

声門閉鎖不全に対する塩基性線維芽細胞  
増殖因子の単回声帯内注入術の長期経過

日本大学大学院医学研究科博士課程  
外科系耳鼻咽喉科学専攻

三浦 怜央

修了年 2021 年

指導教員 大島 猛史

声門閉鎖不全に対する塩基性線維芽細胞  
増殖因子の単回声帯内注入術の長期経過

日本大学大学院医学研究科博士課程  
外科系耳鼻咽喉科学専攻

三浦 怜央

修了年 2021 年

指導教員 大島 猛史

## 目次

第Ⅰ章 研究の概要	1
第Ⅱ章 緒言	3
1 発声生理と声門閉鎖不全	
2 声帯内注入術	
3 塩基性線維芽細胞増殖因子	
4 声帯振動を含めた客観的評価	
5 本研究の目的	
第Ⅲ章 対象と方法	11
1 対象	
2 手術方法	
3 評価方法	
4 統計学的検討	
第Ⅳ章 結果	15
1 症例提示	
2 全症例の解析結果	
3 疾患別の結果	
第Ⅴ章 考察	21
1 bFGF 単回注入による長期治療効果	
2 疾患別による効果	

3 HSDI の有用点

4 本研究の限界と今後の検討課題

第VI章  まとめ	27
謝辞	27
表	28
図	30
引用文献	58
業績	63

## 第 I 章 研究の概要

### 目的

声門閉鎖不全症例に対して basic fibroblast growth factor (bFGF) の声帯内注入術は単回投与でも 12 ヶ月間までは治療効果があることはすでに報告されている。しかし、その bFGF の単回声帯内注入術の長期的な治療効果については明らかにされていない。本研究は複数年に渡る治療効果を明らかにするため、単回の bFGF を用いた声帯内注入術を施行した患者を 36 ヶ月経過観察した。

### 対象および方法

19 人の声門閉鎖不全症例(声帯萎縮 9 例、声帯溝症 8 例、反回神経麻痺 2 例、男性 13 例、女性 6 例、平均年齢 66.2±9.93 歳)を対象にし、20  $\mu$ g/ml に希釈したリコンビナントヒト bFGF を一側あたり 1 か所ずつ、声帯萎縮症例には両側、声帯溝症には病側、反回神経麻痺例では麻痺側の声帯粘膜固有層に注入した。術前および術後 6 ヶ月、12 ヶ月、18 ヶ月、24 ヶ月、36 ヶ月後に以下の評価項目を統計学的に比較した。評価項目は Grade, Rough, Breathy, Asthenic, and Strained (GRBAS) scale、最長発声持続時間 Maximum phonation time (MPT)、音響分析、High speed digital imaging(HSDI) による Glottal Wave Analysis (GWA) および Kymograph Edge Analysis (KEA) とした。音響分析より Amplitude perturbation quotient (APQ)、Period perturbation quotient (PPQ)

を測定した。GWA より発声時平均最小声門面積及び発声時平均最小声帯間距離を測定した。KEA より左右声帯の振幅を測定した。

## 結果

統計学的に術前と比較すると、GRBAS scale では術後 6 ヶ月後より減少し、最長発声持続時間は延長した。HSDI の GWA より算出された発声時平均最小声門面積及び発声時平均最小声帯間距離は術後 6 ヶ月後より有意に縮小した。さらに、これらの効果は注入術後 36 ヶ月間に渡って効果が持続した。音響分析より得られた APQ , PPQ は減少傾向あったが統計的な有意差は認めなかった。HSDI の KEA より算出された左右の声帯振幅は注入前後で明らかな変化を認めなかった。

## 結論

bFGF を用いた単回の声帯注入術はその効果が 36 ヶ月に渡って持続することが示唆された。

## 第Ⅱ章 緒言

### 1. 発声生理と声門閉鎖不全

音の生成は大きく 3 段階にわけられる。第 1 段階は呼気を肺から送り出す呼気調節の過程。第 2 段階は、その呼気流によって喉頭内の声帯を振動させることによって声を作る喉頭調節の過程。第 3 段階は、喉頭から上の付属管腔の各器官の運動を調節し、共鳴と気流を操作してことばの音の要素を作る構音の過程である。発声時に呼気により声帯を下方から外側上方に押し広げて声門を開く。ベルヌーイの法則、声帯の粘弾性により声門閉鎖が生じる。ベルヌーイ力と声門下圧が交互に反復して作用することで声帯が準周期的に振動し、声門が準周期的に閉鎖・開大を反復する[1]。何らかの原因でこの声帯振動が妨げられ音声障害が生じる。声帯は組織学的に粘膜上皮、粘膜固有層、筋層からなる層構造を呈している。粘膜固有層はさらにヒアルロン酸に富んだ浅層、弾性線維に富んだ中間層、膠原繊維に富んだ深層にわかれている[2] (図 1)。粘膜固有層浅層にはⅢ型コラーゲンが多く分布する。この線維は細くてしなやかで細網線維とも呼ばれ、柔軟な組織の構造維持に働くとされている。振動部分である浅層内での分子構造の維持に必要不可欠な分子である。また浅層内にはヒアルロン酸が広範囲に存在し、浅層の物性を規定する重要な分子として認識されている。粘性に富み、空間保持、保湿効果があり、ヒアルロン酸が増加した組織では粘性も増すことが確認されている[3]。

声門閉鎖不全とは発声時に両側声帯粘膜間に間隙が生じるために、呼気が漏

出ることによって気息性嘔声を生じる病態である。声門閉鎖不全を呈する疾患として声帯萎縮、声帯溝症、反回神経麻痺があげられる。

声帯萎縮は加齢による粘膜固有層と声帯筋の萎縮を主体とする[4]。声帯粘膜においては声帯振動を支えるとされるヒアルロン酸が減少し、コラーゲン線維が蓄積する。コラーゲンは声帯粘膜に必要な構造であるが、通常ではI型を含むコラーゲン消化酵素により新陳代謝がおこるところ、年齢とともにターナーオーバーが減少し、不良なコラーゲン線維が蓄積して線維化を来す[5]。これらの組織変化により声帯は硬く痩せていく。声帯萎縮の治療は発声訓練法、声帯注入術が行われている。

声帯溝症は声帯の前後方向に溝状の病変が存在する疾患である。組織学的には粘膜固有層浅層がほぼ喪失し、上皮と声帯靭帯が線維化組織で癒着する疾患である[6]。上皮の癒着による粘膜波動の障害、声帯の弓状変化による発声時呼気流率の上昇などにより、音声障害が生じる。声帯溝症の発症に関しては、先天性に存在するとする説や加齢変化の一病態とする説等認めるが、原因は現在でも特定されていない[7]。声帯溝症の治療は、溝によって阻害される粘膜波動を回復し、声帯弓状変化によって生じる発声時声門間隙を縮小させることが目的となる。様々な治療が試みられているが、現状では溝を完全に正常に戻す手段はなく、現在でも治療法の検討がすすめられている。

反回神経麻痺は麻痺側声帯の筋層、粘膜固有層いずれも体積、緊張が低下することで声門閉鎖不全を来し気息性嘔声を生じる疾患である[8]。原因として術後性、挿管性、外傷性、非術後性(腫瘍、感染症など)、特発性がある。感染



症や挿管や手術時に反回神経への一時的な障害などで、神経断裂していない症例や原因不明の神経麻痺では保存加療が適応である。神経が断裂されたか不明な場合、麻痺発症後6ヵ月程度経過をみて改善がない場合は手術加療を行う[9]。

## 2. 声帯内注入術

声門閉鎖不全症例に対する治療として、声帯内注入術、甲状軟骨形成術Ⅰ型、披裂軟骨内転術が行われている。発声時の声門間隙が大きくなり、マニュアルテスト(甲状軟骨翼を両側方より圧迫して音声変化をみる)で音声改善する場合は、声帯内注入術や甲状軟骨形成術Ⅰ型を行う。発声時に声門間隙が大きい場合や両側声帯間のレベル差がある場合は、披裂軟骨内転術と甲状軟骨形成術Ⅰ型を併用する[9]。

最初に声帯注入術を行い発表したのは Bruning である[10]。注入材料はパラフィンであった。本邦ではシリコン[11]が頻用された後、アテロコラーゲン[12]、自家脂肪[13]、リン酸カルシウムペースト[14]、ヒアルロン酸[15]などが使用されている。

アテロコラーゲンは低温下で流動性をもつ特徴があり、細径の注入針を用いることができる。しかし、タイプⅠとタイプⅢコラーゲンがリン酸緩衝液の混合されたもので、なかでもタイプⅠコラーゲンが主な構成成分である。声帯粘膜固有層浅層の主な構成成分であるタイプⅢコラーゲンと異なるため、粘膜固有層浅層に注入すると声帯振動を障害する可能性がある[16]。また、ウシ由来蛋白でありアレルギー反応には注意が必要である。

自家脂肪は自己の組織であるため安全性が高い[16]。しかし、注入後の吸収性に影響を及ぼす脂肪細胞の損傷を避けるため、全身麻酔下に臍下部皮下から18G針で吸引採取し、直達喉頭鏡下に声帯内に注入する必要がある。

リン酸カルシウムペーストはペースト状から硬化し、注入後の低吸収性、持続性が特徴である。しかし、常温で固化するため冷温下での素早い操作が必要で、かつ骨様に硬化するため声帯粘膜固有層へ注入すると声帯振動を妨げ術後の音声悪化を来す危険がある。よって注入は確実に声帯筋または傍声帯間隙へ行うために直達喉頭鏡下に行う必要がある[16]。

ヒアルロン酸は局所麻酔下で経口腔的に声帯内注入可能である。しかし、分子量や化合物によってその粘弾性や持続性が異なるので、どのようなヒアルロン酸化合物を用いるか、またその量や回数をどうするかなどが課題である[3]。

これらの注入物質は声門閉鎖不全を矯正するために用いられ、わが国では古くはアテロコラーゲンが、近年では自家脂肪がよく用いられる[5]。声門閉鎖の改善効果はあるが、声帯粘膜の物性が変わるわけではないため、振動の改善効果はあまり期待できない。さらに、これらの注入物質は患者への侵襲性が課題である。自家脂肪、リン酸カルシウムペーストは、喉頭直達鏡下に顕微鏡を用いて微細な操作をしなければならないため全身麻酔下での手術が必要になり、局所麻酔下と比較して侵襲が高い。アテロコラーゲン、ヒアルロン酸を用いた声帯内注入術は局所麻酔下で可能であるが、吸収が早く効果持続時間が短いため複数回の手術を必要とすることが多く[17]、患者負担は大きい。局所麻酔下声帯内注入術で単回の投与でも効果が一定期間持続するような治療薬が望まれ

る。近年、再生医療を用いた声帯粘膜再生が試みられるようになった。現在我が国で保険適応外ながら臨床研究として行われているのが、塩基性線維芽細胞増殖因子 basic fibroblast growth factor (bFGF) を用いた声帯再生医療である。

### 3. 塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF)

bFGF は Gospodarowicz が 1974 年に線維芽細胞を促進する蛋白を牛の脳下垂体から発見した [18]。その後、遺伝子組み換え技術によりリコンビナントヒト bFGF が製剤化された (Trafermin)。Trafermin は、線維芽細胞増殖作用、角化細胞増殖作用、血管内皮細胞増殖作用などを有し、創傷治癒の各段階で促進的に作用する [19]。本邦では主に難治性潰瘍や褥瘡などの治療に用いられている。

bFGF は線維芽細胞を増殖する働きがあるとともに、その機能を修飾する。楯谷は正常ラットの声帯膜様部の線維芽細胞では、ヒアルロン酸合成酵素 mRNA の発現が有意に高く、ヒアルロン酸の合成に関与し膜様部の粘弾性の維持に寄与していることを示した [20]。ヒアルロン酸が増加することで粘性、空間保持効果が上昇し、声帯振幅の上昇、声門閉鎖不全の改善に寄与すると考えられる。

I 型コラーゲンの代謝が遅延すると、不良コラーゲンが蓄積し、声帯粘膜は硬く変性することが知られている [3]。Hirano らはラットの声帯粘膜固有層において、bFGF を投与することで I 型コラーゲンの減少、ヒアルロン酸合成の促進を明らかにし、声帯の加齢性変化に対しての有用性を示唆した [4]。Hirano らは初めて 63 歳の声帯萎縮の男性患者に対して bFGF10  $\mu$ g を左声帯粘膜固有層に

注入した。ストロボスコーピー検査では声門閉鎖不全の改善、声帯振幅の上昇を、音響分析検査では振幅変動指数 Amplitude perturbation quotient (APQ)、周期変動指数 Period perturbation quotient (PPQ) の改善、最長発声持続時間 Maximum phonation time (MPT) の延長を示し、これらの効果は少なくとも 3 ヶ月持続することを明らかにした[21]。さらに Hirano らは 10 名の声帯萎縮患者 (男性 6 名、女性 4 名、平均年齢  $70.1 \pm 5.3$  歳) に対して bFGF を声帯粘膜固有層内に複数回注入することで、ストロボスコーピー検査では声門閉鎖不全の改善、声帯振幅の上昇を、音響分析検査では APQ、PPQ の改善、MPT の延長を示し、これらの効果は少なくとも 12 ヶ月持続することを明らかにした[22]。bFGF の注入量は一声帯あたり  $10 \mu\text{g}$ 、投与回数は一週間毎に 4 回の注入を 1 サイクルとして平均 2.7 サイクルであった[22]。bFGF を用いた動物実験研究から単回手術でも効果が得られると考えられたことから[23]、Suzuki らは声門閉鎖不全患者 17 名 (声帯萎縮 7 例、声帯溝症 6 例、反回神経麻痺 4 例、性別は男性 8 例、女性 9 例、平均年齢  $69.18 \pm 11.37$  歳) に一側あたり bFGF  $2 \sim 4 \mu\text{g}$  を単回声帯粘膜固有層に注入した。声帯高速撮影では発声時平均最小声門面積および発声時平均最小声帯距離は縮小し、音響分析検査では APQ、PPQ の改善、MPT の延長を示し、これらの効果は少なくとも 12 ヶ月持続することを明らかにした[24]。Suzuki らは 12 ヶ月までの効果を明らかにしたが、それ以上の複数年にわたる効果は不明なままであった。

#### 4. 声帯振動を含めた客観的評価

声帯は話声位の場合、成人男性で100～150回/秒、成人女性で200～250回/秒と高速で振動しているため通常の喉頭ファイバースコープでの声帯振動の評価は困難である。

Hirano らによる声門閉鎖不全に対する bFGF を用いた声帯内注入術の先行研究では喉頭ストロボスコーピー検査によって声帯振動の評価を行った[21, 22]。喉頭ストロボスコーピー検査は、マイクロフォンにより音声をひろい、その基本周波数を抽出して、その周期よりもわずかに長い間隔でストロボ光を発光させると、声帯振動をスローモーション像として観察することができる。これは複数の周期にわたる声帯振動から集められた虚像である。声帯振動が周期的でない例、周期的でも音声に雑音成分が多く F0 が抽出できない例では、連続性のある振動の像として観察することができない。一方で高速デジタル撮影 High speed digital imaging(HSDI)を用いた声帯振動評価が行われてきている[25, 26]。HSDI は数千～数万フレーム/秒(fps)の高速度で声帯を撮影し観察するもので、得られる像は真の声帯振動を示す。最大の長所は、声帯振動を周期ごとに観察できることにある。すなわち非周期的な振動でも、また起声や終声、咳など過度的な現象でも観察ができる。

その他の客観的評価法として Grade, Rough, Breathy, Asthenic, and Strained (GRBAS) scale、MPT、音響分析がある。

GRBAS scale は嗄声の重症度を表す聴覚心理学的評価法であり、臨床の場で広く用いられ、Suzuki らも評価法として使用している[24, 27]。G(grade), R(rough), B(breathy), A(asthenic), S(strained)について0～3で評価する。

0 は正常、3 は最重度の評価である。「G」は音声の総合的な異常度または嗄声度を表す。「R」は声帯ポリープなど声帯の比較的やわらかい病変により、声帯振動が不規則な場合や左右差が生じている場合に聴取される。「B」は反回神経麻痺例など声門閉鎖不全のために息漏れがあり、呼気流率が大きい場合に聴取される。「A」は声帯の質量が異常に軽いか、緊張不全状態にあり喉頭音源が著しく弱い際に聴取される。「S」は声門閉鎖が強すぎる場合に聴取される。

最長発声持続時間は、総合的な発声能力を定量的に表すことができる検査である [24]。

音響分析は音声信号を解析して音声障害の客観的評価を行う方法である [28]。病的音声では声帯振動の規則性が損なわれるため、音声波形も一周期ごとに変動し、基本周期や振幅にゆらぎが生じる。このゆらぎが大きいほど嗄声の程度が強いと考えることができる。ゆらぎの程度を数値化するにはいくつかの方法が提案されているが、周期では周期変動指数 (PPQ)、振幅では振幅変動指数 (APQ) がよく用いられる。振幅変動指数は振幅系列の早い変動成分の平均的な大きさの区間全体における平均振幅に対する割合を表しており、周期変動指数は周期系列の早い変動成分の平均的な大きさの区間全体における平均周期に対する割合を表している [29]。嗄声が強いと PPQ、APQ は増加し、音声障害の治療効果の客観的評価に有用である [24, 27]。

## 5. 本研究の目的

声門閉鎖不全症例に対して bFGF の声帯内注入術は単回投与でも少なくとも 12 ヶ月間までは治療効果があることはすでに報告されている [24]。しかし、その bFGF の単回声帯内注入術の長期的な治療効果については明らかにされていない。本研究は複数年に渡る治療効果を明らかにするため、当科で bFGF を単回注入した症例のうち 36 ヶ月フォローアップできた症例を対象とした後ろ向き観察研究を施行した。

