

学位論文の内容の要旨

専攻	医学	部門 (平成27年度以前入学者のみ記入)	
学籍番号	18D708	氏名	加藤 歩
論文題目	Perpendicular implantation of porcine trachea extracellular matrix for enhanced xenogeneic scaffold surface epithelialization in a canine model		
<p>(論文要旨)</p> <p>目的 気管・気管支レベルの気道欠損や瘻孔は治療が困難であり、生命を脅かす病態となる可能性がある。気管・気管支の欠損を補うための人工気管や気管再生は、70年にわたり研究されてきたが十分ではない。気管の損傷や欠損を修復する理想的な材料が日常診療で待ち望まれている。我々はブタ細胞外マトリックス(P-ECM)に注目した。P-ECMは柔軟性、組織適合性、抗原性を持たないといった特徴がある。そこで今回はP-ECMが気道修復材料としての可能性を評価するためにP-ECMを用いた犬の気管欠損部への異種移植実験を行った。</p> <p>方法</p> <p>スタディデザイン 12匹のビーグル犬に対して実験を行った。ブタ気管より脱細胞化したP-ECMを作成した。まず実験1では脱抗原化したP-ECMの安全性について評価した。問題ないことが確認できれば実験2を行った(図1)。実験2では気管に欠損部位を作成し、P-ECMを気管に対して平行に移植するグループと垂直方向に留置する群に分けて実験を行った。</p> <p>実験1 全身麻酔下にP-ECMをビーグル犬(n=3)の臀部に移植した(図2)。術後の食欲や活動性の評価を行った。また術後1カ月の時点で犠牲死させ、移植部位を含めるように周囲組織とともに摘出して、免疫反応等を総合的に評価し、ビーグル犬におけるP-ECM移植の安全性を確認した。</p> <p>実験2 9頭のビーグル犬に対して全身麻酔下に1×2cmの気管欠損を形成した。移植方法を2群に振り分けた。A群では、P-ECMを気管軸に平行に移植し(n=3)、術後3か月に犠牲死させ、マクロスコピックおよびマイクロスコピックにそれぞれを評価した(図3)。B群ではP-ECMの剛性を保持するためにP-ECMを気管軸に対して垂直に移植した(n=6)。B群では上皮化の推移を確認するために術後1カ月(n=3)及び3ヶ月(n=3)に犠牲死させ、マクロスコピックおよびマイクロスコピックにそれぞれを評価した(図4)。両群ともに毎週全身麻酔下に気管支鏡を行い内腔の観察をおこなった。免疫抑制剤の投与は行わなかった。気管支鏡による狭窄率、病理学的にグラフト上皮化率、収縮率、ECM生着率について統計的評価を行った。</p> <p>結果 P-ECMを臀部に移植した後、拒絶反応の兆候は観察されなかった。気管支鏡所見では、A群では術後3ヶ月まで狭窄の改善が見られず、移植部位の上皮化も見られず、ECM部位は瘢痕化し、消退しているように見えた。一方、B群では狭窄が徐々に改善し、宿主組織とP-ECM内に上皮が連続するようになった。組織</p>			

学的には、A 群では移植部位が縦方向に収縮し、上皮化が認められなかったのに対し、B 群では P-ECM 上に完全な上皮化が認められたが、両群とも軟骨の再生は確認されなかった。気管支鏡による狭窄率、収縮率、ECM 生着率に統計学的有意差は認められなかったが、グラフト上皮化率に統計学的有意差が認められた(A; sporadic (25%) 3, vs. B; full covered (100%) 3; $p = 0.047$) (図 2)。

考察

平行と垂直に移植した上皮化の結果の違いは移植片を宿主の気管軸に対して垂直に移植することで、剛性が強まり、水平に移植するよりも欠損縁を強く把持し、ECM 分解の時間を確保したことで組織再構築に必要な宿主-ECM 相互作用を開始できると推測された

この研究にはいくつかの限界がある。動物数が少ないこと、長期的な評価がなされていないこと、p-ECM の剛性を確保するためには、このマトリックス上での軟骨細胞再生と軟骨形成促進についてさらに研究する必要があることである。

結論

P-ECM は軟骨細胞の再生を伴わない完全な再上皮化をサポートすることができ、垂直方向の移植により ECM の上皮化が促進される。この結果から、我々の脱細胞化気管マトリックスは、気道欠損修復のための生物学的異種材料として臨床的可能性を持つことが示された。

