

氏 名 たか ちひろ
高 千紘

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 富医薬博甲第 231 号

学位授与年月日 平成 29 年 3 月 23 日

学位授与の要件 富山大学学位規則第 3 条第 3 項該当

教 育 部 名 富山大学大学院医学薬学教育部 博士課程
生命・臨床医学専攻

学位論文題目 Correlation between physical activity and SIRT1 in
patients with chronic obstructive pulmonary disease.
(慢性閉塞性肺疾患患者における身体活動性と SIRT1 との関連)

論文審査委員

(主査)	教 授	木村 友厚
(副査)	教 授	田村 了以
(副査)	教 授	笹原 正清
(副査)	教 授	將積 日出夫
(指導教員)	教 授	戸邊 一之

論文内容の要旨

〔目的〕

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は、慢性呼吸不全の最も重要な原因の一つである。世界各国におけるその有病率は40歳以上で約10%であり、日本では少なくとも8.6%であろうと評価されている。COPDの主要な原因はタバコ煙への長期暴露であり、気道および肺に慢性的炎症を来し、気道のリモデリングと閉塞性呼吸機能障害をまねく。薬物療法はCOPDの症状を軽減するが、進行性で呼吸不全や全身性合併症をもたらす。

身体活動は安静時よりも多くのエネルギー消費を来す全ての活動を指す。近年、身体活動がCOPD患者における最良の全死因死亡予測因子であると示され、COPDのガイドラインでも患者の平均身体活動量を増やすよう推奨している。しかし、身体活動がCOPDの予後に影響する機序は解明されていない。

SIRT1はNAD⁺依存性のヒストン脱アセチル化酵素で、細胞の核内に主に局在し、寿命のメディエーターとして多くの関心をひいている。COPDにおいても、SIRT1がFOXOやp53、NF κ Bのような基質を脱アセチル化することで、酸化ストレスや細胞老化、炎症を制御し疾患の進行に対抗すると考えられている。さらに、運動が骨格筋や末梢血単核球（PBMC）中のSIRT1のmRNA量やタンパク発現量、さらには酵素活性を増加するという報告がある。我々は、身体活動がSIRT1の発現を誘導することでCOPD患者の予後を改善すると仮定し、検証するために、COPD患者の身体活動とSIRT1発現との関係を調べる横断的研究をデザインした。

〔方法並びに成績〕

2015年6月から2016年4月の間で、登録前3ヵ月内の増悪歴がない男性COPD通院患者を対象とし、計18人の参加者を得た。この研究は富山大学附属病院の倫理委員会の許可のもとで実施され、各被験者から書面での説明と同意を得た。

各被験者の年齢や喫煙歴、BMIといった臨床指数を求め、スパイロメトリーによる努力肺活量および1秒量、血液ガス分析による安静室内気時の動脈血酸素分圧、6分間歩行距離（6MWD）による運動耐用能、胸部CT画像を用いた脊柱起立筋断面積を計測した。

身体活動性は、独自のアルゴリズムで活動強度:METsを計算する3軸加速度計を用いて求めた。各被験者に、腰ベルトに活動量計を着けて2週間過ごしてもらい、入浴時を除く朝起きてから夜寝るまでの活動量を測定した。その後データを回収し、1日当たりの総消費カロリー量（TEE）、活動カロリー消費量（PAEE）、運動強度別活動時間にて日常の平均身体活動量を評価した。この研究では、活動強度を、不活動:1-1.9METs、軽強度:2-2.9METs、中強度:2-5.9METs、高強度:6METs以上と定めた。7日以上にわたり1日当たり10時間以上活動量計を装着した被験者のデータのみ適切と判断し解析に用いた。

各被験者から末梢血を採取し、密度勾配遠心分離液を用いて単核球を分離した。解析までの間は-80°の冷凍庫内で保存した。RT-PCRにて単核球中のmRNAの発現量を定量した。SIRT1以外にもその相互作用物質であるFOXO1、FOXO3のmRNA発現量を調べ、

それぞれ GAPDH で標準化した。

統計解析には、統計解析ソフトの JMP Pro 11 を使用して各測定項目間の相関を調べた。データが正規分布する場合には Pearson 相関係数を用い、正規分布しない場合には Spearman の順位相関係数を用いて検定した。統計学的な有意水準は 5%未満とした。

COPD 男性患者 18 人の平均年齢は 72 ± 9 歳、平均 1 秒量は 1.4 ± 0.56 L (予測値に対する 1 秒量は 52 ± 19 %)、GOLD による病期分類では II 期が 9 名、III 期が 8 名、IV 期が 1 名であった。

各臨床指数や検査測定値と身体活動量との関係性を調べた結果、不活動時間と 1 秒量に負の相関 ($r=0.63$, $p=0.01$)、不活動時間に対する中強度活動時間の比と 6MWD に正の相関傾向 ($r=0.54$, $p=0.06$)、脊柱起立筋断面積とカロリー消費量に正相関 ($r=0.71$, $p=0.005$) を認めた。SIRT1 と FOXO1 の mRNA 発現量は正相関し ($r=0.79$, $p<0.001$)、SIRT1 と中強度活動時間 ($r=0.57$, $p=0.03$) および不活動時間に対する中強度活動時間の比 ($r=0.63$, $p=0.02$) に正相関を認めた。

〔総括〕

加速度計は身体活動量の測定方法として客観性に優れるが、問題点もある。そのため、解析に適した被験者のデータを選び、過去に身体活動量との関連性が示されている呼吸機能および 6MWD、ESMCSA と実際の測定値の関係性を調べ、過去の報告と相違ないことを確認した。以上から、今回の活動量計による測定値が被験者の日常の身体活動量を正確に反映していると考えられた。

