

# 内 容 要 旨 目 次

## 主 論 文

Detection of airway ischemic damage after lung transplantation by using autofluorescence imaging bronchoscopy

(肺移植術後における蛍光気管支内視鏡を用いた気道虚血障害の検出)

伊賀徳周, 大藤剛宏, 岡田真典, 原田昌明, 西川仁士, 三好健太郎, 大谷真二,  
杉本誠一郎, 山根正修, 豊岡伸一, 三好新一郎

European Journal of Cardio-Thoracic Surgery 45: 509-513, 2014

平成 24 年 4 月 The international society for Heart & Lung transplantation に発表

# 主 論 文

## Detection of airway ischemic damage after lung transplantation by using autofluorescence imaging bronchoscopy

(肺移植術後における蛍光気管支内視鏡を用いた気道虚血障害の検出)

### **【緒言】**

肺移植において術後の気道虚血合併症は致命的となり得る重篤な合併症である。虚血合併症は様々な気道合併症に影響し術後早期において縫合不全などの致命的な合併症を引き起こすだけでなく、吻合部狭窄などの治療に難渋しグラフト肺機能を低下させる晚期合併症にも大きく関連しており、早期に気道虚血を診断することは極めて重要である。

蛍光気管支内視鏡は組織内に存在する蛍光物質から放出される自家蛍光を検出できる特性を有した気管支内視鏡である。自家蛍光画像モードは正常気道粘膜と異常粘膜病変から発せられる自家蛍光の強度の違いを疑似カラー表示し病変にコントラストをつける強調画像法の一つであり、通常内視鏡画像では視認しにくい早期癌や前がん病変などの小さな病変を検出するのに有用である。今回我々は、蛍光気管支内視鏡が気道虚血による粘膜障害の変化を検出するのに有用であるかを検討した。

### **【材料と方法】**

#### **蛍光気管支内視鏡システム**

蛍光気管支内視鏡(EVIS LUCERA SPECTRUM, Olympus BF-F260 autofluorescence bronchovideoscope, Olympus Medical Systems Co.)は、気道組織から自家蛍光を放出させる励起光(390–470 nm)と、ヘモグロビンを吸収する緑色反射光(540–560 nm)を照射しそれぞれの信号を charge coupled device(CCD)にて検出する。これらの検出された信号はプロセッサによって自家蛍光信号を G(緑)チャンネルに、緑色反射光信号を R(赤)、B(青)のカラーチャンネルに割り当てて視認しやすいように偽カラー画像化してモニター上に合成表示される。自家蛍光信号が緑色反射光信号よりも強い部位はグリーンとして描出され、自家蛍光信号が緑色反射光信号よりも弱い部位はマゼンタ(赤+青)としてモニター画面で疑似カラー表示される。

#### **実験デザイン**

実験には 20 頭のランドレース種ブタ(体重 28-32kg)を使用した。気管自家移植グラフトを気道虚血の評価対象とした。気管軟骨輪 4 リング長の気管を摘出し、気管壁内および気管壁外からの血流を完全に遮断させ虚血気管グラフトを作成した。4-0PDS II 縫合糸を用いて連続縫合にて虚血気管グラフトを吻合した。

## 吻合部の気管支鏡評価

蛍光気管支内視鏡を用いて吻合部を術後 0, 2, 4, 7 日の間隔で観察した。蛍光気管支内視鏡で変化が認められた際に虚血気管グラフトと正常気管部位を採取し気管サンプルとした。

## 組織学的評価および蛍光強度測定

Figure 1 に示すように、採取した気管サンプルを組織学的評価(10 例)および蛍光強度測定(10 例)を行った。

### 組織学的評価

気管組織を 10%ホルマリン液で固定し Hematoxylin and Eosin 染色および Elastica van Gieson 染色した。気管正常部位と虚血気管グラフト部位を蛍光顕微鏡にて観察した。蛍光フィルターは蛍光気管支内視鏡の励起光波長と近い WIB フィルター(励起波長 450–490 nm, 蛍光波長 515–565 nm)を使用した。

