臨床薬理

高脂血症下における微小動脈吻合術*

—Pyridinolcarbamate の影響—

小 原 進** 藤 沢 洋之** 浅 利 正二**
景 山 敏明** 松 本 圭蔵***

Key words: atherogenic diet, hyperlipemia, vascular surgery, mural thrombus, pyridinolcarbamate.

はじめに

動物に高脂肪食を投与し実験的動脈硬化をおこした報告は数多く枚挙にいとまがない^{1)~3)}。しかし、それらの実験的病的動脈について血管吻合などの手術侵襲を加え、正常動脈の場合と比較検討した報告はみあたらない。しかも最近、脳神経外科領域においてめざましい microsurgical technique の普及とともに脳血管障害の中でも特に脳虚血性疾患に対して頭蓋外、頭蓋内血管吻合術のような微小動脈吻合術が広く行われつつある状況であり、微小動脈吻合時の治癒機転の正常および病的動脈についての十分な基礎的検討をすべき時点にあると考える。われわれはこれまで正常および種々の病的血管モデルを用いて血管吻合部の組織学的、組織化学的検討を行い報告してきた^{4)~6)}が、その結果、各種病的血管モデルでは吻合後の治癒が正常血管に比し著しく遷延することをみている。そのうちでもしばしば閉塞性血管障害の原因となりうる atherosclerosis のモデルを実験的に作成し、この動脈を用いて吻合を行ったものについて検討してみると、正常血管とは全く異なった所見、たとえば、血清脂質の異常と相まって血管壁の高度の諸変化並びに開存率の低下を認めている。このようなわれわれの実験成績から病的状態にある血管に外科的侵襲を加える場合とくに留意すべき点は、手術操作においてまず gentle manipulation に徹すること、血管壁の代謝を改善させる処置を必要とすること、さらに開存率を上昇させるために

表 1

1. Atherogenic diet=	A diet
Cholesterol	5%
MF diet + Peanuts oil	5%
Sodium cholate	2%
2. Atherogenic diet + Pyridinolcarbamate (PDC)	0.05% = AP diet

血液その他にたいする方策をもあわせ行う必要を感じている。そこで、ここでは異常な高脂血症、ことに高コレステロール血症状態にある血管の吻合後の治癒過程ならびに開存率、合併症などについて検討するとともに抗動脈硬化剤といわれる pyridinolcarbamate (以下 PDC と略す) を投与した場合の高脂血症の指標としての血清コレステロール値を測定し、血管壁の病変、開存率、血管壁酵素活性等に及ぼす影響などについても検討したので報告する。

I. 方 法

実験動物として生後約 4 カ月のウィスター系成熟雄性ラット (平均体重 319 g) 96 頭を用いた。実験的動脈硬化食として表 1 のごとく 2 種類の食餌すなわち A 食、AP 食 (A 食+PDC) を作り、予備実験としてまず検討した。

実験動物に先ず A 食を投与しながら定期的に血清総コレステロール値を Zurkowski の方法で測定した

* Small vessel anastomosis under the hyperlipemic condition. The efficacy of pyridinolcarbamate administration. (Received Nov. 15, 1974).

** 岡山大学医学部脳神経外科, Susumu OHARA, Hiroyuki FUJISAWA, Syoji ASARI and Toshiaki KAGEYAMA: Department of Neurological Surgery, Okayama University Medical School, Okayama, Japan.

*** 徳島大学医学部脳神経外科, Keizo MATSUMOTO: Department of Neurological Surgery, Tokushima University Medical School, Tokushima, Japan.

図 1

図 2

(図1). これらのうち13週後に生存せる76頭のラットをケタラル 50 mg/kg 筋注麻酔の下に左総頸動脈(外径1~1.3 mm)を手術用顕微鏡下に切断し端々吻合を行った. 端々吻合の方法は針付き9-0 mono-filament nylon 糸で約8針の結節縫合を行った.

