

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17016

研究課題名(和文)リンパ管静脈吻合術後変化の3次元解析

研究課題名(英文) Three-dimensional analysis of the lymphaticovenular anastomosis postoperative change

研究代表者

小野田 聡 (Satoshi, Onoda)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号：00423301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：今回の研究によって、LVA術後の吻合に対しては、通常のマイクロサージャリーと比較して密な吻合を行わなくても周辺の脂肪組織の付着によってリンパ液漏出の自然消退が期待できること、また吻合部に対する牽引力などの外力に耐性の高い端端吻合術が理想的な吻合法である事が示唆された。今後更なるLVA術後変化の詳細の検討によってこれらの推論が証明されることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の検討で、リンパ管静脈吻合術後の長期的な吻合部変化の一端が解明された。また、各種吻合法の内、端端吻合が理想的な吻合法である事が示唆された。この研究の内容をリンパ浮腫の外科的治療、リンパ管静脈吻合術に反映させることによって、より効果的なリンパ浮腫の外科的治療が可能になるものと考えられる。加えて、この結果リンパ浮腫に苦しむ患者さんへの大きな福音になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the 3 LVAs conducted using end-to-end style, postoperative patency was confirmed at 1 month postoperatively. However, in the side-to-end LVA model, patency of the anastomotic region could not be achieved.

A smooth transition in the anastomotic region was found from a lymphatic duct with a thin circumference to vein with a large circumference. Mild twisting was found in the proximal part of a lymphatic duct wall. We believed that the twisting was caused by an external pressure to the anastomotic region. The aggregates of fat tissue corresponded with the anastomosis line between the lymphatic ducts and the veins

Useful information was obtained about the ideal procedure of LVA in our experimental rat model. We think that the ideal style of anastomosis is end-to-end anastomosis and that fewer stitches might be able to be used during LVA than during conventional microsurgery.

研究分野：マイクロサージャリー

キーワード：リンパ管静脈吻合 スーパーマイクロサージャリー リンパ浮腫 動物実験モデル 組織学的検討

1. 研究開始当初の背景

近年、がんの根治に加えて、がん治療後の QOL 向上に関心が集まるようになって来ている。国立がん研究センターがん情報サービス内でリンパ浮腫の専門治療者が常在する医療機関の情報を公開するなど、リンパ浮腫治療に対する医療従事者・がん生存患者の関心は非常に高い。一方、本邦でのリンパ浮腫の罹患患者は潜在患者も含め数十万人と推定されているが、リンパ浮腫の専門的な治療が可能な施設は非常に少なく、多くの患者が十分な治療を受けられていないのが現状である。

《リンパ浮腫の外科的治療》

リンパ浮腫の治療法のうち、我々形成外科医が主に担当するのが外科的治療である。外科的治療は、肥大した患肢の容量減少を目的とする姑息手術である脂肪吸引術とリンパ管静脈吻合術(以下 LVA)やリンパ節移植術等のリンパ経路再建術に大別される。この内、近年のマイクロサージャリー技術の発達により、LVA が広く普及して来ている。LVA はリンパ液の生理的な還流が可能なること、非常に低侵襲な術式であること、浮腫症状の改善に加えて蜂窩織炎の予防効果も期待されることなどから多くの施設でリンパ浮腫の外科的治療の第一選択の術式となっている。

一方、LVA に関しては、手術の適応・吻合数・吻合様式・吻合部位など術式に関する詳細が施設毎に大きく異なり、スタンダードな様式が無い。また、術後の評価に関しても患者の体重変化や患肢周径の日内変動など多くの要素が混在する浮腫症状の変化を通じて間接的に行われており、手術自体の純粋な評価を行うことは困難である。この為、LVA 術後の浮腫軽減や蜂窩織炎の予防の発現機序や術後吻合部の組織学的変化など、術式に関する根本的な部分にも不明点が多い。

