



# Transplantation of the cryopreserved tracheal allograft in growing rabbits

田中, 裕史

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2004-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2965

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002965>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 115 】

氏 名・(本 籍) 田中 裕史 (鹿児島県)

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学 位 記 番 号 博い第1575号

学位授与の 要 件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の 日 付 平成16年3月31日

【 学位論文題目 】

Transplantation of the Cryopreserved Tracheal Allograft  
in Growing Rabbits  
(幼若野兎における凍結保存気管移植の検討)

審 査 委 員

主 査 教 授 黒田 嘉和

教 授 前田 盛

教 授 尾原 秀史

背景：新生児先天性気管狭窄症に対する外科的治療は困難で、種々の術式が開発され、成績が報告されているが、気管分岐部を含む広範な病変に対する成績はいずれも不良である。化学処理された気管の同種移植に関する報告が小児例でなされているが、長期成績は不良である。これは化学処理された気管は抗原性が欠如するものの、細胞の viability はなく、移植された気管が成長しないことに起因すると思われる。動物実験で成熟した個体における凍結保存気管移植に関する報告がなされており、免疫抑制剤を使用せず、良好な成績が報告されている。しかしながら凍結保存気管グラフトの成長に関する実験的検討はなされておらず、我々は幼若野兎を使って、実験的検討を行った。

方法：日齢 90 日から 120 日、体重 750g から 900g の幼若日本野兎をケタミン筋中麻酔下に、心拍動下に頸部気管を採取し、培養液に浸軟後、プログラムフリーザーを用いて -80 度まで凍結し、液体窒素内に 1 週間保存した。グラフトの viability を最も良い状態にするために心拍動下にグラフトを採取した。同年齢の幼若野兎に同所性に 7 リングの頸部気管を端々吻合した (n=7)。術後 1 週間後、1 ヶ月後、及び 3 ヶ月後に動物を犠牲死させグラフトを評価した。術式の正当性の評価のために、コントロール群として、自己気管を切除し、直ちに移植する新鮮自家移植 (autograft) 群 (n=4) を設定した。また無処置群 (n=2) を設定した。グラフトの評価は移植時と個体死の際のグラフト径、グラフト長の測定を行い、組織学的評価としては HE 染色と、apoptosis の評価として TUNEL 染色、石灰化の評価として von-Kossa 染色を行った。

結果：凍結保存気管移植群のうち 2 羽が術後一週間に肺炎で死亡した。新鮮自家移植群は 2 羽を術後 1 ヶ月目に、2 羽を 3 ヶ月目に犠牲死させた。無処置群の 2 羽は 0 日目と 90 日目に気管径と気管長を測定した。術前の気管径、気管長はそれぞれ allograft 群  $4.74 \pm 0.14\text{mm}$ 、 $10.37 \pm 0.31\text{mm}$ 、autograft 群  $4.70 \pm 0.07\text{mm}$ 、 $10.55 \pm 0.38\text{mm}$ 、無処置群  $4.55 \pm 0.05\text{mm}$ 、 $10.20 \pm 0.20\text{mm}$  であった。全てのグラフトの内腔は良好に保たれており、凍結保存グラフトは色調が蒼白であった。グラフト径、グラフト長は autograft 群は無処置群とほぼ同等の成長を示したが、allograft 群はグラフト径、グラフト長ともまったく成長しなかった。組織学的には autograft は気管上皮、気管軟骨とも正常に保たれており、炎症所見も認めなかった。Allograft は術後 1 ヶ月、3 ヶ月では上皮は保たれていたが、上皮下に著明なリンパ球の浸潤と認め、気管軟骨は石灰化を来たしていた。術後 1 週間目に採取した allograft は気管軟骨の石灰化、上皮下のリンパ球浸潤は認めなかったが、気管軟骨細胞の apoptosis を認めた。また術後 3 ヶ月目の allograft は軟骨新生を示した。体重の増加はいずれも無処置群と同等の結果を示した。

考察：心膜気管形成術、肋軟骨気管形成術、slidetracheoplasty 等、先天性気管狭窄症に対する種々の術式が考案されているが、これらの術式はいずれも複雑で、また気管分岐部を

含む病変に対する適応は困難である。化学処理された気管の同種移植の報告があるが、細胞の viability がなく、気管の成長が見込めないため、新生児への応用は困難である。

成熟個体への免疫抑制剤を使用しない凍結保存気管移植の実験的検討がなされており、良好な成績が報告されている。これらによると、術後 12 ヶ月の段階で内腔は良好に保たれ、上皮もほぼ正常で、気管軟骨の著明な石灰化は認めないとされている。我々の実験では幼若野兎において、個体は成長するも、グラフトの成長は認めなかった。軟骨新生は認めるが、グラフトが成長しない理由としては、気管軟骨に石灰化が起きていることが原因の一つとして考えられる。気管軟骨のものにはリンパ球浸潤は認めないため、気管軟骨自体の拒絶反応ではないと思われる。凍結保存気管グラフトに microangiogram を行った報告例があり、これによると、移植されたグラフトは術後 1 週間目までに transverse intercartilaginous artery が一旦再開通し、その後慢性拒絶により閉塞するという結果であった。凍結保存同種移植グラフトはこれまでの報告から急性拒絶は免れるという考え方が一般的である。気管軟骨の酸素化には、気管内腔からの  $O_2$  の diffusion と transverse intercartilaginous artery からの血流によるものがある。この 2 通りの酸素化のルートにより気管グラフトの壊死は免れるも、相対的な虚血となり、apoptosis が発生し、dystrophic calcification が生じると考えられる。

幼若野兎における免疫抑制剤を使用しない凍結保存気管移植は内腔は良好に保たれたが成長はしなかった。臨床応用を行うには石灰化の問題を解決する必要がある。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第 1587 号	氏 名	田中 裕史
論文題目	Transplantation of the Cryopreserved Tracheal Allograft in Growing Rabbits 幼若野兎における凍結保存気管移植の検討		
審査委員	主 査 黒田 嘉和 副 査 前田 登 副 査 尾原 秀史		
審査終了日	平成 16 年 2 月 24 日		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

## 論文審査の結果の要旨

本研究は小児広範囲先天性気管狭窄症にたいする、凍結保存気管移植の臨床応用を目的として、幼若野兎における凍結保存気管移植の検討につき述べたものである。

幼若野兎において、本実験下では凍結保存気管グラフトは成長せず、グラフト移植部分は個体の成長に伴い、相対的な狭窄に陥ることが示唆された。組織学的には気管に軟骨新生をみとめるものの、石灰化を伴っており、これにより気管径の成長が妨げられている可能性が示唆された。今後グラフトが成長しない理由を解明し、術式の工夫等が加われば、臨床応用される可能性もあると思われた。

本研究は凍結保存気管移植について、そのグラフトの成長の可能性を研究したものであるが、従来殆ど行われなかった凍結保存同種グラフトの成長の可能性について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。