

血管内皮細胞増殖性サイトカインによる気管支血流改善法の開発

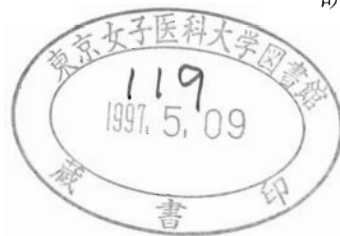
06454404

平成6～7年度科学研究費補助金（一般研究B）研究成果報告書

平成9年3月

研究代表者 新田 澄郎

（東京女子医科大学 医学部 教授）



肺移植では気管支吻合部の虚血による創傷治癒遅延が、肺移植後早期拒絶反応とともに、肺移植後早期の合併症の主因をなすとされてきた。肺移植、気管気管支形成術において、早期に気管支吻合部血流を再開し、気管支離開、壊死等の合併症を軽減させるため、生体内において血管新生を調整している、血管内皮細胞増殖性サイトカインを用いた新しい気管支血流改善法の開発と臨床応用を目的とし本研究を行った。

#### 研究組織

研究代表者：新 田 澄 郎（東京女子医科大学 医学部 教授）

研究分担者：大 貫 恭 正（東京女子医科大学 医学部 助教授）

研究分担者：曾 根 康 之（東京女子医科大学 医学部 講師）

研究分担者：神楽岡 治 彦（東京女子医科大学 医学部 講師）

研究分担者：小 山 邦 広（東京女子医科大学 医学部 助手）

#### 研究経費

平成 6 年度 5,700 千円

平成 7 年度 1,000 千円

計 6,700 千円

#### 研究発表

- (1) 小山邦広、大貫恭正、大貫尚好、新田澄郎：Basic fibroblast growth factor (bFGF)の気管支吻合部における早期血流改善効果. 日本胸部外科学会雑誌 44:2032-2039,1996

## 研究成果

平成6年度

肺移植、気管気管支形成術において、気道合併症を軽減させるため、血管内皮細胞増殖性サイトカインの一種である、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)の臨床応用をめざして、bFGF局所投与方法、至適濃度、至適PHを決定することを目的とし、実験を行った。

ビーグル犬および雑種成犬を用い、全身麻酔下に、左主気管支周囲の結合組織、気管支動脈静脈郭清(Radical hilar stripping)を施行した後、左主気管支をSecond carinaの2～3軟骨輪上方で切断、再縫合した。次いで、気管支吻合部を内胸動脈分枝を温存した有茎心膜脂肪組織で被覆した群(A群)、被覆時、フィブリン糊のみを局所投与した群(B群)、フィブリン糊を使用せず、bFGFのみを局所投与した群(C群)、フィブリン糊に、NaHPO<sub>4</sub>溶液で溶解したbFGFを混和した後局所投与した群(D群)に分類し、bFGF局所投与効果を検討した。

血流改善の評価は、以下の検査で行った。

1.経時的に、レーザードップラー血流計による気管支粘膜血流量を測定し、血流増加の差を4群間で比較検討した。気管支粘膜血流量は、レーザードップラー血流計(アドバンス社製ALF21)を用いて、吻合部のやや末梢である上葉分岐部にプローブをあて測定した。術前の気管分岐部、左右Second carina等の気管支粘膜血流に有意差はなかった。術直後、3日目、7日目、の計3回測定し、左右気管支血流量比(非再建側上葉気管支分岐部を対照とした、再建側気管支粘膜血流量)で血流量の変化を検討した。

2.手術直後と7日目に、電磁流量計による左内胸動脈(LITA)血流量(気管支吻合部血流量)を測定し、4群間で比較検討した。電磁流量計によるLITA血流量は、埋め込み型電磁流量計プローブをLITA中枢側に装着することにより行った。ゼロ血流は、中枢側を末梢血管遮断鉗子、またはVascular occluder(model OC2A or OC3, IN VIVO METRIC Healdsburg, California, USA)にて遮断することにより行った。

3.シリコンラバーによる到達度による気管支吻合部の血管増生の状態を検討した。術後7日目血流測定終了後、胸骨正中切開下に左鎖骨下動脈を露出し、LITA以外の側枝、鎖骨下動脈中枢側を全て結紮した。末梢側より、18G留置針を挿入し、外筒のみとし、末梢側も結紮した。血液のBack flowを確認した後、ヘパリン2000単位を注入し、青色に着色したシリコンラバーに、固定用の触媒を添加し、約100～200mmHgの圧で注入した。シリコンラバー注入後心臓、肺、気管をen blockに摘出し、気管から左肺を10%ホルマリン液で2週間固定した。固定後、左主気管支吻合部を、縦切開し、肉眼的に観察するとともに、気管支吻合部のパラフィン切片を作成し、気管支壁、粘膜面へのシリコンラバーの流入状態を、肉眼および、顕微鏡下に観察した。その組織所見より、到達度を3群に分類し、評価した。

4.7日目に、左内胸動脈より造影剤を注入した有茎心膜脂肪組織を会する血流の状態と、下降胸部大動脈から気管支動脈を介して気管支吻合部に到達した血流の状態を軟線撮影装置(Softex)で撮影し、効果を検討した。

(結果)

- 1.気管支粘膜血流量：左右比平均値では、3日目、7日目ともに、D群で最も血流改善が著明で、以下C>B>Aの順になった。
- 2.電磁流量計によるLITA血流量：A群 $2.7 \pm 1.8$ ml/min, B群 $3.0 \pm 1.6$ ml/min, C群 $3.5 \pm 1.5$ ml/min, D群 $4.7 \pm 2.9$ ml/minと有意差は認めないが、D群で血流増加が高い傾向を認めた。
- 3,4.シリコンラバー到達度およびSoftexによる血流評価  
いずれからもD>C>B>Aの順で血管増生が認められた。とくにD群では、気管支粘膜面におよぶ著明な血管増生を認めた。

次に、最も血流改善の著しい、D群の投与方法で、bFGF濃度を予備的研究で効果のあった20ng/mlとし、PHを7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5と変化させ、至適PHを検討した。

その結果7.4で最も血流改善が著しく、次いで、7.3<7.5<7.2<7.1の順であった。

7.3~7.5はほとんど差はなく、至適PHは7.3~7.5と考えられた。

PHを7.3とし、bFGF濃度を、1ng/ml, 10ng/ml, 20ng/ml, 40ng/ml, 100ng/ml, 1 $\mu$ g/mlに変化させ、至適濃度を検討した。その結果40~100ng/mlで最も血流改善が著しかった。

平成7年度

ビーグル犬、雑種成犬における同種肺移植を行い平成6年度と同様の実験を行った。

その結果は、自家気管支再吻合モデルと同様の結果であった。

bFGF以外の、血管内皮細胞増殖性サイトカインを用いて同様の実験を行った。

その結果、Transforming growth factor  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), TGF- $\beta$ , Platelet delived endothelial cell growth factor(PD-ECGF)でも血流改善を認めた。

その改善度は、TGF- $\alpha$ >PD-ECGF>TGF- $\beta$ の順であったが、bFGFには血流改善はおよばなかった。

以上より、血管内皮細胞増殖性サイトカインの局所投与特に、bFGFとフィブリン糊の混合剤を局所投与することによる、気管支吻合部改善が明らかに認められ、臨床応用への可能性が開かれたと考えられる。