

氏名	河原 仁 寺		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	甲第 518 号		
学位授与年月日	平成 29 年 3 月 21 日		
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当		
学位論文名	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		
論文審査委員	(委員長) 教授 遠藤 俊輔		
	(委員) 教授 河田 政明	教授 水田 耕一	
	教授 千田 雅之		

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

先天性気管狭窄症(Congenital Tracheal Stenosis : 以下 CTS)では膜様部が欠如して全周性の気管軟骨輪(complete tracheal ring)を原因とし、気管内腔の狭窄・換気不全を呈する難治性疾患である。現在の外科的標準術式として 1989 年に Tsang らによって報告された Slide tracheoplasty が最も広く行われている。しかし、新生児期から症状を呈する重症の CTS 症例においては、もとの気管が細いため Slide tracheoplasty 後も十分な気管内腔の開存が得られないために、治療成績は不十分である。

我々は今までに新生児期から呼吸症状を呈する重症 CTS 症例に対して、拡張型金属ステントやバルーン拡張術により新生児期の Slide tracheoplasty を回避し、良好な経過が得られその有効性を報告してきた。その一方で、拡張型金属ステントの場合、肉芽、感染、抜去困難という合併症があった。また、バルーン拡張術は気管軟化症を続発する症例があることなど、克服すべき課題が残っていた。

これらの課題を克服するために新たな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 ステントに着目した。CTS に対して安全に気管の開存を保つことができる内ステントが開発できた場合、CTS の治療成績の向上に寄与すると考え、polydioxanone ステントの効果を検証することを目的とした。

### 2 研究方法

本研究では成長途上にある 9-10 週齢、およそ 1500g 前後、雌の日本白色家兔を使用した。鎮静方法は、ペントバルビツールによる静脈麻酔と局所麻酔により 1 時間程度の鎮静下に処置を行った。1500g 前後のウサギ気管径は約 7mm で個体差はほとんど認められない。その為使用したステントのサイズは、ステント挿入後ずれないこと、気道粘膜へ過度の圧力がかかることを予防するために、直径 5mm、長径 15mm のものを選択した。

まずは、本実験で使用する polydioxanone ステントを正常ウサギに挿入して、生分解するまでの安全性の確認を行った。

次にナイロンブラシを用いた気管狭窄症動物モデルを作成した。静脈麻酔後に頸部伸展位とし、

前頸部正中切開で気管前面に到達し、第 5-7 気管軟骨の高さで気管前面半周を横切開した。肺側気管内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、閉鎖した。閉鎖はすべて 5-0 polydioxanone 吸収糸を用い、気管は半周行った切開を 3 針単結紮で閉鎖した。ステントの挿入は、気管内擦過後 7 日目に行った。再度静脈麻酔下に、創を再切開して気管に到達し、直視下にステントを挿入した。

気管狭窄症動物モデルを、気管内擦過のみを行った群をコントロール群、7 日目に polydioxanone ステントを挿入した群をステント群に別け、各群 4 匹ずつのウサギを用い、ステントが生分解せず拡張する圧を保っている 4 週間を観察期間として設けた。

両群ともに、週 2 回の頻度で後耳介動脈中間枝から採血を行い、動脈血液ガスの測定を行った。2 群間の動脈血液ガス所見は Student's t 検定を行って検討した。また、気管内にステント留置直後と観察期間終了時に AVS 細径内視鏡システム TESALA を用いて気管内を観察した。観察期間終了後、安楽死して得られた気管組織は HE 染色と EVG 染色を行い組織学的評価を追加した。

### 3 研究成果

まず、正常気道ウサギに polydioxanone ステントを留置後、完全に生分解した 15 週後に安楽死させ組織を得た。観察期間中に有意な呼吸症状を呈することはなかった。組織学的評価でも正常気道上皮に小さなノッチが見られるのみで、肉芽や瘢痕形成などの合併症は見当たらなかった。その為、polydioxanone ステントは安全に使用できると判断した。

気管内を擦過したすべてのウサギで、7 日を過ぎた頃より喘鳴・努力呼吸が出現し、気管狭窄症の症状を呈した。約 10 日後に重度の呼吸性アシドーシスを呈したため、安定して気管狭窄症動物モデルが作成できることを確認した。また、ステント挿入手技による合併症や死亡例は認めず、全例で気管内擦過部位を内ステントし拡張することができた。

コントロール群では気管内擦過後 10 日目になると努力呼吸でも代償することができない重度の換気不全を生じ、呼吸性アシドーシスを呈し安楽死が必要であった。ステント群では、観察期間中には喘鳴・努力呼吸は出現することなく、血液ガス所見でも呼吸性アシドーシスはみられなかった。2 群間で気管内擦過後 10 日目(ステント留置後 3 日目)の動脈血液ガス所見で PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub> ともに有意差を認め(p = 0.04)、polydioxanone ステントによる換気改善効果を認めた。

コントロール群では摘出した気管の内腔は肉芽による瘢痕組織でピンホール状に変化し気管狭窄を呈していた。一方でステント群では、観察期間終了後に行った気管支鏡検査所見でも十分な気管内腔の開存を認めた。

組織学的評価では、コントロール群では気道上皮は破壊されており、粘膜下層に線維芽細胞、毛細血管の増生が見られ、EVG 染色で膠原繊維を多量に認め、肉芽による瘢痕形成・気管狭窄を認めた。ステント留置群では気道上皮は保たれており、粘膜下層の肥厚、膠原繊維の増生は認めるものの、明らかに厚みは薄く毛細血管の新生も少ない。さらに一部ステントが押し広げていた跡と思われるノッチも認めており十分な内腔の開存が得られていた。

### 4 考察

本研究から得られた重要な結果として、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こと、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、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 ステントは気道開存効果が期待でき、CTS に対して有効な治療方法に成り得ると示唆された。

我々は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ることで、バルーン拡張術後に生じていた癒痕狭窄や気管軟化症などの合併症を polydioxanone ステントが防ぎ、気管の開存を保証することが可能となり、CTS の治療成績を向上させる可能性を認めた。

本研究における limitation は、気管径 7mm に 5mm 径のステントを使用し、有意な合併症を認めなかったが、気管径とステント径の関係について検証していないため、理想的なステント径については不明である。また、本研究で用いた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、肉芽による癒痕狭窄を作成したため後天的な気管狭窄症であった。そのため、気管内腔を開存・維持するのに必要な拡張圧を有しているかどうか、in vivo での分解速度と拡張圧の関係が不明であり、実際の症例で polydioxanone ステントが挿入後どれだけの期間で気管内腔を開存させられるかが不明であり、今後の検討が必要である。

## 5 結論

polydioxanone ステントは気管狭窄症動物モデルにおいて 1 か月間の呼吸状態の改善・延命が得られた。そのため 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。

## 論文審査の結果の要旨

先天性気管狭窄症の治療として、新たな組織刺激性の少ない生分解性の polydioxanone で作られた気管ステントの臨床応用の可能性を探るため、動物実験を行った。気管狭窄症モデルの作成から、ステント留置後の評価にいたるまで、独創性のある研究として評価された。

すでに本研究は国際誌に受諾掲載されたものであり、その結果についても臨床応用の可能性を示唆するものであった。提出された学位論文の表現に訂正が加えられたが、内容・研究の精度・その結果と考察にいたるまで、博士論文として申し分のない内容であった。

## 最終試験の結果の要旨

申請者は、研究の背景、方法、結果、考察をわかりやすく発表した。また研究上の限界についてもよく周知しており、今後の研究の方向性についても理解していた。いくつか記載の誤りが指摘され、修正の後に全員一致で合格と判定した。