原 著

末梢動脈に対する凍結乾燥保存同種静脈移植
にみられた仮性内膜の新生栄養血管について*森 山 正 明** 草 場 昭** 清 瀬 隆**
古 山 正 人** 岡 留 健一郎** 井 口 潔****Key words**: homologous vein patch graft, canine femoral reconstruction, microscopic examination, serial section technique, microfil infusion, newly developed vascular channel, nutrition of pseudointima.

緒 言

動脈壁の栄養血管については古くから検索され、1926年 Woodruff は¹⁾、イヌ上行大動脈には、外膜側よりその血管壁に分布する栄養血管とは別に、動脈内腔に直接開口し、その動脈壁に分布する栄養血管が存在することを指摘している。また、塚本 (1952)¹³⁾は、このような血管内腔に開口する栄養血管をヒト胎児の大動脈に認めており、中山(1965)¹⁰⁾は、成人の四肢動脈にも、しばしば見い出されると報告している。一方、移植血管の仮性内膜における、このような栄養血管についての系統的検索はあまり行われていないようであるが、古元⁹⁾は、移植合成血管の内被(仮性内膜)に、血管内腔に直接開口する小血管の存在することを、組織学的にまた走査電顕により認めている。われわれは、従来、凍結乾燥保存同種静脈の末梢動脈再建への応用について実験的に検討しているが、この組織学的治癒過程の検索中に、その仮性内膜内には、直接血管内腔に開口した新生栄養血管が存在する事実を見出し、第1回低温医学研究会において発表した⁸⁾。

本研究では、この凍結乾燥保存同種静脈移植術後の仮性内膜内に認められる新生栄養血管の形成過程について組織学的検索を行い、興味ある所見を得たので報告する。

I. 検索方法

体重 10 kg 前後の雑種成犬の大腿動脈に、凍結乾燥保存同種静脈片をパッチ移植した後、移植後 3~175 日目に移植片を含めて動脈を摘出し、次の方法で仮性

内膜内の新生栄養血管の形成過程を検索した。

1. 連続切片による組織学的検索

摘出標本は、パッチ移植片の対側で宿主動脈を縦切り、10%フォルマリン溶液中に固定した後、横軸方向に連続切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って組織学的に検索した。

2. Microfil 注入による組織学的検索

移植片中枢端より約 2 cm 中枢側で動脈を切断し、移植部を注意深く剝離した後摘出した。動脈よりの分枝は、すべて結紮切断した。摘出標本は、内腔をヘパリン加生食水で洗浄した後、末梢端を結紮し、中枢断端より Microfil (Canton bio-medical products, IN C.) をイヌ動脈圧 (160 mmHg) で注入、内腔が満たされた時点で中枢端を結紮した。このようにして作製した標本は、24 時間、4°C 冷蔵庫中に保存し、さらに -20°C の冷凍庫内に保存した。凍結保存標本を約 1 cm の長さに切り、パッチ移植片の対側で宿主動脈を縦切したのち、血管内腔に開口した新生血管内に流入した Microfil を抜去しないように注意しながら、動脈内腔を満たした Microfil を眼科用剪刀で鋭的に切除した。その後、標本を再凍結させ、Lipshaw 社製 Cryotome で 16μ の厚さの横切切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って組織学的に検索した。

II. 検索成績

移植後 3~175 日目の 10 標本 (移植後 3, 7, 10, 11, 16, 21, 39, 59, 91, 175 日) について検索した。

1. 連続切片による組織学的検索

検索した 10 標本のうち、移植後 11, 21, 39, 59,

* Neovascularization of pseudointima as found in the freeze-dried homologous vein graft for peripheral arteries.

** 九州大学医学部第二外科 [〒 812 福岡市東区馬出 3-1-1], Masaaki MORIYAMA, Akira KUSABA, Takashi KIYOSE, Masato FURUYAMA, Kenichiro OKADOME, and Kiyoshi INOKUCHI: Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan.

Fig. 1 Cross section of the freeze-dried homologous vein graft near the suture line 10 days after implantation. A cleft is seen in the fresh mural thrombus deposited on the surface of the graft and it communicates directly with the arterial lumen. This cleft is lined by endothelial-like cells and contains red blood cells. (HE. stain $\times 116$.)

Fig. 2 Cross section adjacent to the suture line 11 days after implantation. A newly formed vascular channel extending into the pseudointima from the luminal surface is present. (HE. stain $\times 160$.)

(a) HE. stain $\times 58$.

(b) HE. stain $\times 58$.

