

ヒト臍帯静脈移植に関する実験的研究

—— 処理法, 仮性内膜, 抗原性について ——

山口大学医学部外科学教室第1講座 (主任: 八牧力雄教授)

新 谷 清

〔原稿受付 昭和54年2月20日〕

Human Umbilical Cord Vein Graft as Aortic Replacement in the Dog; Evaluation of Its Treatment, Morphology and Antigenicity

KIYOSHI SHINTANI

From the First Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine
(Director : Prof. Dr. RIKIO YAMAKI)

In dogs, 4.0cm of abdominal aorta below the confluence of the renal arteries was excised and replaced with 5.0 cm of human umbilical cord vein (HUCV) graft treated with the following techniques : Group I, tanned with 1 % glutaraldehyde (GA) and preserved in the same solution ; Group II, tanned with 1% GA for 24 hours and preserved in 50 % ethanol (ET) ; Group III, tanned in the same manner as Group II, but preserved in 70 % ET ; Group IV, tanned with 0.5 % GA for 24 hours and preserved in 50% ET ; and Group V, tanned as in Group IV but preserved in 70% ET.

Patency was evaluated by aortography two weeks, and one, three and six months after implantation. At autopsy (after intervals of two weeks to six months) the graft was opened longitudinally and its patency redetermined. The pseudointima covering the internal surface of the graft was examined by direct inspection and by light- and scanning electron- micrographs.

In order to determine the antigenicity of the graft, cytotoxic tests were performed before, two weeks, and one, three and six months after implantation, using human cultured lymphoblasts taken from Burkitt lymphomas.

Results

1) The highest patency rate, 100% (8/8), was obtained in Group III, while the lowest, 62.5% (5/8), was in Group I. However, no statistically significant differences

Key words : Human umbilical cord vein, Glutaraldehyde, Endothelial cell, Cytotoxic test.

索引語 : ヒト臍帯静脈, グルタルアルデハイド, 内皮細胞, 細胞毒試験.

Present address : The First Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine, Ube, Yamaguchi, 755, Japan.

were found among the five groups. The graft tended to become fragile after preservation in the GA solution.

2) It was shown aortographically that most of the suture lines gradually contracted. Six months after implantation, the incidence of this finding was as high as 83.3% (5/6).

3) Two weeks after replacement, a nearly homogeneous, reddish fibrin membrane covered the whole inner surface of the graft. This membrane gradually turned into a glossy, yellowish sheet. At both ends of the graft, beltlike, whitish tissue, i.e., pannuses, were seen in a month and extended gradually, in six months being only 5 mm wide.

4) Microscopically, the structural integrity of the graft was well preserved with minimal host cell ingrowth even six months after implantation. The irregular fibrin membrane covering the entire inner surface of the graft became smoother and thinner with the lapse of time. The pannus increased gradually both in thickness and width.

5) Scanning electron-micrography of the graft revealed that the fibrin network covering the inner surface of the graft was coarse at first, but later became fine, because the fibrin fibers progressively conglutinated. In the areas close to the suture lines, oval immature endothelial cells with many microvilli, arranged in the direction of the blood flow, begun to appear in a month and had completely fused into a smooth sheet in six months. However, a short distance from the anastomoses, these cells were connected only by pseudopodlike processes. No endothelial cells were found more than 5 mm from the suture lines.

6) Cytotoxic tests showed that antigenicity of the graft was effectively suppressed with glutaraldehyde regardless of whether its concentration was 0.5 % or 1.0%. This coincided well with the microscopic finding of minimal host cell ingrowth.

Ⅰ 緒 言

近年、下肢の中小動脈の閉塞性疾患に対し、積極的に血行再建が行なわれるようになったが、鼠径靱帯より中枢側、すなわち比較的太い動脈ではかなり良好な成績が得られている dacron 人工血管でも、5年開存率は20%以下で³⁸⁾⁴⁰⁾、その成績は不良である。現在では、中小動脈の血行再建には自家静脈移植が最適とされ³⁸⁾、その成績は比較的良好で²³⁾³⁵⁾、60%の5年開存率が得られている¹¹⁾¹⁴⁾。しかし、長期観察例では著しい内膜の肥厚による閉塞や、動脈瘤様拡張が報告され¹⁷⁾³⁴⁾³⁹⁾、その上、適当な太さと長さの移植片が毎常得られるとは限らず、症例の20~30%に臨床応用が不可能であったとの報告がある¹²⁾¹⁸⁾。したがって、自家静脈に代わる新しい代用血管の開発が望まれる。

Dardik ら (1973) は、ヒト臍帯静脈に着目し、これをヒトに移植した⁹⁾¹⁰⁾。その後、処理法を改良し⁵⁾⁶⁾、

glutaraldehyde でなめし、アルコール中に保存したものを臨床に使い、良好な成績を得た⁷⁾⁸⁾。本邦でも、同様な試みがなされているが¹⁾²²⁾³²⁾⁴¹⁾、Dardik らをも含め、移植片の組織学的所見および処理法に関し、いまだ一定の見解がない。著者は、これらの点を明らかにする目的で本研究を行った。

Ⅱ 実験方法

1) 代用血管の作製

正常分娩で得られたヒトの臍帯を、乳酸加リンゲル液 500ml にヘパリン 1,000単位を加えた溶液で充分洗浄し、静脈内に外径 6mm のガラス棒を挿入した後、下記の如く処理、保存した。

Ⅰ群：1% glutaraldehyde 中に保存。

Ⅱ群：1% glutaraldehyde 処理、50% ethanol 保存。

Ⅲ群：1% glutaraldehyde 処理、70% ethanol 保存。

Ⅳ群: 0.5% glutaraldehyde 処理, 50% ethanol 保存.

Ⅴ群: 0.5% glutaraldehyde 処理, 70% ethanol 保存.

但し, glutaraldehyde 処理は24時間とした.

2) 移植方法

体重 7~15kg の雑種成犬を各群8頭ずつ, 計40頭を用いた. thiamylar sodium 10mg/kg で静脈麻酔した後, 気管内に挿管し, 人工呼吸器で空気による調節呼吸を行い, 術中適宜 succinylcholine 2mg, あるいは, 初回量の1/3~1/4の thiamylar sodium を静注して麻酔を維持した. 正中切開で開腹し, 腎動脈直下より下腸間膜動脈直上までの腰動脈を数本結紮切離した後, 腹部大動脈を周囲より遊離し, 約 4cm 切除し, 長さ5cmのヒト臍帯静脈を移植した. 移植片は, 移植前多量 (約 3,000ml) の乳酸加リンゲル溶液で洗浄したうえ, cefazolin sodium 1g を加えた乳酸加リンゲル溶液 100ml 内に約30分間浸した. 移植片両端の過剰な Wharton 膠質を除去し, 両端針付 6-0 nylon 糸で, 2点支持のもとに連続端々吻合を行なった. 術中および術後にわたり cefazolin sodium 0.5g を加えた乳酸加リンゲル溶液 500ml を点滴静注したが, その後は抗生物質はもちろん, 抗凝固剤も投与しなかった.

3) 検索事項ならびに方法

移植後, 2週, 1, 3, 6カ月目に各群とも2頭ずつ大動脈造影の後屠殺し, 摘出臍帯静脈を肉眼的, 光学顕微鏡的, 走査電子顕微鏡的に観察した. また, 臍帯静脈移植前および移植後の屠殺前に宿主より採血し, cytotoxic test に供した.

大動脈造影は, イヌを静脈麻酔した後, 左第4肋間で開胸し, 胸部下行大動脈に直接エラスト針を刺入し, 70% urografin 20cc を急速注入して行なった.

