

# 粥状硬化食投与ラットにおける 微小動脈吻合術の実験的研究

岡山大学医学部脳神経外科学教室 (指導 西本 詮教授)

小 原 進\*

(\*現: 徳島大学医学部脳神経外科学教室)

(昭和52年2月3日受稿)

## 緒 言

閉塞性脳血管障害にたいする外科的治療はかつては、米国の joint study<sup>1)</sup>にもみられるように頸部動脈病変にたいする血栓内膜除去術を行う程度にとどまっていた。しかし、microsurgical technique がこれに応用<sup>2)</sup>されはじめてから、外科的治療を行いうる範囲が次第に増大してきた。ことに従来は外科的にほとんど手のほどこしようのなかった頭蓋内動脈の閉塞性病変にたいしても、中大脳動脈の血栓除去術<sup>3, 4)</sup>がこころみられ、また浅側頭動脈・中大脳動脈皮質枝吻合術<sup>5, 6)</sup>など頭蓋外・頭蓋内動脈吻合術による血行再建術も広く行われるようになってきた。ことに後者は新しい外科的治療法として確立されつつあるかにみえる。

一方、粥状硬化と閉塞性脳血管障害の関係は古くより知られ、その成因を探るためすでに多くの研究がなされている。また実験的にも Anitchkow (1913)<sup>7)</sup>以来ヒトの病変に近いモデルをつくる努力が払われてきた<sup>8) - 15)</sup>さらに生化学的、組織化学的な立場から、血管壁自体も単なるパイプではなくいろいろな代謝を営む1つの臓器であるとする考え方が動脈硬化性病変の研究の過程において肯定されつつある。<sup>16) - 19)</sup>現在なお粥状硬化発生の機転は十分明らかになったとは言えないが、高脂血症は少なくとも粥状硬化症の risk factor の1つとしてあげられている。<sup>20) 21)</sup>また血管壁の透過性亢進と粥状硬化の関連も注目されている。<sup>22) 23)</sup>さらに Robbins (1966)<sup>24)</sup>は高脂肪食の投与で血球の血管内凝集も増加することを実験的にみている。

ところで、このような粥状硬化性病変を有する動脈あるいは長期にわたる高脂血症がつづきあきらか

に病的状態にある動脈に外科的侵襲を加えれば当然正常血管とは異なる反応がおこることが予想される。実際临床上、頭蓋内の閉塞性病変により手術の対象となる患者は多くは中年以後であり、その浅側頭動脈や中大脳動脈皮質枝は加齢にともなう動脈硬化性病変を有し、ほとんどの例において少くとも何らかの意味で病的動脈と考えなければならない。これらの動脈はおよそ1-2mmの細い動脈であり、このような細い血管吻合術後の治癒過程について検索した報告は少ない。<sup>25) 26) 27)</sup>さらに病的微小動脈吻合に関する実験的な研究はほとんどみられない。<sup>28) 29) 30)</sup>

そこで、病的微小動脈の血管吻合を行った場合の開存率、治癒過程、血管壁の変化等の基礎的諸問題を明らかにするために、ラットに粥状硬化食を長期間投与した後、約1mmの細い動脈を microsurgical technique を用いて吻合後、組織学的、組織化学的に検討しあわせて pyridinolcarbamate (PDC) の吻合部に及ぼす効果ならびに血清コレステロール値の推移などについて検討したので報告する。

## 実験材料および方法

実験動物として、生後約4ヶ月のウィスター系成熟雄性ラット198頭(平均体重325g)を使用した。

まず予備実験として、数種類の実験食 (high fat high cholesterol diet) を調合作製し、各々をラットに投与し本実験に最も適当な食餌を決定した(第I実験) について第I実験で決定した粥状硬化食を長期間投与し、粥状硬化症の極く初期性病変を有すると思われる病的動脈の吻合術を行い、吻合部開存率、治癒過程、血管壁の諸変化等について調べ、かつ動脈硬化性病変発生の予防策の1つとして pyridinolcarbamate (PDC) 投与の影響をみた(第II実験)。

Table 1. Composition of 13 Kinds of Diet

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
Cholesterol	5	5	5	5	5	10			5	5		5	5
Peanuts oil		5	5	30	25	25	25	50	10	25	25	5	5
Lard	30		20		25	25	25	50	20	25	25		
Sodium cholate									2	2		2	2
Thiouracil									0.3		0.3		0.3

Each component (percent in weight) was added to the regular diet.

Table 2.

1. Atherogenic diet =	A diet
Cholesterol	5 %
MF diet + Peanuts oil	5 %
Sodium cholate	2 %
2. Atherogenic diet + Pyridinolcarbamate 0.05 % (PDC)	AP diet

さらに、実験IIよりは高度の高脂血症下における吻合操作の動脈壁に及ぼす影響を検討した(第III実験)。

#### 第I実験

実験食として、オリエンタル酵母工業KK製MF飼料にTable 1.の成分を添加した13種類の食餌を作成し、各々2~8頭、計42頭のラットに投与した。食餌の投与は1頭につき1日平均20gとした。投与開始後2週目、4週目にエーテル麻酔下に、心臓穿刺により採血し、高脂血症の指標として血清総コレステロール値(以下コレステロール値と略す)をZurkowskiの方法で測定した。対照群としてregular diet(MF飼料)投与中の10頭についてもコレステロール値を測定した。食餌の投与開始前、および各々の採血時に体重の測定を行った。

#### 第II実験

a) Table 1.の実験食のうち粥状硬化食の1つとしてⅫを選び、これをA食と仮りに呼ぶこととし、A食にPDC 0.05%を添加したものをAP食とした(Table 2)。AP食を330gのラットに1日20g投与すると、PDCは30mg/kg/dayの投与量となる。

まず96頭のラットにA食を投与しながら、定期的に血清総コレステロール値をZurkowskiの方法で測定した(図1)。これらのうち、13週後に生存せる76頭のラットをケタラルール50mg/kg筋注麻酔下に左総頸動脈(外径1~1.3mm)を露出し、手術用顕微鏡下に切断し、端々吻合術を行った。吻合の方法は、針付き9-0 monofilament nylon糸で約8針の結

節縫合を行った。Vascular clampとしてはScovilleのclipを用いた。吻合術後はA食をそのまま投与した群(以下A群と略す)40頭と、AP食に変更した群(以下AP群と略す)36頭に分け、術後1日、3日、5日、7日、2週、3週、4週、6週、8週、10週、12週、16週、20週目に屠殺した(図2)。屠殺時にコレステロール値を同じく測定すると共に、開存の有無を確かめ開存せるものについて左頸動脈ならびに対照としての右頸動脈を生体より取り出し、それぞれ長軸方向に切開し、正常肝臓片にてはさみ、直ちにドライアイス中に投じて凍結させ、厚さ8μmの新鮮凍結切片を作成し、組織学的にはHematoxylin-Eosin染色、Oil Red O染色、van Gieson染色、組織化学的にはEmbden-Meyerhof pathwayのlactic dehydrogenase(LDH)、Warburg-Dickens pathwayのglucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH)、Krebs cycleのsuccinic dehydrogenase(SDH)、electron transport systemのcytochrome oxydase(Cy-O)、hydrolaseのacid phosphatase(Ac-P)、alkaline phosphatase(Al-P)の6種類の酵素について、Table 3.の各々の方法で染色後、正常群の活性と対比しつつ、両食餌群の吻合部及び吻合周辺部の酵素活性について定性的に検討した。

ここで、吻合部とは外膜側に肉芽又は線維化のみられる範囲——通常、血管外径の1~2倍即ち1~2.5mm——であり、吻合周辺部とはそれより離れた部でかつ2つのvascular clampの範囲内と一応定めた。

b) regular diet(MF飼料)にて飼育中の30頭のラットに左総頸動脈の端々吻合を行い(以下正常群と略す)、開存率を調べると共にコレステロール値の測定を行った(図2)。

#### 第III実験

a) Table 1.の実験食のうちⅫ即ちA食にthiouracilを添加した食餌をAT食と呼び、新たに10頭のラットに投与した。投与後4週目に第II実験と

Table 3.

Histological Examination	
Hematoxylin-Eosin Stain	
Van Gieson's Stain	
Oil Red O Stain	
Histochemical Examination	
Embden-Meyerhof Pathway	
Lactic Dehydrogenase (LDH)	: Mori
Warburg-Dickens Pathway	
Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G-6-PDH)	: Mori
Krebs cycle	
Succinic Dehydrogenase (SDH)	: Nachlas
Electron Transport System	
Cytochrome Oxidase (Cy-O)	: Burston
Hydrolases	
Acid Phosphatase (Ac-P)	: Burston
Alkaline Phosphatase (Al-P)	: Burston

同様の方法で頸動脈の端々吻合を行った(図2). 術後もAT食を投与し続け、4週後に屠殺し、第II実験と同様の手段で血管を取り出し、Hematoxylin-Eosin染色、Oil Red O染色、van Gieson染色を施し、組織学的に吻合部及びその周辺部の血管壁をを検索した。

b) regular diet で飼育中のラットの左総頸動脈を前述と同様の方法で吻合し、6~14ヶ月後に観血的に吻合部の開存を確かめた10頭に、新たにAT食を8週間負荷後屠殺し、吻合部の開存の有無を調べ

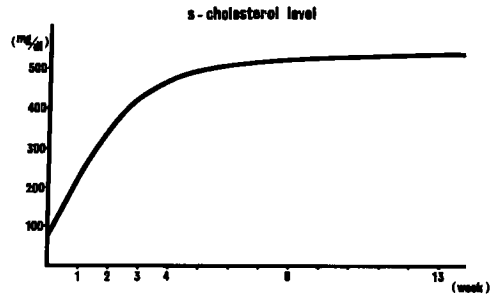


図1

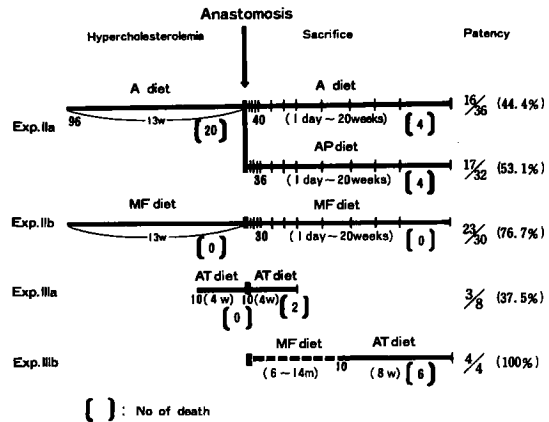


図2

た(図2).

実験成績

第I実験

Table 4. Serum Total Cholesterol and Weight Gain of Each Dietary Group

Kinds of Diet	No. of Rats	Serum Total Cholesterol (mg/dl)*		Weight Gain(%)** at the 4 th Week
		2 nd Week	4 th Week	
I	8	95±23	107±30	15.6±6.3
II	3	70±17	—	—
III	3	72±27	93±27	18.4±3.3
IV	3	78±8	95±16	18.4±10.2
V	2	132±11	111±24	25.4±8.3
VI	2	109±1	129±56	31.9±1.6
VII	3	96±20	87±14	37.9±4.5
VIII	3	79±1	86±14	31.9±2.3
IX	3	722±360	820±314	4.4±2.9
X	3	308±216	488±117	7.1±5.3
XI	3	125±18	108±13	16.3±2.9
XII	3	311±60	511±65	6.1±3.7
XIII	3	—	562±61	-11.9±3.3

Additional 10 rats were used as a control group which cholesterol level was 80±19mg/dl.

