

表 題 マウスにおける気管狭窄症モデルに対して生分解性ポリジオキサノンス
テントを用いた新たな治療方法の開発

論 文 の 区 分 博士課程

著 者 名 河原 仁守

担当指導教員氏名 小児外科学 教授 小野 滋

所 属 自治医科大学大学院医学研究科
地域医療学系専攻
病態機能外科学分野
小児外科学専攻

2017 年 1 月 10 日申請の学位論文

目次

論文要旨	p. i
------	------

第Ⅰ章 はじめに	p. 1
----------	------

1. 気管狭窄症とは

2. 現在の治療方法

3. 本研究の目的

第Ⅱ章 方法	p. 7
--------	------

1. 使用動物

2. 実験手技

3. 実験計画

4. 統計解析

5. 組織学的評価方法

第Ⅲ章 結果	p. 14
--------	-------

1. polydioxanone ステントの正常気管に対する反応

2. 気管狭窄症モデルの作成結果

3. 血液ガス測定結果

4. 組織学的評価

第Ⅳ章 考察	p. 22
--------	-------

第IV章 おわりに・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ p. 30

参考文献・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ p. 31

謝辞・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ p. 38

第 I 章 はじめに

1. 気管狭窄症とは

正常の気管は馬蹄形をした気管軟骨と膜様部から構成されるが，先天性気管狭窄症(図 1. A, B) (Congenital Tracheal Stenosis : 以下 CTS)では膜様部が欠如しており全周性の気管軟骨輪(complete tracheal ring)を原因とする気道狭窄を呈する難治性疾患である．膜様部が欠如しているため換気に応じた気管内腔の径の変化が起こらず，気管内腔の狭窄を生じるため換気不全を呈する．当初はその発生頻度は非常にまれな疾患と考えられていたが，CT などの画像検査の向上により，およそ 64500 出生に 1 人とされており，CTS で生まれた児の 60%程度は何らかの合併奇形を有している^[1]．狭窄を呈する部位と範囲は症例により異なるため，出生後早期の新生児期から換気不全を呈する重症例から，狭窄が軽度で幼児期に感冒を契機に換気不全を呈して CTS と診断される症例まで様々である．

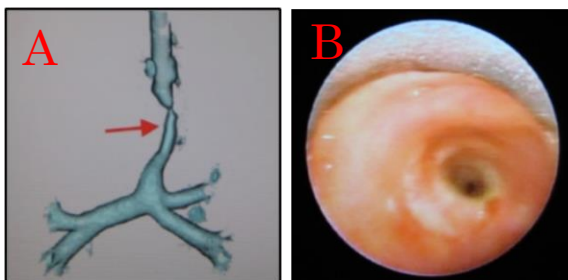


図 1 日齢 4 男児

A)3D-CT. 赤矢印 気管狭窄部

B)硬性気管支鏡検査. complete tracheal ring を認め，高度の狭窄を生じている

2. 現在の治療方法

現在行われている CTS の治療方法は、狭窄部の範囲が狭い症例では狭窄部の切除端々吻合術が行われる。狭窄部の範囲が長い症例においては、現在最も一般的な外科手術方法は 1989 年に Tsang が報告した Slide tracheoplasty (図 2) である^[2,3]。しかし、新生児期から症状を呈する重症の CTS 症例ではいまだに治療成績は不十分であり、生後 1 か月以降の手術症例の死亡率が 19% であるのに対し、生後 1 か月未満での手術症例の死亡率は 79% と有意に高い ($P = 0.04$) と報告されている^[4]。その原因として、新生児症例はもともとの気管が狭く Slide tracheoplasty 術後でも十分な気管の開存が得られないことや、心大血管や気管・肺の合併奇形の関与が原因と考えられている。Xue ら^[5]も、先天性心疾患を有する乳幼児への一期的気管形成術の治療成績を報告しているが、死亡率と月齢の間に相関があったと報告している。

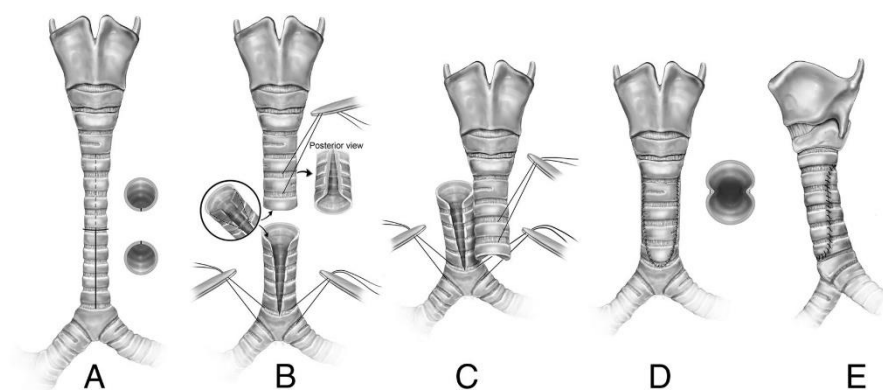


図 2 Slide tracheoplasty. 文献 3 より引用

A : 気管狭窄部の中央で横断する。B : 狭窄範囲の上部気管の背側と、下部気管の腹側を縦切開し、断端はトリミングする。C : 上下気管を受動し前後に重ね合わせる。D・E : 吻合後。

我々はこれまでに緊急処置を要する重症新生児 CTS 症例において、拡張型金属ステント^[6, 7]や狭窄部バルーン拡張術^[8]が有効で、新生児期の Slide tracheoplasty を回避し得たという報告を行ってきた。我々の治療計画を図 3 に示す。その結果、合併奇形や基礎疾患を治療する時間を確保でき、成長を待ってから気管形成術を行うことで良好な治療成績を得ることができている。これらの治療方法では、術直後から狭窄部を開大できるため、速やかに呼吸症状の改善を認める。一方で、感染症や肉芽を形成した場合に金属ステントは抜去が困難となること、狭窄部のバルーン拡張術だけでは十分な内腔の開大を得るまでに複数回のバルーン拡張を必要とする症例があり、その間は長期鎮静下挿管管理が必要なこと、またバルーン拡張後に気管軟化症を生じる可能性があるなど、克服すべき課題もある。

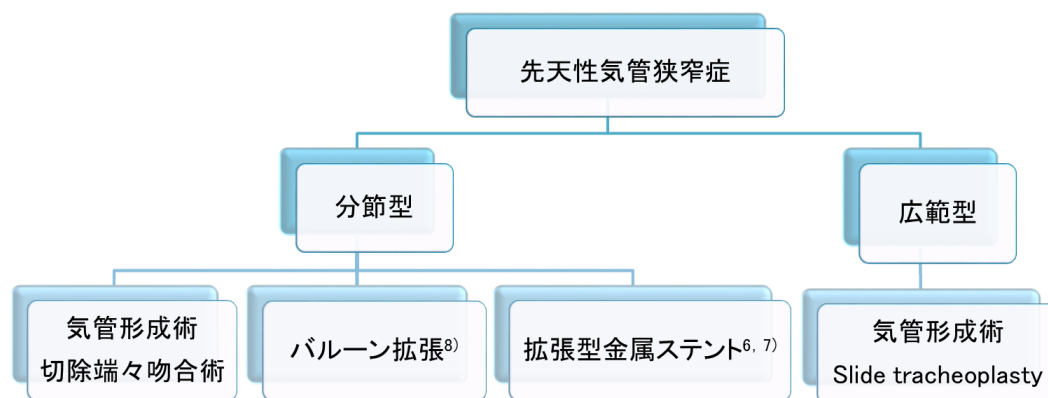


図 3 CTS に対する我々の治療方針

狭窄の範囲が広い症例では Slide tracheoplasty が標準術式である。一方で、狭窄範囲が狭い症例では新生児期の気管形成術を避けるために、拡張型金属ステントやバルーン拡張術を行っている。

