

微小血管吻合練習用ラット保存血管の開発

高見 佳宏, 大澤 幸代

東京労災病院形成外科

(平成 26 年 12 月 1 日受付)

要旨：目的：微小血管吻合術を習得するための練習法としてラットの血管を用いた吻合練習が一般的であるが、この練習法は動物実験施設を有しない病院で研修する場合には実施が困難である。その代替方法として用いられる人工血管を用いた吻合練習では、人工血管の質感が生体の血管とは大きく異なるだけでなく、血管の剝離や外膜の切除操作等を経験する事ができない。著者らは人工血管の欠点を補いうる練習用血管を、ラットの大動脈を用いて開発した。方法：微小血管吻合術練習用血管は、Fischer rat (12 週齢, ♂) の胸腹部大動脈を、1% グルタルアルデヒド溶液にて消毒・固定した後、トリプシン処理により組織硬度を軽減させて作製した。練習用血管の組織学的検討と、10-0 ナイロン糸を用いた端々吻合における有用性を検討した。結果：作製した練習用血管の針刺入と縫合の感触は実際の血管に近く、血管剝離や外膜切除等の基本手技も実施できた。組織学的に、作製した練習用血管は正常血管の 3 層構造が保持されていた。考察と結論：作製した練習用血管は、実際の血管の特性を残しつつ感染のリスクが極めて低く長期保存が可能であり、動物を用いた血管吻合トレーニングの代用として有用であると考えられた。

(日職災医誌, 63 : 116—119, 2015)

—キーワード—

練習用保存血管, 微小血管吻合

はじめに

微小血管吻合はマイクロサージャリーの基本手技であり、その技術は広く形成外科、整形外科、脳神経外科において日々用いられている。よってこれらの診療科研修の早期から、微小血管吻合技術を習得する事は非常に重要である。そのための練習法としてラットの血管を用いた吻合練習が一般的であるが¹⁾、この練習法は動物実験施設を持たない一般病院では実施する事が困難である。その代替方法として種々の人工血管を用いた吻合練習が行われているが^{1)~5)}、人工血管は生体の血管とは質感が異なるだけでなく、血管の剝離や外膜の切除操作等は経験できない。我々は人工血管のこうした欠点を補いうる練習用血管を、ラットの大動脈を加工して作製し、その有効性と実用性について検討した。

方 法

1 練習用血管の作製

1 Fischer rat (12 週齢, ♂) を麻酔薬により安楽死させた後開腹開胸し、胸腹部大動脈を採取した。大動脈は phosphate buffered saline (PBS, Invitrogen 社) にて洗

浄後、1% グルタルアルデヒド (和光純薬工業) 溶液に 3 時間インキュベートし消毒・固定した。固定後、0.25% トリプシン処理 (Invitrogen 社) (1 時間) にて組織硬度を軽減した後、10% 牛血清 (Invitrogen 社) 含有 PBS 溶液に移しトリプシン効果を停止させた。以上の手順により作製した練習用血管は、PBS で十分に洗浄後、使用時まで 5µg/ml のゲンタマイシン (Invitrogen 社) 含有 PBS 中、4℃ の冷蔵庫に冷蔵保存した。

2 組織学的検討

作製した練習用血管の組織学的性状を、HE 染色, PAS 染色, Elastica van Gieson (EVG) 染色にて検討した。

3 練習用血管を用いた血管吻合の評価

3 人の形成外科専門医によって、6 カ月間冷蔵保存した練習用血管を手術用顕微鏡下に切断し、10-0 ナイロン糸にて再吻合 (端々吻合) する事で、その質感と実用性を評価した。

