特集／ティッシュウェルディング

肝臓外科におけるレーザー血管吻合 －臨床応用の可能性と問題点－

Laser-assisted vascular anastomosis in liver surgery
possibility of clinical application and it's problem

佐々木宏和, 森本 泰介

京都大学医学部第二外科

熊田 馨*

昭和大学藤ヶ丘病院外科*

Hirokazu SASAKI, Taisuke MORIMOTO and *Kaoru KUMADA

Second Department of surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

*Department of Surgery, Showa University, Fujigaoka Hospital

要 旨

ラット70%肝切除が、動脈吻合部創傷治癒に及ぼす影響を顕微鏡下に行ったレーザー吻合と従来の手縫い吻合とで比較検討した。レーザー吻合は、吻合部耐圧力、動脈瘤出現率において手縫い吻合と有意差無く、吻合部石灰化出現率に関しては、レーザー吻合の方が有意に低値を示した。以上の結果より、レーザー吻合は、拡大肝切除術時においても血管吻合の有用なオプションの一つになりうると推察された。レーザー吻合を肝臓外科手術、特に肝臓移植に導入するにあたっては、口径、壁の厚さ、性状の違う血管の吻合をいかに行うかという問題の解決が必要である。

キーワード：アルゴンレーザー、顕微鏡下血管吻合、肝切除、創傷治癒

Abstract

The influence of 70% hepatectomy on the healing process of arterial anastomosis was investigated in rats who underwent arterial reconstruction by the microscopic surgical techniques of laser-assisted vascular anastomosis(LAVA)and conventional sutured vascular anastomosis(CSVA). In bursting pressure and incidence of aneurysm formation at the anastomotic site, there was no significant difference between LAVA and CSVA. Incidence of calcification at the anastomotic site was significantly lower in LAVA than in CSVA. It was concluded that LAVA would be a useful option in vascular anastomosis, even during extended hepatectomy.

Anastomosed vessels, especially for liver transplantation, are often different in diameter, wall thickness or nature. These specific situation are problematic and its investigation is mandatory for the clinical application of LAVA.

Key Words : Argon laser, microsurgery hepatectomy, wound healing, arterial anastomosis.

【はじめに】

1960年 Maiman によるレーザーの開発後、1961年には早くも医学分野に応用され、1979年に Jain et al. (1) が Neodymium-YAG レーザーを用いて血管創の修復を行って以来、血管吻合にも応用されるようになった。1985年には Okada et al. (2) が臨床での初の成功例を報告し、それ以降心臓血管領域では多数の臨床応用がなされているが、その他の領域では臨床応用へ向けての基礎実験がなされている段階である。ところで、腹部内臓の血管吻合に焦点をあててみると、血行再建術がもっとも重要な要素となる臓器移植、特に肝臓移植においては、肝静脈、門脈、肝動脈吻合の成否は移植手術全体の成否をも左右する。さらに近年、肝胆膵外科領域に於いても、悪性疾患に対する高い根治性を求めた拡大手術に伴った血行再建術の重要性が強調されている。あたらしい吻合手技であるレーザー血管吻合の技術をこれらの領域に導入するにあたっては、動脈吻合部治癒過程や吻合部強度などを他領域と同様に理解することは危険である。特に肝切除は時には致死性であるなど生体条件に大きな影響を与えるので、肝切除条件下に別途に検討することが必要である。そこで、実験的に肝切除の、動脈吻合部治癒過程に及ぼす影響をレーザー吻合と従来の手縫い吻合とで比較検討し、この結果からレーザー吻合による血管再建の肝臓外科領域への導入の可能性及び問題点を考察する。

【対象・方法】

ウィスター系雄性ラット (250-320 g, 平均300 g) を用い、pentobarbital sodium (Nembutal 50mg/kg体重) 腹腔内投与による全身麻酔下、正中切開により腹部大動脈を露出した。顕微鏡下に腎動脈下腹部大動脈を周囲組織より剥離し、微小血管用血管鉗子を15mm程の間隔でかけ、離断した。血管内腔の血液を生理食塩水で洗浄した。吻合は従来からの手縫いによるもの (CSVA) とレーザーを用いたもの (LAVA) の二種類で行った。CSVA 群では、10-0ナイロンを用いた8針結節縫合で、又、LAVA 群では、同じ10-0ナイロンを用いた4点支持縫合のもと血管断端を正確に合わせ、アルゴンレーザー光 (Aigral PC, MEE648 developed by Mochida Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan) を支持糸間に照射した。レーザー光は、光ファイバー (直径600 μ m) により手術用顕微鏡 (KAPS SOM 62 Operating Microscope, West germany) にセットされたマイクロマニピュレーターに導かれ、血管吻合部に照射された。レーザーの波長は450-520nm でスポット径150 μ m,

