

術後腸管癒着症の基礎的研究

——紫外線刺激による腹膜の炎症の初期像——

野 一 色 泰 晴

岡山大学温泉研究所 リハビリテーション医学部門

(1977年1月6日受付)

1. はじめに

腸管癒着症で最初に問題となるのは腹膜の炎症である。ごく僅かな手術操作が炎症に結びつく。しかし、腸管癒着症に関する腹膜炎初期の形態学的研究は少なく(安本, 1964; 小田, 1957), 開腹直後より刻々と変化する漿膜面を観察するには従来の組織学的, 透過型電子顕微鏡的方法では不十分な面があった。これを走査型電子顕微鏡を用いることにより詳細に観察し得たので報告する。

2. 材料と方法

体重 250g 前後のラット 35 匹を用い, クロロホルム麻醉下に開腹, 漿膜を損傷しない様に注意して, 生理的食塩水を浸したガーゼ上に小腸を掛け, 1 m 上方より東芝殺菌ランプ GL-10 (東ら, 1956) で紫外線照射を行なった。

照射時間 1 分より 60 分まで小腸を各時間平均 7 カ所ずつ切除し (表 1), 同時に対照として無照射の小腸も切除し (表 2), pH 7.2 磷酸バッファー, 2.5% グルタルアルデヒド固定, アセトン脱水し, 金及びカーボン蒸着し, 走査電顕 (JUM-U3, 加速電圧 25 kV) で観察した。これと平行して採取した小腸を Bouin 固定し, パラフィン切片作成, H.E. 染色, Masson-Goldner 染色, PAS 染色, Weigert 線維素染色, May-Giemsa 染色等により漿膜面の変化を観察した。

紫外線照射中の小腸に対し乾燥防止の為, 生理的食塩水で湿潤状態を保ったが, 部分的には注射器で生理的食塩水を噴射させ滲出物の内容, 滲出物下の漿膜細胞の変化も観察した。

表 3 のラット (Rat No. 33-35) については紫外線照射中の漿膜面の pH 測定を行なった。

3. 結 果

① 走査電顕の観察では正常漿膜は漿膜細胞が小腸の輪状方向に規則正しく並び (図 1) 個々の細胞は長さ約

20 μ で細長く, 表面に microvilly が密生している (図 2)。microvilly の形態についてはすでに透過型電子顕微鏡的研究 (安本, 1964) があり, 心膜 (山田ら, 1967) の漿膜細胞に認められるのと同形態を示す。

② 1 分間紫外線照射では microvilly に無構造な糊状物質が付着し, 3 分間照射でさらに増加するが (図 3), 軽く生理的食塩水をかけると流れ去る。

③ 15 分間照射では軽く生理的食塩水をかけた程度では流れ去らない無構造な物質に microvilly がうもれている (図 4)。この物質は PAS 反応陽性を示す。生理的食塩水を強く噴射させて洗うと流れ去り (図 5), 線維成分は見あたらない。

④ 20 分照射ではこの糊状物質内に線維状物質が認められ, 軽く生理的食塩水をかけると表層に出て明らかになる (図 6)。太さ 0.1~0.3 μ , 走行不規則, 密度もまちまちである。さらに強く生理的食塩水で洗うと図 7 の如く線維状物質のみが残る。

15 分間照射においてみられず, 20 分間照射において一斉に出現したこの線維状物質は Weigert 線維素染色により染色され, フィブリンであることを示唆する。フィブリン下の漿膜細胞に破壊像は認められない。つまり, 漿膜細胞はこの時点では破壊されず, 漿膜細胞上に炎症性の滲出液が出て, フィブリン析出が起っている。

フィブリン網中に直径 2~3 μ の小球 (図 8) を認め, 形態的に血小板に酷似し, 組織切片の May-Giemsa 染色で血小板の存在を認めることから, この小球は血小板であり, これを中心にフィブリン析出が行なわれていることを示唆している。

⑤ 30 分照射ではフィブリン網は密になり, 漿膜表面を覆い, 図 9 の如く直径 8~9 μ , 凹凸の強い白血球様細胞 (図 10) を認める。同時に図 11 の如く赤血球も認められる。肉眼的には何ら変化を認めないが, 微少の出血が 30 分間の照射で起っており, 組織切片では漿膜面に赤血球, 好中球を認めるので, 図 9, 10 の白血球様細胞は好中球であることを示唆する。

⑥ 45 分間照射ではフィブリン網の密集, 滲出物の増

加, 好中球の遊出, 赤血球の出現が著明になるほか, 低倍率で観察すると, 漿膜面に20~50 μ の突出部を認め(図12), 組織切片では漿膜下組織の微少な浮腫像を認めた.

