

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 1日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791319

研究課題名（和文） 肺気腫に対する伸縮性コラーゲンのラッピング法の開発

研究課題名（英文） The effect of respiratory function with wrapping elasticated collagen sheets in rats COPD model

研究代表者

白橋 幸洋（SHIRAHASHI KOYO）

岐阜大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40362149

研究成果の概要（和文）：

FIBRIGEL を用いた伸縮性コラーゲンシートを作成し気腫肺にラッピングさせることにより、肺コンプライアンスの改善と気流の維持が可能であるかを評価した。FIBRIGEL の加熱により収縮率 66% のゲル状の弱伸縮性のシートが作成された。テストランクおよび摘出肺を用いた Ex vivo での評価において、FIBRIGEL は小さめのラッピングほど換気量、flow とともに増加し、ラッピング枚数を増量するほど圧、flow とともに増加することが示唆された。右開胸による In vivo での評価では圧、換気量、flow とともに変化は見られなかった。経時的な呼吸生理学的評価および病理学的な評価は行えていない。

研究成果の概要（英文）：

To improve lung compliance and to maintain airflow, we evaluated the effect of respiratory function with wrapping elasticated collagen sheets in rats COPD model. When heated to 100°C, the FIBRIGEL was shrank to 66% of their original diameter and the weak-elasticated collagen sheet was formed. Ex vivo, airflow and tidal volume were increased with decreasing the size of wrapping sheet. Airway pressure and airflow were increased with increasing the number of sheet. In vivo, there were no changes in air pressure, airflow and tidal volume using wrapping sheet. Assessment of time course in respiratory functional changes and pathological evaluation were not completed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：呼吸器外科学
科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学
キーワード：肺気腫、胸部外科

1. 研究開始当初の背景

世界保健機関の統計によると、COPD は死亡原因の第 4 位にランクされ、今後も患者数と死亡率が高まることが予測されている。日本においても閉塞性肺疾患の死亡者数は年々増加しており、2001 年に発表された大規模疫学調査研究の結果では、約 530 万人の患者がいると推定されている。軽症の COPD には内科的治療が中心であるが、重症の COPD に対しては肺移植や LVRS などの外科的治療が行われている。肺移植は欧米においては COPD に対して最もポピュラーな治療法であるものの、国内においてはドナー不足の問題や適応症例が限られている。LVRS は Heterogeneity な target area が存在する肺気腫部分の切除により chest wall function, 肺弾性収縮力の改善が得られるものの、長期的には呼吸機能が徐々に術前値に低下してくることや肺癆の遷延に伴う膿胸などの術後合併症の問題があるとされている。

一方では、内視鏡的に末梢の気腫化した肺胞と中枢気道とをバイパスする方法や一方弁付き endobronchial valve を気腫化の強い区域気管支内に留置することによって、換気に預からない区域を無気肺とし呼吸機能を改善させる方法が報告されているが、長期成績が出ておらず、現時点での評価は困難である。

今回考案した肺気腫に対する伸縮性コラーゲンのラッピングによる肺コンプライアンスを改善する方法は、外科治療として LVRS の位置づけと同等であるが、肺切除を行わない点、homogeneous distribution 症例に対応が可能である点、伸縮性コラーゲンの収縮作用により気道内腔の気流を維持できる点を

異にする、低侵襲で安全性の高い外科治療法になりうる可能性がある。

2. 研究の目的

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は気流閉塞が恒常的に見られる慢性炎症性呼吸器疾患と捉えられている。最終的に肺胞内圧が上昇し肺が過膨張する。この COPD の病態である気流制限は、機能的な変化として①肺実質の破壊や脆弱性に伴う気道壁コンプライアンスの増加②内因性 PEEP による気道内腔との圧較差増大といったメカニズムが関与している。重症肺気腫の外科治療として伸縮性コラーゲンである FIBRIGEL を全肺にラッピングする方法により、①吸気時における胸腔内圧陰圧による肺コンプライアンス、肺弾性収縮力の改善②呼気時におけるコラーゲン自身の収縮による気流の維持といった効果が得られるような治療法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) フィブリゲルの加熱処理により伸縮性コラーゲンシートを作成する。

