

学位論文題名

Dacron graft の胆道再建への応用に関する実験的研究

学位論文内容の要旨

I. 目 的

胆管切除後の各種胆道再建法では、胆管腸吻合術が確立された術式として広く用いられている。しかし、Vater乳頭機能の廃絶による障害が問題にされるようになり、必ずしも理想的な胆道再建法ではない。本研究では、乳頭機能を温存した胆道再建を確立することを目的とし、人工胆管としてウシコラーゲン被覆knitted typeのDacron graft (Hemashield™) を用い、その有用性について検討した。

II. 方 法

1. 移植人工胆管：外径6mmのウシコラーゲン被覆knitted typeのDacron graft(Hemashield™)を用いた。胆管径に応じて、長軸に沿って切除、縫合し、4mmに形成したgraftを用いた。本graftは、有孔性の高いDacron graftでありながら、ウシコラーゲンを被覆しているためpre-clotting不要な人工血管として普及し、血管内皮の再生に有利である。
2. 動物：6～8週齢の体重約20kgの食肉用養豚種(LW)10頭の雄ブタを用いた。
3. 手術方法：全身麻酔下に、上腹部正中切開で開腹し、胆嚢管より4Frの静脈留置カテーテルを挿入し、胆管内胆汁の採取後、胆道マノメトリーを施行した。ついで、胆嚢を摘除し、総胆管を1cm切除し、長さ1.5cmのgraftを間置し、6-0 monofilament polyglyconateを用い、結節または連続縫合で吻合した。graftは屈曲を防ぐため十二指腸間膜内に納めた。6週後、全肝を摘出し犠牲死させた。
4. 観察項目：1) 肉眼的観察。2) 組織学的検索：Hematoxylin Eosin染色で観察した。3) 胆道造影：摘出肝を用い、経乳頭的にカニューレーションを行い、amidotrizoateを注入した。
- 4) 血液生化学：白血球数、CRP定量、総ビリルビン、GOT、アルカリフォスファターゼ、LAP、 γ -GTP、総コレステロール、リン脂質、総胆汁酸。5) 胆管内胆汁の組成：細菌学的検査、pH、 HCO_3^- 、総コレステロール、リン脂質、総胆汁酸、総カルシウム。
- 6) 胆道マノメトリー：Malletの定流灌流法に準じ、2.0ml/minの注入速度で1分間灌流し、基礎圧、灌流圧、減衰時間、残圧を測定した。

III. 結 果

- 1) 肉眼所見：2週(n=3)で、graft外面は、線維結合組織に支持され、いずれも移植部位に定着していた。graftは胆汁色素の沈着がみられたが、開存しており胆砂等はなく、肝内胆管拡張はみられなかった。6週で、graftはいずれも胆管内に脱落し、浮遊していた。2例は、吻合部にbilomaを認め、minor leakageに起因した吻合部の癒着狭窄を認めたが、他5例では、胆管欠損部は約5mmに短縮したが、柔らかい肉芽組織で架橋され、狭窄や肝内胆管拡張を認めなかった。
- 2) 組織学的所見：2週では、graftは薄い線維性結合組織に囲まれ、部分的にporeへの線維

組織の侵入を認めたが、graft内面は炎症性浸出物が付着し胆管上皮の再生はなかった。6週では、胆管欠損部は炎症細胞浸潤を伴った肉芽組織で架橋され、胆管上皮の被覆はなかったが、辺縁では胆管上皮の進展を認めた。

3) 胆道造影所見：6週では、graft置換部は、軽度の相対的狭窄を示したが、肝内胆管の拡張はなかった。graftは、胆管内に浮遊していた。

4) 血液生化学：白血球数、CRP、総ビリルビン、GOT、アルカリフォスファターゼ、LAP、 γ -GTP、総コレステロール、リン脂質は正常、総胆汁酸のみ軽度高値を示した。

5) 胆管内胆汁の組成：細菌は、再建前は1例に検出されたが、6週後では2例に検出された。胆汁組成では、胆汁の酸性化を認めた他、総コレステロール、リン脂質、総胆汁酸、総カルシウムは軽度低下し、稀釈胆汁の状態であった。

