

主論文の要旨

**Effect of postoperative doxorubicin administration on
ischemic wound healing**

〔術後のドキソルビシン投与が虚血創に及ぼす影響〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
運動・形態外科学講座 形成外科学分野

(指導：亀井 讓 教授)

森下 剛

【緒言】

化学療法は、がんの全身的治療で重要であるが、時に皮膚の創傷治癒遅延などの副作用の出現が問題となる。一方、手術療法は、がんの局所的治療として重要であるが、まれに創部の虚血が問題となる。手術後の化学療法が創部の創傷治癒に及ぼす基礎的実験自体は少なく、さらに、創部に虚血を認めた場合の基礎的実験は皆無である。そこで今回われわれは、乳癌、四肢悪性軟部腫瘍などに対し術後に使用される抗がん剤である塩酸ドキソルビシン（以下 DXR と略す）を選択して、DXR の術後投与による虚血創の皮膚創傷治癒に及ぼす影響を検討した。

【方法と材料】

実験動物

本研究では、8 週齢前後の雄の Sprague-Dawley ラットを用いた（230-280g）。すべての実験動物は、名古屋大学における動物実験等に関する取扱い規定に則って実施した。

実験 1

ラットの背部正中部を肉様膜の層まで 2 cm の横切開を行い単純縫合するモデルを作成して単純切開群とした (Fig. 1A)。術後 0 日目に尾静脈から生理食塩水を投与し、コントロール group (group 1) とした。さらに、術後 0, 7, 14, 21 日目に尾静脈より 8 mg/kg の DXR を投与し、それぞれ group 2-5 とした (Fig. 2A)。

実験 2

H 字型の皮弁状に幅 2 cm 長さ 4 cm の大きさで肉様膜の層で起こし縫合するモデルを作成して虚血皮弁群とした (Fig. 1B)。術後 0 日目に尾静脈から生理食塩水を投与し、コントロール group (group 6) とした。さらに、術後 0, 7, 14, 21 日目に尾静脈より 8 mg/kg の DXR を投与し、それぞれ group 7-10 とした (Fig. 2B)。

創抗張力測定および病理学的評価

術後 7, 14, 21, 28 日目に背部縫合部を採取して、縫合糸を全て抜糸した後に皮膚の抗張力測定機である AGS-X (Shimadzu, Kyoto, Japan) を用いて垂直方向に 1mm/s のスピードで引き、縫合部がさける際の抗張力を測定した。背部縫合部を全層で採取し、ホルマリンで固定し、パラフィンブロックを作成後に 5 μ m の薄切切片を作成し HE 染色とエラスチカ・マッソン染色を実施した。

統計解析

データは平均±標準偏差として示した。2 群間の比較は Welch 検定を用いた。また、抗張力の経時的変化の回帰分析は DXR の投与開始日で傾きが不連続に変化する 2 セグメント線形回帰モデルを用いて解析した。解析は R3.3.0 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) を用いて行った。P 値 < 0.05 をそれぞれ有意差ありと判断した。

【結果】

創抗張力

抗張力は全ての group で術後 7 日から 28 日まで徐々に上昇した。実験 1 では group 2

が group 1 と比べ術後 14, 28 日で有意に低下した。同様に group 3 でも術後 28 日で group 1 と比べ有意に低下した (Table 1)。実験 2 では group 2 が group 1 と比べ術後 7, 21 日で有意に低下した (Table 2)。また、抗張力の経時的変化の線形回帰分析では、実験 1 において group 2, 3 がコントロールの group 1 と比較して抗張力の上昇が抑制された (Table 3)。実験 2 では group 7, 8 がコントロールの group 6 と比較して抗張力の上昇が抑制された (Table 4)。抗張力の回復への効果は、DXR、虚血ともにコントロール group に比較して抗張力の回復を抑制させた。さらに、この効果において DXR と虚血の相加効果は認められたが、相乗効果は認められなかった。また、この効果は DXR より虚血の方が大きかった (Table 5)。

病理学的解析

実験 1

Group 1 の術後 7 日では強固な接着と再上皮化を認め、接合部の幅は術後 7 日より術後 14 日で拡大した (Fig. 3A, B)。Group 1 の接合部の膠原線維束は術後 21, 28 日目で厚くなり、その一方で接合部の細胞数は減少した (Fig. 3C, D)。術後 14 日では DXR の影響で group 2, 3 では検体の菲薄化と、皮膚の萎縮性変化と皮膚付属器の退縮を認めた。また、接合部の幅は group 1 と比べ group 2, 3 ではより狭小化、一方で接合部の細胞密度は group 1 と比べ group 2, 3 ではより低下した (Fig. 4)。全ての group において術後 28 日目までに皮膚壊死、皮膚潰瘍形成などは認めなかった。

