

機関番号：24601

研究種目：基盤研究C

研究期間：平成20年度～平成22年度

課題番号：20590904

研究課題名(和文) 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

研究課題名(英文) Three dimensional analysis for collagen fiber orientation in the human lung to investigate how the lung can maintain its structure under mechanical load by respiration.

研究代表者

友田 恒一 (TOMODA KOICHI)

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：90364059

研究成果の概要(和文)：1) ヒト肺における呼吸運動による形態変化は、垂直方向が水平方向や前後方向よりも大きかった。ヒト肺が呼吸運動により受ける力学負荷は、垂直方向に大きいと考えられた。2) ヒト肺におけるコラーゲン線維の配向性は、冠状断面では垂直方向に向く傾向が認められ、配向度も高かった。水平断面では配向方向は一定の方向に向く傾向は認められなかった。3) ヒト肺における弾性応力は冠状断面で特に上葉では、垂直方向に対する弾性応力は水平方向に対する弾性応力より大きかった。4) ヒト肺とくに冠状断面ではコラーゲン線維の配向性の異方性は水平方向に優位であり、弾性応力は垂直方向で優位であった。5) ヒト肺とくに冠状断面においてコラーゲン線維の配向性の異方性と弾性応力の異方性の間は優位の負の相関が認められた。以上の結果からヒト肺組織は呼吸運動による伸縮運動に対応できるように力学的異方性を持っていると考えられ、力学的に重要な役割を果たすコラーゲン線維の配向性を調べれば、肺の力学機能を評価できる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：1) Concerning as changes in shapes of human lung by inspiration, those in perpendicular direction were larger than those in other directions. This result suggests that perpendicular mechanical loads to the human lung under inspiration are larger than those of other directions. 2) In coronal plate, collagen fiber orientations were perpendicularly orientated with high degree of fiber orientation. However in horizontal plate the orientations were poorly orientated. 3) In coronal plate, especially on upper lobe, mechanical stresses in perpendicular direction were larger than those in horizontal direction. 4) In collagen fiber orientations, horizontal directions were predominant, while in mechanical stresses, perpendicular directions were predominant. 5) Anisotropy in collage fiber orientation was inversely correlated with that in mechanical stresses.

In conclusion, the human lung has anisotropic mechanical properties to maintain its structure under anisotropic mechanical load by respiration. The mechanical properties of the human lung are closely related with collagen fiber orientation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：基盤研究(C)

科研費の分科・細目：呼吸器内科学

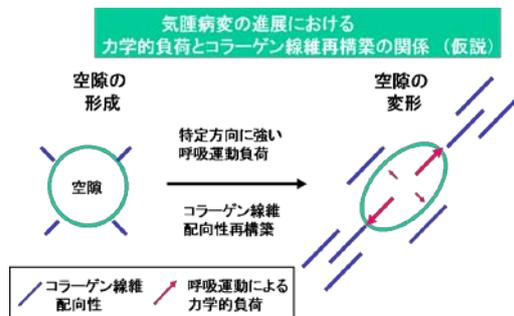
キーワード：1) ヒト肺構造 2) 呼吸運動 3) 力学負荷 4) コラーゲン線維 5) 配向性

