

# 引き抜き損傷における血管内膜の損傷と 創傷治癒が開存率に与える影響について

藤井俊一郎 上石 弘

近畿大学医学部付属病院形成外科

## 抄 録

一般的に、切断指再接着術において、引き抜き損傷は、術後生着率は低いとされ、損傷後の血管内膜の形態的变化や血栓形成の詳細な検討は未だ不十分である。そこで今回我々は、ラット大腿動脈を用いた引き抜き損傷モデルを作製し、損傷後15分、1週間の状態を光学顕微鏡、走査電子顕微鏡を用いて観察し、さらに開存率を調査した。その結果、損傷された血管は、広範囲に間欠的な損傷を生じ、内膜は、中膜から剝離し管腔内に弁状の突出を認めた。損傷後15分では、損傷部分に血小板の付着を認めたのみで血管閉塞は生じなかった。また1週間後損傷部分は再生した内皮細胞によって修復され、創傷治癒は完了していた。今回の実験で、引き抜き損傷では、血栓による血管閉塞は起こらず、開存率100%であった。この理由として、血流因子や凝固因子などの他の因子が関与していると考えられ、今後、機械的損傷以外に別の要因を含めて引き抜き損傷モデルを作製することが必要がある。

**Key words:** 微小血管、引き抜き損傷、血管内膜、創傷治癒、開存率

## 緒 言

微小血管外科の技術の進歩に伴い、これまで適応のないとされていた、著しい損傷を受けた切断指でも再接着剤が積極的に行われるようになった<sup>1,2</sup>。そのため生着率も飛躍的に向上しているが、引き抜き損傷が加わった血管では、術後の生着率は低いことが指摘されている<sup>3</sup>。引き抜き損傷では、損傷が広範囲に広がっているために、損傷部分を確実に切除することは困難で、損傷血管の残存に起因する血管閉塞は、術後1週間以内に生じやすいとされている。一方、引き抜き損傷による血管内膜の形態的变化には、未だ不明な点があり、血栓形成に至るメカニズムも解明されていない。そこで今回我々は、ラット大腿動脈を用いた引き抜き損傷血管モデルを作製し、血管内腔の損傷形態と創傷治癒を光学顕微鏡、走査電子顕微鏡を用いて観察した。特に引き抜き損傷後、1週間までに血管閉塞が最も生じやすい時期とされていることから、今回の実験では、損傷後15分と1週間の比較を行い、興味ある知見をえたので報告する。

## 材料と方法

### 1. 実験動物

本実験に使用した動物は、日本エスエルシー株式会社(浜松)より購入したWistar/STラット(10週令・雄・体重310-325g)6匹で、飼料は飼育繁殖固形飼料(日本クレアCE-2)を用い、飲料水は制限なく与え、ケージ内で通常の飼育法で飼育した。

