

氏 名	大 上 啓 輔
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 3 8 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 3 年 3 月 1 0 日
学 位 論 文 題 目	Histological examination of the relationship between respiratory disorders and repetitive microaspiration using a rat gastro-duodenal contents reflux model (ラット胃十二指腸液逆流モデルを用いた呼吸器疾患と反復性微小誤嚥との関連の組織学的検討)
審 査 委 員	主 査 教 授 安 藤 朗 副 査 教 授 野 坂 修 一 副 査 教 授 谷 徹

論文内容要旨

※整理番号	643	(ふりがな) 氏名	おおうえ けいすけ 大上 啓輔
学位論文題目	Histological examination of the relationship between respiratory disorders and repetitive microaspiration using a rat gastro-duodenal contents reflux model (ラット胃十二指腸液逆流モデルを用いた呼吸器疾患と反復性微小誤嚥との関連の組織学的検討)		
<p>[研究の目的]</p> <p>近年、欧米では、胃食道逆流症 (Gastroesophageal reflux disease:以下 GERD) が増加している。GERD は、食道症候群と食道外症候群に分類され、食道をはじめとする様々な組織や臓器に影響を及ぼす。2006年の Montreal Definition では、食道外症候群のうち、咳、喉頭炎、喘息、歯牙酸蝕症は、GERD との関係が強く示唆されており、胃内容物の逆流による微量誤嚥を伴った GERD は、様々な呼吸器疾患を引き起こすとされている。特に GERD に関連した微小誤嚥は、喘息の悪化や COPD を増悪させる傾向にあることも報告されている。</p> <p>近年、GERD による微量誤嚥が、肺移植を受けた患者に増加していることが報告されている。過去 20 年間、肺移植は肺疾患の末期の患者の中で選択肢の一つとなっており、肺の同種移植患者の長期生存率は、閉塞性細気管支炎 (Bronchiolitis obliterans syndrome: 以下 BOS) の発症の有無が関連しているといわれている。BOS の発症には、免疫が関与する因子と関与しない因子の両方が関わっており、誤嚥を伴う高度の GERD は、肺移植後の BOS 発症における免疫が関与しない危険因子であると考えられている。GERD の発症が肺移植後に増加する原因としては、肺移植の際の医原性迷走神経の損傷と、胃内容物排出を持続させる免疫抑制剤の使用によるものが考えられている。さらに、肺移植後の BOS 発症例では逆流物中の胃酸よりも胆汁酸が深く関わっており、時間、用量依存的に BOS の発症に関わっていることが示唆されている。</p> <p>今回、GERD と呼吸器疾患との因果関係を証明するために、胃十二指腸内容物逆流モデルの両肺を組織学的に観察した。この動物モデルは、これまでに、バレット食道や食道腺癌の組織学的研究で用いられ、最近では、食道外症候群 (喉頭炎や歯牙酸蝕症食) 発生のメカニズムを研究するためにも用いられてきたものである。</p> <p>[方法]</p> <p>実験は 8 週齢の雄性 Wistar ラットを用いて、胃液を含む十二指腸液の逆流が起こるモデルを作成した。手術方法は胃-食道接合部を切離し、切離した食道側を挙上してきた上部空腸と端側吻合し、その後、一針、食道と空腸の漿膜側から一部筋層を含み縫合することにより、輸入脚をつり上げた。これにより、経口摂取した食物は、輸出脚へ通過しやすくなり、生存率が向上する。コントロール群としては、開腹のみの Sham operation を行った。各群で n=7 とした。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

10週、20週にて屠殺し、両側肺を摘出。肺重量を測定後、10%のホルマリン液にて肺組織を固定した。パラフィンブロックを作成し、4 μ m幅に薄切、H-E染色、免疫染色(α -SMA, CD68)、アルシアンブルー染色、アザン染色を行い、組織学的検討を行った。

[結果]**<拡大鏡下および肉眼的所見>**

術後10週目、20週目の逆流モデルでは、両肺において著しい充血、含気の低下を認めた。HE染色切片で局所的に強い炎症細胞浸潤と両側肺野には部分的に無気肺を認めた。炎症細胞浸潤の程度は時間依存性に増加した。