実験 2

Group 6 の術後 7 日では頭側は簡単に剥がれた (Fig. 5A)。術後 14 日では頭側の部分的な皮膚壊死と部分的な回復 (Fig. 5B) と再生を認めた (Fig. 5 B, C, D)。術後 21 日以内で部分的に皮膚壊死を起こした部分は再上皮化した (Fig. 5B, C)。術後 21 日で group 7, 8 においては DXR の影響で極端な萎縮性の皮膚変化と皮膚付属器の広範囲の退縮を認めた (Fig. 6B, C)。しかし、術後 21 日以内で group 7-9 のように再上皮化と表皮の肥厚を認めた (Fig. 6B, C, D)。

【考察】

DXR は癌の治療に広く使われる抗がん剤で、しばしば他の抗がん剤と併用され、その有用性は高い。しかし、時に DXR の皮膚の創傷治癒の障害が問題となる。De Cunzio らは、DXR の投与が縫合部の抗張力を低下させる可能性について報告した。Devereux らは、ラットへの DXR の投与後 14, 21 日においてヒドロキシプロリン量の低下、膠原線維の成熟障害、さらに膠原線維の減少を認めたと述べている。われわれの結果でも、これらの報告と同様に DXR の投与は単純切開創の創傷治癒を遅延させた。

形成外科の再建手術では、感染を防ぐ目的、形態、機能を回復する目的で、皮弁を組織の欠損部の被覆に頻回に利用する。この皮弁はまれに血流不足から虚血となり、創傷治癒の遅延が問題となる。われわれは、いくつかの報告のある虚血モデルを利用して、術後の DXR の投与による虚血創への影響を創抗張力、病理学的観点から検討した。術後 7 日以内の DXR の投与で創抗張力の回復が有意に低下した。術後 21 日までの

DXR の投与で極端な皮膚萎縮と広範囲の皮膚付属器の退縮が起きた。われわれの検討では単純切開創だけではなく虚血皮弁創へも DXR の投与で創傷治癒の遅延の効果をもたらすことがわかった。

さらに、この効果において DXR と虚血の相加効果は認められたが、相乗効果は認められなかった。DXR と虚血は線維芽細胞の成長の抑制、コラーゲン組織の減少、抗酸化物質に伴う改善という共通の機構を共有している。DXR は局所の線維芽細胞、角化細胞の細胞分裂を直接抑制すること、また、血小板、炎症細胞などの骨髄抑制の影響により創傷治癒を障害する。接着部（縫合部）への膠原線維の集積の低下と線維径の減少により DXR の投与後の創抗張力が低下すると考えられている。一方、術後 7 から 14 日目に線維芽細胞の増殖が皮弁虚血創において単純切開創と比較してより抑制される。Osman らは単純切開創と比較して皮弁虚血創ではコラーゲン密度が減少していた報告している。加えて抗酸化物質は皮弁虚血創の創傷治癒を部分的に改善させる。つまり、DXR、虚血の両方ともに酸素フリーラジカルによって、線維芽細胞の増殖とコラーゲン合成を抑制する。

われわれは DXR の投与量は容認できる死亡率の最大許容量を、また適切な一時的な虚血と典型的な部分皮膚壊死を示す H 型の皮弁モデルを選択した。この条件は臨床現場と則していて、皮弁虚血創が DXR の投与よりも重大な影響を及ぼすことを示唆している。

創傷治癒の障害のある患者（例えば、皮弁の部分壊死などのある患者）への術後化学療法を開始する最適な時期の決定は困難である。われわれの検討では術後 7 日以内の DXR の投与では皮弁虚血創の抗張力の回復の抑制を示すことはわかった。また、病理学的検討では術後 14-21 日まで DXR の投与では虚血皮弁創、単純切開創、に対して共に萎縮性の皮膚変化と皮膚付属器の退縮を起こした。術後 21 日目までの化学療法開始はリスクが高いと考えられた。虚血条件のもとにおいて副作用を最小限に抑える DXR の投与時期の正確な検討にはさらなる個体数を増やしての研究が必要であると考えられる。

【結論】

術後のドキソルビシンの投与は、虚血創の創抗張力を低下させ、病理学的に創部の萎縮的变化をもたらした。