

## 学位論文題名

## 門脈再建用人工血管としての大網被覆High-porosity expanded polytetrafluoroethyleneグラフトの有用性に関する実験的検討

## 学位論文内容の要旨

## I. 目的

近年、腹部外科領域において門脈合併切除・再建が積極的に行われるようになったが、門脈の切除距離が長くなった場合にはグラフト置換が必要となる。一般に再建材料として自家静脈を第一選択とすることが多いが、より簡便に用いることのできる人工血管が開発されれば臨床上有用である。今回 High-porosity EPTFEグラフトを用いた門脈移植実験を試みた。加えて毛細血管に富み血管新生作用をはじめとする各種創傷治癒作用を持つ有茎大網に着目し、High-porosity EPTFE人工血管の内皮化に対する有茎大網被覆の有効性について検討した。

## II. 材料と方法

人工血管は外壁に凸凹構造を有する EPTFEで、螺旋上に外側補強して使用した。長さ 4 cm、内径 8 mmで、fibril length は60  $\mu\text{m}$ である。

体重10~15kgの雑種成犬18頭を用いた。犬を全身麻酔下で開腹し、胃十二指腸静脈を切離したのち、約3 cmの門脈を切除して人工血管で端々置換した。吻合は6-0モノフィラメントポリプロピレン糸による連続縫合で行った。操作中、肝臓側門脈・人工血管吻合の間、腸間膜静脈一下大静脈間にバイパスを置いた。門脈遮断前にヘパリン100単位/kgを投与したが、術後は抗凝固療法は行わなかった。動物をAからCの3群に分けた。A群では人工血管を2重に有茎大網で被覆した（有茎大網被覆群）。B群では大網を90%以上摘除した（大網摘除群）。C群では大網を90%以上摘出した上で、その小片を用いて人工血管を被覆した（遊離大網被覆群）。

## III. 検索方法

手術4週間後に人工血管を吻合部を含めて摘出した。摘出した標本を長軸方向に切開して肉眼的に観察するとともに写真撮影したのち、長軸方向に半切し、一片を光学顕微鏡用に、他の一片を走査電子顕微鏡用に固定保存した。人工血管撮影写真をもとに仮性内膜の光沢のある平滑部を内皮化領域として、これの人工血管内面全面積に占める割合（%）を内皮被覆率とした。光顕的にはヘマトキシリン-エオジン染色にて仮性内膜厚および人工血管壁内細胞侵入数の観察をした。人工血管中央部の仮性内膜の10点を約500  $\mu\text{m}$ 間隔で計測しその平均値を仮性内膜厚とした。器質化血栓は仮性内膜として計測の対象に含めた。また、人工血管中央部の任意の10点で人工血管壁内0.25×0.25mm<sup>2</sup>中にみられる総細胞数の計測を行ないその平均を壁内細胞侵入数とした。電顕用標本は走査電子顕微鏡を用いて仮性内膜表面を観察した。測定値平均はMean  $\pm$  SDで示し、Wilcoxon Testで有意差検定を行ない、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

## IV. 実験結果

### 1. 肉眼的および病理組織学的検査

A群では全てのグラフトが開存していた。B群、C群の各1例で高度の血栓性狭窄を認め、C群の1例に閉塞がみられた。B、C群では仮性内膜はグラフトから剥離しやすく、内皮化領域は両側吻合部付近に限局し、グラフト中央部は厚い赤色血栓線維素膜で覆われていた。しかし、有茎大網被覆を行なったA群では仮性内膜は剥離され難く、白色で光沢のある平滑な内膜は吻合部付近のみならず中央部までグラフト全体にわたって覆っていた。人工血管内面中央部の新生内膜厚はA群  $770 \pm 263 \mu\text{m}$ 、B群  $980 \pm 482 \mu\text{m}$ 、C群  $1314 \pm 709 \mu\text{m}$ と、A群はB、C群よりも薄い傾向にあった。内皮被覆率はA群 ( $82.2 \pm 13.6\%$ ) でB群 ( $29.7 \pm 22.2\%$ )、C群 ( $9.8 \pm 13.1\%$ ) よりも有意に高かった ( $p < 0.01$ )。

顕微鏡所見では、B群では人工血管内面に厚い血栓膜がみられ、中央部では内皮細胞様細胞はみられなかった。C群でも同様の所見であった。一方、有茎大網被覆を行なったA群では、内腔には薄い仮性内膜が形成され、最内面には一層の扁平な内皮細胞様細胞が認められた。強拡大では、A群では、線維間隙に線維芽細胞などの侵入細胞が多数認められ、毛細血管も観察された。また、仮性内膜層にも細胞成分が多く認められた。一方、B群のグラフト線維間への細胞侵入は乏しく、C群においても同様に細胞侵入は少なく、毛細血管の新生もほとんど認められなかった。人工血管壁内  $0.25 \times 0.25 \text{mm}^2$  中に見られる総細胞数を比較検討してみたところA群  $509 \pm 74$ 、B群  $172 \pm 131$ 、C群  $111 \pm 109$  とA群で有意に多かった ( $p < 0.01$ )。

