

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

Vascular Medicine (2006.07) 2巻3号:252～257.

【血管内皮を標的とした血管病予防を探る】
代用血管の開存から内皮脱落時の抗血栓メカニズムをみる

笹嶋唯博

代用血管の開存から 内皮脱落時の抗血栓メカニズムをみる

笹嶋 唯博

Sasajima Tadahiro

旭川医科大学第一外科

自家代用血管は動物種を問わず早々に内皮化し、人工血管でもイヌやげっ歯類では3ヵ月以内に内皮化する。自家血管は手術直後は80%以上の内皮脱落があり、この時期のグラフト開存はおもに中膜由来の抗血栓性物質と内弾性板の抗血栓性にも依存する。人工血管の開存は、早期は基本的に大血流に依存し、内皮化が完了すると安定するが、ヒトでの内皮化はきわめてまれである。臨床人工血管摘出標本は短期・長期を問わず一様にフィブリン膜か仮性内膜(結合織+フィブリン膜)にとどまり、その抗血栓性は血流面のフィブリン膜上に獲得された厚さ数100 μ mのt-PAやプラスミノゲン濃厚層の線溶活性に依存し、これ以後は容易には閉塞しなくなる。

KEY WORDS

● 自家静脈グラフト (AVG) ● 人工血管 ● 抗血栓性 ● フィブリン

はじめに

代用血管は生体血管(自家血管と同種血管)と人工血管(おもに合成高分子材料、化学修飾生体血管も含まれる)に大別されるが、現在臨床で使用されているのは、自家血管、合成高分子人工血管(ポリエステルとテフロン)、および凍結保存ヒト血管である。凍結保存ヒト血管は、種々の制約から感染性動脈瘤や人工血管感染例の場合の *in situ* 再建に使用が限定されるため、代用血管といえば臨床的には前二者である。自家代用血管の使用上の制約から、すぐれた小口径人工血管は心臓血管外科において、最も待望されている発明である。しかし、開発上の大きな

障害の一つとして、代用血管が生体に埋め込まれたとき、動物によって治癒過程が大きく異なり、下等動物ほど開存成績がよくなるため、臨床応用の可能性が誤認される危険性を含んでいる。自家代用血管は動物種を問わず、内皮化により良好な開存成績を示す。一方、市販人工血管の開存は、基本的に血流量に依存するため、大動脈とその一次分枝までの再建で第一選択として使用されているが、中小動脈再建では開存成績が不良で、内径4mm以下の人工血管は臨床応用可能なものがいまだに存在しない。

本稿では、他誌¹⁾でも述べたが、ヒトと動物の相違を示しながら、内皮脱落または内皮化しない代用血管の開存メカニズムを解説する。

○ 代用血管の治癒：ヒトと動物の相違とは？

自家代用血管は静脈グラフトと動脈グラフトに分けられる。両者は内皮細胞の形態、脱落のしやすさや再生能、プロスタサイクリン産生能²⁾³⁾などに若干の相違はあるが、人工血管との相違ほど大きな隔たりはない。自家血管が移植される時、グラフト調整過程や移植手技に伴って内皮はいったん脱落する。程なく内皮再生がはじまるが、下等動物（げっ歯類）では旺盛な再生を示すことから、グラフトの開存性や特有の合併症は動物種で異なるといえる。たとえば、臨床的に最も多く使用される自家静脈グラフト（autogenous vein graft：AVG）は大伏在静脈が第一選択であるが、上肢静脈や小伏在静脈でも臨床上開存性に大差はない。いずれにおいても AVG 特有の合併症として限局性進行性内膜肥厚（intimal hyperplasia：IH）によるグラフト狭窄（vein graft stenosis：VGS）を発生する。その頻度はヒトでは 15%であるが、イヌ AVG 移植実験では観察されず、再現することもできていない。

