

博士論文

論文題目 新しい冠動脈末梢側吻合用デバイスの研究

氏名 井戸田 佳史

新しい冠動脈末梢側吻合用デバイスの研究

東京大学大学院医学系研究科外科学専攻心臓外科

指導教官：小野 稔

申請者：井戸田 佳史

目次

I. 要旨

II. 序文

III. 実験

III-0 デバイスデザイン

III-1-1) 実験モデル① 方法

III-1-2) 実験モデル① 結果

III-1-3) 実験モデル① 考察

III-2-1) 実験モデル② 方法

III-2-2) 実験モデル② 結果

III-2-3) 実験モデル③ 考察

IV. 結論

I. 要旨

心臓外科領域において低侵襲手術が導入されて久しいが、冠動脈バイパス手術では吻合手技の困難さゆえこの低侵襲手術が浸透しているとは言い難い。私は内視鏡下手術野や深部術野での冠動脈吻合を簡便にすべく新しい冠動脈末梢側吻合用デバイスを開発した。このデバイスの最大の利点は従来の連続吻合の後の結紮を省略できることである。この研究ではウサギ頸動脈バイパスモデルおよびブタ冠動脈バイパスモデルを用いてデバイスを評価した。その結果、吻合時間、血液流量、慢性期での開存性、病理学的評価の各項目でデバイスは従来の吻合方法と同等に有効かつ安全に血管吻合を行えることが実証された。

II. 序文

冠動脈バイパス手術（CABG）は狭心症や心筋梗塞、虚血性心筋症などの虚血性心疾患に対する積極的血管再建療法として、経皮的冠動脈形成術（PCI）と並んで重要な位置を占めており、本邦では年間 15,521 件の手術（2010 年、Isolated CABG のみ）が行われている^[1]。CABG の歴史は浅く、1960 年代に Dr. Favaloro らによって Cleveland Clinic で行われたのが最初である^[2]。当時は人工心肺を使用して心停止下に大伏在静脈を上行大動脈および病変冠動脈に吻合する AC バイパスが主として行われていたが、この時代から小口径血管を縫合糸によって連続縫合し糸を結紮するという手技の基本部分は現代でも変わっていない。その後、人工心肺による脳血管障害や腎機能障害、出血などの合併症発生を背景に、1990 年代より人工心肺を用いない off-pump CABG が報告され始め^[3]、心臓の拍動による動きを制御するスタビライザーや、吻合時に無血野を確保する CO₂ ブロワー、吻合中に冠動脈血流を維持するコロナリーシャン

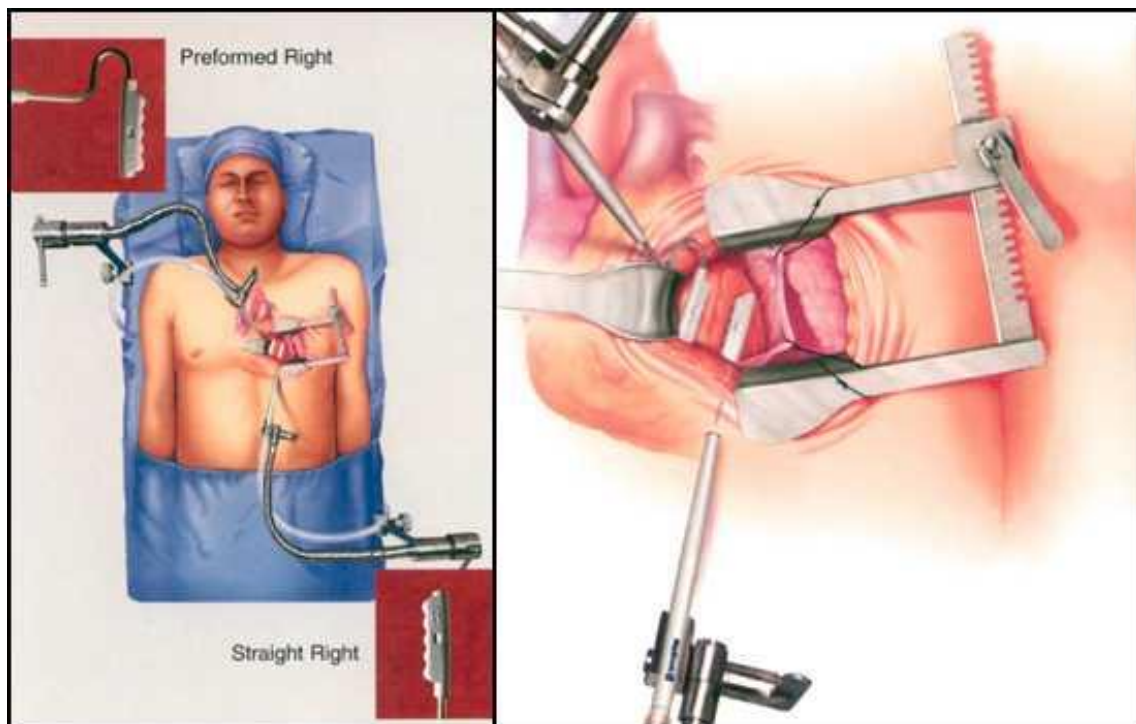
トチューブなどの技術が開発され、より定着した術式となってきた。現在本邦において約 60%の CABG が off-pump で行われている^[1]。

グラフト血管として現在の主流は内胸動脈、橈骨動脈、胃大網動脈に代表される動脈グラフトと大伏在静脈に代表される静脈グラフトがある。静脈グラフトは採取が簡便である一方、動脈グラフトに比して遠隔期の開存率が劣る点が指摘されている。対して動脈グラフトは有茎グラフトとして利用可能な場合もあり開存率に優れている^[2]。特に左内胸動脈-左冠動脈前下行枝は Golden standard と呼ばれ多くの冠動脈バイパス手術で用いられる。内胸動脈グラフト血管は 1.5-3.0mm 程度の径を有し、1.0-2.0mm 程度の冠動脈に端側吻合で吻合される。7-0 や 8-0 といった細いポリプロピレン糸を用いて連続吻合されることが多いが、心拍動下での吻合手技は比較的難易度が高く、経験のある外科医でも手術視野や病変の性状によっては吻合自体が困難な場合も少なくない。

一方他の外科領域と同様、心臓外科においても 1990 年代中頃から低侵襲手術

の概念が導入され、胸骨正中切開を行わない MIDCAB (Minimally Invasive Direct Coronary Artery Bypass : 左前側胸部の小切開のみで冠動脈バイパス手術を行う) が開発され、ICU 滞在期間や入院期間の短縮の効果が謳われるようになった^[4]。図 II-①、②に MIDCAB での開胸創を示す。

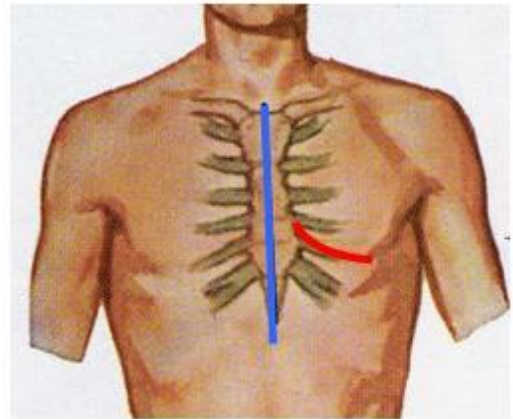
図 II-① MIDCAB での開胸創と吻合準備の様子



(the Heart Surgery Forum homepage より引用

[http://www.hsforum.com/stories/storyReader\\$608](http://www.hsforum.com/stories/storyReader$608))

図 II-② MICAB での術後創部



しかし、左内胸動脈－左前下行枝バイパス以外の吻合は術野的に困難である^[5]

ことから下火になり、現在では非常に限られた症例に行われるに過ぎない。

低侵襲手術の概念をさらに追及して生まれてきたものが、いわゆるロボット手術である。現在、消化器外科や泌尿器科、婦人科では da Vinci® (Intuitive Surgical, Sunnyvale, CA, USA) システムが広く世界で使用されている。da Vinci®システムは当初心臓手術の低侵襲化を目指して開発が進められたもので

あるが、冠動脈手術においてロボット手術を応用するための障壁はいくつか指摘されている。その最も大きな理由として挙げられているのは前述の連続吻合とそれに続く結紮が非常に難しいということである。本邦でも da Vinci®システムを冠動脈バイパス術に研究目的で使用した例はみられる^[6]がごく一部であり、汎用されているとは言い難い。世界的には da Vinci®システムを使用し完全内視鏡下で冠動脈バイパス手術を行っている施設もあるがやはりごく少数である。

da Vinci®システムを図 II-③に示す。

図 II-③ daVinci®システム



(Dover Medical & Scientific Equipment, Ltd.の homepage より引用

<http://www.dovermed.co.il/da-vinci-si-surgical-system>)

これまで冠動脈吻合をより簡便にする目的で、縫合糸を用いない種々の吻合用デバイスが開発されてきた。末梢側吻合用に種々の生体糊や生体接着剤が開発されたが、完全な止血が困難である点や組織に過度の癒着を起こす可能性が示唆され実用化には至らなかった^[7]。ロボット手術における血管吻合を容易にする目的で、2002年小野らはU Clip® (Medtronic, Inc. Minneapolis, MN, USA)を使用したCABGの安全性と有用性についての臨床試験の成績を報告した^[8]。U Clip®はその後ロボット補助下の心臓手術（CABGや僧帽弁手術）に応用された。しかしながら、U Clip®は価格が高く、一般の開胸下のCABGでは連続縫合と比較した優位性がなく、内視鏡下小切開下手術やロボット手術という限られた術式でしか有効性が発揮できないという短所を有しており2010年には市場撤退を余儀なくされている。また磁力を利用して血管吻合を実現したデバイスにMVP(Magnetic Vascular Positioner)® (Ventorica, Inc, Fremont, CA, USA)がある。初期臨床成績は手縫い吻合と遜色がない^[9]と報告されたが、中

等度以上の動脈硬化病変がある冠状動脈には適さず、追加縫合が著しく困難であるために販売中止となってしまった。現在使用できるシステムは C-Port® (Cardica, Inc., Redwood City, CA, USA) のみである。図 II-③にその構造を示す。C-Port®は 1.5mm のグラフト吻合（つまり通常の内胸動脈吻合）まで可能としている。内蔵されたカッターとステンレス製 staple で冠状動脈切開と結節吻合をワンアクションでほぼ同時に完遂することができ、オフポンプ CABG にも使用可能なシステムである^[10-13]。しかし価格が高価であることから使用している施設はごく少数である。

図 II-④ C-Port



(Cardica Inc. の homepage より引用

<http://www.cardica.com/index.php>)

このような背景を踏まえ、私は冠動脈末梢側吻合用の半自動吻合デバイスを開発した。この研究では動物への長期埋め込み実験を行い、デバイスの有効性、安全性を評価することが目的である。

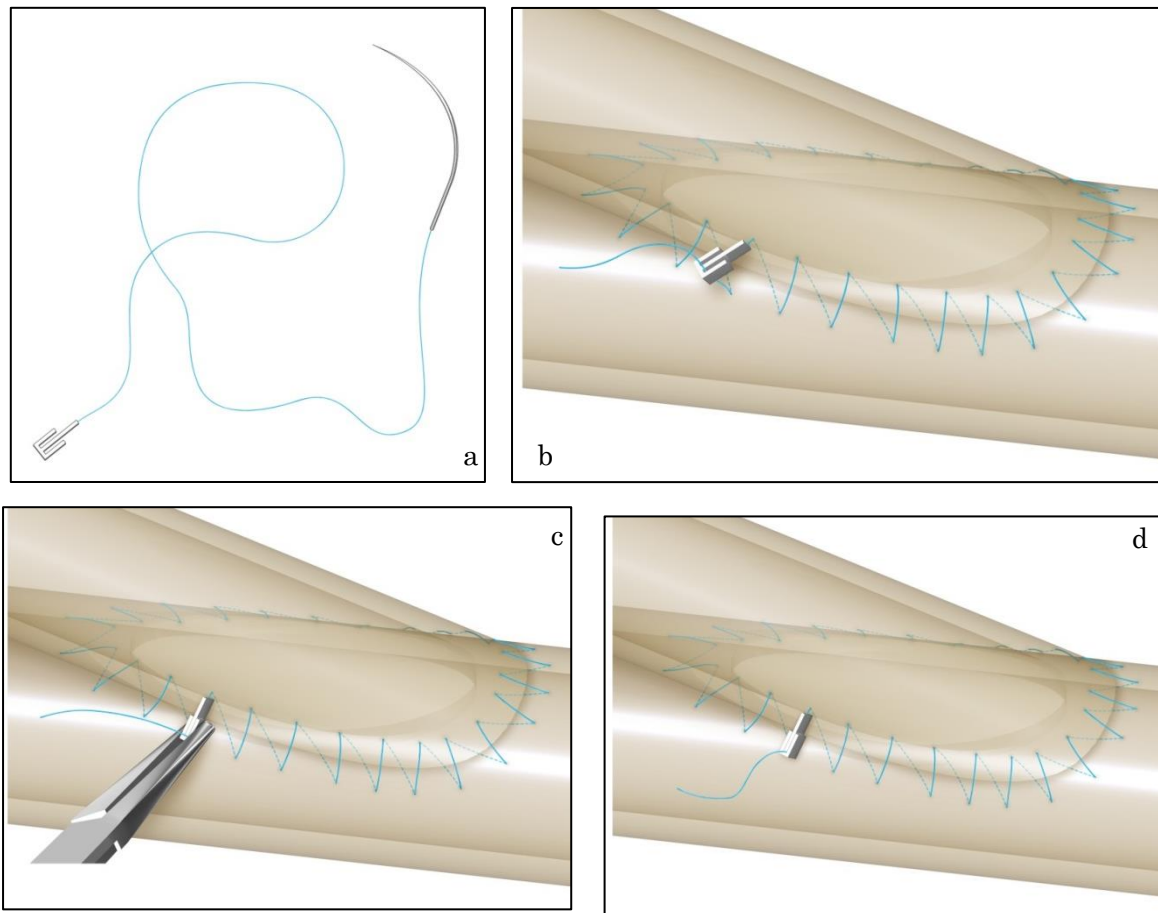
III. 実験

III - 0 デバイスデザイン

私は当大学工学部及びオリンパス株式会社 (Tokyo, Japan) と共同で冠動脈末梢側用の半自動吻合デバイスを開発した。図 III-0-1 a に示すように、市販されている 7-0 または 8-0 polypropylene 糸の自由端にステンレス製の固定器具を圧着した単純な構造である。固定器具部分は生体適合性に優れた SUS316L ステンレスを使用しており、YAG レーザー加工により製作されている。高さ 0.9mm、横幅 0.5mm、奥行 0.5mm の錨型の形状をしており、通常連続吻合の後に、縫合糸固定器具に掘られた溝に通した状態で溝を持針器でつまんでつまむことにより溝がつぶされ、糸と器具が固定されるという原理である。図 1b-d に示すように従来の連続吻合の後、前述の方法で糸と器具を固定し余分な糸を切ることで吻合が完了する。例えば 7-0 の糸であれば通常 7 回から 8 回結紮する手技がこの単純な操作により省略される。深部術野の場合、手が入り辛いた

め 7-8 回もの結紮操作は困難であるし、内視鏡術野であればノットプッシャー
などを使用して、毎回結紮のために縫合糸を術野スペースから出す必要がある
ため、結紮が省略できることは吻合操作全体にとって大きなメリットであると
考えられる。

