

Thesis

Port site metastasisモデルの作成と成立過程の組織学的検討

埼玉医科大学総合医療センター外科

(指導：橋本 大定教授)

山田 博文

Establishment of a Model of Port Site Metastasis in Rabbit: Histological Examination of the Growth
Hirofumi Yamada (Saitama Medical Center, Saitama Medical School, Kawagoe, Saitama 350-8550, Japan)

The port site metastasis (PSM) is a peculiar phenomenon following laparoscopic tumor surgery. Although the pathomechanisms involved in PSM should be resolved promptly in order to safely expand the indication of laparoscopic tumor surgery, there have been no useful animal models mimicking the PSM that is observed in the clinical setting. Conventionally, small animals such as mice and rats were used as animal experiment model for PSM. This is too far different to represent a model for PSM after laparoscopic surgery in man. The purpose of this study was to establish a model of PSM in rabbits and examine the growth characteristics of this model. In experiment-1, the relationship between the number of tumor cells intraperitoneally inoculated and the frequency of the PSM was examined. Male Japanese rabbits (n=5, per group) received intraperitoneal inoculation of one of the three different counts of VX₂ cancer cells (Group A; 5×10³ cells, Group B; 5×10⁴ cells, or Group C; 5×10⁵ cells). Three days after the tumor inoculation, rabbits underwent carbon dioxide pneumoperitoneum at 8 mmHg for 30 minutes with 9 ports inserted into the abdomen. The frequency of port site metastasis detected on day 17 was greater as the number of inoculated VX₂ cells suspension increased. The frequency of port site metastasis in group C was 35.6%. Therefore, this model was used in the next experiment. In experiment-2, the same conditions as in the group C rabbits were used to generate port site metastases in 21 rabbits. The rabbits were sacrificed to examine the growth characteristics of PSM on days 3, 5, 7, 9, 13, 17, or 23. The first histological evidence of PSM formation was found on day 13. On day 17, 76 percent of the port sites developed tumors, and 59% of them invaded into the muscle layer from subperitoneal layer. On day 23, 100% of the port sites developed tumors, and 96% of them were found to invade the muscle layer. These results suggest that the initial site of growth of the PSM is subperitoneal tissue and the metastasis grows and invades the muscle layer. Our model is useful because (1) the rabbits, the largest animals with transplantable tumor cell line, are the closest animal model for PSM in man, (2) it is a relatively stable source of PSM that is similar to the form seen in clinical setting, and (3) the developing process of PSM which begins from embedment in the subperitoneal tissue, leading to invasion of muscular layer. In the future, wide range of applications can be expected from this experimental model.

Keywords: port-site metastasis, VX₂, pneumoperitoneum, histological examination

緒言

腹腔鏡下手術は、1988年Müre¹⁾が一例目の胆嚢摘出術を報告してから良性疾患を中心に急速に普及して
医学博士 乙第872号 平成15年4月25日 (埼玉医科大学)

きた²⁾。その後、1991年Jacobら³⁾が世界で初めて腹腔鏡下に結腸癌を切除した症例を報告した。また、1991年にGohら⁴⁾が初めて腹腔鏡下の胃切除術を報告したが、その後Azagraら⁵⁾が胃癌に対して腹腔鏡下手術を行い、以後wedge resection⁶⁾やdistal gastrectomy⁷⁾

などの多くの術式が行われるようになってきた。しかしながら、悪性腫瘍に対する腹腔鏡下手術では、手術器具を腹腔内に出し入れするために腹壁に挿入されているportの抜去部に癌の再発が起きてくるport site recurrence (以後PSR), 別名port site metastasis (以後PSM)が、特異的な再発形式として注目されている⁸⁾。手術手技の向上によってその頻度は低下してきていると考えられているものの⁹⁾, 依然としてそのメカニズムは不明である。

一方, PSMのメカニズムを解明, あるいはPSMを予防するために, 種々の実験モデルが考案されている。ところが, その大部分はmouse¹⁰⁻¹²⁾, rat¹³⁻²⁰⁾, hamster^{21, 22)}などの小動物を用いたものであり, 腹壁の厚みや使用するポートの性状の違いなどから, 臨床で行われる腹腔鏡下手術のモデルとして有用とはいえない。今回, われわれは, 可移植性腫瘍株を有する最大の動物である家兎を用いてPSMモデルを作成するとともに, その成立過程を病理組織学的に検討したところ, 興味ある知見を得たので報告する。

材料および方法

1. 腹腔内移植細胞数とPSM発生頻度についての検討

1-1 VX₂癌細胞

VX₂癌細胞²³⁾は, 日本白色家兎の後脚内で継代維持されたものを使用した。VX₂腫瘍を摘出後に細切を行い, 生理食塩液 (phosphate-buffered saline: PBS) で3回洗浄を繰り返した。その後, RPMI-1640: dimethyl sulfoxide (DMSO) 液=10:1の細胞浮遊液に調整した後, 液体窒素で-70℃の凍結保存した。使用時には腫瘍細胞を解凍した後, 0.25%トリパンブルー液で染色し, 生細胞をcountした (viability; 約10%)。生細胞として $5 \times 10^3 \sim 5 \times 10^5$ /0.5 ml PBSに調整した後, 以後の実験に用いた。