⑦ 1時間照射では漿膜面は赤血球, 好中球, フィブリン網等の厚い苔状板で覆われ(図13), 漿膜細胞の変化は観察できない. 肉眼的には出血を認める.

刺激時間 (分)	0	1	3	5	7	8	10	15	20	30	45	60
ラット No.												
1		1	1					1			1	
2			1					1			1	
3		1		2		1						
4				2		1						
5		1			2				1			
6					2				1			
7		1	1		1					2		
8				1	1					2		
9				2						2		
10				2						2		
11					2						2	
12					2						2	
13		1				2						2
14						2						2
15							2					
16						2						
17							2					
18							2					
19								2				
20								2				
21									2			
22									2			
23										2		
24										2		
25											2	
26											2	
27												2
28												2

表 1. 紫外線照射時間および腸管採取数

1時間照射を行なった小腸で紫外線のあたらなかつた反対側部分を観察すると, フィブリン網が漿膜表面を覆っているが, それを通して下の漿膜細胞が見える程度に薄く, 苔状板の形成はない(図14).

⑧ 1時間照射した漿膜面に注射器で強く生理的食塩水をかけて変化を観察したところ, 図15の如く苔状板は部分的に剥れている像を認めた. 苔状板の剥れた下には microvilly をもつ漿膜細胞が見られる(図16). つまり, この程度の炎症は漿膜細胞を破壊することなく漿膜細胞上において起り, かつ炎症性産物は洗滌により洗いが可能であった.

4. 考 按

④ 実験動物について

腹膜における炎症の研究に於て, 古くから両棲類の腸管が用いられていた. しかし天野(1958)の指摘する様に両棲類では細動脈, 毛細管, 細動脈の区別がおろそかになり, 主たる血管反応の場である細静脈の変化を捕え難い為, 哺乳類を用いなければならない.

腸管癒着症の研究に従来マウス, ラット, モルモット(安本, 1964; 佐谷, 1967), 家兎(四方ら, 1968; 高知, 1942), イヌ(安本, 1964)等が用いられ, 動物の種類により癒着の差が生じる(橋爪, 1958). 本研究では炎症の初期変化を観察する目的にラットを使用した. 炎症の研究にラットはすでに多く用いられており(安本, 1964; 小田, 1957; JANOFF and ZWEIFACH, 1964), 血管透過性因子における反応では麻酔, 寒冷, ショック,

開腹時間 (分)	20	30	45	60
ラット No.				
29	2			
30		2		
31			2	
32				2

表 2. 無照射群の腸管採取個数

刺激時間 (分)	0	1	5	10	15	20	30	45	60
ラット No.									
33	7.92					7.93	7.92	7.92	7.98
34	8.15	8.07	8.15	8.12	8.03				
35	8.22						8.05	7.95	7.82

表 3. 紫外線照射下における腸管漿膜面の pH と照射時間 (Metrohm Precision Compensator E 388 使用)