(2) コラーゲンシートのラッピングによるコンプライアンスの変化

下記①～③の状況下において圧、換気量, flow について評価を行う。

① テストラングを使用し、伸縮性コラーゲンシートのラッピングによるコンプライアンスの改善を spirometer により評価する。伸縮性コラーゲンシートの枚数によるコンプライアンスの変化を検証する。

② 摘出肺を用いた肺コンプライアンス変化の評価および伸縮性コラーゲン

シートの枚数による肺コンプライアンス変化の評価

Wister系雄性ラット(250-300g)を用いて、全身麻酔下の人工呼吸器管理下に胸骨正中切開を行い、心肺ブロックの摘出し spirometerにより評価する。

- ③ in vivo において伸縮性コラーゲンシートのラッピングによる肺コンプライアンスの改善を spirometerにより評価する。

Wister系雄性ラット(250-300g)を用いて、全身麻酔下の人工呼吸器管理下に右開胸を行い、コラーゲンシートをラッピングし spirometerにより評価する。

- (3) 信頼性のある肺気腫モデルの作成。

Wister系雄性ラット(250-300g)を気管内挿管の下に全身麻酔、人工呼吸管理とする。豚臓エラストマーゼ(60単位)を50%TAE液0.3mlで溶解し、0.1mlずつ気管内へ投与する。投与後しばらく人工呼吸管理した後に抜管する。

- (4) 伸縮性コラーゲンシートの耐久性について、正常肺モデル、気腫肺モデルそれぞれの経時的な呼吸機能の計測より評価する。

Wister系雄性ラット(250-300g)を用いて、全身麻酔下の人工呼吸器管理下に右開胸を行い、コラーゲンシートをラッピングし閉胸、同様の操作を気腫肺モデルに対しても行い、spirometerにより呼吸機能の評価を行う。

- (5) 伸縮性コラーゲンシートの安全性について、正常肺モデル、気腫肺モデルそれぞれの臓側胸膜、壁側胸膜の組織学的評価を行う。

Wister系雄性ラット(250-300g)を用いて、

全身麻酔下の人工呼吸器管理下に胸骨正中切開を行い、心肺ブロックの摘出を行い病理学的な評価を行う。

4. 研究成果

- (1) フィブリゲルの加熱処理による伸縮性コラーゲンシートの作成。

FIBRIGELの加熱における変化は、通常の恒温槽において緩徐に加熱すると水分が消失してシート状の構造とはならなかった。このためビーカー内で100°C程度に瞬時に加熱することとし、これにより収縮率が66%(直径1.2cm)のゲル状の伸縮性のシートが作成された。

- (2) 伸縮性コラーゲンシートのラッピングによるコンプライアンスの変化

- ① テストラングを使用した伸縮性コラーゲンシートのラッピングによるコンプライアンスの改善

テストラングを装着した状態でレスピレータの設定を tital volume 2.3ml, RR 50回とし、テストラングの内圧、換気量、流速の測定を行った。FIBRIGELのラッピングには6-0プロリン糸を使用し、FIBRIGELを2枚もしくは3枚用いてテストラングをラッピングするようにした。① control, ② FIBRIGEL2枚, ③ FIBRIGEL3枚に群分けし検討した。

<圧>

①: $5.24 \pm 0.67 \text{cmH}_2\text{O}$ と ③: $5.06 \pm 0.4 \text{cmH}_2\text{O}$, ②: $5.20 \pm 0.40 \text{cmH}_2\text{O}$ と ③間で有意差を認めた。

<換気量>

①: $8.27 \pm 2.65 \text{ml}$, ②: $15.90 \pm 1.10 \text{ml}$, ③: $11.67 \pm 0.95 \text{ml}$ の3群間で有意差を認めた。<flow>

①: $35.79 \pm 4.50 \text{ml/s}$, ②: $40.50 \pm$

3.51ml/s, ③: 39.28±2.51ml/s の3群間で有意差を認めた.

