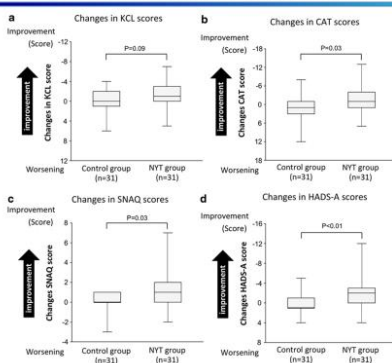
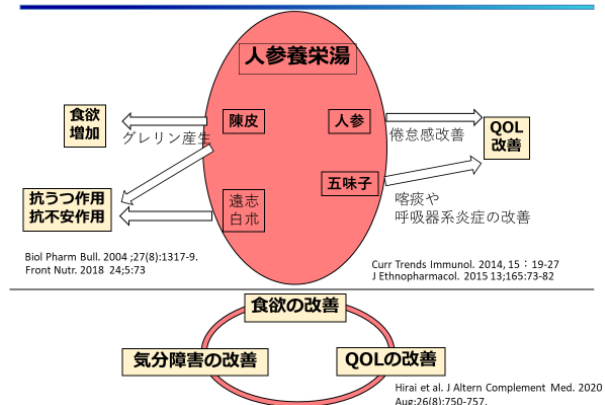


図5. フレイルCOPD患者の治療



【3. 加熱式たばこの気道上皮細胞への影響に関する基礎的実験】

気道上皮細胞株 Calu-3 の ALI 培養において、搔把創傷治癒アッセイで評価した上皮修復能は、加熱式たばこ抽出液の曝露によってコントロールと比較して上皮修復能の低下が認められた (図 6)。細胞間接着因子である ZO-1 の発現については、コントロールと加熱式たばこ抽出液もしくは紙巻きたばこ抽出液の曝露においても変化を認めなかった (図 7)。上皮成長因子受容体であるリン酸化 ErbB2 の発現は、加熱式たばこ抽出液曝露で増加を認めた (図 8)。加熱式たばこ抽出液の曝露によって炎症性サイトカインである IL-8 の上昇傾向が認められた (図 9)。

図6. 加熱式たばこ抽出液曝露で創傷治癒能の低下を認めた

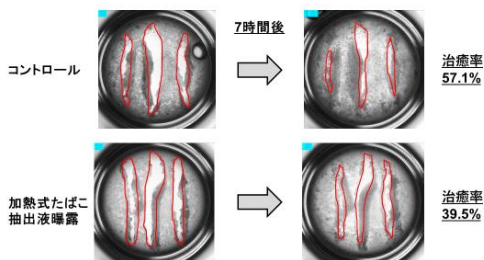


図7. 加熱式たばこ抽出液曝露による上皮細胞への影響:ZO-1

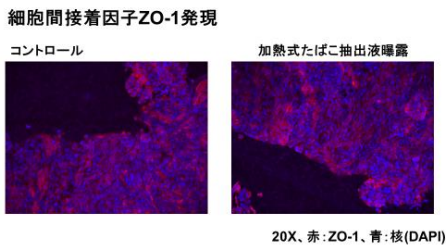


図8. 加熱式たばこ抽出液曝露による上皮細胞への影響:ErbB2

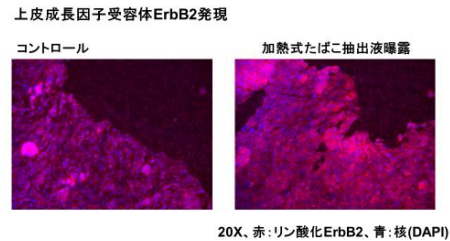
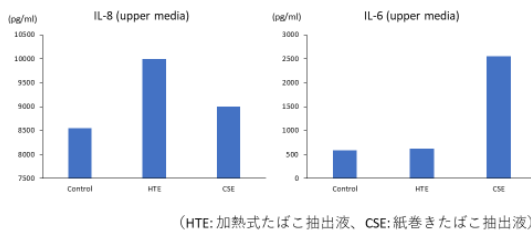


図9. 加熱式たばこ抽出液曝露による炎症性サイトカインの検討



加熱式たばこ刺激で炎症性サイトカインIL-8が上昇する可能性がある

5 考察

【令和元年度】

- ・ COPD 症例は COPD と診断後も喫煙していること
- ・ 喫煙を継続している COPD 症例は食欲の低下を認めていること
- ・ 喫煙の継続において家族のサポートが必要であること
- ・ 喫煙の継続において独居は重要な因子であること
- ・ 加熱式たばこは減煙など、不適切な喫煙行動が継続されていること
- ・ COPD 症例において基本チェックリストによるフレイル状態の評価の妥当性
- ・ COPD 症例においてフレイルやプレ・フレイル状態が高率で認められることが確認された。

【令和2年度】

本年度の研究成果から以下の考察を挙げる。

1. フレイルとは加齢に伴う身体的な脆弱を主体とした脆弱状態である。フレイルは要介護状態に至る前段階であり、健康寿命の延伸のために早急に対策が必要な前疾患状態である。COPD 患者は老化、喫煙、全身性炎症など、フレイルに至る複数のリスク要因があるため非 COPD 患者と比較するとフレイルの患者が多い。

