

Title	Hyaluronic Acid of Wound Fluid in Adult and Fetal Rabbits
Author(s)	澤井, 利夫
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40034">https://hdl.handle.net/11094/40034</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</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	澤 井 利 夫
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 6 9 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 9 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 外科系専攻
学 位 論 文 名	Hyaluronic Acid of Wound Fluid in Adult and Fetal Rabbits (胎仔の創傷治癒に関する検討 細胞外基質ヒアルロン酸を中心として)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡 田 正 (副査) 教 授 岡 田 伸 太 郎 教 授 谷 口 直 之

## 論 文 内 容 の 要 旨

[目的] 近年先天奇形に対する一つのアプローチとして子宮内胎児手術が試みられるようになったが、胎児の創傷治癒過程が成体のそれとは著しく異なることが注目されている。即ち胎仔の創傷部は成体のそれに比べて炎症反応が少なく、線維芽細胞の集積が殆どみられず、しかも、瘢痕を来さないという特徴を有している。このような創傷に対する反応性の違いが、如何なる理由で起こるかについては、未だ確定的なものはない。

ところで、細胞外基質は細胞接着や移動、細胞形態の形成という機能を有しており、創傷治癒においては炎症細胞や線維芽細胞等の足場を提供し組織の再構築に関わっている。さらに最近では細胞の分化や増殖にも関係することが報告されている。中でもヒアルロン酸 (HA) は細胞間隙を開き、線維芽細胞の増殖を抑制する特質を有している。また、細胞増殖時や発生の際に認められることから、HA は細胞の構築を容易にする細胞環境を提供するといわれている。さらに細胞外基質の一つであるコラーゲンは胎仔に比べ成体の創部で多く含まれることが報告されている。そこで、私は胎仔創部においては、細胞外基質として成体において通常見られるようなコラーゲンよりはむしろ HA が多く存在し、このことが瘢痕形成のない再生を可能としているのではないかと考え、従来測定が困難といわれた HA を、Tenglad の方法から発展した biotin hyaluronic acid-link protein assay を用いて創部において定量し、成体及び胎仔の創傷に対する反応性の違いを細胞外基質の面から検討した。

[材料と方法] 16週令、体重2.5~3.0 kg の New Zealand White Rabbit を成体として用い、胎仔としては妊娠24日目と同じ動物を用いた。

### 1) polyvinylalcohol sponge (PVA) を用いた創傷モデルの作成

成体：ペントバルビタール25 mg/kg を静注し鎮静した。維持麻酔として自発呼吸下にセボフルランによるマスク麻酔を施行した。背部を剃毛し消毒後、背部中程に20 mm の皮膚全層縦切開を3カ所ずつ2列にわたって加え、それぞれ皮下を剥離しPVA25×12×1 mm を埋め込んだ。4-0 シルクにて皮膚縫合した。

胎仔：妊娠24日目の家兎を上記と同様の麻酔下に下腹部正中にて開腹した。子宮間膜反対側に予め巾着縫合を懸けた後、子宮を切開し胎仔背部を露出せしめた。胎仔背部中央に15 mm の皮膚全層縦切開を加え、皮下を剥離し1

個の PVA15×8×1 mm を埋め込み、6-0 シルクにて皮膚縫合した。子宮を閉鎖後閉腹し、妊娠を継続させた。

## 2) 創部組織及び PVA の回収

成体：術後 1 . 2 . 3 . 4 . 5 . 7 日目に犠死せしめ PVA も含めた創部を取り出した。

胎仔：成体と同時期に帝王切開し、PVA も含めた創部を取り出した。

## 3) 組織標本の作製

ホルマリン固定後 3  $\mu$ m に薄切しヘマトキシリン・エオジン染色及びアザン染色を行った。

## 4) Wound Fluid (WF) の回収

各々の PVA を、400 g, 10 分間、4 °C にて遠心し、細胞成分を含まない WF を採取した。-80 °C で凍結保存後、HA 測定に供した。

## 5) ヒアルロン酸濃度の測定

biotin hyaluronic acid-link protein assay にて各々の WF の HA 濃度を求めた。

[結果] 実験動物の生存率は成体で 93.2%，胎仔で 73% であり、PVA の回収率は各々 88.8%，72.9% であった。組織学的観察所見にて、成体創部に比べ胎仔創部では多形核白血球及び線維芽細胞の浸潤が少なかった。また、アザン染色により濃青色に染色されるコラーゲンも成体に比べ胎仔では少なかった。

HA の検討については成体では 47 検体、胎仔では 45 検体が対象となった。成体の WF 中の HA 濃度は術後の経時的变化の中で特に有意差を示さなかった。胎仔のそれは術後 3 日目が最大となり、その後徐々に低下した。成体に

家兎成体及び胎仔の創部ヒアルロン酸濃度 (mg/ml)

術後日数	1	2	3	4	5	7
成体	17.56±11.62	43.55±59.38	38.25±16.62	24.78±16.91	37.11±19.47	51.53±32.69
胎仔	109.05±92.61	175.70±52.81	341.94±155.70	224.69±102.24	231.46±40.76	146.84±92.84

比べ胎仔の WF の HA 濃度の平均値は全経過中を通して 3 から 10 倍に達し、高値を持続した。

[総括] 家兎の成体及び胎仔に PVA を用いた創傷モデルを作成し両者の比較検討を行った。その結果、創傷に対する反応として多形核白血球や線維芽細胞等の細胞成分の違いに加えて細胞外基質の構成成分の違い、特に創浸出液中の HA 濃度が胎仔で高く維持されていることを明らかにした。このことは胎仔においては HA に富んだ創部細胞外基質がコラーゲンに富んだ細胞外基質に比べ柔軟で流動性のある環境を提供することによって、創部における細胞可動性と容易で迅速な再構築を可能としていると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

近年先天奇形に対する一つの治療法として胎児手術が試みられるようになったが、その際に成体と比べて胎児の創傷治癒過程においては炎症反応が少なく、線維芽細胞の集積が殆どみられず、しかも、瘢痕を来さないという特徴を有していることが注目されている。このような創傷に対する反応の違いが起こる原因として細胞外基質の一つであるヒアルロン酸の存在が想定されてきた。今回、家兎成体及び胎仔にポリビニルアルコールスポンジを用いた創傷モデルを作成し、その組織学的な比較検討とともに、創部の細胞環境を反映しているとされる滲出液を採取し、ヒアルロン酸の定量を行った。その結果組織学的検討により成体に比べ胎仔創部では多形核白血球・線維芽細胞の浸潤及びコラーゲンの沈着が少ないことが確認された。さらに biotin hyaluronic acid-link protein assay による滲出液中のヒアルロン酸濃度の定量結果では、成体創部に比べ胎仔創部において同物質が長期間高濃度に存在することを明らかにした。ヒアルロン酸が長期間高濃度に存在することはその物理学的性状から柔軟で流動性のある細胞環境を提供することとなり、瘢痕のない創部の再構築を容易にしていることが考えられた。

このことは今後先天奇形に対する子宮内診断・治療を積極的に進めていく上で有用な知見を提供するものであり、医学博士の学位を授与するに値すると認定する。