

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09186

研究課題名(和文) 肺の気腫化と線維化はなぜ均等に起こらないのか? : 力学的異方性からのアプローチ

研究課題名(英文) Why is there an area priority during development of emphysema and fibrosis in the human lung? Approach to elucidate the mechanisms by mechanical property of the lung

研究代表者

友田 恒一 (TOMODA, KOICHI)

奈良県立医科大学・医学部・病院教授

研究者番号：90364059

交付決定額(研究期間全体) : (直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文) : 気腫化と線維化の局在化と肺の力学特性の異方性との関連性をコラーゲン線維の配向性という新たな側面からのアプローチを試みた。正常肺は冠状断面においてコラーゲン線維の配向性は垂直方向に高い配高度をもって配列していた。弾性限界から測定した力学強度の分布も垂直方向が強い傾向が認められた。コラーゲン線維配向性における異方性と力学強度の異方性の関連性が認められた。コラーゲン線維配向性は、線維化病変ならびに気腫病変いずれも正常肺とは異なる配向分布を示した。特に気腫肺では配高度が高い領域が存在し、呼吸による力学負荷がコラーゲン線維の配向性の再構築に関連している可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文) : We tried to elucidate the mechanisms there exists an area priority during development of emphysema and fibrosis in the human lung from a view point of mechanical property. On the lung without any lung diseases the collagen fiber was orientated mainly in up and down direction. The breaking stress was relatively higher in up and down direction than that in inner and outer direction. The mechanical anisotropy on the human lung was correlated with the anisotropy of the collagen fiber orientation. The distribution of the collagen fiber orientation on the lung with both emphysema and fibrosis is different from that without any lung diseases. Especially on the lung with emphysema there existed an area where the collagen fiber was highly orientated. These results may suggest that the mechanical stresses by respiration may contribute to the reconstruction in collagen fiber orientation during the development of emphysema.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：コラーゲン線維 配向性 気腫化 繊維化 不均等分布 力学特性 異方性

### 1. 研究開始当初の背景

我々は呼吸運動をする肺を mechanical device と捉え、呼吸運動による周期的でも不均一な力学負荷に対する肺の構造維持のメカニズムを、細胞外基質の中で最も多いコラーゲン線維の機能から解析を行なってきた。肺胞壁構造を維持するために重要とされるコラーゲン線維の力学的機能を考える上で、コラーゲン線維束の配向性(向きと配向度)が重要である。マイクロ波法を用いて、シート状サンプルにおけるコラーゲン線維配向性を、非接触でしかも短時間で定量測定できる方法を開発(Osaki, Nature, 347, 132, 1990)。我々はコラーゲン線維の配向性を測定するためのヒト肺のシート状サンプルの調製に成功し(Tomoda, Anat Rec, 296, 846, 2013)、ヒト肺気腫標本を用いてコラーゲン線維の配向性を測定した(平成 16 - 17 年度萌芽研究: 肺気腫病態解明への新たなアプローチ: コラーゲン線維配列の定量的測定法を用いて)この結果から、正常な肺でも呼吸運動による力学的負荷によりコラーゲン線維の配向性が再構築され、力学的負荷の差異によりコラーゲン線維の再構築や力学強度に差異が生じるのではないかと仮説を立てた。引っ張り試験(Osaki, Nature, 384, 419, 1996)を肺に適応し、ヒト肺における力学強度測定法を確立し、病変のないヒト肺の冠状断面における力学強度分布を作製した(平成 18 年 19 年度基盤研究 C: ヒト肺の力学強度マップ作製の試み 細葉中心型肺気腫が上肺野から発症する機序の解明)。力学強度は、上肺野が小さく下肺野で大きかった。呼吸運動の大小に応じて、力学強度は上肺野が小さく、下肺野が大きくなるように再構築されている可能性が考えられた。当研究は、力学強度の差異と細葉中心型肺気腫が上葉から発症してくることが、密接に関連している可能性を示唆するものであった。次に両研究で測定が可能となったヒト肺におけるコラーゲン線維の配向性と力学強度との関連性について検討を行った。上下方向だけではなく水平方向の力学負荷に対する力学強度を測定し、その比率から得られた力学的異方性とコラーゲン線維の配向性の異方性の関連性を検討した。両者ではほぼ直線関係が認められ、マイクロ波方式で得られたコラーゲン線維の配向性は、力学的異方性を反映していると考えられた。さらにヒト肺組織は呼吸運動による力学負荷に対応できるように力学異方性をもっていることが理解され、肺構造維持に重要な役割を果たすコラーゲン線維の配向性を測定すれば、肺の力学的機能を評価できる可能性を示唆している結果と考えられた。(平成 20 年 22 年度基盤研究 C: 力学的呼吸負荷に対するヒト肺構造維持のメカニズム: コラーゲン線維三次元配列の解析)