その他の治療方法としては、金属^[9,10]やシリコンでできた気管内ステントによる気道確保^[11]、自己心膜や肋軟骨によるパッチグラフトを用いた気管形成術^[12,13]や、気管の自家^[14,15]・同種移植^[16]などが行われているが、Slide tracheoplasty に取って代わる治療方法はまだ確立されていない。

3. 本研究の目的

今まで我々がおこなってきた CTS の治療において、直面した課題を克服するために新たな素材でできた内ステントの開発が必要であると考え、組織刺激性の少ない生分解性の polydioxanone で作られたステントに着目した。本ステントは気管軟化症や成人の後天性気管狭窄症^[17]、肺移植後の気管吻合部狭窄^[18]に対して使用された報告はあるものの、小児における CTS に第一選択として使用された報告はまだなされていない。polydioxanone は、広く一般的な手術や Slide tracheoplasty で気管吻合をする際に用いられる吸収糸の素材で、組織刺激性は少なく安全性は問題ない。また、生分解性であるため今まで臨床応用されてきたステントの欠点であった、肉芽・瘢痕組織による再狭窄、感染、ステント抜去困難などの合併症を克服できるだけでなく、患児が成長した後に抜去する必要がないこととリサイズして再ステント可能という利点を有する。そのため polydioxanone ステントが CTS に有用であると検証できた場合は、以

下のように CTS 治療に寄与すると考えている。新児期から換気不全を生じる重症 CTS において、バルーン拡張術に polydioxanone ステントによる内ステントを組み合わせることで、バルーン拡張術後に生じていた合併症である気管軟化症を予防して、気管の開存を保証することができる。その結果、気管支鏡が可能な施設であれば CTS の治療が可能になること、鎮静することなく安全に Slide tracheoplasty が可能になる体重まで正常な精神運動発達を期待しながら待機することができること、手術が可能な施設への患者搬送が安全に行えるようになるなど多くの利点を有しており、polydioxanone ステントは CTS の治療成績を向上させる可能性があり、その効果を検証することを目的とした。

具体的には、まずは日本白色家兔の気管内に polydioxanone ステントを挿入し、in vivo で有害事象が生じないことを検証した。次に日本白色家兔を用いて気管狭窄症動物モデルを作成し、polydioxanone ステントを挿入しない未治療経過観察群(コントロール群)とステント挿入群とに分け、血液ガス所見を継続的に測定しながら両群の呼吸機能を測定した。本研究では、後述するように in vitro において polydioxanone ステントが強度を維持することができる 4 週間を観察期間とし、エンドポイントは換気不全・呼吸性アシドーシスを呈するまでとした。実際に観察期間内において polydioxanone ステント挿入群で血液

ガス所見が改善するかどうかを検証した.

本研究より polydioxanone でできた生分解性ステントが気管狭窄症モデルの換気を改善することを実証できた場合, 重症 CTS 症例に対する治療成績の向上に寄与すると考えられ, 新たな CTS の治療戦略になると考えられる.

第Ⅱ章 方法

本研究において、すべての動物は the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals に従って実験を行った。また、自治医科大学動物実験委員会より承認を得ている(承認番号 14162)。

1. 使用動物

本研究では成長途上にある 9-10 週齢、体重がおよそ 1500g 前後、雌の日本白色家兔を使用した。

2. 実験手技

1) 麻酔方法

鎮静方法は、前投与として 0.2mg/kg ミダゾラムを皮下注射した。続いて 25mg/kg ペントバルビツールを静脈注射し鎮静を得た。鎮痛として 1%リドカインを 1ml 皮下注射し、およそ 1 時間程度の鎮静・鎮痛を得ることができた。経口挿管はせず、自発呼吸下に手術操作を行った。

2) 気管狭窄症モデルの作成方法

気管内擦過のためにナイロン製のブラシを用いた(図 3. A). 麻酔導入後に頸部伸展位とし, 前頸部の除毛・アルコール消毒を行った. 局所麻酔後に気管前面で前頸部正中を縦切開し, 前頸筋を正中縦切開して気管前面に到達した(図 3. B). 第 5-7 気管軟骨の高さで気管前面を半周横切開し, 末梢側気管にナイロンブラシを挿入し, およそ 1cm の範囲で気管内腔を 20 回ほど前後に擦過した(図 3. C). 擦過後に, 横切開した気管を polydioxanone でできた 5-0 モノフィラメント吸収糸を用いて 3 針単結紮にて閉鎖し, 気管狭窄症モデルを作成した(図 3. D)^[19]. ほぼすべての気管狭窄症モデルは, 安定して術後 1 週間を過ぎたころから努力呼吸が出現し, 約 10 日後に重度の呼吸性アシドーシスを呈するため安楽死が必要であった^[20].

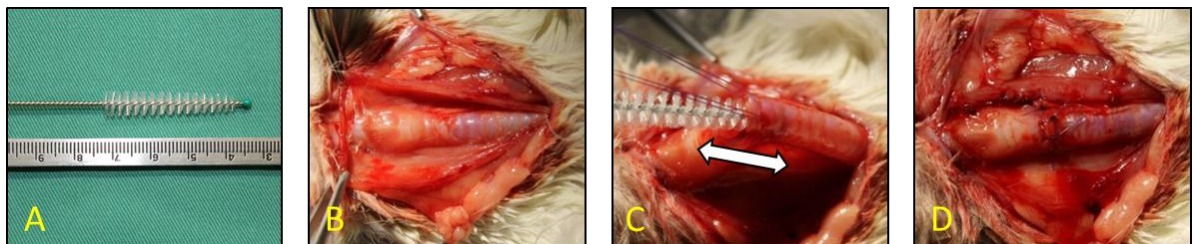


図 3 気管狭窄症モデル作成方法. 文献 20 より一部引用

A: ナイロンブラシ B: ウサギ気管 C: 気管前面を半周横切開し, 末梢側気管内にナイロンブラシを挿入. 前後に 20 回ほど擦過した. D: 半周の横切開を加えた気管は 5-0 polydioxanone モノフィラメントを用いて 3 針単結紮で閉鎖した.

3)polydioxanone ステントと挿入方法

本研究では、直径 0.340-0.399mm の太さの polydioxanone モノフィラメント (Samyang Co, ソウル, 大韓民国) で編み上げられた直径 5mm 長さ 15mm のステントを使用した (ELLA-CS Sro, フラデツ・クラロヴェー, チェコ共和国) (図 4. A). 本実験で使用した日本白色家兔の気管外径はほぼ 7mm であった為、ステントが気管壁に過度の圧力がかかることを予防するため、このサイズのステントを選択した^[20].