移植片を縦に半切し, 一方を光学顕微鏡的検索のため, 10% formalin 液で固定し, paraffin 包埋後, hematoxylin-eosin 染色を行ない, 他方では移植片の吻合部と中央部からそれぞれ 5×5mm の小切片を, また移植3および6カ月後の数例では吻合部より中央部にかけて連続的に小切片を採取し, これらを 8.3% glutaraldehyde 液, 0.2M cacodylate 緩衝液, saccharose 液の混合液内に4℃で2時間固定した後, 0.2M cacodylate 緩衝液, 0.4M saccharose 液の等量混合液で20分間隔で数回洗浄し, 4℃で24時間保存, ついで, 2% osmic acid, 0.2M cacodylate 緩衝液, Millonig's phosphate 緩衝液の等量混合液中に4℃で

2時間保存した後, ethanol 系列で脱水し, その後, isoamylacetate 液に15分間浸し, 日立臨界点乾燥装置 HCP-1 を用い, 液化炭酸ガスで乾燥し, EIKO engineering 社製の EIKO ion coater IB-3 で蒸着し, 日本電子社製の JSM-S1 走査電子顕微鏡で検鏡した.

cytotoxic test, すなわち, 被検細胞浮遊液に抗血清と補体を反応せしめ, 被検細胞の死滅率により抗体の有無を知る方法⁴⁾¹⁶⁾を行なった. ヒト臍帯静脈と同一の抗原性を有する Burkitt lymphoma 由来のヒト培養リンパ芽球様細胞(Raji-cell, Flow Laboratories Inc, U.S.A) を被検細胞として選んだ. Raji-cell はあらかじめ, 10%の割合に胎児ウシ血清 (Flow Laboratories Inc, U.S.A) を追加した RPMI 1640 培養液 (Flow Laboratories Inc, U.S.A) を培地とし, 37℃の5% CO₂ 培養器中に数日間静置培養した. ついで, この細胞を trypan blue で染色し, 青染された細胞を死滅したものと見做し, 生存した細胞の割合が90%以上保たれていることを確認した後検査を行なった. 細胞数 5×10^6 /ml の Raji-cell 浮遊液, 56℃30分間熱処理して補体を不活性化したイヌ血清, 生理的食塩水で5倍に稀釈したウサギ血清 (補体源) をそれぞれ 50 μ l ずつ小試験管にとり, 37℃で45分間反応させた後, 直ちに氷水中に浸して反応を停止せしめ, スライドガラス上に被検液と0.2% trypan blue を1滴ずつ滴下, 混和し, 直ちに検鏡した. 約300個の細胞を数え, 青染した細胞数を百分率で表わし, これを細胞死滅率とした. なお, イヌ血清の代わりに RPMI 1640 培養液を同量加えたものを検鏡し対照とした.

Ⅲ 結 果

1) 開存率

移植後2週より6カ月の観察期間における開存率は, I群 62.5%(5/8), II群 87.5%(7/8), III群 100%(8/8), IV群 87.5%(7/8), V群 87.5%(7/8)であった (Table 1). しかし, いずれも相互間に統計学的有意差は認められなかった.

2) 血管造影所見

屠殺時, 血管造影を行なった31例中, 開存していた25例 (80%) についてみると, 狭窄のほとんど認められなかったもの14例 (Fig. 1, A), 吻合部に軽度の狭窄をきたしたものの9例 (Fig. 1, B), 吻合部の内径がほぼ1/2に短縮した高度の狭窄2例で (Fig. 1, C), これらの狭窄11例のうち2例には移植片中央部の壁に不

Table 1. Patency rates of differently treated HUCV* grafts

Groups	Dog No.	Months after implantation	Results	Patency rates in %
I (1% GA**)	1	6	occluded	62.5 (5/8)
	2	6	patent	
	3	3	patent	
	4	3	occluded	
	5	1	patent	
	6	1	patent	
	7	0.5	occluded	
	8	0.5	patent	
II (1% GA + 50% ET***)	9	6	patent	87.5 (7/8)
	10	6	patent	
	11	3	patent	
	12	3	patent	
	13	1	patent	
	14	1	occluded	
	15	0.5	patent	
	16	0.5	patent	
III (1%GA + 70% ET)	17	6	patent	100 (8/8)
	18	6	patent	
	19	3	patent	
	20	3	patent	
	21	1	patent	
	22	1	patent	
	23	0.5	patent	
	24	0.5	patent	
IV (0.5% GA + 50% ET)	25	6	patent	87.5 (7/8)
	26	6	patent	
	27	3	patent	
	28	3	patent	
	29	1	occluded	
	30	1	patent	
	31	0.5	patent	
	32	0.5	patent	
V (0.5% GA + 70% ET)	33	6	occluded	87.5 (7/8)
	34	6	patent	
	35	3	patent	
	36	3	patent	
	37	1	patent	
	38	1	patent	
	39	0.5	patent	
	40	0.5	patent	

*HUCV : Human Umbilical Cord Vein

**GA : Glutaraldehyde

***ET : Ethanol

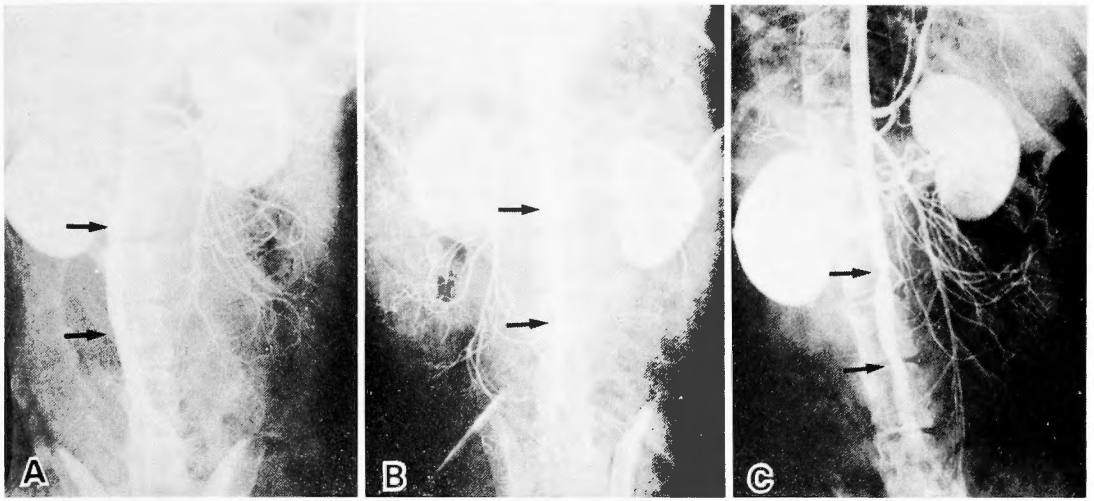


Fig. 1. Aortograms after replacement. Arrows indicate the anastomotic lines. A. After 3 months. No stenosis is seen at either end of the graft. B. After 2 weeks. Slight to moderate narrowing. C. After 6 months. Severe stenosis of the proximal end of the graft is shown.

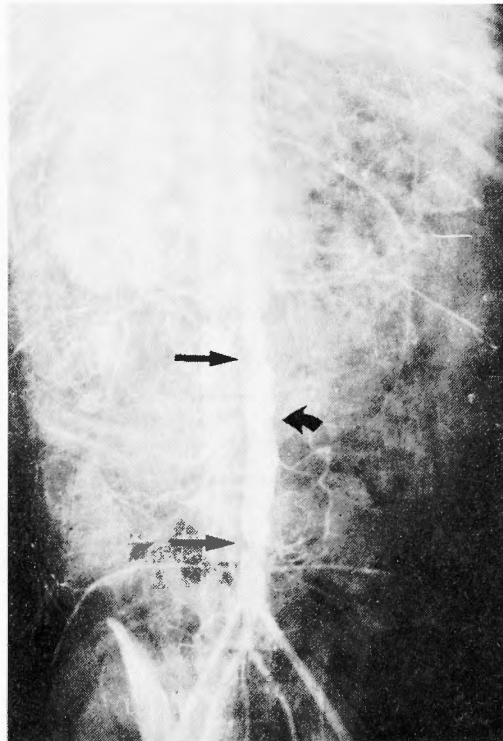


Fig. 2. Aortogram six months after replacement shows moderate anastomotic stenoses (straight arrows) and mural irregularity of the graft (curved arrow), suggesting thrombosis.