図 III-0-1 開発した吻合デバイスの構造と使用方法



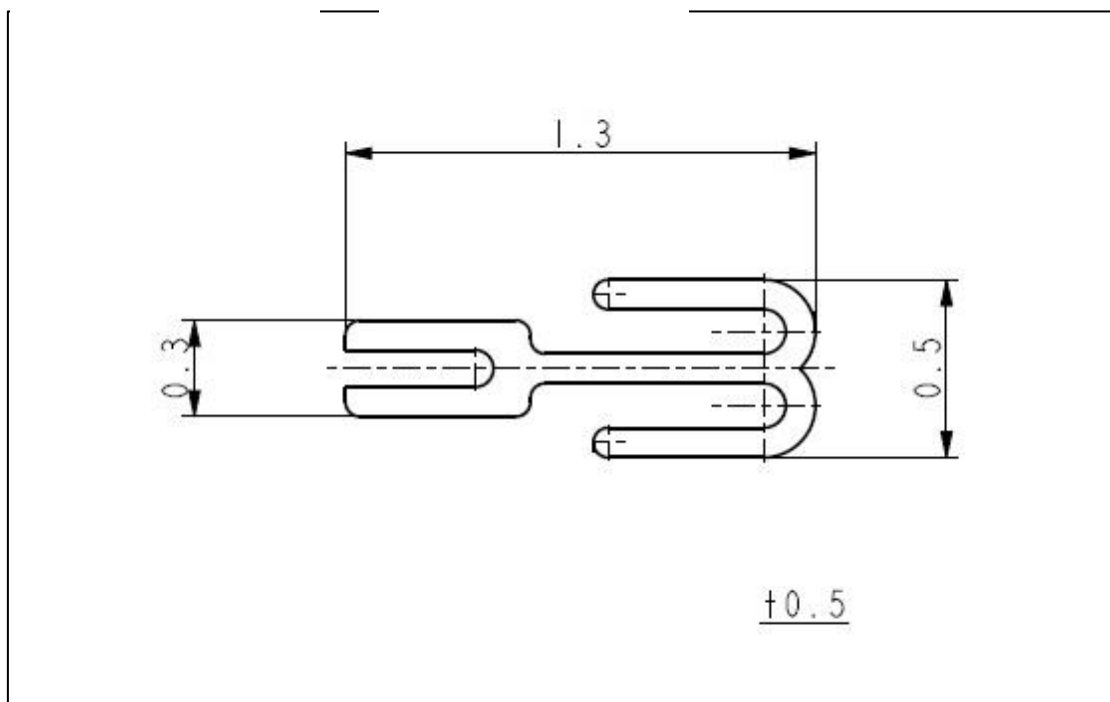
デバイスを構成する各部について説明を加える。

ステンレス部分は SUS316L という医療用ステンレスを原材料にしており、

CAD (computer aided design) により設計されており YAG レーザーで切り出

したものである。設計の詳細を図 III-0-2 に示す。

図 III-0-2 ステンレス部分の設計図



SUS316L はすでにボディピアスや整形外科用ネジ、冠動脈ステントなどに使用されており生体に対する安全性が実証されている。開発した企業内で施行した生体反応実験（図 III-0-3）でも、いずれも優れた生体適合性を示した。

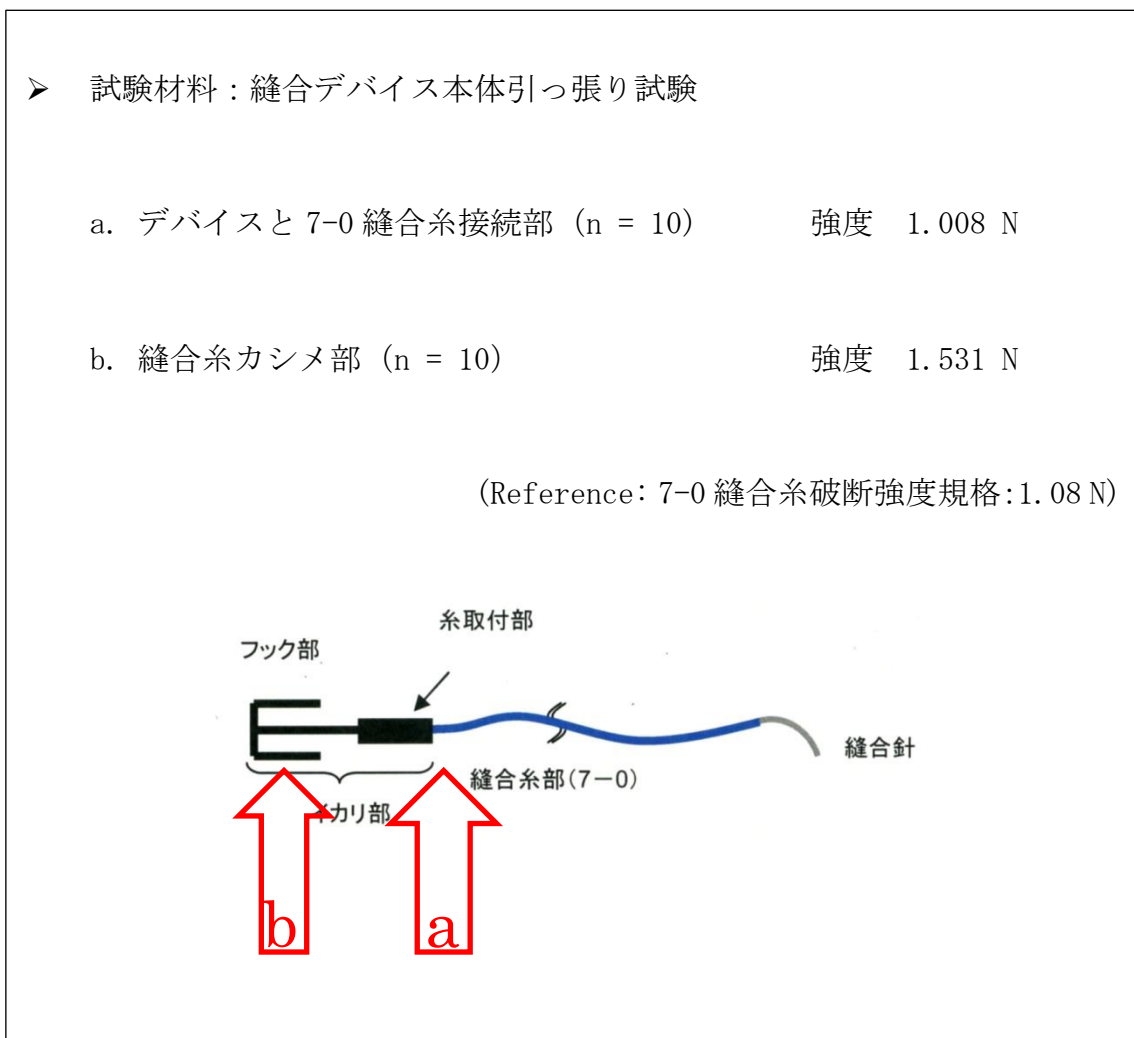
図 III-0-3 日本食品分析センターで行われた SUS316L の生体反応実験

➤ 試験材料：生体適合性ステンレス（SUS316L）

1. コロニー形成阻害試験：細胞毒性なし
2. 感作性試験（モルモット）：皮膚反応なし
3. 皮内反応試験（ウサギ）：紅斑・浮腫・出血・壊死なし

また、ステンレス部分と糸との接合部の強度試験についても企業内で行われた（図 III-0-4）。糸とステンレス部分の接続部は 2 ヲ所（図 III-0-4 の a と b）あり、それぞれについて引っ張り実験を行い、reference となる 7-0polypropylene1 糸と同程度の強度があることが示された。

図 III-0-4 オリンパス株式会社で行われたデバイスの強度実験



デバイスの用いられる糸は通常の冠動脈吻合に使用される 7-0 または 8-0polypropylene 糸である。これは 1.5-2.0mm 程度の（冠動脈のような）小口径血管を吻合するのに適した太さである。長さは 20cm としており、通常の糸（45-60cm）と比べかなり短い。これは、①徒手的な結紮を要さないこと、②狭小スペースでの糸の取り回しがしやすいこと、③内視鏡カメラで全長が観察できることを考慮してこの長さとした。

III-1 実験方法の概要

実験は開発したデバイスの有効性、安全性を評価する目的で急性期および慢性期の動物実験を行った。第一段階として、小口径血管の吻合を想定した、小動物の末梢血管バイパス実験を行い、第二段階として、冠動脈吻合を想定した大動物の冠動脈バイパスモデルを用いて実験を行った。

デバイスの開発コンセプトとしては、小切開下手術や内視鏡下手術における狭小スペースでの吻合操作を簡便にすることであるが、今回の研究では、デバイスの使用可能性、安全性の評価に主眼を置き、開創術野および開胸術野での吻合操作を前提とした。従来吻合方法に対するデバイスの優位性を示すためには、上述のような術野での実験が今後必要になることを先に述べておきたい。

実験プロトコールは United States National Institute of Health による“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”に基づいて作成され、東京大学動物実験倫理委員会の承認を得、施行された（承認番号 11-P-71 および P11-086）。

また、統計学的処理については、吻合時間、血液流量、吻合部の内膜増生、線維増生、炎症細胞数を Microsoft Excel に入力し各サンプルから平均値±標準誤差 (SE) の値を出力した。平均値の差の検定には Student の t 検定を SPSS を用いて行い、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

III-1-1) 実験モデル (ウサギ頸動脈バイパスモデル) 方法

健康な New Zealand White rabbit (3kg~3.5kg) を用いて慢性動物実験モデルを作成した。ウサギをケタミン 20mg (第一三共プロファーマ、Tokyo、Japan) およびキシラジン 40mg (バイエル薬品、Tokyo、Japan) の筋肉注射による全身麻酔下に頸部を約 5cm にわたり正中切開し、右頸静脈および同側頸動脈を露出した。耳介の静脈より点滴ルートを確認しヘパリン 2000 単位を投与した後、頸動脈をクランプ。頸静脈を遊離 graft として頸動脈の 2 ヲ所に吻合することによってバイパスを作成し頸動脈は 2 ヲ所の吻合部の中間で結紮した (図 III-1-1) ①)。この際、頸静脈は壁が薄くハンドリングが非常に難しいため吻合は 2 点固定による連続吻合で行った。手順を図 III-1-1) ②に示す。都合、1 吻合につき、デバイスまたは吻合糸 2 本を使用した。また吻合時は動脈切開孔より 1.25mm または 1.5mm の冠動脈用シャントチューブ (日本メドトロニック株式会社、Tokyo、Japan) を挿入し吻合部狭窄を防止した。吻合後動脈のクラ

ンプを解除し止血を確認後、皮膚を縫合閉鎖。麻酔覚醒後ケージに戻し各観察

期間中 10mg/日のアスピリンを経口投与した。

図 III-1-1) ① ウサギ頸動脈バイパス完成図およびシェーマ

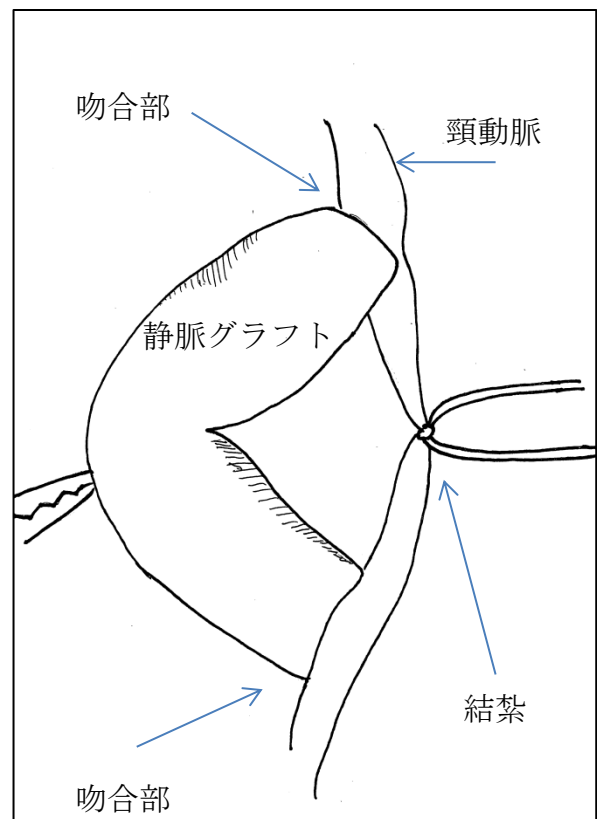
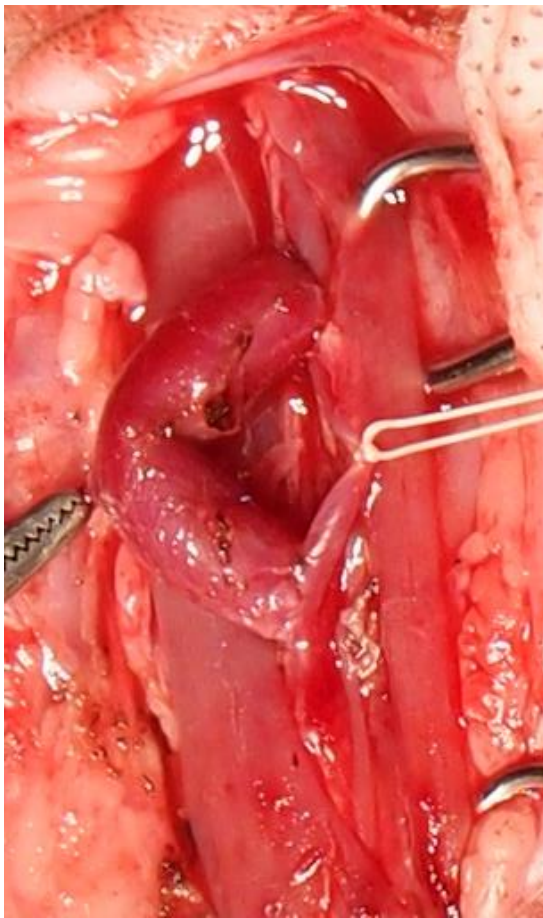
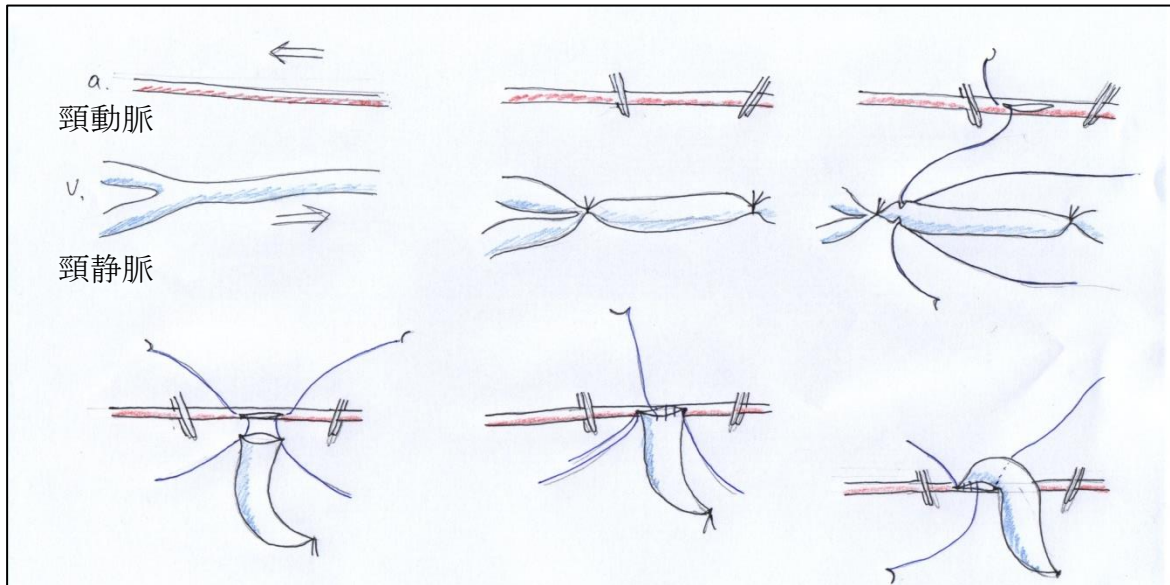


