日消外会誌9（4）：402～408，1976年

ブレオマイシンの食道・食道吻合創治癒に及ぼす影響

愛媛労災病院外科
田　中　忠　良
山口大学第2外科
石　上　浩　一　　山　崎　武　伍
赤池町立病院
津　江　満　麿

EFFECT OF BLEOMYCIN ON WOUND HEALING OF ESOPHAGEAL ANASTOMOSIS

Tadayoshi TANAKA, Koichi ISHIGAMI, Takeyuki YAMASAKI and Mitsumaro TSUE

ブレオマイシン（BLM）の術前使用によつて手術根治性の向上が期待されるが，BLM療法の重篤な合併症として肺線維症がある．とくに，食道癌は高齢者に多発し，しかも食道癌術後には肺合併症が発生しやすく，BLMの術前の使用が躊躇される．また術中に撒布されるか取り残された癌細胞を撲滅するためには術中・術後の投与が望ましいが，一部の制癌剤には創治癒障害がみられ，縫合不全発生の危険が懸念される．このような観点から，犬の頚部食道を利用しBLMの創治癒に及ぼす影響をbursting strengthの測定および病理組織の面から検討した．その結果，BLMの創治癒に及ぼす影響はみられなかつた．

はじめに

梅沢ら[1]によつて発見されたブレオマイシン（以下BLMと略す）は扁平上皮癌に特異的に作用するというこれまでの制癌剤にはみられなかつた特徴をもつており，和田らは食道癌に対してもきわめて有効な薬剤となるであろうと報告している[2]．その後，治験例の増加とともに食道癌の合併療法としてBLMの有効性が報告され[3)4]，さらに放射線との併用によつてBLMの効果が増強されることが明らかとなつたが[5)6]，あくまでも手術の合併療法として有効で，BLM単独による根治性を期待することは無理である．

BLMの術前使用によつて手術根治性の向上が期待されるが，BLM療法の重篤な合併症として，その発現頻度は低いが肺線維症がある．広川によれば肺症状による死亡例は，468例中6例（1.2%）であつたが，60歳以上，300mg以上の使用例に多い故に高齢者の使用には注意を要するとされている[7]．とくに食道癌は高齢者に多発し，60歳以上が半数以上を占めており[8)9]，肺機能障害をもつた症例が多く，しかも食道癌手術後には肺合併症が発生しやすい．術後肺合併症は必ずしも術前の肺機能障害とは平行しないが[8)10]，高齢者にいつたん肺合併症が発生すれば致命的となる[9]．このような観点から高齢者および肺機能低下のある患者においてはBLMの術前使用が躊躇される．また，術中に撒布されるか取り残された癌細胞を撲滅するためには術中・術後の投与が望ましいが，一部の制癌剤には創治癒障害がみられ，縫合不全発生の危険が懸念される．このような観点からわれわれは犬の頚部食道を利用しBLMの創治癒に及ぼす影響をbursting strengthの測定によつて検討し，さらに吻合部の病理組織学的検索も行つたので報告する．

実験方法

実験はBLM投与量と経過時間とを因子とする二元配

置実験計画法にしたがつて行い，実験動物は体重 5.5kgから12.5kgの雑種成犬を使用した．頚部食道を利用し，術後の管理を考慮して前壁のみを切離して，3—0号血管縫合用絹糸で粘膜および外膜筋層の2列逐層吻合を結節縫合で行つた．さらに，手技的なばらつきを除くため，手術操作は実験の全経過を通じて同一人がこれを行つた．

実験群は BLM 非投与群を対照として0.50mg，1.00mgおよび2.00mg/kg投与の3群について術後1，3，6および12日目に bursting strength を測定し，さらに吻合部の病理組織学的検索を行つた．なお実験順序はランダム化による順序にしたがつた．