整像がみられた (Fig. 2). 狭窄11例を部位別にみると, 中枢側のみ4例, 末梢側のみ3例, 両側のもの4例で, 高度狭窄の2例はいずれも中枢側であった. 移植期間別に狭窄の頻度をみると, 2週目33.3%(2/6), 1カ月目28.6%(2/7), 3カ月目33.3%(2/6)であったが, 6カ月目では83.3%(5/6)と高率に狭窄をきたし, 高度狭窄の2例のうち1例は6カ月目のものであった (Table 2).

3) 肉眼的所見

臍帯静脈の処理法に関係なく, 移植後2週目の開存例では, 内表面はほぼ均一な薄い滯赤色のフィブリン

膜で被われ, 所々に血栓が沈着し肥厚していた. 1カ月目になると, 吻合部では pannus, すなわち白色の光沢あるほぼ2mm巾の帯状組織が宿主血管の内膜より伸展し, 縫合部を被っていた. その他の部位では2週目に見られた滯赤色の被膜は消失し, 時とともに光沢ある淡黄色のものに変化しつつあった. pannusは3カ月目では4mm前後に, 6カ月目では5mm前後に発育した (Fig. 3). 移植片の外面は結合織で被われていたが, 吻合部以外は容易に剝離された.

4) 光学顕微鏡の所見

いずれの群においても, 開存例の移植片の内表面は, 吻合部では2週目には, 線維芽細胞を主体とし, 所々に新生毛細血管を含んだ pannus が宿主血管の内膜より吻合部を越えて臍帯静脈側に増生し, その他の部位では, 好中球を含む表面凹凸不整の比較的厚いフィブリン層で被われていた (Fig. 4). 1カ月目の pannus は2週目に比べ, その厚さと幅を増し, 6カ月目では吻合線より約5mm中央側にまで発育し, 線維芽細胞が少なくなり, 逆に膠原線維が増加し, 新生毛細血管は認められなくなった. 3カ月目より

Table 2. Relationship between anastomotic stenosis and implantation period

Months after implantation	Incidence of stenosis in %
0.5	33.3 (2/6)
1	28.6 (2/7)
3	33.3 (2/6)
6	83.3 (5/6)

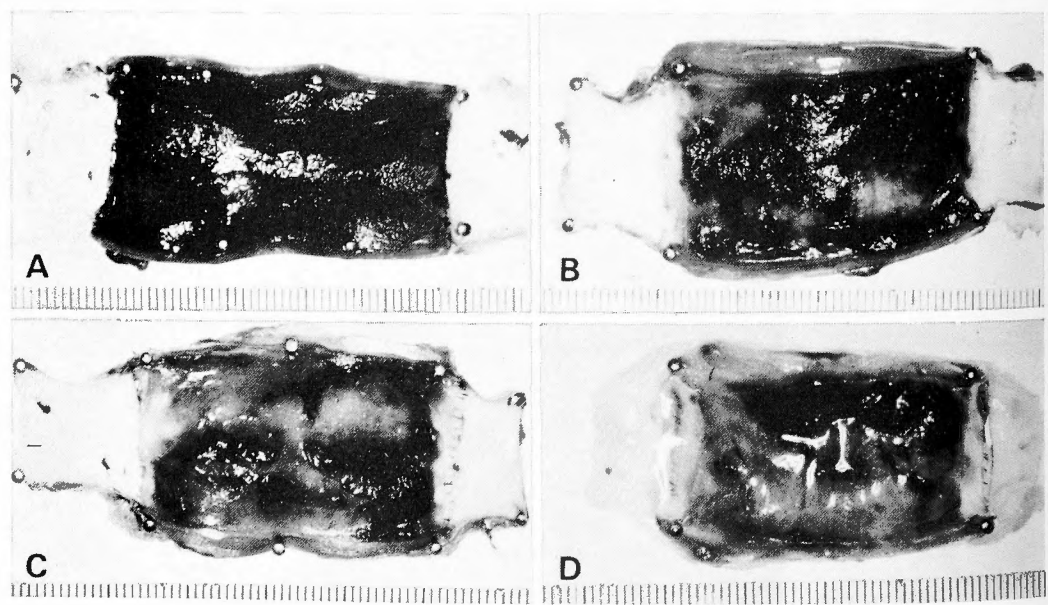


Fig. 3. Internal surfaces of HUCV grafts opened longitudinally. A. Two weeks after implantation. A nearly homogeneous reddish fibrin membrane is seen over the entire surface. B. After a month. At both ends of the graft, pannuses, i.e., beltlike, whitish tissue, have grown from the aortic intima of the host. The reddish fibrin membrane is gradually turning into a glossy, yellowish sheet. C. and D. Three and six months after implantation, respectively. The pannus is extending.

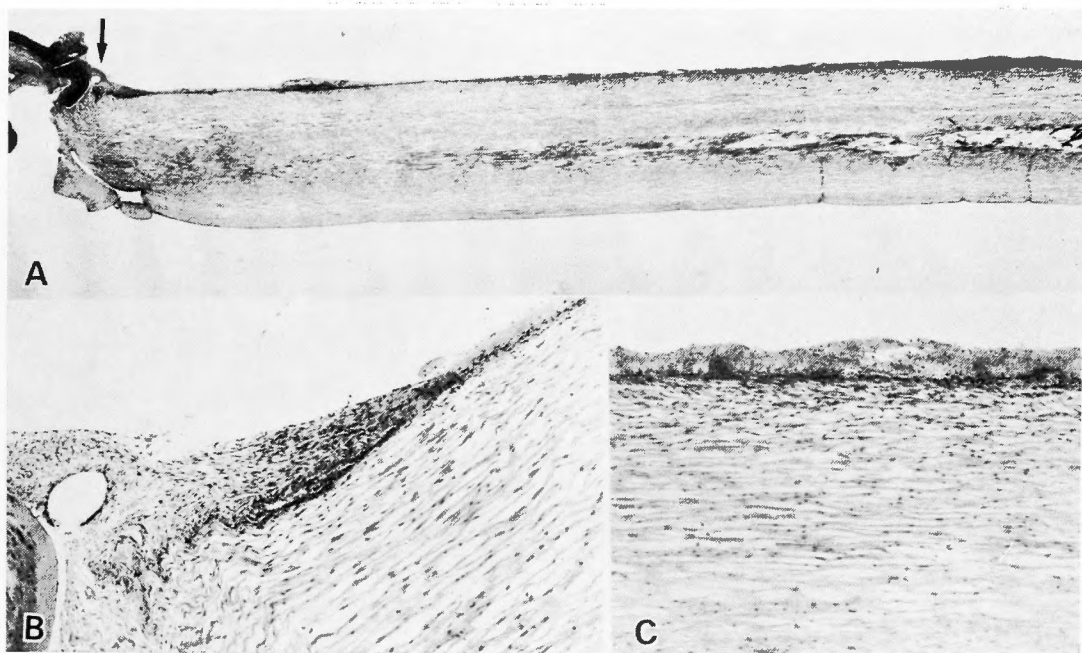


Fig. 4. Photomicrographs of a longitudinal section of a HUCV graft two weeks after replacement (Hematoxylin and eosin). A. The structural integrity of the graft is well preserved. An arrow indicates the anastomotic portion. ($\times 2$) B. Pannus formation. Note the absence of round cell infiltration. ($\times 40$) C. An irregular fibrin membrane covers all the inner surface of the graft. ($\times 40$)