ヒトと動物の治癒能力の比較で最も顕著な相違は、人工血管の内皮化にみることができ。ニット編みポリエステル人工血管（後述）は、イヌの場合およそ 3 ヶ月で例外なく内皮化が完了するが、ヒトではきわめてまれにしか内皮化されない。その影響は、動物間での人工血管開存性の相違にもなって現れ、小動物げっ歯類ほど開存しやすく、ヒトやイヌでは開存し得ない人工血管が開存する。たとえば内径 1 mm の伸延ポリテトラフルオロエチレン（expanded polytetrafluoroethylene：ePTFE）は、ヒトやイヌにおいて口径 1 mm の動脈に埋め込んでも開存することはあり得ないが、ラットの大動脈（口径約 1 mm）では内皮化し、60%以上の長期開存率が得られる。そのため、小口径人工血管開発にラットや家兎をもっぱら実験に使用した研究者は小口径人工血管の開発の見通しを楽観視し、イヌを使用した研究者はその容易ならざることを痛感してきた。人工血管が動物の種類に関係なく、その口径と動脈の太さのみで共通の開存性を示すならば、内径 1 mm で開存する ePTFE の結果は臨床上きわめ

て有用と判定される。しかし現実には、イヌでは内径 4 mm の ePTFE ですら頸動脈埋め込み実験の開存率が 40%に達しない。ePTFE 以外でも、過去 30 余年における小口径人工血管開発の試みは多数あった。イヌを用いて良好な開存成績をあげた報告も散見されたが、開存率の帳尻を合わせるため体重 30~50 kg の巨大犬を使用する秘策を用いていた。このような負の開発史を背景に、小口径人工血管の臨床応用としては、大血流の得られる人工透析用シャントや新生児プレロックシャントなどに、内径 4 mm の ePTFE が臨床使用されているにすぎない。

人工血管埋め込み実験では、使用される動物種に起因する人工血管治癒像の相違が一種のアーチファクトとして介在し、実験動物の治癒像や開存成績は、必ずしもヒト生体内埋め込み後の運命を予測させるモデルになっていないことを知る必要がある。

○ AVG 開存のメカニズムをみる

1) 移植後治癒過程

AVG は臨床的に下肢末梢動脈バイパスや冠動脈バイパスに使用される。静脈が動脈に埋め込まれることにより、形態的、機能的 integrity に変化をきたすが、移植後の正常の治癒過程を動物実験と臨床摘出標本の両方からたどってみる。AVG は動脈に移植される前に分枝の結紮、拡張処理が加えられる。この調製から移植後 2 日までの間に、物理的、化学的傷害や虚血再灌流傷害などにより内皮細胞の 80%が脱落し⁴⁾、再生は移植後 3 日からはじまる（図①）。しかし、移植初期のこの内皮脱落期は、AVG が内皮欠如でも開存することを意味しており、中膜由来のプロスタグランジン（PG）I₂の分泌が認められる（図②）⁵⁾。このような中膜平滑筋細胞由来の抗血栓性物質が、内皮脱落 AVG の開存を担う主役と考えられる。また走査電顕上、内弾性板欠損部は膠原線維が露出し、血小板やフィブリンの沈着をみるが、内弾性板は高い抗血栓性を示し、これが内皮脱落期の開存に多少なりとも寄与していることがうかがわれる。移植後 3 日目からみられる内皮細胞の再生は、静脈弁や結紮分枝の陥凹

