

氏名	サンフォード（大関） 舞子
（ふりがな）	（さんふおーど（おおぜき）まいこ）
学位の種類	博士（医学）
学位授与番号	甲 第 1125 号
学位審査年月日	令和元年7月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Comparison of a chymase inhibitor and hyaluronic acid/carboxymethylcellulose (Septrafilm) in a novel peritoneal adhesion model in rats (新規腹部術後癒着モデルにおけるヒアルロン酸/カルボキシメチルセルロース（セプラフィルム）とキマーゼ阻害薬の比較検討)
論文審査委員	(主) 教授 朝 日 通 雄 教授 田 中 慶 太 朗 教授 根 本 慎 太 郎

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《目的》

腹部手術後の腸管癒着の予防は外科手術において重要な課題である。術後癒着は、腸閉塞や不妊などの合併症に加え、再手術の際には手術時間の延長、癒着剥離による他臓器損傷のリスクとなるからである。現在、ヒアルロン酸/カルボキシメチルセルロース（セプラフィルム）などの癒着防止剤が臨床で使用されているが、手術創の小さい鏡視下手術の際には、薄く脆いセプラフィルムの性質上、小孔から挿入し目的部位に貼付することは困難であり、簡便で確実な新しい予防方法の確立が必要とされている。

キマーゼは肥満細胞顆粒中に存在するキモトリプシン様プロテアーゼであり、アンジオテンシン I から II への変換酵素として知られるが、線維化を促進する Transforming

Growth Factor (TGF) - β を活性化するため、様々な臓器線維化との関連が指摘されてきた。これまでに解明された癒着発生の機序は組織損傷による炎症反応の惹起と線維化の促進によることが示されていることより、キマーゼが深く関与する可能性がある。そこで癒着形成が強固で再現性の高い新規術後癒着モデルを確立し、セプラフィルムとキマーゼ阻害薬の癒着予防効果を比較して、癒着発生におけるキマーゼの関与を検討した。

《方法》

従来の擦過癒着モデルでは癒着の形成率、強度および再現性が低いことが問題であったので、まず、ラットの盲腸を用いて、従来の擦過誘発の擦過癒着モデルと新規の強アルカリ性溶液による漿膜障害で癒着を誘発するモデルを作製し、それぞれ1週間後および2週間後の癒着度スコア（強度；0-【なし】～4-【剥離不能】、面積（障害面積占める癒着面積の割合）；0-【0%】～4-【>75%】）を比較した。

次に、アルカリ癒着モデルを用いて、キマーゼ阻害薬溶液をアルカリ傷害直後に一度腹腔内に投与する群（阻害薬群）、セプラフィルムをアルカリ傷害部位に貼付する群（セプラ群）、偽薬群（各群、n=6）を作製し、2週間後の癒着スコアの比較および癒着関連因子を解析した。

《結果》

擦過癒着モデルとアルカリ癒着モデルの比較において、術後1週間と2週間共に、アルカリ癒着モデルで癒着スコアが高値であり、個体間の癒着スコアのばらつきも明らかに少なかった。

アルカリ癒着モデルを用いた阻害薬群とセプラ群の比較において、偽薬群の癒着強度スコアは 3.8 ± 0.2 であったのに対し、阻害薬群とセプラ群はともに 2.1 ± 0.31 と有意に低値であった。また、癒着面積スコアは偽薬群では 3.8 ± 0.6 であったのに対し、阻害薬群とセプラ群はそれぞれ 2.2 ± 0.2 、 2.7 ± 0.2 と有意に低値であった。

アルカリ癒着モデル作製後早期より癒着部位のキマーゼ活性は有意に増加したが、阻害

薬群とセプラ群では共にキマーゼ活性は有意に低下した。術後 1 日目の組織像において、偽薬群では炎症性細胞の集積を高度に認めたが、阻害薬群、セプラ群共に炎症細胞の集積が抑えられていた。また、炎症マーカーのミエロペルオキシダーゼ (MPO) 遺伝子発現も偽薬群において有意に上昇したが、阻害薬群およびセプラ群では共に低下した。術後 3 日目の TGF- β は偽薬群では有意に上昇したが、阻害薬群およびセプラ群では共に上昇を抑制する傾向にあった。また、術後 2 週間の組織像において肥満細胞数およびキマーゼ陽性細胞数は偽薬群において有意に増加したが、阻害薬群およびセプラ群において有意に低下した。