### 2. 引き抜き損傷血管の作製方法

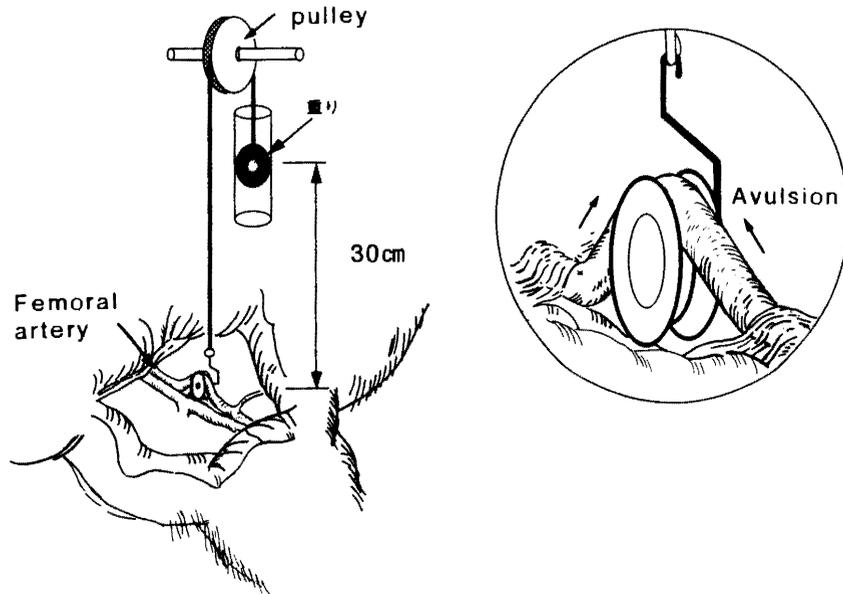
Ethyl carbamate (Urethane, 和光純薬工業株式会社)の腹腔内注射(1mg/g)により麻酔後、仰臥位で固定後、左鼠径帯帯に沿って約50mmの切開を加え、左大腿動脈を露出し、さらに周囲の結合組織から剝離を行った。近位側は鼠径部、末梢側は浅腹壁動脈分岐部までの約15mmの長さで剝離した。次に剝離した大腿動脈に、Pulley付の血管フックを装着し、他方に60gの重りを取り付け、滑車を用いて重りを落下させることにより血管を垂直方向に引き抜いた(Fig. 1)。

### 3. 標本作製と観察

形態観察に用いた標本は、損傷後15分及び1週間目の血管を採取し、走査電子顕微鏡と光学顕微鏡用に作製した。

#### (I) 走査電子顕微鏡用標本

腹部に縦切開を加え、腹部大動脈を露出した後、18Gカニューラを刺入し、乳酸リンゲル液で1分30秒、引き続き1.5% glutaraldehyde液(グルタルアル



**Fig. 1** 損傷血管モデルの作製方法

大腿動脈を周囲組織から剝離後、滑車付の血管フックに血管をのせ、60 gの重りを滑車を用いて落下させ、血管を一挙に引き抜いた。

デヒド<sup>®</sup>、和光純薬工業株式会社、日本)で2分間灌流固定を行った。灌流固定の後、動脈を1 cmの長さに採取し、1.5% glutaral-dehyde液で24時間浸漬固定を行った。続いて0.1 M cacodylate 緩衝液(pH = 7.3, sodium cacodylate<sup>®</sup> 和光純薬工業株式会社、日本)で洗浄し、血管を割断の後、4°C以下で1時間1% osmium (Osmium(VIII)-oxid<sup>®</sup>, E. Merck. Darmstadt, 西ドイツ)を用いて固定を行い、アルコールで脱水(4°C)、さらに液化炭酸ガスで臨界点乾燥を行った。乾燥した標本を銀ペーストを用いて試料台に固定し、イオンスパッター法を用いて金(Au)で30 nmのコーティングを行った。この後、走査電子顕微鏡(S-450, 日立製作所株式会社、日本)を用いて血管内腔表面を観察した。

#### (II) 光学顕微鏡用標本

大腿動脈を採取した後、10%ホルムアルデヒドにて24時間固定後、パラフィン包埋を行い、薄切し3 μmの切片を作製した。その後、H.E.染色を行ない光学顕微鏡を用いて血管断面を観察した。

