出血性急性貧血の創傷治療に及ぼす影響

寺 本 光 廣

The effect of hemorrhagic acute anemia on wound healing

Mitsuhiro TERAMOTO

緒 言

手術法、麻酔学、術後管理などのめざましい発達に伴い、全身状態不良の患者に対しても、必要に応じて積極的な外科的療法が適応されてきている。このような患者は当然生体の抵抗性が減弱し、手術創の治療過程は正常人と異なった過程をたどるものと考えられる。

創傷治療については、年齢差、性別、低蛋白血症、貧血、ビタミンC欠乏症、糖尿病、局所循環障害および感染などが影響するといわれている¹⁾が、これら生体の機能低下と、創傷の治療との関連性については、過去必ずしも明らかにされていない。

創傷の治療を障害する原因の1つと考えられている貧血、特に手術中の出血が、手術創の治療過程に影響を及ぼすか、否かは臨床的に興味のある問題である。創傷治療に及ぼす出血性貧血の影響については、多くの報告がなされているにもかかわらず、出血と手術創との関係はいまだ定説がなく、出血性貧血による創傷の治療遅延を肯定する説^{2,3)}と、創傷の治療遅延を否定する説⁴⁻¹²⁾との相反する報告がなされており、臨床的にも実験的にもその病態に関しては不明の点が多い。

著者は最近の臨床において、手術患者の輸血例と輸液例の間に創傷治療の違いを感じ、この問題の究明の手掛りとして、まず、出血性貧血の創傷治療に及ぼす影響を明らかにすることを考え、脱血による急性貧血家兎を作製し、組織学的および細胞動態学的解析からこの解明を試みた。

実 験 動 物

3週齢の雄性白色家兎を2～3週間飼育して、順調な生育を認めた900～1,100gの家兎247羽を使用した。

愛知学院大学歯学部第1口腔外科学教室（主任：深谷昌彦教授）

The First Department of Oro-Maxillo-Facial Surgery, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University (Chief: Prof. Masahiko Fukaya)

受付日：昭和55年4月20日

実 験 方 法

対照群：非脱血家兎を用いた。

貧血群：全身的影響の少ない脱血法として、著者らの開発した耳静脈縦切開法¹³⁾により、おのおの25 ml/kg body weightの脱血を行い、急性貧血家兎を作製して、脱血による急性貧血群（以下貧血群と略す）に供した。

実験 I

急性出血の全身的影響を知るため、1) 体重変化、2) 血液成分の変化、3) 各種臓器の組織学的変化の3項目について検索を行った。

1) 体重測定

対照群、貧血群おのおの5羽について逐日的に測定を行った。

2) 血液成分の測定

家兎5羽を供し、血液成分の正常値を求め、脱血を行ったのち逐日的に耳静脈より採血を行い、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、血漿蛋白値を測定し、血液成分の変化を観察した。測定方法は表1に示した。

3) 各種臓器の組織学的検索

対照群：非脱血家兎3羽を供し、屠殺後ただちに肝臓、腎臓、脾臓、胸骨、大腿骨および下顎骨を摘出し、ヘマトキシリン・エオジン染色およびPAS染色を施し、組織学的検索を行った。

貧血群：9羽の家兎を供し、脱血後2、4、8日毎に各3羽の家兎を屠殺し、同様の処置を施した。

実験 II

脱血による急性貧血が、創傷の治療経過に及ぼす影響

表 1 測定項目および測定方法

赤血球数：自動血球計算機 (Erma, ACM-500型)
血色素量：Cyanmethemoglobin 法 Hb メーター (Erma, 303 型)
ヘマトクリット値：毛細管法 (11,000 rpm × 5 min)
血漿蛋白値：血漿蛋白計 (Erma A-405 A 型)

図1 正常皮膚における経時的分裂指数 (コルヒチン 2 mg/kg 投与)

について、1) 創面積の逐日的変化、2) 組織学的変化、3) 分裂指数の変化の検索を行った。

創の作製: Paul ら¹⁴⁾の方法により外科的開放創 (以下創と略す) を作製した。ソムノベンチル (0.4 ml/kg) の耳静脈内麻酔下で、家兎背部を剃毛し、消毒後頭尾方向に3分割し、おのおのの中央部に 10 mm の円形のスタンプにて印をつけ、鋭利なハサミにて印に沿って皮膚を切除し、結合組織を十分に除去して背部筋膜を露出せしめて創とした。

1) 創面積の逐日的測定

対照群 5羽、貧血群 5羽の計10羽を用い、家兎右側背部皮膚に3個所の創を作製し、なら治療の処置を加えなかった。創面の痂皮は上皮辺縁を不明瞭にし、計測が不正確になるので、測定にあたって軽く除去し得る痂皮はできるだけ除去した後¹⁵⁻¹⁷⁾、肉眼的に治癒とみなされるまで創の長径、および短径を逐日的にノギスにて計測して、長径×短径を創面積¹⁸⁾として求めた。求められた創面積は創作製直後の創面積を基準として比率を求め、縮小率として表現した。

