

氏 名（本籍）	木 村 雄 一 郎 き むら ゆう いち ろう
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 博 第 1 9 4 4 号
学位授与年月日	平 成 1 5 年 3 月 2 4 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻
学位論文題目	ヒト胎児肺の気道形成のある時期でのレチノイド 受容体及びアンドロゲン受容体の発現の検討

（主 査）

論文審査委員	教授 貫 和 敏 博	教授 笹 野 公 伸
	教授 近 藤 丘	教授 岡 村 州 博

論文内容要旨

研究背景及び目的

胎児の組織の中で、核内受容体とリガンドを介したシグナルが分化・発達に関与することが知られている。その中でレチノイド受容体を介したビタミン A の生物学的活性誘導体であるレチノイド（大部分がレチノイン酸）やアンドロゲン受容体を介したアンドロゲン（テストステロン、デハイドロテストステロン（DHT））のシグナルはマウスの気道・肺の発達に関係する。しかしながら、マウスとヒトでは気道と肺の発達は異っており、ヒトの解析も大切である。本研究はヒト胎児肺の気道形成のある時期で、レチノイド受容体やアンドロゲン受容体とそれらに関連のある受容体や合成酵素の発現分布を検討することで、発達の中での役割の解明を目的とする。

実験方法

ヒト胎児肺の気道形成期及び成人肺で、レチノイド受容体であるレチノイン酸受容体（RAR- α , - β , - γ ）、レチノイド X 受容体（RXR- α , - β , - γ ）と、レチノイン酸の作用を抑制するチキン・オブアルブミンの上流領域の転写因子 II（COUP-TF II）について免疫染色法を用いて検討し、レチノイド受容体の mRNA の発現について real-time 定量 PCR 法を用いて成人肺との比率を検討した。また胎児肺のアンドロゲン受容体（AR）及びデハイドロテストステロン（DHT）への変換合成酵素である 5 α -リダクターゼタイプ 1, 2（5 α -reductase type 1, 2）の発現を免疫染色及び RT-PCR 法を用いて検討した。

実験結果及び考察

胎児肺では RAR- α , - γ と RXR- α , - β , - γ の免疫活性は近位側（気道の上皮細胞、軟骨細胞とその周りの間質細胞）と遠位側（遠位の気道の上皮細胞と間質細胞）で共にすべての細胞で発現した。また RAR- γ の免疫活性は特に気道周囲の軟骨細胞で強く発現した。RAR- β の免疫活性は近位側の上皮細胞と間質細胞、遠位側の間質細胞に発現したが、気道周囲の軟骨細胞と遠位側の上皮細胞には発現しなかった。COUP-TF II の免疫活性は RAR- β と同様な発現分布を示した。成人肺では RAR- α , - γ と RXR- α , - β の免疫活性はすべての細胞で発現した。

RXR- γ の免疫活性は上皮・間質共に弱く発現した。RAR- β の免疫活性は気道上皮細胞に発現したが、間質細胞には発現しなかった。COUP-TF II の免疫活性は気道上皮細胞と血管内皮細胞に発現したが、肺胞上皮細胞には弱く発現した。また RAR- α , - β , - γ , RXR- α , - β , - γ の mRNA は胎児肺及び成人肺の近位側（気管、主気管支の上皮細胞と間質細胞）と遠位側（細気管支、肺胞管、肺胞の上皮細胞と間質細胞）のいずれでも発現した。RXR- γ の mRNA は胎児

肺で、成人と比較して近位側で3.4倍、遠位側で3.1倍と有意に高く発現した。またRAR- β のmRNAは遠位側で2.4倍、RAR- γ のmRNAは近位側で2.2倍と胎児肺で有意に高く発現した。このことより、本研究では、ヒト胎児の気道形成のある時期で、RAR- α 、- β 、- γ やRXR- α 、- β 、- γ を介したレチノイン酸のシグナルは特異的な作用があると考えた。その中でRXR- γ を介したレチノイン酸のシグナルは成人に比べて重要な役割をすすると思われた。またRAR- β 及びCOUP-TF IIは、マウスの胎児の偽腺状期では、肺の発達の中でレチノイン酸の作用を抑制すると報告がある。これに基づくと、本研究のヒト胎児肺では、RAR- β とCOUP-TF IIは近位側の上皮細胞と間質細胞及び遠位側の間質細胞で発現しており、これらの部位ではレチノイン酸のシグナルは抑制され、RAR- β とCOUP-TF IIの発現のない遠位側（先端部分）の上皮細胞では発達が促進すると考えた。また軟骨細胞では、RAR- γ の免疫活性は強陽性を示し、RAR- β とCOUP-TF IIの免疫活性はみられないことから、RAR- γ を介したレチノイン酸のシグナルが、軟骨形成においてより活性化すると考えた。

