原 著

細小動脈置換における血小板凝集抑制剤
Ticlopidine および Aspirin の効果橋 本 正 人* 田 辺 達 三* 本 間 浩 樹*
森 山 裕* 新 里 順 勝* 坂 本 克 輔*
武 岡 哲 良* 青 木 秀 俊* 杉 江 三 郎*Effects of ticlopidine, an inhibitor of platelet aggregation
and aspirin in arteriole substitutionMasato HASHIMOTO*, Tatsuzo TANABE*, Hiroki HONMA*,
Yutaka MORIYAMA*, Masakatsu SHINSATO*, Katsusuke SAKAMOTO*,
Tetsuyoshi TAKEOKA*, Hidetoshi AOKI* and Saburo SUGIE*

Key words: prosthetic vascular graft thrombosis, scanning
electron microscope, ticlopidine, aspirin

We have long investigated the development and improvement of the artificial vessels. Recently, we tried to examine the substitution for the vena cava, the shunt between aorta and pulmonary artery as well as femoral artery substitution have also been examined in dogs using Gore-Tex grafts.

In the preliminary study where canine femoral artery was substituted with Gore-Tex artificial blood vessels (inner diameter, 2.8mm), the graft was kept patent to some degree for three weeks after the substitution but all grafts were obstructed six weeks after.

To obtain the better results in the small artery grafting, we used modified Gore-Tex graft of inner diameter of 3.0 mm. In addition, a large dose of ticlopidine, a new platelet aggregation inhibitor, or aspirin was administered to dog before and after the surgery.

In the control group without drug treatment, the graft patency for a long period was hardly observed, while all grafts were patent when ticlopidine or aspirin in a large amount was used.

The histological and electron scanning microscopic findings of the grafts confirmed strong inhibitory action of ticlopidine and aspirin against blood platelet aggregation. Especially, in the ticlopidine-treated group, aggregated erythrocytes on the surface of the graft were fewer and the fibrin layer was thinner as compared to the aspirin-treated group.

* 北海道大学医学部第二外科〔〒060 札幌市北区北14条西5丁目〕, The Second Department of Surgery, School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan. (受付1979年12月17日, 受理1980年1月24日)

はじめに

われわれは長年にわたり人工血管の開発、改良に関する実験、研究を続けており、最近は Gore-Tex 人工血管を用いての 犬大静脈置換、大動脈―肺動脈シャント、大腿動脈置換などについて検討を行っている。

内径 2.8mm の実験用 Gore-Tex 人工血管を用いた犬大腿動脈置換の予備実験では、移植後 3 週まではある程度開存するグラフトが見られるが、6 週以降ではすべてのグラフトが閉塞していた。

そこで細小血管移植における成績向上を計るため改良された内径 3.0mm の Gore-Tex 人工血管を用い、手術前後に新しい血小板凝集抑制剤 Ticlopidine または Aspirine の大量投与を試みた。

その結果、移植成績の著しい向上が見られたので、その組織学的所見、走査電子顕微鏡所見を中心に報告する。

I. 予 備 実 験

雑種成犬 16 頭を用い静脈麻酔下に左右両側大腿動脈を露出してこれを 1～2 cm 切除し、長

さ 2.5～4.5cm の Gore-Tex 人工血管で置換した (表 1)。

用いた人工血管は実験用サンプルで、製品番号 8805H、内径 2.8mm、外径 3.5mm、fibril length 22.3 μ 、porosity 80.4% のものである。

吻合は直角端々、斜端々または端側で、6—0 プロリン糸による 2 点支持連続縫合によって行なった。

術後 3 週以内に剖検した 6 頭 (G-5, 6, 7, 8, 9, 15) のうち 3 頭は両側とも開存していたが、うち 1 頭では吻合部に狭窄があり、どのグラフトの内膜も赤色で、良好な治癒過程にあるとは考えられなかった。3 種の吻合法のうちでは斜端々吻合施行群にのみ開存例が見られた。