吻合術後はA食をそのまま投与した群(以下A群と略す)40頭と, AP食に変更したもの36頭(以下AP群と略す)に分け, 術後1日, 3日, 5日, 7日, 2週, 3週, 4週, 6週, 8週, 10週, 12週, 16週, 20週目に屠殺した(図2). 屠殺時に血清総コレステロール値を同じく測定するとともに開存の有無を確かめ, 開存せるものについて左右頸動脈を生体よりとり出し, 長軸方向に切開し, 正常肝臓片にてはさみ, 直ちにドライアイス中に投じて凍結させ, 厚さ8μの新鮮凍結切片を作成し, 組織学的には hematoxyline-eosin 染色, oil red O 染色, 組織化学的には Embden-Meyerhof pathway の lactic dehydrogenase (LDH), Warburg-Dickens pathway の glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH), Krebs cycle の succinic dehydrogenase (SDH), electron transport system の cytochrome oxydase (Cy-O), hydrolase の acid phosphatase (Ac-P), alkaline

表 2

Histological Examination	
Hematoxylin-Eosin Stain	
Oil Red O 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

phosphatase (Al-P) の6種類の酵素について表2のごとき染色を行い, 縫合部並びに縫合周辺部の変化を両食餌群で対比しつつ検討した.

なお, この実験に先立ち染色液の条件を一定にし, かつ正常血管の酵素活性, 開存率等をみる目的で MF 食投与ラット-正常血管とみなされるもの(以下, 正常群と略す)-30頭を用いて同じ過程で検索した.

II. 結 果

正常ラットの血清総コレステロール値は50~110 mg/dl (平均80 mg/dl)であったが, A食をラットに投与すると, 2週で血清総コレステロール値が250~350 mg/dl, 4週で450~550 mg/dlに達し, 以後この上昇カーブは平坦に近くなった(図1).

死亡率はA食を13週間負荷中に死亡したもの20頭(20.8%), 吻合術後はA群が4頭(10%), AP群が4頭(11.1%)であった(図2).

血管壁の肉眼的変化としては, 吻合時は正常血管に近い所見であった. 屠殺時では非吻合側血管はほとんど吻合時と同じであるに反し, 吻合側血管では吻合部を中心にして血管壁の白色の変化を認めた.

屠殺時に両群それぞれ23頭計46頭につき血清コレステロール値を測定した. それらを各時期ごとに比較してみると(図3), A群がより高値を示していたが, 各時期の頭数が少ないためバラツキが多く有意の差がないものが多かった. しかし, 総平均値を両群について比較してみると(A群平均484 mg/dl, AP群342 mg/dl)と有意の差を示した($p < 0.01$). 開存率についてみると, 正常血管とみなされるMF食投与ラットでは30頭中23頭(76.7%)の開存をみたが, 実験的

図3 術後の両群の血清コレステロール値の経時の変化の比較。値はそれぞれ数頭の平均値±標準偏差を表わす。()内は頭数。A群において常に高値を示したが、各群の例数が少なく、バラツキもあり、有意の差があるといえないものが多い。但し総平均値は有意の差を示している ($p < 0.01$)。

図4 術後10週目 A群左総頸動脈。吻合部並びに周辺部血管壁に脂肪の浸入強く、さらに内腔側に著明な mural thrombus をみる。Oil Red O 染色 ($\times 40$)。

動脈硬化食を投与したラット、すなわちA群ならびにAP群では両群の総開存率は68頭中33頭 (48.5%)と明らかに正常食を投与したものに比し低い開存率を示した。このうちA群が36頭中16頭 (44.4%)、AP群が32頭中17頭 (53.1%)でAP群により良好な開存率がえられた (図2)。

III. 組織学的所見

a. HE 染色

A群およびAP群の両群とも非吻合側では、内膜側の軽度の浮腫性変化、中膜筋細胞の配列の乱れと一部変性消失、弾性板の走行の乱れがみられる程度で差異はほとんど認めなかった。吻合側血管については、両群共に吻合部を中心として周辺部まで広範囲に中膜筋細胞の変性がみられ、残った筋細胞の腫脹とわずかな染色性の低下、血管壁中膜の菲薄化等が認められた。

図5 術後10週目 AP群左総頸動脈。吻合部並びに周辺部血管壁に脂肪の浸入がやはり強いが、内腔側の病変はA群に比して軽度である。Oil Red O 染色 ($\times 40$)。

