

## 腸管虚血とその修復に関する電顕的研究

山 浦 芳 徳

信州大学医学部第1解剖学教室

(主任: 永田 哲士教授)

### Electron Microscopic Studies on Changes in Intestinal Mucosal Epithelial Cells Due to the Ischemia, and During Recovery

Yoshinori YAMAURA

Department of Anatomy and Cell Biology, Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Tetsuji NAGATA)

Ultrastructural changes in intestinal epithelial cells due to ischemia produced by the occlusion of intestinal arteries were observed. The intestinal mucosal tissues of dogs after the occlusion of the superior mesenteric artery were subjected to electron microscopic examination. Tissues were obtained from 3 minutes until 60 minutes of ischemia, and during four days of recovery from the ischemia. The effect of drug administration for treatment of the ischemic damage was also analyzed. These tissues were fixed with glutaraldehyde and osmium tetroxide solutions, then embedded in either paraffin or epoxy resin. The thick and thin sections were photomicrographed with either light or electron microscopy. The most distinctive changes which appeared during the ischemia were dilatation of endoplasmic reticulum and mitochondria, loss of electron density in the center of the nuclei, and dilatation of the intercellular spaces. These changes gradually appeared during the 30 minutes of observation after occlusion. The ultrastructural changes returned to normal after four days. With the administration of phenoxybenzamine, aprotinin, low molecular weight dextran and prostaglandin E<sub>1</sub>, the recovery courses were accelerated. *Shinshu Med. J.*, 39: 105-121, 1991

(Received for publication September 25, 1990)

---

**Key words:** intestinal mucosal epithelial cells, electron microscopy, ischemia, recovery, dog  
小腸粘膜上皮細胞, 電子顕微鏡観察, 腸管虚血, 修復, イヌ

---

#### I はじめに

腸管虚血はヒトでは腸間膜動脈の閉塞および狭窄による腸管の変化とそれに伴う病態を意味する<sup>1)~3)</sup>。近年, 社会の高齢化に伴い, 動脈硬化や血栓症による腸管虚血が成人病において重要な位置を占めつつある。虚血性腸疾患は, 急性腹症の中でも特に迅速な診断と適切な治療を要する重篤な病態であり, 各種の治療にもかかわらず80%を越える高い死亡率が多くの臨床家を悩ませてきた<sup>2)4)~7)</sup>。アメリカ合衆国では, 本疾患の

ために死亡する患者は年間1,800人にのぼるとの報告もあるが<sup>8)</sup>, 本邦でも高齢化に伴い, 報告例も増加の傾向を示している。浜口ら<sup>4)</sup>の1961年までの45年間に於ける報告例によると, 91例の本症が記載されている一方, 三島と井上<sup>9)</sup>(1986年)の集計では, 5年間に於ける本症例は340例に及んでいる。これら最近の症例の成績でも, 腸間膜血管閉塞症例の死亡率は60%から80%と依然として高率であり, 本疾患の治療の困難さを示している<sup>2)9)~11)</sup>。したがって本疾患の治療成績を向上させるための努力が各方面で行われてきた。

本症の治療は早期に血栓除去術などの血管外科的な手技を行うのが理想であるが、病態の進行が速く腸管切除術の適応となる場合が多い<sup>4)5)7)-10)12)-17)</sup>。Blumら<sup>18)</sup>のphosphorus magnetic resonance spectroscopyを用いた腸管虚血に対する診断法や、矢野ら<sup>19)</sup>のキセノンシンチグラフィを用いた診断法など、早期診断のための新しい試みが行われる一方、選択的血管造影が広く行われるようになり、診断上の有用性が高く評価されている<sup>6)8)9)12)15)16)</sup>。壊死腸管の切除を主とした外科手術とともに、血管外科の手技の向上も重要視されており、血栓・血栓摘除術、血栓内膜摘除術、血管吻合術などが併せて行われるようになった<sup>7)8)12)15)16)</sup>。また、全身的な抗凝固療法や、閉塞動脈への血栓溶解剤療法および術後の経静脈高カロリー輸液の有用性も指摘されている。