図 III-1-1) ② ウサギ頸動脈バイパスの吻合手順



実験は 22 羽のウサギを使用し、22 羽中 11 羽のウサギについては開発したデバイスを用いて吻合を行い (Device 群)、残りの 11 羽については従来の吻合糸 (8-0Prolene® ETHICON Jhonson&Jhonson, Tokyo, Japan) を用いて吻合を行った (Control 群)。また、両群のうち、4 羽ずつは 1 ヶ月後、5 羽ずつは 3 か月後、2 羽ずつは 6 か月後の慢性期に再度全身麻酔をかけ下記項目について評価した。

① 吻合時間

吻合開始から吻合終了し、追加針も含めて止血の得られるまでの時間と定義し各吻合で測定した。

② 血液流量

超音波流量計 (BeriQ® Nippon BXI Inc., Tokyo, Japan) を用いて吻合部より遠位の動脈で測定した。吻合終了直後および各観察期間で測定した。

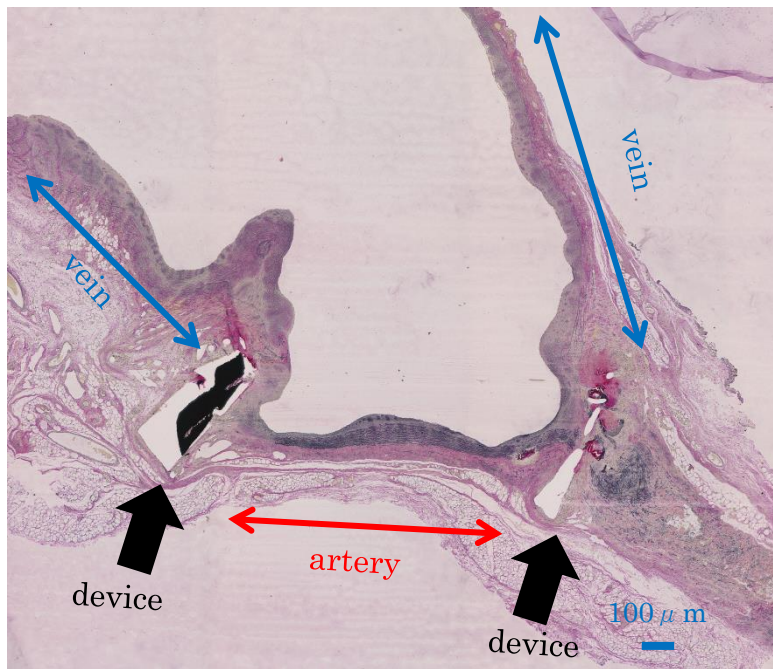
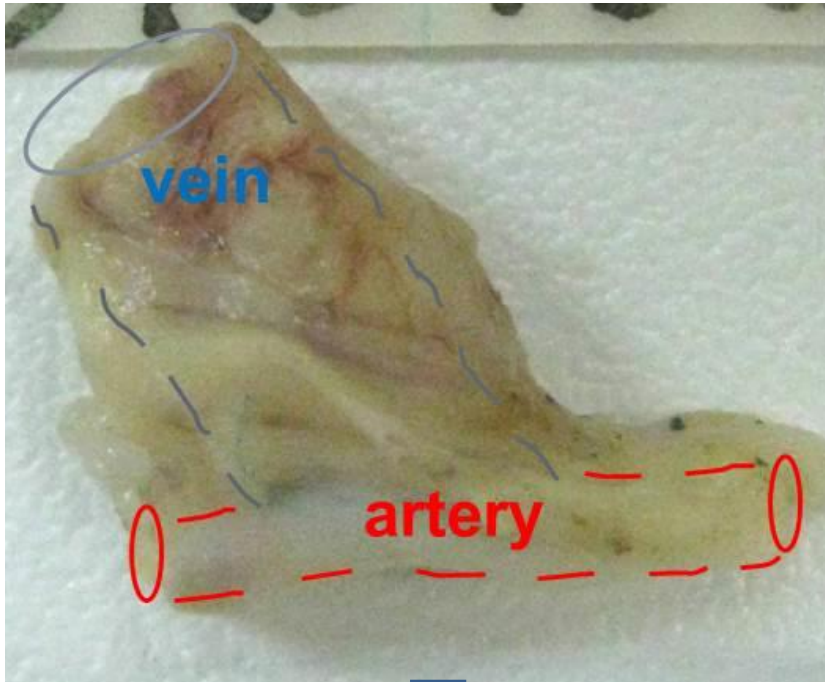
③ 血管造影検査

右大腿動脈よりシースを留置し選択的に右頸動脈にカテーテルを挿入して C-arm X ray system (Siemens Medical Solutions, Germany) を用いて吻合部を水平方向から観察した。血管造影剤として iomeprol (Iomeron®, Eisai, Tokyo, Japan) を注入して吻合部の開存率を評価した。1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月の各観察期間において行った。

④ 病理学的検査

各観察期間において、ウサギを安楽死後、吻合部を切り出し 10%ホルマリンで固定した。ブロックを形成後、図 III-1-1) ③に示す如くデバイスあるいは吻合糸、頸動脈、頸静脈が 1 枚のスライドに収まるような断面で切片を作成した。

図 III-1-1) ③ ウサギ頸動脈バイパスモデルの標本の切出し方法



Hematoxylin-eosin 染色および Elastica-van-Gieson 染色を行い次のよ

うな項目を評価した。

内膜肥厚：吻合部の内膜肥厚の最も厚い場所で厚さを測定

(図 III-1-1) ④の赤矢印)

線維増生：デバイス (Control 群では吻合糸) 周囲の線維増生の有無を

観察しもっとも厚い場所で厚さを測定

(図 III-1-1) ④の黄色矢印)

図 III-1-1) -④ 吻合部の切片 (Elastica-van-Gieson 染色 ×

4)



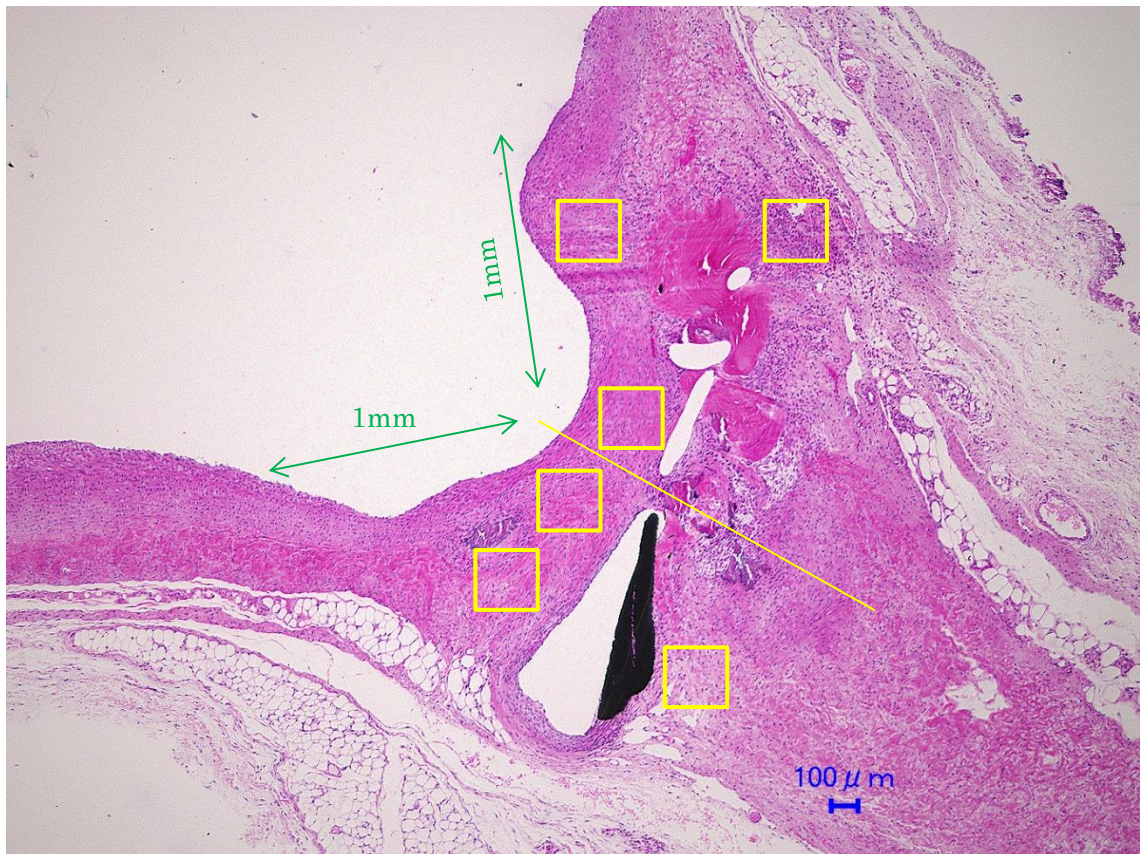
細胞浸潤：高倍率視野（40倍）において動脈と静脈の接点（吻合線）を

中心に1mmの範囲で無作為に6か所を選び、リンパ球、

顆粒球、単球の数を数え上げ6か所の平均値を評価した（図

III-1-1）⑤）。

図 III-1-1）⑤ 吻合部の切片（Hematoxylin-eosin 染色 ×4）

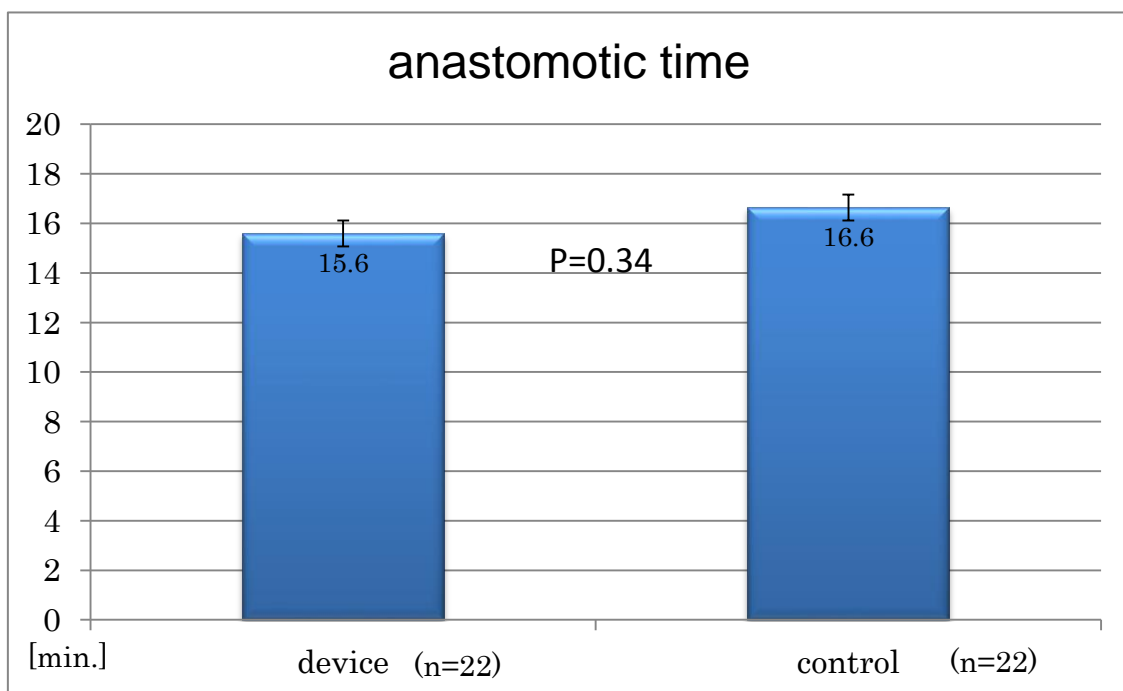


III-1-2) 実験モデル① (ウサギ頸動脈バイパスモデル) 結果

① 吻合時間

図 III-1-2)①に D 群及び C 群の吻合時間を示す。それぞれ 15.6 ± 2.4 分、 16.6 ± 4.4 分で両群間に有意差を認めなかった ($p=0.34$)。

図 III-1-2) ① 吻合時間



② 血管造影

図 III-1-2) ②に各観察期間での開存率を示す。Device 群、Control 群ともに1ヵ月および3ヶ月の観察期間で1吻合ずつ閉塞を認めた。開存率は良好で両群間に差はなかった。

図 III-1-2) ② ウサギ頸動脈バイパスモデルの開存率

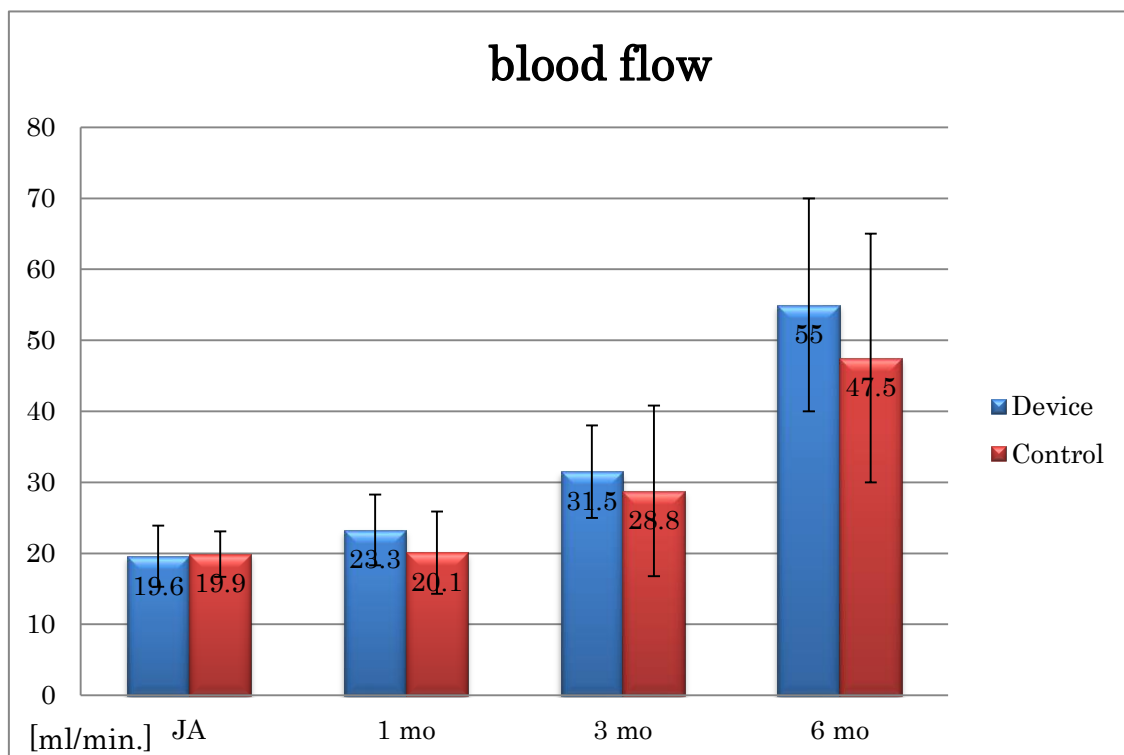
	1mo	3mo	6mo
control	75% (3/4)	80% (4/5)	100% (2/2)
device	75% (3/4)	80% (4/5)	100% (2/2)

③ 血液流量

図 III-1-2) ③に吻合直後および各観察期間での血液流量を示す。Device

群、Control 群の両群で各期間において血液流量に有意差は認めなかった。

図 III-1-2) ③ ウサギ頸動脈バイパスモデルの血液流量



(JA: just after anastomosis)

⑤ 病理

慢性期での病理所見ではいくつかの炎症反応を示す変化が観察された。図 III-1-2) ④にデバイスを使用した吻合部の **Elastica-van-Gieson** 染色標本を示す。動脈と静脈の接合部にデバイスの断端（矢印）があり吻合線であることが分かる。吻合線付近では血管内膜が増生しており吻合による血管の炎症像を反映していると考えられる。さらにデバイスの周囲には赤色の線維増生を認め異物に対する炎症反応を示している。これは **polypropylene** 糸やステンレス素材の周囲にみられるが特に糸周囲を主体に増生している様子が観察される。

