

Experimental Study on Wound Healing Process at Anastomotic Site of Reconstructed Airway

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8087

気道再建手術術後の吻合部における創傷治癒過程に関する実験的研究

—端々吻合と端側吻合の比較—

金沢大学医学部外科学第一講座 (主任：岩 喬教授)

小 田 誠

(平成1年1月24日受付)

雑種成犬32頭を用いて、気管・気管支形成術において特殊術式である端側吻合術時の創傷治癒過程を検討すると共に、一般的術式である端々吻合術の創傷治癒過程に関しても新たな知見を加えた。犬の頸部気管を管状に切離したのち、気管の端々吻合術および端側吻合術を施行した2種類の実験群を製作した。術後3, 7, 12, 30日目の吻合部組織における、抗張力、組織学的所見およびI, II, III, IV, V型コラーゲンの免疫組織学的所見を検討した。吻合部の幅1cm当たりの平均抗張力は端々吻合群では、術後3, 7, 12, 30日目で各々52, 300, 690, 2030g/cmであった。端側吻合群では、術後3, 7, 12, 30日目で各々48, 180, 605, 2270g/cmであり、端々吻合群に比べて術後3, 30日目は同様の抗張力を有するものの、術後7, 12日目には低い傾向がみられた。組織学的所見では、端々吻合群では粘膜上皮は術後3日目で再生が始まり7日目に完成していた。端側吻合群でも術後3日目で再生が始まったが、欠損部が大きく、再生の完成は術後12日目であった。端々吻合群において、軟骨間では、術後7日目に線維芽細胞が増殖し始め、術後12日目には膠原線維が密に配列し、30日目では正常組織と区別し難い組織像を呈していた。一方、端側吻合群においては軟骨切断端を覆う凝血塊が多く、術後7, 12日目においても依然として凝血が残存していたが、30日目には創部全体が線維性組織に置換されていた。免疫組織学的には端々吻合群、端側吻合群ともにI, III型コラーゲンは、線維芽細胞および新生された膠原線維に陽性であった。II型コラーゲンは、端々吻合群では正常軟骨部にのみみられ、創傷治癒には関与していなかった。端側吻合群では術後30日目の軟骨切断端においてII型コラーゲンの吸収像がみられた。IV型コラーゲンは毛細血管周囲に、V型コラーゲンは肉芽組織中にみられた。以上より、気管・気管支の端側吻合時には、術後10日前後では創傷治癒が遅延する傾向があり術後管理上この期間では吻合部の保護に留意する必要がある。また、端側吻合群においては軟骨切断端の創傷治癒が遅延する傾向があることから、端々吻合術においても軟骨部を可及的に切断、損傷しないように注意する必要があると考えられる。

Key words tracheoplasty, end-to-side anastomosis, wound healing, tensile strength, collagen

気管・気管支形成術は1940年代後半より施行され始め¹⁾、近年呼吸器外科領域においてその報告例は増加している²⁻⁵⁾。この術式は気管・気管支の病変部のみを切除し、気管・気管支の再建を行うことにより、肺

機能の温存、生理的換気の維持を計ることを目的として創始された。やがて、肺癌症例の増加と相俟って手術根治性と肺機能の温存を両立させる術式としてその適応が増大すると共に、症例数も増加している⁶⁻¹⁰⁾。

Abbreviations: H. E., hematoxylin and eosine; HID, high iron diamine; PAS, periodic acid-Schiff

しかし、吻合部合併症の発生率はいまだ高く^{12,13)}、その大部分は縫合不全および肉芽性狭窄である。気管・気管支再建手術が呼吸器外科における手術手技として安全、確実かつ合併症の少ない術式となるためには、気管・気管支吻合部の創傷治癒過程を正確に知ることが極めて重要であるといえる。

一方、最近ではこれら気道再建手術の際に通常用いられてきた気管・気管支の端々吻合に加えて、特殊術型として2連銃吻合、3連銃吻合、側々吻合、端側吻合などが臨床応用されるようになってきている。なかでも端側吻合は Barclay 手術¹⁴⁾に始まり、最近では気管分岐部再建手術などに多用されている。気管・気管支形成術における端々吻合術と端側吻合術は手術手技的には以下の相違点がみられる。すなわち、端々吻合術は、気管軟骨間靭帯の間で気管を切離したのちに、両側断端を端々に吻合している。このため、吻合面は模様部同志および軟骨間靭帯同志で結合再建されることになる。これに対して、端側吻合術においては吻合部中枢端の軟骨はその途中で斜めに切断されており、この中枢側の斜切断された軟骨と、末梢側の軟骨間靭帯とが大部分の吻合面で接することになる。従って、端々吻合術における主たる吻合面は、軟骨間靭帯同志であるのに対して、端側吻合術における主たる吻合面は、軟骨間靭帯と切断された軟骨面である。これら再建気道の創傷治癒過程に関しては、端々吻合時のそれに関してはいくつかの報告がある¹⁵⁻¹⁷⁾が、端側吻合時の創傷治癒過程に関してはほとんど解明されていない。本論文では、端々吻合時の創傷治癒過程についても検討を加えると共に、現在殆どその創傷治癒過程の解明されていない端側吻合についても解析を試みた。すなわち、犬の頸部気管の端々吻合および端側吻合を行い、経時的な抗張力測定、組織学的所見に加えて、

I, II, III, IV, V型コラーゲンに関して免疫組織学的観点から、端々吻合と端側吻合時の創傷治癒過程を比較検討した。

対象および方法

I. 実験動物

対象は雑種成犬合計32頭(体重10.8±2.4kg)を使用した。塩酸ケタミン 10mg/kg および硫酸アトロピン 0.02mg/kg の筋肉内注射により麻酔導入した。肘静脈に点滴路を確保後、気管内挿管し臭化パンクロニウム 0.1mg/kg を静注し非動化したのち人工呼吸器に接続した。人工呼吸器は Harvard 型人工呼吸器を使用し、換気回数を20~25/分、1回換気量を 15ml/kg に設定した。維持麻酔として塩酸ケタミン 2mg/kg を静注し、麻酔中は臭化パンクロニウムを適宜静注し、非動化の状態で行った。なお、気管吻合時には高頻度ジェット換気法を併用することにより(駆動圧 1.5kg/cm²、駆動回数 6Hz)、気管形成術を容易に行うことができた¹⁸⁾。術後は自発呼吸が再開するまで人工呼吸器で管理し、意識、呼吸に問題がないと判断した時点で気管チューブを抜管した。術中、術後にはセフェム系抗生剤を点滴静注した。

II. 実験系の作製

1. 端々吻合群

実験動物を仰臥位にし、頸部を伸展させ固定した。頸部正中切開後、前頸筋群を離断し、頸部気管を露出した。気管軟骨3個を含めて管状に気管を切離し、3-0 ポリグラクチン糸で全周を連続全層縫合にて端々吻合した(図1A)。止血を確認後、創を閉鎖した。術後3日目、7日目、12日目、30日目に犠牲解剖し気管を吻合部を含めて摘出した。

2. 端側吻合群

端々吻合群と同様の方法により、頸部気管を露出し

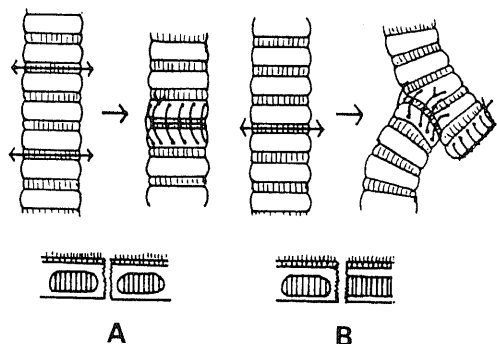


Fig. 1. Schematic drawing of the tracheoplasty. A, End-to-end anastomosis of the trachea; B, End-to-side anastomosis of the trachea.