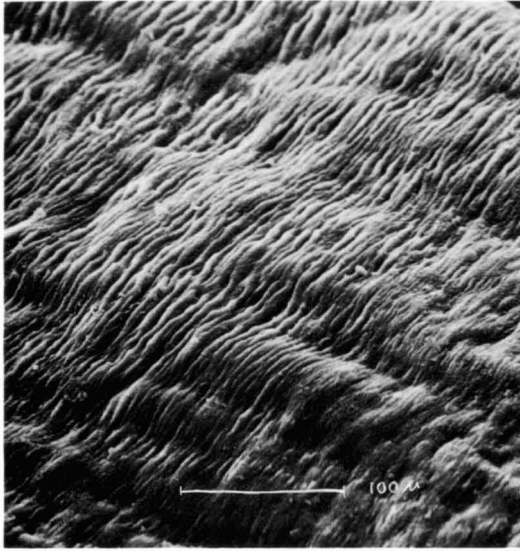


図 1. 正常漿膜の走査電顕写真漿膜細胞は腸管の輪状方向に規則正しく並んでいる。

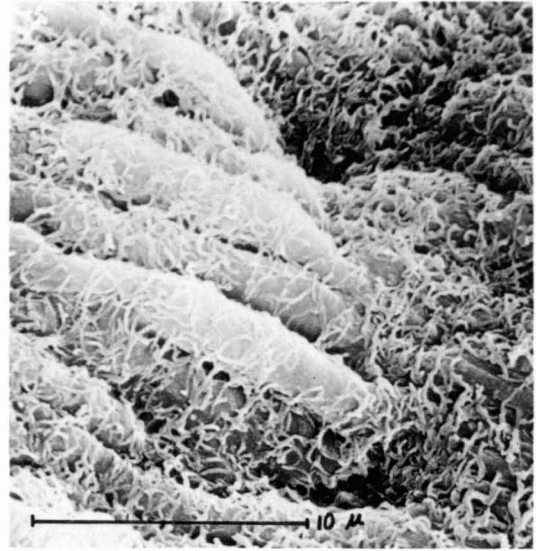


図 2. 正常漿膜細胞の拡大像 細胞表面には無数の microvilly が密生している。各細胞はほぼ平行に並んでいる。

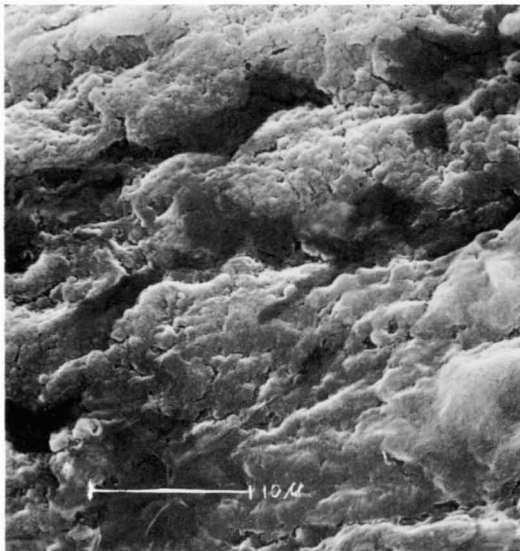


図 3. 3分間紫外線照射を行なった漿膜表面無構造の糊状物質が microvilly に厚く付着し、細胞表面を直接見る事はできない。

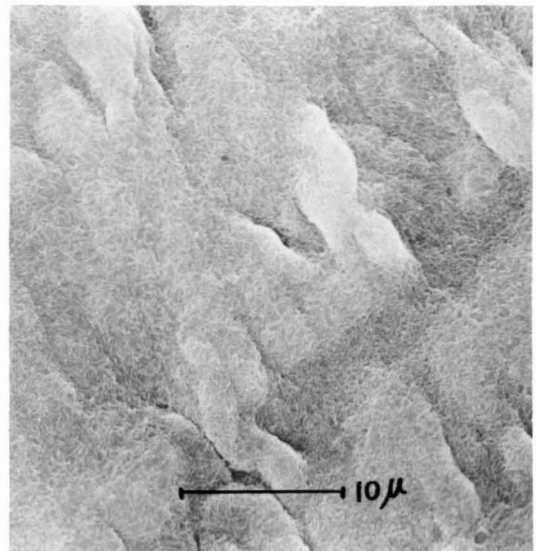


図 4. 15分間照射の漿膜表面多量の滲出液が漿膜細胞を覆い、microvilly を浮き上らせている。

温度変化に対してウサギ、モルモット、マウスよりラットは直線的反応を示し、影響を受けにくい (SPECTOR and WILLOUGHBY, 1963) 等を考慮すれば本研究にラットは不適ではない。

② 催炎性刺激方法について

機械的方法として腸管の切創、切除、搔爬、メスまた

はガーゼの摩擦 (四方ら, 1968; 高知, 1942; 橋爪, 1958), 化学的方法としてヨードチンキ, 昇汞水, ルゴール液等塗布 (安本, 1964; 佐谷, 1967), 大腸菌やブドウ状菌塗布 (上野, 1912), 糞便塗布 (SPECTOR and WILLOUGHBY, 1970), 物理的方法 (SPECTOR and WILLOUGHBY, 1970) として乾燥, 焼灼 (江頭, 1967;

