

正常および病的微小動脈吻合部の治癒機転 に関する組織学的、組織化学的研究

岡山大学医学部脳神経外科学教室（主任：西本詮教授）

景 山 敏 明

（昭和52年1月25日受稿）

目 次

- I 緒 言
- II 実験方法
- 1. 正常ラット群
- 2. Goldblatt ラット群
- III 実験成績
- 1. 組織学的所見
 - 1) 正常ラット群
 - 2) Goldblatt ラット群
 - (1) 軽度変性群
 - (2) 高度変性群
- 2. 組織化学的所見
 - 1) 嫌氣的解糖系について
 - (1) lactic dehydrogenase (LDH)
 - (2) glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH)
 - 2) 好氣的解糖系について
 - 3) 酸化酵素系について
 - 4) 水解酵素系について
 - (1) acid phosphatase (Ac-P)
 - (2) alkaline phosphatase (Al-P)
- IV 考 按
- V 結 論
- VI 参考文献

I. 緒 言

近年、手術用顕微鏡を用いて微小血管の手術を行なう手技が開発された。この手術法は従来主として保存的療法以外は手を下すことのできなかつた閉塞性脳血管障害に対して有用な観血的治療法の道を開きつつある。すなわち Jacobson,¹⁾ Lougheed,²⁾ Stevenson³⁾らは血栓内膜除去術を、Donaghy, Yasargil⁴⁾らは by-pass 形成すなわち、頭蓋外—頭蓋内

動脈吻合術による脳血行再建術をこころみ、外科的にこれらの疾患の治療を行ないうる可能性を示したわけである。ことに浅側頭動脈—中大脳動脈皮質枝吻合術は当初は典型的な中大脳動脈閉塞症にこころみられたが、最近ではむしろ一過性脳虚血性発作にたいしてきわめて有効な手術として注目されつつある。^{5) 6) 7) 8) 9)}

このように microsurgical technique は現在、実際臨床さかに行なわれてはいるが、検討すべき多くの問題をまだ残している。^{10) 11)}

また、理論的立場から考えても、手術の適応となる脳血管閉塞症は、多くの場合全身血管障害の部分症にすぎず、吻合に用いられるその血管壁自体すでに何等かの病的状態にありうると考えられる。このような病的血管では、正常血管に比し縫合はより困難であり、術後開存率も不良であり、¹²⁾また術後吻合部血管の変化も強いのではなからうかということは容易に想像される。

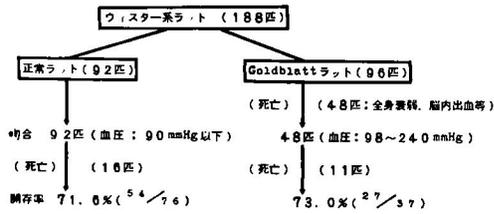
ところで正常血管縫合時の治癒機転に関しての組織学的検討は Jassinowski (1889),¹³⁾ Silberberg (1897),¹⁴⁾ Watts (1907)¹⁵⁾ など19世紀末頃より1910年前後にかけて散見されるが、臨床応用上最も重要と考えられる病的血管吻合時のものについて検討した報告はみあたらないようである。したがって微小血管吻合の臨床応用上、正常血管および病的血管についての吻合後の治癒機転における差異の検討は、もっとも基本的な問題として不可欠であると考え、この点につき組織学的、組織化学的に検討した。

II. 実験方法

実験動物として188匹の Wistar 系ラットを用い、これを正常ラット群と Goldblatt ラット（以下 GB ラットと略）群の2群にわけ検討した（図1）。

1. 正常ラット群

図1 実験方法



生後3ヵ月の体重200~350g, 平均270gの成熟ラット92匹を用い, ネンプタール5mg/kgの腹腔内注入麻酔下で血管吻合を行なった。すなわち, まず気管切開を行ない, 次いで頸部において外径0.8~1.0mmの左側総頸動脈を内頸動脈と外頸動脈の分岐部より中枢側に約1cm露出した。この露出した総頸動脈の中枢側および末梢側をScovilleのクリップを用いて一時的に血流を遮断し, その中間で血管を鋭的に切断した後, 25倍の手術用顕微鏡下でただちに断端の端々吻合を行なった¹⁶⁾ (図2)。

縫合糸は最も組織反応の少ないといわれる針付き9-0 monofilament nylon糸を用い, 8~10針の結節縫合で吻合した。この時針の刺入点は血管断端

より0.1~0.2mmの間となるようにした。また縫合のため血流遮断を行なった時間は20~30分であった。なお手術はすべて無菌的に行ない, 抗凝固剤, 血管拡張剤は全例使用しなかった。

このようにして作成した左総頸動脈端々吻合ラットを術後一定期間に屠殺して吻合部血管を摘出した(表2)。この摘出した血管はただちに長軸方向にひらいて自家肝臓片にはさんだ後, Cunningham¹⁷⁾の方法に準じてドライアイス中で凍結して, -18℃のクリオスタット中で厚さ8μの新鮮凍結切片として, 縫合部の状態を組織学的, 組織化学的に検討した。組織化学的にはlactic dehydrogenaseおよびglucose-6-phosphate dehydrogenaseは森¹⁸⁾; succinic dehydrogenaseはNachlas¹⁹⁾; cytochrome oxydase, acid phosphataseおよびalkaline phosphataseはBurston²⁰⁾の方法で検討した。(表1)。

なお, 検討部位は将来癒痕となるべき中膜変性部位を含めて断端接合部より約0.25mm以内の部を縫合部, それに接する部を周辺部と2ヵ所に分けて観察した(図3)。

2. Goldblattラット群

生後2~2.5ヵ月で体重150~280g, 平均220gの

図2 正常血管吻合術直後。

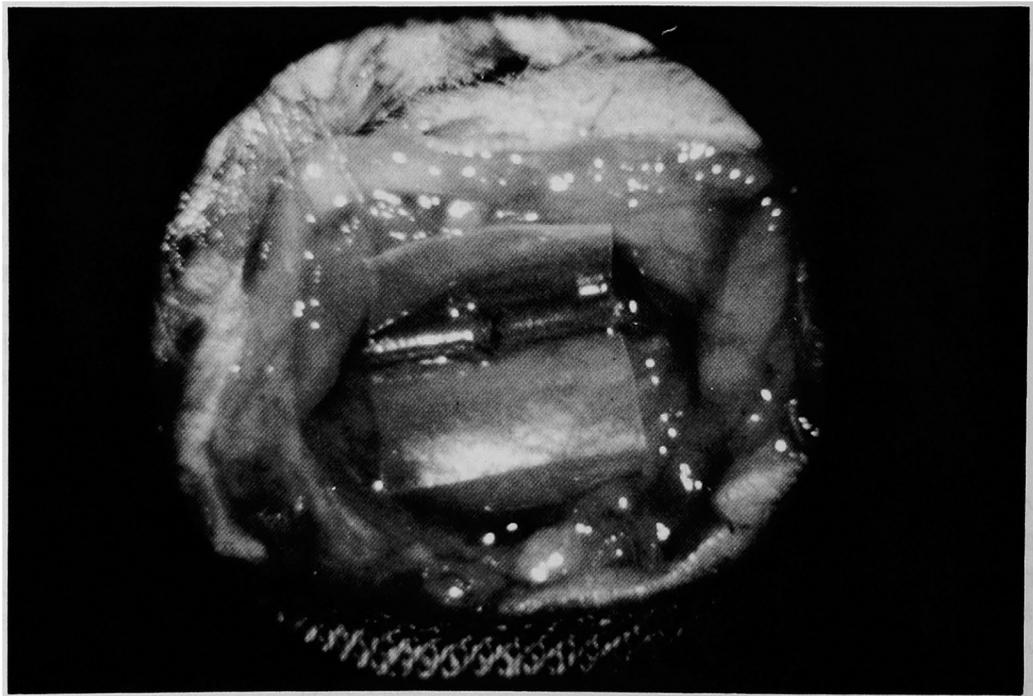


表 1

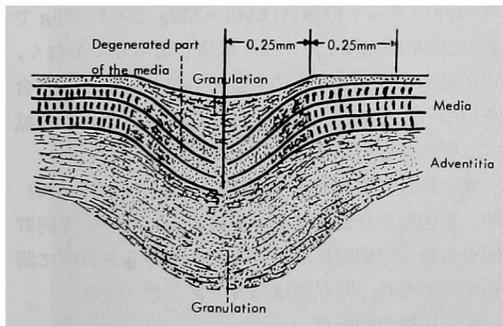
Histological Examination	
Hematoxylin Eosine Stain	
Van Gieson's Stain	
Histochemical Examination	
Embden-Meyerhof Pathway	
Lactic Dehydrogenase (LDH)	: Mori
Warburg-Dickens Pathway	
Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G-6-PDH)	: Mori
Krebs Cycle	
Succinic Dehydrogenase (SDH)	: Nachlas
Electron Transport System	
Cytochrome Oxydase (Cy-O)	: Burston
Hydrolases	
Acid Phosphatase (Ac-P)	: Burston
Alkaline Phosphatase (Al-P)	: Burston

表 2

		1 d.	2 d.	3 d.	5 d.	7 d.	10 d.	2 w.	3 w.	4 w.	6 w.	8 w.	10 w.	12 w.	17 w.	Total
Normal	Cases	5	4	6	7	4	6	5	7	6	6	4	4	7	5	76
	Rats	4	2	4	4	4	4	4	5	4	4	4	2	5	4	54
G. B.	Cases	2	2	3	3	3	3	4	4	3	2	4	2	2		37
	Rats	1	1	2	2	2	3	3	3	2	2	3	1	2		27

III. 実験成績

図 3 血管縫合部の長軸方向切片模式図。
中央の縦線は断端接合部、これより0.25mmの部を縫合部、さらにその外側の0.25mmの部を周辺とした。



ラット 96匹を用い、ケタラルール50mg/kgの筋注麻酔下で背部正中切開を行い、手術用顕微鏡下に腎動脈を腎静脈より剝離して、大動脈と腎門部のほぼ中間に内径を0.4mmになるように作成した厚さ0.15mm、長さ3mm、巾1mmの銀クリップをかけ両側腎動脈を正確に狭窄した(図4)。

このようにしてGBラットを作成し、10~11週間後の生存例を正常ラット群と同様に血管吻合を行なってその治癒機転を追求した。

無処置の正常ラット群は収縮期血圧90~120mm Hgを示し、100mm Hg前後が多かった。

実験例92例中、術後死亡は16例(17.4%)で全例吻合術後12時間以内に死亡した。死因は粘濁なる分泌物による気道閉塞ならびに、おそらく麻酔後の覚醒不良によると考えられるものが大部分であった。

生存例76例は一定期間後に屠殺したが、そのうち54例に吻合部の開存が認められ、開存率は71.1%であった(表2)。

GBラット群では無作為に13例を選び、腎動脈狭窄後11週までの各週に血圧測定を行ったが、収縮期血圧は98~240mm Hgであった。血圧120mm Hg以下を示した2週目2例、6週8週各1例の計4例は2~3週後再検したが、いずれも140mm Hg以上の血圧を示し明らかな血圧上昇が認められた(図5)。

GBラット作成例96例中、端々吻合作成までに死亡したものは半数の48例で、死因は全身衰弱、肺炎によるものであり、血圧上昇の認められる4週以内と8週以後に死亡するものが多かった。またその中の1例に脳内血腫が認められた(図6, 7)。

なお血中尿素窒素は10~25mg/dlの間で全例正常範囲内にあった。

図4 腎動脈狭窄直後. ↑はクリップ,
↑↑は腎動脈. その左右には腎保護のための綿花が見える.

