

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20869

研究課題名(和文) IPFにおける末梢気道の形態及び機能変化が病態に及ぼす影響の検討

研究課題名(英文) The impact of the structural and functional changes of the small airways on the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis

研究代表者

池添 浩平 (Ikezoe, Kohei)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：90771733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、特発性肺線維症 (Idiopathic pulmonary fibrosis; IPF) では、末梢気道上皮細胞の機能変化が病態に寄与しているという仮説の検証を試みた。8例のIPFの肺組織から選択した種々の線維化領域の末梢気道及び肺泡領域においてKRT17で免疫染色を行ない、KRT17陽性気道上皮細胞の分布について検討した。結果、KRT17陽性細胞は、IPF肺において末梢気道のみでなく、肺泡内にある化生した気道上皮細胞、Fibroblast fociを覆う気道上皮細胞、顕微鏡的蜂巢肺を覆う気道上皮細胞等に認められ、KRT17陽性気道上皮細胞の病態への密接な関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでIPFでは、型肺泡上皮細胞の機能異常が病態の本態であり、病理学的特徴とされる蜂巢肺は、肺泡領域の線維化の末期像であると考えられてきた。本結果から、近年報告されているIPFに特徴的なKRT17陽性の基底細胞様の上皮細胞が、線維化領域やfibroblast foci、顕微鏡的蜂巢肺の領域に認められることが病理学的に証明され、気道上皮細胞の病態への関与が示唆された。将来的にこれらの細胞の遺伝子発現変化を検討できれば、IPFにおける末梢気道上皮細胞の機能異常の詳細を検討できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this project, we hypothesize that the dysfunction of small airway epithelial cells contributes to the lung fibrosis and the honeycomb formation in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF).

We performed the immunofluorescence staining for proSP-C (alveolar type II cells), KRT17 (airway epithelial basal cells), and CD68 (macrophages) in the regions including small airways and parenchyma with various extent of lung fibrosis obtained from 8 patients with IPF. As a result, we found that KRT 17 were expressed in not only the basal cells in the small airways but also the metaplastic airway epithelial cells in the parenchyma, the epithelial cells covering fibroblast foci, and the epithelial cells covering microscopic honeycomb. Our results suggest the close link between KRT17 positive airway epithelial cells and the pathogenesis in IPF.

研究分野：医学

キーワード：特発性肺線維症 気道上皮細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 特発性肺線維症 (Idiopathic pulmonary fibrosis; IPF) は予後不良の慢性線維化性肺疾患であり、繰り返す肺胞上皮細胞の障害が主病態と考えられてきた。また、画像、病理学的に特徴的な所見である蜂巢肺は、従来、肺間質線維化の末期像と考えられてきたが、その成立機序は十分解明されていない。

(2) 申請者らは、IPF 患者の全肺を用いて、マイクロ CT にて肺間質及び末梢気道の 3 次元的な形態解析を行ない、IPF 肺における非線維化領域で既に末梢気道の形態変化が生じていること、変形した末梢気道が蜂巢肺の一部を形成していることを示した。この結果により、末梢気道の形態及び構成上皮細胞の機能変化が IPF の病態に寄与していることが示唆された。

2. 研究の目的

(1) IPF 肺における気道上皮細胞の分布変化・機能変化を非 IPF コントロール肺との比較により同定する。

(2) IPF における気道上皮細胞の機能変化をもたらす因子のうち、肺間質線維化、蜂巢肺形成と関連するものを同定する。

(3) IPF 肺の末梢気道上皮細胞の形態学的な特徴を反映するような、胸部 CT 指標を探索する。

3. 研究の方法

(1) 肺疾患のないコントロール肺標本と、肺移植により得られた IPF 肺標本から HE 染色、EVG 染色を見ながら病理医の協力のもと、末梢気道上皮及び肺胞を含む、種々の線維化領域を選択し、その領域について、気道上皮基底細胞 (KRT17)、型肺胞上皮細胞 (proSP-C)、マクロファージ (CD68) に特異的なマーカーで免疫染色を行ない、その分布を検討する。

(2) 慢性閉塞性肺疾患において末梢気道病変を反映すると言われる、呼気/吸気平均 CT 値比 (Expiratory/Inspiratory mean lung attenuation; E/I MLA) が、IPF を含む間質性肺疾患でも末梢気道病変を反映するかどうかを検討する。

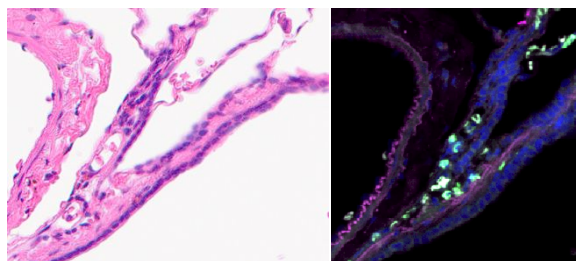
4. 研究成果

(1) 肺移植で得られた 8 例の IPF 肺から、病理医が診断した種々の程度の線維化を呈する肺間質、末梢気道を含む 90 の領域を選択し、KRT17, proSP-C, CD68 にて免疫染色した。特に、KRT17 陽性気道上皮細胞の分布について検討した。

肺疾患のないコントロール肺組織では、末梢気道の気道上皮基底細胞のみが、KRT17 陽性を示した (図 1)。一方で、IPF 肺においては、軽度の肺線維化領域だけでなく、高度肺線維化領域に隣接する、拡張した末梢気道上皮基底細胞においても KRT17 陽性細胞を認めた。肺間質領域では、化生性変化を示す KRT17 陽性気道上皮細胞を認めた。更に、IPF 肺の病理学的特徴とされる、fibroblast foci を覆う上皮細胞、顕微鏡的蜂巢肺を覆う上皮細胞にも、KRT17 陽性細胞が認められた (図 2)。この結果は、KRT17 陽性気道上皮細胞が IPF 肺の間質線維化、及び病態に密接に関与していることを示唆する。

