

学 位 論 文 題 名

Nd:YAG レーザーによる小動脈吻合に関する基礎的研究

学位論文内容の要旨

1. 研究目的

レーザー血管吻合法はレーザー光熱反応による組織凝固作用を利用するもので、従来の手縫いによる血管吻合に比べて吻合時間が短く、組織治癒、開存率の点で優れている点が注目され、主に低出力炭酸ガスレーザーを用いた臨床応用が行われている。Nd:YAGレーザーは汎用性があり、操作性に優れ、しかも低出力でパルス照射が可能である等多くの利点を有している。本研究ではNd:YAGレーザーを用いたイヌ総頸動脈吻合を行い、吻合の至適条件を確立するとともに、吻合部の形態学的、生化学的、物性的特性を調べ、従来の手縫いによる血管吻合と比較検討した。

2. レーザーの至適照射条件の検討 (予備実験)

イヌ総頸動脈血管壁にレーザー出力(W)、時間(秒)、回数(pulse, 照射間隔 0.5秒)を変えて照射し、照射部位の温度変化、肉眼および組織学的変化を観察した。これらの観察は、照射部位を変えて3回以上繰り返し実施し、再現性を確認した。レーザー照射部位の温度測定には日本電気三栄社製サーモトレーサー6T67を用いた。肉眼的検索は、照射部位の色調の変化、炭化、蒸散による組織欠損の程度および貫通による出血の有無等を観察した。組織学的検索は、光顕的变化(HE、EVG)を観察した。

本レーザー装置の至適照射条件として、(1)肉眼的に軽度の炭化が見られ、(2)照射部位の温度がコラーゲンに障害を与え、吻合成績が低下するといわれる60℃を超えずに、(3)病理組織学的に組織の欠損が少なく外膜の凝固が認められた時の条件とした。これら三条件を満たす照射条件は出力5W、照射時間0.1秒、3回照射であった。

3. 材料と方法

実験動物：体重10kg前後の健康な雑種成犬25頭を用いた。

血管吻合：両側総頸動脈を約7cm剥離，露出したのち鋭利な眼科剪刀を用いて3cmの長さの血管を切離し，レーザー吻合と従来の手縫い吻合による端々吻合を行った。

片側は中枢側をレーザー吻合，末梢側を手縫い吻合，対側はその逆の方法で吻合した。レーザー吻合は 7-0 Polypropylene糸を用いて4ないし6箇所 of 支持糸を置き、切断面を正確に密着させた。支持糸を相反する方向に牽引して、その間の血管断端にレーザーチップを接触させ、照射接合した (n=50)。対照として 7-0 Polypropylene糸を用いた連続縫合による手縫い吻合 (n=50) を行った。レーザー装置は LaserSonics社製 Model 6000を使用し、血管への照射は先端径0.6mmの拡散型セラミックスチップ (LT10-08) を用いて接触法で行った。

形態学的検討：直径2.2mmのファイバースコープを用いた血管内視鏡観察

(吻合後30日、n=3、光学顕微鏡観察 (吻合後1時間、7日、14日および 30日、各n=3) および走査型電子顕微鏡観察 (吻合後30日、n=3) を行った。

生化学的検討：色素結合法を用いた血管組織コラーゲン簡易微量測定法により吻合部 (吻合後14日、各n=6) および健常部の血管のコラーゲン量 (μg) およびコラーゲン濃度 ($\mu\text{g coll./mg pr.}$)を算出した。物性的検討：抗張力

(吻合後1時間、7日、14日、21日および30、各n=6)、耐圧性 (400mmHgで10分間放置、吻合後30日、n=5) および弾性特性 (stiffness parameter β 、吻合後30日、n=5) について行った。

4. 結 果

1) 開存性：レーザー吻合群、手縫い群ともに50例全て開存し、動脈瘤様変化や拡張は認めなかった。

2) 吻合部の形態学的特徴：血管内視鏡、光顕および走査電顕観察から、レーザー吻合は手縫い吻合よりも内皮形成が早く (7日)、組織反応も少なく、平滑で良好な治癒状況が認められた。