図 III-1-2) ④ Device 群 1ヶ月後 Elastica-van-Gieson 染色 ×2

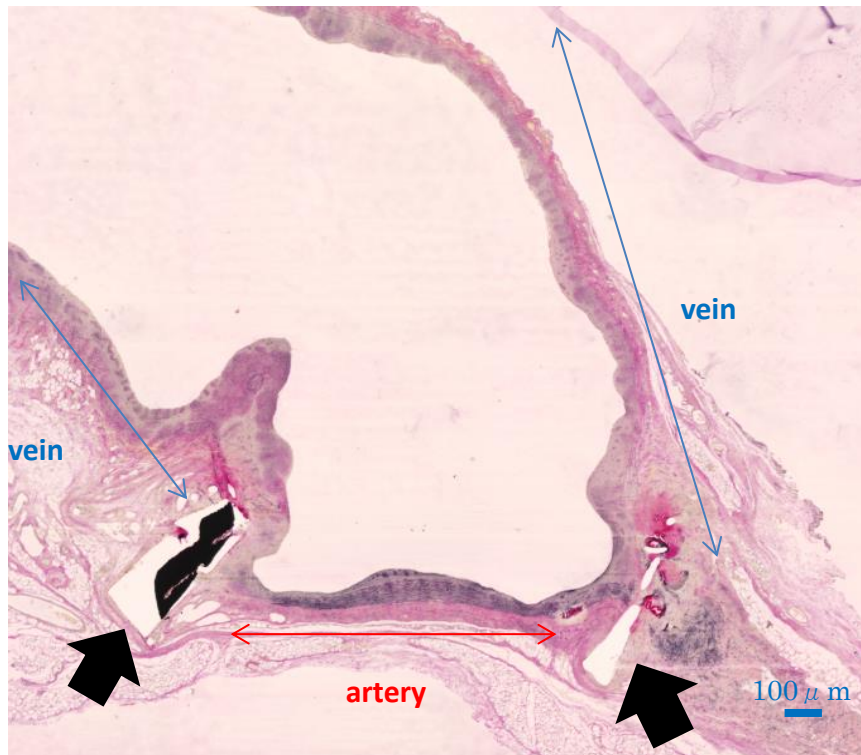


図 III-1-2) ⑤の Hematoxylin-eosin 染色では、デバイス周囲に紫色の炎症細胞浸潤（の核）が強調して見られる。高拡大像では炎症細胞浸潤はリンパ球、マクロファージ、顆粒球を主体としており、吻合糸およびデバイスに近接して見られた。

図 III-1-2) ⑤ Device 群 1 ヶ月モデル Hematoxylin-eosin 染色×4



図 III-1-2) ⑥に 1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月での標本を Device 群、Control 群別に示したが両群とも時間を経るごとに炎症細胞は目立たなくなり炎症が消退していく様子が見られる。

図 III-1-2) ⑥ 両群での病理所見の時間経過 (Hematoxylin-eosin 染色 ×20)

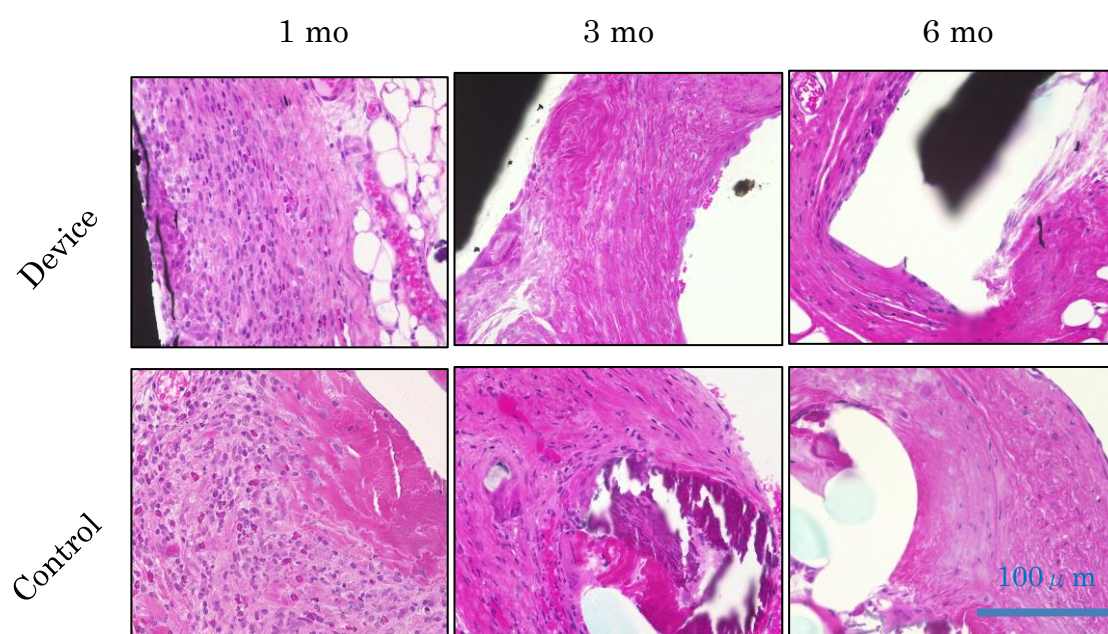
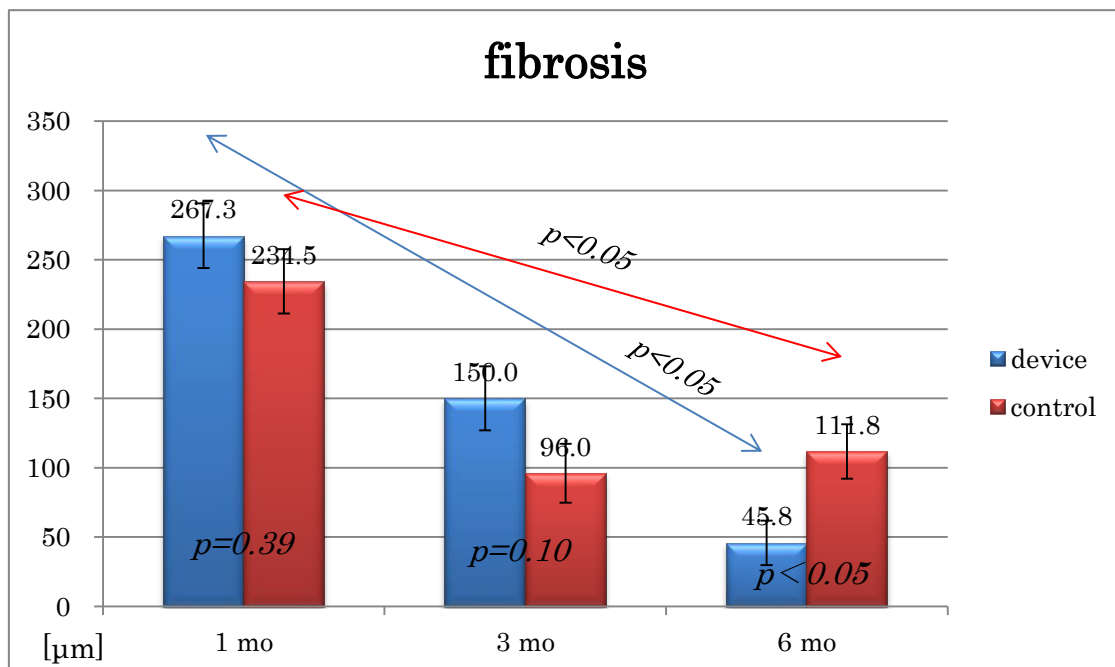


