

Title	コラーゲンの偏光特性からみた食道吻合部の創傷治癒に関する実験的研究
Author(s)	中島, 清一
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3155278">https://doi.org/10.11501/3155278</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	中島清一
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第14524号
学位授与年月日	平成11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	コラーゲンの偏光特性からみた食道吻合部の創傷治癒に関する実験的研究
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 正  (副査) 教授 松田 暉 教授 門田 守人

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

消化管吻合術は日常臨床において広く行なわれているが、創傷治癒を如何に促進し縫合不全の頻度を如何に減少せしめるかは永遠の課題である。

消化管吻合部の物理的強度は粘膜下層コラーゲンの発達度によって大きな影響を受けることはよく知られており、従来より吻合部の創傷治癒は専らコラーゲン定量法により評価されてきた。さて、シリウスレッド染色-偏光顕微鏡解析法(偏光解析法)は、線維径、コラーゲン分子のパッキングや配列の程度によってコラーゲン線維が異なった複屈折性を呈するという光学的な偏光特性を応用したもので、治癒過程におけるコラーゲンの構造的変化を質的に評価し得る方法として注目されている。しかしながら、粘膜下層コラーゲン偏光特性の推移を抗張力やコラーゲンの定量結果と併せて検討した報告はなく、また術後早期の細胞増殖因子投与がコラーゲン偏光特性に与える影響は知られていない。

そこで私はこの点に注目し、

1) ラット食道吻合部の創傷治癒過程において、吻合部の物理的強度とコラーゲン偏光特性との関係をコラーゲン定量法と併せて解析し、偏光解析法の有用性を実験的に検討した。

さらに、

2) 従来より消化管吻合部の創傷治癒を促進する効果が確認されている表皮増殖因子(EGF)による食道吻合部強度の増強効果にコラーゲン偏光特性の変化が関与しているか否かを偏光解析法を用いて実験的に検討した。

#### 【方法】

1) 実験は雄性 Sprague-Dawley ラット(体重200g, n=35)を用いて行った。実験動物は頸部食道を甲状腺下極の高さで一旦切断し、8-0合成非吸収糸を用いて一層外翻端々吻合を行い、術後4, 7, 10, 21日目(POD)に吻合部を含む8mm長の食道組織を摘出した。デジタルフォースゲージを用いて抗張力を測定した後、全量を回収して塩酸加水分解を行い、アミノ酸自動分析計によりヒドロキシプロリン(Hypro)を定量した。残りの標本より5μmの切片を作成してシリウスレッド染色を行い、偏光顕微鏡下に吻合部近傍粘膜下層の全偏光域のうち、暖色偏光域の占める割合(偏光比率)をデジタル画像解析法により算出した。対照群には正常食道組織および吻合直後に摘出した

食道組織を用いた。

2) 同様のモデルにヒト組換え型 EGF $20\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ を術直後より連日腹腔内投与した EGF (+) 群 (n=12), および等量の生理的食塩水のみを投与した EGF (-) 群 (n=14) の両群において, 4 POD における吻合部の抗張力測定, Hypro 定量, 偏光解析を行った。統計は一元分散分析法を用いて行い,  $P<0.05$ をもって有意差ありと判断した。

#### 【成績】

1) 実験群では 4 POD に採取した全検体が吻合部で断裂し, その抗張力 ( $118\pm 18\text{g}$ ) は対照群のそれ ( $248\pm 19\text{g}$ ) に比し有意に低下した。7 POD 以降に採取した検体は吻合部以外で断裂し, 抗張力は漸増して 21POD で  $290\pm 15\text{g}$  と対照群に比し有意に高値となった。Hypro 濃度は 4 POD, 7 POD では対照群に比して変化なく 10POD 以降で有意に増加し, また Hypro 量は術後増加し, すべての時点で対照群より有意に高値を示した。正常食道の粘膜下層には暖色系偏光を発するコラーゲン線維が優位に分布し, 偏光比率は  $66\pm 9\%$  であった。4 POD の吻合部近傍粘膜下層には緑色偏光を発するコラーゲン線維が優位となり, 偏光比率は  $36\pm 7\%$  と対照群に比し有意に減少した。偏光比率はその後漸増し, 10POD 以降では対照群と優位差を認めなくなった。

2) EGF (+) 群は抗張力  $181\pm 18\text{g}$ , 偏光比率  $53\pm 13\%$  であり, EGF (-) 群のそれぞれ  $124\pm 13\text{g}$  および  $36\pm 12\%$  に比して有意に高値であった。一方, Hypro は濃度 ( $19.0\pm 7.3\text{nmol}/\text{mg}$  vs  $22.6\pm 4.7\text{nmol}/\text{mg}$ , 量 ( $149.4\pm 43.4\text{nmol}/\text{mm}$  vs  $163.8\pm 10.1\text{nmol}/\text{mm}$ ) とともに両群間で有意差を認めなかった。

#### 【総括】

ラットを用いて食道吻合部の治癒過程をコラーゲンの偏光特性の面から検討した。その結果, 創傷治癒早期においては偏光解析法による偏光比率は Hypro 定量結果よりも吻合部の治癒過程をよりの確に反映した。この時期の吻合部近傍粘膜下層に分布するコラーゲン線維は光学的な構造変化をきたしていると考えられ, 低下した吻合部強度の説明の一つとなるものと思われた。

EGF 投与により吻合部強度は増強したが, その機序にはコラーゲンの量的変化よりもコラーゲン分子のパッキング程度, 配列の規則性等, コラーゲン線維の構造的変化がより大きく関与している可能性が示された。

### 論文審査の結果の要旨

本論文では, 消化管吻合部の物理的強度には粘膜下層コラーゲン線維の質的变化が大きく関与していると想定し, ラット食道吻合部の創傷治癒過程をコラーゲンの偏光特性の面から検討した。また表皮増殖因子の投与がコラーゲンの偏光特性に及ぼす影響を併せて検討した。その結果, 吻合部の抗張力が低下する時期に一致して吻合部近傍粘膜下層において暖色系偏光を呈するコラーゲン線維の占める割合が減少することが明らかとなった。また, 表皮増殖因子の投与によって食道吻合部の抗張力が増強するとともに暖色系偏光を呈するコラーゲン線維の占める割合が増加することが明らかとなった。

本論文は, 消化管吻合部の治癒過程において粘膜下層コラーゲンの偏光特性が変化し, 長い偏光波長を有する線維の占める割合と吻合部の物理的強度が密接な関係にあることを明らかにした。また, 表皮増殖因子による吻合部強度の増強機序にコラーゲンの偏光特性の変化が関与している可能性が初めて示された。従って, 本論文は, 消化管吻合部の術後における吻合部縫合不全の機序の解明およびその対策につながる重要な研究であり, 学位の授与に値すると考える。