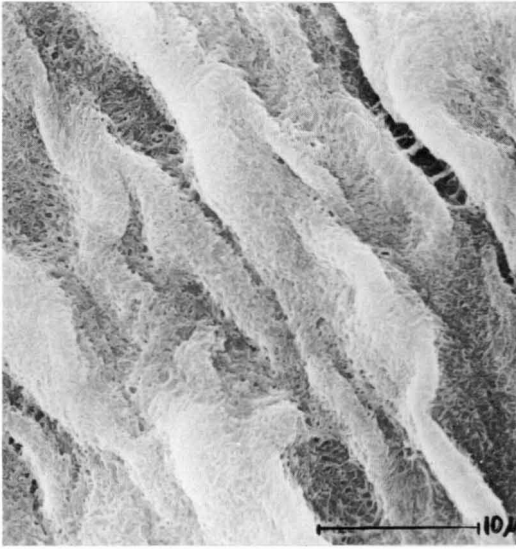


図 5. 15分間照射後、注射器にて生理的食塩水を噴射させて洗滌した像 滲出液はほとんど流れさるも一部 microvilly に附着して残る。炎症性細胞やフィブリンは認められない。



図 6. 20分間照射の漿膜表面糊状物質の上に線維状物質が認められる。

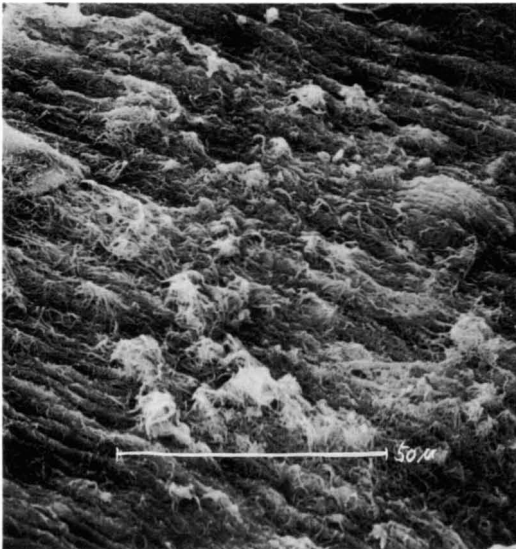


図 7. 20分間照射後生理的食塩水にて洗滌した像 滲出液は流れ去り、固形物が残っている。この線維状物質はフィブリンである事が明らかとなった。



図 8. 20分間照射の漿膜面上に認めたフィブリン網と血小板フィブリン網下の漿膜細胞は破壊されていない。

VOGEL, 1922) 等が行なわれた。これ等の方法は漿膜細胞を破壊するのみならず筋層の一部も破壊し、炎症反応は筋層において演じられる (安本, 1964)。また破壊された細胞を貪食する反応も同時に起り、腐蝕毒や細菌は新生してくる細胞、線維素の自由な活動を阻止するばかりでなく、これ等をも破壊するため、炎症の初期の観察

には不適である。

初期反応のうち一番著名な変化を起すのは間葉組織 (天野, 1958) であり、中でも滲出液、血球、その他の出てくる細静脈である。従って急性血管反応をより強く起す刺激方法として紫外線照射を選んだ。この方法は薬理的にフォルムアルデヒドやテレピン油と共に古くか

