

厚生労働科学研究費補助金 医療機器開発推進研究事業  
総括研究報告書

結紮を必要としない微細縫合系の開発に関する前臨床試験  
(H25-医療機器-一般-002)

研究代表者： 小野 稔 東京大学医学部附属病院 心臓外科 教授

冠動脈バイパス手術(CABG)は、虚血性心疾患に対する治療として重要な位置を占めており、本邦では年間約 2 万例行われている。本邦では、胸部正中切開での人工心肺を使用しない心拍動下 CABG が主流であるが、欧米では小切開下手術やロボット手術なども実施されている。しかし冠動脈やグラフト血管は小口径で、血管吻合には高度の技術を要するため、小切開下狭小スペースや内視鏡下で CABG を行うのは困難を極める。低侵襲手術の利点としては、手術侵襲を軽減し日常生活への早期復帰を促進することが挙げられる。しかしながら技術的制約のために CABG では低侵襲手術が定着しにくい。われわれは、狭小スペースや内視鏡下での小口径血管吻合を簡便にする目的で、新しい冠動脈末梢側吻合用デバイスを開発した。

我々が開発したデバイスは、市販のポリプロピレン系の自由端に小さなステンレス製の固定具を圧着した単純な構造をしている。最大の利点は結紮を要さないことであり、連続吻合の後に固定具に設けられた溝に糸を滑り込ませて、持針器で固定具をつまむと溝が圧着されて糸が固定される。結節縫合のみならず、吻合の一部または全周にわたる連続縫合も可能で、結紮が困難な心臓深部における吻合、さらには内視鏡やロボット補助下の吻合も容易にする可能性を有している。

本研究では、デバイスの有効性、安全性をブタ冠動脈バイパスモデルによる長期埋め込み実験より評価した。8 頭の家畜ブタ（急性実験）および 14 頭のミニブタ（慢性実験）を用いた。全身麻酔下に開胸し、剥離した左右内胸動脈をそれぞれ、左前下行枝および右冠動脈に心拍動下で吻合した。家畜ブタ 8 頭のうち、6 頭はデバイスを用いて、2 頭は従来の縫合糸を用いて吻合した。吻合時間およびグラフト血流量を計測し、術直後に血管造影によって吻合部を評価した。14 頭のミニブタのうち 11 頭はデバイスを用いて、3 頭は通常縫合糸を用いて吻合した。1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月に安楽死させ、吻合部の病理評価を行った。吻合時間、吻合後の血液流量についてデバイス群、コントロール群に有意差を認めなかった。遠隔期の開存率は両群ともに 100%であり、吻合部狭窄も見られなかった。病理評価では、デバイス周囲に細胞浸潤、線維増生、内膜肥厚などの炎症像が見られこれらは術後 1 ヶ月にピークを迎え、3 ヶ月、6 ヶ月の経過でこれらの炎症反応は沈静化していた。両群間に炎症の程度差は見られず、デバイスによる血管損傷などの組織侵襲性も見られなかった。

## A. 研究目的

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。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。当時は人工心肺を使用して心停止下に冠動脈吻合が行われていたが、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<sup>[3]</sup>、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 CO<sub>2</sub> ブLOWER、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。

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<sup>[4]</sup>。図、に MIDCAB での開胸創を示す。