2) 組織学的検索

治癒過程を病理組織学的に検索するため、創作製後 1~10日の毎日、対照群、貧血群各 6羽、計 120羽について試料を採取し、通法に従い組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、組織学的観察を行い、さらに検索結果を数量的にあらわすために、再生上皮による創面の癒合が完了しているか否かを検定し、各時期における上皮癒合完了率 (癒合例数/実験例数) を求めた。

3) 分裂指数の計測

予備実験: 900~1,100 g の正常家兎 5羽にコルヒチン 2 mg/kg を耳静脈より投与し、経時的に蓄積分裂細胞数の変化を検索した。その結果3時間で蓄積分裂細胞数は最大に達し、その正常域の値は $1.5 \pm 0.2\%$ (分裂指数) であった (図1) ので、分裂指数の計測にあたってコルヒチン 2 mg/kg を屠殺3時間前に投与することにした。

本実験: 創作製後12, 24時間、2, 3, 4, 5, 6, 8, 10日ごとに対照群、貧血群各 5羽、計90羽を実験に供し、屠殺3時間前にコルヒチン 2 mg/kg を耳静脈内投与、試料は採取後ただちに10%中性ホルマリンにて固定ののち、通法に従い4 μ のパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。対照群、貧血群ともに創辺縁もしくは再生上皮先端より正常部位へ向かって 1 mm 間隔で 5 mm までの範囲を領域 I~V とし、そのおのおのについて基底細胞数およびその中の分裂細胞数を計測し、コルヒチン投与による分裂指数 (分裂細胞数/基底細胞数) を算出した。

実験結果

実験 I

1) 体重の逐日的変化

対照群および貧血群の逐日的体重変化を図2に示した。対照群は規則正しい体重増加を示した。一方、貧血群では脱血後一時的に体重減少をきたし、数日は増加をみなかった。7日目頃より規則正しい体重増加をみる。術後4週間を経過しても対照群には及ばなかった。なお、対照群、貧血群とも、創作製による体重への影響はなかった。

2) 血液成分の逐日的変化

血液成分の逐日的変化は脱血前の値 (正常値) を基準とし、その比率で表した (図3)。

赤血球数: 脱血12時間後には正常値の68.1%と急激に減少し、24時間後に66.2%と最低値を記録した後、徐々に回復し、2週間後には98.6%とほぼ正常値にまで回復した。

血色素量: 脱血12時間後に正常値の69.6%と最低値を記録したあと、徐々に回復し、2週間後には100%回復した。

ヘマトクリット値: 脱血12時間後に正常値の68.6%と最低値を記録したのち、徐々に上昇して2週間後には99.7%とほぼ正常値にまで回復した。

血漿蛋白値: 脱血12時間後に正常値の80.9%と最低値を記録したが、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値と比較して影響は少なく、10日後には正常値にまで回復した。

3) 各種臓器に与える影響

図 2 体重の逐日的変化

図 4 創面積の逐日的変化

図 3 血液成分の逐日的変化

肝臓、脾臓、胸骨、大腿骨、下顎骨は対照群の所見と脱血後2、4、8日の組織学的所見との間に差を認めなかったが、脱血群の2、4、8日の腎臓の組織学的所見では、糸球体のごく軽度な萎縮をうかがわせた。

実験 II

1) 創面積の逐日的変化

創作製後の対照群、貧血群の逐日的な創面積比は図4のごとくである。対照群では創作製後24時間で68%にまで縮小したのちも創面積は急速に縮小し、10日頃より縮小はゆるやかになったが、10～15日で肉眼的に創は閉鎖した。一方、貧血群では24時間後で73%に縮小したのち、4日まではわずかな縮小を示しただけであった。4日より10日まではほぼ直線的に創面積は縮小し、その後収縮はゆるやかになり、肉眼的には12～21日で創は閉鎖した。

平均治癒日数は対照群では12.8日、貧血群では16.3日であり、貧血群は対照群よりも3.5日の延長を認めた。

2) 組織学的所見

① 24時間所見

a) 対照群

創中央部では、血餅直下にきわめて高度に密集した炎

症性細胞浸潤が筋肉組織にまで認められる。創辺縁部上皮細胞の核は濃縮を示し、基底細胞層、棘細胞層、顆粒層は不明瞭で、結合組織は中等度から高度の炎症性細胞浸潤、出血、血管の拡張、充血などが認められる(写真1)。

b) 貧血群

創中央部では、血餅直下に高度の炎症性細胞浸潤を認め、対照群とはほぼ同様所見を呈している。創辺縁部上皮細胞は核濃縮し、結合組織には高度の炎症性細胞浸潤がみられる(写真2)。