術後 6 週以上経過した 10 頭ではすべてのグラフトが閉塞していた。

感染によって閉塞したと推定されるグラフトをのぞく他のすべてのグラフトは吻合部器質化血栓によると推定される閉塞であった。多くのグラフトの内腔は血漿様の液体で満たされ、グラフト内面は露出している状態であったが、凝血塊で満たされているグラフトもみられた。

以上の結果から、他の人工血管より抗血栓性があるといわれる Gore-Tex でも、グラフト自

Table 1 Results of substitution of Gore-Tex artificial vessel for vessel for femoral artery in dogs

(1) Preliminary experiments

dog No.	length of graft		anastomosis	observation period	patency	
	left	right			left	right
G-1	3.5cm	3.5cm	end-to-end anastomosis	60 days	—	—
G-2	3.0	2.5	"	49	—	—
G-3	3.0	3.0	"	47	—	—
G-4	3.0	2.5	"	42	—	—
G-5	4.0	4.0	"	21	—	—
G-6	4.0	4.0	slanting end to end anastomosis	21	+	+
G-7	3.5	3.5	"	21	+	+
G-8	4.0	3.5	"	10	—	—
G-9	4.5	4.5	"	21	+	+
G-10	3.5	3.5	"	105	—	—
G-11	3.0	3.0	"	103	—	—
G-12	4.0	3.5	"	102	—	—
G-13	4.0	4.0	end anastomosis	96	—	—
G-14	4.0	4.0	"	51	—	—
G-15	4.0	4.0	"	21	—	—
G-16	4.0	4.0	"	45	—	—

Table 2 Result of substitution of Gore-Tex artificial vessels for femoral artery in dogs

(2) Main experiment

experiment group	dog No.	body weight	observation period	total dosage	patency	
					left	right
I. ticlopidine group	T-0	10kg	4 days	0.4	+	+
	T-1	15	56	84	+	+
	T-2	15	26	39	+	+
	T-3	12	46	55.2	+	+
	T-4	9	46	33.3*	+	-
II. aspirin group	A-0	10	4	0.4	+	-
	A-1	10	54	54	+	+
	A-2	10	25	25	+	+
	A-3	12	49	58.8	+	+
	A-4	10	44	44	+	+
III. control group	C-0	12	4	0	+	+
	C-1	10	47	0	-	-
	C-2	8	47	0	-	-
	C-3	10	18	0	-	-
	C-4	9	45	0	-	-

* Whole course of ticlopidine treatment was not complete

体の改良, 吻合法の改良, あるいは抗血栓剤の投与など, 何らかの吻合部血栓防止策が講じられなければ, 細小動脈移植では長期開存は望めないであろうと推測された。

II. 本 実 験

1. 材料と方法

雑種成犬15頭を用い, 静脈麻酔下に左右両側大腿動脈を約1.5cm切除し, 長さ3.0cmの Gore-Tex 人工血管により置換した (表2)。

用いた Gore-Tex 人工血管の内径は3.0mm, fibril length 30 μ , Porosity 85.0%である。

吻合は人工血管と動脈の径の同じものでは直角端々, 動脈の径の小さいものでは斜端々とし, 6-0プロリン糸を用い, 2点支持, 半周連続, 半周結節縫合とし, すべての手術を同一の熟練者が拡大鏡を用いて行なった。

15頭を5頭づつ3群にわけ, I群は ticlopidine 群, II群は aspirin 群, III群は無処置対照群とした。

ticlopidine および aspirin はいずれも体重1kg 当り 100mg を1日1回経口投与とし, 手術

前3日間, 手術当日および手術後全期間施行した。

各群中1頭のグラフトは, 移植直後の変化を検討するため, 移植後10分または30分, および1時間で剔出し, その内面の走査電子顕微鏡による観察を行なった。

各群中1頭は2~3週で, 残り3頭は6週以後に犠牲死させ, グラフトの開存性, 吻合部, 内腔の肉眼所見, 組織学的所見, 走査電子顕微鏡所見につき検討した。

2. 成 績

1) 手術時の出血

Gore-Tex 人工血管は手術に際してあつかいやすく, 吻合操作で技術的に困難を感じることはなく, 対照群では吻合直後に吻合部の針穴あるいは結節縫合のすき間から多少の出血はあっても, 縫合を追加することなく, 圧迫によりすべて10分以内に止血した。

ticlopidine 群では, 吻合後の対照群と同様の出血が10分以内の圧迫では全例止血せず, 6グラフトで30分以上, 2グラフトでは1時間以上の圧迫を必要とした。aspirin 群でも同様に止

