

# トランスフォ-ミング増殖因子- $\beta$ の気管・気管支吻合部における創傷治癒促進効果に関する実験的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/9315">http://hdl.handle.net/2297/9315</a>

## トランスフォーミング増殖因子- $\beta$ の気管・気管支吻合部における創傷治癒促進効果に関する実験的研究

金沢大学医学部医学科外科学第一講座 (主任：渡辺洋宇教授)

矢 崎 潮

肺癌に対する気管・気管支形成術において、気管分岐部切除をとまなう気道再建術など一部の術式では、吻合部虚血による縫合不全の発生率はいまだに高い。また肺移植においても気道吻合部の合併症発生頻度は比較的高く、肺移植後早期の重篤合併症のひとつである。気管・気管支吻合部におけるトランスフォーミング増殖因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 局所投与の創傷治癒促進効果を、吻合部の抗張力、組織学的所見、および血流回復の観点から検討した。気管吻合7日後の縫合部幅1 cm当たりの平均抗張力は、TGF- $\beta$  (2  $\mu$ g) 局所投与部では非投与部の約1.8倍であり、有意 ( $p < 0.05$ ) に高値であった。組織学的にはTGF- $\beta$  局所投与部では気管吻合線はほぼ完全に線毛気管上皮にて覆われていたが、非投与部の吻合線前後には線毛上皮は認められなかった。また、TGF- $\beta$  局所投与部では非投与部と比較して有意 ( $p < 0.05$ ) に吻合部近傍の微小血管数が増加していた。左主気管支吻合部における気管粘膜血流量を経気管支鏡的にレーザードップラー法にて測定したところ、対照群では気管粘膜血流量が術前値の50%までに回復するのに1~2週間を要し、術後21日目でも術前値を回復しなかった。一方、TGF- $\beta$  局所投与群では、吻合部気管粘膜血流量は術後4日目から対照群と比較して有意 ( $p < 0.05$ ) 高値で、術後7日から14日までの間に術前と同値にまで回復した。以上の実験結果から、気管・気管支吻合部におけるTGF- $\beta$  の局所投与は、血管新生を促し、創傷治癒促進効果があることが証明された。

**Key words** transforming growth factor - $\beta$ , airway anastomosis, angiogenesis, wound healing, tensile strength

肺癌に対する気管・気管支形成術は、近年呼吸器外科領域において定型術式となりつつあるが<sup>1)~3)</sup>、気管分岐部切除をとまなう気道再建術など一部の術式では、吻合部虚血による縫合不全の発生率はいまだ高いのが現状である<sup>4)5)</sup>。また不可逆の重症肺疾患の治療法として肺移植が海外において広く施行されるようになったが、肺移植においても気管・気管支吻合部の合併症の発生頻度は比較的高く<sup>6)7)</sup>、肺移植後虚血再灌流障害、早期拒絶反応と共に、肺移植後早期の重篤合併症のひとつである。通常気管・気管支形成術や肺移植後の気管支吻合部の血流回復は約14日とされているが<sup>8)~10)</sup>、有茎大網による吻合部被覆は早期に気管支血流を再開させ、創傷治癒を促進し、気管支吻合部の血流回復を4日以内に短縮するとして、広く用いられるようになった<sup>11)~14)</sup>。

一方、生命科学の発展により、種々の細胞増殖因子が血管新生や線維芽細胞増殖を促すことが判明し、創傷部への血小板由来増殖因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)<sup>15)16)</sup>、線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor, FGF)<sup>17)18)</sup>、トランスフォーミング増殖因子- $\beta$  (transforming growth factor - $\beta$ , TGF- $\beta$ )<sup>19)~22)</sup>などの局所投与が、創傷治癒促進につながる事が報告されてきた。大網被覆による血流改善の主因としても大網マ

クロファージが主体であると考えられ<sup>23)</sup>、また大網マクロファージから放出される増殖因子の存在も指摘されている<sup>24)</sup>。

本研究では気管・気管支形成術や肺移植時の気管支吻合部の血流を早期に再開し、縫合不全等の合併症を減少させる目的で、TGF- $\beta$ の気管支吻合部への局所投与の効果を検討した。

### 対象および方法

#### 1. 実験動物および麻酔

雑種成熟イヌ21頭 (体重12.0  $\pm$  2.0 kg) を使用した。塩酸ケタミン (三共エール, 東京) 10 mg/kg および硫酸アトロピン (田辺, 大阪) 0.02 mg/kg の筋肉内注射により麻酔導入した。肘静脈に点滴路を確保後、気管内挿管し、臭化パンクロニウム (オルガノン-三共, 東京) 0.1 mg/kg を静注し非動化したのち人工呼吸器に接続した。人工呼吸器はHarvard型人工呼吸器 (シナノ, 東京) を使用し、換気回数を20~25/分、一回換気量を15 ml/kg に設定した。維持麻酔として塩酸ケタミン2 mg/kg を静注し、麻酔中は臭化パンクロニウムを適宜静注し、非動化の状態で行った。なお、気道再建時にはHFO ジェットベンチレーター (泉工医科工業, 東京) による高頻度ジェット換気法 (駆動圧1.5 kg/cm<sup>2</sup>, 駆動回数6 Hz) を併用すること

平成10年6月10日受付, 平成10年7月2日受理

Abbreviations: FGF, fibroblast growth factor; PDGF, platelet-derived growth factor; TGF- $\beta$ , transforming growth factor- $\beta$

