HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	慢性閉塞性肺疾患(COPD)の臨床経過についての多面的バイオマーカーに関する研究
Author(s)	武井, 望
Description	配架番号：2613
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14494号
Issue Date	2021-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k14494
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86891
Type	doctoral thesis
File Information	Nozomu_Takei.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文

慢性閉塞性肺疾患(COPD)の臨床経過についての多面的バイオマーカーに関する研究

(Studies on multi-faceted biomarkers on the clinical course of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD))

２０２１年３月

北　海　道　大　学

武　井　望

学　位　論　文

慢性閉塞性肺疾患(COPD)の臨床経過についての多面的バイオマーカーに関する研究

(Studies on multi-faceted biomarkers on the clinical course of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD))

２０２１年３月

北　海　道　大　学

武　井　望

目　次

発表論文目録および学会発表目録　・・・・・・・・・・・・・・・・・・　１頁

要旨　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　４頁

略語表　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　７頁

緒言　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　９頁

第１章　COPD 患者における血清α_1-アンチトリプシン値と長期臨床経過についての検討

第１節　緒言　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　１７頁

第２節　方法　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　１８頁

第３節　結果　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　２０頁

第４節　考察　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　２５頁

第５節　本章の結論　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　２８頁

第２章　β_2-アドレナリン受容体遺伝子*(ADRB2)*多型と COPD 患者の長期臨床経過についての検討

第１節　緒言　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　２９頁

第２節　方法　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　３１頁

第３節　結果　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　３３頁

第４節　考察　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　３７頁

第５節　本章の結論　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　３９頁

第３章　胸部単純 CT の心血管指標を用いた COPD 患者の長期臨床経過についての検討

第１節　緒言　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　４０頁

第２節　方法　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　４２頁

第3節　結果　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　４５頁
第4節　考察　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　５２頁
第5節　本章の結論　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　５５頁
第4章　結論　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　５６頁

謝辞　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　５８頁
利益相反　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　５９頁
引用文献　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　６０頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

１．Nozomu Takei, Masaru Suzuki, Hironi Makita, Satshi Konno, Kaoruko Shimizu, Hiroki Kimura, Hirokazu Kimura, Masaharu Nishimura.

Serum Alpha-1 Antitrypsin Levels and the Clinical Course of Chronic Obstructive Pulmonary Disease.

International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 14:2885-2893;2019.

2. Nozomu Takei, Masaru Suzuki, Naoya Tanabe, Akira Oguma, Kaoruko Shimizu, Hirokazu Kimura, Hironi Makita, Susumu Sato, Toyohiro Hirai, Isao Yokota, Satoshi Konno, Masaharu Nishimura

Combined assessment of the pulmonary arterial enlargement and coronary calcification predicts prognosis of patients with chronic obstructive pulmonary disease.

本論文は、CHEST 誌に投稿中である。

本研究の一部は以下の学会に発表した。

１．　武井　望、鈴木　雅、牧田　比呂仁、今野　哲、清水　薫子、木村　裕樹、木村　孔一、西村　正治

COPD 患者における血清α_1-アンチトリプシン値と臨床経過についての検討

第 57 回日本呼吸器学会学術講演会、平成 29 年 4 月 21 日、東京

2.　Nozomu Takei, Masaru Suzuki, Hironi Makita, Satshi Konno, Kaoruko

Shimizu, Hiroki Kimura, Hirokazu Kimura, Masaharu Nishimura.

Associations of the serum alpha-1 antitrypsin levels with clinical course of COPD

American Thoracic Society International conference 2017、平成29年5月24日、米国ワシントンD.C

3. 武井　望、鈴木　雅、牧田　比呂仁、今野　哲、清水　薫子、木村　裕樹、木村　孔一、西村　正治

β_2-アドレナリン受容体遺伝子*(ADRB2)*多型とCOPD患者の長期臨床経過についての検討

第59回日本呼吸器学会学術講演会、平成31年4月12日、東京

4. Nozomu Takei, Masaru Suzuki, Hironi Makita, Satshi Konno, Kaoruko Shimizu, Hiroki Kimura, Hirokazu Kimura, Masaharu Nishimura.

Associations of beta-2 adrenergic receptor gene *(ADRB2)* polymorphisms with long-term clinical course of COPD in Japanese population.

American Thoracic Society International conference 2019、令和1年5月21日、米国ダラス

5. Nozomu Takei, Masaru Suzuki, Hironi Makita, Satshi Konno, Kaoruko Shimizu, Hiroki Kimura, Hirokazu Kimura, Masaharu Nishimura.

Prognostic value of cardiovascular findings from chest computed tomography in patients of chronic obstructive pulmonary disease.

American Thoracic Society International conference 2020、令和2年5月20日、米国フィラデルフィア（COVID-19流行により誌上発表となった）

6.　武井　望、鈴木　雅、牧田　比呂仁、今野　哲、清水　薫子、木村　孔一、西村　正治

胸部単純 CT の心血管指標を用いた COPD 患者の長期臨床経過についての検討

第 60 回日本呼吸器学会学術講演会、令和 2 年 9 月 21 日、オンライン開催

要旨

【背景と目的】

慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)は、たばこ煙などの有害物質を長期に吸入曝露することにより生ずる、全身性の持続的炎症と進行性の気流制限で特徴づけられる肺疾患である。COPD はそれ自身の病態生理の複雑さと全身併存症を併発しうるため、臨床経過が非常に多様である。薬物治療をはじめとする管理方法の進歩により、呼吸機能の経年低下や増悪、死亡といった重大なアウトカムのリスクはある程度は軽減されているが、病態進行を抑制する根本治療は存在せず、国際的に高い社会経済学的負担がある。予後不良の患者を見出し早期から積極的な治療を行うことで重大なイベントを抑制するために、診断や予後、治療への反応性を予測しえる患者の特徴(バイオマーカー)の同定は急務である。

COPD 患者においても、血清学的、遺伝学的、生理学的な指標、画像的な指標など様々な側面からバイオマーカーに関する検討が行われてきた。しかし、ある患者集団で得られた知見が他の患者集団で当てはまらない可能性があるといった再現性の問題や、統計学的に有意でも実際の臨床的なインパクトが小さいことが多いこと、検体などの情報を得る手段や測定方法が一般化されていない場合があるなどの克服するべき問題はまだ多い。更に、これらのエビデンスの多くは海外の観察研究や介入研究による検討の結果であり、本邦の COPD 患者に適応できるかについては議論の余地がある。

そこで今回、本邦の COPD 患者の長期臨床経過に予測しうるバイオマーカーを、検証①：血清蛋白(血清α_1-アンチトリプシン値)、検証②：遺伝子(β_2-アドレナリン受容体の遺伝子 *ADRB2* の多型)、検証③：画像所見(肺動脈径、冠動脈石灰化所見)といった多面的な側面から検討することとした。

【対象と方法】

解析対象は北海道 COPD コホート研究に参加した患者のデータである。北海道 COPD コホート研究は 2003 年から北海道大学病院とその関連病院で施行された多施設共同の前向き観察研究であり、本邦における COPD 患者の自然歴を調査する目的で行われた。患者の臨床情報、呼吸機能検査、血液検査、胸部 CT 画像および増悪や予後といった情報が収集され、最長 10 年間のフォローアップを 2015 年に終了している。喫煙歴を有する 40 歳以上の、呼吸器科医により COPD と診断された患者 279 名を対象とした。

方法①：患者登録時の血清α_1アンチトリプシン値をネフロメトリー法で測定

し、α_1アンチトリプシン欠損症(AATD)の基準を満たさなかった患者(N=278)について、背景や臨床経過と比較検討を行った。
方法②：患者末梢血より DNA を抽出し、対立遺伝子特定的定量リアルタイム PCR 法を用いて、Arg16Gly および Gln27Glu についてジェノタイピングを行った。遺伝子増幅が可能だった症例(N=268)について、背景や臨床経過との比較検討を行った。
方法③：患者登録から 1 年以内に撮影された CT 画像を用いて肺動脈(PA)径および肺動脈大動脈径(PA:A)比を測定し(N=172)、さらに北海道大学病院で CT 検査を施行した患者(N=99)について冠動脈石灰化スコア(CACS)を測定した。患者の背景および臨床経過との比較検討を行った。さらに得られた知見について、京都大学コホートに参加した患者(N=130)のデータを用いて検証を行った。

【結果】
結果①：測定した血清α_1-アンチトリプシン値の四分位数を基に患者を 3 群に分けた(低値群 66 名、<116 mg/dL; 中位群 145 名、≧116 mg/dL、<141 mg/dL; 高位群 67 名、≧141mg/dL)。血清α_1-アンチトリプシン値の高値群では BMI および肺拡散能力が低値、CT 画像での肺気腫スコアが高値、また末梢血好中球数、CRP、ハプトグロビンといった他の急性期炎症蛋白が高値だった。さらに高値群は 1 秒量の経年低下量が大きく、10 年間の生存率も低かった。
結果②：Arg16Gly, Gln27Glu の各遺伝子多型の分布は Arg/Arg 80 名、Arg/Gly 119 名、Gly/Gly 69 名、Gln/Gln 220 名、Gln/Glu 47 名、Glu/Glu は 1 名であった。患者背景および呼吸機能の経年低下量、初回増悪や死亡までの期間も各多型の間で同等だった。
結果③：PA 径、PA:A 比、CACS は探索コホート（北海道 COPD コホート研究）/検証コホート（京都大学コホート）で、それぞれ中央値(四分位区間)は 26.0(23.6-29.5)mm/28.9(26.0-31.4)mm、0.777(0.701-0.867)/0.865(0.793-0.940)、68.3(8.4-437.9)/101(6.9-451.5)であった。各コホートの四分位数を基に患者を 4 群に分類して臨床経過を検討したが、呼吸機能の経年低下量、初回増悪、死亡までの期間には明らかな影響は認めなかった。探索コホートの測定値の上位 25%値をカットオフとして、PA 径 >29.5mm および CACS >437.9 を 1 点とスコア付けした cardiovascular risk score を作成したところ、探索コホートと検証コホート双方において、スコアの上昇は総死亡および呼吸器疾患による死亡までの期間と有意な関連があった。

【考察】
検証①において、血清α_1-アンチトリプシン値はその他の急性相反応蛋白と

関連し、呼吸機能の経年低下量や生存と関連する疾患活動性のバイオマーカーとなりえると考えられた。しかしα$_1$-アンチトリプシン欠損症ではない COPD 患者におけるα$_1$-アンチトリプシンの病態生理に与える影響は明確になっていないこと、また高炎症状態を制御する有効な薬物治療が存在しないことが課題である。また他の患者集団でも精査されることで、結果の再現性の評価が必要である。

検証②において、Arg16Gly および Gln27Glu の *ADRB2* は COPD 患者の phenotype および長期臨床経過とも関連せず、バイオマーカーとしての意義は乏しいと考えられた。ただし過去の大規模試験との結果とは必ずしも一致せず、フォロー中に使用された薬剤により結果が影響された可能性は否定できない。

検証③において、PA 径、PA:A 比、CACS は単独での使用では、COPD 患者の予後を十分に予測することは難しい。しかし PA 径の拡大と CACS を組み合わせることで、COPD 患者の長期予後を予測するバイオマーカーとなりえると考えられた。本検討の結果は、探索コホートとは独立した患者集団である検証コホートで再現されており、信頼性が高まったと考えられる。しかし、患者背景に応じたカットオフ値の決定は今後の課題である。

【結論】

本検討の結果は、COPD 患者の臨床経過を予測するためのバイオマーカーとして一定の成果を上げたと考えられる。更に多面的な側面から、より有用なバイオマーカーの探索を継続することで、COPD をはじめとする慢性気道疾患の患者の precision medicine の実現を目指したい。その手段として、現在当科を中心に進行中である気管支喘息と COPD の合併病態に焦点を当てた慢性気道疾患の包括的前向きコホート研究(PIRICA 研究)の患者登録、データ集積において中心的に携わっており、今後も尽力していきたいと考えている。

略語表

本文中及び図中で使用した略語は以下のとおりである。

AAT	Alpha-1 antitrypsin
AATD	Alpha-1 antitrypsin deficiency
ACO	Asthma-COPD overlap
ADRB2	Beta-2 adrenergic receptor
ANOVA	one-way analysis of variance
BMI	Body mass index
BOLD	The Burden of Obstructive Lung Diseases
CACS	Coronary artery calcium score
CC-16	Club cell protein 16
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
COPDGene	Genetic Epidemiology of COPD study
CRP	C reactive protein
CR score	Cardiovascular risk score
D_{LCO}	Diffusing capacity for carbon monoxide
FEV_1	Forced expiratory volume in 1 second
GWAS	Genome-wide association study
HRCT	High-resolution computed tomography
HU	Hounsfield unit
ICS	Inhaled corticosteroid
IgE	Immunoglobulin E
IgG	Immunoglobulin G
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IQR	Interquartile range
Kco	Carbon monoxide transfer coefficient
LABA	Long-acting beta2-agonist
LAMA	Long-acting muscarinic antagonist
LAV	Low attenuation volume
mMRC	modified British Medical Research Council
MRI	Magnetic resonance imaging
NICE	Nippon COPD Epidemiology
PA	Pulmonary artery
PA:A	Pulmonary artery: aorta

PCR	Polymerase chain reaction
PIRICA	the Prospective Integrative Cohort of Chronic Airways Disease
PLATINO	The Latin American Project for the Investigation of Obstructive Lung Disease
QOL	Quality of life
SABA	Short-acting beta-2 agonist
SAMA	Long-acting muscarinic antagonist
SD	Standard deviation
SNPs	Single-nucleotide polymorphisms
SGRQ	St. George’s Respiratory Questionnaire
SP-D	Surfactant protein D
SPIROMICS	Subpopulations and Intermediate Outcome Measures in COPD Study
TNF-α	Tumor necrosis factor-α
WHO	World health Organization

緒言

【慢性閉塞性肺疾患(COPD)とは】

慢性閉塞性肺疾患(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)とは、本邦のガイドラインにおいて、『たばこ煙を主とする有害物質を長期に吸入曝露することなどにより生ずる肺疾患』と定義され、呼吸機能検査(スパイロメトリー)で気流閉塞をきたすことにより特徴づけられる(日本呼吸器学会 COPD ガイドライン作成委員会, 2018)。国内外で高い罹患率と有病率を有しており、その経済社会的負担は重要な国際的課題とされている(Global Initiative for the Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GOLD), 2020)。その有病率は調査される国により大きな差はあるものの、国際的な大規模疫学研究である The Latin American Project for the Investigation of Obstructive Lung Disease (PLATINO) Study や The Burden of Obstructive Lung Diseases (BOLD) study では 40 歳以上の有病率は 10%にも上ると報告されている(Menezes et al., 2005; Buist et al., 2007)。本邦においても、無作為に抽出された一般住民調査による大規模な COPD 疫学調査である Nippon COPD Epidemiology (NICE) Study が行われ、日本人における COPD の有病率は 8.6%、本邦の 40 歳以上の患者数は約 530 万人であると報告された(Fukuchi et al., 2004)。喫煙率の高さから、男性の方が患者数は多いとされる。今後も人口の高齢化および高喫煙率のために、患者数は増すと考えられている。また World health Organization (WHO)の調査によると 2016 年の全世界における死因の第 3 位(World Health Organization, 2018)、本邦においても第 9 位とされている(厚生労働省, 2019)。

COPD の危険因子は加齢と喫煙に加え、ディーゼル排気粒子や $PM_{2.5}$ などの大気汚染物質、バイオマスの吸入、職業性の粉塵・化学物質の吸入などの関与が報告されている(Salvi et al., 2009)。最大の COPD のリスクは喫煙、たばこ煙への曝露ではあるが、COPD を発症するのは喫煙者の 20%程度という報告もあり(American Thoracic Society, 1996)、喫煙により呼吸機能が低下し COPD を発症しやすい患者とそうでない患者がいるとされる(Snider, 1989)。その要因は全てが明らかにはなっていないものの、喫煙感受性遺伝子の存在が示唆され、最も重要なものとして、喫煙による炎症物質、酸化物質を抑制するセリンプロテアーゼの一種である α_1-アンチトリプシンの欠損症(alpha-1 antitrypsin deficiency, AATD)より若年性の肺気腫および COPD を発症するとされる(Fischer et al., 2011)。さらに大規模コホートによるゲノムワイド関連研究(Genome-wide association study, GWAS)においても、ニコチン依存、肺の分化発育など複数の遺伝子が COPD 発症と関連されると報告された(Cho et al.,

2014)。COPD の病態生理についてはまだ完全には明らかになってはいないものの、吸入されたタバコ煙などの有害物質が惹起した好中球を主体とした炎症が肺で持続化および慢性化することにより、肺胞組織の破壊(肺気腫)および、末梢気道(内腔が 2mm 以下の細気管支領域)の狭小化および線維化(リモデリング)をきたし、進行されるとされる(Hogg et al., 2017)。よって進行した COPD の肺組織においては、上述の肺気腫と末梢気道病変、さらに肺動脈の内膜・血管平滑筋の肥厚や線維化といった肺病変が各患者によって異なる割合で混じた病理像を呈する(Barnes, 2000)。さらに持続する炎症は肺に限局せず、tumor necrosis factor-α(TNF-α)や interleukin-6(IL-6)などの炎症性サインカインなどの液性因子を介し、栄養障害、骨格筋量の低下、骨粗鬆症、心血管障害、精神障害、メタボリックシンドロームなどの様々な全身性併存症をきたすとされ、肺癌の併発とともに、その臨床像と予後に大きく影響する (Sievi et al., 2015)。また近年においては、喫煙や有害物質への曝露の少ない患者においても、幼少期の気道・肺への持続的炎症や障害が成人期の肺または気道の発育障害をきたし、加齢による生理的な肺機能の低下の結果、呼吸機能で閉塞性換気障害をきたし COPD へと至る機序も指摘されている(Lange et al., 2015)。

臨床症状としては、慢性の咳と喀痰、および労作時の呼吸困難の頻度が多いが、病初期は無症状であることも少なくなく、特に加齢や喫煙による症状であると患者が解釈することで、受診行動が適切になされないことも問題である(Mannino et al., 2003)。症状は年単位で緩徐に進行し、呼吸機能が高度に低下することによる呼吸不全、肺血管床の破壊とリモデリングによる右心不全、持続する炎症による体重減少などをきたし、身体活動性は低下する(矢崎ら, 2003)。身体所見上も、病初期は乏しいことが多いが、進行期においては、気流閉塞を反映した呼気の延長や、肺の過膨張所見である樽状胸郭、胸鎖乳突筋や斜角筋などの呼吸補助筋の肥大、チアノーゼやばち指などがみられることもあり、右心不全を合併すると、下腿浮腫、肝腫大などを伴うこともある。COPD の臨床症状は基本的に慢性の緩徐進行性の経過をたどるが、時として、増悪と呼ばれる急性の臨床症状を呈することがある。増悪は「息切れの増加、咳や痰の増加、胸部不快感・違和感の出現または増強などを認め、安定期の治療の変更が必要となる状態であり、気胸・心不全・肺血栓塞栓症などの他疾患を除いたもの」と定義され(日本呼吸器学会 COPD ガイドライン作成委員会, 2018)、患者の Quality of life(QOL)や呼吸機能を低下させ(Donaldson et al., 2002; Spencer et al., 2004)、生命予後も悪化させ(Connors et al., 1996)、COPD の臨床経過において極めて重要なイベントである。増悪の原因として、細菌やウィルスによる呼吸器感染症および大気汚染が代表的であるが、好酸球性炎症の関与が推察される報告もあり(Bafadhel et al., 2011)、その病態生理は完全には理解されていない。

肺および気道の構造破壊による気道クリアランスの低下により、下気道に細菌が定着化する、正常細菌叢が変化することなどがその背景とされている(Sapey et al., 2006; Sze et al., 2015)。その他、COPD の病期進行や体重減少、加齢などのリスク因子が報告されているほか(Suzuki et al., 2014)、過去の増悪回数が将来の増悪を予測する因子とされ、増悪を繰り返す phenotype(frequent exacerbator)が報告されている(Hurst et al., 2010)。