Fig. 1 Ticlopidine-treated group. Ten minutes after the graft, SEM 1,000 $\times$. Exposed Gore-Tex surface and one erythrocyte are seen at slightly right portion of the center. The length of the right shorter block on the white line shown at the left bottom represents 5 μ .

Fig. 2 Ticlopidine-treated group. One hour after the graft, SEM 1,000 $\times$. Erythrocyte, and platelet are scattered over the fibrin net structure. Nodules of Gore-Tex surface are seen through.

Fig. 3 Aspirin-treated group. Thirty minutes after the graft, SEM 1,000 $\times$. Dense sedimentation of net-like fibrin, erythrocyte and blood platelets are seen.

Fig. 4 Aspirin-treated group. Thirty minutes after the graft, SEM 3,000 $\times$. Fibrin nets cover the aggregated erythrocytes.

血困難であったが30分以上の圧迫を必要とする例はなかった。すなわち血小板凝集抑制剤、特に ticlopidine 投与下では出血時間の大幅な延長が示唆され、慎重な手術操作と止血が必要であると考えられた。

2) 移植直後のグラフト内面の走査電子顕微鏡所見

移植後10分、1時間で剔出されたⅠ、Ⅱ群のグラフトおよび30分、1時間で剔出されたⅡ群

のグラフトはいずれも開在していた。

ticlopidine を投与したⅠ群の移植後10分のグラフト内面(図1)は、移植前とほぼ同様の所見で、わずかに赤血球の付着が見られるのみであった。1時間後のグラフト内面(図2)はフィブリンの網目構造でおおわれ、その上に赤血球、血小板がとりこまれて散在しているが、その層は Gore-Tex 表面の結節が透見できるほどにうすいものである。

aspirin を投与したⅡ群の移植後30分のグラ

Fig. 5 Aspirin-treated group. One hour after the graft, SEM 3,000 $\times$. Cells, possibly fibroblast cells appear and erythrocytes and blood platelets adhere to these cells.

Fig. 6 Control group. Ten minutes after the graft, SEM 1,000 $\times$. Blood platelets are densely deposited and a lot of blood platelets adhere to the erythrocytes.

フト内面(図3)は密なフィブリンの網目構造の上に赤血球, 血小板が散在し, I群1時間の像に似るが, 付着する赤血球, 血小板の数はやや多いようで, Gore-Tex の表面は透見されない。また部分的に赤血球が多数凝集し, その上をフィブリン網がおおう像(図4)がみられた。1時間では30分と同様の部が多かったが, 吻合部付近では線維芽細胞と思われる細胞の出現している部(図5)も認められた。

対照群では移植後10分のグラフト内面(図6)はすでに血小板の厚い層でおおわれ, その上に多数の赤血球が付着している。図7はその強拡大で, 1時間後の像もほとんど同様であった。

I, II群とIII群の所見の差は明らかで, ticlopidine, aspirin とともに, 移植直後のグラフトへの血小板の沈着, 凝集を強く抑制することが示唆された。I群とII群とでは大部分似た像を示すが, フィブリンの沈着はII群の方が早く厚く, またII群では部分的に多数の赤血球が凝集してフィブリン網にとりかこまれている像が目立った。

3) 移植後早期のグラフトの所見

移植後3週以内に剔出したI, II, III群の各グラフト(T-2, A-2, C-3)はいずれも開存していた。I, II群の4グラフトの所見はほぼ同様でグラフトと周囲組織との癒着は軽度で,

Fig. 7 Control group. Ten minutes after the graft, SEM 3,000 $\times$. Erythrocytes adhere to the blood platelet layer.