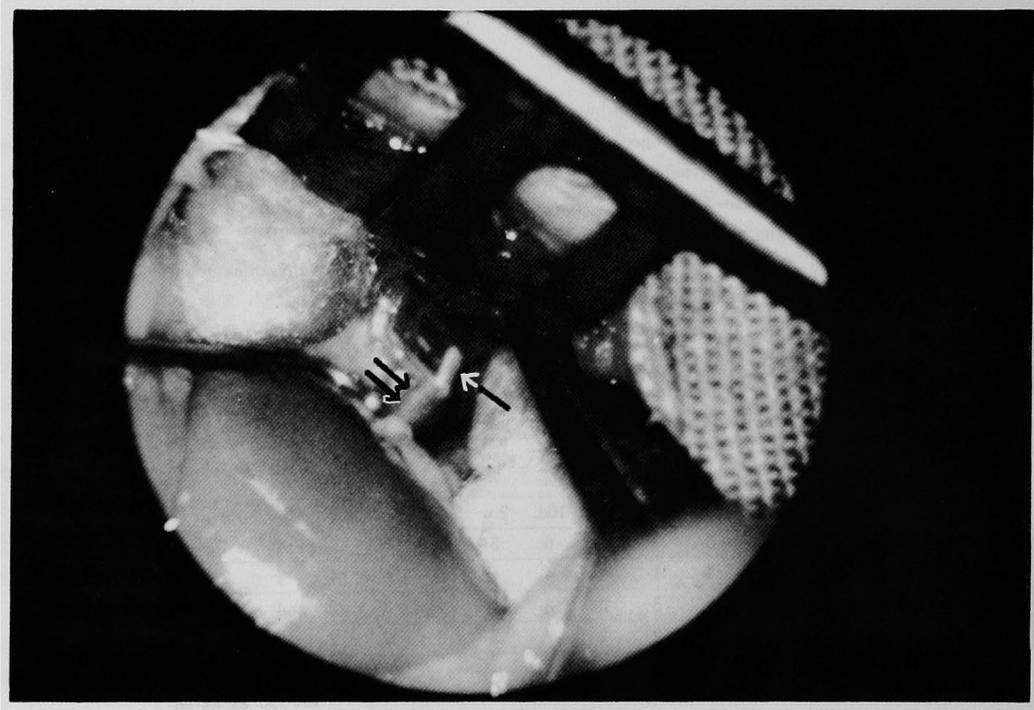
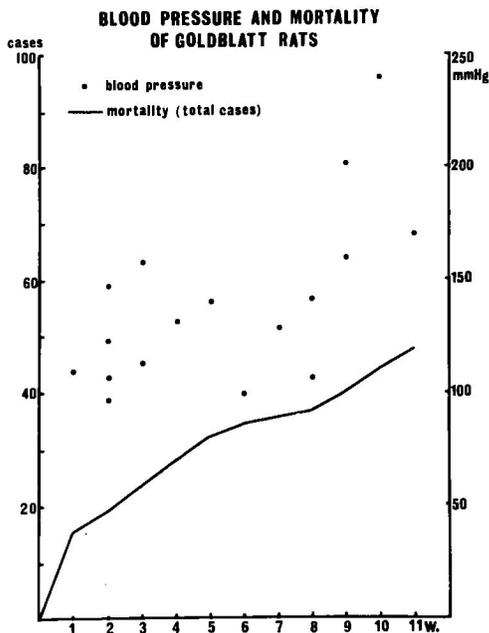


図5 GB ラットの血圧と死亡率.
血圧は無作為に各週1~4例測定した. 血圧
上昇に平行して死亡率の上昇がみられる.



GB ラット作成後10~11週の生存例48例中2例は血管吻合例と同様のクリッピングをして, 30分間の血流遮断のみを行ない46例に端々吻合を行なったが, その時のラットの体重は140~330gで平均250gであり, 体重増加は正常ラットに比し著しく少なく, 中には逆に減少したものも認められた. また, 吻合を行なった左総頸動脈は, 肉眼的には外径がやや拡大し壁の軽度肥厚が認められた.

端々吻合作成例46例中術後死亡は9例(19.6%)で, 死因は全身衰弱によるものであった. 生存例37例を術後一定期間に屠殺すると, そのうち27例に開存が認められ, 開存率は73%であった(表2).

1. 組織学的所見

1) 正常ラット群

血管縫合部の組織学的所見を経時的にみると次の如くである. すなわち,

2日目; 縫合部中膜はすでに変性, 壊死を起しているが弾性板は残存し, 外膜より血管外周にわたる肉芽組織には線維芽細胞, 線維芽細胞および浸出液, その間には初期の炎症性細胞の浸潤を認めた.

7日目; 接合部変性血管組織の管腔表面は周辺より内皮細胞が単層に伸びてきてほぼ被覆した形とな

図6 脳内出血のため右片麻痺を呈した腎動脈狭窄術8週後のGBラット。
この5日後に死亡した。

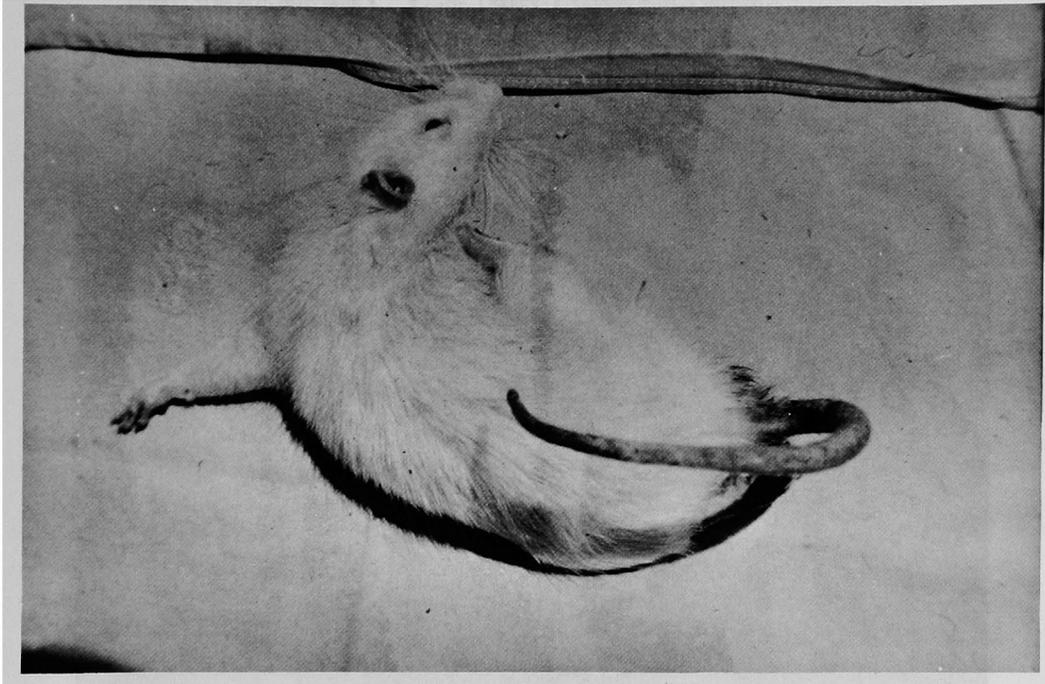


図7 図6のラットの脳内出血腫H E 染色, $\times 40$
中央部に血管がみられる

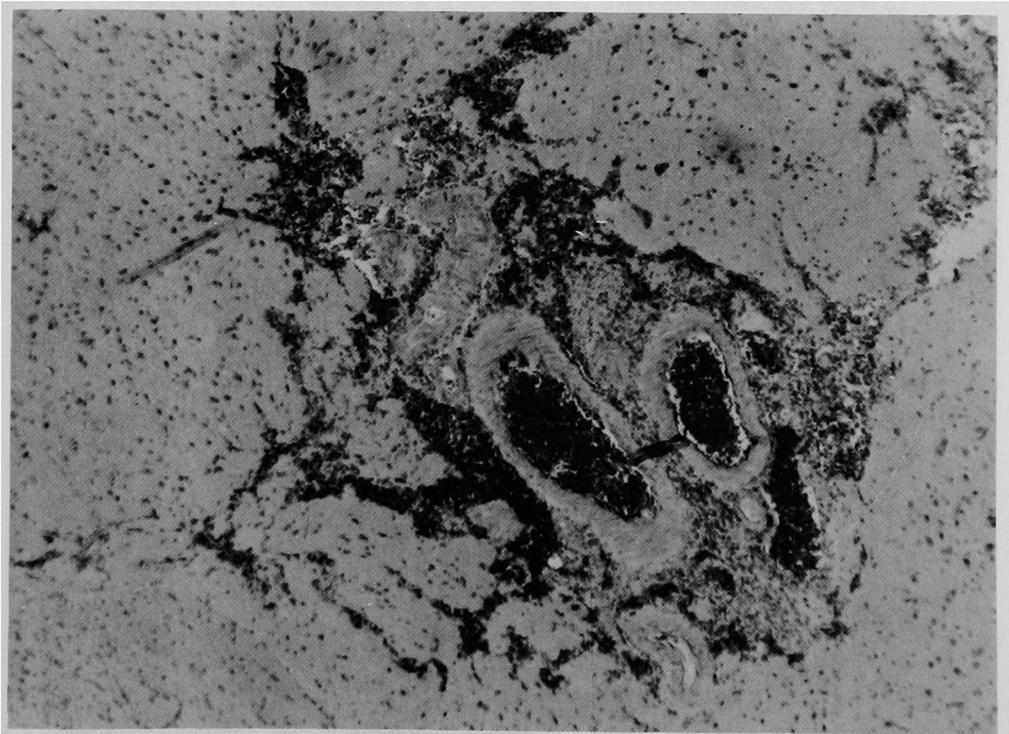


図8 正常ラット群術後7日目. HE 染色, ×40.