図 MIDCAB での開胸創と吻合準備の様子

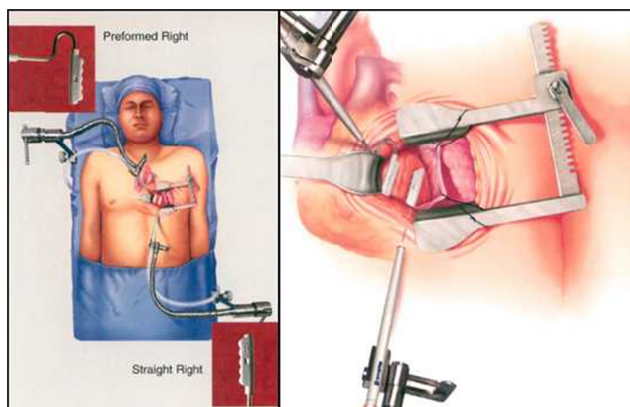
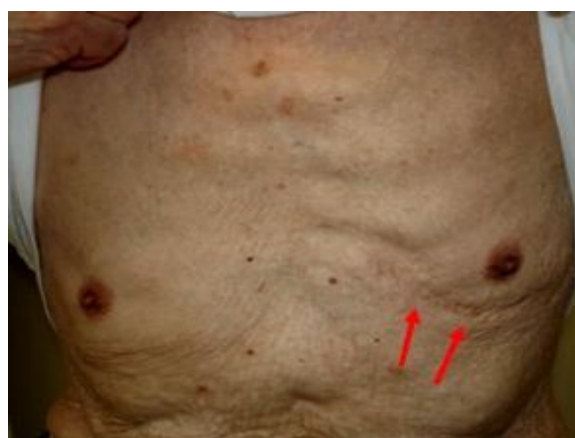


図 MICAB での術後創部



しかし MIDCAB は術野の制限から吻合可能所が限定される欠点があり、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。世界的にみても本邦においても 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がごく一部であり、汎用されているとは言い難い。da Vinci®システムを図 1 に示す。

図 1 da Vinci®システム

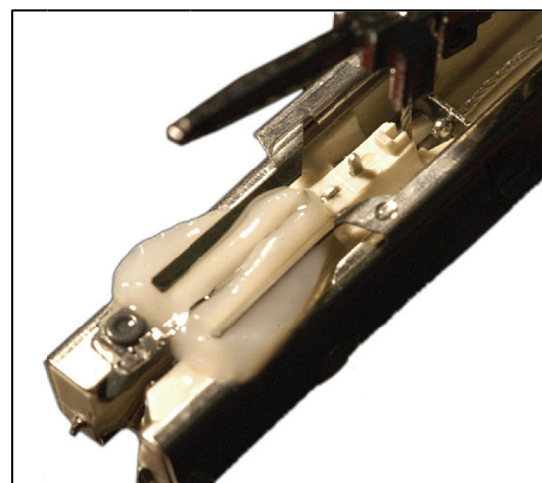


これまで冠動脈吻合をより簡便にする目的で、縫合糸を用いない種々の吻合用デバイスが開発されてきた。末梢側吻合用に種々の生体糊や生体接着剤が開発されたが、

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。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。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) に応用されたが価格が高く、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。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 2 にその構造を示す。C-Port®は内蔵されたカッターとステンレス製 staple で冠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<sup>[10-13]</sup>。しかし価格が高価であることから使用している施設は世界的にもごく少数である。

