

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：23304

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23231

研究課題名（和文）郭清によるリンパ経路の変化に着目した組織学的根拠に基づくリンパドレナージ法の開発

研究課題名（英文）Development of a histologically based lymphatic drainage method focusing on changes in lymphatic pathways due to dissection.

研究代表者

鈴木 由依子（Suzuki, Yuiko）

公立小松大学・保健医療学部・助教

研究者番号：40881983

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：正常ラットでは、下肢リンパ運搬に關する4種類の集合リンパ管が確認された。リンパ流遮断後は、3種類のリンパ経路が迂回路として観察された。このうち、正中付近のリンパ管へつながった経路と、対側の鼠経リンパ節へ向かった経路は、正常ラットには確認されなかった。迂回路の組織観察により、迂回路を形成するリンパ管は前集合リンパ管であることが考えられた。これらのことから、リンパ流遮断後は、迂回路に焦点を当てたリンパ誘導ができる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

ラット下肢のリンパ流遮断後のリンパ経路は、正常なラットのリンパ系とは異なっていた。このことから、リンパ遮断後に生じたリンパ経路に焦点化したリンパドレナージを行うことができれば、ケア時間の短縮を見込める可能性がある。このことは、患者のケア負担軽減、患者の社会進出を助けることができると考えられる。

研究成果の概要（英文）： Three main results were obtained in the present study. First, the deep medial system, the superficial medial system, a connection between the superficial and deep medial lymphatic systems, and the superficial lateral system, were elucidated. Second, three types of detours, namely the detour of the lateral abdomen, the detour to the lymphatic vessel near the midline of the abdomen, and the detour to the contralateral inguinal lymph node, were identified after lymphatic flow blockage. Lastly, detours were located in the fatty layer above the panniculus carnosus muscle and their lumina were wide. The histology suggested that the detour was a pre-collecting lymphatic vessel. Lymphatic routes in the rat hindlimbs after lymphatic flow blockage were different from those of the normal rat lymphatic system.

研究分野：基礎看護学

キーワード：リンパ浮腫 迂回路 リンパ流遮断 ラット

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

乳がん関連リンパ浮腫は、乳がん治療後2年のうちに8~56%の患者が罹患する慢性疾患である。リンパ浮腫の悪化による活動制限によって患者のQOLは著しく低下するが、根治的治療はない。簡易リンパドレナージ(SLD: simple lymphatic drainage)は、組織間隙に貯留しているリンパ液の増加を防ぐ目的で行われる、患者自身による徒手のマッサージ法である。しかし、1回の施行に30分を要し、患者には毎日のセルフケアが求められることから、SLDは患者のケア負担を増大させ、社会参加を妨げる。加えて、ケアの中断による浮腫の増大は、感染症などの合併症増加による医療負担を増やし、医療費の増大をもたらす。さらに、リンパ節郭清後のSLDの解剖学的な根拠は不明である。

その根底には、ヒトにおける術後のリンパ経路が明らかでないという解剖学的な問題がある。ヒトのリンパは、毛細リンパ管、導出リンパ管、集合リンパ管、深部リンパ管を経て静脈へ入る。しかし、リンパ節を郭清しリンパ管が切断されると、本来通はずのリンパ経路は失われ、リンパ流は滞る。申請者の所属する研究室では、マウスにおいてリンパ流が阻害されたときに迂回路が形成されることを明らかにした(Asano et al. 2020)。これにより、ヒトにおいてもリンパ節郭清後にリンパ経路が変化している可能性があり、これを踏まえたSLDの開発が必要である。

申請者の所属する研究室では、マウスの下肢リンパ経路を同定した上でリンパ節郭清術を考案した(Nakajima et al. 2018)。しかし、マウスでは体が小さく、SLDの効果観察には限界を感じた。そのため、体の大きなラットの使用が必要である。しかし、ラットの正常な下肢リンパ経路は明らかでない上に、慢性リンパ浮腫モデルも存在しない。本研究では、効果的なSLD確立の土台として、正常ラットの下肢リンパ系を明らかにした上でリンパ浮腫モデルを作製し、その後リンパ節郭清によるリンパ経路の変化を明らかにする。

