

結腸縫合創治癒に及ぼす抗癌剤 (Mitomycin C) の 影響に関する実験的研究

和歌山県立医科大学消化器外科 (主任教授: 勝見正治)

勝 部 有 二

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE EFFECT OF AN ANTICANCER AGENT (MITOMYCIN C) ON WOUND HEALING OF COLONIC ANASTOMOSIS

Yuuji KATSUBE

Department of Surgery (Digestive Surgical Division), Wakayama Medical College

大腸癌術後の局所再発予防の目的で、術後にも使用される抗癌剤が、縫合創治癒にどの程度の影響を及ぼすかについての研究は少なく、明確な結論が得られていない。著者は、まず大結腸に Mitomycin C を局所投与して、投与方法および投与量によっては潰瘍形成、壁内出血、上皮の変性、動脈壁の類線維素性変性などが生じることを確かめ、また、結腸縫合創治癒への影響を検索し、動脈内投与の障害が最も強く、次いで腹腔内投与、腸管内投与の順となり、投与量として比較的障害が少ないと考えられる臨床使用適量は、動脈内0.2mg/kg、腹腔内0.5mg/kg、腸管内0.5~1.0mg/kg であると結論した。

索引用語 結腸, Mitomycin C, 創傷治癒, 縫合不全

緒 言

近年、大腸癌症例の増加に伴い、その外科的療法は目覚ましい進歩を遂げつつある。しかし、拡大リンパ節廓清や No touch isolation などの、癌に対する根治手術が的確に行えたとしても、手術手技上限界がある場合もあり、中には再発を考慮しなければならない症例も数多く見られる。

実際、結腸・直腸癌では全体の45~55%に所属リンパ節の転移が認められ¹⁾²⁾、癌腫周囲の局所血中には25~32%もの癌細胞が検出され³⁾⁴⁾、血行性転移としての肝転移は8~25%を占めるとされている^{5)~8)}。さらに、たとえ手術が適確に行えたとしても、癌細胞は吻合創などの粘膜欠損部に附着しやすい特異性があるため⁹⁾、術後3~36%の吻合部再発が報告されている^{10)~12)}。また、大腸癌の再発として、結腸癌では肝転移が最も多く、次いで癌性腹膜炎、局所再発の順であり、直腸癌では局所再発が最も多く、次いで肺転移、肝転移の順であることなどから¹³⁾、大腸癌の手術に際して術後はもとよりのこと、術前・術中から Adjuvant chemotherapy とし、その目的に応じた抗癌剤の使用方法がなされつつ

あるのが現状である^{14)~17)}。

一方、大腸は消化管の中でも縫合不全を起しやすい臓器であり、一般に縫合不全は全症例の5~25%を占めるとされている¹⁸⁾¹⁹⁾。とくに、直腸癌に対して Low anterior resection を行った場合には、縫合不全は9~58%もの高頻度であると報告されており^{20)~22)}、Suture line recurrence 等の局所再発も多いとされている²³⁾。

それゆえ、一般に創傷治癒障害をきたすと考えられている抗癌剤を、癌再発予防の目的で使用すると、それだけでなくも縫合不全を起しやすい大腸に悪影響を及ぼすことは当然考えられ、従って、その投与方法、投与量等が重大問題となる。

そこで、著者は、現在一般に臨床で使用され、5-Fluorouracil と並んで大腸癌に有効とされている concentration dependent の抗癌剤である Mitomycin C²⁴⁾²⁵⁾ (以下 MMC と略す) が結腸縫合創治癒にどの程度の影響を及ぼすかを観察した。

MMC は DNA 合成阻害と、その崩壊性があるとされ²⁶⁾、一方、DNA は蛋白合成に大きく関与していることから、まず MMC の正常結腸に及ぼす影響を Wistar

系ラットを用いて投与方法別ならびに投与量別に検討し、さらに雑種成犬を用いて縫合創部への影響について実験的検討を加え、若干の知見を得たので報告する。

第I章 MMC の正常結腸に及ぼす影響

1) 実験目的

DNA 合成阻害剤である MMC を投与すると、当然結腸壁内の DNA 合成は影響を受けるものと考えられる。そこで、MMC の投与方法および投与量を変えて投与した際には、結腸にどの程度の影響を及ぼすのかを、DNA の特異的前駆物質である ³H-Thymidine を用いて検討するのを目的とした。

2) 実験対象ならびに方法

体重 200~220gr の Wistar 系ラット181匹を用いて、MMC 投与 2 日前より経口水分のみを与えた。エーテル麻酔のもとに、MMC の投与方法として静脈内投与 (IV)、腹腔内投与 (IP)、腸管内投与 (IL) を選び、投与量は0.2~8mg/kg とした (表1)。

表1 使用匹数及び死亡数 (ラット)

投与方法 及び投与量	測定日数						
	1/4	1/2	1	3	5	7	14
静脈内	2 mg/kg	3	3	5	5	5	8(3) 7(2)
	0.5mg/kg				3		3 5(2)
	0.2mg/kg				3		3 3
腹腔内	2 mg/kg	3	3	5	5	5	7(2) 5
	0.5mg/kg				3		3 3
	0.2mg/kg				3		3 3
腸管内	8 mg/kg				4(1)		6(3) 5(2)
	2 mg/kg	3	3	5	5	5	5 5
	0.5mg/kg				3		3 3
吻合のみ							3 3

対照群: 10

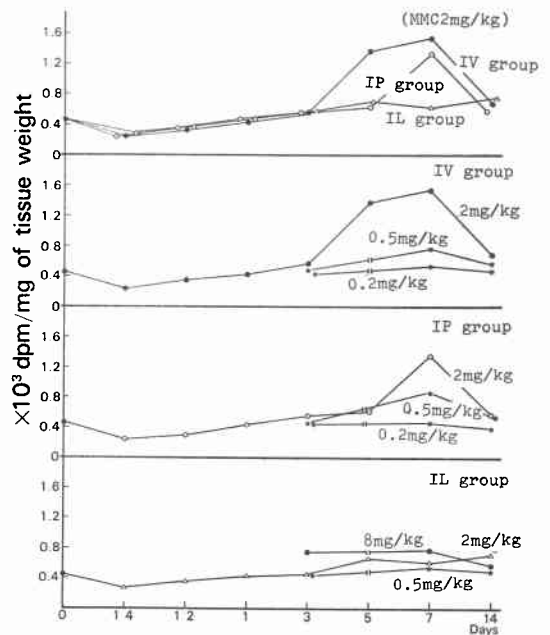
■ は MMC による中絶死

静脈内投与方法には尾静脈を用い、腹腔内投与方法には腹壁より穿刺注入し、腸管内投与方法には肛門からラット用経口注入器を用いて注入した。MMC 投与後、6時間、12時間、24時間 3日、5日、7日、14日目に屠殺した。屠殺24時間前から経口水分のみを与え、体重測定の後、³H-Thymidine 40 μCi/200gr を屠殺1時間前に腹腔内に注入し、屠殺後一定部位の結腸を約 200mg 切除した。腸壁に附着している糞便や腸間膜を腸壁の損傷のないように丁寧に除去して、腸の重量測定の後、腸を Sample Oxidizer (Model 305, Packard) にて燃焼させ、Liquid Scintillation Counter (Model L S C-653, ALOKA) にて測定した。

