

Omental wrapping promotes angiogenesis by inducing high levels of vascular endothelial growth factor from the inflammatory phase of wound healing

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松下, 晃三 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1158

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 305号	学位授与年月日	平成12年 3月27日
氏名	松下 晃三		
論文題目	Omental wrapping promotes angiogenesis by inducing high levels of vascular endothelial growth factor from the inflammatory phase of wound healing (大網被覆は創傷治癒の炎症期から血管内皮増殖因子の発現増強を誘導することにより血管新生を促進する)		

博士(医学) 松下晃三

論文題目

Omental wrapping promotes angiogenesis by inducing high levels of vascular endothelial growth factor from the inflammatory phase of wound healing

(大網被覆は創傷治癒の炎症期から血管内皮増殖因子の発現増強を誘導することにより血管新生を促進する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

大網は、被覆した創部における血管新生を誘導することによって創傷治癒を促進することが知られており、臨床において、十二指腸潰瘍穿孔や気管支断端瘻に対する大網被覆術など多方面の外科手術に利用されてきた。この血管新生は、創傷治癒過程の増殖期に認められ、主にVEGFやb-FGFなどの血管新生因子が関与していると考えられており、近年、大網由来の脂肪細胞がin vitroでVEGFを産生することが報告された。しかし、大網被覆した創部の治癒過程におけるVEGFの発現動態に関して、未だ解明されていないのが現状である。そこで、本研究は大網の血管新生能に注目して、大網被覆した腸管吻合部の創傷治癒過程におけるVEGFの発現動態と発現細胞について解析を行った。

[方法]

体重250~300gの10~12週齢雄性Wistar Ratを使用し、Adamsらの方法に基づいて、小腸吻合モデルを作成した。吻合部への大網被覆の有無で、大網被覆群と非被覆群の2群に分けた。術後1、2、3、5、7日目に吻合部小腸及び被覆した大網を摘出し(各病日n=6)、以下の項目について検討した。コントロールは、未処置の正常小腸および大網とした。

(1)組織学的検討(H&E染色)

吻合部内の浸潤細胞、増殖細胞の評価。吻合部内血管数の測定。

吻合部の肉芽組織の厚さをNIH image analysis systemで測定。

(2)組織内VEGF濃度(ELISA法)

腸管吻合部および被覆した大網内のVEGF濃度の経時的変化。

(3)抗VEGF抗体を用いた免疫組織染色法

吻合部内のVEGF発現強度と発現細胞の分布。

[結果]

(1)大網被覆群は非被覆群と比較し、好中球など炎症細胞の浸潤が軽度で、早期から線維芽細胞の増殖などによる肉芽増生が認められた。一方、非被覆群では炎症細胞の浸潤が強く、創部感染、組織壊死や浮腫が認められた。大網被覆群における吻合部内の血管数は、非被覆群と比較し、術後3日目より有意に増加し($P<0.05$)、吻合部肉芽組織の厚さも、非被覆群と比較し、術後3日目より有意に増加していた($P<0.05$)。

(2)大網被覆群における腸管吻合部内VEGF濃度は、非被覆群と比較し、術後1~3日目で有意に増加していた($P<0.05$)。また大網被覆群における大網内VEGF濃度は、正常大網と比較し、術後1~5日目ま

で有意に増加していた($P < 0.05$)。

(3) VEGF発現強度は大網被覆群で非被覆群と比較し強い発現が認められ、また発現細胞において両群間で異なる細胞分布が認められた。すなわち大網被覆群においては、創傷治癒過程の炎症期には主にマクロファージ、線維芽細胞や脂肪細胞に、増殖期には主に線維芽細胞や脂肪細胞に検出されたが、非被覆群では全病日を通じて、主に浸潤した好中球などの炎症細胞に検出された。

[考察]