COPD の診断は、その定義から長期の有害物質への曝露歴(特に喫煙)があること、完全には正常化しない固定性気流閉塞があること、さらに他の気流閉塞をきたす疾患を除外することでなされる(GOLD, 2020、日本呼吸器学会 COPD ガイドライン作成委員会, 2018)。COPD と鑑別を要する気管支喘息においても、COPD に類似した臨床症状および閉塞性換気障害をきたすが、しばしば気管支拡張薬に反応し呼吸機能が正常化することがある。そのため、特に COPD の診断においては気管支拡張薬吸入後のスパイロメトリーでの閉塞性換気障害をきたすこと(1秒量を努力性肺活量で除して得られる 1 秒率が 70%未満)が必要である。COPD の病期分類は、気流閉塞の程度により行われ、身長・年齢・性別から予測されうる 1 秒量(forced expiratory volume in 1 second, FEV_1)の対予測値である%FEV_1により定義される。COPD に関する国際的なワーキンググループである GOLD の提唱に則り、GOLD 1(mild): %FEV_1≧80%、GOLD 2(moderate):50%≦%FEV_1<80%、GOLD 3(severe):30%≦%FEV_1<50%、GOLD 4(very severe):FEV_1<30%と分類される(GOLD, 2020)。また、肺胞気腔から肺毛細血管への酸素拡散能力である肺拡散能力(diffusing capacity for carbon monoxide, D_{LCO})の測定や動脈血液ガス分析検査による心肺機能の評価、6 分間歩行試験による運動耐用能の評価、肺内外の合併症の検索のための胸部 X 線検査や胸部 CT 検査による画像的な評価、心電図や心臓超音波検査などが一般臨床においても広く行われる。

COPD の管理目標は、症状および QOL の改善、運動耐用能と身体活動性の向上および維持し、増悪の予防、全身併存症および肺合併症の予防・診断・治療に分類される(日本呼吸器学会 COPD ガイドライン作成委員会, 2018)。これらの目標を達成するために、たばこ煙を含む有害物質からの回避(禁煙)が最も重要とされ、全ての患者において必要な介入である。GOLD の提言において薬物療法は息切れなどの日常の症状および増悪の頻度を考慮して検討され、主に長時間作用型抗コリン薬(long-acting muscarinic antagonist, LAMA)や長時間作用型β_2刺激薬(long-acting beta-2 agonist, LABA)といった気管支拡張薬の吸入療法および両剤の組み合わせの吸入治療により、COPD 患者の症状や QOL、運動耐用能を向上させ、呼吸機能の経年低下や増悪を抑制するといったエビデンスが豊富である(Tashikin et al., 2008; Rennard et al., 2001)。また、特に欧米においては吸入ステロイド(inhaled corticosteroid, ICS)と LABA の合剤による

吸入あるいは、ICS/LAMA/LABA といった 3 剤併用療法(triple therapy)が広く行われており、単剤あるいは気管支拡張薬 2 剤併用療法と比較して、良好な増悪抑制効果を認めたという報告がなされている(Lipson et al., 2018; Fergson et al., 2018; Rabe et al., 2020)。一方で、ICS を中止しても問題ないという報告(Magnussen et al., 2014)、さらに ICS の使用により肺炎リスクを高めるという報告もされており(Crim et al., 2009)、COPD 患者における ICS の使用の是非については結論が出ておらず、本邦のガイドラインでも、その使用は気管支喘息の合併が疑われる症例に限るべきとされている(日本呼吸器学会ガイドライン作成委員会, 2018)。その他、非薬物療法として、ワクチン接種やリハビリテーション、栄養療法、呼吸不全患者に対する酸素療法なども重要である(Mullhall et al., 2016)。

COPD は、国内外を問わず有病率・罹病率が高い疾患で、患者の予後や長期間の QOL に大きな影響をきたす経済社会的な重要な課題である。しかし、薬物・非薬物療法の進歩により、予後不良患者の早期発見と早期介入が有用であると考えられる。

【北海道 COPD コホート研究について】

COPD における疫学、治療などの知見は GOLD により集積、編纂されてきた。しかし、そのエビデンスの多くが海外発のものであり、海外と日本人の COPD 患者の臨床的な特徴は必ずしも一致しないことを考慮すると(Ishii et al., 2018; Kato et al., 2019)、日本人の COPD 患者に有用な本邦発のエビデンスが非常に重要であると考えられる。

北海道 COPD コホート研究は、北海道大学病院と 9 施設の医療機関により行われた多施設共同の前向き観察研究である(Makita et al., 2007; Nishimura et al., 2012)。本邦における COPD 患者の自然史や予後を明らかにする目的で計画された。2003 年から 2005 年の間に約 300 例の患者を初期登録し、登録時に COPD であると確認された 279 名がフォロー対象となった。5 年間のフォローアップを予定したが、同意が得られた患者については合計 10 年までフォロー期間を延長し、2015 年にすべてのフォローアップを終了した。対象は GOLD および日本呼吸器学会ガイドラインに従い、呼吸器科医が診断した 40 歳以上の喫煙歴を有する、気管支拡張薬投与後の 1 秒率が 70%未満である COPD 患者とした。臨床的に明らかな気管支喘息や肺機能の経年変化に影響を及ぼすと考えられる肺疾患(肺癌、肺結核、間質性肺炎など)を有する症例、肺切除例、5 年のフォローアップを完遂できないと思われる症例、12 時間以上の在宅酸素療法患者は除外された。研究は「人を対象とした医学系研究に関する倫理指針」に則って行われ、患者は書

面による研究説明に同意した。研究は北海道大学大学院医学研究院医の倫理委員会による審査の上で実施された(医 02-001)。

これまで発表された主な研究成果として、①COPD 患者の CT で調査した肺気腫の分布(Maita et al., 2007)、②1 秒量の経年変化と寄与因子の解析(Nishimura et al., 2012, Suzuki et al., 2019)、③増悪の頻度と寄与因子の解析(Suzuki et al., 2014a)、④生命予後と死因の解析(Makita et al., 2020)、⑤血清アディポカインについての検討(Suzuki et al., 2014b)、⑥QOL の経時的評価(Nagai et al., 2015)、⑦β_2-アドレナリン受容体の遺伝子多型と気道可逆性についての検討(Konno et al., 2011)、⑧CT データの三次元気道解析に関する検討(Hasegawa et al., 2006; Shimizu et al., 2020)、⑨喘息様検査所見を有する患者についての検討(Suzuki et al., 2016)がある。

【COPD におけるバイオマーカーの位置づけについて】

COPD は気流閉塞と気道および全身性の持続的炎症により特徴づけられる疾患であり、患者の症状、QOL および予後に大きな影響をきたす(GOLD, 2020)。基本的に進行性の経過をたどるが、その臨床経過は多様である。COPD における重要なアウトカムとして気流閉塞の進行、増悪、そして死亡が挙げられ、本邦ガイドラインの COPD の管理目標において『①症状および QOL の改善、②運動耐用能と身体活動性の向上と維持、③増悪の予防、④全身併存症および肺合併症の予防・診断・治療』として提唱されているように、これらのアウトカムを予防することが重要とされている(日本呼吸器学会ガイドライン作成委員会, 2018)。

気流閉塞は主に 1 秒量や 1 秒率で評価され、前項に述べた通り疾患の重症度の指標として用いられている。気流閉塞は内径 2mm 以下の細気管支領域である末梢気道において、粘液物質の貯留、炎症細胞浸潤、気道壁の線維化や気道平滑筋の肥厚による気道の変形狭窄と破壊により生じるとされ、また肺の気腫化により肺胞構造に破壊が起こると、接着した気道の内腔を広げる力や肺の弾性収縮力が弱まり、末梢気道が更に虚脱しやすくなるとされる(Barnes, 2000; Hogg et al., 2004)。その度合いは患者の慢性的な呼吸困難や QOL に直接的に関連するだけでなく、増悪頻度や予後などの他のアウトカムとも関連する(Paggiaro. Et al., 1998)。非喫煙健常者の加齢による生理的な 1 秒率の経年低下量は、男性で 19.6mL/年、女性で 17.6mL/年とされる一方で(Hogg et al., 1968)、北海道 COPD コホート研究での検討では COPD 患者の 1 秒量の経年低下量は平均 31.7mL/年と急速であると報告された(Nishimura et al., 2012)。しかし、その進行は一様ではなく、5 年間で呼吸機能が維持される患者から急速に進行する患者などさまざまであることが明らかになってきている(Vestbo et al., 2011)。

増悪は、息切れ、呼吸苦などの呼吸症状の悪化により安定期の治療の変更を必要とする主に急性のイベントであり、COPD 患者の QOL や呼吸機能、そして生命予後を悪化させることが報告されている(Donaldson et al., 2002)。その予防は COPD 患者において極めて重症であるが、臨床経過において増悪を経験しない患者がいる一方で、毎年頻回に増悪を繰り返す phenotype である frequent exacerbator が報告されており(Hurst et al., 2010)、その経過は多様であると考えられている。

上述のような COPD の臨床経過における重要なアウトカムに関連するリスク因子の検討はこれまで数多くなされてはいるものの、COPD の病態生理が完全に理解されてはいないこと、また全身性併存症の存在がさらにその経過を複雑にしていることから、その発生は十分にはコントロールできておらず、未だに全世界的に高い死亡率を持ち、大きな社会経済的負担となっている(WHO, 2017)。また、リスク因子の管理と薬物療法により、これらのアウトカムの発生はある程度は軽減可能となっているものの、基本的には薬物治療は吸入気管支拡張薬を中心とした対症療法が中心である。その病態進行を抑制する根本的な治療は禁煙以外には有効なものが発見されておらず、更なる治療ターゲットの発見が急務となっている。さらに患者ごとの臨床的表現型である phenotype や分子生物学的特徴である endotype に基づいて、より有効性で、かつ副作用の少ない高精度医療(precision medicine)の実現が望まれている。

バイオマーカーは「疾患形成における生理的あるいは病的な機序や治療介入への反応性を示す、客観的に測定・評価可能な特徴である」と定義され(Biomarkers Definitions Working Group, 2001)、患者の臨床的な特徴づけを通じて、疾患の重症度の量的評価、予後の予測、治療への反応性の予測、疾患の病態生理の検討などを目的とする(Hollander et al., 2017)。COPD においても、血液検査のみならず、遺伝子多型、呼吸機能検査などの生理学的指標、画像的な指標、喀痰や気管支肺胞洗浄液などの臨床検体で測定した指標など、様々な視野からバイオマーカーに関する検討が行われてきた。

血液検体をテーマとしたバイオマーカーについては、COPD が慢性炎症性疾患であるという背景から、主に肺の炎症に関連する蛋白や急性期炎症蛋白、炎症性サイトカインと臨床経過との関連について検討されてきた。一例として、II 型肺胞上皮から産生され自然免疫に関わるとされる surfactant protein D(SP-D)の血清値の上昇は肺気腫の形成(Lock-Johansson et al., 2014)と、また過度な炎症に対する炎症抑制物質の club cell protein 16(CC-16)の血清値の低下は 3 年間での COPD 患者の 1 秒量低下との関連する(Park et al., 2013)と報告された。また Fermont らは、メタ解析で CRP やフィブリノーゲンといった急性期炎症性蛋白や末梢血好中球数は COPD 患者の死亡と関連したと報告した一方で、IL-

6 や TNFαについては有意な関連を認めなかったことを報告した(Fermont et al., 2019)。また、Filho らは血清 immunoglobulin G (IgG)値の低下が増悪と関連することなどを示し、COPD 患者の増悪抑制における IgG 補充療法の有効性の可能性を示した(Leitao Filho et al., 2017)。また炎症に直接関与する蛋白以外にも、海外の大規模コホート研究である Subpopulations and Intermediate Outcome Measures in COPD Study(SPIROMICS)において、登録時に血清ビタミン D 値が 20ng/mL 以下の群が他群と比較して 1 年後の 1 秒量の経年低下量が大きいことを示した(Burkes et al., 2020)。また、治療への反応性を予測するバイオマーカーとしては、末梢血好酸球数の上昇と吸入ステロイドの有効性について既報が多数見られる(Siddiqui et al., 2015)。好酸球は増悪頻度の増加とも関連についても報告されているが(Yun et al., 2018)、相反する報告もあり、COPD の病態生理と臨床経過にどうかかわるかはまだ明確にはなっていない(Kolsum et al., 2017)。

画像所見をテーマにした COPD のバイオマーカーについての検討は、主に CT 画像でなされてきた。CT 画像では主に肺野内所見についてその構造変化と臨床経過について議論されてきており、CT 画像で評価した肺気腫が 1 秒量の経年低下量(Nishimura et al., 2012)や増悪(Shimizu et al., 2020)、生命予後(Haruna et al., 2010)と関連するという知見は豊富であり、気道においても壁の肥厚が増悪を予測する(Han et al., 2010)という既報や、近年の画像解析技術の向上により parametric response mapping を用いて評価した functional small airway disease が疾患進行のバイオマーカーであるといった報告(Galban et al., 2012)などが挙げられる。さらに併存症という観点から肺野外所見についても評価され、肺動脈径の拡大が増悪と関連するという知見や(Wells et al., 2012)、骨格筋量の低下(Marquis et al., 2002)、骨粗鬆症(Ohara et al., 2008)、冠動脈硬化(Williams et al., 2014)と COPD の予後や増悪と関連するという併存症を踏まえた検討がなされてきている。また近年 magnetic resonance imaging (MRI)についても検討され、CT 画像でも評価可能な構造的な評価だけでなく、換気や血流といった機能的評価を含めたバイオマーカーの探索として期待されている(Washko et al., 2018)。

遺伝子のバイオマーカーとして、最も重要なのはα_1-アンチトリプシン欠損症(AATD)の原因遺伝子である *SENPINA1* 遺伝子である。東アジアを除く世界中において 5,000 人に一人と頻度が高い COPD の重要な原因遺伝子であり、正常型の MM ホモ接合体と比較し、MZ ヘテロ接合体では約 60%、SZ ヘテロ接合体では 40%、ZZ ホモ接合体では約 20%の血清α_1-アンチトリプシン値となるとされる(Ferrarotti et al., 2012)。α_1-アンチトリプシンはプロテアーゼインヒビターであり、喫煙などにより惹起された好中球エラスターゼなどのプロテアーゼ

からの防御機構であるとされる。AATD 患者では好中球性炎症に対する防御機構の低下から、高度の肺気腫および呼吸機能の低下をきたすが、その補充療法は疾患の進行や予後の改善に寄与するとされる(The Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Registry Study Group, 1998)。また 2008 年には遺伝子を調査内容に含めた大規模な前向きコホート研究である Genetic Epidemiology of COPD study(COPDGene)が開始された(Regan et al., 2010)。同研究による研究成果として genome-wide association study (GWAS)の結果が報告され、COPD 発症や各 phenotype と関連した遺伝子が報告されている(Ragland et al., 2019)。今後、疾患進行や、将来の治療ターゲットとしてのバイオマーカーとしての報告が期待される。

上述の通り、血液、画像、遺伝子など多角的視野から COPD についてのバイオマーカーの検討は行われてきた。しかし現在の未解決の問題として①統計学的な有意差が出たとしても、アウトカムに対するハザード比が極めて小さいなど実際に患者に及ぼす臨床的な意味合いが小さいことがある、②あるコホートや介入研究で陽性となった結果が他のコホートで再現されない(Keene et al., 2016)、③検体採取や測定方法が一般的でないことがある、などが挙げられる(Leung et al., 2019)。そして何より、これらのエビデンスの多くが海外からのものであり、患者の特徴が異なるとされる本邦の COPD 患者には必ずしも当てはまらない可能性がある。

そこで、COPD 患者の呼吸機能の経年低下、増悪および予後などの臨床経過と関連するバイオマーカーを多面的に評価することを目的として、第 1 章で血清バイオマーカーとしてα_1-アンチトリプシン値について、第 2 章で遺伝的バイオマーカーとしてβ_2-アドレナリン受容体の遺伝子多型について、そして第 3 章で画像バイオマーカーとして胸部 CT 画像における心血管指標について、北海道 COPD コホート研究のデータを用いて検討することとした。

第 1 章　COPD 患者における血清 α_1-アンチトリプシン値と長期臨床経過についての検討

第 1 節　緒言

COPD は肺を主体とする全身の慢性炎症と持続的で完全には可逆的でない気流閉塞により特徴づけられる疾患である。その病因としては、主に喫煙を最も重要であるが、ディーゼル排気粒子や $PM_{2.5}$ などの大気汚染物質、小児期の気道感染、有機燃料(バイオマス)などへの曝露が挙げられている(Svanes et al., 2010)。これらの有害物質は、肺や末梢気道において、好中球やマクロファージ、$CD8^+$T リンパ球を主体とした慢性の気道炎症を引き起こし、肺胞組織の破壊と正常な修復メカニズムが損なわれるとされる(Hogg et al., 2017)。肺内に浸潤した炎症細胞や上皮細胞から、様々なプロテアーゼが放出されるが、特に好中球エラスターゼやマトリックスメタロプロテアーゼ 3 などエラスターゼ活性のある物質により、肺の主要な結合織であるエラスチンが破壊され、肺の気腫化や気道の閉塞へ寄与するとされる。一方で、肺や気道にはプロテアーゼに対抗する α_1-アンチトリプシンなどのアンチプロテアーゼがあるとされるが、COPD 患者ではプロテアーゼ活性がアンチプロテアーゼ活性を上回っており、過剰な組織破壊が起こっている状態とされる(Stockley, 1999)。実際に、α_1-アンチトリプシンの遺伝子(*SERPINA1*)異常により血清 α_1-アンチトリプシン値が大きく低下する α_1-アンチトリプシン欠損症(AATD)は東アジア以外の地域において、COPD や肺気腫をきたす疾患として重要であり、COPD 患者を診察する際には AATD の除外診断のためにスクリーニングされる(American Thoracic Society and Europe Respiratory Society, 2003)。

また一方で、α_1-アンチトリプシンは炎症性疾患の際に非特異的に上昇する、急性相反応蛋白である。COPD の患者において、健常者と比較して急性相反応蛋白など炎症マーカーが上昇していることは広く知られており(Gan et al., 2004)、また末梢血好中球数、CRP、フィブリノーゲンなどが、COPD 患者の増悪や予後といったアウトカムと関連するバイオマーカーとして知られている(Thomsen et al., 2013)。しかし急性相反応蛋白の一つである α_1-アンチトリプシンは、AATD ではない COPD 患者においてどのような臨床的意義を持つかについては明らかにされていない。

そこで我々は、北海道 COPD コホート研究の患者において、患者登録時の血清 α_1-アンチトリプシン値が、その後の長期臨床経過にどのような影響を持つかについて明らかにすることを目的として post hoc 解析を行った。

第2節　方法

【対象】

対象は40歳以上の喫煙歴を有する、気管支拡張薬投与後の1秒率が70%未満である北海道COPDコホート研究に参加したCOPD患者とした。臨床的に明らかな気管支喘息や肺機能の経年変化に影響を及ぼすと考えられる肺疾患(肺癌、肺結核、間質性肺炎など)を有する症例、肺切除例、5年のフォローアップを完遂できないと思われる症例、12時間以上の在宅酸素療法患者は除外された。さらに279名のCOPD患者のうち、1名がAATDの基準（血清α_1-アンチトリプシン値〈90 mg/mL）に該当したため、本検討では278名を解析対象とした。患者の重症度の内訳は軽症(GOLD 1) 26%、中等症(GOLD 2)45%、重症(GOLD 3)24%、最重症(GOLD 4)5%であった。

【調査方法】

北海道COPDコホート研究は当初5年間のフォローアップを予定していたが、同意が得られた患者については合計10年間までフォロー期間を延長し、2015年にすべてのフォローアップを終了した。エントリー時に試験コーディネーターによる詳細な問診(喫煙状況、服薬状況、臨床症状)を行い、気管支拡張薬投与前後の呼吸機能検査は登録時を含め前半5年間は6 か月毎に、後半5年間は1年毎に、肺拡散能力検査、高分解能CT、血液検査（好中球数、好酸球数、immunoglobulin E (IgE)、C reactive protein (CRP)など)、St. George’s Respiratory Questionnaire (SGRQ)によるQOL評価を1 年毎に実施した。また、遺伝子検査、バイオマーカー検索のために登録時の血液検体はすべて保存した。追跡調査期間中は喫煙状況と増悪の発生有無や重症度、薬物の処方内容と服用状況、併存疾患の有無と内容を定期的に調査した。また脱落例の理由、追跡期間中の入院歴、死亡例の原因なども調査を行った。COPD増悪の有無は、患者に毎月往復はがきで患者から聴取し、必要時は具体的な症状変化と治療状況を電話で詳細に確認した。また、症状の悪化や治療変更に関する医療機関の記録からの情報や担当医師への問い合わせ情報も参考にして、総合的に重症度を含めて診断した。中等症の増悪として、日常的に使用している薬剤の使用変更を要する呼吸器症状の悪化をきたしたイベントと定義した。

【バイオマーカーの測定方法】

患者登録時の血清α_1-アンチトリプシン値はネフロメトリー法を用いて測定した(SRL Inc., Tokyo, Japan)。血清CRP値やハプトグロビン値の測定には

Human CardiovascularMAP v1.0 (Myriad RBM, Austin, Tx, USA)を用いた。また末梢血好中球数については5年目のフォロー時まで年1回調査を行った。