出力500mW, 一回照射時間500msec, 10回反復照射 (約2800W/cm²) を全周に施行した。尚70%肝切除併施の有無により、対象は以下の4群に分けられた。

- 1) 70%肝切除併施 CSVA…………CS-H群
- 2) CSVA…………CS群
- 3) 70%肝切除併施 LAVA…………LA-H群
- 4) LAVA…………LA群

吻合部血管は、術後6時間或いは、3, 7, 14, 21, 28日目に再開腹し吻合部を中心に15mm程を摘出し、以下の評価を行った。また、nは各測定点で5である。

(1) 抗張力

摘出標本の一端を固定し他端に軽量の容器をつるし、インフュージョンポンプを用い、水を30ml/minの速さで容器内に注入した。吻合部が離断された時の重量を抗張力とした。

(2) 耐圧力

摘出標本の一端を結紮し、他端には圧力記録機とインフュージョンポンプを接続した耐圧チューブをカニューレションした。生理食塩水を0.3ml/minの速度で注入し、圧力が急に下がった時又は針穴からの漏出が認められプラトーになった時の圧力を耐圧力とした。

(3) 光顕検索 (組織、動脈瘤、石灰化、吻合部浸潤細胞数)

10%ホルマリンで固定された吻合部の縦切り切片を Hematoxylin-eosin (HE) で染色した。吻合部の動脈瘤と石灰化出現率を測定した。動脈瘤は、内腔が1.5倍以上拡張しているものとした。吻合部外膜 (200 μ m)²中の全細胞数を最も細胞密度の高い部位で測定し、核の数を測定することにより細胞数とした。測定は、デジタルイメージプロセッシングシステムを用いて行った。Personal image analyzing system (PIAS, LA-555, PIAS Co., Ltd., Osaka, Japan) に接続された高解像度 CCD カメラで検出された顕微鏡像は、パーソナルコンピューター (PC9801, NEC, Tokyo, Japan) で分析された。核の輝度によりデジタル画像の域値を決定し、2値化及びノイズ消去の画像処理を行い、単位面積当りの細胞数を求めた。以上の画像処理は、PIASの teaching commandを用いて、半自動的に行った (3-5)。

値は means $\pm$ SEM で表し、動脈瘤及び石灰化出現率以外は one-way ANOVA で、動脈瘤及び石灰化出現率は chi-square test で統計処理した。p<0.05を有意差ありとした。

【結果】

(1) 抗張力試験 (図1)

LA 群は CS 群に比べ、また LA-H 群は CS-H 群に

図-1 吻合部抗張力試験 (20より引用)

- a : $p < 0.05$ レーザー群對手縫い群
 b : $p < 0.05$ 手縫い群対肝切除+手縫い群
 c : $p < 0.05$ レーザー群対肝切除+レーザー群
 d : $p < 0.05$ 肝切除+レーザー群対肝切除+手縫い群
 n : 各測定点で5

図-2 吻合部耐圧力試験 (20より引用)

- a : $p < 0.05$ レーザー群對手縫い群
 b : $p < 0.05$ 手縫い群対肝切除+手縫い群
 c : $p < 0.05$ レーザー群対肝切除+レーザー群
 n : 各測定点で5

図-3 7日目の吻合部顕微鏡所見 (20より引用)

- A : 手縫い群 B : 肝切除+手縫い群 C : レーザー群 D : 肝切除+レーザー群
 上方が内膜側, 100倍

図-4 28日目の吻合部顕微鏡所見 (20より引用)

A : 手縫い群 B : 肝切除+手縫い群

C : レーザー群 D : 肝切除+レーザー群

上方が内膜側, 100倍

比べ全経過を通じ有意に低い抗張力を示した。LA-H群はLA群に比べ3日目で、CS-H群はCS群に比べ3、7日目で有意に低値を示した。

(2) 耐圧力試験 (図2)