図6 術後2週目 A群左総頸動脈。吻合部よりやや離れた部、血管壁内に脂肪滴が著明に認められる。Oil Red O 染色 ($\times 400$)。

図7 術後2週目 AP群左総頸動脈。吻合部よりやや離れた部、血管壁の変化は強いが脂肪滴はA群に比して明らかに少い。Oil Red O 染色 ($\times 400$)。

特異な所見として、殊にA群では内膜側に壁在血栓 (mural thrombus) が吻合部あるいはその周辺部の針

ENZYMATIC ACTIVITIES OF ARTERIAL WALL AROUND ANASTOMOTIC LINE

図 8 血管吻合部およびその周辺の酵素活性の経時的变化の模式図. 各酵素ごとの水平線は正常活性を示し、これより上方は活性の上昇を、下方は低下を示す。

穴の部、またはクリップをかけたと思われる部などから斑状に発生しているのをみた。これは小さいものから大きいものまでさまざまで、管腔内に向って突出しているものも認めた(図4)。AP群ではこの mural thrombus が明らかに少く、また発生していても小さい傾向がみられた(図5)。

b. Oil Red O 染色

非吻合側の頸動脈では両群共 50 μ 位の大きさの赤く染った脂肪滴が particle として subintimal 層に極く微量に沈着しているのがみられたが、吻合側に比し非常に少なく、両群で差は認めなかった。

これに反し吻合側では、吻合部およびその周辺の血管壁内に脂肪が高度にとりこまれていた。これらの脂肪滴は主として中膜によく認められた。そして吻合部から末梢により多く認められた。A群ではこの脂肪沈着が著明で(図8)、AP群では沈着がA群に比し少く(図7)、内膜側に認められた斑状病変(fibrousのものもあり、atheromatousのものもある)の中に脂肪の沈着がしばしば認められた。血管壁の損傷(針穴等)の部に脂肪滴が沈着し、そこを core として発生したような斑状病変もあった。血管壁への脂肪沈着の程度は術後徐々に上昇し、8~10週目を頂点としてその後両群共漸次低下の傾向を示した。

IV. 組織化学的所見

血管壁の中膜および外膜の組織化学的变化を吻合周辺部についてまとめてみると(図8)、両群共に活性変動の推移は正常血管とは明らかに異なる pattern を呈し、中膜では解糖系酵素の LDH, G-6-PDH, SDH および電子伝達系の Cy-O の活性低下を、外膜では逆に上昇がみられた。Ac-P は外膜では活性が5日目~3週頃に上昇し、以後低下を示した。Al-P は中膜活性はほとんど陰性で検索の対象から除外した。外膜では吻合部にて肉芽のみられる時期に一致して上昇をみたが、周辺部の外膜では総じて低下を認め、正常で強陽性にみられる外膜の最内層の活性はみられなかった。

両群について活性の差を比較してみると、AP群では術後にみられる LDH, G-6-PDH, SDH の中膜の活性低下がA群より軽度であった。また、外膜での SDH の活性上昇が2週以後においてより強く認められた。Ac-P, Al-P では両群で特に差異は認めなかった。

V. 考 案

血管の内膜への直接的、間接的 injury が atherosclerosis を促進することはよく知られており⁷⁾、ま

た長期間の高コレステロール血症が実験動物において atherosclerosis をおこすことも知られている^{1)~3)}。ところでわれわれの用いた atherogenic diet は強力な作用で高脂血症を起こす thiouracil 等を含んでいないし、また、それによる飼育も 13 週間という比較的短期間にとどめた主たる理由は手術侵襲に耐えうる程度の軽度の病的血管を作成することを目的としたからである。したがって Fillios¹⁾ や Wissler²⁾ の報告しているような高度の atherosclerosis を起こしてはいないが少なくとも正常血管ではなく、いわば病的血管の初期ないし軽度の atherosclerotic change を伴う血管病変を作りえていることは間違いないと考えている。

さて、Stamler⁹⁾ のいう粥状動脈硬化を起こす 3 つの大きな risk factor のうちの 1 つである高コレステロール血症が吻合術部の血管の開存率に及ぼす影響について検討してみると、同時期に同じ technique に行った正常血管の開存率が 76.7% であったのに比し、高コレステロール状態にある A 並びに AP の両群計では 48.5% と明らかに低い開存率を呈している。このことは異常な高脂血症が吻合後の閉塞を招来する重要な因子の 1 つと考えて差しつかえないことを示しているようである。

