

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591125

研究課題名(和文) 肺胞壁断裂の機序解明への新たなアプローチ：加齢による肺の力学機能低下を探る

研究課題名(英文) The changes in the collagen fiber orientation by aging: an approach to the mechanism of reupture of alveolar wall

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：1)高齢者の肺サンプルにおいても若年者の肺サンプルと同様にコラーゲン線維の配向性の向きは主に脊椎方向と平行に向いていた。しかし配向度は高齢者では若年者に比べ低下しており、特に下葉においてその傾向は顕著であった。

2)気腫が形成するに伴い、肺尖部を中心にコラーゲン線維の配向性の配向度が著明に低下し、配向角度が一定の方向を示さない領域が存在した。この領域は気腫病変の進展に伴って拡大していた。その一方で気腫の進展に伴い配向度が高い領域が出現し、この領域では配向性の角度が脊椎方向と平行ではない一定の方向で配列していた。

研究成果の概要(英文)：1) It was found that the collagen fiber orientations from the aged human lung sample, as well as those from the young human lung sample, were generally orientated parallel to the longitudinal axis of the spine. However, the degree of fiber orientation (DFO) was smaller in the aged human lung than in the young one. The difference was remarkable in the lower lobe.

2) In apex of the lung with emphysematous lesions, DFO was remarkably decreased and the direction was random. The area with small DFO was expanded in the advanced emphysematous lung, whereas there was an area in which the DFO was large and the direction was oblique, not parallel to the axis.

研究分野：基盤研究(C)

科研費の分科・細目：呼吸器内科

キーワード：肺胞壁断裂 力学機能 加齢 コラーゲン線維 配向性

## 1. 研究開始当初の背景

肺気腫は本邦で多くみられる慢性閉塞性肺疾患であり、60歳後半から70歳にかけて発症する。肺気腫は肺胞壁が長期間の喫煙により断裂することで発症すると考えられているが、肺胞壁が断裂する機序については未だ明らかにされていない。申請者は呼吸運動をする肺を mechanical device と捉え、周期的で不均一な呼吸運動による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。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 S, *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 K, et al, *Anat Rec*, 296, 846 (2013))、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が存在し、この領域では気腫を形成している空隙は楕円形を呈していた。こ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。この結果から、正常な肺でも呼吸運動による力学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 S, *Nature*, 384, 419 (1996)) を肺に適用し、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 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。本研究は、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 (Tomoda K, et al, *Polymer Preprints, Jpn*, 59, 1715 (2010))。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 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

以上の結果から不均一な呼吸運動による力学負荷に対応すべくコラーゲン線維の配列は再構築される可能性が考えられた。コラーゲン線維配列の再構築がされた後も呼吸運動によって肺は力学的負荷を周期的に間断なく受け続けることになる。本研究ではコラーゲン線維には力学負荷に対する耐容性が存在し、耐容限界を超える回数以上の呼吸運動力学負荷を受けるとコラーゲン線維の力学強度が低下し、肺の力学的機能が低下するとの仮説を立てた。この仮説に基づくと、喫煙により脆弱化した肺は、高齢になると加齢による力学機能低下が加わり呼吸運動による力学負荷に対応できなくなり肺胞壁の断裂がおこり気腫肺ができると説明することができる。この仮説を実証すべくヒト肺における加齢による力学機能の変化に焦点をあてて肺気腫における肺胞壁断裂のメカニズム解明の糸口を得ることが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

### (1) 評価肺の選定

病理解剖または肺切除術にて得られた年齢別の病変のない肺および気腫肺の標本を選定し、冠状に切り出す。

### (2) 肺サンプルの調整

冠状に 2cm 厚に切り出し、確立している方法で、冠状断面のシート状サンプルを調製する (Tomoda K, et al, *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する。

②1mm 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する。

③デシケーター内で乾燥し測定用サンプルとして使用した。

### (3) 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方法である (Osaki S, *Nature*, 347, 132 (1990))。

調製したシート状肺サンプルを用いて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。

#### 4. 研究成果

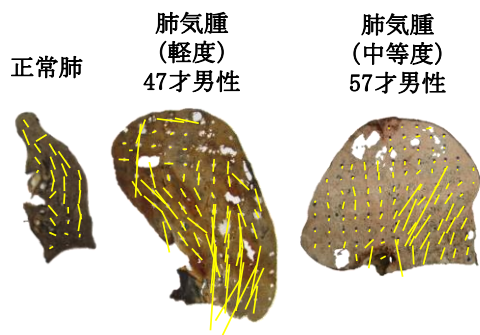
##### (1) 加齢によるコラーゲン線維配向性の変化



〈図 1〉

高齢者の肺サンプルにおいても若年者の肺サンプルと同様にコラーゲン線維の配向性の向きは主に脊椎方向と平行に向いていた。しかし配向度は高齢者では若年者に比べ低下しており、特に下葉においてその傾向は顕著であった。〈図 1〉

##### (2) 肺気腫形成過程におけるコラーゲン線維配向性の変化(左上葉)



〈図 2〉

気腫が形成するに伴い、肺尖部を中心にコラーゲン線維の配向性の配向度が著明に低下し、配向角度が一定の方向を示さない領域が存在した。この領域は気腫病変の進展に伴って拡大していた。その一方で気腫の進展に伴い配向度が高い領域が出現し、この領域では配向性の角度が脊椎方向と平行ではない一定の方向で配列していた。〈図 2〉

#### 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 5 件)

- ① Yoshikawa M, Yamauchi M, Fujita Y, Koyama N, Fukuoka A, Tamaki S, Yamamoto Y, Tomoda K, Kimura H. The

impact of obstructive sleep apnea and nasal CPAP on circulating adiponectin levels. *Lung* 192(2): 289-295, 2014. 査読有

DOI: 10.1007/s00408-013-9550-9.