グラフトの硬化はほとんどなく, 短縮もみられない。グラフト内面の吻合部より2~3mmの部分は白色の膜で, また中央部はうすい淡赤色の膜でおおわれていた。III群では吻合部付近の白色部がやや厚く, ここに小血栓が部分的に付着。また中央赤色部分もやや厚くなっていた。

組織学的にもI, II群はほぼ同様の所見で Gore-Tex 人工血管のすき間に血漿様物質および小円形単核球の浸潤はみられるが, 外層からの組織の侵入はなく, また内層とグラフトは組織標本作製の過程でほとんど剝離していた。内腔には吻合部より2~3mmまでは宿主血管より伸展したと思われる線維組織とそれをおおう

Fig. 8 Ticlopidin treated group. Six weeks after the graft, full-course of ticlopidine treatment is not completed. Pseudo-intima is not completely developed in a proximal half of the graft but the entire graft is satisfactorily open.

Fig. 9 Aspirin-treated group. Six weeks after the graft. Pseudo-intima is not completely developed in a proximal half of the graft but the entire graft is satisfactorily open.

Fig. 10 Control group. Six weeks after the graft. Obstruction due to the organized thrombus formation in the bilateral anastomosis is shown. Intercavity of the graft is filled with coagulated blood.

Fig. 11 Ticlopidine treated group. Six weeks after the graft, H-E 40 $\times$. Fibrous tissue covering the anastomosed site is shown in the left top of the figure. The thickness (300 μ m) of fibrous tissue becomes gradually thin toward the middle of the graft.

一層の内皮細胞の配列が見られるが、中央部ではフィブリンあるいは幼若な線維のみで細胞成分にとぼしく一層の内皮の存在は確認できなかった。Ⅲ群では吻合部付近の線維組織がやや厚く、この部に小血栓のみられる中央部の内層もやや厚いようであった。

4) 移植後長期経過したグラフトの開存性

術後6週以上観察したⅠ群の3頭(T-1, 3, 4)の6グラフトのうち5グラフトが開存した。すべてのグラフトと周囲組織との癒着は軽度で、容易に剝離可能であり、またグラフトの硬化短縮は全く認められなかった。開存例のグ

ラフトの内腔は遠位吻合部付近では白色の光沢のある膜でおおわれることが多いが、近位吻合部より2~3mmから中央にかけては、部分的に赤色を呈するものが多く、中には小血栓の付着するものもみられた。この赤色部分の割合はグラフトによって異なるが全体の30~60%を占めていた(図8)。

T-4の実験犬はticlopidineの投与が困難で投与不能の日が6日、投与量が規定量以下の日が9日あり、この犬では1側のグラフトが近位

Fig. 12 Ticlopidine-treated group. Six weeks after the graft, H-E 100 $\times$. Cross-section of young fibrous layer of 80 μ thin. Layer of endothelial cell line is observed on the surface.

Fig. 13 Ticlopidine-treated group. Six weeks after the graft, SEM 100 $\times$. Cross-section of young fibrous layer deposited over the surface of Gore-Tex (side bottom).

Fig. 14 Ticlopidine-treated group. Six weeks after the graft, SEM 500 $\times$. Arrangement of endothelial cells is seen over surface of the developed pseudo-intima.

Fig. 15 Aspirin-treated group. Six weeks after the graft, SEM 3,000 $\times$. The surface of undeveloped pseudo-intima. Layer arrangement of erythrocytes and fibrin nets covering erythrocytes are evident.

