

平成 22 年 6 月 8 日現在

研究種目： 若手研究(B)
 研究期間： 2008 ～ 2009
 課題番号： 20791225
 研究課題名（和文） ヒアルロン酸・コラーゲン混合シートによる損傷声帯での狭窄，瘢痕化防止の試み
 研究課題名（英文） Attempt to prevent the scarring and narrowing of injured vocal cords with hyaluronic acid and collagen mixture seat
 研究代表者
 清野 由輩（SEINO YUTOMO）
 北里大学・医学部・助教
 研究者番号： 00406951

研究成果の概要（和文）：コラーゲンの熱変性する性質を利用してヒアルロン酸，コラーゲン混合シートを作成する手法を取得した。作成したシートを8週令のSDラットの腹部に作成した島状の剥離創に適用し，創傷治癒を促進する効果があることを確かめた。7～8週 wistar ラットの声帯の水平断のプレパラートを作成し組織学的検討を行えることを確認した。またラットの喉頭微細手術を行う手法を確立した。これを用いてラットの声帯を明視下に置き，熱した白金棒にて声帯に熱傷を作り，その後2，4週後に同様に観察し，声帯の前連合にwebが形成されたモデルラットを作成できることを確認した。さらに瘢痕形成の主要な役割を果たす線維芽細胞を培養しシートによる線維芽細胞の動態への影響を検討した。ラットの損傷声帯にヒアルロン酸，コラーゲン混合シートを適用し，コントロールのwebが形成された声帯との相違点を，物性的に検討しようとしたが手技的に困難で，3次元画像を用いた形態学的な検討を行った。

研究成果の概要（英文）：The technique for which collagen made the hyaluronic acid and the collagen mixture seat by a fever and using the character to denature was acquired. There was an effect of promoting the wound healing. It was confirmed to make the Prapararat of the horizontal determination of wistar rat's vocal chords during 7~8 weeks and to examine it in histology. Moreover, the technique for doing rat's laryngomicrosurgery was established. It was confirmed to make the model rat with which web had been formed to the anterior fissure of vocal chords. In addition, the fibroblastic cell that played the main role to form the scarring was cultured and the influence of the fibroblastic cell on the movement with the seat was examined. A morphologic examination used three dimension image was done though it tried to apply the hyaluronic acid and the collagen mixture seat to rat's injured vocal cords, and to examine the difference point with vocal cords with which web of the control had been formed in physical properties.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2008 年度	600,000	180,000	780,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総 計	1,200,000	360,000	1,560,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：①ヒアルロン酸②コラーゲン③声帯④癒痕

1. 研究開始当初の背景

組織の一部が傷つけられると、生体は傷を修復する機構が働くが、その結果として癒痕を形成する。声帯の癒痕形成に伴う音声障害はきわめて深刻である。現在まで声帯癒痕の形成を阻止する確立された方法はない。

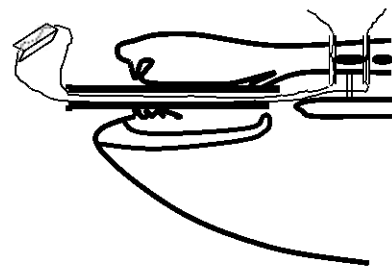
2. 研究の目的

声帯組織への侵襲により形成される声帯の癒痕と声帯の癒合を抑制することで、声帯の物性変化に伴う音声障害を予防する。そのための組織工学的に使用する材料を検討し、さらに行う術式について考案する。創傷治癒のメカニズムはオーバーラップする3期に分けられ、①炎症期、②増殖期、③結合組織の改築期がある。損傷後数日から数週間の増殖期での細胞外マトリックス生成のバランスが将来の癒痕形成において重要な意味を持つと考えられている。

そこで我々は損傷させた声帯粘膜にコラーゲンとヒアルロン酸を混合させたシートを適用し、声帯粘膜の良好な治癒機転を促し、癒痕形成を抑制することを目標とした。さらに声帯に固定したシートが癒着防止膜の役割を果たし、前連合の声帯 web の形成を物理的科学的障壁となって阻害する。

またシートの声帯への貼付を将来的には人でも喉頭微細手術で行い、低侵襲で一期的に行う事を目標とする（図2）。そこでSDラットにおいてこの術式の試行と、様々な

条件下で損傷された声帯の観察、さらにコントロール群に比較しシートを適用した群の治癒状況を観察する。治癒状況を各種方法で評価する。



3. 研究の方法

我々は癒痕抑制効果の高いヒアルロン酸やコラーゲン単独だと適切な強度を持ったシートは作製できず、コラーゲンとヒアルロン酸を単純に混合してもコラーゲンが沈殿してしまうことから、熱変性を利用して安定した1%コラーゲンとヒアルロン酸からなるフィルム状のシートを作製した。ラットの声帯を損傷し、治癒の結果癒痕と web が形成されていることを確認する。これにより安定してラットの声帯損傷モデルが作成できることを確認する。損傷されたラットの声帯にヒアルロン酸・コラーゲン混合シートを喉頭微細手術下に縫合貼付する。損傷された声帯にシートを適用した創傷治癒の状況を検討する。

Multidetector row-CT のデータを利用して喉頭の3次元モデルやMPR (Multi Planar Reformat) 像をコンピューター上で再構築し、声門の3次元の形態や残存披裂軟骨の

検討を行う。今後術後の機能改善の目的で有用な情報を得られ、よりよい術式改善のための情報が得られると考えられる。

CTの情報はImaging and Communications in Medicine (DICOM)ファイルとしてKGT社製3次元画像ソフトINTAGE Realiaを用いて0.3mm厚の冠状断MPR画像を作成する。またvolume rendering法で輪状軟骨と披裂軟骨、また気道の3次元画像を自由に作成し検討する。気道は空気と気道内腔粘膜とのdensityのコントラストを利用して描出できる。

