

氏名	宇賀 菜緒子
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第 1250 号
学位授与の日付	2020年9月28日
学位論文題名	A new murine ileostomy model: Recycling stool prevents intestinal atrophy in the distal side of the ileostomy 「ラット人工肛門モデルにおける、人工肛門への便注入療法の有用性の検討」 Fujita Medical Journal. in press
指導教授	鈴木 達也
論文審査委員	主査 教授 吉川 哲史 副査 教授 東口 高志 教授 塚本 徹哉

論文内容の要旨

【背景】

新生児医療において、壊死性腸炎、特発性腸穿孔、小腸閉鎖症などで救命のため小腸人工肛門を造設せざるを得ない症例が存在する。特に、造設部位が口側に近い場合、術後の栄養管理、静脈栄養の離脱に難渋し成長障害を伴う症例が多い。このような症例に口側腸管からの排出物を肛門側腸管に戻すこと(以下、便注入療法)が有用であるとされ、それにより静脈栄養離脱や体重増加が得られたとする報告を散見する。しかし症例数が限られており、統計学的検討は困難でこの治療法に科学的・統計学的な根拠はない。

【目的】

そこで今回我々は、ラット人工肛門造設モデルを作製し、便注入療法に伴う腸管の形態学的・組織学的変化を観察することでその有用性を検討した。

【方法】

8週齢Wistar/ST雄ラットを用い、盲腸より5cm口側にloop ileostomyを造設した。毎日8～20時に独自に開発したパウチを使用し口側腸管からの排便を回収した。回収した便を生食に溶解したもの、または生食のみをそれぞれ8時、20時に4mlずつ肛門側腸管へ注入した。処置を1週間継続した。深麻酔下に開胸し、左心室を穿刺して血液をリン酸緩衝食塩水で置換した後、4%パラホルムアルデヒドを用いて還流固定し、回腸を摘出した。人工肛門から口側あるいは肛門側に5～35mmの範囲で4 μ mのパラフィン薄切標本作製し、粘膜筋板から絨毛先端までの長さを計測し、口側腸管の絨毛長に対する肛門側腸管の絨毛長の萎縮の程度を評価した。また、肛門側腸管における杯細胞数を測定した。細胞の分化増殖をKi67染色およびTUNEL染色を用いて評価した。

【結果】

絨毛長測定において、肛門側腸管の絨毛長は生食注入群で81%(口側548(236-776) μ m、肛門側442(315-641) μ m)と有意な減少を認めたと、便注入群では97%(口側436(294-638) μ m、肛門側421(240-729) μ m)とsham群{102%(口側390(210-578) μ m、肛門側397(215-718) μ m)}と同等であり、萎縮を認めなかった。杯細胞数は、生食注入群では有意な減少を認めたと、便注入群で改善を認めたと(sham群5.8(3.6-9.5)個/100 μ m、生食注入群3.6(2.0-7.6)個/100 μ m、便注入群4.9(2.4-7.5)個/100 μ m)。Ki67陽性細胞は生食注入群で26.8(13.8-35.4)%とsham群の48.0(39.0-56.7)%と比べて有意に減少していたが、便注入群は40.1(31.2-45.7)%と有意な改善を認めたと。絨毛先端100 μ mにおけるTUNEL陽性細胞は、生食注入群では5.0(2.0-14.0)個でsham群の2.0(0-5.0)個と比べて有意に増加していたのに対し、便注入群では4.0(1.0-9.0)個と減少が見られた。

【結語】

ラット人工肛門モデルにおいて回収した便の注入を行うことで肛門側腸管の萎縮、形態的変化が改善しており、便注入療法は有効であると考えられた。また、本研究におけるモデルは、便より効果的な注入物質の検討や、至適な注入量や頻度の検討を行うことも可能であり、今後のさらなる研究応用に有用であると考えられる。

論文審査結果の要旨

新生児の消化管疾患に対し人工肛門を増設した場合、それに伴う成長障害が大きな問題となる。このような症例に対し、口側腸管からの排出物を肛門側腸管に戻す便注入療法の有用性が示唆されている。しかしながら、様々な要因が影響する患児での検討では明確な有用性を示すことが困難なため、本研究ではラット人工肛門増設モデルを独自に作製し便注入療法の有用性について解析した。8週齢のラットを用い、盲腸から5cm口側にloop ileostomyを造設し、独自に開発したパウチを使用し肛門側腸管からの排便を回収、回収した便を生食に溶解し肛門側腸管へ注入するシステムである。Sham群、便注入群、生食注入群間で、絨毛長、杯細胞数、Ki67陽性細胞、絨毛先端100 μ mにおけるTUNEL陽性細胞について詳細に解析し、いずれの解析項目においても便注入群で生食注入群に比して有意な改善が認められた。以上の研究結果から、申請者は患者を対象とした臨床研究では実証困難な便注入療法の有用性を、独自に開発したラット人工肛門増設モデルを用いて証明し得た。本研究は臨床的に重要性の高い研究であり、かつ今回申請者が作成した動物モデルは今後の研究のさらなる展開が期待される極めて貴重な動物モデルと考えられる。審査委員会での質疑応答も的確になされたことから、博士論文として十分に値すると判断した。