図 2 C-Port



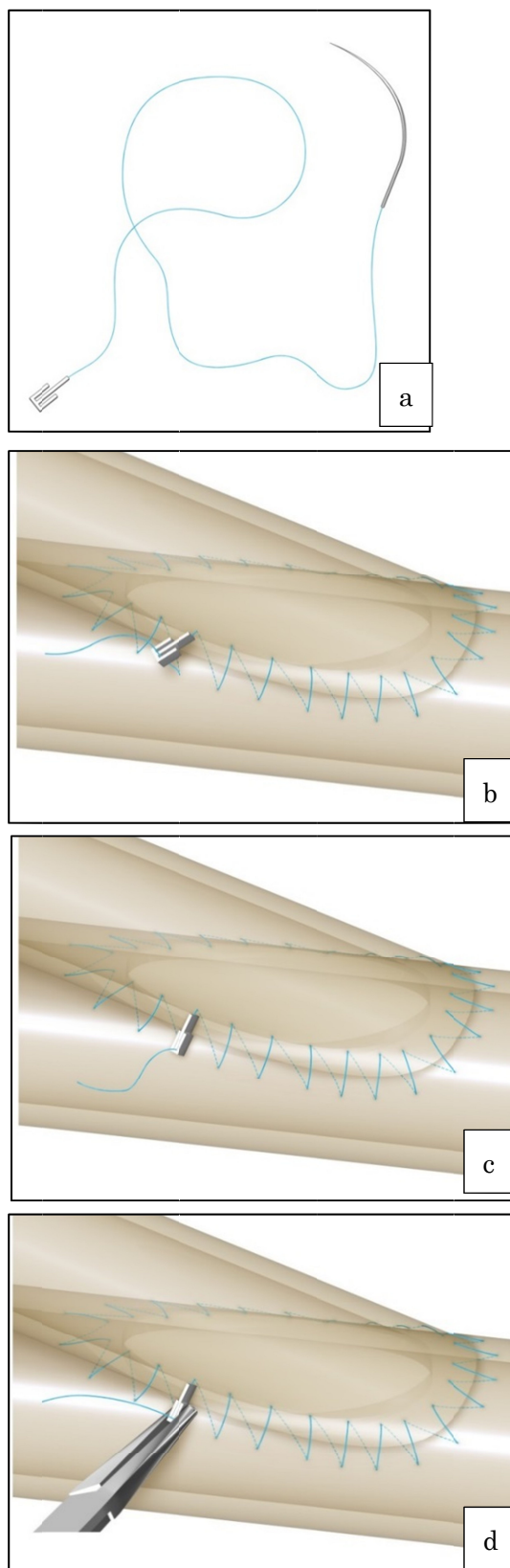
このような背景を踏まえ、我々は冠動脈末梢側吻合用の半自動吻合デバイスを開発した。この研究では動物への長期埋め込み実験を行い、デバイスの有効性、安全性を評価することが目的である。

## B. 研究方法

### 1. 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 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、通常の連続吻合の後に、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 b-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。

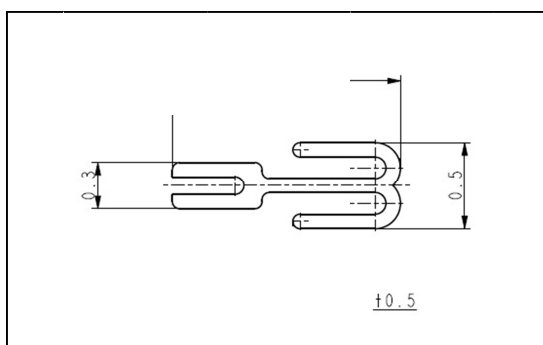
図 開発した吻合デバイスの構造と使用方法





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) により設計し YAG レーザーで切り出したものである。設計の詳細を図 に示す。

図 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 ) でも、いずれも優れた生体適合性を示した。

図 日本食品分析センターで行われた SUS316L の生体反応実験

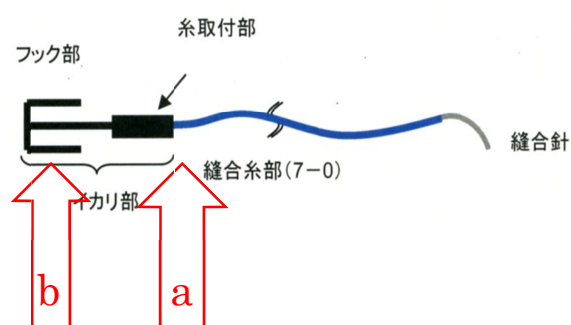
試験材料：生体適合性ステンレス (SUS316L)

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 )。糸とステンレス部分の接続部は 2 ヶ所 (図 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 7-0 polypropylene1 糸と同程度の強度があることが示された。

図 オリンパス株式会社で行われたデバイスの強度実験



試験材料：縫合デバイス本体引っ張り試験

a. デバイスと 7-0 縫合糸接続部 (n = 10)

強度 1.008 N

b. 縫合糸カシメ部 (n = 10)

強度 1.531 N

(Reference: 7-0 縫合糸破断強度規格 : 1.08 N)

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 8-0 polypropylene 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、徒手的な結紮を要さないこと、狭小スペースでの糸の取り回しがしやすいこと、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。