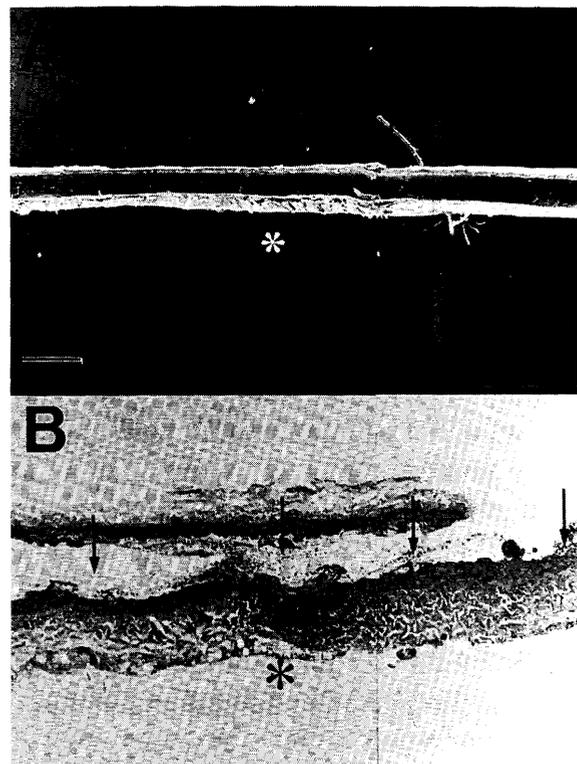
#### 4. 開存率の調査

損傷後15分と1週間目に、肉眼的観察とさらに、Empty-and-refill testを行い開存性を調べた。

### 結 果

#### 1. 引き抜き損傷の形態的变化

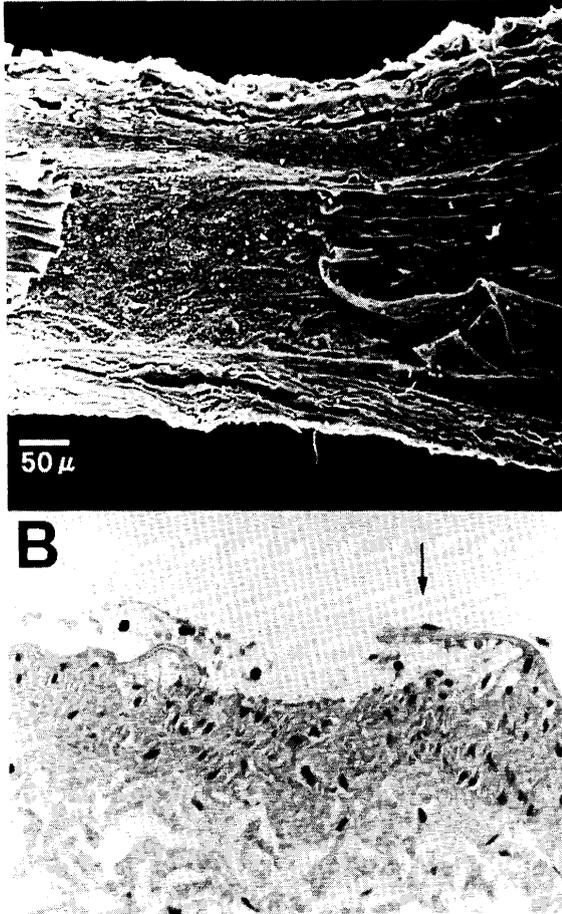
走査電子顕微鏡像：管腔表面を観察すると、近位側から遠位側まで、広範囲に及ぶ間歇的な環状の内



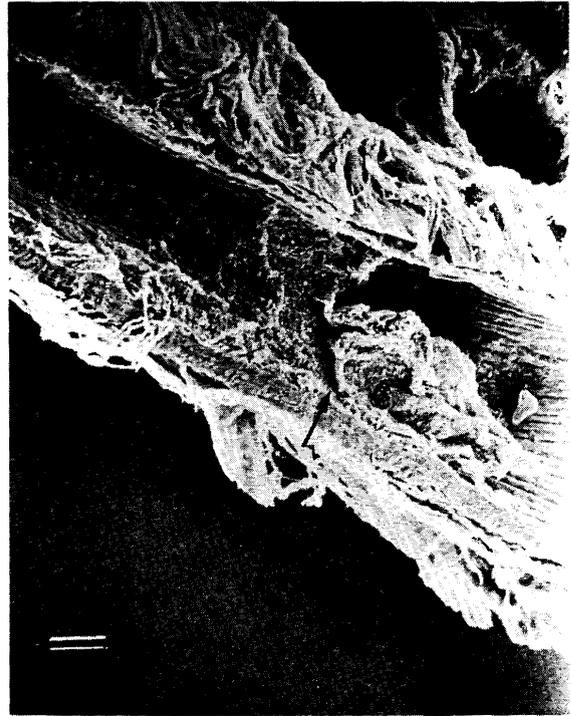
**Fig. 2** 損傷直後の血管内腔及び断面  
血管内腔に広範囲に多発する内膜の亀裂を認める(↓)、さらに外膜の血腫を認める(\*).