1-2 動物

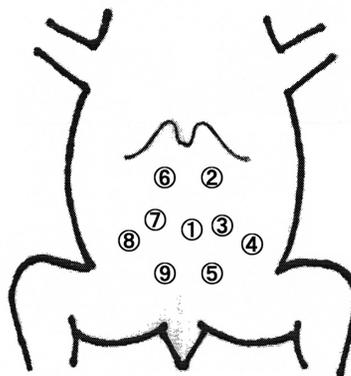
体重3.0-3.5 kgの雄性日本白色種家兎 (埼玉実験動物) を用いた。手術前後を通して家兎は標準装備の研究室 (気温22-26℃, 湿度50-60%) の中で飼育し, 標準食を与えた。本実験のすべての実験動物の取り扱い, 埼玉医科大学動物実験指針に基づいて行われた。

1-3 VX₂細胞の腹腔内移植

家兎をsodium pentobarbital (ソムノペンチル[®]; 共立製薬, 東京) 25 mg/kg耳静脈麻酔下に, 約1 cmの腹部正中切開を置いた。移植する生細胞数に応じて家兎を以下の3群に分けた。A群: 5×10^3 個 (n=5), B群: 5×10^4 個 (n=5), C群: 5×10^5 個 (n=5) をPBS 20 mlに調整した。家兎の腹壁を挙上した後に各々の濃度の細胞浮遊液を, 創部に触れないように23-G注射針を用いて腹腔内に注入した。4-0吸収糸 (4-0 Opeporyx II; 日本商事 (株), 大阪) にて腹膜と筋層を縫合し, 3-0絹糸で皮下組織と皮膚を縫合し, 2層に閉腹した。

1-4 気腹下におけるportの着脱と検鏡

VX₂細胞の移植3日後に同様のsodium pentobarbital麻酔下に9本の気腹用5 mm port (ENDOCATH; Ethicon Endo-Surgery, 東京) を挿入した。まず, 臍部より開腹法で最初のportを挿入し, 二酸化炭素を用いて8 mmHgの気腹圧で気腹した。その後, 図1のごとく左上腹部から左中腹部, 左下腹部と挿入し, 右上腹部から順に右中, 右下腹部へとportを順次挿入した (図1)。30分間気腹を維持した後, 腹腔内炭酸ガスが臍のport抜去創部より十分排出した後, 挿入時と同じ順番でポートを抜去した。細胞移植時と同様にport siteを縫合閉鎖した。VX₂細胞移植後17日目に致死量のsodium pentobarbitalを静注することですべての家兎を犠死せしめ, port siteを肉眼的に観察し, その後, 同部位を1.5×1.5 cm角で採取した。ホルマリン固定後中央一割にて切り出し, Hematoxilin-Eosin染色にて検鏡した。



8 mmHg, 30分 気腹

図1. Port挿入部位。

2. 腹腔内遊離細胞数とPSMの増殖時期と大きさ・増殖部位の検討

2-1 動物とVX₂細胞

実験1と同様な3.0-3.8kgの家兎 (n=21) の腹腔内に 5×10^5 個のVX₂細胞を移植した。

2-2 遊離細胞とPSM観察点

3日後 (Day3) に実験1と同様の順番でportの挿入を行い, 炭酸ガスを用いて8 mmHgの気腹圧で30分間気腹した。最初に臍部のportを抜去した後, 4-0吸収糸と3-0絹糸にて2層で閉腹した。VX₂腫瘍細胞の移植日から数えて, 3日目 (port挿入直後), 5, 7, 9, 13, 17, 23日目に家兎を定期的に3羽づつ犠死させた。port siteを中心に腹壁を観察した後, port siteを正確に1 cm×1 cm角に採取した。それを3切片 (幅3 mm) で切りだし, ホルマリン固定した後Hematoxilin-Eosin染色で検鏡し, VX₂細胞の増殖の有無, 増殖形式,

転移巣の大きさについて検討した。

また、port siteの切除に先立って、腹腔内の遊離細胞を採取するために、腹腔内にPBS 20 mlを注入し、その5 mlをheparinized tubeに回収し、700 rpm、5分間で遠沈した。上澄みを捨て、混入している赤血球を除去するために氷酢酸0.05 mlを加えたのち、計算板を用いて腹腔内遊離VX₂細胞数を算定した(図3)。

3. 統計学的検討

各群のPSM発生頻度の比較はFisherの直接確率法で行った。

結果

1. 腹腔内移植細胞数とPSM発生頻度についての検討

PSMの発生率はA群が4.4% (2/45)、B群が13.3% (6/45)、C群が35.6% (16/45)であり、腹腔内に移植するVX₂細胞の数に依存してPSMの頻度が増加し、C群のPSMは、A群(P<0.01)、B群(P=0.01)に比較して有意に増加した(図2)。A、B群では腹腔内に肉眼的に明らかに腹膜転移を確認できなかったが、C群では腸間膜及び大網に多数の2-3 mm大の腹膜転移結節を認めた。しかしながら、C群においてもPSM以外には壁側腹膜には腹膜転移を肉眼的には確認できなかった。