【統計解析】

患者登録時から5年間の1秒量の経年低下については、3回以上のフォローアップが可能だった患者(261名)についてlinear mixed-effects modelを用いて検討を行った。群間の値の平均値の比較を行う場合、一元配置分散分析あるいはMann-Whitney U検定を用い、所見の出現頻度の比較を行う場合は、カイ二乗検定を行った。群間の傾向性の検定には、Jonckheere-Terpstra検定を用いた。パラメーター間の相関関係の解析にはスピアマンの順位相関係数を用いた。5年間の無増悪生存率および10年間の生存率はカプランマイヤー法で示し、ログランク検定で統計学的解析をおこなった。また交絡因子を調整因子として、Cox比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行った。$P < 0.05$を統計学的有意とした。統計処理はR version 3.1.2(The R Foundation; http://www.r-project.org/)を用いた。

第 3 節　結果

【血清 α_1-アンチトリプシン値の分布と患者背景】

図 1 に測定した血清 α_1-アンチトリプシン値の分布を示す。患者の臨床背景と経過を比較検討するために、血清 α_1-アンチトリプシン値の四分位数に基づいて、患者を 3 群へと分類した。血清 α_1-アンチトリプシン低値群(<116 mg/dL)、中位群(≧116 mg/dL, <141 mg/dL)、高値群(≧141 mg/dL)で患者人数はそれぞれ 66、145、67 名であった。表 1 に患者背景を示す。

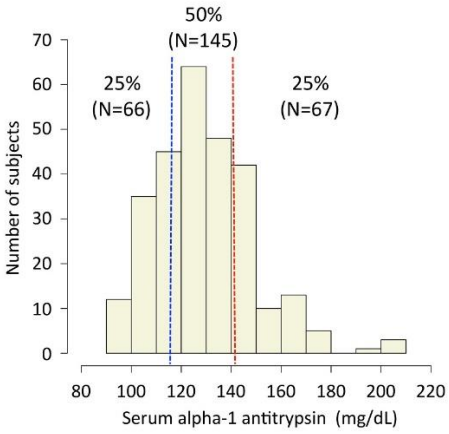

図 1: 血清 α_1-アンチトリプシン値の分布

278 名の測定値の中央値[四分位区間]は 127 mg/dL[116-141]だった。

表 1:各群における患者背景

	低値群	中位群	高値群	p 値
患者数	66	145	67	
年齢, 歳(SD)	68 (8)	70 (8)	70 (8)	0.11
女性, N (%)	4 (6)	7 (5)	6 (9)	0.51
BMI, kg/m^2 (SD)	23 (3)	22 (3)	21 (3)	<0.01
現喫煙者, N (%)	12 (18)	42 (29)	22 (33)	0.14
喫煙指数, pack-years (SD)	66 (37)	63 (27)	58 (29)	0.31
GOLD重症度, 1/2/3/4	18/36/11/1	43/57/38/7	11/32/19/5	0.11
1秒量対標準値, % (SD)	68 (19)	65 (23)	60 (21)	0.09
肺拡散能(Kco), % 対予測値* (SD)	70 (23)	64 (24)	55 (23)	0.01
CT 肺気腫スコア (IQR)	1.0 (0.5, 1.8)	1.2 (0.7, 2.2)	1.5 (0.8, 2.3)	0.03
SGRQ 総点数 (SD)	29 (18)	32 (17)	34 (19)	0.28

	低値群	中位群	高値群	p 値
併存症	66	145	67	
全心血管疾患, N (%)	11 (17)	38 (26)	13 (19)	0.25
虚血性心疾患, N (%)	4 (6)	12 (8)	3 (4)	0.57
糖尿病, N (%)	8 (12)	3 (2)	2 (3)	<0.01
登録時の治療内容				
抗コリン薬, N (%)	25 (38)	82 (57)	39 (58)	0.02
長時間作用型β_2刺激薬, N (%)	20 (30)	55 (38)	29 (43)	0.3
吸入ステロイド, N (%)	4 (6)	27 (19)	8 (12)	0.04

一元配置分散分析(one-way analysis of variance, ANOVA)または Mann-Whitney U test カイ二乗検定を用いた。

注：* N=277、 IQR = interquartile range、 Kco = 一酸化窒素運搬係数(carbon monoxide transfer coefficient)、 SD = Standard deviation

年齢、性別、喫煙指数、呼吸機能(1 秒量対標準値)および QOL スコアは各群で同等だったが、高値群は他群と比較して、body mass index(BMI)と肺拡散能力が低値であり、CT 画像での肺気腫スコアが高度であった。また、低値群で糖尿病の併存症が多かった。登録時の治療内容については、高値群で抗コリン薬および吸入ステロイドによる治療が多かった。

【血清α_1-アンチトリプシン値と他の炎症マーカーとの相関】

血清α_1-アンチトリプシン値は、ベースラインの CRP(ρ=0.20, P<0.01)、ハプトグロビン(ρ=0.18, P<0.01)、末梢血好中球数(ρ=0.16, P<0.01)と有意な相関を認めた。また図 2 に示すように、高値群は低値群と比較して、ベースラインの CRP、ハプトグロビン、末梢血好中球数が高値であり、さらに図 3 に示すように、高値群はその他の群と比較して 5 年間の末梢血好中球数が高値で推移する傾向があった。

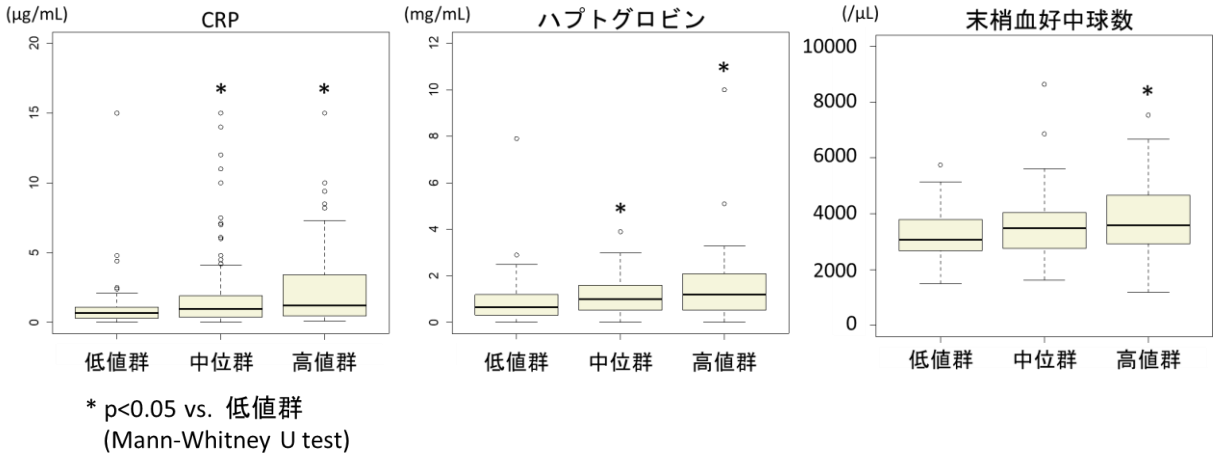

図 2: 血清 α_1-アンチトリプシン値と他の炎症性マーカーとの関連

血清 α_1-アンチトリプシン高値群は低値群と比較して、ベースライン時の CRP、ハプトグロビン、末梢血好中球数が高値だった(Mann-Whitney U test, $p<0.05$)。同様に中位群は低値群と比較して、ベースライン時の CRP、ハプトグロビンが高値だった(Mann-Whitney U test, $p<0.05$)。

注：CRP = C reactive protein

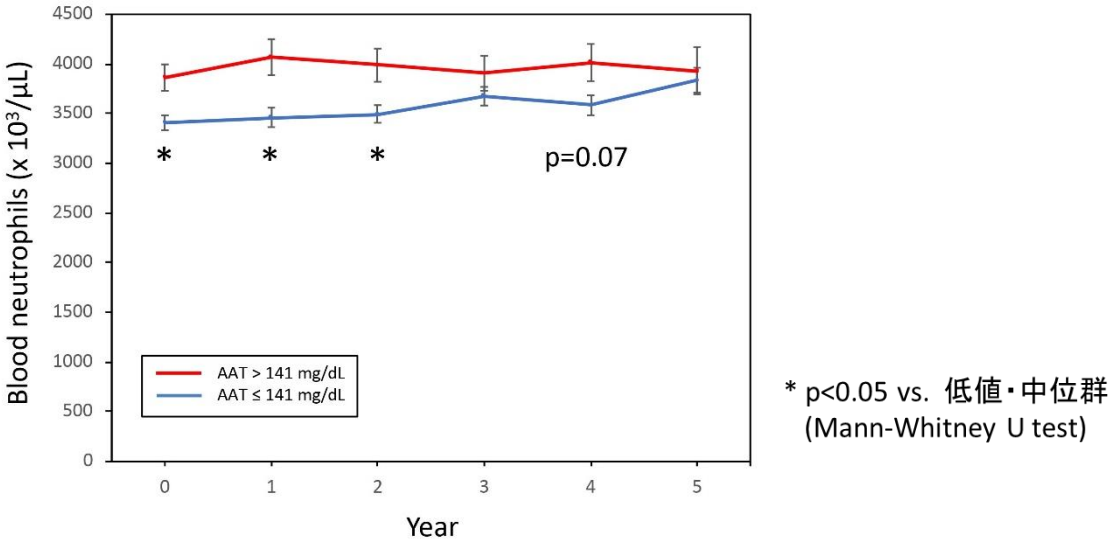

図 3: 血清 α_1-アンチトリプシン値と 5 年間の末梢血好中球数の関係

血清 α_1-アンチトリプシン高値群は、その他の群と比較して、5 年間の末梢血好中球数が高値で推移する傾向があった(Mann-Whitney U test)。

注：AAT = Alpha-1 antitrypsin

【血清 α_1-アンチトリプシン値と呼吸機能経年低下】

血清 α_1-アンチトリプシン値と 5 年間の 1 秒量の経年低下量の関係を図 4 に

示す。登録時に、吸入ステロイドおよび抗コリン薬によって治療される頻度が高いにも関わらず(表 1)、血清α_1-アンチトリプシン値が高くなるにしたがって、1 秒量の経年低下量が大きかった。

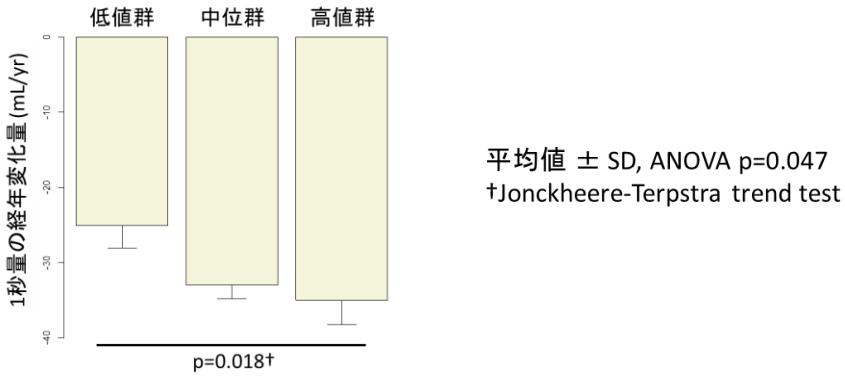

図 4:血清α_1-アンチトリプシン値と 1 秒量の経年低下量

血清α_1-アンチトリプシン値が高値になるに従い、1 秒量の経年低下量が大きくなる傾向があった(ANOVA, p=0.047; Jonckheere-Terpstra trend test, p=0.018)。

注：ANOVA = one-way analysis of variance(一元配置分散分析)

【血清α_1-アンチトリプシン値と増悪、予後】

血清α_1-アンチトリプシン値と増悪、予後との関連について、カプランマイヤー法を用いて検討した(図 5)。5 年間の初回増悪までの期間は、各群で差は認めなかったが、10 年間の生存については、高値群で他群よりも有意に短かった。Cox 比例ハザードモデルを用いて、10 年間の生存をアウトカムとして多変量解析を行ったところ、表 2 に示すように BMI あるいは CT 肺気腫スコアで調整を行っても有意な関連を認めた。BMI と CT 肺気腫スコアの両方を調整因子としても、血清α_1-アンチトリプシン値は生存と関連する傾向を認めた。

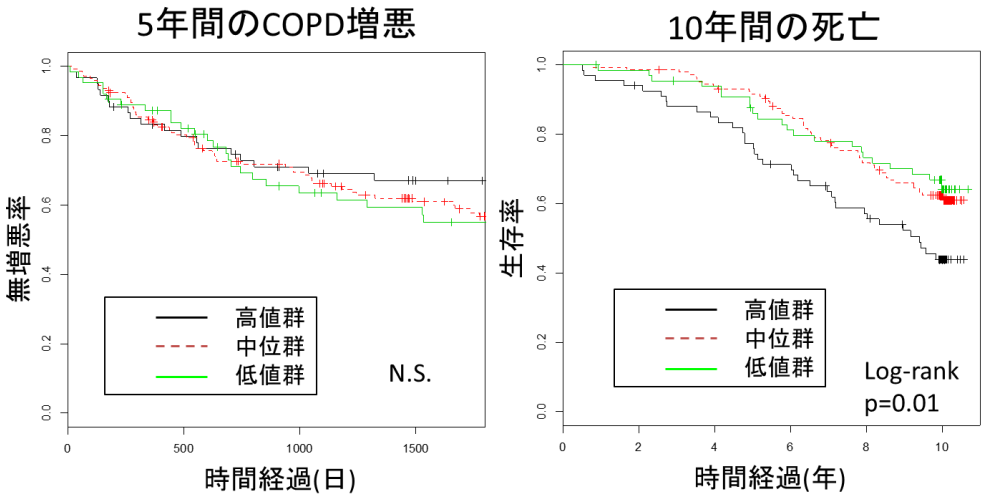

図 5:血清 α_1-アンチトリプシン値と初回増悪、生存との関係(カプランマイヤー法)

血清 α_1-アンチトリプシン高値群では、10 年間の生存期間との有意な関連を認めた一方で(log-rank test, p=0.01)、初回増悪までの期間とは関連しなかった。

注:N.S. = not significant

表 2:血清 α_1-アンチトリプシン値と生存期間についての多変量解析
(COX 比例ハザードモデル)

	ハザード比 (95%信頼区間)	p値
モデル 1: 単変量		
血清AAT	1.01(1.00–1.02)	0.005
モデル 2: 血清AAT+BMI		
血清AAT	1.01(1.00–1.02)	0.03
BMI	0.90(0.85–0.96)	<0.001
モデル 3: 血清AAT+肺気腫スコア		
血清AAT	1.01(1.00–1.02)	0.04
肺気腫スコア	1.38(1.13–1.68)	0.001
モデル4: 血清AAT+BMI+肺気腫スコア		
血清AAT	1.01(0.999–1.02)	0.09
BMI	0.92(0.87–0.98)	0.01
肺気腫スコア	1.28(1.04–1.57)	0.02

注:AAT = Alpha-1 antitrypsin、BMI = body mass index

第4節　考察

本検討において、血清α_1-アンチトリプシン値が高値のCOPD患者(≧141 mg/dL)は他群と比較して、BMIと肺拡散能力が低く、CTで評価した肺気腫スコアが高値、そして他の炎症マーカーが高値の群であることを明らかにした。また臨床経過との検討においては、1秒量の経年低下が大きく、10年間の生命予後不良と関連することを認めた。AATDではないCOPD患者の長期臨床経過とα_1-アンチトリプシン値との関連を指摘した既報はこれまでない。α_1-アンチトリプシンはセリンプロテアーゼのインヒビターであり、COPDの病態形成において、好中球エラスターゼなどのプロテアーゼによる肺の組織構造的破壊から防御する機構として知られている。実際に、その欠損症はAATDとして東アジアを除いた西欧諸国においては重要なCOPDの原因である。しかし一方で、α_1-アンチトリプシンは、CRPやフィブリノーゲンなどと同様に炎症に応じて血清値が上昇する急性相反応蛋白としても知られていたが、これまで血液中のα_1-アンチトリプシンがAATDではないCOPD患者の臨床経過に、どのような影響を持つかについては、ほとんど検討されていなかった。

既報では、CRPやフィブリノーゲン、TNFα、interleukin-8 (IL-8)、IL-6といった炎症性蛋白および炎症性サイトカインが健常喫煙者と比較してCOPD患者で高値であるという報告があり、その病態形成において炎症の存在が重要であると考えられている(Gan et al., 2004; Ingebrigtsen et al., 2015)。更に、炎症マーカー高値のCOPD患者は頻回の増悪や呼吸機能の経年低下が大きい、予後が不良などのアウトカムと関連するとされ(Augsti et al., 2012; Dahl et al., 2007; Groenewegen et al., 2008)、疾患活動性を反映するバイオマーカーとして期待されている。本検討において、血清α_1-アンチトリプシン値は他の炎症マーカーの上昇と関連を認めていたことから、血清α_1-アンチトリプシン高値のCOPD患者は、高炎症状態を反映し、消耗性の体重減少(BMI低値)や肺局所の構造変化(肺気腫、気流閉塞)をきたし、結果として長期予後が不良であることと関連すると考えられた。横断研究ではあるものの、東本らは日本人COPD患者において血清α_1-アンチトリプシン値とBMIが負の相関を認めること(Higashimoto et al., 2011)を報告し、Seenらは一般住民集団において血清α_1-アンチトリプシン値とBMIや1秒量が負の相関を持つことを示しており(Seen et al., 2008)、本検討の知見と合致するものであると考えられた。一方で、本検討において、他の炎症マーカーにおける検討とは異なり、血清α_1-アンチトリプシン値と増悪には明らかな関連は認めなかった。これは本研究のコホートにおいて、増悪頻度が比較的少なかったことに起因すると考え

られた(Suzuki et al., 2014)。Ingebrigtsen らは、*SERPINA* 遺伝子変異による血清α_1-アンチトリプシン値の低下が増悪リスク上昇と関連する一方で、血清α_1-アンチトリプシン値の上昇もまた増悪リスク上昇と関連ことを示しており(Ingebrigtsen et al., 2015)、本検討の結果のみで、増悪との関連を否定することは難しい。

また本検討において、血清α_1-アンチトリプシン値の低値群で糖尿病の併存が多いことを認めた。詳細なメカニズムは明らかになっていないが、α_1-アンチトリプシンが膵β細胞のアポトーシスを抑制することから、血清α_1-アンチトリプシン値の低下が 1 型・2 型糖尿病の病態形成に関わるとされる報告もある(Fleixo-Lima et al., 2014; Sandstorm et al., 2008)。従って、日常臨床においても血清α_1-アンチトリプシン値が低値の患者を診た時には糖尿病の併存がないかについて注意を払う必要がある。

本検討はいくつかの問題点がある。一つは、本検討において我々は *SERPINA* 遺伝子変異の検索を行っていないことがあげられる。欧米においては、*SERPINA* 遺伝子の一塩基多型(single-nucleotide polymorphisms, SNPs)により血清α_1-アンチトリプシン値が決定されるとされ、正常型の MM ホモ接合体と比較して、Z や S アレルとのヘテロ接合体ではα_1-アンチトリプシン値が低値を示す(Ferrarotti et al., 2012)。しかし本邦における AATD の全国調査において、瀬山らは、本邦の AATD 患者に Z アレルや S アレルは認めず、推定有病者数も 24 人(95%信頼区間:22-27)と極めて少ないと報告している(Seyama et al., 2016)ことを考慮すると、本邦においては、その遺伝子変異の検索は必須ではないと考える。二つ目に、血清α_1-アンチトリプシン値は患者登録時の一度しか測定されておらず、フォロー期間中の変動についての情報がないことがあげられる。α_1-アンチトリプシンは急性相反応蛋白であり、測定時の炎症状態で変動しうることが考えられる。しかし基本的に本検討は、感染や増悪といった急性のイベントのない安定期に原則行われていることと、また登録時の血清α_1-アンチトリプシン高値群は 5 年間の末梢血好中球数が高値である傾向があったことから(図 3)、本検討の血清α_1-アンチトリプシン値は持続的な炎症状態を反映したものであると考えている。また本検討では、肺の組織学的な検索(気道や肺の上皮にα_1-アンチトリプシンが存在するのか、など)は行っておらず、血清値の上昇は単純な高炎症状態を反映しているだけなのか、あるいは活動性の肺の炎症に対して保護的に作用するための上昇なのか、その詳細なメカニズムの検討はできていない。また本研究で対象とした患者数が、海外の大規模試験と比較して小さいことがあげられる。

