論　文　の　内　容　の　要　旨

論文題目「声帯内自家脂肪注入術における
多血小板血漿添加の効果に関する検討」

学位申請者　　岡田　信也

キーワード：声帯内自家脂肪注入術、PRP：Platelet-rich-plasma、反回神経麻痺、
声門閉鎖不全、音声改善手術

はじめに：人のコミュニケーションにおいて音声が担う役割は大きく、社会生活を送るうえで重要な要素の一つである。良好な音声の生成には、呼気、声門閉鎖、声帯振動が必要であるが、手術後の合併症になどによる反回神経麻痺は発声時の声門閉鎖不全をきたし、音声障害をきたす。声帯内注入術は、これら反回神経麻痺などの声門閉鎖不全に対する音声改善手術の一つである。声帯内注入術の歴史は長く、1911年Brunings によりパラフィン注入術が報告されたのがはじめである。侵襲も少なく、頸部外切開を要さず整容的に優れ、比較的に簡便な術式である。また声帯内注入術の歴史は注入物質の歴史といっても過言ではなく、これまでさまざまな注入物質が試みられてきたが、いずれの注入物質にも長所と短所があり、理想的な注入物質としての条件を満たすものは、いまだ確立されていないのが現状である。

声帯内自家脂肪注入術は、1991年Mikaelianが報告し、以後種々の報告が行われてきた。声帯内自家脂肪注入術の長所は、異物を使わないため異物反応や感染症がないという安全性であるが、短所は移植脂肪組織を入手するため頬粘膜や腹部から脂肪を採取する処置が必要なこと、また術後に移植脂肪組織が吸収されてしまうことにより手術効果が減弱する例があること、さらに注入後の移植脂肪の容量減少を予測することが困難な点があげられる。

そこで、注入後におこる移植脂肪組織の減量に伴う手術効果の減弱を防ぐことを目的として、脂肪組織をPRP （Platelet-rich-plasma）とともに注入する方法について動物実験を行い検討した。

方法：雌ビーグル成犬4頭を用いて反回神経麻痺モデル作成し実験を行った。全身麻酔下に前頸部を切開して両側反回神経を1cm切除結紮し、反回神経麻痺モデルを作成した。三カ月後、再度全身麻酔下に、血液から約1mlのPRPを調整し、前頸部皮下より脂肪組織を採取した。さらに喉頭展開し声帯が萎縮していることを確認し、一方の声帯には脂肪組織のみを、もう一方声帯にはPRP0.8mlとゼラチン細粒80mgを添加した脂肪組織をそれぞれ注入した。経過観察期間終了後の29日目、68日目、85日目、114日目に、1頭ずつ無痛的に死亡させ、喉頭を摘出した。摘出した喉頭を前額断し、その切開面から声帯のパラフィン切片を作成しHE染色およびPCNAを用いた免疫染色を行った。PRPを添加した脂肪組織の群と脂肪組織のみの群を比較し組織学的に検討した。

結果：全例において、注入後の脂肪組織内の炎症は軽微で、明らかな異物反応は認めなかった。声帯内に残存した移植脂肪組織の最大断端面積を計測した結果では、脂肪組織のみの群と比較しPRPを添加した脂肪組織の群で明らかな差は認められなかった。しかし、声帯内に残存した脂肪組織内の脂肪細胞の平均面積を計測比較した結果、脂肪組織のみの群と比較して、PRPを添加した脂肪組織群で、脂肪細胞の大きさが有意に大きい傾向が認められた（P＜0.01）。また、PCNAで免疫染色し脂肪細胞の活性を観察した結果、注入後29日目では、PRPを添加した脂肪組織で、核が褐色に発色したPCNA陽性細胞が10倍一視野に平均6個に認められたが、68日目、85日目、114日目では、脂肪組織のみの群のみならずPRPを添加した脂肪組織の群でも移植脂肪組織内に陽性細胞は認められなかった。
考察と展望：音声改善手術である声帯内注入術において、安全な注入材料である自家脂肪組織を用いた方法について検討した。脂肪組織を用いる方法の安全性は確保されているが、注入後におこる脂肪組織の吸収による注入効果の減弱は、解決されない問題といわれていた。そこで、注入術に用いる移植脂肪組織にPRPを添加することにより、脂肪細胞の増殖を促進させることが可能であれば、移植脂肪組織の残存率の改善につながると考えた。

PRPは遠心分離によって血小板が濃縮された血漿である。血液凝固反応の過程で血小板は活性化し、PDGF、TGF-β、VEGFやEGFなどの成長因子を多く含んだα顆粒を放出する。種々の成長因子を大量に含むPRPは骨新生や創傷治癒作用があり、口腔外科や整形外科、皮膚科などの多くの分野で利用されてきた。さらにPRPは自己血からの生成が可能で、抗原性がなく感染の危険性が少ないという大きな利点があることも広く使用される理由である。

PRPを添加した脂肪組織を用いて動物実験を行い、その組織学的な反応を観察した結果、移植脂肪組織に対する炎症反応は軽微であり、注入素材として十分に臨床応用可能であることが推察される結果であった。また、移植脂肪組織内の脂肪細胞の平均面積を計測し、PRPを添加した脂肪組織の群で脂肪細胞が有意に大きく、移植後におこる脂肪細胞の萎縮が抑制され、PRPの細胞増殖の促進、血管新生の作用により、脂肪細胞が増大したと考えられる結果を得た。また核内増殖抗原であるPCNA染色では、PCNA陽性を示した脂肪細胞が、注入29日目のPRPを添加した脂肪組織の例でのみ観察された。つまりPRPの効果により、注入早期の段階で脂肪細胞の増殖が促進され、萎縮せず細胞が増大したことが示唆された。さらに、68日以降は細胞内が落ち着き増殖作用も沈静化したと推察された。

今回の実験では、声帯内脂肪注入術において、移植脂肪組織にPRPを添加することによって、声帯内の残存移植脂肪組織の最大断端面積の差を確認することはできなかったが、残存脂肪組織内の脂肪細胞の増大を認め、注入術後の効果を安定させる可能性があることを示すことができた。今後は、PRP添加の方法を検討することによって、さらなる改善が期待できるものと考え、臨床応用に向けて努力したい。