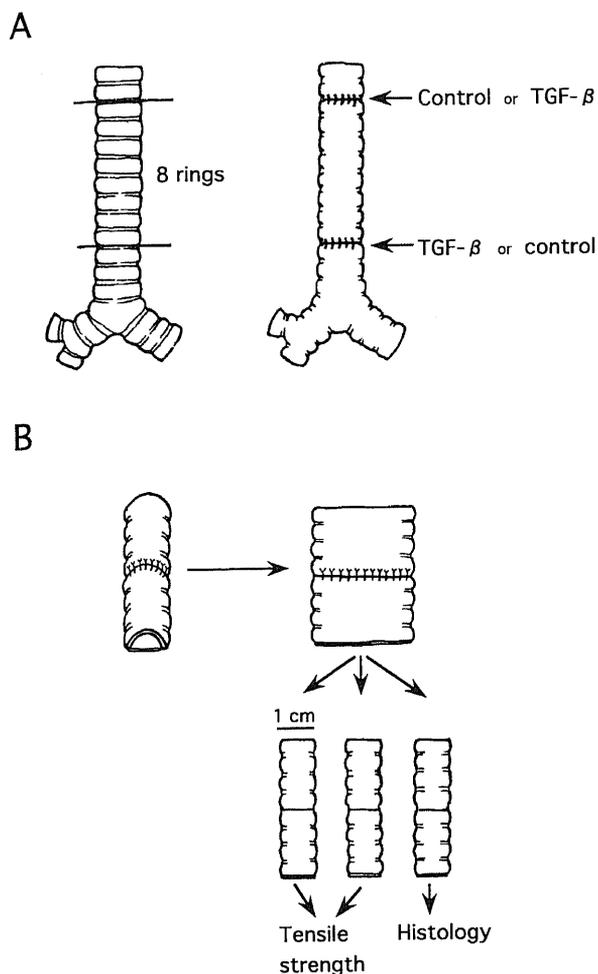


Fig. 1. Schematic drawing of the experiment on the dog trachea. (A) TGF- $\beta$  ( $2 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$ ) or PBS ( $0.5 \text{ ml}$ ) alone was applied to each anastomotic site. (B) Tracheal strips containing the anastomotic sites were prepared at 7 days after operation for measurement of the tensile strength and for histologic analysis.

により、気道再建を容易に行うことができた<sup>25)26)</sup>。術後は自発呼吸が回復するまで人工呼吸器で管理し、呼吸状態に問題がないと判断した時点で気管チューブを抜管した。術中および第一病日にセフェム系抗生剤を点滴静注した。

## II. 気管吻合における抗張力の測定と組織学的検討

### 1. 実験系の作成

実験動物 (6頭) を仰臥位とし、頸部を伸展させ固定した。頸部正中切開後、頸部気管全長を露出し、8軟骨輪の間隔をおき2カ所で気管を管状に切離した。その後4-0モノフィラメント・ポリグリコネート縫合糸 (マクソン®, 日本レダグリー, 東京) で膜様部は全層連続縫合, 軟骨部は全層結節縫合にて気管再建を行った (図1-A)。一方の吻合部には $2 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$ のTGF- $\beta$  (キリンビール株式会社, 東京) をコラーゲンシート (インスタット®, ジョンソン・エンド・ジョンソン, 東京) に浸透させ局所投与した。他方の吻合部には燐酸緩衝液 (phosphate buffered saline)  $0.5 \text{ ml}$  を同様に局所投与し、対照群とした。TGF- $\beta$  の局所投与は口側の気管吻合部への投与と肺側の気管吻合部への投与を3頭づつに行った。手術後第7病日に塩酸ケタミン  $10 \text{ mg}/\text{kg}$  の筋肉内注射及びチオペンタールナトリウム (田辺, 東京)  $300 \text{ mg}/\text{頭}$  の静脈内注射にて犠牲死せしめ、気管

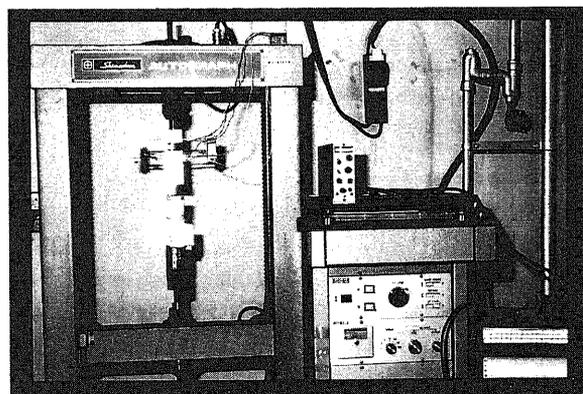


Fig. 2. Photograph of the tension tester.

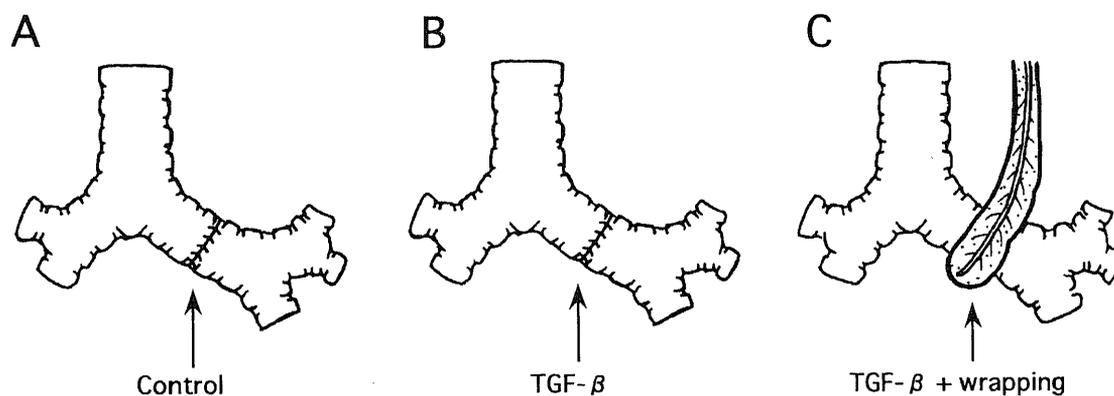


Fig. 3. Schematic drawing of the experiment on the dog left bronchus. (A) PBS ( $0.5 \text{ ml}$ ) alone was applied to the anastomotic site. (B) TGF- $\beta$  ( $2 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$ ) was applied. (C) TGF- $\beta$  ( $2 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$ ) was applied and the anastomotic site was wrapped with internal mammary artery pedicle and parietal pleura.