本年度の研究結果から、フレイルの構成する因子の一つであるサルコペニアの検出に、血清 Cr/CysC は時間的に限られた日常診療においても簡便かつ経済的に測定できるサルコペニアのマーカーとして有用であることを示した。また、血清 Cr/CysC 値が低値の COPD 患者においては将来的に COPD の増悪リスクがあるため、より厳重な治療管理を要する指標となり得る。

前年度の研究結果から、KCL は COPD フレイルの評価に優れていることを示した。KCL は COPD に関連した QOL や運動耐用能を評価するとともに、通常診療では見逃されやすい因子である「気分障害」、「認知機能障害」、「社会的活動力低下」を検出できる指標であることを示した。COPD 患者に対する診療を行うにあたり、血清 Cr/CysC や KCL を積極的に活用することで、COPD フレイルを早期に拾い上げ、COPD 患者の健康被害を軽減することに貢献できる可能性が示唆された。

2. COPD フレイルに対する治療介入の可能性として、漢方薬の一つである人参養栄湯による治療が有望である可能性が示唆された。人参養栄湯は、疲労や食欲低下、気分障害などに薬効を有する漢方薬である。症例報告レベルでの COPD 患者に対する有効性の報告はこれまでであったが、臨床研究レベルでの報告はこれまでなかった。今回の研究で、COPD フレイル患者に対する 24 週間の人参養栄湯による治療によって、QOL や食欲、気分障害の改善効果が示された。また重篤な有害事象も認めなかった。本研究の limitation として、プラセボ群が無いことやサンプルサイズが比較的小さいこと、体重減少に対する検討がなされていないことが考えられた。COPD フレイル患者において、人参養栄湯による治療介入によって食欲や QOL、気分障害の改善を示し、より安全かつ効果的なフレイル治療となる可能性が示唆された。

3. 加熱式たばこ喫煙及び受動喫煙による健康被害を検討するため、気道上皮細胞株の ALI 培養を用い加熱式たばこ煙抽出液曝露の影響を検討した。加熱式たばこ抽出液の曝露によって、創傷治癒アッセイにおいて創傷治癒の低下が認められた。加熱式たばこ抽出液の曝露によって気道上皮細胞から炎症性サイトカイン IL-8 の上昇を認め、加熱式たばこ喫煙によって気道炎症が惹起される可能性が示唆された。また、蛍光免疫染色での細胞間接着因子 ZO-1 発現は明らかな差

を認めなかった。一方、上皮成長因子受容体 ErbB2 の発現の上昇を認め、加熱式たばこによる気道上皮細胞の障害による反応性の発現上昇が示唆された。加熱式たばこの気道上皮細胞に対する影響について、また加熱式たばこ煙に含まれるどの物質が気道上皮細胞への影響をもたらすのかはさらなる検討が必要である。

6 次年度に向けた課題

COVID-19 流行下において、外来受診者数の減少、ぜん息や COPD 増悪数の減少など患者の健康に対する行動変容が認められている。以前にもまして健康に対する意識の向上が進んでいると考える。

次年度として COVID-19 流行に伴い喫煙者に対する禁煙意識の調査を行う。新型コロナウイルスの蔓延に伴う健康意識の向上に伴い、喫煙行動に変化が認められたかどうかを検証する。

COPD の薬物療法として吸入薬が主なものとなる。吸入薬には各種のデバイスがあり、各デバイスのアドヒアランスについては検証されていない。多施設でのアドヒアランスの調査を行う。

気道上皮細胞を用いた基礎実験を継続して行う。加熱式たばこ曝露によって IL-8 の産生が亢進する可能性が示唆された。このことから CXCL8 などの IL-8 パスウェイに注目し、加熱式たばこによって障害を受ける細胞内シグナルの検証を行う。加熱式たばこ抽出液曝露によって気道上皮修復障害を認めたが、細胞接着因子 ZO-1 の発現に差を認めなかった。今後は、claudin などの他の細胞接着因子に着目するとともに、細胞増殖や細胞遊走、アポトーシスに関わる因子についても検討を行いたい。加熱式たばこ抽出液曝露によって上皮成長因子受容体 ErbB2 の発現上昇が認められた。ErbB2 は肺癌や乳癌など上皮性悪性腫瘍に関与する因子であることから、慢性的なたばこ曝露刺激は、過剰な上皮修復や上皮増殖を通して発癌に至る可能性が本研究からも示唆された。また、気道上皮細胞にウイルス曝露モデルとして polyI:C を添加した状態で加熱式たばこ抽出液の曝露を行い、ウイルス感染が加熱式たばこによる気道障害をより悪化させるかどうかの検証を行う。これらの結果から、新型コロナウイルス流行下における、禁煙への行動変容を促す科学的データとして提示したい。