腸管が虚血に陥ると速やかにショック状態に陥り、壊死腸管の切除術が行われた後にもなかなか血圧が回復せず、不幸な転帰をとる症例が多い。この理由は諸家の研究により、vasoactive chemical mediatorとしてエンドトキシンとmyocardial depressant factor (MDF) が大きく関与していることが明らかになってきた<sup>1)20)-22)</sup>。これらの病態を考慮してphenoxybenzamine<sup>23)24)</sup>、低分子dextran<sup>25)</sup>、aprotinin (Trasylo) <sup>26)27)</sup>、ステロイド剤<sup>1)</sup>、prostaglandin<sup>28)-30)</sup>等が用いられ、効果をあげている。Nordenら<sup>24)31)32)</sup>のphenoxybenzamine, methylprednisolone, dopamineを血漿輸液とともに使用した実験的研究など、臨牀的にも応用できる成績も発表されており、本疾患の病態解明と有効な補助療法の開発の努力により、今後の治療成績の向上に希望がもてるようになってきた。筆者は腸管の形態学上これらの薬剤による治療の効果がどのように現れるのか興味を覚えた。

人体の各種細胞障害の状態と程度は、虚血障害<sup>33)34)</sup>、放射線障害<sup>35)</sup>、死後変化<sup>36)37)</sup>、薬剤の副作用<sup>37)38)</sup>などについて光顕的観察および電顕的観察により推し量られることが知られている。本研究においては、イヌを用いた虚血障害の実験モデルにおいて、虚血に陥った腸管の粘膜上皮細胞の変化および一過性の腸管虚血からの回復過程に及ぼす補助療法の効果を検討するために、腸管上皮細胞の電顕的観察を行った。

## II 材料と方法

### A 実験的腸管梗塞

24時間絶食にした体重10kg前後の雑種成犬4匹を

pentobarbital sodium (25mg/体重kg)で静脈麻酔し、気管内挿管、人口呼吸器(Aika Respirator-R-60)による調節呼吸(8~10cm H<sub>2</sub>O, 18回/分)と、20ml/kg/時の速度で生理的食塩水・5%ブドウ糖液の等量混合液による経静脈的輸液を続けながら、無菌的操作下で、正中切開により開腹した。上腸間膜動脈起始部周囲の神経叢ならびにこの動脈に伴走するリンパ管、静脈の損傷をできるだけ避けるように努めながら、この動脈起始部を露出させ、腹大動脈分岐部より1cm遠位側の部でブルドック血管鉗子により血管を損傷しないように注意して血行を遮断した。血行遮断開始後、3分、5分、10分、30分の時点で同一実験動物から空腸の組織を採取した。これらの各血行遮断実験群において、1時間の血行遮断後、血管鉗子による遮断を解除し、上腸間膜動脈本幹の拍動再開を確認した後、手術野の止血を確実にして腹部正中切開創を一次的に閉鎖した。なおこの間、血行遮断解除直後の1時間にわたり輸液速度をはやめ、30ml/kg/時とした。この血行遮断解除後の翌日、2日目、4日目に空腸下部の組織を採取し後述のように標本を作成した。

### B 補助療法

小腸粘膜に広汎な虚血性病変が出現する1時間血行遮断群を対象に、30ml/kg/時の速度で与える輸液のかわりに、①3%低分子dextran (L.M.W.D.)液30ml/kg/時の点滴静注を行いphenoxybenzamine (P. O. B.) 1mg/kgを添加、さらにaprotinin (Trasylo) 10,000u/kgを血行遮断解除直後ならびに24時間後に静注する。②遮断解除直後から輸液にprostaglandin E<sub>1</sub>を加え80ng/kg/分の速度で点滴静注する。以上2種の補助療法のうち1種をおのおの5匹に対して実施し、輸液のみの対照群における成績と対比させるため、1日目、2日目、4日目の空腸の組織を採取して観察した。

### C 光学顕微鏡標本の作製および観察

血行遮断中および遮断解除後経時的に採取した空腸の腸管壁全層を光顕用試料として、10%ホルマリン液で固定、パラフィン包埋し、厚さ4μmの切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。あるいは電顕用にエポン包埋した組織を超ミクローム (Porter-Blum MT-2B型)でガラスナイフを用い1.5μmに薄切してスライドガラスに載せ0.1%トルイジンブルー液(pH7.4)で染色を行った。特に血行遮断中の組織についてはPAS染色、アルジャンブルー染色を併せて行った。光顕観察はオリンパスAHLB-LB