中膜変性部位の血管内腔を内皮細胞がほぼ被覆している. ↑変性中膜の外側には膠原線維の増生が認められ, 肉芽組織は著明である↑↑. 上および下は切片作成のため用いた肝臓組織である. 卩は縫合糸である.

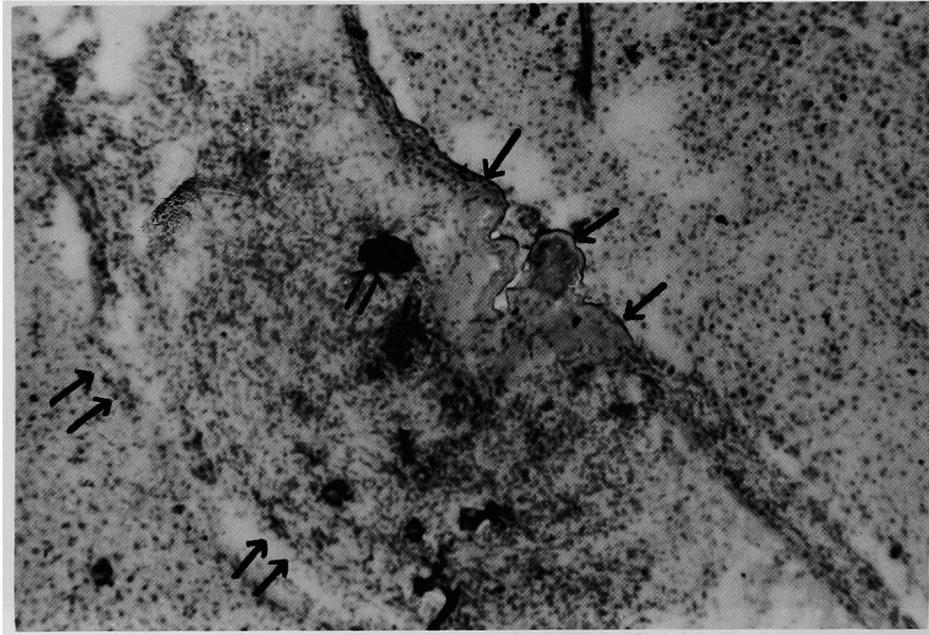


図9 正常ラット群術後3週目. HE 染色×40.

中膜変性部位は膠原線維により置換されている↑. 外膜肉芽組織の縮小が認められるが↑↑, まだ浮腫の存在を認める.

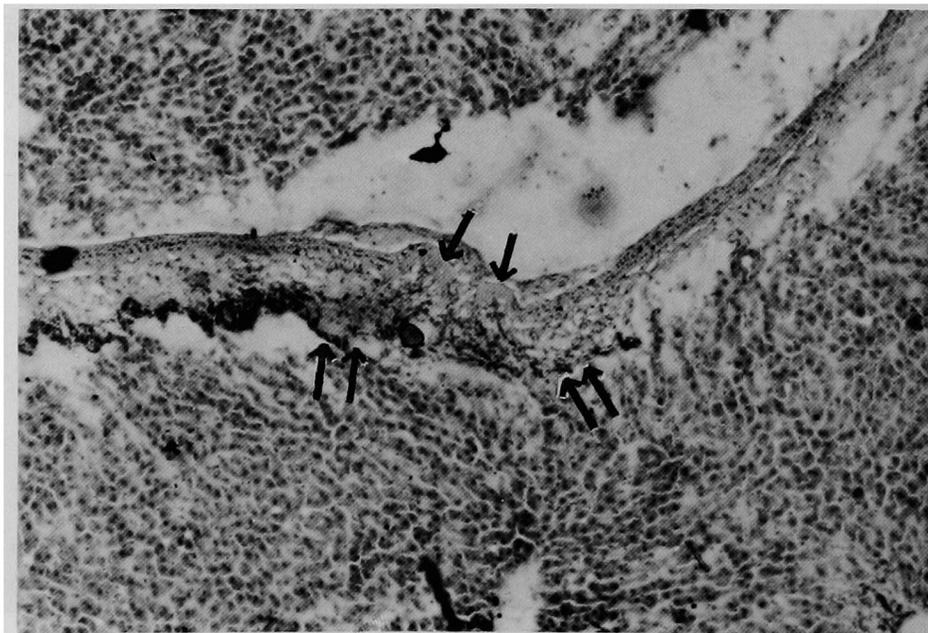


図10 正常ラット群術後4週目. HE染色, $\times 40$.
3週目にみられた浮腫はなくなるが, 縫合糸のまわりにはまだ肉芽組織をみる.

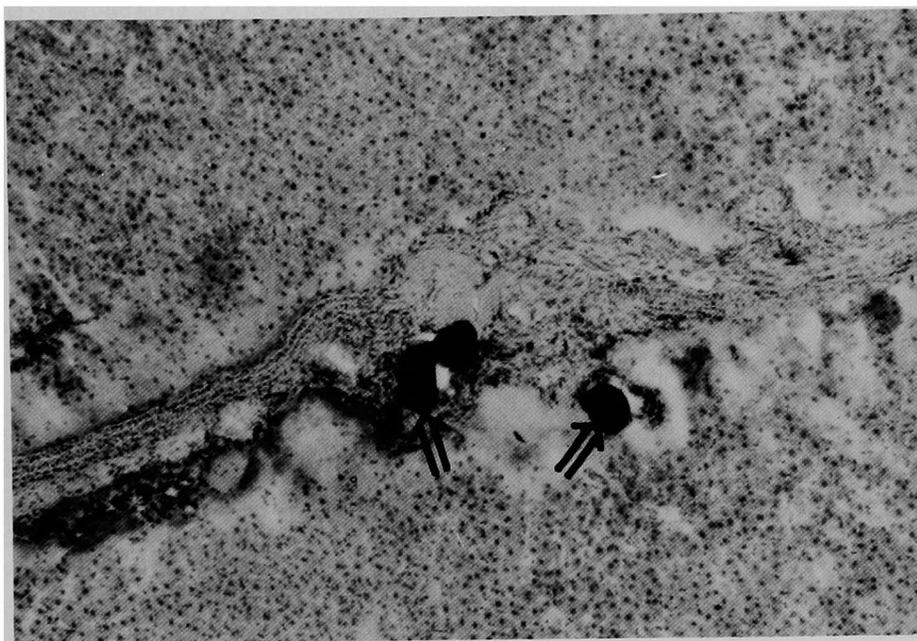


図11 軽度変性群右総頸動脈. HE染色, $\times 100$.
中膜全層にわたる平滑筋細胞の変性及び一部肥大, 外膜の膠原線維の増生を認める.

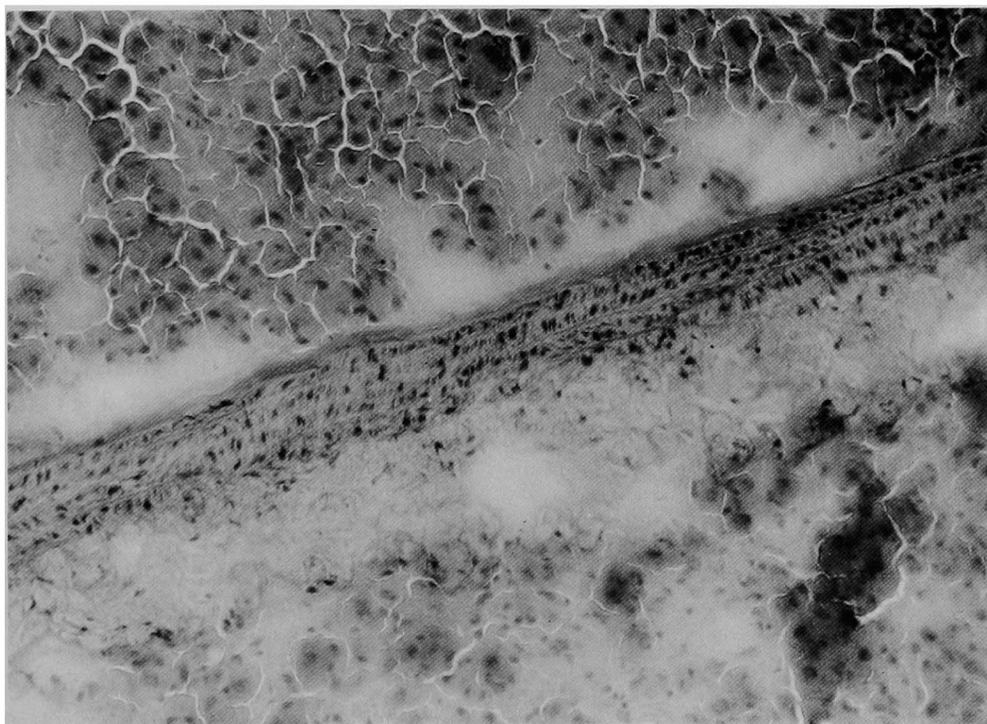
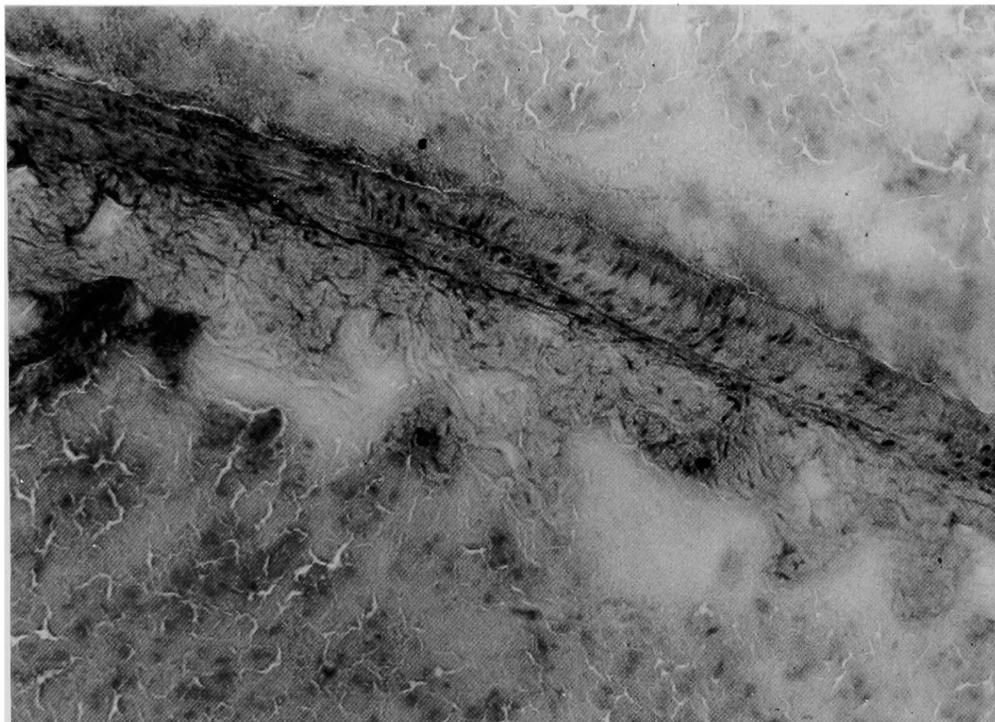


