

平成30年6月26日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09172

研究課題名(和文)細胞外マトリックスの3次元定量による肺の成長・過膨張・気腫形成の病態解明

研究課題名(英文) Quantitative assessment of extra-cellular matrix in diseased lung, during regeneration, hyperinflation, and development of emphysema

研究代表者

佐藤 晋 (Sato, Susumu)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：40378691

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：エラスターゼ傷害による肺気腫モデルマウスにおいて、気腫病変Low Attenuation Volume(LAV)の全肺に対する割合LAV%と強制オシレーション(FOT)により得られた肺メカニクスの指標elastane (H) とが極めて高く相関し、さらに巨視的な構造変化の不均一性がFOTから算出したelastanceの不均一性と関連を示した。この関連は早期(傷害後3週)でも慢性期(13週後)でも同様であったが、慢性期においては気道成分であるairway resistance (Raw)も強く関与し、構造変化の経時変化の特徴と考えられた。気腫病変は用量依存性を示すも慢性期で天井効果を示した。

研究成果の概要(英文)：Elastase induced lung injury (emphysematous lesion) in model mouse represent significant relationship with respiratory mechanical property measured by forced oscillation technique. In addition, cranial-caudal heterogeneity of emphysema showed significant and independent association with heterogeneity of elastane (SD of H). These associations were preserved in acute model (3 weeks after injury) and chronic model (13 weeks after injury). However, in chronic model, airway resistance (Raw) also showed significant association and may suggest difference of structure-function relationship in development of emphysema. Dose dependent effect of elastane in development of emphysema showed ceiling-effect in chronic model.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：細胞外マトリックス 肺気腫 メカニクス

1. 研究開始当初の背景

代償的肺成長は、単なる肺過膨張か肺再生 (regeneration) を伴うかは長く検討されてきた。しかし肺過膨張は伸展による mechanical force を介して肺気腫形成を生じうる。肺伸展負荷の作用点である細胞外マトリックスは肺の物理特性を司り、肺成長・過膨張・気腫形成の何れにも重要であるが、十分に解明されていない。肺構造-機能相関の解明と代償的肺成長、過膨張・肺気腫生成の病態解明により、肺移植医療における肺評価に貢献が期待された。

2. 研究の目的

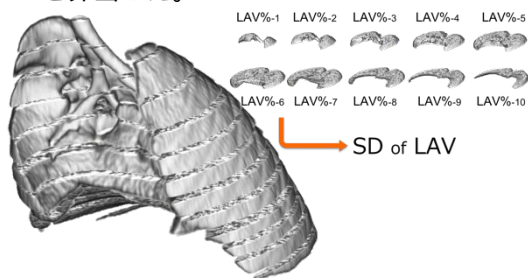
エラスターゼ誘導肺気腫モデルマウスを用い、誘導した肺傷害後に引き続く肺過膨張と肺気腫生成の時間的・空間的進展様式の特徴を評価検討し、肺気腫生成の時間経過による肺過膨張進行との関連の解明を目的とした。

3. 研究の方法

C57BL6J 雄マウスを 10 週齢マウスに PPE 0,7.5(1/4),15(1/2), 30(full) μ g を経気管的に投与し、1 週後、3 週後、5 週後、7 週後、9 週後、11 週後、13 週後(3 ヶ月後)で胸部 CT 撮影、3 週後(早期)と 13 週後(慢性期)でペントバルビタール全身麻酔下に気管切開、気管内挿管後、flexiVent(SCIREQ, Canada)による FOT 法を用いた全肺メカニクス測定を行い、測定後放血致死し肺組織を固定し病理評価を実施。

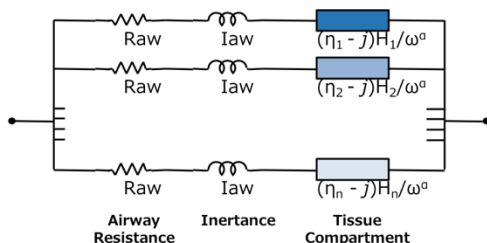
CT 撮影は全身麻酔下にて、実験動物用 X 線 CT(Latheta LCT-200,HITACHI ALOKA,Tokyo)にて呼吸同調モードで全肺野を撮像。