型顕微鏡で行い、写真撮影装置 (PM-CDAB) で写真撮影した。

#### D 電子顕微鏡標本の作成および観察

縦横 1 cm の腸間膜対側の空腸組織を取り出した後、0.1M リン酸緩衝 (pH7.4) 2.5 % グルタルアルデヒド液を用いて小組織片として 2 時間浸漬固定し、同緩衝 1 % 四酸化オスミウム液中で 1 時間の後固定をした。なお以上の固定は氷水中で行った。固定終了後の組織は 50 % ~ 100 % までの上昇系列アルコールで脱水し、エボン 812 に熱重合により包埋した。試料は腸管軸方向に平行にかつ腸絨毛に垂直に切り出し、電顕観察のためには、超ミクロトーム (Porter-Blum MT-2B 型) を用い、0.1  $\mu$ m の厚さに超薄切した。超薄切片は 150 メッシュまたは単孔の銅製グリッドメッシュ (Veco 社) にフォルムパール支持膜をはって載せ、1 % 酢酸ウラニル<sup>39)</sup>、および 4 % クエン酸鉛<sup>40)</sup>で各 5 分間の電子染色を施行したのちに、カーボン蒸着し、日立 HU-11A 型透過型電子顕微鏡を用いて、加速電圧 75kV で観察し、直接倍率 1,000 ~ 10,000 倍で写真撮影した。

### III 結 果

#### A 血行遮断中の変化

##### 1 光顕像

血行遮断 10 分まで、光顕像では小腸の粘膜上皮細胞には変化は認められなかった。血行遮断 15 分から粘膜上皮細胞の高さが低くなり (平低化)、絨毛の先端から上皮細胞の脱落が認められた。血行遮断 60 分には粘膜上皮細胞の平低化は絨毛中部まで認められるようになり、細胞の脱落も広範囲となり、粘膜固有層を中心に浮腫が出現し、次第に絨毛先端の粘膜固有層は腸管内腔に露出した状態となった。正常な小腸の絨毛にみられる上皮細胞配列の蛇行はなくなり、細胞は直線的な配列を示した。杯細胞は、正常の場合、絨毛の先端から交代していく寸前には細胞のもつ粘液の半分程度はすでに放出した状態にある。血行遮断 15 分頃から粘膜吸収上皮細胞は平低化が見られるのに対し、杯細胞は細胞体が縮小しないため比較的大きく目立って見え、正常の杯細胞に比較して横長の粘液嚢を持つようになる。30 分頃には、数個単位で隣接する吸収上皮細胞と連結したまま腸管内腔に脱落してゆく像が観察された (図 1, 2)。

##### 2 電顕像

吸収上皮細胞の形態は血行遮断 3 分の時点では異常

は認められなかった (図 3)。明瞭な変化は 5 ~ 10 分後から認められた (図 4 - 6, 表 1)。上皮細胞の変化には、絨毛の部位により大きな差異が認められた。血行遮断中の電顕像では絨毛の下部の変化が軽度であるのに対し、絨毛の中部・上部では異常の程度と頻度は著しく高くなった (表 2)。

微絨毛は血行遮断 30 分頃より、絨毛の上部と中部の上皮細胞では短縮と配列の不整像を示し、糖皮相が薄くなった (図 6, 7)。細胞間隙は血行遮断 10 分頃から細胞の基底膜側を中心に認められ、30 分では上皮細胞の間にも頻々認められるようになった。糸粒体の変化は各種の細胞小器官の中で最も早い時期から認められた。すなわち血行遮断開始 5 分の時点ですでに軽度ながら糸粒体の膨化が認められ (図 4), 30 分ではクリスタの乱れた像や糸粒体顆粒の減少等が高頻度に認められた (図 7)。糸粒体の変化にやや遅れ、血行遮断 10 分頃から小胞体の膨化が認められた。30 分では小胞体の膨化により、細胞質が空胞状を呈する細胞が多くなった (図 7)。ゴルジ装置の構造は比較的遅くまで保たれていた。血行遮断 30 分でも、絨毛下部の糸粒体や小胞体の変化の軽い細胞ではゴルジ装置の構造が保たれていたが、絨毛中部のすでに小胞体が空胞化を呈した細胞ではゴルジ装置も空胞化して、明瞭なゴルジ装置を観察することはできなかった。核の変化は比較的早く、血行遮断 10 分から認められた (図 5, 6)。核周囲腔は拡大し、核質は核の中央部では電子密度が低下してまばらになり、異染色質が核膜下に偏在し、30 分では核の形態も丸く膨化を示すようになった。これら核の変化は小胞体の空胞化とほぼ同時に進行している傾向が観察された。

上皮細胞の中で、細胞質基質の電子密度が高くなった暗調細胞 (dark cell) が血行遮断 30 分から頻々観察された。暗調細胞はやや細胞体が細く、核および細胞質は濃染し、細胞小器官の膨化は認められなかった。