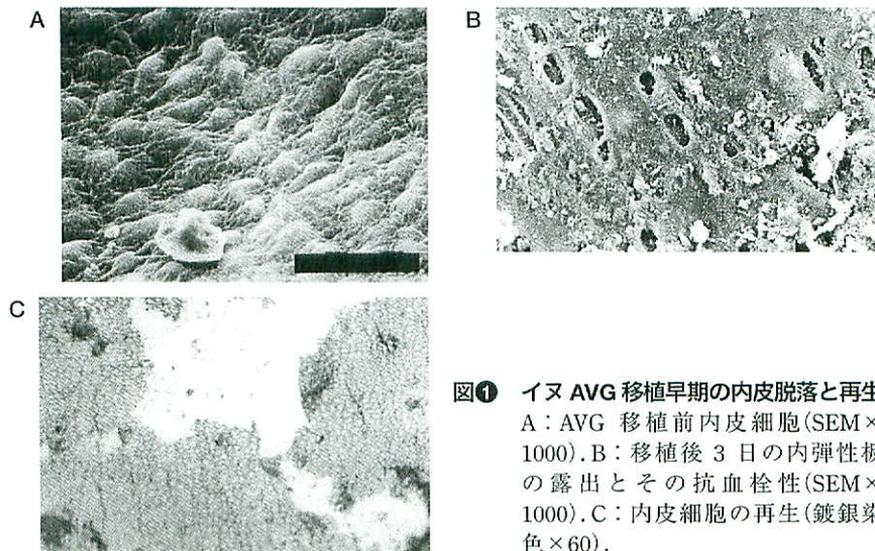
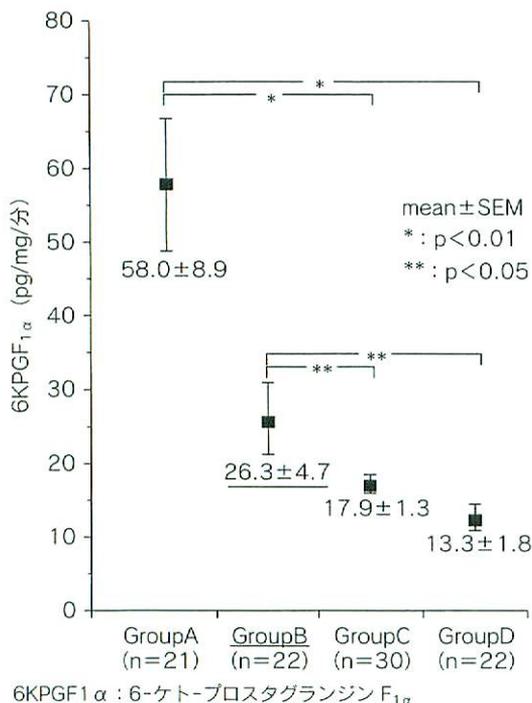


図1 イヌ AVG 移植早期の内皮脱落と再生
A: AVG 移植前内皮細胞(SEM×1000). B: 移植後3日の内弾性板の露出とその抗血栓性(SEM×1000). C: 内皮細胞の再生(鍍銀染色×60).



6KPGF_{1α}: 6-ケト-プロスタグランジン F_{1α}

図2 イヌ AVG 移植内皮脱落期の抗血栓性(非刺激下の PGI₂分泌)

Group A: 正常静脈, Group B: 生食浸漬内皮細胞除去, Group C: 生食内凍結保存, Group D: コラゲナーゼ浸漬. 中膜由来 PGI₂ (6KPGF_{1α}) は内皮・中膜細胞障害 (Group C) で分泌消失するのに対し, 内皮脱落/中膜温存 (Group B) で分泌を認める.

(Yatsuyanagi E *et al*, 1998⁵)より引用)

部, さらにはびまん性に小集落的に残存した内皮細胞が雲の広がりのように, 不規則に増殖しつつ全体を被覆する. グraftの調整法の相違により差はあるが, イヌでは1週目で80%, 4週目で90%以上の内皮化が完了するが⁴⁾, ヒトでも移植後3ヵ月の摘出標本で内皮化が完了している. 内皮以外の所見として, 移植後4~5日目には vasa vasorum の再疎通開始⁶⁾, PGI₂産生能の回復(1週目)⁵⁾, 内膜肥厚の開始(2~4週目)⁶⁾と停止(8週目)⁷⁾, 軽度の中膜萎縮と外膜肥厚などを経てarterialization(動脈化)が完了し, それ以後5年目までは安定期を過ごす.