### 2. 研究の目的

呼吸器疾患にみられる換気障害は閉塞性障害と拘束性障害に大別される。前者には慢性

閉塞性肺疾患(COPD)後者には肺線維症がある。いずれの疾患も均一に発症することは稀で COPD 特に肺気腫は上葉から、肺線維症は下葉特に背側から発症する。しかし両疾患の病変が不均等に分布する機序については明らかにされていない。これらの疾患を力学特性の観点から考えると肺胞壁が断裂する(もろくなる)のは上葉から、肺胞隔壁および間質が厚くなる(固くなる)のは下葉からと捉えることができる。我々がこれまで明らかにしてきた肺のもつ力学特性の異方性(力学強度は上方が弱く下方が強い)から両疾患の病変の不均等性を説明できるのではないかと考えたのが本研究着想の契機である。呼吸器疾患の局在性を力学特性の異方性という新たな観点から解明する足がかりを得ることが本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

以下の方法を用いて正常肺、線維化肺、気腫肺についてコラーゲン線維配向性および力学強度分布図を作成する

#### <肺サンプルの調整>

肺を冠状に 2cm 厚に切り出し、すでに確立している方法で、冠状断面のシート状サンプルを各 3 枚ずつ調製する(Tomoda, K. Anat Rec., 296, 846, 2013)

- 1) ホルマリン固定した後、7cm 四方に切断し、パラフィンにて包埋
- 2) 1mm 厚に調製し、その後、70%エタノール液への浸漬によりパラフィンを除去
- 3) デシケーター内で乾燥し測定用サンプルとして使用する。

#### <コラーゲン線維配向性の測定>

マイクロ波を回転するシート状サンプルに照射し、マイクロ波の透過強度の角度依存性を測定することでコラーゲン線維の配向性を求めるマイクロ波方式(Osaki, Nature, 347, 132, 1990 図 1)を用いて調製したシート状肺サンプルにおけるコラーゲン線維配向性を 5mm 間隔で測定し、冠状断面での分布図を作製する

#### <力学強度の測定>

- 1) サンプルの調製  
調製した各シート状肺サンプルにおける力学強度を測定する。水平方向(A)垂直方向評価用(B)に 5mm × 15mm の大きさに調製する。(図 2 にサンプル調製法を示す)
- 2) 破断限界の測定  
調製した肺サンプルを用いて引っ張り試験を行い(Osaki, Nature 384, 419, 1996) 力学強度 伸び曲線を作成し破断した際の破断強度( ) および破断伸び( ) を測定する。測定後水平方向および垂直方向の力学強度分布図を作製する(図 3)
- 3) 破断強度の異方性の算出  
同じ肺領域の 3 ストリップ分の水平方向および垂直方向での破断応力の平均値の比率を算出し異方性の分布図を作製する。

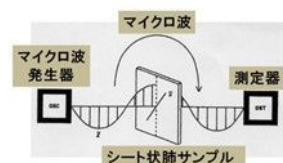


図1 マイクロ波方式

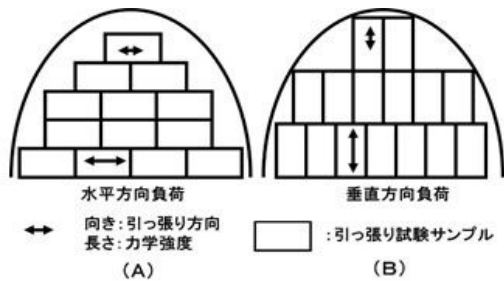


図2 力学強度マップの作成

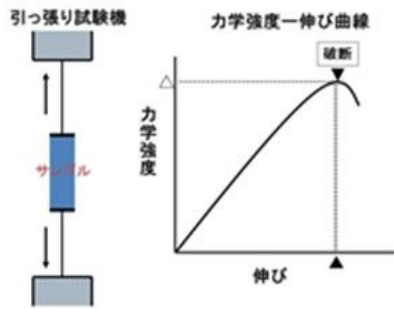


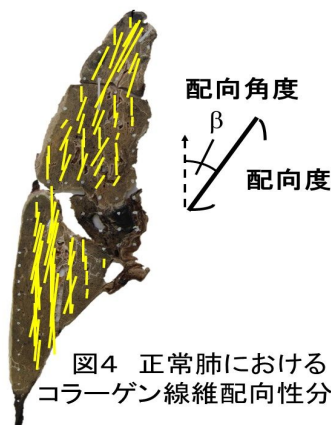
図3 破断限界計測による力学強度評価

4. 研究成果

1) 正常肺

コラーゲン線維配向性分布図(図4)