② 2、3日所見

a) 対照群

創中央部では、痂皮直下に極めて密集した炎症性細胞が認められる。創辺縁部では上皮細胞が増殖し、核濃縮を認めない。上皮は2～3層からなり、基底細胞層、棘細胞層はみられるが、顆粒層、角質層は認めず、結合組織は24時間所見と同様に、血管の拡張、充血、出血を認めるが、炎症性細胞浸潤は24時間所見ほど著明でない(写真3)。

b) 貧血群

創中央部では、対照群と同様に痂皮直下にきわめて密集した炎症性細胞浸潤を認める。創辺縁部では、上皮細胞は核濃縮を示さないが、上皮細胞の増殖は対照群より少ない。上皮細胞は2～3層よりなり、基底細胞層、棘細胞層は認められるが、顆粒層、角質層はみられない。結合組織は対照群と同程度の血管の拡張、充血、出血、炎症性細胞浸潤などが認められる(写真4)。

③ 4、5日所見

a) 対照群

創中央部では、痂皮下には基底細胞、棘細胞からなる2～3層の上皮細胞の増殖が認められるが、顆粒層、角質層は認められない。結合組織の炎症性細胞浸潤は、2、3日所見と比較してかなり軽度である。創辺縁部では、痂皮下に3～10層の肥厚した上皮細胞の増殖が認められ、基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層が規則

写真 1 対照群24時間所見 (H-E 染色, ×180)

写真 4 貧血群2日後所見 (H-E 染色, ×180)

写真 2 貧血群24時間所見 (H-E 染色, ×180)

写真 5 対照群4日後所見 (H-E 染色, ×180)

写真 3 対照群2日後所見 (H-E 染色, ×180)

写真 6 貧血群4日後所見 (H-E 染色, ×180)

正しく配列している。結合組織は軽度の血管の拡張、充血、出血、炎症性細胞浸潤などがみられるが、線維芽細胞は増殖し、線維の走向もかなり規則正しい膠原線維の形成が随所に認められる(写真5)。

b) 貧血群

創中央部では上皮形成はみられず、痂皮下には中等度の炎症性細胞浸潤が認められる。創辺縁部では、痂皮下に3～8層の基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層よ

りなる肥厚した上皮が増殖している。上皮の増殖は2, 3日所見より進行しているが、対照群ほどではない。また、結合組織は中等度の血管の拡張、充血、出血および炎症性細胞浸潤などがみられるが、かなり大量の線維芽細胞の出現も観察される(写真6)。

④ 6, 7日所見

a) 対照群

創中央部では、痂皮下に6～10層の細胞よりなる上皮

写真 7 対照群 6 日後所見 (H-E 染色, $\times 180$) 写真 9 対照群 8 日後所見 (H-E 染色, $\times 180$) 写真 8 貧血群 6 日後所見 (H-E 染色, $\times 180$) 写真 10 貧血群 8 日後所見 (H-E 染色, $\times 180$)

形成がかなり進行し、反対側の上皮と癒合、あるいは癒合直前の所見をみることが出来る。癒合例では上皮に基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層が規則正しく配列している像が観察される。癒合直前例では基底細胞層、棘細胞層は認められるが、顆粒層、角質層はみられない。結合組織は 4, 5 日所見と比較して、炎症性細胞浸潤がかなり減少し、線維芽細胞と膠原線維形成が認められる(写真 7)。創辺縁部では 6~10 層の細胞からなる上皮は基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層に規則正しく配列している。結合組織では新生血管が多く、4, 5 日所見と比較して線維形成もかなり進行し、炎症性細胞浸潤は減少している。

b) 貧血群

創中央部の上皮形成は対照群ほど著明ではない。上皮細胞は 3~6 層からなり、基底細胞層、棘細胞層は認められるが、顆粒細胞層、角質層はみられない。痂皮下の結合組織では、炎症性細胞浸潤は軽度で、多数の線維芽細胞がみられ、少量の膠原線維形成も認められる(写真 8)。創辺縁部では、痂皮直下に 6~10 層の上皮細胞が増殖し、基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層が規則正しく配列している。結合組織は新生血管、幼弱線維形成などが認められる。

⑤ 8, 9 日所見

a) 対照群

創中央部の痂皮下では上皮の癒合が完了し、基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層が規則正しく配列している。結合組織は 6, 7 日所見よりも新生血管が豊富で、線維芽細胞および膠原線維も多く、これらの膠原線維は上皮と平行に配列している(写真 9)。創辺縁部も、創中央部とほとんど同様所見がみられる。

b) 貧血群

創中央部では、痂皮下を這うように増殖した数層の細胞よりなる上皮は、癒合が完了しているか、あるいは癒合直前であり、結合組織には豊富な新生血管と線維芽細胞および膠原線維が認められるが、膠原線維の配列は対照群に比べ不規則である(写真 10)。創辺縁部は、対照群のように 4~8 層の細胞からなる上皮が認められ、基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層が規則正しく配列しているのが観察される。結合組織は新生血管に富み、線維芽細胞および膠原線維は上皮と平行に配列している。

⑥ 10 日所見

a) 対照群

創は完全に上皮で覆われ、痂皮は脱落し、創中央部の

表 2 逐日的上皮癒合完了率

日 数	対照群	貧血群
4	0/18 (0 %)	0/18 (0 %)
5	6/18 (33.3%)	0/18 (0 %)
6	10/18 (55.6%)	3/18 (16.7%)
7	15/18 (83.3%)	9/18 (50.0%)
8	18/18 (100 %)	12/18 (66.7%)
9	18/18 (100 %)	15/18 (83.3%)
10	18/18 (100 %)	18/18 (100 %)