## 2. 動物実験

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% (アツヴィ合同会社、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。(図 )

### 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 のコロナリーシャント (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枢側で結紮した。

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 頭については従来の吻合系 (7-0 Prolene® ETHICON, Jhonson & Jhonson, Tokyo, Japan) を用いた (AC 群)。下記の項目について評価を行った。

### 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。

### 血液流量

吻合終了直後に VeriQ (日本ビー・エックス・アイ、Tokyo, Japan) を用いて graft 血流を測定した。

### 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<sup>[13]</sup> により評価した。FitzGibbon Criteria を下表に示す。

### 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系 (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。

#### 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。

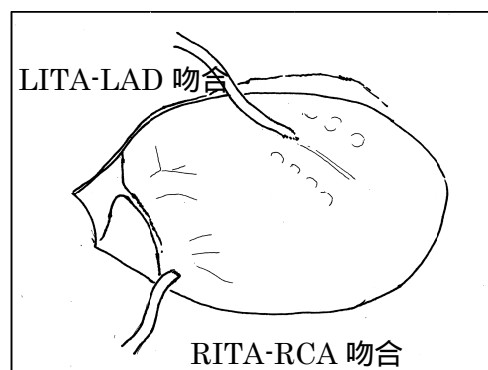
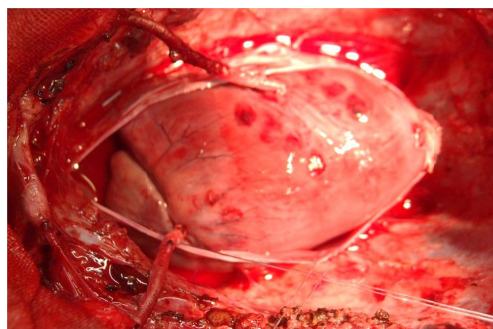
#### 病理学的検査

- ✓ 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 μm 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 群では吻合系) 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 (×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 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

図 2 プタ冠動脈バイパスモデルの写真とシェーマ



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。

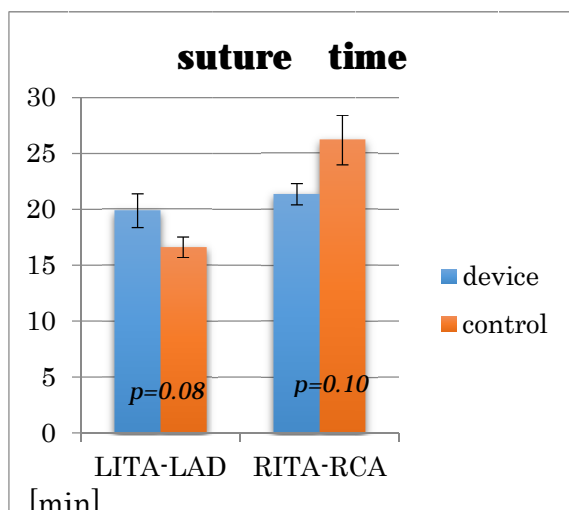
### C. 実験結果

#### 1. 吻合時間

図 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 吻合時間

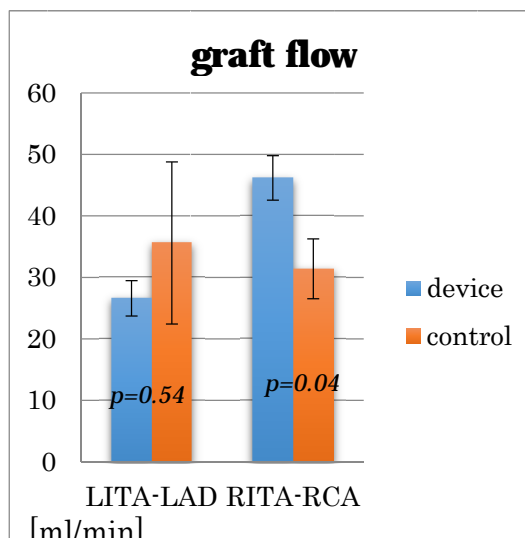


デバイス群の LITA-LAD 吻合:  $19.9 \pm 1.5$  分、コントロール群の LITA-LAD 吻合:  $16.6 \pm 0.9$  分、デバイス群の RITA-RCA 吻合:  $21.3 \pm 0.9$  分、コントロール群の RITA-RCA 吻合:  $26.2 \pm 2.2$  分であった。各吻合で両群間に有意差を認めなかった。

