

平成 22 年 4 月 1 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007 ～ 2009
 課題番号：19790974
 研究課題名 (和文) 肺切除後における肺再生機構の解明
 研究課題名 (英文) Increase of Bone Morphogenic Protein-7 expressing pulmonary resident cells in the Remnant Lung after Major Pulmonary Resection: Implication as a Machinery of Compensatory Lung Growth
 研究代表者
 庄司 文裕 (SHOJI FUMIHIRO)
 九州大学・大学病院・助教
 研究者番号：90444851

研究成果の概要 (和文)：肺摘除後残存肺の再生は骨髄由来細胞ではなく、残存肺の細胞が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：Bone marrow-derived cells may not contribute to the Compensatory lung growth (CLG) after major lung resection, but lung resident cells are implicated to contribute the GLC through trans-differentiation pathway.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	0	1,400,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	570,000	3,870,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：呼吸器外科学、肺癌術後、肺再生、間葉・上皮転換、BMP 7

1. 研究開始当初の背景

肺気腫、間質性肺炎などの広範囲な障害後の肺再生に骨髄幹細胞による分化や間葉・上皮転換 (mesenchymal epithelial transition: MET) などの関与が推察されている。動物実験でも肺切除後に代償性肺再生が認められている。動物実験や小児患者において、肺摘除後の残存肺組織の代償性再生現象が確認されている (J Clin Invest 1980, Transplantation 1999)。

しかしながら、その分子生物学的機構はいまだ解明されていない。骨髄中に存在する間葉

系細胞は、多様な細胞 (骨細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、神経細胞など) に分化することが知られており (Science 1999, Cell 2001)、骨髄由来細胞は筋、心臓、腎臓などの再生に関与しているとされている (Science 1995, Nature 2001)。また、骨髄由来細胞は肺気腫、間質性肺炎における肺再生に関与している (J Immunol 2004, Am J Respir Crit Care Med 2005)。

上皮系細胞から間葉系細胞への分化転換機構: Epithelial-mesenchymal-transition (EMT) 機構は様々な器官形成、創傷治癒、臓器の線維

化に関する(Circ Res 2002, J Clin Invest 2003)。また、肺障害後の線維化過程において、EMT 機構が関与している(Am J Pathol 2003)。一方、マウス腎障害後の線維化モデルでは、逆の分化転換機構：Mesenchymal-epithelial-transition (MET) 機構により、再生現象が認められた(Bone Morphogenic Protein 7:BMP 7 の関与)(Nat Med 2003, J Biol Chem 2005)。多様な器官形成において重要な役割を担っている bone morphogenic protein (BMP) の1つである BMP7 は、MET を励起する蛋白質として知られる。

これまでに我々は GFP 骨髄移植後ラットの肺切除モデルを用いて、肺切除後残存気腫化肺の代償性肺再生において骨髄由来細胞の関与の可能性が低いことを報告してきた。

2. 研究の目的

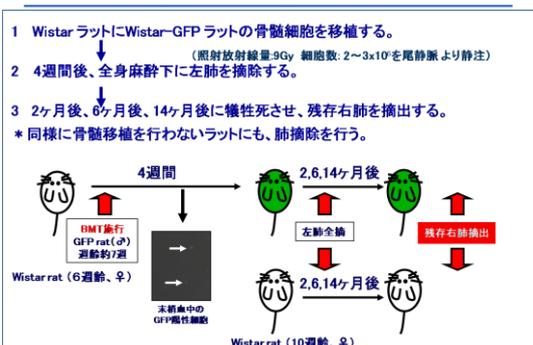
ラット肺切除モデルを用いて、肺切除後の残存肺における MET 機構の関与について解析する。

3. 研究の方法

7週齢 Wistar ラットに全身麻酔下に左肺全摘出術を施行した。術後2日、1週、2ヶ月、6ヶ月後に犠牲死させ、残存右肺を摘出した。摘出した残存肺の肺胞数の変化と MET 関連の Key molecule と考えられる BMP7 の発現状態を免疫組織化学染色により経時的に観察した。

方法

GFPラットの骨髄移植と肺摘除モデルの作成方法



【検討項目】

検討1: 形態学的変化の検討

残存肺の単位面積あたりの肺胞数を評価し、気腫化の確認をする。

検討2: 骨髄由来細胞の検出

蛍光免疫組織化学染色法及びPCR法にて骨髄由来細胞の存在の同定を試みる。

検討3: MET機構の検討

MET機構のkey molecule と考えられるBMP7発現を免疫組織化学染色法により経時的に観察し、単位面積あたりのBMP7陽性肺胞上皮細胞数を計測する。

4. 研究成果

片肺摘出後の残存肺では、①経時的な肺胞数減少とそれに伴う気腫化を認めた。②骨髄由来細胞(GFP 陽性細胞)は認められなかった。③BMP7 陽性肺胞上皮細胞の増加を認めた。