LA群は3、7日目でCS群に比べ有意に低い耐圧力を示したが、LA-H群とCS-H群間には、有意差は認められなかった。LA-H群はLA群に比べ3日目で、CS-H群はCS群に比べ3、7日に有意に低値を示した。

4週では4群とも測定限界の1000mmHgを越えた為測定不能であった。

(3) 光顕検索

① 組織

(1) 1週目

内皮細胞のライニングは4群とも1～2週で完成するが、内皮細胞の脱落の範囲がLA群の方がCS群より広い分やや遅れる。又、LA-H群はLA群より、CS-H群はCS群よりごく軽度遅れる。intimalhyperplasiaは4群とも出現する。CS-H群に中膜の石灰化が認められる (矢印)。外膜に於いてリンパ球優位で一部組織球を含む炎症性細胞浸潤が4群とも認められる。肉芽のサイ

ズ及び細胞密度は4群とも1週目が最大であり、LA群はCS群より、LA-H群はLA群より、又、CS-H群はCS群より軽度である。外膜のヒアリン変性及び壊死は4群とも認められる。(図3)

(2) 4週目

中膜の壊死部は4週でも4群とも再生されていないが、壊死部の菲薄化した中膜層がintimalhyperplasiaにより維持されている。石灰化が中膜を中心にLA-H群とCS-H群に認められる (矢印)。外膜の肉芽は、LA群では消退しているがCS群では消退していない。(図4)

②吻合部動脈瘤 (図5)

吻合部動脈瘤出現率は、LA群の方がCS群に比べ有意に高率であるが、LA-H群とCS-H群間に有意差は認められなかった。CS-H群はCS群に比べ有意に高率であった。

③吻合部石灰化 (図6)

吻合部石灰化出現率は、LA群とCS群間には有意差は認められなかったが、LA-H群はCS-H群に比べ有意に低率を示した。LA-H群はLA群に比べ、又、CS-H群はCS群に比べ有意に高率であった。

図-5 吻合部動脈瘤出現率 (20より引用)

図-6 吻合部石灰化出現率 (20より引用)

④吻合部外膜の単位面積 ($200\mu m$)²あたりの細胞数 (図7)

4群とも1週が最も細胞数が増加し、その後減少し、3週から4週にかけ横ばいとなる傾向を示した。

LA群は3日目以降CS群に比べ有意に低値を示したが、LA-H群とCS-H群間には有意差は認められなかった。CS-H群はCS群に比べ3、7日目で有意に低値を示した。

【考察】

レーザー吻合は、従来の手縫い吻合に比べ、吻合時間は短縮され(6-8)、縫合糸が少ない為縫合糸による異物反応が軽度で過剰の肉芽形成が無く、より生理的な治癒が得られる(6)といった長所がある反面、吻合部強度が弱いという短所(9)がある為、host conditionが低下している場合は、別途に吻合部創傷治癒状態の検討が必要と考えられる。

一般的に創傷の治癒過程は、浸出期、増殖期、成熟期に分類される。浸出期は、損傷に対する微小循環系の反応や炎症性細胞の局所への浸出が中心となって起こる。即ち、多形核白血球、次いで組織球、リンパ球などが出現し、術後早期の創傷治癒過程に重要な役割を果たしていると考えられている(10)。

組織球は創傷治癒に欠くことの出来ない細胞であり、局所で成熟してマクロファージとなる。フィブリンを分解し、線維芽細胞の増殖因子を分泌するなど肉芽形成に重要な役割を果たしている(11)。リンパ球は浸出期に、線維芽細胞増殖因子や、内皮細胞増殖因子を放出し、血管内皮細胞や線維芽細胞が創傷部に増加することが知られ

図-7 吻合部外膜における細胞密度 (20より引用)

a : p < 0.05 レーザー群対手縫い群

b : p < 0.05 手縫い群対肝切除 + 手縫い群

n : 各測定点で5

ている(12)。

本実験において、吻合部の炎症及び肉芽形成の程度(強弱、範囲、持続時間)は4群で異なるが、創傷治癒に関連する細胞の障害局所への基本的出現パターン及び構成細胞の比には殆ど差が認められない。よって単位面積当りの各種細胞総数の経時的な比較は各群の創傷治癒障害の程度を知る指標として有用であると考えられる。LA群は、CS群に比べ全経過とも有意に細胞数が少ないが、