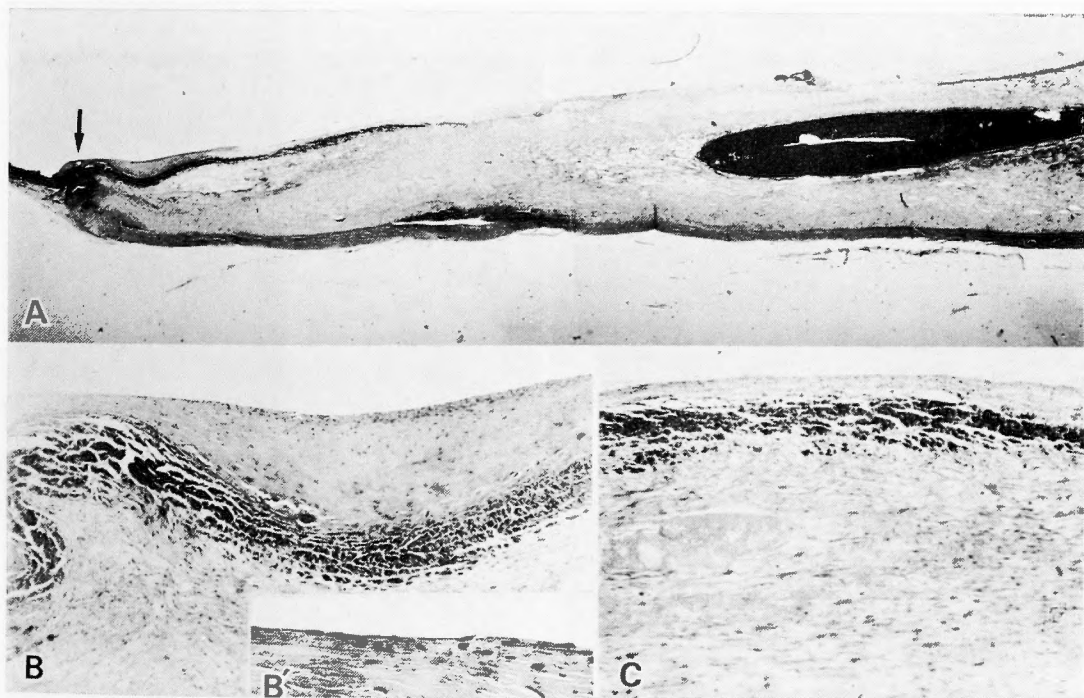


Fig. 5. Photomicrographs of a longitudinal section of a HUCV graft six months after replacement (Hematoxylin and eosin). A. The pannus has become wider. An arrow indicates the anastomotic portion. The structural integrity is relatively well preserved. ($\times 2$) B. The pannus has become thicker and more compact. ($\times 40$) B'. Higher magnification of B. A thin endothelial layer covering the pannus is seen. ($\times 200$) C. The fibrin membrane has become much smoother and thinner when compared with that seen two weeks after replacement. ($\times 40$)

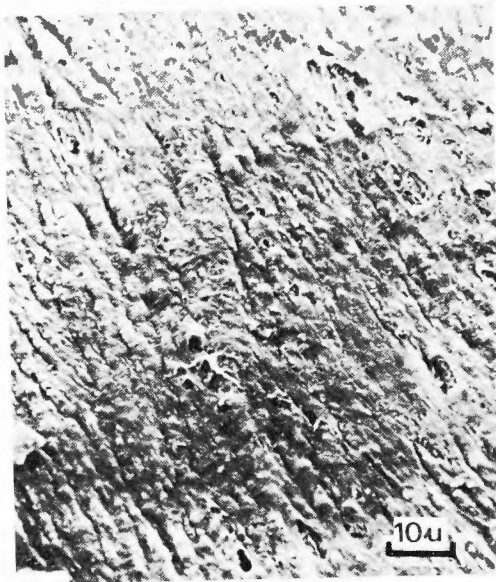


Fig. 6. Scanning electron micrograph of the inner surface of a HUCV graft treated with 1 % glutaraldehyde solution and subsequently preserved in 70% ethanol. The subintimal layer is exposed due to the desquamation of the intimal lining. (Original magnification, $\times 1000$)

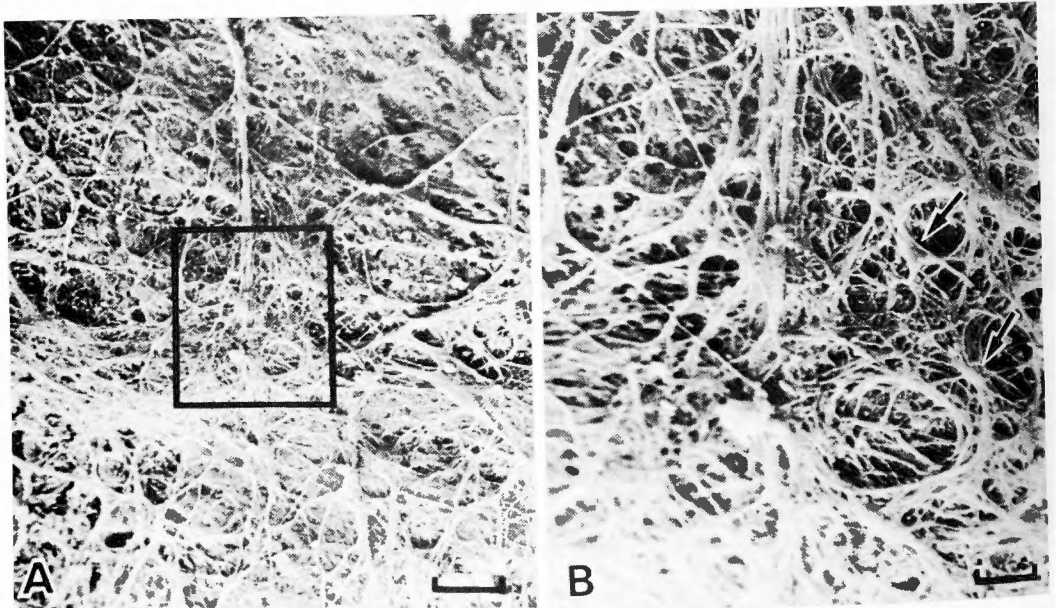


Fig. 7. Scanning electron micrographs of the inner surface of a HUCV graft two weeks after implantation. A coarse fibrin network, in which erythrocytes, leucocytes and platelets (arrows) are caught, covers the entire inner surface. A. Original magnification, $\times 1000$. B. Higher magnification of the rectangular area in A, $\times 3000$.