杯細胞は種々の形態が観察された。粘液顆粒に関しては電子密度の高い顆粒を持つもの、低い顆粒を持つもの、両者をともに持つものがあつた。また粘液顆粒の充満したものと一部粘液を放出して顆粒の少ないものとがあつた。細胞小器官の占める空間は小さく、核は吸収上皮細胞に比較して小さく基底膜側に存在し、中には核の電子密度の高い細胞も認められた。杯細胞に関するこれらの所見は虚血前と虚血後の間で明確な差異を見出すことはできなかった。

#### B 血行遮断解除後の変化

## 1 光顕像

血行遮断解除1日目では絨毛の短縮，上皮細胞の平低化がなお高度であった。2日目では絨毛の短縮は軽度となるが浮腫と細胞の平低化が残った。しかし4日目には，光顕像上絨毛の短縮，上皮細胞の平低化などは軽度となった。杯細胞の数および粘液量の回復は比較的速やかで，血行遮断解除後1日目では絨毛の下部，さらに2日目には絨毛の中部で回復していた（表3，図8）。

## 2 電顕像

電顕像では，2日目より吸収上皮細胞の核質，細胞質基質の変化や粗面小胞体の膨化などは絨毛の下部から中部，上部へと徐々に改善され，暗調細胞の出現頻度も少なくなった。血行遮断解除1日目では，細胞間隙の拡大，核の形および大きさの不均一性，糸粒体の

膨化はなお残存していた（図9）。これらの所見は解除2日目にも認められた。ゴルジ装置は2日目頃から絨毛の下部の細胞で観察されるようになった（図10）。4日目には，電顕像でも絨毛の上部を除き粗面小胞体，糸粒体，暗調細胞などの変化は軽度となった（図11，表4）。これらの回復過程の電顕像でも絨毛の部位により上皮細胞の異常所見の程度と出現率の差異は大きく，絨毛中部および下部で回復が早かった。

## C 補助療法による変化

## 1 3者併用療法

## a 光顕像

血行遮断解除1日目より光顕像上の粘膜上皮細胞の脱落および平低化，絨毛の短縮などの変化は無治療群と比較して軽度となった。杯細胞の数および粘液量の回復は補助療法により促進され，血行遮断解除後1日

表1 上腸間膜動脈血流遮断中の空腸粘膜上皮細胞の電顕像の変化

経過時間	3分	5分	10分	30分
核小体	-----	-----	±-----	+++±
核質	-----	±-----	+±±±±	++++
核膜	-----	±-----	+±±±±	++-
細胞質基質	-----	-----	±±-----	+±±
粗面小胞体	-----	±±-----	+±±±±	++++
糸粒体	-----	±±±±	+±±±±	+±±
微絨毛	-----	-----	±±-----	+±±
暗調細胞出現	-----	±-----	+-----	+±-
細胞間隙出現	-----	-----	±±±±-	++-

+: 変化高度 ±: 変化軽度 -: 変化なし  
+- はおのおの実験例1匹の所見を示す

表2 上腸間膜動脈血流遮断10分の空腸粘膜上皮細胞の電顕像の変化

	絨毛中部	絨毛下部
核小体	±-----	-----
核質	+±±±±	±-----
核膜	+±±±±	±-----
細胞質基質	±±-----	-----
粗面小胞体	+±±±±	±-----
糸粒体	+±±±±	±±-----
微絨毛	±±-----	±-----
暗調細胞出現	+-----	+-----
細胞間隙出現	±±±±-	±-----

+: 変化高度 ±: 変化軽度 -: 変化なし  
+- はおのおの実験例1匹の所見を示す

## 図1 正常空腸粘膜の光顕像

腸絨毛の先端部を示す。

上皮細胞は波状に規則的に配列して上皮の構造は保たれている。（×300）

## 図2 血行遮断30分後の空腸粘膜の光顕像

図1とほぼ同一の先端部を示す。

絨毛全体が棍棒状にやや短縮し，絨毛先端から上皮細胞が脱落して上皮は寸断されている。絨毛中部まで上皮細胞が平低化している。粘膜固有層には浮腫が観察される。（×300）