麻酔は筋注用塩酸ケタミンを使用し，前述した方法によつて手術操作を行つた後に，上記相当量の BLM を下記のような方法で筋注で投与した．

BLM 投与回数

経過日数　BLM 投与日

1日目　手術当日

3日目　手術当日および術後2日目

6日目　手術当日，術後2および5日目

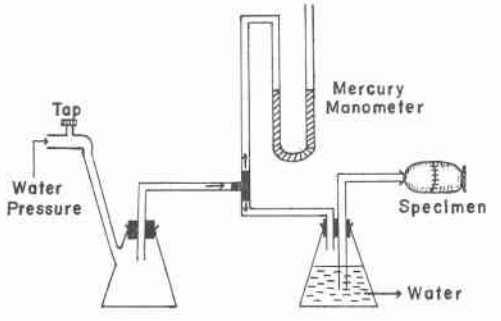
12日目　手術当日，術後2，5および11日目

術後3日目までは水および牛乳を，また4日目からパンを与えた．また，術後，抗生物質はいつさい使用しなかつた．

Bursting strength 測定日に犬を屠殺し，吻合部を中心に約8cmの長さの頚部食道を切除し，一方の断端は絹糸で結紮閉鎖し，他端は実験装置に装着した．この際，緊縛による組織の断裂を防ぐためにガーゼ片を巻いてその上から結紮した．

実験装置は**図1**に示すように，水道管に接続したガラス瓶に一定の速さで水を注入し，ガラス管を通じて空気圧をかけ，T字管によつて一方は水銀圧力計に，他方はメチレンブルーで着色した水を入れたガラス瓶に接続している．このガラス瓶からガラス管を通じて検体に圧が伝達され，検体の吻合部からの水の洩れをきたした時の圧差を bursting strength とした．

図1　実験装置
空気圧をガラス管によつて伝達し，検体からの水の洩れをきたした時の圧差を bursting strength とした．



実験結果

実験結果は**表1**に示すとおりで，グラフにしたものが**図2**であるが，その投与量別の平均からみると統計学的には各群間に有意の差がなく，したがつて BLM 投与による吻合部の創治癒に及ぼす影響はみられなかつた（**表2**）．**表3**および**図3**にみられるように，経過日数からみ

表1　ブレオマイシン投与量および経過日数別による bursting strength 測定結果

因子		ブレオマイシン投与量（mg/kg）				
		0.00	0.50	1.00	2.00	平均
経過日数（日）	1	7.2	14.2	16.4	7.4	11.30
	3	13.2	12.8	10.4	10.2	11.65
	6	1.8	1.4	1.6	5.6	2.60
	12	54.0	32.2	34.6	33.0	38.45
	平均	19.05	15.15	15.75	14.05	16.00

単位：cmHg

図2　実験結果
表1をグラフにしたもの

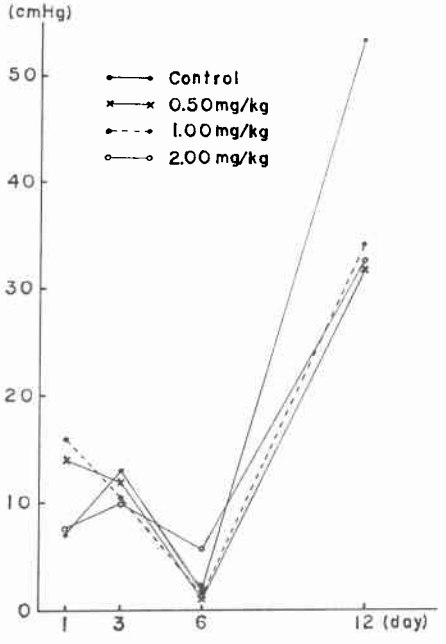


表2　投与量別の各群間に有意差はみられない。

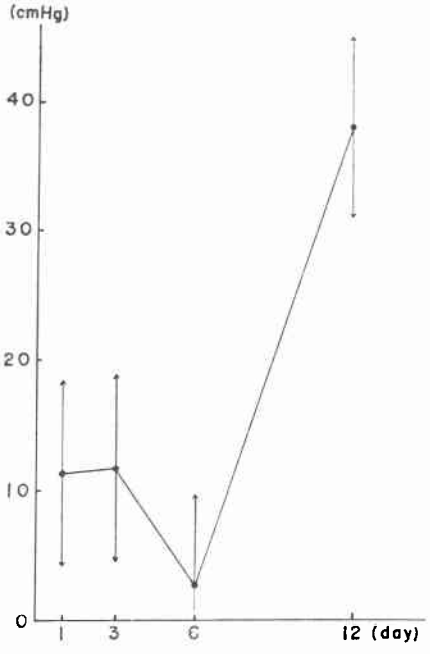
因　子	変　動	自由度	分　散	分散比
投与量	55.56	3	18.52	—
経過日数	2898.30	3	966.10	24.440*
誤　差	355.74	9	39.53	
全変動	3309.60	15		

* P < 0.01

表3　経過日数別による吻合部の bursting strength

経過日数	平均（95%信頼区間）
1日	11.30 ± 7.11
3日	11.65 ± 7.11
6日	2.60 ± 7.11
12日	38.45 ± 7.11

図3　表3をグラフにしたもの



ると6日目に吻合部の強度の低下が認められたが，統計学的には危険率0.01以下で，1，3および6日目各群における差は有意でなく，これら各群と12日目との間に有意差を認めるのみであつた（**表4**）.