\* Mean ± Standard Deviation

\*\* Mean ± Standard Deviation

対照群として regular diet で飼育されたラット 10頭のコレステロール値は $80 \pm 19 \text{ mg/dl}$ であった。13種類の実験食を投与中に死亡したものはなかった。各々のコレステロール値は Table 4. の通りであり、中等度以上の上昇を示したのは V, VI, IX, X, XI, XII, XIII の各グループであり、とくに高値を示したのは cholesterol, sodium cholate, thiouracil 等を含有する IX, X, XII, XIII のグループであった。

コレステロール値は 2週目よりも 4週目の方が低下するグループもみられたが、これらは軽度~中等度の上昇を示したグループに限られ、高度の上昇を示したグループでは 4週目になるとさらに高値を示した。また、これらとくに高値を呈したグループは体重増加が少くなり、逆に下痢をおこして衰弱し、体重減少を来たすものもあった。

第 II 実験

A 食を 13週間負荷中に死亡したものは 20 頭 (20.8%)、吻合後は A 群が 4 頭 (10%)、AP 群が 4 頭 (11.1%) であった (図 2)。正常群の死亡例はなかった。

血管壁の肉眼的変化としては、吻合時は正常血管に近い所見であった。屠殺時では非吻合側血管はほとんど吻合時と同じであるに反し、吻合側血管では吻合部を中心にして血管壁の白色の変化を認めた。

a) 開存率及びコレステロール値

開存率は、正常群が 30 頭中 23 頭 (76.7%)、A 群が 36 頭中 16 頭 (44.4%)、AP 群が 32 頭中 17 頭 (53.1%) であった。

コレステロール値は、吻合術を行う前に A 食を 13 週間負荷中に定期的に測定したが、その平均値は図 1 の如くであり、負荷後 2 週間で  $250 \sim 350 \text{ mg/dl}$ 、4 週で  $450 \sim 550 \text{ mg/dl}$  となり、それ以後著明な上昇はみなかった。また、吻合手術の際に測定した 73 頭の平均値は  $515 \text{ mg/dl}$  であった (図 3)。術後経時的

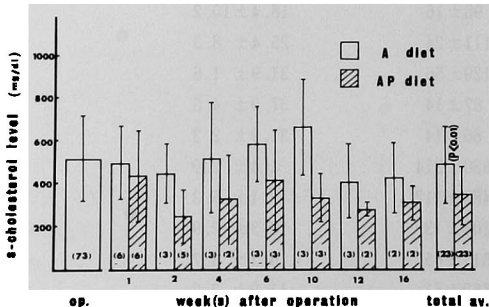


図 3. A および AP 群の術後の血清コレステロール値の経時的変化の比較。値はそれぞれ数頭の平均値 ± 標準偏差を表す。( ) 内は頭数。

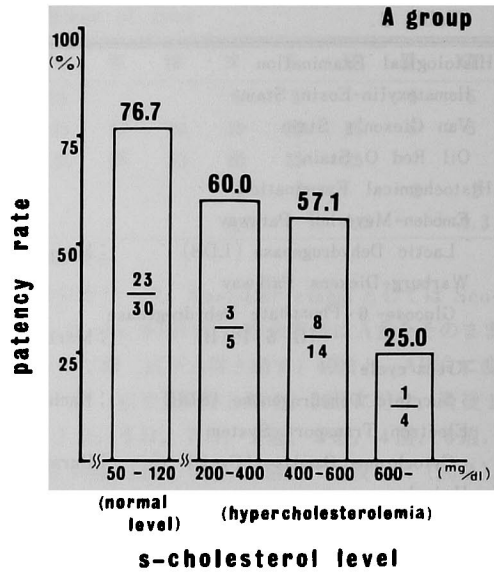


図 4. 開存率とコレステロール値の関係 (正常群ならびに A 群)

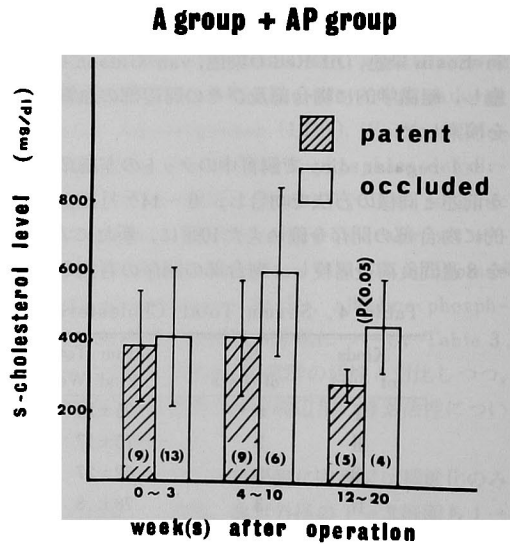


図 5.

開存群と閉塞群における屠殺時コレステロール値の比較 (A 群 + AP 群)。値はそれぞれ数頭の平均値 ± 標準偏差を表す。( ) 内は頭数。

に屠殺したが、A 群、AP 群共に計 23 頭ずつコレステロール値を測定した (図 3)。両群の総平均値は A 群  $484 \text{ mg/dl}$ 、AP 群  $342 \text{ mg/dl}$  と有意の差を示した ( $P < 0.01$ )。

正常群および A 群についてコレステロール値を段階的に分けてみると、コレステロール値が高くなる

につれて開存率が低下するという負の相関がえられた(図4). コレステロール値が800mg/dl 以上のもので開存していた例は両群共になかった.

AおよびAPの両群を合わせてそのうち開存せるものと閉塞せるものを, それぞれ0~3週, 4~10週, 12~20週に分けてコレステロール値を比較してみると(図5), 0~3, 4~10週では閉塞群にコレステロール値が高い傾向を示し, 12週以後では有

意の差で ( $P < 0.05$ ) 閉塞群にコレステロール値が高かった.

b) 組織学的所見

HE 染色

A群およびAP群の両群とも非吻合側では, 内膜側の軽度の浮腫性変化, 中膜筋細胞の配列の乱れと一部変性消失, 弾性板の走行の乱れがみられる程度で差異はほとんど認めなかった. 吻合側血管につい

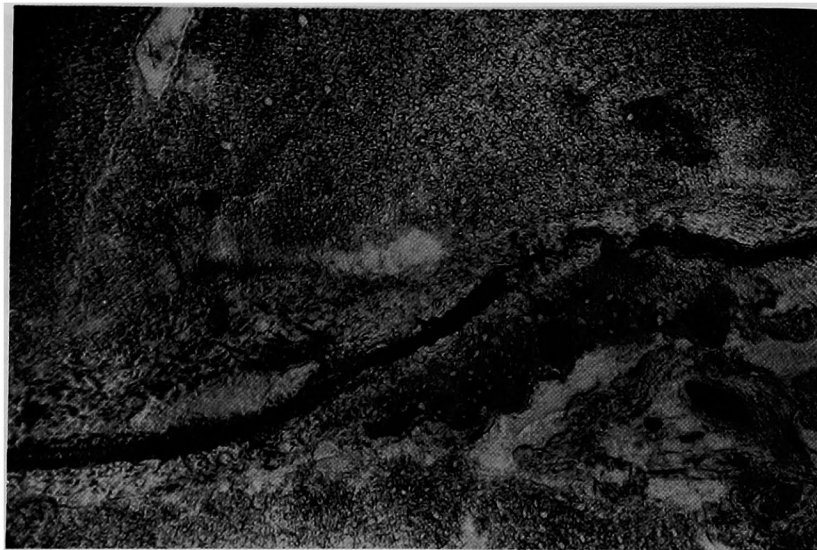


図6. 術後10週目. A群. Oil Red O 染色 (×40)



図7. 術後10週目. AP群. Oil Red O 染色 (×40)

ては、両群ともに吻合部を中心として周辺部まで広範囲に中膜筋細胞の変性がみられ、残った筋細胞の腫脹とわずかな染色性の低下、血管壁中膜の菲薄化等が認められた。注目すべき所見として、ことにA群では内膜側に壁在血栓 (mural thrombus) が吻合部あるいはその周辺部の針穴の部、または vascular clamp をかけたと思われる部などから斑状に発生しているのを見た。これは小さいものから大き

いものまでさまざま、管腔内に向かって突出しているものも認めた (図6)。AP群ではこの壁在血栓が明らかに少く、また発生していても小さい傾向がみられた (図7)。HE染色で中膜と外膜に関する限りA, AP群の間にみるべき差を認めなかった。以下経時的に所見を述べる。

1日目～1週目：血管壁は多くの例で全層にわたって壊死に陥り、正常な管壁の構造は認められなく

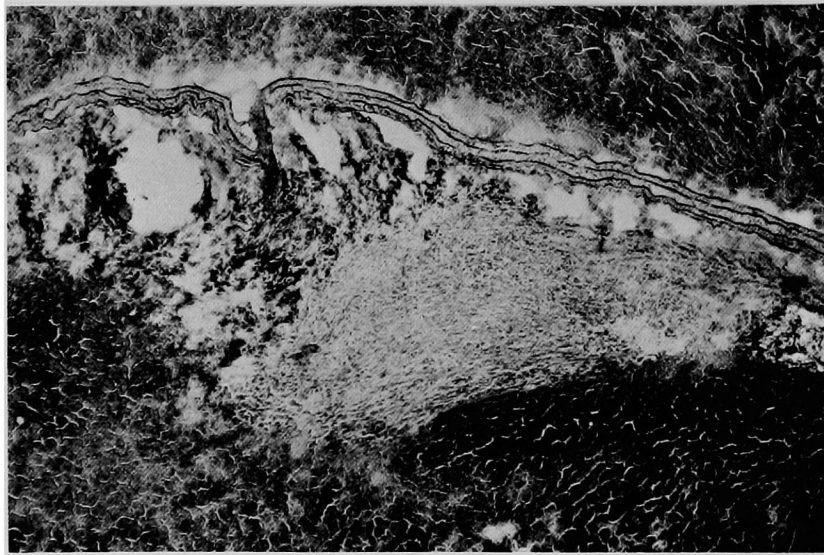


図8. 術後1週目. A群 HE染色 (×40)

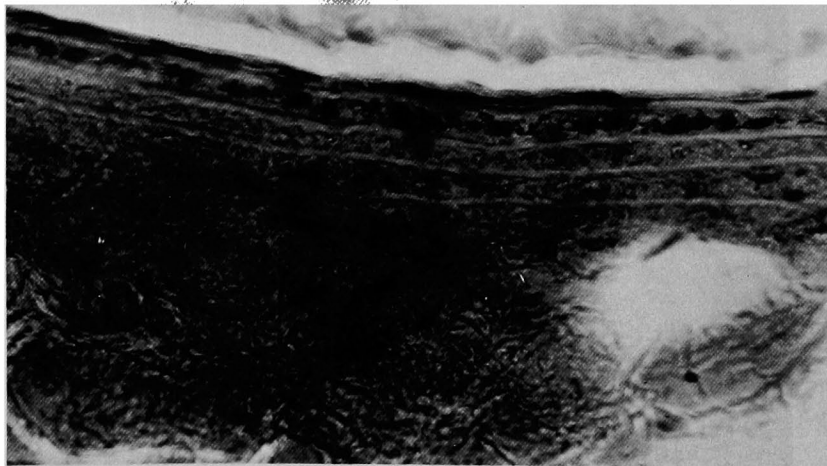


図9. 術後2週目. A群. HE染色 (×400)

なっていたが、弾性板はその形態を保っており、血管構造の名残りを留めていた。吻合部は外側に向かって陥凹していた。吻合部の特に外膜を含める外側に、好中球の浸潤を伴う炎症性の肉芽組織の増生が認められた（図8）。

2週目：1週目と同様に管壁全体にわたって変性が強度でほとんどが壊死に陥っているが、中膜の最内層の1層ないし2層の筋細胞は部分的に残存しているものがありこれらは肥大していた（図9）。吻合部は陥凹し、内部は膠原線維が増生し、癒痕性治癒の段階にあるが、半球状に外側に突出した炎症性の肉芽病巣を形成していた。しかし、第1週に比し、好中球の浸潤は減少し、結合織性の成分の方が多かった。管壁の外側全体にわたり、主として adventitia には硝子様物質が層状に沈着し、その間に fibroblast が増生進入していた。

4週目：中膜筋層の内側1～2層にいたる筋組織が残存しており、周辺部には広汎な変性があるが、吻合部中膜層は癒痕性治癒がほぼ完了しているものが多かった。わずかに陥凹した吻合部より周辺部の内膜側表面に結合織性の数層の細胞より成る薄膜層を形成しているものもあった。吻合部外側には充血した小血管の新生が認められた。