写真 11 対照群10日後所見 (H-E 染色, ×180)

写真 12 貧血群10日後所見 (H-E 染色, ×180)

図 5 領域 I における分裂指数の逐日的変化

表 3 開放創作製後の分裂指数

		12時間	24時間	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	8 日	10日
Ⅰ	貧血群	0.79±0.84	2.27±1.69	2.67±1.03	5.49±1.19	7.33±1.56	7.39±1.27	4.95±1.60	3.17±0.81	2.64±0.82
	対照群	2.42±1.24	7.26±1.78	7.84±1.63	8.17±1.24	5.57±1.64	3.46±1.09	2.69±0.51	1.73±0.34	1.62±0.45
Ⅱ	貧血群	0.80±0.45	1.87±0.79	0.91±0.62	3.35±1.65	2.71±1.44	2.36±0.70	3.51±1.47	1.63±0.47	1.28±0.57
	対照群	1.71±1.04	3.77±1.81	2.88±1.39	4.96±1.48	3.23±1.60	2.10±0.53	1.84±0.50	1.48±0.58	1.68±0.72
Ⅲ	貧血群	1.40±1.18	1.73±1.25	0.92±0.90	1.67±0.70	2.26±1.19	1.75±0.79	1.31±0.63	1.15±0.38	0.97±0.65
	対照群	1.45±1.46	2.33±1.79	1.94±1.36	1.93±0.84	1.74±0.97	1.47±0.57	1.33±0.41	1.10±0.37	1.73±0.35
Ⅳ	貧血群	1.19±0.81	1.27±1.09	1.22±0.52	1.27±0.76	1.89±1.13	1.90±0.46	1.07±0.66	1.18±0.48	0.96±0.43
	対照群	1.17±1.10	1.88±1.69	1.71±2.02	1.40±0.67	1.72±1.02	1.53±0.38	1.41±0.46	0.96±0.38	1.51±0.58
Ⅴ	貧血群	1.02±1.13	1.35±0.58	1.01±1.08	1.15±0.60	1.56±0.87	1.94±1.09	0.99±0.54	1.17±0.45	0.90±0.23
	対照群	1.39±0.97	1.17±1.10	2.30±2.23	1.92±1.18	1.06±0.79	1.22±0.31	1.36±0.51	0.95±0.33	1.74±0.72

上皮では基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層が明瞭に認められる。結合組織には新生血管が豊富で、膠原線維は規則正しく走向しているが、一部には極く軽度の炎症性細胞浸潤がみられる(写真11).

b) 貧血群

創は完全に上皮で覆われ、その上に痂皮が残存してい

るものと、脱落しているものがある。創中央部の上皮では、基底細胞層、棘細胞層、顆粒層、角質層がかなり明瞭であり、結合組織の膠原線維は対照群に比べ不規則で、炎症性細胞浸潤も軽度に認められる(写真12).

⑦ 上皮癒合完了率

創作製後の再生上皮による創面癒合を組織学的に検索

した、逐日的な上皮癒合完了率を表2に示した。

対照群では、5日後ですでに33.3%に癒合の完了が認められ、6日で55.6%、7日で83.3%、8日では全例に再生上皮による癒合完了をみた。一方、貧血群では、6日後に初めて16.7%に癒合がみられ、7日で50.0%、8日で66.7%、9日で83.3%、10日後には全例に再生上皮による癒合が認められ、貧血群は対照群よりも2日程度の上皮癒合の遅延を認めた。

3) 分裂指数の逐日的変化

創作製後12時間より10日までの分裂指数は対照群、貧血群ともに領域Ⅰにおいて最も著しい分裂指数の増加を認め、次いで領域Ⅱにおいて分裂指数の増加がみられたが、領域Ⅲ、Ⅳ、Ⅴでは正常値との差を認めなかった(表3)。

領域Ⅰにおける創作製後の分裂指数の逐日的な変化を図5に曲線で示した。対照群では、創作製後12時間より分裂指数は急激な上昇を示し、24時間後には $7.3 \pm 1.8\%$ と3日後の最高値 $8.2 \pm 1.2\%$ にはほぼ近い値にまで上昇した。その後は徐々に減少を始め、6日後には $2.7 \pm 0.5\%$ とわずかな上昇を認めるだけで、8日後には $1.7 \pm 0.3\%$ とほぼ正常値に等しい値を示した。一方、貧血群では創作製後24時間より分裂指数は徐々に上昇を始め、4日後に $7.3 \pm 1.6\%$ と最高値近くまで上昇し、5日後の $7.4 \pm 1.3\%$ をピークとし、その後徐々に減少を始め、10日後には $2.6 \pm 0.8\%$ となり、正常域よりやや高い値にまで低下した。すなわち、貧血群は対照群よりも分裂開始時期に遅延がみられ、対照群を追うがごとく上昇し、2日遅れて最高値を示したが、その後も対照群に近づいたものの、全期間を通じ、2～3日程度の遅延を認めた。

