

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09308

研究課題名(和文) 成長因子徐放ゼラチンシートを用いた肺胞再生

研究課題名(英文) Regeneration of emphysematous lungs using gelatin sheets that release basic fibroblast growth factor

研究代表者

横見瀬 裕保 (Yokomise, Hiroyasu)

香川大学・医学部・教授

研究者番号：80231728

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々はbasic Fibroblast Growth Factor(bFGF)を血管内投与することで肺気腫の再生を過去に証明した。さらなる安全性確立のため別の経路の投与方法が必要であり、肺の臓側胸膜直下には豊富なリンパ網が発達しているため、bFGF徐放ゼラチンシートを臓側胸膜に貼付することで血管新生を誘導して、肺胞構造の再生が得られるのではないかと仮説を立てた。エラストマーを経気管支鏡下に投与して肺気腫モデル犬を作成した。全身麻酔下に小開胸を行い臓側胸膜に、bFGF徐放シートを貼付することで、微小血管が増生し、肺胞構造が再生されていることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺は自己再生能力が低いいため、喫煙によって再生能力を超えて肺胞の破壊が進むと徐々に肺気腫となる。肺組織の破壊を遅らせるための禁煙が、炎症の原因除去治療といえるが、一度過度に破壊されると永久的かつ不可逆な肺気腫となる。肺気腫の現在の治療は症状をとる対症療法が主で、根治的な治療は肺移植しかないがドナー不足や倫理面の問題が残る。本研究成果は動物実験の段階ではあるが、これまでに肺移植が困難であった肺気腫症例に対しての新治療となりうる。

研究成果の概要(英文)：We reported reconstructing emphysematous lung tissue histologically via the slow release of basic fibroblast growth factor (bFGF) from bioabsorbable gelatin microspheres injected into the pulmonary artery in a canine model. It is necessary to develop a rational method that can be applied safely in clinical practice. The visceral pleura has a rich lymphatic network that drains lymph from the interlobular region into the alveoli and bronchioles. We predicted that lung regeneration is achievable through slow bFGF release around the destroyed alveoli via a bioabsorbable gelatin sheet attached to the visceral pleura. In this present study, attaching gelatin sheets with slow-release bFGF to the visceral pleura induced lung regeneration and vascularization in a canine pulmonary emphysema model.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：線維芽細胞増殖因子 肺胞再生 肺気腫

1. 研究開始当初の背景

肺気腫は主に喫煙が原因で発症し、肺泡が破壊されることで肺胞径が拡大する疾患である。**2020**年には全世界の死因として第**3**位の疾患であるが、現在は抗コリン薬やβ刺激薬、吸入ステロイドでの対症療法による症状改善が治療の主体であり、根治的治療は肺移植しか無い。我々は過去に動物実験で **Fibroblast growth factor family(FGF)**の一種である **Basic FGF(bFGF)**を徐放するゼラチンビーズを肺気腫モデル犬の肺動脈末梢に塞栓させることにより微小血管の増生・肺泡構造の再生・酸素化の改善を証明した。しかし、循環動態悪化の可能性のある肺動脈へのビーズ塞栓を臨床応用することは倫理・安全性の問題から困難であり新たな投与方法が必要と考えた。臓側胸膜直下には豊富なリンパ網が発達しているため臓側胸膜に **bFGF** 徐放シートを貼付することで血管新生を誘導して、肺泡構造の再生が得られるのではないかと仮説を立て本研究に至った。

2. 研究の目的

bFGF 徐放ゼラチンビーズの血管内投与よりもより安全と考えられる、臓側胸膜に **bFGF** 徐放シートを貼付する治療方法が肺気腫に対して効果があることを証明すること

3. 研究の方法

15頭のビーグルを用意した。**5**頭に左下葉切除を行い **normal group(n=5)**とした。**10**頭に、我々が過去に世界で初めて報告したエラスターゼを両下葉に気管支鏡下投与する方法で、両下葉肺気腫モデル犬を作成した。エラスターゼ投与**4**週間後に**10**頭の内、**5**頭に左小開胸を行い **bFGF** 徐放ゼラチンシートを臓側胸膜に貼付して **bFGF+ group**とした。残りの肺気腫モデル犬**5**頭には生理食塩水を含むゼラチンシートを貼付し **bFGF- group**とした。シート貼付後**4**週間で貼付した左下葉を摘出した。右下葉も同時に摘出して **emphysema group**とした。図**1**に研究プロトコルと臓側胸膜に **bFGF** ゼラチンシート貼付**4**週間後の肉眼所見を示した。肺気腫の評価は平均肺胞径(**Mean liner intercept**)を用いて比較した。また微小血管の増生は第八因子による免疫染色を用いて単位面積あたりの血管総数を比較した。