### 2. 走査電子顕微鏡検査

A群でグラフトの長軸方向に並ぶ内皮細胞様細胞が多数観察された。一方B群、C群のグラフト中央部には内皮細胞様細胞は見られず、蛋白膜、凝血を認めるのみであった。

## V. 考察

人工血管の最終的開存性には内腔面の内皮細胞被覆が重要であるが、人工血管移植後の治癒過程は人工血管の条件や生体側の条件によって修飾され、EPTFEの治癒過程も、そのfibril lengthに強く影響を受けている。今回の門脈移植実験ではfibril lengthの大きい ( $60 \mu\text{m}$ ) High-porosity EPTFE人工血管を用いてその内皮化の検討を行なった。有茎大網被覆を行なわない移植4週後の段階では内皮化は両側吻合部付近に限局し、内膜は厚く剥離しやすく器質化は十分ではなかった。これは人工血管側の条件としてはfibril lengthが大きいことによってporosity (有孔性)が高まるとともに人工血管内面の物理的性状が変化すること、生体側の条件としては門脈血流は動脈系血管と比較して低圧で流速が遅いこと、動物種の違いなどにより内面に過度の血液成分の沈着が生じることが想定された。筆者は大網の持つ種々の生物学的作用を応用すればむしろ high-porosityであることが有利な生体側の条件を作り出すのではないかと考え本実験を行なった。その結果有茎大網被覆を行なった High-porosity EPTFEグラフトは移植4週間において良好な内皮化が得られ、内膜の固着性も良好であり、100%の内皮被覆率を得たグラフトもみられた。

有茎大網には血液・マクロファージ・間質細胞・内皮細胞・マスト細胞などの各種細胞、体内調節物質等を輸送する作用、血管新生作用、免疫作用などの機能が知られている。有茎大網被覆 EPTFEでは人工血管壁内への多数の細胞侵入がみられたが、大網摘除群や遊離大網被覆群では細胞侵入が少なく内皮化が得られなかったことより、有茎大網の細胞輸送作用、血管新生作用が有茎大網被覆 High-porosity EPTFE人工血管の内皮化と深く関連していると考えられる。

EPTFE人工血管の感染性についてはさらに検討する必要があるが、本実験では人工血管周囲に膿瘍の形成はなく、有茎大網被覆を行なって人工血管周囲感染が保存的に治癒したとの共同実験結果も得ており、有茎大網被覆 High-porosity EPTFE人工血管は肝胆脾手術においても適用できる可能性が大きいと考えられる。

## VI. 結論

- (1) 有茎大網被覆人工血管の移植4週間後の開存率は100%であった。
- (2) 有茎大網被覆により人工血管外面から人工血管壁内へ侵入したと思われる細胞数が増加し、良

好な内皮化が得られた。

- (3) High-porosity EPTFE人工血管の組織治癒においては、グラフト外面からの細胞侵入を積極的に誘導することがEPTFEの内皮化促進にとって重要である。
- (4) 有茎大網被覆 High-porosity EPTFE人工血管は門脈再建用人工血管として臨床応用が期待される。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 加 藤 紘 之

副 査 教 授 安 田 慶 秀

副 査 教 授 金 田 清 志

学 位 論 文 題 名

## 門脈再建用人工血管としての大網被覆High-porosity expanded polytetrafluoroethyleneグラフトの有用性に関する実験的検討

近年、腹部外科領域において門脈合併切除・再建が積極的に行われるようになったが、門脈の切除範囲が長くなった場合にはグラフト置換が必要となる。一般に再建材料として自家静脈を第一選択とすることが多いが、より簡便に用いることのできる人工血管が開発されれば臨床上有用である。本研究ではHigh-porosity expanded polytetrafluoroethylene (以下EPTFE)グラフトを用いた門脈移植実験を試みた。加えて毛細血管に富み血管新生作用をはじめとする各種創傷治癒作用を持つ有茎大網に着目し、High-porosity EPTFE人工血管の内皮化に対する有茎大網被覆の有効性について検討した。