を吻合部を含めて摘出した。

## 2. 気管吻合部抗張力の測定

摘出気管の吻合部縫合糸を抜去後、気管を吻合部を中心に中樞側、末梢側を含めて吻合線に垂直に幅1cmの長方形に切断した(図1-B)。同実験動物では幅1cmの長方形気管片は3片作成可能であり、2片で抗張力を測定し、残りの1片で組織学的検

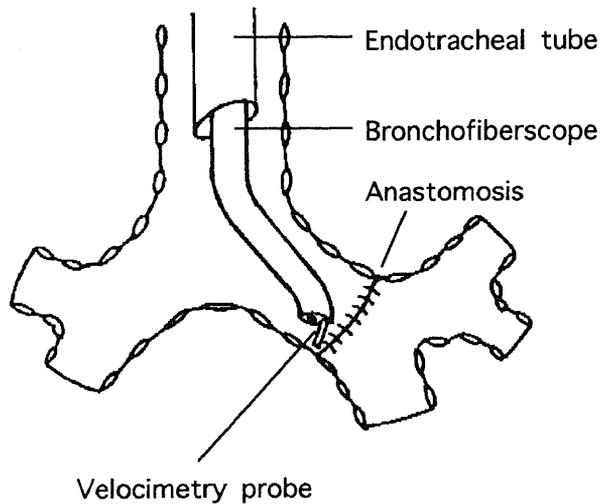


Fig. 4. Schematic drawing of the measurement of tracheal mucosal blood flow at the anastomotic site by laser doppler velocimetry.

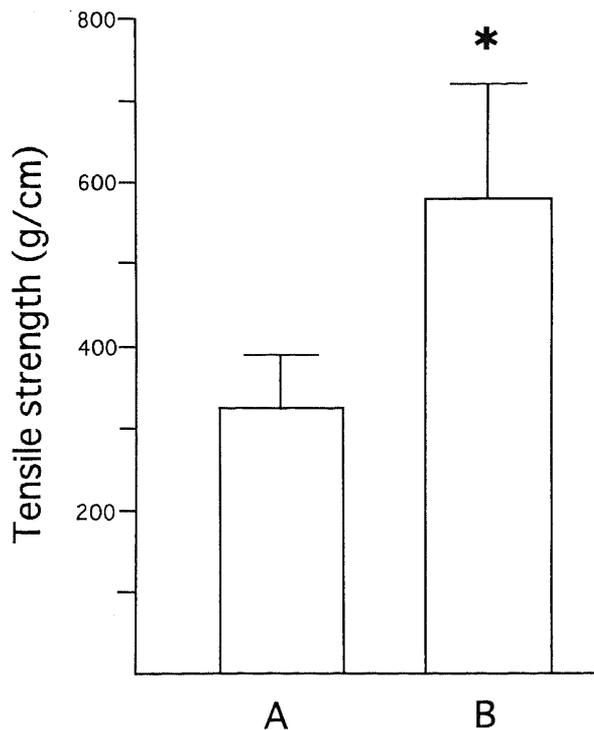


Fig. 5. Tensile strength of the tracheal strips containing anastomotic sites 7 days after operation. (A) Control. (B) TGF- $\beta$  ( $2 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$ ) was applied to the anastomotic site. \*  $p < 0.05$  vs control.

討を行った。

抗張力の測定には、金沢大学工学部機械システム工学科生産システム講座で作成した張力測定器を使用した。なお、牽引速度は0.5 cm/分とした<sup>9)10)</sup>(図2)。

## 3. 吻合部の組織学的検討

気管吻合例12検体の吻合部を含む気管の10%中性緩衝ホルマリン固定標本を作成した。これらのパラフィン切片に対してHE染色を施行し上皮の再生状態を観察した。また気管上皮組織において、 $1 \text{ mm}^2$ のマイクロメーターを使用し、吻合部の口側および肺側それぞれ5視野ずつ、計10視野( $10 \text{ mm}^2$ )中の微小血管数を検討した。

## Ⅲ. 気管支吻合における血管新生促進効果の検討

### 1. 実験系の作成

実験動物(15頭)を右側臥位とし、左第5肋間にて開胸、気管分岐部より左上葉支分岐部までの周囲組織を剥離し、左主気管支を露出した。気管分岐部より第2軟骨と第3軟骨との間にて

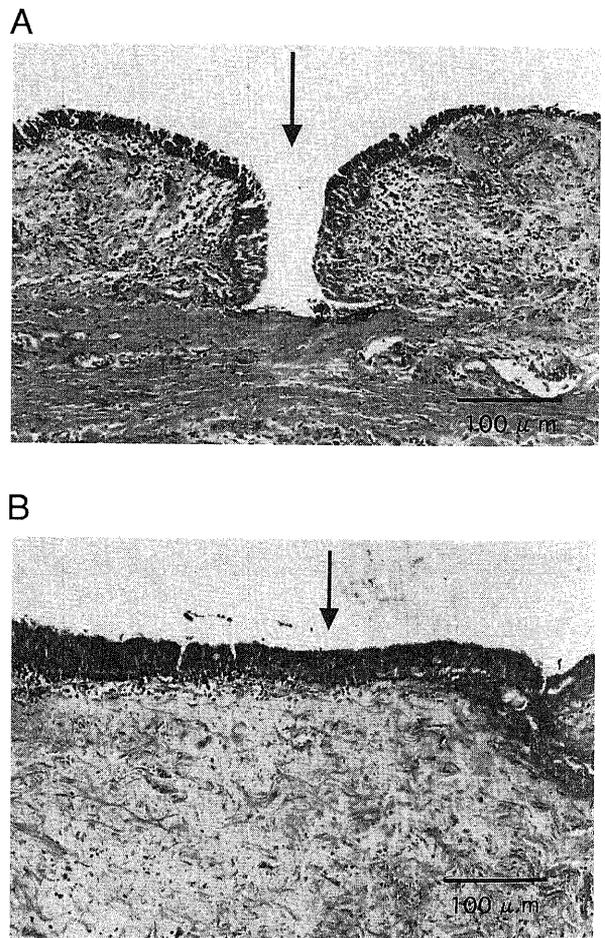


Fig. 6. Regeneration of the epithelium at the anastomotic site of the trachea treated without (A) or with (B) TGF- $\beta$ . (A) Multi-layered regenerating epithelium covers the anastomotic site incompletely (arrow), but ciliated epithelium is not observed. (B) Multi-layered ciliated epithelium completely covers the mucosa of the anastomotic site (arrow). Bars in (A) and (B),  $100 \mu\text{m}$ .