図12 高度変性群右総頸動脈. H E 染色, $\times 100$.
 図11よりも高度な変化が認められる.



った。接合部近傍の壁は変性しているが、中膜の層状構造は残存しており、弾性板が明瞭に認められた。その外側には膠原線維の新生が認められ接合部を補強していた。さらにその外側には広範囲な炎症性細胞浸潤を伴う著明な肉芽組織の形成が認められた。炎症性細胞は多核白血球が主体をなし、肉芽組織中には線維芽細胞を多く認めた(図8)。

3週目; 接合部管腔側表面は新生された線維性結合織により完全に被覆され、接合部の中膜に相当する部分に膠原線維が増生し、外側の肉芽組織は縮小しているのがみられた。まだ多少の浮腫は残存していた(図9)。

4週目; 湾入した接合部の中膜に相当する部分に膠原線維に富む癒痕形成が認められ、周辺部外側の肉芽組織はますます小さくなり炎症性細胞浸潤も減少し、縫合糸周辺にのみ限局する傾向を示した。この時点では浮腫は消褪しほぼ治癒した形となった(図10)。

12週目; 接合部は癒痕性に治癒し、ただ縫合糸の周辺部に異物反応としての肉芽形成が認められた。

2) Goldblatt ラット群

この群の開存例27例の右側総頸動脈すなわち吻合を行っていない側の頸動脈を組織学的にみると、中膜全層にわたる平滑筋細胞の変性及び一部肥大、外膜の膠原線維の増生がみられ、この変化の軽度な8例を軽度変性群(図11)、高度な19例を高度変性群(図12)と2群に分けて検討を行なった。

また1時的血流遮断のみを行なった2例については反対側血管に高度変性群と同様な所見が認められた。

(1) 軽度変性群

この群の血管縫合部の組織学的治癒は正常血管と大差は認められなかった。すなわち、術後4週目には接合部の中膜に相当する部分に膠原線維に富む癒痕形成が認められ、同部外側の肉芽組織は縮小し、炎症細胞浸潤も減少し、浮腫は消褪してほぼ治癒している状態と考えられた。

(2) 高度変性群

高度変性群の血管縫合部の組織学的所見を経時的にみると次の如くである。すなわち、

2日目; 縫合部ならびに周辺部中膜筋細胞は、吻合部の中枢側末梢側共に広範囲に変性壊死におちい

っているが、中膜内腔側には一部筋細胞が散見された。その外側には線維細胞、線維芽細胞、初期の炎症性細胞浸潤よりなる肉芽組織を認めた。

7日目；血管内腔面のところどころに内皮細胞の核が認められ、接合部の中膜に相当する部分には線維素が折出し、その周辺部には広範囲に中膜筋細胞の染色性の低下、核の変性消失が認められたが、中膜内腔側には一層の筋細胞を認める部分もあった。さらにその外側には広範囲な炎症性細胞浸潤を伴う著明な肉芽組織の形成が認められた（図13）。

3週目；内皮細胞はやはりまばらに認められ、中膜の内腔側には1層の筋細胞が散見された。壊死におちいった筋層内には外側より肉芽組織が侵入し、置換されて線維化する傾向が認められた（図14）。

4週目；外側の肉芽組織は長軸方向に拡大し、ほぼ中膜筋細胞の壊死部全体に及んでいた。

6週目；中膜にはまだ壊死が認められるが、接合部ならびにその周辺部では線維化が進み、遠隔部では一部結合織性に治癒した部分が認められた。

12週目；なお治癒は認められず、中膜の壊死組織

は菲薄化するがまだ存在し、その外側には接合部では膠原線維の増生が、遠隔部では結合織の増生が認められた（図15）。

1時的血流遮断を行なったもの；30分間の1時的血流遮断を行なった後5日目に遮断部の血管を摘出したが、血流遮断部に一致して著明な中膜筋細胞の染色性の低下、核の変性消失が認められた。またクックプを施した場所に一致して外膜の中膜側に挫滅、核の融解が認められた（図16）。

2. 組織化学的所見

前述の如く組織化学的には6種類の酵素活性の経時的変動を中膜と外膜に分けて観察した（表1）。

GBラット群の軽度変性群と高度変性群では吻合を行っていない右側総頸動脈では、組織学的には明瞭なる差を認めたが、組織化学的にはAc-P活性が高度変性群において軽度変性群より高い活性が認められたのみで、他の酵素活性の明瞭な差は認めえなかった。また軽度変性群の酵素活性の程度、分布はAc-Pにやや活性上昇を認めた以外は正常ラット群とほぼ同様であった。

図13 高度変性群術後1週目。HE染色，×40。

著明な、広範囲の中膜筋細胞の変性、壊死が認められる↑。遠隔部に1層の残存を散見する↑↑。

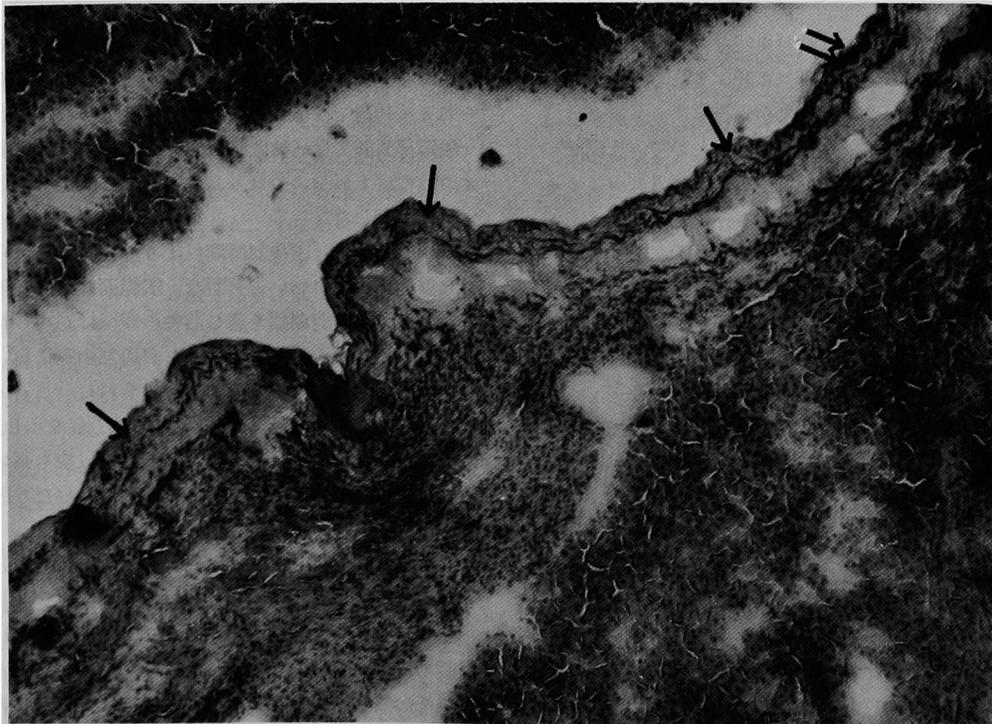


図14 高度変性群術後3週目. HE染色, ×100.

右半分に中膜筋細胞の変性, 壊死巣が認められる. 内腔側には一層の筋細胞が散見され↑, 外側より壊死巣へ肉芽組織の侵入が認められる↑↑.



この軽度変性群では検討を行なったのは吻合術後5日, 7日, 2週, 3週, 4週, 8週のみであり十分な検討は行いえなかったが, 正常ラット群とほぼ同様の活性変動を示すようであったので, 正常ラット群と高度変性群について述べる(表3).

1) 嫌氣的解糖系について

(1) lactic dehydrogenase (LDH)

まず対照として本酵素の正常ラット総頸動脈壁の分布をみると, ほとんどすべての細胞にみられ, 外膜では軽度陽性に紫青色に淡染し, 中膜は強陽性で紫藍色に濃染していた.

正常ラット群において, 血管縫合部における本酵素の経時的活性変化をみてみると, 中膜では吻合術直後より著明な活性低下を見, 術後3~4週よりやや活性上昇の傾向がみられたが, 全観察期間を通じてなお正常以下であった. 周辺部中膜では術後2~3日で中等度の活性低下がみられたが, 5日目頃より軽度の活性低下となり6~8週でほぼ正常に近い活性を示すようになった.