2. 腹腔内遊離細胞数とPSMの増殖時期と大きさ・増殖部位の検討

2-1 PSMの増殖時期

PSMは、3日目から10日目までは、肉眼的あるいは、組織学的に認められなかった。13日目に1箇所のport siteの腹膜下層にVX₂細胞が増殖していることが組織学的に確認された(図4)。17日目にPSMは、組織学的に17箇所のport site (63%)に認められた。23日目には、26箇所(96%)のport siteで肉眼的または、組織学的にPSMが確認された(図5)。

2-2 PSMの大きさ

発生したPSMの大きさは、13日目に存在した1つが、1 mm未満のものであった。17日目のPSMは、17箇所のport site中4箇所のport site (24%)が1 mm未満であり、12箇所のport site (70%)が1 mm以上5 mm未

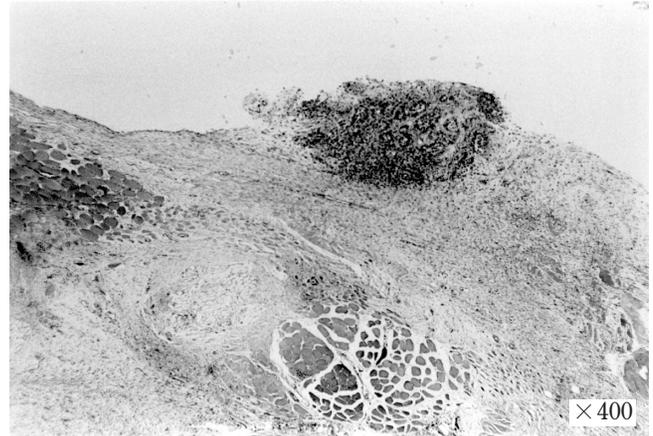


図3. 腹腔内VX₂細胞.

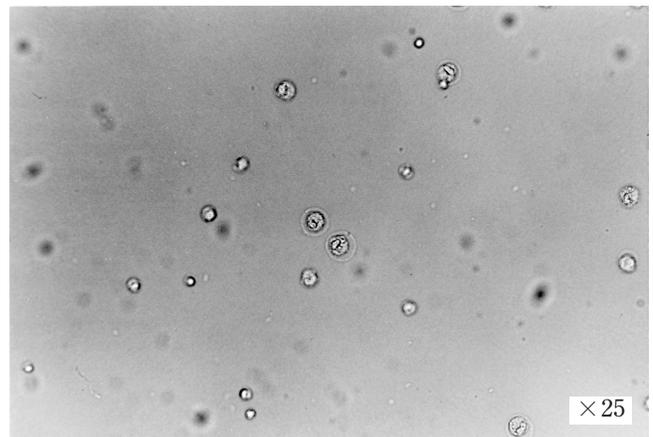
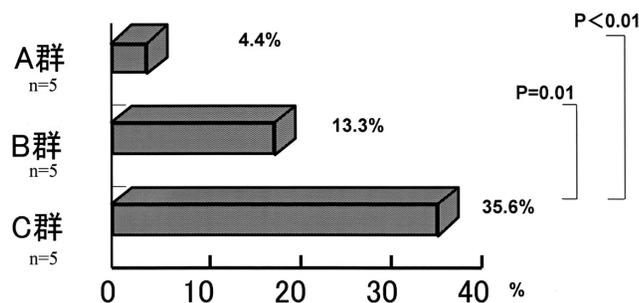


図4. 13日目のport site metastasis組織像.



A群: 5×10^3 個 (n=5), B群: 5×10^4 個 (n=5), C群: 5×10^5 個 (n=5)

図2. Port site metastasisの発生頻度.

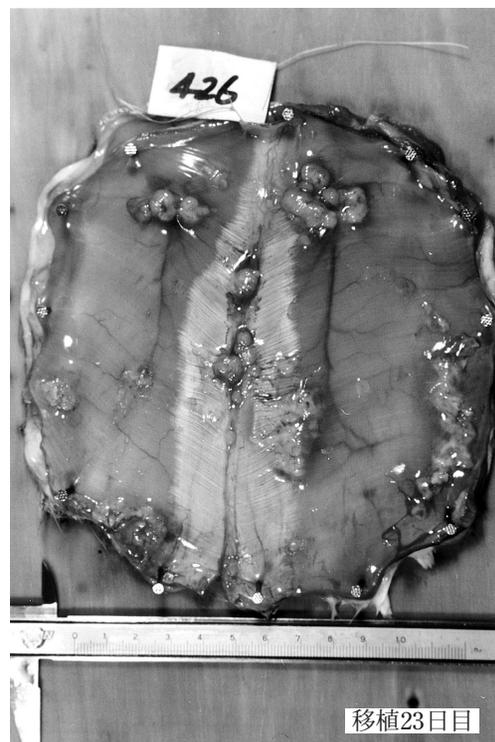


図5. Port site metastasis肉眼像.