本検討の結果から、COPD 患者の日常臨床においてはα_1-アンチトリプシンを含めた炎症所見の評価を行い、高炎症所見を有する患者については、より慎重

なフォローアップを行う必要がある。また、より詳細な炎症制御機構が解明され、高炎症所見を有する COPD 患者を対象とした新規薬の開発が期待される。

第5節　本章の結論

Ⅰ　本研究から得られた新知見

AATD でない COPD 患者において、血清α_1-アンチトリプシン値の上昇が、高炎症状態を反映し、COPD 患者の呼吸機能の経年低下や長期の予後不良と関連することを認めた。

Ⅱ　新知見の意義

これまでは AATD のスクリーニングのみで用いられてきた血清α_1-アンチトリプシン値の測定が、AATD でない患者の疾患活動性のバイオマーカーとして有用である可能性を導き出した。

Ⅲ　本研究で得られた新知見に基づく今後の研究の展開

- さらに大規模なコホートで本検討の結果を検証する。
- また他の炎症マーカーと比較して、どの炎症マーカーがより COPD 患者の予後不良を予測するのに有用であるのか検討が必要である。
- 日本人および海外患者における、カットオフ値の検索が必要である。

Ⅳ　今後の課題

- α_1-アンチトリプシンの肺における生理的作用、また COPD の病態形成における作用について、十分には理解されていない。
- 高炎症状態の COPD 患者は予後不良と関連する注意すべき患者という理解がなされても、その炎症のコントロールに有効な抗炎症作用を持つ薬物治療が現状存在しておらず、その開発が望まれる。

第 2 章　β_2-アドレナリン受容体遺伝子 *(ADRB2)* 多型と COPD 患者の長期臨床経過についての検討

第 1 節　研究背景

β_2-アドレナリン受容体は第 5 染色体長腕にある遺伝子(beta-2 adrenergic receptor, *ADRB2*)によりコードされ、413 のアミノ酸からなる 1 本鎖蛋白であり、7 回膜貫通型の G 蛋白共役型の受容体である(Johnson, 2006)。気道においては気管から終末細気管支に至るまで気管支の平滑筋に広く存在し、アデニル酸シクラーゼの活性化から cyclic adenosine monophosphate の産生を通じて平滑筋の弛緩をもたらし、気道を開存させる作用を持つ。また気道上皮、腺細胞にも局在するとされ、グルココルチコイド受容体を細胞外に発現させることにより、炎症性メディエーターの遊離抑制を通じ抗炎症効果にも関与するとされる(Roth et al., 2002)。気管支喘息や COPD といった慢性気道疾患においては、そのアゴニストである長時間作用型β_2作動薬(LABA)は安定期のコントローラーとして、短時間作用型β_2作動薬(short-acting beta-2 agonist, SABA)は増悪期のレリーバーとして使用されてきた。また気道以外においても血管や子宮の平滑筋、心筋、膵臓、脂肪細胞、交感神経終末のシナプス前部に局在し、心不全、高血圧症、糖尿病、肥満、脂質異常症などといった疾患との関連が報告されている(Santulli et al., 2013)。

ADRB2 においては多数の SNPs が報告されているが、その中でも nucleotide 46, 79, 164 の部位の SNPs はアミノ酸置換を伴うミスセンス変異(Arg16Gly, Gln27Clu, Thr164Ile)であり(Reihsaus et al., 1993)、主に Arg16Gly と Gln27Glu の両多型と気管支喘息との関連について検討されてきた。Arg16Gly および Gln27Glu の機能としては、β_2-アドレナリン受容体のダウンレギュレーションに関連するとされている(Green et al., 1995)。

COPD 患者における *ADRB2* の SNPs の役割の検討について、Copenhagen Heart Study における一般集団を対象とした大規模観察研究において、Arg16Gly および Gln27Glu の多型は COPD 発症には関与しないと報告された(Thomsen et al., 2012)。また Bleecker らは、COPD 患者を LABA 群、ICS/LABA 群、プラセボ群に割り付けた 2 つのランダム化比較研究において(治療期間は 6 か月および 12 か月)、Arg16Gly の SNPs は気管支拡張作用や増悪頻度に影響しなかったと報告した (Bleecker et al., 2012)。一方で Rabe らは、COPD 患者を LAMA あるいは LABA に割り付けられた 1 年間のランダム化比較試験の post hoc 解析において、Gln27Glu の SNPs は増悪に影響を及ぼさなかったものの、Arg16Gly の SNPs において Arg ホモ接合体は他の SNPs と比較して、LABA 治療時における増悪頻

度が少ないことを示した(Rabe et al., 2014)。また Ingebrigtsen らは、COPD 患者を 5 年間追跡し、治療の有無や内容によらず Arg16Gly においては Arg アレル、Gln27Glu においては Gln アレルを有すると入院を要する重症の増悪リスクが高いことを示した(Ingebrigtsen et al., 2019)。

上述したように、COPD 患者の臨床経過における *ADRB2* の SNPs の影響は一貫しておらず、また長期間の観察期間により結論を得たものが少ない。さらに本邦において既報はなく、日本人 COPD 患者に当てはめられる十分なエビデンスがない。したがって、今回我々は北海道 COPD コホート研究に参加した COPD 患者を対象として、*ADRB2* の SNPs が臨床背景と長期臨床経過に与える影響について post hoc 解析を行った。

第2節　方法

【対象】

対象は40歳以上の喫煙歴を有する、気管支拡張薬投与後の1秒率が70%未満である北海道COPDコホート研究に参加したCOPD患者(279名)とした。臨床的に明らかな気管支喘息や肺機能の経年変化に影響を及ぼすと考えられる肺疾患(肺癌、肺結核、間質性肺炎など)を有する症例、肺切除例、5年のフォローアップを完遂できないと思われる症例、12時間以上の在宅酸素療法患者は除外された。患者の重症度の内訳は軽症(GOLD 1) 26%、中等症(GOLD 2) 45%、重症(GOLD 3) 24%、最重症(GOLD 4) 5%であった。

【*ADRB2*ジェノタイピング】

患者末梢血よりDNAを抽出し(Sepagene, Wako, Sapporo, Japan)、対立遺伝子特定的定量リアルタイムpolymerase chain reaction(PCR)法でArg16GlyおよびGln27Gluの*ADRB2*について遺伝子タイピングを実施した。Arg16Glyはrs1042713(Arg forward primer: 5-GCC TTC CTG GCA CCC AAA A-3、Gly forward primer: 5-GCC TTC TTG CG GCA CCC AAA A-3、reverse primer: 5-TCA CCC ACA CCT CGT CCC T-3)、Gln27Gluはrs1042714(Gln forward primer: 5-ACC ACG ACG TCA CGC AGC、Glu forward primer: 5-ACC ACG ACG TCA CGC AGG-3、reverse primer:5-CAG AGA CAT GAC GAT GCC CAT)のプライマーを用いた(Primer Express software, PE Applied Biosystems, Foster city, Canada)。PCR遺伝子増幅物は二本鎖DNA特定的蛍光色素(SYBR Green I、Qiagen、Valencia、Canada)を用いてABI Prism 7700 Sequence Detection System(PE Applied Biosystems)で同定した。それぞれのプライマーによるPCR増幅効率を判定し、SNPsの検出を行った。

【統計解析】

患者登録時から5年間の1秒量の経年低下については、3回以上呼吸機能のフォローアップが可能だった患者(261名)についてlinear mixed-effects modelを用いて検討を行った。群間の値の平均値の比較を行う場合、一元配置分散分析あるいはMann-Whitney U検定を用い、所見の出現頻度の比較を行う場合は、カイ二乗検定を行った。5年間の無増悪生存率および10年間の生存率はカプランマイヤー法で示し、ログランク検定で統計学的解析をおこなった。また交絡因子を調整因子として、Cox比例ハザードモデルを用いて多変量解析

を行った。P< 0.05 を統計学的有意とした。統計処理は R version 3.1.2(The R Foundation; http://www.r-project.org/)を用いた。

第 3 節　結果

【*ADRB2* の SNPs の分布】

Arg16Gly および Gln27Glu を測定した結果を表 1 に示す。一部遺伝子増幅不良により測定不可の患者がいたため、Arg16Gly については 268 名が調査可能で、Arg/Gly のヘテロ接合体が最多、Arg と Gly のアレルの出現頻度はほぼ同等だった。一方で、Gln27Glu は 268 名が調査可能だったが、Gln アレルの頻度が高く、Glu のホモ接合体はわずか 1 例だけだった。これは東アジアや本邦の既報と同等の結果だった。

表 1: *ADRB2* の SNPs の分布

		Arg16Gly				
		Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	測定不可	合計
Gln27Glu	Gln/Gln	77 (27.6)	98 (35.1)	42 (15.1)	3 (1.1)	220 (78.9)
	Gln/Glu	1 (0.4)	20 (16.8)	26 (9.3)	0 (0.0)	47 (16.8)
	Glu/Glu	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)	0 (0.0)	1 (0.4)
	測定不可	2 (0.7)	1 (0.4)	0 (0.0)	8 (2.9)	11 (3.9)
	合計	80 (28.7)	119 (42.7)	69 (24.7)	11 (3.9)	279 (100)

注：*ADRB2* = beta-2 adrenergic receptor

【*ADRB2* と患者背景】

Arg16Gly における患者背景の比較を表 2、Gln27Glu の患者背景を表 3 に示す。年齢、性別、BMI、喫煙状況や呼吸機能、併存症、患者登録時の治療に内容を含め、Arg16Gly は各 SNPs でほぼ同等だった。Gln27Glu では喫煙指数に傾向差は認めたものの、その他の患者背景には差を認めなかった。Glu/Glu の 1 名を除いたうえで背景を比較しても結果には影響しなかった。

表 2:Arg16Gly における患者背景

	Arg16Gly			
	Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly	P 値
患者数	80	119	69	
年齢, 歳 (SD)	69.1 (0.9)	69.6 (0.7)	69.4 (1.0)	0.91
性別, 女性(%)	8 (10.0)	6 (5.0)	3 (4.3)	0.27
BMI (SD)	22.3 (0.4)	22.2 (0.3)	22.5 (0.4)	0.81
現喫煙者, N(%)	19 (23.8)	35 (29.4)	22 (31.9)	0.52
喫煙指数 (SD)	64.6 (3.4)	60.6 (2.8)	65.7 (3.6)	0.47
COPD重症度(1/2/3/4)	28/28/20/4	26/61/28/4	14/33/18/4	0.25
CT肺気腫スコア [IQR]	0.92 [0.50-2.13]	1.17 [0.67-2.00]	1.33 [0.83-2.33]	0.12
mMRC息切れ ≧2, N (%)	37 (46.3)	63 (52.9)	42 (60.9)	0.20
SGRQ総点数 (SD)	30.5 (2.0)	31.6 (1.6)	34.0 (2.1)	0.46
1秒量対標準値, %(SD)	67.2 (2.4)	64.0 (2.0)	62.0 (2.6)	0.32
1秒率, %(SD)	0.53 (0.01)	0.51 (0.01)	0.49 (0.02)	0.23
気道可逆性, %(SD)	11.8 (1.5)	12.4 (1.2)	14.9 (1.6)	0.31
肺拡散能, %(SD)	66.2 (2.7)	63.1 (2.2)	61.4 (2.9)	0.46
登録時の併存症				
全心血管疾患, N(%)	17 (21.3)	27 (22.7)	14 (20.3)	0.92
虚血性心疾患, N(%)	4 (5.0)	11 (9.2)	3 (4.3)	0.33
糖尿病, N(%)	3 (3.8)	7 (5.9)	3 (4.4)	0.77
登録時の治療内容				
抗コリン薬, N(%)	35 (43.8)	65 (54.6)	40 (53.0)	0.18
β 刺激薬, N(%)	31 (38.8)	42 (35.3)	27 (39.1)	0.83
吸入ステロイド, N(%)	14 (17.5)	13 (10.9)	10 (14.5)	0.41

一元配置分散分析、Mann-Whitney U 検定、またはカイ二乗検定を用いた。

注:mMRC: modified British Medical Research Council

表 3:Gln27Glu における患者背景

	Gln27Glu			
	Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu	P 値
患者数	220	47	1	
年齢, 歳 (SD)	69.5 (0.5)	68.9 (1.1)	82.0 (7.9)	0.25
性別, 女性(%)	15 (6.8)	2 (4.3)	0 (0.0)	0.76
BMI (SD)	22.3 (0.2)	22.4 (0.5)	24.6 (3.3)	0.78
現喫煙者, N(%)	57 (25.9)	18 (38.3)	0 (0.0)	0.18
喫煙指数 (SD)	61.3 (2.0)	70.7 (4.4)	28.5 (29.8)	0.08
COPD重症度(1/2/3/4)	59/98/53/10	10/23/12/2	0/0/1/0	0.76
CT肺気腫スコア [IQR]	1.17 [0.67-2.17]	1.33 [0.75-2.0]	1.33	0.77
mMRC息切れ ≧2, N (%)	117 (53.2)	25 (53.2)	1 (100)	0.99
SGRQ総点数 (SD)	31.8 (1.2)	32.4 (2.6)	28 (17.6)	0.95
1秒量対標準値, %(SD)	65.2 (1.5)	61.9 (3.2)	46.2 (21.7)	0.46
1秒率, %(SD)	0.52 (0.01)	0.49 (0.02)	0.39 (0.13)	0.25
気道可逆性, %(SD)	12.9 (0.9)	13.4 (2.0)	18.8 (13.4)	0.90
肺拡散能, %(SD)	63.8 (1.6)	62.6 (3.5)	69.7 (24.0)	0.92
併存症				
全心血管疾患, N(%)	50 (22.7)	8 (17.0)	0 (0.0)	0.56
虚血性心疾患, N(%)	16 (7.3)	2 (4.3)	0 (0.0)	0.76
糖尿病, N(%)	9 (4.1)	4 (8.5)	0 (0.0)	0.29
登録時の治療内容				
抗コリン薬, N(%)	118 (53.6)	22 (46.8)	1 (100)	0.42
β_2刺激薬, N(%)	85 (38.6)	16 (34.0)	0 (0.0)	0.76
吸入ステロイド, N(%)	30 (13.6)	8 (17.0)	0 (0.0)	0.57

一元配置分散分析、Mann-Whitney U 検定、またはカイ二乗検定を用いた。

【*ADRB2* と呼吸機能の経年低下の関連】

5 年間の 1 秒量の経年低下量は、Arg16Gly において Arg/Arg 31.8(SD 26.8)mL/年、Arg/Gly 33.4(SD 23.1)mL/年、Gly/Gly 28.1(SD 21.2)mL/年で(P=0.37)、Gln27Glu においては Gln/Gln 33.2(SD 24.5)mL/年、Gln/Glu 26.7(SD 19.6)mL/年、Glu/Glu 4.6ml/年で(P=0.14)と、各 SNPs 間で有意な差は認めなかった。

【*ADRB2* と増悪と予後の関連】

図 1 に各 SNPs と初回増悪までの期間、死亡との関連についてカプランマイヤー法での検討を、表 4 に多変量解析の結果を示す。Arg16Gly、Gln27Glu ともにいずれも初回増悪までの期間、生存期間と有意な関連は認めなかった。また登録時の β_2 刺激薬または抗コリン薬での治療内容を考慮して検討したが、結果は変わらなかった。

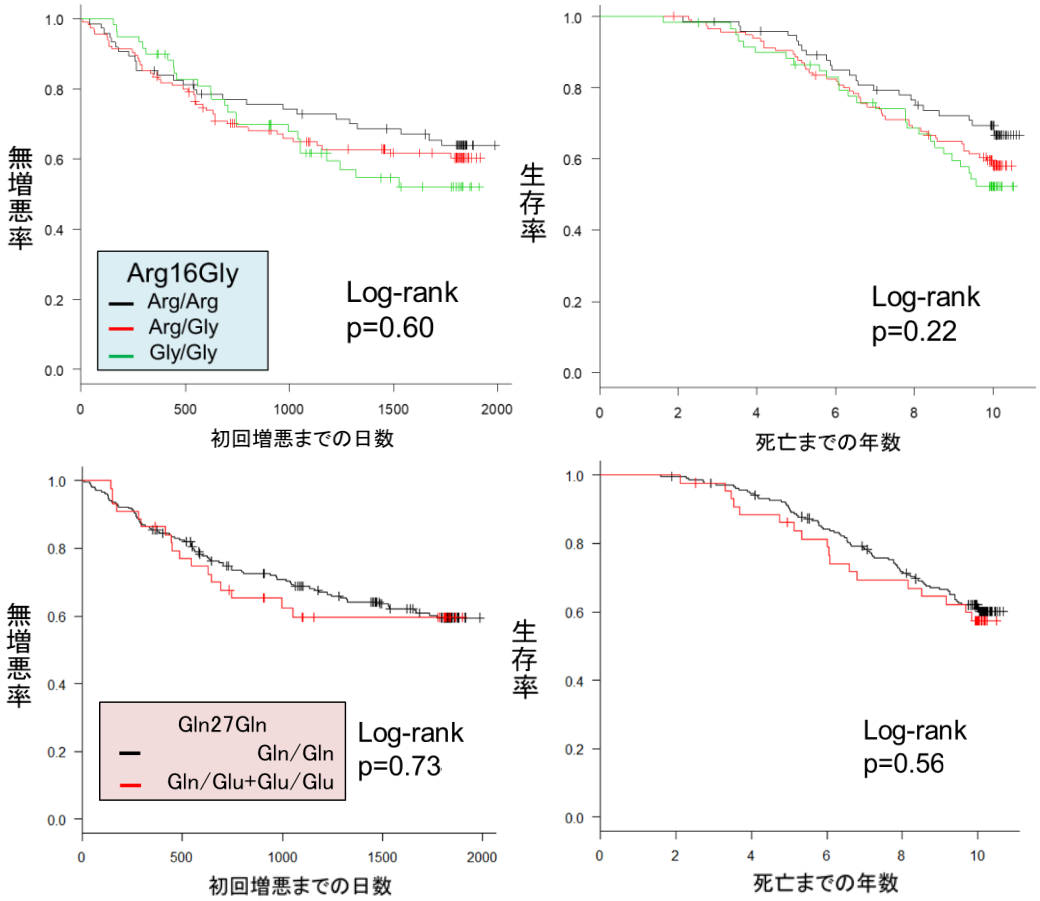

図 1:各 SNPs と初回増悪または死亡までの期間との関連(カプランマイヤー法)
上段は Arg16Gly について、下段は Gln27Glu について示す。いずれの多型においても、初回増悪までの期間、死亡までの期間との関連を認めなかった。

表 4:各 SNPs と初回増悪、死亡までの期間についての多変量解析
(COX 比例ハザードモデル)

SNPs	アウトカム	リスク比[95%信頼区間]	P 値
16Gly(+)	処方変更を要する増悪	1.16 [0.74-1.86]	0.37
	入院を要する増悪	0.68 [0.35-1.39]	0.54
	死亡	1.24 [0.78-2.03]	0.29
27Gln(+)	処方変更を要する増悪	1.04 [0.59-1.73]	0.89
	入院を要する増悪	0.89 [0.35-1.96]	0.78
	死亡	1.17 [0.67-1.94]	0.56

注:それぞれ Gly と Gln のアレルがある患者のハザード比、調整因子は、年齢、性別、BMI、1 秒量対標準値、肺拡散能力(%Kco)を用いた。

第4節　考察

本検討において、Arg16Gly と Gln27Glu の *ADRB2* 多型は、COPD 患者の呼吸機能の経年低下、増悪、生存といった臨床経過には有意な影響は与えなかった。従って、COPD 患者において *ADRB2* 多型を測定することの臨床的な意義は乏しいと考えた。*ADRB2* 多型と COPD 患者の長期臨床経過との検討において、既報は入院を要する重症の増悪との関連を検討したわずか1編であり(Ingebrigsten et al., 2019)、長期間において中等症の増悪および予後との関連について検討したものは報告がなかった。さらに、前向きの検討としては本邦において初の解析となった。

ADRB 多型についての慢性気道疾患におけるバイオマーカーとしての探索は、主に気管支喘息について検討されてきた。気管支喘息における Arg16Gly および Gln27Glu の SNPs は、過去のメタ解析において喘息の夜間症状や呼吸機能と関連するものの、その発症には寄与しないとされる(Contopoulos-loannidis et al., 2005)。また治療への反応性の検討においても、いずれの SNPs においても LABA による治療効果は同等とされている(Bleecker et al., 2007; Wechsler et al., 2009)。従って、気管支喘息における *ADRB* 多型の意味付けは、phenotype 分類にはある程度有用な可能性があるものの、予後や治療への反応性を予測することは困難であり、現状のところ日常臨床において広く用いる意義はないとされている。