A. 走査電子顕微鏡像

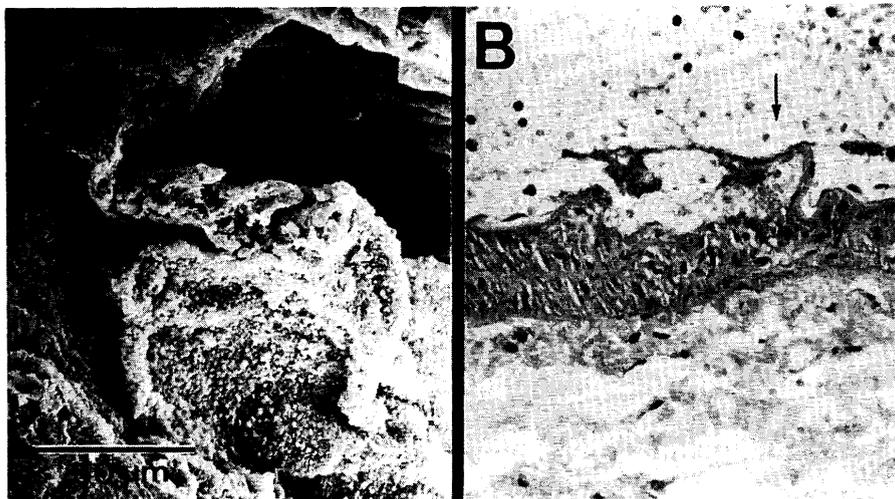
B. 光学顕微鏡像(H.E.染色×25)



**Fig. 3** 損傷直後の血管内腔及び断面。内膜の断裂とそれに伴う中膜の露出。さらに内膜が中膜から剝離し管腔内へ弁状の突出を認める(↓)。  
A. 走査電子顕微鏡像  
B. 光学顕微鏡像 (H.E. 染色×250)



**Fig. 4** 損傷後15分における血管内腔像 (走査電子顕微鏡)  
内膜の断裂による中膜の露出部分や弁状に突出した内膜に血小板の付着を認める(↓)。



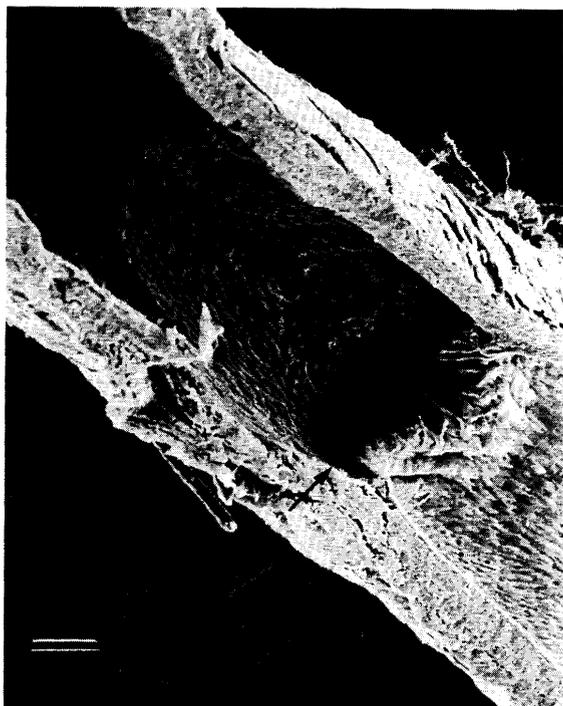
**Fig. 5** 損傷後15分の血管内腔及び断面  
A. 走査電子顕微鏡像  
B. 光学顕微鏡像 (H.E. 染色×250)