A 食に抗動脈硬化剤といわれている PDC 添加食 (AP 食) の血清コレステロール値に与える影響をみると (図 3) 確かに各時期ごとにみた AP 群では低値を示しているが、これは例数が少なく、ばらつきも多いので統計学的には有意の差があるとはいえないという結果をみている。しかし、食餌を 2 群、すなわち A 群と AP 群にわけてからの日数が経つにつれて両群のコレステロール値の差があきらかとなる傾向を示し、総平均値では A 群が 484 mg/dl, AP 群が 342 mg/dl と有意の差を示した。つまり A 群では吻合時とほぼ同じ level で推移するに反し、AP 群では有意に低下してくることが認められた。このような PDC の血清コレステロール値低下作用は Mrhová らもラットを使った実験で認めている¹⁰⁾。

血管縫合という手術操作により血管壁への異常な脂質の沈着を来したことも注目すべきものであろう。この現象が内膜の透過性が異常なために起ったものとするれば、AP 群においてこの脂質の沈着が少ないことはこの群にて内膜の機能がより正常に保たれていたということになる。

血管壁の管腔内にしばしばみられた mural thrombus (壁血栓) に関して検討してみると、これは血管縫合という外科的な損傷を契機として血液の粘稠度

の高い高脂血症の条件下で血管そのもの——とくに内膜の病態——と関連して生じたものと推察され、重大な合併症とみることもできる。晩期閉塞の重要な原因となると思われる mural thrombus が AP 群においてより少ないことはさきほどのべた血管壁への脂肪沈着がすくないことと合せ考えて、AP 群は A 群より内膜の機能がより正常に近く働いていることをうらづけ、PDC が薬剤として効果があることを示しているものと考ええる。

Constanstinides ら¹¹⁾ (1969), Shimamoto ら¹²⁾ (1972) によるといろいろな血管作動物質が血管内皮細胞を傷害し、intracellular junction を開大せしめ、血漿成分浸入による浮腫性変化のおこることを電顕的、あるいは Ferritin の血管壁内侵入等により確かめている。さらに Shimamoto (1972) は「bleb 形成を伴う内皮細胞の極度の収縮」を伴う内皮細胞透過性亢進が粥状硬化成立の trigger mechanism であろうと述べている。この理論から考えれば、われわれの実験において脂肪の particle が AP 群にて少なかったことは intracellular junction (Robertson によれば interendothelial gap¹³⁾) が小さく、透過性亢進を阻止し、脂質の血管壁内への侵入を防禦した結果ではなかろうかとも解せられる。

以上のような点から PDC の作用についてまとめると、この薬剤は血清コレステロール値を正常に近く下げ、内膜の機能をより正常に保つ作用があるため吻合術後の血栓形成を防止し、脂肪沈着を防禦し、fibrous plaque の生成の予防等に役立つこととなり、したがって開存率を上昇させる目的にかなった薬剤であるということになる。

次に組織化学的变化についてみると、沼野ら¹⁴⁾は PDC がコレステロール負荷兎の血管壁において phosphofructokinase, malate dehydrogenase, lactic dehydrogenase の活性低下を予防すると報告している。われわれは外科的侵襲を加えた後に血管壁の酵素活性を 6 種の酵素について検索したが、特に中膜の壊死が認められるのと呼応して LDH, G-6-PDH, SDH, Cy-O 等の活性が著明に低下しており、血管壁全体にわたる広範な代謝機能の低下を示しているようであった。この活性低下が AP 群において軽度であったこと、外膜の SDH 活性の上昇が強かったことは PDC が治療をより促進しているようで興味をもたれた。

血管吻合を行う場合、開存率に最も関心が寄せられるであろうことは否定できないが、吻合後の血管壁の

代謝の検討も重要なものである。同じ開通せる血管であっても正常の代謝機能を失い単なるパイプの働きのみをしている血管と、機能的に1つの器官として働いている血管との間には大きな差異のあることは否定できない。前者では急激な血圧上昇や低下、血中成分の変化、種々の血管壁へ harmful に働く factor, すなわち種々の risk factor に対し生物学的1つの器官としての反応をもたず、その結果晩期閉塞を起こしてくる危険率も高くなってくる。このように考えてくると、病的血管の吻合術後の吻合部血管の機能の変化、あるいはその病態などの検討についても今後さらに追求されるべき興味ある問題がいくつか存在するといえよう。