縫合部外膜では術後3日までは軽度の活性低下を

みだが, 1週間よりむしろ活性は上昇し2~6週では中等度~強陽性を示し, 以後漸次活性の低下がみられ8~10週でほぼ正常に近い活性を示した.

周辺部外膜では活性低下は認められず, 5日目頃より活性は上昇し, やはり8~10週でほぼ正常に近い活性を示した.

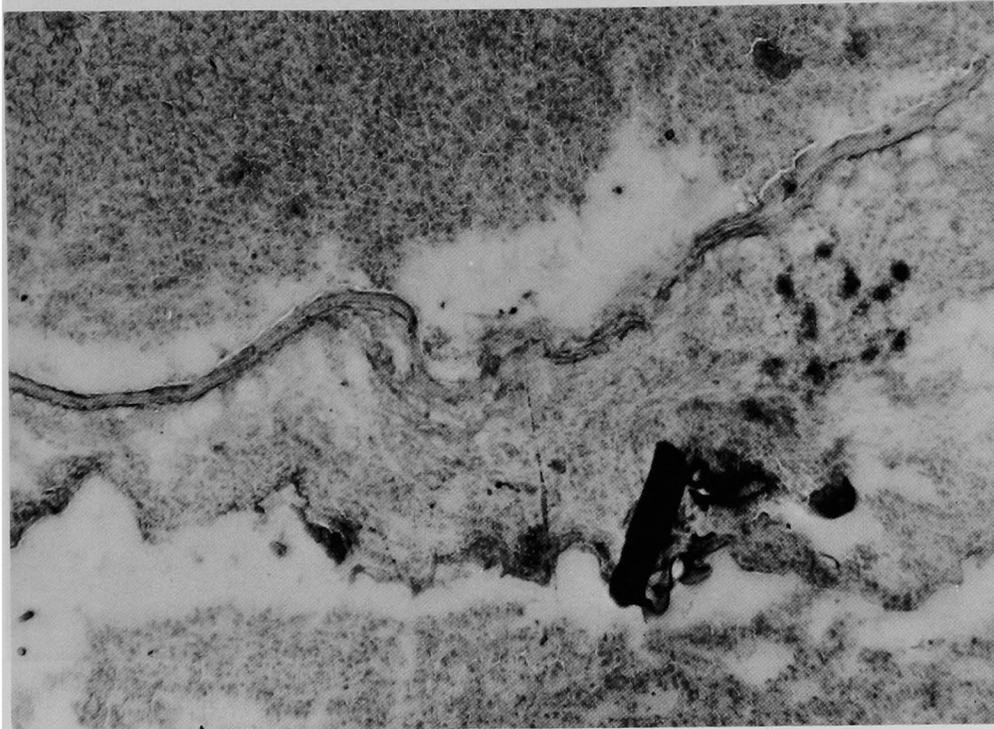
高度変性群では術後24時間目より縫合部中膜ならびに周辺部中膜において著明な, 広範囲な活性低下がみられ, 全検討期間を通じ活性の回復は認められなかった. ただ術後10日目頃より周辺部中膜においてわずかに活性が上昇する傾向がみられた.

外膜においては術後よりわずかの活性上昇を示し, 肉芽組織の発達する3週間頂点に達し, 以後も高い活性は持続して12週後もなお高い活性を示した(図17).

(2) glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH)

正常ラット群総頸動脈壁における本酵素の分布は, 外膜では軽度陽性で青紫色に淡染し, 中膜では主としてその筋細胞にあり軽度~中等度の活性を示し青

図15 高度変性群術後12週目、HE染色、×40.
中膜壊死組織は菲薄化するがまだ存在している。



藍色を呈した。縫合部中膜では術後軽度の活性低下を示し、5日目よりやや上昇の傾向が見られたが、全経過を通じて正常活性に復することはなかった。一方周辺部中膜では殆んど活性変化は認められなかった。外膜については縫合部、周辺部ともに極めて類似せる活性変化を示した。すなわち、術直後より軽度の活性上昇を示し、2～4週では更に強い活性上昇をみたが6～8週でほぼ正常に近い酵素活性を示した。

高度変性群では中膜は前述の高度変性群のLDHとほぼ同様の活性変動を示したが、外膜の活性は正常ラット群より早く1週間目頃に上昇し、3週頃に頂点に達しそれ以後も高い活性を示した。

2) 好氣的解糖系について

succinic dehydrogenase (SDH)

正常ラット群の総頸動脈壁における本酵素の分布は、外膜では殆ど陰性で少数の細胞に弱陽性をみたのに対し、中膜では筋細胞に軽度陽性を呈し淡紫灰色に染った。本酵素の経時的活性変化については縫合部外膜、周辺部外膜ともに術後第1日では中等度

の活性上昇を見たが、漸次低下し約6～8週でほぼ正常に近い活性を示した。一方中膜では縫合部は術後より中等度の活性低下を示し5日目頃よりやや上昇の傾向を見、10日目ではほぼ正常に近い活性を示すようになったが、全経過を通じて正常よりは低い活性であった。周辺部の中膜についても術後軽度の活性低下をみたが、2週目頃より活性はむしろ軽度上昇し6週頃よりほぼ正常に近い活性を示した。

高度変性群では中膜における活性変動は前述の高度変性群のLDHとほぼ同様であったが、外膜ではほぼ4週頃までは正常ラット群と同様の活性変動を示していた。しかし12週後も高い活性を示した(図18)。

3) 酸化酵素系について

cytochrome oxydase (Cy-O)

正常ラット群総頸動脈壁内における本酵素の分布は中膜のやはり筋細胞に軽度陽性で淡黄褐色を呈し、外膜では弱陽性で灰黄色に淡染した。吻合ラットの本酵素の経時的活性変化についてみると、縫合部外膜では術後軽度の活性上昇をみたが2日目にはほぼ

図16 高度変性群で30分間の1時的血流遮断を行なったもの。H E染色，×40。
 中央右寄りの外膜中膜側に挫滅，核の融解が認められ，クリップの位置と考えられる↑↑。
 その右側の血流遮断部に著明な中膜筋細胞の染色性の低下，核の変性消失が認められる↑