科学研究費補助金研究成果報告書

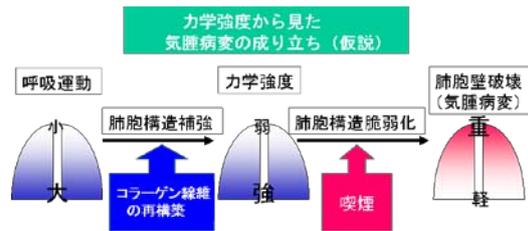
1. 研究開始当初の背景

肺気腫は喫煙により肺胞壁が断裂することで肺胞腔が拡大することで形成される。近年呼吸による力学負荷によって肺胞壁が断裂し、肺気腫の進展に関与していると考えられている。このため、呼吸運動による力学負荷の重要性が注目され、ミクロな組織での解析がなされてきた。しかし、肺全体というマクロなレベルでの力学負荷については研究報告が見られなかった。そこで分子レベルとマクロの組織をつなぐコラーゲン線維の配向性という考え方に基いて、肺における力学負荷を解析することにした。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。申請者の一人は、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した (Osaki, *Nature*, 347, 132, 1990)。皮膚や骨にこの方法を適用し、コラーゲン線維配向性はその運動機能と深く関連していることを報告してきた。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、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）。肺気腫性病変ではコラーゲン線維の配向度が高い領域と、低い領域が存在した。配向度の高い領域では気腫を形成している空隙は楕円形を、低い領域では円形を呈していた。なお配向性の高い領域の楕円空隙の長軸方向とコラーゲン線維配向方向はほぼ一致することが判明した。

この結果は空隙が楕円の領域では特定方向に強い力学的な負荷が働き、空隙が楕円に変形すると同時に、力学負荷に抗するごとく負荷方向に一致してコラーゲン線維配列の再構築が起こっている可能性を示唆するものであった (Tomoda, et al, *Cell Mol Biol*, 51, A113, 2005)。



この萌芽研究の結果から、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。申請者の一人が用いた引っ張り試験 (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 (基盤研究 C: 平成 18 年-19 年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)。その結果、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。また古くから喫煙による細葉中心型肺気腫は上肺野から発症するが、その機序は解明されていない状況である。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。



以上の萌芽研究、基盤研究から、ヒト肺において力学負荷、力学強度、コラーゲン線維配列は密接に関連しており、肺のもつ力学特性が肺気腫の発症・進展と深く関連していると考えられた。しかし、上述の検討は冠状断面における解析に限定されており、呼吸運動による力学負荷については解析していない。

2. 研究の目的

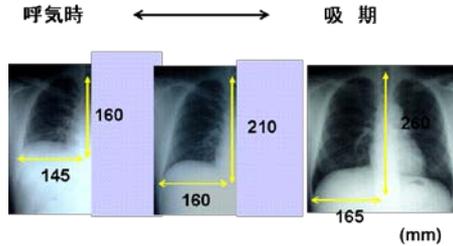
肺は、呼吸運動によって常に周期的な力学負荷を受けている。吸気時に伸展し、呼気時に収縮する mechanical device ともいえる。ヒト肺における呼吸運動は、体幹の前後方向や左右方向と比べて上下方向に大きく、しかも下肺で大きい。呼吸運動により肺に加わる不均一な力学負荷に対し、ヒト肺組織がどのように力学強度を保ち、構造を維持しているのかは明らかにされていない。

肺の構造を維持する細胞外マトリックスのなかで、コラーゲンが約 70% も占める。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列（向きとその配向度：配向性）が重要である。呼吸運動による力学負荷、力学強度およびコラーゲン線維配列を三

次元的に解析し、ヒト肺構造維持のメカニズムを明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法/成果

①呼吸運動による力学負荷の解析



呼吸運動による肺の形態変化

呼吸機能検査で異常を認めない健常成人を対象に、胸部X線を用いて評価した。結果：呼吸速度によるヒト肺の形態変化は上下方向の変化が内外方向や前後方向の変化に比べて大きかった。

呼吸速度による力学的負荷は上下方向が最も大きいと考えられた。

②コラーゲン線維配向性

サンプルの調製

系統解剖で摘出された肺標本を使用する。肉眼的のみならず組織学的にも病変が認められないものを選定した。

右肺は水平状に左肺は冠状に 2cm 厚に切り出し、すでに確立している方法で、水平断面および冠状断面のシート状サンプルを調製する。各 3 枚ずつ調製した (Tomoda, et al, *Cell Mol Biol*, 51, A113, 2005)。

