

|               |  |
|---------------|--|
| Title         | 移植腱の細胞外基質の配列は細胞侵入と新生コラーゲンに影響を与える   |
| Author(s)     | 松本, 憲尚   |
| Citation      |  |
| Issue Date    |  |
| oaire:version |  |
| URL           | <a href="https://hdl.handle.net/11094/39988">https://hdl.handle.net/11094/39988</a>  |
| 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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。 |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | まつもと のり なお<br>松本 憲 尚                              |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学)  |
| 学位記番号      | 第 13053 号   |
| 学位授与年月日    | 平成9年3月25日   |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>医学研究科外科系専攻                        |
| 学位論文名      | 移植腱の細胞外基質の配列は細胞侵入と新生コラーゲンに影響を与える                  |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 越智 隆弘<br><br>(副査)<br>教授 米田 悦啓 教授 内山 安男 |

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

移植時の腱そのものが有する膠原線維配列が細胞侵入に影響するか、侵入細胞内のアクチン細胞骨格の構築が新生膠原線維に影響するかを検討する事。

#### 【方法ならびに成績】

移植腱の細胞外基質の配列が細胞侵入と新生膠原線維に与える影響について検討した。group I では、移植腱の細胞外基質である緻密な膠原線維束が均一な方向への配列を維持するように、ルイスラットの膝蓋腱外側1/2を切除後、同じ大きさの凍結処理を施行した同系ラットから採取した膝蓋腱を移植する。group II では、移植腱の1/2の長さの欠損部に移植術を施行しているため、移植腱は弛緩し膠原線維束に一定の方向性を持たない。移植後3, 7, 14, 28日後にそれぞれの群で6匹を屠殺し組織学的に検討した。一般染色としてHE染色を行った。rhodamine-phalloidinを用いて細胞骨格であるFibrillar-actin (F-actin)を、III型procollagenのN末端を認識するポリクローナル抗体を用いてIII型膠原線維(pN collagen III)を含む新生膠原線維を描出し、それぞれ細胞侵入と新生コラーゲンの指標とした。さらに、透過型電顕を用い膠原線維径の変化についても検討した。移植後3日では、移植腱内には細胞は認められず、F-actinおよびpN collagen IIIのシグナルも認めなかった。7日になると、移植腱の両端から細胞の侵入が両群ともに認められるようになり、それに伴いF-actinおよびpN collagen IIIのシグナルが認められた。これらのシグナルは、移植後3日では移植腱内には全く認められなかったことを考慮すれば、新たに侵入した細胞およびその細胞によって産生された膠原線維を表していると考えられた。14, 28日では、移植腱の全長に渡り侵入細胞が認められた。細胞数は両群間で統計学的に有意差は認められなかったが、group I では伸長した核を持つ線維芽細胞が膠原線維束に平行に配列していたが、group II では多様な形態の核をもつ細胞が不規則に配向していた。細胞の配列と一致して、F-actinの配列はgroup I では移植腱の長軸に平行に配向していたが、group II では不均一であった。また、pN collagen IIIの配向も両群間で大きく異なっていたが、その配向は両群ともにF-actinの配列とよく一致していた。この結果は、Ingerらが報告したactin細胞骨格と膠原線維間の力学伝播が、移植腱内でも動いている可能性を示唆した。膠原線維径は移植後14日から変化し、両群ともに経時的に細い径の線維の占める率が増加した。group I ではgroup II より多くの細い径の線維が全部位で均等に分布していたが、group II ではその分布は不均一であった。この現象の詳細は不明であるが、group I では切除腱部に同じ長さの腱を移植してい

るため、移植腱には生理的張力が働いていた可能性があり、その張力が膠原線維の代謝に影響を与えたのかもしれない。事実、線維芽細胞をコラーゲンゲル内で培養し、そのゲルにさまざまな機械的ストレスを加えることにより、細胞形態、細胞増殖、コラーゲン合成能とコラーゲン分解酵素の発現に影響を来すことが報告されている。

#### 【総括】

移植腱の細胞外基質の配列は細胞侵入の時期と侵入細胞数には影響しないが、侵入細胞の移植腱内での三次元的な配向を決定すること、新生コラーゲンの分布はF-actinの配列に影響されることが判明した。移植腱内での膠原線維代謝には、移植腱に加わる張力が影響している可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

自家腱、同種腱を用いた腱移植術は広く施行されているが、その基礎医学的見地からは多くの不明点が残存している。一般に移植腱は、移植後細胞壊死、細胞侵入、血管新生を経て細胞外基質の再構築が生じると考えられている。その際、何が細胞の侵入に影響を与え、どのように細胞外基質が再編されるかは不明である。これまで、軟部組織修復の研究において皮膚欠損部の再構築化に関しては多くの報告がある。それらの報告では、線維芽細胞により産生された膠原線維は細胞内のアクチン細胞骨格の形成、またそれに伴う収縮力により、再構築されると言われている。さらに *in vitro* の実験では、膠原線維とアクチンとの間でフィブロネクチン、インテグリンなどを介した力学伝播があると報告されている。また膠原線維上に存在するフィブロネクチンは細胞接着因子としても有名であり細胞移動の重要な因子と考えられている。そこで、移植腱の再構築過程においては、創傷治癒と異なり元来存在している移植腱自体の膠原線維の配列が細胞侵入に影響し、創傷治癒と同様に新生膠原線維の再構築には線維芽細胞内のアクチン細胞骨格の形成が関与しているのではないかと仮説し検討した。group I では、移植腱の細胞外基質である緻密な膠原線維束が均一な方向への配列を維持するように、ラット膝蓋腱外側1/2を切除後、同じ大きさの凍結処理を施行した同系ラットから採取した膝蓋腱を移植する。group II では、移植腱の1/2の長さの欠損部に移植術を施行しているため、移植腱は弛緩し膠原線維束に一定の方向性を持たない。rhodamine-phalloidinを用いて細胞骨格であるFibrillar-actin (F-actin) を、Ⅲ型 procollagen のN末端を認識するポリクローナル抗体を用いてⅢ型膠原線維 (pN collagen III) を含む新生膠原線維をさらに、透過型電顕を用い膠原線維径の変化についても検討した。両群ともに移植後1週で移植腱の両端に認められたF-actinおよびpN collagen IIIのシグナルは、2、4週では、移植腱の全長に渡り認められた。細胞数は両群間で統計学的に有意差は認められなかった。細胞の配列と一致して、F-actinの配列はgroup IIでは移植腱の長軸に平行に配向していたが、group Iでは不均一であった。また、pN collagen IIIの配向も両群間で大きく異なっていたが、その配向は両群ともにF-actinの配列とよく一致していた。膠原線維径は移植後2週から変化し、両群ともに経時的に細い径の線維の占める率が増加した。group Iではgroup IIより多くの細い径の線維が全部位で均等に分布していたが、group IIではその分布は不均一であった。本研究は、移植腱の細胞外基質の配列は、細胞侵入の時期と侵入細胞数には影響しないが、侵入細胞の移植腱内での三次元的な配向を決定し、侵入細胞内のF-actinの配向を介して二次的に新生膠原線維の配列を規定していること、膠原線維代謝にも影響していることを明らかにし、学位に値すると思われる。