Fig. 3 Serial cross sections 21 days after implantation. The opening of the newly formed vascular channel in the pseudointima of the graft is seen near the suture line (a). The branch of this channel extends into the pseudointima (b).

91, 175 日目の標本において、血管内腔に開口し、しかも仮性内膜内に分布する新生栄養血管の存在が認められた。

移植後3日目ならびに7日目の標本では、移植片表面に付着した壁在性血栓の器質化はほとんど認められなかった。

移植後10日目の標本では、吻合部に接する壁在性血栓内に、動脈側より伸びてきたと考えられる紡錘形細胞の侵入が認められるとともに、吻合部近傍の壁在性血栓内に内皮細胞様細胞に被われた裂隙がみられた。この裂隙は、吻合部近傍で血管内腔に直接開口し、しか

も、その中には赤血球の存在が認められた (**Fig. 1**)。また、移植片中央部の壁在性血栓内にも裂隙が認められたが、この裂隙の表層には内皮細胞様細胞の配列を認めることができなかった。

移植後11日目の標本では、血栓の器質化の状態は10日目のものとほぼ同様であったが、すでに器質化された吻合部近傍の仮性内膜内に、血管内腔に開口した口径約 12μ の裂隙がみられ、その表層は内皮細胞様細胞に被われ、裂隙内には赤血球が認められた。これは、仮性内膜の新生栄養血管と考えられた (**Fig. 2**)。

移植後21日目の標本では、壁在性血栓の器質化は、

Fig. 4 Serial cross sections of the graft near the suture line 59 days after implantation. The opening of the newly formed vascular channel is shown (a). A branch of the vascular channel extends deeply (b) and spreads out into finer arborization (c). One branch extends into the ground of the pseudointima transversely and another extends deeply towards adventitial layers.

ほぼ完成しており、吻合部近傍に開口した新生栄養血管は、仮性内膜内で分枝して、その一部は、仮性内膜の深層に向かって長く斜走し、仮性内膜のほぼ中央部にまで達している像が認められた (**Fig. 3 a, b**)。

移植後59日目の標本では、吻合部近くに開口した新生栄養血管は、仮性内膜内で樹枝状に分枝し、その一部は、移植片と動脈壁との接合面に形成された結合組織内を通過して外膜に達していた。そして、その分枝状態は、途中かなり大きな管腔を形成しながら、内膜側より外膜側に向かって分布すると考えられる分枝を示していた (**Fig. 4 a, b, c**)。また、この標本では、移植片中央部の仮性内膜にも、内皮細胞様細胞に被われた新生栄養血管の開口部が認められたが、この栄養血管は、仮性内膜内にほぼ垂直に進入し、その深層を横に広がりながら分布するが、それ以上移植片を貫通して外膜側に到達する分枝を見い出すことができなかった。すなわち、移植片中央部では、新生栄養血管の分布は、仮性内膜内で終わっているものと考えられた (**Fig. 5 a, b**)。

移植後175日目の標本では、吻合部近傍の仮性内膜内に、その内膜面から深層に向かって、仮性内膜の全層を貫通する新生栄養血管が認められ、その内腔には赤血球が認められた。しかしながら、移植片中央部の器質化仮性内膜内では、移植後21日目ならびに59日目の標本に比して、新生栄養血管の分布が粗になっているように思われた (**Fig. 6**)。

2. Microfil 注入による組織学的検索

移植後91日目の標本について、その内腔より Microfil を動脈圧で注入したところ、Microfil は、吻合部近傍の移植片仮性内膜内に樹枝状に分岐しながら流入し、その一部は、吻合部に形成された結合組織内を通過して、移植片外膜側の血管内にも流入している像が認められた。また、その分枝の状態は、内膜側より外膜側に向かって分岐し、この新生栄養血管の血流の方向は、内膜側より外膜側に向かっているものと考えられた (**Fig. 7**)。

Fig. 5 Serial cross sections of the central aspect of the graft 59 days after implantation. The opening of the newly formed vascular channel is shown (a). Extension of this channel is limited to outer layer of the pseudointima and it is impossible to find the branches extending deeply towards the adventitial layers (b).

Fig. 6 Cross section of the graft near the suture line 175 days after implantation. Newly formed vascular channel from luminal surface is found, and this extends to far most outer layer of the pseudointima. HE. stain ×145.

