学位報告４

報告番号	※甲　　第　　号

主　論　文　の　要　旨

論文題目　Alterations of lymph flow after lymphadenectomy revealed by real time fluorescence imaging system: In vivo study as a baseline for the lymphedema therapy
(リアルタイム画像システムによって評価したリンパ節切除後のリンパ流の変化―リンパ浮腫ケアのための基礎研究―)

氏　　名　竹野　ゆかり

論 文 内 容 の 要 旨

Ⅰ．　緒言

続発性リンパ浮腫により、組織間隙に貯留する体液やタンパク質などの成分を排出する方法として、複合的理学療法（Complete Decongestive Therapy、以下 CDT ）が広く用いられている。この有効性はこれまでにも報告されている（Koul et al. 2006）が、一方で、この手法によって過剰なたんぱくや水が実際にどのように組織から排出されるのか、いまだ分かっていない。そもそも、リンパ管が遮断されたとき、リンパ動態はどのような変化をきたすのかということも明瞭ではない。

近年、蛍光物質を指標に、in vivo でリンパ動態を観察できるインドシアニングリーンリンパ管造影が開発された（Kitai et al. 2005）。本研究の目的は、リアルタイム画像システムを用いて、リンパ経路遮断後のリンパ流の変化を in vivo で明らかにし、CDT の効果を検証・開発することを目指すことである。

Ⅱ．　研究方法

１．使用実験動物

本実験には、９－１３週の雄の Wistar 系のラット計２４匹を使用した。

２．手術方法、手順

全身麻酔下を行い、リンパ節とリンパ管を確認するために、ICG 0.2ml（1mg/ml）または、ICG とエバンスブルー（100mg/ml）を１：１で混合したもの 0.2ml を右足背周囲３か所に皮下注射した。右鼠径部の表皮から皮下組織にかけて切開を行い、鼠径部皮下と大伏在静脈近傍に存在するリンパ節と同側膝窩のリンパ節を切除し、リンパ管は結紮した。皮膚は縫合し、手術を終えた。

3. 実験スケジュールと観察内容

リンパ流の変化を見る実験では、ラット１２匹を使用し、術前、術後３日目、１週目から１週ごとに１０週目まで、後肢リンパ流の観察と周囲径の測定を行った。

CDT の効果を見る実験では、左右の鼠径部周囲径差の査定から浮腫が認められるようになった別のラット 12 匹を使用し、これをさらに無作為に二つのグループに分け

た。グループ１は、①no intervention（２W)、②インターバル（１w)、③CDT（２W)、グループ２は、①CDT（２w)、②インターバル（１W)、③no intervention（２W）のプロトコルとした。①および③の初日に ICG 0.2ml を注射し、ICG リンパ管造影と鼠径部周囲径の測定を 2 日毎に２週間行った。②のインターバル期間には、何も実験は行わなかった。

CDT は、１５分の徒手的リンパドレナージ（MLD)、圧迫療法、運動療法の３つの方法を２日毎に２週間行った。

Ⅲ.　実験結果

1.　術前の蛍光イメージ

末梢に注射した ICG は、ただちに下腿から大腿にかけて線状（linear）の蛍光シグナルとなって現れた。蛍光シグナルが見られたのは右鼠径部までであり、それより中枢側には蛍光シグナルは認められなかった。

2.　リンパ経路遮断後のリンパ流の変化

1）患肢限局の異常蛍光イメージ

術後 3 日目から、蛍光シグナルはびまん性に拡散、またはスポット状の光が分散する像を示した。この異常蛍光イメージは、患肢に限局していた。

2）新しいフローパターンの出現

術後１～３週間目には、２種類の新しいフローパターンを示す蛍光イメージが現れ始めた。ひとつめは創部を横切るネットワーク状の蛍光シグナルであり、ふたつめは、このネットワークから右腋窩につながる linear 状のルートである。12 匹すべてのラットにおいて、この同側腋窩につながる右側腹部の linear 状のルートが見られた。また、そのうちの９匹は、恥骨上を横断し、反対側の鼠径部へつながるネットワーク状の蛍光シグナルも認められた。この横断するシグナルは、終始 linear 状にはならなかった。

3）フローパターンの変化

１０週間の観察中に、９匹中３匹において、反対側鼠径部へのルートが消失した。しかし、同側腋窩へのルートは、10 週目の観察終了まで、12 匹中すべてのラットに残っていた。異常蛍光イメージは、フローパターンが出現したのち、時間の経過とともに減少していった。

4）周囲径の差

患肢の鼠径部周囲径は手術後すぐに増大し、術後 3 日目から 2 週間目の間にピークを迎えた。ピークを迎えた後は、鼠径部周囲径は急激に減少する傾向が見られ、その後 10 週目までゆっくりと減少が続いた。