以上のことからFIBRIGELのラッピングはテストラングの円周に比較し小さめのラッピングであればあるほど換気量, flowともに増加することが示唆された.

② 摘出肺を用いた肺コンプライアンス変化の評価

wister系 rat の180~220gを用い, エーテルによる麻酔後人工呼吸器に装着し, 心肺ブロックを肺の膨張した状態で摘出した. 次に再度心肺ブロックをレスピレータに装着し, 右主気管支をブロックし左肺のみで呼吸生理学的に検証した. フィブリゲルは2枚もしくは3枚をそのまま肺の表面にラップした状態で計測した.

人工呼吸器の設定を tital volume 2.3ml, RR 50回とし, 左肺の内圧, 換気量, 流速の測定を行った. ① control, ② FIBRIGEL2枚, ③ FIBRIGEL3枚に群分けし検討した.

<圧>

①:13.37±2.21cmH2O と②: 17.27±3.21cmH2O, ③:22.95±3.03cmH2O と3群間で有意差を認めた.

<10回分の左肺のみの換気量>

①:74.46±8.9ml, ②:72.53±9.31ml, ③:76.06±2.8ml の3群間で差を認めなかった.

<flow>

①:66.36±8.37ml/s, ②:78.76±9.68ml/s, ③:97.98±9.58ml/s の3群間で有意差を認めた.

以上のことからFIBRIGELのラッピングの枚数を増量することにより圧, flowともに増加することが示唆され

たが, 換気量には大きな変化がなかった.

③ in vivo におけるコラーゲンシートのラッピングによる肺コンプライアンスの変化

フィブリゲルは加熱処理により縮小はするもののコラーゲン特有の収縮性に富む状態とはならずゲル状のままであった. このため, この実験では加熱処理を加えない状態のFIBRIGELを使用した. Wister系 rat をエーテル麻酔後に呼吸回数80回, 気道内圧20cmH2Oの設定で人工呼吸管理をした. 開胸した状態で3群間で気道内圧, 換気量, 流速の測定を行った. ①開胸のみ行った群, ②1枚のFIBRIGELをラッピングした群, ③2枚ラッピングした群に分け検証した.

<圧>

①:23.14±1.68cmH2O, ②:23.75±0.65cmH2O, ③:22.91±1.43cmH2Oであり3群間で有意差は認めなかった.

<6回分の総換気量>

①:217.85±38.02ml, ②:213.51±37.21ml, ③:212.07±34.77mlであり3群間で有意差は認めなかった.

<flow>

①:73.72±15.53ml/s, ②:77.04±14.79ml/s, ③:73.89±14.67ml/sであり3群間で有意差は認めなかった. 前回までのような効果が得られなかった原因として, うまく肺をラッピングできていないこと, 手術手技にばらつきがあること, FIBRIGELがin vivoレベルで効果が少ないことが考えられた.

(3) 肺気腫モデルの作成.

病理学的な評価では肺門よりに気腫性の変化が強く homogeneous な気腫にならなかった。これは末梢の肺胞レベルまで elastase が到達していないことが原因と考えられた。ただし肺胞間距離は正常肺 36.5 μm , 肺気腫モデル 122.5 μm であり、末梢まで elastase が到達可能であれば肺気腫モデルが作成可能と考えられた。

- (4) 伸縮性コラーゲンの正常肺モデル, 気腫肺モデルの経時的な呼吸生理学的機能の変化
完成には至っていない。
- (5) 伸縮性コラーゲンのラッピングによる臓側胸膜, 壁側胸膜の組織学的評価
完成には至っていない。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計◇0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

- (1) 研究代表者

白橋 幸洋 (SHIRAHASHI KOYO)
岐阜大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 : 40362149

- (2) 研究分担者

()

研究者番号 :

- (3) 連携研究者

()

研究者番号 :