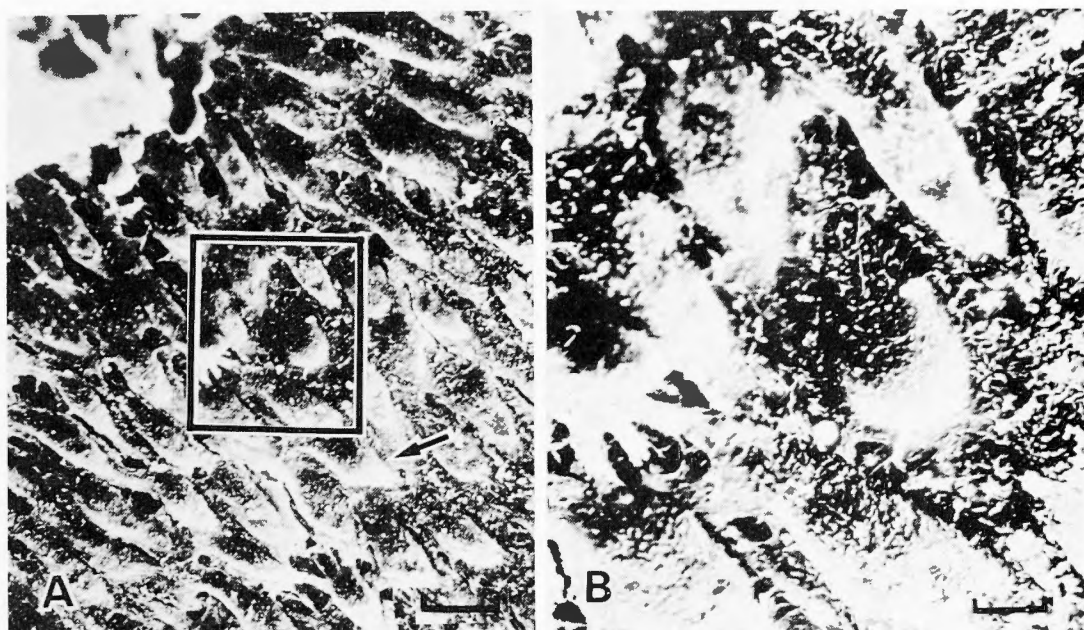


Fig. 8. Scanning electron micrographs of the inner surface of a HUCV graft a month after implantation. In the anastomotic regions, oval immature endothelial cells with many microvilli have appeared. A. Original magnification, $\times 1000$. B. Higher magnification of the rectangular area in A, $\times 3000$.

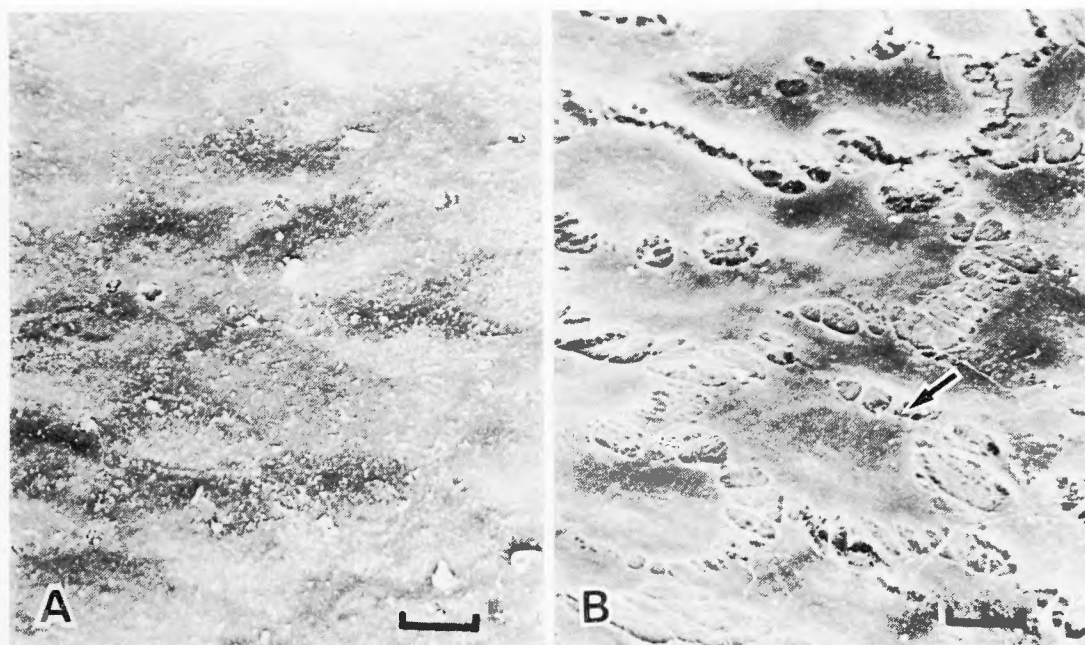


Fig. 9. Scanning electron micrographs of the inner surface of a HUCV graft six months after replacement (Original magnification, $\times 1000$). A. In the area close to the anastomotic line, endothelial cells have completely fused into a smooth sheet. B. In the area slightly away from the anastomosis, these cells are connected only by pseudopodlike processes. The arrow indicates an endothelial cell.

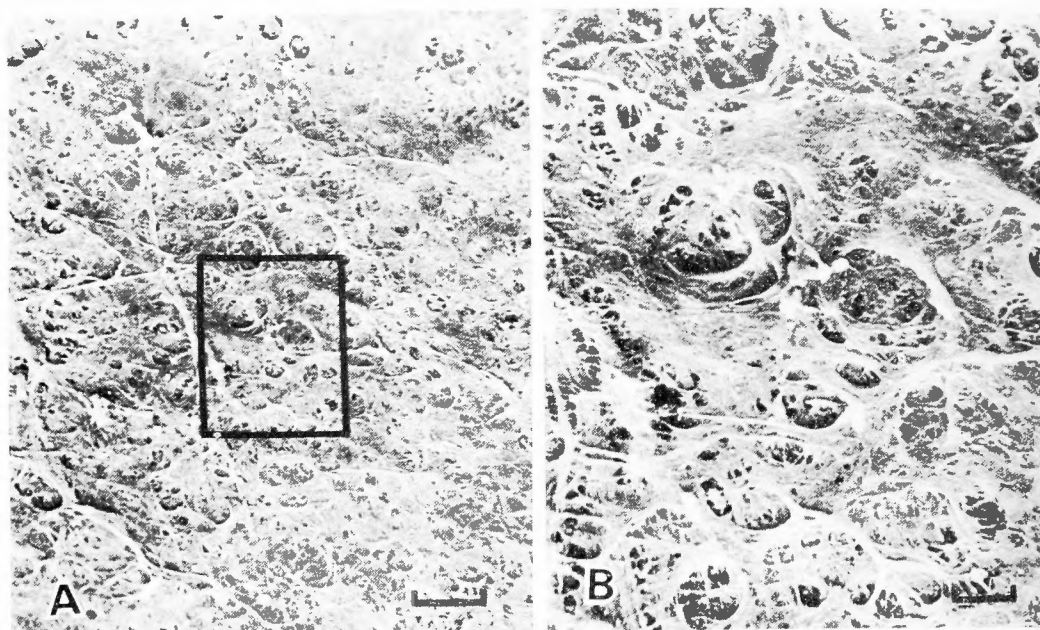


Fig. 10. Scanning electron micrographs of the inner surface of a HUCV graft three months after implantation. A. In the mid-portion of the graft, the fibrin network has become much more compact than that seen two weeks after replacement. (Original magnification, $\times 1000$) B. Higher magnification of the rectangular area in A, $\times 3000$.

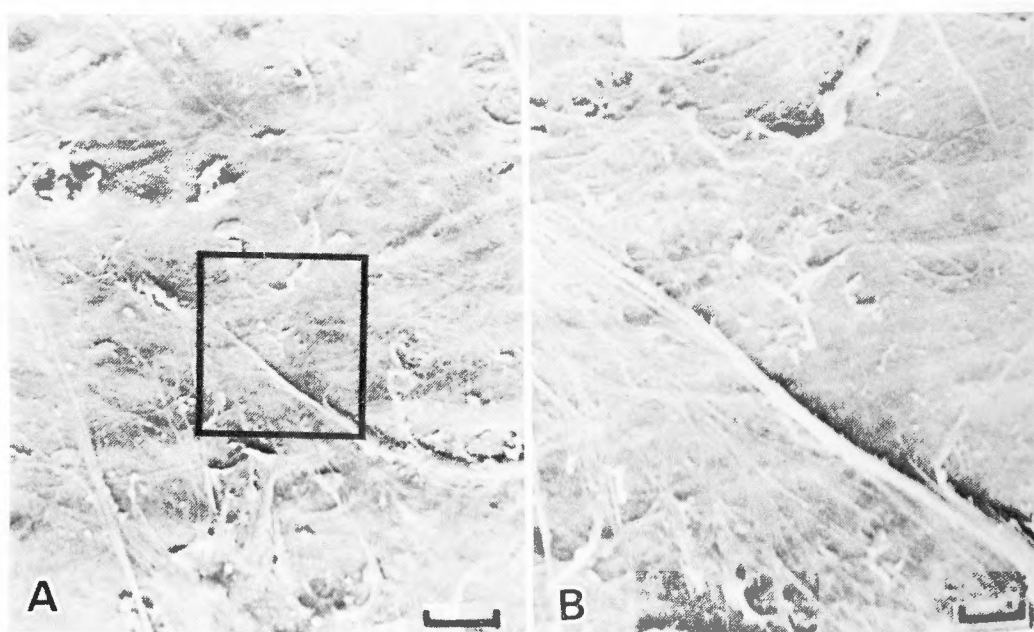


Fig. 11. Scanning electron micrographs of the inner surface of a HUCV graft six months after implantation. The fibrin network, even in the mid-portion of the graft, has become much denser when compared with that seen after three months. A. Original magnification, $\times 1000$. B. Higher magnification of the rectangular area in A, $\times 3000$.