3) 実験結果

正常ラット結腸壁内への ³H-Thymidine の取り込みは10匹平均 (対照) にて455±51.7 (M.±S.E.) dpm/mg であるが、MMC 投与後6時間目では MMC の投与方法に関係なく対照の約1/2の取り込みしかなく、以後徐々に上昇して24時間目では対照に近づいていた。投与後3日目以後になるとさらに取り込み量が増し、特に静脈内投与では5日目 1,371±37.7dpm/mg (以下いずれも M.±S.E.)、7日目 1,531±39.0dpm/mg となり、腹腔内投与の7日目 1,358±67.0dpm/mg と共にいちじるしく高値を示していた。しかし、14日目になると静脈内投与と腹腔内投与の取り込みは急激に下降し、対照に近づいていた (図1)。

図1 ³H-thymidine Incorporation

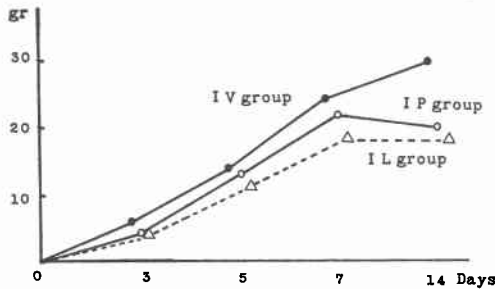


静脈内投与の5日目と7日目、および腹腔内投与の7日目の ³H-Thymidine の取り込み量は対照との間に有意差を認めた (P<0.01)。

静脈内投与にて、投与量を0.5mg/kg、さらに0.2mg/kg と減少させて測定すると、0.2mg/kg では経日的な変化が見られなく、0.5mg/kg 投与の7日目では791±16.4 dpm/mg と高値を示した。

腹腔内投与にて、投与量を0.5mg/kg、0.2mg/kg と減少させると、0.2mg/kg 投与では対照との間に差が認められないが、0.5mg/kg 投与の7日目では 851±46.8 dpm/mg と対照の約2倍の取り込み量であった。

図2 MMC投与方法別体重減少(2mg/kg投与)



次に、腸管内 2mg/kg 投与では比較的变化が少ないことから、8mg/kg と投与量を増やしたところ、3日目に 738±40.4dpm/mg と 2mg/kg の約1.5倍となり、7日目には 781±91.3dpm/mg と依然として高値であるが、14日目には対照に近づいていた。

さらに、ラットの MMC 投与前後の体重変化をみると、静脈内投与の体重減少が最も著明で、投与後14日目で投与前の約15%の減少であり、次いで腹腔内投与、腸管内投与の順となった(図2)。

ラットの正常結腸壁と MMC 2mg/kg 投与後の結腸壁内組織含水量を Adamson²⁶⁾ 法にて測定すると、正常結腸壁内の含水量は 79.9±0.6% (M.±S.E.) であり、MMC 投与後3日目から7日目までの含水量は81%台と多くなり、14日目には79%台と対照の値に近づいていた。また、MMC 各投与方法別の組織含水量を比較すると、明らかな差は認められなかった(表2)。

表2 MMC投与方法別組織含水量(2mg/kg投与)

	3	5	7	14
静脈内投与	81.6±0.4	81.8±0.5	81.2±0.3	79.6±0.8
腹腔内投与	81.8±0.3	81.7±0.2	81.2±0.3	79.1±0.5
腸管内投与	80.9±0.2	81.6±0.4	81.4±0.4	79.3±0.5

正常結腸 (n=5) 79.9±0.6

$$\text{単位: \% water content} = \frac{\text{wet weight} - \text{dry weight}}{\text{wet weight}} \times 100$$

4) 小括

MMC を投与すると、ラットの体重は著明に低下するの比して、結腸壁内含水量は逆に増加していた。また、MMC 投与後24時間までは MMC の直接の影響により、³H-Thymidine の取り込みの低下をきたし、3日目以降になると結腸壁内細胞の修復機能としての DNA 合成が亢進し、³H-Thymidine の取り込みの上昇となった。それゆえ、MMC はラット結腸壁に障害を与えていることは明らかであり、投与方法別にみると静脈内投与の障害が最も著明であり、次いで腹腔内投与、腸管内投与

の順となった。

さらに、投与量別にみると、2mg/kg 投与では比較的障害の少ない腸管内投与でも、投与量を 8mg/kg にすると明らかな障害が認められた。静脈内投与と腹腔内投与にて投与量を減じたところ、二者とも 0.2mg/kg では結腸への影響が少ないと考えられる。

第II章 MMC の結腸縫合創への影響

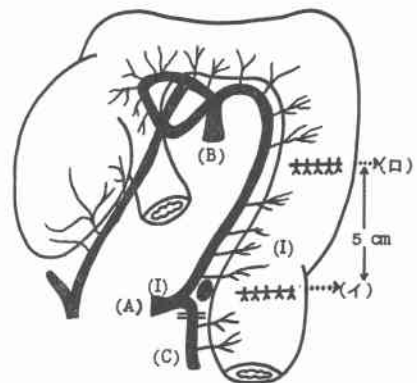
1) 実験目的

MMC は結腸に障害を与えることから、手術に際して MMC を投与すると、縫合創治癒にどの程度の影響を及ぼすかを検討するのを目的とした。

2) 実験対象ならびに方法

体重 10~15kg の雑種成犬80頭を用い、手術24時間前から経口水分のみを与え、術直前に排便させて、気管内挿管麻酔のもとに開腹した。結腸の切開にあたり、A. mesenterica caudalis の分岐部近傍のリンパ節を指標として、結腸の一定部位2カ所を結腸間膜対側にて2/3周切開した(図3)。

図3 腸切開部位と MMC 注入部



- (A): A. mesenterica caudalis
- (B): A. mesenterica cranialis
- (C): A. hemorrhoidalis cranialis
- (イ), (ロ): 縫合部 (5 cm 間隔)
- (I): MMC 溶解液注入部

縫合糸は 3-0PGA 糸を用いて Gambee 一層縫合を行ない、縫合終了後に MMC を5ml の蒸留水に溶解し、以下の各投与方法を行なった。

動脈内投与 (IA) は25G1/2 の皮内針を用いて、MMC を A. mesenterica caudalis に注入し、A. hemorrhoidalis cranialis には薬剤が流入しないように血管クリップにて一時血行を遮断した。MMC 注入後、針の穿刺部位を圧迫止血し、止血の確実と A. mesenterica sinistra の

血流の良好とを確認して閉腹した。

腹腔内投与 (IP) は縫合部の周囲に MMC を散布し、腸管内投与 (IL) は2カ所の縫合部の中点にて腸管を穿刺注入し、MMC が縫合部に作用するように約15分間²⁷⁾ 結腸を一定の位置に保持した後に閉腹した。対照として MMC 非投与を選び、それぞれを経日的 (1日, 3日, 5日, 7日目) に屠殺剖検し、以下に述べる各項目にて縫合部の治癒状態を検索した。

3) 測定項目

A) 肉眼的所見 屠殺時の縫合部の状態を、a. 縫合不全の有無、b. 縫合部周囲の癒着の程度、c. 縫合部を中心とする粘膜のびらんおよび潰瘍形成の程度の3項目にて判定した。

B) 耐圧試験 屠殺後直ちに縫合部を中心に約10cm長の結腸を取り出し、一方を盲端にして、他端にチューブを連結し、縫合腸管を水中に没して圧を加え、注入加圧した色素水が縫合部から漏れる時の圧を水銀計にて測定する Liquid inflation leak test⁶⁰⁾ を用いた。

C) 微細血管像 星野²⁸⁾らの局所循環法に順じ、全身ヘパリン化のもとに A. mesenterica caudalis に Canulation し、10% dextran 500ml, 2% Xylocain 20ml, および Heparin 5,000U の灌流液を140cm H₂O の圧にて注入し、血液成分を Wash-out した。さらに、20% 硫酸バリウム流動液 (Micropaque) を180cm H₂O の圧にて約50ml 注入し、氷水にて急冷した後に10%ホルマリン液にて約24時間固定した。その後、超軟X線発生装置 (Softex, Type CBM) にて縫合部を中心に平面像を撮影し、さらに縫合部を中心に3cm長の切片を取り、Freezing Microtome で2mmの厚さの切片にして断面像を撮影した。