<組織学的所見>

H-E染色では、逆流モデルの気管支と細気管支の周囲に、リンパ球や好中球、マクロファージ、多核巨細胞などの強い炎症細胞浸潤を認めた。また、胆汁酸および食物成分を伴う多核巨細胞を認めることがあり、重度の症例では、好中球の浸潤で閉塞された細気管支炎も認められた。

(杯細胞過形成)

逆流モデルで、PAS-アルシアンブルー染色陽性の杯細胞の著しい増加を認めた。術後20週目では、10週目に比べて気管支および細気管支上皮細胞に著しい数の杯細胞の増加を認め、時間依存性に杯細胞の増加が認められた。

(細気管支での平滑筋の肥厚、および気管支周囲血管の増加)

H-E染色、および α -SMA染色の免疫染色の結果から、逆流モデルの両側肺では、術後10週目、20週目ともに対照群に比べ、気管支および細気管支の平滑筋層の肥厚と気管支周囲血管の増加が確認できた。

(細気管支内腔の狭窄)

多くの逆流モデルでは、気管支周囲のリンパ球浸潤、多数のCD68陽性のマクロファージ、多核巨細胞、紡錘形細胞から成るポリープ状の肉芽組織による細気管支内腔の狭窄で特徴づけられるBO様の病変を認めた。さらに肉芽組織には、アザン染色に陽性の線維性結合組織を部分的に認めた。このBO様の病変は、左肺では10週目で7匹中4匹、20週目で7匹全てのラットに、右肺では10週目で7匹中2匹、20週目で7匹全てのラットに認めた。

[考察]

今回、我々が作成した逆流性ラットモデルの肺では、異物反応を伴う気管支肺炎や無気肺、線維性結合、多数の細気管支周囲の好中球や好酸球の浸潤による化膿性炎症を認めた。さらには、杯細胞化生の増生や平滑筋層の肥厚を観察することができた。これらの所見より、GERDにより引き起こされた反復性微小誤嚥は、様々な呼吸器疾患、特に喘息やCOPDの増悪に寄与しているように思われた。また、肺移植や免疫抑制剤療法をすることなく、BO様の病変を得ることができた。以上より、胆汁酸を含んだGERDは、肺移植患者の免疫が関与していない因子として、BOの発症に関わっていることが示唆された。

[結論]

胆汁酸を含んだGERDが肺移植患者の免疫が関与していない因子として、BOの発症に関わっていることが示唆された。胃十二指腸逆流モデルは、これまでバレット食道の研究に使われていたが、食道外病変や微小誤嚥に関連した閉塞性細気管支炎を含む呼吸器疾患の発生の研究にも役立つものと考えられる。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	643	氏名	大上 啓輔
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨)</p> <p>本研究は、胃食道逆流症（以下 GERD）疾患モデルであるラット胃十二指腸液逆流モデル（以下逆流モデル）を用いて、GERD に関連した微小誤嚥と呼吸器疾患との関連性について報告したものである。GERD は食道を越えて様々な組織に影響し、喉頭炎や喘息、歯牙酸蝕症など種々の病態を引き起こすと考えられている。その中でも、GERD は逆流関連の慢性咳嗽や喘息症候群、肺同種移植後に発生する閉塞性細気管支炎（Bronchiolitis Obliterans: BO）の発生や、喘息や慢性閉塞性肺疾患（COPD）の増悪に関与することが報告されている。このことに注目して逆流モデルの肺組織を組織学的に検討した。その結果、逆流ラットの肺において、重症喘息患者の肺組織と同様の airway remodeling の所見及び BO 様病変が発生することを確認した。これらのことから以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) GERD 関連微小誤嚥が、喘息や COPD の悪化に関与していること。 2) BOS の発症に胆汁酸が大いに関与していること。 3) 肺移植や免疫抑制療法をすることなく、反復性誤嚥のみで BO 様病変が発生すること。 <p>本論文は、GERD に関連した微小誤嚥が、様々な呼吸器疾患の発生や増悪に関連していることについて新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 594 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 23 年 2 月 2 日)</p>			