6) 胆道マノメトリー：基礎圧上昇を認めたが、灌流圧、減衰時間、残圧は正常であった。

IV. 考 察

乳頭機能を廃絶するいかなる胆道再建法でも、少なからず腸管内容逆流と胆汁うっ滞を生じ、しばしば胆管炎を併発する。したがって、胆管良性腫瘍切除後、胆道損傷、良性胆道狭窄などの良性疾患では乳頭機能温存の胆道再建術が望まれる。

乳頭機能を温存した胆道再建に関する研究では、生体材料として筋膜、遊離静脈片、皮膚、遊離動脈片、尿管、有茎空腸が試みられた。しかし、graftを栄養する血流がないためsegmentの移植として、有茎空腸を除き好結果は得られなかった。一方、非生体材料では、テフロンによる人工胆管の実験が多く試みられた。Hartung(1978)は、 $30\mu\text{m}$ のporeを持つknitted typeのテフロンを用い、graftの生着と胆管上皮の再生を報告し、生着にはporeからの線維組織侵入が重要であるとした。

本研究では、ウシコラーゲン被覆のDacron graft (HemashieldTM)を用いた。本graftは、有孔性の高いknitted typeでありながら、ウシコラーゲンを被覆しているためpre-clotting不要な人工血管である。縫合不全を3例に認めたが、これはgraftと胆管の口径差が大きく、吻合部胆管への過度の緊張が原因と考えられた。graft移植2週後、graftは薄い線維性結合組織に覆われ、部分的にporeへの線維組織の侵入を認めたが、graft内面は炎症性浸出物が付着し、内面の上皮被覆はみられなかった。6週後では、graft周囲の線維性結合組織が短縮に伴い、graftは剥離し胆管内に脱落した。HemashieldTMでは、コラーゲンseal前のporosityは1900と有孔性が高いがseal後は10以下で、人工胆管として使用した場合、生着するのに十分なporeの大きさであった。人工胆管では、胆汁が漏れないと同時にporeに線維組織が容易に侵入できる大きさを持つという相反する性質が要求される。このため、graftには、大きなporeを持たせ、線維組織侵入まで胆汁は分流しておく、などの工夫が必要と考えられた。

graftの脱落后、胆管欠損部は柔らかい肉芽組織で架橋され、上皮の被覆はなかったが、辺縁では胆管上皮の進展を認めた。胆管内の浮遊するgraftを摘出し、炎症が消退した後、胆管上皮の被覆が起こることが推測される。また、graftが胆管内に浮遊する状態で、血液生化学では、総胆汁酸のみ軽度高値を示した。胆汁組成では、軽度の胆汁うっ滞に伴い稀釈胆汁の状態であった。定流灌流法による胆道マノメトリーは乳頭機能を反映すると考えられるが、本実験では、基礎圧は上昇したが、灌流圧、減衰時間、残圧は正常で、乳頭機能は温存されたと考えられた。

V. 結 語

ウシコラーゲン被覆knitted typeのDacron graftは人工胆管として生着しなかったが、線維性結合組織がgraftを管状に被覆して、胆管欠損部を架橋し胆汁漏出はなかった。さらなる長期観察によって、胆道再建における乳頭機能を温存した代用胆管としての応用の可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 内 野 純 一

副 査 教 授 長 嶋 和 郎

副 査 教 授 加 藤 紘 之

学 位 論 文 題 名

Dacron graftの胆道再建への応用に関する実験的研究

胆管切除後の胆道再建方法では、各種の胆管腸吻合術が確立された術式として広く用いられている。しかし、乳頭機能を廃絶するいかなる胆道再建法も、少なからず腸管内容逆流と胆汁うっ滞を生じ、術後しばしば胆管炎を併発する。したがって、根本的切除を必要としない胆管良性腫瘍、胆道損傷や良性胆道狭窄などの良性疾患では乳頭機能を温存の胆道再建術が望まれる。しかし、乳頭機能温存胆道再建術の研究は少ない。そこで、申請者は、細胞外マトリックスの主要構成要素であるコラーゲンで被覆されたDacron graftを人工胆管として用い、その有用性について検討した。