満であった。5 mm以上のPSMが6番目に挿入・抜去された1箇所のport siteに認められた。23日目のPSMは1 mm未満の小さいものはなく、5 mm以上の肉眼的に十分観察されうるものが21箇所のport site (81%)に認められた(図6)。

2-3 PSMの増殖部位

PSMの増殖した部位をport site部位別に検討すると、最初にportを抜去した部位に特異的に多いことはなく、また極端に少ないportもなく、ほぼ均等に増殖していた(表1)。次に壁内部位別に検討すると、13日目の1箇所のPSMは腹膜下層に留まっていて、腹壁への浸潤を認めなかった。17日目のPSMは、7箇所のport site (41%)で増殖が腹膜下層にとどまっておき(図7)、10箇所のport site (59%)が腹膜下層から腹壁筋層に浸潤していた(図8)。腹壁筋層中のみで増殖しているPSMは存在しなかった(図9)。

2-4 腹腔内遊離細胞とPSM

家兎3羽の腹腔内遊離VX₂細胞の平均個数は、5日目には10⁴個と減少していたが、7日目には10⁵個となった。その後腹腔内遊離VX₂細胞数は漸増し、23日

目には10⁶個に増加した(図10)。組織学的に63%にPSMが認められた17日目の時点で、肉眼的に腹膜播種は認めていなかった。96%に肉眼的にPSMが観察されるようになった23日目では、17日目で観察されなかった径1~2 mm以下の腹膜播種は認められるものの、明らかにPSMのほうが大きかった。

考 察

PSMの発生には、何らかの形で遊離腫瘍細胞の存在が必要である。他の報告者らの実験では、ポートの挿入直前^{11, 13, 14, 16, 20, 21}、あるいは直後^{17, 18, 24, 25}に腫瘍細胞数10⁴~10⁶個/0.2~2.0 ml^{10, 19}のtumor cell suspensionを腹腔内に注入することにより、または腫瘍を直接鉗子で粉碎することによりPSMのモデルを作成している^{12, 15}(表2)。特に腹腔内にtumor cell suspensionを注入するときには、かなり多数の腫瘍細胞が腹腔内に存在し、相当数の腫瘍細胞がportに付着する可能性がある。実際に人で問題となっているのは、癌性腹膜炎が起こっているような高濃度の遊離癌細胞がある状態ではなく、少なくとも原発巣に対して治癒切除が行

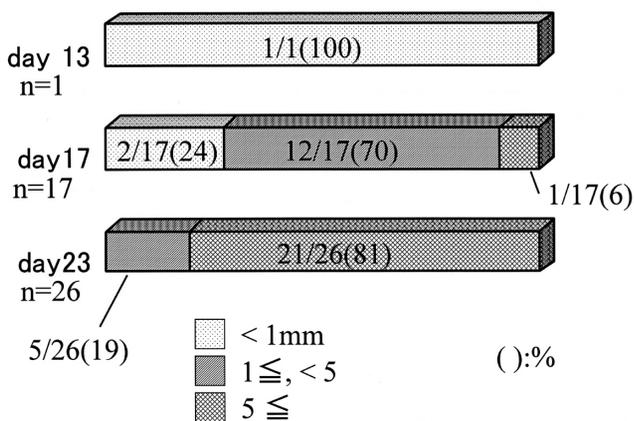


図6. Port site metastasisの最大径.

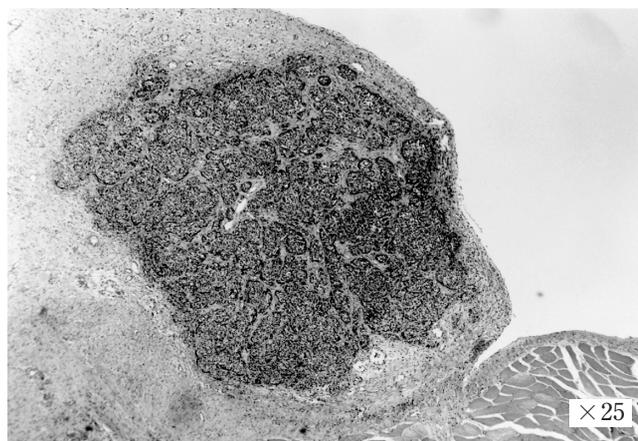


図7. 腹膜下層に認められるport site metastasis.

表1. Port挿入部位別port site metastasis発生頻度

port部位 \ 観察日	3	5	7	9	13	17	23	Total
1	0	0	0	0	0	2	3	5
2	0	0	0	0	0	2	3	5
3	0	0	0	0	0	2	3	5
4	0	0	0	0	0	1	3	4
5	0	0	0	0	1	2	3	6
6	0	0	0	0	0	2	2	4
7	0	0	0	0	0	2	3	5
8	0	0	0	0	0	2	3	5
9	0	0	0	0	0	2	3	5



図8. 腹膜下層より筋層に浸潤しているport site metastasis.