図 III-1-2) ⑦に細胞数、内膜肥厚、線維増生の計測値を示す。

図 III-1-2) ⑦ 各観察期間における病理評価の計測値

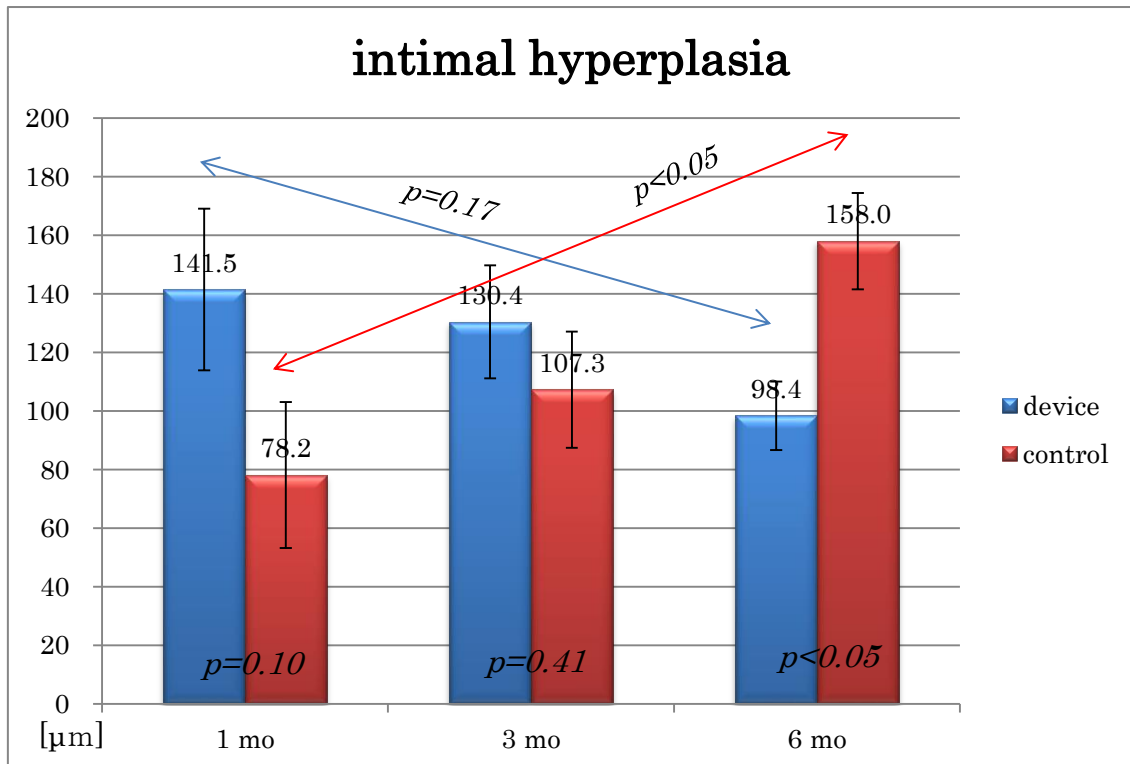
a デバイスまたは吻合糸周囲の線維増生



※両群とも線維増生は1ヶ月後に比べ6ヶ月後は減少していたが、6ヶ月後

の時点では Device 群の方が有意に線維増生は少なかった。

b 吻合部血管の内膜肥厚

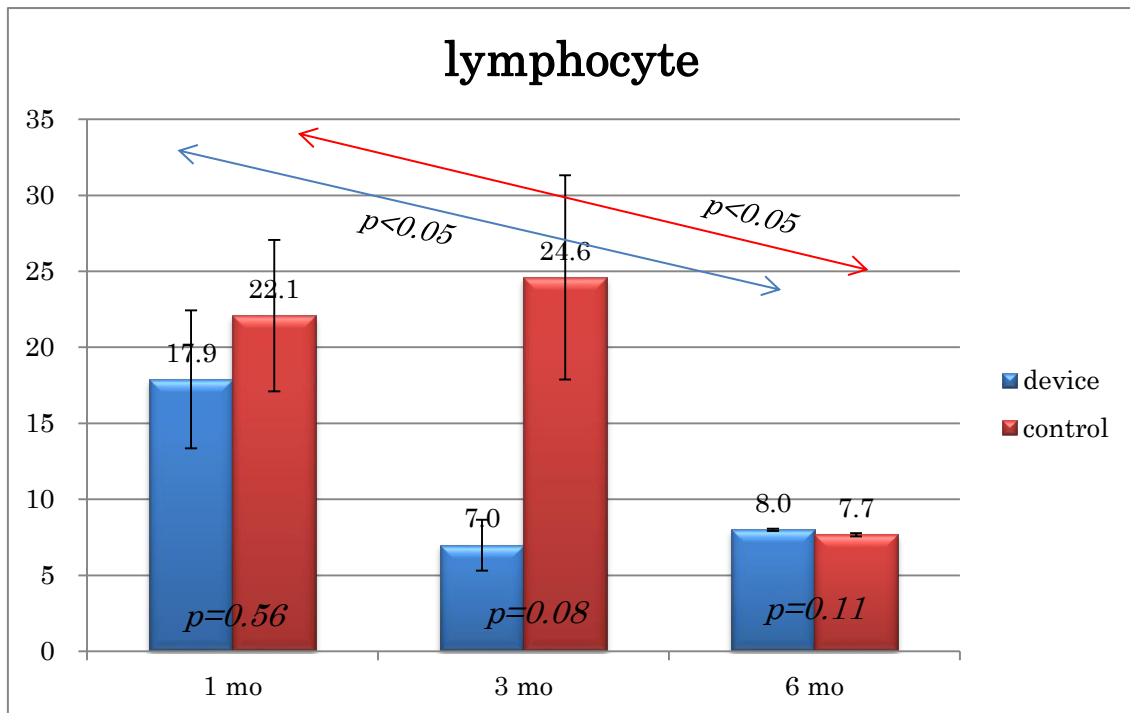


Control 群の内膜増生は 1 ヶ月後と 6 か月後を比し有意差をもって増加した。

各期間での比較では、1 ヶ月後、3 ヶ月後では両群間に有意差は認めなかったが、

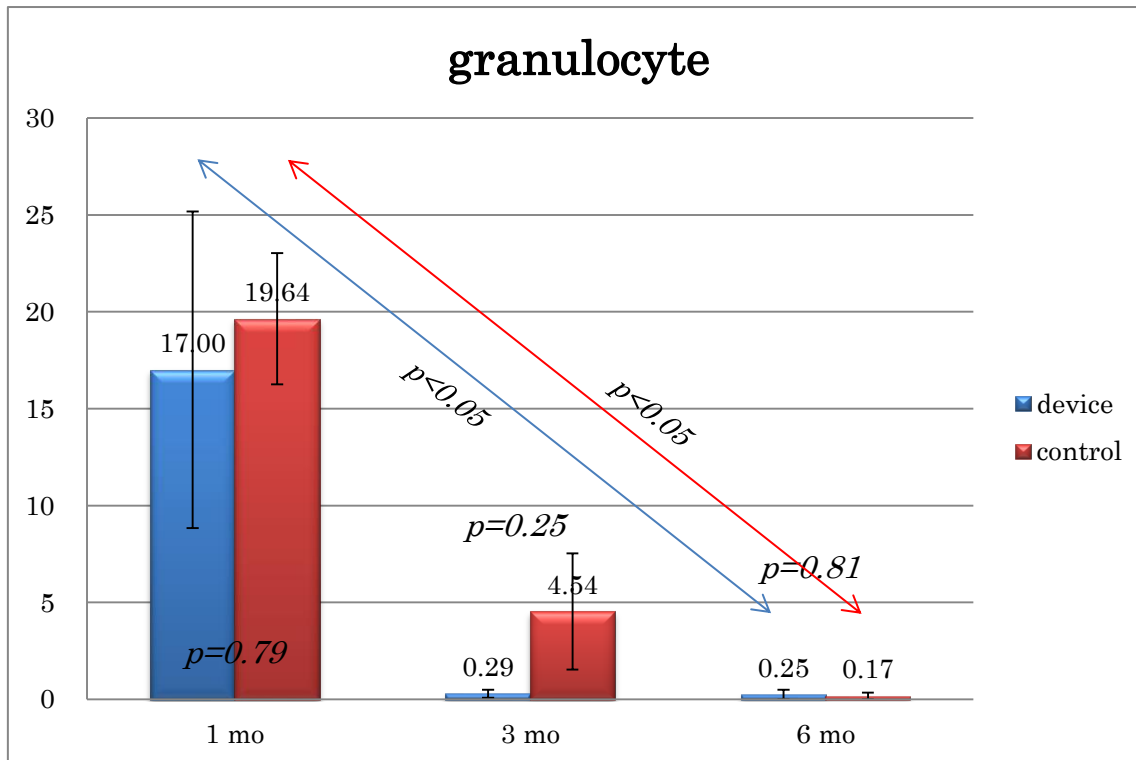
6 か月後では Device 群の方が有意に内膜肥厚が少なかった。

c リンパ球数の変化



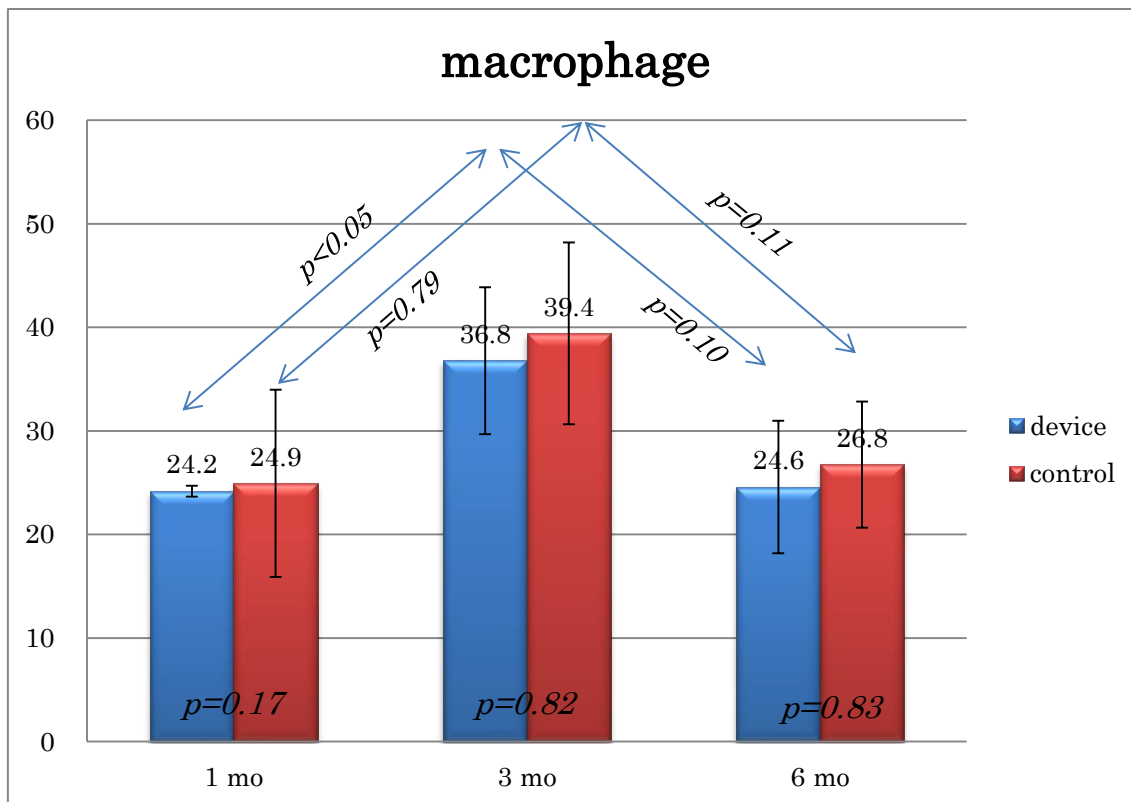
リンパ球数は両群とも1ヶ月後にくらべ6か月後は減少していた。各期間で両群間にリンパ球数の差はみられなかった。

d 顆粒球数の変化



顆粒球数の推移は、Device 群、Control 群ともに 1 ヶ月後に比べ 6 か月後は減少した。各期間とも両群に有意差は認めなかった。

e マクロファージ数の変化



マクロファージの数は各観察期間も両群間に有意差を認めなかった。

III-1-3) 考察

ウサギ頸動脈バイパスモデルは小口径血管の吻合モデルとして諸家で取り上げられているものである。Pucaらはウサギ頸動脈に頸静脈をグラフトとして使用する今回と同様のモデルでレーザーによる血管吻合を観察し、吻合部の温度上昇、内膜増生、線維増生、血栓形成などを評価しレーザーによる方法が従来の吻合法に比べ簡便で安全性があることを証明している[15]。また、Schillerらはウサギ頸動脈を一旦切離し、吻合しなおすというモデルで生体糊（BioGlue）を用いた吻合方法を評価しており、動脈瘤の形成、吻合部狭窄、血栓形成、病理検査項目として、嚢胞形成、膿瘍形成、石灰化の有無などを観察している。BioGlueによる吻合はこれらの炎症反応を強く惹起する結果となっているが彼らの研究は吻合部評価の指標となるものである[16]。今回私は、吻合時間、血液流量、遠隔期の開存性、炎症反応を評価項目とした。吻合時間についてはC群、D群の両群でデバイスによる吻合は16分程度と短時間であったが、従来の

polypropylene 糸による吻合と有意差は認めなかった。結紮を省略できるというデバイスの主旨からは妥当な結果と思われる。また血液流量に関しても両群で各期間において有意差を認めなかった。遠隔期の開存性では、少数ではあったものの Device 群、Control 群に同数の吻合部閉塞を認めた。頸動脈バイパスでは、静脈壁が薄くハンドリングが困難なため静脈を予め動脈切開部の 2 点に固定する 2 点固定での連続縫合を採用した。この方法は止血を得るために糸をけん引しすぎると purse string を起こし吻合部狭窄の原因となる。閉塞を認めたものについては吻合時のこのような操作が影響している可能性が高いが、purse string が起こる可能性はデバイスを用いた場合も従来の吻合法でも変わらず、単に吻合技術によるものと考えてよいと思われる。慢性期での吻合部の病理所見では、6 か月後の線維増生、および内膜肥厚の項目で Device 群は Control 群に比し炎症反応が抑えられており、デバイスのステンレス部分による血管や周囲組織の侵襲も見られなかった。これはデバイスに使用されている SUS316L

素材が生体適合性に優れていることを裏付ける結果であり、生体適合性の面で、

開発したデバイスが従来の吻合糸より優れていることを示すものと考えられた。

III-2-1) 実験モデル②ブタ冠動脈バイパスモデル 方法

ブタをキシラジン 80mg、ミダゾラム 15mg (アステラス製薬株式会社、Tokyo, Japan)・アトロピン 0.5mg (テルモ株式会社、Tokyo, Japan) の筋注により麻酔導入し、気管内挿管下にイソフルラン 0.5%~1.0% (アッヴィ合同会社、Tokyo, Japan) の吸入を行い、麻酔を維持した。胸骨正中切開による開胸後、両側の内胸動脈を約 15cm 程度剥離し有茎動脈 graft とした。ヘパリン 10000 単位を耳介に確保した静脈ルートより静注し吻合に備えた。心拍動下に左内胸動脈を左冠動脈前下行枝に (LITA-LAD)、右内胸動脈を右冠動脈に (RITA-RCA) に吻合した。(III-2-①)

吻合手技

吻合に際して、目的の血管を検索後、オクトパススタビライザー® (日本メドトロニック株式会社、Tokyo, Japan) を心表面に吸着させ拍動を制御した。まず 15 番メスを用いて心外膜を剥離し、冠動脈表面を露出。吻合部の中枢側に

retract O tape をかけそれを snare することで冠動脈血流をコントロールした。

冠動脈を切開し内腔に冠動脈径に合わせ 1.75mm から 2.25mm のコロナリーシ

ヤント（日本メドトロニック株式会社、Tokyo、Japan）を挿入した。吻合は、

最初にグラフト側外→内、冠動脈側内→外の運針でヒール側 3 針のパラシュー

ト吻合を行い、その後は術者の反対側から時計回りに連続吻合を行い最後に術

者側のヒール側で糸を固定（C 群では結紮）して吻合手技を終了した。吻合終

了後、冠動脈は吻合部の中樞側で結紮した。

実験は急性期実験と慢性期実験に分けて行った。急性期実験では 8 頭の三元

豚（埼玉実験動物株式会社、Saitama, Japan, 25kg-30kg、オス）を用いて行い、

8 頭中 6 頭は開発したデバイスを用いて吻合を行い（AD 群）、残りの 2 頭につ

いては従来吻合糸（7-0Prolene® ETHICON Jhonson&Jhonoson, Tokyo,

Japan）を用いた（AC 群）。下記の項目について評価を行った。

① 吻合時間

吻合開始から止血の得られるまでの時間と定義し各吻合で測定した。

② 血液流量

吻合終了直後に **BeriQ** を用いて **graft** 血流を測定した。

③ 血管造影検査

右大腿動脈よりシースを留置し選択的に左右頸動脈にカテーテルを挿入して **C-arm X ray system** を用いて吻合部を水平方向から観察した。

血管造影剤として **iomeprol (Iomeron®)**, Eisai, Tokyo, Japan)を注入して吻合部狭窄の有無を **FitzGibbon Criteria^[13]**により評価した。**FitzGibbon Criteria** を下表にしめす。

FitzGibbon Criteria

- A: stenosis under 50%
- B: stenosis upper 50%
- C: occlusion

慢性期実験ではブタの成長を加味し 14 頭のクラウンミニブタ（ジャパンファーム、Kagoshima, Japan, 25-30kg、オス）を用いて同様のバイパス手術を行った。14 頭のうち 11 頭はデバイスを用いて吻合を行い（CD 群）、残りの 3 頭については従来の吻合糸（7-0Prolene®）を用いた（CC 群）。また CD 群のうち 5 頭および CC 群のうち 1 頭は手術後 1 ヶ月で再度全身麻酔を導入し吻合部を切除して下記の評価を行った。同様に CD 群のうち 4 頭と CC 群のうち 1 頭は 3 か月後に、CD 群のうち 2 頭と CC 群のうち 1 頭は 6 か月後の各期間で同様の評価を行った。

④ 血管造影検査

急性期実験と同様の方法で各観察期間において血管造影検査を行った。

⑤ 病理学的検査

各観察期間において、ブタを安楽死後、吻合部を切り出し 10%ホルマリンで固定した。5 μ m の切片を作製し Hematoxylin-eosin (HE) 染色および Elastica-van-Gieson (EVG) 染色を行い次のような項目を評価した。

内膜肥厚：吻合部の内膜肥厚の最も厚い場所で厚さを測定。切片の切断角度によって厚みが一定しないため、測定後内胸動脈の厚みとの比を算出した。

線維増生：デバイス (CC 群では吻合糸) 周囲の線維増生の有無を観察しもっとも厚い場所で厚さを測定した。

細胞浸潤：高倍率視野 ($\times 40$) において、デバイスの周囲で最も炎症細

胞浸潤の多い2か所を選び、リンパ球、顆粒球、マクロフ

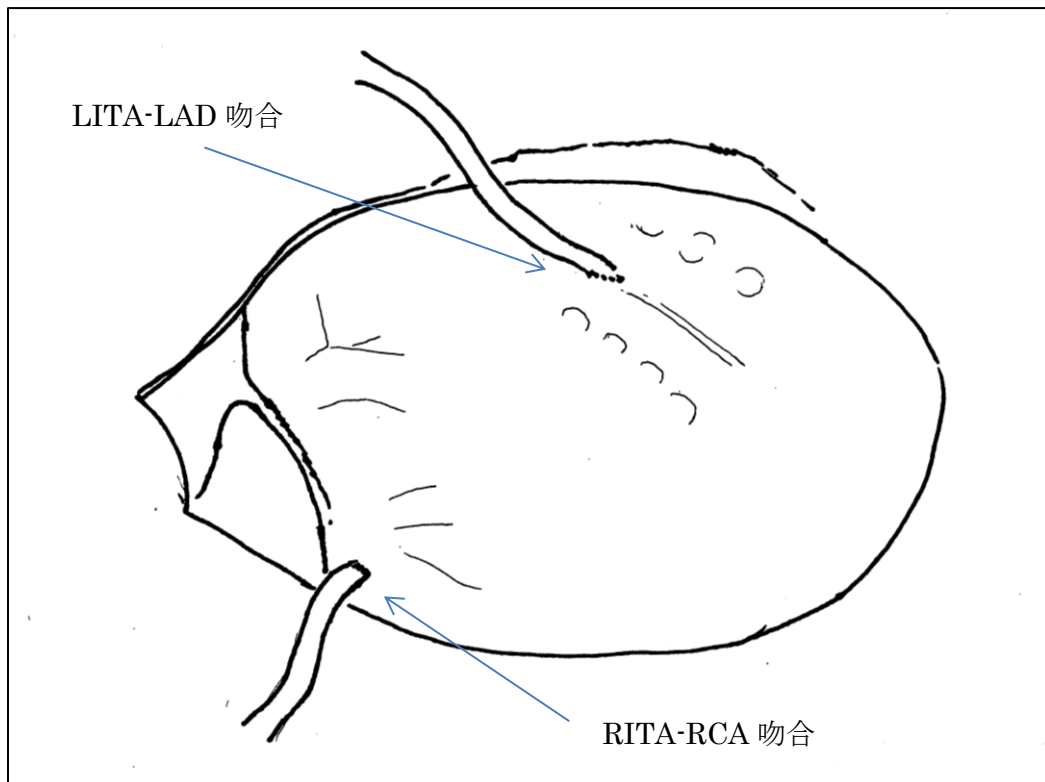
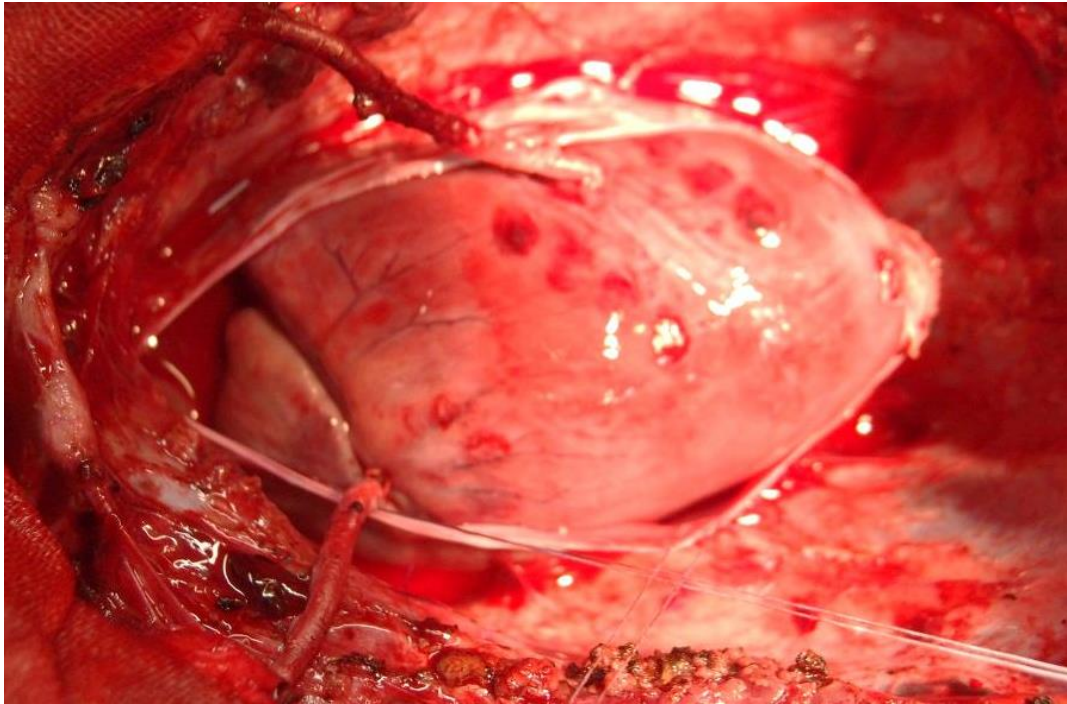
ァージの数を数え上げ2か所の平均値を算出し評価した。