組織所見：1日目には粘膜上皮の再生はまだみられず全層にわたつて化膿性炎症があり，4群ともに同様の所見であつた（**写真1**）.

3日目には粘膜上皮の再生がみられるが，粘膜下層や

表4　1，3および6日目の各群と12日目との間に有意差を認める。

経過日数の差

	1日			
3日	0.4	3日		
6日	8.7	9.0	6日	
12日	27.2*	26.8*	35.9*	12日

* P < 0.01

写真1　対照群1日目創縁 H.E×40
粘膜上皮の再生はなく，化膿性炎症がみられる。

写真2　1mg投与群3日目創縁 H.E×40
粘膜上皮の再生はあるが，粘膜下層や筋層の治癒傾向なく炎症反応がみられる。

写真3　0.5mg投与群12日目 H.E× 2.5
粘膜下層および筋層の治癒傾向がみられるが，創縁の炎症反応は1日および3日目と同程度である．

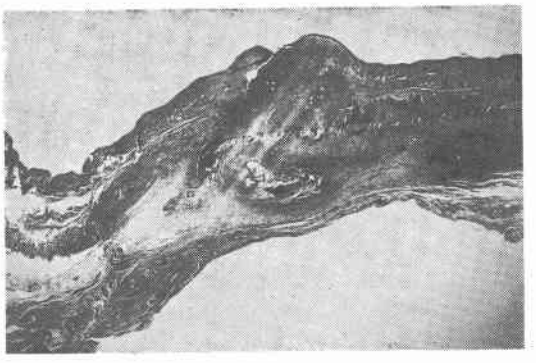


写真4　0.5mg投与群12日目再生上皮・肉芽組織
H.E×40

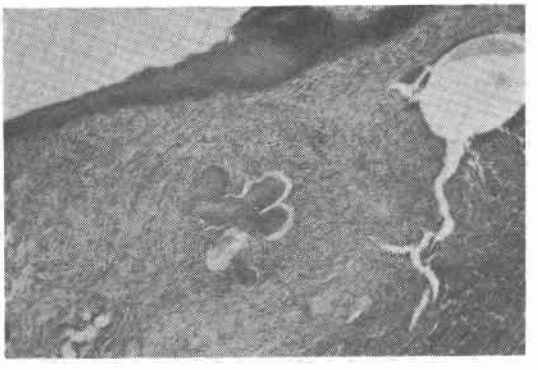
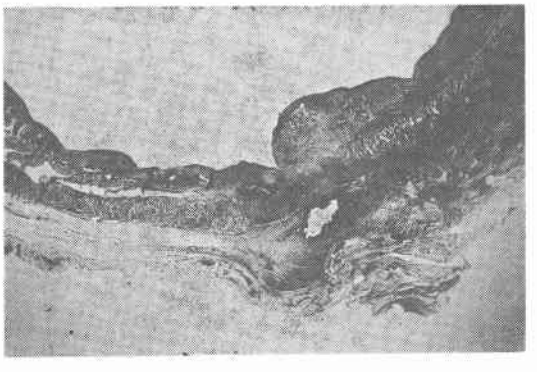


写真5　2mg投与群12日目 H.E× 2.5
他の3群に比べて炎症反応は軽度である．



筋層の治癒傾向は認められず，創縁の炎症反応とともに異物反応もみられたが，各群の間に差はみられなかつた（写真2）．

6日目になると粘膜下層および筋層において治癒傾向がみられ，対照群と0.50mgおよび1.00mg投与群では創縁

写真6　2mg投与群12日目再生上皮・肉芽組織
H.E×40
他の3群に比べて肉芽の形成が著明である．

の炎症反応は1日および3日目と同程度であつたが，2.00mg投与群では炎症は軽度で肉芽の形成が他の群に比し著明であつた．このような傾向は12日目においても認められた（写真3～6）．

