

## 学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
山本善哉	主査 教授 阿部 宗昭 副査 教授 大槻 勝紀 副査 教授 谷川 允彦 副査 教授 森 浩志 副査 教授 富士原 彰
主論文題名 Effect of suture repair on expression of $\beta 1$ integrin subunit in wounded rat patellar tendon (ラット膝蓋腱損傷後の修復過程におけるインテグリン $\beta 1$ の発現と縫合処置が与える影響)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>近年、細胞表面において細胞と細胞外基質の接着を担う接着分子の存在が明らかとなり、それが細胞の分化などの基本的生命現象や、癌の転移をはじめとした様々な病態に関わっていると考えられている。インテグリンはそういった接着分子の1種であり、運動器領域においても種々の状況におかれた腱・靭帯において発現していることが報告されている。損傷腱に対して縫合を行った場合のインテグリンの発現や動態については渉猟し得た限りでは報告がない。本研究の目的は腱・靭帯を構成するフィブロネクチン、コラーゲン、ラミニンといった細胞外基質と接着するとされているインテグリン <math>\beta 1</math> サブユニット(以下インテグリン <math>\beta 1</math>) の腱修復時の発現と、縫合処置が発現に与える影響を明らかにすることである。</p> <p>《実験動物及び実験方法》</p> <p>16 週齢 Wistar 系雄ラットを用い、右側膝蓋腱中央部外側 1/2 を横切した損傷モデルを作製した。これを2群に分け、横切したままのものを放置群、6-0 ナイロン糸で2針結節縫合処置を行ったものを縫合群とした。左膝は膝蓋腱を一旦露出してそのまま閉創し、コントロール群とした。上記処置後4日、1週、10日、2週、4週、8週で屠殺し、以下の実験に供した。</p> <p>免疫組織化学的染色:ラット 60 匹を用いた。30 匹ずつ2群に分け、上記スケジュールに従い各期日に5匹ずつ屠殺した。屠殺後、直ちに膝蓋腱を採取、液体窒素を用いて新鮮凍結標本を作製し、ABC法に準じた免疫組織化学的染色を行った。染色後、光学顕微鏡にて観察し、断端間の肉芽組織部の細胞数に対するインテグリン <math>\beta 1</math> 陽性細胞数の割合を調べた。1標本について5か所で計測を行い、その平均をもってインテグリン <math>\beta 1</math> の発現率とした。</p> <p>リアルタイム定量 RT-PCR:ラット 36 匹を用いた。18 匹ずつ2群に分け、各期日に3匹ずつ屠殺した。採取した腱から直ちに total RNA を抽出し、これを鋳型とした cDNA を用いて hybridization probe 法によるリアルタイム定量 PCR(以下、定量 PCR)を行った。</p>	

統計学的手法にはノンパラメトリック ANOVA (Kruskal-Wallis 法と Fisher's PLSD 法)を用い、危険率5%未満をもって有意差ありとした。

#### 《結果》

免疫組織化学的染色:コントロール群では染色陽性細胞は認めなかった。放置群および縫合群では共に染色陽性細胞が出現した。放置群では10日目以降陽性細胞が減少したのに対し縫合群では4週目まで陽性細胞が増加し、その後減少に転じた。

定量 PCR:放置群、縫合群とも処置後1週目から4週目まで持続的な mRNA 量の増加がみられたが、その後減少した。その出現量は放置群の方に多く、群間で有意差が認められた。

#### 《考察》

本研究では縫合処置がインテグリン $\beta 1$ の発現にどのような影響を及ぼすかを検討した。定量 PCR において、縫合群の mRNA 発現量の変化は免疫染色における陽性細胞数の変化に対応していた。これは免疫染色にてインテグリン $\beta 1$ が陽性である、すなわち腱の修復に関わる線維芽細胞の数が修復過程を通じて保たれているために mRNA 発現量も保たれたものと考えられる。一方、放置群の mRNA 発現量は陽性細胞数が減少した後も増加した。

#### 《結論》

ラット膝蓋腱の修復過程においてインテグリン $\beta 1$ の mRNA 量はその修復過程を通して増加していた。縫合処置が腱の修復に関わる線維芽細胞におけるインテグリン $\beta 1$ の発現に変化をもたらしている可能性がある。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	山 本 善 哉
論文審査担当者		主 査 教授 阿 部 宗 昭 副 査 教授 大 槻 勝 紀 副 査 教授 谷 川 允 彦 副 査 教授 森 浩 志 副 査 教授 富 士 原 彰	
主論文題名 Effect of suture repair on expression of $\beta 1$ integrin subunit in wounded rat patellar tendon (ラット膝蓋腱損傷後の修復過程におけるインテグリン $\beta 1$ の発現と縫合処置が与える影響)			
論文審査結果の要旨			
<p>近年、細胞表面において細胞と細胞外基質の接着を担う接着分子の存在が明らかとなり、それが細胞の分化などの基本的生命現象や、癌の転移をはじめとした様々な病態に関わっていると考えられている。インテグリンはそういった接着分子の1種であり、運動器領域においても種々の状況におかれた腱・靭帯において発現していることが報告されている。しかし臨床の場において基本的手技ともいえる縫合処置を行った場合のインテグリンの発現や動態については報告がない。</p> <p>申請者は、ラット膝蓋腱の損傷モデルを用いて、腱・靭帯を構成する細胞外基質と接着するとされているインテグリン <math>\beta 1</math> サブユニット(以下インテグリン <math>\beta 1</math>) の腱修復時における発現と、縫合処置がその発現に与える影響を免疫組織化学的染色と定量 RT-PCR にて検討した。</p> <p>その結果、縫合処置をおこなった群では、免疫組織化学的染色における陽性細胞数の変化は定量 PCR における mRNA 発現量の変化に対応していた。これは免疫染色にてインテグリン <math>\beta 1</math> が陽性である、すなわち腱の修復に関わる線維芽細胞の数が修復過程を通じて保たれているために mRNA 発現量も保たれたものと考えられる。一方、縫合処置をおこなわなかった群では、免疫組織化学的染色での陽性細胞数が減少した後も mRNA 発現量は増加した。</p> <p>以上のことからラット膝蓋腱の修復過程において、インテグリン <math>\beta 1</math> の mRNA 量はその修復過程を通して増加し、かつ、縫合処置が腱の修復に関わる線維芽細胞におけるインテグリン <math>\beta 1</math> の発現に変化をもたらしていることが明らかとなった。</p> <p>本研究は、ラット膝蓋腱損傷後の修復過程において、インテグリン <math>\beta 1</math> の mRNA 量を初めて定量的に調べ、かつ臨床の場において基本的手技ともいえる縫合処置をおこなった場合のインテグリンの発現や動態を明らかにした点で意義深い。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第9条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。</p>			
(主論文公表誌) Journal of Orthopaedic Science In press			