PBMC では、SIRT1 と FOXO1 の mRNA 発現量に強い相関を認めた。FOXO1 が SIRT1 により脱アセチル化することで活性化し、FOXO1 依存性に SIRT1 転写が誘導されるといふ以前の報告があり、本研究はこれに矛盾しない結果であった。身体活動量においては、中強度の活動時間と不活動時間に対する中強度の活動時間の比が SIRT1 mRNA 発現量と相関した。本研究は横断研究で身体活動と SIRT1 発現の前後関係は不明だが、身体活動の増加が予後の改善につながるといわれることから、中強度の身体活動によって SIRT1 の発現が上昇し予後が改善すると考えるのは理にかなう。この仮説として、身体活動に伴うカロリー消費がカロリー制限となり SIRT1 の発現を上昇させる機序や、身体活動が酸化ストレスを誘導して FOXO を活性化し SIRT1 の発現を促進させる機序が考えられる。

症例数は少ないが、中強度の身体活動時間と PBMC 中の SIRT1 mRNA 発現量の間に関連な相関関係が認められた。身体活動と予後が関連する背景に SIRT1 の発現が関わる可能性が示唆され、身体活動性と SIRT1 の関係性に関する将来的研究が COPD 患者の新しい管理方法につながるかもしれない。

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

【目的】

慢性閉塞性肺疾患(COPD)は、慢性呼吸不全を引き起こす最も主要な疾患である。COPDの原因はタバコ煙への長期暴露であり、気道および肺に慢性的炎症を来した結果、気道のリモデリングと閉塞性呼吸機能障害を来す。近年、身体活動が COPD 患者における死亡の予後予測因子であることが明らかになり、COPD の診断と治療のためのガイドラインでも、患者の身体活動量を増やすことが推奨されるようになった。しかし身体活動が変化することにより、それが実際に COPD の予後に影響するのか、また身体活動が予後に関与する機序についても全く不明である。

NAD⁺依存性のヒストン脱アセチル化酵素である SIRT1 は、長寿遺伝子産物としてよく知られているが、骨格筋や末梢血単核球(PBMC)での SIRT1 の発現が運動により増加することが報告されている。一方、COPD において、SIRT1 が酸化ストレスや炎症の制御に関連しているのでは、と考えられている。そこで高氏は、COPD において身体活動が SIRT1 の発現を誘導し、これが COPD 患者の予後の改善にも関与しているのではないかと考え、COPD 患者の身体活動と SIRT1 発現の関係を調べる横断的研究を行った。

【方法および成績】

2015 年 6 月から 2016 年 4 月の期間で、登録前 3 ヶ月内に増悪歴のない男性 COPD 通院患者 18 名を対象とした。本研究は富山大学附属病院倫理委員会の承認および被験者の同意のもとに行われた。

被験情報として、年齢、喫煙歴、BMI を得た。COPD の臨床データとして、スパイロメトリーによる努力肺活量と 1 秒量、血液ガス分析による安静時の動脈血酸素分圧、6 分間歩行距離(6MWD)を評価した。さらに胸部 CT 画像により脊柱起立筋断面積を計測した。

その結果、対象となった男性 COPD 患者の平均年齢は 72 ± 9 歳、平均 1 秒量 $1.4 \pm 0.56\text{L}$ (予測値に対する 1 秒量 $52 \pm 19\%$)、COPD の病期分類 II 期 9 名、III 期 8 名、IV 期 1 名であった。これらの被験者の各臨床パラメータと身体活動性との関係を検討すると、1 秒量と不活動時間に負の相関を($r = -0.64$, $p = 0.01$)、また脊柱起立筋断面積と総消費カロリー量 ($r = 0.73$, $p < 0.01$)、活動カロリー量($r = 0.60$, $p = 0.02$)に正の相関を認めた。一方、PBMC 中の遺伝子発現を見ると、SIRT1 と FOXO1 の発現には正の相関を認めた。また SIRT1 の発現量は、被験者の中強度活動時間($r = 0.57$, $p = 0.03$)および中強度活動時間/不活動時間 比($r = 0.63$, $p = 0.02$)と相関していた。

【総括】

本研究では、COPD の II 期以上の男性患者を対象に、身体活動性と各臨床パラメータ、および PBMC 中の SIRT1 mRNA 発現に焦点を当て、その関連性が調べられた。その結果、身体活動量と呼吸機能、脊柱起立筋断面積との間に相関を認めた。これらの結果は過去の報告と一致するものであり、また COPD 患者の身体活動性の測定に、3 軸加速度計を用いることの妥当性を示すものでもある。さらに身体活動性と PBMC の遺伝子発現の検討では、COPD 患者の中強度の身体活動時間が、SIRT1 mRNA の発現に相関することも明らかにされた。

以上のことから、COPD 患者において身体活動が予後に関連する背景として、SIRT1 の

発現に関わる可能性が初めて示された点に新規性がある。また今回の結果を基盤に、COPD 患者における身体活動性と SIRT1 発現変化についての縦断的な研究、さらに COPD 患者の PBMC の SIRT1 発現機序の研究により、COPD 患者に対する新たな管理方法へと繋がる可能性を示すものであることから、本研究は学術的重要性があり臨床的発展性も期待できる。よって本審査委員会は、本研究を博士（医学）の学位に値すると判断した。