

学位論文審査の結果の要旨

令和 5 年 5 月 19 日

審査委員	主 査	周野 圭一 周野		
	副 主 査	上野 正樹 上野		
	副 主 査	堀井 奈浩 堀井		
願 出 者	専攻	医学 (内科学)	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			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			

〔 要 旨 〕

目的 胸部外科領域における臨床応用可能な医療材料はまだ不十分であり、特に気管欠損を治療するための材料は不足している。そこで、ブタ細胞外マトリックス (P-ECM) をイヌの気管に異種移植し、新たな気道再建材料としての可能性を検討した。

方法 まず P-ECM を Narc Beagle 犬 (n=3) の臀部に移植し、その免疫反応等を総合的に評価した。その後、9 頭の犬に手術を行い、1×2cm の気管欠損を形成した。A 群では、P-ECM を気管軸に平行に移植し (n=3)、B 群では P-ECM を気管軸に垂直に移植した (n=6)。移植片は定期的に気管支鏡で観察し、術後 1 ヶ月と 3 ヶ月に肉眼的および顕微鏡的に評価した。周術期において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、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。

結果 P-ECM を臀部に移植した後、拒絶反応の兆候は認められなかった。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的有意差が認められた (G-A ; 散発性 (25%) 3、 vs G-B ; フルカバー (100%) 3、p=0.047)。

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。

本研究に関する学位論文審査委員会は5月17日に行われた。本研究は脱細胞化されたブタ気管ECMをイヌ気管欠損部位へ気管軸に対して垂直に移植することで気管上皮の再生が行われることを実証したもので、結果に対する考察もなされている。本研究で得られた成果は、治療に難渋する気管支断端瘻に対して、臨床応用の可能性があり、学術的価値も有している。委員の審議により、本論文は博士（医学）の学位論文に十分に値するものと判断した。

審査において

1. 拒絶反応においてCD3染色でみているが他に染色をおこなったか。拒絶反応の有無を正確に評価するのであれば細胞性免疫、液性免疫共に評価することが望ましいと思われる。
 →今回の研究では資金的な問題もあり、CD3染色しか行なえていない。ただし、病理切片の検討において3か月では炎症細胞浸潤も認めないことから、明らかな拒絶反応はなかったとの病理専門医の意見を確認している。
2. 垂直方向に移植することで、平行群に比べて剛性が高まるとのことだがどのような理由で剛性が高まるといえるのか。
 →欠損部にかかる呼吸や咳嗽時の陰圧は頭尾方向に力がかかると考えられる。欠損部の水平方向には軟骨がある程度残存していることで、水平方向の剛性は保たれると想定される。そのため欠損部を剛性が最も期待できる軟骨部の残骸が縦方向に覆うように把持することで剛性が保たれたと考えた。
3. ECMを足場として気管上皮の再生はどのような作用で起こってきたか。
 →ECMは足場だけではなく、ある程度時間はかかるが宿主との相互作用がはたらき、細胞成長因子や細胞を誘導してくる作用がある。またリモデリングがおき、ECMが気管上皮に置き変わっていくとも考えられる。以上よりECMが宿主側からの細胞や成長因子を誘導し、ECMが分解しながら正常な気管上皮（軟骨は認めないため正常な気管組織ではない）が再生されると思われる。
3. 再生はグラフトのどの部位からはじまると考えられるか。
 →気管支鏡等で観察している際には頭尾方向からそれぞれ中心に向かって再生が始まっているように観察された。
4. 再生に関しては血管新生が重要な要素と考えられるが血管新生に関して評価は行っているのか。
 →血管新生に関しては気管支鏡での肉眼的な所見とHE染色で血管構造があることを確認しているだけで、どのように血管新生がおきているかなど、免疫染色等での詳細な評価は行っていない。
5. 剛性が垂直方向で高まる理由はわかったが、実際に平行群と垂直群でどの程度の張力に差があるのかを客観的な評価はおこなっているのか。
 →客観的な評価はおこなっていない。移植実験前に作成したP-ECMに対して垂直、平行方法でどの程度の引っ張り力があるのかを評価すればより良い論文になったと思われる。
6. ECMは足場だと考えられるのでstem cellや細胞成長因子（bFGF等）を加えた場合の評価は行っているのか。
 →管状の実験においてはbFGFを投与した群を作ってみたが、投与していない群との差はほとんど見受けられなかった。しかしながら管状の実験ではいずれの方法でも上皮の再生は殆ど得られていないため、パッチ状で細胞成長因子等を投与した群で評価は必要と思われる。
7. 実臨床において今回の実験での結果をどのように応用できるか。具体例も教えてほしい。
 →適切な環境で作成できれば気管支断端瘻等、限定されている瘻孔であれば倫理的な問題はありますが、P-ECMパッチを縫着することで治癒が期待できると考える。他にも多数の質問が行われたが、申請者はいずれにも明確に応答し、医学博士の学位授与に値する十分な見識と能力を有すると判断された。

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.

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。