### 蛍光強度測定

術後 2 日目に蛍光が観察された虚血気管グラフト 5 例と、術後 2 日目に蛍光が観察されなかった虚血気管グラフト 5 例の蛍光強度を測定し正常気管部位と比較した。6mm 径ホロウポンチを用いて正常気管より 5 か所、虚血気管グラフトより 5 か所気管全層を採取した。FlexStation® 3 Benchtop Multi-Mode Microplate Reader (Molecular Devices)を用いてエラスチンの蛍光強度を測定し各々の平均値を比較した。

## [結果]

### 蛍光気管支内視鏡所見

術直後には蛍光気管支内視鏡下の変化は認められなかった。術後 2 日目より虚血気管グラフトに緑色蛍光が観察された(Figure 2)。蛍光観察された 15 例の蛍光検出時期は、9 例(60%)が術後 2 日、3 例(20%)が 4 日、3 例(20%)が 7 日目であった。虚血気管グラフトおよび正常気管断面を蛍光気管支内視鏡を用いて観察すると粘膜下層内に自家蛍光帯が観察された(Figure 3)。

### 組織学的所見

虚血気管グラフトは全層壊死に陥り上皮の脱落が見られた。蛍光顕微鏡では虚血気管グラフト、正常気管ともに粘膜下層の弾性線維層から強い自家蛍光が観察された(Figure 4)。

### 蛍光強度

蛍光が観察された虚血気管グラフトのエラスチン蛍光強度は正常気管よりも有意に高かった。一方で蛍光が観察されなかった虚血気管グラフトは正常気管のエラスチン蛍光強度と有意差が認められなかった(Figure 5)。

## [考察]

蛍光気管支内視鏡は早期肺癌や前癌病変など通常の内視鏡画像では認識しにくい微小な粘膜肥厚を検出するために開発された気管支内視鏡であるが、粘膜びらんや潰瘍を生じる気道虚血病変に蛍光気管支内視鏡を用いたという論文は今までに報告がない。本研究結果から虚血気管グラフトから輝度の高い緑色蛍光が観察された(Figure 2)。粘膜肥厚性病変は自家蛍光が減弱しマゼンタとして描出されるが、虚血障害部位は輝度の高い緑色蛍光が観察されたという点においても報告例がなく興味深い。

虚血障害部位における輝度の高い緑色蛍光は組織学的検討および蛍光強度測定の結果から、粘膜下層内のエラスチンで構成される弾性線維層からの自家蛍光であった。気管支組織内の自家蛍光物質にはエラスチン以外にも FAD, NADH, コラーゲンなどが知られているが、ブタの死後も緑色蛍光が観察されたことから細胞呼吸にかかわるような FAD, NADH は否定的である。また、組織に広く存在する I 型コラーゲンや軟骨成分をなす II 型コラーゲンなども気管支断面(Figure 3)では弾性線維層以外はマゼンタ色を呈していたことから、同様に否定的であると考えられる。

虚血障害部位で緑色蛍光が検出される理由として、Figure 4 に示すように虚血障害部位の気管上皮の脱落により蛍光気管支内視鏡から照射される励起光、または弾性線維層から放出される自家蛍光が正常気管上皮よりも通過しやすいために輝度の高い蛍光を呈すると推察される。Figure 3 において正常気管よりも虚血気管グラフトの弾性線維層は高い蛍光輝度が観察されたが、その理由については本研究では特定し得なかった。可能性として電気メスで気管を切離した場合、その断面から強い自家蛍光が観察されることから壊死による弾性線維の変性により輝度が高くなるのではないかと考えられる。

本研究結果は臨床においても、蛍光気管支内視鏡による肺移植後の吻合部末梢気管支の評価にも有用であると考えられる。肺移植直後には気管支の浮腫性変化や移植肺虚血再灌流障害による気道分泌物の増加により粘膜の性状変化を捉えることが困難となり、通常の内視鏡では粘膜の虚血性変化が明瞭となるまでに数日を要することが多い。蛍光気管支内視鏡では、虚血障害による粘膜びらんを反映する緑色蛍光は多くの場合術後 2 日目から観察されており、通常の内視鏡よりも早期に虚血障害を検出し治療を開始できることが示唆される。

## [結論]

蛍光気管支内視鏡における緑色蛍光パターンは気道虚血障害による上皮の脱落を反映している。蛍光気管支内視鏡は通常画像では認識困難な隠れた虚血障害の診断を可能にし、吻合部合併症に対する早期治療や晩期合併症の抑止を向上させることが示唆される。