

令和 3 年 6 月 29 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06841

研究課題名（和文）ピロリドン固定解剖体の特性の解明と解剖学研究・教育・研修への応用法の構築

研究課題名（英文）Analysis of the properties of pyrrolidone-fixed cadavers and establishment of its application methods for anatomical research, education, and training

研究代表者

松村 譲児 (Matsumura, George)

杏林大学・医学部・特任教授

研究者番号：90173880

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：昨今、ご遺体を用いたサージカルトレーニングのニーズが高まっており、組織が固くならない固定法の開発が望まれている。本研究では、研究代表者らが開発したピロリドン固定解剖体の特性を解析し、本固定法が腹腔鏡手術、頭蓋底外科手術、摘出喉頭標本を用いた発声の機能解析に有用であること、エコーガイド下で安全に深部麻酔を行うために開発した、先端よりエコーを発する穿刺針の有益性の実証に役立つことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来のホルマリン固定法は、組織硬化作用が強すぎることや健康弊害の懸念より手術手技修練には不向きである。本研究では、我々が開発したピロリドン固定法が、腹腔鏡手術や頭蓋底外科手術の手技修練、医療機器開発におけるデバイス評価、発声のメカニズム解析や治療法開発に有益であることが実証され、医療レベルの向上、さらには解剖に関わる人々の健康維持という面からも社会貢献につながるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）： Recently, the demand for cadaver surgical training is increasing, and it is desired to develop a cadaver fixation method that does not make the organ rigid. In this study, we analyzed the properties of the N-vinyl-2-pyrrolidone (pyrrolidone) fixation developed by the principal investigator.

We found that this fixation method is useful for training of laparoscopic surgery, cranial base surgery, and functional analysis of vocalization using excised laryngeal specimens. We also demonstrated the usefulness of the pyrrolidone-fixed cadavers for validation of newly developed medical devices, for example, validation of the puncture needle that emits ultrasound from the needle tip, which was developed for safe deep anesthesia under ultrasonic guidance.

研究分野：肉眼解剖学

キーワード：臨床解剖学 サージカルトレーニング ピロリドン 腹腔鏡手術 医療機器開発

1. 研究開始当初の背景

(1) 肉眼解剖実習で用いられる解剖体の固定には、1893年にBlumにより考案されたホルマリンが現在なお広く使用されている。ホルマリンは優れた組織固定・抗病原体・防腐作用を示すが、昨今、ホルマリンによる発癌やシックハウス症候群などの健康弊害がクローズアップされ、2006年国際がん研究機関（IARC）により「グループ1（発癌性物質）」と分類された。現在、解剖実習室にホルマリン強制換気装置を設置して対応しているが、根本的対策であるホルマリン代替固定液の開発が喫緊の課題となっている。

また、2012年に日本外科学会と日本解剖学会よりサージカルトレーニングに関するガイドラインが制定され、遺体を解剖学教育・研究のみならず、臨床手技研修に用いる大学が増えている。研修目的には組織硬化作用の強いホルマリンは不向きで、組織が硬くならない固定法が望まれている。

ピロリドン（N-Vinyl-2-Pyrrolidone: NVP）固定法は、申請者が開発にかかわってきた我が国発のホルマリン不含の新規固定法である。ピロリドンとは親水性高分子化合物ポリビニルピロリドン（PVP）のモノマー体で、細胞内に浸透するとラジカル作用で重合化と架橋反応が進行し、組織が固定される。消毒薬ポピドンヨード（イソジン）はPVPとヨウ素の複合体である。大分大学藤倉義久教授のグループは、ピロリドンを動物に投与すると組織が柔軟性を保持したまま固定されることを発見した。引き続き研究代表者は解剖体においてもピロリドンは良好な組織固定・防腐効果を発揮することを見出した。組織が硬化しにくい特性を活かして、遺体を用いた臨床手技修練に応用しうる可能性が期待される。しかしながらピロリドンが開発されてまだ日が浅く、実用化に向けて解明すべき点が多く残されている。

2. 研究の目的

以上の背景に基づき、本研究では申請者が開発を手がけたピロリドン液を解剖体処置に用いて、ピロリドン固定の特性や至適条件を明らかにし、解剖研究・教育・研修への応用のストラテジーを確立することを目的とする。

これが達成されると、

- A) 遺体を用いた解剖学教育・研究・研修をより安全に、より効果的に実践できる
- B) 従来法では剖出・解析が困難であった構造物に関し新たな知見が得られる
- C) 臨床基本手技を体験しつつ構造を学ぶという、新スタイルの学生実習につながる
- D) 腹腔鏡下・内視鏡下手術をはじめとする臨床手技修練や、医療機器開発につながるという成果を得ることができる。