膜の断裂が多発し、中膜が露出していた (Fig. 2-A)。さらに断裂した内膜は、中膜から剝離し血管内腔に向かって弁状に突出していた (Fig. 3-A)。

光学顕微鏡像：広範囲にわたる間歇的な内膜の断裂と、損傷部分に一致した血管壁の狭窄を認めた。また一部外膜に血腫の形成を認めた (Fig. 2-B)。さらに中膜にも損傷は達し、内膜は中膜から剝離して管腔内へ弁状に突出していた (Fig. 3-B)。

#### 1) 損傷後15分

走査電子顕微鏡像：内膜断裂による中膜の露出部分や、弁状に突出した内膜に血小板の付着を認めた



(Fig. 4, 5-A)。

光学顕微鏡像：剝離による弁状突出した内膜の基部に血小板やフィブリンの強い付着を認めた (Fig. 5-B)。

#### 2) 損傷後1週間

走査電子顕微鏡像：損傷部分は再生した内皮細胞で完全に修復され、損傷後1週間で創傷治癒は完了していた (Fig. 6)。また内膜の弁状の突出は依然、その構築形態を保った状態で治癒は完了していた。

光学顕微鏡像：再生した内皮細胞は直接中膜上を被覆し、損傷部分の修復は完了していた (Fig. 7-B)。

#### 2. 開存率

損傷後15分及び1週間では、それぞれ良好な血流が認められ、Empty-and-refill test では、全例開存していた (Table 1)。

Table 1 損傷後15分及び1週間の開存率

Number of vessels	Patency (%)	
	15min	1week
6	100	100

Fig. 6 損傷後1週間における血管内腔像 (走査電子顕微鏡)

損傷部分は、再生内皮細胞によって完全に修復され、弁状に突出した内膜は依然として、その形態を維持していた (↓)。

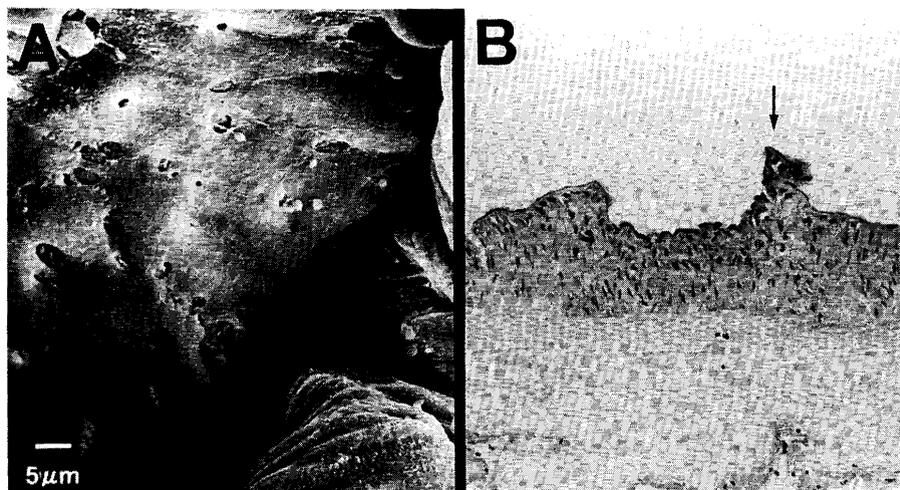


Fig. 7 損傷後1週間目の血管内腔及び断面

A. 走査電子顕微鏡像

B. 光学顕微鏡像 (H.E. 染色×150)

## 考 察

引き抜き損傷を有する切断指では、再接着術後早期に、血栓形成による血管閉塞を生じやすいとされている。特に動脈血栓の発生率は高く、諸家の報告では術後の生着率は60%以下であるとされている<sup>3</sup>。