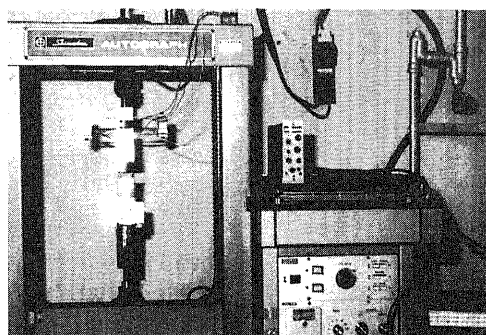


Fig. 2. Photograph of tension tester.

た。気管を軟骨間で切離し、中枢側端を 3-0 ポリグラクチン糸で連続縫合にて閉鎖した。中枢側気管の中枢側端側方に 2 軟骨輪にわたり、 1.5cm^2 の小孔を作製し、同部に気管末梢側端を 3-0 ポリグラクチン糸にて全周を連続縫合で端側吻合した (図 1B)。止血を確認後、創を閉鎖した。手術後 3 日目、7 日目、12 日目、30 日目に犠牲解剖し気管を吻合部を含めて摘出した。

III. 吻合部抗張力の測定 (図 2)

気管を吻合部を中心に中枢側、末梢側を含めて吻合線に垂直に幅 1cm の長方形に切断した。縫合糸を抜糸した後、吻合線 1cm 当たりの抗張力を測定した。なお、牽引速度は $0.5\text{cm}/\text{分}$ とした。端々吻合群、端側吻合群ともに術後 3 日目、7 日目、12 日目、30 日目に対して各々 3~4 検体ずつ測定した。

IV. 吻合部の組織学的検討

吻合部を含む犬の気管の 10% 中性緩衝ホルマリン固定標本を作製した。これらのパラフィン切片に対して、通常の方法でヘマトキシリン・エオジン (hematoxylin and eosine, H. E.) 染色、アザン染色、鍍銀染色、periodic acid-Schiff (PAS) 染色、high iron diamine (HID)-アルシアン青染色を施行した。これにより、上皮の再生状態、膠原線維の増生、炎症反応の推移等を観察した。

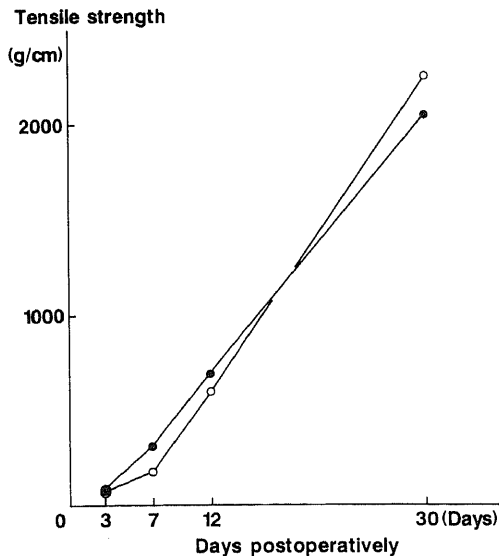


Fig. 3. Changes of tensile strength of 1cm strips of the wounds after operation. ●—●, end-to-end anastomosis, tensile strength measured after removing threads; ○—○, end-to-side anastomosis, tensile strength measured after removing the threads.

V. 吻合部の免疫組織学的検討

吻合部のホルマリン固定・パラフィン切片標本に対して、脱パラフィン処理後 0.05% protease type X X IV (Sigma, USA) にて 37°C 、30 分間処理した後、抗 I、II、III、IV、V 型コラーゲン抗体を用いて免疫染色し、コラーゲン新生過程を免疫組織学的に検討した。免疫染色抗体は、アビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合法¹⁹⁾で行い、抗 I、II、III、IV、V 型コラーゲン抗体は病理学第一講座から提供された各々の型に特異的なアフィニティー精製抗体を使用した^{20,21)}。これにより、創傷治癒過程において主体をなすコラーゲンを質的に評価した。

VI. 統計学的検討

得られた成績はすべて平均値±標準偏差で示した。3 群以上の平均値の検定には 2 元配置分散分析後、Scheffé の多重比較を用いた。 $p < 0.05$ を有意とした。

成 績

I. 吻合部抗張力

吻合部の抗張力 (g/cm) を経時的にみると (図 3)。

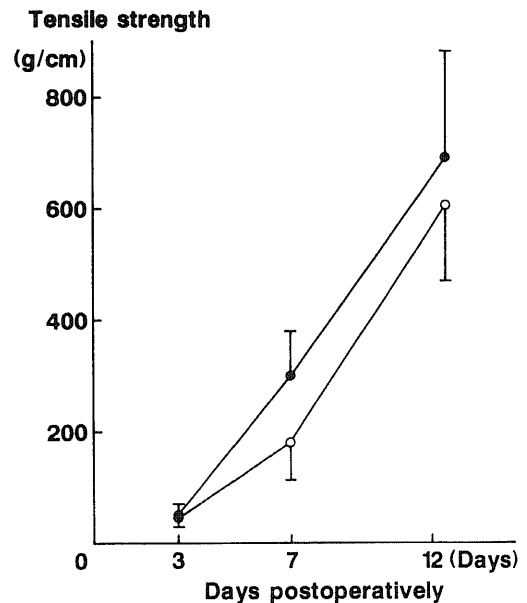


Fig. 4. Changes of tensile strength of healing wounds at 7 and 12 days after operation. ●—●, end-to-end anastomosis, tensile strength measured after removing threads; ○—○, end-to-side anastomosis, tensile strength measured after removing threads. Each value represents the mean±S.D. in three or four dogs.