D) 組織検査 微細血管像にて使用した縫合部を中心とする結腸切片を Hematoxylin-Eosin 染色、一部は Azan-Mallory 染色にて観察した。

4) 実験結果

A) 死亡犬の検討

80頭中の死亡犬は9頭 (11.3%) で、その内4頭は麻酔および手術操作による死亡であり、残りの5頭は嘔吐、下痢、下血、衰弱が著明であったが、剖検しても腹部に肉眼的著変が見られなかったことから、MMCによる中毒死と判定した。すなわち、5頭中4頭は MMC 1mg/kg 動脈内投与後5~7日目に死亡し、他の1頭は MMC 1mg/kg 腹腔内投与に見られた (表3)。

B) 縫合腸管の肉眼的所見

表3 使用頭数および死亡数 (犬)

投与方法	術後 日数 投与量	縫合 直後			
		1	3	5	7
動脈内	1 mg/kg	4(1)	3	4(1)	6(3)
	5 mg/kg			2	2
	2 mg/kg			2	2
腹腔内	1 mg/kg	4(1)	3	3	4(1)
	5 mg/kg			2	2
	3 mg/kg			2	2
腸管内	1 mg/kg	3	4(1)	3	3
	5 mg/kg			2	2
対 照	縫合のみ	3	3	3	4(1)
	投与なし			2	2

●は麻酔及び手術死 □はMMCによる中毒死

表4 屠殺時縫合不全率 (%)

投与方法	術後 日数	(MMC 1mg/kg 投与)				計
		1	3	5	7	
動脈内	0	16.7 (1/6)	16.7 (1/6)	33.3 (2/6)	16.7 (4/24)	
腹腔内	0	16.7 (1/6)	16.7 (1/6)	0	8.3 (2/24)	
腸管内	0	0	16.7 (1/6)	0	4.2 (1/24)	
対 照	0	0	16.7 (1/6)	0	4.2 (1/24)	

a. 縫合不全 屠殺時に一見して判る程度の大きなものから、縫合部の癒着を剝離して判るピンホール程度の小さなものまで縫合不全とみなして検討すると、縫合不全は142縫合部中9縫合部 (6.3%) に見られ、中でも MMC 1mg/kg 動脈内投与では4縫合不全と最も多く、次いで腹腔内投与、腸管内投与の順となった (表4)。

b. 癒着 矢野²⁹⁾の癒着判定基準を参考にして、次のとき採点法にて計量した。

0点: 癒着なし。

1点: 縫合部の一部に、用手剝離可能な癒着を認めるもの。

2点: 縫合部のほぼ全体に、用手剝離可能な癒着があり、部分的に剝離困難なもの。

3点: 縫合部のほぼ全体に、用手剝離困難な癒着を認めるもの。

MMC の投与方法別に比較すると、癒着の程度は動脈内投与と腹腔内投与に強く、腸管内投与に軽い。動脈内投与では術後3日目をピークとする癒着が見られ、腹腔内投与では術後3日目から7日目まで強い癒着が持続していた (表5)。

さらに、MMC の投与量別に比較すると、動脈内投与、腹腔内投与とも投与量を 0.2~0.5mg/kg に減少さ

表5 屠殺時の縫合部癒着

投与方法	MMC 1mg/kg 投与			
	術後日数	1	3	5
動脈内投与	1.2	1.8	1.5	1.0
腹腔内投与	1.2	2.0	1.7	2.0
腸管内投与	1.0	1.0	1.2	0.8
対 照	0.8	1.2	1.0	0.8

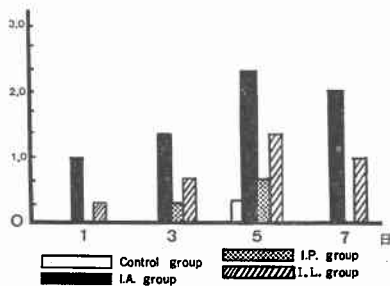
単位:点(本文参照)

せると癒着は軽減し、腸管内3mg/kg投与は1mg/kgと同様に癒着は軽い。

c. 縫合部粘膜面所見 対照では、粘膜は術後3日目まで縫合線に一致して浮腫状で、壊死物質の附着をみるが、5日目以後になると壊死物質は消失し、7日目で粘膜接合は完成に近づいていた。

MMC 1mg/kg 動脈内投与では、3日目から広範囲のびらん、UL-II~IIIの壊死物質を含んだ潰瘍、粘膜下出血が見られ、5日目に最も著明となり、7日目でも持続していた(写真1-a)。腸管内投与では、比較的軽度のびらんとUL-I~IIの散在性潰瘍が認められ、動脈内投与に比べて軽度であった。一方、腹腔内投与では粘膜への影響は少なかった(写真1-b)。計量のために、粘膜の変化なし(0点)、びらんのみを認める(1点)、びらんおよび潰瘍形成あり(2点)、びらんおよび潰瘍形成が著明(3点)として投与方法別に比較すると、動脈内投与による粘膜障害が最も著明であり、次いで腸管内投与、腹腔内投与の順となり、MMC 3投与方法とも5日目の障害がピークに達していた(図4)。

図4 びらんおよび潰瘍形成



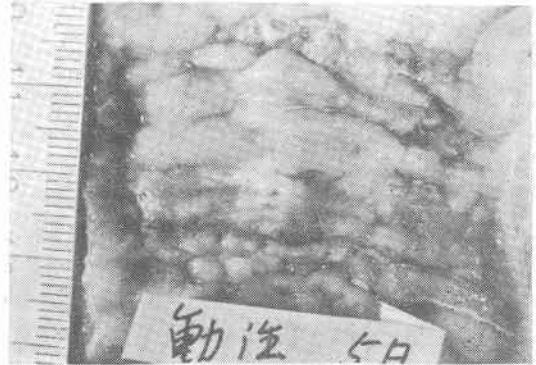
MMCの投与量別では、動脈内0.5mg/kg投与はなお潰瘍を形成するが、0.2mg/kgにすると軽度のびらんのみが認められた。また、腸管内3mg/kg投与は動脈内1mg/kg投与と同程度の潰瘍形成であった(写真1-c)。

C) 縫合部耐圧試験

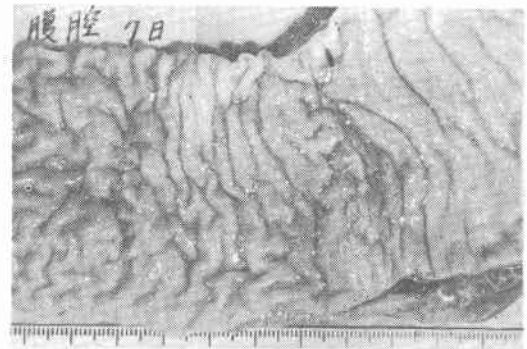
正常結腸縫合部の耐圧力の3頭平均値は、縫合直後

写真1 縫合部肉眼的所見

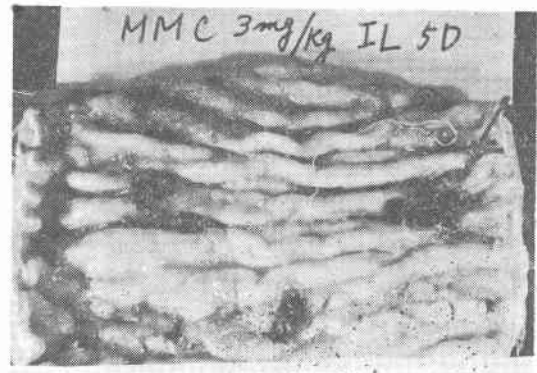
1-a: 動脈内投与5日目。縫合部周囲に、びらん、潰瘍形成、粘膜出血をみる。



1-b: 腹腔内投与7日目 粘膜接合はほぼ完成されたかにみえる。



1-c: 腸管内投与5日目 縫合部周囲に、散在性の潰瘍形成あり。



180.0±11.5mmHgであり、術後3日目に83.3±8.8mmHgと低値を示し、以後急速に回復して、7日目には357.5±10.3mmHgとなった。正常犬結腸の漿膜・筋