## 2. Graft 血流

図 に吻合直後の graft 血流を示す。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 グraft 血流



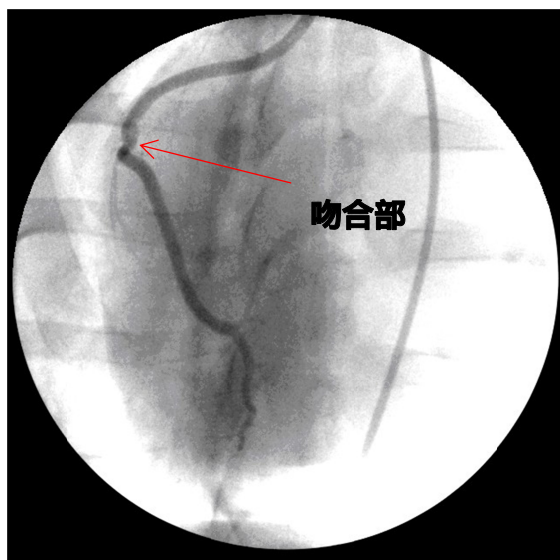
デバイス群の LITA-LAD 吻合:  $26.6 \pm 2.9$  ml/min、コントロール群の LITA-LAD 吻合:  $35.6 \pm 13.2$  ml/min、デバイス群の RITA-RCA 吻合:  $46.2 \pm 3.6$  ml/min、コントロール群の RITA-RCA 吻合:  $31.4 \pm 4.9$  ml/min、であった。

## 3. 血管造影

図 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 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 術後 1 ヶ月の RITA-RCA 吻合部



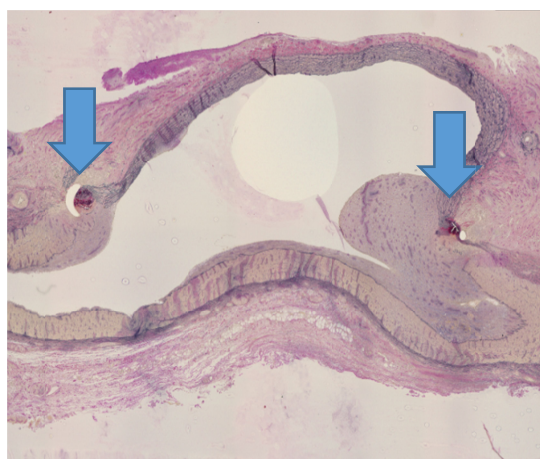
#### 4. 病理所見

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 に示す。吻合系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。Hematoxylin-eosin 染色標本(図 )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いる。図 a~e 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 各吻合部の FitzGibbon 分類

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

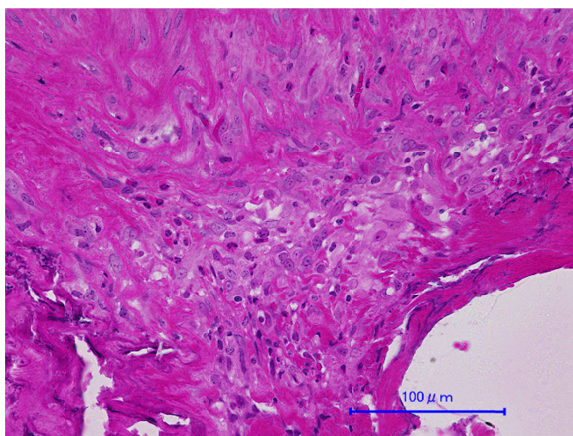
図 術後 1 ヶ月の LITA-LAD 吻合( EVG 染色 ×2 )



