

## 学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
梅川 俊義	主査 教授 宮 崎 瑞 夫 副査 教授 森 浩 志 副査 教授 大 道 正 英 副査 教授 芝 山 雄 老 副査 教授 大 槻 勝 紀
主論文題名 ハムスター子宮内膜症モデルの臓器癒着における肥満細胞の関与 (Relationship between number of mast cells and adhesion formation in hamster endometriosis model)	
学位論文内容の要旨	
<p><b>【目的】</b>            キマーゼは、肥満細胞由来のキモトリプシン様酵素で、アンジオテンシンⅡ産生、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)および Transforming growth factor(TGF)-<math>\beta</math>の活性化など多彩な作用を有しており、これらの因子は血管新生促進、組織線維化および血管リモデリングなどを引き起こす。従って、様々な疾患にキマーゼが関与する可能性が考えられている。近年、キマーゼ阻害剤が、TGF-<math>\beta</math>を抑制することによって手術等で生じる臓器間癒着を軽減することが報告されており、キマーゼが臓器癒着形成に重要な役割を担っていると考えられている。また、TGF-<math>\beta</math>の上昇が、子宮内膜症患者の腹水中で報告されていることから、子宮内膜症の臓器癒着形成にも関与している可能性が高いと考えられる。本研究では、子宮内膜症に伴う臓器癒着の機序を解明するために、ヒトに近いキマーゼを発現しているハムスターを用い、異所性自家子宮内膜移植モデルを作製して臓器癒着に伴う肥満細胞およびキマーゼの動態を検討した。</p> <p><b>【方法】</b>            本研究には6週齢の雌性 Syrian ハムスターを用いた。ケタミン筋肉内注射によって全身麻酔を施し、左子宮角をポリプロピレン糸(5-0)で1cm以上挟んで結紮した後、左子宮角へ通じる血管も同様に結紮して左子宮を摘出した。摘出した子宮は縦方向に切開して5mm角のシート状にカットした(面積は約25mm<sup>2</sup>)。子宮内膜上皮面を腹腔側に向けて、ポリプロピレン糸(7-0)で右腹壁に縫合して移植した。また比較対照として、左子宮を摘出せずに結紮のみを行い、右腹壁には子宮内膜片を縫い付けずに縫合糸のみとした対照群、および腹腔内脂肪組織を右腹壁に縫い付けた偽手術群をそれぞれ用意した。</p> <p>各群10例として、術後7、14および28日目に体重を測定した後、ケタミン麻酔下で頸部切断して放血致死せしめた。臓器癒着は強度と範囲をそれぞれ別途にスコア化したうえで総合し、総スコアとして表記した。移植子宮内膜片周囲の腹壁組織を採取して病理標本(4<math>\mu</math>m厚切片)を作製し、ヘマトキシリン&amp;エオジン染色、アザン染色、トルイジンブルー染色およびキマーゼ免疫染色を行った。顕微鏡に接続されたデジタルカメラにより組織標本を複数の画像に分割してコンピューターに取り込んだ組織像から全体像を再構築し、A3サイズでカラー印刷した。トルイジンブルー染色およびキマーゼ免疫染色した標本写真上で、子宮内膜移植部位周辺の肥満細胞数とキマーゼ陽性細胞数を計測した。各動物において総スコアと肥満細胞数およびキマーゼ陽性細胞数を算出してプロットした。</p>	

## 【結果】

体重は、偽手術群と子宮内膜移植群ともに順調に増加推移し、両群間で大きな差は認められなかった。臓器癒着モデルとした腹壁に移植した子宮内膜移植片と腹腔内臓器の癒着については、手術後 28 日においても偽手術群および対照群では、癒着の程度は軽度であったが、子宮内膜移植群では、子宮内膜片を移植した部位において近接組織との間に強度な癒着が認められた。また、子宮内膜移植群の臓器癒着スコアは、術後 7 日目、14 日目、28 日目でそれぞれ  $8.3 \pm 0.67$ 、 $11.6 \pm 2.13$ 、 $14.6 \pm 2.26$  であり、手術後の期間の長さに応じて増加、癒着が進展する傾向を示した。

採取した組織の病理組織学的所見については、子宮内膜移植群では、移植した子宮内膜組織の増殖と嚢胞形成像が確認できた。子宮内膜組織と腸間膜脂肪が癒着している部分にはアザン染色で青く染色されるコラーゲンの沈着が認められた。また、その部分にはトルイジンブルー染色でメタクロマジーを呈した肥満細胞が特異的に検出された。さらに、キマーゼ免疫染色で陽性を呈した細胞も癒着部分に特異的に局在していた。このような肥満細胞の集簇などは、癒着が生じていない対照群では認められなかった。