8週目：部分的に中膜の内側1～2層の筋層が残存し、その他は硝子様の変性をきたしていた。吻合部では癒痕性治癒をきたし、縫合糸の周辺で異物性

肉芽性反応がみられた。4週目と類似して、外側には充血性の小血管が多く認められた。吻合部内側はわずかに陥凹し、その周辺部表面に軽度の壁在血栓の器質化したものと思われる線維性被膜がみられた。外膜に相当する部分では硝子様物質の沈着と共に結合織性成分の増生が認められた。

16週目：中膜の内腔側筋層が部分的に残存。吻合部は縫合糸の周りの異物反応としての肉芽性炎症を認める他は完全に癒痕化し、内腔側がわずかに陥凹していた。この陥凹部よりほとんど器質化した結合織性の薄層が内腔表面に広くのびているものが多かった。この時期にいたっても、弾性板に隔離された中膜筋細胞層の外側部分は硝子様物質が沈着したままで、細胞成分は認められなかった。外膜に相当する部分は全般に硝子様物質も認めるが結合織性成分によりほぼ置換されていた。

なお、内膜の治癒については、吻合後内皮細胞もほとんど全例中膜と同じく変性に陥ってしまったが、中膜筋層の管腔側の1～2層に筋細胞の残存をみるものでは同部の内膜も比較的 intact のことが多く、このような部からや健常な周辺部から内皮細胞がのびてきて吻合接合部を被覆するのに3～4週以上を要するようであった。

#### Van Gieson 染色

管壁の弾性板は、vascular clamp の部も含めほぼ全体にわたり、正常群と染色性に変化がみられな

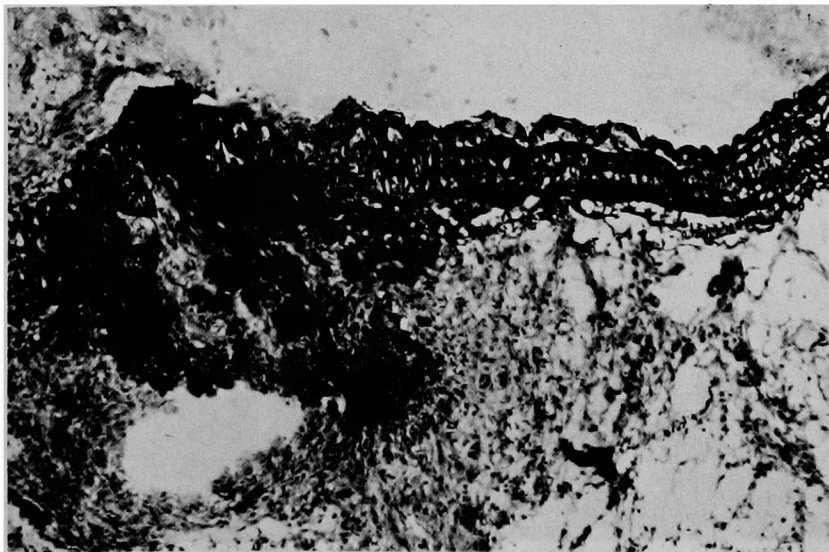


図10. 術後2週目. A群. VG染色(×200)

かった (図10).

Oil Red O染色

正常群は非吻合側, 吻合側ともに血管壁内への脂肪沈着を認めなかった。

A, AP両群の非吻合側頸動脈では, 赤く染まる脂肪顆粒が内膜下層に微量に沈着しているのがみられたが, 吻合側に比し非常に少なく, 両群で差を認めなかった。これに反し吻合側では, 吻合部およびそ

の周辺の血管壁内に脂肪が高度にとりこまれていた。これらの脂肪滴や脂肪顆粒は主として中膜に認められた。そして吻合部から末梢により多く認められた。A群ではこの脂肪沈着が著明で (図11), AP群では沈着度がA群より軽かった (図12)。また内膜側にしばしば認められた壁在血栓や atheromatous plaque 等の斑状病変の中にも脂肪沈着がみられた。血管壁の損傷部, 例えば余分の針穴の部に脂肪滴が沈着し, そ

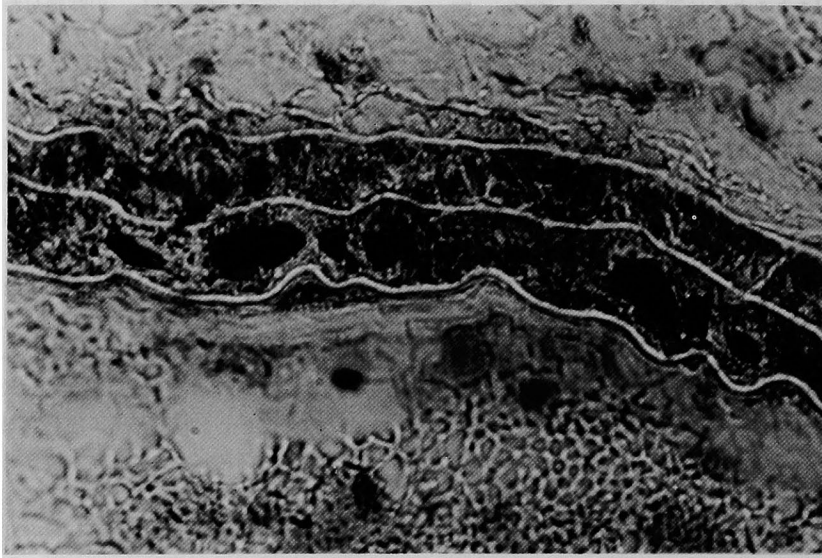


図11. 術後6週目. A群. Oil Red O染色 (×400)

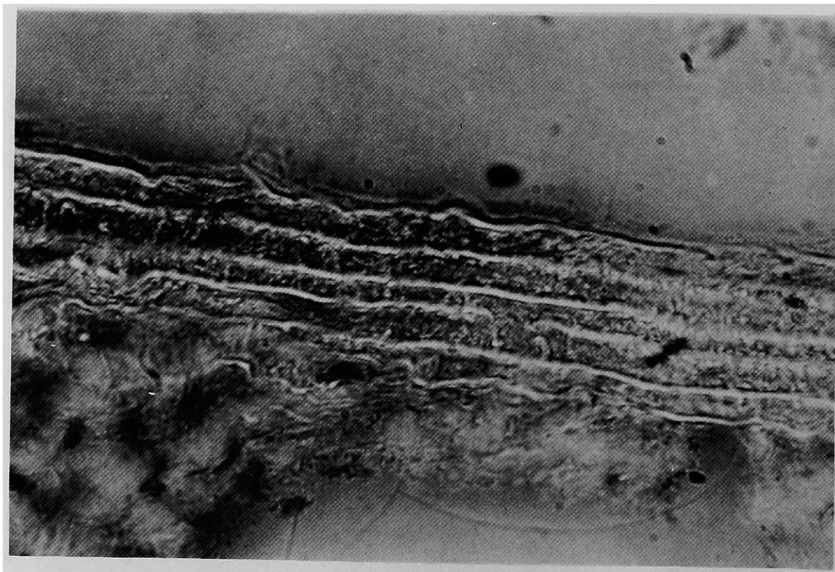


図12. 術後6週目. AP群. Oil Red O染色 (×400)



こを core として発生したような斑状病変もあった。血管壁への脂肪沈着の程度は術後徐々に上昇し、8～10週目を頂点としてその後両群とも漸次低下の傾向を示した。以下経時的に吻合側血管の所見をのべる。

2週目 (A群)：内腔側の主として2層にわたる筋層に顆粒状の脂肪沈着が層状に認められた。吻合部の肉芽組織部分にも同様の微細顆粒がみられ、外膜の一部にも認められた。

2週目 (AP群)：ところどころの2～3層に脂肪が沈着しているが、A群に比し沈着の度合いが軽かった。顆粒の大きさはほぼ同じであった。吻合部の外側部分の肉芽組織の中に多くみられた。

6週目 (A群)：脂肪沈着は増加し続け、中膜内層の2～3層に強く、大型の滴状のものもあった。表層に壁在血栓の形成されているものはその中にもみられた。肉芽組織部分の沈着は減少し中等度にみられた (図11)。

6週目 (AP群)：吻合周辺部の内側2層位にA群よりは軽度の帯状の沈着部分があり、肉芽組織中にはほとんど見られなくなっていた。壁在血栓の発生しているものではその中に fine particle として認められた (図12)。

10週目 (A群)：中膜筋細胞の1層ないし部分的に2層に沈着がみられた。fine granular なもののみならず、大型の droplet も混在していた。壁在血

栓や atheromatous plaque の部分に大型の脂肪滴が多く、その他、吻合部外側に増生した結合織部分にも散在していた (図6)。

10週目 (AP群)：筋層にあるが中枢側には少なかった。吻合部外側の結合織部分には沈着がほとんどみられなくなっていた (図7)。

16週 (A群)：中膜部分の沈着は少なくなっているが、壁在血栓の中にかかなりの沈着がみられた。外膜側の結合織部分にも散在性にみられ、一部石灰沈着が認められるものもあった (図13)。

16週 (AP群)：A群と同様に壁在血栓がみられるものでも、その中への沈着は明らかに少なかった。中膜の脂肪顆粒は10週よりもさらに減少していた (図13)。

#### c) 組織化学的所見

ラット総頸動脈吻合部および吻合周辺部の酵素活性の推移は図15 (A群)、および図16 (AP群) にて示すごとくであった。

両群ともに中膜では解糖系酵素の LDH (図17, 18), Warburg-Dickens pathway の G-6-PDH, Krebs cycle の SDH, および電子伝達系の Cy-O の著明な活性低下を術直後より16週以上にわたって吻合部および周辺部で認めた。外膜では、これらの酵素が逆に上昇するのがみられたが、そのうち、周辺部よりも吻合部の外膜側に一層明らかであった。水解酵素系については Ac-P は中膜活性は大きな変化なく、外膜では活性が5日目～3週頃に上昇し、

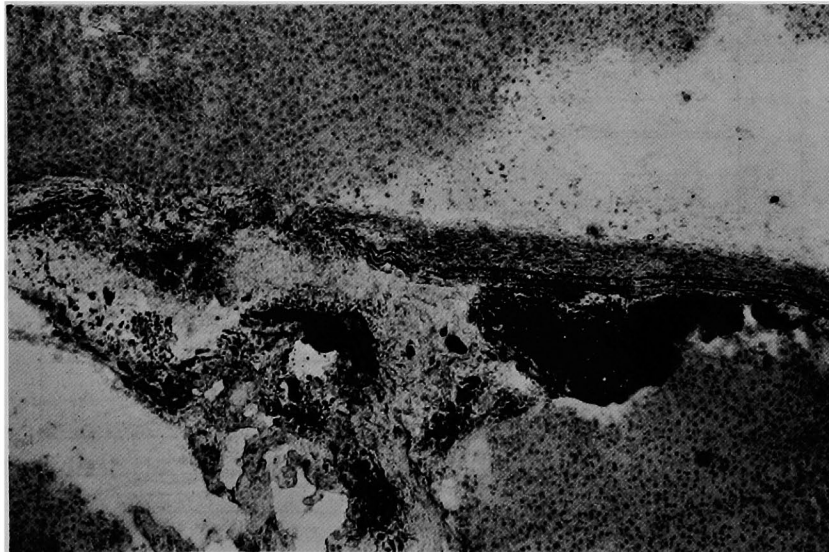


図13. 術後16週目. A群. Oil Red O 染色 (×40)

以後低下したが、これも吻合部において低下が遅れた。Al-Pは中膜活性はほとんど陰性で、検索の対象から除外した。外膜では吻合部で肉芽のみられる時期に一致して上昇をみたが(図19)、周辺部の外膜では総じて低下を認め、正常血管で強陽性にみられる外膜の最内層の活性(図20)はみられないものが多かった。この周辺部外膜側のAl-Pは血管の変性の強いものでは活性低下が強く、変性の軽いもの