Table 3. Incidence of dead cells in cytotoxic tests

Months after implantation	Dog No.	Incidence of Dead Cells in %	
		Pre-implantation	Post-implantation
0.5	15	11	22
	16	14	16
	24	13	18
	32	12	17
	40	13	15
		12.6±1.01	17.6±2.41
1	13	11	15
	14	11	14
	21	13	17
	22	12	16
	37	12	20
	38	12	15
		11.8±0.68	16.1±1.95
3	11		16
	12	13	14
	19		9
	20	12	15
	28		11
		12.5	13.0±2.6
6	17		19
	18		16
	26		17
	33		13
	34		12
			15.4±2.5
Mean		12.2±0.89	15.6±2.8
Control			9
			10
			11
			10.0±0.81

pannus の表面に新生内皮細胞と思われる紡錘形の核を持った細胞が出現してきたが、その配列は粗で、6カ月目でもほぼ同様の状態であった。吻合部以外の内表面では、1カ月目より6カ月目にかけて次第にフィブリン層は薄くなり、その表面は平滑になった (Fig. 5)。しかし、移植片は部分的に膨化したが、全体として、移植前とほとんど不変で、好中球、リンパ球、形質細胞の浸潤は認められなかった。一部に出血または hemosiderin の沈着が見られたにすぎなかった。

5) 走査電子顕微鏡的所見

i) 移植前の臍帯静脈

内膜は完全に剝脱し、内膜下組織が露出していた (Fig. 6)。

ii) 移植後の臍帯静脈

移植後2週目では、臍帯静脈内面はいずれの部位においても、粗いフィブリンの網様構造で被われ、その中に白血球、赤血球、血小板が散在していた (Fig. 7)。1カ月目になると、吻合部に近接した部位では、表面に多数の突起を持ち、丸く隆起した幼若な内皮細胞が血流方向を長軸に配列していたが、その密度はいまだ粗であった (Fig. 8)。この新生内皮細胞は、3カ月目では形が大きく扁平となり、6カ月目では吻合部は完全に新生内皮細胞によって被われ極めて平滑となったが (Fig. 9A)、吻合部を少し離れると粗となり、偽足様突起で互いに連絡した内皮細胞によって不完全に被われていた (Fig. 9B)。切片を吻合部より中央部まで連続的に採取し検索した3および6カ月目の標本では、吻合部より5mm以上離れた切片には内皮細胞は

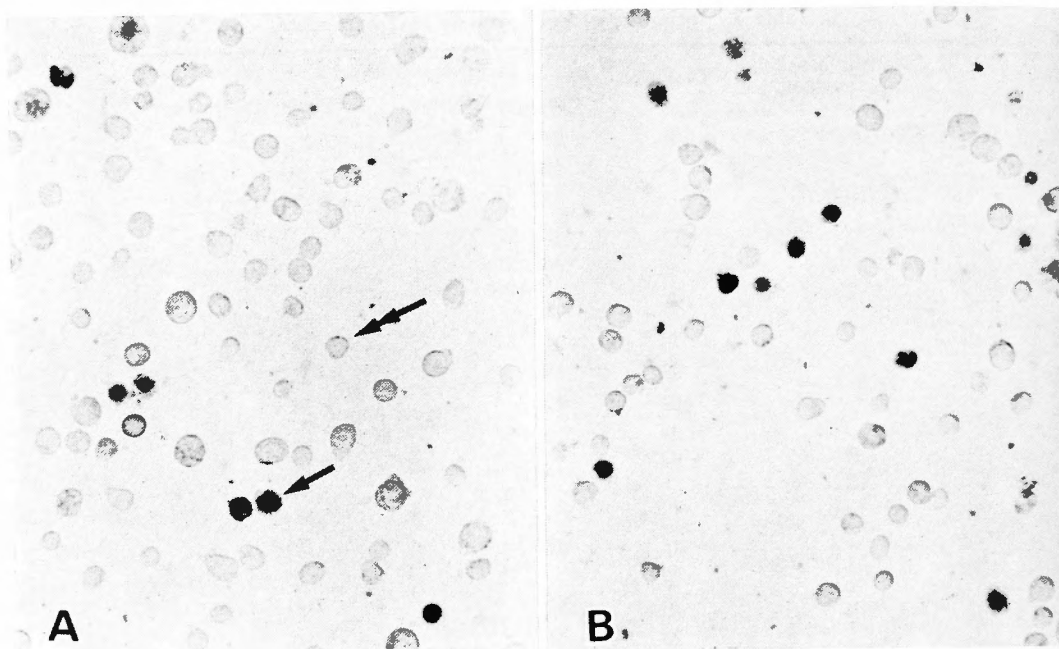


Fig. 12. Cytotoxic tests. A. Before implantation. The cellular death rate is about 12%. Single and double arrows indicate dead and living cells, respectively. B. Three months after implantation. The mortality rate is about 15%.

認められなかった。中央部では、2週目に見られた粗いフィブリンの網様構造は移植期間が長くなるにつれて徐々に密となった (Fig. 10)。6カ月目ではこの網様構造は3ヶ月目のものよりも一層緻密となった (Fig. 11)。

6) cytotoxic test

細胞死滅率の平均は Table 3 に示す如く、臍帯静脈移植前に検索した13例では $12.2 \pm 0.89\%$ であり (Fig. 12,A), 移植後 0.5~6 カ月で検索した21例では $15.6 \pm 2.8\%$ と軽度の増加を示したが (Fig. 12,B), 統計学的有意差を認めなかった。なお、イヌ血清の代わりに同量の培養液を加えた対照群では $10 \pm 0.81\%$ であった。また、移植期間別にそれぞれの細胞死滅率の平均値をみると、移植後 2週目では $17.6 \pm 2.41\%$, 1カ月目では $16.1 \pm 1.95\%$, 3カ月目では $13.0 \pm 2.6\%$, 6カ月目では $15.4 \pm 2.5\%$ であった。すなわち、移植後 2週目より 3カ月目では減少の傾向にあったが、6カ月目で再び増加した。また、I 群を除く他の4つの群について平均細胞死滅率をみたが、いずれの群の間にも統計学的有意差は認められなかった。

以上の所見より、著者の方法で処理、保存された移

植臍帯静脈の体液性免疫反応より見た抗原性は、例えあるとしても、極めて軽微なものと判断した。

IV 考 案

木本ら²⁰⁾(1954)は、アルコール中に保存した同種および異種血管を臨床に応用し、アルコール保存により移植片のリガ蛋白は溶出し、その他の蛋白も変性に陥るので抗原性が低下すると説明され、一時は好成績が得られたかに見えたが、その後の長期観察により移植片は変性に陥ることが判明し、臨床応用を断念した²¹⁾。Yong ら⁴²⁾(1962) および Mindich ら²⁶⁾(1977)は、アルコール中に保存したヒト臍帯静脈をイヌの腎動脈下部腹部大動脈に移植したがその成績は不良であった。