研究方法：移植人工胆管として、外径6mmのウシコラーゲン被覆knitted typeのDacron graft(Hemashield™)を用いた。胆管径に応じて、長軸に沿って切除、縫合し、4mmに形成したgraftを用いた。体重約20kgの食肉用養豚種(LW)10頭の雄ブタを用い、全身麻酔下を開腹し、胆管内胆汁の採取、胆道マノメトリーを行った後、胆嚢を摘除し、総胆管を1cm切除した。長さ1.5cmのgraftを間置し、6-0 monofilament polyglyconateを用て、結節または連続縫合で吻合した。graftは屈曲を防ぐため十二指腸間膜内に納め、6週後、全肝を摘出し犠牲死させた。観察項目としては、1)肉眼的観察2)組織学的観察(HE染色)3)胆道造影(摘出肝で行った)4)血液生化学：白血球数、CRP定量、総ビリルビン、GOT、アルカリフォスファターゼ、LAP、 γ -GTP、総コレステロール、総胆汁酸5)胆管内胆汁の組成：細菌学的検査、pH、 HCO_3^- 、総コレステロール、リン脂質、総胆汁酸、総カルシウム6)胆道マノメトリー：Malletの定流灌流法に準じ、2.0 ml/minの注入速度で1分間灌流し、基礎圧、灌流圧、減衰時間、残圧を測定した。

結果：1)肉眼所見：2週後(n=3)、graft外面は、線維結合組織に支持され、いずれも移植部位に定着していた。graftは開存しており、肝内胆管拡張はみられなかった。しかし6週には、graftはいずれも胆管内に脱落し、浮遊状態であった。2例では、吻合部にbilomaを認め、minor leakageに起因した吻合部の瘢痕狭窄を認めた。他の5例では、胆管欠損部は約5mmに短縮していたが、柔らかい肉芽組織で架橋され、胆管の狭窄や肝内胆管拡張を認めなかった。

2)組織学的所見：2週では、graftは薄い線維性結合組織に囲まれ、部分的にporeへの線維組織の侵入を認めたが、graft内面は炎症性浸出物が付着し胆管上皮の再生はなかった。6週では、胆管欠損部は炎症細胞浸潤を伴った肉芽組織で架橋され、胆管上皮の被覆はなかったが、辺縁では胆管上皮の進展を認めた。3)胆道造影：6週では、graft移植部は、軽度の相対的狭窄を示したが、肝内胆管の拡張はなかった。graftは、胆管内に浮遊していた。4)血液生化学：白血球数、CRP、総ビリルビン、GOT、アルカリフォスファタ

ーゼ、LAP、 γ -GTP、総コレステロール、リン脂質はすべて正常値であった。総胆汁酸は軽度に高値を示した。5) 胆管内胆汁の組成：細菌は、再建前に1例に検出されたが、6週後では2例に検出された。胆汁組成では、リン脂質の有意な低下と総コレステロール、総カルシウム値の軽度の低下を認めた。6) 胆道マノメトリー：定流灌流法による胆道マノメトリーは、乳頭機能を反映すると考えられるが、graftが胆管内に浮遊し、軽度の胆汁うっ滞を示す状態では、有意な基礎圧の上昇を認めたが、灌流圧、減衰時間、残圧は正常で、乳頭機能は温存された。

以上より、ウシコラーゲン被覆Dacron graftの間置により、胆管欠損部は薄い線維性結合組織で架橋され、正常の胆汁路を維持した。以上より本法は、乳頭機能を温存した胆道再建術式として応用可能であると結んだ。審査に当たって、加藤教授から、胆管の蠕動運動と人工材料間置による影響、poreの大きさ、臨床応用の可能性について、長嶋教授から、graft脱落后の胆管上皮被覆、graftの材質およびウシコラーゲンの拒絶反応について、藤岡助教授から、コラーゲンで被覆されていないgraftの生着性についてなどの質疑があったが、申請者はおおむね妥当な回答を行った。

人工胆管が生着するには、graftのporeからの線維組織侵入が必要であり、今後はporeの大きさを考慮した生着するgraftおよび脱落することを前提としたgraftの2つの方向からの研究が課題となることを示したが、臨床応用にはさらなる検討が必要である。

審査員一同は、本研究の成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、申請者が、博士（医学）の学位授与に値するものとする。