各観察期間の間、通常の餌とともにブタに100mg/dayのアスピリンを経口
摂取で与えた。

図 III-2-①に示すように左内胸動脈 - 左前下行枝バイパス (LITA-LAD)

および右内胸動脈 - 右冠動脈バイパス (RITA-RCA) を行った。

図 III-2-① ブタ冠動脈バイパスモデルの写真とシェーマ

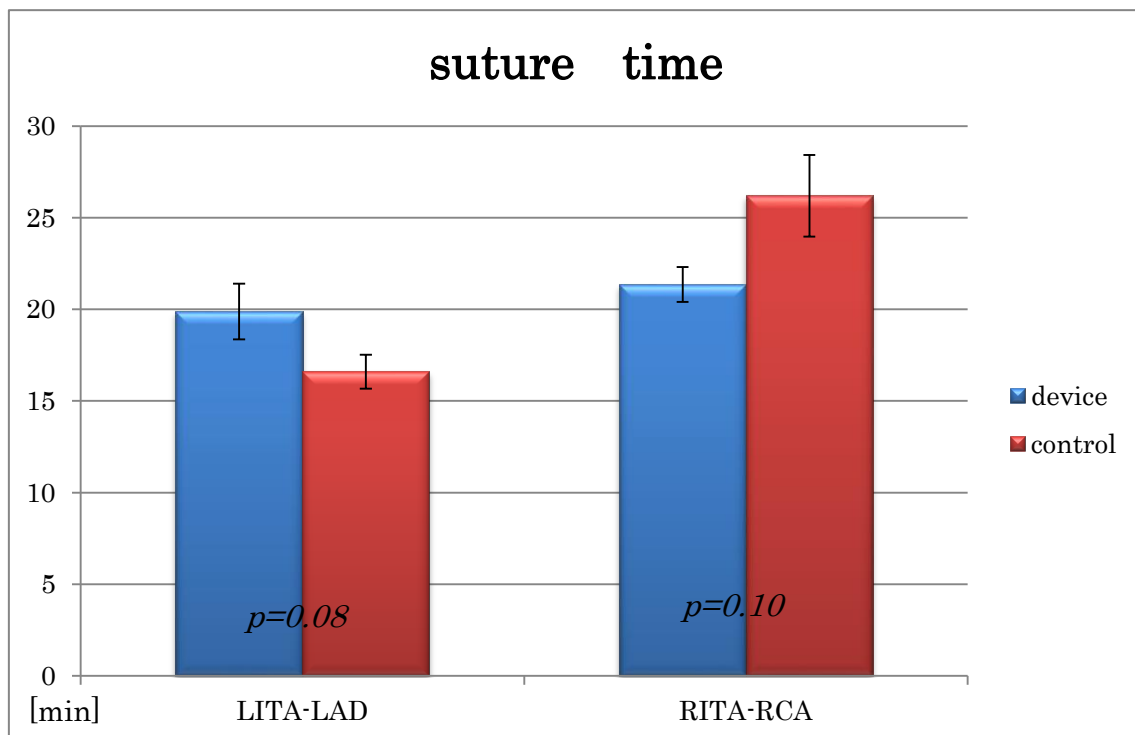


III-2-2) 動物モデル②ブタ冠動脈バイパスモデル 結果

① 吻合時間

図 III-2-①にすべての吻合の平均吻合時間を device 使用群 (AD 群、CD 群)、control 群 (AC 群、CC 群) ごとにまとめた。LITA-LAD 吻合 ($p=0.08$)、RITA-RCA ($p=0.10$) 吻合とも両群に有意差を認めなかった。

図 III-2-2) -① 吻合時間

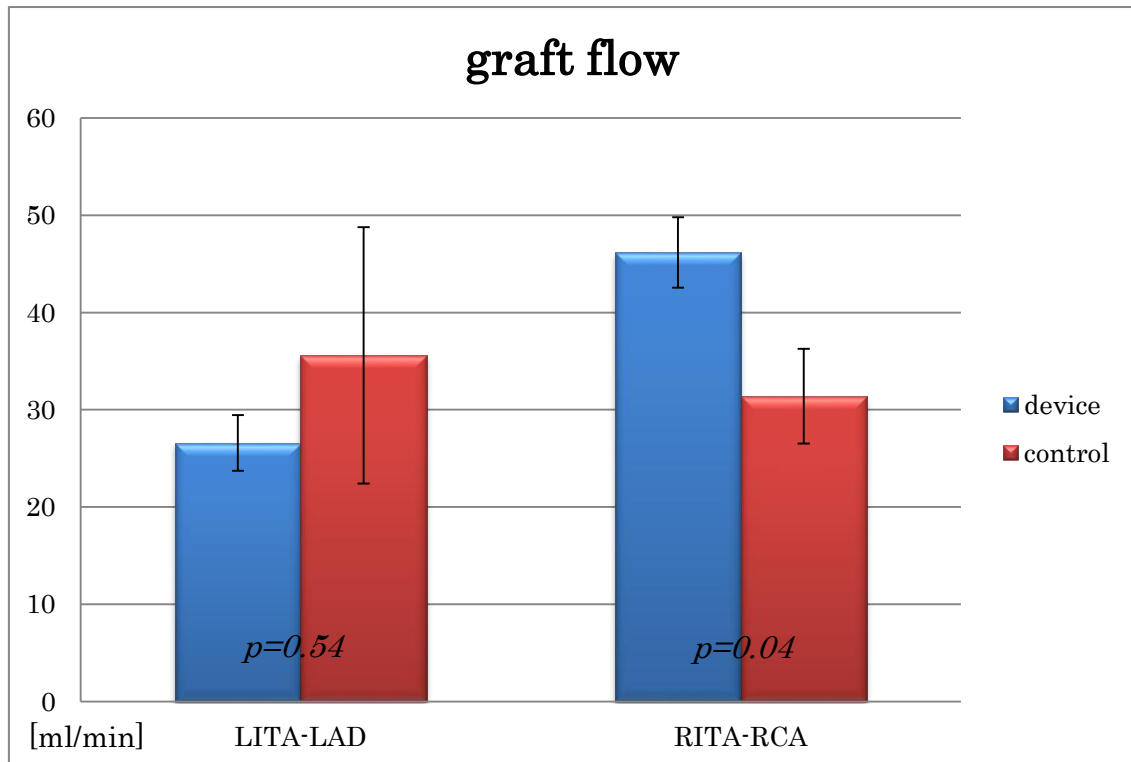


デバイス群の LITA-LAD 吻合：19.9±1.5 分、コントロール群の LITA-LAD 吻合：16.6±0.9 分、デバイス群の RITA-RCA 吻合：21.3±0.9 分、コントロール群の RITA-RCA 吻合：26.2±2.2 分であった。各吻合で両群間に有意差を認めなかった。

② Graft 血流

図 III-2-2) -②に吻合直後の graft 血流を示す。Graft 血流は冠動脈の灌流域に依存するため計測値は比較的広く分布したがすべての吻合で拡張期灌流パターンが得られ冠動脈吻合として十分な血流量が確認された。また、LITA-LAD 吻合にデバイスを使用した群 (AD 群+CD 群) と従来の吻合法を使用した群 (AC 群+CC 群) の間で graft 血流に有意差は認められなかった。RITA-RCA バイパスではデバイス群の方が血流量は有意に多かった。

図 III-2-2) -② グラフト血流



デバイス群の LITA-LAD 吻合：26.6±2.9ml/min.、コントロール群の LITA-LAD 吻合：35.6±13.2ml/min.、デバイス群の RITA-RCA 吻合：46.2±3.6ml/min.、コントロール群の RITA-RCA 吻合：31.4±4.9ml/min.、であった。RITA-RCA 吻合では Device をもちいた群のほうが Graft 血流が有意に多かった。

③ 血管造影

図 III-2-2) -③に術後 1 ヶ月での血管造影を示す。ステンレス製のデバイスが吻合部付近に写っており (矢印)、吻合部近位の冠動脈は結紮されている。

図 III-2-2) -④に各吻合部 FitzGibbon 分類によって判定した結果を示している。急性期モデルの RITA-RCA 吻合が AD 群及び AC 群で 1 例ずつ FitzGibbon B が見られたがその他の吻合はすべて FitzGibbon A であった。デバイス群、コントロール群 FitzGibbon A の割合はそれぞれ 97.1%、90%で両群とも良好な開存率を示した。

図 III-2-2) -③ 術後1ヵ月の RITA-RCA 吻合部。

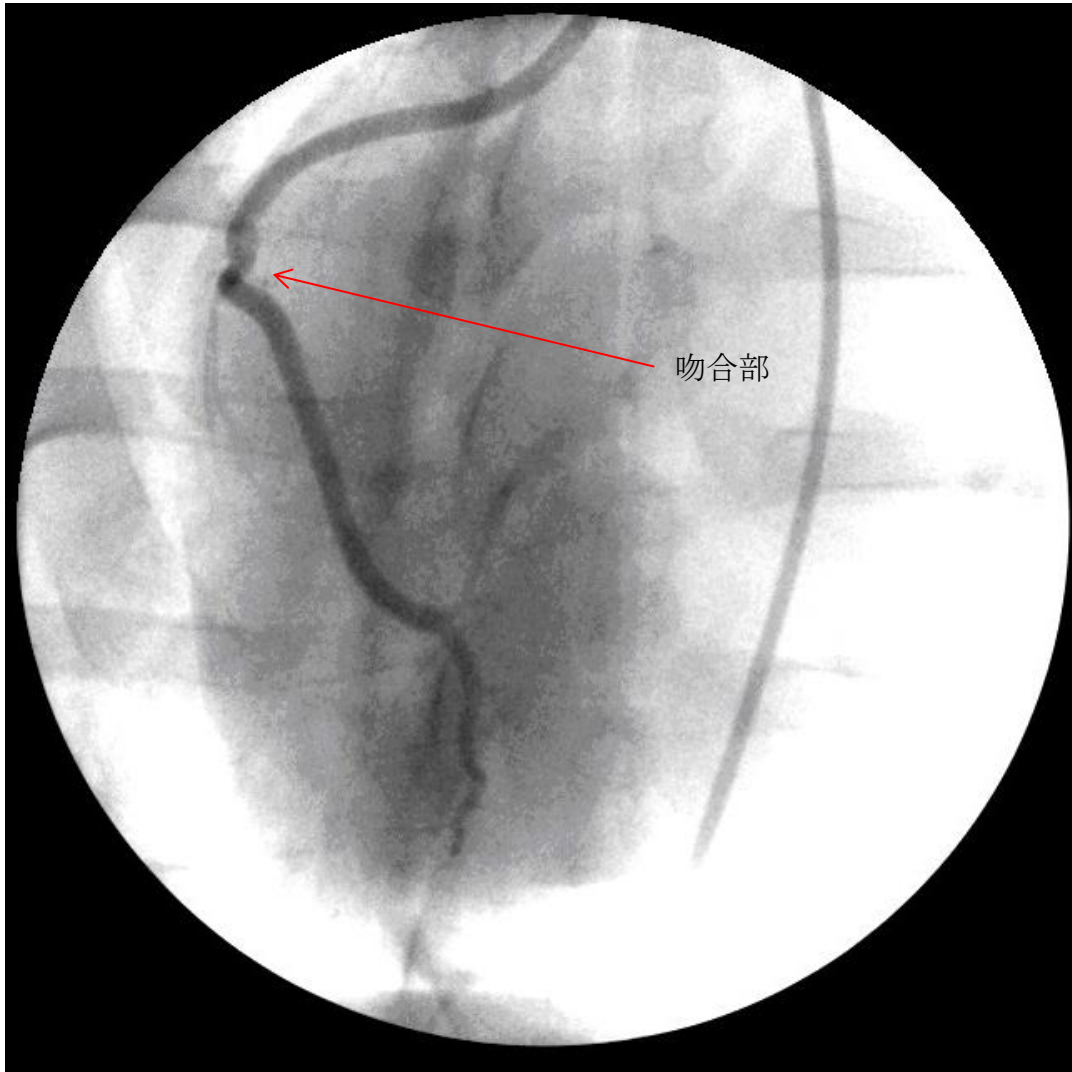


図 III-2-2) -④ 各吻合部の FitzGibbon 分類

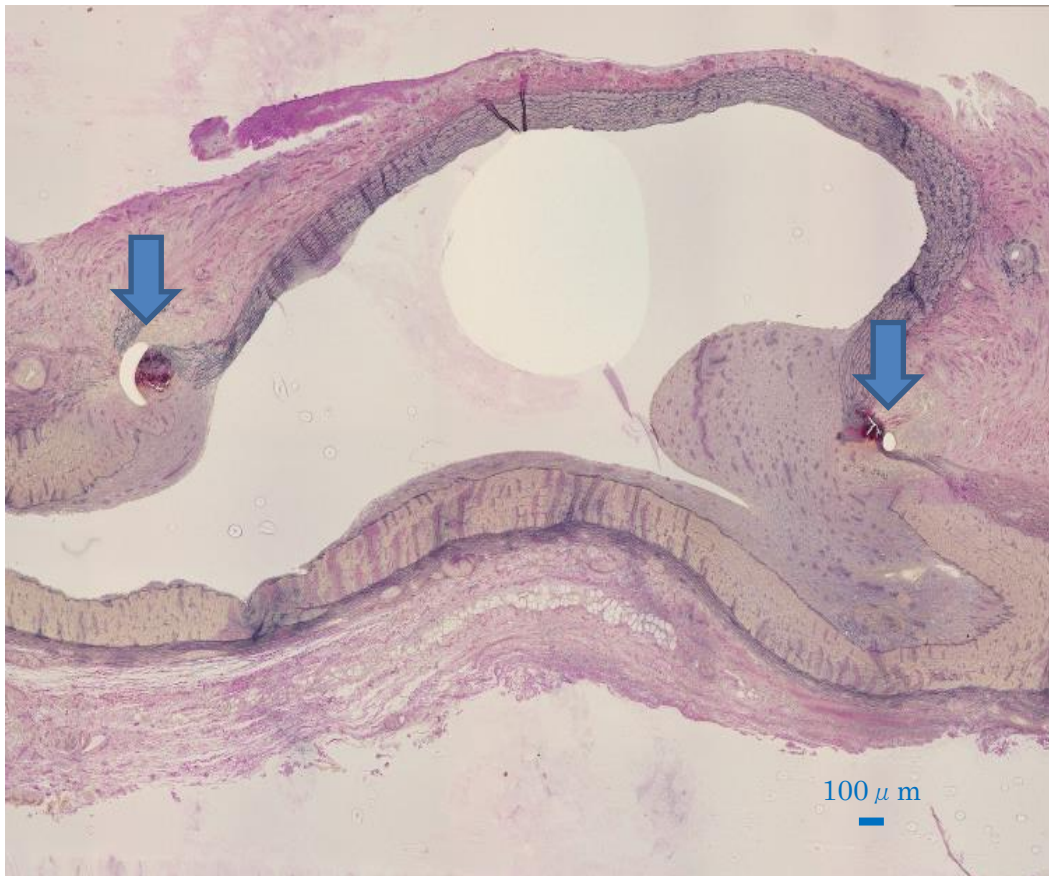
	Acute		1mo		3mo		6mo		
	LITA-LAD	RITA-RCA	LITA-LAD	RITA-RCA	LITA-LAD	RITA-RCA	LITA-LAD	RITA-RCA	
Device	6/6	5/6	5/5	5/5	4/4	4/4	2/2	2/2	33/34 97.1%
Control	2/2	1/2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	9/10 90.0%
Total	8/8	8/6	6/6	6/6	5/5	5/5	3/3	3/3	42/44 95.5%

