


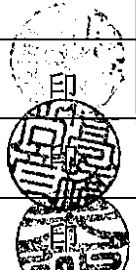


学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第523号	氏名	草野 徹
審査委員会委員		主査氏名	北野 敬明 
		副査氏名	高橋 尚彦 
		副査氏名	末延 聡一 
<p>論文題目： CO₂ Pneumoperitoneum Increases Secretory IgA Levels in the Gut compared with Laparotomy in an Experimental Animal Model (動物モデルにおいて、CO₂気腹操作は開腹操作に比べて腸管免疫である分泌型IgAを増加させる)</p> <p>論文掲載誌名： Surgical Endoscopy (in press)</p> <p>論文要旨 【緒言】 分泌型免疫グロブリンA(Secretory immunoglobulin A: s-IgA)は、全身免疫と腸管免疫の両方において重要な役割を担っている。しかし、CO₂気腹操作が腸管免疫に及ぼす影響は十分に分かっていない。本研究において、CO₂気腹操作が開腹操作と比べ、腸管免疫であるs-IgAの分泌にどのような影響を与えるか調べることを目的とした。【研究対象および方法】 7週齢の雄Sprague-Dawleyラットを用い、①麻酔群(コントロール群)、②開腹操作群、③CO₂気腹操作群の3群に分け、さらに各群、短時間群(30分操作)と長時間群(4時間操作)を作成した(各群5匹)。すべてのラットは、頭低位とし人工呼吸器下管理とした。モデルを作成後、0hr, 3hr, 24hr後に犠死させ、回腸と回腸内便を採取した。回腸組織中のToll-like receptor 4 (TLR4)、酸化ストレスの指標であるmalondialdehyde (MDA)、回腸内便中s-IgAを測定し、CO₂気腹操作と開腹操作がs-IgAの分泌にどのような影響を与えるかを検討した。【結果】 便中s-IgA値は開腹操作では増加せず、気腹操作にて有意に上昇した(p<0.05)。さらに、気腹操作群において、短時間と長時間の比較では、長時間操作において有意にs-IgA値の増加を認めた(p<0.05)。TLR4値は開腹操作では一過性に、気腹操作では徐々に増加した。MDA値は気腹操作において早期に上昇し、24時間後においても開腹操作より有意に高値を示した(p<0.05)。【考察】 今回の結果から、腸管免疫や全身免疫において重要な役割を担うs-IgAは開腹操作よりも気腹操作において有意に分泌されることが分かった。さらに、気腹操作においては時間依存性にs-IgAの分泌増加が認められた。その一方で、気腹操作は開腹操作と比較し、回腸組織中TLR4値やMDA値が高いことから、CO₂気腹操作が腸管粘膜に傷害を与えたことが示された。一般に、気腹操作に伴う腹腔内圧の上昇により、門脈圧の上昇が生じることが報告されている。さらに近年、気腹操作により腸管組織中のMDA値が上昇することも報告されている。そのため本研究においては、気腹操作による腹腔内圧の上昇のため、門脈圧の上昇・門脈血流量の減少が生じ、腸管血流の鬱血が生じたため、腸管粘膜が損傷され、bacterial translocationが生じやすい状況となり反応性にs-IgAが有意に分泌されたと推測された。【結語】 気腹操作は開腹操作と比較し、有意に便中s-IgAを分泌させることが示された。この現象には、気腹操作によって一過性の腸管粘膜傷害が生じることが影響していると考えられた。</p> <p>本研究は、動物実験によりCO₂気腹操作は開腹操作と比較し、有意に便中s-IgAを分泌させることを初めて示した有益な研究であり、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 (課・論)	第523号	氏名	草野 徹
審査委員会委員	主査氏名	北野 敬明	
	副査氏名	高橋 尚彦	
	副査氏名	末延 聡一	