### 第Ⅲ章 対象と方法

#### 1. 対象

2012 年 3 月から 2017 年 2 月に日本大学病院耳鼻咽喉科音声外来にて声門閉鎖不全の改善を目的として塩基性線維芽細胞増殖因子を声帯内注入し、3 年間通院し得た 19 名を本研究の対象とした。対象患者には bFGF 声帯内注入術の臨床研究参加の同意書をえた。疾患の内訳は加齢による声帯萎縮 9 例、声帯溝症 8 例、反回神経麻痺 2 例であった。性別は男性 13 例、女性 6 例であった。平均年齢は  $66.2 \pm 9.93$  歳であった(表 1-①、②)。反回神経麻痺症例はいずれも声帯内注入術を行う以前に甲状軟骨形成術 I 型および披裂軟骨内転術を受けていた。

声帯萎縮の診断は喉頭内視鏡検査で声帯の弓状変化、高速デジタル撮影で閉鎖期の声門間隙を認めることで診断した [5]。声帯溝症の診断は喉頭内視鏡検査で声帯に長軸方向の溝を認め、声門閉鎖不全をきたし、高速デジタル撮影で声門下から声帯上面に左右対称に流れる粘膜波動が溝の部分で途切れる所見を

認めることで診断した[30]。反回神経麻痺の診断は喉頭内視鏡検査で喉頭に腫瘍や瘢痕がなく、呼吸や発声時に麻痺側声帯が不動であることを確認し診断した[9]。各症例の診断は音声外来で10年以上診療している耳鼻咽喉科医3人が行った。

本臨床研究は、当科でbFGFを単回注入した症例のうち36ヵ月フォローアップできた症例を対象とした後ろ向き観察研究であり、日本大学病院倫理委員会の審査を得て施行した(承認番号20200302「塩基性線維芽細胞増殖因子の単回声帯内注入術の長期経過」)。

## 2. 手術方法

局所麻酔下に手術を施行した。4%リドカインを吸入した後、更に咽頭および喉頭粘膜に4%リドカインを用いて表面麻酔をした。経鼻喉頭ファイバースコープで観察しながら、経口的に彎曲型喉頭注入針(Nagashima Medical Co. Ltd. Tokyo, Japan)を用いて声帯粘膜固有層にbFGFを注入した(図2, 図3)。声帯靭帯を貫かないよう中間層の手前まで注入針をすすめ、針先の可動性があることを確認し声帯粘膜固有層内に針先があることを注入直前に再度確認した。使用した注入物質はヒトリコンビナントbFGF(Trafermin; Kaken Co., Tokyo)を生理塩水で希釈し、 $20\mu\text{g/ml}$ としたものを用いた。注入量は一側あたり $0.1\text{ml}\sim 0.2\text{ml}$ (bFGFとして $2\mu\text{g}\sim 4\mu\text{g}$ )であった。注入部位は術前に施行したHSDIより、声帯の体積が最も減少していると思われた部位の声帯粘膜固有層に一側あたり1か所ずつ、声帯萎縮症例には両側、声帯溝症には病側、反回神経



麻痺例では麻痺側に注入した。注入後、1時間経過するまで発声を禁止し、喉頭浮腫、出血がないことを確認した。薬剤濃度及び、声帯粘膜固有層への投与は Suzuki らの研究に基づいて決定した[24]。

### 3. 評価方法

術前および術後 6 ヶ月、12 ヶ月、18 ヶ月、24 ヶ月、36 ヶ月後に以下の評価項目を統計学的に比較した。術前のデータ取得は手術日の注入直前に行った。術後評価は複数の第三者が参加して行われた。

評価項目は GRBAS scale、最長発声持続時間、音響分析、HSDI による Glottal Wave Analysis (GWA) および Kymograph Edge Analysis (KEA) とした。より正確に声帯粘膜振動を検証するために経時的に HSDI を行い動画解析した。

GRBAS scale では声門の閉鎖不全がある場合に生じる気流雑音により出現する「B」について検討した。声門閉鎖不全症例では「R」、「A」、「S」の項目の値は 0 であり、総合的な嗄声度である「G」と「B」の値が等しくなる。よって、声門の閉鎖不全がある場合に生じる気流雑音により出現する「B」項目のみ評価した。評価は自由会話中に音声外来で 10 年以上診療している耳鼻咽喉科医 3 人が行った。

最長発声持続時間は、被検者に深吸気させ、楽な高さ、楽な強さの声で/a/を息の続く限り持続発声させた際の時間を測定した。Suzuki らと同様に 3 回施行し、最長値を採用した[24]。

音響分析は音響解析ソフト Multi-Dimensional Voice Program (MDVP, model

5105, Kaypentax, Montvale, NJ)を用いて解析した。Suzuki らと同様に振幅変動指数 (APQ), 周期変動指数 (PPQ) を測定した [24]。発声の起始ならびに停止の過渡区間は解析対象から除外し、発声が定常になった点から 0.5 秒間を録音した。

高速デジタル撮影は HSDI (FASTCAM MC2.1; Photron, Tokyo, Japan) を硬性鏡 (KSN2025; Kaypentax, Montvale, NJ) 及び光源 (Kay Xenon 300 watt light source; Kaypentax, Montvale, NJ) に接続し使用した (図 4)。撮影条件は 4000 フレーム/秒の速度で色調はモノクロームに設定した。現時点で撮影ユニット (図 5) は国内では販売されておらず、文部科学省科学研究費の助成 (「基盤研究 (C)」、課題番号「19500462」及び「23592540」研究代表者: 牧山清) を受け、独自に米国から輸入して作成したものである。時系列画像からの声門波形解析 (GWA) およびキモグラフからの開口部画像解析 (KEA) を行うために、動画解析ソフト Kay' s Image Processing Software (KIPS, model 9181, KayPENTAX, Montvale, NJ) を用いた。GWA からは発声時平均最小声門面積と発声時平均最小声帯間距離を評価した (図 6)。KEA の解析方法は Suzuki らと同様に前連合と声帯膜様部中央の中間 (声帯前方)、声帯膜様部中央 (声帯中央)、声帯膜様部中央と声帯突起部の中間 (声門後方) の 3 か所の横断面で時間系列を描出し解析した [24] (図 7)。本研究では左右の声帯振幅を計測し経過観察した。それぞれ声帯膜様部長を 100 とした場合の pixel 数を単位とした。

#### 4. 統計学的検討

一律に有意水準は 5% に設定した。GRBAS スケールについては、各々の 2 時点の比較に関して混合効果順序ロジスティック回帰モデルを利用し、個々にワルド検定による p 値を算出した。また、対照群として 0 ヶ月時点の処理群として 6、12、18、24、36 ヶ月時点の評価項目を設定し、対照群と各処理群の同時比較には、Holm 手順による調整 p 値を算出した。さらに、6、12、18、24、36 ヶ月の 5 時点における効果の一様性に関して、尤度比検定による p 値を算出した。統計処理は SAS (version 9.4、 PROC NLMIXED) を使用した。

それ以外の評価項目については、各々の 2 時点の比較に関して混合効果正規線形回帰モデルを利用し、個々にワルド検定による p 値を算出した。また、対照群として 0 ヶ月時点の処理群として 6、12、18、24、36 ヶ月時点の評価項目を設定し、対照群と各処理群の同時比較には、Dunnett-Hsu 法による調整 p 値を算出した。さらに、6、12、18、24、36 ヶ月間の 5 時点における効果の一様性に関して、固定効果に対する F 検定により p 値を算出した。統計処理は SAS (version 9.4、 PROC MIXED) を使用した。

## 第IV章 結果

術中、術後に声帯浮腫や呼吸苦、アレルギー反応などの有害事象が生じた症例はなかった。

### 1. 症例提示

70 歳代女性で、経時的に増悪する嗄声を主訴に受診した。喫煙歴はなく、飲酒歴は機会飲酒であった。初診時喉頭所見は、両側声帯に溝ができており、発声時の声門閉鎖不全を認めた(図 8)。声の聴覚心理評価は G(2)R(0)B(2)A(0)S(0)、MPT は 14 秒であった。声帯溝症と診断し、bFGF を両側声帯粘膜固有層浅層にそれぞれ 1 カ所、0.15ml ずつ単回の声帯内注入術を施行した。GWA からは閉鎖不全を認めたものの振動は規則的で位相差は認めなかった。KEA では計測した 3 点のいずれにおいても左右声帯の接触がなく、GWA と同様に声門閉鎖不全が明らかだった。手術後 36 カ月経過した時点では G(1)R(0)B(1)A(0)S(0)で嗄声は改善しており、MPT は 30 秒に延長した。GWA、KEA とともに極わずかに声門閉鎖不全を認めたが、声質、HSDI 所見いずれも術前と比較すると著明に改善しており良好な状態が維持できていることが判明した(図 9, 10, 11)。

## 2. 全症例の解析結果

### ① GRBAS scale

本研究では、声門の閉鎖不全がある場合に生じる気流雑音により出現する「B」について検討した。術前(0.000)、注入 6 カ月後(-18.2947±6.1200)、12 カ月後(-19.0686±6.2292)、18 カ月後(-17.3724±6.0215)、24 カ月後(-16.3102±5.8068)、36 カ月後(-16.4024±5.7886)であった。ベースライン時点に対する評価時点におけるオッズ比を考え、その対数を縦軸にとっているため

値は負の値となっている。各々の 2 時点の比較に関して、混合効果順序ロジスティック回帰モデルを利用し、個々にワルド検定を用いると術前と比較して術後 6 カ月、12 カ月、18 カ月、24 カ月、36 カ月のいずれの時点でも  $p < 0.05$  となり有意差をもって値が低下した。一方、術後 6 カ月、12 カ月、18 カ月、24 カ月、36 カ月におけるいずれの対比較も  $p \geq 0.05$  であることから有意差は認められなかった(図 12-①)。Holm による多重比較手順によれば、術前の GRBAS と比較して術後の 6 カ月 ( $P=0.034$ )、12 カ月 ( $p=0.034$ )、18 カ月 ( $p=0.034$ )、24 カ月 ( $p=0.034$ )、36 カ月 ( $p=0.034$ ) における GRBAS はすべて有意に改善していた(図 12-②)。6、12、18、24、36 カ月間の 5 時点における効果の一様性は、尤度比検定によると、 $p=0.0879$  となり、棄却されず、GRBAS が改善した状態が術後 36 カ月経過した時点でも減衰することなく維持されていることが示唆された(図 12-②)。

## ② MPT

最長発声持続時間は術前( $11.42 \pm 1.719$  秒)、注入 6 カ月後( $16.20 \pm 1.755$  秒)、12 カ月後( $15.73 \pm 1.802$  秒)、18 カ月後( $16.52 \pm 1.822$  秒)、24 カ月後( $15.88 \pm 1.769$  秒)、36 カ月後( $16.52 \pm 1.741$  秒)であった。各々の 2 時点の比較に関して、混合効果正規線形回帰モデルを利用し、個々にワルド検定を用いると術前と比較して術後 6 カ月、12 カ月、18 カ月、24 カ月、36 カ月のいずれの時点でも  $p < 0.05$  となり有意差をもって延長を認めた。一方、術後 6 カ月、12 カ月、18 カ月、24 カ月、36 カ月間におけるいずれの対比較も  $p \geq 0.05$  である

ことから有意差は認められなかった(図 13-①)。Dunnett-Hsu による多重比較法によれば、術前と比較して術後の 6 カ月 ( $p < .0001$ )、12 カ月 ( $p = .0013$ )、18 カ月 ( $p = .0002$ )、24 カ月 ( $p = .0004$ )、36 カ月 ( $p < .0001$ ) はすべて有意に延長を認めた(図 13-②)。6、12、18、24、36 カ月間の 5 時点における効果の一様性は、固定効果に対する F 検定によると、 $p = 0.9415$  となり、棄却されず、MPT が延長した状態が術後 36 カ月経過した時点でも減衰することなく維持されていることが示唆された(図 13-②)。

### ③音響分析

PPQ は術前 ( $1.545 \pm 0.2014\%$ )、注入 6 カ月後 ( $0.9299 \pm 0.2149\%$ )、12 カ月後 ( $1.0515 \pm 0.2323\%$ )、18 カ月後 ( $1.134 \pm 0.2394\%$ )、24 カ月後 ( $1.0226 \pm 0.2199\%$ )、36 カ月後 ( $0.9725 \pm 0.2098\%$ ) であった。Dunnett-Hsu 法による多重比較によれば、術前の PPQ は術後 6 カ月 ( $p = 0.0387$ ) の間では有意差を認め減少したが、術後 12 カ月 ( $p = 0.1826$ )、18 カ月 ( $p = 0.3649$ )、24 カ月 ( $p = 0.1138$ )、36 カ月 ( $p = 0.0540$ ) の間では有意差を認めなかった(図 14)。

APQ は術前 ( $3.899 \pm 0.5233\%$ )、注入 6 カ月後 ( $4.381 \pm 0.5585\%$ )、12 カ月後 ( $3.67 \pm 0.6037\%$ )、18 カ月後 ( $4.111 \pm 0.6221\%$ )、24 カ月後 ( $3.363 \pm 0.5715\%$ )、36 カ月後 ( $3.258 \pm 0.5452\%$ ) であった。術前の APQ は術後 6 カ月 ( $p = 0.8979$ )、12 カ月 ( $p = 0.9967$ )、18 カ月 ( $p = 0.9980$ )、24 カ月 ( $p = 0.8630$ )、36 カ月 ( $p = 0.7287$ ) の間で有意差を認めなかった(図 15)。

#### ④HSDI

発声時平均最小声門面積は術前 ( $313.7 \pm 51.02$  pixel<sup>2</sup>)、注入 6 カ月後 ( $77.24 \pm 67.61$  pixel<sup>2</sup>)、12 カ月後 ( $92.63 \pm 71.29$  pixel<sup>2</sup>)、18 カ月後 ( $13.94 \pm 67.72$  pixel<sup>2</sup>)、24 カ月後 ( $77.94 \pm 61.78$  pixel<sup>2</sup>)、36 カ月後 ( $24.34 \pm 57.38$  pixel<sup>2</sup>)であった。各々の 2 時点の比較に関して、混合効果正規線形回帰モデルを利用し、個々にワルド検定を用いると術前と比較して術後 6 カ月、12 カ月、18 カ月、24 カ月、36 カ月のいずれの時点でも  $p < 0.05$  となり有意差をもって発声時平均最小面積の縮小を認めた。一方、術後 6 カ月、12 カ月、18 カ月、24 カ月、36 カ月間におけるいずれの対比較も  $p \geq 0.05$  であることから有意差は認められなかった(図 16-①)。Dunnett-Hsu による多重比較法によれば、術前と比較して術後の 6 カ月 ( $p=0.0126$ )、12 カ月 ( $p=0.0306$ )、18 カ月 ( $p=0.0010$ )、24 カ月 ( $p=0.0066$ )、36 カ月 ( $p < 0.0001$ ) は全て有意に縮小していた(図 16-②)。6、12、18、24、36 カ月間の 5 時点における効果の一様性は、固定効果に対する F 検定によると、 $p=0.8127$  となり、棄却されず、術前の発声時平均声門最小面積は術後と比較して縮小し、36 カ月経過しても減衰することなく維持されていることが示唆された(図 16-②)。

発声時平均最小声帯間距離は術前 ( $5.500 \pm 0.982$  pixel)、注入 6 カ月後 ( $2.612 \pm 1.223$  pixel)、12 カ月後 ( $0.665 \pm 1.279$  pixel)、18 カ月後 ( $0.160 \pm 1.279$  pixel)、24 カ月後 ( $1.291 \pm 1.097$  pixel)、36 カ月後 ( $0.404 \pm 1.007$  pixel)であった。各々の 2 時点の比較に関して、混合効果正規線形回帰モデルを利用し、個々にワルド検定を用いると術前と比較して術後 6

ヵ月、12ヵ月、18ヵ月、24ヵ月、36ヵ月のいずれの時点でも  $p < 0.05$  となり有意差をもって発声時平均最小声帯間距離の縮小を認めた。一方、術後6ヵ月、12ヵ月、18ヵ月、24ヵ月、36ヵ月間におけるいずれの対比較も  $p \geq 0.05$  であることから有意差は認められなかった(図17-①)。Dunnett-Hsuによる多重比較法によれば、術前と比較して術後の6ヵ月( $P=0.0249$ )、12ヵ月( $p=0.0048$ )、18ヵ月( $p=0.0004$ )、24ヵ月( $p=0.0043$ )、36ヵ月( $p=0.0001$ )はすべて有意に縮小していた(図17-②)。6、12、18、24、36ヵ月間の5時点における効果の一様性は、固定効果に対するF検定によると、 $p=0.7209$  となり、棄却されず、術前の平均最小声帯間距離は術後と比較して縮小し、36ヵ月経過しても減衰することなく維持されていることが示唆された(図17-②)。

左右声帯振幅は前方、正中、後方いずれも術前と術後で有意な変化はなかった(図18-①~③、図19-①~③)。

### 3. 疾患別の結果

統計学的有意差のみられた GRBAS、最長発声持続時間、発声時平均最小声門面積、発声時平均最小声帯間距離に関して個々の症例の経過を示す折れ線グラフを作成した(図20~図23)。統計学的有意差のみられなかった APQ、PPQ、左右声帯振幅に関しては治療効果の持続が認められた人数を記載した表を作成した(表2)。症例5の声帯萎縮と症例19の声帯溝症の HSDI のデータ(発声時平均最小声門面積、発声時平均最小声帯間距離、左右声帯振幅)は欠損値である。



#### ①GRBAS

声帯萎縮では 9 症例中 9 例、声帯溝症では 8 症例中 8 例、反回神経麻痺では 2 症例中 2 症例に bFGF の治療効果の持続が認められた(図 20-①～③)。

#### ②最長発声持続時間

声帯萎縮では 9 症例中 9 例、声帯溝症では 8 症例中 8 例、反回神経麻痺では 2 症例中 2 症例に bFGF の治療効果の持続が認められた(図 21-①～③)。

#### ③発声時平均最小声門面積

声帯萎縮では 8 症例中 6 例、声帯溝症では 7 症例中 6 例、反回神経麻痺では 2 症例中 2 症例に bFGF の治療効果の持続が認められた(図 22-①～③)。

#### ④発声時平均最小声帯間距離

声帯萎縮では 8 症例中 5 例、声帯溝症では 7 症例中 6 例、反回神経麻痺では 2 症例中 2 症例に bFGF の治療効果の持続が認められた(図 23-①～③)。