## 図3 血行遮断3分後の空腸吸収上皮細胞の電顕像

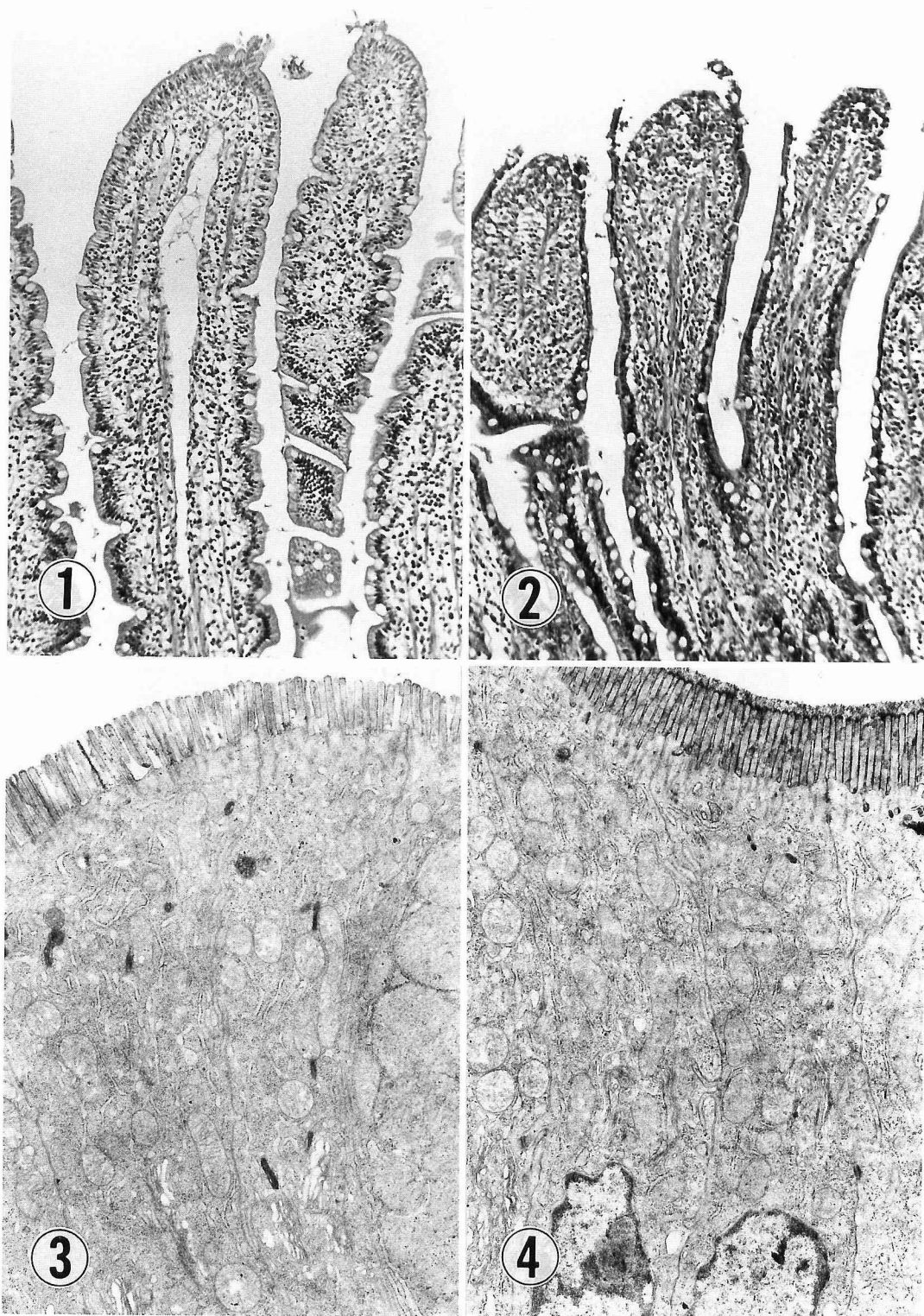
先端細胞質を示す。

核，糸粒体，小胞体，微絨毛等の細胞小器官は保たれている。（×9,400）

## 図4 血行遮断5分後の空腸吸収上皮細胞の電顕像

図3と同一部位を示す。

糸粒体が丸く膨化しているが，核，小胞体および微絨毛は保たれている。（×8,800）



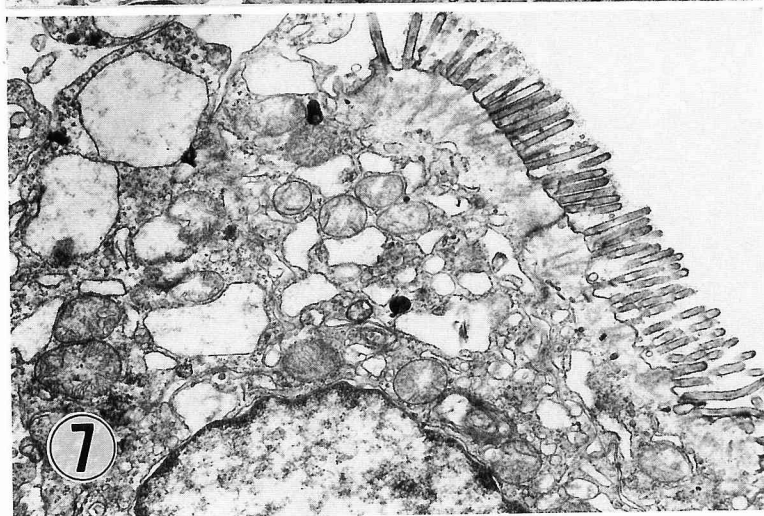
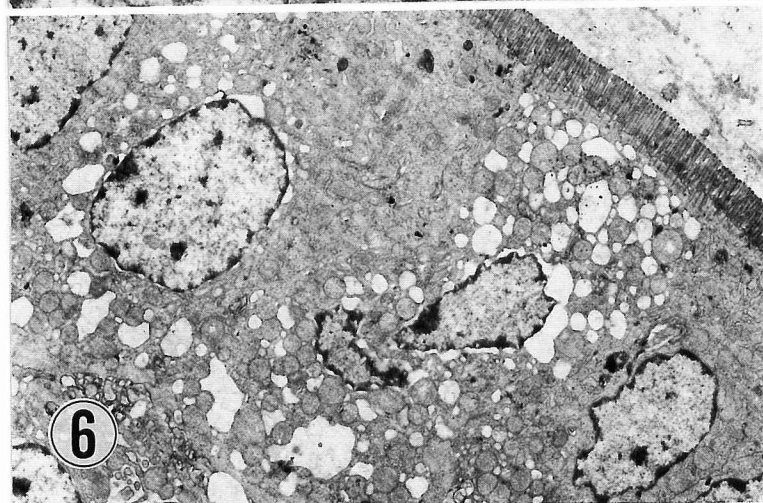
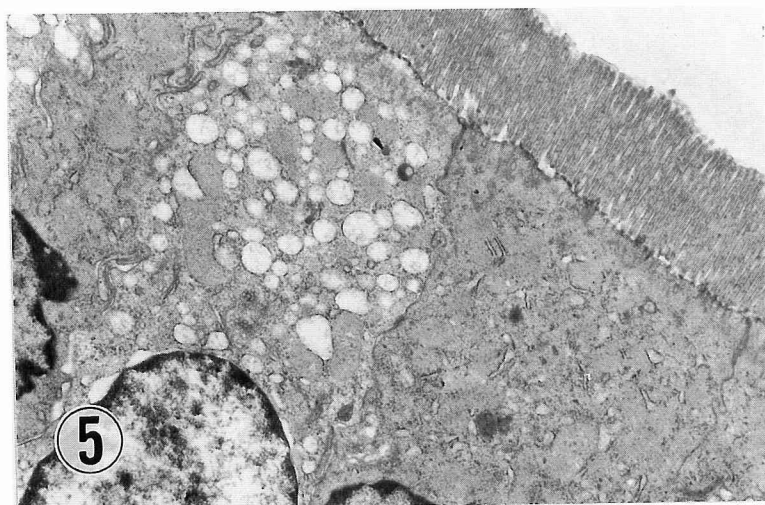


表3 上腸間膜動脈血流遮断(1時間)解除後の経時的空腸粘膜の光顕像

経過時間		1日目	2日目	4日目
非治療群	絨毛の短縮	++ ± ± ±	+ ± - - -	± ± ± -
	上皮細胞の平低化	++ + ± ±	+ ± ± ± -	± ± ± -
	上皮細胞の脱落	+ ± ± ± -	± - - - -	- - - -
	浮腫	++ ± ± ±	+ ± ± ± ±	± ± ± ±
三者併用群※	絨毛の短縮	± ± ± - -	± - - - -	± - - - -
	上皮細胞の平低化	± ± ± ± ±	± ± - - -	± ± - - -
	上皮細胞の脱落	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	浮腫	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± ±
プロスタグランジン§治療群	絨毛の短縮	+ ± - - -	± - - - -	± - - - -
	上皮細胞の平低化	± ± - - -	± - - - -	± ± - - -
	上皮細胞の脱落	- - - - -	- - - - -	- - - - -
	浮腫	± ± ± ± -	+ ± ± - -	± ± - - -