総括および考察

貧血の創傷治癒に及ぼす影響に関する研究は、古くから多くの文献に接することができる。臨床面で、1966年Guineyら²⁾は、腹部手術後に創の哆開をきたした症例の50%が貧血例であったのに対し、正常治癒を示した症例に含まれる貧血例は20%であったと報告、貧血が創傷の治癒に関与することを示唆した。一方、Marshら(1954)⁴⁾は手術創の哆開と貧血の関係はないと報告、Mannら(1962)⁵⁾、Alexanderら(1966)⁶⁾も同様の見解を示すなど、2つの相反する報告がみられ、問題が提起されたままになっている。

動物による実験的研究も種々接するが、脱血の直接影響に関するものは少ない。Sandblom(1944)³⁾は家兎の頸動脈より、総量20～45mlの脱血を行ったあとに作製した創の術後5日の抗張力が、正常家兎に作られた創の抗張力より低値を示したと報告し、抗張力から貧血の治癒に対する影響を指摘している。多くの報告は脱血後、血漿輸血、Dextran輸液などの影響を考慮したもの

で、Besserら⁷⁾、Truebloodら⁸⁾、Fong⁹⁾およびJurkiewiczら¹⁰⁾はいずれも創傷の治癒は血漿輸血によって脱血による影響を受けないと述べ、Sandbergら¹¹⁾はDextran輸液が同様結果を得ると報告している。しかし、これらの多くの研究はいずれも条件がまちまちであり、この問題を結論づけるような内容を示していない。

創傷治癒の観察について1929年Howesら¹⁹⁾、1930年Harveyら²⁰⁾による治癒速度を客観的に表す方法として、創傷部の抗張力を用いる方法が報告されて以来、この方法が貧血と創傷に関する研究に多く応用されている^{3,7-9,11)}。しかし、摘出した試料片より求めた抗張力の値は、生体内での値とは異なるとの反論²¹⁾もあり、この方法が創傷治癒を検討するに最良の方法とは思えない。また、創の肉眼的所見から創面積を逐日的に測定して、創の縮小率から治癒速度を追求し、治癒経過を数量的に解析する試みは、Carrel(1916)²²⁾以来多く用いられ、応用による種々の実験方式が報告されている²³⁻²⁵⁾。また、組織欠損の修復過程に関する組織学的観察は当然のこととして多くの報告²⁶⁻²⁹⁾をみる。さらに近年になって、コルヒチンを用いた細胞レベルでの研究³⁰⁻³⁴⁾も行われ、分裂指数の変動などからの治癒過程の追求も行われている。

創傷の治癒過程を観察するには、数量的計測、肉眼的観察、力学的検索、組織学的検索、生化学的検索、オートラジオグラフィーなどの幅広い分野からの検索を行い、総合して判断を下すことが必要であり、貧血と創傷との関係を論ずるには、動物の設定、貧血の条件の規定、治癒過程の検索法など十分に検討されなければならない。

著者は、過去比較的多く用いられている家兎を実験動物として選び、創面積の逐日的変化の追求、病理組織学的検索および組織像からみた逐日的上皮癒合率の算定、細胞レベルから分裂指数の変動など多面的な観察を試みた。

また、本実験は急性貧血動物の条件を一定にすること、創傷に及ぼす影響に貧血以外の要素を入れないことが必要であり、脱血操作による侵襲をできるだけ小さくする必要があると考えた。従来、家兎の脱血方法としては、心臓穿刺法^{9,12)}、頸動脈穿刺法^{3,35)}、大腿動脈穿刺法¹¹⁾が多く用いられている。しかし、著者ら¹³⁾が報告したように、これらの方法は総頸動脈圧に著しい変動を示し、呼吸抑制などを併発して、大量の脱血に耐えないなど、脱血操作による全身の影響が大きいことがうかがわれた。著者らの開発した耳静脈縦切開法は、25 ml/kgの脱血で操作中臨床的著変を示さず、総頸動脈圧の変化も比較的緩やかな影響を受けるにすぎず、50分程度の経過で回復しており、本実験に適する脱血法と考え、この方法を採用した。

まず、成長期家兎を用い、耳静脈縦切開法による25

ml/kg 脱血の全身的影響を検索した。体重の逐日的変化では、対照群が規則正しい体重増加を示すのに対して、貧血群は一時的に体重減少がみられたのち横ばいを続け、7日頃から規則正しい増加を続ける。体重増加曲線は対照群をやや追っているが、脱血後4週間を経てもなお対照群の体重には及ばない。多量の急激な脱血は成長期の家兎に長期間にわたって影響するものと考えられる。渡辺³⁶⁾は創形成の体重に及ぼす影響について、ラットの腹部に長さ5cmの全層に達する切創を加えたところ、術後に軽度の体重減少をみたが、2病日には早くも増加傾向があり、3病日には術前値に回復し、以後順調に増加したと述べている。著者の今回の実験では、動物の大きさに比して侵襲が小さいためか、対照群、貧血群ともに創作製による体重への影響はなかったと思われる。