では活性低下が少いようであった(図19, 20, 21)。

両群について活性の差を比較してみると(図15, 16), AP群では術後にみられるLDH, G-6-PDH, SDHの中膜での活性低下がA群より軽度であり、外膜でのSDHの活性上昇が2週以後においてより強く認められた。Ac-P, Al-Pは周辺部では大きな差はなかったが、吻合部のAc-Pの活性低下が終るのはA群が約16週, AP群が約10週であった。この

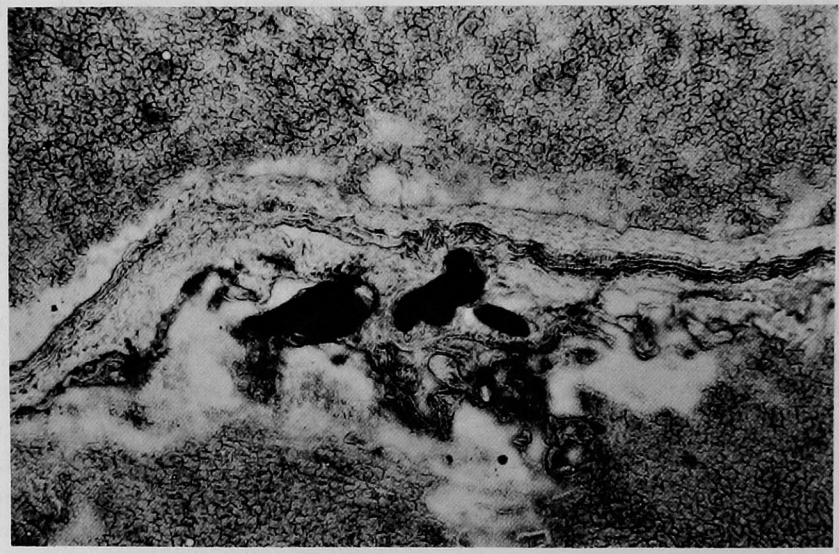


図14. 術後16週目. AP群. Oil Red O 染色 (×40)

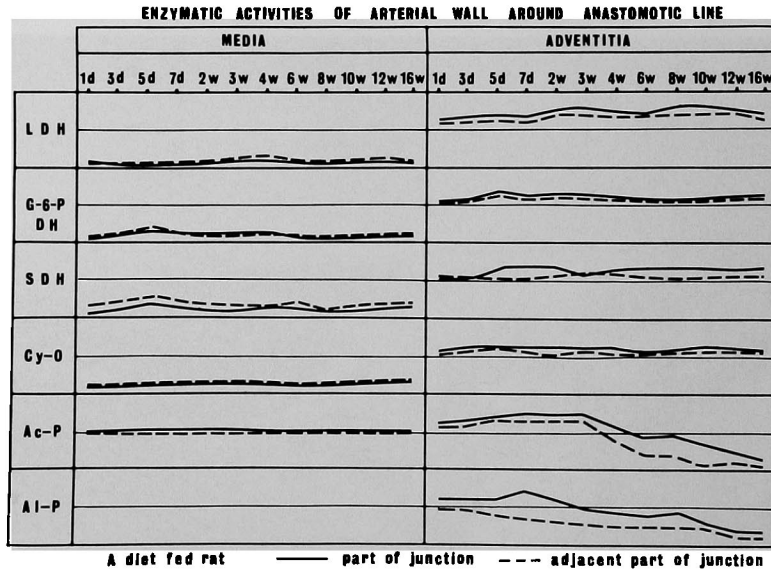


図15. A群の吻合部およびその周辺部の酵素活性の経時的変化の模式図. 各酵素ごとの水平線は正常活性を示し、これより上方は活性の上昇を、下方は低下を示す。

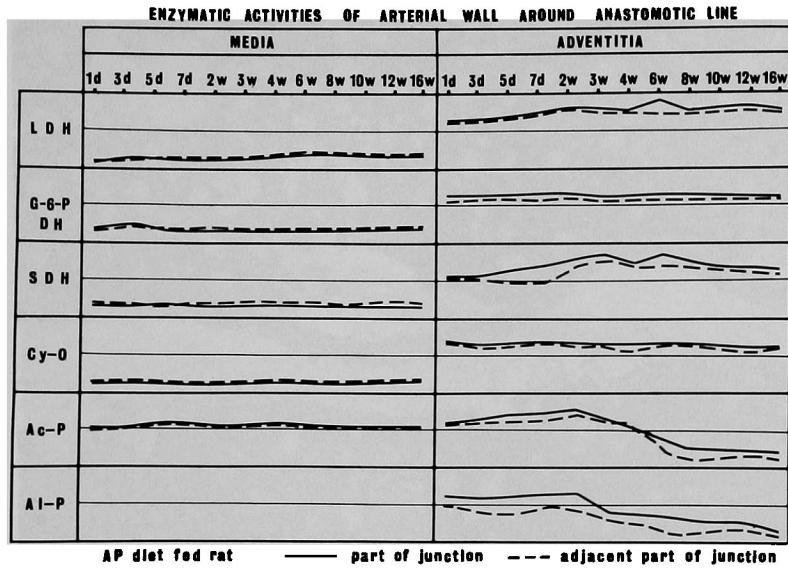


図16. AP群の吻合部およびその周辺部の酵素活性の経時的変化の様式図。

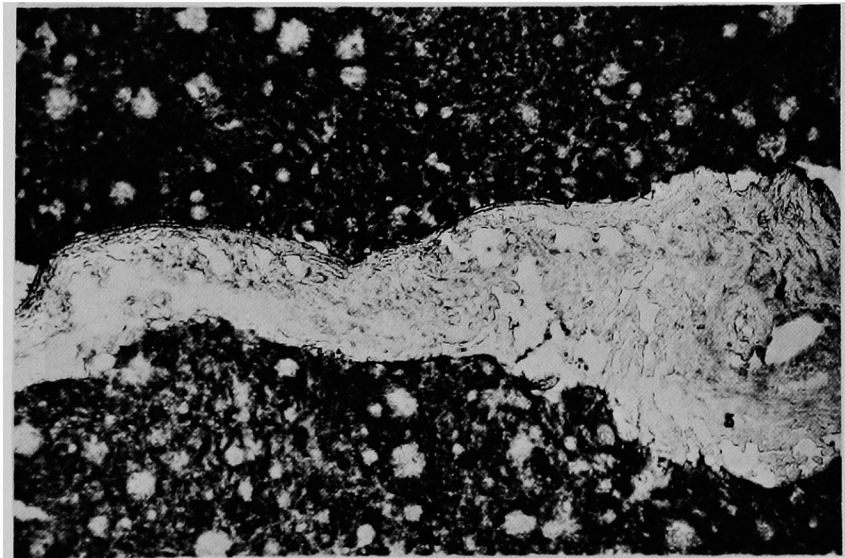


図17. 術後2週目. A群 LDH (×40)

ほか, atheroma plaque や術後日の浅い壁在血栓には組織学的にほとんど落ちていいると思われるものでも, Ac-P, Al-P 活性が高く, LDH 活性も上昇していた. 8~10週以後の壁在血栓にはこのような活性の上昇は少かった.

一方, 非吻合側の血管では, 吻合側程著しい活性変化は認めなかったが, 正常群に比し, LDH, G-6-PDH, SDH, Cy-O の軽度の活性低下をみた.

Ac-P, Al-P は正常群と同じであった.

第III実験

a) AT食を4週間負荷中に死亡したラットはなかったが, 相当衰弱せるものが多かった. 吻合術後に死亡したものは2頭(20%)あり, 開存率は8頭中3頭(37.5%)であった. 屠殺時のコレステロール値は662mg/dl と第II実験のA, AP群より高く, 開存率は最低であった (Table 5).

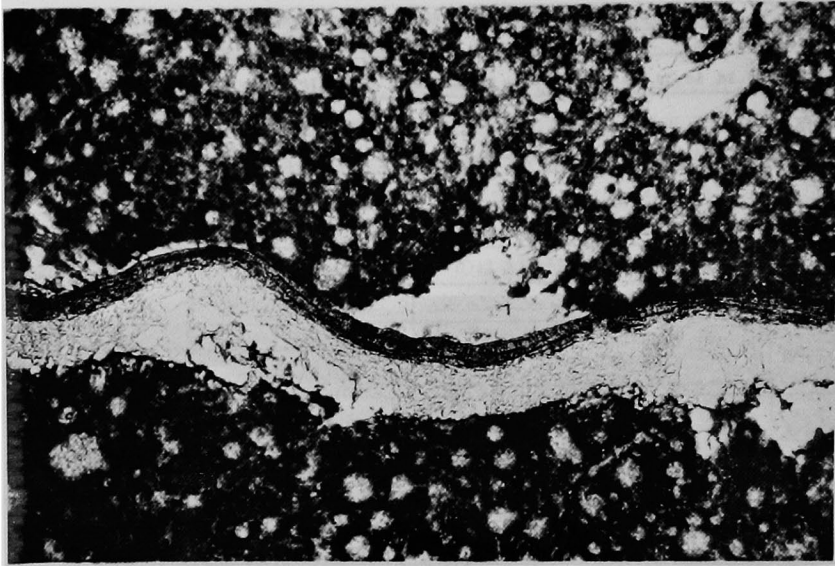


図18. 術後2週目. A群非吻合側頸動脈. LDH (×40)

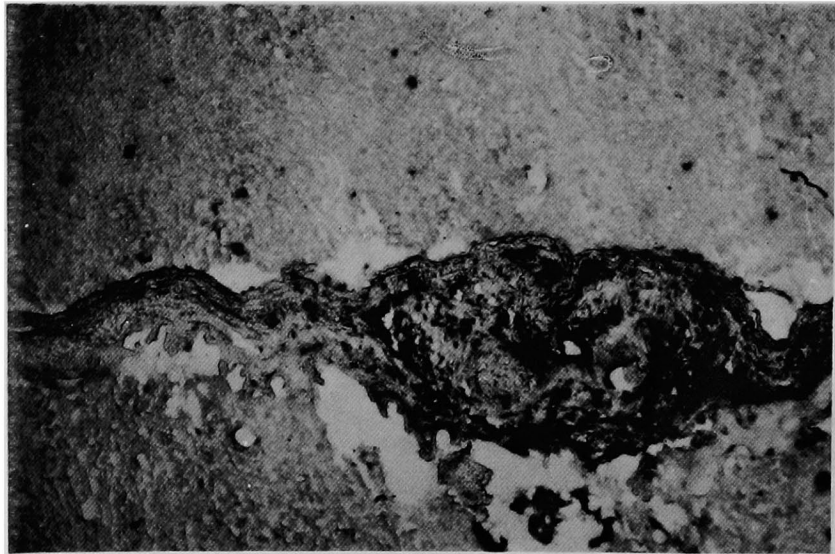


図19. 術後2週目. AP群. Al-P (×40)

組織学的変化は根本的には実験IIに似ていたが、ただその変化が著明で、粥状硬化病変や壁在血栓を多く認めた(図22, 23). 脂肪の沈着も著明であり、特に vascular clamp の部に限局した強い脂肪沈着の像も認められた(図24).