端々吻合群では術後3日目は 52 ± 19 と低いが、7日目から 300 ± 84 と増大し、12日目には 690 ± 193 と次第に増大し、30日目には 2030 ± 275 となった。一方、端側吻合群では、3日目 48 ± 22 、7日目 180 ± 67 、12日目 605 ± 136 と次第に増大し、30日目には 2270 ± 303 となった。正常の気管での抗張力 (g/cm) は 3800 ± 342 であり、30日目の抗張力は端々吻合群では正常の53%、端側吻合群では60%に達していた。以上の如く術後3日目では両群間で抗張力に差を認めなかったが、7日目、12日目では、端側吻合群の抗張力は端々吻合群に比較して劣る傾向を認めた (図4)。しかし、30日目には端側吻合群で7、12日目に端々吻合群に比較して劣っていた抗張力は、端々吻合群をわずかに上回る程度に達していた。

II. 吻合部の光顕所見

1. 端々吻合群

図5は端々吻合時の創部の典型的な光顕像である。創傷治癒過程の全経過を通して創面は、線維性結合組織である軟骨間靭帯同志が接していた。

3日目 (図5)では、粘膜欠損部は少量の凝血で覆われ、周辺部では上皮の再生が始まっていた (図6a)。軟骨の線状創部でも、少量の凝血が欠損部を充填しており好中球浸潤を伴っていた (図7a)。外膜側でも凝血塊周囲に好中球浸潤がみられたが、線維芽細胞の増殖は明らかでなく、毛細血管新生は未だみられなかった。アザン染色や鍍銀染色でも膠原線維や細網線維の新生は認められなかったが、HID-アルシアン青染色で青

染されるヒアルロン酸と考えられる物質が出現した。

7日目では上皮の再生は完了し正常の多列線毛上皮の配列を示していた (図6b)。上皮下には卵円形～短紡錘形の幼弱な線維芽細胞が欠損部を埋めるように増殖していた。軟骨間では、好中球浸潤は消失し、胞体が比較的広い紡錘形の線維芽細胞の増生がみられ、創面に平行に配列していた (図7b)。外膜側では広い範囲に

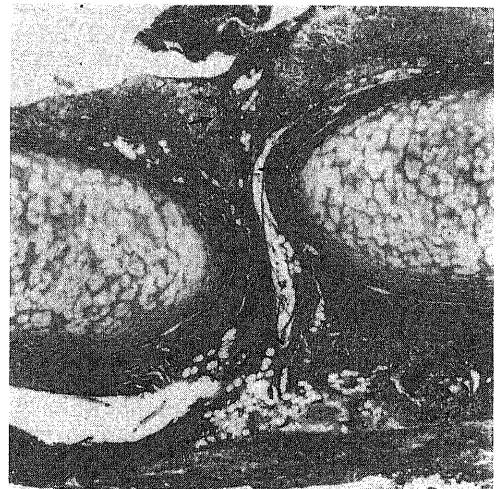


Fig. 5. Photomicrograph of a 3-day-wound of end-to-end anastomosis. A linear wound (arrows) is seen in the intercartilagenous space. Azan stain. $\times 30$.

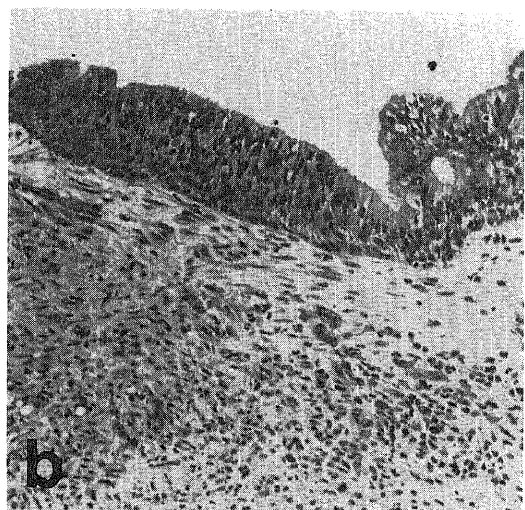
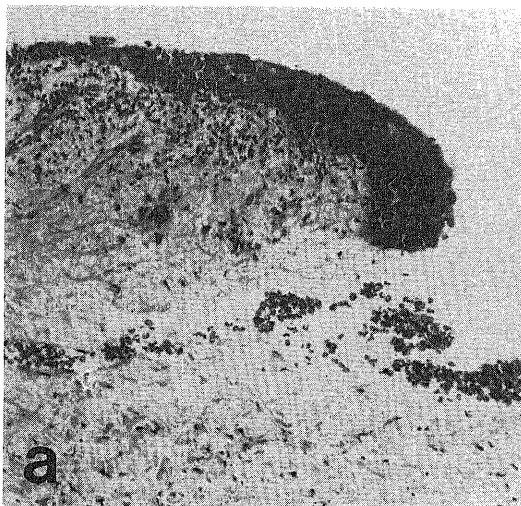


Fig. 6. Regeneration of the epiterium. a) Multilayered regenerating epithelium occurs in the margin of the defect in a 3-day-wound. b) Multilayered ciliated epithelium completely covers the mucosa in a 7-day-wound. H. E. stain. $\times 50$.

わたって、毛細血管、線維芽細胞の増殖と好中球浸潤を伴う肉芽組織が増殖していたが、最外層に凝血塊が残存していた。

12日目の軟骨間では、アザン染色で青染する膠原線維が密に配列しており、線維の走行が整然となっていた。線維芽細胞は細長くなり、その密度は7日目より減少するが、周囲正常組織よりやや密度が高かった(図7c)。外膜側では凝血はほとんど消失し、肉芽組織に置換されていた。炎症細胞は、好中球にかわってリンパ球、形質細胞がみられた。

30日目では、粘膜側、軟骨間、外膜側ともに線維性組織で置換されていた。軟骨間では線維芽細胞、膠原線維の配列は周辺部と同様であり、正常組織と区別し

難い組織像であった(図7d)。粘膜側と外膜側では、未だ配列の不規則な膠原線維が少量残存しており、血管周囲に少量の炎症細胞浸潤が残っていた。

2. 端側吻合群

図8は、端側吻合時の創部の典型像である。創傷治癒過程の全経過を通して創面は、切断された軟骨と線維性組織である軟骨間靭帯とが、接合面の大部分を占めていた。さらに、その創面は軟骨切断面の遊離によって、軟骨切断端が外膜側にずれこむ傾向がみられた。

