

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K09607

研究課題名(和文) 呼気凝縮液を用いた慢性咳嗽の診断法の確立、病態評価、難治化因子の解明

研究課題名(英文) Establishment of diagnostic method, evaluation of pathological conditions and elucidation of refractory factors in chronic cough using exhaled breath condensate

研究代表者

原 丈介 (Hara, Jōsuke)

金沢大学・医薬保健学総合研究科・特任准教授

研究者番号：30710199

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本邦では人口の2%が8週間以上の慢性咳嗽を有する。執拗な咳嗽は生活の質を低下させ、患者を疲弊させる。病名を正しく診断するための検査は特殊であり、一部の医療機関においてしか実施できない。正しい診断が出来なければ、正しい治療も出来ない。どの医療機関でも非侵襲的に繰り返し採取できる呼気凝縮液に含まれる脂質mediatorの測定が慢性咳嗽の原因診断に繋がることを期待し研究を開始した。しかし、呼気凝縮中の脂質mediatorを再現性良く測定することはできなかったため、検体を血液と尿に変更し検討を行った。数種類の脂質mediatorが測定でき、慢性咳嗽の疾患毎に一定の傾向を示す可能性があることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血液と尿に含まれる数種類の脂質mediatorが測定でき、慢性咳嗽の疾患毎に一定の傾向を示す可能性があることが分かった。血液と尿はどの医療機関でも非侵襲的に採取することができ、これらの検体を調べることにより慢性咳嗽の原因疾患が診断できるようになれば、慢性咳嗽の診断が格段に容易になり、慢性咳嗽に悩む多くの患者の利益になる。

研究成果の概要(英文)：In Japan, 2% of the population has chronic cough for 8 weeks or longer. Relentless cough reduces quality of life and exhausts patients. Tests for correctly diagnosing the name of a disease are special and can only be performed at some medical institutions. If you cannot make a correct diagnosis, you cannot make a correct treatment. We started the study with the expectation that the measurement of lipid mediator contained in exhaled condensate, which can be collected repeatedly non-invasively at any medical institution, will lead to the diagnosis of the cause of chronic cough. However, since the lipid mediator during exhalation condensation could not be measured with good reproducibility, the samples were changed to blood and urine for examination. Several types of lipid mediators could be measured, and it was found that there is a possibility that a certain tendency is shown for each disease of chronic cough.

研究分野：慢性咳嗽

キーワード：慢性咳嗽 脂質メディエーター 血液 尿

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性咳嗽の3大原因疾患はアトピー咳嗽(atopic cough: AC), 咳喘息(cough variant asthma: CVA), 副鼻腔気管支症候群(sino-bronchial syndrome: SBS)である。各者の咳嗽の発生機序は全く異なるにも関わらず, 慢性咳嗽の病態的診断法が未確立であったため, 薬物療法の効果に基づいた診断(治療的診断)が行なわれてきた。国内外の咳嗽のガイドラインもこの治療的診断を推奨しているが, 治療的診断には, 次のような問題点が存在する。真に特異的な治療薬が存在しないこと, 「有効」であっても, 自然軽快する場合と偽薬効果の可能性が含まれること, 「無効」であっても, 治療が不十分であった場合と, 疾患が難治性である場合が含まれること, 複数疾患が併発した場合の治療的診断精度に限界があること, 治療的診断が「有効」と「無効」を判定する明確な基準がない, ことなどである。既存の治療にて咳嗽が軽快しない難治性咳嗽として, cough hypersensitivity syndrome (CHS) の概念が新たに提唱され (Eur Respir J. 2014), 日常臨床においても既存の治療に不応な症例が経験されるが, これらの咳嗽の病態の多くは不明である。さらに, 申請者らは, 病態的診断法を確立したが, 特殊な呼吸機能検査が必要なため, 日本でも検査可能な医療機関は当院を含め数施設でしか実施できないことが問題である。

生体内で生合成される脂質分子のうち, 比較的低濃度で, 特異的受容体を介して生物活性を示すものを総称して「脂質メディエーター」と呼ぶ。代表的な脂質メディエーターとして, 脂肪酸の一種であるアラキドン酸から生合成されるプロスタグランジン(PG)やロイコトリエン(LT)などがある。脂質メディエーターは身体恒常性の維持に不可欠な物質であり, その一方で, アレルギー疾患, 癌, 糖尿病, 免疫疾患, 炎症性疾患, 感染症および精神・神経疾患など様々な疾患の発症や進展に関与する。