第II, III実験によってえられた組織学的知見を基にして病的血管(粥状硬化食投与ラット)の吻合後の治癒過程を模式的に描くと、図25, 26, 27のごと

くである(中膜部分の左半分は主としてHE染色の所見, 右半分は Oil Red O染色の所見を示す).

b) 正常群で吻合部の開存せる10頭に、その吻合部が完全に治癒したと思われる6ヶ月以後からAT食を负荷したグループでは、8週後4例のみ生存していたが、吻合部の閉塞は一例もなかった。但し、コレステロール値の上昇は、AT群と同じ経過を示した。

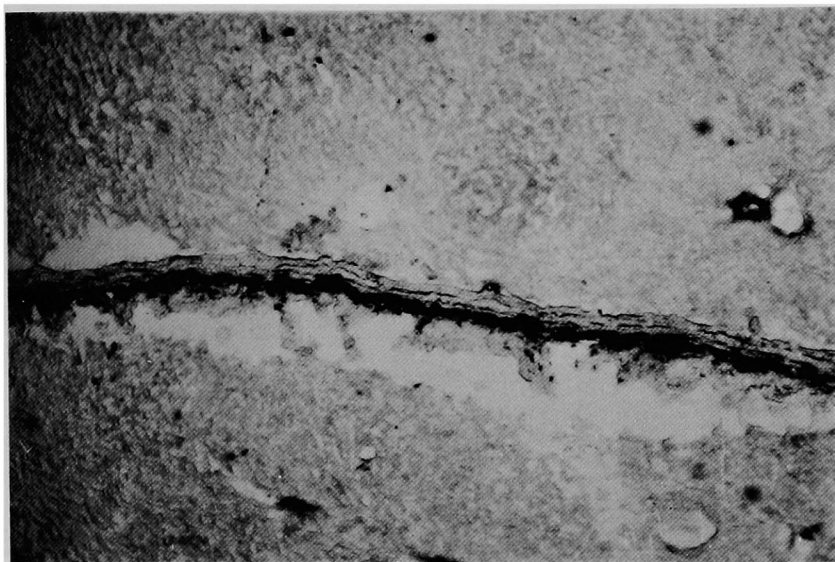


図20. 術後2週目. AP群非吻合側頸動脈. AI-P (×40)

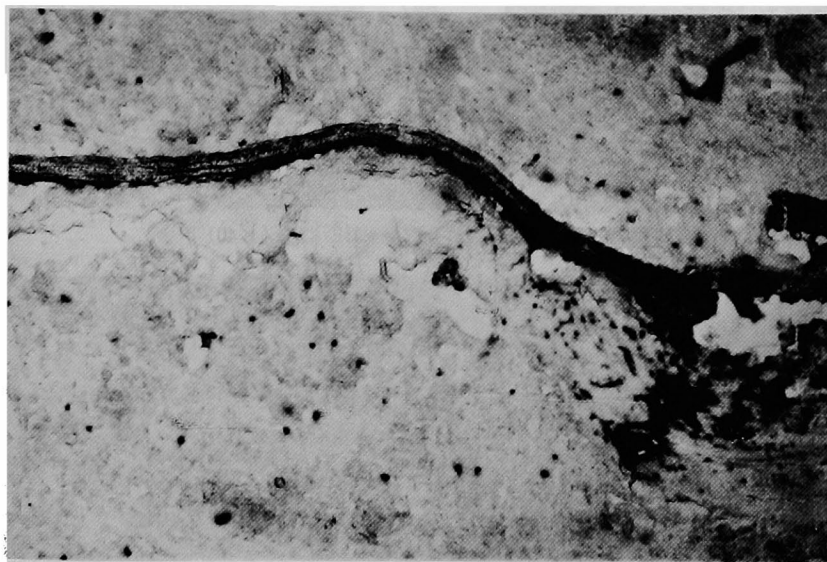


図21. 術後5日目. A群. AI-P (×40)

### 考 按

I) 実験動物の選定, 食餌の決定について.

動物に高脂肪食を投与し, 実験的動脈硬化をおこした報告は数多い<sup>31)~34)</sup>しかしそれらはヒトの動脈硬化の研究のため, いかに人の病変に近いものをつくるかということと, その成因を探るために努力が払われており, 病的動脈に血管吻合などの手術侵襲を加えて,

正常動脈の場合と比較検討した報告はみあたらない. 一般に, 家兎では実験的粥状硬化性病変がつくり易く, ラットではつくり難く, ニワトリではその中間とされている. しかも, 1950年頃まではラットには動脈硬化性病変はつくりえないと結論されていたようである.<sup>13) 34)</sup> 1952年 Hartroft ら<sup>35)</sup>はラットに動脈硬化をつくるのに成功したことを報告し, しかもヒトに非常に近似せる病変をつくりえたとしている. 人

Table 5. Comparison of Four Diet fed Groups

	AT group	A group	AP group	Normal group
Anastomosed cases	10	40	36	30
Dead cases (%)	2 (20)	4 (10)	4 (11)	0
Cholesterol level*	661±183	484±182	342±134	80±19
Patent cases (%)	3 (37.5)	16 (44.4)	17 (53.1)	23 (76.7)

\* average values ± S. D. of serum total cholesterol level (mg/dl)  
at each sacrificed period

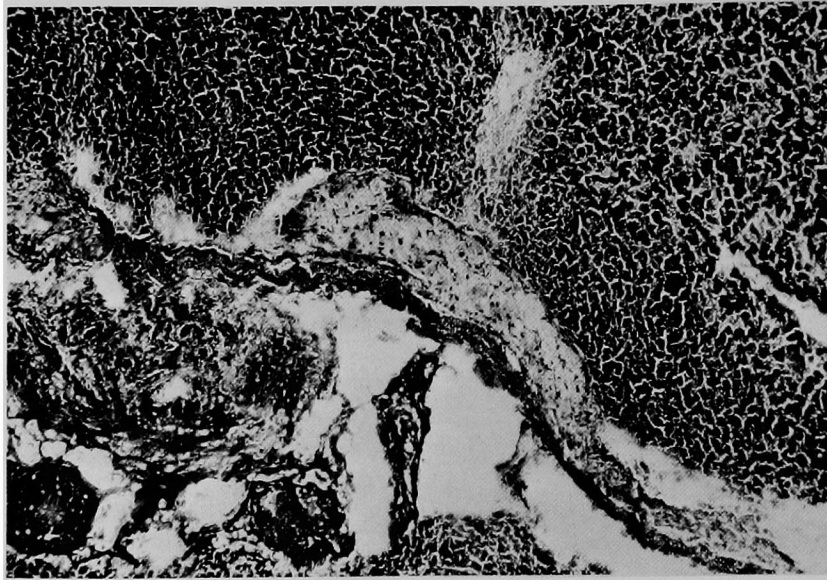


図22. 術後4週目. AT群. HE染色(×40)

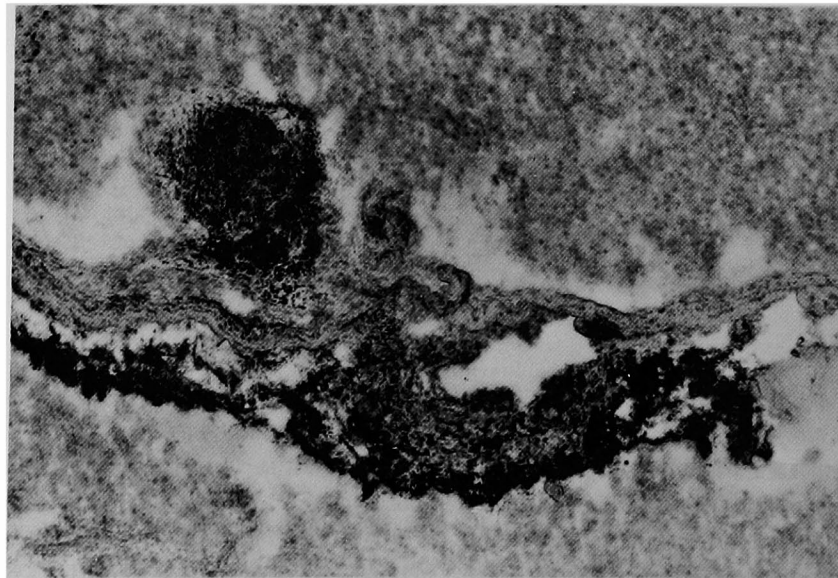


図23. 術後4週目. AT群. Oil Red O染色(×40)

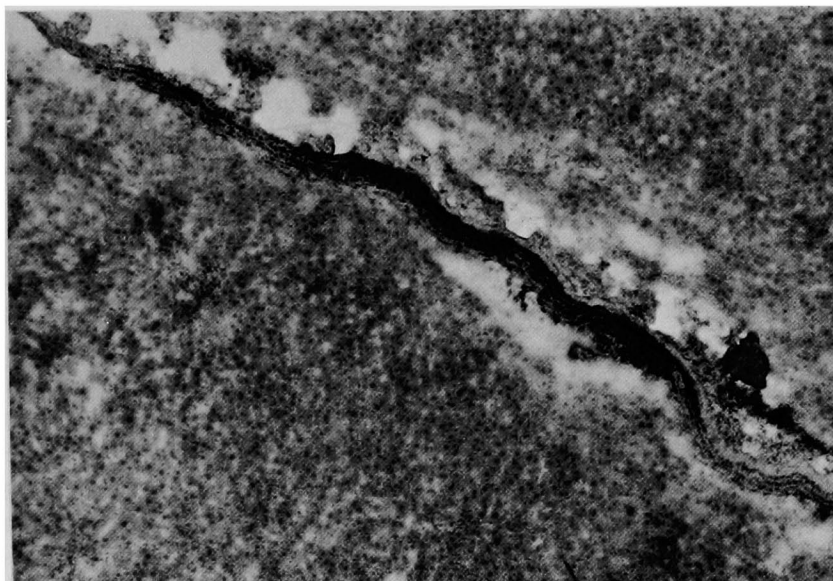


図24. 術後4週目. AT群. Oil Red O染色 (×40)

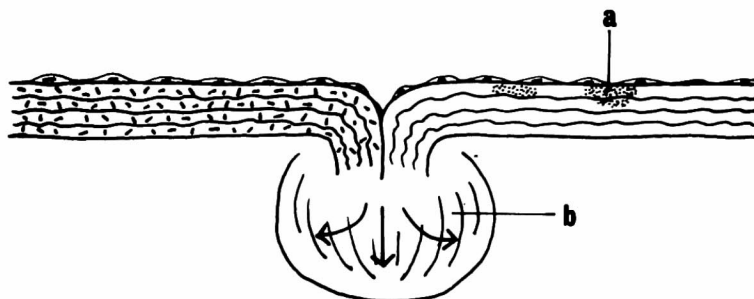


図25. 吻合直後

図中左は主として HE染色, 右は Oil Red O染色の所見を示す.

- a) 血管壁が anoxia に陥った後内膜の透過性亢進がおり血中成分 (例えば fat) の infiltration がおこる.
- b) flushing により噴出した blood clot

間は雑食動物であり, ラットも雑食動物である. 一方, 家兎は草食動物であるために, 少量の脂肪食負荷でも異常な反応がおこるのではないかと考えられる. ニワトリは丁度その中間に位置することも, 食餌習慣と照らし合わせると興味深い. 本実験は, およそ以上のような理由から, ヒトに近い食生活を有するラットを用いて粥状硬化性病変を作成し, その血管の手術侵襲に対する反応や治癒過程等をみることにした.

食餌の決定については, 文献的に種々の実験食が試みられており, 著者もそのいくつかのものについて追試し, また, 独自に考案した食餌も加え, 計Ⅷ

種類に関して検討した. 投与する食餌は, なるべく単純なもので確実に病変をおこしうるものでかつ安価であることが理想であるが, なおその上に, 外科的侵襲 (血管吻合) に耐えうる程度の病変, 即ち, 軽度~中等度の病変を起こさせうるものが望ましいため, 実験食のうち上記条件をほぼ満足するⅧの食餌, 即ち A 食を使用することとした. また一方, 高度の病変を惹起すると予想される食餌 (AT 食) を与えたグループについても少数例ながら検討を加えた.