3.　CDT 施行後の浮腫の状態とリンパ流の変化

１）グループ１

①no intervention

初日に ICG を注射したときには、ICG 蛍光シグナルは注射部位に集まっていた。すべてのラットにおいて、下腹部から同側腋窩へ流れる ICG 蛍光シグナルが見られた。14 日目には、注射部位の蛍光シグナルはわずかに減少していた。初日と 14 日目の患肢の鼠径部周囲径に変化は認められなかった。

②インターバル

1 週間で患肢の鼠径部周囲径に顕著な変化は認められなかった。

③CDT

CDT の初日は、①no intervention の初日と同様の ICG 蛍光パターンが見られた。MLD を施している間、同側腋窩へ流れる蛍光シグナルの動きは速くなった。注射部位の ICG 蛍光

シグナルは１4 日間で減少した。患肢の鼠径部周囲径も、１４日間で減少した。
２）グループ 2
①CDT
　CDT の初日に ICG を注射したとき、注射部位に ICG 蛍光シグナルが集まっているのが観察された。14 日目には、注射部位に集まっていた高輝度の蛍光シグナルの面積は減少していた。患肢の鼠径部周囲径は、14 日目には減少した。
②インターバル
　患肢鼠径部の周囲径は、1 週間で増大した。
③ no intervention
　初日 ICG 蛍光パターンについては、①CDT の初日と同様であった。14 日目には ICG 蛍光シグナルは、初日と比較し、多少の減少が見られた。患肢の鼠径部周囲径は、no intervention の初日と比較し、僅かに増大した。
Ⅳ.　考察
1.リンパ経路遮断後のリンパ流の変化
　dermal backflow サインは、鼠径部でのリンパ経路の遮断後、患肢で直ちに増加したが、患肢同側の腋窩リンパ節と反対側鼠径リンパ節への側副路が形成されるとともに徐々に減少した。二つの経路のうち、反対側鼠径リンパ節への経路が観察期間内に消失したことから、同側腋窩リンパ節への経路は、特に大きな可能性を持っていることが推測される。
　ネットワーク状に見えた毛細リンパ管は、患肢大腿から創部の表層通過し、下腹部にかけて密集しているのが観察された。したがって、この毛細リンパ管は患肢と側副路を結び、近くの正常なリンパ節や集合リンパ管へつなぐ役割をしている可能性が考えられる。
　ICG リンパ管造影で見ると、術後 3 日目から 2 週間目までは、重篤な dermal　backflow サインが出ていた。また、左右の周囲径差で見ると、12 匹中 10 匹が同じ時期に最大値を示した。これらの結果から、ICG リンパ管造影とメジャーによる周囲径値はほぼ一致しており、両者とも浮腫の状態を敏感に反映していると推測される。また、ほとんどのラットにおいて周囲径の差がピークを迎えた後、急激に減少し、その後周囲径の差は 10 週目まで緩やかになくなっていった。しかしこの時期にも dermal backflow サインが見られたことから、早期にリンパ浮腫の兆候を発見するためには、見た目の患肢の腫れだけに強く依存しないことが重要である。
2.CDT 施行後の浮腫の状態とリンパ流の変化
　グループ 1①no intervention の 14 日目、グループ２①CDT の 14 日目を比較してみると、CDT グループのほうが、何も行わなかったグループ１と比較し、１４日目に患側後肢に残っている ICG の量は少なかった。また、患肢の周囲径についても、グループ２の１４日目の平均値はグループ２の初日と比較し顕著に減少していたのに対し、グループ１では変化は認められなかった。以上の結果から、CDT は患肢からのリンパ液の排出と腫脹を軽減させる効果があると示唆される。
　グループ 2 では、CDT の 14 日間には患肢の鼠径部周囲径は減少したが、1 週間のインターバルのあいだに増大した。その後の no intervention の 14 日間では、患肢の鼠径部周囲径は緩やかに増大した。これらのことから、１）CDT は継続期間中には浮腫を軽減する効果ある、２）中断すれば多少リバウンドすること、が示唆される。
　蛍光シグナルの流れが、下腹部から腋窩に向かって移動していくのが PDE を通してはっきりとわかり、さらにドレナージを行うことにより、その流れは速くなった。このことから、MLD には、リンパ液を、その場から同側の腋窩リンパ節へ排出させる効果があることが

考えられる。

Ⅴ.　結語

本研究により次の成果が得られた。

1. 鼠径部でのリンパ経路の遮断後に、同側腋窩と反対側鼠径部へつながる新しい排出経路が見られた。この経路の確立により、浮腫が軽減することが明らかになった。
2. 創部中心に毛細リンパ管のネットワークが見られた。これは、近くの正常なリンパ節や集合リンパ管へつなぐ役割をしている可能性が考えられる。
3. ICG リンパ管造影の結果とメジャーによる周囲径測定地の結果は、必ずしも一致しないことが明らかになった。
4. ICG リンパ管造影の結果より、CDT は患肢からのリンパ液の排出に有効であることが明らかになった。