12×40mm サイズの polydioxanone ステントにおける物理学的特性は以下のとおりである. 通常の状態では圧縮に抗する, 拡張する方向への圧力はゼロだが, 直径が 1mm 圧縮されるごとに長さは約 20% 伸長し, もとの径にもどろうと拡張する圧力は 106.3g/cm² に達する. 最大に圧縮した場合, ステントの直径はおよそ半分にまで押し縮められ, ステント長は 150% に伸長し, 拡張圧は 364.2g/cm² にまで増大する. in vitro では最初の 5 週間は初期の拡張圧を維持しているが, 徐々に分解が進行し, 拡張圧は 7 週ほどで 2/3 に減じ, 9 週でほぼ半分に減じる^[21].

ステントの挿入には、先端に保護チップが付いた 0.89mm のガイドワイヤーと外筒(10.5Fr, 長さ 450mm)からなる挿入器具を用いる(図 4. B).

polydioxanone は大気中の水分で加水分解するため、開封後速やかにステントを挿入器具に充填し、その先端を気管内の擦過した部位まで進め、内筒を押し込むことでステントがリリースされ留置される。

ステント留置群では、気管内を擦過してから 1 週間経過した日本白色家兔に対し、再度鎮静・鎮痛を行い、自発呼吸下に前回手術創を解放し、狭窄部を直視下に確認した(図 4. C)。自発呼吸下でステント挿入を行っていること、ステントの効果を判定するため、ステント挿入前にバルーン拡張などは行わずに直接ステントを狭窄部に留置した(図 4. D)。

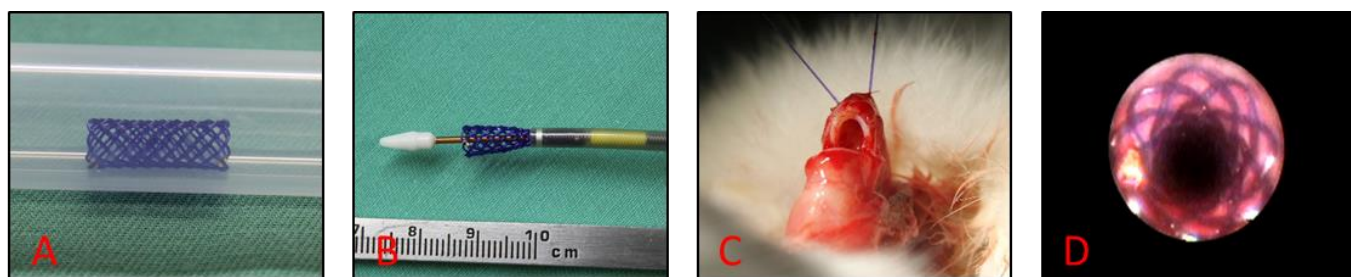


図 4 polydioxanone ステント挿入法. 文献 20 より一部引用

A : polydioxanone ステント. 大気中の水分で加水分解するため、開封後は速やかな操作が必要. B : ステントの挿入器具. 目的の位置まで挿入器具を運んだ後、内筒を押し込むと、黄色いチップがステントを押し出し、リリースされる. C : 気管内擦過 7 日後. 前回切開部位を再切開し、狭窄部を確認し、直視下にステントを留置した. D : ステント留置直後の気管内腔. 気管内腔の開存が得られている.

4) 血液ガス測定方法

気管内をナイロンブラシで擦過してから，ステント留置術後 4 週間までを観察期間とし，その間 1 週間に 2 回の頻度で後耳介動脈中間枝から採血を行い，i-STAT® 1 血液ガス測定器と i-STAT CG4+カートリッジ（Abbott Point of Care Inc.）を用いて動脈血液ガスの測定を行った．

5) 気管支鏡検査方法

光源に AVS 細径内視鏡システム TESALA (株式会社 AVS，東京，日本)を用いて，軟性スコープ AE-F16150 (外径 1.6 mm，有効長 150 mm) を用い，外筒を装着して行った．観察はステント挿入前後，実験期間終了後の安楽死前で，鎮静下に行った (図 5. A, B) ．

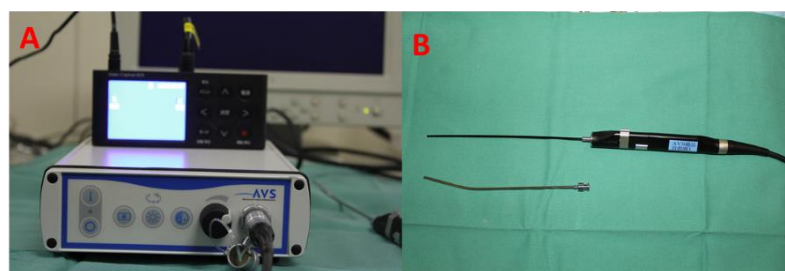


図 5 気管支鏡

A : 光源 TESALA B : 軟性鏡

6) 中止基準

本研究における気管狭窄症モデルは重度の換気不全症状を呈する．そのため，以下の要件を満たした場合には致死量のペントバルビツール 100mg/kg を静脈内注射し安楽死することとした．

- ① 持続する努力呼吸，2 相性の喘鳴，10%以上の体重減少
- ② 呼吸性アシドーシス ($\text{PaO}_2 < 60 \text{ mmHg}$ and $\text{PaCO}_2 > 60 \text{ mmHg}$)

3. 実験計画

先行実験として，まずは気管内擦過をしていない正常な日本白色家兔に対して polydioxanone ステンントを挿入し，ステントが完全に生分解した後の組織を観察し，ステントによる有害事象が生じていないことを確認した．

次に日本白色家兔 8 匹に対して，気管内腔をナイロンブラシで擦過して気管狭窄症モデルを作成した．そのうち，4 匹を未治療経過観察(コントロール群)とし，残った 4 匹には気管内擦過 7 日後に，再度鎮静し polydioxanone ステントを直視下に気管内にステントを挿入(ステント群)した．気管内にステント挿入後，ステントの生分解が進行してその拡張圧が減ずるまでの 4 週間を観察期間とし，1 週間に 2 回の頻度で動脈血液ガスを測定し， PaO_2 ， PaCO_2 の推移

を観察し 2 群間の呼吸能を比較した.

4. 統計解析

コントロール群とステント群において, 継時的に測定した血液ガス所見から Student's t 検定をおこなった. $P < 0.05$ で有意とした.

5. 組織学的評価方法

観察期間後, 両群ともに致死量のペントバルビツール 100mg/kg を静脈注射し安楽死させ, 気管を摘出した. 組織は HE 染色と EVG 染色を行った.