層亀裂をきたす内圧は10頭平均にて 299±8.3mmHg であった。

MMC 投与では、対照との間に術後3日目まで著明な差は認められないが、5日目以後には明らかな差が認められ、特に動脈内投与の5日目の耐圧力100.0±11.5 mmHg は対照の38.9% (P<0.01) しかなく、7日目の 150.0±5.8mmHg は対照の42.0% (P<0.01) であった。腹腔内投与も5日目以後対照との間に差がみられ、7日目の 236.7±8.8mmHg の耐圧力は対照との間に有意差 (P<0.05) が認められた。腸管内投与は術後5日目まで対照の51.1%と低値を示したが、術後7日目になると 306.7±6.7mmHg と強まり、正常漿膜・筋層亀裂圧より高値であった (図5、表6)。

図5 縫合部耐圧試験 投与方法別比較 (1 mg/kg)

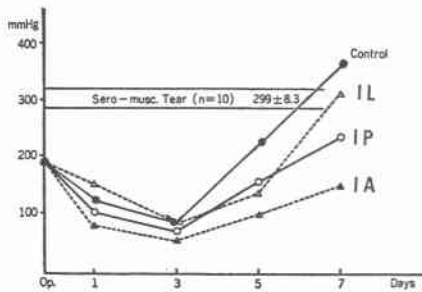


表6 縫合部耐圧試験 (M.±S.E. mmHg) 投与方法別比較 (1 mg/kg)

術後日数 投与方法	術後	1	3	5	7
動脈内	—	33.3±8.8	30.0±5.8	100.0±11.5	150.0±5.8
腹腔内	—	100.0±5.8	70.0±15.3	150.0±11.6	236.7±8.8
腸管内	—	150.0±5.8	83.3±8.8	130.0±5.8	306.7±6.7
対 照	80.0±11.5	123.3±14.8	83.3±8.8	257.3±10.3	357.5±10.3

正常漿膜筋層亀裂圧: 299±8.3 (n=10)

さらに、投与量別にみると、動脈内 0.2mg/kg 投与と腹腔内 0.5mg/kg 投与の耐圧力は、術後7日目まで正常漿膜・筋層亀裂圧より高値であった。また、腸管内 3mg/kg 投与の術後7日目の耐圧力は160mmHg と低く、動脈内 1mg/kg 投与と近似の値を示していた (表7)。

D) 微細血管像

平面像では縫合線 2cm 長の部位における Avascular area と Vascular communication の程度を、断面像で

表7 縫合部耐圧試験 (投与量別比較)

投与方法	術後日数	5	7
	投与量		
動脈内	1 mg/kg	100±11.5	150±5.8
	0.5mg/kg	135 (120, 150)	240 (220, 260)
	0.2mg/kg	170 (150, 190)	330 (340, 320)
腹腔内	1 mg/kg	150±11.6	237±8.8
	0.5mg/kg	205 (200, 210)	330 (310, 350)
腸管内	3 mg/kg	125 (110, 140)	160 (140, 180)
	1 mg/kg	130±5.8	307±6.7
	0.5mg/kg	230 (220, 240)	340 (320, 360)
対 照		257±10.3	357±10.3

単位: mmHg

□ は正常漿膜筋層亀裂圧299±8.3以上にあるもの。

は縫合部の各層別の Avascular area と Vascular communication を読影し、その平均値で血管構築の面から創治療状態を観察した。

術後1日目の Avascular area は、MMC に関係なく縫合直後に比べてやや狭くなっているが、術後3日目になると対照および腹腔内投与、腸管内投与では、術後1日目の約25~30%の縮小であり、わずかの Vascular communication が認められた。しかし、動脈内投与3日目の Avascular area は対照の3日目と比較して約1.2倍と広く、しかも Vascular communication は認められなく、術後5日目になって Vascular communication が出現した (写真2-a)。

術後7日目になると、対照および腹腔内投与と腸管内投与の Avascular area は、ほぼ完全に消失しているが、動脈内投与では縫合直後の約10%程度残存していた (写真2-b)。

なお、動脈内投与と腸管内投与では造影剤の粘膜内流入が乏しく、絨毛突起の高さも低下していた。以上の微細血管像所見をシェーマに示すと図6のごとくとなる。

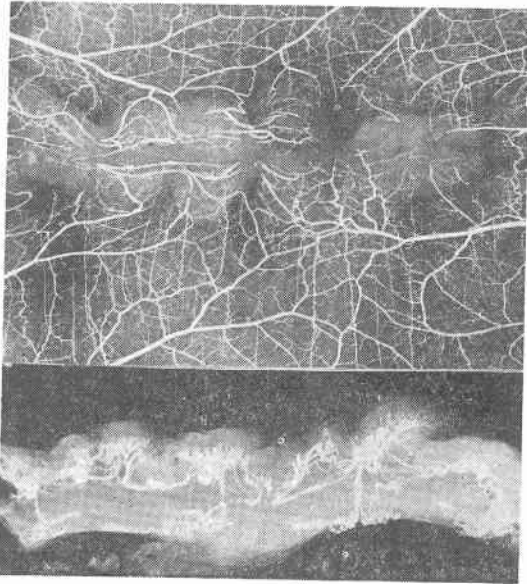
E) 組織学的検索

縫合部を中心に、炎症の程度と拡がり、肉芽組織の増生、上皮の変性、フィブリンの析出、出血、動脈壁の類線維素性変性の6項目を0点から3点までの4段階に分けて判定した (図7)。

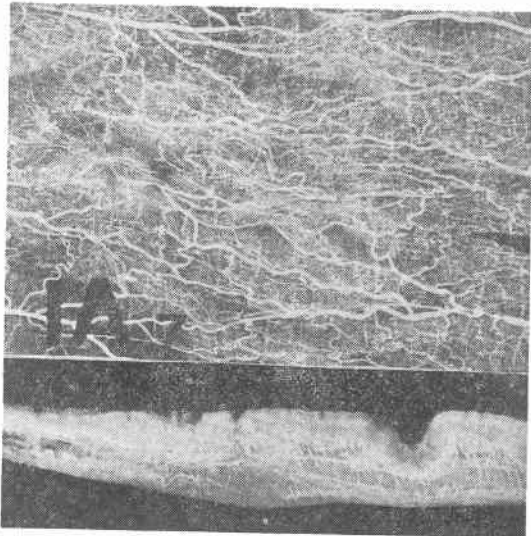
a. 炎症 対照での縫合部の炎症は術後1日目最も強く、以後経日的に軽減した。これを投与方法別にみると、動脈内投与の炎症は術後1日目にて対照と同程度であり、以後も強い炎症が続いているが、腹腔内投与では

写真2 微細血管像

2-a: 動脈内投与1日目. Avascular area は広く, Vascular communication はみられない.



2-b: 動脈内投与7日目. 縫合部の血管構築はほぼ完成する.