左主気管支を横切し、その後4-0モノフィラメント・ポリグリコネート縫合糸で連続縫合した。

実験群は以下の3群(各5頭)に分け検討した(図3)。

A群(対照群): 気管支吻合のみを施行し、その他の処置は行わなかった。B群(TGF- $\beta$ 群):  $2\mu\text{g}/0.5\text{ml}$ のTGF- $\beta$ をコラーゲンシートに浸透させ左気管支吻合部に局所投与した。C群(内胸動脈周囲組織+TGF- $\beta$ 群): 壁側胸膜を含めた内胸動脈周囲組織を有茎に剥離した。B群と同様に $2\mu\text{g}/0.5\text{ml}$ のTGF- $\beta$ をコラーゲンシートに浸透させ左気管支吻合部に局所投与した後、内胸動脈周囲組織にて吻合部を被覆した。

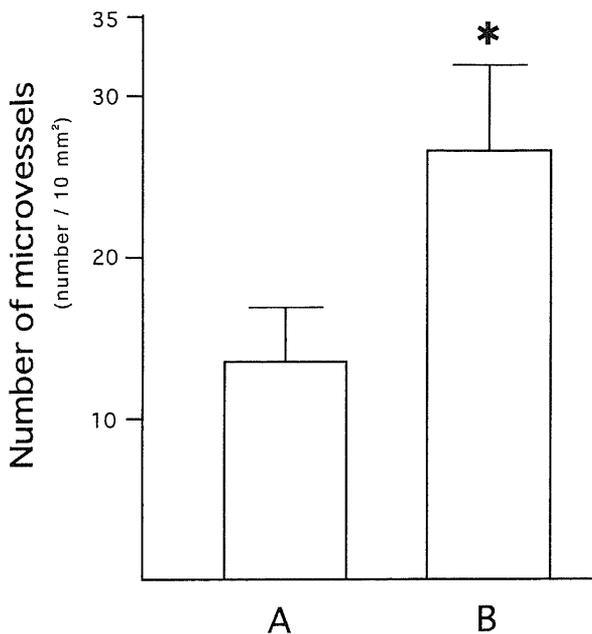


Fig. 7. Number of mucosal microvessels at the anastomotic site of trachea 7 days after operation.

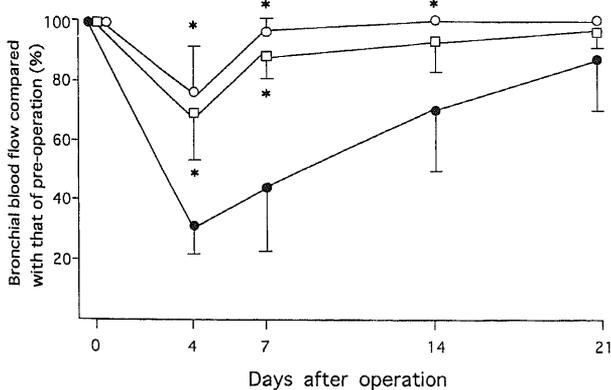


Fig. 8. Changes of the bronchial mucosal blood flow after bronchial anastomosis. The values are measured by laser doppler velocimetry and expressed by relative levels compared with the preoperative blood flow. ●, control. ○, TGF- $\beta$  ( $2\mu\text{g}/0.5\text{ml}$ ) was applied. □, TGF- $\beta$  ( $2\mu\text{g}/0.5\text{ml}$ ) was applied and the anastomotic site was wrapped with internal mammary artery pedicle and parietal pleura. \*  $p < 0.05$  vs control at each time.

## 2. 吻合部気管支血流の測定

気管支粘膜血流測定にはレーザードップラー血流計ALF21型(アドバンス社, 東京)を使用した<sup>27)28)</sup>。術前および術後4, 7, 14, 28日に塩酸ケタミン $10\text{mg}/\text{kg}$ および流酸アトロピン $0.02\text{mg}/\text{kg}$ の筋肉内注射による麻酔後, 気管内挿管し, 自発呼吸下にて気管支ファイバースコープ2T20型(オリンパス, 東京)のチャンネルより血流測定用プローベ(アドバンス社)を挿入, 気管支吻合部膜様部側に軽く押しあて, 気管支血流を測定した(図4)。各実験で3回測定し, その平均値を実測値とした。各実験犬にて術前値が異なっているため, 術前の値を100%とした相対値にて検討した。

## IV. 統計学的検討

測定結果は平均値±標準偏差( $\bar{X} \pm \text{SD}$ )で表記した。2群間の平均値の検定にはMann-WhitneyのU検定を, 3群以上の平均値の検定には2元配置分散分析後, Sheffeの多重比較を用いた。危険率5%未満をもって有意差ありとした。

## 成績

### I. 気管吻合部における抗張力および組織学的所見

#### 1. 吻合部の抗張力

気管吻合部の術後7日後の抗張力( $\text{g}/\text{cm}$ )はTGF- $\beta$ 非投与部では $321 \pm 75$ , 投与部では約1.8倍の $580 \pm 130$ であり, TGF- $\beta$ 投与部では有意( $p < 0.05$ )に抗張力は高値であった(図5)。

#### 2. 吻合部の組織学的所見

TGF- $\beta$ 局所非投与部の吻合線の口側, 末梢側には線毛上皮は認められなかった(図6-A)が, 投与部では気管吻合部はほぼ完全に線毛気管上皮にて覆われていた(図6-B)。気管吻合部近傍の気管上皮下 $10\text{mm}^2$ 中の微小血管数はTGF- $\beta$ 非投与部では $12.8 \pm 4.4$ , 投与部では約2.0倍の $26.2 \pm 5.9$ であり, TGF- $\beta$ 投与部では有意( $p < 0.05$ )に血管数が増加していた(図7)。

