The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Hepatocyte Growth Factor Stimulates Proliferation of Respiratory Epithelial Cells During Postpneumonectomy Compensatory Lung Growth in Mice
Author(s)	坂巻, 靖
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43681
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【88】

氏　　名	坂巻　靖（さかまき　やすし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　16885　号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻
学位論文名	Hepatocyte Growth Factor Stimulates Proliferation of Respiratory Epithelial Cells During Postpneumonectomy Compensatory Lung Growth in Mice. （肝細胞増殖因子による肺切除後マウスの肺上皮細胞増殖を介した代償性肺再生駆動に関する検討）
論文審査委員	（主査） 教　授　松田　暉 （副査） 教　授　中村　敏一　　教　授　白倉　良太

論文内容の要旨

【目的】

多くの哺乳動物種において、肺葉切除後の残存肺が、肝切除後の残肝や片腎摘出後の対側腎にみられる代償性肥大のように、容積、重量ともに増大する現象は compensatory lung growth として知られ、実験動物のみならず、幼年期の人間にも起こるという報告のある現象であり、肺再生と位置付けることができる。

近年、肺癌や肺気腫など肺切除術の適応拡大がみられ、また肺移植の分野では、生体肺葉移植、片肺移植など提供側、移植側とも肺容量が問題となり、肝のように再生しないとされる肺の移植においても再生について関心が高まっている。

肝細胞増殖因子（HGF）は肝再生を駆動する実体分子として見出された蛋白質で、肺においても肺胞Ⅱ型上皮細胞や気道系上皮細胞に対する強力な増殖活性を有するほか、胎生肺の気道分岐形成に必須の因子でもあり、傷害肺の組織修復ならびに肺の発生に実質的に貢献する因子であることが明らかにされている。

本研究では、HGF が肺の代償性再生を駆動する因子であることを明らかにする目的で、肺切除後の生体における内因性 HGF の発現調節と肺上皮細胞増殖との関連を検討するとともに、肺切除後個体に対する HGF の活性中和または補充の影響を検討した。

【方法】

正常成獣マウスに左肺切除を行い、右残存肺に代償性再生を誘導し、術後1、3、5、10日目に犠牲死させ以下の測定を行った（各群 n=6）。

1）摘出した右残存肺、肝、腎より作成したパラフィン切片にて BrdU（5-bromo-2'-deoxyuridine）免疫染色を行い、陽性細胞を計数して、DNA 合成中の上皮細胞の割合を評価した。

2）肺、肝、腎より RNA を抽出し、real time RT-PCR（reverse transcription polymerase chain reaction）にて HGF mRNA 発現および HGF 受容体 c-Met の血 RNA 発現を定量した。

3）肺、肝、腎および血液を採取し、組織および血漿 HGF 濃度を ELISA にて測定した。

4）左肺を切除した別のマウスに、抗 HGF 抗体を投与し、3、5日目に犠牲死させ、残存肺における DNA 合成中の上皮細胞の割合と肺湿重量を測定した。

5）左肺を切除した別のマウスにリコンビナント HGF を投与し、1、2、3、5日目に犠牲死させ、残存肺におけ

るDNA合成中の上皮細胞の割合と肺湿重量を測定した。

【成績】

1）左肺切除後マウスの残存肺では、DNA合成中の肺胞および気道上皮細胞の割合は、術後5日目をピークとして著明に上昇したが、肝、腎およびシャム（開胸）対照群の右肺にはDNA合成中の上皮細胞の割合に変化がなかった。