術後1日目から7日目まで中等度であり, 腸管内投与では対照より軽度であった.

b. 肉芽組織 肉芽形成は対照および MMC 投与とも術後3日目から現われ, 次第に増加の傾向にあった. 肉芽組織の増生の程度および線維芽細胞の数を, MMC

図6 微細血管像

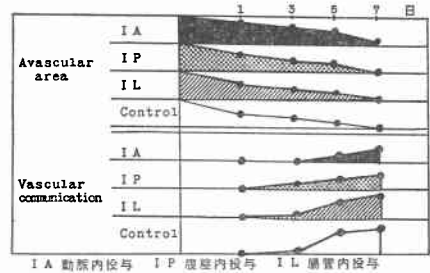
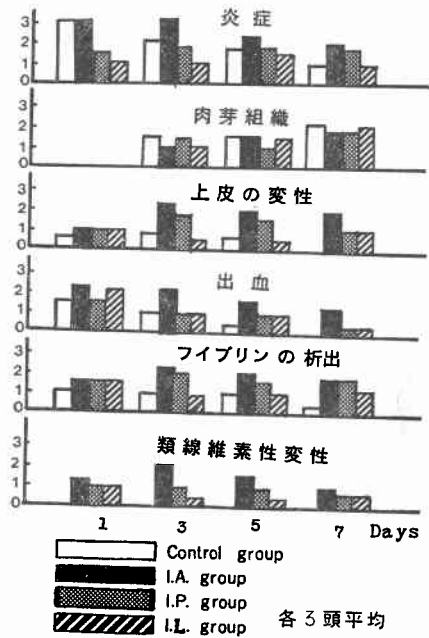


図7 組織学的所見



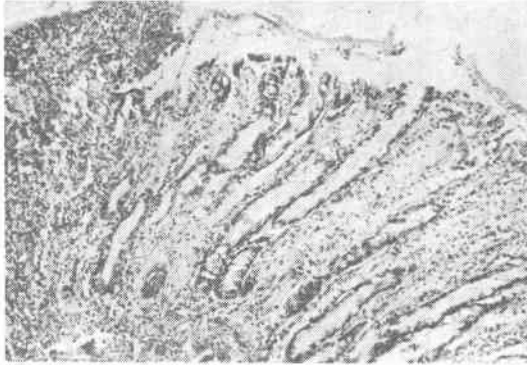
投与方法別に比較して特に差違が見られなかった. また, MMC 動脈内投与の術後5日目に形態異常線維芽細胞が認められた.

c. 上皮の変性 MMC を投与すると粘膜上皮の凝固壊死, 核崩壊, 配列異常および粘膜炎の断裂が見られ, とくに動脈内投与に著明であった. 動脈内投与の上皮変性は術後3日目に最も著しく, 以後次第に軽減し, 7日目では2.0点程度となった. 一方, 腹腔内投与と腸管内投与は術後7日目で1.3点程度の変性度を呈していた(写真3-a).

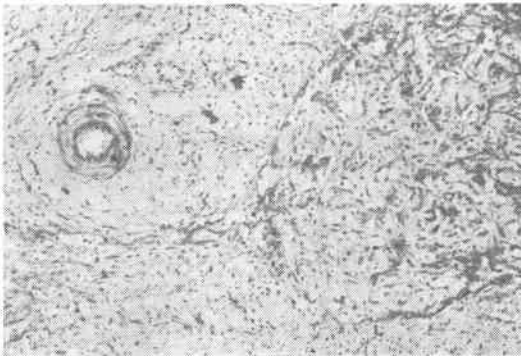
d 出血, 組織内出血は各群とも術後1日目が最もいちじるしく, 経日的に軽減する傾向にあった. 術後7日目になると, 対照の出血はほとんど消失していたが, 動

写真3 組織学的所見 (MMC 1 mg/kg 動脈内投与
5日目)

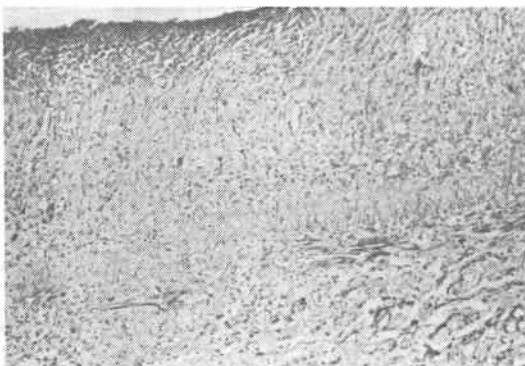
3-a : 上皮の変性著明 (H.E. 染色×28)



3-b : 動脈壁の変性と肥厚がみられる (H.E. 染色
×70)



3-c : 潰瘍底部の肉芽増殖が著明である (H.E. 染色
×28)



脈内投与では1.7点程度残存していた。

e. フィブリンの析出 フィブリンの析出は対照に比して MMC 投与に著明であり、特に動脈内投与と腹腔内投与の術後7日目では2.0点の析出度を示していた。

f. 動脈壁の類線維素性変性 MMC 投与では動脈壁の類線維素性変性が見られ、その程度は3日目に最もいちじるしく、7日目になるとやや軽減した。特に、最も著変の強い動脈内投与では術後3日目に2.0点とピークに達し、7日目でも1.0点と持続していた(写真3-b)。

次いで、投与量別に比較すると、0.5mg/kg 動脈内投与では上皮の変性、動脈壁の変性が著明であるのに比して、0.2mg/kg 動脈内投与では比較の変性も少なく、出血、フィブリンの析出も軽度であった。0.5mg/kg 腹腔内投与と0.5mg/kg 腸管内投与では、上皮の変性および動脈壁の変性が認められなかったが、3mg/kg 腸管内投与にすると、上皮の変性は著明であった。

5) 小括

MMC の犬結腸への影響として、粘膜のびらん、潰瘍形成と共に、粘膜上皮の変性、配列異常がみられ、動脈壁の類線維素性変性も認められた。とくに、MMC 動脈内投与の障害が著明であり、以下腹腔内投与、腸管内投与の順となった。

MMC の結腸縫合創への影響として、縫合不全の頻度が増し、縫合創部の耐圧力も低下し、特に動脈内投与にて新生血管の出現が遅れ、縫合創周囲の組織反応が著明であった。

さらに、結腸縫合創治癒への影響を MMC の投与量別に比較すると、全体的にみて影響が少ないと推測されるのは動脈内0.2mg/kg 投与、腹腔内0.5mg/kg 投与、腸管内0.5~1.0mg/kg 投与であった。

総括と考察

現在、大腸癌の手術に際して抗癌剤の局所投与として用いられている方法は、癌腫占居部の支配動脈内投与法、腹腔内散布法、腸管内投与法、直接腫瘍内注入法などが数えられる。しかし、臨床において抗癌剤を局所投与するにあたり、抗癌剤は結腸縫合創に影響がないものかどうか、安全限界としてどの程度の投与量が望ましいのか、などの疑問が生じる。しかし、これらに明確な解答を与える結果は MMC に関する限りみられない。

まず、著者は MMC の結腸および結腸縫合創に及ぼす影響を検討するにあたり、まず問題となる投与量を以下のごとき理由に基づいて決定した。すなわち、現在臨床で MMC の局所投与として使用されている10~30mg

bodyの量は¹⁵⁾³⁰⁾³¹⁾,抗癌剤の中毒量に関する Freileich³²⁾の公式に照らし合わせ,人間の体重を60kgとすると,犬では0.3~1.0mg/kg,ラットでは1.0~3.5mg/kgとなる.また,芝²⁵⁾らによると,ラット実験癌にてMMCの1~2mg/kg 静脈内及び腹腔内投与は,種々の癌に著効を示したと述べていることから,犬では1mg/kg投与を,ラットでは2mg/kg投与を中心に使用した.