CT 画像は DICOM 形式で出力、ヒト用の胸部 CT 画像解析に用いられたカスタムソフトウェアで CT 値に応じた CT-lung volume、低吸収領域(LAV)の評価、肺内の不均一分布を評価した(下図)。不均一性の指標として SD of LAV を算出した。



さらに、CT 値閾値を増減することにより、経時的な低吸収領域の増加も分析した。

FOT 法による肺メカニクス評価は constant-phase model (CP) だけではなく、不均一性を付与した HTE モデル(下図)を適応し、不均一性の指標として SD of H を算出した。



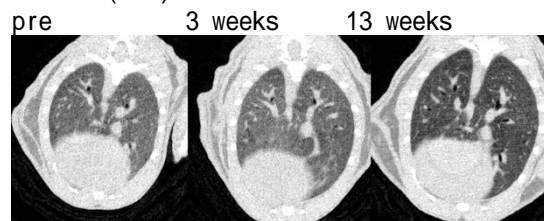
4. 研究成果

(総括)エラスターゼ傷害による肺気腫モデルマウスにおいて、気腫病変 Low Attenuation Volume(LAV)の全肺に対する割合 LAV%と強制オシレーション(FOT)により得られた肺メカニクスの指標 elastance (H) とが極めて高く相関し、さらに巨視的な構造変化の不均一性が FOT から算出した elastance の不均一性と関連を示した。この関連は早期(傷害後 3 週)でも慢性期(13 週後)でも同様であったが、慢性期においては気道成分である airway resistance (Raw)も強く関与し、構造変化の経時変化の特徴と考えられた。

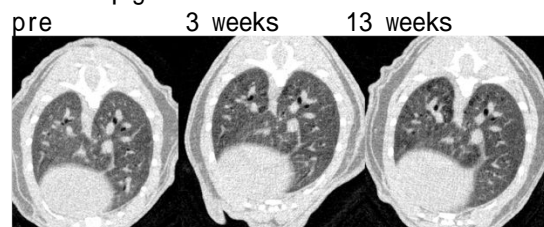
CT による気腫性病変の変化はまず撮影条件である呼吸レベルにより影響されることが確認され、control (PBS 投与)マウスにおける計測データを基に閾値設定を可変することにより、より正確かつ再現性高く気腫性病変の程度が計測可能となり、同時に画像上の複雑性の指標も計測可能となった(日本呼吸器学会/呼吸機能イメージング研究会にて発表)。本件について現在さらに解析中。

CT 経過;

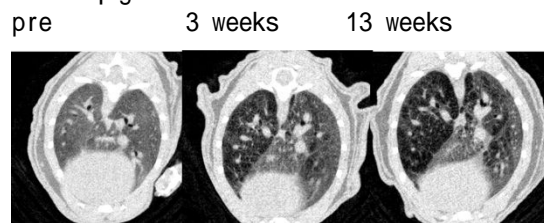
Control (PBS)