※ Aprotinin 10,000u/kg P. O. B. 1mg/kg 5%L. M. W. D. 30ml/kg/時

§ Prostaglandin E<sub>1</sub> 80ng/kg/min

+: 変化高度 ±: 変化軽度 -: 変化なし

+- はおのおの実験例1匹の所見を示す

表4 上腸間膜動脈血流遮断(1時間)解除後の経時的空腸粘膜上皮細胞の電顕像の変化

経過時間		1日目	2日目	4日目
核	質	± ± - - -	± ± - - -	± - - - -
核	膜	± ± ± - -	± ± ± - -	± - - - -
細胞	質基質	± ± - - -	± ± - - -	- - - - -
粗面	小胞体	± ± ± - -	± ± ± - -	± - - - -
糸粒	体	± ± ± ± -	± ± ± - -	± - - - -
微絨	毛	± - - - -	± - - - -	- - - - -
暗調	細胞出現	± ± - - -	- - - - -	± - - - -
細胞	間隙出現	++ ± ± ±	± ± ± - -	± ± - - -

+: 変化高度 ±: 変化軽度 -: 変化なし

+- はおのおの実験例1匹の所見を示す

図5 血行遮断10分後の空腸吸収上皮細胞の電顕像

細胞間に空隙が生じ、核膜腔と小胞体腔が広がっている。染色質は核の周辺に偏在している。(×8,000)

図6 血行遮断10分後の空腸吸収上皮細胞の電顕像

核膜腔と小胞体腔が拡大し、染色質は核の周辺に偏在し、核の中心部は電子密度が低下している。(×3,500)

図7 血行遮断30分後の空腸吸収上皮細胞の電顕像

小胞体腔の膨化が著しく、細胞は空胞状を呈している。微絨毛の配列が不規則になっている。糸粒体は膨化している。(×7,200)

表5 上腸間膜動脈血流遮断(1時間)解除後1日目の経時的空腸粘膜上皮細胞の電顕像の変化

		非 治 療 群	※三者併用群	§ プロスタグランジン群
絨 毛 中 部	核	± ± - - -	± ± - - -	± ± - - -
	粗 面 小 胞 体	± ± ± - -	± ± ± - -	± ± ± - -
	糸 粒 体	± ± ± ± -	± ± ± - -	± ± ± - -
	細 胞 間 隙	+ + ± ± ±	± ± ± ± ±	± ± ± ± -
絨 毛 下 部	核	± - - - -	± - - - -	± - - - -
	粗 面 小 胞 体	- - - - -	- - - - -	± - - - -
	糸 粒 体	± ± ± - -	± - - - -	± - - - -
	細 胞 間 隙	+ ± ± ± -	- - - - -	± - - - -

※ Aprotinin 10,000u/kg P. O. B. 1mg/kg 5%L. M. W. D. 30ml/kg/時

§ Prostaglandin E<sub>1</sub> 80ng/kg/min

+ : 変化高度 ± : 変化軽度 - : 変化なし

+- はおのおの実験例1匹の所見を示す

表6 上腸間膜動脈血流遮断(1時間)解除後2日目の経時的空腸粘膜上皮細胞の電顕像の変化

		非 治 療 群	※三者併用群	§ プロスタグランジン群
絨 毛 中 部	核	± - - - -	- - - - -	± - - - -
	粗 面 小 胞 体	± ± ± - -	- - - - -	± ± - - -
	糸 粒 体	± ± ± - -	± - - - -	± - - - -
	細 胞 間 隙	± ± ± - -	± ± - - -	± ± - - -
絨 毛 下 部	核	± - - - -	- - - - -	- - - - -
	粗 面 小 胞 体	- - - - -	- - - - -	± - - - -
	糸 粒 体	- - - - -	- - - - -	± - - - -
	細 胞 間 隙	± - - - -	- - - - -	- - - - -