7 期待される成果及び活用の方向性

喫煙及び受動喫煙による健康被害として COPD は重要な疾患の一つである。COPD 患者においてフレイルの存在は患者の QOL を維持・管理するうえで常に評価を行う必要がある。本研究を通して、COPD 患者のフレイルを簡便に検出する方法として KCL が有用であることを示した。KCL を活用することでより早期に COPD 患者のフレイルを拾い上げることができ、COPD 患者の健康寿命を延ばすことに貢献できる可能性がある。

本年度の研究によって、フレイルの要素の一つであるサルコペニアの評価に血清 Cr/CysC が有用であることを示した。COPD 患者の診療にあたって血清 Cr/CysC をスクリーニングとしサルコペニア患者の早期的な拾い上げを行うことによって、COPD 患者のサルコペニア予防や健康寿命の延伸に寄与できる可能性が示唆された。また、本研究の結果から血清 Cr/CysC は COPD 増悪の発症予測因子としても有用であることが示唆された。血清 Cr/CysC を用いることで、COPD 患者のサルコペニアを早期に検出することができ、適切な介入を行うことで健康寿命の延伸に役立てることができると考えられる。また、血清 Cr/CysC が低値の COPD 患者の診療において、より厳密な治療管理を行うことで、将来の COPD 増悪予防に役立てることができると考えられる。

本研究から、COPD フレイルの薬物治療の選択肢の一つとして、漢方薬である人参養栄湯が有

効である可能性を示した。人参養栄湯による治療によって、COPDに伴うQOLの改善を示すとともに、食欲改善効果、および抑うつや不安などの気分障害の改善を示すなど、フレイルに特徴的な症候を広範に改善できる可能性が示唆された。薬物障害による副作用も軽度の下痢が小数例で認められたのみであり、COPDの日常診療に追加する薬剤として安全性も期待できる。COPDフレイルによる健康被害を軽減させる薬物として人参養栄湯の効果が期待される。

近年、加熱式たばこの喫煙率が若年喫煙者で上昇している。紙巻きたばこ由来のタールなどの有害物質が軽減されていることから、減煙手段として誤った認識のもと喫煙を継続しているケースも見受けられる。加熱式たばこの有害性・健康への影響を示すために、基礎実験として気道上皮細胞培養を用い加熱式たばこ由来抽出液の影響を検討した。気道上皮細胞はALI培養という生体により近い条件を用い、加熱式たばこ煙の抽出液を曝露物質として用いた。その結果、加熱式たばこ抽出液曝露によって気道上皮細胞の修復障害が認められ、炎症性サイトカイン上昇が認められた。このことから、たばこ燃焼による有害物質の発生が抑えられている加熱式たばこであっても、気道上皮細胞への炎症惹起作用は軽減されておらず、健康被害に影響を及ぼすと考えられた。これらの結果を用いて、加熱式たばこを含めた禁煙行動への啓蒙活動に役立てることができると考えられた。

受動喫煙の健康被害への影響を検討する研究を次年度では検討する。基礎的実験の検討としては、受動喫煙はフィルターを通さない副流煙が問題となることから、たばこ抽出液を作成する際にフィルターを取り除いたたばこを用いて、燃焼もしくは加熱させ35ml シリンジで吸引することでたばこ煙を回収し、培地に通すことでたばこ副流煙抽出液を作成する。作成したたばこ副流煙抽出液を気道上皮細胞に曝露し、炎症性サイトカインや創傷治癒率の測定などを行い、副流煙の気道上皮細胞への有害性を示す。

最終年度として、研究結果の社会への還元方法の方策も検討する。本研究結果を簡潔にまとめ、昭和大学病院の呼吸器アレルギー内科外来や禁煙外来、関連施設の外来通院患者（特に喫煙者）に対してリーフレットを手渡し、禁煙の啓蒙活動とする。また、昭和大学呼吸器アレルギー内科ホームページ(<https://www.showa-kokyuki.com/>)にも研究結果の概要を掲載することで、社会への還元を行っていく。

【学会発表・論文】

1. Hirai, K.; Tanaka, A.; Homma, T.; Kaneko, K.; Uno, T.; Sato, H.; Manabe, R.; Ohta, S.; Kusumoto, S.; Yamaguchi, F.; et al. Comparison of three frailty models and a sarcopenia model in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Geriatr. Gerontol. Int.* **2019**, *19*, 896-901, doi:10.1111/ggi.13740.
2. Hirai, K.; Tanaka, A.; Homma, T.; Goto, Y.; Akimoto, K.; Uno, T.; Yoshitaka, U.; Miyata, Y.; Inoue, H.; Ohta, S.; et al. Serum creatinine/cystatin C ratio as a surrogate marker for sarcopenia in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Clin. Nutr.* **2020**, doi:10.1016/j.clnu.2020.08.010.
3. Hirai, K.; Homma, T.; Matsunaga, T.; Akimoto, K.; Yamamoto, S.; Suganuma, H.; Kashima, A.; Sato, H.; Ebato, T.; Miyata, Y.; et al. Usefulness of Ninjin' yoeito for Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients with Frailty. *J. Altern. Complement. Med.* **2020**, *26*, 750-757, doi:10.1089/acm.2020.0083.