当初の計画からの変更点

bFGF+群と **bFGF-**群のみの比較を予定していた。しかし **bFGF+**群がエラスターゼによる肺気腫モデルの作成が不十分であっただけではないかという可能性が残るため、コントロール群として非介入の **normal** 群と肺気腫を作成した **emphysema** 群を作成して**4**群を比較することとした。

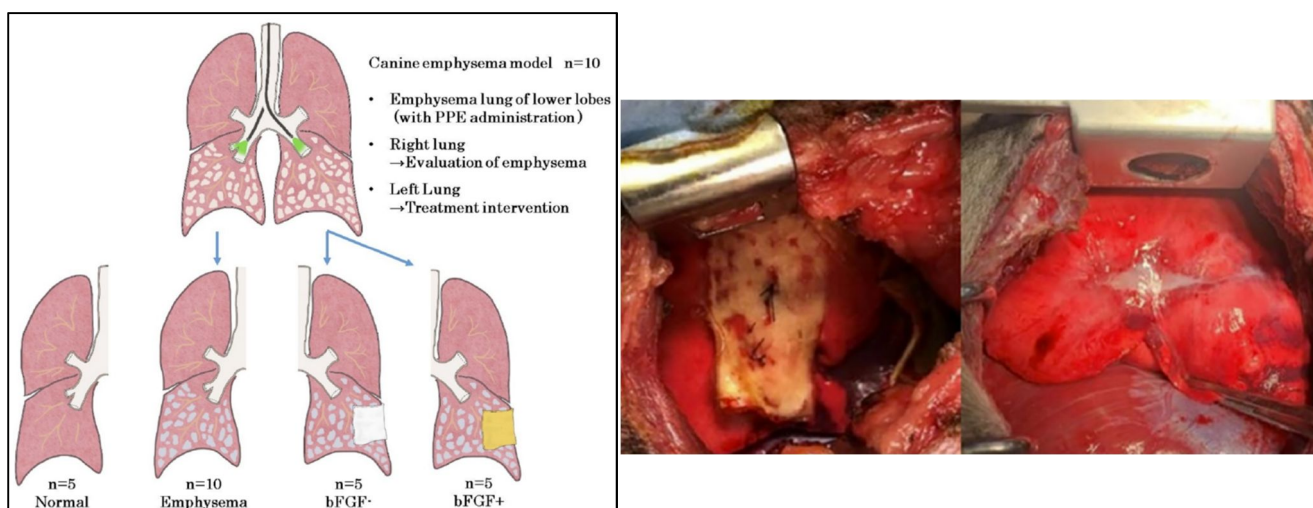
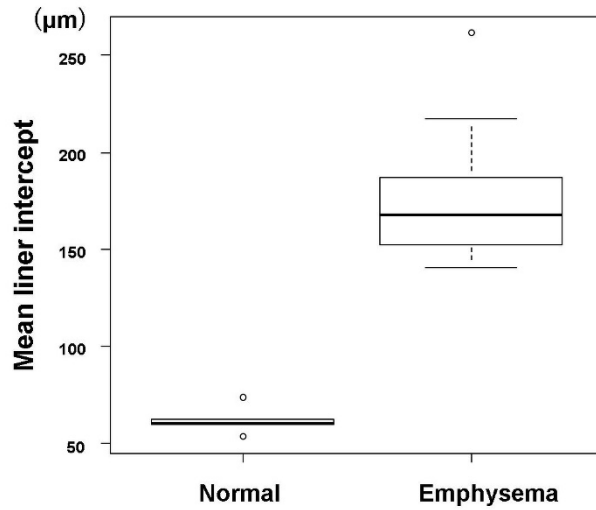


図1：研究プロトコル、貼付後の肺肉眼所見

4. 研究成果

MLI は **Emphysema** 群が **Normal** 群より有意に高値 (177.7 ± 36.76 vs. $61.96 \pm 7.346 \mu\text{m}$; **P=0.00001**) でありエラスターゼにより肺気腫が完成された (図 2)。

図 2: Normal 群と emphysema 群の Mean liner intercept



bFGF+ 群が **bFGF-** 群と比較して有意に低値であり肺胞構造の再生を証明した。 (110.0 ± 24.38 vs. $208.9 \pm 33.08 \mu\text{m}$; **P=0.0006**) (図 3)