### 2. 研究の目的

正常ラットの下肢リンパ系を同定し、その後にリンパ節郭清によるリンパ経路の変化を明らかにする。

### 3. 研究の方法

本研究は、正常ラットの下肢リンパ系を同定し、リンパ浮腫モデルを作製して、その後にリンパ節郭清後のリンパ経路を解明する(図1)

(1) 2020年度: 正常ラットの下肢リンパ系解明

ラットの下肢リンパ系を明らかにする。インドシアニングリーン(ICG)とエバンスブルー(EB)混合液をラットの下肢に注射する。下肢リンパ運搬経路を識別するために、下肢だけでなく下腹部と尾にも薬液を注入する。

赤外線カメラにおける蛍光と、肉眼的にリンパ管を捉えることで、浅在リンパ管と深部リンパ管のつながりについても観察する。また、組織染色を行うことで、観察された組織がリンパ管であることを担保した。

(2) 2021年度: ラットにリンパ浮腫を作成、リンパ浮腫ラットの後肢リンパ経路の解明

正常ラットで明らかとなった後肢周囲のリンパ系を参考に、腫脹作成のために郭清が必要と考えられるリンパ節を決定する。Nakajimaの方法を用いてリンパ節切除術を行い、必要があればリンパ管の結紮を追加する。手術後3日目、30日目の両下肢周囲径、下肢体積を測定し、腫脹の有無を観察する。また、ICGによるリンパ流のうっ滞を確認する。次に、ラットの下肢外側皮膚、リンパ節郭清部やその周囲組織を採取し、組織学的評価を行う。組織学的評価は、先行研究に従い、リンパ管内皮細胞マーカーで染色する。術後のリンパ経路を、正常ラットと比較し、その違いをICG画像と解剖による観察を用いて把握し、より効果的なSLD開発に向けた示唆を得る。

### 4. 研究成果



図1 研究の流れ

(1) 正常ラットにおける後肢リンパ系の同定  
 正常ラットにおいて、後肢リンパ運搬に關与する4種類の集合リンパ管が確認された(図2)。このうち、腹側では、大腿動脈と並走して腹腔内へ入り、腸骨リンパ節へ到達するリンパ管(図2:経路1)、鼠経リンパ節を通過して腋窩リンパ節へ向かうリンパ管(図2:経路2)、浅在リンパ管と深部リンパ管を交通するリンパ管が確認された(図2:経路3)。また、ラットの背部では、下肢から膝窩リンパ管へ向かう経路(図2:経路4)が確認された。一方、ICGを下腹部へ注射したときに、下肢リンパ運搬に關連しない正中付近のリンパ管が抽出された。

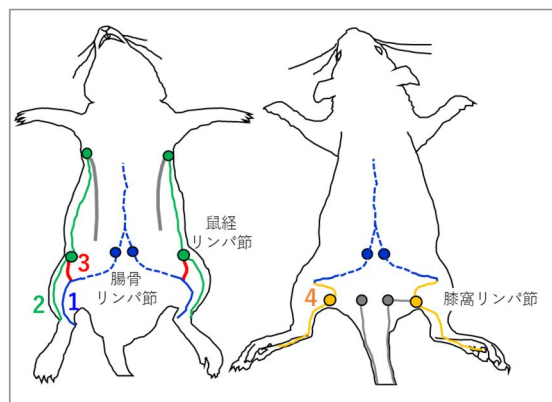


図2 正常ラットの下肢周囲のリンパ系  
 経路1: 腹腔内の腸骨リンパ節へつながる経路  
 経路2: 鼠経リンパ節を通過する経路  
 経路3: 浅部と深部のリンパ管を交通するリンパ管  
 経路4: 膝窩リンパ節へ向かう経路

(2) リンパ流遮断後の下肢腫脹

リンパ流を遮断すると、3日後には手術肢の周囲径、体積とも健肢より大きくなったことから、下肢の腫脹が考えられた。しかし、リンパ流遮断後30日では、手術肢と健肢の大きさに差はなかったため、腫脹は消失したことが考えられた。