## 第V章 考察

### 1 bFGF 単回注入による長期治療効果の検討

bFGF は局所麻酔下における単回声帯内注入術の治療効果の有用性が報告されている [24]。単回投与でも効果が得られた理由として、動物実験で褥瘡およ

び熱傷部位に bFGF を単回投与したところ有意に面積が縮小したことを明らかにした報告があること [23]、またラットの声帯においては単回投与で組織学的変化が生じたことが理由として考えられる [4]。

Suzuki らは bFGF の単回声帯注入術で 12 ヶ月間治療効果が持続した理由として、bFGF はヒアルロン酸産生亢進、I 型コラーゲンの減少をすることで声門閉鎖不全の改善、声帯振幅の上昇を促し、さらに用量依存性に作用するのではなく、線維芽細胞にこれらの組織学的変化を起こす trigger として作用したことが予想されると述べている [24]。長期間効果が持続した報告として、口腔外科領域では bFGF を用いた歯周組織再生療法臨床治験の施行後 8 年間の経過観察で、bFGF 投与群がプラセボ群と比較して再治療等のイベント発生までの期間を統計学的に有意に延長させることを示した [31]。しかし、bFGF の効果が長期間持続した機序については、渉猟しえた限りでは報告はされていない。本研究では bFGF を用いた単回の声帯注入術の効果が 36 ヶ月に渡って持続することが示唆された。人の声帯を対象にした組織学的な検討は倫理的に組織採取が困難であるが、長期間効果が持続した理由としては、本研究では明確な答えは出せなかった。推察としては以下である。Hirano らの動物実験により、bFGF が線維芽細胞に作用し、線維芽細胞がヒアルロン酸の産生亢進するかたわら I 型コラーゲンを減少させることが示されている [4]。単回の bFGF が、作用を受けた線維芽細胞は、何らかの賦活化を受け、継続的にヒアルロン酸とコラーゲン量の好ましい割合を持続させたものと推察する。しかし、この点については、今後さらに検討を加える余地がある。

線維芽細胞は年齢とともに減少することが報告されている[4]。ところが Okui らは加齢性声帯萎縮のある 53 人の患者の声帯に bFGF を単回投与し、主観的および客観的な改善を報告しており[32]、その中で 70 歳以上と 70 歳未満の患者の術前後の Voice Handicap Index (VHI)と MPT の変化を比較したところ、このグループ間の改善率に有意差はないと述べている。bFGF の組織学的変化を起こす効果の発現は年齢に関係なく起こると考えられる。

本研究でも 70 歳以上の症例において、bFGF 単回声帯内注入術の長期有効性が認められた。以上より、bFGF を用いた声帯内注入術は年齢に影響することなく単回手術でも効果を示し、また合併症も認められないため安全かつ低侵襲な日帰り手術が可能な手術法であることが示唆される。

## 2 疾患別による効果

声帯萎縮は粘膜固有層浅層と声帯筋の萎縮を主体とする[4]。声帯粘膜固有層浅層に I 型コラーゲンの代謝の低下に伴う組織学的に不良なコラーゲンが増加し、ヒアルロン酸が減少している加齢に伴う声帯萎縮症例は本手術の良い適応と考えられる。bFGF を声帯粘膜固有層に注入することで、声帯粘膜固有層の線維芽細胞に作用しヒアルロン酸合成が促進することで声門閉鎖不全の改善を見込める。また、I 型コラーゲンの減少により声帯の粘弾性が上昇し、声帯振幅の改善を見込める。本研究では声門閉鎖不全は統計学的に有意差をもって改善したが、声帯振幅は Suzuki らと同様に一定の変化を示さなかった。原因と

して本研究は Hirano らの研究より bFGF の投与量が少なく、また bFGF の複数回投与でなく単回投与であったため I 型コラーゲンの減少が不十分であり粘弾性の上昇に関して十分な効果が得られなかった可能性がある。

声帯溝症は粘膜固有層浅層がほぼ喪失し、上皮と声帯靭帯が線維化組織で癒着する疾患である [6]。本研究では残存した声帯粘膜固有層浅層の線維芽細胞に bFGF が作用しヒアルロン酸合成促進による声門閉鎖不全の改善の効果が発現したと考えられる。しかし、病態を考慮すると症例により十分な効果が得られない可能性がある。効果が不十分な症例には粘膜固有層の癒痕組織を手術的に除去した後、除去後のスペースに再生土台を移植する方法などの工夫が必要であると考える。

反回神経麻痺は麻痺側声帯の筋層、粘膜固有層いずれも体積、緊張が低下する疾患である [8]。声帯粘膜固有層に bFGF を注入しており、薬剤の筋層や神経への移行はないと考えられる。よって、反回神経麻痺で患側の甲状披裂筋に萎縮が著明な症例や声帯が開大位で固定した症例には披裂軟骨内転術や甲状軟骨形成術 I 型を組み合わせた治療が必要であると考える。本研究では体積、緊張が低下した粘膜固有層の線維芽細胞に bFGF が作用し、ヒアルロン酸合成促進による声門閉鎖不全の改善の効果が発現したと考えられる。

### 3 HSDI の有用点

本研究では HSDI を行うことで bFGF 注入後の声帯振動様式について詳細に分析することができた。

喉頭ストロボスコーピー検査と HSDI 検査を比較検討した研究も行われている。Olthoff らは 162 名の患者(器質的異常所見のある患者 68 例、声帯運動機能障害 68 例、器質的異常所見のない機能障害 26 例)を対象に喉頭ストロボスコーピー検査と HSDI 検査を比較した[33]。2 秒の間に HSDI では喉頭ストロボスコーピー検査より約 100 倍の声帯の振動運動が記録され、不規則な声帯の振動運動でも分析が可能であった。また、専門家による評価の一致率に関しても HSDI では喉頭ストロボ検査より有意に一致率が高かった。声門閉鎖、声門閉鎖の持続時間、声帯振幅のすべての項目で HSDI 検査の方が優れていること示した。Patel らは白板症や酸逆流症などの上皮病変, 結節や嚢胞などの上皮病変, 痙攣性発声障害や反回神経麻痺などの神経筋障害の 126 例を対象にして、声門面積、声帯振幅、声門閉鎖などの様々な項目について喉頭ストロボスコーピー検査と HSDI 検査を比較検討した[34]。HSDI では 100%の症例で評価が可能であったが、喉頭ストロボスコーピー検査では、上皮病変の 58%、上皮病変の 53%、神経筋障害の 74%の症例で評価が困難であった。喉頭ストロボスコーピー検査と比較して HSDI 検査の方が臨床検査機器としてより適していることを示した。このように HSDI は基本周波数に関係なく撮影が可能であるため、喉頭ストロボスコーピー検査より正確に短い時間で声門閉鎖不全、声門面積、声帯振幅を把握することができる。さらに術前および術後の経過観察に HSDI を用いる利点として、ストロボスコーピー検査より声門閉鎖不全、声門面積、声帯振幅を正確に把握できるだけでなく数値化できるため、評価者によって差がでることなく注入部位の決定や治療効果判定に有用であると考えられる。本研究においても

GWA から得られた発声時平均最小声門面積および発声時平均最小声帯間距離は、bFGF 声帯内注入術の治療効果を正確に評価する上で有用な指標となった。

#### 4 本研究の限界と今後の検討課題

本研究には、以下の 4 点の限界あるいは検討課題があると思われる。

①本研究結果から単回声帯内注入術でも一定の効果の持続が得られたが、複数回の注入術を行った症例との比較がなされていない。また疾患ごとに効果の検討、他の注入物質との比較もなされていない。今後、症例を蓄積した上で複数回投与との比較、また疾患ごとに、さらに他の注入物質と比較検討を要する。

②本研究結果では bFGF の長期間効果の持続が得られたが、長期間効果の有効性の作用機序が明確になっていない。また、bFGF 投与量として一声帯あたり 2 ~4  $\mu$ g としたが、各疾患の至適投与量が明確になっていない。今後作用機序、至適投与量の解明のため動物実験が必要になると考える。

③bFGF の声帯内注入術の治療効果は多数報告されている [21, 22, 24]。しかし、現段階では臨床研究であるため保険収載に向けた治験が必要になると考える。

④本手術のみであらゆる声門閉鎖不全症例を治療しうるわけではない。声門閉鎖不全の程度が高度な反回神経麻痺については、本手術に加えて甲状軟骨形成術 I 型や披裂軟骨内転術など他の音声外科手術と組み合わせて治療する症例が多い。Goto らは反回神経麻痺により甲状披裂筋が萎縮したラットに bFGF の単回高用量局所注射したところ、萎縮の改善を報告し、臨床応用の可能性を示唆した [8]。Kanazawa らは反回神経麻痺 19 人の甲状披裂筋内に bFGF を単回投与

したところ、主観的および客観的な改善を報告している[35]。今後、声帯内と甲状披裂筋内で濃度を変えて注射することで経皮的切開の治療を避けることができ、より低侵襲で高い効果の治療ができるようになる可能性があると考えられる。

## 第VI章 まとめ

声門閉鎖不全患者に対し、声帯粘膜固有層に bFGF を単回投与し、音響分析、HSDI を用いて経過観察を行った。術後、声帯振幅は変化しなかったが声門閉鎖不全は改善し、それに伴い声質の改善を認めた。術前と比較して声質および声門閉鎖不全が改善された状態は 36 ヶ月に渡って持続し、本手術に持続的な効果が示唆された。

## 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導を賜りました日本大学医学部外科系耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野大島猛史先生、松崎洋海先生、牧山清先生、言語聴覚士の芦野直子先生、日本大学医学部数学分野谷口哲也先生に心から感謝申し上げます。

表

	疾患	性別	年齢	注入側	注入量( $\mu$ g)	リスク因子
症例1	左反回神経麻痺	女性	64	左側	4	特発性
症例2	声帯溝症	男性	66	両側	3	加齢
症例3	声帯溝症	男性	71	両側	4	加齢
症例4	声帯萎縮	男性	71	両側	4	加齢
症例5	声帯萎縮	男性	74	両側	3	加齢
症例6	声帯溝症	女性	70	両側	3	加齢
症例7	声帯溝症	男性	56	両側	2	加齢
症例8	声帯萎縮	男性	53	両側	2	加齢
症例9	声帯萎縮	男性	67	両側	2.5	加齢
症例10	声帯萎縮	男性	73	両側	4	加齢
症例11	声帯溝症	女性	72	左側	3	加齢
症例12	右反回神経麻痺	女性	78	右側	4	術後性
症例13	声帯萎縮	男性	66	両側	2	加齢
症例14	声帯溝症	男性	61	両側	3	加齢
症例15	声帯萎縮	女性	73	両側	2	加齢
症例16	声帯萎縮	女性	77	両側	右2、左4	加齢
症例17	声帯溝症	男性	72	両側	右2、左4	加齢
症例18	声帯萎縮	男性	59	両側	3	加齢
症例19	声帯溝症	男性	35	左側	4	先天性

表 1-① 患者背景



項目			
平均年齢			66.2±9.93歳
男性			13人
女性			6人
疾患			
声帯萎縮			9人
声帯溝症			8人
反回神経麻痺			2人

表 1-② 患者背景

	PPQ	APQ	左前方	左正中	左後方	右前方	右正中	右後方
声帯萎縮	6/9人	4/9人	5/8人	3/8人	4/8人	4/8人	4/8人	3/8人
声帯溝症	6/8人	5/8人	4/7人	4/7人	2/7人	5/7人	5/7人	5/7人
反回神経麻痺	2/2人	1/2人	1/2人	1/2人	1/2人	1/2人	1/2人	0/2人

表 2 Period perturbation quotient (PPQ)、Amplitude perturbation quotient (APQ)、左右声帯振幅

統計学的に有意差を認めなかった PPQ、APQ、左右声帯振幅に関して治療効果の持続が認められた人数を記載した表を作成した。HSDI のデータ(左右声帯振幅)は症例 5 の声帯萎縮、症例 19 の声帯溝症の値が欠損値となっている。

図

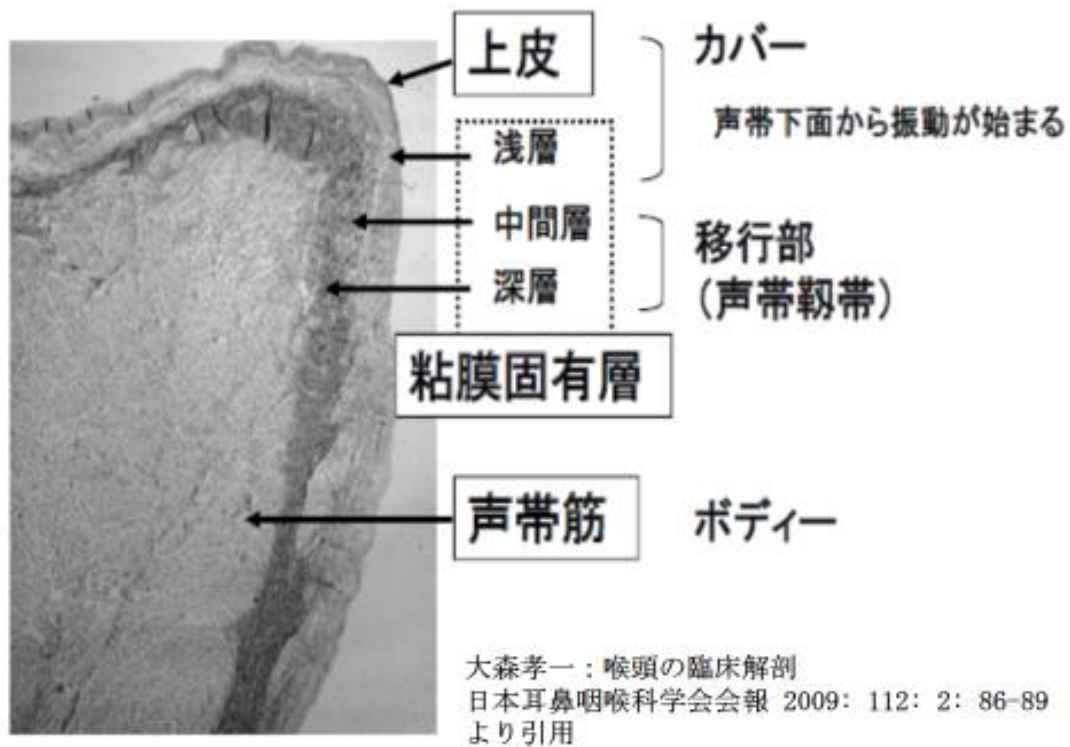


図 1 声帯の層構造

声帯は組織学的に粘膜上皮、粘膜固有層、筋層からなる層構造を呈している。

粘膜固有層はさらにヒアルロン酸に富んだ浅層、弾性線維に富んだ中間層、膠原繊維に富んだ深層に分かれている。



図2 彎曲型喉頭注入針(Nagashima Medical Co. Ltd. Tokyo, Japan)



図3 術中写真

経鼻喉頭ファイバースコープで観察しながら、経口的に彎曲型喉頭注入針 (Nagashima Medical Co. Ltd. Tokyo, Japan) を用いて声帯粘膜固有層に basic fibroblast growth factor (bFGF) を注入した。

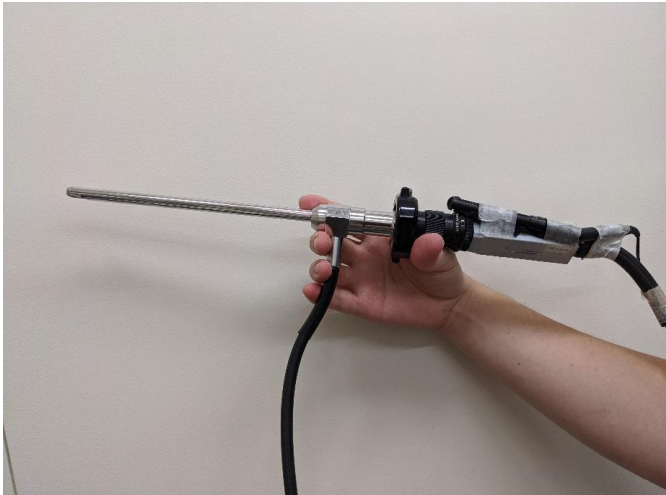


図4 撮影に使用した硬性鏡及び CCD

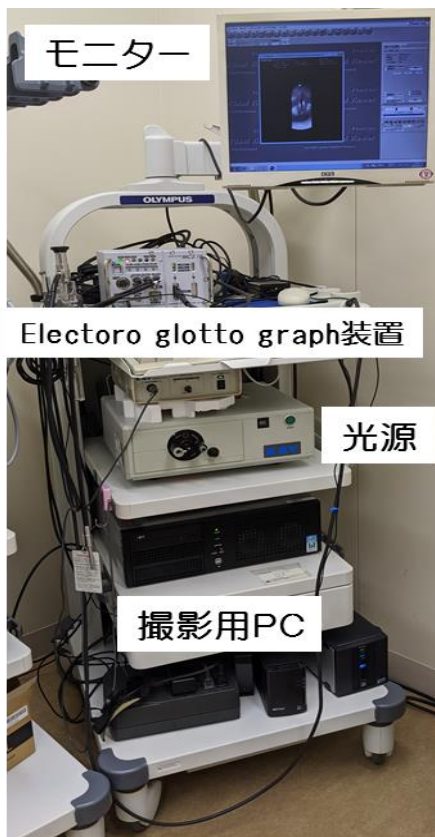


図5 高速デジタル撮影のユニット

科研費の助成を受け、独自にアメリカ合衆国より輸入し作成した。

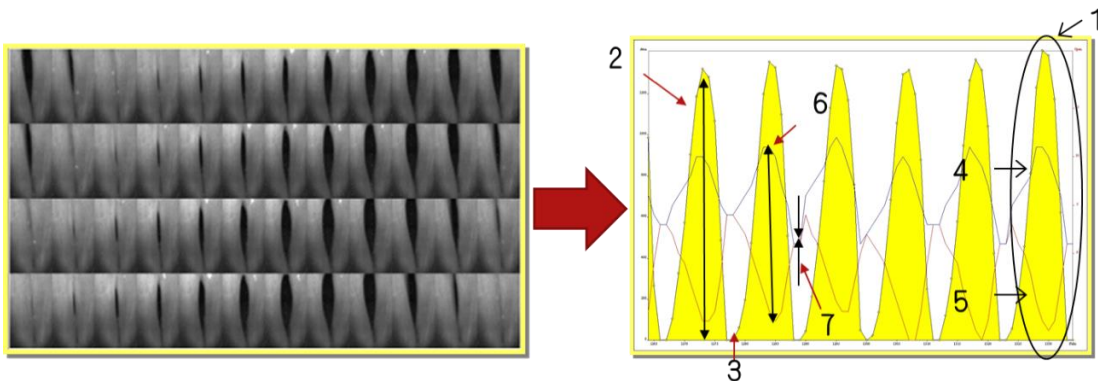


図6 声門波形解析(Glottal Wave Analysis: GWA)