ま と め

平均体重 319g の成熟ラットに atherogenic diet を投与し、このラットの総頸動脈を病的血管モデルの1つとして、手術用顕微鏡下に端々吻合を行った。吻合後は同食餌を投与し続けた群 (A 群) と pyridinol-carbamate 添加食に変更した群 (AP 群) の2群にわけ吻合血管の諸変化並びに開存率等について比較検討した。

異常な高コレステロール血症の状態にあるこれらのラットは、開存率が正常食投与ラットに比し著しく低下したが、AP 群により良好な結果をえた。AP 群では血清コレステロール値が総平均で有意に低値を示した。

血管壁の変化として吻合周辺部の中膜筋細胞の広範な変性壊死を両群共に認めた。また、同時に高度の脂肪の血管壁内への沈着, mural thrombus の発生等を見たが、これはA群の方により著明であった。

組織化学的には LDH, G-6-PDH, SDH の術後の中膜における活性低下が著明であったが、AP 群では軽度の低下に留っていた。Ac-P, Al-P については両群でほとんどみるべき差を認めなかった。

以上より pyridinolcarbamate (PDC) は、コレステロール値を低下させ、脂肪の血管壁内沈着を防ぎ、mural thrombus の発生を少くし、晩期閉塞を予防するとともに血管壁の代謝機能を正常化する作用があり、この意味で、病的微小動脈吻合術の手術成績を向上させるための1つの非観血的補助療法として、試みてよい薬剤であるといえる。

文 献

1) Fillios, L. C., Andrus, S. B., et al. : Experi-

mental production of gross atherosclerosis in the rat. *Exp. Med.*, **104**; 539, 1956.

2) Wissler, R. W., Eilert, M. L., et al. : Production of lipomatous and atheromatous arterial lesions in the albino rat. *Arch. Path.*, **57**; 333, 1954.

3) Scott, R. F., Morrison, E. S., et al. : Short term feeding of unsaturated versus saturated fat in the production of atherosclerosis in the rat. *Exp. and Mol. Path.*, **3**; 421, 1964.

4) 松本圭蔵, 景山敏明, 他 : Microsurgical technique による血管縫合部の治癒機転に関する実験的研究——組織学的, 組織化学的検討。脈管学, **12**(3); 183, 1972.

5) 景山敏明, 松本圭蔵 : 実験的動脈吻合。北野病院紀要, **19** (1・2); 27, 1974.

6) 景山敏明, 小原 進, 他 : Goldblatt ラットの血管吻合部の治癒機転について, 第13回日本脈管学会総会発表。

7) Gold, H. : Production of arteriosclerosis in the rat. *Arch. Path.*, **71**; 46, 1961.

8) Constantinides, P., Gutmann-Auersperg, N., et al. : Acceleration of intimal atherosclerosis through prior medial injury. *A. M. A. Arch. Path.*, **66**; 247, 1958.

9) Stamler, J. : Acute myocardial infarction—progress in primary prevention. *Brit. Heart J.*, **33**; (Suppl). 145, 1971.

10) Mrhová, O., Shimamoto, T., et al. : Metabolic effect of pyridinolcarbamate on the vascular wall of rats. *Atherogenesis*, **2**; 113, 1972.

11) Constantinides, P. and Robinson, M. : Ultrastructural injury of arterial endothelium. *Arch. Path.*, **88**; 99, 1969.

12) Shimamoto, T. and Sunaga, T. : Contraction of endothelial cells as a key mechanism in atherosclerosis. *Proc. Jap. Acad.*, **48**; 633, 1972.

13) Robertson, A. L. and Khairallak, P. A. : Arterial endothelial permeability and vascular disease, The "Trap door" effect. *Exp. and Mol. Path.*, **18**; 241, 1973.

14) Numano, F., Takenobu, M., et al. : The research for antiatherosclerotic agents.—Histological and biochemical analysis of the preventive effect of estroren, progesteron and pyridinolcarbamate on experimentally induced atherosclerosis. *Atherosclerosis*, **2**; 98, 1972.