考　案

胃腸管の吻合創治癒は原則的には皮膚の創治癒と同じく上皮細胞の遊走，吻合断端とくに粘膜下層の肉芽組織の増殖および膠原組織の形成によつて営まれる．創傷の組織学的治癒過程は粘膜上皮の遊走によつて48時間以内に粘膜の連続性が確立されるが，細胞分裂による粘膜再生は遊走にやや遅れて開始される．さらに3日目頃から毛細血管の増生および線維芽細胞の増殖が始まり，5日目頃から膠原線維の増加とともに創の結合力が急速に増強して10～14日でほぼ治癒が完成するとされている[11]．しかし，赤倉によれば一般には粘膜部にある程度の血行障害が存在するのが普通で，血行障害のある部位の粘膜に破壊がおこる．この状態は血行障害の程度に応じて3～7日間に亘つて持続し，引続いて粘膜の再生が始まり，これは約14日をもつて完成する．すなわち粘膜に関しては一般に第5～7病日までは退行的過程をたどり，約14日をもつて再生が完成されるといわれている[12]．食道においても同様の経過をとるのであり，本実験の対照群における創治癒過程もこのような経過を示していた．

創治癒を定量的に測定する方法としては，膠原量の測定などの化学的方法と，抗張力および耐圧力測定による機械的方法とがある．一般に創治癒の機械的強度は抗張力において臓器・組織に関係なく4～6日の lag period の後，10～14日までに急速に増強し，以後わずかの増強がみられるといわれている[13)14)]．

外科的見地からすれば bursting strength あるいは breaking strength を重要視するきらいがあるが，創治癒の真の機械的強度を知るためには抗張力の測定が是非とも必要であるといわれている[15)]．しかし Cutting は bursting strength 検索において，抗張力と同じカーブが得られたと報告している[16)]．本実験においても bursting strength のみを測定したが，創治癒の真の機械的強度を測定するのが目的ではなく，BLM の創治癒への影響をみるための比較実験が目的であるので bursting strength のみで十分であると考えられる．

食道吻合部の耐圧力に関しては Postlethwait ら[13)]が犬を使用しての実験結果を報告しているが，層層吻合を結節縫合で行つた群では24時間目に最低値を示し，その後は12日目まで増強したとしている．われわれの実験では統計学的には有意の差は認められなかつたが，6日目に低下の傾向を示した．勿論，Postlethwait らは胸部食道を全周にわたつて離断吻合しており，その絶対値の比較は不可能であるが，この lag period のずれの原因としてはまず食道切離範囲の相違が考えられる．生物学的結合が始まるのは3日目頃からで[11)17)]，それまでの創支持力は物理学的結合に負うところが大であり，吻合部の癒合には約5日を要するといわれている[17)]．高野も食道の断端吻合の創治癒状態は6日目ではまだ粘膜の癒合は認められないが，粘膜下層の癒合はほぼ完成され，耐圧力も増強していると報告している[18)]．しかし，われわれの実験では，縫合不全の発生ならびに感染の予防などの術後の管理を容易にすることおよび BLM の創傷治癒への影響を検索するための比較実験であるという理由から食道半周の切離吻合を行つた．結局，このために圧が抵抗減弱部である吻合部に集中的にかかり，3日目までは縫合糸による物理的結合力によつてかなりの圧にまで耐えることができたが，6日目には生物学的結合力がかなり強度になつてはいるが，全周離断の場合と異なり低い圧となつて示されたものと考えられる．また，1日目の耐圧力も Postlethwait らの値よりも低くなつている．さらに，頚部食道は胸部食道に比して嚥下圧が強くかかり，これの創治癒に与える影響も無視できないものと思われる．

創治癒障害の原因には多くの因子があるが，制癌剤の中でも抗免疫作用あるいは代謝拮抗作用のある薬剤は創治癒を障害するといわれている．とくにnitrogen mustard のような細胞毒性のある薬剤が細胞増殖の盛んな創治癒の過程を阻害することは理論的には当然のことで多くの報告がある．Krementz ら[19)]，Kaiser ら[20)]，Hatiboglu ら[21)]，Harris ら[22)]および Newcombe ら[23)]によつて創の治癒障害が観察されており，本邦でも井上[24)]によつてナイトロミンの創治癒障害が報告されている．

現在使用されている制癌剤のほとんどが免疫抑制作用をもつているが[25)]，BLM には免疫抑制作用がみられず[26)27)]，理論的には創治癒障害がないと考えられる．しかし，その作用機序はアルキル化剤およびマイトマイシンCと同様に DNA への結合によるとされており[28)29)]，この面からは創治癒障害を惹き起こすものと思われる．また，石上・柴田ら[30)]は bioassay 法によつて BLM が食道粘膜層に多量に分布していることを証明しているが，組織所見でみられたように対照群と投与群との間には粘膜上皮再生の差はみられず，さらに創治癒障害も認められなかつた．