声帯振動の時系列画像である。声門面積波形と声帯膜様部中央の軌道を描出することで、最大及び最小声門面積、最大及び最小声帯間距離を測定できる。

図6は健常者の解析画像である。

- 1、声門面積
- 2、最大声門面積
- 3、最小声門面積
- 4、左声帯の声帯膜様部中央の軌道
- 5、右声帯の声帯膜様部中央の軌道
- 6、最大声帯間距離
- 7、最小声帯間距離

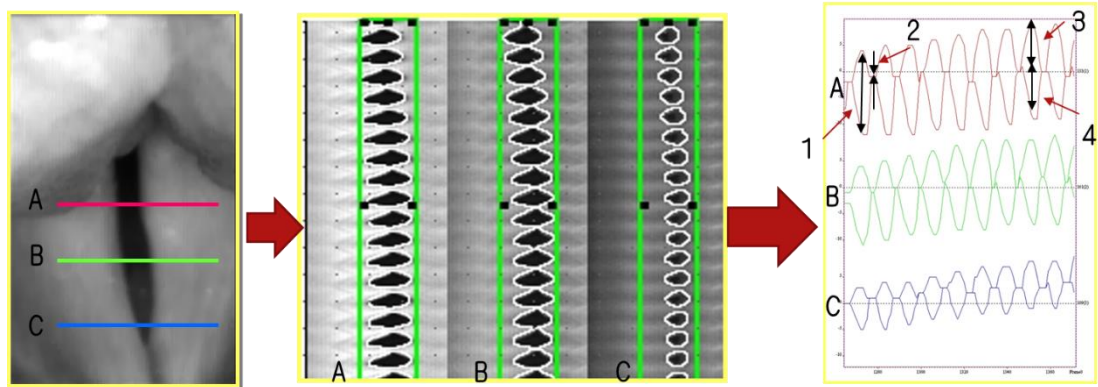


図7 開口部波形解析 (Kymograph Edge Analysis: KEA)

A. 声帯膜様部中央と後端の中間、B. 声帯膜様部中央、C. 声帯膜様部中央と前端の中間の3点において声帯縁の振幅を解析した。図7は健常者の解析画像である。

1. 最大開口幅
2. 最小開口幅
3. 左声帯振幅
4. 右声帯振幅

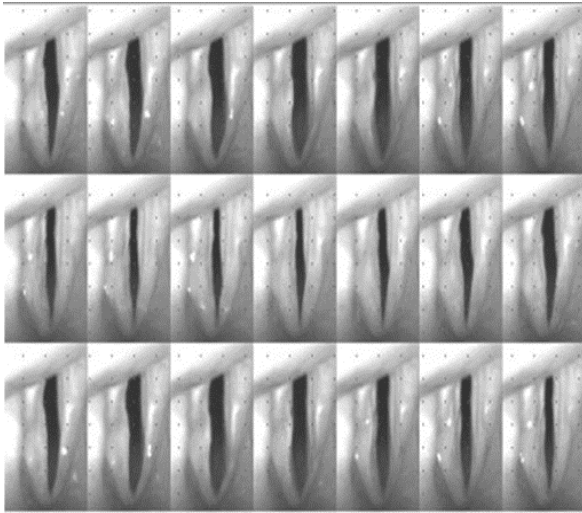


図8 術前に施行した High speed digital imaging(HSDI)より作成した発声時  
モンタージュ画像

図8は表1の症例6声帯溝症である。発声時の高速デジタル撮影動画からモン  
タージュを作成した。声門閉鎖不全を認める。

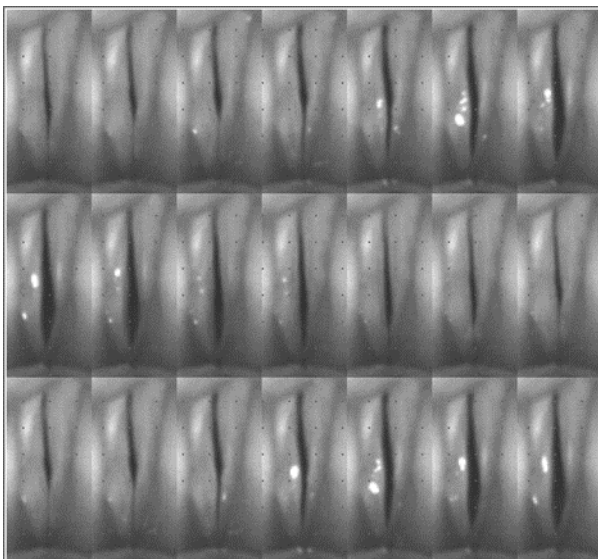
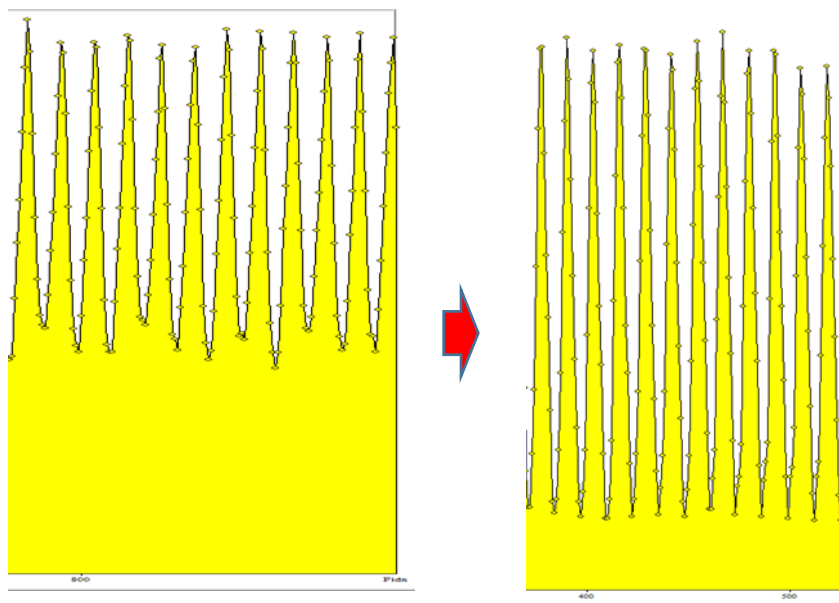


図9 術後36ヵ月に施行したHSDIより作成したモンタージュ画像

図は表1の症例6声帯溝症である。術前と比較して声門閉鎖不全の改善を認め  
る。



術前

36ヵ月後

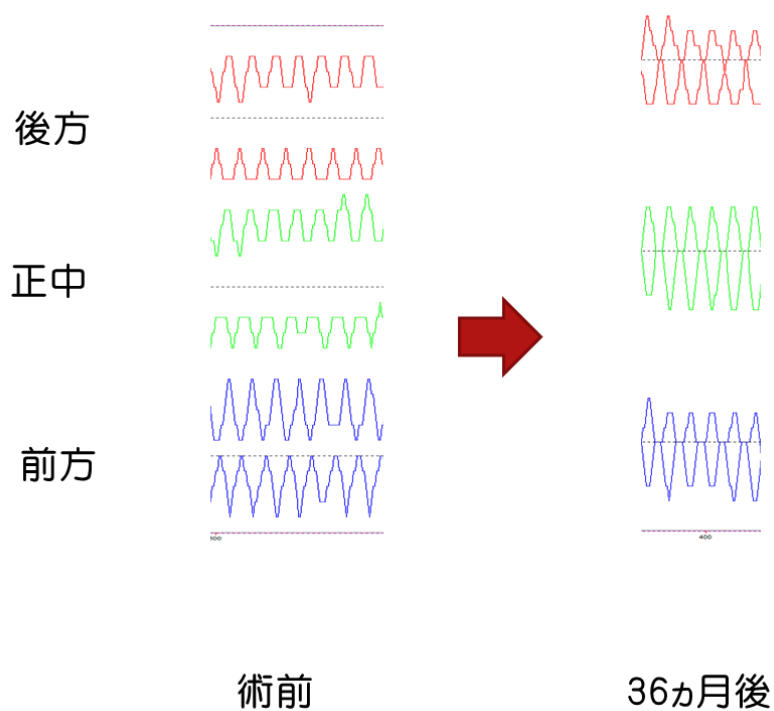
	最小面積	最大面積	最小距離	最大距離
術前	297	749	5.36	11.1
36ヵ月後	55.5	355	2.98	7.04

(単位は声帯膜様部全長を 100 としたときの pixel 数)

### 図 10 症例の GWA 結果

図は表 1 の症例 6 声帯溝症である。術前と比較して 36 ヶ月後は発声時平均最小面積、最大面積、最小距離、最大距離すべて値が小さくなっており、術前に認めた声門閉鎖不全が改善傾向であるのがわかる。





	左側振幅		右側振幅	
	術前	36か月	術前	36か月
後方	0.018	0.017	0.015	0.019
正中	0.018	0.024	0.013	0.024
前方	0.024	0.022	0.022	0.023

図 11 症例の KEA 結果

図は表 1 の症例 6 声帯溝症である。術前に認めた声門閉鎖不全は改善されている。左右の声帯振幅は術前と比較して有意な変化は認めなかった。振幅は術前、術後とも規則的である。

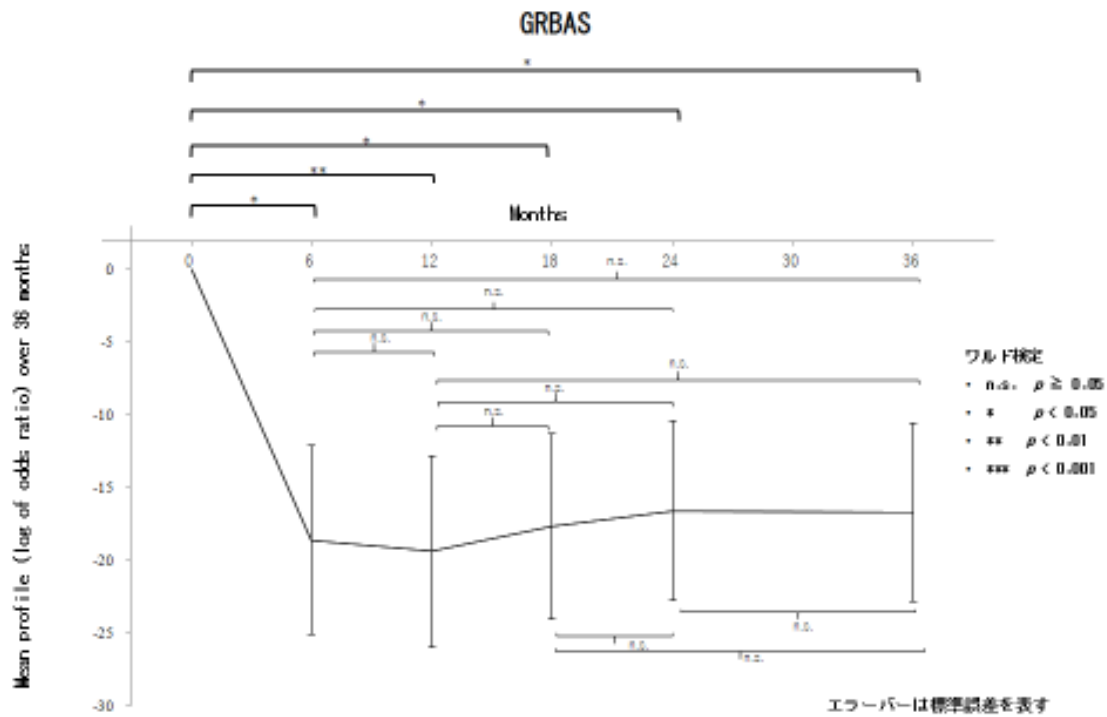


図 12-① Grade, Rough, Breathy, Asthenic, and Strained (GRBAS)

本研究では、声門の閉鎖不全がある場合に生じる気流雑音により出現する「B」について検討した。ワルド検定を用いると術前と比較して術後 6、12、18、24、36 カ月のいずれの時点でも  $p < 0.05$  となり有意差をもって値が低下した。一方、術後 6、12、18、24、36 カ月におけるいずれの対比較も  $P \geq 0.05$  であることから有意差は認められなかった。データは  $\text{mean} \pm \text{SE}$  を表す。\*は p 値が 0.05 未満、\*\*は p 値が 0.01 未満、\*\*\*は p 値が 0.001 未満、n. s. は p 値が 0.05 以上であることを表している。

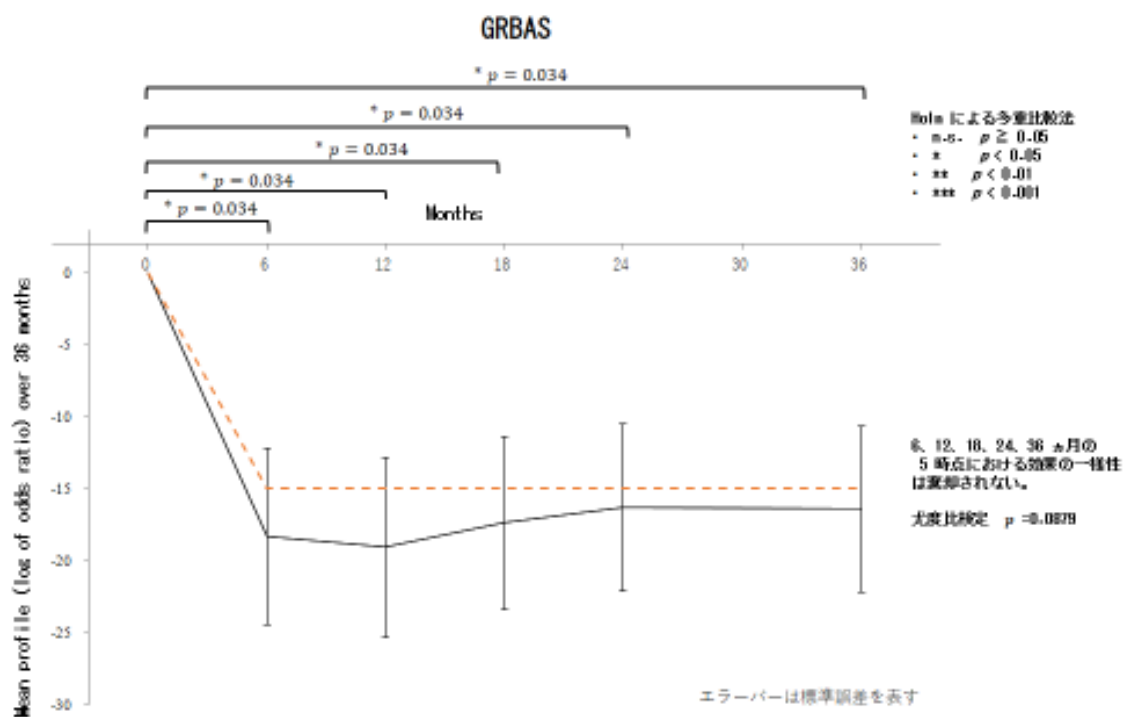


図 12-② GRBAS

Holm による多重比較手順によれば、術前と比較して術後の 6、12、18、24、36 ヶ月における GRBAS はすべて有意に改善していた。

6、12、18、24、36 ヶ月間の 5 時点における効果の一様性は、尤度比検定によると、 $p=0.0879$  となり、棄却されず、GRBAS が改善した状態が術後 36 ヶ月経過した時点でも減衰することなく維持されていることが示唆された。データは mean±SE を表す。\*は p 値が 0.05 未満、\*\*は p 値が 0.01 未満、\*\*\*は p 値が 0.001 未満、n. s. は p 値が 0.05 以上であることを表している。

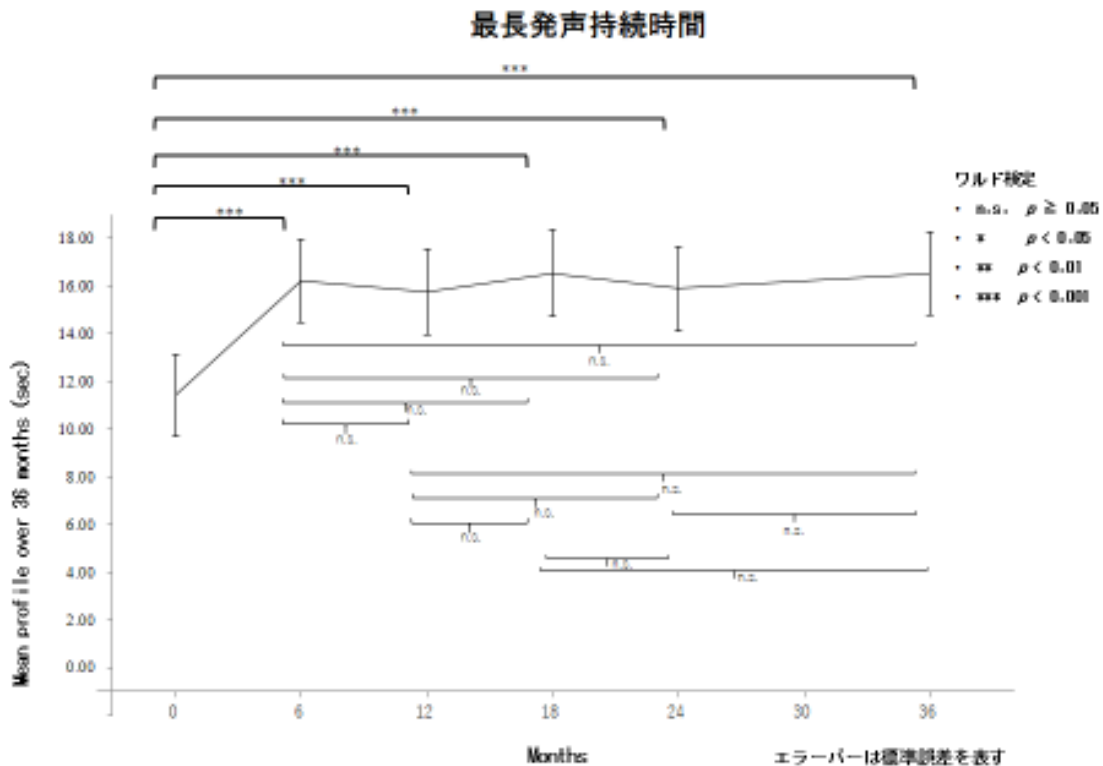


図 13-① 最長発声持続時間 Maximum phonation time (MPT)