3) 生化学的検討：レーザー吻合部のコラーゲン量 (1.29 ± 0.11) は、手縫い吻合部 (1.39 ± 0.19) とほぼ同値であったが、コラーゲン濃度は (23.18 ± 5.80) と手縫い吻合部 (15.81 ± 2.18) に比べ有意 ($P < 0.01$) に高かった。

4) 物性的検討：レーザー吻合部の抗張力 (32%) は、吻合7日後では手縫い吻合部 (85%) より低値であったが、14日目には有意差は消失し、その後逆転して30日後には高値 (82%) を示した。耐圧試験では、両群とも破裂

なく、負荷圧を維持した。レーザー吻合部のstiffness parameter β (31.7 ± 6.2) は、手縫い吻合部 (49.4 ± 7.5) に比べ有意 ($P < 0.05$) に低く、高いコンプライアンスを示した。

5. 考 察

レーザー吻合部の血管は、全て開存し、動脈瘤様変化や拡張のない良好な成績が得られた。これは、血管照射部位の温度や組織学的変化を十分考慮した至適照射条件を採用することで、Nd:YAGレーザーが、CO₂レーザーに比べて組織深達度が強いことから危惧されている内膜や中膜の傷害を回避できたためと考えられた。

レーザー吻合部では、血管内視鏡、光顕、操作電顕観察により、内皮形成が早く、組織反応の少ない、平滑で連続性の良好な治癒状況が認められた。レーザー吻合部の組織コラーゲン濃度が手縫い吻合部に比べて、吻合早期に著しく増加していることから、組織修復が限局した範囲で効率良く進められるものと考えられた。

レーザー吻合部の抗張力は、手縫い吻合に比べて吻合早期において弱かったが、これは従来の手縫い吻合が縫合糸により血管の両断端を絞扼密着させるのに対し、レーザー吻合では、血管の断端の接合が蛋白凝固による膠着によるためである。しかし、吻合14日には相互の有意差は消失しその後は逆転し、正常部に近い高値を示した。また、弾性も有意に高かった。このことは、レーザー吻合部の組織修復が速やかに進むことを示しており、逆に手縫い吻合では、吻合部の異物としての縫合糸の存在や絞扼により生ずる壊死塊の存在が組織修復を遅らせ、物性面で劣る結果をもたらしているものと思われる。

小動脈血行再建手術においては、遠隔期における吻合部の内膜肥厚が大きな問題となっており、その機序として吻合部コンプライアンス変化が指摘されている。レーザー吻合では、良好なコンプライアンスが保持されており、内膜肥厚阻止の面からも期待が持たれる。

6. 結 語

レーザー吻合では、吻合早期の抗張力は弱いですが、手縫い吻合に見られる縫合糸絞扼による広範囲な組織壊死が生じなかった。また、縫合糸などの異物が介在しないために炎症性変化が少なく、組織修復が限局した範囲で効率良く進み、組織構造や物性の面で早期に正常部に近い状態に回復するものと考え

えられた。汎用性があり、操作性のよいNd:YAGレーザーを用いたレーザー血管吻合法は、組織治癒が良好で小動脈の吻合に有用である。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 安 田 慶 秀

副 査 教 授 阿 部 弘

副 査 教 授 加 藤 紘 之

学 位 論 文 題 名

Nd:YAG レーザーによる小動脈吻合に関する基礎的研究

目 的

レーザー血管吻合法はレーザーの光熱反応による組織凝固作用を利用するもので、とくに細小動脈の血行再建において注目され、主として炭酸ガスレーザーを用いた研究がなされてきた。Nd:YAGレーザーは、炭酸ガスレーザーよりも組織深達度が強く、操作性に優れ、汎用性があるが、基礎的研究が十分なされていない。本研究は、小動脈吻合応用におけるNd:YAGレーザーの至適照射条件を確立するとともに、吻合部の形態学的、生化学的、物性的特性を検討することを目的とした。