Nitrogen mustard の創治癒障害の機序として Kaiser らは放射線照射と同じような組織学的変化がみられ，形態異常線維芽細胞および内皮増殖と膠原線維形成の遷延を認めたとしている[20)]．しかも，これらの変化は創形成時に投与した時にのみみられたという．しかし，物理学的強度に変化はみられたが，組織学的にはなんらの変化もみられなかつたとする者もあり[19)22)31)]，両者ともに影響がみられなかつたとする報告も多い[32)~34)]．その理由として，Rath ら[33)]は線維芽細胞の増殖が開始される4日目までに投与した場合，これらの薬剤は創治癒になんらの影響を与えないとしているし，Conn ら[32)]は線維芽細胞・喰細胞・細網細胞などは nitrogen mustard に抵抗性があるのではないかとしている．Newcombe ら[23)]は Rath らの説を裏付けるように，nitrogen mustard を局所動注した時の創治癒状態を観察して，創形成時に投与した場合にはなんらの変化もみられなかつたが，3日目に投与した場合，肉芽組織と膠原量および創収縮は著明に減少していたと述べている．さらに，これらの薬剤が創に与える影響における重要な因子として，投与量，投与経路および創形成時から投与までの期間の3因子が考えられるとしている．Farhat ら[31)]は nitrogen mustard の投与によつてラット腹壁創の抗張力が減少したと報告

しているが，同時に体重減少もきたし，絶食によつて同程度の体重減少をきたしたラット群にも同様の抗張力の低下がみられた点から，この低下が nitrogen mustard の直接の影響によるものかどうかは疑問が残るとしている．Despretz らも同様の報告をしている[35]．さらに，Farhat ら[36]は Thio-TEPA で同じ実験を行つているが，体重減少がみられなかつた代りに創治癒障害もみられなかつたとしている．他方，Hatiboglu ら[21]および Harris ら[22]は手術当日，局所に作用させることによつて影響がみられたと報告しており，その影響には種々の要因がからんでいることがわかる．

本実験では物理学的強度は対照群と投与群との間に差はみられず，組織所見では2.00mg投与群において6日目および12日目に炎症反応および異物反応が軽度で，肉芽組織の形成が良好であつた．このような変化を Farhat ら[36]は，Thio-TEPA 投与時においてみており，抗張力には差がみられなかつたが，組織学的に異物反応と感染は投与群で軽度であつたとしている．しかし，その原因がなにによるものかは説明していない．本実験でのこのような相違も BLM の直接の影響によるものかどうかは不明で今後の研究にまたなければならないが，BLM の通常の使用量程度では創治癒になんらの影響もみられなかつた点から，食道癌術後の縫合不全発生の危険を考慮することなく，術中・術後の BLM の使用が可能であると考えられる．

おわりに

BLM の食道・食道吻合創の治癒に及ぼす影響を bursting strength および病理組織の面から検討し，通常の使用量では創治癒障害を認めなかつた．2.00mg投与群においては他の群に比して6日目および12日目に炎症反応と異物反応が軽度であり，また，肉芽形成が良好であつたが，この相違の発生機序については今後の研究にまたなければならない．

本論文の要旨は第8回日本消化器外科学会総会において発表した．

（擱筆にあたり病理組織検索にご協力いただいた愛媛大学医学部第2病理学教室田部井亮教授に深謝するとともに大石省三院長のご援助に感謝する．また，統計処理をお願いした塩野義製薬の池内信夫氏に感謝する）．