ワルド検定を用いると術前と比較して術後 6、12、18、24、36 カ月のいずれの時点でも  $p < 0.05$  となり有意差をもって最長発声時間の延長を認めた。一方、術後 6、12、18、24、36 カ月間におけるいずれの対比較も  $P \geq 0.05$  であることから有意差は認められなかった。データは mean  $\pm$  SE を表す。\*は p 値が 0.05 未満、\*\*は p 値が 0.01 未満、\*\*\*は p 値が 0.001 未満、n. s. は p 値が 0.05 以上であることを表している。

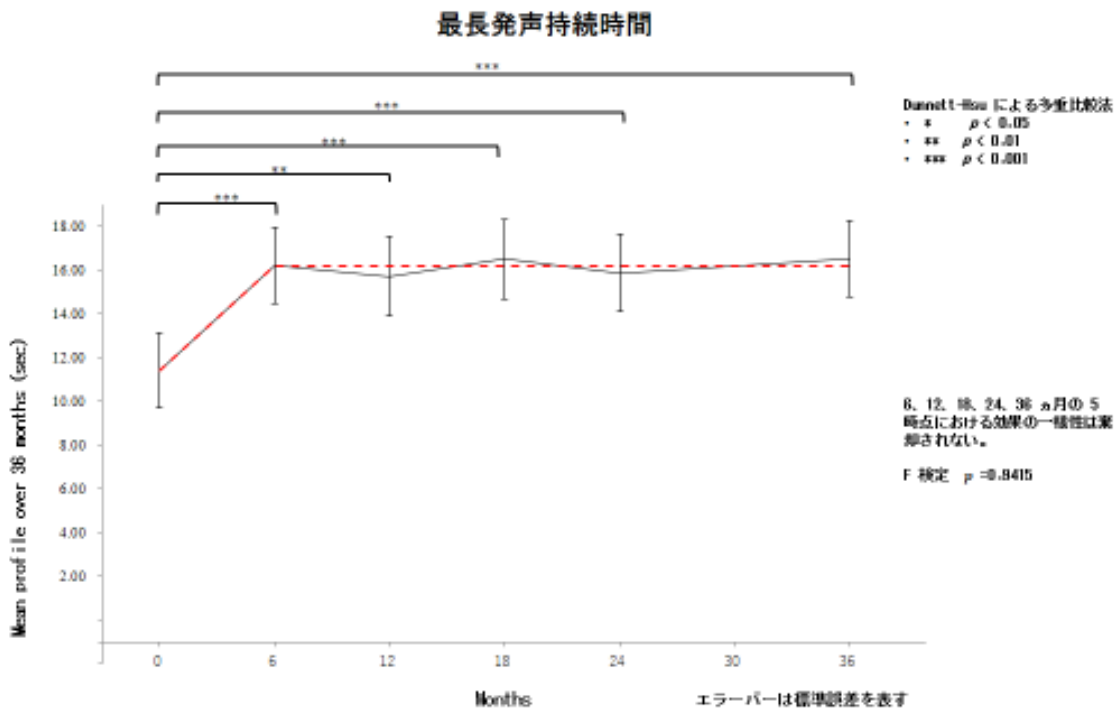


図 13-② 最長発声持続時間

Dunnnett-Hsu による多重比較法によれば、術前と比較して術後の 6、12、18、24、36 ヶ月はすべて有意に延長を認めた。

6、12、18、24、36 ヶ月間の 5 時点における効果の一様性は、固定効果に対する F 検定によると、 $p=0.9415$  となり、棄却されず、MPT が延長した状態が術後 36 ヶ月経過した時点でも減衰することなく維持されていることが示唆された。データは mean $\pm$ SE を表す。\*は p 値が 0.05 未満、\*\*は p 値が 0.01 未満、\*\*\*は p 値が 0.001 未満、n. s. は p 値が 0.05 以上であることを表している。

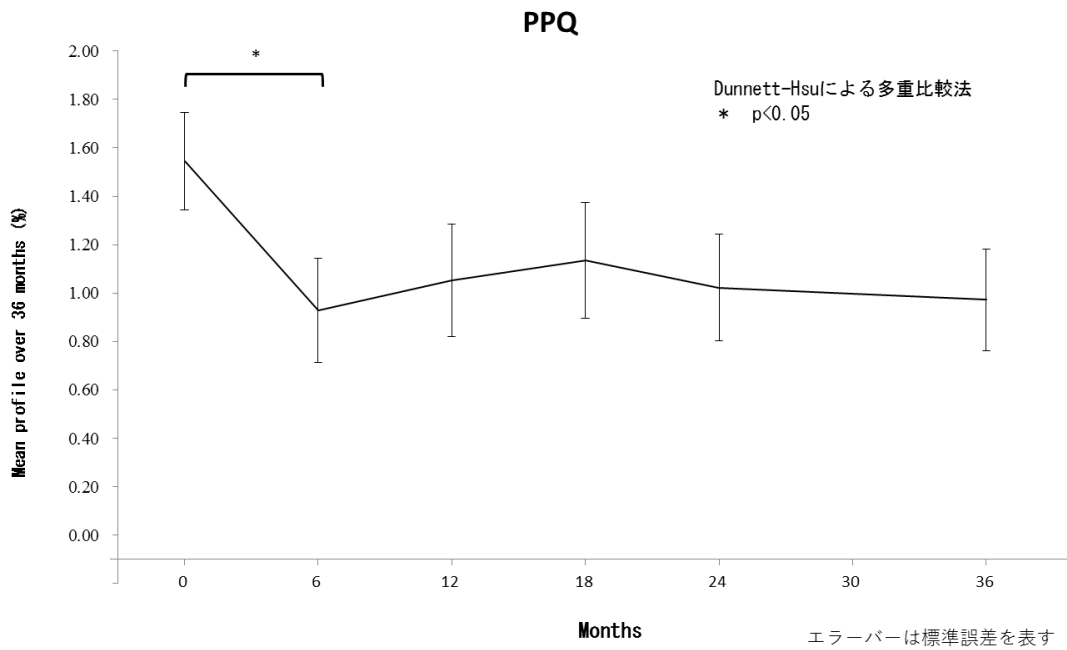


図 14 PPQ

Dunnett-Hsu による多重比較法によれば、術前の PPQ は術後 6 ヶ月の間では有意差を認め減少したが、術後 12、18、24、36 ヶ月の間では減少傾向ではあるが有意差を認めなかった。データは mean±SE を表す。\*は p 値が 0.05 未満であることを表している。

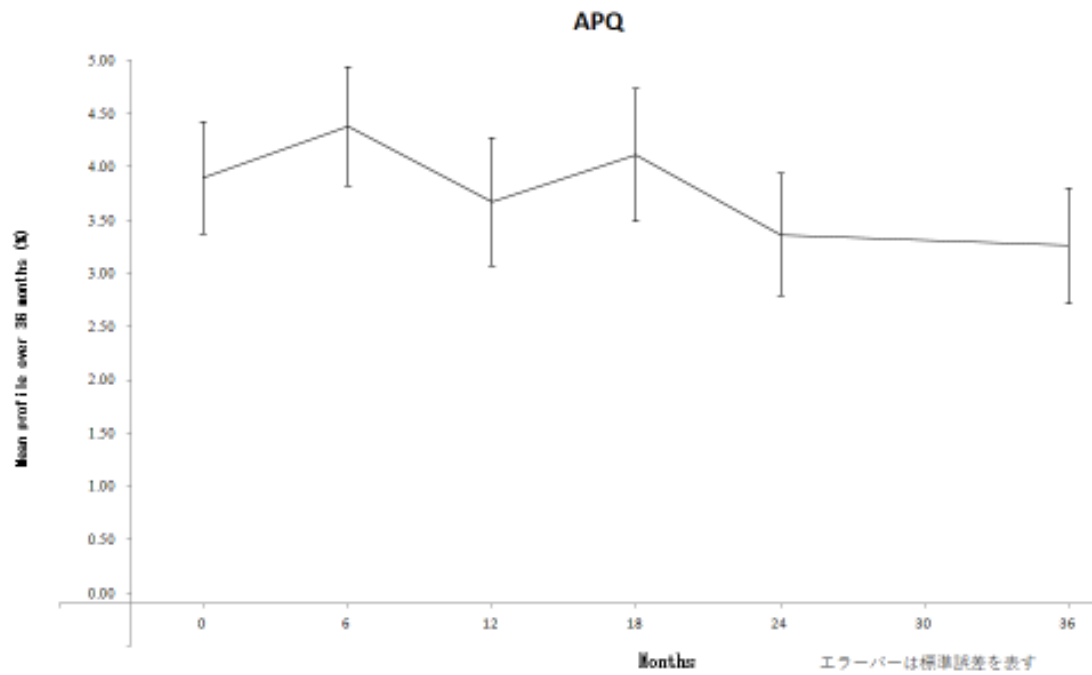


図 15 APQ

Dunnett-Hsu による多重比較法によれば、術前の APQ は術後 6、12、18、24、36 カ月の間で減少傾向であるが有意差を認めなかった。データは mean±SE を表す。

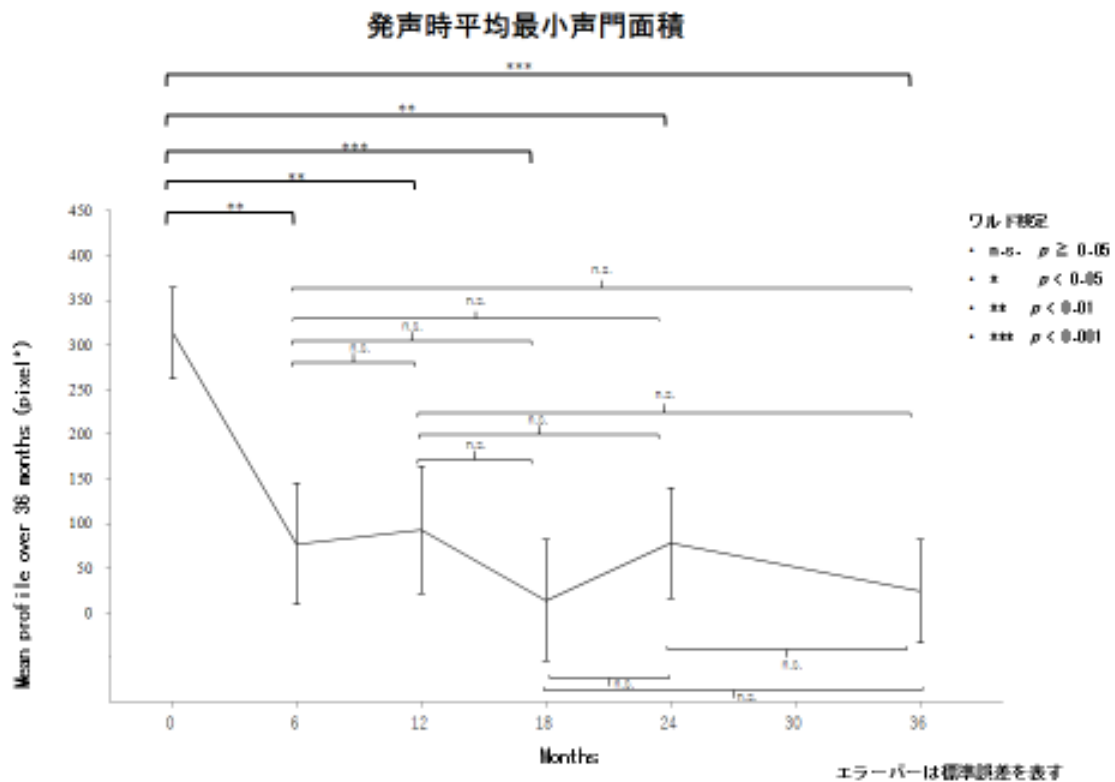


図 16-① GWA から得られた発声時平均最小声門面積

ワルド検定を用いると術前と比較して術後 6、12、18、24、36 カ月のいずれの時点でも  $p < 0.05$  となり有意差をもって発声時平均最小面積の縮小を認めた。一方、術後 6、12、18、24、36 カ月間におけるいずれの対比較も  $P \geq 0.05$  であることから有意差は認められなかった。データは mean  $\pm$  SE を表す。\* は p 値が 0.05 未満、\*\* は p 値が 0.01 未満、\*\*\* は p 値が 0.001 未満、n. s. は p 値が 0.05 以上であることを表している。



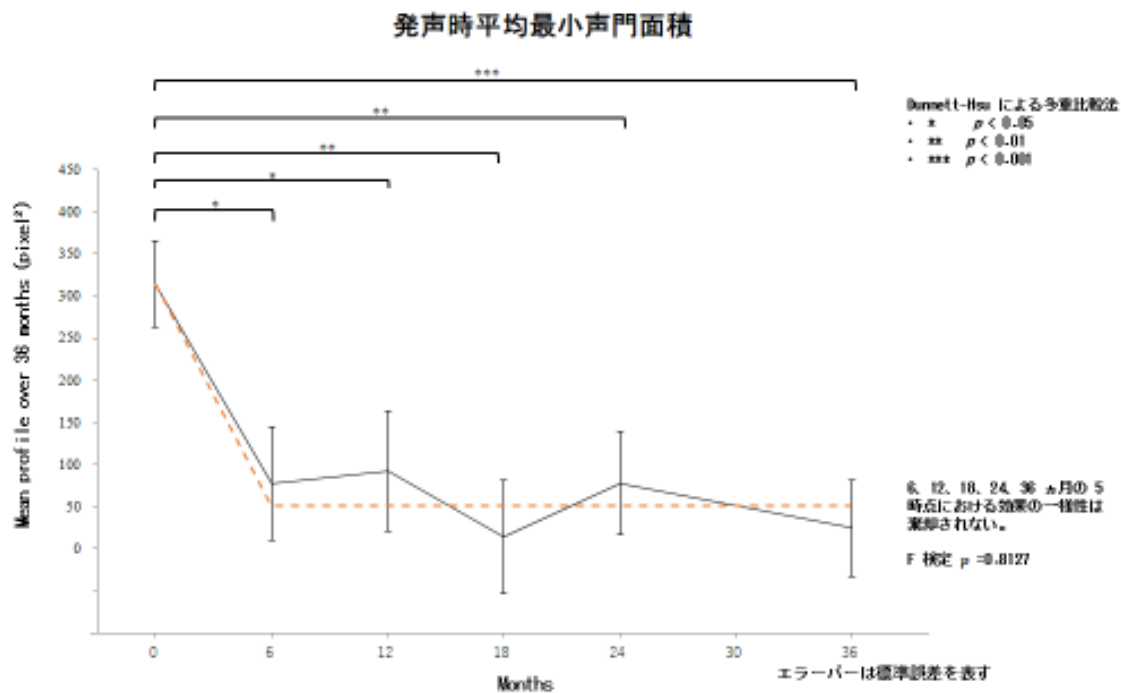


図 16-② GWA から得られた発声時平均最小声門面積

Dunnett-Hsu による多重比較法によれば、術前と比較して術後の 6、12、18、24、36 ヶ月は全て有意に縮小していた。

6、12、18、24、36 ヶ月間の 5 時点における効果の一様性は、固定効果に対する F 検定によると、 $p=0.8127$  となり、棄却されず、術前の発声時平均声門最小面積は術後と比較して縮小し、36 ヶ月経過しても減衰することなく維持されていることが示唆された。データは mean $\pm$ SE を表す。\*は p 値が 0.05 未満、\*\*は p 値が 0.01 未満、\*\*\*は p 値が 0.001 未満、n. s. は p 値が 0.05 以上であることを表している。

