

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16295

研究課題名（和文）骨盤内リンパ管トレースシステムを用いた下部直腸肛門管リンパ管マップの開発

研究課題名（英文）Mapping of the anorectal lymphatic flow

研究代表者

佐藤 健太郎（Sato, Kentaro）

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90791715

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、直腸癌手術症例に対する術中ICG蛍光法および死後早期解剖体に対する墨汁注入法という2種類の手法を用い、下部直腸肛門管から肛門挙筋表面に広範囲に広がるリンパ流を観察した。下部直腸肛門管領域のリンパ流はこれまで中直腸動脈に沿った側方リンパ節領域へのリンパ流しか解析されておらず、本研究で同定したリンパ流は過去に報告がない新規のリンパ流の経路であった。本研究の結果は今後の直腸癌治療戦略の構築に寄与すると考えられ、臨床的意義は高いと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行下部直腸癌治療において、局所再発率の改善が課題であり、集学的治療など様々な治療が試みられている。下部直腸肛門管領域のリンパ流に関しては不明な点が多く、本研究では骨盤底、特に肛門挙筋表面に広範囲に広がるリンパ流が示唆された。本研究により、解剖学的観点から治療方針を考察することが可能になると考えられる。手術治療のみではこの広範なリンパ流による腫瘍進展を制御することは困難であり、術前療法を中心とした集学的治療が妥当である可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to analyse the functional lymphovascular network and tissue drainage in the anorectal region. We performed microanatomical evaluations with India ink injection using fresh cadaver, and performed intraoperative indocyanine green fluorescence imaging analysis for patients with rectal cancer. Results of these analyses suggested a widespread functional lymphatic flow between rectal muscle fibres and the surface of levator ani muscle.

研究分野：消化器外科

キーワード：下部直腸 肛門管 リンパ流 ICG蛍光法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

局所進行下部直腸癌の他臓器浸潤や側方リンパ節転移例は領域内リンパ行性進展をすると想定されることから、リンパ節郭清が効果的であるとされる。とくに直腸から中直腸動脈を介して内腸骨動脈領域に広がるとされる側方リンパ領域に対して行われる側方リンパ節郭清は、日本を中心に行われているものの、側方転移例における局所制御効果は低く、高率に局所再発がみられ、また予後延長効果も示されていない。また、利点である局所制御効果に比べ、排尿障害や神経障害などの機能障害の問題が多い点も問題となっている。欧米では側方リンパ節郭清は標準治療ではなく、術前化学放射線療法などの術前治療を中心に治療戦略を構築しており、局所再発率の改善がみられるものの、こちらも生存率の改善には至っていない。今後局所進行下部直腸癌の長期成績を向上させるためには、確固たるエビデンスに基づいた新規の治療戦略の開発が求められるが、そのためには進行癌の転移ルートを照らし出せるナノ～マクロレベルに至る下部直腸肛門管を中心としたリンパ管システムのマッピングが不可欠である。これまで直腸系のリンパ管については、ヒトのリンパ節配置に関連した肉眼レベルの大まかな構成が知られるのみであり、リンパ流に基づくその詳細な構築と初期転移ニッチを含めた下部直腸リンパ管系の機能構造についての情報はほとんどないため、治療戦略の構築に向けた解剖学的データは不十分な状態である。

### 2. 研究の目的

本申請研究では上述した進行下部直腸癌の治療における問題点を考察し、下部直腸癌に対する治療戦略を構築するため、ヒト下部直腸肛門管のリンパ管系の地図 (anorectal lymphatic system map; ARLSMAP) をリンパ流トレースシステムと分子形態学的手法を用いて解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、死後早期解剖体・直腸切除標本に対する墨汁注入法および直腸癌手術症例に対する術中 ICG 蛍光法という 2 種類の手法を用い、下部直腸肛門管から肛門拳筋表面に広範囲に広がるリンパ流を観察した。いずれの手法においても、リンパ管トレーサー (インドシアニングリーン: ICG、墨汁) は肛門管粘膜下層に注入した。墨汁注入法は死後早期解剖体および手術切除標本に対し肛門管粘膜下層に墨汁を注入し、その広がりからリンパ流を解析する方法である。肛門管直上、前壁、左右側壁、後壁に墨汁を注入後、ホルマリン固定、パラフィン化を行い肛門管周囲の切片を作成し、微細解剖学的構造およびリンパ管、微小血管の分布について、墨汁の分布と免疫染色を基に顕微鏡的に機能的脈管ネットワークを解析した。術中 ICG 蛍光法は、全身麻酔導入後、手術開始直前に肛門管直上、前壁、左右側壁、後壁に ICG を注入後に墨汁を注入し、術中の骨盤内操作の際に後直腸縦走筋および肛門拳筋周囲のリンパ流を腹腔鏡の近赤外光カメラシステムで観察した。