第Ⅲ章 結果

1. polydioxanone ステントの正常気管に対する反応

気管内を擦過せずに，気管内に直視下に polydioxanone ステント挿入後，完全に生分解した 15 週間後に安楽死させ，気管を摘出し HE 染色を行った．

観察期間中に努力呼吸や喘鳴は認めなかった．摘出した気管は，肉眼的には気道粘膜には肉芽を生じることなく，気管内腔は開存し正常な形態を保っていた．また顕微鏡所見では，気道粘膜にノッチを認めるのみで，気道上皮は保たれていた(図 6. A, B)．

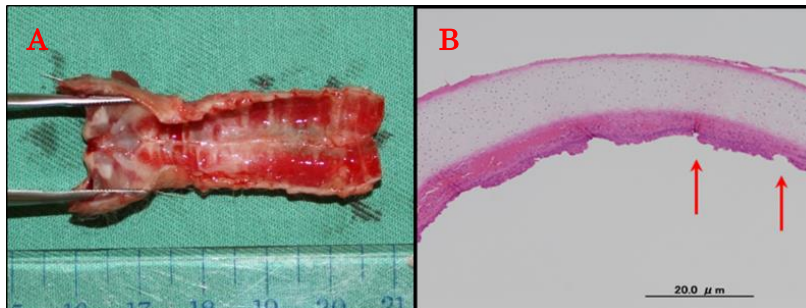


図 6 正常ウサギに polydioxanone ステント挿入 15 週後．文献 20 より一部引用

A：肉眼ではステントは完全に分解し消失．肉芽組織など認めず． B：HE 染色．ステントの痕跡(赤矢印)．正常な気道上皮を保っている．

2. 気管狭窄症モデルの作成結果

気管内をナイロンブラシで擦過した 8 匹の日本白色家兔は、全例で喘鳴・努力呼吸が出現し、気管狭窄症の症状を呈した。8 匹を 2 群に別け、平均体重はコントロール群とステント群はそれぞれ 1,483g と 1,610g ($p = 0.08$)であった。ステント群 4 匹には、気管内を擦過後 7 日目に polydioxanone ステントを挿入したが、全例でステント挿入手技による合併症や死亡例などは認めなかった(図 7. A, B)。

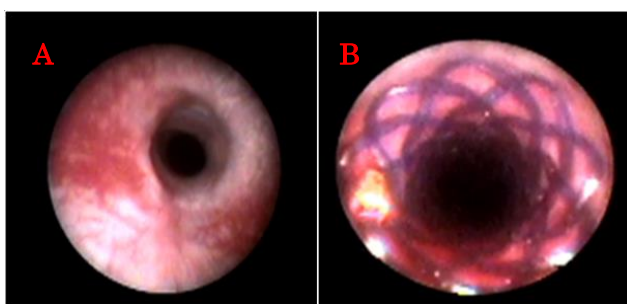


図 7 polydioxanone ステント挿入前後. 文献 20 より一部引用

A : 気管内擦過後 7 日目. 肉芽による狭窄を呈している. B : polydioxanone ステント挿入直後. 気管内腔を開存させている.

3. 血液ガス測定結果

コントロール群 4 例において、気管内擦過してから約 7 日後から徐々に、喘鳴・換気不全を認めた。気管内擦過後 10 日目の血液ガス所見ではステント群と比較して有意な呼吸性アシドーシスを呈した。全例で中止基準を満たしたため、気管内擦過後 11 日で安楽死させた(表 1, 2)。

表1. コントロール群動脈血液ガス所見の経時的変化

pH

No	挿入前	POD3	POD7	POD10	
1	7.32	7.188	7.316	7.509	POD13死亡
2	7.489	7.528	7.553	7.387	POD11死亡
3	7.254	7.403	7.311	7.297	POD10死亡
4	7.098	7.184	7.365	7.005	POD10死亡
平均	7.290	7.326	7.386	7.300	

pCO₂ (mmHg)

No	挿入前	POD3	POD7	POD10	
1	42.1	24.4	40.1	47.8	POD13死亡
2	42.3	46.1	37.6	54.4	POD11死亡
3	42.1	42.4	39.6	68.7	POD10死亡
4	37	30.8	43.7	113.6	POD10死亡
平均	40.9	35.9	40.3	71.1	

pO₂ (mmHg)

No	挿入前	POD3	POD7	POD10	
1	87	96	65	77	POD13死亡
2	93	87	96	61	POD11死亡
3	80	81	89	43	POD10死亡
4	55	96	98	53	POD10死亡
平均	78.8	90.0	87.0	58.5	

表1 コントロール群. 血液ガス検査所見. 気管内擦過後 10 日目より呼吸性アシドーシスを呈し安楽死した.

表2. ステント留置群動脈血液ガス所見の経時的変化

pH		ステント留置									
No	挿入前	POD3	POD7	POD3	POD7	POD10	POD14	POD17	POD21	POD24	POD28
1	7.318	7.438	7.393	7.442	7.446	7.417	7.294	7.473	7.412	7.449	7.442
2	7.386	7.411	7.49	7.488	7.469	7.38	7.453	7.464	7.456	7.482	7.426
3	7.332	7.401	7.475	7.35	7.424	7.441	7.476	7.322	7.453	7.495	7.474
4	7.402	7.447	7.411	7.426	7.421	7.383	7.405	7.396	7.41	7.433	7.404
平均	7.360	7.424	7.442	7.427	7.440	7.405	7.407	7.414	7.433	7.465	7.437

PaCO ₂ (mmHg)		ステント留置									
No	挿入前	POD3	POD7	POD3	POD7	POD10	POD14	POD17	POD21	POD24	POD28
1	40.7	39.4	44.8	42.5	43.8	40.4	33.5	42.9	45.7	42.3	44
2	37.9	34.6	39.7	41.4	38	41.1	42.4	41.7	38.8	43.4	40.6
3	36	40.1	38.5	38.6	40.4	39.3	39.3	33.1	38.3	36.3	37.7
4	42.6	41.1	43.1	42.9	43.7	42.7	37.2	43.2	43.1	44.7	44.6
平均	39.3	38.8	41.5	41.4	41.5	40.9	38.1	40.2	41.5	41.7	41.7

PaO ₂ (mmHg)		ステント留置									
No	挿入前	POD3	POD7	POD3	POD7	POD10	POD14	POD17	POD21	POD24	POD28
1	75	96	77	87	77	97	75	79	77	81	70
2	84	100	70	68	67	72	69	75	86	77	77
3	86	87	107	95	80	87	81	79	73	63	75
4	77	73	78	78	76	78	84	81	83	81	85
平均	80.5	89.0	83.0	82.0	75.0	83.5	77.3	78.5	79.8	75.5	76.8

表2 ステント群. 血液ガス検査所見. ステント留置後 28 日間の観察期間中で吸性アシドーシスを認めなかった.

一方、ステント群は polydioxanone ステント挿入後 4 週間の間、努力呼吸や喘鳴は出現しなかった。観察期間の 4 週間経過後、安楽死させる前に行った気管支鏡検査において、気管内腔の開存を保ち続けていたことを確認した(図 8. A-C)。4 週間後の動脈血液ガス所見でも呼吸性アシドーシスを認めていないことを確認した(図 9. A, B)。

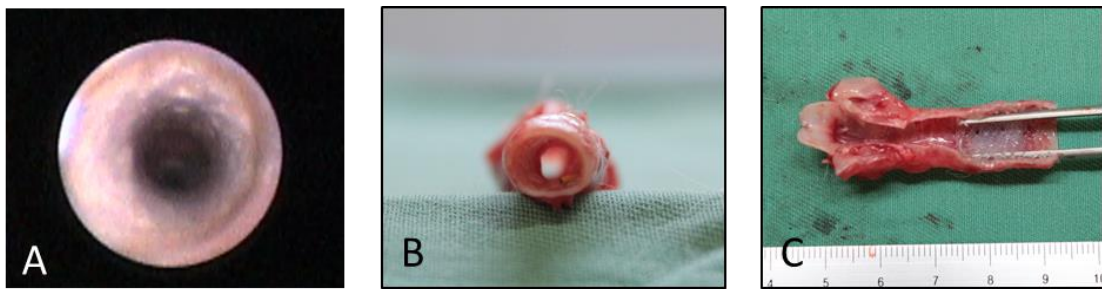


図 8 polydioxanone ステント挿入 4 週間後

A, B : 気管内腔は良好に開存している. C : polydioxanone ステントは分解せずに残存. 周囲組織を圧排し固着していた.