われ、腹膜転移の可能性の少ない手術を行い、その後再発してくるPSMである。また、腫瘍細胞を粉碎化してPSMを作成するモデルでは、粉碎された腫瘍塊が直接腹膜に播種してゆき、稚拙な手術手技によって起こるPSMとはいえ、一般的に起きると考えられるPSMの原因を考察するという観点からは、有用なモデルとはいえない。われわれの実験では、腫瘍細胞が移植されてから3日後にポートを挿入しており、実際にポートを挿入する時には、腫瘍細胞は腹腔内の

いずれかの場所にあるものの肉眼的には同定することが出来ない、いわば潜在的微小転移状態であり、実際の人間の手術と近い状態にあると考えられる。しかも、腹腔内にVX₂細胞を移植してから3日後には、遊離細胞の存在部位は腹腔内全体に広がり、VX₂細胞を移植した部位と挿入したportの部位との関係はほとんどない。そこで、どこにportを挿入するかについては、VX₂細胞の腹腔内での存在部位は十分無視しようと考えられる。

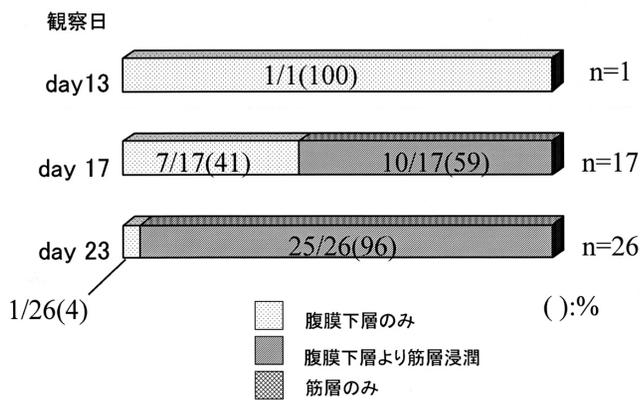


図9. 腹壁おけるport site metastasis増殖深達度.

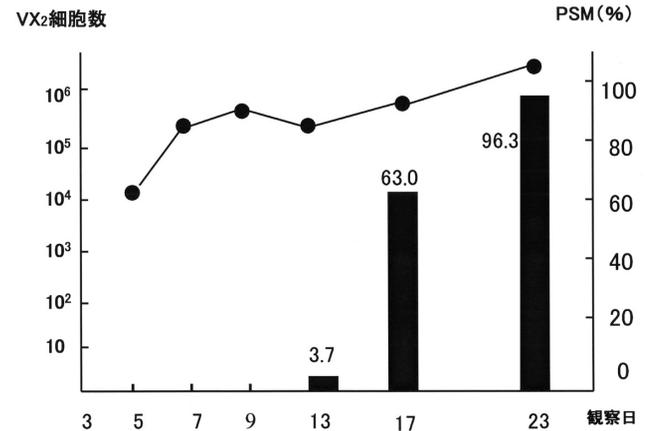


図10. 腹腔内VX₂細胞数とport site metastasisの発生頻度.

表2. Port site metastasisに関する代表的な実験

Animal	Cells	Pressure	Duration	No. inoculated	Volume	Fisrt author	Year
mouse	MMC	6	30	1x10 ⁴ or1x10 ⁶	0.1	Allendorf	1995
rat	CC531	6	30	5x10 ⁵	1	Bouvy	1996
rat	CC531	4	20	5x10 ⁵	1	Bouvy	1996
rat	CC53	10	15	1x10 ⁴	1	Hubens	1996
rat	DAMA	2	60	2x10 ⁸	0.2	Mathew	1996
mouse	colon 26	5,10	10l	1x10 ⁶	0.1	Whelan	1996
rat	CC531	6	45	5x10 ⁵	1	Bouvy	1997
rat	DAMA	6	30	1x10 ⁸	1	Mathew	1997
mouse	MMC	6	30	1x10 ⁶	0.1	Allendorf	1998
mice	colon 26	6	15	1x10 ⁵	0.1	Lee	1998
rat	DHD-K12-TRb	15	10	2x10 ⁵	2	Paik	1998
rat	CC531 S	6	20	5x10 ⁵	1	Tseng	1998
hamster	GW-39	10	10	1.6-3.2x10 ⁵	0.5	Wu	1998
hamster	GW-39	10	10	8x10 ⁵	0.5	Wu	1998
rat	DHD-K12-TRb	5	15	1x10 ⁶	1	Eshraghi	1999
rat	CC531 S	6	20	1x10 ⁶	1	Pauwels	1999
mouse	RENCA	5	15	1x10 ⁵	0.5	Tsivian	2000
mouse	MKN45 HGCCL	6	30	5x10 ⁴	1	Yamaguchi	2001
mouse	colon 26	6	30	5x10 ⁶	1	Yamaguchi	2001
pig	HeLa	12	69	1x10 ⁷	1	Schneider	2001
hamster	GW-39	0,5,10	10	2.5w/v	0.6	Moreira	2001
rabbit	VX2	8	N/A	1.7-2.3x10 ⁶	1.5-2	Wilkinson	2001
mouse	MKN45 HGCCL	6	20	5x10 ⁵	0.4	Hirabayashi	2002

pressure; mmHg Duration; min Volume, ml No. inoculated: Number of inoculated cells