### 4. 研究成果

粘膜下層墨汁注入法において、作成した切片の顕微鏡下観察では肛門拳筋表面に筋膜 (後壁: Hiatal ligament、側壁: Endopelvic fascia) を認め、これらの筋膜内には直腸縦走筋から分枝した平滑筋線維を認めた。免疫染色で観察すると Hiatal ligament および Endopelvic fascia

内に毛細リンパ管および墨汁を取り込んだ静脈を認めた。また静脈に沿った perivascular space にも墨汁取り込みを認めた。Perivascular space はリンパ液の通液路とされており、同部に墨汁をみとめたため、肛門管粘膜下層から肛門拳筋表面に広がるリンパ流が示唆された。また、術中 ICG 蛍光法では、直腸縦走筋から肛門拳筋表面の Hiatal ligament、Endopelvic fascia に連続するリンパ流と考えられる索状の蛍光を認めた。

上記のごとく、墨汁注入法、術中 ICG 蛍光法観察を用いた観察では、下部直腸肛門管から肛門拳筋表面に広範囲に広がるリンパ流が示唆された。下部直腸肛門管領域のリンパ流はこれまで中直腸動脈に沿った側方リンパ節領域へのリンパ流しか解析されておらず、他の経路に関してはこれまで同定されてこなかった。本研究で同定したリンパ流は過去に報告がない新規のリンパ流の経路であり、下部直腸癌における骨盤内再発のルートである可能性も考えられる。側方リンパ節領域へのリンパ流以外にも直腸から骨盤底に広がる広範囲のリンパ流が示唆されたため、側方リンパ節郭清のみでは不十分であり、術前化学放射線療法に代表される術前療法を中心とした集学的治療の重要性が高いことが示唆された。また、直腸切断術における切除範囲の設定も再考を要すると考えられた。このように、本研究の結果は今後の直腸癌治療戦略の構築に寄与すると考えられ、臨床的意義は高いと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sato Kentaro, Shimoda Hiroshi, Miura Takuya, Sakamoto Yoshiyuki, Morohashi Hajime, Watanabe Seiji, Narita Hirokazu, Mitsuhashi Yuto, Umemura Kotaro, Hakamada Kenichi	4. 巻 23
2. 論文標題 Widespread anorectal lymphovascular networks and tissue drainage: analyses from submucosal India ink injection and indocyanine green fluorescence imaging.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Colorectal Disease	6. 最初と最後の頁 1334-1345
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/codi.15582	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 -

1. 著者名 Sato Kentaro, Miura Takuya, Sakamoto Yoshiyuki, Morohashi Hajime, Hakamada Kenichi	4. 巻 41
2. 論文標題 Fascial Organisation and Lymphatic Systems Around the Pelvic Floor: A Literature Review.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4705-4714
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.15284	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤健太郎, 三浦卓也, 坂本 義之, 諸橋 一, 石戸圭之輔, 木村憲央 脇屋太一, 室谷隆裕, 三橋佑人, 梅村孝太郎, 下田浩, 袴田健一
2. 発表標題 肛門管周囲微細解剖およびICG蛍光法から考察する下部直腸癌局所切除術の妥当性
3. 学会等名 第18回日本消化器外科学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤健太郎, 三浦卓也, 坂本義之, 諸橋一, 成田大一, 高橋一人, 三橋佑人, 梅村孝太郎, 下田浩, 袴田健一
2. 発表標題 肛門管・外肛門括約筋・肛門拳筋の微細リンパ流解析から考察する括約筋間切除術の適応
3. 学会等名 第17回日本消化器外科学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤健太郎、三浦卓也、坂本義之、諸橋一、三橋佑人、鶴田覚、神田大周、久保田隼介、藤田博陽、萩原悠介、袴田健一
2. 発表標題 肛門管周囲微細リンパ管解剖と術中ICG蛍光法によるリンパ流観察から考察する括約筋間直腸切除術の適応
3. 学会等名 第32回日本内視鏡外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤健太郎
2. 発表標題 解剖体微細解剖から考察する女性下部直腸癌手術における前壁剥離ライン
3. 学会等名 第31回日本内視鏡外科学会総会
4. 発表年 2018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
---------	---------