- ② Yamamoto Y, Yoshikawa M, Tomoda K, Fujita Y, Yamauchi M, Fukuoka A, Tamaki S, Koyama N, Kimura H. Distribution of bone mineral content is associated with body weight and exercise capacity in patients with COPD. *Respiration* 87(2):158-164, 2014. 査読有

DOI: 10.1159/000355095.

- ③ Tomoda K, Kubo K, Hino K, Kondoh Y, Nishi Y, Koyama N, Yamamoto Y, Yoshikawa M, Kimura H. Branched-chain amino acid-rich diet improves skeletal muscle wasting caused by cigarette smoke in rats. *J Toxicol Sci* 39(2):331-337, 2014. 査読有

<https://www.jstage.jst.go.jp/>

- ④ Tomoda K, Kimura H, Osaki S. Distribution of collagen fiber orientation in the human lung. *Anat Rec (Hoboken)* 296(5):846-850, 2013. 査読有

DOI: 10.1002/ar.22649.

- ⑤ 友田恒一、吉川雅則、木村 弘. 慢性閉塞性肺疾患(COPD)～全身性疾患として捉えた治療と管理～. *MEDICAMENT NEWS*. 2129:14-15, 2013. 査読無 <http://www.lifesci.co.jp/>

[学会発表] (計 10 件)

- ① Tomoda K, Kubo K, Yamamoto Y, Kimura H. Alteration in gut environment accelerates emphysematous lesions by cigarette smoke in rats discontinuously fed with fiber-free diet. American Thoracic Society International Conference, 2014年05月16日～21日. San Diego Convention Center (San Diego).

- ② Fujita Y, Yamauchi M, Tomoda K, Yoshikawa M, Kimura H. The possibility of breathing irregularity as an objective marker for dyspnea in patient with COPD. American Thoracic Society International Conference, 2014年05月16日～21日. San Diego Convention Center (San Diego).

- ③ Tomoda K, Kimura-Suda H, Kubo K, Yoshikawa M, Kimura H. Analysis of bone quality in rats with emphysema by FTIR imaging and Raman spectroscopy. The 18<sup>th</sup> congress of the Asian Pacific Society of Respiratory, 2013年11月11日～14日, The Conference Center, Pacifico Yokohama.

- ④ Tomoda K, Kubo K, Yamamoto Y, Yoshikawa M, Kimura H. Decreased ant-oxidant capacity with fiber free diet during exposure to cigarette smoke was related with changes in proportion of cecal organic acids in mice. European Respiratory Society Annual Congress, 2013年09月07日～11日. Fira Barcelona Convention Centre (Barcelona).
- ⑤ Tomoda K, Kubo K, Yamamoto Y, Nakamura A, Yoshikawa M, Kimura H. Discontinuous feeding with fiber-free diet accelerates emphysema, malnutrition and osteoporosis by cigarette smoke in rats. American Thoracic Society International Conference, 2013年05月17日～22日. Pennsylvania Convention Center (Philadelphia).
- ⑥ 友田恒一、久保 薫、山本佳史、中村篤宏、吉川雅則、木村 弘. ホエイペプタイド含有補助食はエラストアーゼ誘発肺気腫を抑制する. 第53回日本呼吸器学会学術講演会, 2013年04月19日～21日, 東京国際フォーラム.
- ⑦ 甲斐吉郎、米山博之、友田恒一、若松恭子、藤井庄人、吉川雅則、木村 弘. エラストアーゼ誘導性肺気腫モデルにおけるコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG) の役割. 第53回日本呼吸器学会学術講演会, 2013年04月19日～21日, 東京国際フォーラム.
- ⑧ 友田恒一、大崎茂芳、吉川雅則、木村 弘. ヒト肺における二次元方向での力学異方性. 第52回日本呼吸器学会学術講演会, 2012年04月20日～22日, 神戸コンベンションセンター.
- ⑨ 友田恒一、吉川雅則、木村 弘、大崎茂芳. ヒト肺の二次元方向における力学異方性. 第60回高分子討論会, 2011年09月28日～30日, 岡山大学津島キャンパス.
- ⑩ 友田恒一、吉川雅則、木村 弘、大崎茂芳. Relationship between the collagen-fiber orientation and the void structure in the human lung. 第60回高分子学会年次大会, 2011年05月25日, 大阪国際会議場.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 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・医学部第二内科・講師  
 研究者番号：90364059

### (2) 研究分担者

吉川 雅則 (YOSHIKAWA, Masanori)  
 奈良県立医科大学・医学部第二内科・准教授  
 研究者番号：80271203

### (3) 研究分担者

木村 弘 (KIMURA, Hiroshi)  
 奈良県立医科大学・医学部第二内科・教授  
 研究者番号：20195374

### (4) 研究分担者

大崎 茂芳 (OSAKI, Shigeyoshi)  
 奈良県立医科大学・医学部皮膚科・特任教授  
 研究者番号：90273911