| 京都大学 | 博士（　医　学　） | 氏　名 | 岸本　曜 |
|---|---|---|---|
| 論文題目 | Chronic vocal fold scar restoration with hepatocyte growth factor hydrogel<br>（肝細胞増殖因子ハイドロゲルを用いた慢性期瘢痕声帯修復） | | |

（論文内容の要旨）

ヒトのコミュニケーションにおいて音声の担う役割は大きく、社会生活を送る上で重要な要素の一つである。発声において最も重要な役割を担う声帯は、細胞外マトリックスが層状に存在するという特徴的な構造を有し、その振動により音声を生み出す。外傷・炎症後に生じる瘢痕はこの層構造を破綻させ、粘弾性を硬化し、振動を障害し嗄声をきたす。これまでの動物モデルを用いた研究から瘢痕声帯組織におけるコラーゲンの過剰かつ不整な蓄積、粘弾性維持に必要なヒアルロン酸、エラスチンの減少といった組織変化が明らかになっており、瘢痕声帯の治療、予防にはこういった組織変化の是正が必要と考えられている。しかし、瘢痕化のメカニズム、病態に不明な点も多く、予防法、治療法は未だ確立されていない。

瘢痕や線維化病変に対する増殖因子を用いた治療法開発が図られるようになり、声帯においても肝細胞増殖因子（HGF）が瘢痕化抑制効果を有することが明らかになってきた。HGF は発生、細胞増殖、血管新生、組織の再生、創傷治癒などで重要な役割を担う多彩な生理活性を有するタンパク質であり、肝、腎、肺などの臓器において、組織の線維化抑制、治療効果が報告されている。しかし一度成熟した慢性期瘢痕声帯に対するその効果は明らかではない。そこで本研究では HGF の局所投与が慢性期瘢痕声帯の修復に有用であるかを検証するため動物実験を行った。

本研究には 8 匹のビーグル犬を使用した。麻酔下に直達喉頭鏡を挿入して声帯を明視下においた後、片側の声帯の粘膜組織を筋層直上まで切除する方法により声帯傷害モデルを作成した。イヌにおいて瘢痕声帯の成熟には 6 ヶ月を要すると考えられているので、声帯傷害後 6 ヶ月の時点で慢性期瘢痕声帯モデルとし、4 匹に対して 1μg の HGF を含有したハイドロゲルを 1 ヶ月の間隔をあけて 2 回注射し（HGF グループ）、残りの 4 匹には PBS を含有したハイドロゲルを同様に注射した（sham グループ）。声帯傷害後 9 ヶ月目に喉頭を摘出し、声帯の機能と組織学的変化を評価した。

声帯機能は摘出喉頭を用いた吹鳴実験により評価した。両側披裂軟骨を内転させ声門閉鎖状態とし、声門下圧を計測しながら人工気流により声帯を振動させ、その振動をハイスピードカメラで撮影した。発声閾値圧を計測すると共に、画像解析により発声時の声帯振動振幅、声門間隙の面積をそれぞれ測定した。組織学的には、H&E 染色にて声帯粘膜固有層厚を計測し拘縮の指標とし、また、Elastica-Van-Gieson 染色にてコラーゲン、エラスチンを、Alcian Blue 染色（ヒアルロン酸消化法）にてヒアルロン酸を評価した。

機能評価では、HGF グループで発声閾値圧は有意に低く、声帯振動振幅比は有意に大きかった。発声時の声門間隙面積は両群間で有意差を認めなかった。組織学的には sham グループで組織拘縮、コラーゲンの過剰蓄積、エラスチン・ヒアルロン酸の減少を認めるのに対し、HGF グループでは組織拘縮やコラーゲンの蓄積は軽度であり、エラスチン、ヒアルロン酸も保たれていた。本研究の結果により HGF の慢性期瘢痕声帯への局所投与が声帯振動を有意に改善し、組織拘縮・コラーゲン沈着を抑制、エラスチン・ヒアルロン酸の回復に働くこと、つまり、HGF が慢性期瘢痕声帯の修復に働くことが示された。今後、臨床応用を視野に入れ、適切な投与濃度、回数、経路等に関しても検討していく予定である。

（論文審査の結果の要旨）

声帯の外傷・炎症後に生じる瘢痕は、声帯粘膜の物性を変化させ、振動を障害し、難治性の嗄声をきたす。近年、調節因子を用いた治療法開発が図られるようになり、傷害声帯に肝細胞増殖因子（HGF）を投与することにより過剰な瘢痕形成が予防されることが明らかにされてきた。しかし、一度成熟した慢性期瘢痕声帯に対する HGF の効果は明らかではない。そこで本研究では HGF の投与が慢性期瘢痕声帯治療に有用であるかを、イヌを用いた実験で検証した。

片側の声帯粘膜組織を筋層直上まで切除する方法により声帯傷害モデルを作成し、6ヵ月後に1μg の HGFを含有したハイドロゲルを1ヶ月の間隔をあけて2回注射した（HGFグループ）。対照群にはPBSを含有したハイドロゲルを同様に注射した（sham グループ）。声帯傷害後 9 ヶ月目に喉頭を摘出し、発声機能を評価したところ、発声閾値圧は HGF グループで有意に低く、声帯振動振幅比は有意に大きかった。組織学的評価では HGF グループでは組織拘縮やコラーゲンの蓄積は軽度であり、エラスチン、ヒアルロン酸も保たれていた。本研究の結果により HGF が慢性期瘢痕声帯の修復に働くことが示された。

以上の研究は肝細胞増殖因子の瘢痕声帯に対する作用機序の解明に貢献し、瘢痕声帯に対する新たな治療法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23年1月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、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