文　献

1) Umezawa, H. et al.: New antibiotics, bleomycin A and B, J. Antibiotics, Ser. A., **19**: 200, 1966.
2) 和田達雄，他：食道癌に対するブレオマイシンの使用．日癌治，4：46，1969.
3) 岡本　尭，他：食道癌に対するブレオマイシンの使用経験．外科，30：1647，1969.
4) 藤巻雅夫，他：食道癌とブレオマイシン．診断と治療，58：167，1970.
5) 浅川　洋：食道癌の放射線治療およびブレオマイシンの併用療法—併用効果と副作用—．癌の臨床，18：311，1972.
6) 山下久雄，他：悪性腫瘍に対する放射線とブレオマイシンとの併用効果．日癌治，7：1，1972.
7) 広川勲：泌尿器科領域におけるＢＬＭの治療成績，附：ＢＬＭの副作用の統計的観察．日癌治，4：32，1969.
8) 中村嘉三，他：食道癌における高令者の手術適応．手術，20：717，1966.
9) 阿保七三郎，他：高令者胸部食道癌手術例の検討（特に術前後における肺換気動態面よりの考察）．手術，20：805，1966.
10) 渡辺登志男：肺機能障害と外科—食道癌の立場から—．日臨外，32：152，1971.
11) Donnellan, W.L.: Wounds and wound healing, Lewis' Practice of Surgery, General Surgery, Introduction. General Principles, Chapter 8, Harper & Row, Maryland, 1973.
12) 赤倉一郎，他：消化器吻合並びに食道吻合における基礎的諸問題．手術，21：313，1967.
13) Postlethwait, R.W. et al.: Mechanical strength of esophageal anastomoses, Ann. Surg., **133**: 472, 1951.
14) Howes, E.L. et al.: The healing of wounds as determined by their tensile strength, JAMA, **92**: 42, 1929.
15) Peacock, E.E. & Van Winkle, W.: Surgery and Biology of Wound Repair, p 134, Saunders, Philadelphia, London, Tront, 1970.
16) Cutting, R.A.: The relative mechanical strength of enterostomies performed with and without clamps, Arch. Surg., **17**: 658, 1928.
17) 丸山圭一，他：消化器吻合の原理からみた縫合不全の対策，微細血管像や Collagen 量などによる検討．日消外会誌，7：18，1974.
18) 高野信篤：食道吻合，食道—胃吻合の実験的並びに臨床的研究．日外会誌，70：667，1969.
19) Krementz, E. et al.: Effects of triethylenemelamine on wound healing, Surg. Forum, **8**: 83, 1957.
20) Kaiser, G.A. et al.: Effects of chemotherapeutic agents administered by isolaled perfusion upon wound healing, Surgery, **49**: 745, 1961.
21) Hatiboglu, I. et al.: Effects of chemotherapeutic agents on wound contaminated with tumour cells: An experimental study, Ann. Surg., **152**: 559, 1960.

22) Harris, F.L. et al.: The effect of topical nitrogen mustard on wound healing, Surg. Gynec, & Obstet., **112**: 684, 1961.
23) Newcombe, J.F. et al.: Effect of intraarterial nitrogen mustard infusion on wound healing in rabbits, formation of granulation tissue and wound contraction, Ann. Surg., **163**: 319, 1966.
24) 井上 淳：ナイトロミンの創治癒に及ぼす影響について．日外会誌，55：918，1954.
25) Hitchings, G.H. et al.: Chemical suppression of the immune response, Pharmacol. Rev., **15**: 365, 1963.
26) Yamaki, H. et al.: Effect of several tumour—inhibitory antibiotics on immunological responses, J. Antibiotics, **22**: 315, 1969.
27) 大野竜三，他：Bleomycin の免疫抑制作用の検討．医学のあゆみ，73：124，1970.
28) Suzuki, H. et al.: Mechanism of action of bleomycin. Studies with the growing culture of bacterial and tumor cells, J. Antibiotics, **21**: 379, 1968.
29) Nagai, K. et al.: The combined effects of bleomycin and sulfhydril compounds on the thermal denatulation of DNA, Biochim. Biophys. Acta., **179**: 165, 1969.
30) 石上浩一，他：食道癌のリンパ行性転移形式の再検討と手術合併療法としての制癌剤療法．日外会誌，74：1153，1973.
31) Farhat, S.M. et al.: Effect of mechlorethamine hydrochlonide (nitrogen mustard) on healing of abdominal wound. A.M.A. Arch. Surg., **76**: 749, 1958.
32) Conn, J.H. et al.: Effect of nitrogen mustard and Thio-TEPA on wound healing, Surg. Forum, **8**: 80, 1957.
33) Rath, H. et al.: The effect of Thio-TEPA on wound healing, A.M.A. Arch. Surg., **79**: 812, 1959.
34) Hardesty, W.H.: The effect of cytotoxic drugs on wound healing in rats, Cancer Res., **18**: 581, 1958.
35) Despretz, J.D. et al.: The effects of cytoxan (cyclophosphamide) on wound healing, Plast. Reconstr. Surg., **26**: 301, 1960.
36) Farhat, S.M. et al.: Effect of triethylene-thiophosphamide (Thio-TEPA) upon healing of abdominal wound, A.M.A. Arch. Surg., **78**: 729, 1959.