④ 病理所見

実験モデル①と同様ブタ冠動脈バイパスモデルでも吻合部周囲には数種の炎症細胞浸潤が認められた。代表的な所見を図 III-2-2) -⑤に示す。矢印で示した吻合糸を境に内胸動脈と冠動脈が接しており、吻合ラインであることが分かる。吻合糸の周囲には赤色の線維増生が見られており異物に対する炎症反応を反映している。また吻合部の内膜はヒール側に有意に内膜増生を認めている。Hematoxiline-eosin 染色標本 (図 III-2-2) ⑥) では device 周囲にはリンパ球、顆粒球、マクロファージに代表される炎症細胞の浸潤が見られており CD 群では同様に糸の周囲にも炎症細胞の浸潤が認められており異物に対する炎症反応と思われる。図 III-2-2) ⑦) に CD 群および CC 群の各観察期間における、a) 内膜肥厚、b) 線維増生、c) リンパ球数、d) 顆粒球数、e) マクロファージ数、を比較した。CC 群の吻合部は sample 数が少ないため統計学的有意差は示せないものの両群とも時間経過とともに徐々に炎症反応が沈静していく様

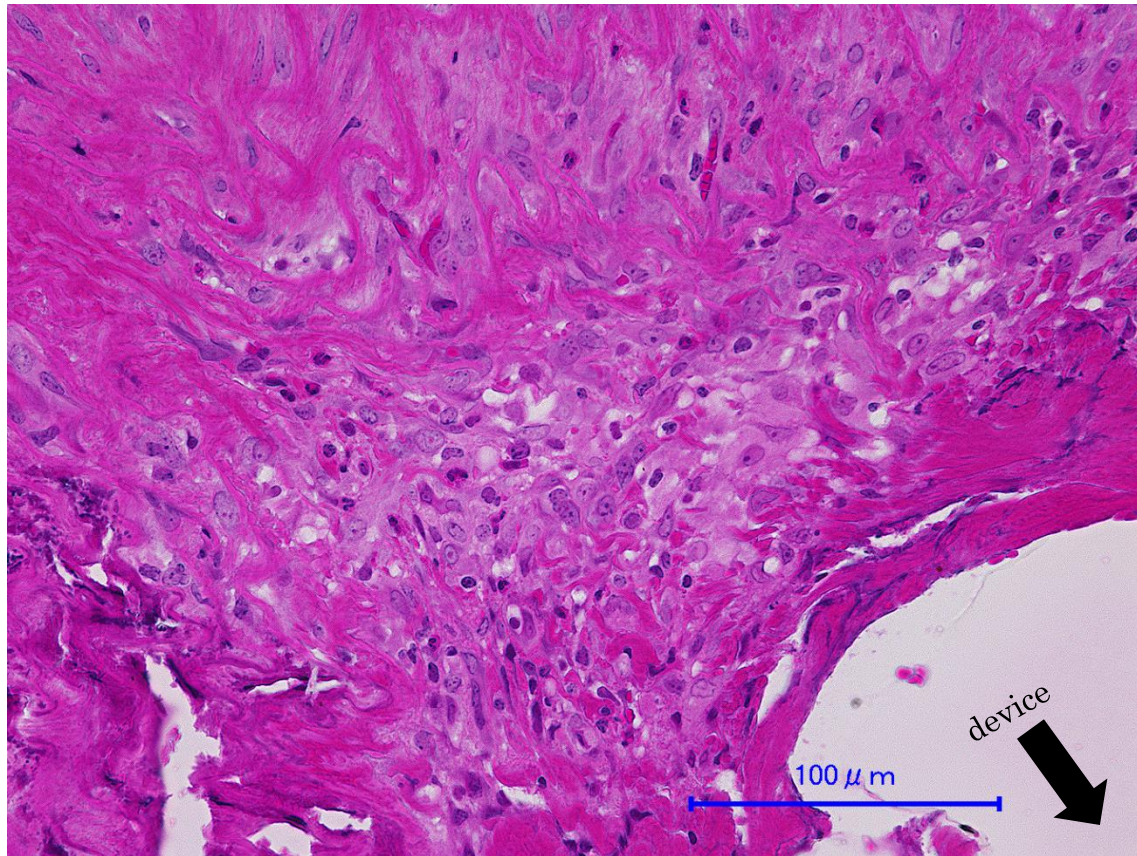
子が分かる。

図 III-2-2) ⑤ 術後1ヵ月の LITA-LAD 吻合 (EVG 染色 ×2)



弾性線維の濃い内胸動脈と、弾性線維の薄い冠動脈の境界に糸（矢印）が見られており吻合線であることが分かる、吻合部付近の血管内膜はヒール側を優位に内膜増生が見られている。吻合糸の周囲には赤色の線維増生が見られている。

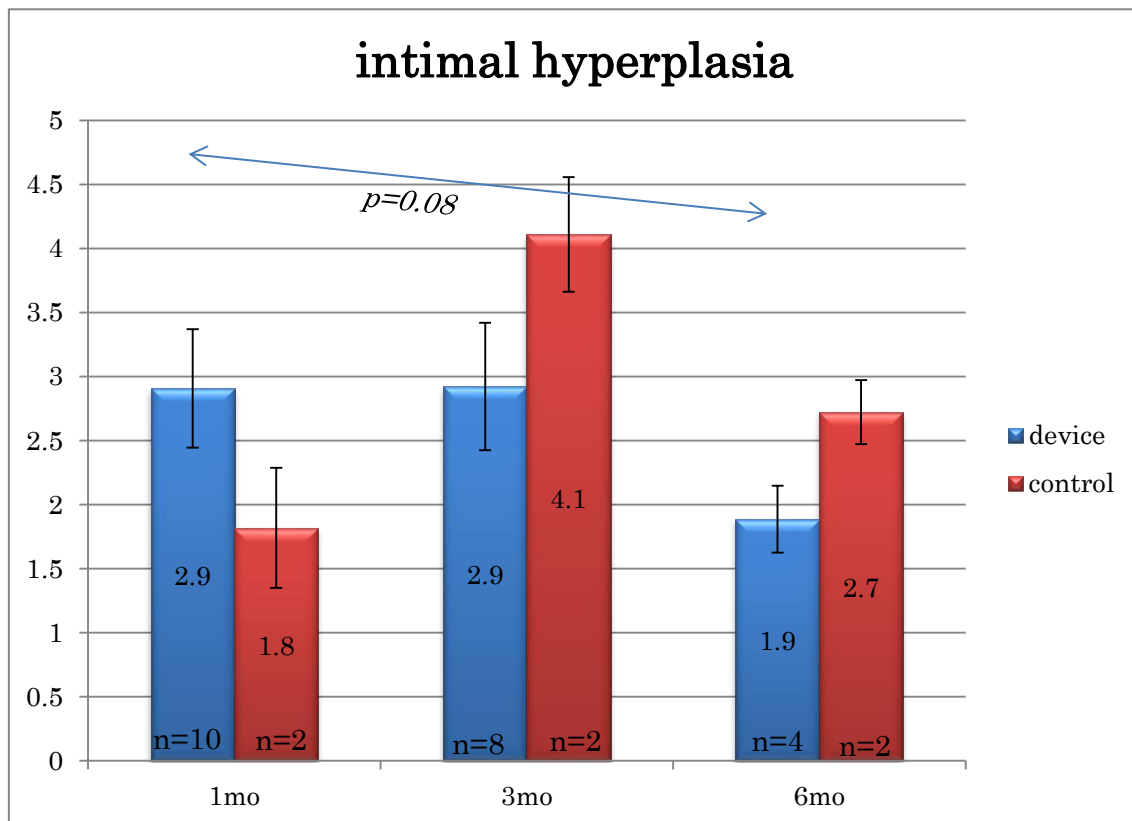
図 III-2-2) ⑥ デバイスを用いた術後1ヵ月の吻合部 (HE、×40)