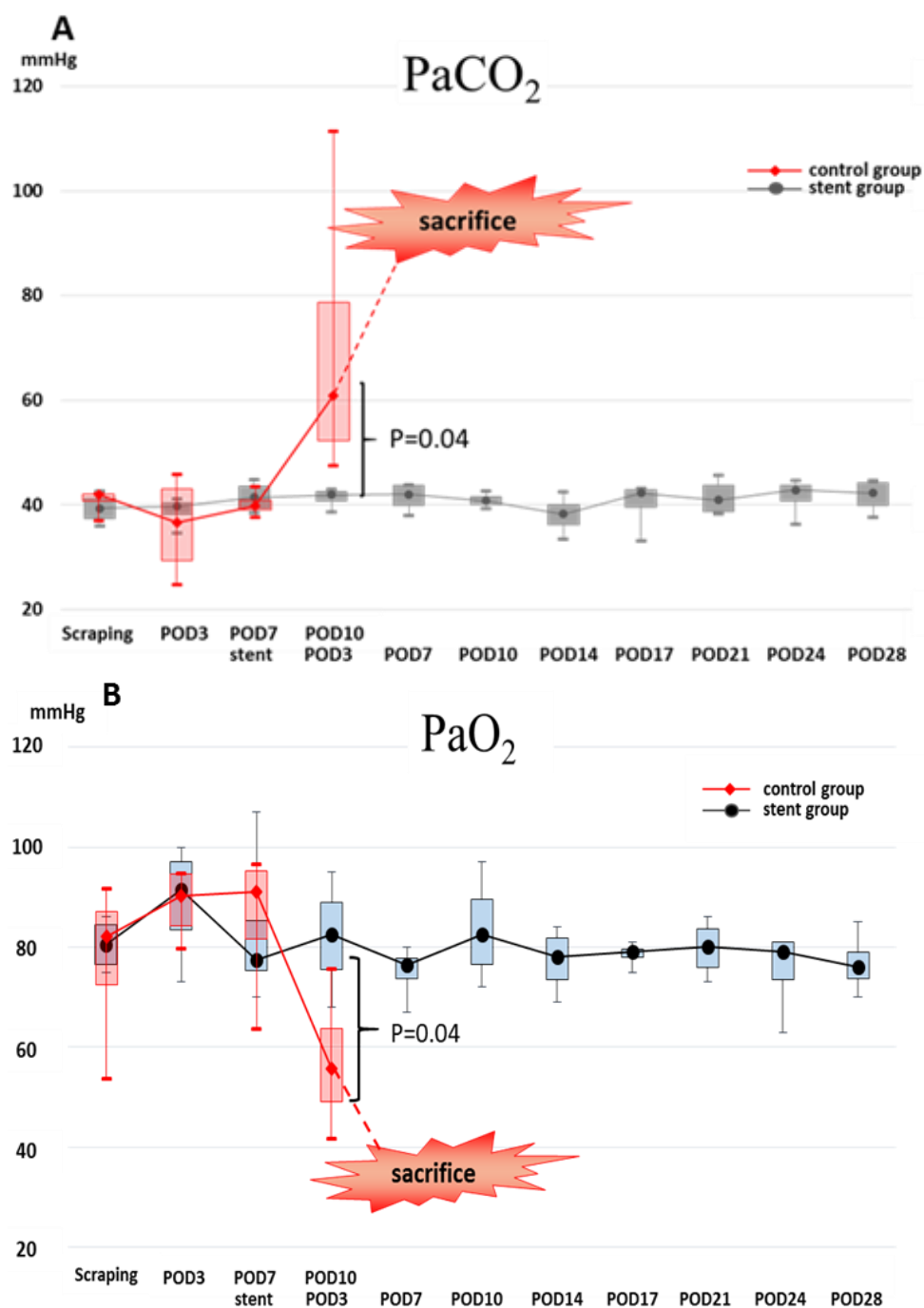


図9 polydioxanone スtent 挿入前後の動脈血液ガス所見. 文献 20 より引用
コントロール群は気管内擦過後 10 日目に有意な呼吸性アシドーシスを呈しており, 11 日目に中止基準を満たし安楽死した. A: pCO_2 の推移. B: pO_2 の推移.

4. 組織学的評価

全例で安楽死後に気管を摘出し、HE 染色、VGE 染色を行い polydioxanone ステンットの効果を検討した。

コントロール群において気管軟骨は正常構造のまま保たれていた。しかし、HE 染色で気道上皮は脱落して連続性を失い、粘膜下層に線維芽細胞と毛細血管の増生を認め肉芽を形成していた。EVG 染色では粘膜下層に赤く染色される膠原繊維を多量に認め、肉芽形成から線維化の過程をみており、その結果気道狭窄を生じ重症の換気不全、呼吸性アシドーシスを呈したと考えられた(図 10. A-D)。

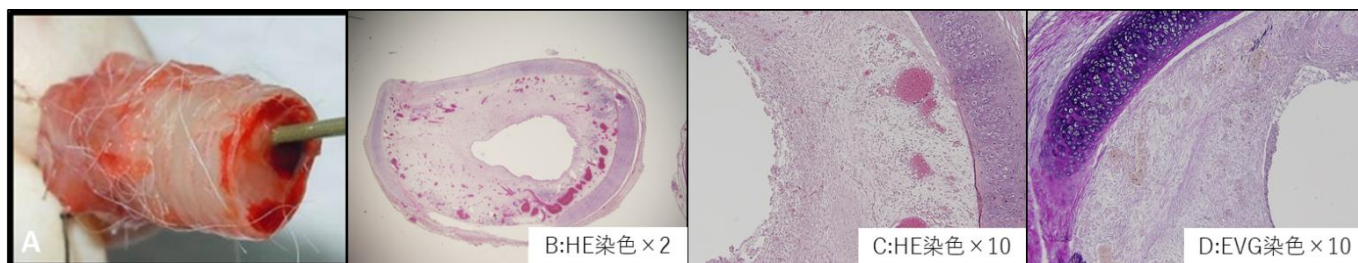


図 10 コントロール群の組織学的評価. 文献 20 より一部引用

A：肉眼像．擦過し惹起された肉芽で著名な気管狭窄症を呈している．B：弱拡大．気管軟骨は正常．粘膜下層が炎症性の肉芽組織で肥厚・毛細血管の増生を認め、気管内腔の面積は約 1/4 程度まで狭小化している．C：強拡大．気道上皮は脱落し、粘膜の連続性は失われている．D：粘膜下層に繊維芽細胞の増生と、赤く染色される膠原繊維を認め、癒痕狭窄をていしていた．