吻合端の器質化血栓により閉塞していた。

Ⅱ群3頭(A-1, 3, 4)の6グラフトはすべて開存していた。グラフトの肉眼所見はⅠ群開存例とほとんど同じであるが(図9), 内膜の赤色部分の割合が20~70%とⅠ群のグラフトに比し, ばらつきが大きいように感じられた。

Ⅲ群3頭(C-1, 2, 4)の6グラフトはすべて閉塞していた。閉塞の原因はすべて, 近位または両側吻合部の器質化血栓によると推定された(図10)。

5) 長期開存グラフトの組織学的所見

6週以上開存したグラフトの組織学的所見で

Ⅰ群とⅡ群の間に明らかな差は認められなかった。

グラフト周囲からグラフト壁への組織の侵入はわずかで未成熟な線維のみであり, グラフト壁のすき間の大部分は血漿様の液で満たされており, 中に小円形単核球の浸潤が認められた。

グラフト内腔の吻合部より2~3 mmは宿主血管から連続した厚さ200~300 μ の線維の層でおおわれ(図11), 中央部は厚さ100 μ 以下のVan-Gieson染色で黄染する幼若な線維の層でおおわれており(図12), 血流に接する面には一層の内皮細胞の配列が認められた。

少数のグラフトでは吻合部の線維組織が、700~800 μ と肥厚しているのが認められ、また肉眼的に赤色に見える部では幼若な線維とグラフトとの間に200~300 μ の厚さの赤血球の沈着が認められ、また一部には島状に、より厚い血栓が直接血流に接しているようにみる部分も認められた。

6) 長期開存グラフトの走査電子顕微鏡所見

6週以上開存したグラフトの内面の走査電子顕微鏡所見でもⅠ群とⅡ群の間に大きな差は認められなかった。

肉眼的に白色光沢のある仮性内膜の部は厚さ100 μ 以下の線維の層から成っており(図13)、その血流に接する面には内皮と推定される細胞の高まりの配列が認められ、血小板、赤血球のわずかな付着はあるが、完成した仮性内膜の表面と考えるとよい像(図14)を示した。しかし淡い赤色の部では、血小板が島状に付着し、その上に赤血球の散在する像がみられ、また他に赤血球のみが面状に配列し、それらがフィブリンの線維によってたがいに結合している部分(図15)もみられた。

III. 考 案

Gore-Tex 人工血管の優れた抗血栓性については以前に行ったわれわれの実験¹⁾でも確かめられており、内径6mmのものではすでに臨床応用され、よい成績をあげている²⁾³⁾⁴⁾。

しかし内径3mm以下のものでは血小板凝集抑制剤を使用した場合⁵⁾の他はまだ実験的にも良好な成績は得られておらず、われわれの予備実験でも、3週以内では約半数に開存をみたものの6週以降では全例閉塞しており、何らかの工夫が加えられない限り長期開存は得られないと結論された。

本実験では内径3mmで、fibril length, porosityの点でも改良された人工血管を用い、吻合法にも改良を加えたが、それでも無処置対照群では全く長期開存を得ることはできなかった。

しかし、実験犬にticlopidineあるいはaspirinを投与した場合には、開存成績の相違は明らかで、ほとんどのグラフトが6週以上にわたって

開存していた。

ticlopidineは最近開発された血小板凝集抑制剤⁶⁾で、実験的に抗血栓作用を有することが知られており⁷⁾、aspirinもまた古くから知られた血小板凝集抑制剤の一つである。

犬大腿動脈に移植後10分、30分、1時間のグラフト内面の走査電子顕微鏡による観察で、対照群では通常見られるものと同様の血栓膜の像を示すのに対し、ticlopidine群、aspirin群ともに、血小板の層状の付着は見られず、フィブリンの網目構造の上に赤血球、血小板の散在する像が得られ、これは両薬剤の血小板凝集抑制作用によるものと推測された。またticlopidineはaspirinに比してより強い抗血栓作用を有するとの報告⁸⁾があるが、われわれの場合にも、ticlopidine群ではaspirin群に比し、フィブリン層の形成がおそく、うすい傾向がみられ、血小板、赤血球の凝集して存在する割合も少ないように思えた。

Gore-Tex 人工血管が閉塞する場合には吻合部における宿主血管から伸展した線維組織の過剰増殖が大きな原因と考えられている⁵⁾が、この線維の過剰増殖は、移植直後に吻合部に形成される内層の性状に左右されるとわれわれは考えており、両薬剤ともまずこの血栓膜の過剰増殖を抑制し、その後の線維増殖に対して有利に働くのであろうと推測される。