III. 考 察

正常動脈壁の栄養血管の分布状態については、かなり詳細な報告があり¹⁻³⁾、中山¹⁰⁾、鶴田¹²⁾は、外膜側よりその血管壁に分布する栄養血管とは別に、血管内腔に直接開口し、その血管壁に分布する栄養血管が存在することを認め、“直接栄養動脈”あるいは“直接枝”などの名称で報告し、とくに四肢動脈に多いと述べている。また、Florey⁵⁾は、ヒヒの腹部大動脈に、古元⁹⁾は、イヌ大動脈に移植したダクロン合成血管の仮性内膜にも、血管内腔に開口した栄養血管が

存在することを認めており、Davies⁴⁾は、ブタの大動脈内膜を機械的に損傷し、その部に付着した血栓の器質化の過程で同様の新生栄養血管の形成を認めている。

われわれは、凍結乾燥保存同種静脈を末梢動脈にパッチ移植した場合の仮性内膜内に、血管内腔に直接開口する新生栄養血管の存在を認め、その発生過程、ならびに分布状態について検索した。その結果、移植後21日目以降の標本の仮性内膜内に、血管内腔に直接開口する新生栄養血管の形成が認められた。

まず、このような新生栄養血管の形成機序ならびに、内皮細胞様細胞の由来について、Davies⁴⁾は、ブタ大動脈損傷内膜面の治癒過程で、術後3日目には付着した血栓内に、flattened cell あるいは plump cell に被われた裂隙が生じ、これが短期間内に vascular channel に変化すると述べている。われわれの検索では、移植後3日目、ならびに7日目の標本では、内皮細胞様細胞に被われた裂隙を認めることができなかったが、移植後10日目、ならびに11日目の標本で、吻合部近傍の壁に性血栓内に、直接血管内腔に開口し、しかも、内皮細胞様細胞に被われた裂隙を認め、これが新生栄養血管の起源と考えられた。移植片仮性内膜の治癒機転には、従来、宿主動脈よりの間葉系細胞の増生、進入によるもの、移植片外膜側よりの垂直方向の細胞増生、進入によるもの、ならびに流血中細胞成分に由来するものの3つが考えられているが、これと同様の機転が、仮性内膜内の新生栄養血管の形成機序についても考えられる。この点に関して、Halpert⁶⁾

Stillら¹⁴⁾は、移植片仮性内膜内に形成される新生血管は、流血中の multipotential cell に由来すると考えているが、われわれの検索結果では、少なくとも凍結乾燥保存同種静脈移植では、壁在性血栓の器質化、ならびに、仮性内膜内の新生栄養血管の形成には、宿主動脈より伸びてきた間葉系細胞がその主役を演じていると考えられる所見が得られた。すなわち、本研究とは別の検索で、凍結乾燥保存同種静脈片を管状のままイヌ大腿動脈に置換移植した場合、その壁在性血栓の器質化は、吻合部を越えて宿主動脈側よりの治癒機転によるものがほとんどで、移植片中央部では、移植後90日以上を経たものでも、なお治癒が完成されておらず、壁在性血栓の積み重ねが認められ、また、今回の検索でも、移植後早期の標本では、吻合部近傍の壁在性血栓の裂隙には内皮細胞様細胞の配列が認められたのに対して、吻合部より離れた移植片中央部の裂隙には内皮細胞様細胞の配列を認めることができなかった。これらの所見は、凍結乾燥保存同種静脈移植における仮性内膜の器質化は、宿主動脈側よりの治癒機転がその主役を演じていることを示している。

次に、移植後21日目以降の標本についてみると、仮性内膜内の新生栄養血管には、吻合部近傍において血管内腔に開口するものと、移植片中央部において開口するものが認められたが、Florey ら¹⁵⁾も述べているように、吻合部近傍に開口するものはるかに多かった。また、その分布状態をみてみると、吻合部近傍において開口するものは、仮性内膜内で樹枝状に分岐し、その一部は、吻合部に形成された結合組織内を通過して外膜側に達するとともに、その一部は、仮性内膜内を斜めに走り、移植片中央部の仮性内膜深層に達していた。一方、移植片中央部に開口するものでは、仮性内膜内にはほぼ垂直に進入し、その深層に分布するものが多かったが、移植片を貫通して外膜側にまで到達するものはないように思われた。つまり、凍結乾燥保存同種静脈移植では、仮性内膜内に形成される新生栄養血管は、移植片と動脈壁との接合面に形成された結合組織内では、容易に外膜側との交通を形成しうるが、移植片の中央部では、移植片を貫通して外膜側との血管交通は形成されがたいもののようである。これは、凍結乾燥保存同種静脈片が、すでに死滅した組織で有孔性に乏しいという、移植片それ自体の特殊性によるものとも考えられるが、この点については、新鮮自家静脈移植、ならびに合成血管移植における仮性内膜栄養血管について同様の系統的検索を行い比較検討する必要がある。また、今回の検索では、仮性内膜

Fig. 7 Cross section of the graft near the suture line 91 days after implantation. Microfil injected transluminally has filled newly formed vascular channels. Branching of the channel and adventitial filling of the microfil are present. HE. stain $\times 81$.