### II. 気管支吻合部血流回復の検討(図8)

対照群(単純吻合群)での吻合部気管支粘膜血流量は術前値の50%まで回復するのに1~2週間を要し, 術後21日目でも術前値まで回復しなかった。一方, TGF- $\beta$ 投与群での吻合部気管支粘膜血流量は, 術後早期より対照群と比較して有意( $p < 0.05$ )に大きく回復し, 術後7日から14日までの間に術前値と同じにまで回復した。TGF- $\beta$ を吻合部に局所投与し, かつ内胸動脈周囲組織で被覆した群での吻合部気管支粘膜血流量は, 同様に術後早期より対照群と比較して有意( $p < 0.05$ )に大きく回復した。しかし, TGF- $\beta$ 投与のみと比較して有意差はなく, 内胸動脈周囲組織による吻合部被覆の血流回復への付加的効果は認められなかった。

## 考 察

今回の動物実験において, 気管・気管支吻合部におけるTGF- $\beta$ の著明な創傷治癒促進効果が証明され, その臨床応用への可能性が開かれたと考えられる。

肺移植などでは気管支吻合部の血流不足, 虚血が吻合部離開, 壊死, 気道狭窄等の気道合併症の原因とされている<sup>9)7)</sup>。単純気管支吻合では, 吻合部への気管支動脈血流の再開には約14日が必要とされており<sup>9)~10)</sup>。従ってそれ以前の十分な吻合部血流再開は気管支吻合部創傷治癒を促進させ, 気道合併症を防止する上で大きな意義がある。本実験においては, TGF- $\beta$ 局所投与部では吻合4日目でも十分な気管支上皮血流改善が認めら

れたことから、TGF- $\beta$ 局所投与は極めて有効であると考えられた。

早期気管支血流再開に最も有効とされてきたのは、有茎大網被覆法であり<sup>11)~14)</sup>、肺移植でも広く用いられ、気道合併症は減少した。大網には豊富な血管が存在するが、マクロファージやリンパ球も多数存在し<sup>23)</sup>、これらの細胞で作られる血管新生因子 (angiogenic factors) が豊富に含まれており<sup>24)</sup>、大網の強力な血管新生作用に関わっていると考えられている。しかし、有茎大網被覆は開腹手術の必要があり、腸閉塞や腹膜炎などの合併症を起こす可能性もあり、全ての気管・気管支吻合の際に予防的に行うには問題がある。他の気管支吻合部の被覆材として、有茎胸膜、心膜<sup>29)</sup>、傍気管脂肪組織<sup>30)</sup>、肋間筋<sup>31)32)</sup>、内胸動脈茎 (internal mammary artery pedicle)<sup>33)</sup>などによる気管支吻合部血流促進方法が試みられているが、その効果は不十分である。Ishihara ら<sup>34)</sup>はイスでの気管支形成術モデルにおいて、壁側胸膜の吻合部被覆では気管支血流は増加しなかったと報告している。本実験でも内胸動脈周囲組織による吻合部被覆にはTGF- $\beta$ に付加する有効性は認められなかった。

創傷治癒に関与すると考えられている細胞増殖因子にはPDGF, FGF, TGF- $\beta$ などさまざまなものがある。これらは血液凝固や炎症細胞の遊走に始まり、線維芽細胞の増殖や細胞外マトリックスの合成、血管新生およびそれらの再構築に至るまでの創傷治癒の諸現象を、直接的または間接的に制御している。また、一つの増殖因子は複数の種類の細胞で産生され、複数の種類の細胞に作用するとともに、他の増殖因子の作用にも影響を及ぼすなど、複雑なネットワークを形成している<sup>35)36)</sup>。これら増殖因子はその血管新生作用のしくみにより大別して2つに分類される<sup>37)</sup>。一つは、内皮細胞に直接的に作用してその遊走や増殖などを促し、血管新生を促進する物質であり、PDGF, FGFなどが含まれる。他の一つは内皮細胞には直接作用しないか、もしくはむしろ増殖抑制的に働くが、マクロファージなどの別の細胞に作用して血管内皮細胞の増殖、遊走因子を放出させることによって、間接的に血管新生を促進する物質で、TGF- $\beta$ がこのカテゴリーに属する。

TGF- $\beta$ はもともと非腫瘍細胞の形質転換因子として発見されたが、現在では細胞増殖のみでなく、個体発生、免疫、炎症などさまざまな現象に関与していることが判明している<sup>38)</sup>。TGF- $\beta$ は現在ヒトではTGF- $\beta$  1~3の3種類が見出されている。このうち、TGF- $\beta$  1は分子量が約25000のポリペプチドで、PDGFと同様、凝固に伴って血小板の $\alpha$ 顆粒より放出される。その他、線維芽細胞、Tリンパ球、マクロファージ、内皮細胞からも産生される。創傷治癒に関連して重要な現象は、血管新生と線維形成である。Ogawa ら<sup>39)</sup>は線維形成すなわち細胞外マトリックスの増加に関して、TGF- $\beta$ はコラーゲンやフィブロネクチン、プロテオグリカンなどの合成を促進するばかりでなく、マトリックス分解酵素の合成を抑制する一方、これら分解酵素のインヒビター活性を高めていると報告している。また、培養条件ではTGF- $\beta$ は血管内皮細胞の増殖を抑制するが、生体内に投与されると血管新生を促す。これは、TGF- $\beta$ の刺激によって局所に遊走してきた単球、マクロファージから、血管新生作用のあるFGFなどが放出されるためと考えられている<sup>39)</sup>。しかし、Yang ら<sup>40)</sup>はマクロファージなどの遊走が認められていないTGF- $\beta$ 投与直後からも血管新生反応が認められることから、TGF- $\beta$ 自体が内皮細胞を遊走、増殖させている

可能性があることを報告している。本実験でも気管支吻合4日目でも著明な気管支粘膜血流増加が認められ、TGF- $\beta$ 自体による血管新生作用も存在すると考えられる。

これら増殖因子の持つ細胞増殖促進作用や細胞外マトリックス合成促進作用を臨床に応用する研究も盛んに行われている。Pierce ら<sup>16)</sup>はウサギの耳での創傷モデルにおいて、PDGF局所投与群では好中球、マクロファージ、線維芽細胞などの損傷部への浸入、線維芽細胞などの増殖が早期より起こり、7日後には肉芽組織の量はPDGFを投与していない創傷の2倍にもなり、速やかに損傷の修復がみられることを示した。またMustoe ら<sup>21)</sup>はラット背部の切開創モデルにて、TGF- $\beta$ を局所投与した5日後の切開創の抗張力は非投与群の約2.2倍であり、この創傷治癒促進効果は切開後3日から14日ごろまで認められたと報告している。