3日目では上皮の欠損部周囲で、上皮の再生が始まっていた。吻合面の大部分を占める軟骨切断端と軟骨靭帯断端間の線状空隙は、少量の凝血で充填されて

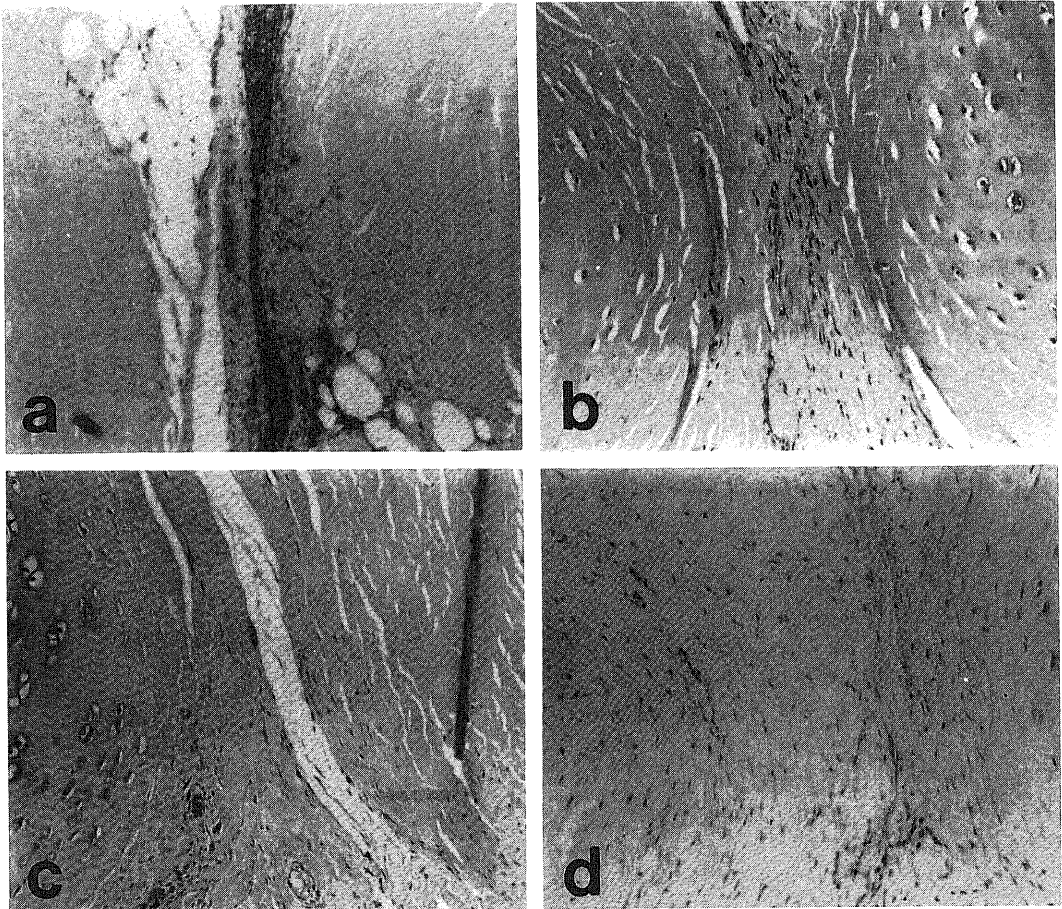


Fig. 7. Sequential histologic changes of the wounds in end-to-end anastomosis. a) A 3-day-wound. A small amount of blood coagulation with neutrophilic infiltration is seen in linear space of the wound. b) A 7-day-wound. Spindle-shaped fibroblasts proliferate and immature collagen appears. c) A 12-day-wound. Elongated fibroblasts decrease in number and collagen becomes mature compared with a 7-day-wound. d) A 30-day-wound. Fibrous scar formation is seen. a), b), c), d). H. E. stain. $\times 150$.



おり好中球浸潤を伴っていた(図9a)。但し、軟骨切断端は外膜側にずれる傾向があり、軟骨切断端の外膜側遊離面は多量の凝血で覆われていた。外膜側でも好中球浸潤、凝血塊がみられたが、毛細血管新生はみられなかった。

7日目では、上皮欠損部が依然残存していた。軟骨切断端においては、軟骨間靭帯断面では、好中球浸潤はほぼ消失し、靭帯から線維芽細胞の増生がみられるようになった(図9b)。しかし、外膜側の軟骨切断端

Fig. 8. Photomicrograph of a 12-day-wound of end-to-side anastomosis. The cut surface of cartilage (left lower) is covered with a lot of immature granulation tissue (arrows). Re-epithelization is almost completed. Azan stain. $\times 30$.

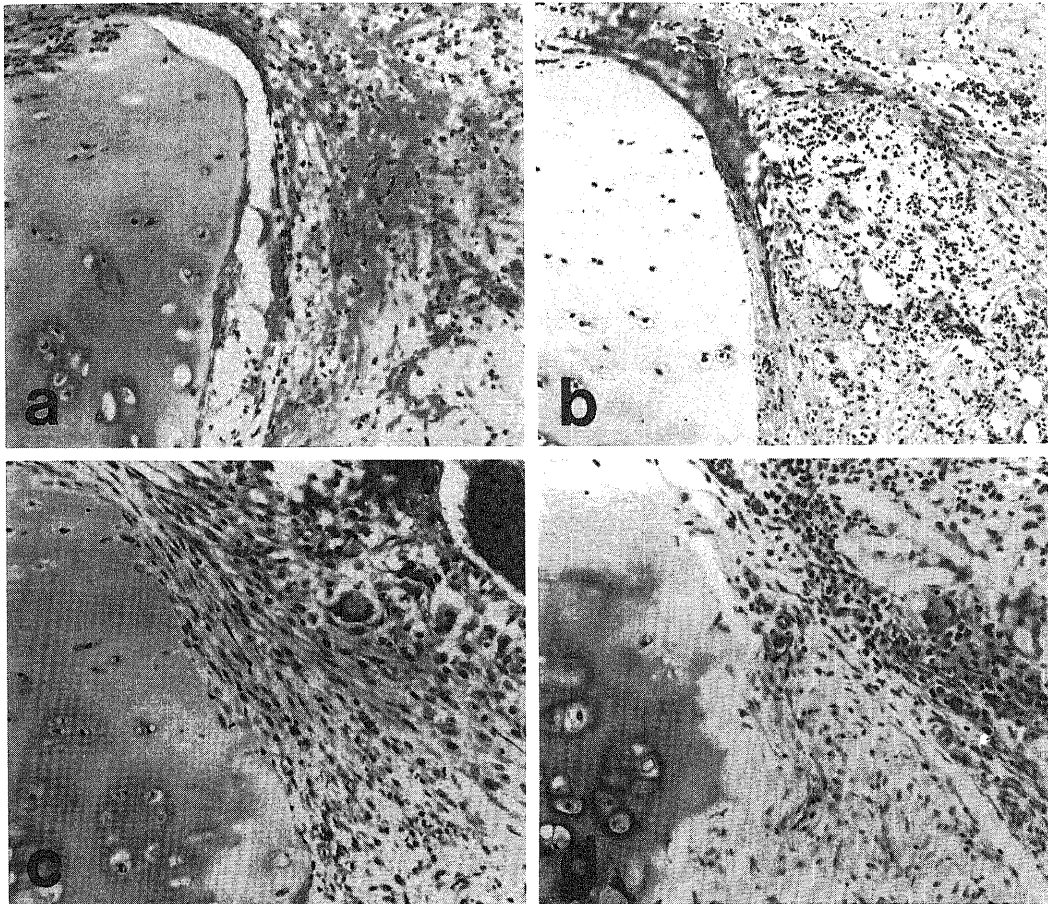


Fig. 9. Photomicrograph of the wounds showing sequential changes of the wounds in end-to-side anastomosis. a) Massive blood clot in a 3-day-wound. b) Proliferating fibroblasts in blood clot in a 7-day-wound. c) Decreased fibroblasts and deposition of immature collagen in a 12-day-wound. d) Fibrosing scar formation in a 30-day-wound. The cartilage is partially absorbed and the cut surface is irregular. a), b), c), d). H. E. stain. $\times 150$.