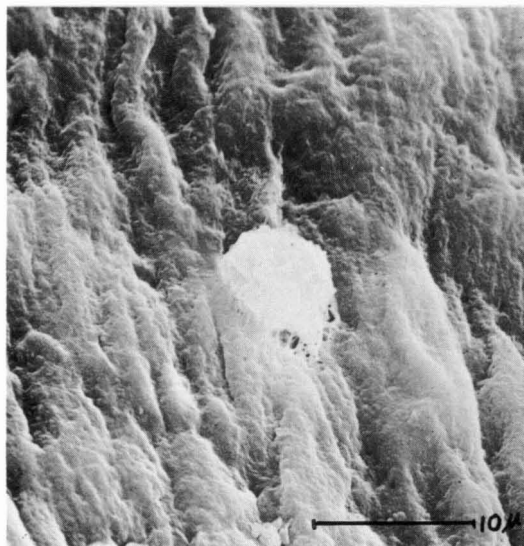


図 9. 30分照射後の漿膜表面に認められた細胞漿膜表面は滲出物に覆われ、漿膜細胞は見られない。この滲出物中には図7の如きフィブリンや血小板が存在する。

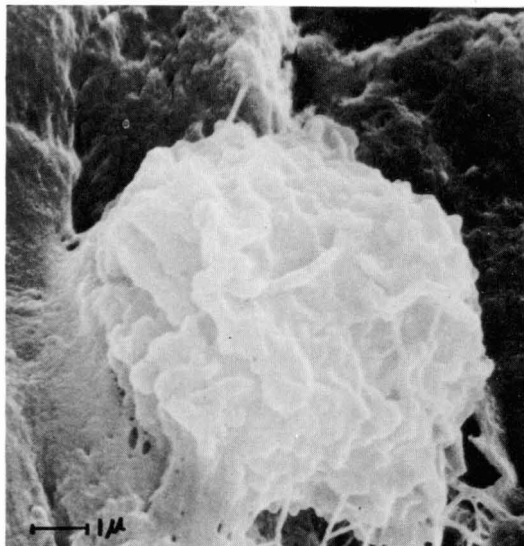


図 10. 図9の細胞の拡大像表面は凹凸があり白血球様である。組織切片により好中球を認めるので、この細胞は好中球と考えられる。

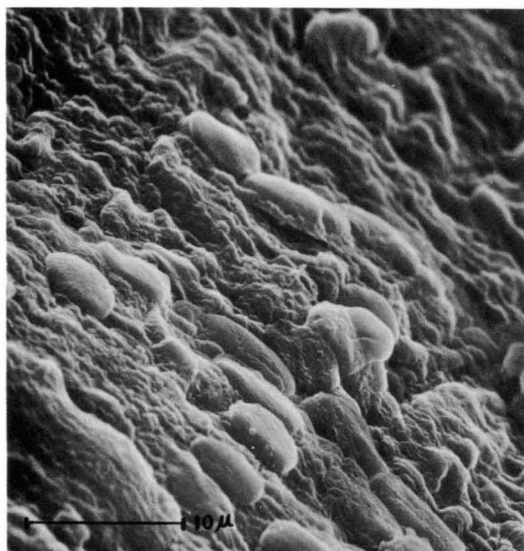


図 11. 30分間照射の漿膜表面 所々に多数の赤血球を認める。



図 12. 45分間照射の漿膜表面 微小な細胞が無数に出ている。あちこちに20~50μmの突出部がある。組織切片による漿膜下組織の浮腫像と一致する。

ら用いられ、特に薬物効果検定実験の中で最も広く用いられており、刺激継続時間が任意に選べ、刺激量の調節がランプの強さとランプ被射体間の距離を変える事により自由である。また、本研究では20分照射後(図7)、1時間照射後(図16)で明らかのように炎症反応は強く起っているが、その下の漿膜細胞は破壊を認めず、「傷

害は広範な組織破壊を起すほど激烈であってはいけない」という注意事項(SPECTOR and WILLOUGHBY, 1970)を満足する。

最近、240mmより短い波長の紫外線がpH4.7以下で膠原線維形成の速度を減少させるという報告(野田, 1972)があり、炎症巣とpHとの関係(鈴江と小林,



図 13. 60分照射の漿膜表面 赤血球, 好中球, フィブリン網等の炎症性滲出物よりなる厚い苔状板で覆われている.

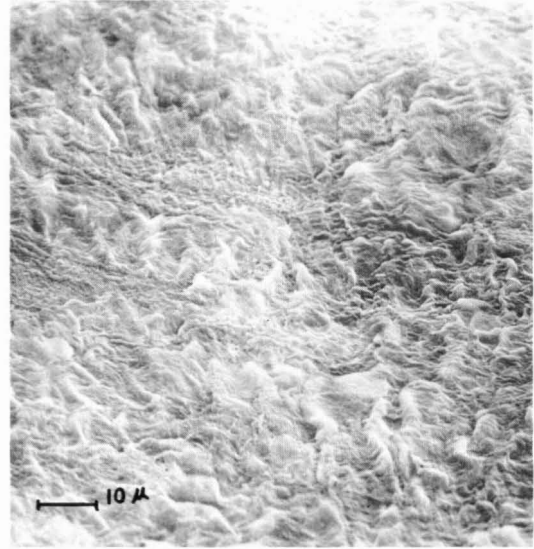


図 14. 60分照射した腸管の紫外線の当たらなかった部分(図13のちょうど裏側に当たる). 薄いフィブリン網によって覆われている.

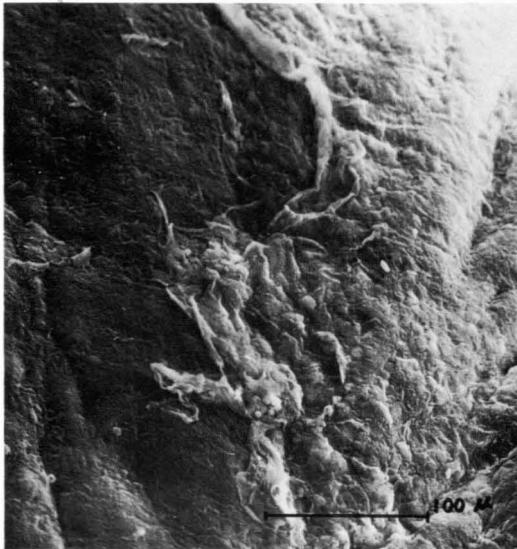


図 15. 60分照射の漿膜表面を注射器で強く生理的食塩水をかけて洗滌した像 図13で認めた苔状板がはがれている.