MMCの結腸に及ぼす影響についての報告をみると,MMCは生化学的にはDNA合成阻害剤であるが,その作用の本質は休止期の癌細胞に働いて,これを変性崩壊させるといわれており,一般に骨髄障害が著明で,消化器障害は少ないとされている³³⁾.しかし,篠原³⁴⁾らは臨床的に大腸癌にMMC 10~20mg/bodyをone shotで動注したところ,注入してから3日目に下痢,血便,下腹部痛などの症状と共に,内視鏡にて腸管の粘膜出血,潰瘍形成,狭窄などを認めたとしている.一方,芝らは実験的にMMCを投与すると,大腸粘膜にPetechial hemorrhageと強い萎縮性変化が見られたと述べ,赤尾³⁵⁾はMMCの2/3 LD₅₀量を腹腔内投与して,消化管粘膜障害をRadioisotopeにて測定したところ,MMCの消化器障害は大腸に最も著明であると報告している.著者の成績でもこれらの報告と一致して,MMCの結腸への障害として,粘膜びらんおよび潰瘍形成,組織内出血,粘膜の変性,動脈の類線維素性変性などが見られ,MMCの組織内濃度が高まる投与方法を行うと,当然のことながらこれらの障害は増強された.次に,MMCの結腸縫合創治癒への影響を検討するにあたり,まず一般的な抗癌剤の創治癒に及ぼす影響についての諸家の報告をみると,Nitrogen mustardについて,井上³⁶⁾は胃壁の縫合創に潰瘍形成を伴うために創治癒を障害すると述べており,Kaiser³⁷⁾,Farhat³⁸⁾は腹壁張力の低下を認めたとしている.一方,Conn³⁹⁾,Newcombe⁴⁰⁾らは線維芽細胞の増生が開始される術後3~4日までにNitrogen mustardを投与しても組織学的には変化が少ないことから,投与時期が問題であるとしている.Cyclophosphamideについて,中島⁴¹⁾は線維芽細胞から産生される可溶性のProcollagenが不溶性のcollagenへ成熟する過程を抑制すると述べている.5-Fluorouracilについて,Starley⁴²⁾,Goldman⁴⁴⁾らは創部の抗張力が低下するため障害があるとしており,逆にRousselot⁴³⁾,Cohen⁴²⁾らは縫合創に影響はないとしている.さらに,Bleomycinは田中ら⁴⁵⁾の報告によると,通常の使用量では食道縫合創治癒に障害を与えない

とされている.³⁾

そこで,MMCの創治癒に及ぼす影響についての報告をみると,著者の調べ得た限りでは,Wiznitzer⁴⁶⁾のMMC(0.28mg/kg)腹腔内投与は小腸の創治癒に影響が少ないとの報告と,逆に,舘田⁴⁷⁾のMMCの大量静注(0.5~2.0mg/kg)は小腸・大腸の創治癒に障害を及ぼすとの報告があるのみである.以上を要約すると,濃度依存性の抗癌剤は創治癒に障害を及ぼし,逆に,時間依存性の抗癌剤は比較的障害の程度が軽いといえる.

しかし,実際に大腸癌の手術を行うにあたっては,癌腫周辺の血管,リンパ節,腹腔内,腸管内などに癌細胞が残存あるいは播き散らされていることが予想されるため,手術中からAdjuvant chemotherapyとして,なるべく濃度依存性の抗癌剤を局所投与したくなるのが通念である.

そこで,大腸癌に対して有効とされているMMCを局所投与した際には,結腸縫合創にどの程度の影響を及ぼすかの報告が見られないことから,著者はMMCの局所投与方法における結腸縫合創への影響を観察し,縫合創治癒の面からみて,投与量の安全限界を検討した.消化管の縫合不全の原因には,全身的にも局所的にも種々の因子が数えられるが⁴⁸⁾,最も基本的な手術手技による因子を除外する目的で,縫合法としてGambie法⁴⁹⁾⁵⁰⁾を採用し,手術操作は同一チームで行った.また,結腸の手術に際して,糞便の問題⁵¹⁾,血行の問題⁵²⁾などが大きな比重を占めるため,術前から糞便の処理を厳重に行い,2/3週の腸切開に止めて腸間膜側の血管を温存することとした.しかし,それでも縫合不全は9縫合部(6.3%)に認められ,そのうち8縫合不全はMMC投与であり,MMC 1mg/kg動脈内投与では4縫合不全が見られたことから,MMCの影響の強い部位で縫合すると縫合不全を起しやすいと考えられる.

それでは,MMCは結腸縫合創治癒過程にどのような悪影響を及ぼすのであろうか.

まず,正常結腸の縫合創治癒について,諸家の報告をまとめてみる.

消化管の縫合創が結合されるためには,両消化管の間に結合組織による橋渡しができ,しかも内腔面が粘膜上皮によって被われなければならない.また,縫合創において初期にはFibrinやPlateletが沈着し,次いで炎症性細胞が創部に集まり,3~4日目からFibroblastの増殖や毛細血管の新生が起る⁵³⁾.さらに,4~5日目頃から粘液多糖類が増加して,これに誘導されるように

Fibroblast が collagen を分泌し始め、5日目頃から膠原線維の増加と共に創の結合力が急速に増し、14日目頃にはほぼ治癒が完成するとされている^{49) 54) 55)}。本実験の対照における創治癒過程もこれとほぼ同様の経過をとった。

一方、創治癒を定量的に測定する方法としては、Hydroxyprolin 量などの生化学的な方法と、Tensile strength や Bursting pressure による物理的な方法とが代表される。創治癒の真の物理的強度を知る上では、Tensile strength が必要とされるが⁵⁶⁾、Cutting⁵⁷⁾ や Nelsen⁵⁸⁾ は Tensile strength と Bursting strength とは相関関係があるとしており (La-place の法則)、しかも、本実験では比較実験を主眼としたため、Bursting pressure を用いて創治癒を判定した。

一般に、成犬の結腸吻合を Gambee 一層縫合で行うと、初期には縫合糸による物理的な結合に支えられるが、次第に物理的結合が弱まるにつれて、術後4日目頃から生物学的結合が優位となり⁵⁹⁾、術後7日目の耐圧力は 300mmHg 前後であるとされている^{19) 49) 60)}。

MMC を投与すると、術後3日目までに潰瘍形成、動脈壁の類線維素性変性、上皮の変性などの結腸障害が著明に認められるが、こと縫合部耐圧試験では、MMC 投与と非投与の間に術後3日目まで変わりなく、5日目以降になって差が認められた。これは、MMC の結腸縫合創治癒への影響として、術後3日目までの結腸への障害に加えて、術後5日目までの縫合創部の生物学的結合にもなんらかの障害を及ぼすことを示唆しているものとする。

大腸は血管像からみると、消化管の中でも特に血管条件に恵まれない臓器であり、大腸壁内でも特に血管が豊富とされている粘膜下層の血管網は、長軸方向への分枝が少なく、ほとんど輪状に走り、相互の血管を結ぶ連絡も乏しい。大腸の創治癒を判定する上では、血管構築や新生血管の出現等を精細に観察し、特に血管網が豊富でしかも強靱である粘膜下層を重視する必要がある。

一般に、結腸吻合創の新生血管は術後24時間頃から出現し、次第に伸長して3日目頃になると相互の血管が cross linkage し、その数も増えて術後7日目には循環不全の部分が消失するとされている⁶⁰⁾。