コラーゲン線維の配向性の観点から評価するとコラーゲン線維ほぼ垂直方向に高い配向度をもって配列していた。



垂直方向に対する力学強度は水平方向に対する力学強度より大きい傾向が認められた。さらに垂直方向に対する力学強度は下葉のほうがより大きい傾向が認められた。

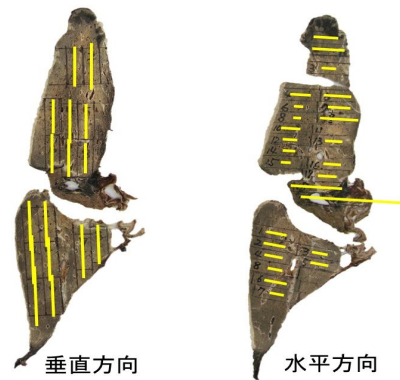


図5 正常肺における力学強度分布

2) 線維化肺

コラーゲン線維配向性(図6)

正常肺と比較してコラーゲン線維の配列は規則性(配向度)が低下し、病変が顕著な下葉で配向度の低下がより高度に認められた。



図6 線維化肺におけるコラーゲン線維配向性分布

なお力学強度はサンプルストリップが作成できなかったため評価できなかった。

3) 気腫肺

コラーゲン線維配向性(図7)

2 標本における上葉におけるコラーゲン線維配向性を評価した。いずれの肺においても配向度の高い領域と低い領域が存在していた。なお力学強度はサンプルストリップが作成できなかったため評価できなかった。

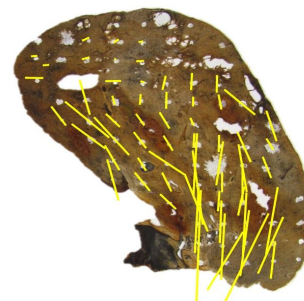


図7-1 気腫肺におけるコラーゲン線維配向性分布(1)



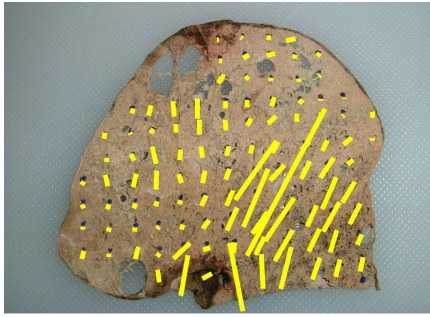


図7-2 気腫肺における  
コラーゲン線維配向性分布(2)

配向度が高い領域における配向角度はほぼ同じ角度であり、呼吸運動方向と類似していた。

### コラーゲン線維配向性と気腫空隙との 関連性(図8、9)

配向度が高い領域では気腫の空隙は楕円形を呈し、低い領域では円形を呈していた。

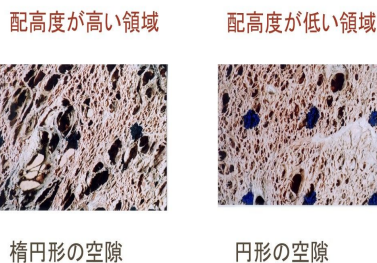


図8 気腫におけるコラーゲン線維配向性と空隙の関連性(1)

楕円形の長軸の角度とコラーゲン線維配向性の角度はほぼ一致していた。

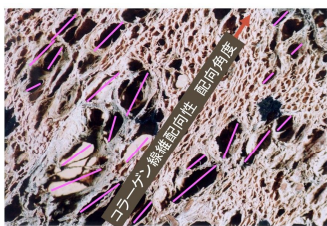


図9 気腫におけるコラーゲン線維配向性と空隙の関連性(2)

### 考案

正常肺では水平方向より垂直方向に強い呼吸運動による力学負荷に対して、コラーゲン線維が垂直方向に配列することにより、力学強度の異方性が生じる可能性が考えられた。また線維化や気腫化する過程ではこの規則性をもった配列(配向度)が低下することが明らかとなった。特に肺泡が破壊される気腫病変では呼吸運動と関連してコラーゲン線維の配向性が再構築される可能性も考えられ、さらなる検討が必要であると考えられた。

### 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15件)

Iwashita Y., Ohya M., Yashiro M., Sonou T., Kawakami ., Tomoda K., et al., Dietary changes involving Bifidobacterium longum and other nutrients delays CKD progression., Am J Nephrol, inpress, 2018.