VX₂細胞を用いたPSMの実験は、われわれ以外ではWilkinsonら²⁶⁾の報告があるのみである。Wilkinsonらは、VX₂遊離細胞を腎被膜に移植し、腹腔鏡下のPSMの発生について検討をした。かれらの実験は手術中のmanipulationによって遊離腹腔内に逸脱したVX₂細胞によってPSMが発生するモデルであり、われわれのごとく遊離細胞を腹腔内に注入し、潜在的微小転移状態にした実験とは異なる。腫瘍に出来るだけ触れずに手術を行う胃癌や大腸癌などの消化器癌に対する腹腔鏡下手術後のPSMとしては、潜在的な微小転移状態であるわれわれのモデルの方がWilkinsonらのそれより適切であると考えられる。われわれのモデルではPSMが肉眼的に認められる時期には腹膜播種は十分認識できない大きさであり、PSMは発育が早いという特徴にも合致する有用なモデルといえる。ただし、胃や大腸の壁にVX₂細胞を移植して、臓器切除後のPSMを検討できるモデルが理想的であるが、われわれが行った基礎的検討では安定した潜在的腹膜播種を作成することができず(データ未発表)、今後の研究課題と考えている。なお、今回われわれが用いたVX₂腫瘍の注入細胞は、実験1の結果に基づき14日目に40%程度の再発が認められる数である 5×10^5 個とした。実験1を行う前のpilot studyでは、 5×10^6 個の瘍細胞を注入すると14日目には著明な腹膜播種状態になり、PSMが十分観察出来なかった。

PSMの実験では多くの報告が小動物、特にmouse, rat,あるいはhamsterを用いていた。われわれは家兎を用いることによってより人間に近い状態で気腹下手術のモデルを作ることが出来た。mouseやratやhamsterでは腹壁が薄く、筋層、腹膜下層、腹膜が非常に薄いため、portを挿入したり抜去したりする操作が人間のポートの挿入・抜去とはかけ離れている。また、腫瘍細胞のimplantationが起こったとしても、その細胞に比較して腹壁の各層が薄く、腫瘍細胞の存在部位の特定が難しいと思われる。そして、挿入するポートが注射の留置針や細めのカニューレを用いており^{11, 12, 15, 18, 19, 27)}、人間に用いているポートとは、材質や損傷の仕方が変わってくる。ratでは人間用のポートを用いた^{17, 22, 24, 28)}報告も散見するが、腹壁の厚さに比較してトロッカーは余りにも大きく、この点からも有用なモデルとは言い難い。それに対して、われわれが考案したモデルでは、体重が3.0~3.8Kgの家兎を用いており、人間でいえば新生児ほどの大きさと腹壁の厚みがあり、従来のモデルの中では最も臨床的な状態に近いモデルと言える。

われわれの検討では、顕微鏡で観察されたPSMは移植後13日目に初めて確認されたが、この時点で腹膜下層内に数十個の腫瘍細胞が小腫瘤を形成して存在していた。そして、腫瘍細胞は、腹膜下層から筋層に塊状になりながら浸潤していくことが示唆された。

今回組織学的にVX₂細胞の増殖が確認される以前の、本当の意味でのPSMの初期像は確認されなかったが、その増殖過程から筋層よりもむしろ腹膜下層が初期増殖の部位であると推測された。その極初期像を解明するためには、多量のVX₂腫瘍細胞を移植して観察することやRIでラベルした腫瘍を移植してport siteを切除し、RI量を腹膜、腹膜下層、そして筋層を層別にcountを行うなど工夫が必要と考えられ、今後の課題と考えている。ごく初期像を捕らえようとした実験としてHirabayashiらがmouseを用いて報告している。Hirabayashiら²⁹⁾は、PSMの発生初期像をnude mouseとヒト胃癌細胞を用いて検討した。彼らは癌細胞を移植直後に気腹を行い、portを挿入しているが、port抜去直後よりport-siteには遊離癌細胞の付着が確認され、3日目には腹膜下と筋層に癌細胞の増殖が確認されたと報告している。しかし、Hirabayashiらのモデルでは、mouseの腹壁が薄く筋層は破壊され、腹膜下層組織が腹腔内にはみ出してしまいう状態であったとあり、実際のヒトの腹腔鏡手術に比較して腹壁の損傷が大きく、腹壁の状態がヒトとはかけ離れてしまっていることが示唆される。

