The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Microsatellite Instability in Transforming Growth Factor-β1 Type II Receptor gene in Alveolar Lining Epithelial Cells of Idiopathic Pulmonary Fibrosis
Author(s)	森, 雅秀
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43748
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

【61】

氏　　名	森（もり）　雅（まさ）　秀（ひで）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　16858　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 医学系研究科分子病態医学専攻
学　位　論　文　名	Microsatellite Instability in Transformig Growth Factor-β1 Type II Receptor gene in Alveolar Lining Epithelial Cells of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. （特発性肺線維症の肺胞上皮細胞過形成病変におけるトランスフォミング成長因子2型受容体遺伝子のマイクロサテライト不安定性）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　川瀬　一郎 （副査） 教　授　荻原　俊男　　教　授　吉崎　和幸

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

特発性肺線維症（idiopathic pulmonary fibrosis、IPF）をはじめとする肺の線維化病変において、肺胞上皮細胞の過形成病変は組織学的特徴の一つとされている。この過形成は慢性炎症による上皮傷害に対する修復の過程で生じるとされているが、その病態は十分には解明されていない。肺胞上皮細胞についてはサイトカインの一種であるtransforming growth factor（TGF）-βがその増殖調節に関与することを示唆する報告があり、またIPFの組織においては肺胞上皮細胞などでTGF-βが発現していることが証明されている。

また最初に一部の消化器癌で報告された、TGF-βの信号伝達に不可欠なII型受容体（TβRII）の変異は、組織の線維化である冠状動脈硬化病変や肝硬変でも報告された。これはTβRII遺伝子のexon3にadenineが10塩基連続するmicrosatellite部位（以下A10と表記）での1塩基対ないしそれ以上の欠失によるものとされている。今回、肺胞上皮細胞でも同様の変異が起こってTGF-βに不応性となり過形成病変が生じているのではないかと仮定して検討を行った。

【方法】

臨床的に特発性肺線維症を疑われ、胸腔鏡下肺生検（VATS）によって組織学的にUIPと診断されたIPF 11例のパラフィン固定肺組織から厚さ1ないし3μmの切片を作製した。また肺癌切除肺3例の正常部分を含む組織からも同様に切片を作製した。microdissection法により標本上の肺胞上皮過形成病変、気道上皮、線維化巣、肺動脈などから1箇所につき約10から50個程度の細胞を回収した。また対照として肺癌症例で腫瘍細胞の浸潤を組織学的に認めない部位の気管支上皮、肺動脈からも同様に細胞を回収した。

これらの細胞をproteinase K溶液で反応させた後、Rhodamin標識プライマーを用いてnested PCRを行い、TβRII遺伝子のexon3にadenineが10塩基連続するmicrosatellite部位を挟んで増幅した。PCRの後、検体にAlu Iで反応させた後、電気泳動して分離した。陽性対照のバンドを用いて補正した上で、1塩基対欠失バンド（A9=98bp）／正常バンド（A10=99bp）x100（%）をdeletion rateとして計算した。

一部の組織についてはTβRIIに対する免疫組織染色を行った。TβRIIの細胞内ドメインC末端16アミノ酸残基に対する抗体である抗TβRII（C-16）抗体を用いた。さらに一部の検体については塩基配列を決定した。

最後に、線維化肺に合併した肺癌の検体からDNAを抽出し、上記の方法でTβRII遺伝子変異の検出を試みた。(腺癌3例、扁平上皮癌3例、大細胞癌1例計7例)

【成績】

IPF 11症例の肺胞上皮過形成病変121個所が解析可能で、その中で5症例9個所においてdeletion rateが20から100%の明らかな変異を認めた。また壁の肥厚した肺動脈(多くは組織学的には中膜の筋線維芽細胞と考えられる)においても一部で変異が確認された。その一方で、組織学的に正常と思われる末梢気管支の気道上皮細胞や拡大した気腔の内面を広く覆う背の高い線毛上皮細胞、線維芽細胞の増殖部分では変異は検出されなかった。

TβRIIに対する免疫組織染色では線維化部分の肺胞上皮細胞や間質で増殖した筋線維芽細胞は濃染される傾向にあったが、肺胞上皮のTβRII遺伝子の欠失が確認された組織の連続切片で同一部位の染色性の低下が一部確認された。

塩基配列を決定した断片では、従来から報告されていたA10での1塩基対の欠失を認めた。

線維化肺に合併した肺癌7例に対し、同様の検索を行ったが、いずれも上記の変異を認めなかった。

【総括】

一部の細胞で確認されたTGF-βII型受容体の変異ではTGF-βによる信号伝達が伝わらなくなり、その細胞においてはTGF-βによる調節から逸脱し増殖調節機構に異常をきたす可能性が考えられる。炎症後の修復の細胞増殖の過程でもともと不安定なmicrosatelliteでの変異が生じるのではないかと推測される。

従来、特発性肺線維症の組織で特徴的とされる肺胞上皮細胞の過形成病変の成因については、IPF患者では何らかの刺激で惹起された炎症によって肺胞内腔が障害され、これを修復しようとして続発性に肺胞上皮細胞が増殖してくる結果として過形成病変が形成されていると考えられてきた。しかしながら、今回の検討によって一部の病変については、TGF-βによる上皮細胞の増殖抑制作用から逸脱することによる過形成である可能性が示された。

IPFにおける特定の遺伝子異常としては初めての報告である。

論文審査の結果の要旨

特発性肺線維症は未だその病態が十分に明らかにされず、また有効な治療法が確立されていない。

本研究では、本疾患の組織学的特徴の一つである肺胞上皮の過形成病変並びに肺動脈の肥厚病変について検討したものである。一部の病変では、TGF-βII型受容体遺伝子のmicrosatellite部位における欠失が存在し、蛋白レベルでも発現が低下していることを証明した。TGF-βは細胞増殖と線維化に重要な役割を果たすとされ、受容体の遺伝子異常によって信号伝達が障害されることから、結果的に上皮の過形成を惹起する可能性を指摘した。

特発性肺線維症における特定の遺伝子異常としては初めての報告であり、本疾患の病態の一端を明らかにしたものである。

よって、本研究は博士(医学)の学位授与に値するものと認める。