これは LA 群は縫合糸という異物が少ないことによる。これが LA 群でより生理的な治癒が得られるかわり強度的に弱い理由の一つと考えられる。又、いずれの吻合とも70%肝切除を加えると全経過を通じ細胞数が減少する。創傷治癒の第一段階である浸出期の炎症性細胞の浸潤数が、増殖期の線維芽細胞数にも影響し、結局全経過の細胞数を規定することになると考えられる（創傷治癒障害は、浸潤細胞数の減少のみではなく、細胞一つ一つの機能の低下も関係してくるものと思われる）。

吻合部強度に関して、レーザー吻合の抗張力は手縫い吻合より弱い、耐圧力は十分な強度を有すると言われている¹³⁾。本実験に於いても同様の結果が得られた。70%肝切除を加えると、レーザー、手縫い吻合とも抗張力、耐圧力が有意に低下したことより、物理的には創傷治癒が障害されていることが認められた。

レーザー吻合の問題点の一つとして、吻合部動脈瘤の発生が報告されている。その頻度は0-30%程度⁽¹⁴⁻¹⁶⁾で報告者により異なるが、手縫い吻合より高率と言われている。本実験に於いてもレーザー吻合の方が手縫い吻合に比べ有意に高率であった。70%肝切除を加えると、手縫い吻合は動脈瘤発生率は有意に増加した。これは、手縫い吻合の場合、70%肝切除を加えると細胞数が有意に減少したと関連があると思われる。

又、吻合部石灰化出現率が70%肝切除を加えることにより有意に増加するという興味ある事実を認めた。これは異栄養性石灰化であり、我々が臨床的にしばしば遭遇する壊死組織の石灰化、例えば結核結節の石灰化、腓脂肪壊死組織の石灰化、さらに癌病巣の石灰化は総じて異栄養性石灰化と言われている。Maki et al.¹⁷⁾は、異栄養性石灰化の機序として、壊死組織への血流が豊富な時には組織化が起りやすく、血流に乏しくコラーゲン繊維の生成が十分にできない場合に、その代償として組織化の subtype として石灰化が起ると述べている。つまり、石灰化出現率の増加は、吻合部創傷治癒障害が生じていることの指標にもなると考えられる。

70%肝切除を行うと、創傷治癒の第一段階である浸出期の正常な反応を阻害し、ひいては増殖期の肉芽形成も阻害する。その結果動脈吻合の治癒を吻合法の如何を問わず障害させる。肝切除を行った時、レーザー吻合が手縫い吻合に劣るのは唯一抗張力のみであるが、とくに吻合部破裂が見られなかったことから抗張力も實際上充分と考えられる。以上の実験結果から考えると、レーザー血管吻合は、創傷治癒の遷延を伴う肝切除術に於いても十分に臨床応用が可能であると考えられ、将来、血管吻合の有用な option の一つとなりうると推察された。

【将来への展望】

70%肝切除程度の侵襲が生体機能の種々の面に細胞レベルで障害を与えるが^(18, 19)、日常の臨床で遭遇する黄疸、肝硬変、慢性肝炎といった病態においても今後同様に検討する必要があると考えられる。さらにレーザー吻合を実際の肝臓外科手術に導入するに当たっては、例えば肝臓移植の場合、donor と recipient の肝動脈の口径、血管壁の厚さが大きく異なることが多く、あらかじめ血管壁断端同志を正確に合わせることが重要なレーザー吻合にとって、克服すべき手技上の問題点であると言える。また、免疫抑制剤がどのような影響を及ぼすかについても解明されていない。尚、レーザー装置自体についても、血管吻合に最適な機種選択は、依然として controversial である。血管壁にレーザーを照射する場合、レーザーの血管壁透過性が問題になるが、波長による組織深達度、水に対する吸収率が、アルゴン、CO₂、Nd-YAG、半導体、エキシマなどでそれぞれ異なるため、内膜損傷をできるだけ避けるには、血管壁の厚さ、性状によりレーザーの種類、出力および照射時間等を至適なものにする必要がある。今後、波長を自由に選択でき、また操作の簡単なレーザー装置の開発や臨床応用に向けた基礎的知見の集積も待たれるところである。