Tsengら¹⁷⁾は、腹腔内の遊離細胞が炭酸ガス中に散布され(aerosolization)、腹壁のportと創との間に形成されるpressure gradientに従って炭酸ガスがもれでるchimney effectがPSMの発生に重要であると提唱している。Champaultら³⁰⁾は、実際の手術時のportから炭酸ガスをフィルターで回収し、腹膜内皮細胞が検出されたことを報告し、腹腔鏡下手術で電気凝固により発生した煙粒子が細胞を運ぶことを証明した。一方、Whelanら¹¹⁾のように、単にaerosolizationだけでは、腹壁に付着する癌細胞の絶対量が少なく着床の原因とはならないという意見もある。われわれの実験でも、最初に挿入したportから炭酸ガスの送気を行い、そのポートを最初に抜去して、腹腔内の炭酸ガスをleakさせたが、他のportに比較してPSMが早く出来ることも多く出来ることもなく、chimney effectとPSMの増殖の関連を示唆する結果は得られなかった。

PSMの原因として機械的なトロッカーによる腫瘍細胞の腹壁への擦り付けを重視する報告もある。即ち、PSMが筋層に存在していることが多かったため、トロッカーに付着した癌細胞が筋層に取り込まれ、筋層から発生してくるのであるという説があった⁸⁾。この点に関してReymondら³¹⁾は、膵臓癌患者の精査腹腔鏡検査のときに回収された腹水やトロッカー使用器具について細胞診や分子生物学的検討を行うことで、炭酸ガスによる気腹が腫瘍細胞を腹壁再発部位にtransferするのではなく、手術器具やportがtransferする原因があると報告している。

PSMを予防する実験的検討が少数行われている。Eshraghiら¹⁸⁾は、気腹下にport siteを生理食塩水や

へパリン液, 5-fluoruracil (5-Fu) 溶液などで洗浄を行い, 生理食塩水やへパリン液では, PSMはコントロールとに差がなかったが, 5-Fu溶液のみPSMを有意に減少させたと報告している. また, Wuら²⁸⁾は, 挿入してあったportの周囲を術後に切除するとPSMが有意に減少したと報告している. これらの実験はPSMの発生防止には確かに有用な情報を与えているが, PSMの初期像についてほとんど検証しておらず, その成立過程を説明してはいない. 今回の実験では, PSMのごく初期像こそ検討できないが, 初期像の増殖過程の観察からは, 腹膜下組織に着床して, 筋層側に増殖していくことが示唆された. 今後われわれの検討をPSM予防の実験的検討に応用できると考えられる.

結 論

1. 家兎 VX₂腫瘍を用いてより人間に近い状態での PSMの実験モデルを作成した.
2. PSMの発生は, 腹腔内に細胞を移植して13日目, トロッカーを挿入した後10日目に初めて組織学的に観察された.
3. 今回の検討からごく初期のPSMは観察出来なかったが, その増殖進展過程から腹膜下層に付着した細胞から発生し, 筋層に浸潤してゆくことが示唆された.
4. 本モデルはPSMを予防する実験系として有用であると考えられる.

謝 辞

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜りました埼玉医科大学総合医療センター外科学教室主任橋本大定教授に深謝致します. また, 本研究を遂行するにあたり, 直接御指導を頂きました同外科石田秀行助教授に深謝いたします. 本論文の要旨は, 第17回 Biennial Congress of international society of University Colon and Rectal Surgeons; 1998年6月, Malmöと第53回日本消化器病学会総会; 1999年2月, 京都にて発表した.

文 献

- 1) Mühe E. Die erste Cholezystektomie durch das Laparoskop. *Langenb Arch Klin Chir* 1986;369:804.
- 2) Hashimoto D. History of laparoscopic surgery. *Advanced techniques in gasless. Laparoscopic Surgery* 1995;3-6.
- 3) Jaccobs M, Verdeja J, Goldstein H. Minimally invasive colon resection(laparoscopic colectomy). *Surg Laparosc Endosc* 1991;1:144-50.
- 4) Goh P, Tekant Y, Isaac Y. The technique of laparoscopic Billroth II gastrectomy. *Surg Laparosc Endosc* 1992;2:258-60.
- 5) Azagra J, Georgen M. Laparoscopic total gasterctomy. In: Meniero M, Melotti G, Mouret, editors. *Lapsroscopic surgery in nineties*. Barcelona: Masson; 1994. p. 289-96.
- 6) Ohgami M, Kumai K, Kitajima M. Laparoscopic wedge resection of stomach for early gastric cancer using a lesion lifting method. *Dig Surg* 1994;11:64-7.
- 7) Kitano S, Shimoda K, Mityahara M. Laparoscopic approaches in the management of patients with early gastric carcinomas. *Surg Laparosc Endosc* 1995;5:359-62.
- 8) Wexner SD, Cohen SM. Port site metastases after laparoscopic colorectal surgery for cure of malignancy. *Br J Surg* 1995;82:295-8.
- 9) Reymond MA, Schneider C, Kastl S, Hohenberger W, Köcerling F. The Pathogenesis of Port-Site Recurrences. *J Gastrointest Surg* 1998;2:406-14.
- 10) Allendorf JDF, Bessler M, Kayton ML, Oesterling SD, Treat MR, Nowygrod R, et al. Increased tumor establishment and growth after laparotomy vs laparoscopy in a murine model. *Arch Surg* 1995;130:649-53.
- 11) Whelan RL, Sellers GJ, Allendorf JD, Laird DA, Bessler MD, Nowygrod R, et al. Trocar site recurrence is unlikely to result from aerosolization of tumor cells. *Dis Colon Rectum* 1996;39:S7-13.
- 12) Lee SW, Allendorf J, Bessler M, Whelan RL. Traumatic handling of the tumor independent of pneumoperitoneum increases port site implantation rate of colon cancer in a murine model. *Surg Endosc* 1998;12:828-34.
- 13) Bouvy ND, Marquet RL, Hamming JF, Jeekel J, Bonjer HJ. Impact of Gas(less) Laparoscopy and laparotomy on peritoneal tumor growth and abdominal wall metastases. *Ann Surg* 1996;224:694-701.
- 14) Mathew G, Watson DI, Rofe AM, Baigie CF, Ellis T, Jamieson GG. Wound metastases following laparoscopic and open surgery for abdominal cancer in a rat model. *Br J Surg* 1996;83:1087-90.
- 15) Mathew G, Watson DI, Ellis T, DeYoung N, Rofe AM, Jamieson GG. The effect of laparoscopy on the movement of tumor cells and metastasis to surgical wound. *Surg Endosc* 1997;11:1163-6.
- 16) Paik PS, Misawa T, Chiang M, Towson J, Im S, Ortega A, et al. Abdominal incision tumor implantation following pneumoperitoneum laparoscopic procedure vs. standard open incision in a syngeneic rat model. *Dis Colon Rectum*