2) AVGの閉塞原因

临床上, AVGの閉塞原因は移植期間により特定される. 吻合手技に問題がない限り, 初期閉塞はAVGの質的不良が主因である. しかし, 不良と判定したなかの半数は, 長期開存を得るため不良graftでも使用せざるを得ない隘路がある. 初回バイパス時の術中graft造影で確認された不良分節(通常5cm以内)が真に不良ならば, 通常は移植後24時間以内に血栓閉塞する. 同部を新たなAVG片で置換すれば容易にgraft salvageが達成され, 急性期は安定する. およそ1ヵ月後から, 新たな閉塞原因としてIHによるVGSを念頭に置かねばならない. VGSは1ヵ月~2年以内, とりわけ3ヵ月~1

年以内に好発する。質的に不良な AVG に類発し⁸⁾⁹⁾、約 70% が弁部に発生する。また弁が吻合部近傍に位置する形で移植された場合、吻合部から弁にかけて融合した狭窄を形成し、乱流の発生の影響が推察される。小口径人工血管閉塞の主因である吻合部内膜肥厚は、AVG ではむしろ少ない。VGS は早期ほど進行が急速で、failed graft (グラフト血栓閉塞) に陥りやすい。閉塞した AVG は虚血や炎症が中膜平滑筋細胞を傷害してアポトーシスを誘発し¹⁰⁾、再開存は困難になるので、血栓閉塞後 3 日以内に graft salvage することが望ましい。

2 年以後の所見は動物では長すぎるので実験結果がないが、ヒトの摘出標本から直接知ることができる。移植後 3~5 年までは安定期である。しかし移植後 2 年以降、中膜萎縮が徐々に進行し、5 年を過ぎると線維化が顕著となり、著明な IH と高度に萎縮した中膜、外膜が厚くなり、collagen conduit (コラーゲン管) の様相を呈するとともに、粥状硬化 (graft sclerosis : GS) が進行し、5 年以降の閉塞の主因となる。高脂血症例ではより早期に (3~4 年) 発生し、高度の粥状硬化変性グラフトは salvage の方法はなく、これが AVG の寿命である。

人工血管開存のメカニズムをみる

1) 生体埋め込み後の初期病理像

人工血管は、もともと内膜も中膜もない、組織を受け入れる可能性を付与されただけのただの異物の枠である。これが生体血管に埋め込まれると、異物を包み込む反応が起こり、これは被包化 (encapsulation) といわれる。人工血管は管腔構造であるので、被包化組織は内側 (血流面) を被覆する内包層と外側の外包層に分けられる。内面には急速に種々の蛋白 (アルブミンやグロブリン) が沈着し、材料表面が被覆されるが、巨視的にはフィブリンが急速に沈着し、フィブリン網からしだいに密度を増してフィブリン膜となる。同時に異物炎に伴って新生結合織が形成されるが、被包化完了までの時間経過や最終治癒像は、人工血管の形状や動物種による治癒能力の相違などから一様ではない。