4. 研究成果

コラーゲンの熱変性する性質を利用してヒアルロン酸、コラーゲン混合シートを作成する手法を取得した。作成したシートを8週令のSDラットの腹部に作成した島状の剥離創に適用し、創傷治癒を促進する効果があることを確かめた。ラットの声帯の水平断のプレパラートを作成し組織学的検討を行えることを確認した。またラットの喉頭微細手術を行う手法を確立した。ラットの声帯を明視下に置き、熱した白金棒にて声帯に熱傷を作り、その後2, 4週後に同様に観察し、声帯の前連合にwebが形成されたモデルラットを作成できることを確認した。さらに癒痕形成の主要な役割を果たす線維芽細胞を培養しシートによる線維芽細胞の動態への影響を検討する手法を習得した。ラットの損傷声帯にヒアルロン酸、コラーゲン混合シートを適用し、コントロールのwebが形成された声帯との相違点を、物性的に検討しようとしたが手技的に困難で、3次元画像を用いた形態学的な検討を行った。

気道が生じるルートは様々であり、その上方の披裂部粘膜に波動が生じると思われ

る。音声学的に気道の狭窄部形成が明らかであれば、直下からの呼気流が急速に速まり、粘膜波動が安定して生じると思われる。結果良好な音声機能が保たれる。

術後に撮影した喉頭のMD-CTの撮影データであるDICOMファイルを用いて3次元画像を構築し、形態的見地から術後音源の解析を試みる。新声門において、有響成分がもたらされる音源定位を同定し解析する。音源定位の情報により、効率的な発声機能につながる手術手技へ反映させる。また自ら3次元画像ソフトを用いて画像を構築、検証することで、本術式の理解がより一層深まる。これにより今後多方面で行われるであろう本術式をより発展させ、手術を受ける人の音声機能を改善させることで生活の質を豊かにしていけるだろうと確信している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 7 件)

①清野由蜚; 中山明仁; 岡本牧人, 他 精神神経既往症を有する頭頸部進行癌症例の治療 頭頸部癌 査読有

36(1):119-124, 2009

②Nakayama, M Holsinger, C Seino, Y, et al linicopathological Analyses of Fifty Supracricoid Laryngectomized Specimens: Evidence Base Supporting Minimal Margins J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec, 2009, 71, 6, 305-311 査読有

③中山明仁; 林政一; 清野由蜚, 他 局所進行喉頭癌に対する音声保存治療 局所進行喉頭癌に対する喉頭亜全摘出術

SCL-CHEPの切除限界 日本気管食道科学会会報 2009, 60, 2, 86-89 査読有

- ④中山明仁; 清野由輩; 林政一. 他
Supracricoid laryngectomy50 症例の臨床的検討 日本耳鼻咽喉科学会会報 2009, 112, 7, 540-549 査読有
- ⑤Masaki,T.; Katada,C.; Seino,Y ,et la
Narrow band imaging in the diagnosis of intra-epithelial and invasive laryngeal squamous cell carcinoma: a preliminary report of two cases Auris Nasus Larynx, 2009, 36, 6, 712-716 査読有
- ⑥清野由輩; 永井浩巳; 岡本牧人. 他 扁桃炎を契機に増悪した完全型ベーチェット病の1症例 口腔・咽頭科 2009, 22, 2, 155-160 査読有
- ⑦横堀学; 中山明仁; 清野由輩. 他 頭頸部腫瘍術後嚥下障害 喉頭全摘術の術後嚥下機能再獲得に対するチーム医療 耳鼻咽喉科・頭頸部外科, 2009, 81, 4, 257-264 査読有
- [学会発表] (計 7 件)
- ① 清野由輩, 中山明仁, 岡本牧人, 他 喉頭全摘出術(SCL-CHEP)における新声門3次元解析 第61回日本気管食道科学会総会・学術講演会 横浜 2009年11月5日~6日
- ② 永井浩巳, 西山耕一郎, 清野由輩. 他 ラットの側性声帯麻痺における甲状披裂筋の萎縮に対する b-FGF を用いた筋膜移植術の効果 第61回日本気管食道科学会総会・学術講演会 横浜 2009年11月5日~6日
- ③ 正来隆, 堅田親利, 清野由輩. 他 原発不明頸部転移癌に対する NBI 内視鏡を用いた原発巣検索の検討 第61回日本気管食道科学会総会・学術講演会 横浜 2009年11月5日~6日
- ④ 清野由輩, 中山明仁, 岡本牧人, 他 喉頭全摘出術(SCL-CHEP)における新声門3次元解析の試み:2症例報告 第54回音声言語医学会総会・学術講演会 福島 2009年10月15日~16日

- ⑤ Nakayama,M Holsinger,C Seino,Y ,et la SCL-CHEP:Pathological Evidence Wsithstand Minimal Margins AAO-HNSF 2009 San Diego 2009年9月4日~7日

- ⑥ 清野由輩, 中山明仁, 竹田昌彦. 他 高度な合併症を伴う頭頸部癌症例の治療適応 第33回頭頸部癌学会 札幌 2009年6月10日~12日

- ⑦ 清野由輩, 中山明仁, 岡本牧人, 他 高度な合併症を伴う頭頸部進行癌症例の治療適応:症例報告 第19回頭頸部外科学会 名古屋 2009年1月29日~30日

6. 研究組織

(1)研究代表者

清野 由輩 (SEINO YUTOMO)
北里大学・医学部・助教
研究者番号: 00406951