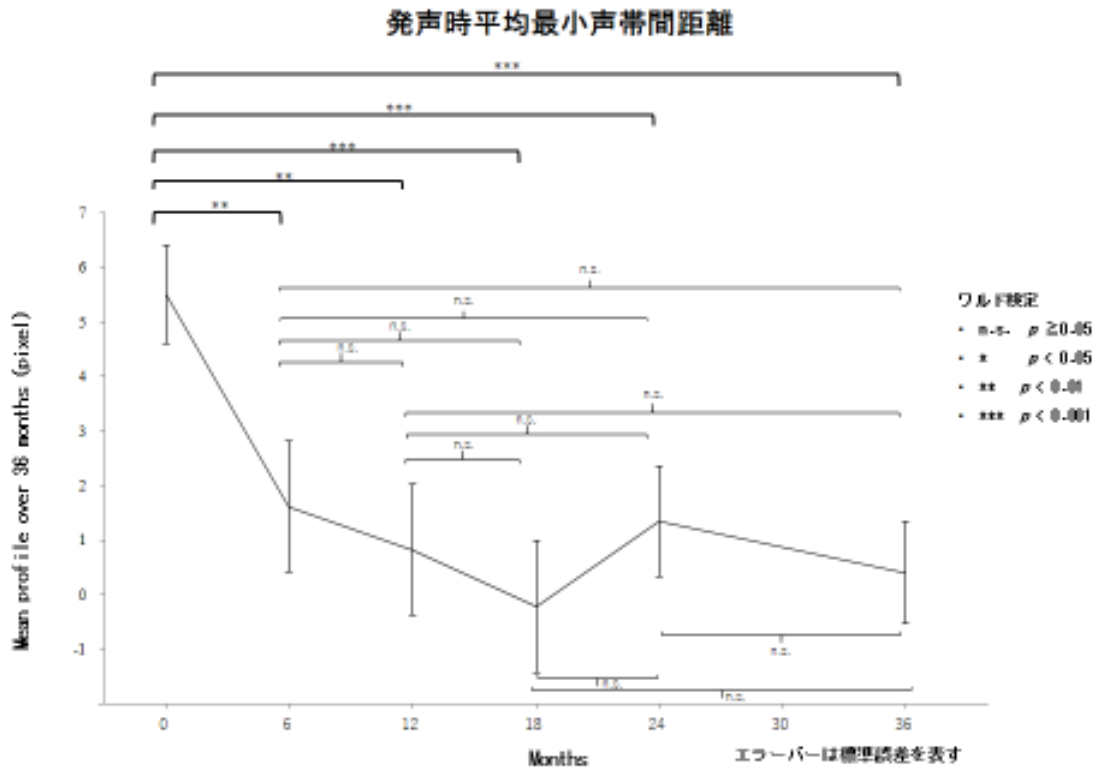


図 17-① GWA から得られた発声時平均最小声帯間距離

ワルド検定を用いると術前と比較して術後 6、12、18、24、36 カ月のいずれの時点でも  $p < 0.05$  となり有意差をもって発声時平均最小声帯間距離の縮小を認めた。一方、術後 6、12、18、24、36 カ月間におけるいずれの対比較も  $P \geq 0.05$  であることから有意差は認められなかった。データは mean $\pm$ SE を表す。\*は p 値が 0.05 未満、\*\*は p 値が 0.01 未満、\*\*\*は p 値が 0.001 未満、n. s. は p 値が 0.05 以上であることを表している。

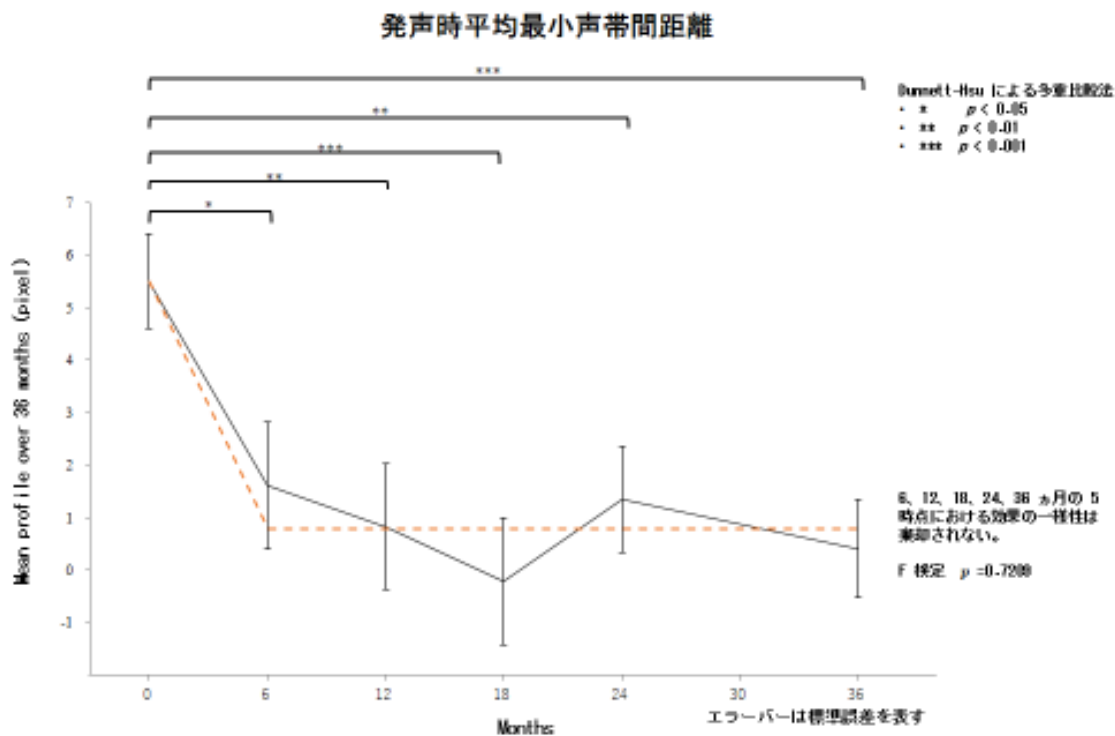


図 17-② GWA から得られた発声時平均最小声帯間距離

Dunnett-Hsu による多重比較法によれば、術前と比較して術後の 6、12、18、24、36 ヶ月はすべて有意に縮小していた。

6、12、18、24、36 ヶ月間の 5 時点における効果の一様性は、固定効果に対する F 検定によると、 $p = 0.7209$  となり、棄却されず、術前の発声時平均最小声帯間距離は術後と比較して縮小し、36 ヶ月経過しても減衰することなく維持されていることが示唆された。データは mean $\pm$ SE を表す。\*は p 値が 0.05 未満、\*\*は p 値が 0.01 未満、\*\*\*は p 値が 0.001 未満、n. s. は p 値が 0.05 以上であることを表している。

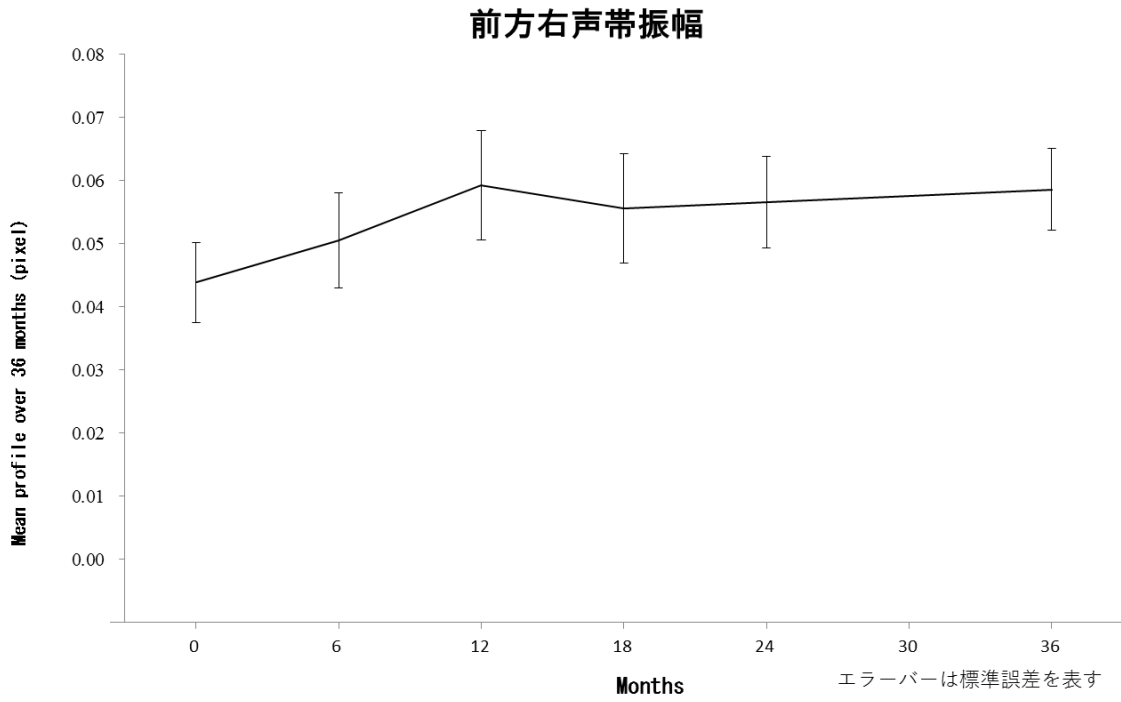


図 18-① 前方右声帯振幅

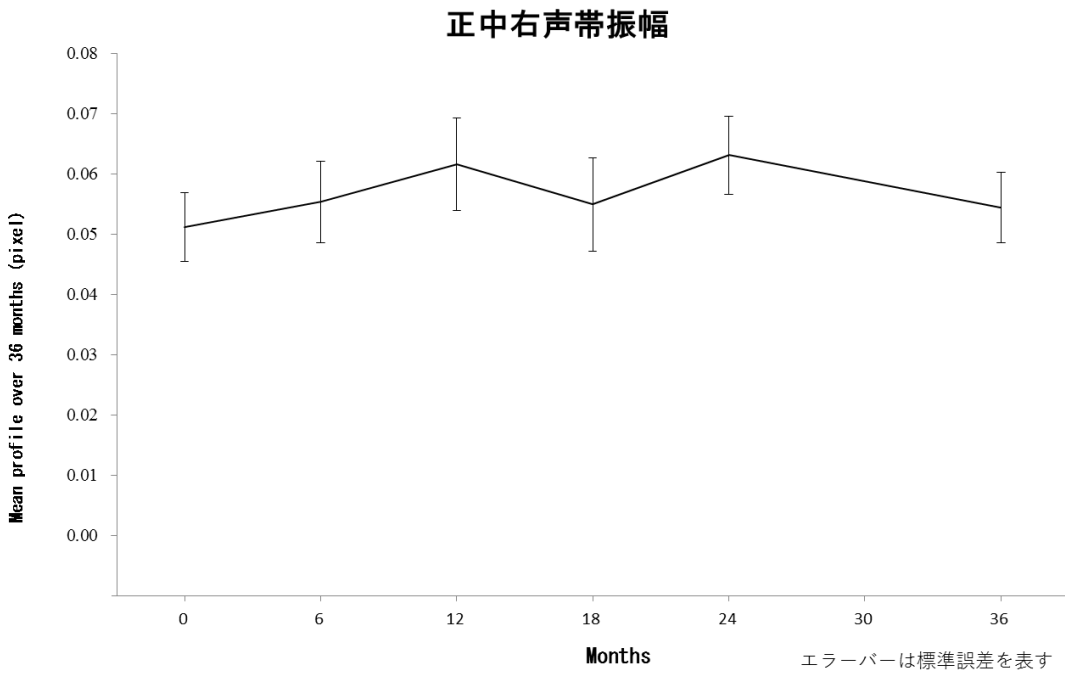


図 18-② 正中右声帯振幅

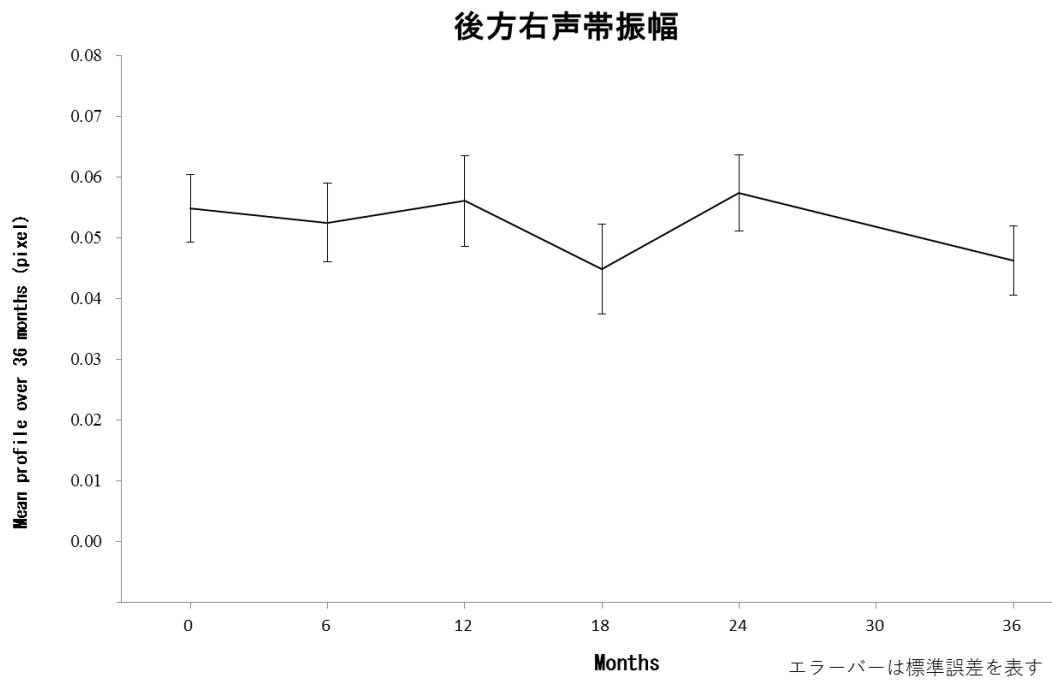


図 18-③ 後方右声帯振幅

図 18-①～③ KEA から得られた右声帯振幅

Dunnet-Hsu 法による多重比較によれば、右声帯振幅は前方、正中、後方いずれも術前と比較して術後の 6、12、18、24、36 ヶ月は全て統計学的有意差を認めなかった。データは mean±SE を表す。

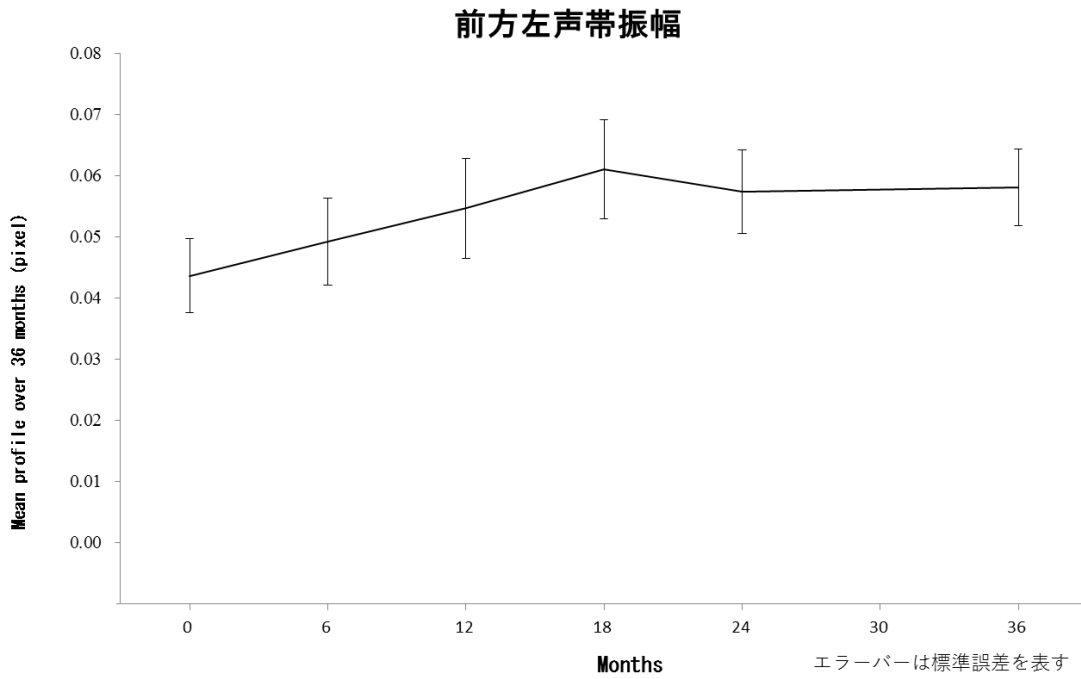


図 19-① 前方左声帯振幅

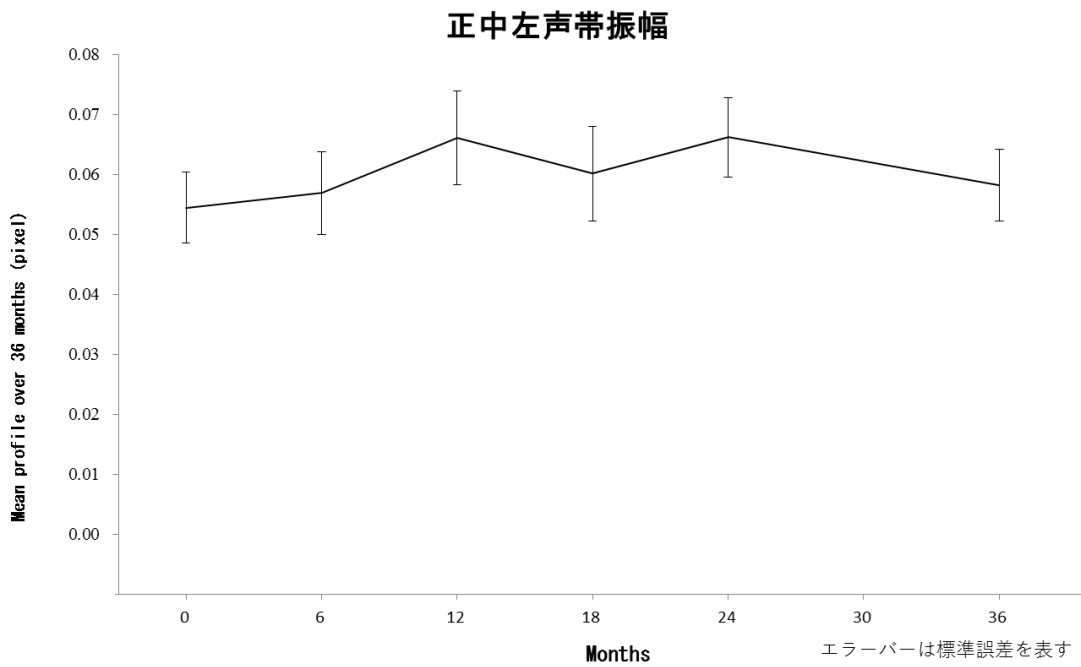


図 19-② 正中左声帯振幅

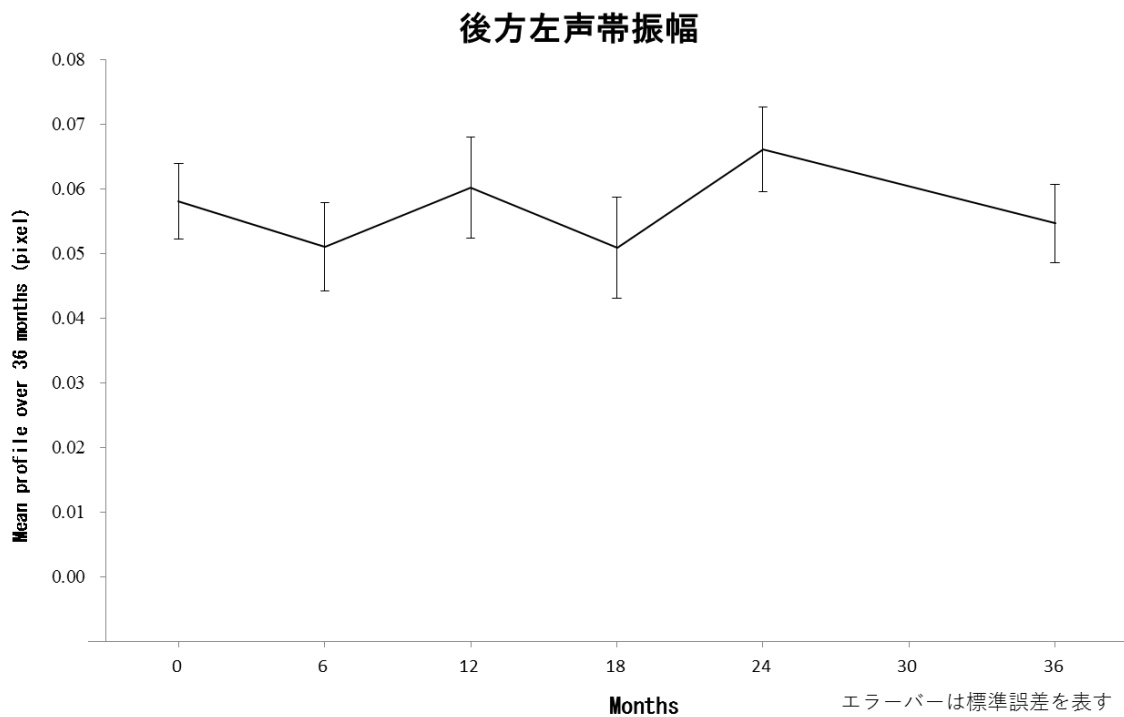


図 19-③ 後方左声帯振幅

図 19-①～③ KEA から得られた左声帯振幅

Dunnet-Hsu 法による多重比較によれば、左声帯振幅は前方、正中、後方いずれも術前と比較して術後の 6、12、18、24、36 ヲ月は全て統計学的有意差を認めなかった。データは mean±SE を表す。

