

平成 22 年 4 月 26 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19591997  
 研究課題名（和文）肝細胞増殖因子産生アデノウイルスベクターを用いた声帯内自家脂肪注入術の基礎的研究  
 研究課題名（英文）basic study of autologous fat injection laryngoplasty with an adenoviral vector expressing hepatocyte growth factor  
 研究代表者  
 梅野 博仁（UMENO HIROHITO）  
 久留米大学・医学部・准教授  
 研究者番号：40203583

研究成果の概要（和文）：声帯内脂肪注入術後の音声は喉頭枠組み手術後の音声より有意に良好であった。Body Mass Index が大きな患者では注入された脂肪が吸収されやすいことが示唆された。術前に声帯突起間距離が大きな患者でも声帯内脂肪注入術で十分な効果が得られた。成犬を用いた実験で、声帯内に注入する脂肪に肝細胞増殖因子を産生する非増殖型アデノウイルスベクターを混入すると、脂肪の自然吸収が抑制され脂肪の生着率が増す可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Autologous fat injection laryngoplasty was significantly found to be a more effective and reliable therapy for improving voice function in patients with vocal fold paralysis, compared with framework surgery. Injected fat volume shown a tendency to reduce in patient with Body Mass Index was high. Autologous fat injection laryngoplasty was effective in patient whose width between vocal process was large before surgery. Injection into the vocal fold of autologous fat containing an adenoviral vector expressing hepatocyte growth factor can reduce subsequent resorption of injected fat.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：声帯麻痺、声帯内脂肪注入術、甲状軟骨形成術Ⅰ型、披裂軟骨内転術、音声検査、ボディマスインデックス、肝細胞増殖因子産生非増殖型アデノウイルスベクター、血管内皮細胞

## 科学研究費補助金研究成果報告書

## 1. 研究開始当初の背景

一側声帯麻痺で生じる嘔声や嚥下障害に対する声帯内注入術・甲状軟骨形成術 I 型・披裂軟骨内転術の各々の術式に対する有効性は報告されているが、その病態に応じた術式の適応は曖昧な点が多い上に、術式間での音声に対する手術効果の比較検討はなされていないのが現状である。中でも声帯内自家脂肪注入術は新しい手術手技で、その手術適応には種々の意見があり、音声改善効果については良好であるという意見がある反面、長期成績では甲状軟骨形成術 I 型・披裂軟骨内転術などの喉頭枠組み手術に劣るといった報告がある。それは、声帯内自家脂肪注入術の欠点として、声帯内に注入された脂肪の幾らかは吸収されるという事実があるのが原因と考えられている。

## 2. 研究の目的

一側声帯麻痺による嘔声や嚥下障害に対する外科治療の適応を明確にし、特に声帯内自家脂肪注入術の治療成績を向上させることである。

## 3. 研究の方法

(1) 一側声帯麻痺の患者に対して、声帯内注入術、甲状軟骨形成術、披裂軟骨内転術を行い、各々の声帯内方移動術による音声改善効果の違いを検討した。音声検査は空気力学的検査として最長発声持続時間(MPT)、平均呼気流率(MFR)を測定し、音響分析として基本周期変動率(PPQ)、最大振幅変動率(APQ)、0~4kHzの規格化雑音エネルギー(NNEa)を測定した。術前と術後の音声比較はパラメータ毎に paired t test を行い、術式間での音声検査による治療成績の有意差は t test で比較検討した。

(2) ①声帯内脂肪注入術において、電子顕微鏡を用いて脂肪細胞 50 個の直径を測定し、その中央値をとって脂肪細胞の直径として脂肪細胞の密度を判定した。さらに患者の Body Mass Index を算出して術後の音声改善度と照らし合わせ、個人の脂肪細胞が術後音声に及ぼす影響を検討した。さらに、採取した脂肪における細胞分裂像(budding manner や sharing manner)が認められるかの検討を行った。②さらに、同術式により、披裂軟骨の内方移動・内転効果を確認するため、声帯内脂肪注入術前・後の発声時の声帯像をビデオからデジタル画像として取り込み、W:発声時の両側声帯突起間距離、L:麻痺側声帯膜様部長とし、W/L を算出した上で

W/L の術前後の変化と脂肪の注入量について検討した。声帯突起間距離が大きい症例を  $W/L \geq 20\%$ 、声帯突起間距離が小さい症例を  $W/L < 20\%$  と定義し、喉頭の大きさが違う男女間に分けて術前後の最長発声持続時間と平均呼気流率をパラメータとして術後効果を比較検討した(paired t test)。

(3) 成犬 4 匹を用い、犬の下腹部より脂肪吸引法で犬の自家脂肪を採取した後、右声帯には HGF 産生非増殖型アデノウイルスベクターを混入した犬の自家脂肪を注入し、左声帯には HGF を産生する能力がない非増殖型アデノウイルスベクターを混入した犬の自家脂肪を右側と同量注入した。注入した脂肪は成犬 2 匹では 0.5ml ずつ、残りの 2 匹では 1.0ml ずつ両側声帯に注入した。注入から 12 ヶ月後に犬の喉頭を摘出し、喉頭の前額断切片標本を作成した。組織標本は HE 染色で脂肪細胞の存在範囲と脂肪細胞の状態を観察した。また、組織標本は免疫化学染色(factor VIII) も行い、脂肪細胞を栄養する周囲の毛細血管の内皮細胞を染色し、観察した。さらに、声帯内の脂肪細胞を走査型電子顕微鏡で観察し、脂肪細胞の状態を比較することで、注入後の脂肪に対する HGF の効果を検討した。