3. 研究の方法

本研究では、上記目的を達成するため次の目標 ~ を設定して戦略的にアプローチする。初年度の平成30年度に目標 ~ を実施し、令和元年度、2年度には平成30年度の研究の継続、ならびに目標 ~ を実施し完成させる。

目標 1：ピロリドン固定法の特性の解明と至適条件の決定

a) 杏林大学白菊会に献体登録されたご遺体を用いて、大腿動脈、総頸動脈からピロリドン（ブリザーブ液：日本医化器械製作所より市販）をペリスタポンプで注入する（8mL/分、ピロリドン濃度体重の10%または5~20%）。

全身の系統解剖を行い、剖出の実際をビデオ、写真撮影する。関節可動域（固定前後で比較）、光顕組織像、電顕所見、免疫染色や透明化の可否を解析し、ホルマリン法と比較する。

b) ピロリドン固定法の至適条件の決定：固定液の組成（濃度、溶媒、塩濃度）、灌流後の浸漬

固定などにつき、臓器別に至適条件を決定する（特に脳の至適条件を探索する）。

c) ピロリドン固定解剖体の内部構造をレントゲン、CT、超音波エコーなどの装置で撮影し、クリアな画像が得られるか否かを解析する。（ホルマリン法は不向きとされている。）良質な画像が得られれば、臨床教育研修でガイドとして用いることが可能となる。

d) 病原体不活化能の有無の解析：ご遺体搬入時に採血を行い、感染症検査（HBsAg, HCV Ab, HIV Ab）を施行する。陽性例に対しては固定後に再度採血・検査を施行する。肝炎ウイルス陽性例においては、血清とともに固定前後に肝臓組織を一部採取し、DNA/RNA を抽出する。肝炎ウイルス検出キットを用いて固定前後の肝炎ウイルスの核酸量を定量比較（相対定量）して、ピロリドンの抗ウイルス能を評価する。ホルマリン固定解剖体と比較する。

a)-d)について、ホルマリン固定法や Thiel 法と比較し、ピロリドン固定の特性を解明する。

目標：従来法では剖出・観察が困難であった構造の精査

関節、靭帯、骨格筋とその可動性、神経、心臓刺激伝導系など、ホルマリン固定法では解析困難であった部位のマクロ解剖所見を精査する。

目標：ピロリドン固定解剖体を用いた医学教育法の構築

臨床基本手技の学生教育法の作成（喉頭鏡、気管内挿管、気管カニューレ、動静脈穿刺、中心静脈カテーテル挿入、腰椎穿刺、骨髄穿刺、トロッカー挿入、結紮縫合など）。

教育用標本作製：臓器の 3D モデル（CT 画像の STL データをもとにシェル分けして 3D プリンターで作製）透明化技術と動静脈からの色素注入、Sihler 染色、whole mount 免疫染色、骨軟骨染色など組み合わせる（自律神経系、心臓刺激伝導系の可視化、耳の構造など）

目標：ピロリドン固定解剖体を用いた臨床手技修練ストラテジーの構築

気腹操作や内視鏡挿入が可能であれば腹腔鏡手術、脳頭蓋底手術、腹腔鏡下移植腎摘出、エコーガイド下神経ブロック、中心静脈カテーテル挿入、挿管、マイクロサージェリーなどの手技を実践してみる。。

4. 研究成果

(1) ピロリドン固定解剖体（体重換算で最終濃度 10%）とホルマリン固定解剖体（5% ホルマリン液）を使用した。臍部皮膚を切開し、トラカールを腹腔内に挿入し、CO₂ ガスを注入して気腹操作を行った。CO₂ ガス注入前後の腹部の外観は、ホルマリン固定では腹部はほとんど広がらず、ピロリドン固定では大きく広がった。注入 CO₂ 量、気腹前後の腹部前後径と腹囲の変化はピロリドン群で有意に大きく、ピロリドン固定ではホルマリン固定に比較し組織が柔らかく、十分な気腹が可能であることが示された。気腹完了後、腹腔鏡カメラを挿入すると、全方向に自由に移動でき、腹部臓器（肝臓・肝鎌状間膜・胃・小腸・横行結腸・S 状結腸・膀胱・大腸）を明瞭に観察できた。また、下腹部に鉗子挿入用トラカールを挿入し、把持鉗子にて周囲臓器を動かして胆嚢と直腸を同定できた。以上より、ピロリドン固定解剖体での腹腔鏡手術手技トレーニングは実現可能性が高いと考えられた。