一方、ステント留置群においては、4週間のステント留置期間では全例でステントは生分解せずに気道内に残存していた。ステントは染色過程で溶解し、組織から剥がれ落ちているが、コントロール群とは異なり気道粘膜の連続性はおおむね保たれ気管内腔は開存している。また、粘膜下層の肥厚は軽度であり、毛細血管の増生もほとんど見られない。EVG 染色では軽度に肥厚している粘膜下層には膠原繊維が認められるが、polydioxanone ステント挿入後は粘膜下層の肥厚を抑えることができていた(図 11. A-C)。

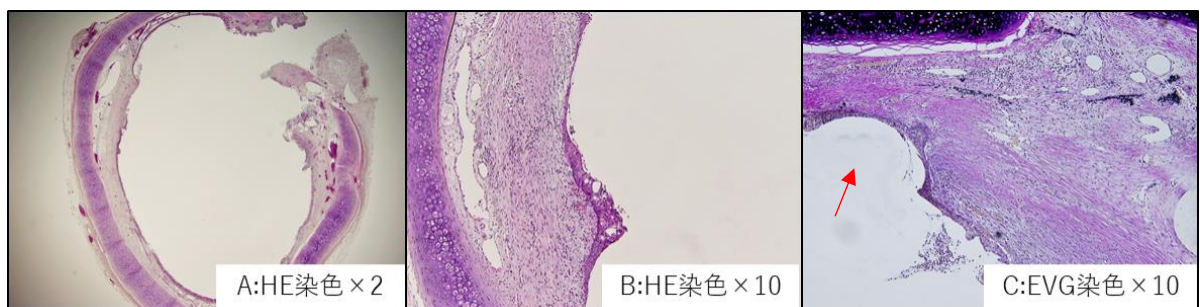


図 11 ステント 28 日留置後の組織学的評価. 文献 20 より一部引用

A：弱拡大. コントロール群と比較して，気道上皮の連続性は保たれ，また粘膜下層の肥厚や毛細血管の増生は明らかに少ない．その結果，気管内腔の面積は十分に保たれている．B：強拡大. 粘膜下層の炎症性肉芽組織の厚さは明らかに薄い．C：粘膜下層に赤く染色される膠原繊維を認める．しかし，肉芽や瘢痕狭窄の形成をステントが抑制しており，圧痕像(赤矢印)を認める．

第IV章 考察

新生児期より換気不全症状を呈する重症 CTS に対して，Slide tracheoplasty の治療成績は未だ満足いく成績ではない．我々が報告してきた拡張型金属ステントやバルーン拡張術なども良好な成績を上げてはいるが，改善の余地は残されている^[6-8]．本研究は重症の CTS に対する新たな治療方法を開発するために，生分解性 polydioxanone ステントの効果について気管狭窄症動物モデルを用いて検証した．

本研究結果から得られた重要な結果として，以下の 2 点が挙げられる．

①polydioxanone ステントを挿入してから 15 週間の経過観察をした．

polydioxanone ステントは完全に生分解していたが，その間に有意な呼吸症状は認めず，正常気管上皮にはノッチができるだけでほとんど影響を与えていないことより，気管内ステントとして使用するのに安全性は問題ないと示唆された．同様にウサギ正常気管内に polydioxanone ステントを挿入した研究^[21]においても合併症の報告は認めず，安全性を支持するものとする．

②気管狭窄症動物モデルにおいて polydioxanone ステントは生分解して張力を失うまでは気管内腔を開存させ，その間，換気不全による呼吸性アシドーシス

の発症を抑えたことが明らかとなった。その結果、1 か月間の延命が得られ、polydioxanone ステントが気管狭窄症に対して有効な治療方法に成り得ると示唆された。

本研究で我々が用いた polydioxanone ステントは直径 5mm であった。約 10 週齢前後の雌の日本白色家兔における正常部分の気管内径は約 7mm で個体差はほとんど認められなかった。我々が作成した気管狭窄症モデルにおいて、ステント挿入時の狭窄部気管内腔は 3-4mm 程度であった。このサイズのス テントを選択した理由は、観察期間中に狭窄部を拡張しな がらずれが生じないだけの十分な拡張圧を有し、過度の拡張による正常な気道粘膜への圧損傷や、隣接する臓器への圧排を避ける必要があると判断したからである。本研究の中で、ステント群に留置されたステントがずれた例は一例も認めなかった。また、polydioxanone ステントが生分解されるまで観察した例において、生分解途中で強度を失い、断片化したステントがずれて気道内異物となり、肺炎や換気不全を引き起こすなどの合併症も認めなかった。気管径に対するステント径の理想的なサイズについて今後のさらなる検討が必要になるが、本研究において 7mm の正常気管径に対して 5mm 径のス テントを選択したことに関して問題を認めなかった。

本研究結果からは polydioxanone ステントの CTS に対する気道開存効果が期待できる結果が得られた。そのため、我々は重症 CTS に対してバルーン拡張術に polydioxanone ステントによる内ステントを組み合わせた新たな治療戦略を検討している。新生児期の重症 CTS バルーン拡張術後に生分解性 polydioxanone ステントによる内ステントを併用することで、バルーン拡張術後に生じていた瘢痕狭窄や気管軟化症などの合併症を予防することができ、気管の開存を保証することが可能となるからである。その結果、Slide tracheoplasty が可能になる体重まで精神運動発達を期待しながら待機することができ CTS の治療成績を向上させる可能性が考えられる。十分な成長発達は 1 回の polydioxanone ステント挿入で気道確保できる期間だけで得られるとは限らず、polydioxanone ステントが生分解され強度を保てなくなった時点で十分な体重まで発育していなかった場合には再ステント挿入術を試みることができるのも生分解性ステントのメリットと考えている。実際に小児の気管軟化症に対して再ステントした症例の報告もされている^[22, 23]。

また Slide tracheoplasty は現在では小児心臓血管外科医の協力が得られ、かつ術後の集中治療が可能である、限られた施設でしか行うことができないことが問題の一つとなっており、換気不全を呈している新生児を Slide

tracheoplasty が可能な施設に搬送するのは大きな危険を伴っている。その問題点に対しても polydioxanone ステン트가臨床応用されるようになれば気管支鏡が可能な施設であれば重症新生児 CTS 症例の初期治療が可能になること、Slide tracheoplasty が可能な施設への患者搬送は気道確保後に安全に行えるようになるなど、polydioxanone ステン트는 CTS 治療の改善に寄与すると考えている。

現在、気管に用いられているその他のステントは拡張型金属ステント^[9, 10]、シリコンステント^[24]や薬剤溶出性ステント^[25, 26]などが挙げられる。シリコンステントは小児において気管軟化症や気管狭窄症で使用されているが、比較的低い治療成功率(43%)である一方、ステントのずれやステント両端の肉芽が問題となることが多いと報告されている^[27]。薬剤溶出性気管ステントは sirolimus^[25]や mitomycin C^[26]での報告がようやくなされるようになり、今後の研究が望まれている。