移植後6週以上経過すると対照群のグラフトはすべて閉塞しているが、薬剤投与群ではほとんど開存している。しかし開存しているグラフトもまだ仮性内膜の未完成な部分を残しており、走査電子顕微鏡で赤血球が表面に配列し、血栓閉塞の初期の段階に似た像を示す部分も認められた。

このように血栓形成の危険をはらむ未完成な内膜のままでもグラフトは開存し、機能しているという事実はticlopidineあるいはaspirinの強力な抗血栓作用を示唆するものであり、これら薬剤の投与を続ける限り、血栓閉塞の危険はきわめて少なく、いずれ全体が一層の内皮でおおわれ、治癒の完成する時期の来ることが期待できると推察される。

しかし今回の実験ではこれら薬剤の投与量は

臨床における常用量をはるかに越えた量で、しかも6週間使用の成績であり、臨床応用にあたっては、投与量、投与期間、大量投与時の安全性の問題など、なお研究の積み重ねが必要であろう。

いずれにしても細小動脈移植の成績を向上させるために血小板凝集抑制剤、とくに ticlopidine の併用は明からに有用であり、その臨床応用につき検討を進めるべきであると考え。

ま と め

犬大腿動脈を内径3 mm以下の Gore-Tex 人工血管により置換し、グラフトの開存性、仮性内膜の状態について検討した。

無処置対照群では長期開存は全く得られないが、ticlopidine あるいは aspirin の大量投与を行えばほぼ全例に長期開存が得られるという結果を得た。

グラフトの組織学的所見、走査電子顕微鏡所見は ticlopidine, aspirin とともに強力な血小板凝集抑制作用を有することを示唆しており、とくに ticlopidine は赤血球の凝集像の少ない点、フィブリン層のうすい点で aspirin より優れているのではないかと推察された。

文 献

- 1) 森山 裕, 富樫一夫, 渡辺不二夫, 他: 静脈における expanded polytetrafluoroethylen の検討. 人工臓器, 7; 990~993, 1978.
- 2) Veith, F.J., Moss, C.M., Daly, V., et al.: New approaches to limb salvage by extended extra-anatomic reconstructions to foot arteries. Surgery, 84; 764~774, 1978.
- 3) Cambell, C.D., Brooks, D.H., Webster, M. W., et al.: Expanded microporous polytetrafluoroethylene as a vascular substitute. Surgery, 85; 177~183, 1979.
- 4) Tells, V. A., Kohlberg, W. I., Bhat, D. J., et al.: Expanded polytetrafluoroethylene graft fistula for chronic hemodialysis. Ann. Surg., 189; 101~105, 1979.
- 5) Oblath, R. W.: Prevention of platelet aggregation and adherence to prosthetic vascular grafts by aspirin and dipyridamole. Surgery, 84; 37~44, 1978.
- 6) Thebault, J. J., Blatrix, C. E., Blanchard, J.F., et al.: Effects of ticlopidine, A new platelet aggregation inhibitor in man. Clinical Pharmacology and Therapeutics, 18; 485~490, 1975.
- 7) Tomikawa, M., Ashida, S., Kakihata, K., et al.: Anti-thrombotic action of ticlopidine, A new platelet aggregation inhibitor. Thrombosis Research, 12; 1157~1164, 1978.
- 8) Ashida, S. and Abiko, Y.: Effect of ticlopidine and acetylsalicylic acid on generation of prostaglandin I₂-like substance in rat arterial tissue. Thrombosis Research., 13; 901~908, 1978.

●血小板研究のすべてを網羅して体系化!

血 小 板 — 基礎と臨床 —

編集 東京大学教授 山中 學 専門医44氏分担執筆

A4判 447頁 図159 表74 定価8,800円(〒240円)

〒101 東京都千代田区神田多町2-11

科学評論社

振替口座東京 7-102026
電話 03-252-7768