

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

大林 樹真

専攻分野：外科学

コース：小児外科

指導教授：北川 博昭

主論文の題目：

Does a Large Abdominal Wall Defect Affect Lung Growth?
(巨大腹壁破裂は肺成熟に影響するか?)

共著者：

Kunihide Tanaka, Junki Koike, Yasuji Seki, Hideki Nagae, Shutaro Manabe, Kei Ohyama, Jane Zuccollo, Masayuki Takagi, Kevin C Pringle, Hiroaki Kitagawa

緒言

臍帯ヘルニアや腹壁破裂といった腹壁異常では胎児期の肺発達障害を示唆する報告がみられる。また腹壁異常に強度の脊椎側弯症を伴う先天異常は Body stalk anomaly (BSA) と呼ばれ生命予後が不良である。今回は BSA と類似したモデルを作製し、腹壁異常と肺成熟度の関連、および BSA における肺成熟度の評価を行った。

方法・対象

妊娠 60 日の羊を、手術の 24~48 時間前に牧場から搬送した。腹壁破裂モデルを Group A (n=25) とし、胎生 60 日に胎児手術を行った。帝王

切開で臍帯が付着したままの胎児を子宮外へ取り出し、羊胎仔の左側腹部を切開し、腸管を腹腔外へ脱出させた。羊胎仔を母羊の子宮内に戻し、子宮と母羊の腹壁を閉創した。母羊は牧場で妊娠を継続させ、妊娠満期（胎生約 145 日）に帝王切開で羊胎仔を娩出した。胎児手術を行わず、妊娠満期に帝王切開で娩出した羊胎仔コントロール群を Group B (n=14) とし、Group A と比較した。妊娠満期に帝王切開で娩出した羊胎仔は屠殺し、体重と頭殿長、肺容量を測定した。肺の病理組織は Hematoxylin eosin 染色 (HE) と Elastica-masson 染色 (E-M) を行い、Radial alveolar count (RAC) を計測した。これらの染色に加えてケラチンに対する免疫染色 (clone: AE1, AE3, mouse monoclonal, Nichirei, Tokyo, Japan) と Periodic acid-Schiff 染色 (PAS) を用いた二重染色を行った。肺胞上皮細胞中の I 型肺胞上皮細胞の割合である AT1 ratio (=AT1 count / (AT1 count + AT2 count)) を羊 1 例に対して 10 肺胞ずつ測定した。また Group A のうち、強度な側弯症を認めた Group A (S) (n=3) と認めなかった Group A (NS) (n=8) を比較した (Group A (S) vs Group A (NS))。さらに胎生 60 日に子宮外に 12 分間露出させ、妊娠満期に屠殺した sham operation 群 (n=5) とした。統計学的処理は Student' s t-test を用い、統計学的有意差を $P < 0.05$ とした。本実験はオタゴ大学動物倫理委員会の認可を得て行った (倫理委員会番号 AEC2-12、AEC2-14)。

結果

腹壁破裂を作製した 25 例中 12 例が生存し、1 例は腹壁破裂を認めなかったため除外した。11 例は消化管脱出を認めた腹壁破裂であった (Group A)。Group B は 14 例すべてが生存し、Sham operation を行った 5 例もすべてが生存した。Group A (NS) の腹壁欠損は消化管脱出を認め、Group A (S) では消化管と肝臓脱出を伴っていた。脊椎の最大屈曲部は椎体との接着がみられた。体重と頭殿長は有意差を認めなかった。肺容量は Group A と Group B 間で有意差を認めなかったが、Group A (S) と

Group A (NS)間で有意差を認めた (158.0 ± 124.3 ml vs 304.4 ± 69.3 ml、 $p=0.031$)。E-M は細気管支と肺胞上皮の移行部が明瞭で、RAC の測定に適していた。RAC は Group A と Group B 間、および Group A (S) と Group A (NS) 間で有意差はなかった。AT1 ratio は Group A と Group B 間で有意差を認めた (53.0 ± 3.63 % vs 57.5 ± 3.91 %、 $p=0.007$)。Group A (S) と Group A (NS) 間では統計学的有意差を認めなかった。Group A (S) および Group A (NS) と Group B との比較では有意差を認めた (52.4 ± 2.34 % vs 57.5 ± 3.91 %、 $p=0.049$ 、 53.2 ± 4.14 % vs 57.5 ± 3.91 %、 $p=0.024$)。胎児手術を行っていない Group B と Sham operation の比較は、すべての計測値で有意差はなかった。

考察

今回の研究では胎生 60 日の羊胎仔に対して腹壁破裂を作製した。羊の肺において、胎生 60 日は pseudoglandular phase に相当する。腹壁破裂は生理的臍帯内ヘルニアの異常であり、ヒトでは胎生約 12 週頃に発症する。ヒトの肺において pseudoglandular phase は胎生約 10-20 週であるため、今回の腹壁破裂の作製時期はヒト腹壁破裂の発症とほぼ同時期であり、疾患モデルとしては適切であった。十分な呼吸機能を備えるには、適切な肺胞表面積が必要である。RAC は終末気道の分岐数をあらわすとされており、肺胞数を評価する指標として検討した。肺胞内ガスと血液内ガスの交換は AT1 を介して行われる。AT2 が AT1 へ分化するため、AT1 ratio を測定し、AT2 から AT1 への分化度を評価した。AT2 はサーファクタントを産生することで肺胞表面積の維持に重要な役割をしている。羊やウサギを使った腹壁異常や横隔膜ヘルニアモデルで AT2 の形態を評価した報告では、統計学的有意差を認めなかった。今回の結果では AT1 ratio で有意差を認めた (Group A、 53.0 ± 3.63 % vs Group B、 57.5 ± 3.91 %、 $p=0.007$) が、RAC では有意差を認めなかった。その理由として腹壁異常は肺胞数を決める因子には影響しないものの、

AT2 から AT1 への分化に影響を及ぼしていると考えた。腹壁破裂においては横隔膜運動障害と呼吸機能異常の関係が報告されており、横隔膜運動と肺胞上皮細胞分化との関連が示唆された。側弯症の有無は肺の容積には関係したが、肺の成熟度には関連しなかった。腹壁異常の場合には側弯症の有無に関わらず、肺が未成熟である可能性が考えられた。

結論

羊胎仔腹壁破裂モデルでは AT1 ratio が減少したが RAC は変わらなかった。腹壁の大きな欠損は側弯症に関連していた。腹壁破裂モデルに側弯症を合併すると肺容量は減少したが、AT1 ratio は変わらなかった。肺容量や RAC に差がなく肺胞の発達が正常と思われても、肺胞上皮細胞の分化に影響が認められた。