(2) 内視鏡を用いた経鼻的アプローチによる頭蓋底手術では、ピロリドン固定遺体 6 例中 4 例において、鼻腔の軟部組織が生体と同様に柔らかく保たれ、実際の手術と同等の術野が得られた。2 例においては組織が固く、手術操作が困難であった。一方、脳組織の操作には柔らかすぎる印象であった。脳神経外科における内視鏡を用いた経鼻的アプローチによる頭蓋底手術手技修練にも有用であることが示された。

(3) 従来、発声研究には動物やヒト fresh cadaver の摘出喉頭を用いた発声生理実験（吹鳴実験）が用いられてきた。今回、ピロリドン固定解剖体（体重換算で最終濃度 10%）とホルマリン固定解剖体（5% ホルマリン液）より摘出喉頭モデルを作製し、気管側から酸素を送気して喉頭原音

を産生する吹鳴実験を行った。高速度デジタル撮影により声帯の振動を観察したところ、ピロリドン固定喉頭標本では生体での振動に類似した周期的なしなやかな動きが観察され、喉頭原音も聴取された。ホルマリン固定標本では声帯の振動は観察されず、喉頭原音も生じなかった。このことから、発声のメカニズム研究や音声改善手術のトレーニングに有用であると考えられた。

(4)医療機器開発への応用として、エコーガイド下局所麻酔をより安全に行うために、先端よりエコーを発する穿刺針を開発した。ピロリドン固定遺体を用いて当該穿刺針を用いてエコーガイド下に胸腹部の深部神経ブロックを行い、穿刺針の先端が可視化されることを実証した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5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 Nagase M, Kimoto Y, Sunami E, Matsumura G.	4. 巻 95
2. 論文標題 A New Human Cadaver Model for Laparoscopic Training Using N-vinyl-2-pyrrolidone: A Feasibility Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anat Sci Int.	6. 最初と最後の頁 156-164
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12565-019-00494-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maruyama K, Yokoi H, Nagase M, Yoshida H, Noguchi A, Matsumura G, Saito K, Shiokawa Y.	4. 巻 59
2. 論文標題 Usefulness of N-vinyl-2-pyrrolidone Embalming for Endoscopic Transnasal Skull Base Approach in Cadaver Dissection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurol Med Chir (Tokyo).	6. 最初と最後の頁 379-383
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2176/nmc.oa.2019-0069	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishimoto M, Ohtsu H, Marumo T, Kawarazaki W, Ayuzawa N, Ueda K, Hirohama D, Kawakami-Mori F, Shibata S, Nagase M, Isshiki M, Oba S, Shimosawa T, Fujita T.	4. 巻 42
2. 論文標題 Mineralocorticoid receptor blockade suppresses dietary salt-induced ACEI/ARB-resistant albuminuria in non-diabetic hypertension: a sub-analysis of evaluate study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hypertens Res.	6. 最初と最後の頁 514-521
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41440-018-0201-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 竹田扇, 小田賢幸, 鶴川真也, 吉川雅英, 松村讓兒, 鈴木崇根, 小澤一史, 社本憲俊, 奥田佳介, 高碩航, 深谷一勤, 須澤綾友, 島田春貴	4. 巻 93
2. 論文標題 これからの医学教育に求められるもの：2018解剖学会ワークショップから	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本解剖学会雑誌	6. 最初と最後の頁 54-56
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishimoto Mitsuhiro, Ohtsu Hiroshi, Marumo Takeshi, Kawarazaki Wakako, Ayuzawa Nobuhiro, Ueda Kohei, Hirohama Daigoro, Kawakami-Mori Fumiko, Shibata Shigeru, Nagase Miki, Isshiki Masashi, Oba Shigeyoshi, Shimosawa Tatsuo, Fujita Toshiro	4. 巻 42
2. 論文標題 Mineralocorticoid receptor blockade suppresses dietary salt-induced ACEI/ARB-resistant albuminuria in non-diabetic hypertension: a sub-analysis of evaluate study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 514 ~ 521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-018-0201-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe K, Tokumine J, Lefor AK, Nakazawa H, Yamamoto K, Karasawa H, Nagase M, Yorozu T	4. 巻 11
2. 論文標題 Photoacoustic needle improves needle tip visibility during deep peripheral nerve block.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 8432