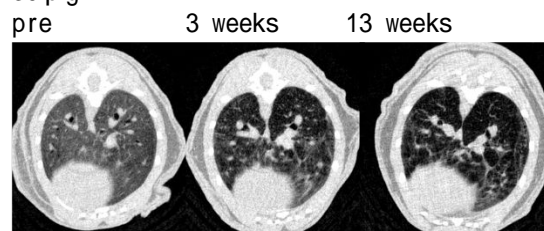
PPE 7.5 μ g



PPE 15 μ g

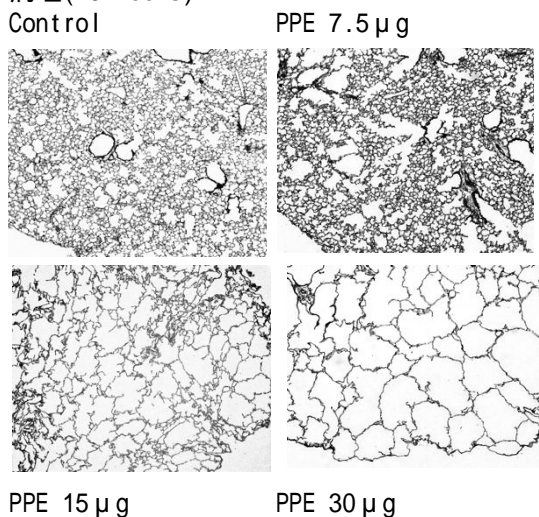


30 μ g

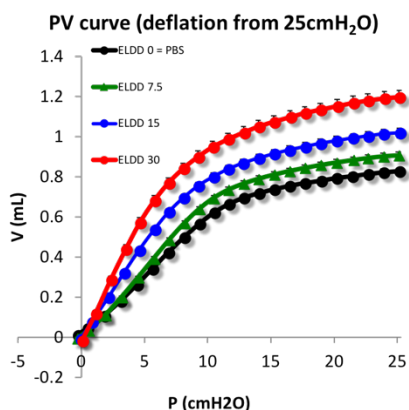


経時的な LAV の増加が確認されたが、最大投与量(PPE 30 μ g)では天井効果を示したが CT 肺容量は経時的に増加がみられた。気腫性病変の進展と異なる肺過膨張の影響が示唆された。

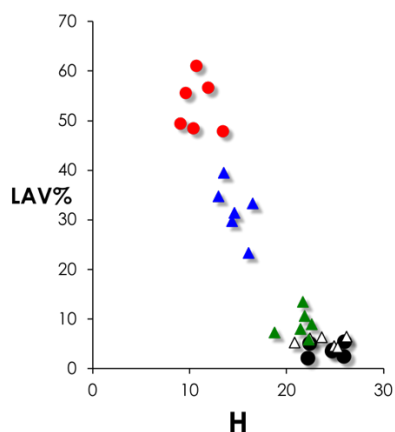
病理(13 weeks)



Pressure-volume 曲線



肺 elastance(H)と気腫病変 LAV%



肺メカニクス測定ではエラスターゼ傷害の用量依存性の変化が確認され、肺 elastance (H)とCTによるLAV%とが強い相関を認めた。さらに、LAV の分布の不均一性である SD of LAV と肺メカニクス評価から算出された SD of H とが有意な相関を示し、構造の巨視的な不均一性が機能の不均一性と関連している

ことを証明した(日本呼吸器学会などで発表)。

通常量(30 μ g)よりも低用量では長期的に気腫形成が進行することが確認されたが、通常量では天井効果が認められた。しかし肺メカニクスとの関連性に時期により差が見られており、気道成分の寄与度が高まっていた。気腫とみられた部位の構造改変が経時的に変化したことが示唆され、肺の成長、外的刺激の程度により、全肺メカニクスにおける気道・組織抵抗値の特性が大きく変化することが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計13件)

Hasegawa K, Sato A, Tanimura K, Uemasu K, Hamakawa Y, Fuseya Y, Sato S, Muro S, and Hirai T. Fraction of MHCII and EpCAM expression characterizes distal lung epithelial cells for alveolar type 2 cell isolation. *Respir Res.* 2017;18(1):150. doi:10.1186/s12931-017-0635-5.

Yoshimura K, Sato S, Muro S, Yamada M, Hasegawa K, Kiyokawa H, Mishima M, and Aoyama T. Interdependence of physical inactivity, loss of muscle mass and low dietary intake: Extrapulmonary manifestations in older chronic obstructive pulmonary disease patients. *Geriatr Gerontol Int.* 2017;187(1):347. doi:10.1111/ggi.13146.

Ikezoe K, Handa T, Tanizawa K, Yokoi H, Kubo T, Aihara K, Sokai A, Nakatsuka Y, Hashimoto S, Uemasu K, Sato S, Muro S, Nagai S, Yanagita M, Chin K, Hirai T, Taguchi Y, and Mishima M. Chronic Kidney Disease Predicts Survival in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Respiration.* 2017;(0). doi:10.1159/000478787.

Nagami S, Oku Y, Yagi N, Sato S, Uozumi R, Morita S, Yamagata Y, Kayashita J, Tanimura K, Sato A, Takahashi R, and Muro S. Breathing-swallowing discoordination is associated with frequent exacerbations of COPD. *BMJ Open Respir Res.* 2017;4(1):e000202-e000210. doi:10.1136/bmjresp-2017-000202.