友田恒一、骨粗鬆症リエゾンサービスにおける合併疾患、腎と骨代謝、査読無、31(2)、2018、139-144

恵川 淳二、友田 恒一、霧下 由美子、小西康司、川口 昌彦、古家 仁、呼吸管理システム SafetyNet・NMU モデルの構築、日本臨床麻酔学会誌、査読無、37(7)、2017、758-763

Kai Y., Tomoda K., Yoneyama H., Kitabatake M., Nakanura A., et al., Silencing of carbohydrate sulfotransferase 15 hinders murine pulmonary fibrosis development., Molecular Therapy-Nucleic Acids, 査読有、6、2017、163-172

Yoshikawa M., Yamamoto Y., Tomoda K., Fujita Y., Yamauchi M., et al., Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease in independent community-dwelling older adults: The Fujiwara-kyo study., Geriatr Gerontol Int., 査読有、17(12)、2017、2421-2426

Matsumura Y., Kitabatake M., O uji-Sageshima N., Yasui S., Mochida N., Tomoda K., et al., Persimmon-derived tannin has bacteriostatic and anti-inflammatory activity in a murine model of Mycobacterium avium complex (MAC) disease., PLoS One, 査読有、12(8)、2017、e0183489

友田恒一、木村 弘、Microbiome と呼吸器疾患慢性閉塞性疾患(COPD)との関わり、呼吸、1巻1号、2017、37-43

友田 恒一、慢性閉塞性肺疾患(COPD)とmicrobiome(解説)、医学のあゆみ、査読無、260巻2号、2017、169-170

Kai Y, Tomoda K., Yoneyama H., et al., Silencing of carbohydrate sulfotransferase 15 hinders murine pulmonary fibrosis development., Molecular Therapy-Nucleic Acids., 査読無、6巻、2017、163-72

Koyama N., Tomoda K., Matsuda M., Acute Bilateral Renal and Splenic Infarctions Occurring during Chemotherapy for Lung Cancer., internal Medicine., 査読無、55(24)、2016、3635-9

Fukuoka A., Ueda M., Ariyama Y., Effect of Laughter Yoga on Pulmonary Rehabilitation in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease., J Nara Med Assoc.,  
査読無, 67, 2016,11-20  
DOI:10.2199/jjsea.37.758

Kumamoto M., Tomoda K., Furuya Y., et al., Hypertrophic Pachymeningitis as a Delayed Complication of Granulomatosis with Polyangiitis., Internal Medicine.,  
査読無, 55(4),2016,413-7

Kumamoto M., Tomoda K., Matsuda M., Fujita Y., Yamamoto Y., Honts S., Tasaki M., Yoshikawa M., Kimura H., Hypertrophic pachymeningitis as a delayed complication of granulomatosis with polyangiitis., Intern Med,1 査読有, vol.55, 2016, 413-417

Kai Y., Tomoda K., Yoneyama H., Yoshikawa M., Kimura H., RNA interference targeting carbohydrate sulfotransferase 3 diminishes macrophage accumulation, inhibits MMP-9 expression and promotes lung recovery in murine pulmonary emphysema., Respir.Res,  
査読有, 16 巻, 2015, 146

Tomoda K., Kubo K., Dairiki K., Yamaji T., Yamamoto Y., Nishi Y., Nakamura A., Yoshikawa M., Hamada K., Kimura H., Whey peptide-based enteral diet Attenuated elastase-induced emphysema with increase in short chain fatty acids in mice.,  
BMC Pulm Med, 査読有, 15 巻,2015,64

[学会発表](計17件)

友田恒一、久保薫、吉川雅則、兼平裕也、肺気腫形成過程における骨密度の変化に関する検討、  
日本呼吸器学会、2018,

Ibaraki T.,Tomoda K.,Fujioka N.,Jinta T.,Yamamoto Y., Yam M.,  
A study on the role of Adiponectin in the progression of chronic obstructive pulmonary disease.  
American Thoracic Society,2018,USA

Tomoda K.,Osaki S, Kimura H.,  
The Collagen Fiber Orientation In Human Lung Tissue With Emphysema  
American Thoracic Society,2017,USA

Tomoda K.,Two types of fiber in COPD,The124 Annual Meeting of

Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2017,Soul

Tomoda K. ,Osaki S.,Kumura H.,  
Anisotropy in mechanical property in the human lung was correlated with collagen fiber orientation., American Thoracic Society,2017/5/20-24,  
Washington D.C.(U.S.A)