表面は依然凝血で覆われていた。凝血周辺部には線維芽細胞が増殖していた。外膜側の凝血量は端々吻合群に比べて多いため、肉芽への置換は端々吻合群に比べて遅れていた。

12日目(図8)では、上皮の再生は完了し、正常の多列線毛上皮の配列を示した。軟骨切断端においては、軟骨間靭帯面では、線維芽細胞の密度は減少し、膠原線維が密に配列しており、線維の走行が整然となっていた(図9c)。外膜においては、軟骨切断端表面の凝血の大部分は新生毛細血管を伴う幼弱な肉芽組織で置換されていた。外膜側でも凝血は少量残存しており、肉芽への置換は端々吻合群に比べてやや遅れていた。

30日目では、創部全体に密な線維性組織が形成され

た。軟骨切断端においては、靭帯切断面に接する部では、線維の走行は靭帯の線維と同様であり、切断端に水平に整然と配列していた(図9d)。軟骨切断端の外膜面では、線維は走行が依然不規則であった。また、軟骨切断端は12日目までは鋭的断面であったが(図9a,b,c)、30日目には表面が凹凸不整となった(図9d)。この不整部分に付着するように線維芽細胞かマイクロファージか区別し難い卵円形細胞が認められた。不整部近傍の軟骨は、HID-アルシアン青染色で黒染される軟骨基質が存在するが、軟骨細胞は変性、消失していた。これらの所見から、凹凸不整部分は、不規則な軟骨の新生よりもむしろ、軟骨の吸収状態と考えられた。

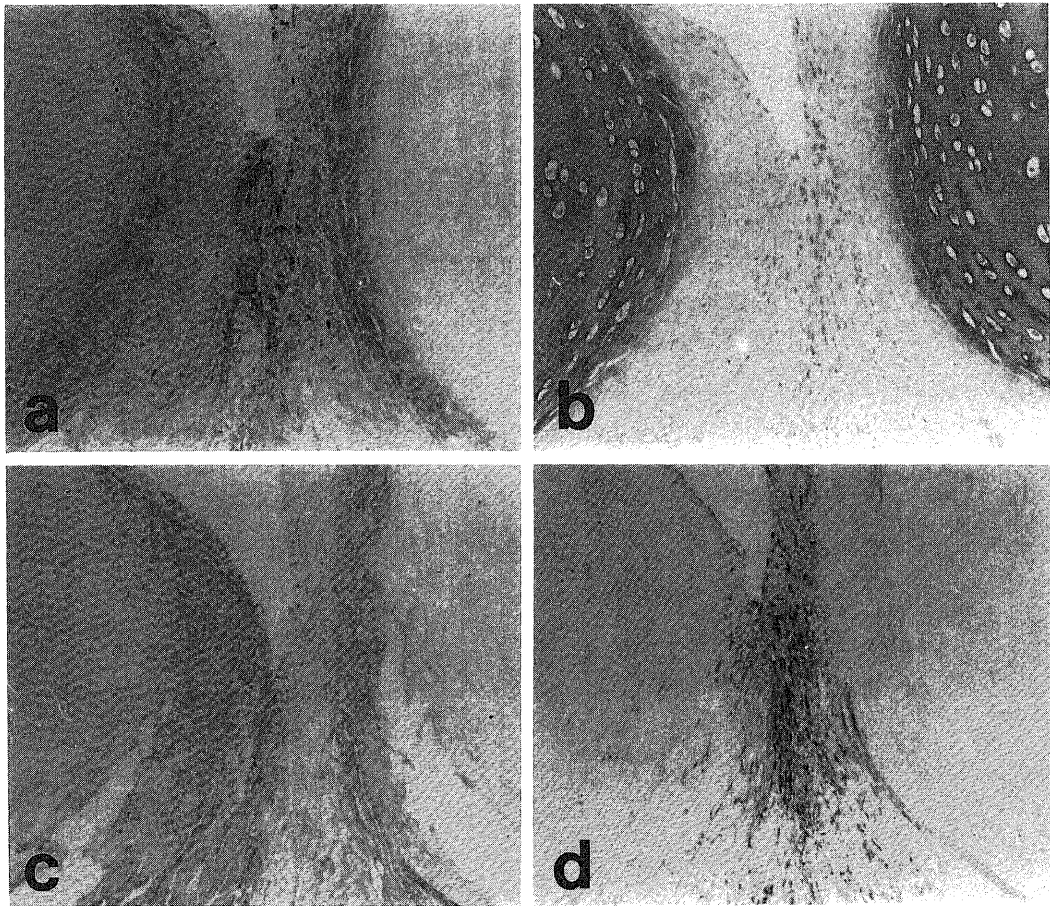


Fig. 10. Immunostaining for collagen types in a 7-day-wound of end-to-end anastomosis. a) Fibroblasts positive for type I collagen appear and the stroma reacts with anti-type I collagen antibodies. b) Type II collagen is located only in the normal cartilage. c) The stroma reacts with anti-type III collagen antibodies. d) Type V collagen is positive in proliferative fibroblasts but faintly stained in the extracellular space. Immunoperoxidase stain. $\times 150$.

III. 吻合部の免疫組織学的所見

正常気管組織においては、I, III型コラーゲンは粘膜下、軟骨間、外膜側の膠原線維に一致して認められた。II型コラーゲンの染色性は軟骨に、IV型コラーゲンは上皮、血管の基底膜に一致していた。V型コラーゲンは上皮基底膜に沿って帯状に認められた。

端々吻合部の軟骨間においては、術後7日目からI, III型コラーゲン陽性の線維芽細胞が出現し、細胞間に沈着する膠原線維に陽性であった。この染色性は12日目には増加するとともに配列も整然としてきた(図10a,c)。30日目には、細胞内染色は消失し、周辺部と配列、形態共に同様のI, III型コラーゲン陽性線維が形成された。II型コラーゲンは吻合部には出現しなかった(図10b)。IV型コラーゲンは、肉芽組織、線維性組織の毛細血管周囲の基底膜に染まり、毛細血管の発達に伴って、染色性が増強した。V型コラーゲンは、術後7, 12日目には増殖する多数の線維芽細胞内に認められ(図10d)、30日目ではV型コラーゲン陽性細胞は著明な減少を示した。細胞外には7, 12日目の線維芽細胞周囲に薄く染色された。太い膠原線維には陰性であり、30日目には創部の間質に陽性所見は認められなかった。

端側吻合では、7, 12日目に軟骨切断端表面に出現するI, III, V型コラーゲン陽性細胞の数は、端々吻合群の線状創の場合より多かった。新生する膠原線維は端々吻合群と同様にI, III型コラーゲンに陽性であり、V型コラーゲンは肉芽組織中の線維芽細胞周囲に弱陽性だった。II型コラーゲンは端々吻合群と同様に既存の軟骨組織以外では染色されるところはみられなかった。30日目の切断面において、凹凸不整のHID-アルシアン青染色に黒染される部分はII型コラーゲン陽性であったが、軟骨吸収像と考えられた凹部の線維性組織にはII型コラーゲンは認められなかった。