血液所見にみられる脱血の影響は、血漿蛋白値に最も少なく、12時間後に19.1%の減少をみたにとどまり、10日後には回復をしている。血色素量、ヘマトクリット値は12時間後に約30%の減少をみたのち、2週間でほぼ回復し、最も大きく影響した赤血球数は12時間で、血色素量、ヘマトクリット値と同様の減少であったが、24時間で約34%の最大減少値を示している。血液所見は7日頃まで急激な回復を示し、以後緩やかに回復し、すべての回復はほぼ2週間であった。脱血の影響が血漿蛋白値に最も少なく、赤血球数に最も大きかったが、これは血漿蛋白が体蛋白からの移行により容易に代償されるのに対し、赤血球数はErythropoietinが未分化な幹細胞に作用して増生されるまでには、かなり長時間を要するためではないかと推測される。また、脱血後に一時的に減少し、横ばいを続けた体重は、血漿蛋白値が正常値に近づく7日頃より規則正しい増加を示したが、血漿蛋白値の減少が成長期の家兎の体重増加にも悪影響を及ぼすのではないと思われる。

次に脱血の創傷治癒に及ぼす影響を検索するため、まず、径10mmの可及的に一定にした創を、作製後の肉眼的な逐日的変化を創面積比で比較した。対照群では創作製後創面積は停滞することなく急速に縮小したのに対し、貧血群では術後5日までは緩徐な縮小を示しただけであり、その後対照群とほとんど平行な治癒曲線をたどり、肉眼的治癒の平均日数は対照群12.8日であるのに対し、貧血群は16.3日と延長している。渡辺¹⁵⁾は作製された創面積平均値がほぼ等しい場合、平均治癒が遅い群は早い群に比べて、治癒が不良であると考えてよいと述べている。この考え方からすれば肉眼所見のみで、すでに急性貧血が創傷治癒に悪影響を及ぼしたのと考えることができる。また、創面積の縮小率からみた場合、脱血による創傷治癒への影響は、創作製後の初期、特に5日頃までの間に著しいと考えられる。すなわち、能勢²⁸⁾らが述べている創傷治癒の初期数日間の停滞期が、貧血群

では対照群に比べて長く、この原因としては、上皮形成の開始時期の遅延が原因と考えられる。

そこで著者は、この推測を明らかにするため、逐日的な組織学的観察を行った。対照群では創作製後2日で上皮の形成がかなり進行し、6、7日で膠原線維の形成が中等度にみられ、8、9日ではその走向が規則正しくなっている。一方、貧血群では創作製後2日では上皮形成は認められるもののごく少量であり、6、7日では膠原線維はごく少なく、8、9日になっても走向は不規則であり、組織学的にも対照群に比較して2～3日程度の遅延が認められた。さらに、著者は組織学的な検索結果を数量的に表すために、逐日的に再生上皮による癒合完了率(癒合例数/実験例数)を求めた。その結果、対照群が創作製5日後に33.3%、8日で全例に再生上皮による癒合を認めたのに対し、貧血群は5日では1例の癒合例もなく、8日で66.7%、10日で全例の上皮性癒合がみられ、貧血群は対照群よりも2日程度の創傷治癒遅延を示し、上皮形成の遅延が創面積の縮小遅延の原因であることを認めた。

次に著者はコルヒチン3時間蓄積による分裂指数を比較検討した結果、貧血群の再生上皮による癒合完了時期の遅延と、領域Ⅰの分裂指数の変動の遅延との間に相関関係を認めた。すなわち、対照群では創作製後12時間より分裂指数は急増加を示し、24時間後にはほぼ最高値にまで増加し、3日後より減少を始め、再生上皮による癒合が完了する時期に一致して、分裂指数は術前値とほぼ等しい値にまで低下していた。一方、貧血群では24時間より分裂指数は徐々に増加を始め、5日後に最高値を示し、その後徐々に減少し、10日後になりほぼ術前値にまで低下したが、逐日的な分裂指数の検索結果は、組織学的所見と同様に、貧血群は対照群よりも2～3日の遅延を認めた。

以上の実験成績から25 ml/kg 脱血による急性貧血が成長期の家兎背部皮膚の創傷治癒に及ぼす影響は2～3日程度の治癒遅延と考えられる。この創傷治癒遅延は、創作製後の初期変化において、組織の創傷修復帰転に当然増大してくる細胞分裂が、貧血群では対照群ほど著明ではなく、しかも2～3日の遅延を示した。その結果として、組織学的には貧血群における上皮形成の2～3日の遅延として観察され、肉眼的には創面積縮小率の2～3日の遅延をきたしたものと考えられる。

このような創傷治癒遅延の原因として、Rhoadsら(1942)³⁷⁾は血清アルブミンが創傷治癒過程に大きな影響を及ぼすとし、術前より低蛋白血症を示すものに手術侵襲を加えると、血清アルブミンは一層減少し、創傷治癒遅延をきたすと述べ、渡辺(1967)³⁶⁾はラットで8種類の必須アミノ酸の、1つずつ欠除した食餌で飼育したところ、Valine, Methionine, Lysine, Phenylalanineをそれぞれ欠除した食餌群の皮膚切開部の抗張力は、対照群