細胞増殖因子の胸部外科領域、特に気管・気管支吻合への応用も試みられるようになった。Olech ら<sup>41)</sup>トロント肺移植グループはウサギで気管自己移植片を大網内に移植し、濃度40 ng/ml、総投与量10 ngのbFGFを局所投与し、7日後の血流改善を検討したが、血管新生効果は認められなかったと報告した。しかし、同グループは400 ngのbFGFを微量投与装置を用い、持続投与すると、血管新生促進効果が認められたと報告している<sup>42)</sup>。Schraufnagel ら<sup>43)</sup>はラット気管吻合モデルにおいて、走査電子顕微鏡を用い検討したところ、TGF- $\alpha$ 投与群では吻合早期より、著明な血管新生が認められたと報告している。小山 ら<sup>44)</sup>はイスを用いた左主気管支吻合モデルにおいて有茎心膜脂肪組織により吻合部を被覆し、bFGF (濃度20 ng/ml、総投与量100 ng)を局所投与したところ、著明な血管新生が認められたと報告している。

創傷治癒促進効果のための細胞増殖因子局所投与においては投与方法も重要な問題である。前述のトロントグループのウサギ気管自己移植片でのbFGFの実験では、単独投与では血管新生効果はみられていないが<sup>41)</sup>、持続投与により新生血管促進効果が認められている<sup>42)</sup>。Mustoe ら<sup>21)</sup>はTGF- $\beta$ の塗布だけで創傷治癒促進効果はみられなかったが、徐放効果を期待しTGF- $\beta$ をコラーゲン粒子に吸着させ、創部に局所投与することににより創傷治癒促進効果を認めたと報告している。Stompro ら<sup>45)</sup>はコラーゲンスポンジに結合させて局所投与し、小山 ら<sup>44)</sup>はフィブリン糊にbFGFを混和し、その徐放効果を利用している。また細胞増殖因子をリポソーム化する工夫もなされている<sup>46)</sup>。本実験ではMustoe ら<sup>21)</sup>の方法を参考にし、コラーゲンシートにTGF- $\beta$ を吸着させ気管支吻合部に局所投与した。これらの実験結果より、実際の臨床応用に際しては気管・気管支吻合部への持続投与は困難であることから、コラーゲンシートに吸着させ、またはフィブリン糊に混和し、吻合部へ局所投与する必要があると考える。

細胞増殖因子の創傷治癒促進効果は今日種々の分野で明かになりつつあるが、その臨床応用には解決すべき問題点もある。一つは過剰修復 (overhealing) による障害である。気管・気管支吻合部の過剰修復による吻合部肉芽狭窄発生が起りうることは否定はできないが、本実験では吻合部の肉芽狭窄は認められなかった。またTGF- $\beta$ は肺線維症では線維芽細胞を遊走させ、増殖させて線維化を誘導すると考えられている<sup>47)</sup>。もう一つは腫瘍 (癌) とTGF- $\beta$ との関係である。Sieweke ら<sup>48)</sup>はTGF- $\beta$ による腫瘍発生を報告している。またTGF- $\beta$ は試験管内で

は癌細胞増殖を抑制するが、生体内では癌細胞からつくられたTGF- $\beta$ によるマクロファージ、線維芽細胞の増殖により、腫瘍血管増生、腫瘍進行につながる可能性もある<sup>49)</sup>。細胞増殖因子の臨床応用には上記の点についても十分な検討が必要である。

## 結 論

気管・気管支吻合におけるTGF- $\beta$ 局所投与の創傷治癒促進効果を吻合部の抗張力、組織学的所見、および血流回復の観点から検討し、以下の結果を得た。

1. 気管吻合7日後の吻合部の幅1cm当たりの平均抗張力は、TGF- $\beta$  (2  $\mu$ g) 局所投与部では580  $\pm$  130 g/cm、非投与部では321  $\pm$  75 g/cmであり、TGF- $\beta$ 投与部では有意 ( $p < 0.05$ ) に抗張力は高値であった。

2. 気管吻合7日後、TGF- $\beta$ 局所投与部では気管吻合線はほぼ完全に線毛気管上皮にて覆われていたが、非投与部の吻合部前後には線毛上皮は認められなかった。また、TGF- $\beta$ 局所投与部では非投与部と比較して有意に ( $p < 0.05$ ) 吻合部近傍の微小血管が増加していた。

3. 左主気管支吻合部における気管支粘膜血流は術前値と比較すると、術後4日目31.6%、7日目44.6%、14日目71.0%、21日目89.2%であり、術前値の50%までに回復するのに1~2週間を要した。TGF- $\beta$ 投与群では吻合部気管支粘膜血流は術後4日目78.0%、7日目96.8%、14日目100%、21日目100%であり、術後早期より気管支粘膜血流は対照群と比較して有意 ( $p < 0.05$ ) に大きく回復し、術後7日から14日の間に術前値と同じにまで回復した。内胸動脈周囲組織によるTGF- $\beta$ に付加する吻合部被覆の血流促進効果は認められなかった。

以上の結果から、気管・気管支吻合部においてTGF- $\beta$ の局所投与は血管新生を促し、創傷治癒促進効果があることが証明された。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、終始ご懇篤なる御指導、御校閲を賜りました渡辺洋宇教授に深甚なる謝意を捧げます。また、抗張力測定に関して御協力下さいました本学工学部杉田忠彰教授、西 誠助手、山田啓司助手に深甚なる謝意を表わします。併せて本研究にご協力いただきました外科学第一講座各位に深く感謝いたします。