考 察

気管・気管支形成術は病変部のみを切除し、気管・気管支の再建を行うことにより、肺機能の温存、生理的換気の維持を計ることを目的として、1940年代後半にPrice Thomas¹⁾によって創始された。本邦においても、近年その報告例は飛躍的に増加している。そして、この間に気管分岐部形成術²⁾²³⁾のように気管・気管支を単に端々に吻合するのみでなく、端側に吻合することを要求される術式も広く行われるようになってきた。

しかし、前田らの全国集計¹²⁾にみるように、気管・気管支形成術の術後吻合部合併症の発生率は、12.0%

であり、まだ問題点も多々ある。安全で確実であり合併症の少ない術式にしていく必要がある。そのためには、気管・気管支吻合部の創傷治癒過程を正確に知ることは重要なことであると考えられる。これらの観点から、端々吻合時の創傷治癒過程に関してはいくつかの研究報告がなされ次第に解明されつつある^{15)~17)24)25)}。しかし、より合併症の多い端側吻合術を含む術式の創傷治癒過程についての解明はなされていない。

術後3日目において、菊池¹⁷⁾は抜糸後の端々吻合時の吻合部1cm当たり抗張力は、30g前後と報告している。また、Limaら¹⁶⁾は肺移植の実験において皮膚の抗張力は術後4日目で116g/cmとしている。本実験においては、端々吻合群では52g/cmと菊池らとほぼ同様の結果をえたが、Limaらの皮膚の4日目の抗張力よりは弱かった。端側吻合群の抗張力も、3日目では48g/cmと端々吻合群とほぼ同様の結果を得た。また、この時期は創傷治癒過程の滲出期(炎症期、術後3~5日迄)に相当する。Ordmanら²⁷⁾は、豚の皮膚の創傷治癒では、好中球が創部に最も早く出現すると報告している。また、2日目から次第にマクロファージが好中球に置換するとWilloughby²⁸⁾は述べている。本実験でも3日目の組織像は、端々吻合群、端側吻合群ともに好中球浸潤を伴う凝血が主体であった。両群の組織像が一致していることは、抗張力に関して得られた結果を支持するものである。

術後7日目の吻合部の抗張力は、端々吻合群では300g/cmと菊池¹⁷⁾の160g/cmよりも大きかった。Limaら¹⁶⁾は上述の実験で9日目の皮膚の抗張力は502g/cmと述べており、著者の結果は皮膚の抗張力に匹敵した。端側吻合群においては180g/cmと端々吻合群の抗張力より劣った。また、12日目においても、端々吻合群の690g/cmに対して、端側吻合群の吻合部抗張力は605g/cmと依然として弱かった。組織学的にこの時期は増殖期(線維形成期、術後3~5日から2~4週間目迄)の範疇に入る。Rossら²⁹⁾は、線維芽細胞は術後4, 5日目に創部で著明にみられるようになり、7日目に最も多いと報告している。本実験でも端々吻合群、端側吻合群ともに軟骨間靱帯の存在する部位においては、同様に創傷治癒が進行していた。しかし、7日目、12日目共に、端側吻合群の軟骨切断端表面では肉芽への置換は遅れていた。すなわち、吻合部抗張力および組織学の両面ともに、術後7日目、12日目では端側吻合群の創傷治癒過程は遷延しており、臨床上是この時期には端々吻合群以上に吻合部に張力のかからないように留意する必要があると考えられる。

術後30日目の吻合部抗張力は、端々吻合群では、2030g/cmであった。端側吻合群では2270g/cmと端々吻合群とほぼ同等か、やや上回る抗張力にまで達していた。菊池¹⁷⁾は端々吻合術後28日目で1200g/cm前後、Limaら¹⁸⁾は、23日目には気管支端々吻合部で1200g/cm前後、皮膚で1960g/cm前後と報告している。組織学的にこの時期は成熟期(癒痕期、術後2～4週間以降)とされる。端々吻合群では創面全体が線維性組織で置換されていた。端側吻合群においても創面全体に密な線維性組織が形成されていた。すなわち、端側吻合群において12日目には端々吻合群に比べて遅延していた創傷治癒は、30日目までの間に端々吻合群に追いついたものと考えられる。しかし、全経過を通して軟骨切断端は肉芽形成に関与しておらず、このことは端々吻合に際しても可及的に軟骨の損傷を避けるべきであることを示唆している。

粘膜上皮の再生に関して、Ferguson¹⁹⁾、菊池¹⁷⁾は、3～5日目では上皮再生は認めないとしている。しかし、本実験において、端々吻合群、端側吻合群ともに3日目から上皮の再生が確認された。また、彼らは7～10日に上皮の新生がみられ、14日～20日には吻合部の大部分が線毛上皮によって被覆されると報告している。本実験においては、端々吻合群では7日目、端側吻合群では少し遅れて12日目に上皮の再生は完了していた。端側吻合時には粘膜上皮の欠損が大きくなることから、端々吻合群に比べて上皮再生が遅延する原因である。気管・気管支の端々吻合術において粘膜面の接合の利点から粘膜下縫合を主張する報告もある²⁰⁾²¹⁾。端側吻合術においては確かに粘膜面は段違ひになり易く粘膜下縫合は有用であるかもしれない。しかし、全層縫合でも30日目には粘膜面は上皮にて完全に被覆されており、吻合後10日後を注意すれば特に問題はないと思われる。

正常の肺および気管のコラーゲンに関するはいくつかの報告がある²²⁾²⁴⁾。また、気管の創傷治癒過程においては吻合部のハイドロキシプロリン量を測定した報告がある¹⁷⁾。しかし、気管の創傷治癒過程においてコラーゲンの果たす役割について、その型を言及したものはない。

コラーゲン分子は単一でなく、遺伝的に違った分子種が存在することが明らかにされており、現在までに12種類知られている²⁵⁾。

I型コラーゲンは間質コラーゲンの代表であり、結合組織に広く分布するといわれている。また、III型コラーゲンは胎生期皮膚や新生結合組織に豊富に存在し、成熟動物の皮膚、子宮、血管中膜、肺、滑膜、そ

他の間質結合組織にI型コラーゲンと共に広く分布するといわれている。Konomiら²⁶⁾によると、肺、気管支においてI型およびIII型コラーゲンはその間質に存在するといわれる。Bradleyら²⁷⁾も同様の報告をし、それらは末梢側に向かう程豊富であると述べている。本実験において、IおよびIII型コラーゲンは、端々吻合群において新生された膠原線維に一致して染色された。すなわち、3日目においては染色されず、7日目から染色されるようになり、12日目ではその配列が整然となっていた。端側吻合群においても、新生膠原線維に一致して染色され、コラーゲン陽性細胞の数は端々吻合群よりも多かった。しかし、7日目、12日目においては切断された軟骨面においては、膠原線維増生がほとんどみられなかった。これらのことから、切断された軟骨面は光顕所見と同じく、膠原線維新生に関して創傷治癒にほとんど関与していないと言える。