2) 平織り人工血管の治癒

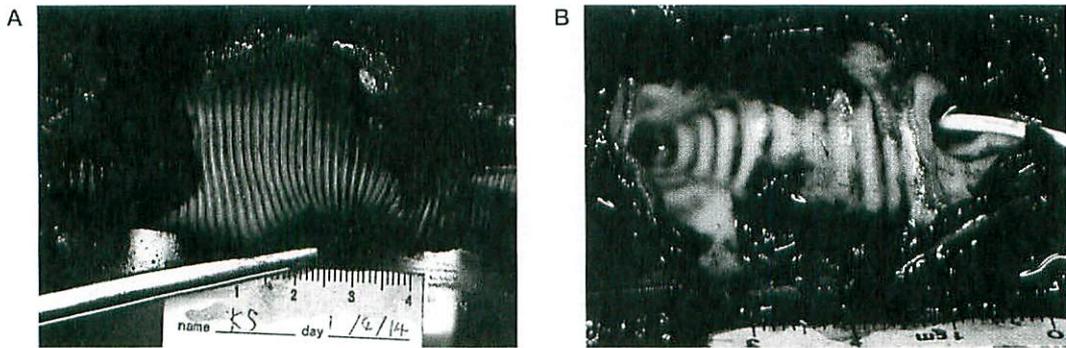
人工心肺を使用する胸部大動脈領域では、治癒よりも出血の防止に主眼が置かれ、有孔度が小さく血液が漏れづらい平織り人工血管 (有孔度 50~300 ml/分) が使用される。編み目からの出血がない反面、細胞侵入も阻害されるため、結合織外包層は形成されるが、イヌでも結合織内包層 (仮性内膜) は形成されず、内皮化もしない (図 3A)。げっ歯類は結合織内包層や内皮が形成されるが、イヌやヒトでは内包層は永久にフィブリン膜のままどまり、内皮はイヌでは部分的に形成され、ヒトでは決して内皮化しないが、それでも開存をつづける。

3) ニット編み人工血管の治癒

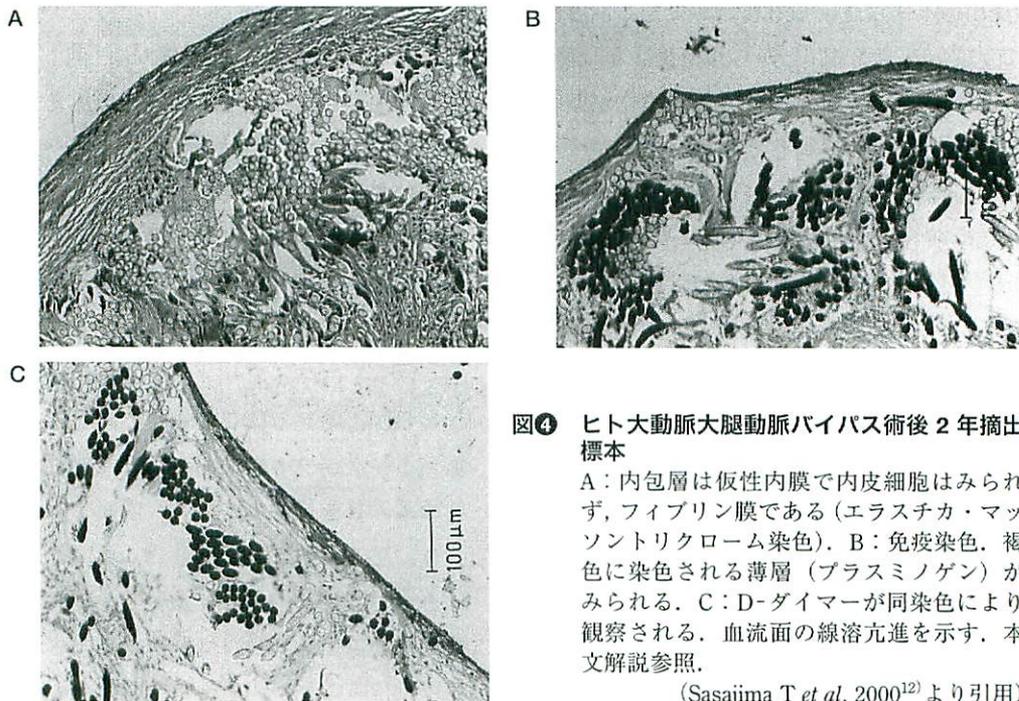
人工血管にとっても、被包化に加えて内皮化が更なる安定をもたらすことはいままでのない。イヌ埋め込み実験の結果から、高有孔性構造が内皮化に不可欠であることが示され、ポリエステル繊維のメリヤス (ニット) 編み人工血管 (有孔度 1,000~1,500 ml/分) が内皮化する人工血管として登場した。ニット編み人工血管では、内面に沈着したフィブリン膜が器質化し、結合織へと置きかわるが、イヌではこの過程で両吻合部からの内皮の進展およびグラフト中央部の結合織内新生血管由来内皮細胞の編み目を通しての進展、内面への開口、増殖などにより、急速に内皮化が進む。これによりイヌでは例外なく 3 ヶ月以内に内皮化する一方、ヒトでは光沢ある結合織内包層 (仮性内膜) は確かに形成されるが (図 3B)、内皮化はみられず、それでも開存をつづける。