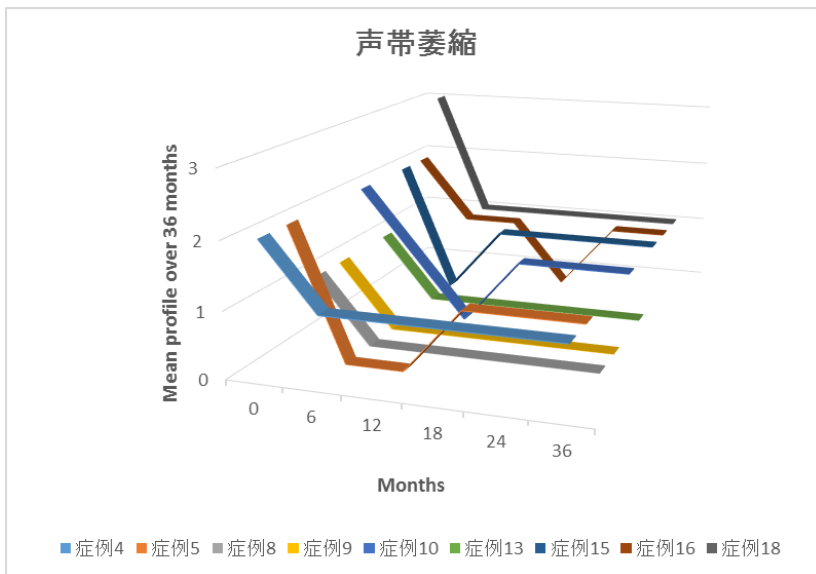


図 20-① 声帯萎縮症例の GRBAS の経過

声帯萎縮では症例 5、10、15、16 の 4 例で再上昇がわずかに認められたものの、9 症例中の 9 例全例が術前よりも B 成分は有意に減少した状態が観察期間中は維持されていた。

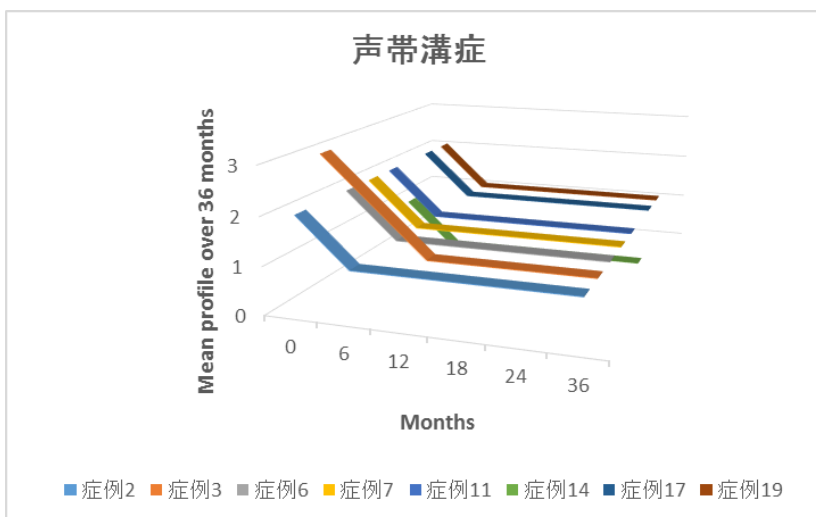


図 20-② 声帯溝症例の GRBAS の経過

声帯溝症では再上昇なく、8 症例中の 8 例全例が術前よりも B 成分は有意に減少した状態が観察期間中は維持されていた。



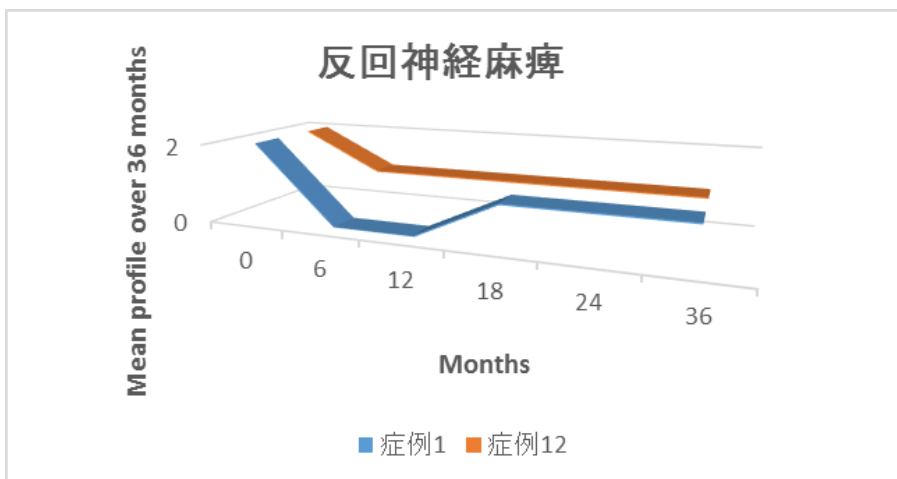


図 20-③ 反回神経麻痺症例の GRBAS の経過

反回神経麻痺では 2 症例中 2 症例に bFGF の治療効果の持続が認められた。

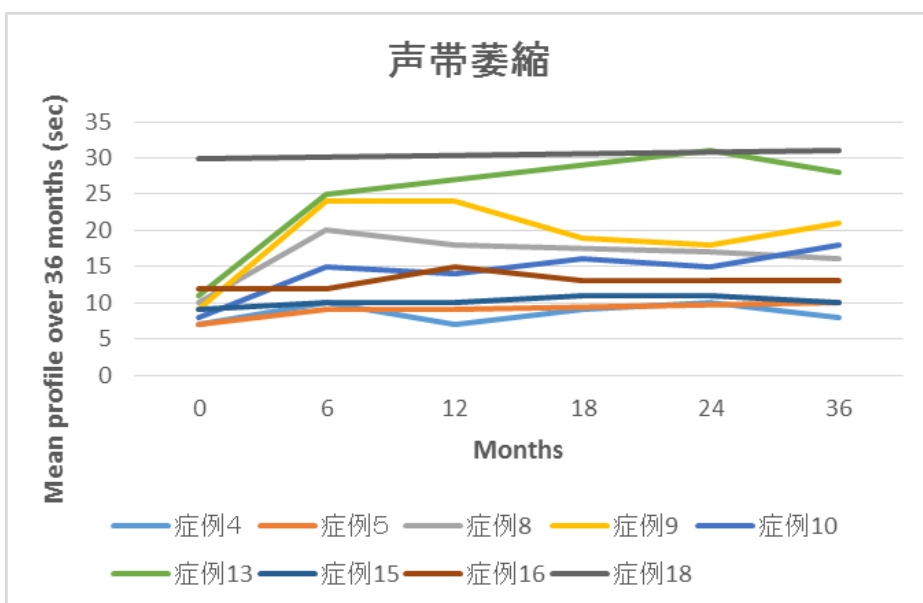


図 21-① 声帯萎縮症例の最長発声持続時間の経過

声帯萎縮では 9 症例中 9 例に bFGF の治療効果の持続が認められた。

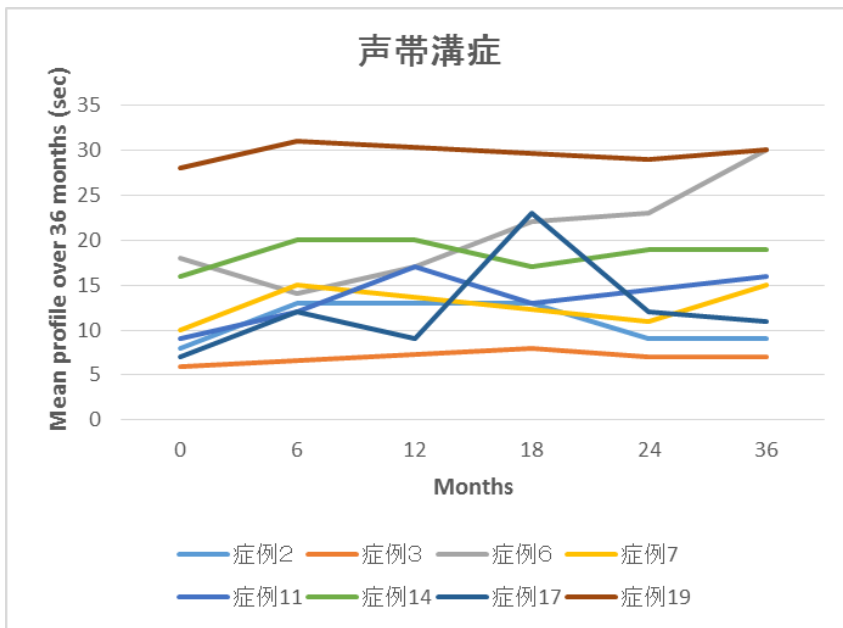


図 21-② 声帯溝症例の最長発声持続時間の経過

声帯溝症では8症例中8例にbFGFの治療効果の持続が認められた。

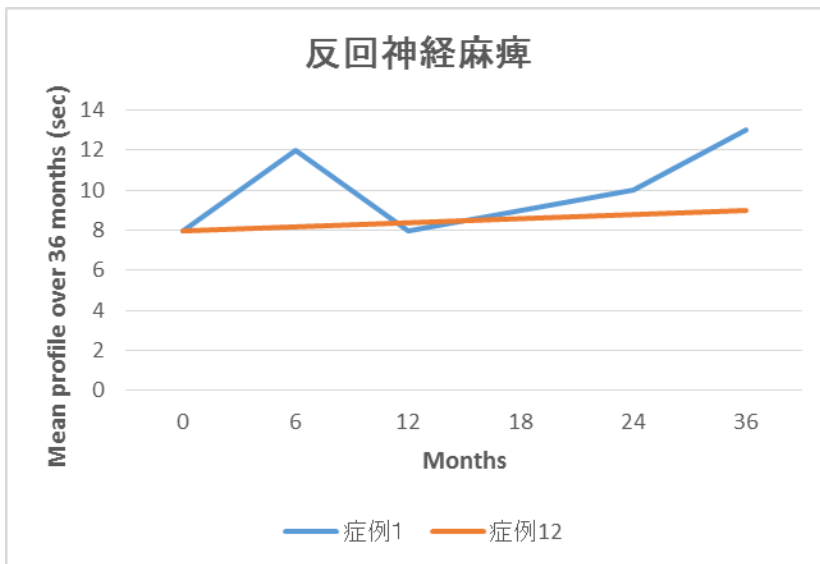


図 21-③ 反回神経麻痺症例の最長発声持続時間の経過

反回神経麻痺では2症例中2症例にbFGFの治療効果の持続が認められた。

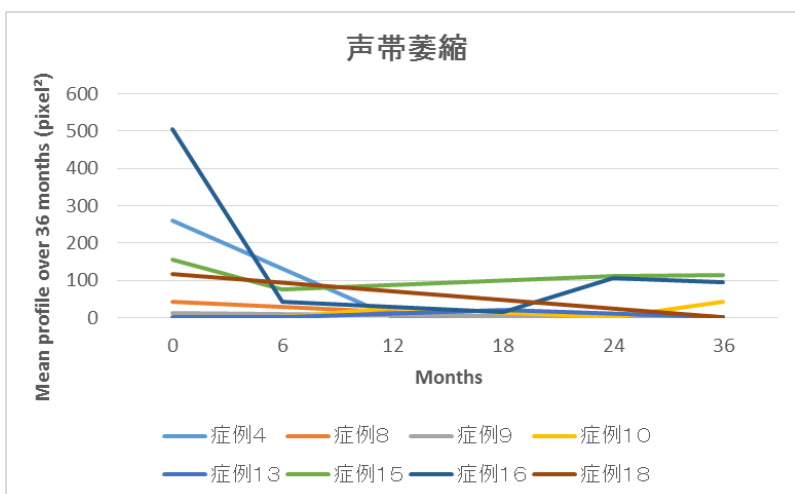


図 22-① 声帯萎縮症例の平均最小声門面積の経過

症例 13 は術前から術後 36 ヶ月にわたり平均最小声門面積は 0 であった。症例 10 は術前から術後 24 ヶ月まで平均最小声門面積は 0 であったが、36 ヶ月後に軽度上昇を認めた。声帯萎縮ではこれら 2 例を除く 8 症例中 6 例に bFGF の治療効果の持続が認められた。

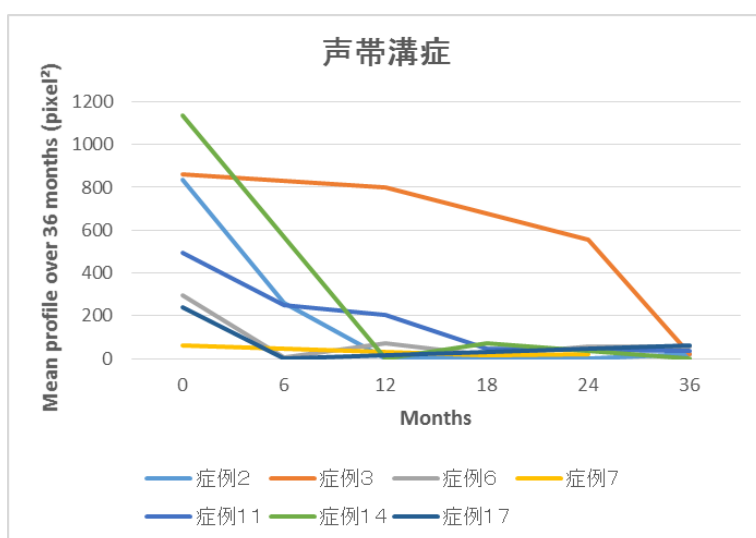


図 22-② 声帯溝症例の平均最小声門面積の経過

声帯溝症では 7 症例中 7 例に bFGF の治療効果の持続が認められた。

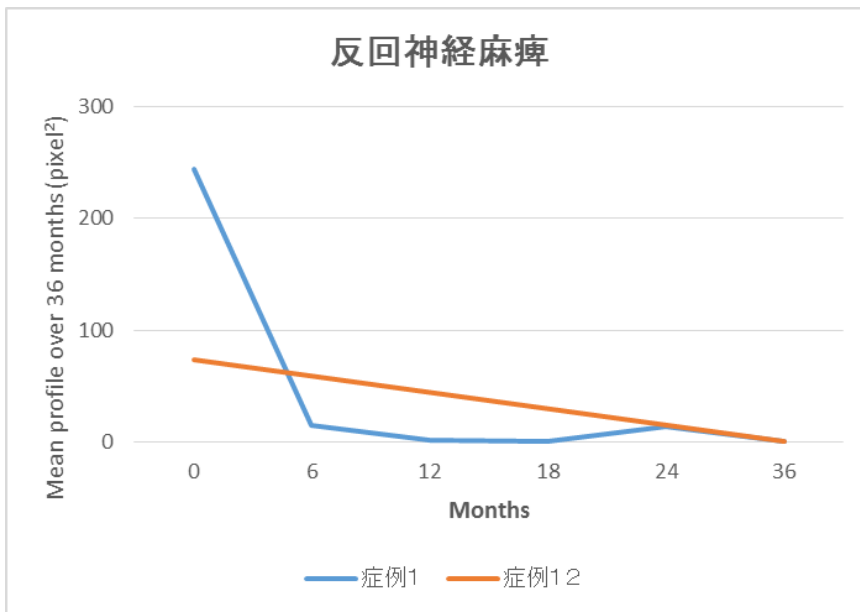


図 22-③ 反回神経麻痺症例の平均最小声門面積の経過

反回神経麻痺では 2 症例中 2 症例に bFGF の治療効果の持続が認められた。

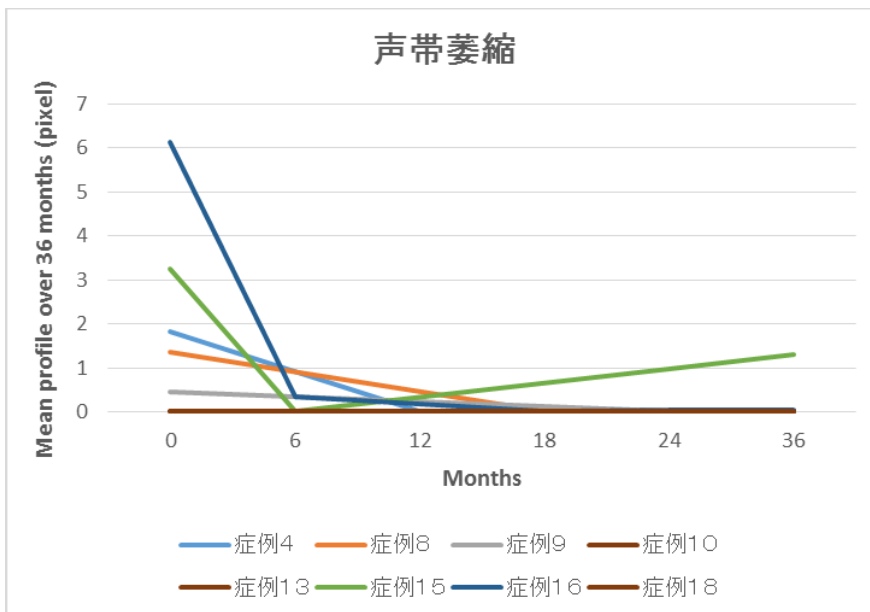


図 23-① 声帯萎縮症例の平均最小声帯間距離の経過

症例 10、13、18 は術前から術後 36 ヶ月にわたり平均最小声帯間距離は 0 であった。声帯萎縮ではこれら 3 例を除く 8 症例中 5 例に bFGF の治療効果の持続が認められた。