著者は、微細血管像を読影する上で北島⁶¹⁾の判定を参考にして、循環不全の指標として Avascular area の程度を、一方、循環改善の指標として Vascular communication の程度を読影したところ、MMC の腹腔内投与

と腸管内投与では術後3日目から1~2本の Vascular communication が出現し、Avascular area は術後7日目ではほとんど消失していたのに比して、動脈内投与での Vascular communication は術後5日目から見られ始め、Avascular area は全体に広く、術後7日目でも縫合直後の約10%程度残存していた。それ故、MMC が直接血管系に作用する投与方法を行うと、新生血管の出現が遅れるものと考えられる。次に、縫合創の肉芽形成をみると、肉芽形成は術後3日目から見られるが、MMC 投与では対照に比べて若干肉芽形成が少なく、とくに、MMC 1mg/kg 動脈内投与の術後5日目に形態異常線維芽細胞が認められたことから、MMC は縫合創の肉芽形成に少なからぬ障害を及ぼしているものと想像される。

縫合創周囲の炎症性細胞浸潤は、MMC 動脈内投与に最も著しく、腹腔内投与でも中等度の組織反応が持続していたのに比して、腸管内投与では比較的軽度であった。この理由として、MMC は抗癌作用に加えて抗菌作用を有し⁶²⁾、とくに大腸菌に感受性が高いことから、MMC 腸管内投与は腸内細菌に由来する炎症をある程度減少させ得るためと推測される。

さらに、MMC は他の抗癌剤と同様に Fibroblast の成長を阻害するため、癒着防止剤となりうるとされているが⁶³⁾、術中に大量の MMC を動脈内および腹腔内に投与すると、逆に癒着は著明であった。矢野⁵⁹⁾は癒着過程について、中皮の損傷と脱落、線維素の析出と沈着などが初期変化として始まり、24時間後には他の漿膜との間に線維素性癒合が起り、48時間後には漿膜下層から Fibroblast が膠着部に出現し、これが collagen fibril を形成して線維化の開始となり、3~4日目以後には器質化が旺盛となると述べている。そこで、MMC 1mg/kg 投与にて癒着が強まった理由としては、結腸壁内の炎症や動脈壁の類線維素性変性の結果、血管壁の透過性が亢進して血液成分が滲出し、Fibrin の析出および沈着が多くなるため、線維素性癒合が著明となり、しかも Fibroblast が増殖する頃には MMC の直接の影響も減じられて、Fibroblast が膠着部に出現し、癒着が強まったものと推測される。

以上を総合すると、MMC 1mg/kg の局所投与として、動脈内投与と腹腔内投与は結腸縫合部に使用不可能のごとくに感じられるが、実際に手術に際して MMC を動注する場合、動注は癌腫占居部の支配動脈から行われ、その部の結腸は切除され、しかも縫合は動注の影響

の少ないところで行われるために、MMC の創部への影響は本実験より少ないと考えられる。また、現実問題として、抗癌剤をどうしても使用したい場合があり、縫合創治癒に比較的障害を与えない投与量を知る必要を痛感する。

そこで、MMC の投与量別に検討すると、動脈内0.5 mg/kg 投与は 1mg/kg 投与と同様に、結腸壁への障害及び縫合創への影響が著明である。動脈内 0.2mg/kg 投与にするとびらんおよび潰瘍形成がみられず、縫合後7日目の耐圧力は330mmHg と漿膜、筋層亀裂圧より高値となり、しかも新生血管は術後3日目に認められ、動脈壁の類線維素性変性も軽度であった。腹腔内 0.5mg/kg 投与の癒着は比較的軽度であり、耐圧力も7日目で330 mmHg と高値を呈していることから、Wiznitzer⁴⁶⁾ の MMC 0.28mg/kg 腹腔内投与は創治癒への影響が少ないとの報告が頷ける。腸管内 0.5~1mg/kg 投与の縫合創への影響は比較的軽度であるため、さらに、3mg/kg と投与量を増加すると、粘膜のびらんおよび UL-II ~ III の潰瘍形成と、耐圧力の低下などを認めた。

これらのことから、MMC が結腸壁内に高濃度に取り込まれる投与方法および投与量を用いると、当然のことながら結腸創への影響も強まり、比較的影響が少ないとされるのは、動脈内 0.2mg/kg、腹腔内 0.5mg/kg、腸管内 0.5~1mg/kg 投与であると考えられる。

まとめ

- 1) MMC の結腸に及ぼす影響を投与方法別に比較すると、影響の強い順からラットでは静脈内、腹腔内、腸管内となり、犬では動脈内、腹腔内、腸管内となる。
- 2) MMC の結腸に及ぼす障害としては、粘膜のびらん、潰瘍形成、壁内出血、動脈壁の類線維素性変性、上皮の変性などが見られる。
- 3) MMC は結腸縫合創への障害が強く、投与方法では動脈内、腹腔内、腸管内の順と障害が強い。とくに、動脈内 1mg/kg 投与では縫合部耐圧力の著明な低下、新生血管の出現の遅れが認められる。
- 4) MMC の投与量として障害が少ないのは、動脈内 0.2mg/kg、腹腔内 0.5mg/kg、腸管内 0.5~1mg/kg 投与である。

稿を終るに臨み、終始ご指導ご校閲を賜った恩師勝見正治教授に深甚の謝意を捧げるとともに、絶えず叱正、ご指導を頂いた浦伸三講師ならびに共同研究班の諸兄、教室の諸兄に深謝を表す。最後に、病理組織の面で御指導を頂いた第一病理石井享講師、中検病理久保邦臣博士

に深く感謝する。

(なお、本論文の要旨は、第31回日本大腸肛門病学会総会、第78回日本外科学会総会にて発表した。)

文 献

- 1) 小林陽一郎ほか：大腸癌再発手術例に関する検討。日消外会誌，9：126—133，1976。
- 2) 齊藤 博：直腸癌の病像とリンパ節転移および切後予後に関する臨床病理学的研究。日外会誌，76：446—458，1975。
- 3) Griffiths, J.D. et al.: Carcinoma of the colon and rectum: Circulating malignant cells and five-year survival. *Cancer*, 31: 226—236, 1973.
- 4) 浜口栄祐ほか：大腸癌の進展と治療方針の基盤。外科，29：1467—1482，1967。
- 5) 小林勝正ほか：肝転移のある消化器癌の手術適応—胃癌，大腸癌について—。外科治療，34：352—356，1976。
- 6) 高橋 孝ほか：結腸癌，直腸癌肝転移の臨床的研究。癌と臨床，18：330—335，1972。
- 7) Galante, M. et al.: Cancer of the colon. *Ann. Surg.*, 165: 732—744, 1967.
- 8) Bacon, H.E. et al.: Visceral metastases from carcinoma of the distal colon and rectum. *Surg.*, 33: 495—505, 1953.
- 9) Majima, S. et al.: Studies on the mechanism and prevention of local recurrence of carcinoma at the suture line after colonic resection. *Jap. J. Surg.*, 1: 93—98, 1971.
- 10) Manson, P.N. et al.: Anastomotic recurrence after anterior resection for carcinoma: Lahey clinic experience. *Dis. Col. Rect.*, 19: 219—224, 1976.
- 11) Cohn, I.: Cause and prevention of recurrence following surgery for colon cancer. *Cancer*, 28: 183—189, 1971.
- 12) Waltzer, A.K. et al.: Studies on the mechanism and prevention of recurrence of carcinoma at the suture line. *Ann. Surg.*, 172: 273—277, 1970.
- 13) 北条慶一ほか：大腸癌の術後再発と対策。外科，34：1025—1035，1972。
- 14) 松繁 洋：結腸癌手術後の吻合部再発防止についての実験的研究。京府医大誌，79：223—233，1970。
- 15) 中里博昭：消化器癌の化学療法。臨床成人病，5：991—1000，1975。
- 16) Lawrence, W. et al.: Chemotherapy as an adjuvant to surgery for colorectal cancer. *Ann. Surg.*, 181: 616—623, 1975.
- 17) 谷口 理：制癌剤の腹腔内投与に関する細胞化学的ならびに臨床的研究。米子医誌，26：21—49，1975。