我々が報告してきた拡張型金属ステントも他のステント同様に肉芽形成による再狭窄が問題となっていた^[6, 7]。また、成長に伴う気管径の変化に対応できなかった。報告されている^[28, 29]理想的な気管内ステントの条件をまとめると①

着脱が容易，②十分に気管内腔を拡張できる，③生体に適合し拒絶反応が少なく，肉芽を形成しにくい，④気道粘膜の繊毛への影響が少ない，⑤気管壁にしっかりと生着しずれが少ない，⑥新生児や乳幼児の体格に合わせたサイズバリエーションが豊富，⑦経済的に手ごろな価格で，容易に入手可能といった特徴が挙げられている．さらに，メッシュ構造のステントでは気管上皮の繊毛運動による粘液・痰の排泄に有利であること，万が一気管支内腔を閉塞しても換気が行える可能性があるなど，メッシュ構造の利点が挙げられている^[11]．本研究に polydioxanone ステントを用いた理由としては，今まで我々が報告してきた金属ステント^[6,7]とは違って，これらの条件を満たしていること，またメッシュ構造をしているため，より理想的なステントに成り得ると考えたからである．実際に本研究で polydioxanone ステントは 4 週間という限られた期間において，ずれることなく気管内腔を保ち，気道上皮などに組織学的な影響はほとんど認めなかったことから，理想的なステントになり得る可能性を認めた．

生分解性ステントを気管に使用した最初の報告は 1997 年に Lochbihler がラットで研究した報告^[30]である．合成吸収性縫合糸 (VICRYL®) で作られたステントを用いた研究で，気管内に挿入したステントは 4 週間で小断片に分解された．観察期間内で気管組織に合併症を生じることなく経過し，生分解性ステ

ントが気管内ステントとして応用できる可能性を示唆した。それ以降、材質や形態を変化させた、様々な生分解性の気管ステントに関する報告がなされてきた^[17, 22, 23, 28]。

polydioxanone ステントが最初に報告されたのは 2010 年に食道狭窄に使用された報告が最初である^[31]。小児においては先天性食道閉鎖症術後の癒痕狭窄にバルーン拡張を繰り返し行っていた症例に対して使用された報告もなされている^[32]。この症例では症状が改善している期間が長くなり、バルーン拡張の頻度は減ったとしているが、狭窄を繰り返し 4-7 か月ごとにステント留置が必要で、最終的には食道の癒痕狭窄部を再切除端々吻合が必要であったとしている。polydioxanone ステントを気管内に留置した最初の報告は、Lischke らが肺移植後の気管吻合部狭窄に使用した報告^[18]である。その中で、肺移植後の気管吻合部狭窄に対して金属ステントから安全で効果的で信頼性のある代替物に成り得る可能性があり、永久ステントの必要性を避けることができる、と述べられている。また、近年肝移植後の胆管狭窄予防としての polydioxanone ステントの使用報告^[33]もあり、本ステントの他の疾患への応用も期待されている。

polydioxanone ステントが小児気管に使用された報告は現在までに 4 編のみ

が報告されている^[11, 22, 23, 34]。その中で、polydioxanone ステントは合併症が他のステントよりも少なく、生分解するメリットがあるため有用であった^[22, 23]と報告する一方で、検証が不十分とする報告^[11]や生分解過程にある小断片が気管内の閉塞を生じたことで換気不全、肺炎を呈した症例があり、生分解性ステントを否定する報告^[34]もあり、今後の基礎実験や症例の積み重ねが必要である。

本研究における limitation としては以下のことが挙げられる。①気管狭窄症動物モデルは CTS における complete tracheal ring を再現したものではなく、肉芽による瘢痕狭窄を作成したため、後天的な気管狭窄症であること。②気管径に対する最適なステント径や、実際に気管内腔を開存・維持するのに必要な拡張圧が不明であること。③同じ条件下でステントの差による比較検討を行っていないため、polydioxanone ステントが他の材質でできたステントよりも優れているかどうか検証できていないこと。④in vivo における分解速度と拡張圧の関係が不明であり、polydioxanone ステントが挿入後どれだけの長い期間で気管内腔を開存させることができるか不明である。④使用動物数が少ないこと、などが挙げられる。その為、ステント留置期間を様々な長さに設定し長期間の呼吸機能を観察すること、気管径とステント径の最適な関係を調べるために様々なサイズのステントを用いた検証を行うこと、ステントサイズの差によ

る物理的特性を調査する，など今後の検討が必要である．

第V章 おわりに

本研究は日本白色家兔を用いて作成した気管狭窄症モデルを対象に，生分解性の polydioxanone ステントを用いて気管の開存及び呼吸機能について検証を行った．

その結果，polydioxanone ステントは未治療経過観察群に比べて，1 か月間換気不全，呼吸性アシドーシスの発症を防ぎ延命することが可能であった．

現在 Slide tracheoplasty は限られた施設でしか行えないが，生分解性の polydioxanone ステントを用いた本治療方法は，幅広い施設で重症 CTS の初期治療が可能となる可能性を秘めており，CTS の治療成績の向上に役立てられるものと考えられる．

参考文献

1. Hewitt RJ, Butler CR, Maughan EF, Elliott MJ. Congenital tracheobronchial stenosis. *Semin Pediatr Surg* 25 (3):144-149, 2016.
2. Tsang V, Murday A, Gillbe C, Goldstraw P. Slide tracheoplasty for congenital funnel-shaped tracheal stenosis. *Ann Thorac Surg* 48 (5):632-635, 1989.
3. Hofferberth SC, Watters K, Rahbar R, Fynn-Thompson F. Management of Congenital Tracheal Stenosis. *Pediatrics* 136 (3):e660-669, 2015.
4. Chiu PP, Kim PC. Prognostic factors in the surgical treatment of congenital tracheal stenosis: a multicenter analysis of the literature. *J Pediatr Surg* 41 (1):221-225; discussion 221-225, 2006.
5. Xue B, Liang B, Wang S, Zhu L, Lu Z, Xu Z. One-stage surgical correction of congenital tracheal stenosis complicated with congenital heart disease in infants and young children. *J Card Surg* 30 (1):97-103, 2015.
6. Maeda K, Yasufuku M, Yamamoto T. A new approach to the treatment of congenital tracheal stenosis: Balloon tracheoplasty and expandable metallic stenting. *J Pediatr Surg* 36 (11):1646-1649, 2001.

7. Maeda K, Ono S, Tazuke Y, Baba K. Long-term outcomes of congenital tracheal stenosis treated by metallic airway stenting. *J Pediatr Surg* 48 (2):293-296, 2013.
8. Ono S, Maeda K, Baba K, Usui Y, Tsuji Y, Kawahara I, Fukuta A, Sekine S. Balloon tracheoplasty as initial treatment for neonates with symptomatic congenital tracheal stenosis. *Pediatr Surg Int* 30 (9):957-960, 2014.
9. Leung L, Chung PH, Wong KK, Tam PK. Management of tracheobronchial obstruction in infants using metallic stents: long-term outcome. *Pediatr Surg Int* 31 (3):249-254, 2015.
10. Chen G, Wang Z, Liang X, Wang Y, Wang Y, Wang Z, Xian J. Treatment of cuff-related tracheal stenosis with a fully covered retrievable expandable metallic stent. *Clin Radiol* 68 (4):358-364, 2014.
11. Serio P, Fainardi V, Leone R, Baggi R, Grisotto L, Biggeri A, Mirabile L. Tracheobronchial obstruction: follow-up study of 100 children treated with airway stenting. *Eur J Cardiothorac Surg* 45 (4):e100-109, 2014.
12. Idriss FS, DeLeon SY, Ilbawi MN, Gerson CR, Tucker GF, Holinger L. Tracheoplasty with pericardial patch for extensive tracheal stenosis in

infants and children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 88 (4):527-536, 1984.