## 4. 研究成果

(1) 声帯内脂肪注入術 64 例も喉頭枠組み手術(甲状軟骨形成術±披裂軟骨内転術) 62 例も術後は有意に音声検査上の改善を認めた。しかし、術後音声は空気力学的検査・音響分析の双方において脂肪注入術後の音声が喉頭枠組み手術後の音声より有意に良好であった。この結果より、声帯内脂肪注入術の優れた音声改善効果が確認された。声帯内脂肪注入術後の音声検査は中央値 3 年での評価であり、長期的な音声改善効果が得られることが実証された。声帯内脂肪注入術 64 例と喉頭枠組み手術 62 例という多数の症例を長期に渡って音声検査の経過を追い、治療結果を比較検討した報告は国内外でも類を見ない。

(2) ①採取した脂肪細胞の直径は採取した患者の Body Mass Index と相関し、脂肪細胞直径が大きい症例の一部には注入した脂肪の吸収率が高い傾向があることがわかった。また、採取した脂肪における細胞分裂像(budding manner や sharing manner)は一部に認められた。この結果より、Body Mass Index が大きな患者では声帯内に注入された脂肪が吸収されやすい可能性が示唆された。この結果により、大まかな術後治療成績の見通しが立つことになった。

② 術前声帯突起間距離が声帯長に対して大きい症例や小さい症例でもでは性別を問わず、声帯突起外側後方（披裂軟骨槽円窩）への脂肪注入で発声時の声帯突起間距離は改善することが確認された。この結果より、術前に声帯突起間距離が大きな患者でも声帯内脂肪注入術で十分な効果が得られることが確認された。このことは声帯内自家脂肪注入術の適応を広げることになり、手技として治療成績を向上させることにつながった。

(3) 成犬4匹とも HGF（肝細胞増殖因子）を産生する非増殖型アデノウイルスベクターを混入した脂肪を声帯に注入した側の脂肪が、HGF を産生する能力がない非増殖型アデノウイルスベクターを混入した側よりも脂肪容積が大きく、脂肪細胞が安定して存在し、脂肪細胞周囲の毛細血管の存在が有意に多い結果が得られた。また、SEM（走査型電子顕微鏡）でも HGF を産生する非増殖型アデノウイルスベクターを混入した脂肪を声帯に注入した側の声帯内脂肪が、より密に生着しているのが確認できた。これは、声帯内に注入する脂肪に HGF を産生する非増殖型アデノウイルスベクターを混入することで脂肪細胞周囲の毛細血管の増殖が促進された結果、声帯内に注入した自家脂肪の自然吸収が抑制され、脂肪の生着率が増したものと考えられた。この結果より、声帯内脂肪注入術の唯一の欠点である脂肪の自然吸収による音声改善効果の減弱は、改善される可能性が示唆された。

#### 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4件）

① Hirohito Umeno, Shun-ichi Chitose, Kiminori Sato, et al.: Efficacy of Autologous Fat Injection Laryngoplasty with an Adenoviral Vector Expressing Hepatocyte Growth Factor in Canine. J Laryngol Otol, 査読有り, 123, 2009, 24-29.

② Hirohito Umeno, Shun-ichi Chitose, Kiminori Sato, et al.: Comparative Study of Framework Surgery and Fat Injection on Laryngoplasty. J Laryngol Otol, 査読有り, 123, 2009, 35-41.

③ Hirohito Umeno, Shun-ichi Chitose, Kiminori Sato, et al.: Efficacy of Additional Injection Laryngoplasty After Framework Surgery. Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology, 査読有り, 117, 2008, 5-10.

④ 梅野博仁, 佐藤公則, 白水英貴, 千年俊一, et al.: 声帯内脂肪注入術の現実と将来—声帯内脂肪注入術と喉頭枠組み手術の音声比較—, 音声言語医, 査読有り, 48, 2007, 163-170.

〔学会発表〕（計2件）

① Hirohito Umeno, Efficacy of Autologous Fat Injection Laryngoplasty with an Adenoviral Vector Expressing Hepatocyte Growth Factor in Canine. The 89<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Broncho-Esophageal Association 2009年5月28・29日, フェニックス（アメリカ）

② 梅野博仁, 肝細胞増殖因子産生アデノウイルスベクターを用いた声帯内脂肪注入術, 第20回日本喉頭科学会, 2008年3月14-15日, 佐賀市.

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅野 博仁 (UMENO HIROHITO)  
久留米大学・医学部・准教授  
研究者番号：40203583

(2) 研究分担者

佐藤 公則 (SATO KIMINORI)  
久留米大学・医学部・教授  
研究者番号：70196228

白水 英貴 (SHIROUZU HIDETAKA)  
久留米大学・医学部・講師  
研究者番号：90299454

千年 俊一 (CHITOSE SYUN-ICHI)  
久留米大学・医学部・講師  
研究者番号：20299514

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：