

学 位 論 文 題 名

門脈置換人工血管の感染対策に関する実験的検討

学位論文内容の要旨

I. 目 的

脾・胆道系悪性腫瘍に対する門脈切除後の代用血管として第一選択とすべき自家静脈はその屈曲、圧迫に対する脆弱性、採取の繁雑さなどの問題点を有するため、これに代る人工血管の開発が望まれている。これまでも門脈代用血管の実験的あるいは臨床的検討は行われてきたが、手術時に予想される各種消化液や細菌汚染に対する安全性についての報告は少ない。

一方、大網はその優れた抗感染作用、創傷治癒促進作用から現在様々な領域で臨床応用されているが、人工血管治癒についても同様の効果が期待される。予備実験から、有茎大網を被覆したePTFE人工血管による門脈置換には線維長60 μ mのhigh porous ePTFEが最も良好な治癒が得られることを明らかにし得たので、今回、汚染環境下に本移植法を用いて実験を行い、大網の抗感染効果を検索し、その臨床応用の可能性を検討した。

II. 材料および方法

移植にはTechno-graftTM（住友電工株）と同様の外壁構造を有し、線維長を60 μ mと延長したhigh porous ePTFE人工血管を用い、外面には管腔構造保持のためfluoroethylene-propyleneによる螺旋状の補強を施した。

実験動物はビーグル犬成犬30頭を用い、各6頭ずつ5群に分けた。すなわち、非汚染環境下に大網被覆を行った群をコントロール群とし、胆汁および大腸菌による二種の汚染環境を作成し、それらをさらに大網被覆群、非被覆群に分類した。汚染環境は、胆汁3ml、あるいは大腸菌10⁸colony forming unit(cfu)を生理食塩水に混じ、移植後腹腔内に投与した。生存した動物は移植4週後に犠牲死させ、菌血症の有無、人工血管開存性、感染の有無、および治癒状態の組織学的検討を行った。

III. 結 果

1) 人工血管開存性

コントロール群および両汚染モデルの被覆群では観察期間中の死亡例はなかった。非被覆群では胆汁散布群の1例が亜急性閉塞により死亡し、大腸菌散布例では6例中3例が急性閉塞により死亡した。コントロール群、胆汁散布被覆群、同非被覆群、大腸菌散布被覆群、同非被覆群の開存率はそれぞれ、100, 83.3, 66.7, 83.3, 50.0%であった。

2) 細菌学的検討

汚染モデルの被覆群で6例中それぞれ2例ずつ(33.3%)のグラフト感染を認めたが、非被覆群では胆汁散布モデルで5例中4例(80%)、大腸菌汚染モデルでは3例中全例(100%)に感染を認めた。動脈血培養結果は、被覆群では大腸菌散布モデルの1例(16.7%)で陽性を認めるのみであったが、非被覆群では胆汁散布モデルの5例中4例(80%)、大腸菌散布モデルで3例中2例(66.7%)で陽性であった。

3) 人工血管の肉眼所見および病理組織学的所見

肉眼所見の観察では、両汚染モデルの被覆群はコントロール群と同等の内腔面を呈したが、非被覆群ではコントロール群および被覆群と比較して血栓が高度に残存していた。

光顕による観察では両汚染モデルの被覆群ではコントロール群と同様に、仮生内膜はほぼ均一な線維化組織で形成され、内腔面には一層の内皮細胞様細胞が認められた。非被覆群では内膜が不均一な非器質化組織で形成され、内腔面に内皮細胞様細胞と思われる層を認めなかった。また、被覆群では人工血管の線維間隙から仮生内膜にかけて多数のマクロファージや線維芽細胞などの細胞侵入が観察された。

4) 走査電子顕微鏡所見

汚染モデルの被覆群の吻合部近傍にのみコントロール群と同様な内皮細胞様細胞を認め、両非被覆群では同様の細胞を認めなかった。

IV. 考 察

Polytetrafluoroethyleneは、それ自体が最も抗感染性の高い人工血管材料の一つとされるが、無菌手術の移植においてもその抗感染性は完全とはいえず、抗感染性に優れ、かつ開存性の高い人工血管の開発をめざし、これまで様々な実験的検討がなされてきた。ことに、胆道系手術時における門脈移植に際しては胆汁が一種の化学的反応物質として人工血管に作用することが考えられ、消化液の細菌汚染に対する抵抗性ととも特殊環境下における良好な治癒も求められる。

大網は以前より、創傷治癒に対し様々な効果をもつことが知られ、各種外科領域で感染・炎症組織に対する応用が盛んに行われるようになった。本研究の予備実験として行った非汚染環境下の検討で、線維長60 μ mのhigh porous ePTFE人工血管に大網を被覆して門脈置換を行ったところ、大網被覆を行わないモデルと比較し良好な仮生内膜と内皮細胞様細胞の形成を認めた。これは人工血管の広い線維間隙を通じて大網からの各種細胞や因子が仮生内膜内へ侵入することによる治癒促進効果と考えられた。本研究では汚染環境において同移植を行うことにより、被覆した大網が人工血管に抗感染性と治癒促進効果をもたらすことが期待された。

