京都大学	博士（医学）	氏　名	大野　恒久
論文題目	Drug Delivery System of Hepatocyte Growth Factor for theTreatment of Vocal Fold Scarring in a Canine Model (イヌモデルにおける肝細胞増殖因子のドラッグデリバリーシステムを用いた瘢痕声帯治療の研究)		

（論文内容の要旨）

声帯の瘢痕は外傷や炎症などの原因より起こり、治療困難な疾患である。瘢痕化は声帯の層構造を破壊し、声帯粘膜の粘弾性の変化により重篤な嗄声をきたす。動物モデルを用いた組織学的研究は、瘢痕声帯における過度のコラーゲンの沈着、エラスチンの減少、および声帯粘膜の粘弾性を維持するヒアルロン酸（HA）の減少を示した。それらの研究から、HA の産生を促進し、コラーゲンの合成を阻害する物質があれば、創傷治癒における声帯の瘢痕化を抑制し、治療に有効であると考えられた。肝細胞増殖因子（HGF）は強力な抗線維化作用を有し、様々な臓器において線維化の抑制効果を示した。また今までの研究より、瘢痕声帯における HGF の治療の可能性が示されてきた。しかし HGF はそのまま投与しても、生体内では不安定で容易に分解してしまうため作用は限られたものとなる。そこで生体内での作用を高めるため、HGF をハイドロゲルに包埋し、HGF が 2 週間かけて生体内で持続的に放出される、ドラッグデリバリーシステム（DDS）を使用した。今回の研究では、犬モデルにおいて、HGF の DDS を使用し、瘢痕声帯に対する治療効果を調べることを目的とした。

8 匹の犬を使用、すべて麻酔下に直達喉頭鏡を挿入して声帯を明視下におき、片側の声帯のみを筋層まで切除した。切除 1 ヶ月後に、4 匹の犬に対し、1ug の HGF を含有したハイドロゲル溶液 0.5mL を傷害声帯に注射（HGF グループ）、残りの 4 匹には PBS を含有したハイドロゲル溶液 0.5mL を同様に注射した（sham グループ）。切除 6 か月後に、声帯の機能評価と組織学的評価を行った。機能評価は、摘出喉頭の吹鳴実験により声帯振動を評価した。ハイスピードカメラで撮影、画像解析を行い、声帯閉鎖時と最大開大時の声帯振動振幅と声門間隙の面積を測定、組織学的評価は、声帯の染色によりコラーゲン、エラスチン、HA を評価し、声帯粘膜の厚さを測定した。これらは、2 つのグループ間で比較された。HGF グループは sham グループと比較し、吹鳴実験で良好な声帯粘膜振動を認め、声門間隙は有意に小さく、声帯振動振幅は有意に大きかった。また sham グループでは、過度の組織の拘縮およびコラーゲンの蓄積、エラスチン・HA の減少を認め、声帯粘膜は有意に薄かった。一方、HGF グループでは、組織の拘縮およびコラーゲンの蓄積は軽度で、エラスチン・HA の回復を認めた。

瘢痕声帯の治療には、瘢痕組織を正常組織に置き換える技術や、瘢痕組織を柔らかくする薬剤などの開発が必要である。これまでの研究は、瘢痕声帯におけるコラーゲンや HA などの細胞外マトリックスの変化を明らかにした。これらの組織学的変化に基づき、今回組織工学的手法が試みられた。再生医学における治療戦略として、細胞治療、増殖因子治療、再生材料の移植などがあげられるが、増殖因子治療は様々な再生医学の分野で注目を集めている。HGF は強力な抗線維化作用を有し、コラーゲンを分解する。以前の研究で、HGF 溶液投与による瘢痕声帯の治療効果は示されていたが、不十分であった。今回の研究では、HGF の生体内での効果を高めるため、ハイドロゲルによる DDS を使用した。この HGF の DDS は、声帯振動の有意な改善を示し、コラーゲン沈着・組織拘縮の抑制、HA・エラスチンの改善効果を示した。このことは、HGF の DDS は HGF 溶液注射より、瘢痕声帯治療のより良い効果を証明した。しかし、瘢痕声帯の再生には、今後さらなる研究が必要とされるだろう。

（論文審査の結果の要旨）

瘢痕声帯は外傷や炎症などより生じ、現状ではその治療法の選択は極めて限られている。声帯の物性の変化がその主因であり、今までの研究は、瘢痕声帯における過度のコラーゲンの沈着・ヒアルロン酸の減少を示した。これら組織学的変化にアプローチするために、肝細胞増殖因子(HGF)に着目した。HGF は様々な臓器において抗線維化作用を示し、瘢痕声帯治療の可能性が示唆された。しかし、HGF は生体内では不安定ですぐ分解してしまうため、生体内で安定化させ、かつ効果を持続させる投与法を開発する必要があった。そこで申請者は、生体吸収性徐放製剤ゼラチンハイドロゲルを用いた HGF のドラッグデリバリーシステムを考案し、犬瘢痕声帯モデルにおいて有効性を検討した。まず犬声帯の片側を筋層まで切除し、対側をコントロールとした。傷害 1 か月後に、HGF または生食を含有したハイドロゲルを傷害声帯側に注射し、傷害 6 ヶ月後にこれら 2 群間で治療効果を比較検討した。HGF 治療群では、組織学的にコラーゲンの沈着・組織拘縮の減少、エラスチン・ヒアルロン酸の改善を認め、機能的に良好な声帯振動を認めた。これらの所見は、HGF ドラッグデリバリーシステムが、瘢痕声帯に対する成長因子治療法として新たな可能性を持つと考えられた。

以上の研究は、瘢痕声帯における HGF ドラッグデリバリーシステムの有効性を示し、新しい治療法の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 21 年 2 月 23 日実施の論文内容とそれに関連した試問をうけ、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降