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。吻合系の周囲には赤色の線維増生が見られている。

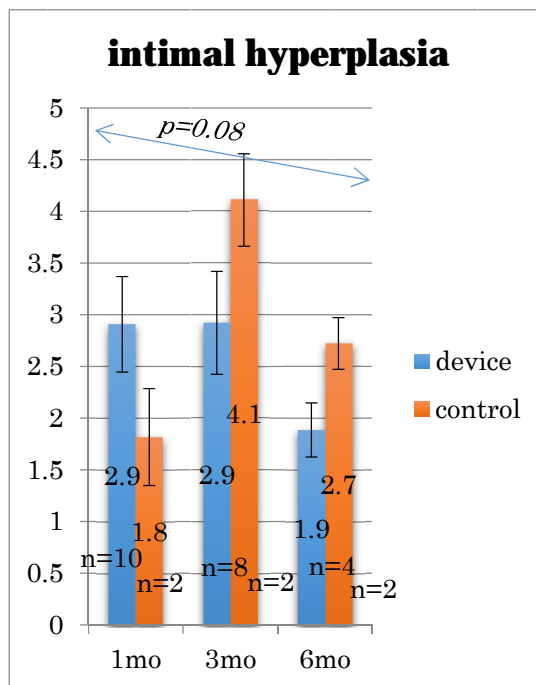
図 デバイスを用いた術後 1 ヶ月の吻合部 (HE、×40)



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 -a 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。

図 -b 線維増生の推移

デバイスまたは吻合系周囲の最大の線維増生の厚みを計測。術後 1 ヶ月後の 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。