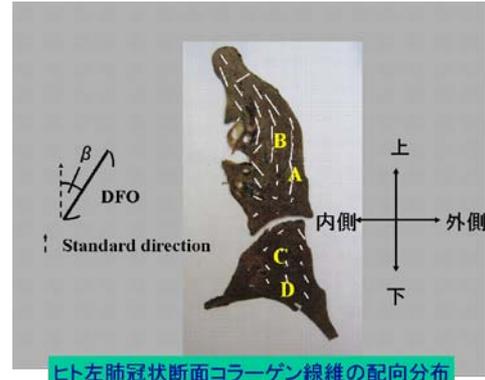
コラーゲン線維配向性の測定

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

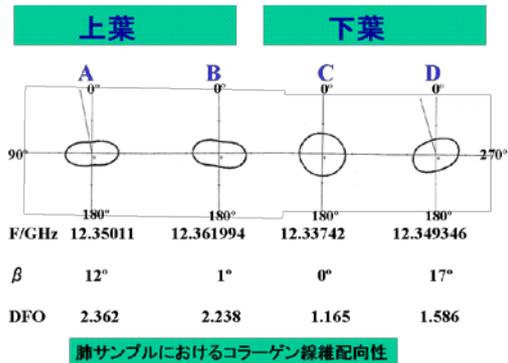
(Osaki, *Nature*, 347, 132, 1990) を用いて調製したシート状肺サンプルにおけるコラーゲン線維配向性を 5mm 間隔で測定し、冠状断面、水平断面での分布図を作製した。結果：a) 冠状断面では特に大きく切り出した上葉ではコラーゲン線維の配向性は配向度が大きくさらには、上下方向に配列する傾向が認められた。

b) 一方小さく切り出した下葉では配向度は小さく、配向角度は特定の方向に配列する傾向は認められなかった。

c) 水平断面における配向性では配向度は小さく、配向角度は特定の方向に配列する傾向は認められなかった。



ヒト左肺冠状断面コラーゲン線維の配向分布



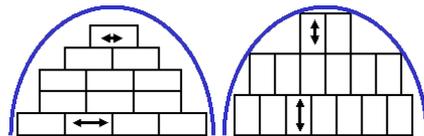
肺サンプルにおけるコラーゲン線維配向性

③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。

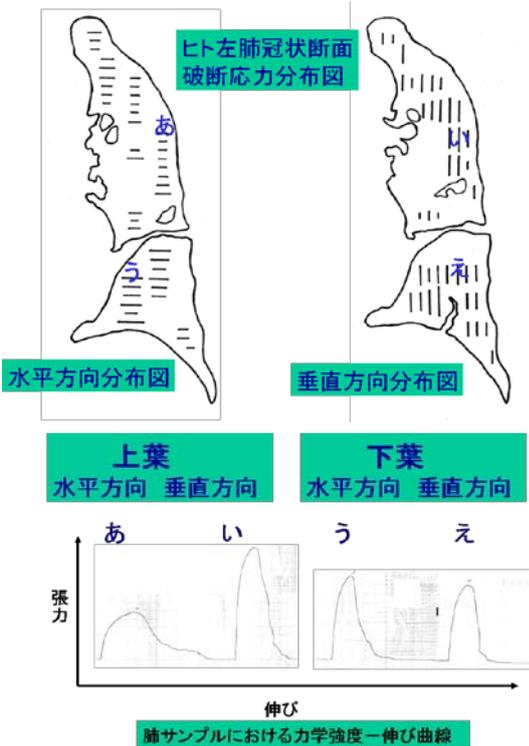
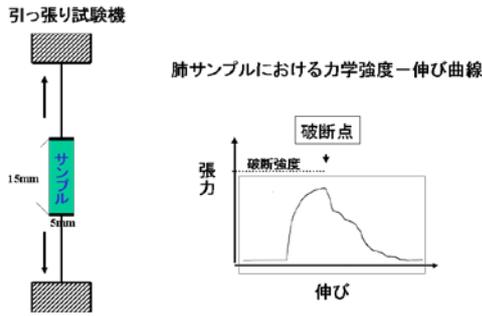
水平断面も同じく横方向と前後方向用に 5mm × 15mm の大きさに調製する。(図は冠状断のサンプル調製法を示す)。



水平方向負荷 垂直方向負荷

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)、力学強度一伸び曲線を作成し破断した際の破断強度を測定する。