結 果

作製したラットの練習用血管の肉眼的所見では、血管外膜の一部、血管内腔がよく保たれていた。血管壁の弾力性や組織の柔軟性は、微小撮子による操作が可能な程

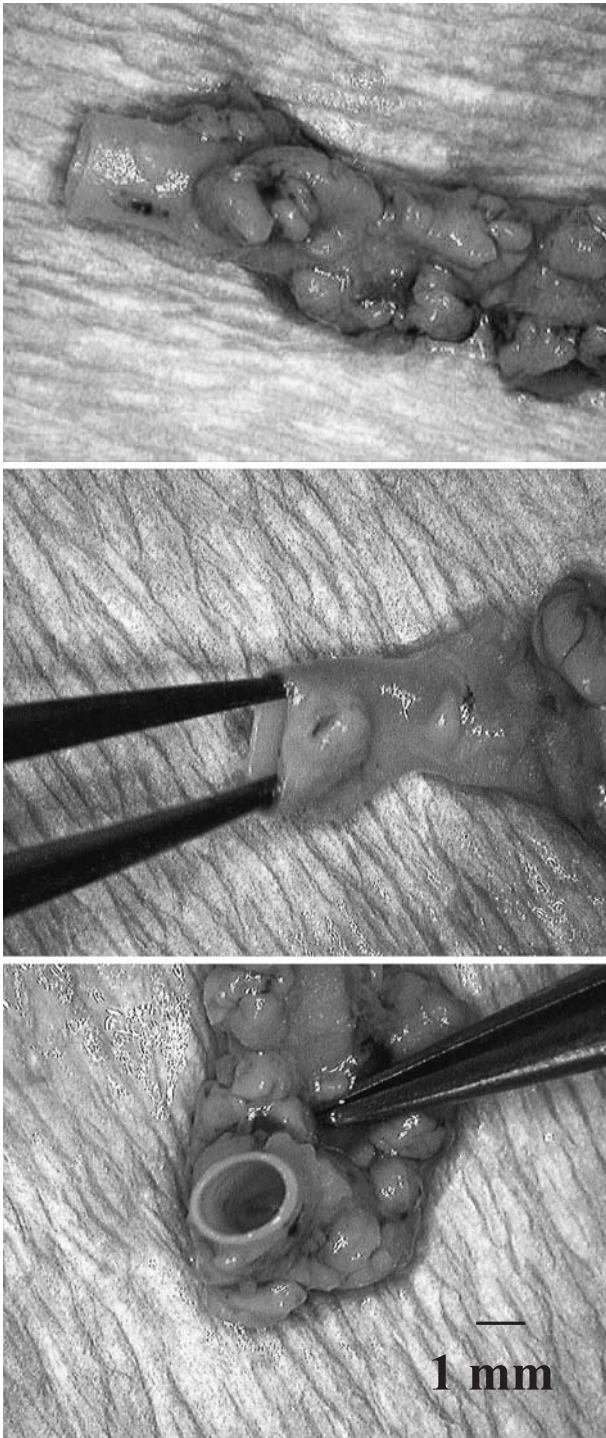


図1 ラット保存血管の肉眼的所見。

血管内腔，血管外膜が保たれ，血管壁には弾力性と柔軟性が認められた。

度に認められた。血管内径は平均1.8mmであった(図1)。

組織学的所見では，作製したラットの練習用血管は血管内皮細胞の脱落が見られるものの基底膜の残存が認められた(図2, HE染色, PAS染色)。中膜の弾性線維構造の異常は認めず，血管外膜の残存も認められた(図2, HE染色, EVG染色)。以上の事から，作製したラットの

練習用血管には内膜，中膜，外膜からなる正常の血管構造は保たれており，加工処理による組織変性の程度は強くないものと考えられた(図2)。

作製した練習用血管を用いた血管吻合では，マイクロ針刺入と縫合の感触は実際の血管に近いものと感じられた。血管剥離操作や外膜切除等の基本手技も実施可能だった(図3)。しかし血管組織は正常血管よりも脆弱であり，反復して外科的操作を加えると，血管壁に亀裂が生じ易い傾向が認められた。

考 察

微小血管吻合の練習用血管としては，これまでに点滴用チューブ，ポリ塩化ビニール製・シリコン製代用血管，植物茎，新鮮鶏肉内の血管等が用いられてきた^{1)~5)}。しかしこれらの中で新鮮鶏肉血管以外は実際の血管とは質感が異なるため，マイクロサージャリーの基本操作に慣れる事は可能だが，微小血管吻合の実際を体験する事は困難である。一方新鮮鶏肉血管は，その質感は実際の臨床における血管の質感に類似するものの長期間の保存は困難であり，また潜在的な細菌感染リスクを有している⁴⁾。よってより理想的な練習用血管としては，質感が正常血管に近く，かつ安全で長期保存が可能である事が要求されよう。今回我々が作製した練習用血管はそれらの必要特性を概ね有しており，微小血管吻合のトレーニングに使用可能なものと考えられた。