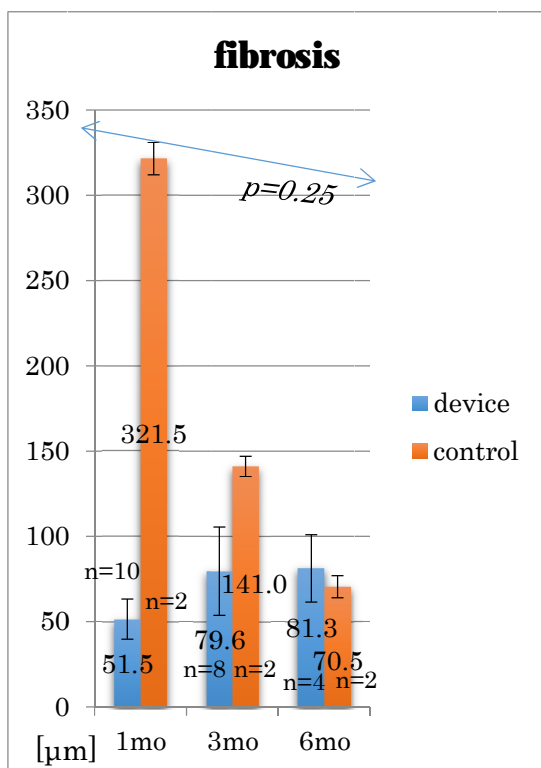


図 -c リンパ球数の推移

CD 群では 6 カ月後は 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。

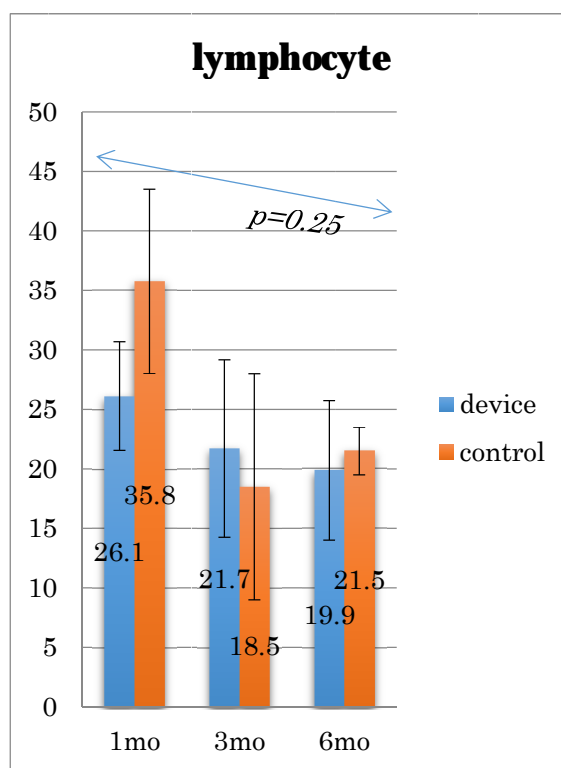


図 -d 顆粒球数の推移

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。

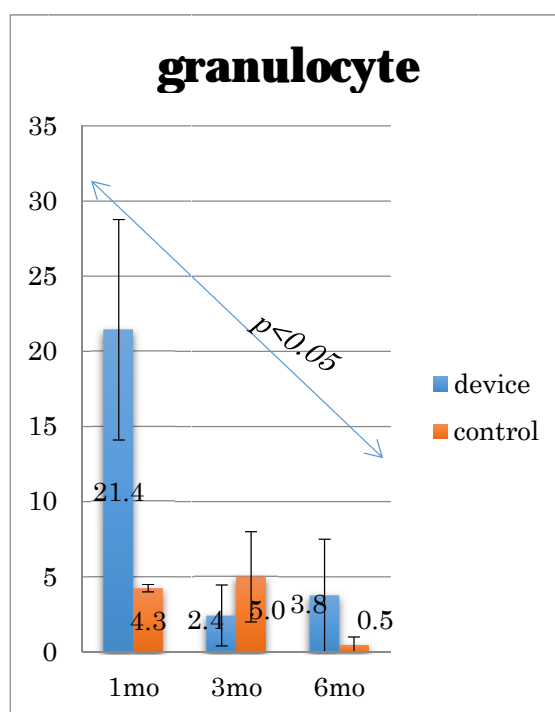
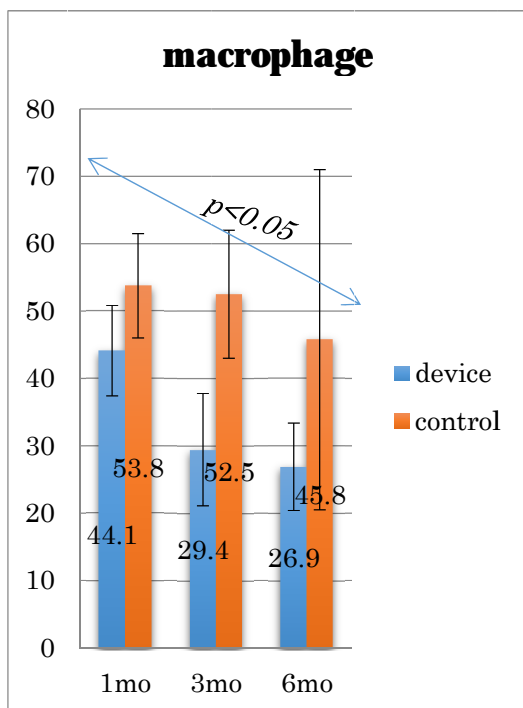


図 1-e マクロファージ数の推移

マクロファージ数も CD 群で 6 ヶ月後は 1 ヶ月後に比べ有意に減少していた。



#### D. 考察

本研究では、RITA-RCA 吻合は LITA-LAD 吻合に比べて、その解剖学的特徴から難易度が高く、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。

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。これは吻合部の狭窄具合が血流量に影響しているものでなく、ブタの冠動脈の変

化に富んだ分枝構造が大きく影響していると考えられる。造影検査による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 ヶ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、吻合系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こ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。

#### E. 結論

今回我々は、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デバイスを開発し、その安全性、有効性を動物実験によって評価した。解放術野での実験ではあったが、デバイスは従来の吻合系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ステンレス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系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さらなる研究が必要であると考えられた。