Kamada T, Ito I, Kanemitsu Y, Sato S, Matsumoto H, Niimi A, Mishima M. Three-dimensional imaging forced oscillation technique to assess position-dependent airway obstruction in relapsing polychondritis: A case report. *Respir Investig.* 2017;55(1):69-73.

Tsao P-N, Matsuoka C, Wei S-C, Sato A, Sato S, Hasegawa K, Chen H-K, Ling T-Y,

Mori M, Cardoso WV, Morimoto M. Epithelial Notch signaling regulates lung alveolar morphogenesis and airway epithelial integrity. Proc Natl Acad Sci USA 2016;113:8242-8247.

Tanimura K, Sato S, Fuseya Y, Hasegawa K, Uemasu K, Sato A, Oguma T, Hirai T, Mishima M, Muro S. Quantitative Assessment of Erector Spinae Muscles in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Novel Chest Computed Tomography-derived Index for Prognosis. Ann Am Thorac Soc 2016;13:334-341.

Yi E, Sato S, Takahashi A, Parameswaran H, Blute TA, Bartolák-Suki E, Suki B. Mechanical Forces Accelerate Collagen Digestion by Bacterial Collagenase in Lung Tissue Strips. Front Physiol 2016;7:287.

Oguma T, Hirai T, Fukui M, Tanabe N, Marumo S, Nakamura H, Ito H, Sato S, Niimi A, Ito I, Matsumoto H, Muro S, Mishima M. Longitudinal shape irregularity of airway lumen assessed by CT in patients with bronchial asthma and COPD. Thorax 2015;70:719-724.

佐藤 晋、三嶋 理晃 COPDの検査・診断問診・身体所見・血液検査 日本臨床 2016年 No5

佐藤 晋 COPD・肺気腫におけるメカノバイオロジー 呼吸臨床 2017年1巻1号 論文 No.e00018 (Sato S. Mechanobiology in COPD and emphysema. Jpn Open J Respir Med 2017 Vol. 1 No. 1 Article No.e00018)

Nagata K, Kikuchi T, Horie T, Shiraki A, Kitajima T, Kadowaki T, Tokioka F, Chohnabayashi N, Watanabe A, Sato S, Tomii K. Domiciliary High-Flow Nasal Cannula Oxygen Therapy for Stable Hypercapnic COPD Patients: A Multicenter, Randomized Crossover Trial. Ann Am Thorac Soc. 2018;15(4):432-439.

Hasegawa K, Sato S, Tanimura K, Fuseya Y, Uemasu K, Hamakawa Y, Sato A, Mishima M, Muro S, and Hirai T. Gastroesophageal reflux symptoms and nasal symptoms affect the severity of bronchitis symptoms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respir Investig, 2018 vol. 56 (3) pp. 230-237.

〔学会発表〕(計 29件)

S. Sato, S. Muro, K. Tanimura, T. Oguma, A. Sato, K. Hasegawa, K. Uemasu, Y. Hamakawa, T. Hirai, M. Mishima, Kyoto, Japan, Three-Dimensional Lobar Evaluation of Pharmacological Volume Reduction Induced by Tiotropium in COPD Patients. American Thoracic Society International Conference May 13-May 18, 2016 San Francisco, California

佐藤 晋 COPDの治療戦略～薬物療法と非薬物療法～；日本呼吸ケア・リハビリテーション学会近畿地方会第2回学術集会 学術講演、2016年6月

K. Tanimura, S. Sato, A. Sato, K. Hasegawa, K. Uemasu, Y. Hamakawa, T. Oguma, T. Hirai, M. Mishima, S. Muro Frequent Exacerbations of COPD Cause Loss of Antigravity Muscles -Quantitative and Longitudinal Analysis Using Chest CT May 13-May 18, 2016 San Francisco, California

長谷川浩一、佐藤篤靖、上榎潔、谷村和哉、濱川瑤子、佐藤晋、室繁郎、三嶋理晃：急性肺障害における肺胞上皮再生メカニズムの検討。第56回日本呼吸器学会総会 2016.4.8-10.京都

上榎 潔 佐藤 篤靖 佐藤 晋、谷村和哉、長谷川 浩一、濱川 瑤子、平井 豊博、三嶋 理晃、室 繁郎 マウス慢性喫煙刺激における線毛上皮細胞傷害とC/EBPの役割 第56回日本呼吸器学会学術講演会 2016年4月9日 京都