13. Lobe TE, Hayden CK, Nicolas D, Richardson CJ. Successful management of congenital tracheal stenosis in infancy. *J Pediatr Surg* 22 (12):1137-1142, 1987.

14. Dodge-Khatami A, Backer CL, Holinger LD, Mavroudis C, Cook KE, Crawford SE. Healing of a free tracheal autograft is enhanced by topical vascular endothelial growth factor in an experimental rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 122 (3):554-561, 2001.

15. Backer CL, Mavroudis C, Dunham ME, Holinger L. Intermediate-term results of the free tracheal autograft for long segment congenital tracheal stenosis. *J Pediatr Surg* 35 (6):813-818; discussion 818-819, 2000.

16. Jacobs JP, Elliott MJ, Haw MP, Bailey CM, Herberhold C. Pediatric tracheal homograft reconstruction: a novel approach to complex tracheal stenoses in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 112 (6):1549-1558; discussion 1559-1560, 1996.

17. Stehlik L, Hytych V, Letackova J, Kubena P, Vasakova M. Biodegradable polydioxanone stents in the treatment of adult patients with tracheal narrowing. *BMC Pulm Med* 15:164, 2015.

18. Lischke R, Pozniak J, Vondrys D, Elliott MJ (2011) Novel biodegradable stents in the treatment of bronchial stenosis after lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 40 (3):619-624. doi:10.1016/j.ejcts.2010.12.047
19. Nakagishi Y, Morimoto Y, Fujita M, Ozeki Y, Maehara T, Kikuchi M. Rabbit model of airway stenosis induced by scraping of the tracheal mucosa. *Laryngoscope* 115 (6):1087-1092, 2005.
20. Kawahara I, Ono S, Maeda K. Biodegradable polydioxanone stent as a new treatment strategy for tracheal stenosis in a rabbit model. *J Pediatr Surg* 51 (12):1967-1971, 2016.
21. Novotny L, Crha M, Rauser P, Hep A, Misik J, Necas A, Vondrys D. Novel biodegradable polydioxanone stents in a rabbit airway model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 143 (2):437-444, 2012.
22. Vondrys D, Elliott MJ, McLaren CA, Noctor C, Roebuck DJ. First experience with biodegradable airway stents in children. *Ann Thorac Surg* 92 (5):1870-1874, 2011.
23. Anton-Pacheco JL, Luna C, Garcia E, Lopez M, Morante R, Tordable C, Palacios A, de Miguel M, Benavent I, Gomez A. Initial experience with a new biodegradable airway stent in children: Is this the stent we were

waiting for? *Pediatr Pulmonol* 51 (6):607-612, 2016.

24. Nicolai T. Airway stents in children. *Pediatr Pulmonol* 43 (4):330-344, 2008.

25. Sigler M, Klotzer J, Quentin T, Paul T, Moller O. Stent implantation into the tracheo-bronchial system in rabbits: histopathologic sequelae in bare metal vs. drug-eluting stents. *Mol Cell Pediatr* 2 (1):10, 2015.

26. Zhu GH, Ng AH, Venkatraman SS, Boey FY, Wee AL, Trasti SL, Yee Lim LH. A novel bioabsorbable drug-eluting tracheal stent. *Laryngoscope* 121 (10):2234-2239, 2011.

27. Fayon M, Donato L, de Blic J, Labbe A, Becmeur F, Mely L, Dutau H. French experience of silicone tracheobronchial stenting in children. *Pediatr Pulmonol* 39 (1):21-27, 2005.

28. Robey TC, Valimaa T, Murphy HS, Tormala P, Mooney DJ, Weatherly RA. Use of internal bioabsorbable PLGA "finger-type" stents in a rabbit tracheal reconstruction model. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 126 (8):985-991, 2000.

29. Anton-Pacheco JL. Tracheobronchial stents in children. *Semin Pediatr Surg* 25 (3):179-185, 2016.

30. Lochbihler H, Hoelzl J, Dietz HG. Tissue compatibility and biodegradation of new absorbable stents for tracheal stabilization: an experimental study. *J Pediatr Surg* 32 (5):717-720, 1997.
31. Stivaros SM, Williams LR, Senger C, Wilbraham L, Laasch HU. Woven polydioxanone biodegradable stents: a new treatment option for benign and malignant oesophageal strictures. *Eur Radiol* 20 (5):1069-1072, 2010.
32. Okata Y, Hisamatsu C, Bitoh Y, Yokoi A, Nishijima E, Maeda K, Yoshida M, Ishida T, Azuma T, Kutsumi H. Efficacy and histopathological esophageal wall damage of biodegradable esophageal stents for treatment of severe refractory esophageal anastomotic stricture in a child with long gap esophageal atresia. *Clin J Gastroenterol* 7 (6):496-501, 2014.
33. Janousek L, Maly S, Oliverius M, Kocik M, Kucera M, Fronek J. Bile Duct Anastomosis Supplied With Biodegradable Stent in Liver Transplantation: The Initial Experience. *Transplant Proc* 48 (10):3312-3316, 2016.
34. Sztano B, Kiss G, Marai K, Racz G, Szegesdi I, Racz K, Katona G, Rovo L. Biodegradable airway stents in infants - Potential life-threatening

pitfalls. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 91:86-89, 2016.

謝辞

本研究は、著者が自治医科大学大学院医学研究科博士課程在学中に行った研究成果をまとめたものです。この論文を作成するにあたり、多くの方々の御支援御協力を賜りました。謹んで御礼申し上げます。

この間、同大学小児外科学教授、小野滋先生には本研究を進めるにあたり終始あたたかい御指導と激励を賜りました。また本研究における動脈血液ガス測定のための環境を整備していただいただけでなく、研究成果を国際学会で発表し、本論文をとりまとめるに至るまで、御指導御鞭撻を賜りました。言葉に尽くしきれない感謝の意を表したいと思います。

また、小児外科医を志してはいたものの、右も左もわからず研究成果もほとんどなかった著者に大学院医学研究科への進学を勧めていただき、気管狭窄症の研究テーマを御提案していただいた兵庫県立こども病院小児外科、前田貢作先生にも心より厚く御礼申し上げます。

本研究を進めるにあたり平成 26 年度若手スタートアップ研究費に採択していただき、経済的な御支援をいただいた本学関係者の皆様に感謝の意を記したいと思います。また、御協力御助言を賜りました自治医科大学小児外科の諸先生方、御関係者の皆様、本当にありがとうございました。

最後に、陰ながら支えてくれた妻と 3 人の子供たちに心から感謝致します。