II型コラーゲンは硝子軟骨に特徴的に存在するコラーゲンである。Konomiら²⁸⁾や、Bradleyら²⁹⁾もII型コラーゲンは、気管・気管支において軟骨にのみ存在すると報告している。著者も正常および吻合部の軟骨においてその存在を認めた。また、端側吻合群においては、30日目において軟骨切断端から突出して染色された。しかし、創傷治癒過程において端々吻合群、端側吻合群ともに新生組織中には存在せず、気管の膠原線維新生の意味では創傷治癒には関与していないといえる。

IV型コラーゲンは基底膜に含まれるコラーゲンであり、他のコラーゲンとは構造が著しく異なっている。Konomiら²⁸⁾、Madriら³⁰⁾によると、呼吸器系においては肺胞隔壁、気管および気管支の平滑筋、血管の内膜での存在が認められている。しかし、間質中には存在しなかったと報告している。IV型コラーゲンは、本実験においても端々吻合群、端側吻合群ともに創傷治癒過程において膠原線維、線維芽細胞には染色されず、毛細血管周囲の基底膜に認められた。

V型コラーゲンは、Madriら³⁰⁾によると呼吸器系においてはIV型コラーゲンとともに、肺胞および毛細血管の基底膜に存在するとともに、間質にも存在するとしている。また、Heringら³⁰⁾はV型コラーゲンは、創傷治癒過程の早期に出現すると報告しているが、本実験においても、端々吻合群、端側吻合群ともにV型コラーゲンは、創傷治癒過程の早期に間質に出現した。

結 論

気管支形成術において、一般的術式である端々吻合

術および特殊術式である端側吻合術時の創傷治癒過程を抗張力、光顕、免疫組織の観点から検討し、以下の結果を得た。

1. 吻合部の幅 1cm 当たりの平均抗張力は端々吻合群では、術後 3, 7, 12, 30日目で各々 52, 300, 690, 2030g/cm であった。一方、端側吻合群では、術後 3, 7, 12, 30日目で各々 48, 180, 605, 2270g/cm であった。術後 3, 30日目の抗張力は両群間で同等だったが、術後 7, 12日目では端側吻合群は端々吻合群より抗張力が劣った。

2. 粘膜上皮の再生は、端々吻合群では術後 3日目で始まり 7日目に完成していた。端側吻合群でも術後 3日目で再生が始まったが、欠損部が大きいことより、再生の完成は術後 12日目であった。

3. 端々吻合群において、軟骨間では、術後 7日目に線維芽細胞が増殖し始め、術後 12日目には膠原線維が密に配列し、30日目では正常組織と区別し難い組織像を呈していた。一方、端側吻合群においては軟骨切断端を覆う凝血塊が多く、術後 7, 12日目においても依然として凝血が残存していたが、30日目には創部全体が線維性組織に置換されていた。

4. 端側吻合群の何れの時期においても軟骨断端の新生像は認められず、30日目においては余剰軟骨の融解、吸収像が認められた。

5. I, III, V型コラーゲンは端々吻合群、端側吻合群ともに、7, 12日目の活動性の線維芽細胞および新生された膠原線維に陽性であった。創部の癒合には I, III, V型コラーゲンが関与しているものと考えられた。

以上の結果より、臨床上、気管・気管支の端側吻合時には、術後 10日前後では創傷治癒が端々吻合の場合に比較して遷延する傾向があり、術後管理上この期間まで創部の保護に留意する必要があると考えられた。

謝 辞

稿を終るにあたり、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師岩 喬教授に衷心から感謝の意を表します。また、直接、御指導、御助言を賜りました第一外科渡辺洋宇助教授、ならびに御助言、御指導を頂きました第一病理中西功夫教授、河原栄講師に衷心から感謝の意を表します。さらに、抗張力測定に関しまして御協力下さいました工学部杉田忠彰教授、西 誠助手に深甚の謝意を表します。併せて、本研究に御協力頂きました第一外科ならびに第一病理教室の各位に感謝いたします。

文 献

1) **Plice Thomas, C.:** Conservative resection of bronchial tree. *J. Roy. Coll. Surg. Edin.*, **1**, 169-186

(1956).

2) **Paulson, D. L. & Shaw, R. R.:** Results of bronchoplastic procedures for bronchogenic carcinoma. *Ann. Surg.*, **151**, 729-740 (1960).

3) 渡辺洋宇, 佐藤日出夫, 小林弘明, 飯田茂穂, 木元春夫, 市橋 匠, 皆川真樹, 山下良平, 村上真也, 岩 喬: 肺癌に対する気管・気管支形成術とその成績. *日胸外会誌*, **34**, 140-146 (1987).

4) **Watanabe, Y. & Iwa, T.:** Results of bronchoplastic surgery in 60 patient with malignant and non-malignant pulmonary disorders. *Thai. J. Surg.*, **8**, 77-82 (1987).

5) 渡辺洋宇, 村上真也, 木元春夫, 市橋 匠, 榑原直樹, 岩 喬: 気管支再建手術法—一定型的術式と特殊術型—, *日胸外会誌*, **34**, 648-649 (1987).

6) **Johnston, J. B. & Jones, P. H.:** The treatment of bronchial carcinoma by lobectomy and sleeve resection of the main bronchus. *Thorax*, **14**, 48-54 (1959).

7) **Jensik, R. J., Faber, L. P., Millow, F. J. & Amato, J. J.:** Sleeve lobectomy for carcinoma. A ten-year experience, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **64**, 400-412 (1972).

8) **Naruke, T., Yoneyama, T., Ogata, T., Suemasu, K.:** Bronchoplastic procedures for lung cancer. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **73**, 927-935 (1977).

9) **Bennet, W. F. & Smith, R. A.:** A ten-year analysis of the results of sleeve resection for primary bronchogenic carcinoma. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **76**, 840-845 (1978).

10) **Weisel, R. D., Cooper, J. D., Delarue, N. C., Theman, T. E., Todd, T. R. J. & Pearson, F. J.:** Sleeve lobectomy for carcinoma of the lung. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **78**, 839-849 (1979).

11) **Frist, W. H., Mathisen, D. J., Hilgenberg, A. D. & Grillo, H. C.:** Bronchial sleeve resection with and without pulmonary resection. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **93**, 350-357 (1987).

12) 前田昌純, 南城 悟, 中村憲二, 中元賢武, 多田弘人, 成毛韶夫: 全国集計, 気管・気管支形成術. *気管支学*, **8**, 346-355 (1986).

13) **Grillo, H. C., Zannini, P. & Michelassi, F.:** Complications of tracheal reconstruction: Incidence, treatment, and prevention. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **91**, 322-328 (1986).