COPD における *ADRB2* の SNPs の意義については、まずその生理作用について検討されてきた。本コホートの患者を対象とした既報において、檜澤らは Arg16Gly の SNPs において Gly アレルを有する患者では β_2 刺激薬の気管支拡張効果が大きいこと(Hizawa et al., 2007)、今野らは Arg アレルを有する患者では、SABA と比較して短時間作用型抗コリン薬(short-acting muscarinic antagonist, SAMA)での気管支拡張効果が大きいことを報告し(Konno et al., 2011)、COPD 患者の治療選択におけるバイオマーカーとなる可能性を示した。しかし一方で Rabe らは大規模なランダム化比較試験の post hoc 解析で、長時間作用型抗コリン薬(LAMA)による増悪抑制効果は各 SNPs で差は見られず、長時間作用型 β_2 刺激薬(LABA)による増悪抑制効果が Arg ホモ接合体の患者においてのみ見られたと報告した(Rabe et al., 2014)。喘息患者における検討やヒト気道上皮を用いた検討で、Arg16Arg では Gly16Gly と比較して、β_2 アゴニストの反復投与によっても β_2 受容体のダウンレギュレーションが起こりづらいことが報告されており(Green et al., 1995; Wechsler et al., 2009)、上述した結果の不一致は、SNPs による単回の気管支拡張効果の差よりも、LABA の反復投与でのダウンレギュレーションのしづらさの方が、より増悪抑制に寄

与したためと考えられた。その一方で Ingebrigtsen らは、長期にわたる大規模な観察研究において、LABA の使用の有無によらず 16Arg アレルを有する患者では重症の増悪リスクが高いと、Rabe らの報告とは相反する結果を報告している(Ingebrigtsen et al., 2019)。しかし、前者(Rabe)は継続治療にもかかわらず増悪歴のある比較的重症の患者を対象としている一方で、後者(Ingebrigtsen)は継続治療がほとんどなされていない一般住民集団を対象としていること、フォローアップ期間(1 年と 3.4 年)や増悪の定義(中等症と重症)が異なっており、結局、*ADRB2* の COPD の臨床経過について一貫した条件のコホートで確認されておらず、さらに人種差を踏まえると、現段階で本邦の COPD 患者に適応できるエビデンスは乏しい。今回、我々は COPD として継続加療中の日本人患者の自然歴を調査しており、本邦における日常臨床に最も活用しやすいデータであると考えた。

本検討における弱点として、まず一つに過去の大規模試験と比較して患者数が少ないことがあげられる。本邦では Arg16Gly において Arg と Gly の出現頻度はほぼ同等だった。しかし一方で、本邦を含む東アジアでは Gln27Glu の Glu のアレルの出現頻度は Gln に比較して極めて小さい(Pereira et al., 2011)。本検討でもアレルの出現頻度に偏りがあることから、Gln27Glu の検討において有意な関連が見いだせなかった可能性がある。第二に、本コホートの患者に含まれる女性が少ないことから(6.3%)、女性患者まで一般化できるかは更なる検討が必要である。また登録時の薬剤使用状況によっては本検討の結果は変わらなかったものの、フォローアップ中における LABA や LAMA の使用状況の検討は十分できていない。第三に、本コホートの ADRB2 多型の genotyping は、リアルタイム PCR 法のみで行われており、DNA シークエンスは行われていない点がある。最後に Thr164Ile などの rare variant については検討できていない点があげられる。

第5節　本章の結論

Ⅰ　本研究から得られた新知見

Arg16Gly と Gln27Glu の 2 つの *ADRB2* 遺伝子多型は、日本人 COPD 患者の呼吸機能の経年低下、増悪、生存といった臨床経過には関連しない。

Ⅱ　新知見の意義

- 本邦において *ADRB2* と COPD 患者の臨床経過を前向きに調査した初めての検討である。
- COPD 患者の日常臨床で *ADRB2* を測定する意義は乏しいと考えられる。

Ⅲ　本研究で得られた新知見に基づく今後の研究の展開

- 本知見の再現性を、他の患者集団でも検証する必要がある。
- LABA や LAMA などの薬剤使用が臨床経過に影響しうるかについては、本検討での検証は不十分であり、介入研究により確かめる必要がある。

Ⅳ　今後の課題

他の rare variant の臨床的意義の検討が必要である。

第 3 章　胸部単純 CT の心血管指標を用いた
COPD 患者の長期臨床経過についての検討

第 1 節　緒言

COPD は長期の喫煙歴のある中・高年者に発症すること、症状により運動耐用能の低下や行動変容をきたすこと、さらに COPD 自体が炎症性メディエーターなどを通じ肺以外の全身へ影響をもたらすことで、全身性の併存症をきたすとされる(Vanfletren et al., 2013)。COPD と関連する全身性併存症には、心血管疾患、骨格筋機能障害、骨粗鬆症、糖尿病などの代謝性疾患、うつなどの精神疾患、睡眠時無呼吸症候群、逆流性食道炎などの消化器疾患など多岐にわたり、それらによりさらに COPD の予後や QOL に及ぼす影響は過剰なものとなる(Chatila et al., 2008)。したがって、COPD の管理において、併存症の評価とその治療は極めて重要であるとされる(GOLD, 2020)。

COPD の日常臨床において、胸部 CT 検査はよく使用され、肺実質や気道の異常の評価とともに、肺癌のスクリーニング検査としても有用である。これまでの既報において、肺気腫などの肺実質の異常、あるいは気管支拡張や気道壁の肥厚、気道分泌物などの気道の CT 指標が COPD の重症度や phenotype 分類に有用であるといった豊富な知見がある(Makita et al., 2007; Shimizu et al., 2020)。一方で、肺外の CT 所見に注目して、その臨床的意義を検討した報告は少なかったが、近年、CT 画像で評価した骨塩量の低下(Ohara et al., 2008)や骨格筋量の低下(Marquis et al., 2002)が COPD 患者の生理学的指標、症状そして予後不良と関連するという報告がされた。特に、田辺らは、COPD 患者の予後と脊柱起立筋量の低下が肺内の CT 指標よりも強く予後と関連することを示し、肺外の CT 指標の意義が少しずつ明らかになってきた(Tanabe et al., 2020)。

肺外併存症の中でも、予後に直接的にかかわる最も重要なものとして、心血管疾患があげられる。胸部 CT 検査においては、肺動脈(pulmonary artery, PA)および冠動脈硬化などの心血管指標が評価可能である。既報においても、胸部 CT で評価した PA 径の拡大や、肺動脈径の大動脈径に対する割合である pulmonary artery:aorta (PA:A)比の上昇が COPD 患者の予後不良と関連するとされている(Wells et al., 2012; LaFon et al., 2020)。また冠動脈硬化についての CT 指標もまた、将来の冠動脈疾患のリスクを層別化するとともに(Agatston et al., 1990)、COPD 患者において運動耐容能の低下や予後と関連

する指標であると報告されている(Williams et al.,2014)。今回我々は、胸部CT画像を用いて評価した肺動脈の拡大と冠動脈硬化の指標を単独で用いるよりも、組み合わせて用いることでより正確に予後を反映する指標となりえると仮説を立て、その検証を行った。本検討は北海道COPDコホート研究に参加した患者のデータを探索コホート、そして京都大学コホートに参加した患者のデータを検証コホートとして用いたpost hoc解析である。

第2節　方法

【対象】

対象は40歳以上の喫煙歴を有する、気管支拡張薬投与後の1秒率が70%未満である北海道COPDコホート研究に参加したCOPD患者(279名)とした。臨床的に明らかな気管支喘息や肺機能の経年変化に影響を及ぼすと考えられる肺疾患(肺癌、肺結核、間質性肺炎など)を有する症例、肺切除例、5年のフォローアップを完遂できないと思われる症例、12時間以上の在宅酸素療法患者は除外された。探索コホートである北海道COPDコホートに参加したCOPD患者279名のうち、92名はフィルム撮像等の理由により最初の1年間に解析可能なデジタルCT画像データが欠落していた。したがって、187名についてPA径およびPA:A比の測定を行い、冠動脈石灰化スコア(Coronary artery calcium score, CACS)はそのうち北海道大学病院でCTを施行された110名で測定を行った。臨床経過との検討を行うために、CT測定時点から3回以上のフォローアップを行った患者のみ解析対象としたため、PA径とPA:A比の検討において、解析対象となった患者数は172名であった。またCACSの検討においては、冠動脈ステント挿入術を施行されていた3名が検討から除外され、最終的な解析対象は99名となった。

検証コホートである京都大学コホートは2006年から2009年に130名の男性COPD患者を登録した単施設の前向きコホート研究である(Tanabe et al., 2011)。対象は気管支拡張後の1秒率が70%未満とし、また喫煙歴が20 pack-years未満であるCOPD患者で、他の肺疾患の併存や5年以内の悪性腫瘍の罹患歴、肺切除歴を有する患者、また長期在宅酸素療法を使用中である患者は除外された。2017年まででフォローアップを行い、増悪と全死亡についての調査を終了している。呼吸機能の経年低下および詳細な死因については調査対象外であった。フォローアップ中央値(四分位区間)は3,530日(378, 4429)である。全例がCTデータを解析可能であったが、2名が冠動脈ステント挿入を施行されていたため、PA径とPA:Aの解析対象は130名、CACSの解析対象は128名であった。

【胸部CT撮影条件】

CT撮影は背臥位、深吸気で行い、造影剤は使用しなかった。北海道COPDコホート研究におけるCTスキャナーの機種と撮影スライス厚は以下の通りである(Somatom plus Volume Zoom (Siemens, Germany), 1.25 mm; Aquilion Multi TSX-101A/2A, 0.5 mm, TSX-101A/4E, 10 or 2 mm, TSX-101A/6A, 0.5

mm, X Force TSX-011A/6A, 0.5 mm, X Vigor SS TSX-012A/4B, 10 or 2 mm (Toshiba, Japan); MX-8000/ID16 (Philips, Netherlands), 1mm)。また、技術パラメーターについては、1mm コリメーション、120-140kV、75-350mA、スキャン時間 0.75-1 秒、1-2mm 厚とした。肺気腫の評価は、HRCT により、上・中・下肺野、左右の 6 つの画像において、肺野全体に占める低吸収面積の割合を評価し、3 人の読影者によりスコア化した(Goddard et al., 1982)。また三次元画像データが参照可能だった患者においては、肺全体に占める肺気腫体積(%Low attenuation volume, %LAV)の測定を行った(Makita et al., 2007)。

京都大学コホートにおいて撮影に使用されたスキャナーは Aquilion 64 列(Toshiba, Japan)であり、0.5mm コリメーション、120kVp で電流は自動調整、スキャン時間 0.5 秒、スライス厚は 0.5mm 厚で施行された。

【胸部単純 CT 画像での心血管指標の測定方法】

CT 指標の測定には、当科のワークステーション上のソフトウェア(AZE Ltd., Japan)を用いて行った。測定は患者の臨床情報をマスクした状態で行い、その信頼性と妥当性を検討するために、ランダムに選択した 50 症例の画像を同一検者が再測定、さらに別の検者が測定することで、検者内および検者間の再現性を確認した。PA 径および PA:A 比については、既報に準じて、胸部単純 CT 画像の軸位断で主肺動脈の分岐部の部分の径(PA 径)を測定し、同スライス内で上行大動脈の最大横径(A 径)を測定した(図 1 左)。CACS については、Agatston らの提唱した方法を用いた(Agatston et al., 1990)。冠動脈に沿って存在する CT 値が 130 Hounsfield Units(HU)かつ 1 mm^2 以上の石灰化領域を 1 スライス毎に手動で指摘すると、その体積および最大 CT 値が自動的に計測される。一つの石灰化領域の体積と、その最大 CT 値毎に決定される係数(130-199HU = 1, 200-299HU = 2, 300-399HU = 3, 400HU 以上 = 4)を掛け合わせた石灰化指数を求め、各冠動脈領域(左冠動脈幹部、左前下行枝、左回旋動脈、右冠動脈)で合算を行って、CACS 総和を求めた(図 1 右)。一般に、CACS の値が 100 以下は軽度、101 から 400 以下が中等度であり、401 以上は高度として冠動脈疾患のリスクが高いと判断される(Detrano et al., 2008)。探索コホート(北海道コホート)において、各病院で CT 撮影条件が異なることから、CACS は北海道大学で CT 検査を施行した患者のみ測定することとした。また探索コホート、検証コホート(京都コホート)ともに、CT 画像でデバイスと真の石灰化の鑑別が困難なことから、冠動脈ステント挿入、弁置換手術、大動脈瘤置換手術などの心血管手術の既往のある患者は測定から除外した。

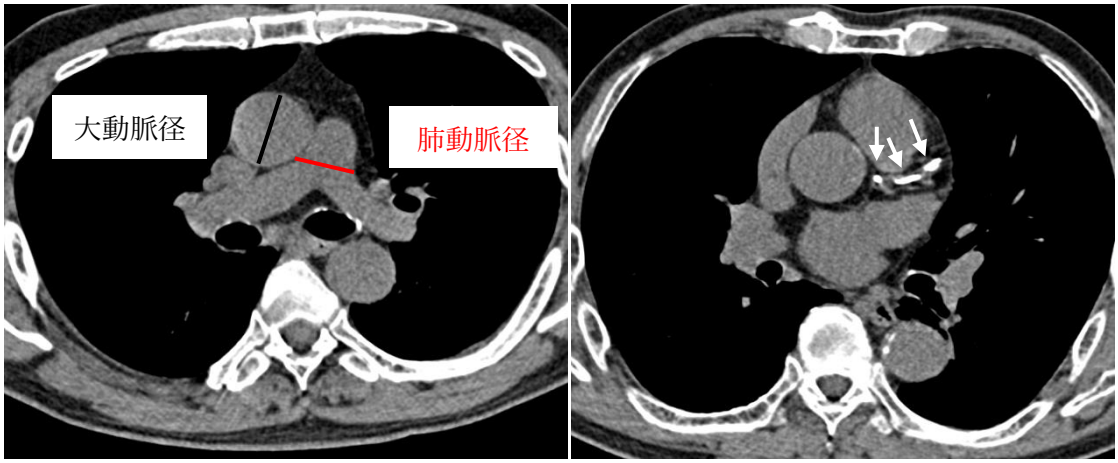

図 1：心血管指標の測定

(左)肺動脈および大動脈径の測定方法を示す。肺動脈径は主肺動脈分岐部で測定を行い、大動脈径については同スライスの上行大動脈の最大横径を測定した。(右)冠動脈石灰化の測定(→部が左前下行枝の石灰化領域)を示す。手動で石灰化領域を指定し、その体積および CT 値に準じた係数は自動的に計算された。

【統計解析】

患者登録時から 5 年間の 1 秒量の経年低下について、linear mixed-effects model を用いて検討を行った。心血管疾患の指標の再現性の確認には、級内相関係数を用いた。群間の値の平均値の比較を行う場合、一元配置分散分析あるいは Mann-Whitney U 検定を用い、所見の出現頻度の比較を行う場合はカイ二乗検定を行った。CT 撮影時点からの無増悪生存期間および生存期間はカプランマイヤー法で示し、ログランク検定で統計学的解析をおこなった。また年齢、性別、BMI、1 秒量対予測値などの交絡因子を調整因子として、Cox 比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行った。$P < 0.05$ を統計学的有意とした。統計処理は R version 3.6.3(The R Foundation; http://www.r-project.org/)および JMP13.1(SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)を用いた。

第 3 節　結果

【患者臨床背景と心血管指標の測定値】

探索コホートである北海道 COPD コホート研究において PA 径と PA:A 比の解析対象となった 172 名、および検証コホートである京都大学コホートにおいて PA 径と PA:A 比の解析対象となった 130 名の患者背景を表 1 に示す。

表 1: 両コホートの患者背景

	探索コホート	検証コホート	P 値
患者数	172	130	
年齢, 歳 (SD)	70.0 (7.8)	71.1 (8.4)	0.22
性別, 女性 (%)	11 (6.4)	0 (0.0)	<0.01
身長, cm (SD)	162.9 (6.6)	164.4 (6.1)	0.04
BMI, kg/m^2 (SD)	22.5 (3.1)	21.5 (2.8)	<0.01
喫煙指数, pack-years (SD)	64.0 (31.4)	70.0 (38.5)	0.14
現喫煙者, N (%)	42 (24.4)	24 (18.5)	0.21
COPD重症度 (1/2/3/4)	48/78/42/4	23/61/34/12	0.02
SGRQ総点数 (SD)	29.4 (17.1)	27.9 (15.5)[a]	0.44
mMRC息切れスケール ≧2, N(%)	83 (48.3)	41 (31.5)	<0.01
気管支拡張後の1秒量, 対標準値% (SD)	65.1 (21.0)	57.6 (20.3)	<0.01
気管支拡張後の1秒率, (SD)	0.51 (0.13)	0.47 (0.13)	<0.01
肺拡散能力(Kco), 対予測値 %(SD)	70.2 (22.9)[b]	63.4 (23.7)[c]	0.01
CT肺気腫スコア(IQR)	1.00 (0.67-2.00)	NA[d]	
肺気腫体積, %LAV (SD)	24.1 (13.8)[e]	30.0 (9.6)	<0.01
登録時の併存症			
全心血管疾患, N (%)	45 (26.2)	27 (20.8)	0.34
虚血性心疾患, N(%)	13 (7.6)	9 (6.9)	0.84
糖尿病, N(%)	7 (4.1)	16 (12.3)	<0.01

一元配置分散分析、Mann-Whitney U 検定、またはカイ二乗検定を用いた。
注：[a]N = 123、[b]N = 166、[c]N = 128、[d]NA = not assessed (検証対象外)、[e]N = 131

探索コホートと比較して、検証コホートでは BMI がより低値で呼吸機能が悪く、より重症の患者群であった。また、登録時に糖尿病の併存症がより多く認められた。

表 2 には、両コホートの心血管指標の測定値を示す。CACS については両コホ

ートで同等であったが、PA 径および PA:A 比は検証コホートの方が大きかった。また PA 径、PA:A 比、CACS の検者内/検者間の級内相関係数は、それぞれ 0.92/0.88、0.91/0.92、0.98/0.98 と良好だった。

表 2:両コホートの心血管指標の測定結果

	探索コホート	検証コホート	P 値
PA解析における患者数	172	130	
PA径, mm (IQR)	26.0 (23.6-29.5)	28.9 (26.0-31.4)	<0.01
大動脈径, mm (IQR)	33.8 (31.0-36.7)	33.2 (30.9-35.8)	0.28
PA:A比 (IQR)	0.777 (0.701-0.867)	0.865 (0.793-0.940)	<0.01
PA:A比 ≥1, N (%)	7 (4.1)	10 (7.7)	0.18
CACS解析における患者数	99	128	
CACS (IQR)	68.3 (8.4-437.9)	101 (6.9-451.5)	0.58

Mann-Whitney U 検定、またはカイ二乗検定を用いた。
注：CACS = coronary artery calcium score、PA = pulmonary artery(肺動脈)、PA:A 比 = pulmonary artery:aorta(肺動脈/大動脈)径比

【探索コホートの検討結果】

各指標と臨床経過との関係を比較検証するために、各指標の四分位数を基にして、指標毎に患者を 4 群へと分類した。PA 径においては、Q1(<23.6mm(下位 25%値))、Q2(≧23.6mm、<26.0mm(中央値))、Q3(≧26.0mm、<29.5mm(上位 25%値))、Q4(≧29.5mm)とした。PA:A 比は、Q1(<0.701(下位 25%値))、Q2(≧0.701、<0.777(中央値))、Q3(≧0.777、<0.867(上位 25 値))、Q4(≧0.867)とした。CACS については、Q1(<8.4(下位 25%値))、Q2(≧8.4、<68.3(中央値))、Q3(≧68.3、<437.9(上位 25%値))、Q4(≧437.9)とした。各指標の四分位群ごとの呼吸機能の経年低下を表 3 に示す。いずれの指標においても、呼吸機能の経年低下との関連は見られなかった。

表 3:探索コホートにおける各指標の四分位群と 1 秒量の経年低下量の関連

	患者数	1秒量 経年低下量(SD)	P 値		患者数	1秒量 経年低下量(SD)	P 値		患者数	1秒量 経年低下量(SD)	P 値
PA径			0.73	PA:A比			0.93	CACS			0.41
Q1	40	−30.1 (20.8)		Q1	42	−29.7 (20.5)		Q1	24	−20.8 (20.6)	
Q2	46	−25.3 (27.3)		Q2	44	−28.3 (25.2)		Q2	25	−30.0 (23.4)	
Q3	43	−30.4 (23.9)		Q3	44	−29.7 (25.7)		Q3	25	−27.7 (24.8)	
Q4	43	−28.9 (28.9)		Q4	42	−26.7 (24.6)		Q4	25	−31.0 (22.7)	

一元配置分散分析を用いた。患者群 Q1～Q4 は、各測定値の四分位数に基づいて、Q1(＜下位 25%値)、Q2(≧下位 25%値、＜中央値)、Q3(≧中央値、＜上位 25%値)、Q4(≧上位 25%値)と分類した。

