

氏 名（本籍） 新 堀 耕 基

学位の種類 博 士（医学）

学位記番号 医 博 第 1 1 2 0 号

学位授与年月日 平 成 4 年 3 月 27 日

学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当

研究科専攻 東北大学大学院医学研究科
（博士課程）外科学系専攻

学位論文題目 人工血管に対する PRECLOTTING 及びコラー
ゲン被覆による内皮細胞被覆速度と抗血栓性へ
の影響に関する実験的研究

（主 査）

論文審査委員 教授 毛利 平 教授 森 昌 造

教授 田 中 元 直

論文内容要旨

近年、食生活の変化や平均年齢の延長により大動脈瘤の症例が増加した。大動脈瘤に対する基本的な治療方法は瘤切除と人工血管による置換である。1950年初頭以来種々の人工血管が開発、応用され、血液の漏出、操作性、細胞毒性、抗血栓性、抗原性などの各面より検討されてきたが、全てを満足させる人工血管はまだない。高有孔性人工血管は、動物実験上、人工血管内面の内皮細胞による被覆も速く、操作性にも優れた人工血管であるが、特にヘパリン使用時には、Preclottingを必要とする。最近では、Preclottingの必要のないアルブミン、またはコラーゲンなどで被覆した人工血管が開発され、臨床応用されるようになった。しかし、各処理方法での遠隔期の高有孔性人工血管の内面の内皮細胞被覆速度及び抗血栓性についての比較した報告は少ない。

【目 的】

高有孔性人工血管を用い、アルブミンや血液によるPreclotting群と我々が試作した架橋剤EX-313とアテロコラーゲンによるコラーゲン被覆人工血管群と非処理（コントロール）群の間で内皮細胞被覆速度及び抗血栓性について比較検討することである。

【対 象】

雑種成犬35頭を移植人工血管の種類別に以下の5群に分けて実験した。

コントロール群 (n=10) : 非処理群

A-P群 (n=8) : アルブミン・オートクレーブ法によるPreclotting群

B-P群 (n=5) : 血液によるPreclotting群

W-C群 (n=5) : 弱架橋コラーゲン被覆人工血管群

S-C群 (n=7) : 強架橋コラーゲン被覆人工血管群

【方 法】

全身麻酔下に外径5mmのアンスロンチューブを用いて左鎖骨下動脈より左大腿動脈への一時的バイパス路を作成し、胸部大動脈に各々処置した人工血管を移植し、移植後3カ月で犠牲死させた。採取した移植人工血管は、0.02%エバンスブルー溶液で灌流後、1%グルタルアルデヒド1%ホルムアルデヒド混合溶液で180cm水柱圧下に2時間灌流し、固定した。また、腎臓を摘出し、梗塞の有無を検索した。

【評 価 法】

エバンスブルーの染色性の差異から肉眼的に内皮化の程度の判定を試みるとともに光学顕微鏡的に人工血管内面の内皮細胞被覆率を算出し、各群間で比較検討した。

【結 果】

エバンスブルー染色により、人工血管内面を血栓の付着した粗造部と内皮細胞で被覆された非着色部とその移行部である濃着色部に分けられた。光学顕微鏡的に算出した内皮細胞被覆率は、コントロール群 $84.5 \pm 4.3\%$ 。A-P群 $54.8 \pm 8.1\%$ 。B-P群 $66.6 \pm 7.1\%$ 。W-C群 $92.6 \pm 3.3\%$ 。S-C群 $84.5 \pm 7.9\%$ でA-P群の内皮細胞被覆率がコントロール群より有意に低く、コラーゲン被覆人工血管群のそれはA-P、B-P群より有意に高値であった。内皮細胞被覆のない面には血栓が付着していた。血栓の量は、内皮細胞被覆率に反比例し、A-P群とB-P群で多くW-C群で最も少なかった。大動脈、大腿動脈に血栓塞栓を形成したものは1例もなかったが、摘出腎の観察でA-P群の1例に梗塞巣がみられた。

【考 察】

A-P群またはB-P群では、内皮細胞非被覆面の血栓の付着がコントロール群W-C群、S-C群に比して高度で、抗血栓性の低下が示唆され、特に上行及び弓部大動脈領域でのこれらの人工血管の使用にあたっては、術後早期からの抗血小板剤または血液凝固阻止剤の投与が肝要と考えられた。試作コラーゲン被覆人工血管の内皮細胞被覆率と抗血栓性については、良好な結果が得られた。試作血管に採用した架橋剤EX-313は、従来のグルタルアルデヒドなどに比べて人工血管の弾性や柔軟性を損なわず石灰化も少なく親水性のため抗血栓性でも優れているとされる。コラーゲン分子は、化学的未修飾のままでは血小板凝集反応を惹起することが知られているが、EX-313によりコラーゲン分子のアミノ基をサクシニル化されることによって負荷電に富む状態になり、血小板凝集反応が抑制され抗血栓性を獲得すると言われている。また、被覆に用いたアテロコラーゲンは、コラーゲン分子をペプシンで処理しテロペプチドを切り離したもので、テロペプチドを除くことで抗原性を低下させ、また分子間架橋の除去により可溶化されたコラーゲンで、人工血管のダクロン線維に馴染みやすくなるものと考えられた。本実験で得られたコラーゲン被覆人工血管の高内皮細胞被覆率はEX-313とアテロコラーゲンの特性を裏付けたものとする。

【結 論】

Preclotting群では、内皮細胞被覆率がコントロール群に比べて有意に低値であったのに対し、試作コラーゲン被覆人工血管は、内皮細胞被覆率もコントロール群と同様に高く、抗血栓性にも優れ、有用性の高い人工血管と考えられた。

審査結果の要旨

近年血管系疾患の発生率は増大した。血管系の外科治療，再建に際し人工血管が用いられるが，操作性や内膜形成など移植血管のホスト修復機転から見て高有孔性の血管が優れているとされる。しかし，その使用にあたっては，出血を防ぐため事前に preclotting しなければならない。それら preclotting が人工血管の修復機転に与える影響については今だ不明である。

申請者は，犬を用いて高有孔性人工血管のアルブミンや血液による preclotting 処理が移植人工血管の内皮形成に与える影響を検討し，さらに，試作した架橋剤 EX-313 とアテロコラゲンによるコラゲン被覆人工血管と preclotting した人工血管を，内皮細胞被覆速度および抗血栓性から比較検討した。

人工血管内面のエバンスブルー染色により血栓付着部，内皮細胞被覆部とに分けて光学顕微鏡的に算出して得た内皮細胞被覆率は，弱コラゲン架橋群で最も高く，非処理人工血管と強コラゲン架橋群がこれに次ぎ，以下血液 preclotting，アルブミン preclotting 群の順であった。新しく試作した弱コラゲン架橋人工血管は血栓形成も少なく，臨床的に有用性の高いものであると結論された。

本研究は，現在臨床で常用されている種々の preclotting 法による人工血管内の内膜形成を比較検討し，さらに架橋剤 EX-313 とアテロコラゲンによって処理した新しい人工血管と preclotting した従来の人工血管とを比較した研究で，preclotting が内膜形成を遅延させること，試作人工血管が内皮被覆率および抗血栓性に優れた，臨床への有用性の高いものであることを明らかにしたものであり学位に値する研究論文であると評価された。