材料と方法

1. レーザーの至適照射条件の検討

イヌ総頸動脈に対し、LaserSonics社製Nd:YAGレーザーModel 6000を用い、レーザー出力(W)、時間(秒)、回数(照射間隔0.5秒)を変え照射した。照射は、先端径0.6mmの拡散型セラミックスチップを用いて接触法で行った。照射部位に対し、サーモトレーサーによる温度変化、肉眼的観察による色調の変化、炭化、蒸散による組織欠損の程度および貫通による出血の有無を調べ、光顕像(HE、EVG)による組織学的検討を行った。

2. レーザー血管吻合

体重8-11kgの雑種成犬(25頭)を用い、全身麻酔下で両側総頸動脈を約7cm剥離、露出した後3cmの長さの血管を切離し、レーザー吻合(n=50)と従来の手縫い吻合(n=50)による端々吻合を行った。レーザー吻合は、4ないし6箇所を置いて切断面を正確に密着させ、その間の血管断端にレーザーチップを接触させ、照射接合した。対照の手縫い吻合は、7-0 Polypropylene糸を用い、連続縫合した。吻合部の血管に対し以下の検討を行った。

形態学的検討：直径2.2mm血管内視鏡による血管内腔の観察(吻合後30日、n=3)、光顕的観察(吻合後1時間、7、14、30日、各n=3)および走査電顕的観察(吻合後30日、n=3)を行った。

生化学的検討：色素結合法を用いた血管組織コラーゲン簡易微量測定法により吻合部

(吻合後14日、各n=6) および健常部の血管のコラーゲン量 (μg) およびコラーゲン濃度 ($\mu\text{g coll./mg pr.}$)を測定した。

物性的検討：抗張力（吻合後1時間、7、14、21、30日、各n=6）、耐圧性（400mHgで10分間放置、吻合後30日、n=5）および弾性特性（stiffness parameter β 、吻合後30日、n=5）を検討した。

結 果

至適照射条件は、出力5W、照射時間 0.1秒、照射回数 3回であった。

レーザー吻合部の血管は、全て開存し、動脈瘤様変化や拡張はなかった。レーザーによる吻合は、内皮形成が早く、組織反応が少なく、平滑で良好な治癒が得られた。コラーゲン量は、手縫い吻合部とほぼ同値であったが、コラーゲン濃度は有意な高値を示した。吻合早期の抗張力は低値であったが、速やかに回復し、耐圧性、コンプライアンスも良好であった。

考 察

レーザー血管吻合法においては照射条件の設定が重要であり、適切な条件下に行われないと吻合部離解や内膜や中膜の傷害により瘤形成が生ずるといわれるが、今回吻合血管全てにおいて良好な治癒、開存が得られたことは、血管照射部位の温度や組織学的変化により至適照射条件を十分考慮した結果であると思われる。レーザー吻合部では、内皮形成が早く、組織反応の少ない、平滑で連続性の良好な治癒状況が認められたが、レーザー吻合部の組織コラーゲン濃度が手縫い吻合部に比べて吻合早期に著しく増加していることから、組織修復が限局した範囲で効率良く進められるものと考えられた。また、レーザー吻合部では、手縫い吻合部で見られた縫合糸そのものの存在や縫合糸絞扼により生ずる壊死塊の存在により受ける組織修復への障害が少なく、創治癒が速やかかつ良好に進むものと思われた。

口頭発表にあたり、阿部教授より、応用可能な血管口径、端側吻合の可能性、臨床応用の現況、静脈への応用の可能性、加藤教授より、口径の太い血管への応用、トレーニングの必要性、血管壁性状による照射条件変化の必要性、Biograftと血管との吻合、金田教授より、治癒過程でのnecrosisによる吻合部への影響、石灰化の有無、小柳教授より、tissue weldingの面では有効であるが初期に抗張力が低いことは動く血管には問題がある、レーザー装置が高価である、大浦教授より、吻合に時間がかかる、実験での対照の設定には結節縫合が望ましい、等の質問、コメントがなされたが、申請者はおおむね適切な回答をなし得た。また、副査の阿部教授、加藤教授には個別に審査を受け合格と判定された。

以上本研究は、汎用性があり、操作性のよいNd:YAGレーザーを用いた小動脈吻合法について、至適照射条件を確立するとともに、組織治癒や物性面からその有用性を動物実験により示したものである。よって博士（医学）の学位授与に充分値するものと判定された。