次に、図 2 に各指標における四分位群と初回増悪までの期間(A)、死亡までの期間(B)との関連を示す。死亡までの期間において、PA 径の Q4 群で有意な関連を認め、CACS の Q4 群でも関連する傾向を認めた。

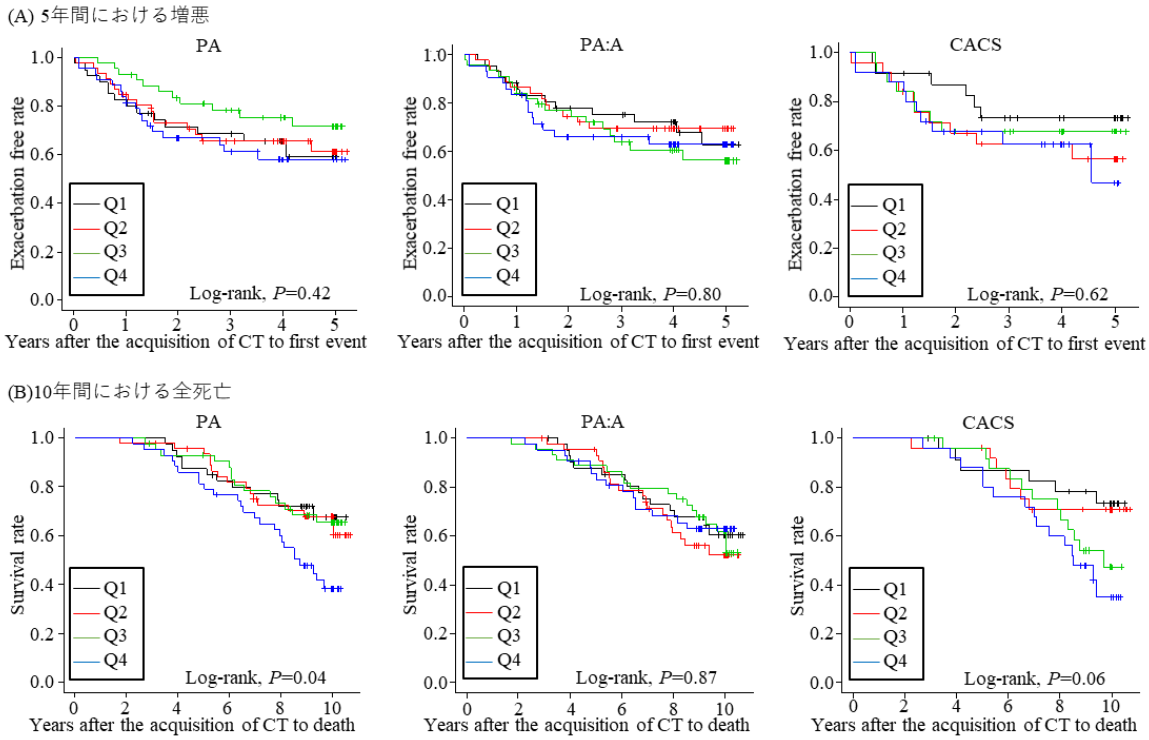

図 2：探索コホートにおける各指標と(A)5 年間の初回増悪、(B)10 年間の全死亡までの期間の関連(カプランマイヤー法)

肺動脈径の Q4(＞上位 25%値)群は、死亡までの期間と有意な関連を認めた(log-rank, p=0.04)。

表 4 には、各指標の 4 分位群と初回増悪、死亡までの期間をアウトカムとし

た多変量解析の結果を示す。調整因子には、年齢、性別、BMI、1 秒量対標準値を用いた。PA 径の Q4 群のみで、全死亡との有意な関連が見られた。

表 4:探索コホートの各指標と初回増悪、死亡までの期間についての多変量解析(COX 比例ハザードモデル)

	PA径	PA:A比	CACS
5年間の初回増悪までの期間			
Q1	(対象群)	(対象群)	(対象群)
Q2	1.10 (0.53-2.32)	0.96 (0.44-2.09)	2.62 (0.84-9.00)
Q3	0.67 (0.29-1.49)	1.35 (0.66-2.85)	1.99 (0.60-7.15)
Q4	1.10 (0.53-2.32)	1.25 (0.59-2.68)	2.45 (0.79-8.26)
10年間の全死亡までの期間			
Q1	(対象群)	(対象群)	(対象群)
Q2	1.94 (0.89-4.31)	1.31 (0.66-2.62)	0.35 (0.11-1.17)
Q3	1.18 (0.53-2.69)	1.16 (0.57-2.37)	0.54 (0.19-1.67)
Q4	2.06 (1.02-4.39)[a]	1.18 (0.57-2.44)	0.93 (0.36-2.73)

注：Q1 群を対象としたときのハザード比(95%信頼区間)、 [a]P<0.05

次に PA 径拡大と冠動脈硬化を組み合わせることで、予後や増悪の予測に有用な指標を得られるのではないかと考え、PA 径と CACS からなる cardiovascular risk score(CR score)を作成した。PA 径≦29.5mm(上位 25%値)は 0 点、PA 径 >29.5mm を 1 点、また CACS≦437.9(上位 25%値)を 0 点、CACS>437.9 を 1 点として、合計 0 から 2 点の範囲を取る(解析対象 99 名のうち、CR score 0 点は 61 名、1 点は 32 名、2 点が 6 名)。1 秒量の経年低下量[SD]は 0 点が 26.8[21.8]mL/年、1 点が 28.4[25.0]mL/年、2 点が 28.6[26.5]mL/年(P=0.95)で、CR score と呼吸機能の経年低下量には明らかな関連は見られなかった。また図 3 に示すように、CR score の上昇は初回増悪までの期間、全死亡および呼吸器疾患による死亡までの時間と関連した。

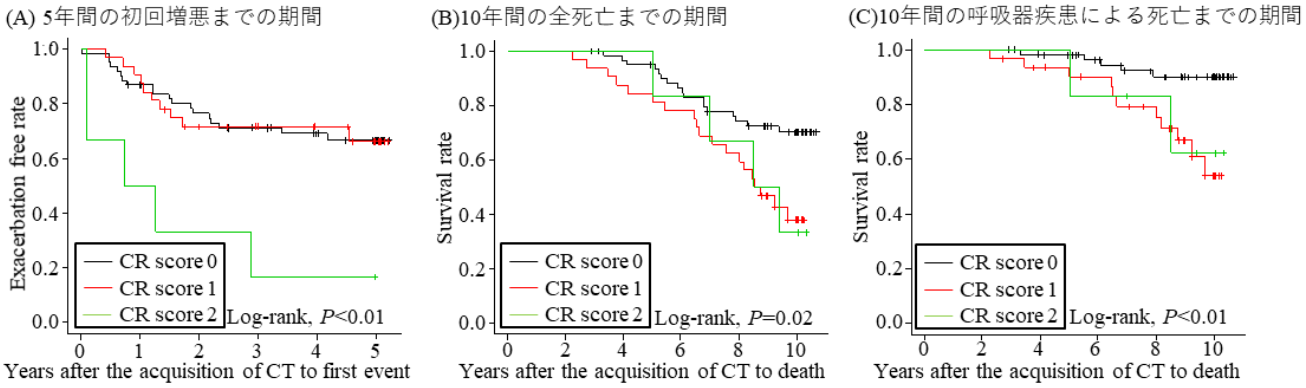

図 3：探索コホートにおける、Cardiovascular risk score と(A)初回増悪までの期間、(B)全死亡までの期間、(C)呼吸器疾患による死亡までの期間(カプランマイヤー法)

Cardiovascular risk score の上昇は、初回増悪、全死亡までの期間、呼吸器関連死亡までの期間と関連を認めた。

注：CR score = Cardiovascular risk score

CR score の上昇は、年齢、性別、BMI、1 秒量対標準値で調整を行っても、多変量解析において、全死亡と有意な関連を認めた(表 5)。また、肺気腫の程度や冠動脈疾患、糖尿病の併存を調整因子に加えても結果は変わらなかった。

表 5:探索コホートにおける CR score と初回増悪と死亡までの期間についての多変量解析(COX 比例ハザードモデル)

	ハザード比 (95%信頼区間)
5年間の初回増悪までの期間	1.36 (0.66-2.79)
10年間の死亡までの期間	
全死亡	2.28 (1.21-4.39) [a]
呼吸器疾患による死亡	4.58 (1.67-14.73) [a]
心血管疾患による死亡	6.76 (0.81-106.8)

注：score 1 or 2(vs 0 点)のハザード比(95%信頼区間)、[a]P<0.05

【検証コホートの検討結果】

検証コホートにおいても、各指標の増悪や予後についての関連を検討するために、探索コホートと同じカットオフ値を用いて患者を 4 群に分類した。カプランマイヤー法では CACS の Q4 群、そして多変量解析(年齢、BMI、1 秒量対標準値)では PA 径の Q4 群で全死亡までの期間と関連したものの、全体として

は、探索コホートと同様に、各指標と初回増悪や死亡までの期間には明らかな関連は認められなかった(図 4、表 6)。

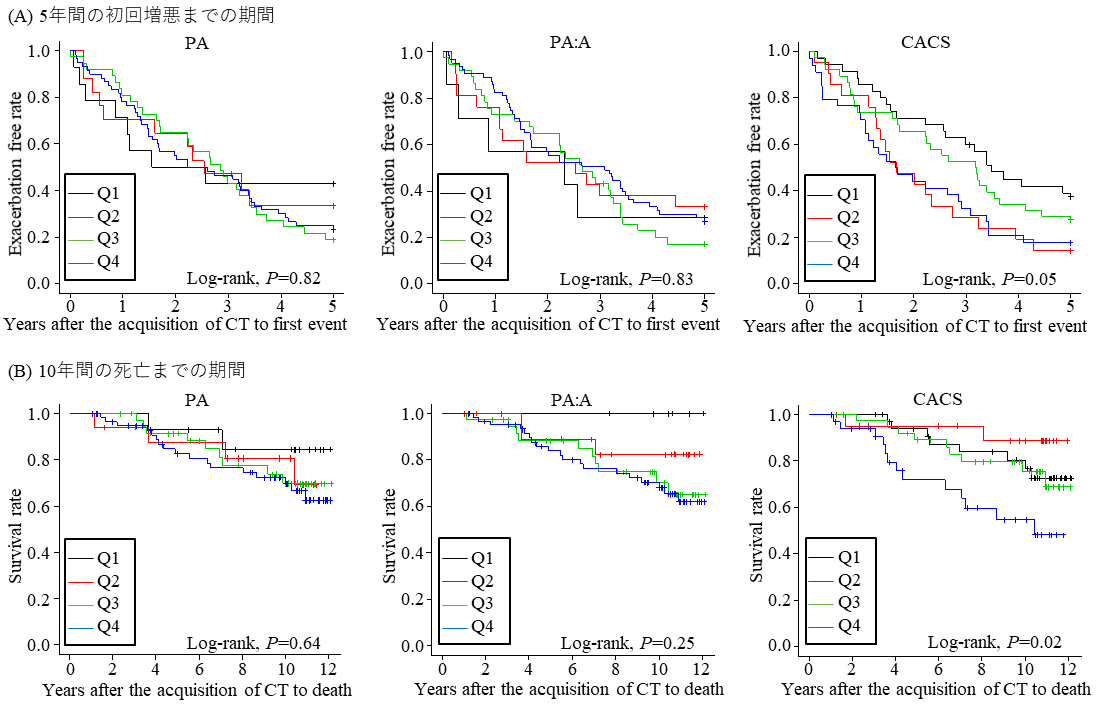

図 4:検証コホートにおける各指標と(A)初回増悪、(B)死亡までの期間の関連(カプランマイヤー法)

CACS の高値群は死亡までの期間と関連を認めた。

表 6:検証コホートの各指標と初回増悪、死亡までの期間についての多変量解析(COX 比例ハザードモデル)

	PA径	PA:A比	CACS
5年間の初回増悪までの期間			
Q1	(対象群)	(対象群)	(対象群)
Q2	1.01 (0.40–2.68)	1.17 (0.44–3.68)	2.22 (1.16–4.19)[a]
Q3	0.97 (0.45–2.23)	1.08 (0.45–3.18)	1.06 (0.59–1.91)
Q4	0.90 (0.42–2.17)	0.94 (0.41–2.72)	1.59 (0.89–2.87)
10年間の全死亡までの期間			
Q1	(対象群)	(死亡なし)	(対象群)
Q2	2.27 (0.44–16.5)	(対象群)	0.42 (0.06–1.68)
Q3	2.67 (0.67–17.7)	1.60 (0.47–7.29)[b]	0.84 (0.31–2.35)
Q4	3.77 (1.02–24.5)[a]	1.97 (0.57–6.80)[b]	1.94 (0.79–5.06)

注:Q1 群を対象としたときのハザード比(95%信頼区間)、[a]P<0.05、[b]Q1 群で死亡がなかったため Q2 を対象群とした。

また検証コホートと同じ基準を用いて CR score により患者を分類したところ(0 点は 50 名、1 点は 63 名、2 点は 15 名)、探索コホートと同様に、CR score の上昇は、全死亡までの期間と明らかな関連を認めた(図 5 および表 7)。また肺気腫の程度、ベースラインの併存症で調整しても、結果は変わらなかった。

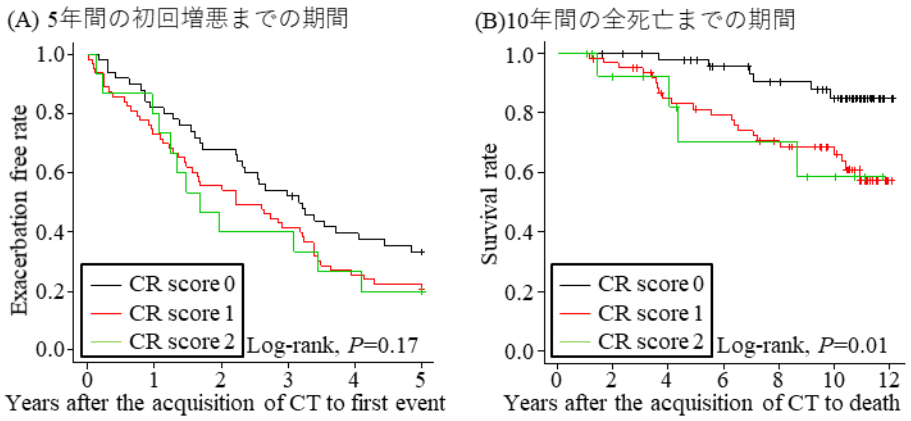

図 5:検証コホートにおける(A)Cardiovascular risk score と初回増悪までの期間、(B)全死亡までの期間の関連(カプランマイヤー法)

Cardiovascular risk score の上昇は死亡までの期間と関連したが、増悪とは関連が見られなかった。

表 7: 検証コホートにおける CR score と初回増悪と死亡までの期間についての多変量解析(COX 比例ハザードモデル)

	ハザード比 (95%信頼区間)
5年間の初回増悪までの期間	1.15 (0.74-1.82)
10年間の死亡までの期間	
全死亡	3.62 (1.56-9.88) [a]
呼吸器疾患による死亡	NA[b]
心血管疾患による死亡	NA[b]

注:score 1 or 2(vs 0 点)のハザード比(95%信頼区間)、[a]P<0.05、[b]NA = 調査対象外

第4節　考察

本検討において、第一段階の検討として、PA径、PA:A比、CACSを単独で用いた際の呼吸機能の経年低下、増悪、死亡といったCOPD患者の臨床経過との関連を検証した。PA径>29.5mmの群は全死亡と関連したものの、全体として単独ではCOPD患者の重要なアウトカムの予測は困難と考えられた。しかし、PA径の拡大とCACSの上昇から成るCR scoreを作成したところ、PA径の拡大または/かつ冠動脈硬化所見をもつ患者(CR score 1点および2点)は、両者とも有さない患者(CR score 0点)と比較して明らかに予後不良と関連することを示した。我々の知る限り、PA径とCACSといった複数の心血管指標の組み合わせの意義を示した検討は既報がない。本検討では、探索コホートの結果が別の患者集団である検証コホートでも証明されたことは特筆すべきことである。

COPD患者の臨床経過は非常に多彩である。これは単にCOPDの病態生理が患者により多様であることのみならず、様々な全身性併存症がその臨床経過に大きな影響を与えることによると考えられる。従って、現在の国際的ガイドラインにおいてもCOPD患者の併存症を積極的に検索し、治療されることが必要であると強調される一方で、CT検査については肺癌スクリーニング以外ではルーチンとして使用すべきでないとの記載もなされている(GOLD, 2020)。本検討の結果は、胸部CT検査での肺動脈拡大および冠動脈硬化所見が、肺気腫や気道内の異常所見、肺癌といった肺内所見と同様に、予後を予測するのに有用であることを示したことから、CT検査のCOPD患者の臨床における意義はより高まったと考えられる。ただし、CT検査は非侵襲的で一般臨床でも広く使用できる利点がある一方で、患者に放射線曝露による障害を与える可能性も考慮しておく必要がある。

探索コホートにおいて、CTで評価されるPA径の拡大および冠動脈硬化の組み合わせは、全死亡よりも呼吸器疾患による死亡と強く関連した。COPDと冠動脈硬化あるいはCOPDとPA径の拡大の間の病態生理が明確でないことから、この結果を完全に理由付けすることは難しいが、考えうる説明として、①炎症や血管内皮障害、凝固異常などのこれらの病態に共通する機序が、心血管所見の異常とともにCOPDの進行に寄与した可能性や、②潜在的な肺高血圧症や冠動脈疾患により心肺機能に障害をもつCOPD患者が肺炎や増悪といった重篤な呼吸器イベントを生き抜くことができなかった可能性などが考えられる。心血管疾患は西欧諸国においては、COPD患者の最も主要な死因であるが(Mullerova et al., 2013)、本邦の患者は西欧諸国の患者より肥満患者が極めて少なく(Takahashi et al., 2015)、北海道COPDコホート研究の患者279名における

検討でも心血管疾患による死亡は11%に過ぎなかった(Makita et al., 2020)。そのため、本検討ではCR scoreと心血管疾患による死亡との関連において、ハザード比自体は最も高かったものの、有意な結果は示せなかった(P=0.09)。しかし、冠動脈死亡のリスクが小さい本邦においてさえ、CT検査で得られる心血管指標を組み合わせることでCOPD患者の予後に及ぼす影響は重要であることを示すことができたのは重要な知見である。

本検討の結果において、PA径、PA:A比、CACSを単独で用いた際のCOPD患者の臨床経過に及ぼす明らかな影響は認めなかった。Williamsらは、CACSの上昇がCOPD患者の死亡率を高めると報告しているが(Williams et al., 2014)、本検討では多変量解析でCACSと全死亡に明らかな関係は認めなかった。これらの結果の齟齬は、今回用いた二つのコホートの患者数が少ないことにより、統計学的な検出力が不足していた可能性が考慮される。実際に、カプランマイヤー法を用いた検討において、CACSは死亡率が高い傾向にあった。したがって、本検討の結果をもって今回扱った心血管指標が単独では有用でないと結論付けることはできない。しかし、CACSとPA径の拡大の組み合わせがより有用な指標であることを今回の検討で示すことができた。

肺高血圧症はCOPDの進行と併存するとされるが、特に肺疾患に伴う肺高血圧症は有効な薬物治療が確立されておらず、COPDの予後に多く関わる疾患である(Minai et al., 2010)。そのスクリーニング検査として経胸壁心エコー検査が主に用いられるが、肺の過膨張による胸郭内気量の増加、心臓を圧迫することによる変位や変形などのCOPDに伴う構造変化が心エコー検査の診断精度を落とすといわれている(Ni et al., 2019)。このような背景から、CT検査でのPAの拡大所見は心エコーに代わる、肺高血圧症のスクリーニング検査として期待されている(Coste et al., 2019)。既報において、CT検査でのPA径の拡大やPA:A比の上昇が、COPD患者における肺高血圧症の併存や、増悪あるいは予後といったアウトカムと関連するという報告がされてきた(Wells et al., 2012; LaFon et al., 2020)。しかし、登録される患者の重症度や年齢、人種といった背景が異なることにより、そのPA径やPA:A比は研究により大きく異なっている。本検討では、PA径>29.5mmおよびCACS>437.9というカットオフ値(探索コホートの上位25%値)を用いて臨床経過を予測することが可能であったが、今後の課題として、患者の臨床背景に応じた適切なカットオフ値の探索や、PA径とPA:A比のどちらを用いるのがより適切であるかについての検討を様々な患者群において必要であると考えられる。

本検討における問題点として、第一に探索コホートに含まれるCT画像のスライス厚など解析した条件が一様ではないことが挙げられる。従って、10mmのスライス厚のデータを除いて同様の検討を行ったが(N=141)、本検討と同じ傾

