

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659775

研究課題名(和文)リンパ浮腫の外科治療に新展開！～血管柄付リンパ節移植による生体修飾メカニズム探求

研究課題名(英文)Mechanism of the improvement of lymphedema with the lymph node transfer

研究代表者

齋藤 典子 (Saito, Noriko)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：80374487

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ浮腫の外科治療の基礎的研究を行った。マウス後肢リンパ浮腫モデルにおいて摘出した膝窩リンパ節部に対側腋窩リンパ節を移植する「リンパ節移植モデル」を開発した。リンパ節を移植したモデルにおいては浮腫の程度の軽減と早期の回復傾向が見られた。

インドシアニングリーンと近赤外線カメラを用いてリンパ流のイメージングを行ったところリンパ節移植モデルにおいて側副路の形成と、移植したリンパ節の生着を示す所見が得られ、これらがリンパ流の回復に寄与しているものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We developed the new lymph node transfer method using mouse hind limb model, in which we transferred the axillary lymph node to the popliteal space at the opposite side after the lymph node removal. Compared to control group, earlier improvement of lymphedema was observed in the lymph node transfer group.

We analyzed the mechanism of the improvement of lymphedema with the lymph node transfer, with fluorescence lymphatic imaging using indocyanine green and PDE system equipped with a charge-coupled device camera as a fluorescence detector. In the lymph node transfer group, formation of the collateral pathway and the transferred lymph node take were observed. This result supports the hypothesis that the lymph node transfer can improve lymphedema by increasing the lymphatic flow.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：形成外科学

キーワード：リンパ浮腫 リンパ節移植 マウスモデル

様式 C - 19、F - 19、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん治療後四肢に発症する二次性リンパ浮腫に対して「血管柄付きリンパ節移植」による改善症例が近年報告されるようになった。しかしながら移植組織の及ぼす生体メカニズム解明を目的とした基礎研究は極めて少ない為、本研究を行う。

2. 研究の目的

本研究はリンパ浮腫-組織移植動物モデルを用いてリンパ節皮弁移植組織の組織学的変化、ならびに四肢リンパ流の改変を捉える事を目的とした。

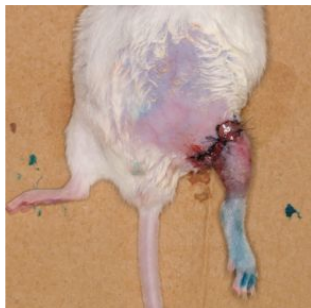
3. 研究の方法

- (1) マウス後肢におけるリンパ浮腫モデルを作成する(control 群)
- (2) (1)のモデルにおいて摘出した膝窩リンパ節部に対側の腋窩リンパ節を移植し、「リンパ節移植モデル」とする。
- (3) マウス足容積測定器(UGO BASILE社)を用いて経時的に足の容積を測定し、浮腫の程度を経時的に定量化する。(1)と(2)の群の間での差を比較する
- (4) インドシアニングリーンと近赤外線カメラを用いたリンパ流のイメージングを行い、経時的な観察を行う。
- (5) 移植したリンパ節および周囲組織の病理組織学的検討

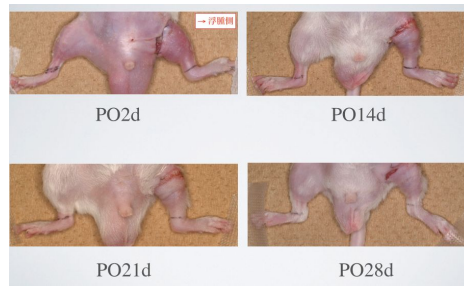
4. 研究成果

(1)マウス後肢リンパ浮腫モデルの作製(図1、2)

鼠径部に 30GY の放射線を照射
照射から 7 日後に手術を施行
左後肢の足底に 2%パテントブルーを 5μL 注入
膝窩リンパ節を摘出
中枢、末梢でリンパ管を結紮(10-0 ナイロン)
鼠径部の軟部組織を郭清
皮膚にギャップを作製し縫合



< 図 1 : リンパ浮腫モデルの作製 >

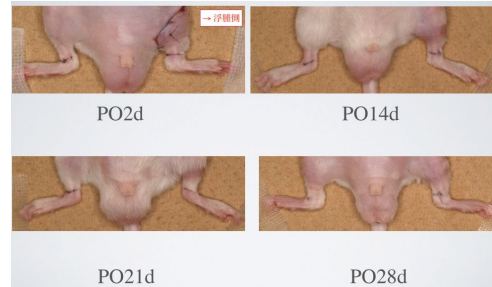


< 図 2: リンパ浮腫モデル(control)の肉眼的所見 >

術後 2 日目より術側の後肢の腫脹を認められた。
その後経時的な改善を認めた。

(2) リンパ節移植モデルの作製 (図 3)