Ⅱ) 血清脂質と粥状硬化性病変との関連について. 血清脂質と粥状硬化反応の関連は古くより注目さ

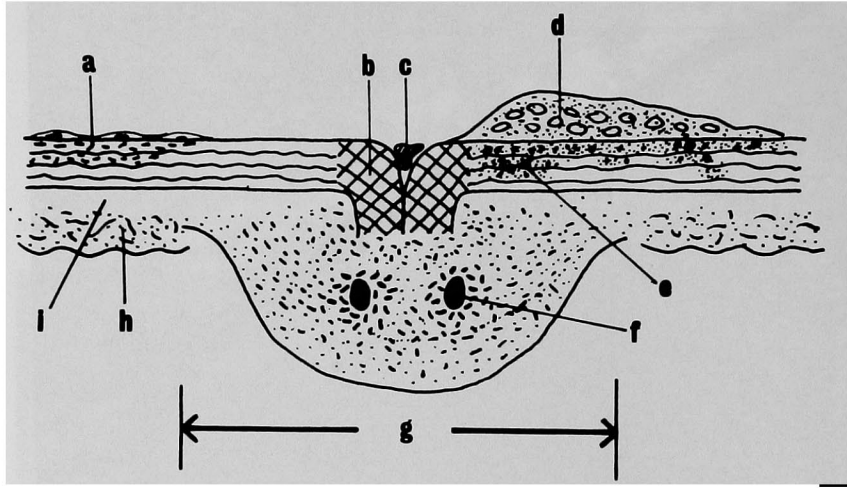


図26. 術後1～3週

- a) 中膜部分は多少浮腫性であり筋細胞は高度の変性ないし壊死に陥るが一部内膜側の筋細胞は残存する場合がある。
- b) 縫合部の管壁は変性壊死に陥る。
- c) 陥凹した縫合部に fibrin の沈着をみる。
- d) 縫合部に接して、あるいは近傍に atheroma の生ずることあり。
- e) 中膜に fat droplet (or granule) を多数認める。
- f) 縫合糸。この周辺には異物反応としての肉芽増殖が特に強くおこる。
- g) 縫合部の外膜側には炎症反応(細胞浸潤, 肉芽増殖)が著明で全体として半球状に縫合部を外側からつつみ、その範囲は1.2～2.5mmで血管外径の1～2倍である。
- h) 周辺部の外膜側には軽度ないし中等度の炎症反応がおこる(剝離の程度により異なる)。
- i) 中腰と外膜の境界部に硝子様物質の沈着が認められる。

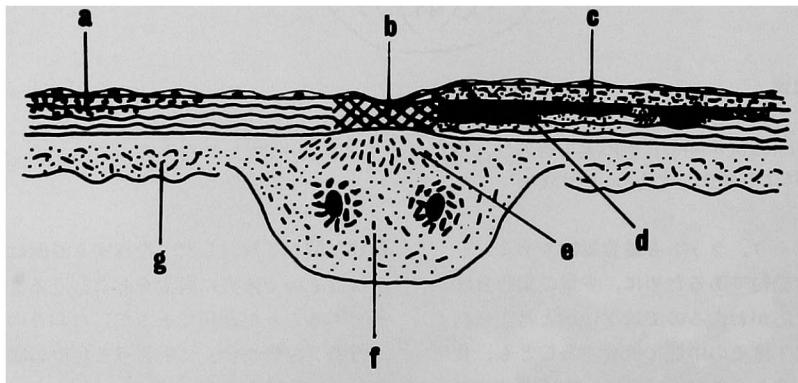


図27. 術後8週以後

- a) 中膜部分は菲薄化し大部分硝子様変性に陥る。
- b) 縫合部は変性壊死。
- c) 内膜側には多くの場合 mural thrombus が、時には atheroma がみられる。これらは、生長して管腔閉塞を来たしたり、そのまま器質化して fibrosis に終ったりする。
- d) 脂肪沈着は減少する傾向にあるがまだ残存する。
- e)～f) 外膜側では炎症反応は消退し吻合部の癒着性治療をみる(吻合部を外側から補強する状態となる)。
- g) 周辺部外膜にも中等度の fibrosis, みる(菲薄化した中膜を外側から補強する)。



れているが、必ずしも明らかではない。Stamlerら<sup>20) 21)</sup>は粥状硬化症の major risk factorとして、習慣性高脂肪・高コレステロール・高カロリー食、高コレステロール血症、高血圧症、喫煙の4つを挙げている。Walker & Arvidsson<sup>26)</sup>によれば、Bantu族はアメリカ人の1/2以下の脂肪摂取量であり、コレステロール値は、アメリカ人より有意に低いという。さらに、Higginson & Pepler<sup>27)</sup>は、Bantu族において動脈硬化や冠疾患が著しく少ないことを剖検例の検討から明らかにしている。また、Pickら<sup>28)</sup>は total cholesterol-lipid phosphorus (C/P) ratioと冠動脈の粥状硬化性病変の関係を主張しており、低脂肪低コレステロール食の長期摂取により、心疾患の再発を明らかに予防できるという報告もあるが、<sup>29) 40)</sup>一方その逆の報告もいくつかある。<sup>41)</sup>従って、高コレステロール血症そのものが直ちに粥状硬化症の原因とはもちろん考えられないが、少なくとも実験を行う際の1つの指標となり得ることは確かであろう。本実験の非吻合側血管で、組織学的にはほぼ正常と思えたものでも、組織化学的には酵素活性の低下をみていることは、実験食を長期間投与されたラットの血管がすでに正常ではないことを示している。少なくとも、高コレステロール血症が長く続いている状態で、さらに血管の物理的、化学的損傷や感染などが一たん加わると、粥状硬化症をひきおこしたり悪化させたりする可能性が十分考えられる。

### Ⅲ) 吻合部開存率について。

実験食を長期に投与するのみでも粥状硬化症ができることが知られているが、<sup>16) 22)</sup>血管内皮への侵襲が粥状硬化症を促進することも知られている。<sup>42)</sup>従って、われわれの実験でみられた血管壁の様々な変化は、この食餌と吻合術という2つの因子により引き起こされたと考えられる。また、コレステロール値の高いもので、atheromatous plaqueが生じたり、開存率の下がるのは、脂質代謝異常が血管内血栓形成の傾向を促進させるとの考え<sup>24) 43)</sup>からしても十分うなずける。

さて、開存率とコレステロール値について長期的にみると、術後1週以内では、開存群と閉塞群ではほとんど差がなく、4週以後少しずつその差が開いているが、実はこれを推計的に処理してみると、その差は有意の差ではない。しかし、12週以後(約3ヶ月)では、明らかに有意の差で閉塞群はコレステロール値が高値であった。つまり、この結果を考えると、コレステロール値が高いものでは、例え術後早

期の開存はある程度期待出来ても、長期の開存は期待し難い。すなわち、臨床上問題となる晩期閉塞の率が高くなることを示していると思われる。PDCを食餌に加えたAP群では、A群に比し良好な開存率を示し、術後経過が長くなる程その差が明らかとなった。これは、晩期閉塞がA群に比しAP群では少なくなっていく傾向を示した結果によるものであるが、その理論的裏付けは明らかではない。

いずれにしても、壁在血栓の進展をできるだけ軽度で留めることが、晩期閉塞を予防するためのポイントと思われる。

### Ⅳ) 血管壁の変性および治癒過程について。

実験食投与群では、術後ほとんど例外なく中膜筋細胞の広範な変性をみた。これは、術後1日目ですでにみられ、少なくとも20週を経ても続いていた。一たん壊死に陥った筋細胞は再生しないとの病理学的な考えからして当然とも思われるが、外膜からの線維化による置換もほとんどみなかった。正常群では、中膜の変性はほとんどなく、clampの部にわずかに認められたものがあるが、これは物理的損傷と思われる。しかし、正常群では2つのclampの間(血管壁のアノキシアがあったと思われる部)に変化がこないのは何故であろうか。正常群はアノキシアに対する抵抗が強く、実験食群では抵抗が弱いということであろうか。変性に陥った中膜部分をよくみると、内膜寄りの1~2層には筋細胞がパラパラと、あるいは集団をなして残存するのがみられたが、逆に、外膜側のみにもみられたものはなかった。これは、血流再開後内膜側は内腔からのdiffusionにより栄養されるため、<sup>44)</sup>一部もとに戻るが、外膜側は vasa vasorumが障害されて、栄養が行われずに変性に陥り易いと考えられる。また、正常群に比し病的動脈(少なくとも高脂血症)では vasa vasorumの機能が元々低下していたとも考えられる。即ち、粘稠度の高い高脂血症の状態では細い vasa vasorumに閉塞をおこしやすいことも推測されるし、キニン物質の関与<sup>45)</sup>も考えられる。このようなことから、吻合に際しては vasa vasorumの障害を避けるために、剝離はひかえ目の方がよく、また過度の血管の伸展は避けた方がよいと思われる。さらに、アノキシアの期間を短縮するために、vascular clampの時間はできるだけ短いことが好ましい。

正常血管の治癒機転については、組織学的には約4週、組織化学的には6~8週との報告があり、<sup>27)</sup>本実験でも正常群は同様の結果がえられたが、実験食

を投与したラットでは吻合周辺部中膜の広範な変性壊死が16週以後でもなお残存しているために、これらが線維化により置換されるであろうとの考えに立てばまだ完全な治癒はおこっていないといえる。しかし、血管壁の浮腫が去り、吻合部の炎症反応が完全におさまり瘢痕化した時期に着目して治癒というならば、組織学的に6~8週であり、組織化学的には12週ではぼ落ちつく。そして、ここでいう治癒とは、正常に復するという意味ではなく、壁の変性を残し、それに伴って各種酵素活性の異常低下や上昇を残しながらも、その変動がほぼ落ちつく時期という意味である。いずれにしても、正常群に比し治癒が遅れていることは明らかである。

内膜の治癒、すなわち内皮細胞が管腔面をほぼ被覆する時期は普通中膜、外膜の治癒に先がけてみられる。Jacobson<sup>26)</sup>、松本ら<sup>27)</sup>によると、正常血管で約1週といわれているが、実験食を投与した本実験では3~4週以上を要するものが多かった。このことは病的血管吻合を行う際に念頭においておくべきポイントであり、内膜治癒の遅れが透過性亢進につながり、血管壁内への脂質の沈着を助長し、壁在血栓、atheromaの発生にも関与するものと思われる。実際、atheromaや壁在血栓等の管腔内斑状病変の強いものでは同部に内皮細胞が確認されえないことがしばしばであった。

#### V) 脂質の沈着について。

実験食を投与されたラットの吻合後、血管壁内に脂肪染色で赤く染まる滴状または顆粒状のものを多数認め、これらは術後1日目以後徐々に増加し、8週位を頂点として以後漸減する傾向をみせた。この脂肪の沈着は、吻合部の断端より浸入したのもあると考えられるが、次の壁在血栓の項で述べることと主として透過性の亢進した内膜から浸入したものと思われる。そして少なくとも8週頃には内膜の機能が正常にもどっているものと推察される。

#### VI) 壁在血栓の発生について。

これには壁着血栓 marginal thrombus (森)<sup>46)</sup> という名称もあるが、ここでは本実験で生じた管腔内の増殖性変化を一括して壁在血栓 (mural thrombus) と呼ぶこととした。壁在血栓は、軽度なものに留まればむしろ傷害された内膜を保護しかつ内腔を平滑にするという点で有利なものであり、むしろ治癒を促進するものと考えられる。したがって、粥状硬化性変化と壁在血栓は区別して考えた方がよいように思われるが、高脂血症下ではこれらを区別すること

が案外難しく、明らかな atheroma をみることもあるが、また正常ではみられないような異常に大きな壁在血栓ないし fibrous plaque をみることがあり、結果的には内腔を狭窄していることがしばしばある。この発生原因について考えてみると、血管吻合の際の技術的な問題—たとえば吻合部が密に合わさっていない場合、外科的操作自体に基因するもの—たとえば vascular clamp による挫滅、2つの clamp の間の血管のアノキシア、吻合部の陥凹や壁不整、血管壁自体が病的であること—たとえば粥状硬化性病変をすでに有する場合、血液成分の問題—たとえば高脂血症、のような4つの要素が考えられる。このうち、技術的な問題が大きな要素となることはいうまでもないが、本実験の吻合術はすべて一定の方法で著者一人で行っており、正常群と実験食群でみられた壁在血栓の発生頻度の明らかな差は、技術的なもの以外の外科的侵襲そのもの、血管自体の問題、血液成分などもその重要な発生原因であることを示している。さらに詳しく検討してみると、vascular clamp により20分前後の吻合操作中血管壁はアノキシアの状況下におかれることになるが、Constantinides<sup>47)</sup>によるとアノキシアに陥った血管は透過性が亢進するといわれ、あるいは血管壁に bradykinin 様物質<sup>48)</sup>が注じ vasa vasorum の spasm をおこし、壁の乏血と浮腫を増長したりする結果、血中成分が壁内に入りこんでくるために、これらが fatty streak や fibrous plaque を生じやすい状態となる。さらに内膜自体もアノキシアのため浮腫性動脈反応 (島本)<sup>49)</sup>あるいは水腫様変化 (大根田) がおこり、血栓の発生し易い状態となっているとされる。そして、一たん mural thrombus, fibrous plaque, atheroma 等が生ずると、局所に turbulent flow がおこり、粘稠度の高い高脂血症の条件下ではますます血栓形成を促進することになると推定される。術後早期の閉塞は技術的な問題がかなり関与すると思われるが、吻合部の治癒が終る6~8週まではこのような内腔の変化が進展する可能性が十分にあるため、晩期閉塞は主としてこの壁在血栓が原因と考えられる。