子宮内膜移植部位に存在する肥満細胞数は、術後 7 日目、14 日目、28 日目でそれぞれ  $70.7 \pm 23.59$ 、 $111.9 \pm 11.85$ 、 $132.5 \pm 24.43$  個であり、手術後の期間の長さに応じて増加する傾向を示した。

子宮内膜移植部位に存在している肥満細胞数を計測したところ、臓器癒着スコアと有意な正の相関を認めた。また、キマーゼ陽性細胞数についても癒着スコアと有意な正の相関を認めた。なお、病理標本のうち、移植子宮内膜および臓器癒着部位が確認できた標本のみを採用し、肥満細胞数とキマーゼ陽性細胞数を計測した。

## 【考察】

子宮内膜移植群は偽手術群や対照群に比べて癒着の程度に顕著な差があったことから、この部位の癒着は移植子宮内膜組織が原因で生じているものと推察される。また、子宮内膜移植群では、移植時にはシート状であった子宮内膜組織が増殖して嚢胞を形成し、癒着がその部分に限局して認められたことより、今回のモデルは移植子宮内膜によって生じる特異性の高い癒着を捉えたものと考えられる。子宮内膜組織が癒着を形成している部位には、コラーゲン沈着、肥満細胞およびキマーゼ陽性細胞の集積を認めた。また、癒着部位の肥満細胞数およびキマーゼ陽性細胞数は、それぞれ癒着スコアとの間に有意な相関を認めた。さらに、子宮内膜移植部位に存在する肥満細胞数と癒着形成は同様の経時変化を示した。

子宮内膜症の腹腔内における臓器癒着には、異所性の子宮内膜組織によって誘導されたキマーゼならびにその産生細胞である肥満細胞が関与している可能性が本モデルの検討の結果、強く示唆された。キマーゼは、アンジオテニン II 産生に加えて、TGF- $\beta$  や MMP の活性化を引き起こすことが知られており、これらの組織因子が、癒着形成における組織破壊と線維化形成の両面から関与すると推察される。このことから、キマーゼ阻害剤は術後臓器癒着のみならず子宮内膜症の臓器癒着に対して予防や症状の緩解を示す可能性が考えられる。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	梅川 俊義
論文審査担当者		主 査 教授 宮 崎 瑞 夫 副 査 教授 森 浩 志 副 査 教授 大 道 正 英 副 査 教授 芝 山 雄 老 副 査 教授 大 槻 勝 紀	
主論文題名 ハムスター子宮内膜症モデルの臓器癒着における肥満細胞の関与 (Relationship between number of mast cells and adhesion formation in hamster endometriosis model)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究は、ハムスター子宮内膜症モデルに発症する臓器癒着における肥満細胞およびキマーゼの動態について検討したものである。</p> <p>申請者はキマーゼの酵素学的性質がヒトに近いハムスター(雌性 Syrian 系)を用いて、一般的な子宮内膜症モデルとして認知されている異所性自家子宮内膜移植モデルを作製し、臓器癒着の程度と肥満細胞およびキマーゼの関連について検討している。</p> <p>子宮内膜移植部位の病理組織学的所見において、移植子宮内膜組織の増殖と嚢胞形成像を確認し、子宮内膜症モデルを確立している。本モデルでは、子宮内膜片を移植した部位への強度の臓器癒着を認めている。しかし、脂肪組織移植群では臓器癒着が軽度であったことから、本モデルに認められた臓器癒着は移植子宮内膜組織が原因で生じたものと推察している。また、子宮内膜移植部位における臓器癒着スコアおよび肥満細胞数が、手術後の期間の長さに応じて増加する傾向を示すこと、さらに、子宮内膜移植部位に存在している肥満細胞数およびキマーゼ陽性細胞数と臓器癒着スコアが有意に正相関することを見出している。</p> <p>子宮内膜症モデルの臓器癒着を評価している報告やハムスター子宮内膜症モデルの報告は少なく、本研究の結果は子宮内膜症の基礎研究に重要な知見を与えるものである。また、臓器癒着の程度と肥満細胞およびキマーゼの相関を示した初めての研究であり、キマーゼ阻害剤が子宮内膜症の臓器癒着防止剤として臨床応用できる可能性を示唆するものである。</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> <p>(主論文公表誌) 大阪医科大学雑誌 (66)1: 000-000, 2007 (in press)</p>			