実際、各汚染環境下において大網被覆群は良好な開存性と抗感染性を認め、さらに菌血症の発生も低率であった。組織学的には被覆群の仮生内膜において、コントロール群ほぼ同等な人工血管内膜の良好な器質化が証明され、内腔面には内皮細胞様細胞も証明された。非被覆群との明らかな相違は、仮生内膜における大網から遊出したと考えられるマクロファージや線維芽細胞などの細胞侵入であり、これらが人工血管内膜の形成に寄与し、大網自体の免疫作用に相まって、人工血管の抗感染性高めたと考察される。また、汚染モデルにおける細胞侵入数がコントロール群に比べさらに増加したことは、炎症や感染により大網機能が惹起され、細胞遊出能がより高度となったためと予想された。しかし、この細胞数の増加と汚染モデルの内皮細胞様細胞の形成が不完全であることを考えあわせると、汚染環境下では人工血管治癒過程が遅延している可能性が考えられる。よって、より安全性

を高めるために人工血管材料や、porosityを含めた人工血管の構造に関し、さらなる検討が必要と考えられた。

V. 結 語

有茎大網被覆を行って門脈に移植したhigh porous ePTFE人工血管には強力な感染抵抗性がもたらされ、高い開存性が得られた。従って、本移植法は門脈置換用代用血管として臨床応用可能であることが示唆された。

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 皆 川 知 紀

学 位 論 文 題 名

門脈置換人工血管の感染対策に関する実験的検討

膵・胆道系悪性腫瘍に対する門脈切除後の代用血管として第一選択とすべき自家静脈はその屈曲、圧迫に対する脆弱性、採取の繁雑さなどの問題点を有するため、これに代る人工血管の開発が望まれている。これまでいくつかの検討が行われているが、手術時に予想される各種消化液や細菌汚染に対する安全性についての報告は少ない。今回、予備実験において大網の持つ優れた創傷治癒促進作用を応用し、線維長を60 μm と延長したhigh porous ePTFE人工血管に有茎大網を被覆した門脈置換モデルを作成し、良好な成績が得られた。そこで本研究では大網の持つ抗炎症、抗感染作用が汚染環境下において有効に作用する可能性を考え、本移植法を汚染状態において施行し、その臨床応用の可能性を検討した。

移植にはTechno-graft™（住友電気株式会社）と同様の外壁構造を有し、線維長60 μm のhigh porous ePTFE人工血管を用い、実験動物は成犬30頭を使用した。実験は各6頭ずつ5群に分けて行い、非汚染環境下に大網被覆を行った群をコントロール群とし、他4群は胆汁および大腸菌による二種の汚染環境において大網被覆群、非被覆群のモデルをそれぞれ作成し、計5群とした。汚染環境は、胆汁3ml、あるいは大腸菌 10^8 colony forming unit(cfu)を30mlの生理食塩水に混じ、移植後腹腔内に投与した。生存した動物は移植4週後に犠牲死させ、菌血症の有無、人工血管開存性、感染の有無、および治癒状態の組織学的検討を行った。

その結果、人工血管開存性はコントロール群および両汚染モデルの被覆群では観察期間中の死亡例はなく、非被覆群では胆汁散布群の1例、大腸菌散布例の6例中3例が急性閉塞により死亡した。コントロール群、胆汁散布被覆群、同非被覆群、大腸菌散布被覆群、同非被覆群の開存率はそれぞれ、100、83.3、66.7、83.3、50.0%であった。細菌学的検討では

汚染モデルの被覆群で6例中それぞれ2例ずつ(33.3%)のグラフト感染を認めたが、非被覆群では胆汁散布モデルで5例中4例(80%)、大腸菌汚染モデルでは3例中全例(100%)に感染を認めた。動脈血培養結果は、被覆群では大腸菌散布モデルの1例(16.7%)で陽性を認めるのみであったが、非被覆群では胆汁散布モデルの5例中4例(80%)、大腸菌散布モデルで3例中2例(66.7%)で陽性であった。人工血管の肉眼所見の観察では、両汚染モデルの被覆群はコントロール群と同等の内腔面を呈したが、非被覆群ではコントロール群および被覆群と比較して血栓が高度に残存していた。光顕による組織学的観察では、両汚染モデルの被覆群ではコントロール群と同様に仮生内膜はほぼ均一な線維化組織で形成され、

内腔面には一層の内皮細胞様細胞が認められたが非被覆群では内膜が不均一な非器質化組織で形成され、内腔面に内皮細胞様細胞と思われる層を認めなかった。また、被覆群では人工血管の線維間隙から仮生内膜にかけて多数のマクロファージや線維芽細胞などの細胞侵入が観察された。走査電子顕微鏡所見では、汚染モデルの被覆群の吻合部近傍にのみコントロール群と同様な内皮細胞様細胞を認め、両非被覆群では同様の細胞を認めなかった。

以上の結果から、有茎大網被覆を行って門脈に移植したhigh porous ePTFE人工血管には強力な感染抵抗性がもたらされるとともに良好な人工血管治癒にもとづく高い開存性が得られ、本移植法は門脈置換用代用血管として臨床応用可能であることが示唆された。

口頭発表において、皆川知紀教授より、コントロール群の設定および腹腔内撒布細菌の決定に関し示唆がなされ、さらに感染人工血管の起因菌に関して、人工血管仮生内膜の厚さの差に関しての質問があった。ついで安田慶秀教授より急性死亡例の死因に関して吻合自体が原因となっている可能性について、人工血管内新生内皮細胞の由来に関して、晩期の吻合部内膜肥厚の可能性について、さらに走査電子顕微鏡像における非被覆群の所見に関しての質問があり、最後に加藤紘之教授より本移植法の臨床応用の可能性に関し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。

本研究は大網の抗炎症、抗感染作用、創傷治癒効果を人工血管治癒に応用し、実際の汚染手術野における移植人工血管の治癒状態を組織学的に観察を行い、臨床応用の可能性を検討した点においてその意義は大きく、審査員協議の結果、本論文は博士（医学）の学位授与に値するものと判定した。