図 3: bFGF+ 群と bFGF- 群の Mean liner intercept

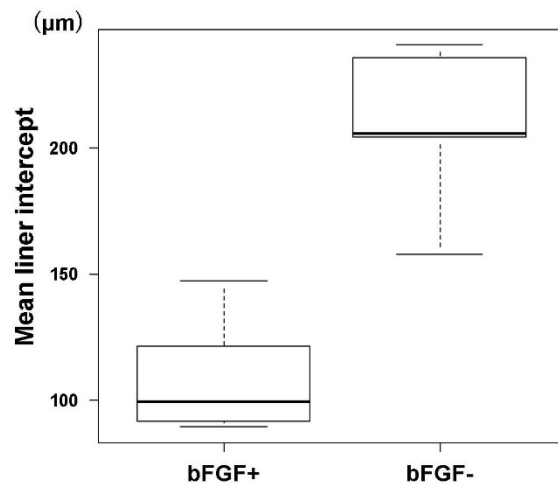


図 4 に各群の HE 染色病理所見を示した。

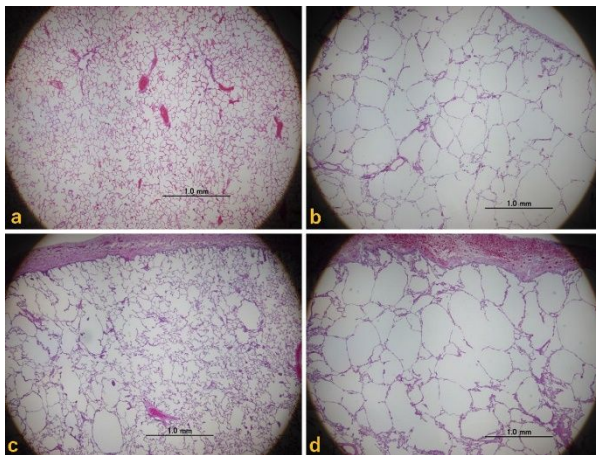
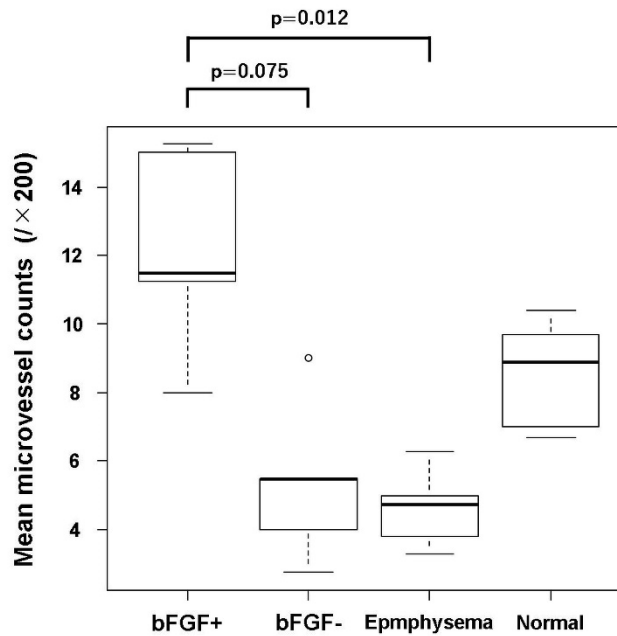


図 4: 各群の顕微鏡写真(HE 染色 弱拡大)
a: normal b: emphysema c: bFGF+ d: bFGF-

顕微鏡写真では **normal** 群と **bFGF+** 群が肺胞構造が密に保たれているのに対して、**emphysema** 群と **bFGF-** 群では肺胞径が大きい

単位面積あたりの微小血管数は **bFGF** + 群と **bFGF** - 群に有意な差は認めなかった (12.20 ± 3.007 vs. 5.35 ± 2.3425 ; $P=0.075$) が、**bFGF**+群と肺気腫群を比較すると有意な血管増生を認めた (12.20 ± 3.007 vs. 4.57 ± 0.8896 ; $P=0.012$) (図 5)。

図 5 : 各群の微小血管数



結論：**bFGF** 徐放ゼラチンシート臓側胸膜貼付によって肺気腫モデル犬の肺胞構造の再生と微小血管増生を証明した。これにより **bFGF** 徐放ゼラチンペース血管内投与で懸念された塞栓による血行動態の破綻の問題が解決し、本方法が今後の肺気腫再生治療の選択肢となる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Otsuki Yasuhiro, Go Tetsuhiko, Kato Ayumu, Yokota Naoya, Fujiwara Atsushi, Matsuura Natsumi, Chang Sung Soo, Misaki Noriyuki, Yokomise Hiroyasu	4. 巻 -
2. 論文標題 Regeneration of emphysematous lungs using gelatin sheets that release basic fibroblast growth factor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00595-022-02465-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	張 性洙 (Chang Sung Soo) (00419508)	香川大学・医学部・助教 (16201)	
研究分担者	横田 直哉 (Yokota Naoya) (10636492)	香川大学・医学部附属病院・助教 (16201)	
研究分担者	呉 哲彦 (Go Tetsuhiko) (50313656)	香川大学・医学部附属病院・講師 (16201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------