図 1

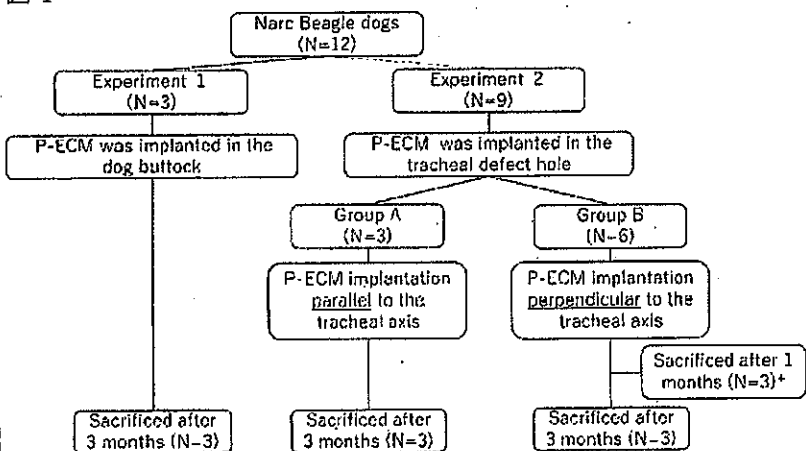


図 2

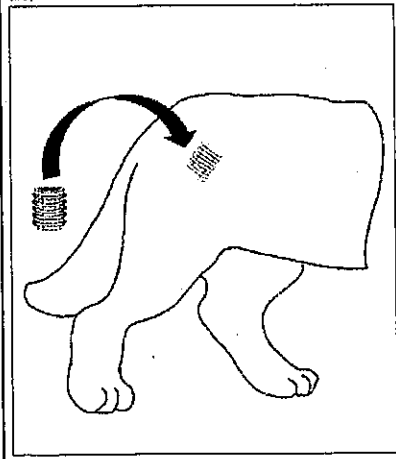


図3

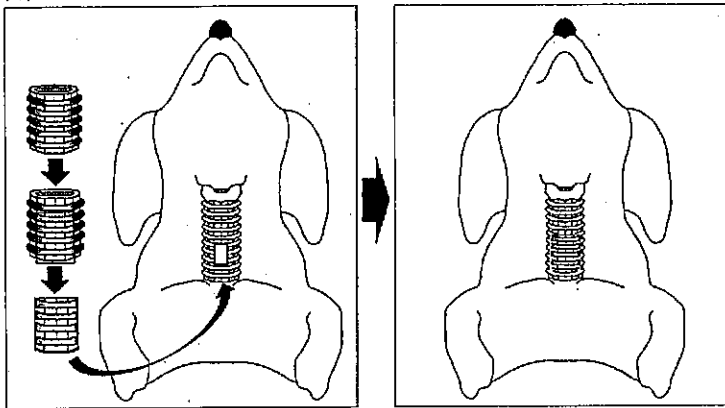


図4

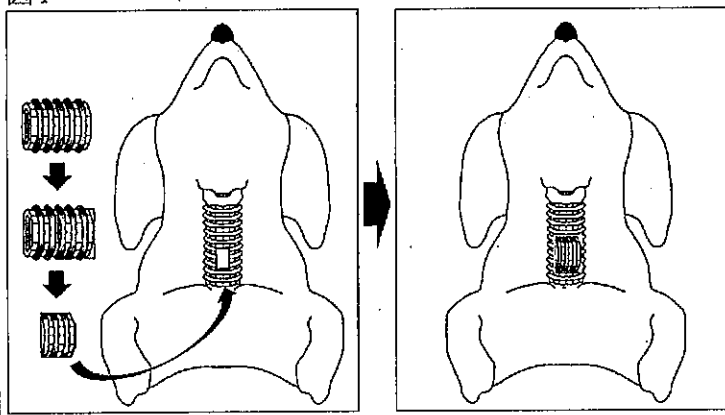


Table 1

	Group A (N=3)	Group B (N=3)	p value
Bronchoscopic stenosis rate			
Non-stenosis (0%)	0	3	0.063
Mild (25%)	1	0	
Moderate (25-50%)	1	0	
Severe (50%)	1	0	
Graft epithelialization rate			
Non-epithelialization (0%)	0	0	0.047
Sporadic (25%)	3	0	
Moderate (50%)	0	0	
Full covered (100%)	0	3	
Shrinkage rate (mean)	50/50/50 (50.0)	0/0/25 (8.33)	0.059
ECM live-implantation rate (mean)	100/100/100 (100)	100/100/100 (100)	NaN

掲載誌名	Frontiers in Surgery - Thoracic Surgery		
	Volume 9 - 2022		
	https://doi.org/10.3389/fsurg.2022.1089403		
(公表予定) 掲載年月	2023年1月12日	出版社(等)名	Frontiers Media S.A.
Peer Review	有		無

(備考) 論文要旨は、日本語で1,500字以内にまとめてください。