生体組織の移植、特に異種移植が成功する条件として、1) 機械的特性の保全、2) collagen の変性防止 (生体組織の基本的構造は collagen であるから)、3) 抗原性の除去があげられ、これを満足するものとして aldehyde (formaldehyde および glutaraldehyde) による移植片の処理が行なわれている³⁾⁶⁾¹⁹⁾²⁶⁾²⁷⁾³¹⁾³³⁾。

collagen の基本単位は tropocollagen と呼ばれ、

3 個の polypeptides が螺旋状に交錯したものであ

る。formaldehyde ($\text{H}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}=\text{O}$) および glutaraldehyde ($\text{HC}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{CH}$) はアルデヒド基 ($-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}=\text{O}$) を持っているの、分子内 (tropocollagen 内) はもちろん分子相互間においても、抗原性に関与する telopeptides の部の lysine の如き側鎖のアミノ基 ($-\text{NH}_2$) 間をメチレン基 ($-\text{CH}_2-$) で架橋結合 (cross-linking) する。このため collagen は抗原性を喪失するとともに、機械的強度を増加し、変性を受けにくくなる。アルデヒド基を 2 個持つ glutaraldehyde は、これを 1 個しか持たない formaldehyde よりも更に多くの架橋結合を作ることができる。

ヒト臍帯静脈は、1) 入手が容易で、2) 比較的長いものが得られ、3) 弁を有せず、4) 内径が一定で、5) 胎児組織に極めて近いので免疫反応が弱いとの理由⁹⁾²⁶⁾⁴²⁾で、代用血管として着目され、実験的ならびに臨床的に応用された。処理剤として Mindich ら²⁶⁾は 1.3% dialdehydestarch を、Dardik らは、濃度を発表していないが、希釈した glutaraldehyde を推奨している。著者の実験では、1% glutaraldehyde で処理し、そのまま同液に保存した I 群の開存率は、統計的有意差はないものの、他の群に比べて悪く、また、臍帯静脈はやや固く、もろくなり、吻合時に断裂することが多かった。しかし、これ以外の群の間には、臍帯静脈の状態および開存率には大差を認めなかった。Dardik ら⁷⁾によれば、dialdehydestarch よりも glutaraldehyde の方がなめし薬剤としては優秀である。その理由は、後者の方が分子量が小さいため、臍帯静脈の微細な間隙にまで浸透し、単位あたりの cross-linking の数が多くなるからである。しかし、その反面、移植時過剰の glutaraldehyde を洗い出すことが困難となり、これが早期血栓性閉塞の原因になるといわれている。

代用血管の完全治癒とは、異物反応を惹起することなく宿主よりの結合組織内に取り込まれ、この中に旺盛に栄養血管が新生され、しかも血流の接触面には一層の連続した新生内皮細胞が形成された状態である³⁷⁾。Dillon ら¹⁵⁾および Rosenberg ら³⁰⁾は、ウシ頸動脈なめし血管は最終的には宿主組織におき代えられると述べているが、ヒト臍帯静脈では、Mindich ら²⁶⁾によれば、臍帯の外面が羊膜で被われているため、これが宿主組織の侵入に対して barrier となり、移植血

管は宿主の組織に同化されることはない。著者の実験でも、移植片の周囲は線維性結合組織で被われているが、容易に剝離され、移植後 6 カ月でも、好中球、リンパ球、線維芽細胞などの移植血管壁内への浸潤はほとんど認められず、ほぼ移植前の状態を保っていた。Mindich ら²⁶⁾は、このように宿主組織で同化されないことは高い動脈圧に対する抵抗という面では不利であると述べているが、著者の実験では動脈瘤様拡張が認められなかったことより、代用血管周囲が線維性結合組織で被われることで充分と考えられる。Carpentier ら³¹⁾は、ブタ弁の長期臨床例を検討し、移植片内に侵入する細胞は主に好中球、リンパ球、形質細胞、大喰細胞で、線維芽細胞は少なく、これにより移植片の変性をきたすので、宿主組織の侵入はかえって有害であると結論した。Mindich ら²⁷⁾は、ウシ頸動脈に比べ、ヒト臍帯静脈は内膜が保存されているため、より抗血栓性を有していると報告しているが、著者の臍帯静脈の内膜細胞は移植前すでに完全に脱落していた。Dardik らは、臍帯を採取するだけでもその内膜細胞は容易に損傷され、ましてや、ガラス棒を臍帯静脈内に挿入するに到っては益々これを促進すると述べている。したがって、内膜細胞の損傷または脱落を少なくするためには、expanded balloon catheter の如き損傷をきたし難いものを用いることが必要であろう²⁾。

さて、宿主よりの新生内皮細胞層、すなわち pannus は著者の観察では吻合部よりせいせい 5mm 前後までにしか認められなかった。従来、代用血管の新生内皮細胞層の由来には 3 つの説がある。1) 宿主血管断端の内膜細胞の増殖²⁴⁾、2) 代用血管外周よりの侵入²⁹⁾、3) 流血中の細胞由来²⁸⁾³⁶⁾である。著者の実験では pannus を認めたのは吻合部に近接した極く小部分にすぎず、臍帯静脈中央部の走査電顕的検索では、フィブリンの網様構造が時とともに緻密にはなるが、これを被う内皮細胞層は認められなかった。

著者と同様の方法で cytotoxic test を行なった熱田ら¹⁾は、細胞死滅率が 30% 以下であるものを抗原性が消失したと定義した場合、臍帯静脈には抗原性が認められなかったと報告した。DeFalco¹³⁾は、ウシ頸動脈を未処理、酵素 (ficin) 処理、1.3% dialdehydestarch 処理の後検索したところ、前 2 者では抗原性を認めたが、最後のものではこれを認めず、Mattila²⁵⁾らは、1.3% dialdehydestarch 処理ウシ血管と 0.2% glutaraldehyde 処理ブタ血管および弁では抗原性は減弱したが、完全には消失しなかったと述べている。

著者は未処理臍帯静脈の cytotoxic test を行なっておらず、また血清抗体のみで細胞性免疫反応については検討していないので、俄に結論することはできないが、細胞死減率が $15.6 \pm 2.8\%$ であったことより、抗原性は少くとも著しく減弱していたものと推定された。また、本実験では glutaraldehyde の濃度が 0.5% および 1% でも細胞死減率に差異はなく、いずれも好中球、リンパ球、形質細胞などの浸潤はほとんど認められず、開存率にも有意差がなかったことより 0.5% の濃度で充分ではなかろうかと思われる。

V 総 括

5種類の異なった処理および保存を行った長さ5cmのヒト臍帯静脈を各群8頭、総計40頭の雑種成犬の腎動脈下部大動脈に移植し、2週から6カ月にわたり観察し、下記の結果を得た。

1) 移植片を 0.5% または 1% glutaraldehyde で24時間処理し、次いで 50% または 70% ethanol で保存した4つの組合せのうちで 1.0% glutaraldehyde, 70% ethanol の組合せによるものが最高の開存率、 100% (8/8) を示した。 1.0% glutaraldehyde のみで処理、保存したものは 62.5% (5/8) と、最も不良であった。しかし、各々の群には統計的有意差は認められなかった。

2) 血管造影で、6カ月目になると高率に吻合部狭窄を認めた。

3) 肉眼的、光学顕微鏡的、走査電子顕微鏡的所見によれば、新生内膜は宿主血管内膜より発育し、移植後1カ月目で吻合部に出現し、時とともに成熟しつつ移植片の中央部に向かって伸展するが、その幅は6カ月目でもせいぜい5mm前後にすぎず、その他の移植片内表面はフィブリン層によって被われていた。このフィブリン層は時とともに緻密となり、6カ月目では表面はほぼ平滑となった。また、移植血管壁内への細胞浸潤はほとんど認められず、その構築は良く保たれていた。