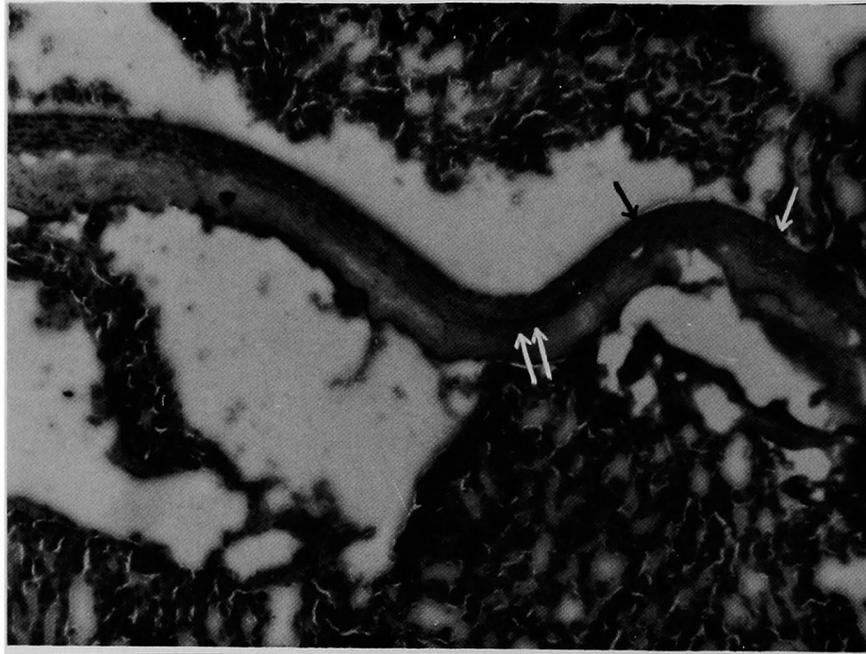


表3 正常ラット群および高度変性群の血管縫合部とその周辺部の酵素活性の経時的変化の模式図。

基線は正常活性を示し，その上方は活性の上昇を，下方は低下を示す。中膜の Al-P はほとんど活性が認められないため検討できなかった。

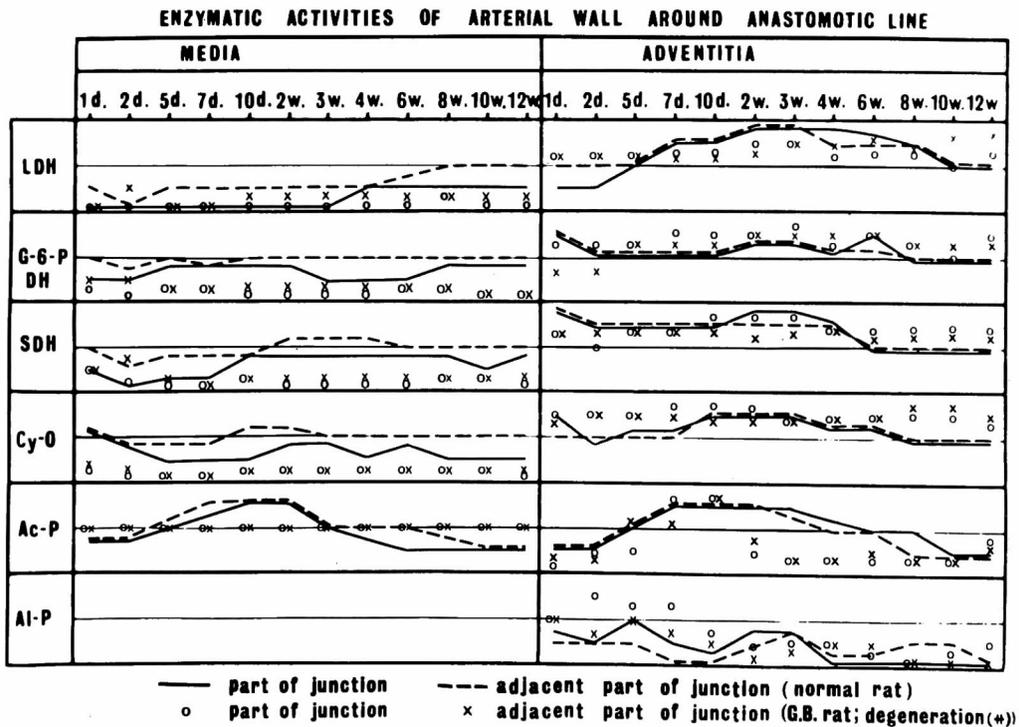
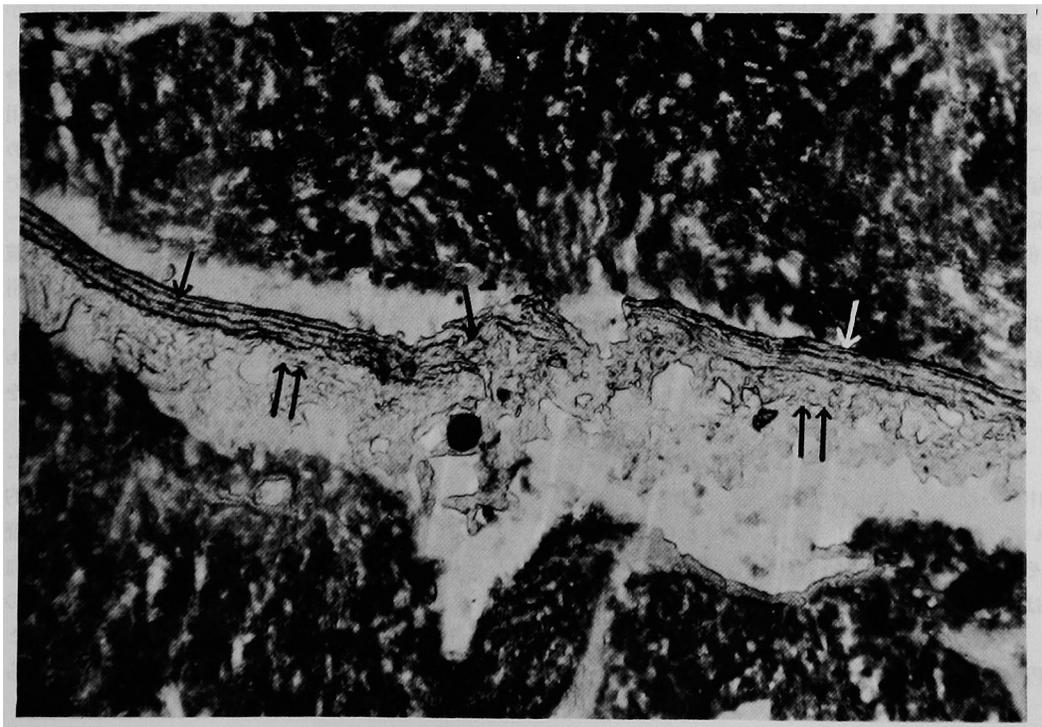


図17 高度変性群の術後4週目のLDH ×40.
中膜の広範囲な活性低下↑, 外膜の活性上昇↑が認められる.



図18 高度変性群の術後5日目のSDH ×40.
中膜全層にわたる著明な、広範囲の活性低下↑, および外膜の軽度活性上昇↑が認められる.



正常に近い活性を、5日目頃よりやや活性の上昇を示し、6～8週ではほぼ正常に近い活性に復した。周辺部の外膜についてもほぼ同様の傾向をみたが術直後の活性上昇はみとめられず、1週目よりやや活性の上昇を示したにすぎず、6～8週ではほぼ正常の酵素活性を示した。

縫合部中膜は術直後活性は軽度上昇したが2日目にはむしろ低下し、2週頃よりわずかの活性上昇をみたが著明な変化はみられなかった。周辺部中膜は術後3日目まではほぼ縫合部と同様の傾向を示していたが、5日目頃より活性上昇の傾向が認められ10日～2週間で正常よりもわずかに活性上昇がみられ、4～6週で正常に近い活性を示した。

高度変性群においては本酵素は外膜では全検討期間を通じて高い活性を示しており活性の変動はあまりみられなかった。

4) 水解酵素系について

(1) acid phosphatase (Ac-P)

本酵素の正常ラット群の総頸動脈壁における分布は、外膜はmacrophageの細胞に中等度陽性を示し紅色を呈した。中膜は筋細胞に弱陽性で桃色に淡染した。

本酵素の経時的活性変化については外膜では縫合部、周辺部ともに術直後より軽度活性は低下しているが、5日目頃より活性は上昇し1週を過ぎるとむしろ活性は軽度上昇していた。この活性は3～4週後より漸次低下する傾向となり、8週以後は正常よりも軽度の低下を示した。縫合部中膜では術後の活性低下は外膜に比して軽度であった。この活性は5～7日目より2週目頃までむしろ上昇したが、3週頃より漸次低下し4週以後は軽度低下を示した。周辺部中膜もほぼ同様の傾向を示したが、活性低下は6～8週より認められた。

高度変性群においては中膜縫合部ならびに周辺部共に活性の変化は明瞭ではなかった。外膜では術後活性は低下し5日目より上昇し、肉芽組織の発達する3週頃より活性は再び低下する傾向がみられた。

(2) alkaline phosphatase (Al-P)

本酵素の正常ラット群総頸動脈壁における分布は、中膜筋細胞には殆ど陰性であった。吻合部血管においても正常ラット群、GBラット群ともに陰性で、そのため本酵素の中膜における経時的変化については検討できなかった。

正常ラット群についてみると、外膜では栄養血管内皮細胞とその周辺に認められるという報告がある

が、本実験では中膜近接部位で一様に濃紅色に染まり中等度陽性であった。

端々吻合ラットの縫合部外膜では術直後より活性は軽度低下し、その後やや活性上昇の傾向がみられ、5日目頃頂点に達し中等度陽性の活性を示し(図19)、その後は低下して3～4週以後は著明な活性低下をみた。周辺部外膜もほぼ同様の傾向を示したが縫合部よりも変動の中は小さかった。

高度変性群の外膜では縫合部は術後2日目より活性の上昇をみたが、10日目より縫合部、周辺部ともに活性は低下し活性の回復はみられなかった。特に周辺部の活性低下は著るしく、また正常ラット群に比べて広範囲であった(図20)。

IV. 考 按

関口²¹⁾は70～85gの幼若なWistar系ラットの両側腎動脈を、内径0.28mmのクリップをかけて狭窄して、実験的高血圧をしめすGBラットを作成した。そしてこれらのラットでは術後3～4週頃より全身動脈の内膜及び中膜に水腫性変化が発生し、10週以後では細胞線維性内膜肥厚、中膜筋細胞の変性消失、中膜、外膜の線維化が認められることを報告している。しかし関口の実験では幼若なラットを用い、手術直後は腎動脈の狭窄はほとんどなく、ラットが成長するに従って徐々に狭窄が起るという方法を用いているため、全身の動脈病変にかなりのバラツキが認められるようである。

この実験においては全例になるべく同程度の血管病変を作成するため生後2～2.5ヵ月のラットを用いた。このラットでは体重は150～280gと差は認められたが、腎動脈の外径はほぼ一定で約0.65mmであり、0.4mmのクリップをかける4週後では40～50%の狭窄となっていた。また腎動脈の狭窄を正確に行い、かつ腎静脈、尿管の損傷を防ぐため手術用顕微鏡下に腎動脈狭窄を行った。

40～50%の狭窄としたのはMaier²²⁾の報告にもあるごとく、なるべく腎機能障害を起さないで血圧を上昇させるためである。

この実験でも両側腎動脈狭窄後10週以上経過したラットの総頸動脈に関口²¹⁾の報告と類似の組織学的所見を認めたが、その変化の程度は高度なものと軽度なものの2群に分かれた。高度変性群は一般に血圧上昇の強いものに多い傾向が見られ、城下等²³⁾の報告に一致するが、これは小野山²⁴⁾等の報告のごとく、腎性血管障害因子の存在も考慮しなければなら

図19 正常ラット群術後10週目のA1-P×40.

縫合部ならびに周辺部外膜において著明な活性低下↑を認める，遠隔部には正常な活性↑↑が認められる．

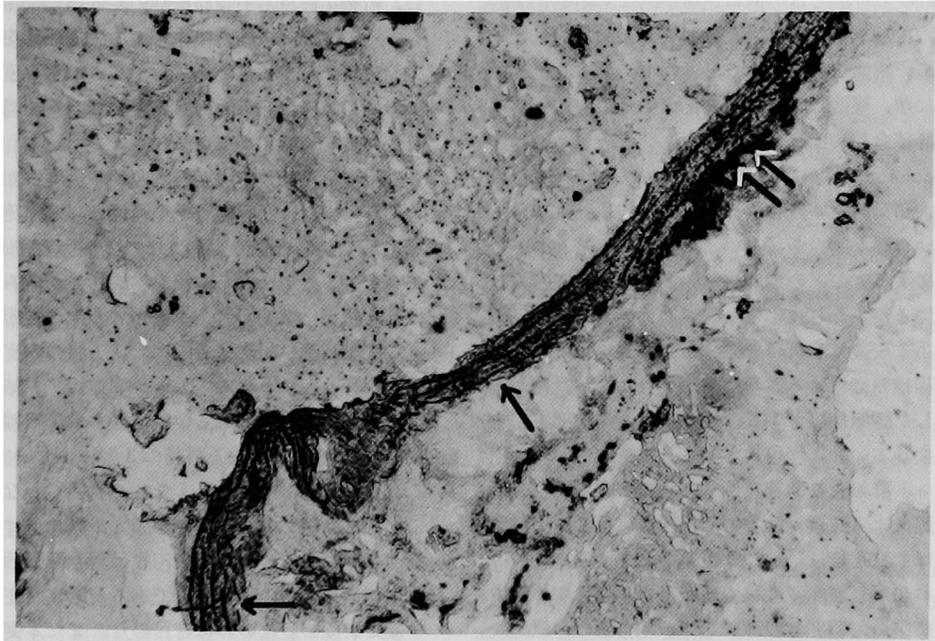
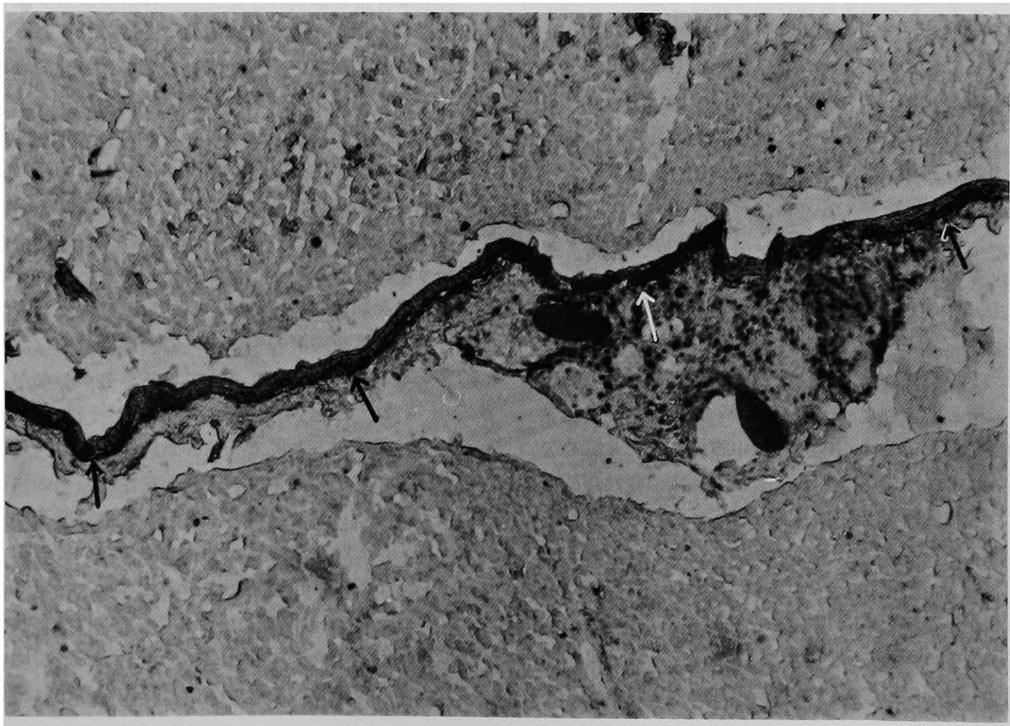