より15~30%低かったと報告し、Daly (1972)³⁸⁾ はラットを用いて術前4週間蛋白食を与えずに低蛋白血症を作製し、腸管吻合を行い耐圧力を測定した結果、対照群より25%低かったと報告している。以上のように手術侵襲により血漿蛋白値は一時的に減少し、これが創傷治癒過程に少なからぬ影響を及ぼしていることが推定される。著者の実験でも、25 ml/kg 脱血により脱血前値よりも約20%血漿蛋白値の減少を認めたが、貧血の影響に関する実験には考慮されなければならない要素が多く、本実験においても、2~3日の創傷治癒遅延が脱血による低血漿蛋白だけに由来するとは考えられない。

Schires ら (1961)³⁹⁾ は Cr⁵¹, I¹³¹, S³⁵ を用いて赤血球数、循環血液量、細胞外液を測定し、外科侵襲時には細胞外液の喪失がかなり多いことを発表した。Fountain ら (1966)⁴⁰⁾ は外科的手術操作を模する意味において、ラットを開腹し腸管をガーゼで軽く摩擦したところ、その部分の組織特に漿膜下組織に非常に大量の血漿成分が貯留すると報告し、Adamsons ら (1967)⁴¹⁾ は皮膚に切創を作製したところ、創部に 4 g/100 g tissue の水分貯留を認めたと述べている。また、Hunt ら (1967)⁴²⁾ は循環血液量減少により、創部への酸素供給が極度に減少すると報告し、創部の酸素圧低下は創傷治癒を遅延させるとの報告^{43,44)} もみられる。本実験は開腹術、開胸術とは違い、third space への水分喪失は軽微と思われるが、開放創であるため Adamsons ら⁴¹⁾ と同程度以上の局所の水分貯留および 25 ml/kg 脱血による循環血液量の減少は否定できず、Hunt ら^{42~44)} の述べているように、循環血液量の減少により創部の酸素分圧が低下したために修復性の細胞分裂能が弱まり、上皮の再生が阻害され、創傷治癒の遅延が生じたと考えられる。

結 語

25 ml/kg 脱血による急性貧血が、900~1,100 g の成長期家兎に及ぼす影響を比較検討した結果を得た。

1. 貧血群では脱血後一時的に体重減少をきたし、術後4週間を経過してもなお対照群には及ばず、多量の脱血は成長期の家兎に長期にわたって影響を及ぼす。

2. 25 ml/kg 脱血による血液成分への影響は約2週間であった。

3. 創面積縮小率を比較した結果、貧血群は対照群より2~3日の創傷治癒遅延を認めた。

4. 組織学的検索結果より、貧血群は対照群より2~3日の創傷治癒遅延を認めた。

5. 逐日的分裂指数測定において、貧血群は対照群よりも2~3日の遅延を認めた。

6. 組織学的検索、分裂指数の逐日的観察から、貧血群と対照群の治癒過程の相違は、その初期において著しかった。

稿を終えるに臨み、ご指導、ご校閲を賜った教室主任 越谷昌彦教授に深謝致します。また、ご教示を賜った病理学教室 亀山洋一郎教授およびご協力を賜った第1口腔外科学教室員各位に謝意を表します。

本論文の要旨は、昭和54年4月、第33回日本口腔科学会総会および昭和54年10月、第24回日本口腔外科学会総会において発表した。

引 用 文 献

- 1) 毛利喜久男：創傷治癒の生化学の進歩。臨外 30: 983 1975.
- 2) Guiney, E.J., et al.: Wound dehiscence. Arch Surg 92: 47 1966.
- 3) Sandblom, P.: The tensile strength of healing wounds. Systemic factors. Anemia and dehydration. Acta Chir Scandinav 90 (Supp. 89): 71 1944.
- 4) Marsh, R.L., et al.: Factors involving wound dehiscence. Study of one thousand cases. JAMA 155: 1197 1954.
- 5) Mann, L. S., et al.: Disruption of abdominal wounds. JAMA 180: 99 1962.
- 6) Alexander, H.C., Prudder, J.F.: The causes of abdominal wound disruption. Surg Gynec Obstet 122: 1223 1966.
- 7) Besser, E.L., Ehrenhaft, J.L.: The relationship of acute anemia to wound healing. Surg 14: 239 1943.
- 8) Trueblood, H.W., et al.: The effect of acute anemia and iron deficiency anemia on wound healing. Arch Surg 99: 113 1969.
- 9) Fong, T.P., et al.: Chronic anemia, wound healing, and red cell 2,3-diphosphoglycerate. Surg 79: 218 1976.
- 10) Jurkiewicz, M.J., Garrett, L.P.: Studies on the influence of anemia on wound healing. AM Surg 30: 23 1964.
- 11) Sandberg, N., Zederfeldt, B.: Influence of acute hemorrhage on wound healing in the rabbit. Acta Chir Scandinav 118: 367 1959/1960.
- 12) Heughan, C., et al.: The effect of anemia on wound healing. Ann Surg 179: 163 1974.
- 13) 寺本光廣, 他：家兎における脱血による急性貧血作製法について。愛院大歯誌 17: 360 1980.
- 14) Paul, H.E., et al.: Biochemistry of wound healing. I. The thiamine content of healing tissue of skin wounds. Arch Biochem 7: 231 1945.
- 15) 渡邊治生：酸性及ビ「アルカリ」性食餌ノ創傷治癒ニ及ボス影響ニ関スル実験的研究。日外会誌 38: 1656 1938.
- 16) 植草 実：創傷治癒ニ及ボス食餌ノ影響ニ関ス