4) cytotoxic test により移植片の抗原性は著しく減弱しているのを認めたが、処理保存方法別による差異はなかった。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師八牧力雄教授に深謝するとともに、有益な御助言、御協力を頂いた第1病理学教室内野文弥教授、第1内科学教室西岡幹夫博士に感謝する。また、直接御指導を頂いた第1外科学教室江里健輔助教授、ならびに御協力下さった安武俊輔博士、他第1

外科医局各員に深く感謝する。

本論文の要旨は、第19回日本脈管学会総会、東京、1978年において発表した。

参 考 文 献

- 1) 熱田友義, 久保良彦, 他: 保存同種臍帯静脈の基礎的検討. 人工臓器 6: 319-321, 1977.
- 2) Baier RE, Dardik H, et al: Processed human umbilical cord veins for vascular reconstructive surgery. Trans Amer Soc Artif Int Organs 22: 514-526, 1976.
- 3) Carpentier A, Lemaigre G, et al: Biological factors affecting long-term results of valvular heterografts. J Thorac & Cardiovasc Surg 58: 467-483, 1969.
- 4) 張紹元, 西岡久寿弥: Direct cytotoxic test. 移植 5: 277-280, 1971.
- 5) Dardik H and Dardik I: Successful arterial substitution with modified human umbilical vein. Ann Surg 183: 252-258, 1976.
- 6) Dardik H, Ibrahim IM, et al: Modified and unmodified umbilical vein allografts and xenografts as arterial substitutes. Morphologic assessment. Surg Forum 26: 286-287, 1975.
- 7) Dardik H, Ibrahim IM, et al: Clinical experience with modified human umbilical cord vein for arterial bypass. Surg 79: 618-624, 1976.
- 8) Dardik H, Ibrahim IM, et al: Arteriovenous fistulas constructed with modified human umbilical cord vein graft. Arch Surg 111: 60-62, 1976.
- 9) Dardik I and Dardik H: Vascular heterograft. Human umbilical cord vein as an aortic substitute in baboon. A preliminary report. J Med Primatol 2: 296-301, 1973.
- 10) Dardik I and Dardik H: The fate of human umbilical cord vessels used as interposition arterial grafts in the baboon. Surg Gyne Obst 140: 567-571, 1975.
- 11) Darling RC and Linton RR: Durability of femoropopliteal reconstructions. Am J Surg 123: 472-479, 1972.
- 12) Darling RC and Linton RR: Management of the late failure of arterial reconstruction of the lower extremities. New Eng J Med 270: 609-614, 1964.
- 13) DeFalco RJ: Immunologic studies of untreated and chemically modified bovine carotid arteries. J Surg Res 10: 95-100, 1970.
- 14) Deweese JA and Rob CG: Autogenous venous bypass grafts five years later. Ann

- Surg 174 : 346-356, 1971.
- 15) Dillon ML, Scott SM, et al : Tissue response to an arterial substitute of bovine origin. Arch Surg 105 : 577-581, 1972.
 - 16) Gorer PA and O' Gorman P : The cytotoxic activity of isoantibodies in mice. Transplant Bull 3 : 142-143, 1956.
 - 17) Imparato AM, Bracco A, et al : Intimal and neointimal fibrous proliferation causing failure of arterial reconstructions. Surg 72 : 1007-1017, 1972.
 - 18) Kakkar VV : The cephalic vein as a peripheral vascular graft. Surg Gyne Obst 128 : 551-556, 1969.
 - 19) Kambic H, Picha G, et al : Application of aldehyde treatments to cardiovascular devices. Trans Amer Soc Artif Int Organs 22 : 664-672, 1976.
 - 20) Kimoto S, Sugie S, et al : Experimental and clinical studies on arterial homo- and heterografts preserved in alcohol. Arch Surg 69 : 549-563, 1954.
 - 21) 木本誠二, 和田達雄, 他 : アルコール内保存動脈移植片の長期遠隔成績——特に十二指腸内に破裂窄孔せる再発腹部大動脈瘤の手術治験例について——. 臨外 15 : 977-984, 1960.
 - 22) 岸田登治, 小野木宏, 他 : 人臍帯静脈グラフトの研究. 人工臓器 6 : 308-311, 1977.
 - 23) Kouchoukos NT, Levy JF, et al : Operative therapy for femoral-popliteal arterial occlusive disease. A comparison of therapeutic methods. Circulation 1 : (Supple 35) 174-182, 1969.
 - 24) Mackenzie DC and Loewenthal J : Endothelial growth in nylon vascular grafts. Brit J Surg 48 : 212-217, 1960.
 - 25) Mattila SP and Fogarty TJ : Antigenicity of vascular heterografts. J Surg Res 15 : 81-86, 1973.
 - 26) Mindich B, Silverman M, et al : Human umbilical cord vein for vascular replacement. Preliminary report and observations. Surg 81 : 152-160, 1977.
 - 27) Mindich BP, Silverman MJ, et al : Umbilical cord vein fistula for vascular access in hemodialysis. Trans Amer Soc Artif Int Organs 21 : 273-280, 1975.
 - 28) O' Neal RM, Jordan GL, et al : Cells grown on isolated intravascular dacron hub. An electron microscopic study. Exp Mol Pathol 3 : 403-412, 1964.
 - 29) Poole JCF, Florey HW, et al : Growth of endothelium in arterial prosthetic grafts and following endarterectomy. Surg Forum 21 : 225-227, 1962.
 - 30) Rosenberg N, Henderson J, et al : An arterial prosthesis of heterologous vascular origin. JAMA 187 : 165-167, 1964.
 - 31) Rosenberg N, Martinez A, et al : Tanned collagen arterial prosthesis of bovine carotid origin in man. Preliminary studies of enzyme-treated heterografts. Ann Surg 164 : 247-256, 1966.
 - 32) 沢田康夫, 恩田芳和, 他 : ヒト臍帯由来の代用血管の研究. 人工臓器 6 : 316-318, 1977.
 - 33) Schechter I : Prolonged survival of glutaraldehyde-treated skin homografts. Proc Nat Acad Sci USA 68 : 1590-1593, 1971.
 - 34) Stanley JC, Ernst CB, et al : Fate of 100 aortorenal vein grafts. Characteristics of late graft expansion, aneurysmal dilatation, and stenosis. Surg 74 : 931-944, 1973.
 - 35) Stoney RJ, James DR, et al : Surgery for femoropopliteal atherosclerosis. Arch Surg 103 : 548-553, 1971.
 - 36) Stump MM, Jordan GL, et al : Endothelium grown from circulating blood on isolated intravascular dacron hub. Amer J Path 43 : 361-367, 1963.
 - 37) 杉江三郎, 田辺達三 : 人工血管——その進歩と臨床の実態——. P. 50, 東京, 南江堂, 1977.
 - 38) Szilagyi DE : Some controversial topics in vascular surgery. Am J Surg 118 : 406-412, 1969.
 - 39) Szilagyi DE, Elliot JP, et al : Biologic fate of autogenous vein implants as arterial substitutes. Clinical, angiographic and histopathologic observations in femoro-popliteal operations for atherosclerosis. Ann Surg 178 : 232-246, 1973.
 - 40) Szilagyi DE, Smith RF, et al : Long-term behavior of a dacron arterial substitute. Ann Surg 162 : 453-477, 1965.
 - 41) 富川正樹, 佐藤日出夫, 他 : 人臍帯静脈による静脈代用血管の作製. 人工臓器 6 : 312-315, 1977.
 - 42) Yong NK and Eiseman B : The experimental use of heterologous umbilical vein grafts as aortic substitutes. Singapore Med J 3 : 52-57, 1962.