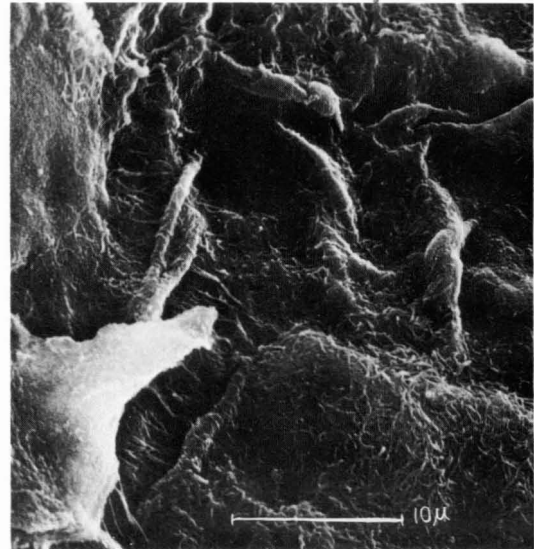


図 16. 苔状板のはがれ去った部分 microvilly を持つ漿膜細胞を認める. 漿膜細胞は破壊されていない.

1964) についても議論の多いところであるが, 本研究では pH7 以下にはならなかった(表3).

③ 漿膜上の炎症初期反応について

腹膜面は胸膜腔, 心膜腔と同様微量の漿液により湿潤状態にある(鹿取, 1971)が, 病的状態では漿液は增量する. 炎症時にはこの滲出液は比重が高く(1018以上),

蛋白質の含量も多い(4%以上). 正常時の毛細血管は水分, 塩類, アミノ酸, グルコース等の低分子物質は透過し, 血清蛋白の如き大きな物質は殆んど透過しないが, 刺激が加わると, まず蛋白含量の少ない液状成分が透過する(liquor diapedesis)(FLOREY, 1954). 図3の3分間紫外線照射はこの状態と考えられる.

10分以上の照射では生理的食塩水を注いでも流れにくい滲出液が付着している。これは血管の透過性が亢進し、分子量 6,900、大きさ $150 \times 38 \text{ \AA}$ 程度の albumin や分子量 9,000~200,000、大きさ $190 \times 37 \text{ \AA} \sim 300 \times 50 \text{ \AA}$ の globulin (鈴江と小林, 1964) が滲出 (serum diapedesis) (FLOREY, 1954) しているためと考えられる。さらに照射を続けると、滲出液はその量を増すとともに粘着性を増し、15分照射では強く生理的食塩水を注いでも粘着性の滲出液が microvilly の間に残る (図5)。この現象は血管透過性がさらに亢進し、分子量 400,000、大きさ $700 \times 38 \text{ \AA}$ (鈴江と小林, 1964) のフィブリノーゲンが滲出 (HAURAWITZ, 1952) してきた (plasma diapedesis) (FLOREY, 1954) と考えられる。

20分照射では滲出したフィブリノーゲンがフィブリンに変化する (図6, 7, 8)。HATTORI ら (1969) は血小板にトロンピンを作用させ、5, 10, 15 秒間に起る変化を走査電顕で観察し、血小板が球形に変化した後、これを中心にフィブリンが析出してゆく所見を得ており、本研究の漿膜上で認めた所見と似ているのは、腸管癒着症の初期段階である腹膜炎が血液凝固機序と似た状態で進行するものと思われる。HATTORI ら (1969) の研究ではトロンピン添加後5秒でフィブリン析出を認めたのに比し、本研究では刺激後20分でフィブリンが析出するのは余りにも遅い。前述した如く pH 4.7 以下では紫外線が膠原線維形成を障害すると同様、フィブリン析出が障害されることも考えられるが、pH 7.0 以下にはならない (表3)。従って腹腔内に血液を注入しても大部分は流動性のままで、短時間に吸収されるという漿膜白体の特異性を考えねばならない。漿膜下組織には強力なフィブリン析出促進物質が存在し、漿膜面はこれに反し、フィブリン析出阻止物質をもつ (小田, 1957)。本研究では漿膜細胞は図7の如く破壊されていないため、漿膜下組織のフィブリン析出促進物質より、漿膜面のフィブリン析出阻止物質の作用が強く、徐々にしかフィブリン析出が行なわれなかったと考えられる。