文献

1. Jain KK : Repair of small blood vessels with the Neodymium-YAG laser. *Surgery* 1979 ; 85 (6) : 684-688.
2. Okada M, Shimizu K, Ikuta H, et al. : An alternative method of vascular anastomosis by laser : Experimental and clinical study. *Lasers Surg Med* 1987 ; 7 : 240-248.
3. Tatsuka M, Jinno S, Owada K, Kakunaga T : A digital image processing system for quantitating dynamic morphology in cultured mammalian cells. *Exp Cell Res* 1989;185:342-352.
4. Unno W, Ohno T, Mitsui H, Nishino T, Tsuji T : Image processing of fossil growth patterns for paleo-geochronology. *Sci Tech* 1990; 2 : 59-65.
5. Ohara S, Masaki I, Kiguchi M, Koyama K, Unno W : Morphology of distant galaxies. *Sci Tech* 1990 ; 2 : 67-76.
6. Ashworth EM, Dalsing MC, Olson JF, Hoagland WP, Baughman S, Glover JL : Large-

- artery welding with a milliwatt carbon dioxide laser. Arch Surg 1987 ; 122 : 673-677.
7. Jain KK: Sutureless microvascular anastomosis using a Neodymium-Yag laser. J Microsurg 1980 ; 1 : 436-439.
  8. Krueger RR, Almquist EE: Argon laser coagulation of blood for the anastomosis of small vessels. Lasers Surg Med 1985 ; 5 : 55-60.
  9. Kiyoshige Y, Tsuchida H, Hamasaki M, Takayanagi M, Watanabe Y: CO₂ Laser-assisted microvascular anastomosis: Biomechanical studies and clinical applications. J Reconstr Microsurg 1991 ; 7 : 225-230.
  10. Boucek RJ: Factors affecting wound healing. Otolaryn Clin North Am 1984 ; 17 : 243-264.
  11. Leibovich SJ, Ross R: The role of macrophage in wound repair-A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. Am J Pathol 1975 ; 78 : 71-91.
  12. Grotendorst G: Can collagen metabolism be controlled ? : Trauma 1984 ; 24 : 49-54.
  13. Nakata S, Campbell CD, Pick R, Replogle RL: End-to-side and end-to-end vascular anastomosis with a carbon dioxide laser. J Thorac Cardiovasc Surg 1989 ; 98 : 57-62.
  14. Kuroyanagi Y, Taguchi M, Yano T, Jones DN, Shionoya S: Argon laser-assisted anastomosis in medium-size vessels: One-year follow-up. Lasers Surg Med 1991 ; 11 : 223-231.
  15. Quigley MR, Bailes JE, Kwaan HC, Cerullo LJ, Brown JT: Aneurysm formation after low power carbon dioxide laser-assisted vascular anastomosis. Neurosurg 1986 ; 18 : 292-299.
  16. McCarthy WJ, LoCicero J, Hartz RS, Yao JST: Patency of laser assisted anastomosis in small vessels: One-year follow-up. Surgery 1987 ; 102 : 319-326.
  17. Maki T, Suzuki N, Takahashi W, Okada M, Yabuki K: The mechanism of calcification in necrotic foci and its biological significance. Tohoku J Exp 1972 ; 107 : 57-71.
  18. Kiuchi T, Shimahara Y, Ozawa K, Mori K, Inamoto T, Kobayashi N, Tanaka K, Yamaoka Y, Kumada K: Arterial ketone body ratio during hepatectomy: Potential utility as an indicator of surgical stress. Surg Res Comm 1992 ; 12 : 81-91.
  19. Ukikusa M, Ozawa K, Shimahara Y, Asano M, Nakatani T, Tobe T: Changes in blood ketone body ratio: their significance after major hepatectomy resection. Arch Surg 1981 ; 116 : 781 : 785.
  20. Sasaki H, Higashiyama H, Kumada K, Morimoto T, Takeuchi E, Ozawa K: A comparison of laser-assisted versus conventional vascular anastomosis in 70% hepatectomized rat model. Eur Surg Res ; in press.