申請者らは, モルモットを用いた基礎的研究により, 気管支平滑筋収縮に対する咳嗽反応亢進(咳喘息の基本病態)には, 気道内の脂質メディエーター(PGE2 および PGI2) が関与し, それぞれ咳嗽反応を亢進(Pulm Pharmacol Ther. 2018)および減弱(Exp Lung Res. 2018)させ, 両者の比率が咳嗽反応に関連している(Allergol Int. 2020)ことを見出した。また, 他施設から, 脂質メディエーターが呼吸器疾患(気管支喘息, アスピリン増悪呼吸器疾患, 慢性間質性肺炎, 運動誘発性喘息, 食物アレルギー)の病態に, LT が咳喘息の病態に関与していることが報告された(Respiration. 2012)。

呼気凝縮液(Exhaled breath condensate: EBC)は非侵襲的に繰り返し採取できる生体液である。多種類の mediator(サイトカイン, ケモカイン, 成長因子, 脂質 mediator)を含有する。近年, EBC 中の脂質 mediator を液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析法を用いて高感度に一斉解析し, 気管支喘息患者の診断や表現型の鑑別に有用であることが報告された(J. Chromatogr B 2010, J Allergy Clin Immunol 2011)。

2. 研究の目的

慢性咳嗽患者における EBC の mediator の網羅的研究は世界初である。九州大学生体防御医学研究所のUHPLC/MS/MSにより主な脂質 mediator が, 慢性咳嗽患者と健常者において測定可能であることを確認する。

代表的な mediator 以外の脂質 mediator も一斉解析し, 健常者, AC, CVA および SBS の脂質 mediator のパターンを解析する。各疾患の診断に有用な mediator を同定する。

当院の難治性咳嗽患者の脂質 mediator の全体像を評価し, 脂質 mediator の点から難治化因子を解明する。

3. 研究の方法

慢性咳嗽の臨床診断を『咳嗽に関するガイドライン』に記載のある診断基準を用いて診断する。健常者は, 健診などで胸部異常陰影を指摘され初診となったが精査にて異常のなかった呼吸器疾患の既往のない者を対象とする。

EBC の採取を簡易型の EBC 採取装置である RTube を使用する。EBC の解析は, 九州大学生体防御医学研究所において測定する。同施設では, 130 MPa の高圧耐性をもち高速高分離が可能なUHPLC(超高速液体クロマトグラフィー)と三連四重極型質量分析計によるMRM(マルチプルリアクションモニタリング)測定を組み合わせたUHPLC/MS/MSによる活性型を中心とした脂質 mediator の一斉定量分析手法を既に確立している。

健常者と疾患群間で差のある mediator を認めただ際には, 各種データベースから関連のある代謝 pathway や代謝酵素を特定する。有用な mediator の検討は主成分分析などの多変量解析によって評価する。

4. 研究成果

脂質 mediator を, 九州大学生体防御医学研究所のUHPLC/MS/MSにて高感度に繰り返し解析したが, EBC において, 再現性のある脂質 mediator は測定されなかった。EBC の採取方法, 保存条件および測定までの時間を変更し, また, 他施設の EBC も使用したが, 同様の結果であった。一方, 尿においては, 測定した45種の脂質 mediator のうち, 7種の脂質 mediator が再現性良く測定できた。尿は脂質メディエーターの内因性合成を評価できる有用かつ容易に採取可能な生体液であり(J Lipid Res. 2019), 尿による再検討が必要と考えられた。

尿中脂質メディエーター（一部の慢性咳嗽症例）							
濃 度 (pmol/ mL)	8_iso_P GF _{2a}	12(S)- HETE	Arachid onic acid	Eicosapenta enoic acid	Docosahexa enoic acid	tetranor PGEM	2_3- dino r- 8iso - PGF _{2a}
患者 1	1.554	0.06 8	17.058	4.251	2.859	-----	1.89 6
患者 2	3.664	2.87 7	137.052	103.399	105.959	226.944	13.4 50

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	笠原 寿郎 (Kasahara Kazuo) (30272967)	金沢大学・医学系・准教授 (13301)	
研究分担者	石浦 嘉久 (Ishiura Yoshihisa) (60293338)	関西医科大学・医学部・臨床教授 (34417)	
研究分担者	和泉 自泰 (Izumi Yoshihiro) (70622166)	九州大学・生体防御医学研究所・准教授 (17102)	
研究分担者	阿保 未来 (Miki Abo) (70733864)	金沢大学・医学系・協力研究員 (13301)	
研究分担者	大倉 徳幸 (Noriyuki Ohkura) (80397215)	金沢大学・附属病院・助教 (13301)	
研究分担者	藤村 政樹 (Masaki Fujimura) (90190066)	金沢大学・医学系・協力研究員 (13301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------