

平成 29 年 4 月 16 日

平成 29 年度独立行政法人日本学術振興会  
藤田記念医学研究振興基金研究助成事業研究概要報告書

独立行政法人日本学術振興会理事長殿

研究者所属・職 千葉大学医学部附属  
病院 呼吸器外科 講師  
氏 名 鈴木 秀海

本助成事業による研究について、次のとおり報告します。

1. 研究課題名	肺移植後の慢性閉塞性細気管支炎の病態解明及び治療法の開発
(英文名)	Searching for novel target in chronic lung allograft dysfunction using murine orthotopic transplantation model
2. 研究実施期間	平成 28 年 4 月 1 日～平成 29 年 3 月 31 日
3. 助成金額	1,000,000 円

#### 4. 研究の目的

肺移植は慢性進行性肺疾患患者に対する唯一の根治的治療方法として確立した。しかし慢性拒絶反応（OB）のため、その長期予後は他臓器の移植より不良であり、いまだに治療法が確立していない。その病態解明の進まない要因の一つとして、OBでは病変が不均一で組織診断が難しく、臨床検体を用いた研究が困難であることや強力な前臨床モデル、特にマウスでの移植モデル欠損が考えられてきたが、近年になり、ようやくマウスの同所性肺移植の手技が確立された。しかしこれまで急性拒絶反応モデルのみで、慢性拒絶反応モデルは存在しなかった。当科ではインディアナ大学免疫生物センターとの共同研究により、これまで用いてきたカフテクニックを用いたラットの肺移植手技を応用し独自にマウスの同所性肺移植モデルを開発し、さらにマイナー抗原の不一致を利用して、臨床の慢性拒絶反応をよく模倣したマウスのOBモデル作成に成功した。このモデルを基本に、肺及びリンパ節を含めたリンパ系組織における網羅的遺伝子解析やサイトカイン解析によりOBのバイオマーカーを含めた病態のさらなる解明、また新たな治療方法の開発を目的とする。

## 5. 研究概要報告

### 方法：

近交系マウス C57BL/10 から C57BL/6 にカフテクニックを用いた同所性肺移植を行い、術後 21 日目に犠牲死させ、動物用 CT による胸部 CT 撮影後、レシピエントを犠牲死させ、肺及び血清とともに左右の縦隔、肺門リンパ節、腸間膜リンパ節、脾臓、胸腺を採取し、病理学的検査(HE 染色、Masson-Trichrome 染色)を行い、OB の有無、線維化の有無を確認した。その後、OB を生じた群を OB 群(n=2)、OB を生じなかった非 OB 群(n=2)、またドナーに C57BL/6 を用いた isograft 群(n=1)、sham 群(n=1)の肺検体に対し、それぞれ DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、Gene Ontology (GO)解析や KEGG パスウェイ解析による OB モデルにおける特異的遺伝子発現プロファイリングを行った。

### 結果：

近交系マウス C57BL/10 から C57BL/6 への移植では約 3 割程度に組織学的 OB が生じた。CT や肉眼上 isograft では sham 群同様、良好な含気を確認できたが、OB 群では全例無気肺を呈していた(図 1)。次に sham 群をコントロールとして OB 群では特異的に 378 個の遺伝子において発現上昇を認め、一方 1873 個の遺伝子で発現低下を認めた。発現上昇を認めた遺伝子群では GO 解析では 32 個の生物学的プロセス、KEGG 解析では 17 個のパスウェイが検出され、具体的には T-cell receptor signaling pathway, MyD88-dependent toll-like receptor signaling pathway, Cell adhesion molecule 等を認めた。

抽出された個々の遺伝子の中には遺伝子 A や遺伝子 B 等、他の臓器移植で、発現上昇や治療のターゲットとなっている遺伝子が抽出された(図 2)。

一方、OB 群にて発現低下を認めた遺伝子群では cilium movement 等の機能が抽出され、線毛機能の障害が示唆された。今後、抽出された遺伝子に関しては Real-time PCR 法による検証を行う予定である。リンパ節の解析に関してはフローサイトメトリーを用いた解析を試みたが、マウス 1 匹から採取できる検体量が少なく、十分な解析が行えなかった。今後、検体処理法の工夫やまたサイトカインアレイの使用などでサイトカイン解析を試みる予定である。

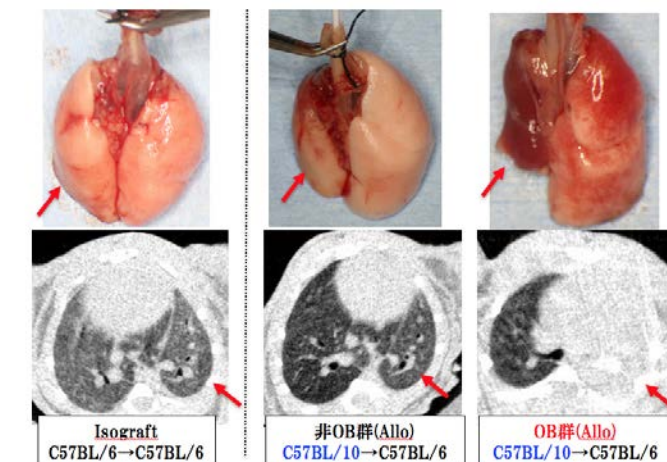


図 1. OB の肉眼的所見、CT 初見

### 結語：

マウスモデルにおいて、OB に特異的な遺伝子プロファイリングを行った。OB 発症には既存の報告のように、様々な要因があり、今回の知見は新規バイオマーカーや治療法開発の足がかりになると考えられる。

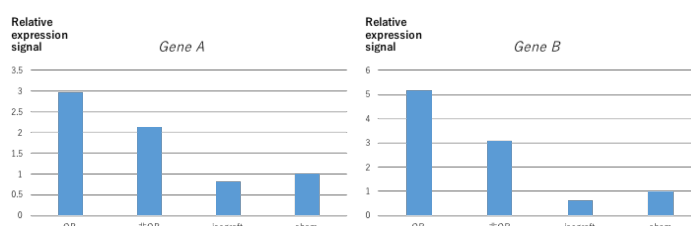


図 2. OB に特異的な遺伝子

## 6. 研究成果の発表について

独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業の英文称：  
「JSPS Fujita Memorial Fund for Medical Research」

研究者所属・職 千葉大学医学部附属病院 呼吸器外科 講師  
氏 名 鈴木 秀海

○論文発表 発表者名、テーマ名、発表誌名・巻号、発刊年月を記入してください。  
また、別刷り2部を必ず添付してください。

1. 鈴木 秀海, 畑 敦, 椎名 裕樹, 尹 貴正, 田中 教久, 坂入 祐一, 和田 啓伸, 藤原 大樹, 中島 崇裕, 岩田 剛和, 千代 雅子, 吉田 成利, 吉野一郎. 特集 肺移植における周術期・沿革期の課題 3.慢性期移植肺機能不全と悪性腫瘍：慢性期移植肺機能不全モデルの歴史と発展. 胸部外科 2016, Vol.69, No.11, Page923-9.

○口頭発表 発表者名、テーマ名、会合名、発表年月日を記入してください。

○著 書 著者名、出版社名、刊行年月日、共著または単著の別を明記してください

注：

- (1) 研究成果を学会誌等で発表する場合には、独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業による助成を受けた旨を必ず明記して下さい。

また、その別刷り 2 部を「研究概要報告書」と共に必ず提出して下さい。

(2) 本基金の助成に係る代表的な論文、口頭発表及び著書にはタイトルの前に○を付けて下さい。