

学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	鈴木達也
-------	----	----	------

学位論文題目

A morphological study of postoperative adhesions
between injured tissue and intact peritoneum in the rat liver
(ラット肝臓の損傷された組織と正常な腹膜の間に形成される
術後癒着に関する形態学的研究)

共著者名

河野 透、 暮地本 宙己、 平 義樹、 渡部 剛、 古川 博之

未公表

研究目的

術後癒着合併症は我々の健康に重大な影響を与える。その予防のためには、病態生理の解明が不可欠である。術後癒着の形成過程における、腹膜の意義に関する研究の報告は少ない。本研究では、損傷された組織が、向かい合って近接する正常な腹膜にどのような影響を与え、癒着を形成するかを調べることを目的とした。

材料・方法

ラット肝臓の分葉間（左側中葉と右側中葉の間）で癒着形成を誘発した。左側中葉の内側面を電気メスで焼灼し、対面する右側中葉の内側面の正常な腹膜および腹膜下組織に及ぼされる影響を、光学顕微鏡（HE染色と免疫染色）および電子顕微鏡（透過型と走査型）によって観察した。焼灼後、1, 6, 24, 48時間後、および4, 8日後にラットを灌流固定し、肝臓組織を採取した（各時間n=12）。対照群として、無処置（n=9）、焼灼直後（n=4）、sham手術6時間後（n=2）、sham手術24時間後および4日後（各n=3）の肝臓組織を採取した。光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡による観察では、両葉を含む断面で切片を作成した。また、走査型電子顕微鏡による観察では、両葉の接着がないかまたは接着が軽微である焼灼6時間後までの標本を観察対象とし、右側中葉の内側面の腹膜を観察した。免疫染色では、keratinとZO-1（中皮細胞を標識）、laminin（腹膜下基底膜）、elastin（腹膜下弾性線維）、fibrinogen/fibrin（フィブリン線維）、CD68（単球/マクロファージ）、 α -SMA（筋線維芽細胞）に対する染色を行った。右側中葉の腹膜に対する影響を定量的に評価するため、中皮細胞の細胞数を焼灼24時間後まで計測し、右側中葉の中皮細胞の減少、および両葉における孤立中皮細胞の増加を調べた。また、炎症の程度を評価するため、癒着部位における単球/マクロファージの細胞数を焼灼48時間後まで計測した。上記の各種方法を用いて、癒着形成の過程において、焼灼部位と向かい合って近接する対側葉の腹膜および腹膜下組織が受ける影響を調べた。

成 績

HE染色での観察により、焼灼された肝分葉と対側の正常な肝分葉との間に比較的高い頻度で癒着が形成されることを確認した。対側葉における中皮細胞の減少を免疫染色で評価すると、中皮細胞は1時間後より減少し、6時間後まで減少を続け、24時間後には明らかな増減はなかった。電子顕微鏡で対側葉の腹膜を観察すると、中皮細胞は1時間後より比較的広い範囲で剝離して基底膜が露出し、境界に存在する中皮細胞は明らかな傷害を受けていた。6時間後には基底膜が露出した領域は広くフィブリンで覆われ、周囲に残存している中皮細胞は、microvilliが減少したものの細胞質に明らかな傷害はなかった。6時間後から24時間後にかけて、両葉の間隙および対側葉の腹膜下にマクロファージが増加し、24時間後に炎症のピークを迎えた。これに伴い、24時間後までに両葉の間隙にフィブリン線維が増加し、フィブリン線維と対側葉の露出した基底膜が接着することにより、両葉の間に早期の癒着が形成された。24時間後における中皮細胞の形態変化を免疫染色で観察すると、両葉の間隙に孤立した中皮細胞が明らかに増加していた。透過型電子顕微鏡で24時間後に対側葉に残存している中皮細胞を観察すると、中皮細胞はフィブリンに取り囲まれて嚢状の形態を呈したり、あるいは孤立して丈が高くなって基底膜を離れ、フィブリンの上を遊走しているように見えた。嚢状の中皮細胞は48時間後以降も癒着部位に残存する一方で、丈の高い中皮細胞は辺縁での腹膜の再生に関与するよう見えた。48時間後、両葉の間隙と対側葉の腹膜下には筋線維芽細胞と新生血管が出現し、4日後から8日後にかけて組織修復が進行した。特に、新生血管は対側葉と両葉の間隙を交通しており、対側葉の正常組織が組織修復に関与しているように見えた。一方、対照群では、中皮細胞の形態変化、腹膜下の細胞浸潤、癒着の形成は認められなかったことから、焼灼以外の手術手技や侵襲ではなく、焼灼による損傷そのものが、これらの影響に最も寄与すると考えられた。以上の結果から、焼灼された組織と正常な腹膜が向かい合って近接した場合には、焼灼された組織が正常な腹膜の中皮細胞を傷害・剝離させ、また残存する中皮細胞の形態を変化させることで、腹膜の上皮組織としての機能を失わせ、露出した基底膜とフィブリンの接着を介した、両葉の早期の癒着を引き起こすと考えられた。また、焼灼された組織が近接する正常な腹膜下組織に影響を及ぼし、組織修復に関する細胞の遊走を促すことが、線維性の癒着の形成に寄与すると考えられた。