今回、引き抜き損傷による血管内膜の損傷形態を検討した結果、広範囲に及ぶ連続した環状の内膜の断裂、さらにこの内膜は、中膜から剝離して管腔内に弁状の突出を認めた。その他の所見として、中膜にも、内膜の断裂に一致して損傷が及び、さらに一部外膜に血腫を形成していた。また血管壁は、損傷部分に一致して管腔内を狭窄していた。同様の結果は、Mitchellら<sup>4,5</sup>が行った、サルの前腕の動脈やウサギの大腿動脈の引き抜き損傷モデルでも報告されている。したがって、動脈が引き抜かれた場合に、血管壁に出現する特徴的な変化と考えられた。

血栓による血管閉塞が生じるか否かは、損傷後15分で、内膜の断裂や露出した中膜に血小板が粘着するのみで、血管閉塞は起こらなかった。さらに臨床的に血栓を生じやすいとされている1週間後では、内膜の欠損部に内皮細胞が再生し、損傷は完全に修復され、全例開存していた。この現象は、Isogaiら<sup>6,7</sup>の行った血管吻合部における創傷治癒の観察で、術後7日目に血管内皮細胞によって修復が完了するという報告と一致している。このことから、引き抜き損傷のような機械的損傷のみでは、内膜の創傷治癒過程には影響せず、血栓形成による血管閉塞は生じないことと思われる。今回の実験で、引き抜き損傷された血管は、血栓を生じやすいという臨床結果と相反するが、血管閉塞には、機械的損傷以外に、血流、血小板機能や凝固系、自律神経機能など、別々の様々な要因が複雑に関与するためではないかと考えられた。今後これらの要因を含めた条件下でより臨床例に近い損傷血管モデルを作製する必要があると

考える。

## 総 括

引き抜き損傷で生じる形態的特徴は、広範囲に及ぶ間歇的な環状の内膜の断裂で、この内膜は、中膜から剝離し、管腔内に弁状の突出する。実験的引き抜き血管損傷では、血栓形成による血管閉塞は生じない。さらに、今後機械的損傷以外に血流因子や凝固因子などを含めた条件下で損傷血管モデルを作製する必要がある。

## 文 献

1. Alpert B, Buncke H, Brownstein M. Replacement of damaged arteries and vein with vein grafts when replanting crushed, amputated fingers. *Plast Reconstr surg* 1978; 61.
2. 生田義和, 土井一輝, 吉村光生. 微小外科 第2版 1993; 84-86.
3. Eaton CJ, Michell GM, Crowe DM, Morrison WA, O'Brien McC. The effect of cold ischemia on the patency of microvascular repair following arterial avulsion injury. *Plast Reconstr surg* 1995; 96(2) 413-420.
4. Mitchell GM, Frykman GK, Morrison WA, O'Brien BMC. The nature and extent of histopathologic injury in human avulsed arteries and veins and experimentally avulsed monkey arteries. *Plast Reconstr surg* 1986; 78(6) 801-810.
5. Zeeman BR, Mitchell GM, Olazabal AE, Collopy PA, Morrison WA, O'Brien BMC. The significance of resection length on the patency rate, and the histopathology, of experimentally avulsed and microsurgically repaired blood vessels. *British Journal of Plast Surg* 1988; 41 509-514.
6. Isogai N, Kurozumi N, Kamiishi H, Chichibu S. Re-endothelialization stage at the microvascular anastomosis. *Microsurgery* 1988; 987-92.
7. Isogai N. An experimental study of wound healing at the site of microvascular anastomosis in special reference to endothelial recovery. *Acta Med Kinki Univ* 1987; 12 257-278.