4) 内皮化しない人工血管の開存

ニット人工血管のイヌ埋め込み実験で観察された内皮化は、ヒトにおいても当然達成されているものと推察し、臨床ではおもに腹部大動脈以下の動脈再建におよそ半世紀にわたり使用されてきた。長期埋め込み標本から治癒過程をみると、内包層は初期のフィブリン膜からしだいに器質化が進んで結合織膜に置きかわり、埋め込み後 2 年ほどで器質化が完了する。内、外包層は編み目を通して新生結合織で連絡され、多数の異物巨細胞、線維芽細



図③ 人工血管ヒト埋め込み後の治癒像（大動脈大腿動脈バイパス術後 10 年摘出標本）
 A：平織り人工血管．内面はフィブリン膜により覆われ仮性内膜の形成はない．B：ニット編み人工血管．白色光沢のある仮性内膜の形成をみるが，内皮化はみられない．



図④ ヒト大動脈大腿動脈バイパス術後 2 年摘出標本
 A：内包層は仮性内膜で内皮細胞はみられず，フィブリン膜である（エラスチカ・マッソントリクローム染色）．B：免疫染色．褐色に染色される薄層（プラスミノゲン）がみられる．C：D-ダイマーが同染色により観察される．血流面の線溶亢進を示す．本文解説参照．
 (Sasajima T *et al.*, 2000¹²)より引用

胞浸潤，豊富な新生血管やコラーゲンなど旺盛な治癒の営みがみられる．しかし通常，これに伴う内皮化過程は起こらず，形成された結合織は年月とともに徐々に細胞成分が減少し，10 年後では異物巨細胞がわずかにポリエステル繊維周囲にみられるのみで，細胞成分や微小血管は消失し，単なる陳旧性瘢痕化したポリエステル繊維を枠とするコラーゲン管となる．全経過を通じて内皮細胞が発見されることはきわめてまれであり，筆者の経験では約 70 本の開存グラフトから得た摘出標本中，走査電

顕と光顕により内皮化が確認されたのはたった 1 グラフト（1%）のみであった．

すなわち平織り人工血管はもとより，内皮化が期待されるニット編み人工血管でも，ヒトでは仮性内膜は形成されるが，内皮化はせず，それでも開存しつづけている．ニット編み人工血管の内包層は結合織膜（仮性内膜）であるが，その内面は，光顕上フィブリン沈着が確認され（図④A），血流面の走査電顕所見ではフィブリン膜として観察される．すなわち人工血管血流面はその構造や

治癒形態によらず血流面はフィブリン膜よりなり、開存を維持しているわけである。

5) フィブリン膜の抗血栓性

以上述べたように、内皮細胞が欠損していれば血管内で血流に曝される内面は最終的にはフィブリン膜である。大動脈瘤内には壁に血栓があり、血流面はフィブリンであるが、これが抗血栓性であることは、外科医が術中にしばしば経験するところである。Sakharovら¹¹⁾は *in vitro* でフィブリン塊をプラスミン処理したとき、その表面に露出したリジン残基に組織プラスミノゲンアクチベータ (t-PA) やプラスミノゲンが結合し、線溶がくり返されることを報告した。生体内のフィブリン膜も、同様の機序が加われば抗血栓性を発揮することが推察される。すなわち、動脈瘤や人工血管のフィブリン膜に対する免疫染色では t-PA、プラスミノゲン、D-ダイマーの集積所見が確認されることから (図4 B, C)¹²⁾、血流面のフィブリン膜がプラスミンに曝され、前述の機序で抗血栓性を獲得、維持されていることが推察される。