- ル実験的研究. 日外会誌 44: 1030 1944.
- 17) 大下久代: 創傷治癒に及ぼすクロロプロマジンおよび低体温の影響に関する研究. 東邦医誌 8: 1007 1961.
- 18) 牛島康栄, 他: 創傷治癒過程の情報処理について. 現代の臨床 9: 52 1975.
- 19) Howes, E.L., et al.: The healing of wounds as determined by their tensile strength. JAMA 92: 42 1929.
- 20) Harvey, S.C., Howes, E.L.: Effect of high protein diet on the velocity of growth of fibroblasts in the healing wound. Ann Surg 91: 641 1930.
- 21) Hugo, N.E., et al.: Effect of chronic anemia on the tensile strength of healing wounds. Surg 66: 741 1969.
- 22) Carrel, A., Hartmann, A.: Cicatrization of wounds. I. The relation between the size of a wound and the rate of its cicatrization. J Exp Med 24: 429 1916.
- 23) Noüy, P.L.: Cicatrization of wounds. II. Mathematical expression of the curve representing cicatrization. J Exp Med 24: 451 1916.
- 24) 奥田義正: 創傷治癒ニ関スル研究. 日外会誌 32: 1 1931.
- 25) 大磯敏雄: 創傷治癒の数学的表現. 科学 8: 562 1938.
- 26) Howes, E.L.: The rate and nature of epithelization in wounds with loss of substance. Surg Gynec Obstet 76: 738 1943.
- 27) 阪本義樹: 創傷治癒過程の組織化学的研究. 阪大歯誌 4: 643 1959.
- 28) 能勢柳三: 各種薬剤の創傷治癒に及ぼす影響について. 十全会誌 72: 424 1966.
- 29) 井上四郎: 表皮細胞の増殖と分化に関する研究, 特に ^3H -thymidine Autoradiography による再生過程についての検索. 日整会誌 43: 581 1969.
- 30) Gelfant, S.: A study of mitosis in mouse ear epidermis *in vitro*. I. Cutting of the ear as mitotic stimulant. Exp Cell Res 16: 527 1959.
- 31) Gelfant, S.: Initiation of mitosis in relation to the cell division cycle. Exp Cell Res 26: 395 1962.
- 32) Blenkinsopp, W.K.: Cell proliferation in the epithelium of the oesophagus, trachea and ureter in mice. J Cell Sci 5: 393 1969.
- 33) 山田史郎: 凍結による皮膚損傷と回復の細胞動態論的解析. 日口外誌 19: 518 1973.
- 34) 田邊 昭: 表皮細胞の増殖と分化に対する放射線の影響——表皮における増殖単位 (EPU) からの解析——. 日口外誌 26: 270 1980.
- 35) 向井 浄, 佐藤誠治, 富山嘉六: 実験的急性出血に対する5%マルトース加乳酸リンゲル液 (MI-5 L) の効果. 薬理と治療 5: 990 1977.
- 36) 渡辺達雄: 創傷治癒に及ぼすアミノ酸の影響に関する研究. 日外会誌 68: 395 1967.
- 37) Rhoads, J.E., Fliegelman, M.T., Panzer, L. M.: The mechanism of delayed wound healing in the presence of hypoproteinemia. JAMA 118: 21 1942.
- 38) Daly, J.M.: Effects of protein depletion on strength of colonic anastomoses. Surg Gynec Obstet 134: 15 1972.
- 39) Schires, T., Williams, J., Brown, F.: Acute change in extracellular fluids associated with major surgical procedures. Ann Surg 154: 803 1961.
- 40) Fountain, S.S., Schloerf, P.R.: The dynamics of posttraumatic intestinal fluid sequestration. Surg Gynec Obstet 123: 1237 1966.
- 41) Adamsons, R. J., Musco, F., Enquist, I.F.: The water content of healing incisions. Surg Gynec Obstet 124: 733 1967.
- 42) Hunt, T.K., et al.: Tissue oxygen tensions during controlled hemorrhage. Surg Forum 18: 3 1967.
- 43) Ehrlich, H.P., Grislis, G., Hunt, T.K.: Metabolic and circulatory contributions to oxygen gradients in wounds. Surg 72: 578 1972.
- 44) Hunt, T.K., Pai, M.P.: The effect of varying ambient oxygen tensions on wound metabolism and collagen synthesis. Surg Gynec Obstet 135: 561 1972.