上榎 潔 佐藤 晋、佐藤 篤靖、谷村 和哉、長谷川 浩一、濱川 瑤子、平井 豊博、三嶋 理晃、室 繁郎 COPD患者における呼吸器関連イベント発生の予測に関する検討。第56回日本呼吸器学会学術講演会 2016年4月10日 京都

濱川 瑤子、佐藤 晋、佐藤 篤靖、長谷川浩一、谷村 和哉、上榎 潔、平井 豊博、三嶋 理晃、室 繁郎：COPD患者の身体活動性と関連する因子について 第56回日本呼吸器学会学術講演会、2016.4.9、東京

濱川 瑤子、佐藤 晋、佐藤 篤靖、長谷川浩一、谷村 和哉、上榎 潔、平井 豊博、三嶋 理晃、室 繁郎：COPD患者の身体活動性と関連する因子について 第26回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会学術集会、2016.10.10、横浜

谷村 和哉、佐藤 晋、佐藤 篤靖、長谷川浩一、上榎 潔、濱川 瑤子、小熊 毅、加藤元一、室 繁郎、平井 豊博 頻回増悪と全身炎症は抗重力筋萎縮に寄与する 胸部CTを用いた定量的縦断解析 第9回呼吸機能イメージング研究会 平成29年1月京都

大島 洋平、佐藤 晋、陳 豊史、伊達 洋至、松田 秀一 定量的胸部CT画像解析における脊柱起立筋の質的評価の有用性 第9回呼吸機能イメージング研究会 平成29年1月京都

佐藤 晋、谷村 和哉、佐藤 篤靖、長谷川浩一、上榎 潔、濱川 瑤子、小熊 毅、室 繁郎、平井 豊博 胸部CT画像から得られるCOPDの予後因子の比較 気腫病変と併存病態 第9回呼吸機能イメージング研究会 平成29年1月京都

伏屋 芳紀、佐藤 篤靖、佐藤 晋、谷村和哉、長谷川 浩一、上榎 潔、濱川 瑤子、酒井 直樹、室 繁郎、平井 豊博 小動物用CT画像を用いた微小肺気腫病変のクラスタ

一解析 第9回呼吸機能イメージング研究会
平成29年1月京都

伏屋 芳紀, 佐藤 篤靖, 佐藤 晋, 谷村
和哉, 長谷川 浩一, 上榎 潔, 濱川 瑤子,
酒井 直樹, 室 繁郎, 平井 豊博 小動物用
CT を用いた微小肺気腫病変の検出法の検討
第9回呼吸機能イメージング研究会 平成29
年1月京都

佐藤 晋, 佐藤 篤靖, 伏屋 芳紀, 谷村
和哉, 長谷川 浩一, 上榎 潔, 濱川 瑤子,
室 繁郎, 平井 豊博 エラストラーゼ傷害肺
気腫マウスにおける呼吸インピーダンス測
定と定量的胸部 CT による機能的・構造的
不均一性の関連性 第9回呼吸機能イメージ
ング研究会 平成29年1月京都

長谷川 浩一, 佐藤 篤靖, 佐藤 晋, 上榎
潔, 濱川 瑤子, 室 繁郎 移植肺上皮細胞
の動態解析による肺傷害後肺胞再構築様
式の検討 第57回日本呼吸器学会学術講演
会 学術部会賞 平成29年4月東京

谷村 和哉, 佐藤 晋, 佐藤 篤靖, 長谷川
浩一, 上榎 潔, 濱川 瑤子, 小熊 毅, 平井
豊博, 加藤 元一, 室 繁郎 頻回増悪と全
身炎症は抗重力筋萎縮に寄与する 胸部 CT
を用いた定量的縦断解析 第57回日本呼吸
器学会学術講演会 平成29年4月東京

伏屋 芳紀, 佐藤 篤靖, 佐藤 晋, 谷村
和哉, 長谷川 浩一, 上榎 潔, 濱川 瑤子,
酒井 直樹, 室 繁郎, 平井 豊博 小動物用
CT 画像を用いた微小肺気腫病変のクラスタ
ー解析 第57回日本呼吸器学会学術講演会
平成29年4月東京