#### VII) 血管壁酵素活性の変動について。

Kirk<sup>51)</sup>、沼野ら<sup>49)</sup>は人で動脈の glycogen phosphorylase activity の活性が加齢とともに低下することをみており、Zemplenyi<sup>50)</sup>は粥状硬化食を投与したラットでも初期から malate dehydrogenase, glutamate oxalacetate transaminase が低下し、つい

で phosphomonoesterase, 5' nucleotidase 等の低下を認めている。一般に、粥状硬化症の進展につれて解糖系, TCA cycle 系の酵素活性は低下を示し, phosphorylase G-6-PDH, Cy-O もともに低下し粥腫下の中膜部ではこの傾向が強いとされている<sup>50)</sup> いずれにしても動脈の病変と酵素活性の推移は関係があると思われる。

本実験でも術後中膜の酵素活性は解糖系の LDH, Warburg-Dickens pathway の G-6-PDH, TCA cycle の SDH とともに著明に低下し, 電子伝達系の Cy-O も低下しており組織学的に癒着治癒化がおこったと思われる時期でもなお低下したままの状態を示し正常には復しなかった。PDC には血管壁の代謝を改善する作用があるといわれており<sup>51)-54)</sup> 本実験でも A 群では中膜での各活性低下が軽い傾向を示したがこれは PDC の作用によるものと思われる。

一方, 外膜の活性は肉芽組織の増生時期とほぼ一致して Ac-P, Al-P の上昇をみ, これは吻合部に強く中でも縫合糸の周辺に著るしかった。これらは組織学的な変化とかなり一致していた。LDH, G-6-PDH, SDH 等は中膜とは逆に上昇傾向を示しており, 外膜側からの血管の活機機転をうかがわせた。

Al-P は vasa vasorum のような細血管に活性が高いとされているが, 吻合術後の血管では総じて外膜最内層の活性が低下しており, この点から血管剝離時の操作による障害が推定される。症例によっては, 外膜側に比較的良好に Al-P の活性が残存しているものもあり, このような血管では中膜の変性が軽度で留まっているという所見をえた(図18, 19, 20)。剝離を十分行えば当然外膜の炎症反応が術後強くおこり, 線維化も強くなり, その結果血管の弾力性の低下を招来するであろう。弾力性の低下がさらに血管の粥状硬化症を助長する可能性もある。

#### VIII) Pyridinolcarbamate (PDC) の効果について

Kipshize ら<sup>50)</sup> によると PDC には強力な antiatherogenic effect があるという。それはコレステロールの血管壁への沈着を予防するというものであり, キニンの antagonist として働く結果によるものだろうという。また, Kretchewsky<sup>51)</sup> によると血清コレステロール値は低下させないが, 血漿および肝臓のトリグリセライドを低下させると共にコレステロールの生合成や吸収を抑える作用があるという。さらに, endothelial cell の active contraction による bleb (水疱状の膨隆) 形成や subendothelial edema を抑制するという作用<sup>52)</sup> 血栓形成阻止作用<sup>53)</sup>

動脈壁代謝改善作用<sup>54)</sup> 等が報告されている。第 II 実験で A 食に PDC を添加した AP 食をつくり, A および AP 群について種々の観点から比較検討してみたところ, 脂質の沈着が AP 群で少なく, 開存率も AP 群で良好であったのは, 透過性亢進阻止作用や, 血栓形成阻止作用により血管病変の進行や壁在血栓の発生が抑制されたためと思われる。A 群と AP 群の開存率を経時的にみると差が生じてくるのがこれを裏付けているようである。このように atherogenesis, thrombogenesis の観点からすれば, 血管外科の術前後に PDC を投与することは十分有意義と思われる。その他に術後 LDH, G-6-PDH, SDH の中膜における活性低下をより軽度に留めるといふ所見をも得たが, 組織学的な癒着過程を大巾に改善するような効果は見られなかった。

#### IX) 術後の抗凝固療法の併用について

本実験では術中術後を通じて抗凝固剤, 血管拡張剤等は使用しなかったが, 以上の実験結果より, 病的動脈の吻合術では開存率が悪く, その原因は血管壁の粥状硬化性病変や, 壁在血栓に続発する血栓などが大きな要因と考えられるので, それらを積極的に予防するために術後抗凝固療法や血管拡張剤あるいは動脈硬化予防剤等の使用が望ましいものと考えられる。しかもこれらは吻合部の治癒がほぼ完成する 6~8 週まで続ける必要があると思われる。吻合部の治癒が完了してからはコレステロール値が上昇しても直ちに閉塞の原因とはならないことは実験 III b の結果より明らかであるが, 吻合部が十分治癒していない時期にはいろいろな risk factor により閉塞機転が生ずると考えられるためである。

## 結 論

1) 粥状硬化食を投与したラットの総頸動脈に microsurgical technique を用いて端々吻合を行った。そして吻合部の治癒過程等の基礎的諸問題を明らかにするために, 吻合部ならびに吻合周辺部血管について組織学的, 組織化学的方法で検討を加えた。

2) 粥状硬化食投与群では吻合側血管壁中膜筋細胞の広範な変性壊死, 著明な脂肪沈着, そして管腔内には壁在血栓が多発し, 開存率は正常群より明らかに低下した。また吻合血管の治癒も正常群より遅れ, 組織学的には約 6~8 週, 組織化学的には約 12 週と考えられた。

3) 術後中膜の LDH, G-6-PDH, SDH, Cy-O 活性は低下し, 逆に外膜では上昇をみた。Ac-P は

術後外膜で上昇し、組織の修復過程とともに低下していった。AI-Pは肉芽組織の部に一過性に上昇し、吻合周辺部外膜では低下していたが、その程度は必ずしも一定ではなかった。

4) Pyridinolcarbamate (PDC)を粥状硬化食に添加したグループでは中膜の脂肪沈着の程度が軽く、管腔内の壁に血栓等の斑状病変が少なく開存率が上昇した。中膜の変性程度はPDC非投与群とほとんど変らなかった。

5) 病的微小動脈では容易に内膜の透過性亢進がおこると考えられるため、一時的血流遮断にも十分な配慮が望まれるとともに、開存率に直接影響をおよぼす atherogenic, thrombogenic factor を排除

するために抗凝固療法その他の薬物療法を行う際に吻合部の治癒過程を十分念頭において進めて行くべきであろう。

本研究の一部は昭和49年度文部省科学研究費補助金の援助を受けた (No.957181)。

稿を終えるにあたり、終始ご懇篤なるご指導を賜った岡山大学脳神経外科西本詮教授ならびに現徳島大学脳神経外科松本圭蔵教授に衷心より謝意を表するとともに、病理組織標本について温かいご教示を賜った岡山大学病理学教室大森正樹講師に深甚の謝意を表します。また、実験に際してご協力下さった岡山大学脳神経外科教室各位に心から感謝いたします。

## 文 献

- 1) Blaisdell, W. F., Clauss, R. H., Galbraith, J. G., Imparato, A. M. and Wylie, E. J. : Joint study of extracranial arterial occlusion. IV. A review of surgical considerations. *J. A. M. A.*, 209 : 1889-1895, 1969.
- 2) Jacobson, J. H. : The development of microsurgical technique. *Microvascular Surgery*, George Thieme Verlag, Stuttgart, 1966.
- 3) Jacobson, J. H., Wallman, L. J., Schumacher, G. A., Flanagan, M., Suarez, E. L. and Donaphy, R. M. P. : Microsurgery as an aid to middle cerebral artery endarterectomy. *J. Neurosurg.*, 19, 108, 1962.
- 4) Loughheed, W. M., Gunton, R. W. and Barnett, H. J. M. : Embolectomy of internal carotid, middle and anterior cerebral arteries. *J. Neurosurg.*, 22 : 607-609, 1965.
- 5) Yasargil, M. G. : Microsurgery applied to neurosurgery. George Thieme Verlag, Stuttgart, 1969.
- 6) 菊池晴彦, 唐澤淳 : 脳血管障害に対する浅側頭動脈・中大脳動脈側頭葉皮質間吻合術. *脳神経外科*, 1 : 15-19, 1973.
- 7) Anitschkow, N. : Über die Veränderungen der Kaninchenaorta bei experimenteller Cholesterinsteatose. *Beitr. Path. Anat.*, 59 : 379, 1913.
- 8) Bailey, C. H. : Atheroma and other lesions produced in rabbits by cholesterol feeding. *J. Exper. Med.*, 23 : 69-85, 1916.
- 9) Wissler, R. W., Eilert, M. L., Schroeder, M. A. and Cohen, L. : Production of lipomatous and atheromatous arterial lesions in the albino rat. *A. M. A. Arch. Path.*, 57 : 333-351, 1954.
- 10) Malinow, M. R., Hojman, D. and Pellegrino, A. A. : Spontaneous atherosclerosis in the rat. *Arch. Path.*, 61 : 11-19, 1956.
- 11) Page, I. H. and Brown, H. B. : Induced hypercholesteremia and atherogenesis. *Circulation*, 6 : 681-687, 1952.
- 12) Vitale, J. J., White, P. L., Nakamura, M., Hegsted, D. M., Zamcheck, N. and Hellerstein, E. E. : Interrelationship between experimental hypercholesteremia, magnesium requirement and experimental atherosclerosis. *J. Exp. Med.*, 106 : 757-767, 1957.