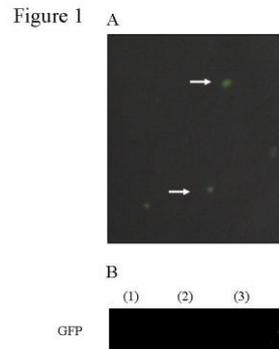


Figure 2

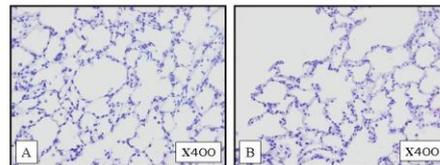


Figure 3

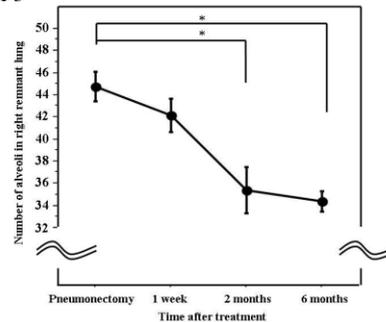


Figure 4

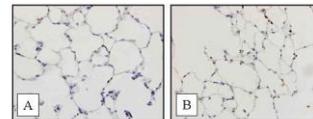


Figure 5

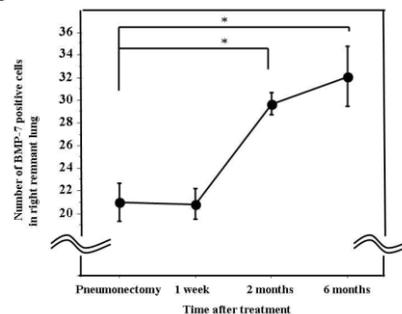


Figure 6



Figure 1. Examination of GFP-positive cells in GFP-bone marrow transplanted Wistar rat. A. GFP positive cells (arrows) were observed in peripheral blood after BMT by fluorescence microscopy. Magnification x400. B. By RT-PCR methods, expression of GFP-RNA was only found in the lung of GFP rats (4). In the GFP-bone marrow transplanted rats, GFP gene expression was not detected even after pneumonectomy. Wistar rats (1), rats after 1 week from pneumonectomy (2), and after 2 months (3).

Figure 2. Representative morphological change in remnant right lung after left pneumonectomy. Hematoxylin and eosin-stained lung obtained from the rat before left pneumonectomy (A) and rat after 6 months from left pneumonectomy (B). Magnification x400.

Figure 3. Number of alveoli per 400-fold visual field of right remnant lung. Values are expressed as mean \pm SEM. (*P<0.05) (n=12)

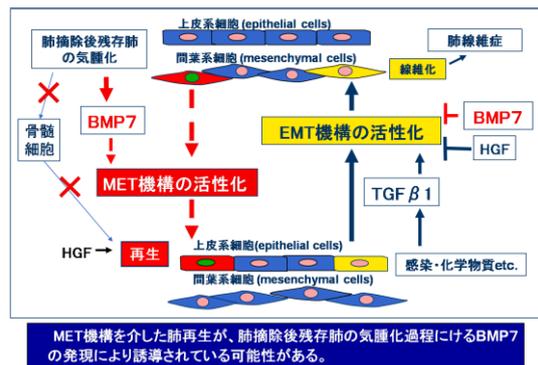
Figure 4. BMP-7 expression in remnant right lung after left pneumonectomy. Representative photomicrographs subjected to immunohistochemical staining using an anti-BMP-7 antibody. At 6 months (B) after pneumonectomy, the number of BMP-7-positive cells in the remnant right lung was more than before pneumonectomy (A).

Figure 5. Number of BMP-7 positive cells in right remnant lung. Values are expressed as mean

\pm SEM (*P<0.05) (n=12)

Figure 6. BMP-7 and β actin expression were evaluated by western blotting. BMP-7 expression was expressed in lungs (1) before pneumonectomy, (2) 2 months and (3) 6 months after left pneumonectomy.

【考察】



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 0 件)

〔学会発表〕 (計 2 件)

1. 第 107 回日本外科学会定期学術集会 (2007 年 4 月 12 日、大阪) 「ラット肺切除モデルにおける肺再生機序に関する研究」
2. 第 108 回日本外科学会定期学術集会 (2008 年 5 月 15 日、長崎) 「ラット肺切除モデルにおける代償性肺再生機序に関する研究」

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

庄司 文裕 (Shoji Fumihiro)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：90444851

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：