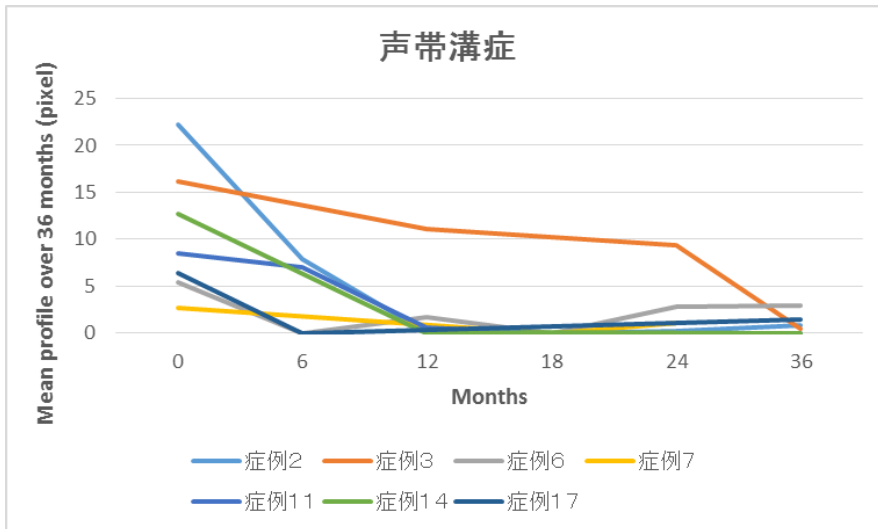


図 23-② 声帯溝症例の平均最小声帯間距離の経過

声帯溝症では 7 症例中 7 例に bFGF の治療効果の持続が認められた。

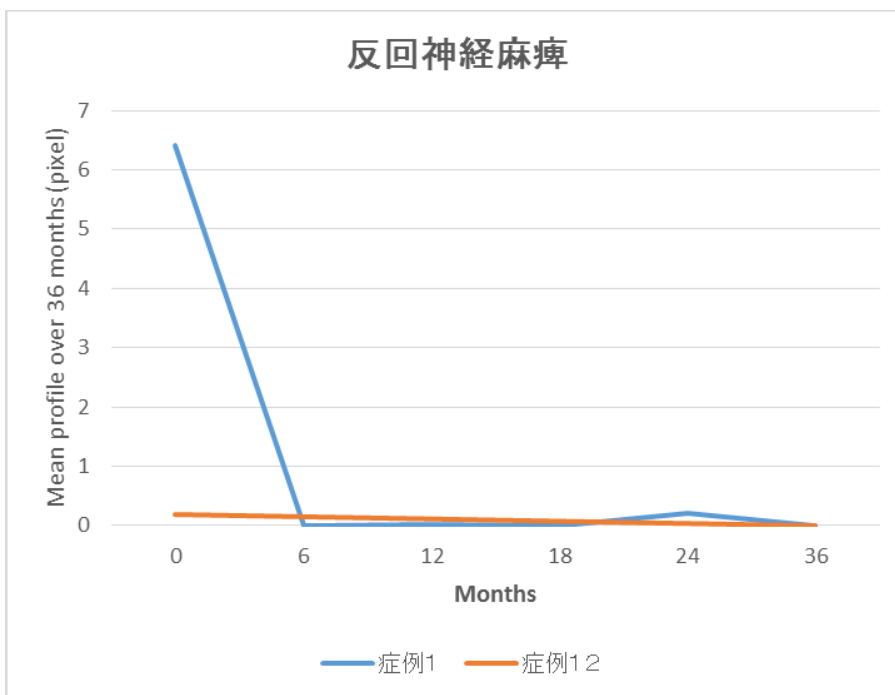


図 23-③ 反回神経麻痺症例の平均最小声帯間距離の経過

反回神経麻痺では 2 症例中 2 症例に bFGF の治療効果の持続が認められた。

## 引用文献

- 1) 小川真. 発声のメカニズム JOHNS. 2018; 34(2): 146-152.
- 2) 平野滋, 岸本曜. 再生医療-声帯粘膜の再生と臨床応用-音声言語医学 2016;57:255-260.
- 3) 平野滋. 声帯粘膜の細胞外マトリックスに対する分子生物学的アプローチ. 喉頭 2006; 18:1-9.
- 4) Hirano S, Bless DM, del Rio AM, Connor NP, Ford CN. Therapeutic potential of growth factors for aging voice. Laryngoscope 2004; 114:2161-2167.
- 5) 平野滋. 専門医を悩ませる高齢疾患への対応-声帯萎縮症-. 日本耳鼻咽喉科学会会報 2020; 123(6): 528-530.
- 6) Ford C, Inagi K, Khidr A, et al: Sulcus vocalis: A rational analytical approach to diagnosis and management. Annals Otol Rhinol Laryngol. 1996; 105:189-200.
- 7) 高野真吾, 後藤多嘉緒, 田山二郎. 声帯溝症の治療方法に関する検討. 喉頭 2012; 24:6-12.
- 8) Goto T, Ueha R, Sato T, Fujimaki Y, Nito T, Yamasoba T. Single, high-dose local injection of bFGF improves thyroarytenoid muscle atrophy after paralysis. Laryngoscope 2020; 130:159-165.
- 9) 今日の耳鼻咽喉科頭頸部外科治療指針. 第4版: 医学書院; 2018. p429-432.

- 10) Bruning W. Über eine neue Behandlungsmethode der Rekurrenslähmung. 1911; 18:93-98.
- 11) Rubin HJ. Pitfalls in treatment of dysphonias by intracordal injection of synthetics. Laryngoscope. 1965; 75:1381-1397.
- 12) Fort, CN, and Bless D.M: A preliminary study of injectable collagen in human vocal fold augmentation. Otolaryngol. Head Neck Surg 1987; 94:394-403.
- 13) Brandenburg JH 1, Kirkham W, Koschke D: Vocal cord augmentation with autogenous fat. Laryngoscope 1992; 102: 495-500.
- 14) Shen T, Damrose EJ, Morzaria S: A meta-analysis of voice outcome comparing calcium hydroxylapatite injection laryngoplasty to silicone thyroplasty. Otolaryngol Head Neck Surg 2013; 148:197-208.
- 15) Hertegard S, Hallen L, Laurent C et al: Crosslinked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. Laryngoscope 2002; 112: 2211-2219.
- 16) 深掘光緒子, 千年俊一, 佐藤公則, 梅野博仁. 声帯内注入術の治療効果と問題点-難治症例を中心に-. 音声言語医学 2018; 59(4): 303-310.
- 17) Hertegard S, Hallen L, Laurent C, Lindstrom, Olofsson K. Cross-linked hyaluronan versus collagen for injection treatment of glottal insufficiency: 2-year follow-up. Acta Oto-laryngologica. 2004; 124: 1208-1214.

- 18) Gospodarowics D, Ferrara N, Schweigerer L: Acceleration of wound healing in diabetic mice by basic fibroblast growth factor. *Endocr Rev* 1987; 8:95-114.
- 19) 上村哲司, 渡邊英孝, 上村陽子. 外来通院での小児熱傷創に対するトランスフェルミン(フィブラストスプレー)の使用経験:熱傷 2006; 32(5):291-297.
- 20) 楯谷一郎, 平野滋, 伊藤壽一. 声帯組織の維持機構. *喉頭* 2010; 22:67-70.
- 21) Hirano S, Kishimoto Y, Suehiro A, Kanemaru S, Ito J. Regeneration of aged vocal fold: first human case treated with fibroblast growth factor. *Laryngoscope* 2008; 118:2254-2259.
- 22) Hirano S, Tateya I, Kishimoto Y. Clinical trial of regeneration of aged vocal folds with growth factor therapy. *Laryngoscope*. 2012; 122(2):327-331.
- 23) Okumura M, Okuda T, Nakamura T, Yajima M. Effect of basic fibroblast growth factor on wound healing in healing-impaired animal models. *Arzneimittelforschung*. 1996; 46:547-551.
- 24) Suzuki H, Makiyama K, Hirai R, Matsuzaki H, Furusaka T, Oshima T. Efficacy of a single dose of basic fibroblast growth factor: clinical observation for 1 year. *J Voice* 2016; 30:761. E11-761.e17.
- 25) 牧山清, 高根智之, 平井良治, 岸博行, 児玉ひとみ. 声帯高速撮影検査-アテロコラーゲン注入術への臨床応用- *喉頭* 2011; 23: 49-58.
- 26) 松崎洋海, 牧山清: 日常臨床現場での喉頭高速撮影法. *喉頭* 2018; 30:41-



44.

- 27) 佐藤友貴, 新美成二. 聴覚印象評価 JOHNS. 2018; 34(2): 169-171.
- 28) 今日の耳鼻咽喉科頭頸部外科治療指針. 第4版: 医学書院; 2018. p131-132
- 29) 斎藤康一郎. 音響分析: JOHNS 2013; 29(9):1633-1638.
- 30) 今日の耳鼻咽喉科頭頸部外科治療指針. 第4版: 医学書院; 2018. p424-427.
- 31) 北村正博, 古市保志, 藤井健男, 川浪雅光, 國松和司, 島内英俊, 山田了, 小方頼昌, 和泉雄一, 伊藤公一, 中川種昭, 新井高, 山崎和久, 吉江弘正, 野口俊英, 渋谷俊昭, 高柴正悟, 栗原英見, 永田俊彦, 横田誠, 前田勝正, 廣藤卓雄, 坂上竜資, 原宜興, 野口和行, 小笠原健文, 村上伸也: 歯周炎罹患歯に対する FGF-2 投与の長期効果および安全性の検討. 日本歯周病学会会誌 2012; 54(1):38-45.
- 32) Okui A, Ujimoto K, Kanazawa T, Kurakami K, Komazawa D, Nakamura K, Matsushima K, Watanabe Y. Therapeutic Efficacy of Basic Fibroblast Growth Factor in Patients With Vocal Fold Atrophy. *Laryngoscope* 2020; 00: 1-6.
- 33) Olthoff A, Woywod C, Kruse E: Stroboscopy versus high-speed glottography: a comparative study. *Laryngoscope* 2007; 117(6):1123-1126.
- 34) Patel R, Dailey S, Bless D: Comparison of high-speed digital imaging with stroboscopy for laryngeal imaging of glottal disorders. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2008; 117(6):413-424.
- 35) Kanazawa T, Kurakami K, Kashima K, Ujimoto K, Komazawa D, Nakamura K, Matsushima K, Akagi Y, Misawa K, Nishino H, Watanabe Y. Injection of

basic fibroblast growth factor for unilateral vocal cord paralysis. *Acta Oto-Laryngologica* 2017; 137:962-967.

## 研究業績

三浦 怜央

### 1 発表

- ①一般発表 15
- ②特別発表 なし

### 2 論文

- ①原著論文 1 (共 1)
- ②症例報告 2 (単 2)
- ③総説 なし

### 3 著書 なし

以上

## 1 発表

### ①一般発表

1. 三浦怜央：喉頭腫瘍が疑われた喉頭潰瘍の一例，第 33 回城北・埼玉南部耳鼻咽喉科学術集会，東京，2016 年 9 月
2. 田中真琴，三浦怜央，池田篤生，平井良治，大島猛史：味覚専門外来受診患者の常用薬の検討，第 29 回日本口腔・咽喉科学会総会ならびに学術講演会，松江，2016 年 9 月
3. 平井良治，小山京子，木村優介，三浦怜央，田中真琴，嶋原俊太郎，野村泰之，大島猛史：ワイドティンパノメトリを用いた耳管開放症におけるアブソージバンスの変化，第 118 回日本耳鼻咽喉科学会通常総会・学術講演会，広島，2017 年 5 月
4. 小山京子，平井良治，三浦怜央，嶋原俊太郎，野村泰之，大島猛史：耳管開放症に対する保存的治療の検討，第 118 回日本耳鼻咽喉科学会通常総会・学術講演会，広島，2017 年 5 月
5. 田中真琴，小山 哲，三浦怜央，池田篤生，平井良治，大島猛史：in situ hybridization (ISH) を用いたラット有郭乳頭部における味覚受容体遺伝子 (TAS 1Rs) 発現の検討，第 118 回日本耳鼻咽喉科学会通常総会・学術講演会，広島，2017 年 5 月
6. 三浦怜央，池田篤生，古阪徹：甲状舌管嚢胞から発生した乳頭癌の 2 症例，

第 41 回日本頭頸部癌学会，京都，2017 年 6 月

7. 池田篤生，三浦怜央，古阪徹：当科における甲状腺癌に対するレンバチニブ使用経験の検討，第 41 回日本頭頸部癌学会，京都，2017 年 6 月
8. 牧山 清，松崎洋海，工藤逸大，平井良治，友松裕貴，石井崇平，鈴木啓誉，岸野明洋，浅居僚平，三浦怜央，原 將太，大島猛史：HPV 予防ワクチン接種により術後再発が抑制された再発性喉頭乳頭腫例，第 69 回日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会，大阪，2017 年 11 月
9. 牧山清，松崎洋海，平井良治，友松裕貴，石井崇平，山中弘明，岸野明洋，浅居僚平，三浦怜央，岸田杏子，大島猛史：再発性喉頭乳頭腫に対するワクチン併用療法-接種後の経過について-，第 119 回日本耳鼻咽喉科学会通常総会・学術講演会，横浜，2018 年 5 月
10. 三浦 怜央，中村 一博，鈴木 啓誉，田中 真琴，大島 猛史：甲状軟骨形成術 II 型のチタンブリッジによる粘膜穿孔のため抜去を余儀なくされた 1 症例，第 31 回日本喉頭科学会，久留米，2019 年 3 月
11. 鈴木啓誉，中村一博，三浦怜央，田中真琴，大島猛史：チタンブリッジを用いた甲状軟骨形成術 II 型の初期経験，第 31 回日本喉頭科学会，久留米，2019 年 3 月
12. 三浦怜央，中村一博，鈴木 啓誉，岸 博行，片野 博文，馬場 剛士，大島猛史：気管孔閉鎖術の臨床検討，第 71 回日本気管食道科学会，宇都宮，2019 年 11 月
13. 三浦怜央，中村 一博，鈴木 啓誉，森田 優登，田中真琴，大島猛史：甲

状軟骨形成術 2 型において開大幅 2mm 以下にした再手術症例，第 35 回西日本音声外科学研究会，大阪，2020 年 1 月

14. 三浦怜央，松崎洋海，鈴木啓誉，長谷川央，牧山清，大島猛史：塩基性線維芽細胞増殖因子の単回声帯内注入術の長期経過，第 121 回日本耳鼻咽喉科学会通常総会・学術講演会，岡山，2020 年 10 月

15. 三浦怜央，中村一博，森田優登，馬場剛士，松崎洋海，大島猛史：悪性腫瘍が疑われた耳下腺結核の 1 例，第 82 回耳鼻咽喉科臨床学会，京都，2020 年 12 月

## ②特別発表

なし

## 2 論文

### ①原著論文

1. 鈴木啓誉，中村一博，三浦怜央，釜谷まりん，大島猛史：チタンブリッジを用いた甲状軟骨形成術 2 型の短期成績，日本気管食道科学会会報：2020；71：239-244.

### ②症例報告

1. Reo Miura, Kazuhiro Nakamura, Masato Morita, Hirotaka Suzuki, Makoto Tanaka, and Takeshi Oshima: A Case of Type 2 Thyroplasty Forced to Remove

the Titanium Bridge Due to Mucosal Perforation. Biomed J Sci & Tech Res  
2019; 23(5): 17801-17804.

2. Reo Miura, Atsuo Ikeda, Kazuhiro Nakamura, Masato Morita, Hirotaka  
Suzuki, Hiroumi Matsuzaki and Takeshi Oshima: Preoperative Diagnosis of  
Papillary Carcinoma Arising from Thyroglossal Duct Cyst: Two Case Reports  
and Literature Review. Clin Surg. 2020; 5: 1-4.

③総説

なし

**3 著書**

なし