- 13) Wilgram, G. F. : A survey of experimental arteriopathies in the rat. *A. M. A. Arch. Path.*, **64** : 629-632, 1957.
- 14) Constantinides, P., Booth, J. and Carlson, G. : Production of advanced cholesterol atherosclerosis in the rabbit. *Arch. Path.*, **70** : 712-724, 1960.
- 15) Scott, R. F., Morrison, E. S., Thomas, W. A., Jones, R. and Nam, S. C. : Short-term feeding of unsaturated versus saturated fat in the production of atherosclerosis in the rat. *Exp. Molec. Path.*, **3** : 421-443, 1964.
- 16) Zemplényi, T., Hladovec, J. and Mrhová, O. : Vascular enzyme activity changes accompanying the induction of experimental atherosclerosis. Part I. Rats fed Hartroft's diet. *J. Atheroscl. Res.*, **5** : 540-547, 1965.
- 17) Kirk, J. E. : The glycogen phosphorylase activity of arterial tissue in individuals of various ages. *J. Gerontol.*, **17** : 154-157, 1962.
- 18) Numano, F., Takenobu, M., Sagara, A., Kobayashi, M., Moriya, K., Kuroiwa, T., Yamazawa, S., Shimamoto, T., Hidaka, H. and Mohri, K. : The search for antiatherosclerotic agents. Histological and biochemical analysis of estrogen, progesterone and pyridinolcarbamate on experimentally induced atherosclerosis. *Atherogenesis II, Proceedings of the second international symposium on atherogenesis, thrombogenesis and pyridinolcarbamate treatment*, Editors : T. Shimamoto and F. Numano. *ICS 201, Excerpta Medica, Amsterdam*. 98-112. Tokyo, 1972.
- 19) Numano, F., Sagara, A., Takenobu, M., Yamasawa, S. and Shimamoto, T. : Microbiochemical analysis of the arterial wall Part I. Phosphofructkinase. *Atherosclerosis*, **17** : 333-343, 1973.
- 20) Stamler, J. : Acute myocardial infarction—progress in primary prevention. *British Heart Journal*, **33** : Suppl., 145-164, 1971.
- 21) Stamler, J., Berkson, D. M. and Lindberg, H. A. : Risk factors : Their role in the etiology and pathology of the atherosclerotic diseases. *The pathogenesis of atherosclerosis*, The Williams & Wilkins Company, Baltimore. 41-119, 1972.
- 22) Shimamoto, T. and Sunaga, T. : Contraction of endothelial cells as a key mechanism in atherogenesis. *Proc. Japan Acad.*, **48** : 633-638, 1972.
- 23) Robertson, A. L. and Khairallah, P. A. : Arterial endothelial permeability and vascular disease. The "Trap Door" effect. *Exp. Molec. Path.*, **18** : 241-260, 1973.
- 24) Robbins, R. C. : Intravascular aggregation of the cellular elements of blood in rats fed thrombogenic or atherogenic regimens. *J. Atherosclerosis Research*, **6** : 467-473, 1966.
- 25) Watts, S. H. : The suture of blood vessels. Implantation and transplantation of vessels and organs. An historical and experimental study. *Annals of Surgery*, **46** : 373-411, 1907.
- 26) Jacobson, J. H., Moody, R. A., Kusserow, B. K., Reich, T. and Wang, M. C. H. : The tissue response to a plastic adhesive used in combination with microsurgical technique in reconstruction of small arteries. *Surgery*, **60** : 379-385, 1966.
- 27) 松本圭蔵, 景山敏明, 本条征史, 柳生康徳, 上田伸 : Microsurgical technique による血管縫合部の治療機転に関する実験的研究——組織学的, 組織化学的検討——. *脈管学*, **12** : 183-188, 1972.
- 28) 景山敏明, 松本圭蔵 : 実験的動脈吻合. *北野紀要*, **19** : 27-31, 1973.
- 29) 小原進, 藤沢洋之, 浅利正二, 景山敏明, 松本圭蔵 : 高脂血症下における微小動脈吻合術——Pyridinolcarbamate の影響——. *血液と脈管*, **6** : 591-596, 1975.
- 30) 小原進, 浅利正二, 藤沢洋之, 景山敏明, 松本圭蔵 : 微小動脈吻合後の開存率と血清脂質の相関について. *脈管学*, **17** : 111-115, 1977.
- 31) Constantinides, P., Gutmann-Auersperg, N. and Hospes, D. : Acceleration of atherogenesis through prior medial injury. *A. M. A. Arch. Path.*, **66** : 247-254, 1958.

- 32) Fillios, L. C., Andruss, S. B., Mann, G. V. and Stare, F. J. : Experimental production of gross atherosclerosis in the rat. *J. Exp. Med.*, **104** : 539-555, 1956.
- 33) Still, W. J. S. and O'Neal, R. M. : Electron microscopic study of experimental atherosclerosis in the rat. *Amer. J. Path.*, **40** : 21-35, 1962.
- 34) Scott, R. F., Daoud, A. S. and Florentin, R. A. : Animal models in atherosclerosis. The pathogenesis of atherosclerosis, The Williams & Wilkins Company, Baltimore. 120-146, 1972.
- 35) Hartroft, W. S., Ridout, J. H., Sellers, E. A. and Best, C. H. : Atheromatous changes in aorta, carotid and coronary arteries of choline-deficient rats. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, **81** : 384-393, 1952.
- 36) Walker, A. R. P. and Arvidsson, U. B. : Fat intake, serum cholesterol concentration and atherosclerosis in the south african Bantu. Part I. Low fat intake and the age trend of serum cholesterol concentration in the south african Bantu. *J. Clin. Invest.*, **33** : 1358-1365, 1954.
- 37) Higginson, J., Pepler, W. J. : Fat intake, serum cholesterol concentration and atherosclerosis in the south african Bantu. Part II Atherosclerosis and coronary artery disease. *J. Clin. Invest.*, **33** : 1366-1371, 1954.
- 38) Pick, R., Stamler, J. and Katz, L. : The inhibition of coronary atherosclerosis by estrogen in cholesterol-fed chicks. *Circulation*, **6** : 276-280, 1952.
- 39) Nelson, A. M. : Treatment of atherosclerosis by diet. *North. W. Med.*, **55** : 643-649, 1956.
- 40) Morrison, L. M. : Diet in coronary atherosclerosis. *J. A. M. A.*, **173** : 884-888, 1960.
- 41) Hood, B. : Long-term prognosis in essential hypocholesterolemia. The effect of a strict diet. *Acta Med. Scand.*, **178** : 161-173, 1965.
- 42) Gold, H. : Production of arteriosclerosis in the rat. Effect of X-ray and a high fat diet. *Arch. Path.*, **71** : 268-273, 1961.
- 43) Crawford, E. S. & Debaquey, M. E. : The by-pass operation in the treatment of arteriosclerotic occlusive disease of the lower extremities. *Surg. Gynec. Obstet.*, **101** : 529-535, 1955.
- 44) Clarke, J. A. : An x-ray microscopic study of the vasa vasorum of the normal human thoracic aorta. *Z. Anat. Entwickl. Gesch.*, **124** : 261-267, 1964.
- 45) 山下碩也 : Bradykinin による血管透過性亢進作用および Pyridinolcarbamate (Anginin) による予防効果. *お茶の水医学雑誌*, **13** : 117-120, 1965.
- 46) 森茂樹 : 病理学総論, 金原出版株式会社, 東京, 1958.
- 47) Constantinides, P. and Robinson, M. Bsc. : Ultrastructural injury of arterial endothelium. I. Effect of pH, osmolarity, anoxia and temperature. *Arch. Path.*, **88** : 99-105, 1969.
- 48) 島本多喜雄 : 浮腫性動脈反応. *医学のあゆみ*, **50** : 1-7, 1964.
- 49) Numano, F., Kuroiwa, T., Kobayashi, M., Yamasawa, S. and Shimamoto, T. : Phosphorylase activity in the arterial wall. *Atherosclerosis*, **17** : 321-332, 1973.
- 50) 沼野藤夫 : 血管疾患の酵素組織化学. 病態酵素組織化学. 武内忠男他編, 朝倉書店, 東京, 205-226, 1972.
- 51) Mrhova, O., Shimamoto, T. and Numano, F. : Metabolic effects of pyridinolcarbamate on the vascular wall of rats. atherogenesis II, Proceedings of the second international symposium on atherogenesis, thrombogenesis and pyridinolcarbamate treatment, Tokyo, Editors : T. Shimamoto and F. Numano. ICS 201, Excerpta Medica, Amsterdam. 113-121. 1972.
- 52) Grafnetter, D., Shimamoto, T. and Numano, F. : Blood and tissue lipid during the treatment of rats with high fat diet, calciferol and pyridinolcarbamate. Atherogenesis II. Proceedings of the second international symposium on atherogenesis, thrombogenesis and pyridinolcarbamate treatment, Tokyo, Editors : T. Shimamoto and F. Numano. ICS 201, Excerpta Medica, Amsterdam. 122-128, 1972.

- 53) Numano, F., Yamasawa, S., Takano, T. and Shimamoto, T. : On the mechanism of antiatherosclerotic agents : Microchemical studies on the in vitro effects of pyridinolcarbamate and estrogen (premarin) on phosphofructokinase and malate dehydrogenase in the arterial wall. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2 : 43-53, 1973.
- 54) Kipshidze, N. N., Tkeschelashvili, L. K., Vadachkoria, G. A., Chkhatarashvili, D. and Javak-hishvili, N. : The role of pyridinolcarbamate in the prevention and removal of the developm-ent of experimental cholesterol atherosclerosis. *Atherogenesis II*, Proceedings of the second international symposium on atherogenesis, thrombogenesis and pyridinolcarbamate treatment, Tokyo, Editors : T. Shimamoto and F. Numano. ICS 201, Excerpta Medica, Amsterdam. 76-85. 1972.
- 55) Kritchevsky, D., Kolimaga, J. T., Kim, H. K. and Tepper, S. A. : Influence of pyridinolcard-amate on cholesterol metabolism in rats and rabbits. *Atherogenesis II*, Proceedings of the second international symposium on atherogenesis, thrombogenesis and Pyridinolcarbamate treat-ment, Tokyo, Editors : T. Shimamoto and F. Numano. ICS 201, Excerpta Medica, Amster-dam. 129-137, 1972.
- 56) Didisheim, P. and Kobayashi, I. : Effect of pyridinolcarbamate on platelet aggregation in vit-ro and ADP-induced changes in vivo : Comparative effects of AMP and ATP. *Atherogenes-is II*, Proceedings of the second international symposium on atherogenesis, thrombogenesis a-nd pyridinolcarbamate treatment, Tokyo, Editors : T. Shimamoto and F. Numano. ICS 201, Ex-cerpta Medica, Amsterdam. 195-203. 1972.

**The effect of an atherogenic diet on the healing  
of small vessel anastomoses in the rat**

**Susumu OHARA \***

Department of Neurological Surgery, Okayama University Medical School,  
Okayama, Japan

(Director : Prof. Akira Nishimoto)

\* (Present Address : Department of Neurological Surgery, Tokushima University  
Medical School, Tokushima, Japan)

198 male albino rats were used in this experiment. First, 42 rats were divided into 13 different dietary groups to test the effects of high fat and cholesterol in the diet on the level of serum cholesterol and the degree of atherogenesis. Then the effects of four different types of diet upon the healing of small vessel anastomoses were studied. Group one received a regular control diet (MF diet, Oriental KOBDO Co. Ltd.), group two, A diet (regular diet with cholesterol 5%, peanut oil 5% and sodium cholate 2%), group three, AP diet (A diet with pyridinol-carbamate 0.05%), group four, AT diet (A diet with thiouracil 0.3%). All percentages were calculated on a weight basis. Each group received the above diets for 13 weeks before anastomosis. Then, end to end anastomosis of the common carotid artery was performed using the operating microscope. Rats were sacrificed in groups of 2 to 6 from 24 hours to 20 weeks postoperatively. Vessel patency was determined and histological and histochemical changes were noted.

Average values of the level of s-cholesterol at the time of sacrifice were 80 mg/dl in the normal group, 484 mg/dl in the A group, 342 mg/dl in the AP group and 661 mg/dl in the AT group and patency rates were 23/30 (77%), 16/36 (44%), 17/32 (53%) and 3/8 (38%) respectively.

Histologically, diffuse degeneration of smooth muscle cells in the media and marked deposition of fat granules in the intima and media were observed in the hypercholesteremic rats of groups A and AT. In the AT group mural thrombi were often observed around the site of anastomosis with narrowing of the lumen. In rats fed atherogenic diets, healing of the anastomosis was significantly delayed requiring 6 to 8 weeks as determined by histological evidence and about 12 weeks by histochemical. Some degree of degeneration with fat granules was noted in the walls of the vessels at the sites where the vascular clamps had been applied.

Histochemical examination of anastomosed vessels from rats fed atherogenic diets A and AT showed markedly lower activities of LDH, G-6-PDH, SDH and Cy-O in the media and rather higher activities in the adventitia than in vessels from rats fed control diets. In all groups Ac-P activity increased in the adventitia following surgery then decreased gradually with the healing process and Al-P activity increased temporarily in granulation tissue. But the activity of this latter enzyme was found to be markedly decreased in the adventitia following surgery in the vessels of rats fed atherogenic diets and seemed to be correlated with the degree of medial necrosis.

Patency rates were very low in rats fed the A, AP and AT diets as compared to those fed the control diet, there being a clear tendency for higher cholesterol levels to result in lower patency rates. It would appear that persistent hypercholesterolemia increases the risk of delayed occlusion at the anastomotic site caused by mural thrombi or atheromatous change.



**The rats in the AP group showed less prominent fat infiltration of the vessel wall and fewer mural thrombi than those of the A or AT groups. This work suggests that it would be advantageous to administer anti-coagulant and/or anti-atherogenic medication after vascular anastomosis and to maintain that therapy throughout the duration of the healing process.**