30分照射ではフィブリン網は急速に密になり、漿膜細胞表面を見る事はできない。そして白血球の遊出 (leucodiapedesis) を認める。Arthus 反応 (影山, 1967) においては抗原滴下後15分で毛細管細静脈吻合部を中心に漏出性出血が認められ、20~30分後に漏出性出血の持続と白血球遊出 (影山, 1963) が認められるといい、本研究で図9, 10, 11の如き所見と時間的にも一致している。

45分照射ではこれらの変化が著明となる (図12)。詳細に観察すると多くの遊出した細胞が漿膜面上を覆い、ま

た漿膜下にも浮腫が生じている。この所見は前述の緩徐なフィブリン析出と同様、従来の漿膜細胞表面を擦過したり、化学的的刺激により腐蝕させて漿膜細胞層を破壊させてしまった腸管癒着の研究においては決して認めることの出来なかつた現象である。

1時間照射では、漿膜表面は種々の滲出物より形成された苔にて覆われる (図13)。この苔が厚みを増すと漿膜面まで紫外線が透過し難くなり、刺激の程度は弱められる。

1時間照射の後、この炎症反応が最終的に腸管癒着症へ進むか否かは検討を要す。滲出、遊走 (飯島, 1973) とともに吸収作用も起る。そして何の跡も残さずに治癒するか、それとも肉芽組織形成より癒着組織を残し癒着症 (ESKELAND and KJERHEIM, 1966; FUKATA, 1963; SCHADE and WILLAMSON, 1968; ELLIS, 1971) となるのか、この場合漿膜細胞は無傷のままか、それとも一般に癒着症の必須条件と考えられている漿膜細胞の脱落が生じた後に癒着症へと進むのか、脱落は刺激による細胞の破壊のためか、漿膜下組織の浮腫の増強による漿膜下組織および筋層からの離脱によるものか、興味深い問題が残っている。

④ 腹腔内洗滌について

開腹術において腹腔内洗滌は炎症性滲出物を洗い流す可能性をもち合目的的である。腸管の保護と汚染防止の目的で術中腹腔外に出した腸管を包んでおくバイドレイブバック (パークデービス三共 K.K.) 中に、余りにも多量の滲出液が溜っていることを認めることがあるように、開腹術中の滲出液の滲出は避けられないので、洗滌することにより1例でも腸管癒着症を防止できたなら、その甲斐ありというものである。

日常の手術において、本研究のように紫外線を1mの近距離から1時間も照射することはないであろうし、ラットを利用した本実験をヒトにそのままあてはめると、無理があるが、軽度の炎症に洗滌は効果的と思われる。丁寧な手術操作が腸管癒着症防止に必要なことは言うに及ばないが、すでに出現した炎症性物質を洗滌により洗滌することが可能であり腸管癒着症防止に役立つことが示唆され、洗滌の意味が走査電顕により明らかにされたと考えられる。