図20 高度変性群術後2週目のA1-P×40.

縫合部ならびに周辺部に活性低下を認める↑. 活性低下部位は正常ラット群よりも広範囲である.



ないであろう。

ついで正常ラット群、軽度変性群ならびに高度変性群の総頸動脈端々吻合部の治癒機転についてみると、軽度変性群では治癒は組織学的にも組織化学的にも、正常ラット群と大差はなく、組織学的には4週間で、組織化学的には6～8週で治癒するように見えたが、軽度変性群の縫合部の中膜癒痕が正常ラット群縫合部に比しわずかに大きいようであった。

Jacobson²⁵⁾は外径2.9～4.3mmの犬の頸動脈ならびに大腿動脈を切断し、microsurgical techniqueを用いて端々吻合を行ない、接着剤によるものと縫合糸によるものとの治癒機転を組織学的に比較検討しているが、これによると両者共に接合部の内皮細胞による被覆は7日目で完成し、4週で中膜の壊死部の線維組織による置換が完成され、6ヵ月たつと発達した膠原線維が中膜の壊死による欠損部を完全に置換していたと報告している。本実験における正常ラット群および軽度変性群の組織学的所見でも内皮細胞による被覆、中膜の線維組織による置換に関してはこれとほぼ一致した所見をえている。

これに反し高度変性群では術後24時間ですでに中膜筋細胞の広範囲な変性、壊死が吻合部の中枢側及び末梢側共に認められた。この中膜筋細胞の広範囲な変性、壊死巣は30分間の血流遮断だけでも認められ、その部位はクリップの周辺及び血流遮断部位にのみ限局し、また中膜内腔側には血管内腔より diffusion により栄養されていると考えられる²⁶⁾一層の筋細胞がまばらに残存していた。これは吻合操作およびそれによる牽引、または術後の血管牽縮によるよりも、血流遮断および vasa vasorum の障害による影響がより強いことを示すのであろう。

この中膜筋細胞の広範囲な変性壊死巣は正常ラット群ならびに軽度変性群では認められなかった。また Dahl²⁷⁾の犬の腸骨動脈の実験すなわち、外膜を可及的に剝離して血管壁の vasa vasorum を障害し、その部のまわりに自家静脈を内膜を外側にに向けて被覆して vasa vasorum の再生を抑制した腸骨動脈壁においても、内膜及び中膜には変化を認めなかったという報告もあり、中膜筋細胞の変性が認められる病的血管が侵襲や血流遮断に弱いことを示すものであろう。

この中膜筋細胞の広範囲な変性壊死巣は術後3週頃より外膜側から肉芽組織が侵入して置換する傾向が認められた。これは関口²⁸⁾のGBラットの実験で中膜筋細胞の変性巣内に外膜より侵入したと考えら

れる線維芽細胞の増生が認められたという報告と一致する。

この外膜側の肉芽組織はその後も長軸方向に拡大し、術後4週目頃中膜筋細胞の変性壊死部全体を覆い、その後徐々に結合繊維化して中膜壊死部を補強して治癒してくるようであった。すなわち高度変性群においては縫合部の治癒は外膜側の肉芽組織が主役をはたしているようであった。

以上の所見より中膜筋細胞変性の高度な血管の吻合においては、血管剝離を小範囲とし、血流遮断部を短かくして、外膜を保護することが必要であろう。

さて、ここでこれらの組織学的所見からみた治癒機転と組織化学的所見を対比してみたいと思う。

まず動脈壁は組織構造的には、一層の内皮細胞および内弾性板よりなる内膜と、弾力線維、結合繊維、平滑筋細胞の混合である中膜、さらに神経線維、脂肪組織、結合繊維よりなる外膜の3者により構成され、これらの3者は構造的にもそれぞれ明らかな差があるので、当然これを内膜、中膜と外膜に分けて検討する必要がある。しかし、内膜は薄く酵素活性の変動の状態をみるのは不都合であると考え、主として中膜と外膜の変化のみに着目した。また本実験は手術後の血管組織なので、外膜は肉芽組織が主体となった。

血管壁の酵素活性について Lojda²⁹⁾は1つの血管でも動物の種類が異なれば活性に差が認められ、また1つの動物においても血管が異なれば酵素活性に差が認められるが、共通の反応として、種々の障害に対して Ac-P 等の lysosomal enzyme の活性上昇と、脱水素酵素系の活性低下、殊に SDH の活性低下が最も著明に認められるので、Ac-P および SDH は血管壁細胞の所謂 injury marker の意味を持つという報告をしている。本実験で吻合を行っていない右側頸動脈において Ac-P が正常ラット群、軽度変性群、高度変性群の順に高いのは組織学的な血管障害の強さと一致するようである。しかしながら SDH については明瞭な差を認めえなかった。

さて、正常ラット群でこの酵素活性の経時的変化を中膜についてみると、筋細胞の変性、壊死の強い術後より3日目まではすべての酵素活性は低下し、とくに LDH および縫合部の SDH において著明であった。そして、組織学的治癒の認められ始める5～7日目頃より各酵素の活性上昇の傾向が認められ、とくに縫合部 Ac-P と周辺部の Cy-O 及び SDH において著明であった。この Ac-P の活性変化は縫合

部の損傷血管組織の変性、壊死とその修復という組織学的な経時的変化とはほぼ一致していた点は興味がある。周辺部の SDH および Cy-O は Ac-P よりやや遅れて活性の上昇を見たが、これは修復機転として周辺部筋細胞においては何等かの好氣的代謝亢進があるためと考えられる。また中膜接合部における LDH の上昇は 3 週頃より軽度認められたが、これは組織学的にみると中膜の膠原線維が増生した時期に一致し、これと関係があるのではないかと考えられる。

さて、嫌氣的解糖系酵素も好氣的解糖系酵素もともに 6~8 週でほぼ正常の活性に復するように見えたが、これは組織学的に治癒の形を示す 4 週頃よりやや遅れていた。しかも変性した筋細胞が膠原線維に置換されたように見える中膜接合部では、6~8 週以後においてもなお長期にわたり活性が低下していることが認められた。

外膜については肉芽形成および炎症性細胞浸潤が早期より起り、細胞成分に富むため一般に中膜とは逆に活性の上昇をみた。ことに、肉芽組織が最も増大する 7 日から 10 日目に Ac-P および Cy-O の活性がまず上昇して頂点に達し、脱水素酵素系はすべて遅れて 2 週間頃に頂点に達した。その後各酵素はほぼ同じように 4 週頃より活性はしだいに低下し、6~8 週でほぼ正常の活性に復した。なお縫合系周辺では異物反応としての肉芽組織が長期間残存するため長期にわたり強い活性を示した。

ところで Al-P は他の酵素活性とは異り、術直後低下し、好中球浸潤、線維細胞、線維芽細胞の出現時期と一致して活性上昇の傾向が認められ、膠原線維の出現しはじめる 5 日目頃を最高とし、再び活性の低下が認められ 4 週以後は著明な活性低下を見つづ経過した。さて、外膜における Al-P のこのような著明な活性低下は、その代謝上の意義^{29), 30)}から考えて一応組織学的には治癒したように見える血管壁においても代謝面では、かなり正常とは異なる状態が続いていることを示すものであろう。

次いで高度変性群についてみると、中膜では前述したように縫合部ならびに周辺部の広範かつ高度な中膜変性壊死が全検討期間を通じて存在したため、嫌氣的ならびに好氣的解糖系ともに酵素活性は低く活性の変動はほとんどみられなかった。Ac-P については活性の変動はよくわからなかった。

外膜については正常ラット群と同じく Cy-O 及び Ac-P の活性がまず上昇して頂点に達し、次いで脱

水素酵素系が遅れて 2~3 週頃に頂点に達した。しかしながらその後は正常ラット群と異なり水解酵素系をのぞいてなお 12 週まで高い活性が持続した。この所見は外膜の肉芽組織が治癒の主役をはたしているという組織学的所見をうらづけるものであろう。

ところで術後数日間の Cy-O および SDH の中等度活性上昇は、一見この時期の好氣的代謝の亢進を思わせるが、これは著明な炎症細胞浸潤を伴う肉芽形成のためと考えられる。