生体組織の加工処理としては，角膜，皮膚，血管，心臓弁等の同種組織移植のための組織保存法として，これまでに多くの報告がなされている⁶⁾。同種移植においては組織の生着が要求されるが⁶⁾，練習のための組織加工にはその必要がなく，保存上の安定性や感染からの安全性がより重視される。よって，我々が用いた加工法は従来の報告にはないものとなっている。しかし今回得られた結果からは，加工処理の過程で血管内皮細胞が脱落する傾向がある事や，組織強度が正常血管より脆弱である等の問題点が認められた。よってより理想的な練習用血管となるよう，血管の加工法に改良を加える余地があるものと考えられる。また今回の検討では6カ月間長期保存した練習用血管の実用性を認めたが，練習用血管として使用可能な保存期間の限度について，今後明らかにすべきと考えられた。

結 論

我々が開発した微小血管吻合練習用ラット保存血管は，実際の血管の特性を残しつつ感染のリスクが極めて低く長期保存が可能であり，動物を用いた血管吻合トレーニングの代用として有用であると考えられた。

本論文の要旨は第62回日本職業・災害医学会学術大会にて発表した。

謝辞：本研究の一部は，平成26年度 独立行政法人労働者健康

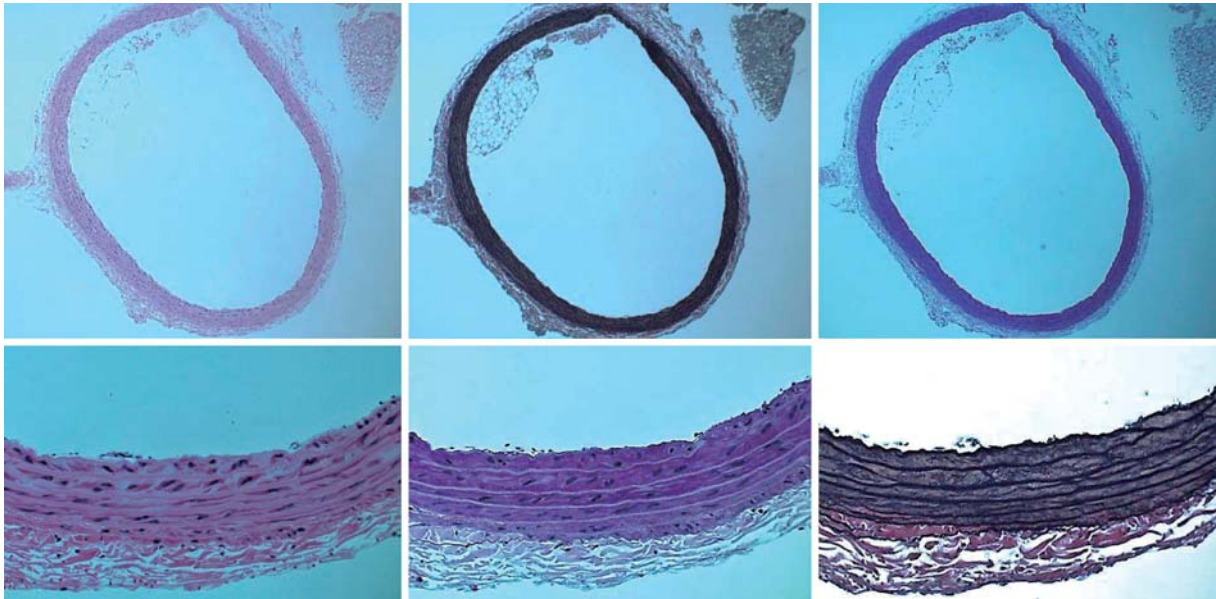


図2 ラット保存血管の組織像。

左：HE染色，中：PAS染色，右：EVG染色（上段40×，下段200×）。内膜，中膜，外膜からなる正常の血管組織構造が認められた。

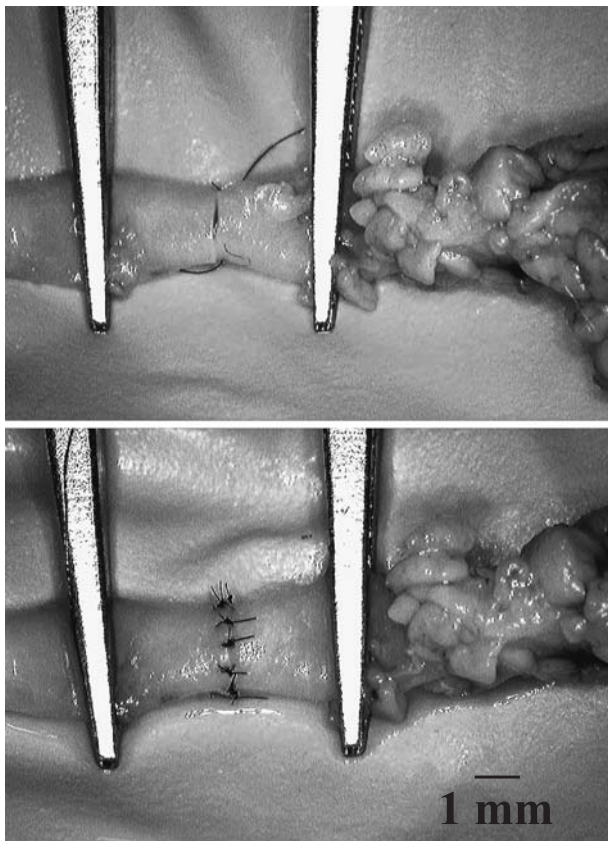


図3 ラット保存血管を用いた血管吻合。

マイクロ針刺入と縫合の感触は実際の血管に近く，外膜の剥離操作も可能であった。

福祉機構・病院機能向上のための研究補助金，文部科学省科学研究補助金（C-23592658）の補助を受けた。

利益相反：利益相反基準に該当無し

文献

- 1) 梶川明義, 大河内裕美：マイクロサージャリーの練習法. PEPARS 69：6—14, 2012.
- 2) Ilie VG, Ilie VI, Dobreanu C, et al: Training of microsurgical skills on nonliving models. *Microsurgery* 28: 571—577, 2008.
- 3) Reekie TA, Barnard AR, Hodginkson PD: A novel plant based model for developing microsurgical anastomotic skills. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg* 66: 574—588, 2013.
- 4) Hino A: Training in microvascular surgery using a chicken wing artery. *Neurosurgery* 52: 1495—1498, 2003.
- 5) Cigna E, Bistoni G, Trigano E, et al: Microsurgical teaching: our experience. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg* 63: e529—531, 2010.
- 6) 田中秀治, 篠崎尚史編：組織移植, 移植コーディネーター概論. 東京, へるす出版, 2004, pp 83—126.