6. 結 語

腸管癒着症研究の基本である腸管漿膜面での炎症反応の初期変化を主として走査電顕を用いて観察し、さらに術中の腹腔内洗滌の意味について言及した。

稿を終るにあたり、岡山大学温泉研究所長仲原泰博教

授、岡山大学医学部第2外科砂田輝武教授の御指導、御校閲を深謝するとともに、研究の機会を与えて下さった岡山大学温泉研究所研究員各位に深謝します。

文 献

- 天野重安 (1958) 炎症に於ける血管反応と組織反応, 最新医学. **13**, 3-18.
- ELLIS, H. (1971) The cause and prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. *Surg. Gynecol. Obstet.* **133**, 497-511.
- ESKELAND, G., KJARHEIM, A. (1966) Regeneration of parietal peritoneum in rat. *Acta Path. et microbiol. Scandinav.* **68**, 379-395.
- 江頭一夫 (1967) 抗生物質の局所使用と腹膜癒着に関する研究. 久留米医誌. **30**, 1021-104.
- FLOREY, H. (1954) Lecture on general pathology. London, Loyd-Luke. 10.
- FUKATA, H. (1963) Electron microscopic study on normal rat peritoneal mesothelium and its changes in absorption of particulate iron dextran complex. *Acta Path. Jap.* **13**, 309-325.
- 橋爪 敬 (1958) 腸管癒着に関する実験的研究. 日外会誌. **60**, 696-714.
- HATTORI, A. *et al* (1969) Scanning electron microscopic observation on human blood platelets and their alterations induced by thrombin. *Arch. Histol. Jap.* **31**, 37-54.
- HAURAWITZ, F. (1952) *Chemistry and biology of proteins*. 広田猛夫訳: 生物物理化学の領域に於ける蛋白, 東京, 本田, 146-148.
- 東 堯, 白石啓文 (1956) 殺菌灯とその応用. 東芝レビュー, **11**, 1-15.
- 飯島登他 (1973) 腸管癒着の病態生理. 外科. **35**, 1162-1166.
- JANOFF, A., Zweifach B.W. (1964) Production of inflammatory changes in the microcirculation by cationic proteins extracted from leucocytes. *J. Exp. Med.* **120**, 747-759.
- 影山圭三 (1963) 微少循環障害に関する動態病理学的観察, 最新医学. **18**, 1448-1453.
- 影山圭三 (1967) 循環動態からみた局所炎症. 日本臨床代謝学会記録. **4**, 91-94.
- 高知寿次 (1942) 腹膜癒着特にその予防法についての実験的研究. 日外会誌. **43**, 515-542.
- 野田春彦 (1972) コラーゲン線維形成と分子の関係, 第4回結合組織研究会総会, 特別講演. 京都.

小田礼二郎 (1957) 腸管組織の線維素析出促進作用に関する研究. 日外会誌. **59**, 435-445.

佐谷久経 (1967) 腹膜癒着防止に関する実験的研究. 久留米医誌. **30**, 1041-1057.

SCHADE, D.S., WILLIAMSON, J. R. (1968) The pathogenesis of peritoneal adhesions: An ultrastructural study. *Ann. Surg.* **167**, 500-510.

四方統男他 (1968) Polymyxin B Sulfate 腹腔内投与の検討. 手術. **22**, 418-424.

鹿取 信 (1971) 急性炎症におけるブラジキニンその他の mediator の役割. 日医誌. **65**, 979-890.

SPECTOR, W.G., WILLOUGHBY, D.A. (1963) The inflammatory response. *Bact. Reus.* **27**, 117-125.

SPECTOR, W.G., WILLOUGHBY, D.A., (1968) 重井達朗他訳炎症の薬理. 医歯薬出版. 東京. 27-58.

鈴江 懐, 小林忠義編 (1964) 病理学総論 1. 医学書院. 東京. 433-439.

上野信四郎 (1912) 腹膜癒着の転帰およびこれが器械的感応の動物実験. 中外医事新報. **767**, 343-345.

VOGEL, K. (1922) Über Entstehung, Verhütung u. Behandlung von Bauchfell verwachsungen. *Munch. Med Wsch.* **17**, 638-642.

山田英智他 (1967) 細胞組織図譜. 1. 医学書院. 東京. 94-96.

安本寿来 (1964) 腸管漿膜損傷の修復過程に関する電子顕微鏡的研究. 久留米医誌. 249-264.

FUNDAMENTAL STUDY OF POST OPERATIVE INTESTINAL ADHESION —FINDINGS ON EARLY STAGE OF PERITONEAL INFLAMMATION BY ULTRAVIOLET IRRADIATION—

by Yasuharu NOISHIKI, M.D., *Division of Rehabilitation Medicine, Institute of Thermal Spring Research, Okayama University, Misasa, Tottori, 682-02*

Abstract. Early process of peritoneal inflammation on rat by ultraviolet irradiation was studied histologically and scanning electron microscopically. After 1 minute irradiation of ultraviolet, minimal exudation on mesothelium was found. After 15 minutes irradiation, microvillies on mesothelium were covered with exudate. After 20 minutes, fibrin fibers appeared on intact meso-

thelium. Though the fibers wafted in exudate, the fibers could be cleared up by irrigation of saline. After 30 minutes, white and red cells appeared on the nest of fibrin fibers. After 45 minutes, edema came out at subserosal layer. After 1 hour, mesothelium was covered with fibrin fibers, white and red cells. But the coated fur could be washed off by jet irrigation of saline and intact mesothelium beneath the fur appeared.

These results indicate that washing a peritoneal cavity by saline after abdominal operation is of practical value to prevent a intestinal adhesion due to post operative intestinal inflammation.

Inflammatory changes of intestinal mesothelium was clearly demonstrated by scanning electron microscope and these observations revealed that scanning electron microscope was very useful for the study of inflammation which occurred on the surfaces of organs.