人工血管は外壁凹凸構造を有するEPTFEで、螺旋状に外側補強して使用した。長さ4cm、内径8mmで、fibril length 60 $\mu$ mである。実験動物には体重10~15kgの雑種成犬18頭を用いた。門脈を切除して人工血管で端々置換した。吻合は6-0モノフィラメントポリプロピレン糸による連続縫合で行った。操作中、肝臓側門脈・人工血管吻合の間、腸間膜静脈一下大静脈間にバイパスを置いた。門脈遮断前にヘパリン100単位/kgを投与したが、術後は抗凝固療法は行わなかった。動物をAからCの3群に分けた。A群では人工血管を二重に有茎大網で被覆した(有茎大網被覆群)。B群では大網を90%以上摘除した(大網摘除群)。C群では大網を90%以上摘出した上で、その小片を用いて人工血管を被覆した(遊離大網被覆群)。

手術4週間後に人工血管を吻合部を含めて摘出した。摘出した標本を長軸方向に切開して肉眼的に観察するとともに写真撮影した。人工血管撮影写真をもとに仮性内膜の光沢ある平滑部を内皮化領域として、これの人工血管内面全面積に占める割合(%)を内皮被覆率とした。光学顕微鏡にて人工血管中央部の仮性内膜の10点を約500 $\mu$ m間隔で計測しその平均値を仮性内膜厚とした。また人工血管壁内0.25 $\times$ 0.25mm<sup>2</sup>中にみられる総細胞数の計測を行いその平均を壁内細胞侵入数とした。走査電子顕微鏡を用いて仮性内膜表面を観察した。

その結果、A群ではすべてのグラフトが開存していた。B群、C群の各1例で高度の血栓性狭窄を認め、C群の例に閉塞がみられた。B、C群では仮性内膜はグラフトから剥離しやすく、内皮化領域は両側吻合部付近に限局し、グラフト中央部は厚い赤色血栓線維素膜で覆われていた。しかし、有茎大網被覆を行ったA群では仮性内膜は剥離され難く、白色で光沢のある平滑な内膜は吻合部付近のみならず中央部までグラフト全体にわたって覆っていた。内皮被覆率はA群82.2%でB群29.7%、C群9.8%よりも有意に高かった。光顕所見では、B群では人工血管内面に厚い血栓膜がみられ、中央部では内皮細胞様細胞はみられなかった。C群でも同様の所見であった。一方、有茎大網被覆を行ったA群では、内腔には薄い仮性内膜が形成され、最内面には一層の扁平な内皮細胞様細胞が認められた。人工血管内面中央部の仮性内膜厚はA群770 $\mu$ m、B群980 $\mu$ m、C群1314 $\mu$ mと、A群はB、C群よりも薄い傾向にあった。光顕強拡大では、A群は、線維間隙に線維芽細胞などの侵入細胞が多数認められ、

毛細血管も観察された。また、仮性内膜層にも細胞成分が多く認められた。一方、B群のグラフト線維間への細胞侵入は乏しく、C群においても同様に細胞侵入は少なく、毛細血管の新生もほとんど認められなかった。人工血管壁内 $0.25 \times 0.25 \text{mm}^2$ 中にみられる総細胞数を比較検討したところA群509, B群172, C群111, とA群で有意に多かった。走査電子顕微鏡ではA群でグラフトの長軸方向に並ぶ内皮細胞様細胞が多数観察された。一方B群, C群のグラフト中央部には内皮細胞様細胞はみられず、蛋白膜, 凝血を認めるのみであった。

以上の結果より、有茎大網被覆 EPTFE人工血管の門脈移植4週間後の開存率は100%であり、有茎大網被覆は High-porosity EPTFE人工血管の内皮化を促進することが示された。またグラフト外面からの細胞侵入を積極的に誘導することが EPTFEの内皮化促進にとって重要であることが示された。

口頭発表において金田清志教授より門脈と四肢の静脈との間の組織学的相違, 流血成分の相違, 周囲環境の相違について、仮性内膜の光沢のある平滑部での内皮細胞の存在の有無, 移植長期後の内皮細胞の新生について、杉原平樹教授よりC群の意義, BC群人工血管外側組織像について、人工血管置換前後の門脈血流量の変化の有無について、阿部和厚教授より人工血管中央部と吻合部の内皮化の相違, 人工血管への内皮細胞の由来, 毛細血管侵入の有無, 平滑筋層の進展の有無について、また後日、安田慶秀教授よりA群の内皮化が完成する以前の早期の抗血栓性の問題, 人工血管外側補強の意義, 摘除大網の再生の可能性について、BC群間の内皮被覆の差についての質問があったが、申請者はおおむね妥当な回答をした。

有茎大網被覆 High-porosity EPTFE人工血管の有用性に関して検討され、その門脈再建での臨床応用が期待される本研究の意義は大きく、本論文は博士(医学)の学位授与に値するものと判定する。