

## 主論文の要旨

### **Use of a pedicled omental flap to reduce inflammation and vascularize an abdominal wall patch**

有茎大網弁による腹壁修復パッチに対する  
抗炎症作用および血流付加作用について

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻  
運動・形態外科学講座 形成外科学分野

(指導：亀井 讓 教授)

内堀 貴文

## 【緒言】

組織欠損の再建において様々な非分解性マテリアルが用いられるが、これらのマテリアルは漿液腫、瘻孔、慢性炎症、術創部感染などの合併症の原因になりうる。それらに代わり生分解性のマテリアルによる再建が行われ、欠損組織自身の成長を促すとされているが、それらでさえも異物反応を引き起こす原因となり、合併症や不快感を引き起こしてしまうことがある。本研究における目的は、生分解性マテリアルによるパッチを用いて腹壁を再建する際に、大網弁がどのような影響を及ぼすかにつき調査することである。われわれはこれまでの研究結果を踏まえ、大網弁によりマテリアル内への血流が付加され、マテリアルに対する炎症反応を減少させるという効果があるのではという仮説を立てた。

## 【対象及び方法】

使用した動物は 10~12 週の 200~250g の雌の Lewis ラットであり、腹部正中に 1×2.5 cm の腹直筋全層欠損を作成した。欠損を生分解性のポリマーである PEUU (poly ester urethane urea) から合成されたマテリアルを用いて修復し、大網群ではマテリアルの下に有茎大網弁を敷いた。コントロール群では大網弁とマテリアルの間にシリコン製のシートを挟み、大網弁とマテリアルが直接接触れないようにした(Figure 1)。大網群では 4 週と 8 週にて、コントロール群では 8 週にてマテリアルを取り出した。各グループにおいて n=7 で行った。評価は、外観、組織学的評価、免疫染色、RT-PCR にて行った。統計解析は、3 群間の一元配置分散分析とボンフェローニ補正により行った。

## 【結果】

外観上大網群のマテリアル辺縁はより筋体内に馴染んでいるように見え、より多くの血管に囲まれていた。8 週時での厚さは、大網群、コントロール群ともに移植時より厚く、腹壁と同等の厚さになっており、両群に有意な差を認めなかった(Figure 2)。どちらの群においてもヘルニアは発生しなかった。

組織学的評価では、4 週、8 週の各時点で十分にマテリアル内に細胞は浸潤していた。血管侵入も各時点において確認できたが、8 週時においては大網群において有意に多くの血管を確認することが出来た(48±15 vs 27±7 / 10HPF p<0.05)。また、慢性炎症の指標とされる異物巨細胞を計測したところ、8 週時での異物巨細胞の数は大網群において有意に少なかった(10±2 vs 17±4 / 10HPF p<0.05)(Figure 3)。

免疫染色では、炎症を惹起させるとされる macrophage type1 で発現する CCR7 と、炎症を治め組織再生を促すとされる macrophage type2 で発現する CD163 の染色を行った。type2 / type1 の染色比率は 8 週時で大網群において有意に高く、大網群の 8 週時が 4 週時に比べ有意に高かった(Figure 4)。血流の付加については vWF と  $\alpha$  SMA による染色を行い、マテリアル内の血管の評価は vWF の染色領域の評価により行った。vWF の染色領域は 8 週時で大網群において有意に高く、大網群の 8 週時が 4 週

時に比べ有意に高かった。また、vWF の染色域は  $\alpha$  SMA 染色細胞に囲まれることが多かった(Figure 5)。8 週時の大網群において大網とマテリアルの境界を観察すると、macrophage type2 と血管がマテリアル内に侵入していく様子が観察できた(Figure 6)。

RT-PCR では、血管新生のマーカーである VEGF、抗炎症作用のマーカーである IL-10、IL1ra、炎症作用のマーカーである IL-12、IL1 $\beta$  の計 5 種類のサイトカインを測定した。VEGF と IL1ra はコントロール群に対し大網群において有意に発現が多く、逆に IL-12 と IL1 $\beta$  は大網群において有意に発現が少なかった。IL-10 については 2 群間で有意な差を認めなかった(Figure 7)。

### 【考察】

これまでも大網弁をバイオリアクターとして用いた再生研究は報告されているが、血流の付加に関するものがほとんどであった。また、創傷治癒の促進や感染防御などの効果についても、皮弁としての血流付加作用によるものにより従属的に起きているとする報告の他に、大網弁自体に感染防御作用や炎症抑制作用があるとする報告もあったが、それらの機序について説明したものは殆ど見られなかった。

本研究の免疫染色や PCR の結果より、血流付加作用に加え、組織再生や炎症制御に寄与する macrophage type2 が大網弁の中に豊富に存在し、それらが生分解性マテリアル内に侵入していることが確認できた。皮弁としての血流付加作用に加え、このマクロファージタイプ 2 の侵入が、大網弁自体の創傷治癒の促進や炎症抑制作用に寄与しているのではないかと考える。慢性炎症の指標とされる異物巨細胞の数も 8 週時で大網群ではコントロール群に比べ有意に減少しており、これも大網弁の炎症抑制作用を示唆するものと考えられる。

本研究では、マクロファージの染色として、代表的な CCR7 と CD163 の染色しか行っていない。他にも、CD86、CD206、CD68 など各サブタイプのマクロファージを染色する抗原はあり、これらを染色することでより詳細なマクロファージの性格を判断できたかもしれない。また、4 週時と 8 週時の 2 つの時点でしか観察を行っておらず、観察期間以外の急性期や慢性期での大網弁の影響については検討できていない。血流が付加されることで急性期の炎症が激しくなっている可能性は否定できず、今後の検討課題である。

### 【結語】

生分解性マテリアルを用いて腹壁全層欠損モデルの再建する際、大網弁をマテリアルの下に置くことで、血流が付加され、異物反応による炎症を緩和することが観察された。

これまでの臨床経験からも、大網弁が血流を付加促進させ、感染を防御するということはよく知られていたが、今回の研究により創傷治癒の促進や炎症抑制作用への寄与も示唆され、大網弁は人工材料を用いた再生研究に有用であると考えられた。