別刷請求先 〒143-0013 東京都大田区大森南 4-13-21
東京労災病院形成外科
高見 佳宏

Reprint request:

Yoshihiro Takami
Plastic Surgical Department, Tokyo Rosai Hospital, 4-13-21,
Ohmori-Minami, Ohta-ku, Tokyo, 143-0013, Japan

Development of a Processed Rat Aorta for the Training of Microsurgical Anastomotic Skills

Yoshihiro Takami and Sachiyo Osawa
Plastic Surgical Department, Tokyo Rosai Hospital

Although microvascular surgical skills have been commonly taught using a live rat model, such training is impossible in a hospital without animal research facilities. As an alternative, artificial vessels have been used, but it is difficult to foster good tissue handling techniques using artificial vessels because the quality is quite different from live vessels. In order to resolve these problems, we have developed a processed rat vessel and its usefulness has been investigated. The aorta of a male Fischer rat was treated with 1% glutaraldehyde for 3 hours, then treated with 0.25% trypsin. After washing with saline, the processed aorta was kept in a refrigerator. The mean diameter of the processed aorta was 1.8 mm. Tissue-elasticity and normal vascular structures including the adventitia remained. Histologically, normal 3 layers of vascular structures were observed in the processed aorta. In the actual anastomotic training of microvascular tissue handling and anastomosis, the aldehyde-treated rat aorta can be preserved for a long period of time with very low risk of disease transmission and seems to be quite useful for the training of microvascular surgery.

(JJOMT, 63: 116—119, 2015)