(1)で作製したリンパ浮腫モデルにおいて摘出した膝窩リンパ節の部位に、対側から採取した腋窩リンパ節を移植する。



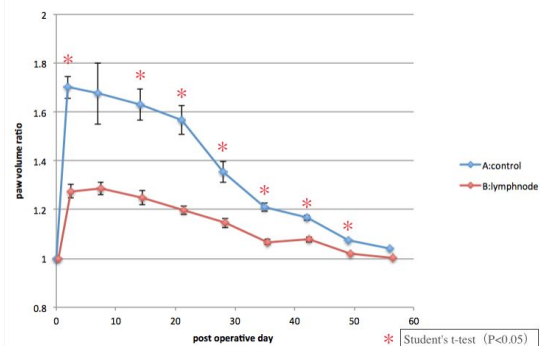
< 図 3 : リンパ節移植モデルの肉眼的所見 >

術後 2 日目より control より腫脹が軽度であった。

(3) 浮腫程度の定量化 (図 4)

マウス足容積測定器を用いて浮腫の程度を定量化し、比較する。それぞれの群を 4 匹ずつ作製した。

術後期間 : 2, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 日目において容積の測定を行った。
浮腫側/健側の比率を計算しグラフ化した。

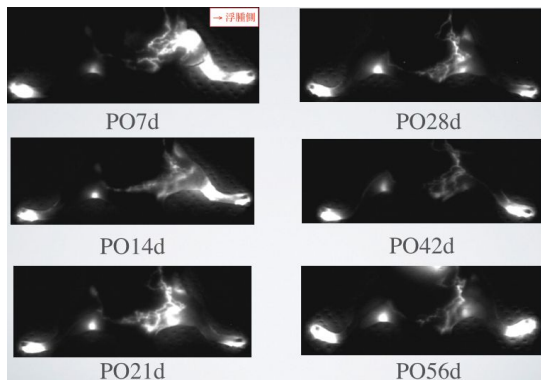


< 図 4 : 足容積の推移 >

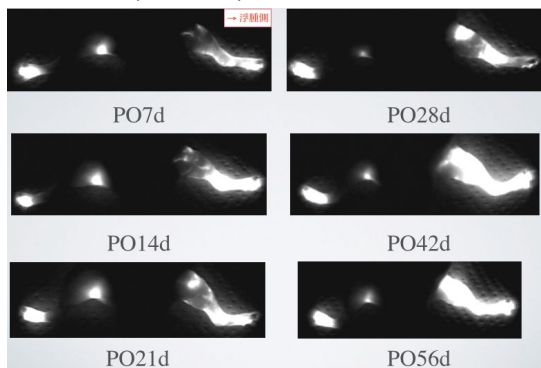
術後 2 日目より、足容積の平均値に有意差を認めた (図 4)
 術後 10 日目と 56 日を除いた期間において有意にリンパ節移植群マウスの足容積の減少を認めた (図 4)

(4) リンパ流のイメージング (図 5、6)

インドシアニングリーン(ICG:1.0mg/ml) を 5 μ L 足底に注入
 20 分後に近赤外線カメラ Photo Dynamic Eye(浜松ホトニクス社)を用いて観察
 術後期間： 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 日目において観察を行った。



< 図 5 : リンパ流のイメージング・リンパ浮腫モデル(control) >



< 図 6 : リンパ流のイメージング・リンパ節移植モデル >

リンパ浮腫モデル群(control)の患肢において、術後 56 日まで dermal back flow が見られた。
 リンパ節移植群において術側にリンパ流側副路の発達術後 7 日目より見られた。
 リンパ節移植群において、術後 28 日目より移植したリンパ節が生着していると考えられる集積の所見がみられた。

(5) 病理組織学的検討

病理組織学的検討は本研究期間内に施行することができなかった。
 今後追加を行い、その内容も含めて論文を作成する予定である。

(6) 結果の考察

マウス後肢リンパ浮腫モデルの作製ができた。
 リンパ節移植モデルを作製できた。
 リンパ節移植群において浮腫の軽減が見られた。
 移植したリンパ節が生着し、リンパ管の新生が起こったと考えられる。

以上のことより、リンパ浮腫に対しての間接的リンパ誘導術としてのリンパ節移植術の有効性が証明された。今後臨床において外科的な治療法が標準治療となっていく為意義のある結果であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

現在執筆中で今後上記のデータを発表予定である

[学会発表] (計 2 件)

塩谷隆太, 齋藤典子, 古川洋志, 小山明彦, 舟山恵美, 林利彦, 村尾尚規, 山本有平: リンパ浮腫を改善する術式の検討～マウス後肢モデルを用いて. 第87回北海道・東北形成外科学会北海道地方会, 札幌市, 2014.2.8

塩谷隆太，齋藤典子，古川洋志，小山明彦，舟山恵美，林利彦，村尾尚規，山本有平：リンパ浮腫の外科的治療に関する基礎的研究. 第27回北大形成外科アカデミー，札幌市，2013.12.14

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

齋藤 典子 (Saitou Noriko)
北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員
研究者番号：80374487

(2)研究分担者

山本 有平 (Yamamoto Yuhei)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：70271674

古川 洋志 (Furukawa Hiroshi)
北海道大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：00399924

小山 明彦 (Akihiko Oyama)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号：70374486

舟山 恵美 (Funayama Megumi)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：10533630

齋藤 亮 (Akira Saito)
北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員
研究者番号：70507574

(3)連携研究者

()

研究者番号：