今後、KRT17, pro SP-C, CD68 陽性細胞を分離し、それぞれの細胞について RNA-seq 解析を行い、IPF 肺に特異的な発現変化、間質線維化や蜂巢肺形成に関連した発現変化を認める遺伝子の抽出を試みる予定である。

図 1. コントロール肺の末梢気道上皮



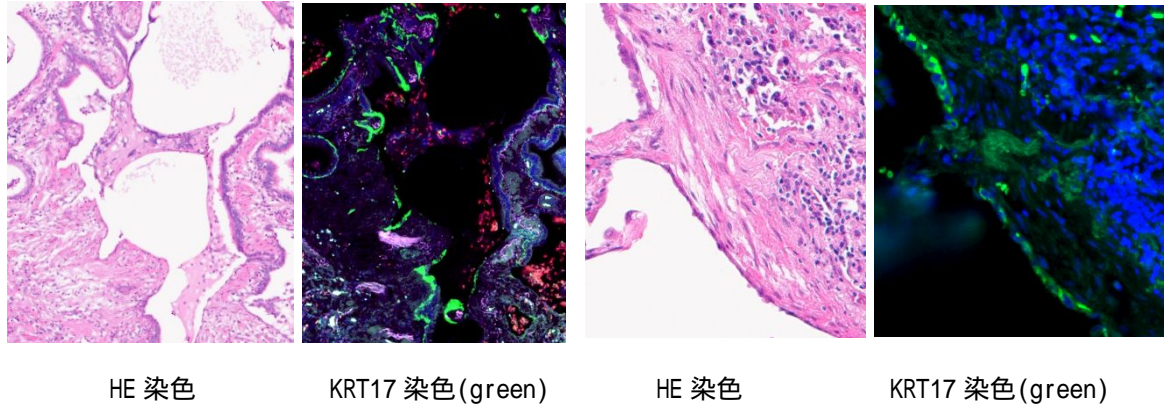
HE 染色

KRT17 染色 (green)

図 2. IPF 肺の顕微鏡的蜂巢肺領域

(a) 顕微鏡的蜂巢肺領域

(b) fibroblast foci の領域



(2) 並行して、吸気呼気 CT を撮影している移植登録した間質性肺疾患について E/I MLA を評価した。COPD 症例では、末梢気道病変がある場合、air trap の所見を反映して、呼気 CT での平均 CT 値が低下し、E/I MLA 値は上昇する。

しかし間質性肺疾患での検討の結果、肉眼的評価で明らかに air trap の所見を認める線維性過敏性肺炎の症例でも、air trap のない症例と比べて E/I MLA が小さい症例も認められた(図 3)。

図 3. 過敏性肺炎 2 例の E/I MLA

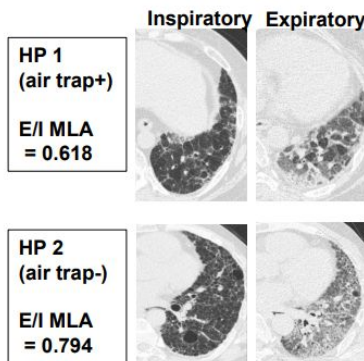
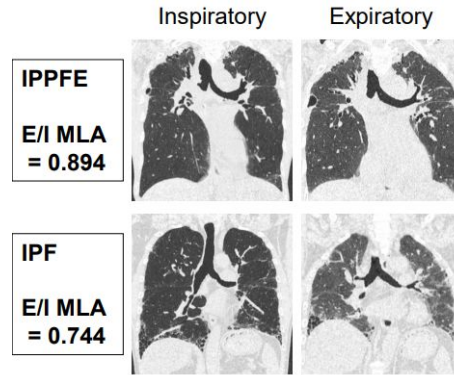


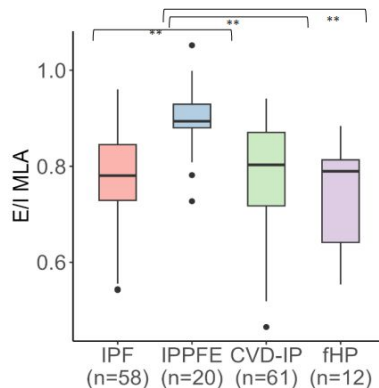
図 4. 特発性 PPFE, IPF の E/I MLA の例



更に、間質性肺疾患の疾患別では、特発性胸膜肺実質線維弾性症 (idiopathic pleuroparenchymal fibroelastosis: IPPFE) の症例が最も E/I MLA 高値を示した(図 4, 図 5)。この結果から、間質性肺疾患においては、E/I MLA は必ずしも末梢気道病変を反映するのではなく、間質の線維化や胸郭の変形などの、様々な影響を受ける可能性が示唆された。

図 5. 疾患別の E/I MLA 値の比較

(IPF; 特発性肺線維症, IPPFE; 特発性胸膜肺実質線維弾性症, CVD-IP; 膠原病関連間質性肺炎, fHP; 線維性過敏性肺炎) **p< 0.01, Wilcoxon rank sum test.



上記結果を踏まえ、今後は PPFE の特徴的な画像所見の抽出を行い、末梢気道病変の評価については新たな指標の探索を検討する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Atsushi Matsunashi
2. 発表標題 Quantitative CT analysis using combined inspiratory and expiratory CT imaging in progressive fibrosing interstitial lung disease
3. 学会等名 ATS 2023 International conference (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 池添 浩平
2. 発表標題 画像および形態研究からみた間質性肺疾患
3. 学会等名 第63回日本呼吸器学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------