内に分布する新生栄養血管が外膜側よりの本来の栄養血管（いわゆる vasa vasorum）の延長によるものか、vasa vasorum とは別に、壁在性血栓の器質化の過程で新たに形成されたものであるかの点については明確にすることはできなかったが、移植後早期に、内皮細胞様細胞に被われ、しかも直接血管内腔に開口する裂隙を壁在性血栓内に認めたこと、ならびに、仮性内膜内の新生栄養血管の分岐状態が、内膜側より外膜側に向かって分布していると考えられる分岐を示していたことから、凍結乾燥保存同種静脈移植における仮性内膜内の栄養血管は、本来の栄養血管とは別に、壁在性血栓の器質化の過程で新たに形成されたものと考えるのが妥当であろう。この点に関して、日吉¹⁷⁾は、心冠状動脈壁の栄養血管分布について検索し、肥厚した内膜内に、直接血管内腔に開口する栄養血管が存在することを認めており、外膜側より分布する栄養血管は、一部中膜を貫通して内膜内に進入していることもあるが、これは、肥厚した内膜の深層までにとどまり、一方、内腔に開口する栄養血管は、肥厚した内膜の最内層を越えて中膜に達することは、まずないと述べている。また、内腔に直接開口する栄養血管の発見頻度は、内膜肥厚の厚さが増すにつれて増加してくることから、肥厚内膜内の栄養血管は、外膜側より進入してくる本来の栄養血管とは別に、壁在性血栓の器質化の過程で新生されたもので、しかも、その形成には、仮性内膜の厚さが大きく関与していると述べている。この点、凍結乾燥保存同種静脈移植における仮性内膜が、壁在性血栓の器質化によって形成されたものであ

ると考えると、その仮性内膜の構築、ならびに新生栄養血管の分布状態は、心冠状動脈の肥厚内膜の所見とよく似ている。すなわち、凍結乾燥保存同種静脈移植においては、その表面に付着した壁在性血栓の器質化の過程で、血管内腔に開口する裂隙を生じ、これが宿主動脈由来の内皮細胞様細胞に被われながら新生栄養血管に変化し、また、移植片中央部に開口する栄養血管は、吻合部より移植片中央部に向かっての血栓の器質化の過程で、順次新たな裂隙を生じながら形成されていくものと考えられ、本来の栄養血管とは別に、新たに形成されたものと考えるのが妥当であろう。

結 語

凍結乾燥保存同種静脈パッチ移植における仮性内膜内栄養血管の形成過程、ならびにその分布状態について組織学的検索を行い、次のような結論を得た。

- 1) 移植後10日目、ならびに11日目の標本で、吻合部近傍の壁在性血栓内に、内皮細胞様細胞に被われた裂隙が認められ、これが新生栄養血管の起源と考えられた。
- 2) 移植後21日目以降の全標本において、直接血管内腔に開口し、仮性内膜内に分布する新生栄養血管が認められた。
- 3) 仮性内膜内の新生栄養血管は、吻合部近傍で血管内腔に開口するものと、移植片中央部付近で開口するものがあるが、前者はるかに多かった。
- 4) 吻合部近傍において血管内腔に開口する栄養血管は、内膜側より外膜側に向かって樹枝状に分岐し、その一部は、吻合部に形成された結合組織内を通過して外膜側と交通を形成し、その一部は、仮性内膜内を斜めに走って、その深層に分布していた。
- 5) 移植片中央部において血管内腔に開口する新生栄養血管は、仮性内膜内にほぼ垂直に進入し、仮性内膜深層まで分布するが、移植片を貫通して外膜側に達する分枝は認めることができなかった。
- 6) 仮性内膜内に認められる栄養血管は、外膜側より進入してくる本来の栄養血管とは別に、壁在性血栓の器質化の過程で、新たに形成されたものと考えられた。

文 献

- 1) Clarke, J. A. : An X-ray microscopic study of the postnatal development of the vasa vasorum in the human aorta. *J. Anat.*, **99** (4) : 877~889, 1965.

