

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	成育科学領域小児外科学教育研究分野 氏名 小林 完
<p>(論文題目)</p> <p>A Morphometric Investigation of Pulmonary Sympathetic Innervation in Nitrofen-induced Congenital Diaphragmatic Hernia Rats (Nitrofen 誘発先天性横隔膜ヘルニアラットにおける肺の交感神経支配に関する定量形態学的検討)</p>	
<p>(内容の要旨：和文で 2,000 字程度)</p> <p>【目的】先天性横隔膜ヘルニア (Congenital diaphragmatic hernia: CDH) は 2500 出生に 1 例の頻度で発症し、新生児医療の発達した現在においても致死率の高い疾患の 1 つである。CDH 新生児では潜在する肺低形成と遷延性肺高血圧の程度が予後に大きく影響を与える。しかし、肺低形成の発生機序、特に神経支配に関しては不明な点が多い。申請者らは CDH モデルラットを作成し、肺の交感神経を定量形態学的に測定し、肺低形成との関連について検討した。</p> <p>【方法】妊娠 9 日目のラット (4 匹) にオリーブオイルに溶解した nitrofen100 mg を胃ゾンデを用い経口投与した。妊娠 22 日目に全身麻酔下に帝王切開で胎仔を取り出した。対照群 (3 匹) にはオリーブオイルのみを投与した。胎仔の腹壁を切開し肉眼的に横隔膜ヘルニアの有無を確認した。横隔膜ヘルニアの有無により、対照、Rt.CDH (右側に CDH が発生)、Lt.CDH (左側に CDH が発生) および Non-CDH (nitrofen を投与したが CDH が発生しなかった) の 4 群に分けた。全群において胎仔の両肺を摘出し、左右の重量を計測した。その後、両肺をホルマリン固定パラフィン包埋し、主気管支レベルの全肺の組織切片を作成した。交感神経のマーカーである tyrosine hydroxylase (TH) に対する抗体を用い免疫染色を行い光顕観察した。全肺面積に対する TH 陽性神経線維の面積比を測定し、各群間の比較検討を行った。統計学的検討には Non-parametric two-way ANOVA (Friedman's test) および post-hoc test (Fisher's Protected Least Significant Difference) を用い、$P < 0.05$ を有意とした。</p> <p>【結果】4 匹の nitrofen 投与ラットから計 40 匹の胎仔が娩出された。CDH 発生率は 80.0% であった。肺重量の計測により、1) 全群で右肺が左肺より有意に重量が重い、2) CDH が生じている側の肺は対照群の同側肺より有意に重量が軽い、3) Rt.CDH の右肺は Non-CDH および Lt.CDH の右肺より有意に重量が軽い、4) Rt.CDH の左肺は対照群の</p>	

左肺より有意に重量が軽い、5) 対照群と Non-CDH 群の比較では両側ともに重量に有意差を認めない、ことが示された。TH 抗体を用いた免疫染色では、対照群に比較し CDH 患側肺では TH 陽性構造物 (交感神経) が減少していた。さらに、TH 陽性神経線維の面積比では、1) Rt.CDH、Lt.CDH とともに CDH 患側肺は健側肺に比べ有意に面積比が小さい、2) Rt.CDH の右肺は Lt.CDH の右肺より有意に面積比が小さい、3) Lt.CDH の左肺は Rt.CDH の左肺より有意に面積比が小さい、4) 対照群と Non-CDH の比較では両側ともに面積比に有意差を認めない、ことが示された。

【考察】マウスやラットへの nitrofen 投与による CDH 誘発モデルは CDH の病因究明のために広く用いられている。Nitrofen はレチナル脱水酵素を抑制することによりレチノイド伝達系を阻害する作用を有すると考えられている。レチノイド伝達系は神経堤と末梢神経系の発達に影響を与え、肺発生の初期段階に nitrofen が投与されると肺の神経発達異常を惹起する可能性がある。Lath らの報告では、nitrofen 曝露胎児肺は肺発生の初期段階 (横隔膜が形成されるよりも早期) でも低形成を呈する。また、nitrofen 曝露胎児肺において pan-neuronal marker である protein gene product 9.5 抗体を用いた免疫染色により、対照群と比較し有意に神経成分が減少していること、さらに交感神経の相対的增加および副交感神経の相対的減少が示されている。一方、今回の実験では CDH 患側肺は健側肺に比べ、交感神経が有意に減少する結果となった。この結果の相違の理由として観察時期の違いが考えられる。すなわち、Lath らは肺発生の初期段階 (胎生 12.5 ~ 16.5 日) の肺を用いたのに対して我々は肺発生の後期段階である胎生 22 日の肺を用いた。肺の神経発達や神経伝達物質の発現は肺発生の初期に生じるとされる。つまり、肺発生の初期段階において交感神経はある程度形成されるが、nitrofen 曝露により CDH が生じると、腹腔内臓器による肺の機械的圧迫が生じるため、交感神経が減少したと考えられる。

【結語】Nitrofen 誘発 CDH ラットにおいて肺重量および交感神経支配の減少が生じていることを示した。肺の交感神経支配の減少は CDH における呼吸機能障害に重要な役割を果たす可能性が示唆された。