以上の結果から、大網被覆群では創傷治癒過程の炎症期から被覆した大網内VEGF濃度の増加に伴って吻合部内VEGF濃度が増加し、これにより吻合部における血管新生の誘導と肉芽組織増生の促進が起こると考えられた。また大網被覆群において、非被覆群ではあまり認められないマクロファージや線維芽細胞の誘導があり、それらの細胞にVEGFの発現が強く認められることから、大網被覆によるVEGF発現の増強には、大網内脂肪細胞だけでなくマクロファージや線維芽細胞の関与が示唆された。

[結論]

大網被覆は、創傷治癒過程の炎症期から創部におけるVEGFの発現増強を誘導することにより、血管新生を促進していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

大網で手術創部を被覆することによって創傷治癒が促進されることが知られており、十二指腸潰瘍穿孔や気管支断端瘻に対する大網被覆術など多方面の外科手術に利用されてきた。この大網被覆による創傷治癒の促進にVEGFやb-FGFなどによる血管新生の誘導が関与していることが報告されている。近年、大網由来の脂肪細胞がin vitroでVEGFを産生することが報告されたが、大網の被覆による創傷治癒過程におけるVEGFの発現動態についてはまだ明らかでない。本研究はラットを用いて、大網で被覆した腸管吻合部の創傷治癒過程におけるVEGFの発現動態について解析した。

雄のWistar系ラット(体重250-300g)を用い、Adamsらの方法に基づいて小腸吻合モデルを作成した。吻合部への大網被覆の有無で、大網被覆群と非被覆群の2群に分けた。術後7日目まで経時的に屠殺し、吻合部および被覆した大網を摘出し、組織学的検討、ELISAによる組織内VEGF濃度の測定、抗VEGF抗体を用いた免疫染色で解析し、以下の結果を得た。

- 1) 大網被覆群は非被覆群と比較し、好中球などの炎症細胞の浸潤が軽度で、早期から肉芽増生が認められた。一方、非被覆群では好中球の浸潤が強く、組織壊死や浮腫が認められた。大網被覆群における吻合部内の血管数は、非被覆群と比較して術後3日目より有意に増加した。
- 2) 大網被覆群における腸管吻合部内VEGF濃度は、非被覆群と比較し、術後1-3日目まで有意に増加していた。また大網被覆群における大網内VEGF濃度は正常大網と比較し、術後1-5日目まで有意に増加していた。
- 3) 大網被覆群における吻合部のVEGFの発現は主にマクロファージ、線維芽細胞、脂肪細胞に強く検出され非被覆群では主に好中球にその発現が認められた。

以上の結果より、大網被覆によって腸管吻合部の創傷治癒部の肉芽形成、血管新生の促進にVEGFの発現が重要な役割を果たしていることが示唆された。

論文審査委員会では、大網被覆による腸管吻合部の創傷治癒の促進をVEGFの発現という観点から解析した点を評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) 大網の遊離被覆術における血管や神経の吻合について
- 2) 大網のin vivoでのVEGFの産生をみた仕事はなぜなかったか
- 3) VEGFの蛋白量を定量するために、吻合手術部のどこからどのようにサンプルを取ったか
- 4) 血管の数や肉芽の厚さをどのように測定したか
- 5) 吻合部からの距離の違いによって被覆大網脂肪細胞のVEGFの発現はどのように異なるか
- 6) 脂肪細胞のどこが抗VEGF抗体で染まるか、脂肪滴はどうか
- 7) 非被覆吻合部で好中球のみが炎症の経過にも関わらず発現するのはなぜか
- 8) 被覆大網脂肪細胞のVEGFの発現が吻合部肉芽組織の血管内皮にいかに関与を与えるか
- 9) 吻合部に筋肉や腹膜を被覆したらVEGFの発現はどうかと思うか
- 10) 大網被覆の有無によって創傷部の環境はどうか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査委員会全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 筒井 祥 博

副査 橋本 賢 二 副査 今野 弘 之