

氏 名(本 籍)	うちだ あきこ (岩 手 県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 943 号
学位授与年月日	平成 6 年 1 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	医 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	線維芽細胞増殖因子がラット皮弁に及ぼす影響について
主 査	筑波大学教授 歯学博士 吉 田 廣
副 査	筑波大学教授 医学博士 大 塚 藤 男
副 査	理化学研究所 医学博士 坂 倉 照 好 (筑波大学客員教授)
副 査	筑波大学教授 医学博士 深 尾 立
副 査	筑波大学教授 医学博士 渡 邊 照 男

論 文 の 要 旨

【目的】

再建外科において、長い皮弁を安全しかも確実に生着させることは重要な研究目標である。皮弁の壊死を防いで生着を確実にするため、従来より delayed flap や各種薬剤投与などが試みられてきたが、臨床的に確実にその効果を期待できる方法は確立されていない。一方、近年、成長因子と創傷治癒との関連が注目されている。線維芽細胞増殖因子 basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) は線維芽細胞や上皮細胞の成長因子であるとともに、血管内皮細胞の増殖や血管新生促進にも作用をもつとされている。本研究では bFGF が有茎皮弁の生着長および血行状態に及ぼす影響について検討した。

【対象と方法】

- 1) 予備実験：体重200－300 g のウイスター系雄性ラット60頭を対象とし、正中背部の皮弁を用いて bFGF の各投与量における皮弁生着長について検討するため、皮弁近位端から壊死境界線までの距離を肉眼的に計測した。
- 2) 体重200－300 g のウイスター系雄性ラット69頭の正中背部に random pattern flap を作成し、挙上した皮弁の床面に対して buffer 0.5ml 滴下群 (Ⅰ群) と bFGF 溶液滴下群 (Ⅱ群) に分類し、皮弁を縫合して 2－14 日後の生着長を計測した。
- 3) 皮弁の近位部と遠位部で皮膚皮下組織より標本を採取し、皮弁内血管の増生と形態変化の有無について光顕的ならび電顕的に観察してⅠ群とⅡ群で比較検討した。

4) 同一ラット背部に並列に皮弁を2つ作成し、一方はコントロール、他方にはbFGFを投与した。皮弁作成2および14日後に50℃に加熱した墨汁を10ml注入して屠殺し、Spalteholz変法に準じて透明標本を作成し、皮弁および周囲血管形態を記録した。

5) bFGFのangiogenic effectを定量的に比較するためカルミン・ゼラチン液を注入後に周囲組織を含めて採取した皮弁を3N-NaOHを加えて消化させ、濾過した。濾液を分光光度計で530nmにおける吸光度を測定し、皮弁内の毛細血管量を定量した。

6) bFGFの上皮細胞新生効果を確認するため、皮弁作成後0-14日のラット53頭にBrdU 25mg/kgを腹腔内投与後に屠殺し、皮弁長軸方向に組織を採取して4つの小切片を作成した。この小切片を免疫組織化学染色して光顕的に基底細胞核1000個中に含まれるbrdU陽性細胞数を計測した。

【結果と考察】

1) 予備実験：皮弁作成2週間後ではbFGF溶液0.5ml (bFGF $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) 滴下投与群の皮弁生着長はコントロール群と比較して5%の危険率で有意に延長していた。この結果に基づいて以後の実験におけるbFGF投与量は、bFGF $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ に決定された。

2) bFGF滴下投与のⅡ群はⅠ群と比較して2-14日後のいずれにおいても皮弁生着長は長く、とくに14日目では両群間に5%の危険率で有意差がみられた。しかし、この結果は画期的な成績とはいえない。

3) Ⅱ群はⅠ群と比較して、血管数の増加、狭い不規則な形の血管内腔や丈の高い内皮細胞、肥厚した基底膜、外膜に多数の線維芽細胞、幼弱な内皮細胞および表面に微小絨毛突起をもつ内皮細胞などが特徴的な所見がみられ、bFGFの血管増生効果が示唆された。

4) Ⅰ群と比べてⅡ群では皮弁内および周囲組織における毛細血管の増生が顕著であった。この所見は皮弁作成後2日目に皮弁末端と接する創縁に認められ、早期の血管増生効果が示唆された。

5) Ⅰ群とⅡ群の間に有意差はみられなかった。その理由としては、bFGFの投与が1回のため効果が漸減すること、採取した試料が大きいため効果の及ばない部分が含まれた可能性があることが挙げられる。また、経時的にⅡ群の方が血管量が多い傾向であった理由は皮弁壊死部が少ないためと解釈された。

6) Ⅱ群はⅠ群と比較して、皮弁作成後14日目に皮弁先端部においてBrdU陽性細胞の有意な増加が基底層と上皮に認められた。また、皮弁縫合線では周囲に比べてBrdU陽性細胞数が多い傾向であった。その理由としては壊死上皮の再構築の進行が考えられた。

【結論】

bFGFの投与による皮弁生着長の増加は、単に壊死部の収縮によるものではなく、皮弁周囲と皮弁間で血管新生や血行再開が早期に生じて二次的に虚血状態の皮弁遠位部の血行が改善、および上皮細胞を含む皮弁の新生細胞増生効果による創傷治癒の促進が示唆された。

審 査 の 要 旨

創傷に関する研究は、臨床的（肉眼的）観察から細胞活動の顕微鏡的観察へと発展してきた。現在は主に、治癒過程に影響する細胞分泌や成長因子に関する研究等、細胞生物学および生化学に焦点が合わされている。

本研究は、著者が形成外科臨床医として、創傷治癒に直接的、積極的に関与する手段のひとつとして bFGF を取り上げ、特に皮弁生着率への影響を多方面から検討したもので、その意義は高く評価される。皮弁生着の延長効果の有意性など、実験データは必ずしも十分とはいえないが、bFGF の投与方法の改善や投与期間の検討などにより、今後の発展が期待できると判断された。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。