上榎 潔, 佐藤 篤靖, 長谷川 浩一, 濱川
瑤子, 佐藤 晋, 室 繁郎 喫煙暴露マウス
における急性肺傷害後上皮再生機能の検討
第57回日本呼吸器学会学術講演会 平成29
年4月東京

濱川 瑤子, 佐藤 篤靖, 佐藤 晋, 長谷川
浩一, 上榎 潔, 平井 豊博, 室 繁郎 長時間
作用型気管支拡張薬が喫煙誘発肺炎症に及
ぼす影響 第57回日本呼吸器学会学術講演
会 平成29年4月東京

佐藤 晋, 佐藤 篤靖, 伏屋 芳紀, 谷村
和哉, 長谷川 浩一, 上榎 潔, 濱川 瑤子,
室 繁郎, 平井 豊博 エラストラーゼ傷害肺
気腫マウスにおける呼吸インピーダンスと
胸部 CT 画像解析による機能的・構造的
不均一性の評価 第57回日本呼吸器学会学
術講演会 平成29年4月東京

④佐藤 晋, 谷村 和哉, 佐藤 篤靖, 長谷川
浩一, 上榎 潔, 濱川 瑤子, 小熊 毅, 平井
豊博, 室 繁郎 胸部 CT 画像から得られる
COPD の予後因子の比較～気腫病変と併存病
態～ 第57回日本呼吸器学会学術講演会
平成29年4月東京

②大島 洋平, 佐藤 晋, 陳 豊史, 伊達 洋
至, 松田 秀一 定量的胸部 CT 画像解析にお
ける脊柱起立筋の質的評価の有用性 第57
回日本呼吸器学会学術講演会 平成29年4
月東京

③Uemasu K, Sato A, Tanimura K, Hasegawa
K, Hamakawa Y, Sato S, Muro S. Role of
CCAAT/Enhancer Binding Protein- (C/EBP
) in Airway Epithelial Cells During
Chronic Cigarette Smoke Exposure in Mice.
American Thoracic Society International
Conference 2017 May Washington, DC.

④Hasegawa K, Sato A, Sato S, Tanimura K,
Uemasu K, Hamakawa Y, Muro S. Alveolar
Type 2 Cell Dynamics and Long-Term Effect
of Allogenic Alveolar Type 2 Cell
Transplantation in Murine
Bleomycin-Induced Lung Injury. American
Thoracic Society International Conference
2017 May Washington, DC.

⑤Hamakawa Y, Sato A, Uemasu K, Hasegawa
K, Sato S, Pieper MP, Muro S. Tiotropium
and Olodaterol Attenuate Smoke-Induced
Alveolar Cell Inflammation in Mice.
American Thoracic Society International
Conference 2017 May Washington, DC.

⑥Fuseya Y, Sato A, Sato S, Uemasu K,
Tanimura K, Hasegawa K, Hamakawa Y, Muro
S, Hirai T. The Cluster Analysis of
Elastase-Induced Emphysema in Mice Using
Micro-Computed Tomography (CT).
American Thoracic Society International
Conference 2017 May Washington, DC.

⑦Sato S, Tanimura K, Hasegawa K, Hamakawa
Y, Uemasu K, Oguma T, Hirai T, Muro S.
Comparison of Chest CT-Derived Indexes for
Prognosis in Patients with COPD.
American Thoracic Society International
Conference 2017 May Washington, DC.

⑧Mondonedo JR, Sonnenberg AH, Obrochta WP,
Sato S, Muro S, Suki B. An Elastic Network
Model Interpretation of Emphysema
Progression in Follow-Up CT. American
Thoracic Society International Conference
2017 May Washington, DC.

⑨佐藤 晋 COPD の呼吸困難をめぐって 呼
吸困難と肺過膨張(Hyperinflation) 第27
回日本呼吸ケア・リハビリテーション学会ワ
ークショップ 平成29年11月仙台

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 晋 (SATO, Susumu)

京都大学大学院医学研究科・助教

研究者番号: 40378691

(2) 研究分担者

陳 豊史 (CHEN Toyofumi)

京都大学大学院医学研究科・講師

研究者番号: 00452334