甲斐吉郎、友田恒一、米山博之、吉川雅則、木村弘、疾患動物モデル コンドロイチン硫酸プロテオグリカンを標的にした RNA 干渉による COPD 治療の試み  
日本呼吸器学会、2016/4/8 - 10、京都

友田 恒一、  
COPD 研究の新展開 Microbiome  
日本呼吸器学会、2016/4/8 - 10、京都

茨木敬博、友田恒一、吉川雅則、土居昭広、赤塚沙知子、中村武彦、木村弘呼吸器疾患における GUT-LING axis 例からの検難治性 NTM 症例に対するシンバイオティクス投与の試み  
日本呼吸器学会、2016/4/8 - 10、京都

藤岡伸啓、友田恒一、濱田薫、小山文一、中島祥介、三浦幸子、吉川公彦、吉川雅則、木村弘、呼吸器疾患における GUT-Ling axis 症例からの検証、海洋性大腸炎経過中に活動性肺病変を認めた 1 例  
日本呼吸器学会、2016/4/8 - 10、京都

山本佳史、吉川雅則、寺本佳奈子、藤田幸男、山内基雄、児山紀子、友田恒一、木村弘  
COPD 患者における骨格筋指数と骨塩量および運動耐容能との関連  
第 25 回日本呼吸ケアリハビリテーション学会、2015/10/15 - 16、東京ベイ舞浜

藤田幸男、吉川雅則、友田恒一、山本佳史、熊本牧子、児山紀子、山内基雄、岡本希、車谷典男、木村弘 COPD 患者における身体活動性の検討 - 藤原京スタディーにおける高齢一般住民との比較  
第 55 回 日本呼吸器学会学術講演会、2015/4/17-19、東京国際フォーラム

長敬翁、吉川雅則、友田恒一、山本佳史、熊本牧子、児山紀子、山内基雄、岡本希、車谷典男、木村弘藤原京スタディーにおける高齢一般住民と COPD 患者の依存性の比較  
第 55 回日本呼吸器学会学術講演会、2015/4/17-19、東京国際フォーラム

山本佳史、吉川雅則、藤田幸男、山内基雄、熊本牧子、児山紀子、友田恒一、木村弘、わが国の COPD 患者を対象とした BODE index の妥当性  
第 55 回日本呼吸器学会学術講演会、

2015/4/17-19、東京国際フォーラム

寺本佳奈子、吉川雅則、山本佳史、友田恒一、  
藤田幸夫、山内基雄、児山紀子、熊本牧子、  
長敬翁、鶴山広樹、木村弘、COPD 患者にお  
けるサルコペニアと骨塩量および運動能と  
の関連、  
第 55 回 日本呼吸器学会学術講演会、  
2015/4/17-19、東京国際フォーラム

Tomoda K.、Kubo K.、Yamamoto Y.、Koyama N.、  
Yoshikawa M.、Kimura H.、Acceleration in  
emphysema in rats discontinuously  
fed with fiber-free diet were related to a  
alteration in the gut environment.,  
第 55 回 日本呼吸器学会学術講演会、  
2015/4/17-19、東京国際フォーラム

Tomoda K.、Kubo K.、Yamamoto Y.、Koyama N.、  
Yoshikawa M.、Kimura H.、New targets for  
systemic effects in COPD.,  
第 55 回 日本呼吸器学会学術講演会、  
2015/4/17-19、東京国際フォーラム

Tomoda K.、Kubo K.、Yamamoto Y.、Koyama N.、  
Yoshikawa M.、Kimura H.、  
Synbiotics attenuate not only pulmonary  
emphysema but also osteoporosis induced  
by cigarette smoke in rats.,  
American Thoracic Society international  
conference.  
2015/5/15-20, Denver(U.S.A)

〔図書〕(計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

友田 恒一 (TOMODA, koichi)  
奈良県立医科大学・医学部・病院教授  
研究者番号：9 0 3 6 4 0 5 9

### (2) 研究分担者

吉川 雅則 (YOSHIKAWA, masanori)  
奈良県立医科大学・医学部・病院教授  
研究者番号：8 0 2 7 1 2 0 3

木村 弘 (KIMURA, hirosi)  
日本医科大学・医学部・教授  
研究者番号：2 0 1 9 5 3 7 4

大崎 茂芳 (OSAKI, shigeyoshi)  
奈良県立医科大学・医学部・研究員  
研究者番号：9 0 2 7 3 9 1 1