向の結果であった。二つ目に、CT 撮影に心電図同期撮影法を用いていないことが挙げられ、心拍が心血管指標の測定値に影響している可能性は否定できない。しかし、Budoff らは心電図同期 CT 撮影と非同期 CT 撮影では、測定される CACS 値に差がないことを示し(Budoff et al., 2011)、また PA 径を測定したこれまでの検討の多くは、心電図非同期で行われてきてことを考慮すると、方法論の問題は比較的小さいと考えられる。第三に、本検討で用いた二つのコホートには女性患者が極めて少ないことから、この結果を女性の COPD 患者に適応できるかは不明である。最後に、検証コホートにおいては死因の情報が得られないことから、探索コホートで行った死因毎の検討が検証できていないことが挙げられる。

本検討で得られた知見を基に、COPD 患者で胸部単純 CT を施行した際には、肺内所見と同時に、肺動脈径の拡大および冠動脈硬化所見についても評価することで、心血管疾患を含めた併存症を検索し、積極的に介入を行っていくことが重要と考える。

第5節　本章の結論

Ⅰ　本研究から得られた新知見

胸部単純CT画像で測定したPA径、PA:A比、CACSを単独で用いるのではなく、組み合わることにより、COPD患者の長期予後をより明確に予測できる。

Ⅱ　新知見の意義

異なる複数の心血管指標を同時に用いることでCOPD患者の予後予測における有用性を示した初めての検討である。特に重症度の異なる探索コホートで再現性が得られたことが、結果の信頼性を高めたと考えられる。

肺気腫や気流閉塞の程度といったCOPDの重症度や、心血管疾患の併存の有無とは独立した、有用な画像的バイオマーカーになりえると考えられ、こうした特徴を有するCOPD患者には、より早期かつ積極的に、併存症への介入とCOPDへの治療を行う必要があると考えられる。

Ⅲ　本研究で得られた新知見に基づく今後の研究の展開

胸部CT画像から得られる他の肺外指標(脊柱起立筋、骨塩量、縦隔の脂肪織量、心臓の形態変化)との組み合わせにより、より有用なバイオマーカーを探索していく必要がある。

また肺動脈拡大あるいは冠動脈硬化所見を有するCOPD患者における、予後を改善するための適切な治療法について検討する余地がある。

Ⅳ　今後の課題

本検討で用いたカットオフ値が他の患者集団(本邦以外の患者など)で当てはまるかの検証が必要である。

第 4 章

結論

今回の検討においては、北海道 COPD コホート研究および京都大学コホートに参加した患者データを用いて COPD の多面的なバイオマーカーの探索を行い、以下に述べる成果を得た。

1. 血清学的なバイオマーカーとしてα_1-アンチトリプシンに着目し、血清α_1-アンチトリプシン値の上昇が、高炎症状態を反映し、COPD 患者の呼吸機能の経年低下や長期の予後不良と関連することを明らかにした。(第 1 章)

2. 遺伝学的なバイオマーカーとしてβ_2-アドレナリン受容体の遺伝子多型に着目し、Arg16Gly と Gln27Glu の 2 つの *ADRB2* 遺伝子多型は、日本人 COPD 患者の呼吸機能の経年低下、増悪、生存といった臨床経過には関連せず、バイオマーカーとしての役割は乏しいことを明らかにした。(第 2 章)

3. 画像的なバイオマーカーとして胸部単純 CT 画像の心血管指標に着目し、胸部単純 CT 画像で測定した肺動脈径、肺動脈：大動脈径比、冠動脈硬化スコアを単独で用いるのではなく、組み合わることにより COPD 患者の長期予後をより明確に予測できることを、独立した 2 つのコホートで明らかにした。(第 3 章)

いずれの検討結果についても、他の患者集団で同じ結果が得られるのかについて検証され一般化される必要があるものの、COPD の予後予測に有用であり、また病態生理の更なる理解の手がかりを得ることができる検討であったと考える。現在の知見において COPD 患者の予後を明確に改善すると証明されているのは、禁煙、インフルエンザウィルスのワクチン、在宅酸素療法といった非薬物療法が中心であり、薬物療法については COPD の明確な予後改善効果が示されていない。本検討において、予後不良患者を弁別するための臨床的特徴(高炎症状態、CT 画像での心血管所見)を示したが、根本的な病態に対する治療が困難な現時点の臨床現場においては、非薬物療法を含めた慎重な患者フォローを行う、また積極的な合併症の探索を行うといった管理が必要と考える。しかし将来、新規の治療薬が実用化された際には、積極的な治療対象として検討されるべきと考える。今後の方針として、COPD における有用なバイオマーカーを

血清学的、遺伝子学的、画像的な指標だけではなく生理学的な指標を含め、さらに多面的に検討することで新たな治療ターゲットの発見や precision medicine の実現、さらに個別化治療へと結びつけていくことを目的としたい。

その手段として、北海道大学大学院医学研究院呼吸器内科教室を中心に進行中のプロジェクトである『気管支喘息と COPD の合併病態に焦点を当てた慢性気道疾患患者の包括的前向きコホート研究(the Prospective Integrative Cohort of Chronic Airways Disease (PIRICA) study)』について述べる。PIRICA 研究は 2017 年に計画され、気管支喘息および COPD の合併病態である asthma-COPD overlap(ACO)に主眼を置いた多施設共同の前向きコホート研究である。気管支喘息と COPD は、いずれも慢性の気道炎症を特徴とする頻度が高い疾患だが、これまでは別の病因による独立した疾患と考えられてきた。しかし特に中高年者において、両方の臨床的特徴を有する予後不良とされる患者群がいることは臨床的に理解されていたが、2014 年に喘息および COPD の国際組織が共同して ACOS(asthma-COPD overlap syndrome)という概念が発表され近年の topic となった。これまでの観察研究、介入研究では喘息を対象とした研究からは喫煙歴など COPD の特徴を持つ患者は除外され、COPD を対象とした研究からは気管支喘息の特徴を有する患者は除外されてきた背景から、ACO 患者の予後の情報や臨床的特徴、最適な治療についてはエビデンスが乏しい状況であり、気管支喘息、COPD、ACO を含む慢性気道疾患患者を広く対象として 3 年間の前向き観察研究である PIRICA 研究を行うこととした。Phase I 調査として、気管支喘息あるいは COPD、慢性気管支炎、肺気腫のいずれかと診断された 55 歳以上の患者(925 例)、そして phase II 調査では気管支喘息と COPD の両方の臨床的特徴をもつ患者(200 例)を登録する。詳細な問診、併存症、呼吸機能、血液検査、CT 画像および増悪や生存の情報、さらに Phase II では喀痰や尿、気管支鏡による気道上皮の情報を調査することで、慢性気道疾患を有する中高年者における ACO ならびに ACO に含まれるフェノタイプを定義し、その ACO のみならず慢性気道疾患全体の遺伝学的・分子物理学的病態を明らかにすることを目的とする。2017 年 11 月 17 日に北海道大学病院自主臨床研究審査委員会にて承認され(No.017-0094)、2018 年 2 月 20 日に UMIN に登録(UMIN000031185)され、4 月から患者集積を開始した。患者登録締め切りは 2021 年 9 月 30 日、試験継続期間は 2024 年 12 月 31 日までを予定している。2020 年 11 月現在で北海道大学病院を含む 10 施設で 867 名の患者を登録しており、今後も目標症例数まで患者集積を継続する予定である。小生は研究のコアメンバーの一人として、北海道大学大学院医学研究院呼吸器内科学教室の今野哲教授および鈴木雅講師の指導のもとで、患者集積や集積した検体管理、データ管理などの実務面の中心を担っている。

謝辞

本研究の機会を与えていただいた、北海道大学大学院医学研究院呼吸器内科学教室教授である今野哲先生に深謝致します。ならびに、本研究において直接のご指導を賜りました、北海道大学大学院医学研究院呼吸器内科学教室講師である鈴木雅先生に深謝致します。また、本研究の立案、研究計画、論文化に際しご助言いただきました北海道大学名誉教授である西村正治先生および牧田病院の牧田比呂仁先生、また患者様のデータをご提供いただいた京都大学大学院医学研究科呼吸器内科学の平井豊博教授、佐藤晋先生、田辺直也先生、さらに北海道 COPD コホート研究にご尽力いただきました以下に記載する協力施設の皆様、そして研究にご協力いただきましたすべての患者様に感謝の意を表します。

北海道 COPD コホート研究グループ（敬称略）

KKR 札幌医療センター：川上義和、西浦洋一、斎藤拓志、福家聡、小島哲弥
北海道中央労災病院：木村清延、五十嵐毅、中野郁夫、大塚義紀、板橋孝一、二川原真治、森岡崇、田上清一、酒井一郎、佐藤利佳、方波見基雄、森川清志、小嶋淳一郎
岩見沢市立総合病院：上村明、白間信行原田敏之
北海道社会保険病院：岸不璽彌、秋山也寸史、大江真司、伊藤昭英、藤野通宏
札幌社会保険総合病院：高岡和夫、土肥勇
市立札幌病院：山本宏司、小倉滋明、秋江研志、本村文宏、泉寛志、楠堂晋一、馬場顕介、小坂昌宏
市立小樽病院、小樽協会病院：中野剛川村健、竹藪公洋
勤医協中央病院、勤医協十条クリニック：伊志嶺篤、中野亮司、剣持善之
天使病院：神島薫、長谷川靖
たぐち内科クリニック：田口浩之、藤屋医院：藤屋秀一、得地内科医院：得地令郎、はねだ内科クリニック：羽田均、もなみ内科・呼吸器科クリニック：浮田英明、北 13 条内科・皮膚科クリニック：上村康二
北海道対がん協会、各医療機関外来看護師、呼吸機能検査技師、CT 検査技師
北海道大学病院内科Ⅰ：檜澤伸之、別役智子、南須原康行
放射線科：小野寺祐也、笹木工、呼吸機能検査室：新田克明、山本雅史
保健科学研究院機能回復学分野：宮本顕二
呼吸器疾患コホート研究所：牧田比呂仁、足利秀香、近藤絢子、高木優子

利益相反

本検討で用いた北海道 COPD コホート研究は、厚生労働省および文部科学省の科学研究費および、ファイザー株式会社、ベーリンガーインゲルハイム株式会社、アストラゼネカ株式会社から研究費を受託し施行した。

引用文献

American Thoracic Society. Cigarette smoking and health. American Thoracic Society. (1996). Am. J. Respir. Crit. Care Med. *153*, 861-865.

American Thoracic Society, & European Respiratory Society (2003). American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1 antitrypsin deficiency. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *168*, 818-900.

Agatston, A. S., Janowitz, W. R., Hildner, F. J., Zusmer, N. R., Viamonte, M., Jr, and Detrano, R. (1990). Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. J. Am. Coll. Cardiol. *15*, 827-832.

Agusti, A., Edwards, L. D., Celli, B., Macnee, W., Calverley, P. M., Müllerova, H., Lomas, D. A., Wouters, E., Bakke, P., Rennard, S., et al. (2013). Characteristics, stability, and outcomes of the 2011 GOLD COPD groups in the ECLIPSE cohort. Eur. Respir. J. *42*, 636-646.

Bafadhel, M., McKenna, S., Terry, S., Mistry, V., Reid, C., Haldar, P., McCormick, M., Haldar, K., Kebadze, T., Duvoix, A., et al. (2011). Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: identification of biologic clusters and their biomarkers. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *184*, 662-671.

Barnes P. J. (2000). Chronic obstructive pulmonary disease. N. Engl. J. Med. *343*, 269-280.

Biomarkers Definitions Working Group. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin. Pharmacol. Ther. *69*, 89-95.

Bleecker, E. R., Postma, D. S., Lawrance, R. M., Meyers, D. A., Ambrose, H. J., and Goldman, M. (2007). Effect of ADRB2 polymorphisms on response to longacting beta2-agonist therapy: a pharmacogenetic analysis of two

randomised studies. Lancet *370*, 2118-2125.

Bleecker, E. R., Meyers, D. A., Bailey, W. C., Sims, A. M., Bujac, S. R., Goldman, M., and Martin, U. J. (2012). ADRB2 polymorphisms and budesonide/formoterol responses in COPD. Chest *142*, 320-328.

Budoff, M. J., Nasir, K., Kinney, G. L., Hokanson, J. E., Barr, R. G., Steiner, R., Nath, H., Lopez-Garcia, C., Black-Shinn, J., and Casaburi, R. (2011). Coronary artery and thoracic calcium on noncontrast thoracic CT scans: comparison of ungated and gated examinations in patients from the COPD Gene cohort. J. Cardiovasc. Comput. Tomogr. *5*, 113-118.

Buist, A. S., McBurnie, M. A., Vollmer, W. M., Gillespie, S., Burney, P., Mannino, D. M., Menezes, A. M. B., Sullivan, S. D., Lee, T. A., Weiss, K. B., et al. (2007). International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. Lancet *370*, 741-750.

Burkes, R. M., Ceppe, A. S., Doerschuk, C. M., Couper, D., Hoffman, E. A., Comellas, A. P., Barr, R. G., Krishnan, J. A., Cooper, C., Labaki, W. W., et al. (2020). Associations Among 25-Hydroxyvitamin D Levels, Lung Function, and Exacerbation Outcomes in COPD: An Analysis of the SPIROMICS Cohort. Chest *157*, 856-865.

Chatila, W. M., Thomashow, B. M., Minai, O. A., Criner, G. J., and Make, B. J. (2008). Comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease. Proc. Am. Thorac. Soc. *5*, 549-555.

Cho, M. H., McDonald, M. L. M., Zhou, X.., Mattheisen, M., Castaldi, P. J., Hersh, c. P., Demeo, D. L., Sylvia, J. S., Ziniti, J., Laird, N. M., et al. (2014). Risk loci for chronic obstructive pulmonary disease: a genome-wide association study and meta-analysis. Lancet Respir. Med. *2*, 214-225.

Contopoulos-Ioannidis, D. G., Manoli, E. N., and Ioannidis, J. P. (2005). Meta-analysis of the association of beta2-adrenergic receptor

polymorphisms with asthma phenotypes. J. Allergy Clin. Immunol. *115*, 963-972.

Connors, A. F., Jr, Dawson, N. V., Thomas, C., Harrell, F. E., Jr, Desbiens, N., Fulkerson, W. J., Kussin, P., Bellamy, P., Goldman, L., and Knaus, W. A. (1996). Outcomes following acute exacerbation of severe chronic obstructive lung disease. The SUPPORT investigators (Study to Understand Prognoses and Preferences for Outcomes and Risks of Treatments). Am. J. Respir. Crit. Care Med. *154*, 959-967.

Coste, F., Benlala, I., Dournes, G., Girodet, P. O., Laurent, F., and Berger, P. (2019). Assessing pulmonary hypertension in COPD. Is there a role for computed tomography? Int. J. Chron, Obstruct. Pulmon. Dis. *14*, 2065-2079.

Crim, C., Calverley, P. M., Anderson, J. A., Celli, B., Ferguson, G. T., Jenkins, C., Jones, P. W., Willits, L. R., Yates, J. C., and Vestbo, J. (2009). Pneumonia risk in COPD patients receiving inhaled corticosteroids alone or in combination: TORCH study results. Eur. Respir. J. *34*, 641-647.

Dahl, M., Vestbo, J., Lange, P., Bojesen, S. E., Tybjaerg-Hansen, A., and Nordestgaard, B. G. (2007). C-reactive protein as a predictor of prognosis in chronic obstructive pulmonary disease. Am, J. Respir. Crit. Care Med. *175*, 250-255.

Detrano, R., Guerci, A. D., Carr, J. J., Bild, D. E., Burke, G., Folsom, A. R., Liu, K., Shea, S., Szklo, M., Bluemke, D. A., et al. (2008). Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. N. Engl. J. Med. *358*, 1336-1345.

Donaldson, G. C., Seemungal, T. A., Bhowmik, A., and Wedzicha, J. A. (2002). Relationship between exacerbation frequency and lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. Thorax *57*, 847-852.

Fergson, P. G., Rabe, K., Martinez, F. J., Fabbri, L. M., Wang, C.,

Ichinose, M., Bournes, E., Ballal, S., Darken, P., DeAngelis, K., et al. (2018). Triple therapy with budesonide/glycopyrrolate/formoterol fumarate with co-suspension delivery technology versus dual therapies in chronic obstructive pulmonary disease (KRONOS): a double-blind, parallel-group, multicentre, phase 3 randomised controlled trial. Lancet Respir. Med. *6*, 747-758.

Fermont, J. M., Masconi, K. L., Jensen, M. T., Ferrari, R., Di Lorenzo, V., Marott, J. M., Schuetz, P., Watz, H., Waschki, B., Müllerova, H., et al. (2019). Biomarkers and clinical outcomes in COPD: a systematic review and meta-analysis. Thorax *74*, 439-446.

Ferrarotti, I., Thun, G. A., Zorzetto, M., Ottaviani, S., Imboden, M., Schindler, C., von Eckardstein, A., Rohrer, L., Rochat, T., Russi, E. W., et al. (2012). Serum levels and genotype distribution of α1-antitrypsin in the general population. Thorax *67*, 669-674.

Fischer, B. M., Pavlisko, E., and Voynow, J. A. (2011). Pathogenic triad in COPD: oxidative stress, protease-antiprotease imbalance, and inflammation. Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. *6*, 413-421.

Fleixo-Lima, G., Ventura, H., Medini, M., Bar, L., Strauss, P., and Lewis, E. C. (2014). Mechanistic evidence in support of alpha1-antitrypsin as a therapeutic approach for type 1 diabetes. J. Diabetes Sci. Technol. *8*, 1193-1203.

Fukuchi, Y., Nishimura, M., Ichinose, M., Adachi, M., Nagai, A., Kuriyama, T., Takahashi, K., Nishimura, K., Ishioka, S., Aizawa, H., et al. (2004). COPD in Japan: the Nippon COPD Epidemiology study. Respirology *9*, 458-465.

Galbán, C. J., Han, M. K., Boes, J. L., Chughtai, K. A., Meyer, C. R., Johnson, T. D., Galbán, S., Rehemtulla, A., Kazerooni, E. A., Martinez, F. J., et al. (2012). Computed tomography-based biomarker provides unique signature for diagnosis of COPD phenotypes and disease progression. Nat. Med. *18*, 1711-1715.

Gan, W. Q., Man, S. F., Senthilselvan, A., and Sin, D. D. (2004). Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis. Thorax *59*, 574-580.

Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of COPD 2020 report. http://www.goldcopd.org/ (最終閲覧日 2020 年 11 月 9 日).

Goddard, P. R., Nicholson, E. M., Laszlo, G., and Watt, I. (1982). Computed tomography in pulmonary emphysema. Clin. Radiol. *33*, 379-387.

Green, S. A., Cole, G., Jacinto, M., Innis, M., and Liggett, S. B. (1993). A polymorphism of the human beta 2-adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor. J. biol. Chem. *268*, 23116-23121.

Groenewegen, K. H., Postma, D. S., Hop, W. C., Wielders, P. L., Schlösser, N. J., Wouters, E. F., and COSMIC Study Group (2008). Increased systemic inflammation is a risk factor for COPD exacerbations. Chest *133*, 350-357.

Han, M. K., Agusti, A., Calverley, P. M., Celli, B. R., Criner, G., Curtis, J. L., Fabbri, L. M., Goldin, J. G., Jones, P. W., Macnee, W., et al.(2010). Chronic obstructive pulmonary disease phenotypes: the future of COPD. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *182*, 598-604.

Haruna, A., Muro, S., Nakano, Y., Ohara, T., Hoshino, Y., Ogawa, E., Hirai, T., Niimi, A., Nishimura, K., Chin, K., et al. (2010). CT scan findings of emphysema predict mortality in COPD. Chest *138*, 635-640.

Hasegawa, M., Nasuhara, Y., Onodera, Y., Makita, H., Nagai, K., Fuke, S., Ito, Y., Betsuyaku, T., and Nishimura, M. (2006). Airflow limitation and airway dimensions in chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *173*, 1309-1315.

Higashimoto, Y., Yamagata, T., Honda, N., Satoh, R., Sano, H., Iwanaga, T., Miyhara, T., Muraki, M., Tomita, K., Tohda, Y., et al. (2011). Clinical and inflammatory factors associated with body mass index in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. Geriatr. Gerontol. Int. *11*, 32-38.

Hizawa, N., Makita, H., Nasuhara, Y., Betsuyaku, T., Itoh, Y., Nagai, K., Hasegawa, M., and Nishimura, M. (2007). Beta2-adrenergic receptor genetic polymorphisms and short-term bronchodilator responses in patients with COPD. Chest *132*, 1485-1492.

Hogg, J.C., Macklem, P.T., and Thurlbeck, W.M. (1968). Site and nature of airway obstruction in chronic obstructive lung disease. N. Engl. J. Med. *278*, 1335-1360.