デバイスの周囲には線維増生や細胞浸潤が認められる。炎症細胞はリンパ球、マクロファージ、顆粒球が目立つ。

図 III-2-2) -⑦ 各観察期間における炎症反応の推移

a 各観察期間における内膜増生の推移

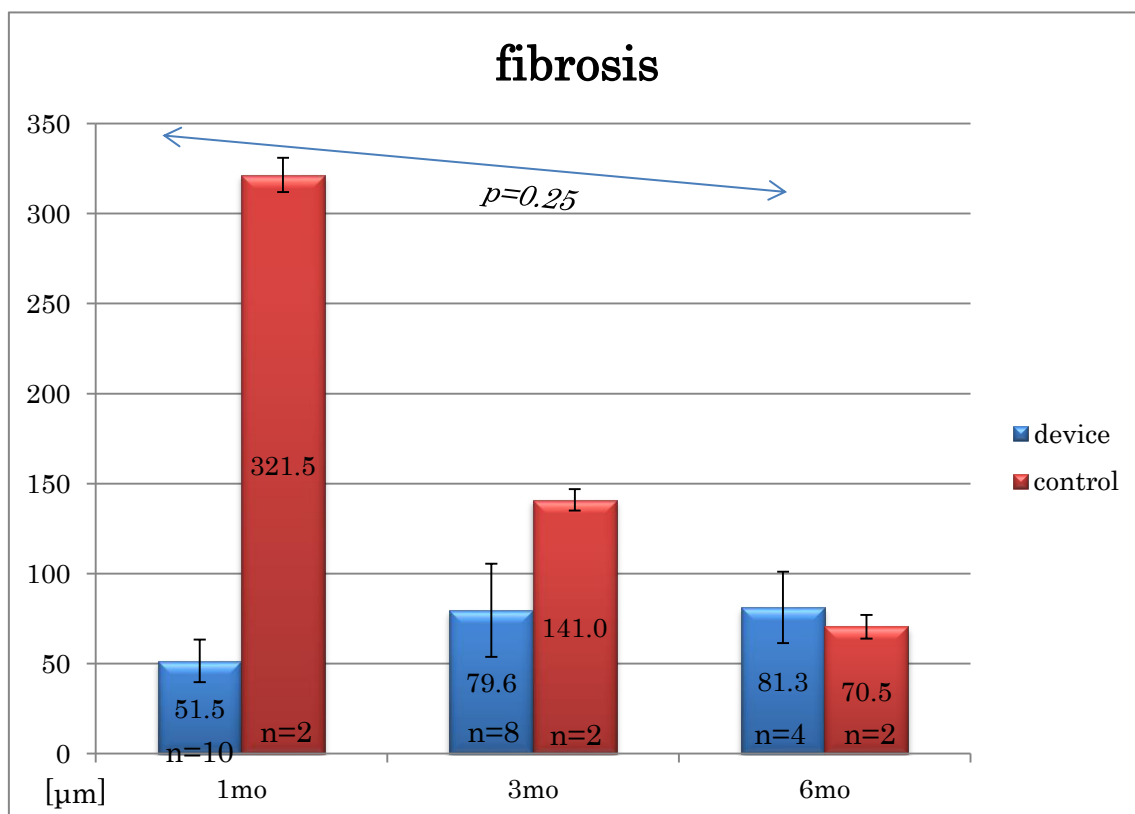


CD 群および CC 群の内膜増生の推移。吻合部の数はそれぞれ n=で記載。内

胸動脈の弾性板の厚みに対する内膜増生の厚みを比率で表示。CD 群での時間経

過では 6 か月後は 1 ヶ月後に比べ有意な減少とはならなかった。

a 各観察期間における線維増生の推移

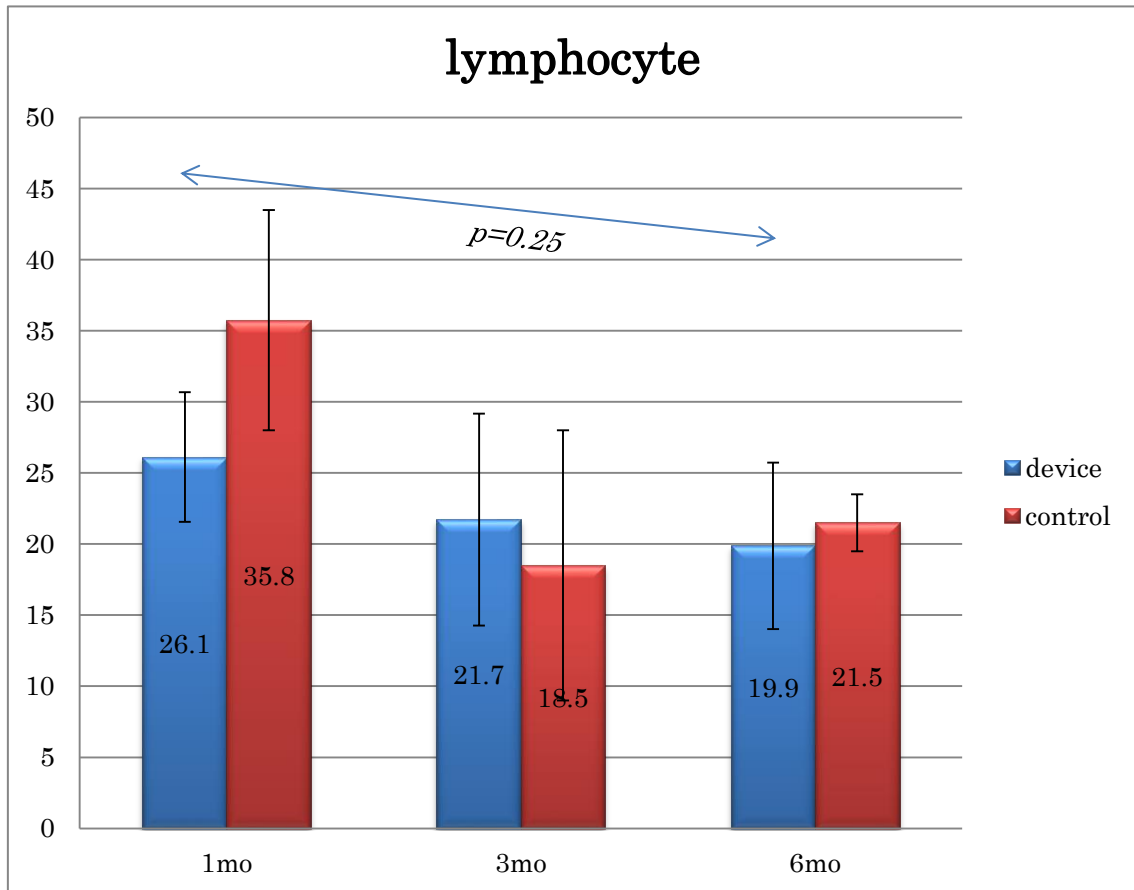


デバイスまたは吻合糸周囲の最大の線維増生の厚みを計測。術後1ヵ月後のCC

群の線維増生が著明でCD群より多い傾向があるが、サンプル数が少ないため

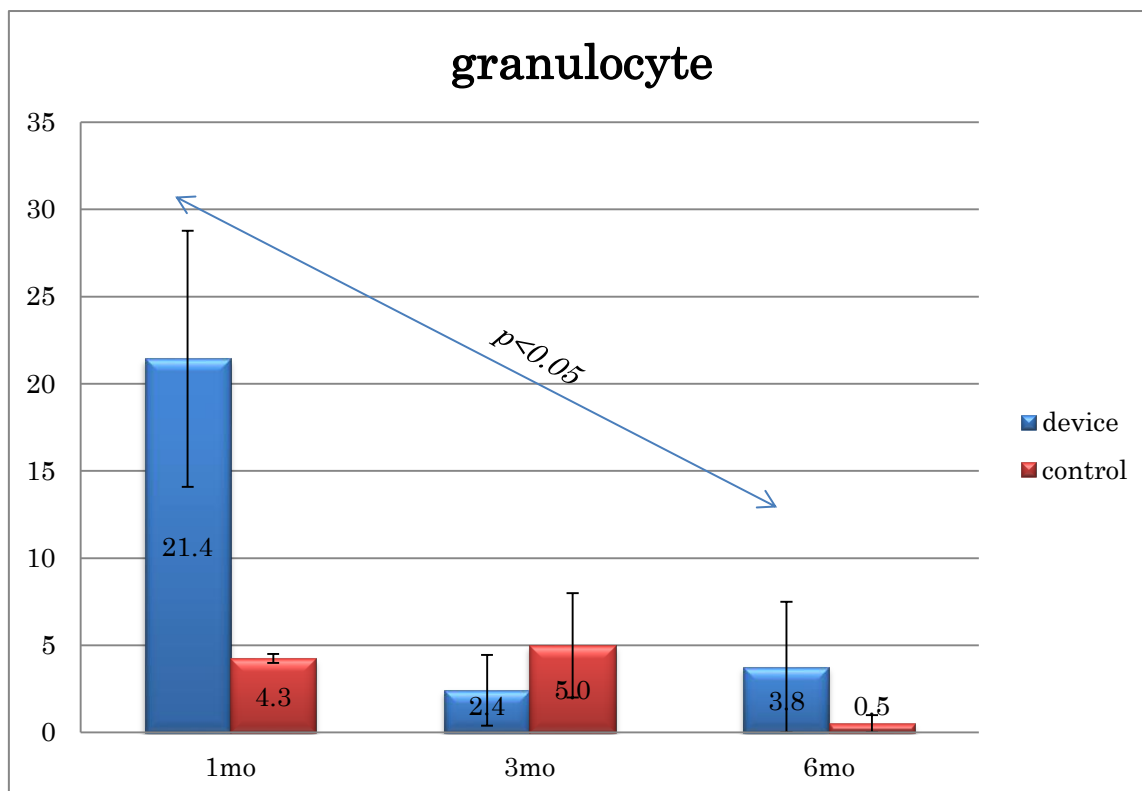
統計的有意差は検定できない。

c リンパ球数の推移



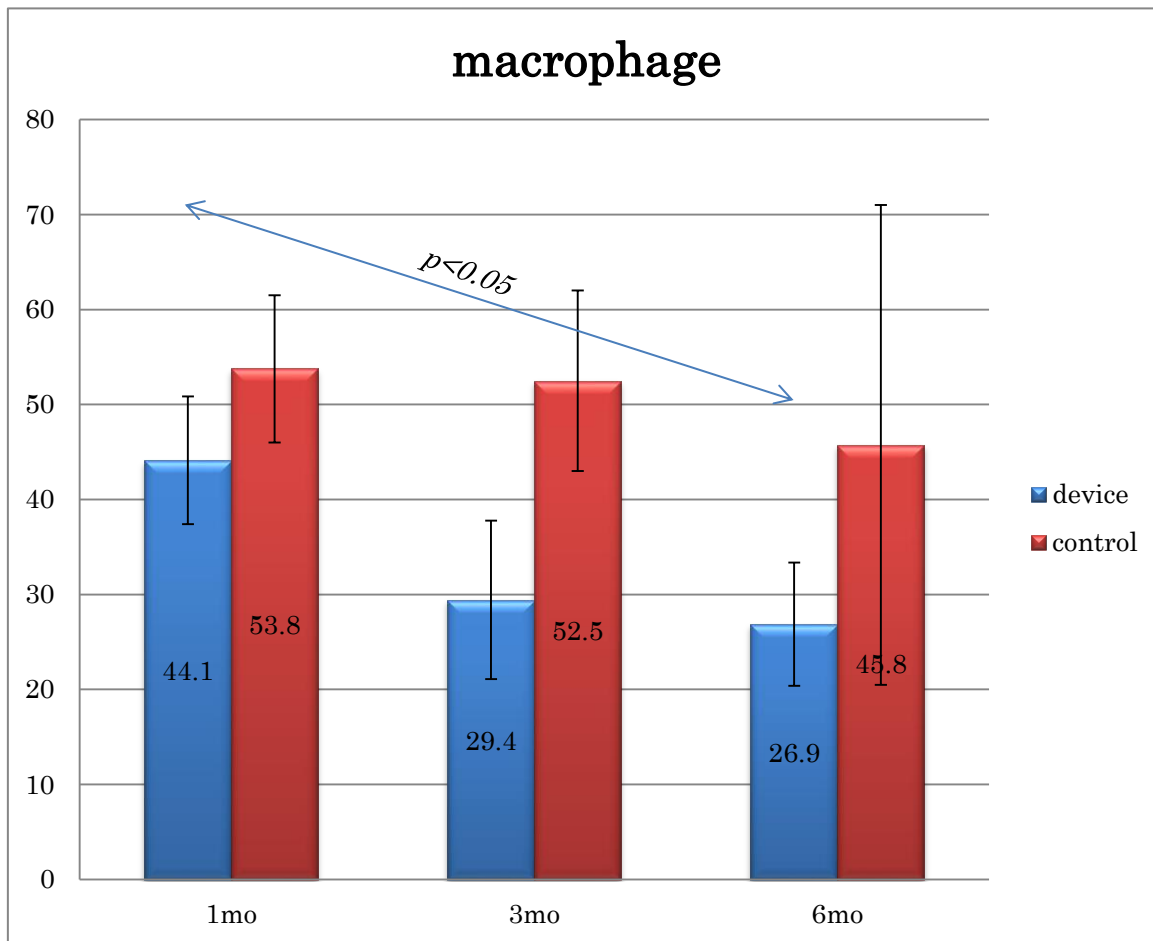
CD群では6ヵ月後は1ヶ月後に比べ減少する傾向がみられたがリンパ球数の変化に有意差はみられなかった。

b 顆粒球数の推移



CD 群では 6 カ月後は 1 ヶ月後にくらべて有意に顆粒球数が減少していた。

e マクロファージ数の推移



マクロファージ数もCD群で6ヵ月後は1ヵ月後に比べ有意に減少していた。

III-2-3) 考察

ブタ冠動脈バイパスモデルについては、序論で述べた各種吻合デバイスも前臨床実験において多くがこのモデルを採用しており[17-19]汎用されているものである。ブタの左冠動脈については分枝様式が多様ではあるが比較的容易に吻合できる 1.5~2mm 程度の径があり、内胸動脈も剥離が容易でグラフトとして十分な径があるため実験モデルとして十分に使用可能であった。しかし右冠動脈は筋肉内走行している部分が多く、右心耳の付着部付近の房室間溝で表出する比較的中枢側の部位に吻合するのが唯一可能な方法であり、個体によっては深部の吻合視野になることがあった。過去の研究においては右冠動脈にグラフトを吻合した例はみられず普遍性を前提とした実験モデルとしては非適応とも考えられた。しかし、本研究で RITA-RCA 吻合を採用したのは、ブタ 1 頭あたりの吻合カ所を増やし動物数を減らす倫理的側面を重視した他、深部の吻合でのデバイスの有効性を評価するには適当な吻合カ所であると思われたためである。

その結果、吻合時間において、RITA-RCA 吻合は LITA-LAD 吻合に比べて両群ともに長い時間を要した。また RITA-RCA 吻合はコントロール群がデバイス群よりも長時間を要する傾向があった（統計学的有意差はなし）。この結果は深部術野などの吻合の難易度の高い箇所ではデバイスが有効である可能性が示唆された。また、病理所見ではこれら 2 箇所の吻合に差はみられなかった。

吻合後の Graft 血流は、RITA-LAD 吻合において、Device を使用した群の方が Control 群よりも血流量が多い結果となった。しかし、Graft 血流はブタの冠動脈の分枝構造が大きく影響していると考えられ、吻合部末梢に大きな血管床が広がっている場合には graft 血流も大きくなり、そうでない場合には小さくなる可能性がある。よって、遠隔期の FitzGibbon 分類の結果を加味する（RITA-RCA 吻合でも CC 群、CD 群で差はない）と、吻合部狭窄の有無により graft 血流が変化した可能性は低いものと考えられた。

遠隔期の開存率では両群ともすべての吻合で狭窄を認めず良好な開存率が得

られた。

病理評価においては、デバイス群では顆粒球数とマクロファージ数において、6ヶ月後は1ヵ月後に比べ細胞数が減少していくことが示された。線維増生では、コントロールの個体数が少なかったため統計学的有意差は示せなかったが、デバイス群に比べコントロール群でより増生する傾向が見られた。これは、吻合糸の結紮部分に対して異物反応として有意に炎症性の線維増生が起りやすいことを反映しているものと考えられた。対してデバイスを用いた切片ではこの反応は比較的抑えられていた。

今回の研究にはいくつかの限界が存在する。一つは吻合技術を習得するためのラーニングカーブである。ウサギ頸動脈バイパスモデルについては、頸静脈が薄く取り扱いが困難であったことから安定した吻合を行えるようになるためにウサギ10羽ほどを要した。ブタ冠動脈バイパスモデルについて、吻合操作そ

のものはドライラボ等での練習により習得は容易であったが、冠動脈操作の際に心室細動に陥りやすく、やはりやはり安定した吻合が可能になるまでブタ 5 頭程度の前段階実験を要した。また、デバイスの使用方法については、10 回程度の練習により比較的簡便に習得することができ、スムーズに動物実験に移行することができた。しかし上述の理由で、吻合時間等が安定した状態で本実験を開始しているものの、個体によっては視野が難しく止血に時間を要したり、吻合部狭窄を招いた可能性も否定できない。

ブタモデルでのコントロール群の頭数が少なく各観察期間における炎症反応の統計学的有意差を証明することができなかった。これについては、ウサギモデルで Device 群と Control 群を同数で比較し両群に炎症の程度に有意差がないことを証明した上で、ブタモデルではコントロールは参考程度のサンプルとして扱うことを意図したが、2 種の動物で同様の炎症反応を示す保証はなく、時間的、経済的余裕があればブタのコントロール群も数を増やすことが望まれた。

さらに、開発したデバイスのコンセプトは内視鏡下手術を代表する低侵襲手術における有用性が主であるにも関わらず、今回の研究では開創術野、および開胸での血管吻合をベースにデバイスと従来の吻合方法との比較を行い、デバイスの優位性は示すことができなかった。これについては、そのような困難な術野で実験を行う前段階としてまず生体の血管吻合にデバイスが適応できるものかを評価するために今回の研究をデザインしたためである。今後の展望として、内視鏡手術用のトレーニングボックスや内視鏡鉗子を用いた動物実験を行い、従来の方法とデバイスを比較しデバイスの優位性を示すことが必要となる。

VI 結論

今回私は、内視鏡手術野や小切開手術での深部術野で有効な冠動脈末梢吻合用デバイスを開発し、その安全性、有効性を 2 つの動物実験（ウサギ頸動脈バイパスモデルおよびブタ冠動脈バイパスモデル）によって評価した。いずれのモデルも解放術野での実験ではあったが、デバイスは従来の吻合糸を使用した吻合方法と同様に優れた開存性を示した。また、デバイスに使用した捨て連巢素材の優れた生体適合性を反映して、デバイス周囲の炎症反応は従来の吻合糸に比べて少なかった。これらの結果から、私の開発した冠動脈末梢側吻合用デバイスは十分に臨床応用できるものと考えられるが、目的した内視鏡術野や小切開下術野での有効性を評価するためにはより、そのような環境を想定した実験モデルでのさらなる研究が必要であると考えられた。

謝辞

今回の研究を責任者として直接指導していただいた、東京大学大学院医学系

研究科外科学専攻臓器病態外科学 小野稔 教授に心から感謝申し上げます。

今回の研究で使用した吻合デバイスの開発に携われた、東京大学工学部 佐

久間一郎 教授に深く感謝申し上げます。

- [1] Kuwano H, Amano J, Yokomise H, Thoracic and cardiovascular surgery in Japan during 2010, Annual report by The Japanese Association for Thoracic Surgery. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 Oct;60(10):680-708.
- [2] Favaloro RG, Effler DB, Groves LK, Sheldon WC, Riahi M, Direct myocardial revascularization with saphenous vein autograft: clinical experience in 100 cases. 1969. *Chest.* 2009 Nov;136(5 Suppl):e26-7.
- [3] Pfister AJ, Zaki MS, Garcia JM, Mispireta LA, Corso PJ, Qazi AG, Boyce SW, Coughlin TR Jr, Gurny P. Coronary artery bypass without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 1992 Dec;54(6):1085-91; discussion 1091-2.
- [4] Dickes MS, Stammers AH, Pierce ML, Alonso A, Fristoe L, Taft KJ, Beck DJ, Jones CC. Outcome analysis of coronary artery bypass grafting:

minimally invasive versus standard techniques. *Perfusion*. 1999

Nov;14(6):461-72.

[5] Diegeler A, Matin M, Falk V, Binner C, Walther T, Autschbach R, Mohr

FW. Indication and patient selection in minimally invasive and off-pump'

coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1999 Sep;16

Suppl 1:S79-82.

[6] Nishida S, Watanabe G, Ishikawa N, Kikuchi Y, Tanaka M,

Beating-heart totally endoscopic coronary artery bypass grafting: report of a

case. *Surg Today*. 2010;40(1):57-9.

[7] Jens W, Chisto K, Martin B, Hartwig K, Thorsten W, Johannes MA,

Long-term effects in distal coronary anastomoses using different adhesives

in a porcine off-pump model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006

Aug;132(2):325-31.

[8] Ono M, Wolf RK, Angouras D, Schneeberger EW, Early experience of coronary artery bypass grafting with a new self-closing clip device. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002 Apr;123(4):783-7.

[9] Uwe K, Volkmar F, Michael M, Steffen B, Steven B, Anton M, Friedrich M, Axel H, Gerhard WG, Magnetic vascular coupling for distal anastomosis in coronary artery bypass grafting: A multicenter trial. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Nov;126(5):1568-74.

[10] Balkhy HH, Wann LS, Arnsdorf S, Early patency evaluation of new distal anastomotic device in internal mammary artery grafts using computed tomography angiography. *Innovations (Phila).* 2010 Mar;5(2):109-13.

[11] Balkhy HH, Wann LS, Krienbring D, Arnsdorf SE, Integrating coronary anastomotic connectors and robotics toward a totally endoscopic beating heart approach: review of 120 cases. *Ann Thorac Surg.* 2011 Sep;92(3):821-7.

[12]Cai TH, Acuff TE, Randolph Bolton JW, Dizney LR, Poon M, Prospective Evaluation of Patency and Early Experience Utilizing an Automated Distal Anastomosis Device (C-Port) *Innovations (Phila)*. 2007 Sep;2(5):245-50.

[13] Matschke KE, Gummert JF, Demertzis S, Kappert U, Anssar MB, Siclari F, Falk V, Alderman EL, Detter C, Reichenspurner H, Harringer W, The Cardica C-Port System: Clinical and angiographic evaluation of a new device for automated, compliant distal anastomoses in coronary artery bypass grafting surgery—A multicenter prospective clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005 Dec;130(6):1645-52.

[14] Fitzgibbon GM, Kafka HP, Leach AJ. Coronary bypass graft fate and patient outcome: angiographic follow-up of 5,065 grafts related to survival and reoperation in 1,388 patients during 25 years. *J Am Coll Cardiol*. 1996 Sep;28(3):616-26.

[15]Puca A, Esposito G, Albanese A, Maira G, Rossi F, Pini R, Minimally occlusive laser vascular anastomosis (MOLVA): experimental study. *Acta Neurochir (Wien)*. 2009 Apr;151(4):363-8; discussion 368.

[16]Schiller W, Rudorf H, Welzel CB, Kiderlen MJ, Probst C, Dewald O, Welz A, Sutureless anastomoses of rabbit carotid arteries with BioGlue. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007 Dec;134(6):1513-8.

[17]Buijsrogge MP, Scheltes JS, Hikens M, Grundeman PF, Pisteky PV, Borst C, Sutureless coronary anastomosis with an anastomotic device and tissue adhesive in off-pump porcine coronary bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002 Apr;123(4):788-94.

[18]Klima U, Beilner J, Bagaev E, Fischer S, Kofidis T, Lotz J, MRI-Based safety evaluation of the ventricular magnetic coronary anastomotic system. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2007 Jan;15(1):24-9.

[19]Suyker WJL, Buisrogge MP, Suyker PTW, Verlaan CWJ, Borst C, Grundeman PF, Stapled cocronary anastomosis with minimal intraluminal artifact: The S2 Anastomotic System in the off-pump porcine model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004 Feb;127(2):498-503.