おわりに

大口径人工血管の開存に内皮は必要とされないが、小口径では内皮なしには開存しない。AVGが中膜の線維化後程なくして粥状硬化に陥り、また中膜変性をみない内胸動脈が代用血管として長期にわたり機能することなどは、内皮が中膜なしでは長期間、健全に生きられないことを示唆する。内皮の脱落・再生とその長期温存には、内皮自体よりも中膜平滑筋細胞に注目することが重要であろう。



文献

- 1) 笹嶋唯博：血管内皮のない移植血管はいかにして抗血栓性を維持するか：内皮脱落代用血管の抗血栓性の不思議。分子心血管病 6：53-59, 2005
- 2) Chaikhouni A, Crawford FA, Kochel PJ *et al* : Human internal mammary artery produces more prostacyclin than saphenous vein. *J Thorac Cardiovasc Surg* 92 : 88-91, 1986

- 3) Sala A, Rona P, Pompilio G *et al* : Prostacyclin production by different human grafts employed in coronary operation. *Ann Thorac Surg* 57 : 1147-1150, 1994
- 4) Ishikawa M, Sasajima T, Kubo Y : Re-endothelialisation in autogenous vein grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 11 : 105-111, 1996
- 5) Yatsuyanagi E, Sasajima T, Goh K *et al* : Role of medial smooth muscle cell function in antithrombogenicity of vein grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 15 : 350-356, 1998
- 6) McGeachie J, Campbell P, Prendergast F : Vein to artery grafts. A quantitative study of revascularization by vasa vasorum and its relationship to intimal hyperplasia. *Ann Surg* 194 : 100-107, 1981
- 7) Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM : Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. I. Smooth muscle growth in the absence of endothelium. *Lab Invest* 49 : 327-333, 1983
- 8) Sasajima T, Kubo Y, Kokubo M *et al* : Comparison of reversed and in situ saphenous vein grafts for infragenicular bypass : experience of two surgeons. *Cardiovasc Surg* 1 : 38-43, 1993
- 9) 東信良, 笹嶋唯博, 稲葉雅史ほか：自家静脈グラフトによる下肢末梢動脈バイパス成績—内膜肥厚によるグラフト狭窄発生に関わる諸因子—。日血外会誌 5 : 235-241, 1996
- 10) Kawai S, Sasajima T, Satoh K *et al* : Biologic degeneration of vein grafts after thrombotic occlusion : thrombectomy within 3 days results in better indices of viability. *J Vasc Surg* 38 : 305-312, 2003
- 11) Sakharov DV, Rijken DC : Superficial accumulation of plasminogen during plasma clot lysis. *Circulation* 92 : 1883-1890, 1995
- 12) Sasajima T, Takano Y, Hiraishi Y *et al* : High accumulation of plasminogen and tissue plasminogen activator at the flow surface of mural fibrin in the human arterial system. *J Vasc Surg* 32 : 374-382, 2000

笹嶋 唯博 (ささじま・ただひろ)

旭川医科大学第一外科 教授

1946年札幌市生まれ。

71年北海道大学医学部卒業後、同第二外科入局。75年同大応用電気研究所生理部門助手。76年旭川医科大学第一外科移籍後、同講師、助教授、Hope Heart Institute 長期在外研究員 (92年) を経て、97年より現職。

専門は心臓血管外科。研究テーマは代用血管移植後治癒過程の解析、小口径人口血管の開発、抗感染性人工材料の開発、動脈硬化メカニズムの解明、グラフト内膜肥厚抑制のための遺伝子治療、リンパ管新生遺伝子治療など。