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-87777-9	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20件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 灰塚嘉典, 松村讓兒, 長瀬美樹
2. 発表標題 ピロリドンをを用いた脳および内臓固定.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長瀬美樹, 鈴木菜穂, 上野仁之, 灰塚嘉典, 松村讓兒
2. 発表標題 マウス・ラット腎臓の透明化と糸球体病変の三次元解析.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上野仁之, 村上徹, 栗田さち子, 松村讓兒, 岩崎広英, 対馬義人, 長瀬美樹
2. 発表標題 モバイル端末で利用可能な医用画像の自己学習用動画コンテンツ.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 澤田月杜, 灰塚嘉典, 上野仁之, 松村讓兒, 長瀬美樹
2. 発表標題 ヒメダカにおける透明標本の作製と骨格染色の試み.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤夏美, 白鳥太郎, 松田小太郎, 横山楓, 鈴木菜穂, 灰塚嘉典, 上野仁之, 松村讓兒, 長瀬美樹
2. 発表標題 回腸の腸間膜側に認められたメッケル憩室破格例.
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 専門医共通講習 医療倫理 解剖学研究における倫理.
3. 学会等名 第30回日本気管食道科学会認定気管食道科専門医大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田賢治, 宮方基行, 松村譲児, 長瀬美樹
2. 発表標題 上肢末梢血管の周囲に分布する末梢神経 ~ Sihler染色による解剖体の検討.
3. 学会等名 第 48 回杏林医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 五十嵐昂, 長瀬美樹
2. 発表標題 リポポリサッカライド (LPS) 誘発性急性腎障害モデルにおけるTRPV2の役割.
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 シンポジウム5 高血圧性臓器障害のメカノバイオロジー 腎臓のメカノバイオロジー.
3. 学会等名 第42回日本高血圧学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 腎臓病とメカノバイオロジー.
3. 学会等名 日本メカノバイオロジー研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 メカノセンサー分子Piezo1, Piezo2の腎臓における発現解析と、圧負荷による影響.
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木本裕介、松村譲児、長瀬美樹
2. 発表標題 ピロリドン固定解剖体における腹腔鏡下内臓観察 腹腔鏡手術手技修練への応用にむけて.
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木菜穂、灰塚嘉典、松村譲児、長瀬美樹
2. 発表標題 実習解剖体のピロリドン固定法における組織学的構造の観察
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 灰塚嘉典、長瀬美樹、松村譲児
2. 発表標題 ピロリドン固定マウスにおける関節可動域の測定
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 澤田月杜、灰塚嘉典、上野仁之、松村讓兒、長瀬美樹
2. 発表標題 総指伸筋における破格例の報告と支配神経の解析
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長瀬美樹、松村讓兒
2. 発表標題 腎系球体や心血管におけるメカノ感受応答機構の解析
3. 学会等名 第124回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高篠智、灰塚嘉典、北村修、長瀬美樹、松村讓兒
2. 発表標題 解剖実習体に対するホルマリンに代わる新しい固定液 (N-Vinyl-2-Pyrrolidone) について
3. 学会等名 第47回杏林医学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 腎臓における性差：疫学・統計学的視点からの捉え方
3. 学会等名 第48回日本腎臓学会東部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 メカノバイオロジーと血圧調節
3. 学会等名 第41回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長瀬美樹
2. 発表標題 肥満高血圧の病態、臓器合併症の分子メカニズム
3. 学会等名 第41回日本高血圧学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 松村讓兒	4. 発行年 2018年
2. 出版社 メディックメディア	5. 総ページ数 328
3. 書名 病気がみえるVol.9. 婦人科・乳腺外科 第4版	

1. 著者名 松村讓兒	4. 発行年 2018年
2. 出版社 メディックメディア	5. 総ページ数 456
3. 書名 病気がみえるVol.10. 産科 第4版	

1. 著者名 長瀬美樹	4. 発行年 2018年
2. 出版社 日本医事新報社	5. 総ページ数 271
3. 書名 高血圧症の9割は原因が特定できない本態性である in カラー図解 人体の細胞生物学	

1. 著者名 長瀬美樹	4. 発行年 2018年
2. 出版社 日本医事新報社	5. 総ページ数 271
3. 書名 糸球体濾過膜が障害されると蛋白尿、糸球体硬化が生じる in カラー図解 人体の細胞生物学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

https://www.kyorin-u.ac.jp/univ/graduate/medicine/education/departments/macro-anat/ 杏林大学：医学部：解剖学教室 http://www.kyorin-u.ac.jp/univ/faculty/medicine/education/labo/anatomy/ 杏林大学：大学院医学研究科：研究室・研究グループ紹介：解剖学教室 http://www.kyorin-u.ac.jp/univ/graduate/medicine/education/departments/anatomy/

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
研究分担者	長瀬 美樹 (Nagase Miki) (60302733)	杏林大学・医学部・教授 (32610)	

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
---------	---------