

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：12601
研究種目：若手研究
研究期間：2018～2022
課題番号：18K16875
研究課題名(和文) 熱傷後喉頭組織線維化の組織学・分子生物学的解析とTGF- β 阻害薬の治療効果の検証
研究課題名(英文) Histological and molecular biological analysis of post-burn laryngeal tissue fibrosis and therapeutic efficacy of TGF- β inhibitors
研究代表者
佐藤 拓 (Sato, Taku)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：50779808
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ラット熱性喉頭組織障害モデルでは、急性期・慢性期にTGF- β の増加がみられ、TGF- β を抑制することが線維化・瘢痕形成抑制効果に繋がる可能性が期待できる。治療として、選択的TGF- β 阻害薬による治療効果を検討していたが、実臨床応用可能性を考慮し、すでに保険適応薬である抗線維化薬(ピルフェニドン)による治療効果を検討した。結果として、薬剤の濃度調整により、慢性期における線維化の抑制効果を認め、今後同治療薬による治療の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喉頭粘膜の炎症や外傷、熱傷などによる喉頭瘢痕・線維化は、臨床において非常に治療に難渋し、音声や気道管理面で著しく生活の質を損なう病態である。そこで、喉頭瘢痕形成予防や治療法の開発が求められている。今回、ラット熱性喉頭組織障害モデルを作成し、その作用機序から、治療薬としてすでに肺線維症での保険適応薬である抗線維化薬(ピルフェニドン)に注目した。ピルフェニドンを投与することにより、喉頭における線維化予防がなされ、従来治療に難渋し、音声や気道管理面で著しく生活の質を損なう病態の改善に寄与することで、研究成果の学術的・社会意義が見出されるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In a rat model of burn laryngeal tissue injury, TGF- β increases in the acute and chronic phases, and suppression of TGF- β is expected to have the potential to inhibit fibrosis and scar formation. As a treatment, we had been studying the therapeutic effect of selective TGF- β inhibitors, but considering the possibility of actual clinical application, we examined the therapeutic effect of an antifibrotic drug (pirfenidone), which is already indicated by Japan insurance.

As a result, we found that the adjustment of the drug concentration inhibited fibrosis in the chronic phase, suggesting the possibility of treatment with this drug in the future.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：熱性喉頭粘膜障害 TGF- β TGF- β 阻害薬 サイトカイン 熱傷 気道狭窄 喉頭狭窄

1. 研究開始当初の背景

機序の解明：喉頭粘膜の炎症や外傷、熱傷などによる喉頭癒痕・線維化は、臨床において非常に治療に難渋し、音声や気道管理面で著しく QOL を損なう病態である。そこで、喉頭癒痕形成予防や治療法の開発が求められている。

2. 研究の目的

これまでの研究成果をもとに、熱性喉頭組織障害の線維化における経時的な組織学的変化・免疫組織学変化・分子生物学的なメカニズムの更なる解明や治療介入による効果の検証を行うことを目的に、動物モデルを作製し、上皮、筋組織、軟骨組織、膠原繊維や弾性線維などの組織学的解析と炎症細胞浸潤などの免疫組織学的解析および炎症性サイトカインなどの分子機構の分子生物学的解析を行うことにより、機序の解明を目的とする。

3. 研究の方法

(喉頭熱傷障害モデル)

喉頭熱傷障害モデル作成の適切なタイムポイントとして、control、Day3、Day7(主に急性期として評価)、Day28(主に慢性期として評価)で再現性が得られた(n=6)。評価方法としては、健側/患側における各組織の面積比として各タイムポイントで計測した(解析ソフトとして、image Jを使用)。各個体による測定誤差を少なくするため、披裂部における3スライスの平均値を算出し、control群と比較した。

(喉頭熱傷障害モデルにピルフェニドン投与)

上記結果に基づき、治療ターゲットとなるピルフェニドン投与を行った(n=6)。喉頭熱傷障害モデルと同様に評価を行った。

4. 研究成果

(喉頭熱傷障害モデル)

組織学的解析として、HE・AB・EVG染色では、上皮・筋肉・軟骨・膠原繊維の各タイムポイントにおける経時的な変化が確認され、2020年度に日本喉頭科学会にて成果を発表済みである。上皮・筋肉は急性期で減少するものの、慢性期には健側と同様に再生した。しかし、軟骨は急性期で変性を来し、慢性期でも減少を認めた。膠原繊維は急性期で増加し、慢性期においても膠原繊維の増生および線維化を来していた。免疫組織学的解析としては、CD3・MPO・CD68染色を用いて、リンパ球・好中球・マクロファージの変化について、組織学的解析と同様に評価を進め、急性期において増加を認めたものの、慢性期ではcontrolと同様であった。分子生物学解析については、RT-PCRにて、control群と比較して、炎症性マーカー(IL-1b/IL-6)の急性期での有意な上昇、線維化マーカー(Pdgfa)の急性期および慢性期での有意な上昇、Tgfb1の急性期での有意な上昇、Tgfb1rの急性期および慢性期での有意な上昇を認めた。

(喉頭熱傷障害モデルにピルフェニドン投与)

組織学的解析として、上皮・筋肉は急性期での減少効果を有し、慢性期には薬剤の濃度調整により、軟骨の変性、膠原繊維の増生および線維化の抑制効果を認めた。免疫組織学的および分子生物学的解析については、現在解析中である。

ピルフェニドンを投与することにより、少なくとも現時点の組織学的解析の結果からは、喉頭における構造の保持および線維化予防がなされたことが確認できた。従来治療に難渋し、音声や気道管理面で著しく生活の質を損なう病態の

改善に寄与することで、研究成果の学術的・社会意義が見出されるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤拓
2. 発表標題 熱傷による喉頭組織変化および機序の検討
3. 学会等名 喉頭科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------