ARは胎児肺の上皮細胞、特に遠位側（先端部分）に強く発現して、5 α -reductase type 1は上皮細胞の細胞質に発現したが、5 α -reductase type 2の発現はみられなかった。ARと5 α -reductase type 1,2のmRNAは胎児肺及び初期の胎児の培養上皮細胞に発現した。このことから本研究では、初期のヒト胎児肺の気道形成の発達の中で、主に上皮細胞でテストステロンが5 α -reductase type 1によりDHTに変換され、特に先端部分の上皮細胞でARを介してシグナル伝達が行われると考えた。

審査結果の要旨

胎児肺組織形成では核内受容体系のレチノイド受容体を介したビタミン A やレチノイド、アンドロゲン受容体 (AR) を介したアンドロゲンのシグナルが、マウス気道・肺形成に関与すると報告されているが、ヒトにおける詳細は不明である。学位申請者木村は、かかる諸受容体や合成酵素発現分布に着目し、ヒトでその意義を検討した。

ヒト胎児肺気道形成期及び成人肺で、各種レチノイン酸受容体 (RAR), レチノイド X 受容体 (RXR), レチノイン酸抑制作用チキン・オブアルブミン上流領域転写因子 II (COUP-TF II) は免疫染色法で、RAR, RXR mRNA 発現は real-time 定量 PCR 法を用い成人肺比を求めた。AR 及びデハイドロテストステロン (DHT) 変換合成酵素 5 α -リダクターゼタイプ 1, 2 は免疫染色及び RT-PCR 法を用いた。その結果

I 胎児肺：① RAR- α , - γ と RXR- α , - β , - γ は近位側 (気道上皮細胞, 軟骨細胞と間質細胞) と遠位側 (遠位気道上皮細胞と間質細胞) で全細胞に発現。RAR- γ は特に気道周囲軟骨細胞で強発現。RAR-b は近位側上皮細胞と間質細胞, 遠位側間質細胞に発現し, 気道周囲軟骨細胞と遠位側上皮細胞の発現はなし。② COUP-TF II は RAR-b と同様の発現。

II 成人肺：① RAR- α , - γ と RXR- α , - β は全細胞で発現。RXR- γ は上皮・間質共に弱く発現。RAR-b は気道上皮細胞に発現し, 間質細胞で発現はない。② COUP-TF II は気道上皮細胞と血管内皮細胞に発現し, 肺胞上皮細胞には弱く発現。

III RAR- α , - β , - γ , RXR- α , - β , - γ mRNA は胎児肺と成人肺の近位側 (気管, 主気管支の上皮細胞と間質細胞), 遠位側 (細気管支, 肺胞管, 肺胞の上皮細胞と間質細胞) 共に発現。RXR- γ mRNA は胎児肺・成人比は近位側 3.4 倍, 遠位側 3.1 倍と有意に高く, RAR- β mRNA は遠位側 2.4 倍, RAR- γ mRNA は近位側 2.2 倍と胎児肺で有意に高く発現。

IV AR は胎児肺上皮細胞, 特に遠位側 (先端部分) で強く, 5 α -reductase type 1 は上皮細胞細胞質に発現。AR と変換合成酵素 mRNA は胎児肺と初期胎児培養上皮細胞で発現。

本研究は、ヒト胎児肺形成の過程で、RAR や RXR を介するレチノイン酸シグナルの特異的作用を示した点に意義がある。中でも RXR- γ の胎児における役割や、肺形成偽腺状期にレチノイン酸抑制が考えられる RAR-b, COUP-TF II の部位特異的抑制や促進、初期ヒト胎児肺気道形成期に局所で 5 α -reductases により変換された DHT が先端部上皮細胞で AR と結合し気道形成を促進、などの可能性を示唆した点は重要である。これら胎児肺・気道形成の解析は、病的肺の遺伝子発現等臨床応用の道も開くものであり、優れて学位に値する。