学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、結果、考察について次の質疑を受けた。

1. 使用した動物数30例をどの実験にどの様に用いたのか？
2. 統計処理で分散分析と対応のないt検定は、それぞれどの実験で用いたのか、また多重比較はどの様なものを用いたのか？
3. Fig. 3のToll-like receptor4 (TLR4) のデータ (縦軸) はRatio表記なので、データが連続数で正規分布する可能性が低く、統計処理に分散分析 (パラメトリックス) よりもノンパラメトリックスの統計処理をすべきでは？
4. CO₂気腹群でs-IgA分泌量が増加した主な原因がCO₂による代謝性アシドーシスではなく、気腹圧による圧迫と考えるのであれば、代謝性アシドーシスを除外するために、どの様な実験をすれば良いか？
5. 貴教室からは、2001年に末松らが気腹モデルを用いた論文発表を行っているが、今回の論文発表までの間にモデルに改良を加えたか？
6. 回腸内の便を採取し、種々のアッセイを行っているが、ラットは時間帯によって食事摂取量が異なる。この点、絶食等の食事調整を行ったか。実験を行う時間を統一したか？
7. 今回の研究では分泌型IgAを検討している。これに影響を及ぼすマーカーはたくさんあるであろう。そのなかで、TRL4およびMDAを選択した理由は？
8. Reference 3で、貴教室の衛藤らが、腹腔鏡下胃切除にともない一過性の肝機能障害を生じた患者27名のうち、3名に重篤な腸炎を生じたことを報告している。今回の研究との関連性 (動機付け) は？
9. 結論が、「気腹による腸管粘膜粘膜障害を減ずるには、気腹の時間をできるだけ短く、またできるだけ低圧で行うべき」というのは、当然すぎる印象がする。今回の結果から、気腹による障害をできるだけ減ずる新たな方法の立案は可能か？
10. TLR4の下流について、今回は分泌型IgAを主に注目しているが、NFカッパ-Bまた、IFNなどのサイトカインがどのように変化しているか評価をしたか？
11. 酸化ストレスの評価として、今回malondialdehyde (MDA) を用いたが、他のマーカー、たとえばDNA酸化マーカーの、8-OHdG、蛋白酸化についてはカルボニル化蛋白などを選択しなかった理由は？
12. TLR4を刺激する可能性のある、腸管の細菌増殖が各群で差は無いのか。
13. 論文Fig 1.に関して、Long-time subgroupにおいて、(Short-timeに比して) 気腹群が、3時間よりも24時間で著明に分泌型IgAが増多しているが、これは徐々に増えるのか、あるいは、あるポイントで増えるのか。
14. 今回、回腸末端に注目して検討しているが、他部位の評価は行っているのか。また、回腸末端に着目している根拠は？

これらの質疑に対し、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者であると認定した。

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 草野 徹

論 文 題 目

CO2 Pneumoperitoneum Increases Secretory IgA Levels in the Gut compared with Laparotomy in an Experimental Animal Model

(動物モデルにおいて、CO2 気腹操作は開腹操作に比べて腸管免疫である分泌型 IgA を増加させる)

要 旨

緒言：分泌型免疫グロブリン A (Secretory immunoglobulin A : s-IgA) は、全身免疫と腸管免疫の両方において重要な役割を担っている。しかし、CO2 気腹操作が腸管免疫に及ぼす影響は十分に分かっていない。本研究において、CO2 気腹操作が開腹操作と比べ、腸管免疫である s-IgA の分泌にどのような影響を与えるか調べることを目的とした。

研究対象および方法：7 週齢の雄 Sprague-Dawley ラットを用い、①麻酔群(コントロール群)、②開腹操作群、③CO2 気腹操作群の 3 群に分け、さらに各群、短時間群(30 分操作)と長時間群(4 時間操作)を作成した(各群 5 匹)。すべてのラットは、頭低位とし人工呼吸器下管理とした。モデルを作成後、0hr、3hr、24hr 後に犠死させ、回腸と回腸内便を採取した。回腸組織中の Toll-like receptor 4 (TLR4)、酸化ストレスの指標である malondialdehyde (MDA)、回腸内便中 s-IgA を測定し、CO2 気腹操作と開腹操作が s-IgA の分泌にどのような影響を与えるかを検討した。

結果：便中 s-IgA 値は開腹操作では増加せず、気腹操作にて有意に上昇した($p < 0.05$)。さらに、気腹操作群において、短時間と長時間の比較では、長時間操作において有意に s-IgA 値の増加を認めた($p < 0.05$)。TLR4 値は開腹操作では一過性に、気腹操作では徐々に増加した。MDA 値は気腹操作において早期に上昇し、24 時間後においても開腹操作より有意に高値を示した($p < 0.05$)。

考察：今回の結果から、腸管免疫や全身免疫において重要な役割を担う s-IgA は開腹操作よりも気腹操作において有意に分泌されることが分かった。さらに、気腹操作においては時間依存性に

s-IgA の分泌増加が認められた。その一方で、気腹操作は開腹操作と比較し、回腸組織中 TLR4 値や MDA 値が高いことから、CO₂ 気腹操作が腸管粘膜に傷害を与えたことが示された。一般に、気腹操作に伴う腹腔内圧の上昇により、門脈圧の上昇が生じることが報告されている。さらに近年、気腹操作により腸管組織中の MDA 値が上昇することも報告されている。そのため本研究においては、気腹操作による腹腔内圧の上昇のため、門脈圧の上昇・門脈血流量の減少が生じ、腸管血流の鬱血が生じたため、腸管粘膜が損傷され、bacterial translocation が生じやすい状況となり反応性に s-IgA が有意に分泌されたと推測された。

結 語：気腹操作は開腹操作と比較し、有意に便中 s-IgA を分泌させることが示された。この現象には、気腹操作によって一過性の腸管粘膜傷害が生じることが影響していると考えられた。