Al-P については正常ラット群とはほぼ同じ活性変動を示すが、この活性低下の範囲は正常ラット群に比し著しく広範囲であった。本酵素は Lojda²⁸⁾によれば、ラットでは vasa vasorum の周囲およびその内皮細胞に存在するとされており、この所見は vasa vasorum の広範囲な障害を意味するものと考えられ、組織学的に中膜筋細胞が内腔側に一層のみ散見された所見を合わせ考えると興味深い。

V. 結 論

92 匹の正常ラットの左総頸動脈を鋭的に切断したのち、手術用顕微鏡下に端々吻合を行ない、その治癒機転を組織学的、組織化学的に検討した。

また手術用顕微鏡下に両側腎動脈狭窄を行なって 96 匹の Goldblatt ラットを作成し、10 週間後の生存例 48 匹を正常例と同様の血管吻合を行なってその治癒機転を追求した。

1) 血管吻合による開存率は正常例は 71.6%、Goldblatt ラットでは 73.0% であり、両者の開存率に有意の差はなかった。

2) 正常例では組織学的治癒はほぼ 4 週までに完了するが、組織化学的治癒はそれより遅れ 6~8 週を要するという結果をえた。この時 2 週頃より周辺部中膜の代謝において、好氣的解糖系の軽度亢進がみとめられた。

3) Goldblatt ラットでは中膜筋細胞の変性の軽度な群と高度な群が認められ、変性の高度な群は血圧上昇の強いものに多いようであった。

4) 軽度変性群では正常血管と同様組織学的には 4 週間で、組織化学的には 6~8 週で治癒するという結果をえた。

一方高度変性群では術後中膜筋細胞の広範囲な、著明な変性、壊死が起り、3 週頃より組織学的にも組織化学的にも外膜側より治癒する傾向がみられたが、12 週後もなお壊死組織が残存し組織学的治癒は認められなかった。組織化学的にも中膜の活性は著

明に低下しており、外膜においても肉芽組織の部に高い活性を示し治癒は認められなかった。

5) 高度変性群の術後の広範囲な中膜筋細胞の変性、壊死は手術操作よりも術中血流遮断の影響が大ききようであった。またAl-P活性の著明な低下より、筋細胞変性壊死部では vasa vasorum の広範囲な障害がうかがわれた。

稿を終えるに臨み、御指導と御高閲を賜った岡山大学医学部脳神経外科学教室西本詮教授ならびに徳島大学医学部脳神経外科学教室松本圭蔵教授に深謝いたします。また組織標本につき御教示を賜った岡山大学医学部病理学教室大森正樹講師に謝意を表します。

VI. 参 考 文 献

- 1) Jacobson, J. H., Wallman, L. J., Schumacher, G. A., Flanagan, M., Suarez, E. L., and Donaghy, R. M. P.; Microsurgery as an aid to middle cerebral artery endarterectomy. *J. Neurosurg.*, **19**, 108, 1962.
- 2) Lougheed, W. M., Ganton, R. W., and Barnett, H. J. M.; Embolectomy of internal carotid, middle and anterior cerebral arteries. *J. Neurosurg.*, **22**, 607, 1965.
- 3) Stevenson, G. G.; Transclival exposure of basilar artery. A case presentation of basilar artery embolectomy in man. *Micro-vascular Surg.* Georg Thime Verlag, Stuttgart, **148**, 1967.
- 4) Donaghy, R. M. P.; Patch and by-pass in microangional surgery. *Micro-vascular Surgery*, Georg Thime Verlag, Stuttgart, **75**, 1967.
- 5) Reichman, O. H., Satovick, R. M., Davis, D. O. and Roberts, T. S.; Collateral circulation to the middle cerebral territory by anastomosis of superficial temporal and cortical arteries. *Present Limits of Neurosurgery*, Avicenum, Czechoslovak Medical Press, Prague, **369**, 1972.
- 6) Gratzl, O., Steude, U., and Schmiedek, P.; Indications for extra-intracranial anastomosis between the superficial temporal artery and a branch of the middle cerebral artery in man. *Present Limits of Neurosurgery*, Avicenum, Czechoslovak Medical Press, Prague, **375**, 1972.
- 7) Chater, N., Mari, J. and Tonnemacher, K.; Superficial temporal artery by-pass in occlusive cerebral vascular disease. *Calif. Med.*, **119**: 9, 1973.
- 8) Austin, G., Laffin, D. and Hayward, W.; Physiologic factors in the selection of patients for superficial temporal artery to middle cerebral artery anastomosis. *Surgery*, **75**: 861, 1974.
- 9) 菊池晴彦; 脳血栓症に対する手術の試み. *臨床外科*, **29**: 1285, 1974.
- 10) 菊池晴彦, 唐沢淳; 脳血管閉塞症に対する浅側頭動脈—中大脳動脈側頭葉皮質間吻合術. *脳神経外科*, **1**: 15, 1973.
- 11) 佐々木久雄, 大原到; 血管吻合部強度に関する実験的研究. *脈管学*, **15**: 11, 1975.
- 12) 小原進, 藤沢洋之, 浅利正二, 景山敏明, 松本圭蔵; 高脂血症下における微小動脈吻合術. *血液と脈管*, **6**: 75, 1975.
- 13) Jassinowski, A.; Ein Beitrag zur Lehre von der Gefaessnaht. *Arch. F. klin. Chir.*, **42**: 316, 1891.
- 14) Silberberg, O.; Uber die Naht der Blutgefasse. *Inaugural Dissert.*, Breslau, 1899.
- 15) Watts, S. H.; Suture of blood vessels. Implantation and trans-plantation of vessels and organs. An historical and experimental study. *Ann. Surg.*, **46**, 373, 1907.
- 16) Yasargil, M. G.; *Microsurgery applied to Neurosurgery*. Georg Thieme Verlag Stuttgart Academic Press, New York and London, **61**, 1969.
- 17) Cunningham, G. J., Lucille, B., Chayen, J. and Silcox, A. A.; The presentation of cytological

- and histochemical detail by a controlled temperature freezing and sectioning technique. *Ann. Histochemie*, **6** : 433, 1961.
- 18) Mori, M., Mizushima, T. and Koizumi, K.; A comparative histochemical evaluation of various dehydrogenases in the oral squamous epithelium. *Histochemie.*, **3** : 111, 1962.
 - 19) Nachalas, C. S. and Seligman, A. M.; Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J. Histochem. Cytochem.*, **5** : 420, 1957.
 - 20) Burston, M. S.; *Enzyme Histochemistry*. Academic Press, New York, 1962.
 - 21) 関口守衛; 実験的高血圧ラットにおける動脈病変の成り立ちと治癒. *北関東医学*, **14** : 1, 1964.
 - 22) Maier, N.; Experimental renal-artery stenosis. *Arch. Surgery*, **88**, 1964.
 - 23) 城下尚; 動脈内圧の変化による動脈壁細胞の動態に関する病理学的研究. 第13回日本脈管学会口演, 1972.
 - 24) 小野山董; 両腎摘出ラットにおける angiotensin II と腎皮質分画の血管障害作用について. *脈管学*, **13** : 273, 1973.
 - 25) Jacobson, J. H.; The tissue response to a plastic adhesive used in combination with microsurgical technique in reconstruction of small arteries. *Surg.*, **66** : 379, 1966.
 - 26) 中村元臣; 動脈の代謝, *最新医学*, **18** : 804, 1963.
 - 27) Dahl, E. V.; Effect of removal of adventitia from arteries; An experimental study. *Surg.*, **50** : 533, 1961.
 - 28) Lojda, Z.; Histochemistry of the vascular wall. *Int. Symp. Morphology Histochemistry Vascular Wall, Fribourg 1965, Part 11*, 364, 1965.
 - 29) 葉室頼明; 脳損傷の回復における glycogen 並びに各種酵素の組織化学的研究. I 脳損傷回復における glycogen の組織化学的研究. *日組録*, **13** : 59, 1957.
 - 30) 葉室頼明; 脳損傷の回復における glycogen 並びに各種酵素の組織化学的研究. II 脳損傷回復における各種酵素の組織化学的研究. *日組録*, **13** : 69, 1957.

Histological and histochemical study on the healing process of the anastomotic site of normal and pathological arterial walls

Toshiaki KAGEYAMA

Department of Neurological Surgery, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Akira Nishimoto)

Recent developments in microsurgical techniques have brought about the possibility of restoration of the main branches of the cerebral arterial blood flow resulting from obstructive conditions. These arteries usually indicate pathological alterations.

However, there are only a few reports on the healing processes of the anastomotic sites on the pathological arterial wall.

In the present study, the histological and histochemical healing processes were investigated in an anastomotic site of normal and pathological arterial walls.

Ninety-two normal rats and 96 Goldblatt rats were used.

End-to-end anastomosis was performed on the left common carotid artery by microsurgical technique.

The patency rates of anastomosis were 71.6% in normal rats and 73.0% in Goldblatt rats. Patent anastomosed arteries were observed at various post-operative periods, ranging from 24 hours to 12 weeks. For histological studies, hematoxylin-eosin and Van Gieson stainings were used. For histochemical studies, lactic dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, succinic dehydrogenase, cytochrome oxydase, acid phosphatase and alkaline phosphatase were examined.

Goldblatt rats were divided into two groups histologically. One group had a slight degeneration of the medial muscle, and the other group had a marked degeneration. This histological difference between the two groups was probably due to blood pressure. A histological examination revealed a healing stage at four weeks in the former group and the histochemical study showed healing at eight weeks in the former group. There was no significant difference on the healing process between the former group and normal rats.

Goldblatt rats which showed marked degenerative changes of the medial muscle indicated a poor healing process with granulation in the outer regions of medial necrotic areas. At 12 weeks after anastomosis, histological examination still showed the prominent and widespread degenerative changes on the medial wall. The histochemical examinations of this group revealed few enzymatic activities in the media in areas adjacent to the anastomosis, although rather higher activities were observed in the adventitia in granulation areas adjacent to the anastomotic site. But alkaline phosphatase in the adventitia around the anastomotic site markedly decreased in activity. These decreased activities of the alkaline phosphatase were probably due to destruction of the vasa vasorum.

These findings suggested that the cause of these prominent and widespread necrotic regions were due to the absence of circulating blood which was stopped by temporarily clipping and destruction of the vasa vasorum during the operation.

But, normal and slight degenerative arterial walls did not indicate such prominent changes.

It was suggested from these experimental study that the pathological arterial walls were easily injured in the ischemic condition during the operation.