- 14) **Barclay, R. S., McSwan, N. & Welsh, T. M.:** Tracheal reconstruction without the use of grafts. *Thorax*, **12**, 177-180 (1957).
- 15) **Ferguson, D. J., Wild, J. J. & Wangenstein, O. H.:** Experimental resection of the trachea. *Surgery*, **28**, 597-619 (1950).
- 16) **Lima, O., Cooper, J. D., Peters, W. J., Ayabe, H., Townsend, E., Luk, S. C. & Goldbelk, M.:** Effects of methylprednisolone and azathioprine on bronchial healing following lung autotransplantation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **82**, 211-215 (1981).
- 17) **菊池功次:** 気管端々吻合部の形態学的並びに生化学的研究. *日胸外会誌*, **34**, 357-364 (1986).
- 18) **渡辺洋宇, 小林弘明, 村上眞也, 木元春夫, 屋敷初郎, 品川 誠, 清水淳三, 小田 誠, 岩 喬, 藤田充明, 野沢朗子, 遠山芳子, 小林 勉, 村上誠一:** HFV (高頻度換気法) 併用管理下での気管・気管支形成術. *日胸*, **43**, 989-998 (1984).
- 19) **Hus, S. M., Raine, L. & Fanger, H.:** A comparative study of the PAP method and avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmunoassay antibodies. *Am. J. Clin. Pathol.*, **75**, 734-738 (1981).
- 20) **Minamoto, T., Ooi, A., Okada, Y., Mai, M., Nagai, Y. & Nakanishi, I.:** Desmoplastic reaction of gastric carcinoma: A light and electron-microscopic immunohistochemical analysis using collagen type-specific antibodies. *Human Pathol.*, **19**, 812-821 (1988).
- 21) **Oda, Y., Kawahara, E., Minamoto, T., Ueda, Y., Ikeda, K., Nagai, Y. & Nakanishi, I.:** Immunohistochemical studies on the tissue localization of collagen types I, III, IV, V and VI in schwannomas. Correlation with ultrastructural features of the extracellular matrix. *Virchows Arch. B Cell Pathol.*, (in press).
- 22) **Ishihara, T., Ikeda, T., Inoue, H. & Fukai, S.:** Resection of cancer and carinas. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **73**, 936-943 (1977).
- 23) **Grillo, H. C.:** Carinal reconstruction. *Ann. Thorac. Surg.*, **34**, 356-373 (1982).
- 24) **佐藤日出夫:** 気管支再建術に関する病態学的研究. *金沢大学十全医会誌*, **85**, 599-615 (1977).
- 25) **Cantell, J. R. & Folse, J. R.:** The repair of circumferential defects of trachea by direct anastomosis: Experimental evaluation. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **42**, 589-598 (1961).
- 26) **前田昌純, 中元賢武, 中村憲二, 南城 悟, 太田三徳, 谷口清秀, 坪田典之, 多田弘人, 成毛韶夫:** 全国集計, 気管・気管支形成術—手術型の追補—. *気管支学*, **10**, 350-358 (1988).
- 27) **Ordman, L. J. & Gillman, T.:** Studies in the healing of cutaneous wounds. I. The healing of epidermal, appendageal and dermal injuries inflicted by suture needles and by the suture material in the skin of pigs. *Arch. Surg.*, **93**, 883-910 (1966).
- 28) **Willoughby, D. A.:** Some views on the pathogenesis of inflammation. In *Montagna, W., Bentley, J. P. & Dolson, R. (eds.), The Dermis: Advances in Biology of Skin*, p221-230, vol. 10, Appleton-Century-Crofts, New York, 1970.
- 29) **Ross, R., Everett, N. B. & Tyler, R.:** Wound healing and collagen formation. VI The origin of the fibroblast studied in parabiosis. *J. Cell. Biol.*, **44**, 645-654 (1970).
- 30) **成毛韶夫:** 気管・気管支形成術と成績. *日外会誌*, **80**, 1230-1233 (1979).
- 31) **成毛韶夫, 末舛恵一, 米山武志, 宮沢直人, 土屋了介, 尾形利郎:** 肺癌に対する気管・気管支の外科と治療成績. *日外会誌*, **82**, 968-972 (1981).
- 32) **Konomi, H., Hori, H., Sano, J., Sunada, H., Hata, R., Fujiwara, S. & Nagai, Y.:** Immunohistochemical localization of type I, II, III, and IV collagens in the lung. *Acta. Pathol. Jpn.*, **31**, 601-610 (1981).
- 33) **Bradley, K., MacConnel-Breul, S. & Crystal, R. G.:** Collagen in the human lung. *J. Clin. Invest.*, **55**, 543-550 (1975).
- 34) **Madri, J. A. & Furthmayr, H.:** Collagen polymorphism in the lung. An immunochemical study of pulmonary fibrosis. *Human Pathol.*, **11**, 353-366 (1980).
- 35) **Dublet, B. & van der Rest, M.:** Type XII collagen is expressed in embryonic chick tendons. *J. Biol. Chem.*, **262**, 17724-17727 (1987).
- 36) **Hering, T. M., Marchant, R. E. & Anderson J. M.:** Type V collagen during granulation tissue development. *Exp. Mol. Pathol.*, **39**, 219-229 (1983).

Experimental Study on Wound Healing Process at Anastomotic Site of Reconstructed Airway Makoto Oda, Department of Surgery (1), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med. Sco., 98, 62—73 (1989)

Key words tracheoplasty, end-to-side anastomosis, wound healing, tensile strength, collagen

Abstract

Wound healing process in end-to-side tracheal reconstruction was evaluated, in addition to immunohistochemical assessment in end-to-end anastomosis. In thirty-two adult mongrel dogs, tracheal reconstruction was done after circumferential resection of the cervical trachea. Sixteen dogs were subjected to end-to-side anastomosis and 16 to end-to-end anastomosis. A set number of animals were sacrificed at 3, 7, 12 and 30 days postoperatively. Wound tissue tensile strength, conventional histology and immunohistochemicals for type I, II, III, IV and V collagen were examined. By end-to-end anastomosis, tensile strength was 52g/cm at 3rd postoperative day, 300 at 7th, 690 at 12th and 2030 at 30th. On the other hand, by end-to-side anastomosis, tensile strength was 48g/cm at 3rd postoperative day, 180 at 7th, 605 at 12th and 2270 at 30th. End-to-side anastomosis had the same strength with end-to-end anastomosis at 3rd and 30th day but had weaker strength at 7th and 12th day. Regeneration of epithelium began 3rd day after operation in the wound of end-to-end anastomosis, and was completed at 7th days. In the wound of end-to-side anastomosis, regeneration of epithelium began at 3rd day but the wound healing was slower owing to its large defect, requiring 12 days for its accomplishment. In the inter-cartilagenous space of the end-to-end anastomosis, proliferation of fibroblasts started at 7th day and collagen became mature at 12th day. On 30th day, the wound was replaced by fibrosing granulation tissue which could not be distinct in normal tissue. On the other hand, the cut surface of the cartilage of end-to-side anastomosis was covered with a lot of clots, remaining at 7th and 12th day, but was replaced by fibrosing granulation tissue at 30th day. Immunohistochemically, types I and III collagen were positive in fibroblasts and interstitial collagen fibers in the wounds of both groups. Type II collagen was localized only in normal cartilage in both groups. In a 30-day-wound of end-to-side anastomosis, type II collagen was partially absorbed and cut surface was irregular. Type IV collagen was positive around capillaries. Type V collagen was localized in granulation tissue. This work suggests, clinically, that end-to-side anastomosis of the airway requires more careful management for about 10 days postoperatively.