2）左肺切除後の残存肺、肝、腎においてHGF mRNA発現は増加し、HGF受容体であるc-MetのmRNA発現は、肺切除後の残存肺において特異的に増加した。

3）残存肺における上皮細胞のDNA合成亢進に先立ち、HGFレベルは血漿中において約3倍まで著明に増加するとともに、残存肺組織中においても増加した。

4）抗HGF抗体を投与した左肺切除後マウスでは、正常な非特異的抗体を投与したプラセボ群に比し、残存肺上皮細胞のDNA合成が3日目では肺胞（0.56±0.04 vs. 0.86±0.08%、$p<0.05$）、5日目では肺胞（1.34±0.10 vs. 2.43±0.09%、$p<0.01$）、気道（1.69±0.15 vs. 2.23±0.16%、$p<0.05$）とも有意に抑制され、肺重量も5日目で有意に低減した（対体重比5.09±0.17 vs. 5.32±0.12x10^{-3}、$p<0.05$）。

5）リコンビナントHGFを投与した左肺切除後マウスでは、生理食塩水を投与したプラセボ群に比し、残存肺上皮細胞のDNA合成が3日目において肺胞（1.66±0.13 vs. 0.83±0.06%、$p<0.01$）、気道（1.73±0.16 vs. 1.31±0.10%、$p<0.05$）ともに有意に増加し、肺重量も有意に増加した（対体重比5.28±0.16 vs. 5.01±0.13x10^{-3}、$p<0.05$）。

【総括】

1）マウス左肺切除による代償性肺再生モデルにおいて、内因性HGFの発現調節と残存肺上皮細胞増殖との関連を検討するとともに、HGFの活性中和および補充を行い、残存肺の上皮細胞増殖ならびに肺重量増加に及ぼすHGFの直接的影響について検討した。

2）左肺切除後のマウスでは、残存肺上皮細胞のDNA合成亢進に先立ち、HGF mRNA発現ならびに血漿中や残存肺におけるHGFレベルが速やかに増加するとともに、その受容体であるc-MetのmRNA発現も残存肺で特異的に増加することから、HGFが残存肺における上皮細胞増殖に直接的に関与することが強く示唆された。

3）残存肺上皮細胞のDNA合成および肺重量は、抗HGF抗体によりHGF活性を中和すると抑制される一方、体外的にHGF蛋白質を補充すると増加することから、HGFがこれらの上皮細胞の増殖を介して代償性肺再生を駆動する中心的因子であることが考えられた。

4）以上より、HGFを積極的に補充することにより、肺切除術後の残存肺や移植された肺の再生を促進し得る可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

肺切除後の残存肺や移植された肺の成長は、臨床的にも重要な問題である。実験動物では細胞増殖など正常組織の再構築を伴った肺の成長が広く確認されており、断片的ながら増殖因子の関与が指摘されてきた。本研究では、代償性肺再生の早期における肝細胞増殖因子（HGF）の発現誘導を調べるとともに、HGFが内因性の生理活性因子として肺再生を駆動するかどうかを検討した。

マウスに左肺切除を行い、術後10日間の右肺、肝、腎における上皮細胞増殖の時間的変化とmRNAならびにタンパクレベルでのHGF発現、さらにHGF受容体c-MetのmRNA発現を測定し、左開胸のみを施行したシャム対照群の場合と比較した。その結果、左肺切除後は、右肺、肝、腎におけるHGF mRNAの速やかな上昇に伴い血中HGFタンパクレベルが上昇し、これに呼応するように右（残存）肺での上皮細胞DNA合成が著明に亢進した。また、左肺切除後のマウスに抗HGF抗体を肺上皮のDNA合成のピーク時まで投与しHGFを中和すると、DNA合成が抑制されるとともに肺重量に関しても低減がみられた。同様に本来のDNA合成のピーク時までリコンビナントHGFを投与し、再生の活発な時期にHGFを補充すると、DNA合成および肺重量の変動には加速される傾向がみら

れた。

これらの結果は、肺切除後に内因性に発現誘導されるHGFが残存肺の代償性再生を駆動する因子であることを示すとともに、依然として不明な点の多い肺切除後の代償性肺再生の機構解明に貢献し、将来的に呼吸器外科領域における治療応用の可能性を示唆したもので、学位に値すると考えられる。