Hogg, J. C., Chu, F., Utokaparch, S., Woods, R., Elliott, W. M., Buzatu, L., Cherniack, R. M., Rogers, R. M., Sciurba, F. C., Coxson, H. O., and Paré, P. D. (2004). The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. N. Engl. J. Med. *350*, 2645-2653.

Hogg, J. C., Paré, P. D., and Hackett, T. L. (2017). The Contribution of Small Airway Obstruction to the Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Physiol. Rev. *97*, 529-552.

Hollander, Z., DeMarco, M. L., Sadatsafavi, M., McManus, B. M., Ng, R. T., and Sin, D. D. (2017). Biomarker Development in COPD: Moving from P Values to Products to Impact Patient Care. Chest *151*, 455-467.

Hurst, J. R., Vestbo, J., Anzueto, A., Locantore, N., Müllerova, H., Tal-Singer, R., Miller, B., Lomas, D. A., Agusti, A., Macnee, W., et al.(2010). Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. N. Engl. J. Med. *363*, 1128-1138.

Ingebrigtsen, T. S., Marott, J. L., Rode, L., Vestbo, J., Lange, P., and Nordestgaard, B. G. (2015). Fibrinogen and α1-antitrypsin in COPD

exacerbations. Thorax *70*, 1014-1021.

Ingebrigtsen, T. S., Vestbo, J., Rode, L., Marott, J. L., Lange, P., and Nordestgaard, B. G. (2019). β2-Adrenergic genotypes and risk of severe exacerbations in COPD: a prospective cohort study. Thorax *74*, 934-940.

Ishii, T., Nishimura, M., Akimoto, A., James, M. H., and Jones, P. (2018). Understanding low COPD exacerbation rates in Japan: a review and comparison with other countries. Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. *13*, 3459-3471.

Johnson M. (2006). Molecular mechanisms of beta2-adrenergic receptor function, response, and regulation. J. Allergy Clin. Immunol. *117*, 18-25.

Kato, M., Tomii, K., Hashimoto, K., Nezu, Y., Ishii, T., Jones, C. E., Kilbride, S., Gross, A. S., Clifton, C. S., and Lipson, D. A. (2019). The IMPACT Study - Single Inhaler Triple Therapy (FF/UMEC/VI) Versus FF/VI And UMEC/VI In Patients With COPD: Efficacy And Safety In A Japanese Population. Int. J, Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. *14*, 2849-2861.

Keene, J. D., Jacobson, S., Kechris, K., Kinney, G. L., Foreman, M. G., Doerschuk, C. M., Make, B. J., Curtis, J. L., Rennard, S. I., Barr, et al. (2017). Biomarkers Predictive of Exacerbations in the SPIROMICS and COPDGene Cohorts. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *195*, 473-481.

Kolsum, U., Damera, G., Pham, T. H., Southworth, T., Mason, S., Karur, P., Newbold, P., and Singh, D. (2017). Pulmonary inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease with higher blood eosinophil counts. J. Allergy Clin. Immunol. *140*, 1181-1184.

Konno, S., Makita, H., Hasegawa, M., Nasuhara, Y., Nagai, K., Betsuyaku, T., Hizawa, N., and Nishimura, M. (2011). Beta2-adrenergic receptor polymorphisms as a determinant of preferential bronchodilator responses to β2-agonist and anticholinergic agents in Japanese patients with

chronic obstructive pulmonary disease. Pharmacogenet. Genomics. *21*, 687-693.

Lange, P., Celli, B., Agustí, A., Boje Jensen, G., Divo, M., Faner, R., Guerra, S., Marott, J. L., Martinez, F. D., Martinez-Camblor, P. J., et al. (2015). Lung-Function Trajectories Leading to Chronic Obstructive Pulmonary Disease. N. Engl. J. Med. *373*, 111-122.

LaFon, D. C., Bhatt, S. P., Labaki, W. W., Rahaghi, F. N., Moll, M., Bowler, R. P., Regan, E. A., Make, B. J., Crapo, J. D., San Jose Estepar, R., et al. (2020). Pulmonary artery enlargement and mortality risk in moderate to severe COPD: results from COPDGene. Eur. Respir. J. *55*, 1901812.

Leitao Filho, F. S., Won Ra, S., Mattman, A., Schellenberg, R. S., Fishbane, N., Criner, G. J., Woodruff, P. G., Lazarus, S. C., Albert, R., Connett, J. E., et al. (2017). Serum IgG and risk of exacerbations and hospitalizations in chronic obstructive pulmonary disease. J. Allergy Clin. Immunol. *140*, 1164-1167.

Leung, J. M., Obeidat, M., Sadatsafavi, M., and Sin, D. D. (2019). Introduction to precision medicine in COPD. Eur. Respir. J. 53, 1802460.

Lipson, D. A., Barnhart, F., Brealey, N., Brooks, J., Criner, G. J., Day, N. C., Dransfield, M. T., Halpin, D., Han, M. K., Jones, C. E., et al. (2018). Once-Daily Single-Inhaler Triple versus Dual Therapy in Patients with COPD. N. Engl. J. Med. *378*, 1671-1680.

Lock-Johansson, S., Vestbo, J., and Sorensen, G. L. (2014). Surfactant protein D, Club cell protein 16, Pulmonary and activation-regulated chemokine, C-reactive protein, and Fibrinogen biomarker variation in chronic obstructive lung disease. Respir. Res. *15*, 147.

Magnussen, H., Disse, B., Rodriguez-Roisin, R., Kirsten, A., Watz, H., Tetzlaff, K., Towse, L., Finnigan, H., Dahl, R., Decramer, M., et al. (2014). Withdrawal of inhaled glucocorticoids and exacerbations of COPD.

N. Engl. J. Med. *371*, 1285-1294.

Makita, H., Nasuhara, Y., Nagai, K., Ito, Y., Hasegawa, M., Betsuyaku, T., Onodera, Y., Hizawa, N., and Nishimura, M. (2007). Characterisation of phenotypes based on severity of emphysema in chronic obstructive pulmonary disease. Thorax *62*, 932-937.

Makita, H., Suzuki, M., Konno, S., Shimizu, K., Nasuhara, Y., Nagai, K., Akiyama, Y., Fuke, S., Saito, H., Igarashi, T., et al. (2020). Unique Mortality Profile in Japanese Patients with COPD: An Analysis from the Hokkaido COPD Cohort Study. Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. *15*, 2081-2090.

Mannino, D. M., Ford, E. S., and Redd, S. C. (2003). Obstructive and restrictive lung disease and markers of inflammation: data from the Third National Health and Nutrition Examination. Am. J. Med. *114*, 758-762.

Marquis, K., Debigaré, R., Lacasse, Y., LeBlanc, P., Jobin, J., Carrier, G., and Maltais, F. (2002). Midthigh muscle cross-sectional area is a better predictor of mortality than body mass index in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *166*, 809-813.

Menezes, A, M. B., Perez-Padilla, R., Jardim, J. R. B., Muiño, A., Lopez, M. V., Valdivia, G., de Oca, M. M., Talamo, C., Hallal, P. C., and Victora, C. G. (2005). Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. Lancet *366*, 1875-1881.

Minai, O. A., Chaouat, A., and Adnot, S. (2010). Pulmonary hypertension in COPD: epidemiology, significance, and management: pulmonary vascular disease: the global perspective. Chest *137*, 39S-51S.

Müllerova, H., Agusti, A., Erqou, S., and Mapel, D. W. (2013). Cardiovascular comorbidity in COPD: systematic literature review. Chest *144*, 1163-1178.

Mulhall, P., and Criner, G. (2016). Non-pharmacological treatments for COPD. Respirology *21*, 791-809.

Nagai, K., Makita, H., Suzuki, M., Shimizu, K., Konno, S., Ito, Y. M., and Nishimura, M. (2015). Differential changes in quality of life components over 5 years in chronic obstructive pulmonary disease patients. Int. J. Chron, Obstruct. Pulmon. Dis. *10*, 745-757.

Ni, J. R., Yan, P. J., Liu, S. D., Hu, Y., Yang, K. H., Song, B., and Lei, J. Q. (2019). Diagnostic accuracy of transthoracic echocardiography for pulmonary hypertension: a systematic review and meta-analysis. BMJ open. *9*, e033084.

Nishimura, M., Makita, H., Nagai, K., Konno, S., Nasuhara. Y., Hasegawa. M., Shimizu, K., Betsuyak, T., Ito, Y.M., Fuke, S., et al. (2012). Annual change in pulmonary function and clinical phenotype in chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *185*, 44-52.

Ohara, T., Hirai, T., Muro, S., Haruna, A., Terada, K., Kinose, D., Marumo, S., Ogawa, E., Hoshino, Y., Niimi, A., et al. (2008). Relationship between pulmonary emphysema and osteoporosis assessed by CT in patients with COPD. Chest *134*, 1244-1249.

Paggiaro, P. L., Dahle, R., Bakran, I., Frith, L., Hollingworth, K., and Efthimiou, J. (1998). Multicentre randomised placebo-controlled trial of inhaled fluticasone propionate in patients with chronic obstructive pulmonary disease. International COPD Study Group. Lancet *351*, 773-780.

Park, H. Y., Churg, A., Wright, J. L., Li, Y., Tam, S., Man, S. F., Tashkin, D., Wise, R. A., Connett, J. E., and Sin, D. D. (2013). Club cell protein 16 and disease progression in chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *188*, 1413-1419.

Pereira, T. V., Mingroni-Netto, R. C., and Yamada, Y. (2011). ADRB2 and

LEPR gene polymorphisms: synergistic effects on the risk of obesity in Japanese. Obesity *19*, 1523-1527.

Rabe, K. F., Fabbri, L. M., Israel, E., Kögler, H., Riemann, K., Schmidt, H., Glaab, T., and Vogelmeier, C. F. (2014). Effect of ADRB2 polymorphisms on the efficacy of salmeterol and tiotropium in preventing COPD exacerbations: a prespecified substudy of the POET-COPD trial. Lancet Respir. Med. *2*, 44-53.

Rabe, K. F., Martinez, F. J., Ferguson, G. T., Wang, C., Singh, D., Wedzicha, J. A., Trivedi, R., Rose, E. S., Balla, S., et al. (2020). Triple inhale Therapy at Two Glucocorticoid Doses in Moderate-to-Very-Severe COPD. N. Engl. J. Med. *383*, 35-48.

Ragland, M. F., Benway, C. J., Lutz, S. M., Bowler, R. P., Hecker, J., Hokanson, J. E., Crapo, J. D., Castaldi, P. J., DeMeo, D. L., Hersh, C. P., et al. (2019). Genetic Advances in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Insights from COPDGene. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *200*, 677-690.

Regan, E. A., Hokanson, J. E., Murphy, J. R., Make, B., Lynch, D. A., Beaty, T. H., Curran-Everett, D., Silverman, E. K., and Crapo, J. D. (2010). Genetic epidemiology of COPD (COPDGene) study design. COPD. *7*, 32-43.

Reihsaus, E., Innis, M., MacIntyre, N., and Liggett, S. B. (1993). Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. *8*, 334-339.

Rennard, S. I., Anderson, W., ZuWallack, R., Broughton, J., Bailey, W., Friedman, M., Wisniewski, M., and Rickard, K. (2001). Use of a long-acting inhaled beta2-adrenergic agonist, salmeterol xinafoate, in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *163*, 1087-1092.

Roth, M., Johnson, P. R., Rüdiger, J. J., King, G. G., Ge, Q., Burgess, J. K., Anderson, G., Tamm, M., and Black, J. L. (2002). Interaction between glucocorticoids and beta2 agonists on bronchial airway smooth muscle cells through synchronised cellular signalling. Lancet *360*, 1293-1299.

Salvi, SS., and Barnes, P. J. (2009). Chronic Obstructive pulmonary disease in non-smokers. Lancet *374*, 733-743.

Sandström, C. S., Ohlsson, B., Melander, O., Westin, U., Mahadeva, R., and Janciauskiene, S. (2008). An association between Type 2 diabetes and alpha-antitrypsin deficiency. Diabet. Med. *25*, 1370-1373.

Santulli, G., and Iaccarino, G. (2013). Pinpointing beta adrenergic receptor in ageing pathophysiology: victim or executioner? Evidence from crime scenes. Immun. Ageing *10*, 10.

Sapey, E., and Stockley, R. A. (2006). COPD exacerbations . 2: aetiology. Thorax *61*, 250-258.

Senn, O., Russi, E. W., Schindler, C., Imboden, M., von Eckardstein, A., Brändli, O., Zemp, E., Ackermann-Liebrich, U., Berger, W., Rochat, T., et al. (2008). Circulating alpha1-antitrypsin in the general population: determinants and association with lung function. Respir. Res. *9*, 35.

Seyama, K., Hirai, T., Mishima, M., Tatsumi, K., Nishimura, M., and Respiratory Failure Research Group of the Japanese Ministry of Health, Labour, and Welfare. (2016). A nationwide epidemiological survey of alpha1-antitrypsin deficiency in Japan. Respir. Investig. *54*, 201-206.

Shimizu, K., Tanabe, N., Tho, N. V., Suzuki, M., Makita, H., Sato, S., Muro, S., Mishima, M., Hirai, T., Ogawa, E., et al. (2020). Per cent low attenuation volume and fractal dimension of low attenuation clusters on CT predict different long-term outcomes in COPD. Thorax *75*, 116-122.

Siddiqui, S. H., Guasconi, A., Vestbo, J., Jones, P., Agusti, A.,

Paggiaro, P., Wedzicha, J. A., and Singh, D. (2015). Blood Eosinophils: A Biomarker of Response to Extrafine Beclomethasone/Formoterol in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *192*, 523-525.

Sievi, N. A., Senn, O., Brack, T., Brutsche, M. H., Frey, M., Irani, S., Leuppi, J. D., Thurnheer, R., Franzen, D., Kohler, M., et al. (2015). Impact of comorbidities on physical activity in COPD. Respirology *20*, 413-418.

Snider, G. L. (1989). Chronic Obstructive Pulmonary Disease: risk factors, pathophysiology, and pathogenesis. Annu. Rev. Med. *40*, 411-429.

Spencer, S., Calverley, P. M., Burge, P. S., and Jones, P. W. (2004). Impact of preventing exacerbations on deterioration of health status in COPD. Eur. Respir. J. *23*, 698-702.

Stockley R. A. (1999). Neutrophils and protease/antiprotease imbalance. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *160*, S49-S52.

Suzuki, M., Makita, H., Ito, Y. M., Nagai, K., Konno, S., and Nishimura, M. (2014a). Clinical features and determinants of COPD exacerbation in the Hokkaido COPD cohort study. Eur. Respir. J. *43*, 1289-1297.

Suzuki, M., Makita, H., Östling, J., Thomsen, L. H., Konno, S., Nagai, K., Shimizu, K., Pedersen, J. H., Ashraf, H., Bruijnzeel, P. L., et al. (2014b). Lower leptin/adiponectin ratio and risk of rapid lung function decline in chronic obstructive pulmonary disease. Ann. Am. Thorac. Soc. *11*, 1511-1519.

Suzuki, M., Makita, H., Konno, S., Shimizu, K., Kimura, H., Kimura, H., and Nishimura, M. (2016). Asthma-like Features and Clinical Course of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. An Analysis from the Hokkaido COPD Cohort Study. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *194*, 1358-1365.

Suzuki, M., Makita, H., Konno, S., Shimizu, K., Nasuhara, Y., Nagai, K.,

Akiyama, Y., Fuke, S., Saito, H., Igarashi, T., et al. (2019). Annual change in FEV1 in elderly 10-year survivors with established chronic obstructive pulmonary disease. Sci. Rep. *9*, 2073.

Svanes, C., Sunyer, J., Plana, E., Dharmage, S., Heinrich, J., Jarvis, D., de Marco, R., Norbäck, D., Raherison, D., Villani, S., et al. (2010). Early life origins of chronic obstructive pulmonary disease. Thorax *65*, 14-20.

Sze, M. A., Dimitriu, P. A., Suzuki, M., McDonough, J. E., Campbell, J. D., Brothers, J. F., Erb-Downward, J. R., Huffnagle, G. B., Hayashi, S., Elliott, W. M., et al. (2015). Host Response to the Lung Microbiome in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *192*, 438-445.

Takahashi, S., and Betsuyaku, T. (2015). The chronic obstructive pulmonary disease comorbidity spectrum in Japan differs from that in western countries. Respir. Investig. *53*, 259-270.

Tanabe, N., Muro, S., Hirai, T., Oguma, T., Terada, K., Marumo, S., Kinose, D., Ogawa, E., Hoshino, Y., and Mishima, M. (2011). Impact of exacerbations on emphysema progression in chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *183*, 1653-1659.

Tanabe, N., Sato, S., Tanimura, K., Oguma, T., Sato, A., Muro, S., and Hirai, T. (2020). Associations of CT evaluations of antigravity muscles, emphysema, and airway disease with longitudinal outcomes in patients with COPD. Thorax In press.

Tashkin, D. P., Celli, B., Senn, S., Burkhart, D., Kesten, S., Menjoge, S., Decramer, M., and UPLIFT Study Investigators. (2008). A 4-year trial of tiotropium in chronic obstructive pulmonary disease. N. Engl. J. Med. *359*, 1543-1554.

Thomsen, M., Nordestgaard, B. G., Sethi, A. A., Tybjærg-Hansen, A., and Dahl, M. (2012). β2-adrenergic receptor polymorphisms, asthma, and

COPD: two large population-based studies. Eur. Respir. J. *39*, 558-566.

Vanfleteren, L. E., Spruit, M. A., Groenen, M., Gaffron, S., van Empel, V. P., Bruijnzeel, P. L., Rutten, E. P., Op ’t Roodt, J., Wouters, E. F., and Franssen, F. M. (2013). Clusters of comorbidities based on validated objective measurements and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. *187*, 728-735.

Vestbo, J., Edwards, L.D., Scanlon, P.D., Yates, J.C., Agusti, A., Bakke, P., Calverley, P.M.A., Celli, B., Coxson, H.O., Crim, C., et al. (2011). Changes in forced expiratory volume in 1 second over time in COPD. N. Engl. J. Med. *365*, 1184-1192.

Washko, G. R., and Parraga, G. (2018). COPD biomarkers and phenotypes: opportunities for better outcomes with precision imaging. Eur. Respir. J. *52*, 1801570.

Wechsler, M. E., Kunselman, S. J., Chinchilli, V. M., Bleecker, E., Boushey, H. A., Calhoun, W. J., Ameredes, B. T., Castro, M., Craig, T. J., Denlinger, L., et al. (2009). Effect of beta2-adrenergic receptor polymorphism on response to longacting beta2 agonist in asthma (LARGE trial): a genotype-stratified, randomised, placebo-controlled, crossover trial. Lancet *374*, 1754-1764.

Wells, J. M., Washko, G. R., Han, M. K., Abbas, N., Nath, H., Mamary, A. J., Regan, E., Bailey, W. C., Martinez, F. J., Westfall, E., et al. (2012). Pulmonary arterial enlargement and acute exacerbations of COPD. N. Engl. J. Med. *367*, 913-921.

Williams, M. C., Murchison, J. T., Edwards, L. D., Agustí, A., Bakke, P., Calverley, P. M., Celli, B., Coxson, H. O., Crim, C., Lomas, D. A., et al. (2014). Coronary artery calcification is increased in patients with COPD and associated with increased morbidity and mortality. Thorax *69*, 718-723.

World Health Organization. (2018). The top 10 causes of death. http://www.who.int/mediacentre.factsheets/fs310.en/ (最終閲覧日 2020 年 11 月 10 日).

Yun, J. H., Lamb, A., Chase, R., Singh, D., Parker, M. M., Saferali, A., Vestbo, J., Tal-Singer, R., Castaldi, P. J., Silverman, E. K., et al. (2018). Blood eosinophil count thresholds and exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. J. Allergy Clin. Immunol. *141*, 2037-2047.

厚生労働省. (2019). e-STAT. 人口動態調査-人口動態統 確定数 死亡. 上巻 5-11. 死因順位別にみた年次別死亡率(人口 10 万対).https://www.e-stat.go.jp/statsearch/files?page=1&layout=datalist&toukei=00450011&tstat=000001028897&cycle=7&year=20190&month=0&tclass1=000001053058&tclass2=000001053061&tclass3=000001053065&stat_infid=000031982750&result_back=1 (最終閲覧日 2020 年 11 月 12 日).

日本呼吸器学会 COPD ガイドライン作成委員会. (2018). COPD(慢性閉塞性肺疾患)診断と治療のためのガイドライン.第 5 版 (東京、日本:メディカルレビュー社).

矢崎義雄. (2003). 内科学. (東京、日本:朝倉書店).