考 案

本実験から、損傷された組織が近接する正常な腹膜に対して及ぼす影響が初めて明らかにされた。露出した基底膜へフィブリンが接着すること¹は、中皮細胞の剝離や嚢状変化が腹膜の上皮組織としての機能を失わせることを示している。早期の中皮細胞の剝離・傷害には機械的な力が作用する可能性、また24時間後の嚢状変化および遊走にはフィブリンや炎症性サイトカインが関与する可能性が挙げられるが、中皮細胞の剝離や形態変化が引き起こされる詳細な機序については、今後明らかにされる必要がある。また本実験の結果は、正常側の中皮細胞が剝離すれば、損傷された組織と正常な組織が向かい合って近接することで癒着が形成されることを示しているが、Haneyらの実験にもとづいた推測²、すなわち2つの損傷された組織が向かい合って近接することで一般的に癒着は形成されるという考えと一致しない。したがって、術後合併症の原因となる癒着が、損傷された組織と正常な腹膜との間で形成さ

れるものなのか、さらに検証した上で機序を解明していくことが望ましい。本実験の結果は、中皮細胞が癒着を防止するための防御壁となる可能性を示唆している。中皮細胞の剥離と傷害を避ける方法を見つけ、中皮細胞を守ることと癒着の減少に関連があるかを検証することが肝要である。また近年開発されている癒着防止シートは必ずしも十分な効果が示されておらず、さらに癒着防止シートの中皮細胞への影響は十分に調べられていない³。中皮細胞に影響を与えないような癒着防止シートの開発は、癒着合併症の予防に役立つかもしれない。




結 論

術後癒着の効果的な予防方法を開発するために、損傷された組織と向かい合う正常な腹膜との間に癒着が形成される機序をさらに解明する必要がある。本研究から、癒着形成における腹膜の上皮組織としての機能の重要性が支持された。損傷された組織と向かい合って近接する中皮細胞を正常に保つ方法を模索することが、癒着および癒着合併症の予防に貢献する可能性が示された。

引 用 文 献

1. Schade DS, Williamson JR. The pathogenesis of peritoneal adhesions: an ultrastructural study. *Ann Surg* 1968;167:500-510.
2. Haney AF, Doty E. The formation of coalescing peritoneal adhesions requires injury to both contacting peritoneal surfaces. *Fertil Steril* 1994;61:767-775.
3. Haney AF, Doty E. Murine peritoneal injury and de novo adhesion formation caused by oxidized-regenerated cellulose (Interceed [TC7]) but not expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex Surgical Membrane). *Fertil Steril* 1992;57:202-208.

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏名	鈴木 達也
<p>審査委員長 西川 祐司 </p> <p>審査委員 吉田 成孝 </p> <p>審査委員 古川 博之 </p>			
学位論文題目			
<p>A morphological study of postoperative adhesions between injured tissue and intact peritoneum in the rat liver (ラット肝臓の損傷された組織と正常な腹膜の間に形成される術後癒着に関する形態学的研究)</p>			
<p>腹腔内手術後にはしばしば臓器の癒着が起こり、イレウスを初めとしてさまざまな症状を引き起こす。癒着の予防のためには、癒着の病態生理の解明が重要であるが、現在でもまだ不明の点が多く残されている。特に、腹膜中皮細胞の傷害が癒着に深く関連していると推定されるが、癒着形成過程における中皮細胞の変化についての詳細な報告は少ない。これまでの癒着研究では、癒着させる部位の両面に損傷を与え、中皮細胞を欠損させる実験系が使われることが多かった。しかし、本研究では、損傷された組織と正常の腹膜との間の癒着について検討している。これは、実際に術後癒着が起こる状況により近く、ユニークで重要な着眼であると思われる。</p> <p>実験にはラットを用い、肝表面の癒着を誘導する手法を用いている。具体的には、中葉の分葉部(左側中葉と右側中葉)を分け、左側に電気メスによる焼灼を加えた後、再び右側と近接させる手技で、癒着過程を経時的に組織学的、免疫組織学的に観察した。その結果、対面が正常の中皮で覆われている場合でも傷害部位との間に高頻度で癒着が起こることが確認された。</p>			

本研究で最も注目される新規の知見は、1 時間から 6 時間という短い時間で、傷害部と接していた正常の中皮細胞が脱落するという現象である。中皮細胞の脱落は走査電子顕微鏡でも確認され、脱落の周辺では透過電子顕微鏡で中皮細胞の変性像が見出されている。この中皮細胞の変性・脱落の機序は不明であるが、癒着形成過程を理解するために非常に重要と考えられ、今後の詳細な検討が期待される。

本研究ではさらに、フィブリンに取り囲まれた中皮細胞の囊状の特異な形態変化や、正常側からの炎症細胞の遊走、血管の侵入などの詳細が精緻な形態学的観察をもとに記載されている。

申請者に対して、各審査委員から論文内容、関連領域について試問がなされ、これに対して適切な回答が寄せられた。

本審査委員会では慎重な意見交換を行い、本論文は申請者の長期間にわたる努力の結果であり、外科学、肝臓病学分野において学術的にも貢献したことを認め、学位を授与する価値があると結論した。