《先行実験》

これらの現状を踏まえ、我々は 2015～16 年度の科学研究費補助金を用いた研究により、簡易的な LVA の動物実験モデルを作成(図1)し、光学顕微鏡・透過型電子顕微鏡を用いた LVA 術後組織学的変化の詳細について検討を行った。(図 2) この結果、吻合部内膜下組織の内腔への露出が吻合部閉塞の主要原因であることを解明した。また、術後吻合部開存率の変化や吻合時の必要針数などにおいて、LVA を施行するうえで非常に有用な情報を数多く得ることが出来た。

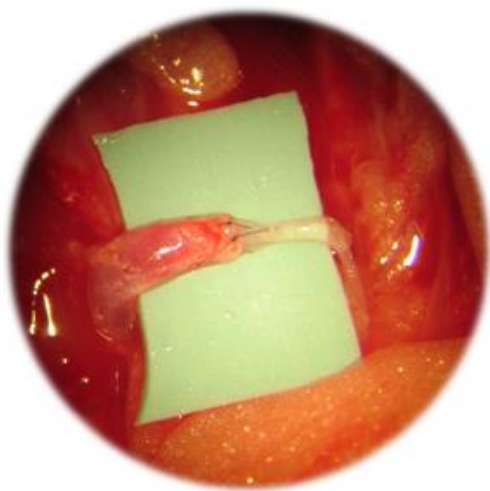


図 1: 動物モデルにおける LVA

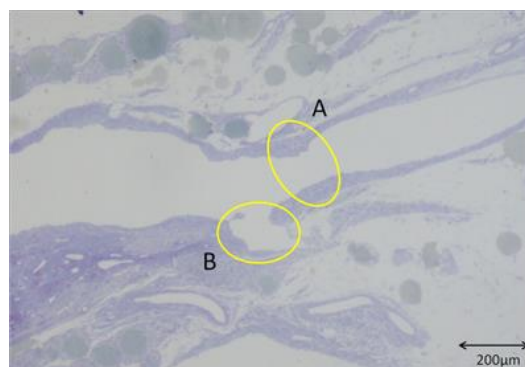


図 2: LVA 術後光学顕微鏡像

2. 研究の目的

LVAにおいてはリンパ管と静脈の吻合様式が各種報告されており、どの吻合様式が最も生理的で長期間吻合部の開存を保つことが可能かに関して、一定の見解が得られていない。(図3)この為、国内でLVAの手術数が多い代表的な施設間でも手術の様式は全く異なり、各施設で様々な方法でLVAが行われている。一方、これらの吻合様式を比較する際に、術者の技術的な要素を排除するためには、先行研究の様な組織学的検討が必須である。しかしながら、過去に検討を行った端々吻合術以外の吻合様式においては、1断面で吻合全体を含む標本作製することが出来ず、光学顕微鏡や透過型電子顕微鏡による観察は困難であった。今回、過去の経験を踏まえ、走査型電子顕微鏡による吻合部の3次元組織学的検討を行うこととした。

3. 研究の方法

1. 結合組織分解酵素の同定

走査型電子顕微鏡によって血管やリンパ管の3次元微細構造を確認するためには、管表面に付着する脂肪織や膠原繊維、弾性繊維などの不要物質を完全に除去する必要がある。

ラットの腰部リンパ管及び腸腰静脈組織を採取し、各種酵素による処理を行った結果、コラゲナーゼ・ヒアルロニダーゼによる酵素消化後にグルタルアルデヒド固定、8N-HCLにて加水分解を行うことで血管表面の良好な結合組織の分解が得られることが分かった。この為、今回のLVA術後吻合部観察のための事前処理に使用することとした。

2. 各種吻合様式の施行

先に我々が報告したラットLVAモデルを用いて実際に各種吻合様式でLVAを行い、先行実験で組織学的検討を行った端々吻合術と各項目において比較を行うこととした。ラットLVAモデルを用いて、論文等で報告の多い側端吻合法を行った。また、対照実験として端々吻合法を行った。(図4)その結