《考察》

従来の擦過癒着モデルに比し、新規癒着モデルであるアルカリ癒着モデルは、簡便且つ再現性のある強固な安定した癒着を形成し、薬効評価の際により優れた癒着モデルであると考えられた。これらの結果を踏まえ、セプラフィルムおよびキマーゼ阻害薬群の癒着に対する影響を新規に確立したアルカリ癒着モデルにて検討した。

アルカリ癒着モデルを用いたセプラフィルムとキマーゼ阻害薬の効果と比較すると、癒着強度および癒着面積のスコアは偽薬群に対してどちらも有意に低値であり、同等の癒着予防効果を示した。また、癒着防止メカニズムの検討では、セプラフィルムもキマーゼ阻害薬と同様に、術後早期よりキマーゼ酵素活性、肥満細胞数の増加、MPO 遺伝子発現、TGF- β の上昇に対し同等の抑制効果を示した。キマーゼ阻害薬は、酵素活性を直接抑えることにより、またセプラフィルムは物理的に遮蔽にすることにより、アルカリ傷害された腸管壁に隣接する正常臓器から誘引される炎症細胞の浸潤とキマーゼ分泌により引き起こされる一連の炎症のカスケードを阻害したものと考えられる。

《結論》

新規腹部術後癒着モデルにおいて、キマーゼ阻害薬は術直後に一度腹腔内に投与するのみで現在臨床で用いられているセプラフィルム貼付と同等の癒着予防効果を認めた。キ

マーゼ阻害薬の腹腔内散布は鏡視下手術においても簡便で有用な癒着防止剤としての効果が期待できることが示唆された。

論文審査結果の要旨

腹部手術の腸管癒着の予防は外科手術において不可避の課題である。術後癒着は腸閉塞や不妊などの合併症に加え、再手術の際には、手術時間の延長、癒着剥離による他臓器損傷のリスクとなるからである。現在、ヒアルロン酸/カルボキシメチルセルロース（セプラフィルム）などの癒着防止剤が臨床で使用されているが、手術創の小さい鏡視下手術の際には、薄く脆いセプラフィルムの性質上、目的部位に貼付することは困難である。これらのことより、詳細な癒着発生機序の解明と予防方法の確立が必要とされている。

申請者らは、組織の線維化が原因となる術後癒着を予防することを目的に実験を行った。まず、従来の擦過癒着モデルと比較して確実な癒着が発生する新規術後癒着モデルとしてアルカリ癒着モデルを作製し、その有用性を示した。さらに、このアルカリ癒着モデルを用いて、線維化を促進する Transforming Growth Factor (TGF) - β を活性化するキマーゼに着目してキマーゼ阻害薬とセプラフィルムの癒着予防効果を比較検討した。偽薬の癒着強度スコアは 3.8 ± 0.2 であったのに対し、キマーゼ阻害薬とセプラフィルムは共に 2.1 ± 0.3 と有意に低値であり、同等の癒着予防効果を認めた。また、キマーゼ阻害薬とセプラフィルムにおいて、キマーゼ活性、MPO 遺伝子発現、炎症細胞数の低下を認め、TGF- β 上昇を抑制した。キマーゼ阻害薬はキマーゼの酵素活性を直接阻害することで、アルカリ損傷部位での肥満細胞の遊走および TGF- β の上昇を抑制していた。一方、セプラフィルムは組織間の物理的遮蔽により、キマーゼを含有する肥満細胞および炎症細胞の集積を妨げることが明らかとなった。

今後更なる検討が必要であるが、キマーゼ阻害薬は手術後の腸管癒着予防薬の一選択肢として期待できる可能性を示唆している。これまでに癒着の機序に着目した癒着防止剤は開発されておらず、鏡視下手術における使用の展望も含めて臨床的にも重要な知見と考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

PLoS One

14(1): e0211391, 2019

doi: 10.1371/journal.pone.0211391 <オンライン掲載>