(3) リンパ流遮断後に確認された迂回路

下肢腫脹の軽減と共に、3種類の迂回路が確認された(図3)。迂回路は、各ラットにつき1~3種類が出現した。一つ目の迂回路(図3:迂回路a)は、LN郭清により切断された腹側のリンパ管へつながった。二つ目の迂回路(図3:迂回路b)は、下肢リンパ管と正中付近のリンパ管に接続された。この迂回路は、正常ラットでは後肢リンパ運搬に關連しないリンパ管へ接続した。三つ目の迂回路(図3:迂回路c)は、恥骨上を通過し、対側鼠経部LNに到達した。この迂回路もまた、正常ラットには観察されなかった経路だった。

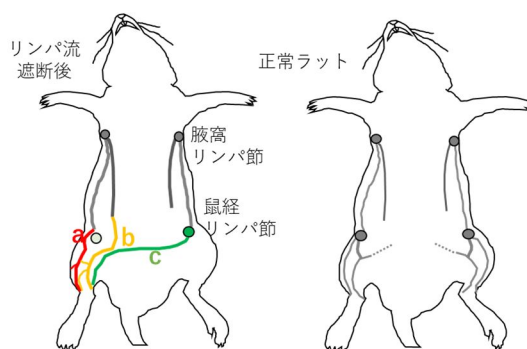


図3: リンパ遮断後に生じた迂回路  
 迂回路a: 側腹部のリンパ管へ接続する  
 迂回路b: 傍正中のリンパ管へ接続する  
 迂回路c: 正中を横断し対側鼠経リンパ節へ到達する

迂回路の組織学的な特徴として、皮筋上の脂肪層に存在し、広い内腔を持つことが確認された(図4)。正常ラットの真皮および皮下組織では、この迂回路と同部位に線状のリンパ管が確認された。さらに、迂回路は集合リンパ管のように血管を伴わなかった。これらのことから、リンパ遮断後の迂回路には、前集合リンパ管が使用されたことが確認された。

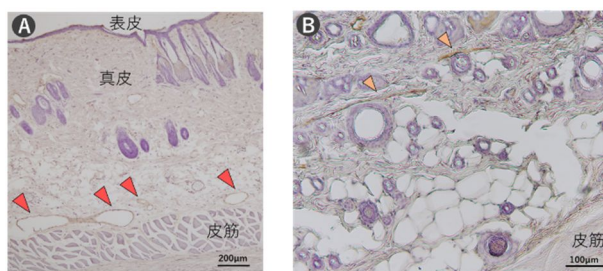


図4 迂回路の組織像  
 A リンパ遮断後の迂回路  
 B 正常ラットにおける、迂回路aと同様の部位に位置するリンパ管

(4) SLD との関連

SLDは、全身をマッサージしてリンパの流れを促進するため、時間がかかる。今回、リンパ流遮断によって生じた迂回路は、通常の経路とは異なることが確認された。そこで、前集合リンパ管へのリンパ液誘導により、余剰リンパの取り込みを促進する可能性が考えられる。これにより、ケア時間の短縮が可能となり、患者のセルフケア負担の軽減に貢献できる可能性がある。

<引用文献>

Asano K, Nakajima Y, Mukai K, Urai T, Okuwa M, Sugama J, et al. Pre-collecting lymphatic vessels form detours following obstruction of lymphatic flow and function as collecting lymphatic vessels. PLoS One. 2020; 15: e0227814. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227814> PMID: 31940420

Nakajima Y, Asano K, Mukai K, Urai T, Okuwa M, Sugama J, et al. Near-infrared fluorescence imaging directly visualizes lymphatic drainage pathways and connections between superficial and deep lymphatic systems in the mouse hindlimb. Sci Rep. 2018; 8: 7078. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25383-y> PMID: 29728629

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Suzuki Yuiko, Nakajima Yukari, Nakatani Toshio, Okuwa Mayumi, Sugama Junko	4. 巻 16
2. 論文標題 Comparison of normal hindlimb lymphatic systems in rats with detours present after lymphatic flow blockage	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0260404
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0260404	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuiko Suzuki, Yukari Nakajima, Toshio Nakatani, Mayumi Okuwa, Junko Sugama
2. 発表標題 Identification of the normal hindlimb lymphatic system in rats
3. 学会等名 The 9th Asia Pacific Enterostomal Therapy Nurse Association Conference（国際学会）
4. 発表年 2021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
---------	---------