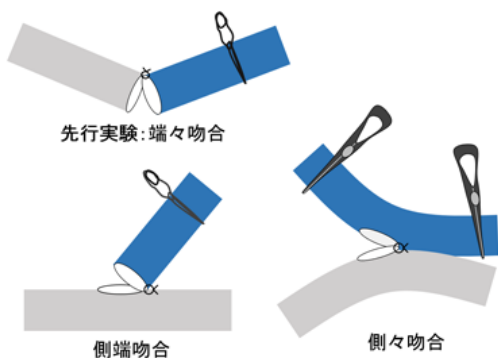


図3:LVAにおける各種吻合様式

果、端々吻合法では術直後・術後1ヶ月の段階で全例開存が確認されたのに対して、側端吻合法を行った3例では術直後の段階で全例開存を確認可能であったが、術後1ヶ月の時点では全例閉塞していた。

このため、我々のモデルを用いて、側端吻合後に開存が得られる可能性は低いと考えられた。

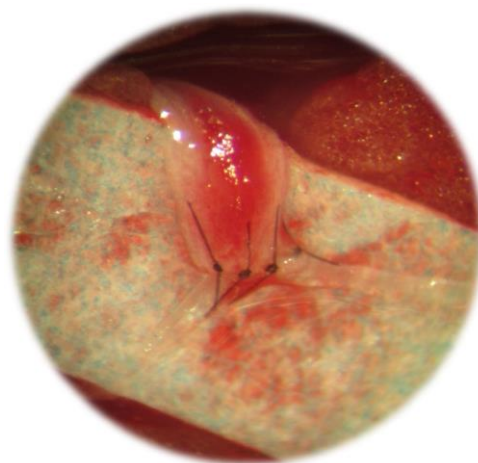


図4:LVAモデルにおける側端吻合

この原因として、今回のラットモデルが人体におけるLVAと比較して、周径は近似しているものの、血管やリンパ管の性質がやや異なる点や、吻合自体の特性上長期的な開存が得られにくいことなどが考えられた。側端吻合で開存が得られなかったことから、側側吻合術術後の観察も断念した。

3. 走査型顕微鏡による 3 次元的検討

前段階で施行可能であった端端吻合でLVAを行った後、術後1ヶ月の時点で吻合部の開存を確認した。端端吻合を施行した3例全例で開存が確認された。

確認後に吻合部の組織を採取し、結合織分解酵素による処理後に走査型電子顕微鏡を用いて吻合部の術後形態変化を3次元的に精査した。また比較対象として、ラットから採取した腰部リンパ管及び腸腰静脈も同様に3次元的解析を行った。

走査型電子顕微鏡による電顕像

【コントロール群】

リンパ管及び静脈の表面は比較的なめらかで、膠原細胞や線維細胞などは前処理によって除去されている。一方、脈管

表面に顆粒状の脂肪滴の付着を散在性に認めた。(図 5,6)

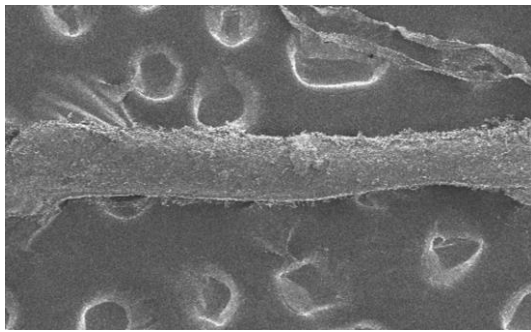


図 5: ラットリンパ管の 3 次元像

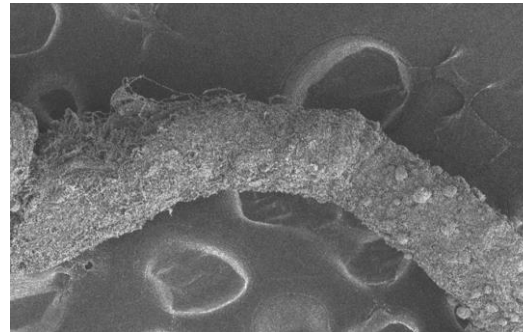


図 6: ラット静脈の 3 次元像

【吻合部】

観察した2例のいずれも遠位部のリンパ管から近位部の静脈に向かってスムーズな移行が形成されており、開存が確認された。

脈管の表面では、吻合部より遠位部に巨大な脂肪滴の沈着を認めた。また、吻合部付近でのリンパ管及び静脈のねじれ構造の発生が確認された。(図 7)

