

論 文 内 容 要 旨

題目 Lung regeneration by fetal lung tissue implantation in a mouse pulmonary emphysema model
(マウス肺気腫モデルにおける胎仔肺移植による肺再生)

著者 Koh Uyama, Shoji Sakiyama, Mitsuteru Yoshida, Koichiro Kenzaki, Hiroaki Toba, Yukikiyo Kawakami, Kazumasa Okumura, Hiromitsu Takizawa, Kazuya Kondo, and Akira Tangoku

平成 28 年発行 The Journal of Medical Investigation に掲載予定

内容要旨

慢性閉塞性肺疾患の罹患率は増えており、将来的には死亡原因の第 3 位になる可能性が指摘されている。しかし現在までに根本的な治療は開発されておらず、有効な治療として生体・脳死肺移植がおこなわれているがドナー不足は深刻な問題であり新たな治療法の開発が切望されている。

近年の幹細胞を用いた再生医学研究のめざましい進歩は呼吸器領域にも及んでいるが肺は再生医療にとって最も困難な臓器の一つとされている。その原因として肺は 40 種類以上の細胞からなり単一の細胞だけの誘導、移植では再生には不十分であること、肺の複雑な立体構造を構築するためには適切な足場が必要とされることなどがあげられる。我々はこれらの問題を解決する細胞源として、肺としても分化がある程度方向付けされており、分化増殖能が旺盛で、足場としての間葉系組織が存在する胎仔肺に注目し、これまでにラット胎仔肺組織の成体肺内への移植実験を行い移植胎仔肺は成体肺内に接着分化することを示した。また肺気腫自然発生モデルである pallid mouse での運動機能を評価し六か月齢以降に運動機能の著明な減少を認めることを示した。本研究の目的は肺気腫モデルである pallid mouse に胎仔肺移植を行い正着分化しえるかを評価することである。

方法 一歳齢の pallid mouse をレシピエントとした。妊娠 16 日目の GFP-C57BL/6 mouse の胎仔から両肺を摘出したのち細切し、挿管人工呼吸器管理下に開胸操作ののち pallid mouse の左肺に胎仔肺組織を注入移植した。移植

様式 (8)

後 1 週目、2 週目、4 週目に光学顕微鏡と蛍光顕微鏡にて移植片の分化を評価した。

結果 先に 3 か月齢、12 か月齢の pallid mouse それぞれ 6 体ずつから左肺を採取し、気腫肺の程度、分布を平均肺胞壁間距離 (LM) により評価した。12 か月齢の pallid mouse の LM は 3 か月齢の pallid mouse に比べ非常に高い値を示した ($P < 0.01$)。また上肺野、中肺野、下肺野それぞれの部位間で気腫性病変の分布に差は認めず、pallid mouse は胎仔肺移植先の肺気腫モデルレシピエントとして適切と判断された。続いて 12 か月齢の pallid mouse に胎仔肺を移植し、移植後 7 日目、14 日目、28 日目にそれぞれ 5 体ずつ犠牲死させ、移植切片の分化生着を評価した。移植後 7 日目では移植された胎仔肺内にはまだ胎仔肺分化過程のうちの偽腺期に相当する構造に似た組織が残存していたが、一部では生後 7 日目のマウス肺構造と似た厚い隔壁と空気で満たされた組織も確認された。移植後 14 日目では移植組織の肺胞構造はさらに分化し肺胞壁の隔壁は薄くなり肺胞腔の拡大もみられた。移植後 28 日目では肺胞壁はさらに薄くなり肺胞腔も拡大しほぼ正常な成獣マウスと同様の肺胞構造を示した。移植片とレシピエント肺との境界、由来は GFP にて明瞭に観察され、両者の肺胞壁間の円滑な接続が確認された。

われわれの胎仔肺移植は肺気腫自然発生モデルである pallid mouse においても良好に接着分化した。より侵襲を抑えた移植方法と最少単位の移植により機能面からみた肺再生研究の発展につながることを期待される。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1294 号	氏名	宇山 攻
審査委員	主査 島田 光生 副査 西岡 安彦 副査 常山 幸一		

題目 Lung regeneration by fetal lung tissue implantation in a mouse pulmonary emphysema model
(マウス肺気腫モデルにおける胎仔肺移植による肺再生)

著者 Koh Uyama, Shoji Sakiyama, Mitsuteru Yoshida, Koichiro Kenzaki, Toba Hiroaki, Yukikiyo Kawakami, Kazumasa Okumura, Hiromitsu Takizawa, Kazuya Kondo, and Akira Tangoku
平成 28 年発行 The Journal of Medical Investigation に掲載予定
(主任教授 丹黒 章)

要旨 慢性閉塞性肺疾患の罹患率は増え、死亡原因の第 3 位になる可能性が指摘されているが、根治治療としての肺移植のドナー不足は深刻で新たな治療法が模索されている。
肺は 40 種以上の細胞からなり、複雑な構造をしていることから再生が最も困難な臓器の一つとして知られている一方で、申請者らはこれまでラット胎仔肺組織が成体内で接着分化することを報告してきた。
今回、申請者らは、肺気腫発生モデルである pallid mouse を用い胎仔肺組織移植の可能性について検討した。まず 3、12 か月齢の pallid mouse から左肺を採取し、気腫肺の程度、分布を平均肺胞壁間距離により評価した。次にドナーとして妊娠 16 日目の GFP-C57/BL6 mouse の胎仔肺を細切し、レシピエントである 12 か月齢の pallid mouse の左肺に注入移植した。移植後 7 日目、14 日目、28 日目に犠死させ、光学顕微鏡と蛍光顕微鏡で移植片の分化を評価した。

得られた結果は以下のごとくである。

- 1) 12 か月齢の pallid mouse の肺は肺気腫の像を呈し、平均肺胞壁間距離は 3 か月齢に比べ有意に高値を示した。上、中、下肺野で病変の分布に差は認めず、pallid mouse は肺気腫モデルレシピエントとして適切であった。
- 2) 移植後 7 日目では、胎仔肺内には偽腺期に相当する組織が残存していたが、一部で厚い中隔壁を呈するマウス肺構造と似た組織も確認された。
- 3) 移植後 14 日目では、移植組織の肺胞構造はさらに分化し肺胞壁の隔壁は薄くなり肺胞腔の拡大がみられた。
- 4) 移植後 28 日目では、14 日目に比して肺胞壁はさらに薄く、肺胞腔も拡大し正常な成人マウスと同様の構造を示し、移植胎仔肺と成人肺の肺胞壁のスムーズな接続が確認された。蛍光顕微鏡下で GFP 陽性移植片とレシピエント肺との境界は明瞭で、移植片の内部に分化した肺組織が確認された。

以上の結果から胎仔肺は肺気腫モデルである pallid mouse においても良好に接着分化することが証明された。

本研究は低侵襲な胎仔肺組織移植による慢性閉塞性肺疾患に対する新たな治療法の開発に貢献するものとして臨床的意義は高く、学位授与に値すると判定した。