- 18) 石上浩一：消化管縫合不全。現代外科学大系, **76-C**, : 81—108, 1976.
- 19) Herzog, B.: The one-layer and two-layer intestinal anastomosis (in animal experiments). *Prog. Pediat. Surg.*, **5**: 37—57, 1973.
- 20) Goligher, J.C. et al.: Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Brit. J. Surg.*, **57**: 109—118, 1970.
- 21) Wilson, S.M. et al.: Sigmoid, rectosigmoid, and rectum. *Ann. Surg.*, **183**: 556—565, 1976.
- 22) 浦 伸三ほか：腸管一層吻合 (Gambee) の検討—2層吻合との比較並びに縫合不全対策—。日臨外医学会誌, **39**: 45—48, 1978.
- 23) Rousselot, L.M. et al.: Adjuvant chemotherapy with 5-Fluorouracil in surgery for colorectal cancer. Eight year progress report. *Dis. Col. Rect.*, **15**: 169—174, 1972.
- 24) Carter, S.K.: Cancer treatment today and its impact on drug development, with special emphasis on the phase II clinical trial. *J. Natl. Cancer Inst.*, **57**: 235—244, 1976.
- 25) 芝 茂ほか：マイトマイシンの基礎と臨床。医学書院, 東京, 1968.
- 26) Adamson, R.J. et al.: The water content of different incised tissues in rabbits. *S.G.O.*, **134**: 451—462, 1972.
- 27) 前田貞邦：制癌剤の腫瘍局所灌流, とくにその灌流時間に関する検討。阪市大医誌, **16**: 595—615, 1967.
- 28) 星野 考ほか：顕微 X線法。医学書院, 東京, 1970.
- 29) 矢野博道ほか：術後腸管癒着の発生機序に関する研究。日消外会誌, **9**: 863—873, 1976.
- 30) 三浦 健ほか：大腸癌の外科的治療法。癌と化学療法, **4**: 971—982, 1977.
- 31) 服部孝雄ほか：胃癌の術中マイトマイシン大量投与の遠隔成績。癌と臨床, **19**: 241—248, 1973.
- 32) Freireich, E.J. et al.: Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey and man. *Cancer Chemother. Rep.*, **50**: 219—245, 1966.
- 33) 寺西伸介ほか：抗癌剤の腸上皮におよぼす影響。癌と化学療法, **3**: 562—565, 1976.
- 34) 篠原 誠ほか：大腸癌に対する Mitomycin C の動脈内投与に関する病理組織学的検討。日本消化器外科学会総会抄録集, p. 49, 1977.
- 35) 赤尾健夫：制癌剤の消化管障害に関する基礎的検討。癌と臨床, **21**: 334—340, 1975.
- 36) 井上 淳：ナイトロロミンの創傷治癒に及ぼす影響について。日外会誌, **55**: 918—933, 1954.
- 37) Kaiser, G.A. et al.: Effects of chemotherapeutic agents administered by isolated perfusion upon wound healing. *Surg.*, **49**: 745—750, 1961.
- 38) Farhat, S.M. et al.: Effect of mechlorethamine hydrochloride (Nitrogen mustard) on healing of abdominal wounds. *Arch. Surg.*, **76**: 749—752, 1958.
- 39) Conn, J.H.: Effect of nitrogen mustard and thio-TEPA on wound healing. *Surg. Forum.*, **8**: 80—86, 1957.
- 40) Newcombe, J.F. et al.: Effect of intra-arterial nitrogen mustard infusion on wound healing in rabbits, formation of granulation tissue and wound contraction. *Ann. Surg.*, **169**: 319—329, 1966.
- 41) 中島佐一ほか：創傷治癒の生化学的研究。日外会誌, **69**: 1147—1148, 1968.
- 42) Cohen, S.C. et al.: Effects of antineoplastic agents on wound healing in mice. *Surg.*, **78**: 238—244, 1975.
- 43) Staley, C.J. et al.: Influence of 5-fluorouracil on wound healing. *Surg.*, **49**: 450—453, 1961.
- 44) Goldman, L.I. et al.: Effect of fluorouracil on intestinal anastomosis. *Arch. Surg.*, **106**: 314—316, 1973.
- 45) 田中忠良ほか：プレオマイシンの食道・食道吻合創治癒に及ぼす影響。日消外会誌, **9**: 402—408, 1976.
- 46) Wiznitzer, T. et al.: Mitomycin and the healing of intestinal anastomosis. *Arch. Surg.*, **106**: 314—316, 1973.
- 47) 鶴田典夫ほか：抗癌剤術中大量全身投与時の腸管吻合の創傷治癒におよぼす影響—Mitomycin C を中心に—。日本癌治療学会総会抄録集, p. 256, 1976.
- 48) Schrock, J.R. et al.: Factors contributing to leakage of colonic anastomosis. *Ann. Surg.*, **177**: 513—518, 1973.
- 49) 丸山圭一：消化管吻合法の工夫。現代外科学大系, **76-C**. 41—79, 1976.
- 50) 殿田重彦：結腸一層縫合における各種縫合糸の創治癒に及ぼす影響に関する実験的研究。日消外会誌, **10**: 72—85, 1977.
- 51) Kho, E. et al.: Studies in intestinal healing v. bacterial population in intestinal anastomosis. *Amer. J. Surg.*, **120**: 32—35, 1970.
- 52) Whitaker, B.L.: Observation on the blood flow in the inferior mesenteric arterial system, and the healing of colonic anastomosis. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* **43**: 89—110, 1968.
- 53) 武村志延：腸管吻合創治癒過程の組織化学的電子顕微鏡的研究。岡山医誌, **84**: 511—534, 1972.
- 45) Wise, L. et al.: Studies on the healing of anastomosis of small and large intestines. *Surg. Gynec. Obstet.*, **141**: 190—194, 1975.

- 55) Mcadams, A.J. et al.: One or two layer colonic anastomoses? *Amer. J. Surg.*, **120**: 546—550, 1970.
- 56) Winkle, W.L.: The tensile strength of wounds and factors that influence it. *Surg. Gynec. Obstet.*, **131**: 819—842, 1969.
- 57) Cutting, R.A.: The relative mechanical strength of enterostomies performed with and without clamps. *Arch. Surg.*, **17**: 658—664, 1928.
- 58) Nelsen, T.S.: Dynamic aspects of small intestinal rupture with special consideration of anastomotic strength. *Arch. Surg.*, **93**: 309—314, 1966.
- 59) 前谷俊三ほか: 悪条件下の消化管吻合法. 手術, **29**: 489—495, 1975.
- 60) Irvin, T.T. et al.: Reappraisal of the healing process of anastomosis of the colon. *Surg. Gynec. Obstet.*, **138**: 741—746, 1974.
- 61) 北島政樹: 胃腸吻合創の治癒過程に関する実験的研究(微細血管構築像を中心に) 日外会誌, **75**: 538—553, 1974.
- 62) Nagata, C. et al.: On the mechanism of action of the carcinostatic antibiotic mitomycin C. *Chemother.*, **6**: 423—427, 1970.
- 63) 白羽弥右衛門: 腸癒着の予防と治療. 治療, **44**: 2203—2209, 1962.