4. 研究の成果

リンパ管静脈吻合と通常のマイクロサージャリーの違いとしては、

- ① 吻合に用いるリンパ管や静脈の直径の小ささ及び壁の脆弱性
- ② 吻合部の流圧の低さ
- ③ 吻合部にかかる高い外圧等が挙げられる。

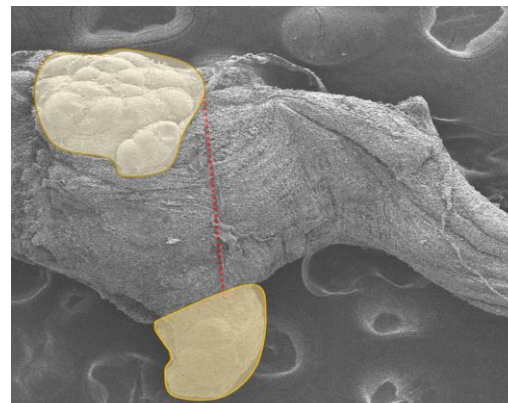


図 7: LVA 吻合部 3 次元像
赤線が吻合部、黄色部が脂肪滴

それぞれの特徴に応じてLVAでは、吻合対象の脈管が細く脆弱なため、より繊細な手技が要求される。流圧が弱く吻合後の漏出部の自然閉塞が期待される、吻合部が四肢のため、より強い外圧が脆弱なリンパ管にかかるなどの要素がある。

吻合様式に関して

マイクロサージャリーにおいて最も汎用されている吻合様式は端端吻合である。端端吻合の利点は、手技が比較的容易である事、LVAにおいてはリンパ液の駆出力が強いことなどが挙げられる。

その他の様式としては、側端吻合、側側吻合などがあり、その利点は手技が煩雑な一方で、リンパ流を保ったままbypass作成が可能である点が挙げられる。今回の検討では、側端吻合を行ったモデルでは長期的な開存が得られなかった。

原因として考えやすいのは、側穴をあけたリンパ管と静脈の吻合部が最も脆弱な構造となり、この部分に強い外圧がかかり吻合部の閉塞に至ったのではないかと考えられた。一方、端端吻合では同様に吻合部にが圧がかかり吻合付近でのねじれ構造を呈していたが、吻合部の閉塞には至らず十分に開存は保たれていた。

吻合時の針数について

通常のLVAにおいて、我々は11-0 Nylon糸を用いて、6-8針程度の吻合数で行っている。一方、通常のマイクロサージャリーでは、9-0 Nylon糸を用いて8-12針程度の吻合を行っている。

今回の検討から、吻合部の表面で脂肪滴の集合体構造を認めたのは、おそらく吻合部より漏出したリンパ液に付着したものと推測された。このため、吻合部を通過するリンパ液の流圧の低いLVAにおいては、針数は通常のマイクロサージャリーよりも少なくとも良いと考えられた。

研究のLimitations

今回の検討は動物実験モデルを用いた組織学的検討であり、実際の人体におけるLVAとの環境の違いがある点は考慮する必要がある。

結語

今回の、LVA術後の吻合に対しては、通常のマイクロサージャリーと比較して密な吻合を行わなくても周辺の脂肪組織の付着によってリンパ液漏出の自然消退が期待できること、また吻合部に対する牽引力などの外力に耐性の高い端端吻合術が理想的な吻合法である事が示唆された

今後更なるLVA術後変化の詳細の検討によってこれらの推論が証明されることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Satoshi Onoda, Masahito Kinoshita, Hitoshi Tanaka, Kana Nishimon
2. 発表標題 Histological Evaluation of Lymphaticovenular Anastomosis Outcomes Using a Novel Rat Experimental Model
3. 学会等名 10th Congress of World Society for Reconstructive Microsurgery (国際学会)
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----