結果：上葉においては上下方向が破断応力が大きい傾向を認めたが下葉では上下方向と垂直方向での応力の相違は認められなかった。

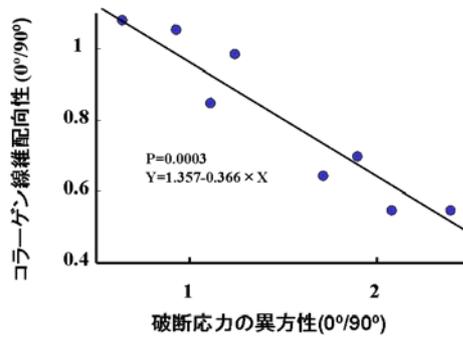
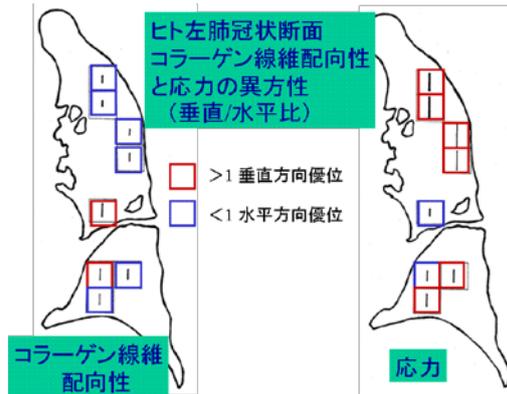
④ コラーゲン線維配向性および

応力の異方性

既述のコラーゲン線維配向性と破断応力の異方性の分布図を作製し両者の関連性について検討した。

結果：a) 上葉においてはコラーゲン線維の配向性の異方性は水平方向が優位で破断応力の異方性は垂直方向が優位の傾向を認めた。

b) コラーゲン線維配向性と破断応力は負の直線関係が得られた。



ヒト肺におけるコラーゲン線維と破断応力の関連性

ヒト肺組織は呼吸運動による伸縮運動に対応できるように力学的異方性を持っていると考えられ、力学的に重要な役割を果たすコラーゲン線維の配向性を調べれば、肺の力学機能を評価できる可能性が考えられた。

4. 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7件)

- 1) Tomoda K., Osaki S., Yoshikawa M., Kimura H.,
Determination of orientation of collagen fibers in tissue of human lung.
American Thoracic Society International Conference 2008. Toronto, Canada
- 2) 友田恒一, 大崎茂芳, 吉川雅則, 木村 弘.
ヒト肺冠状断面におけるコラーゲン線維配向性. 第48回日本呼吸器学会総会. 2008年 神戸

(3) 連携研究者 なし

- 3) 友田恒一, 木村 弘, 大崎茂芳
ヒト肺における力学的性質と肺機能
第57回高分子学会. 2008年 横浜
- 4) 友田恒一, 大崎茂芳, 吉川雅則, 木村 弘.
ヒト肺における力学負荷を反映するコラーゲン線維の配向性
第59回高分子学会. 2010年 横浜
- 5) 友田恒一, 大崎茂芳, 吉川雅則, 木村 弘
ヒト肺における力学応力に関係したコラーゲン線維の配向性
第59回高分子学会討論会. 2011年 札幌
- 6) 友田恒一, 大崎茂芳, 吉川雅則, 木村 弘
ヒト肺における力学応力に関係したコラーゲン線維の配向性 第51回日本呼吸器病学会総会. 2011年東京
- 7) 友田恒一, 大崎茂芳, 吉川雅則, 木村 弘
ヒト肺におけるコラーゲン線維の配向性と空隙構造の関連性
第59回高分子学会討論会. 2011年 大阪

[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◇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

友田 恒一 (Tomoda Koichi)

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号: 90364059

(2) 研究分担者

大崎茂芳 (Osaki Shigeyoshi)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号: 90273911

吉川 雅則 (Yoshikawa Masanori)

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 80271203

木村 弘 (Kimura Hiroshi)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号: 20195374