

論文の内容の要旨

氏名：御子柴 郁 夫

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ラット反回神経切除モデルに対する脱分化脂肪細胞(DFAT)声帯内移植の効果

反回神経は頸胸部の外科手術や、悪性腫瘍、特発性疾患などにより障害されることがある。反回神経が障害されると半永久的に嗄声や嚥下障害、息切れなどを生じることとなり患者の QOL は著しく低下する。さらに、反回神経麻痺により声帯筋萎縮が起こることで声門閉鎖不全が悪化し、これらの症状はさらに進行し得る。これまで、声帯萎縮に対してはいくつかの手術以外に、萎縮した声帯内にアテロコラーゲンや自家脂肪を注入する方法が試みられてきたが、安全で永続的な声帯萎縮に対する確立した治療はなく、再生医療などに期待が持たれている。そこで我々は今回、成熟脂肪細胞に由来する人工多能性細胞である脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cell : DFAT) や線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor: bFGF) 投与による声帯の再生治療の可能性を検討した。本研究では、ラットに対して一側反回神経切除を行い、萎縮した声帯筋に DFAT および bFGF を注入することによって声帯筋の再生が誘導されるか、主に組織学的検討により評価した。

8 週齢の SD ラット (n=34) を用いて動物実験を行った。左側の反回神経を切除後、断端を結紮し一側反回神経麻痺を作成した。反回神経切除 5 週間後に萎縮した声帯筋に対して、コントロール (生理食塩水) 群 (n=12)、DFAT 群 (n=11)、DFAT+bFGF 群 (n=11) の計 3 群に分けて、それぞれ生理食塩水、DFAT、DFAT+bFGF を経口的に声帯内注入を行った。処置後 2 週に各群 n=3 で喉頭を摘出して、声帯筋の組織切片標本作製後、TUNEL 染色及び Ki-67 の免疫組織染色を行い、アポトーシス細胞と細胞増殖細胞を評価した。処置後 4 週に各群 n=8-9 で喉頭を摘出し、H-E 染色と Masson's Trichrome 染色で声帯筋断面積およびコラーゲン産生について正常側 (Uninjured side) に対する処置側 (Injured side) の断面積割合 (I/U 比) を組織学的に評価した。また処置直前と処置後 4 週間での喉頭内視鏡での肉眼的な声門間隙の評価を行った。

声門間隙の評価では、コントロール群と比較して DFAT 群及び DFAT+bFGF 群で内転偏位角度および内転偏位角度改善率が有意に高くなっており、声門閉鎖不全の改善が認められた。組織学的評価では声帯筋内のコラーゲン発現量の I/U 比はコントロール群と比較して DFAT 群及び DFAT+bFGF 群で有意に増加を認めた。また、声帯筋断面積 I/U 比はコントロール群と比較して DFAT+bFGF 群では有意に増加した。処置後 2 週間での処置側の TUNEL 陽性細胞数はコントロール群と比較して DFAT 群及び DFAT+bFGF 群で有意に低く、DFAT 移植によるアポトーシスの抑制が示唆された。Ki-67 陽性細胞数は 3 群間で有意な差は見られなかったが、コントロール群と比較して DFAT 群及び DFAT+bFGF 群で多い傾向にあった。

これまでに、声帯筋内へ DFAT を注入し、その治療効果を検討した報告はなく、本研究は、反回神経麻痺によって萎縮した声帯筋へ DFAT を注入することで筋肉の再生を促し、声門閉鎖不全の改善効果を示した初めての報告である。今後新たな治療法を検証していく上で、DFAT 単独または DFAT と bFGF の併用による萎縮声帯筋への注入は、反回神経麻痺に伴う声門閉鎖不全に対する新たな治療法として期待できる。