- 1998;41:419-22.
- 17) Tseng LNL, Berends FJ, Wittich P, Bouvy ND, Marquet RL, Kazemier G, et al. Port-site metastases: Inmact of lacl tissue truma and gas leakage. *Surg Endosc* 1998;12:1377-80.
- 18) Eshraghi N, Swanstrom LL, Bax T, Jobe B, Horvath K, Sheppard B, et al. Topical treatments of laparoscopic port sites can decrease the incidence of incision metastasis. *Surg Endosc* 1999;13:1121-4.
- 19) Pauwels M, Lauwers P, Hendriks J, Hubens A, Eyskens E, Hubens G. The effect of CO₂ pneumoperitoneum on the growth of a solid colon carcinoma in rats. *Surg Endosc* 1999;13:998-1000.
- 20) Yamaguchi K, Hirabayashi Y, Shiromizu S, Shiraishi N, Adachi Y, Kitano S. Enhancement of port site metastasis by hyaluronic acid under CO₂ peumoperitoneum in a murine model. *Surg Endosc* 2001;15:504-7.
- 21) Wu JS, Jones DB, Guo L, Brasfield EB, Ruiz MB, Connett JM, et al. Effects of peumoperitoneum on tumor implantation with decreasing tumor inoculum. *Dis Colon Rectum* 1998;41:141-6.
- 22) Moreira H, Yamaguchi T, Wexner S, Singer L, Zhao R, Baig MK, et al. Effect of pneumoperitoneal pressure on tumor dissemination and tumor recurrence at port-site and midline incisions. *American Surgeon* 2001;67:369-73.
- 23) Kidd J, Rous P. A transplantable rabbit carcinoma originating in virus-induced papilloma and containing the virus in masked or altered form. *J Exp Med* 1940;71:813-38.
- 24) Bouvy ND, Marquet RL, Hamming JF, Jeekel J, Bonjer HJ. Laparoscopic Surgery in the rat: Beneficial effect on body weight and tumor take. *Surg Endosc* 1996;10:490-4.
- 25) Schneider C, Jung A, Reymond MA, Tannapfel A, Balli J, Franklin M, et al. Efficacy of surgical measures in preventing port-site recurrences in a porcine model. *Surg Endosc* 2001;15:121-5.
- 26) Wilkinson NW, Shapiro AJ, Harvey SB, Stack RS, Cornum RL. Port-site recurrence reproduced in the VX-2 rabbit carcinoma model: an in vivo model comparing laparoscopic port sites and open incisions. *JSLs* 2001;5:221-6.
- 27) Yamaguchi K, Hirabayashi Y, Suematsu T, Shiraishi N, Adachi Y, Kitano S. Hyaluronic acid secretion during carbon dioxide pneumoperitoneum and its association with port-site metastasis in a murine model. *Surg Endosc* 2001;15:59-62.
- 28) Wu JS, Guo LW, Ruiz MB, Pfister SM, Connett JM, Fleshman JW. Excision of trocar sites reduces tumor impantation in an animal model. *Dis Colon Rectum* 1998;41:1107-11.
- 29) Hirabayashi Y, Yamaguchi K, Shiraishi N, Adachi Y, Kitamura H, Kitano S. Development of port-site metastasis after pnemoperitoneum. *Surg Endosc* 2002;16:864-8.
- 30) Champault G, Taffinder N, Ziol M, Riskalla H, Catheline JM. Cells are present in the smoke created during laparoscopic surgery. *Br J Surg* 1997;84:993-5.
- 31) Reymond MA, Wittenkind C, Jung A, Hohenberger W, Kirchner T, Köcerling F. The incidence of port-site metastases might be reduced. *Surg Endosc* 1997;11:902-6.