本論文の要旨は第95回日本外科学会総会 (1995年、名古屋) にて発表された。

## 文 献

- 1) Watanabe Y, Shimizu J, Oda M, Hayashi Y, Watanabe S, Yazaki U, Iwa T. Results in 104 patients undergoing bronchoplastic procedures for bronchial lesions. *Ann Thorac Surg* 50: 607-614, 1990
- 2) Faber LP, Jensik RJ, Kittle CF. Results of sleeve lobectomy for bronchogenic carcinoma in 101 patients. *Ann Thorac Surg* 37: 279-285, 1984
- 3) Deslauriers J, Gaulin P, Beaulieu M, Piroux M, Bernier R, Cormier Y. Long-term clinical and functional results of sleeve lobectomy for primary lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 92: 871-879, 1986
- 4) Jensik RJ, Faber LP, Kittle CF, Miley RW, Thatcher WC, El-Baz N. Survival in patients undergoing tracheal sleeve

pneumonectomy for bronchogenic carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 84: 489-496, 1982

- 5) Tedder M, Anstadt MP, Tedder SD, Lowe JE. Current morbidity, mortality, and survival after bronchoplastic procedures for malignancy. *Ann Thorac Surg* 54: 387-391, 1992
- 6) Patterson GA, Todd TR, Cooper JD, Pearson FG, Winton TL, Maurer J. Airway complications after double lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 99: 14-21, 1990
- 7) Patterson GA, Cooper JD. Status of lung transplantation. *Surg Clin North Am* 68: 545-558, 1988
- 8) Siegelman SS, Hagstrom JWC, Koerner SK, Veith FJ. Restoration of bronchial artery circulation after canine lung allotransplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 73: 792-795, 1977
- 9) 小田 誠. 気道再建手術後の吻合部における創傷治癒過程に関する実験的研究 - 端々吻合と端側吻合の比較. *金沢大学十全医学会雑誌* 98: 62-73, 1989
- 10) 高橋 敦. 気道再建法とその創傷治癒過程に関する実験的研究 - 特に肺移植におけるテレスコープ吻合について. *金沢大学十全医学会雑誌* 103: 320-329, 1994
- 11) Lima O, Goldberg M, Peters WJ, Ayabe H, Townsend E, Cooper JD. Bronchial omentopexy in canine lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 83: 418-421, 1982
- 12) Morgan E, Lima O, Goldberg M, Ayabe H, Ferdman A, Cooper JD. Improved bronchial healing in canine left lung reimplantation using omental pedicle wrap. *J Thorac Cardiovasc Surg* 85: 134-139, 1983
- 13) Dubois P, Choiniere L, Cooper JD. Bronchial omentopexy in canine lung allotransplantation. *Ann Thorac Surg* 38: 211-214, 1984
- 14) Fujiwara K, Nakahara K, Fujii Y, Matsumura A, Takeda S, Minami M, Matsuda H. Effect of omentopexy on wound healing of the extensively detached and anastomosed canine trachea. *Surgery* 115: 227-232, 1994
- 15) Pierce GF, Mustoe TA, Linglbach J, Masakowski VR, Griffin GL, Senior RM, Deuel TF. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor- $\beta$  enhance tissue repair by unique mechanisms. *J Cell Biol* 109: 429-440, 1989
- 16) Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem* 45: 319-326, 1991
- 17) McGee GS, Davidson JM, Buckley A, Sommer A, Woodward SC, Aquino AM, Barbour R, Demetriou AA. Recombinant basic fibroblast growth factor accelerates wound healing. *J Surg Res* 45: 145-153, 1988
- 18) Nissen NN, Polverini PJ, Gamelli RL, DiPietro LA. Basic fibroblast growth factor mediates angiogenic activity in early surgical wounds. *Surgery* 119: 457-465, 1996
- 19) Sporn MB, Roberts AB, Shull JH, Smith JM, Ward JM, Sodek J. Polypeptide transforming growth factors isolated from bovine sources and used for wound healing in vivo. *Science* 219: 1329-1331, 1983
- 20) Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK, Smith JM, Roche NS, Wakefield LM, Heine UI, Liotta LA, Falanga V, Kehrl JH, Fauci AS. Transforming growth factor type  $\beta$ : Rapid induction of

- fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 4167-4171, 1986
- 21) Mustoe TA, Pierce GF, Thomason A, Gramates P, Sporn MB, Deuel TF. Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor- $\beta$ . *Science* 237: 1333-1336, 1987
- 22) Ammann AJ, Beck LS, DeGuzman L, Hirabayashi SE, Lee WP, McFatrige L, Nguyen T, Xu Y, Mustoe TA. Transforming growth factor- $\beta$ , Effect on soft tissue repair. *Ann NY Acad Sci* 593: 124-134, 1990
- 23) 小林孝一郎. 有茎大網移植における浄化・抗炎症作用と血管新生に関する実験的研究. *金沢大学十全医学会雑誌* 102: 70-80, 1993
- 24) Cartier R, Brunette I, Hashimoto K, Bourne WM, Schaff HV. Angiogenic factor: A possible mechanism for a neovascularization produced by omental pedicles. *J Thorac Cardiovasc Surg* 99: 264-268, 1990
- 25) 渡辺洋宇, 小林弘明, 村上真也, 木元春生, 屋敷初郎, 品川 誠, 清水淳三, 小田 誠, 岩 喬, 藤田充明, 野沢朗子, 遠山芳子, 小林 勉, 村上 誠一. HFV (高頻度換気法) 併用管理下での気管・気管支形成術. *日胸外会誌* 43: 989-998, 1984
- 26) 村上真也. 気管・気管支形成術における高頻度ジェット換気法使用に関する基礎的研究. *金沢大学十全医学会雑誌* 96: 231-251, 1987
- 27) Yokomise H, Wada H, Inui K, Yamazaki F, Lee M, Aoki M, Hitomi S. Application of Laser Doppler velocimetry to lung transplantation. *Transplantation* 48: 550-554, 1989
- 28) Inui K, Wada H, Yokomise H, Lee M, Yamazaki F, Aoki M, Hitomi S. Evaluation of a bronchial anastomosis by laser doppler velocimetry. *J Thorac Cardiovasc Surg* 99: 614-619, 1990
- 29) Brewer LA III, King EL, Lilly LJ, Bai AF. Bronchial closure in pulmonary resection: A clinical and experimental study using a pedicled pericardial fat graft reinforcement. *J Thorac Cardiovasc Surg* 84: 507-532, 1953
- 30) LeGal YM, Chittal SM, Wright ES. Peritracheal membranous adipose tissue for early revascularization of the bronchial anastomosis. *Can J Surg* 30: 333-337, 1987
- 31) Fell SC, Mollenkopf FP, Montefusco CM, Mitudo S, Kampholz SL, Goldsmith J, Veith FJ. Revascularization of ischemic bronchial anastomoses by an intercostal pedicle flap. *J Thorac Cardiovasc Surg* 90: 172-178, 1985
- 32) LeGal YM, Chittal SM, Wright ES. Early bronchial revascularization with an intercostal pedicle graft following canine lung autotransplantation. *Can J Surg* 28: 518-522, 1985
- 33) Turrentine MW, Kesler KA, Wright CD, McEwen KE, Faught PR, Miller ME, Mahomed Y, King H, Brown JW. Effect of omental, intercostal, and internal mammary artery pedicle wraps on bronchial healing. *Ann Thorac Surg* 49: 574-579, 1990
- 34) Ishihara T, Nemoto E, Kikuchi K, Kato R, Kobayashi K. Dose pleural bronchial wrapping improve wound healing in right sleeve lobectomy? *J Thorac Cardiovasc Surg* 89: 665-672, 1985
- 35) Lobb RR. Clinical applications of heparin-binding growth factors. *Eur J Clin Invest* 18: 321-336, 1988
- 36) Sporn MB, Roberts AB. Transforming growth factor- $\beta$ , Multiple actions and potential clinical applications. *JAMA* 262: 938-941, 1989
- 37) Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 235: 442-447, 1987
- 38) Ogawa Y, Sawarumura SJ, Ksander GA, Armstrong RM, Pratt BM, Mcpherson JM. Transforming growth factors- $\beta$  1 and  $\beta$  2 induce synthesis and accumulation of hyaluronate and chondroitin sulfate in vivo. *Growth Factors* 3: 53-62, 1990
- 39) Wiseman DM, Polverini PJ, Kamp DW, Leibovich SJ. Transforming growth factor-beta (TGF  $\beta$ ) is chemotactic for human monocytes and induces their expression of angiogenic activity. *Biochem Biophys Res Commun* 157: 793-800, 1988
- 40) Yang EY, Moses HL. Transforming factor  $\beta$  1-induced changes in cell migration, proliferation, and angiogenesis in the chicken chorioallantoic membrane. *J Cell Biol* 111: 731-741, 1990
- 41) Olech VM, Keshavejee SH, Chamberlain DW, Slutsky AS, Patterson GA. Role of basic fibroblast growth factor in revascularization of rabbit tracheal autografts. *Ann Thorac Surg* 52: 258-264, 1991
- 42) Mayer E, Cardoso PFG, Puskas JD, De Campos K, Oka T, Dardick I, Patterson GA. The effect of basic fibroblast growth factor and omentopexy on revascularization and epithelial regeneration of heterotopic rat tracheal isografts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 104: 180-188, 1992
- 43) Schraufnagel DE, Arzouman DA, Sekosan M, Ho YK. The effect of transforming growth factor- $\alpha$  on airway angiogenesis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 104: 1582-1588, 1992
- 44) 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. *日胸外会誌* 44: 2032-2039, 1996
- 45) Stompro BE, Hansbrough JF, Boyce ST. Attachment of peptide growth factors to implantable collagen. *J Surg Res* 46: 413-421, 1989
- 46) Brown GL, Curtsinger LJ, White M, Mitchell RO, Pietsch J, Nordquist, R, von Fraunhofer A, Schultz GS. Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF- $\beta$ . *Ann Surg* 208: 788-794, 1988
- 47) Gaudie J, Jordana M, Cox G. Cytokines and pulmonary fibrosis. *Thorax* 48: 931-935, 1993
- 48) Sieweke MH, Thomson NL, Sporn MB, Bissell MJ. Mediation of wound-related Rous sarcoma virus tumorigenesis by TGF- $\beta$ . *Science* 248: 1656-1660, 1990
- 49) Arteaga CL, Hurd SD, Winnier AR, Johnson MD, Fendly BM, Forbes JT. Anti-transforming growth factor (TGF) - $\beta$  antibodies inhibits breast cancer cell tumorigenicity and increase mouse spleen natural killer cell activity. *J Clin Invest* 92: 2569-2576, 1993

**The Effect of Transforming Growth Factor- $\beta$  in Promoting Wound Healing after Airway Anastomosis** Ushio Yazaki, Department of Surgery (1), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 – J. Juzen Med Soc., 107, 246 – 253 (1998)

**Key words** transforming growth factor -  $\beta$ , airway anastomosis, angiogenesis, wound healing, tensile strength

#### Abstract

Following an extensive airway resection and lung transplantation, the recovery of local blood flows and tensile strengths of the airway anastomoses is a critical factor in the wound healing process. Recently, attempts have been made to improve this healing with various growth factors. The present study assessed the effect of topical application of recombinant transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) to the airway anastomoses of adult mongrel dogs, evaluating the effect in terms of the tensile strength, histological observations, and the blood flow of the anastomotic sites. In the trachea, the tensile strength of anastomotic sites treated with TGF- $\beta$  ( $2 \mu\text{g}$ ) was about 1.8 times higher ( $p < 0.05$ ) than that of untreated control sites at the 7th postoperative day. Histologically, tracheal anastomotic sites treated with TGF- $\beta$  were completely covered with ciliated epithelium, whereas no ciliated epithelium was observed in the untreated control. Also, the density of microvessels was significantly higher in TGF- $\beta$ -treated anastomotic sites than in the control anastomotic sites. In the left main bronchus, the mucosal blood flow at anastomotic sites was determined by laser Doppler velocimetry at various periods after the operation. The mucosal blood flow of control anastomotic sites recovered very slowly and took 1 - 2 weeks to recover to 50 % of the preoperative value. In contrast, the mucosal blood flow in anastomotic sites treated with TGF- $\beta$  showed very rapid recovery and reached 100 % of the preoperative value between 1 and 2 weeks. The wrapping of TGF- $\beta$  treated anastomotic sites with internal mammary artery pedicle and parietal pleura showed no additive effect on revascularization. These results suggest that local application of TGF- $\beta$  to the airway anastomosis is effective in stimulating early bronchial revascularization and wound healing.