- 2) Clarke, J. A. : An X-ray microscopic study of the vasa vasorum of the normal human pulmonary trunk. *Act. Anat.*, **61** : 6~14, 1965.
- 3) Clarke, J. A. : The vasa vasorum of normal human upper limb arteries. *Anat. Anz. Bd.*, **116** : 1~5, 1965.
- 4) Davies, M. J., Woolf, N. and Bradley, J. P. W. : Endothelialization of experimentally produced mural thrombi in the pig aorta. *J. Path.*, **97**(4) : 589~594, 1969.
- 5) Florey, H. W., Greer, S. L., Poole, J. C. F. and Werthessen, N. T. : The pseudointima lining fabric grafts of the aorta. *Brit. J. Exp. Path.*, **42**(3) : 236~246, 1961.
- 6) Halpert, B., O' Neal, R. M., Jordan, G. L. and DeBakey, M. E. : "Vasa vasorum" of dacron prosthesis in canine aorta. *Arch. Path.*, **81** : 412~417, 1966.
- 7) 日吉雄一 : 冠状動脈壁における血管分布とその動脈硬化の発生進展における意義. 福岡医誌, **61**(11) : 754~774, 1970.
- 8) 草場 昭, 他 : 凍結乾燥保存同種静脈移植に関する実験的研究. 低温医学, **1**(1) : 74~80, 1975.
- 9) 古元嘉昭 : Personal communication.
- 10) 中山知雄 : 血管の栄養血管. 解剖学雑誌, **40** : 9~10, 1965.
- 11) Still, W. J. S., Ghani, A. R. and Dennison, S. M. : The organization of isolated mural thrombi in aortic grafts. *Am. J. Path.*, **51** (6) : 1013~1029, 1967.
- 12) 鶴田克彦, 他 : Vasa vasorum. 血液と脈管, **2** (4) : 11~19, 1971.
- 13) 塚本金助 : 大動脈の Vasa vasorum に関する発生学的研究. 日大医学雑誌, **11** (12) : 998~1005, 1952.
- 14) Woodruff, C. E. : Studies on the vasa vasorum. *Am. J. Path.*, **2** : 567~569, 1926.

<Abstract>

Neovascularization of pseudointima as found in the freeze-dried homologous vein graft for the peripheral arteries.

by

Masaaki MORIYAMA, Akira KUSABA,
Takashi KIYOSE, Masato FURUYAMA,
Kenichiro OKADOME and Kiyoshi INO-
KUCHI

from

Second Department of Surgery, Faculty of
Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan.

In our previous studies on the freeze-dried homologous vein graft implanted to the canine femoral artery as a patch graft, complete patency (22/22) and satisfactory healing of the pseudointima were observed. In these studies, a fine vascular channel communicating directly with the arterial lumen and being lined with the endothelial-like cells was found in the pseudointima microscopically. It was considered that this vascular channel in the pseudointima must be a newly developed vessel to nourish the fibrously thickened pseudointima of the graft.

In this study, the microscopic examination by serial section technique and transluminal Microfil infusion method were carried out in order to make distinct the process of development and extension of these vascular channels in the thickened pseudointima. The freeze-dried homologous vein grafts were implanted to the canine femoral arteries as a patch graft and ten grafts were examined at various intervals from 3 to 175 days after implantation.

In early stage, that is 10 and 11 days after implantation, some clefts communicating directly with the arterial lumen and containing some red blood cells were found in the mural thrombi near the suture line. They seemed to

be an earliest feature of the above mentioned vascular channel. In all specimens 21 days and more later after implantation vascular channels communicating directly with the arterial lumen were found in the fibrously thickened pseudointima near the suture line as well as the central portion of the grafts, these vascular channels were more often observed near the suture line than the central part of the graft. They were lined with endothelial-like cells completely. The vascular channels arose from the arterial lumen near the suture line extended into the deeper layers of the pseudointima branching off in tributaries and some reached to the adventitial layers penetrating through the fibrous tissues proliferated in the suture line. On the other hand, those from the arterial lumen near the central part of the graft were found to develop vertically into the pseudointima and the extension was confined within the pseudointima without penetrating the graft towards the adventitial layer. Same findings as mentioned above were observed in microscopic examination by transluminal infusion of Microfil.

From the findings above mentioned, it seemed reasonable to presume that the vascular channels communicating directly with the arterial lumen were not extension of the vasa vasorum from the adventitial layers but newly developed vessels in order to nourish the pseudointima of the graft, and they were formed through the clefts which was formed in the mural thrombi in the course of their organization in early stage.