※ Aprotinin 10,000u/kg P. O. B. 1mg/kg 5%L. M. W. D. 30ml/kg/時

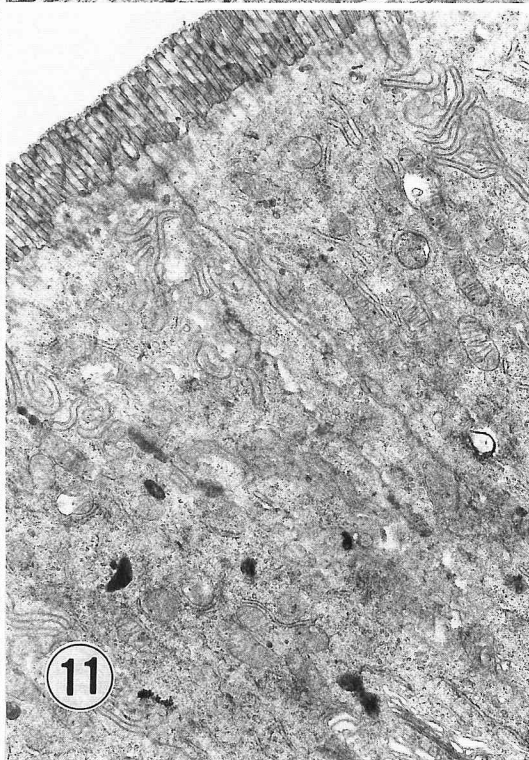
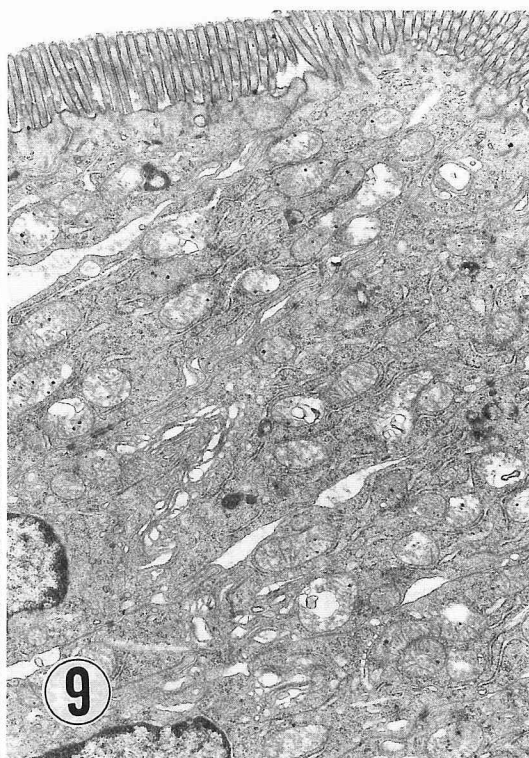
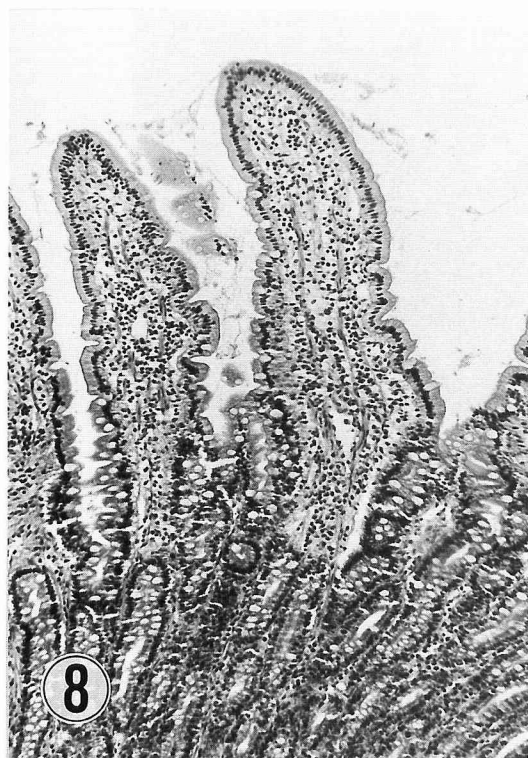
§ Prostaglandin E<sub>1</sub> 80ng/kg/min

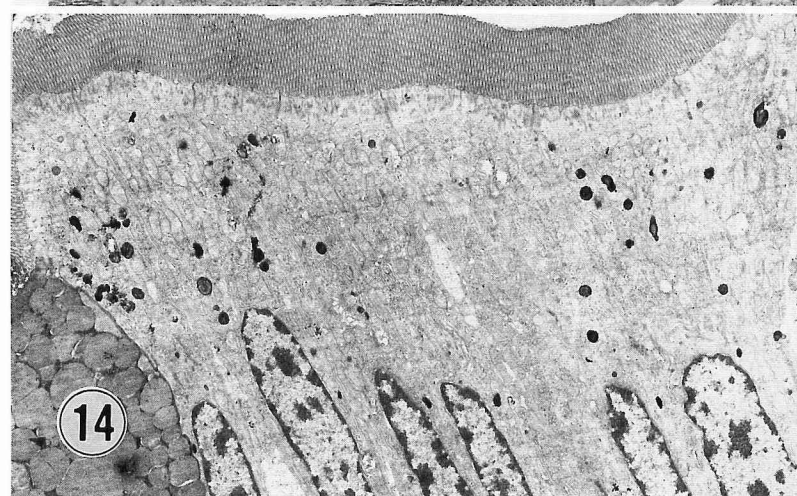
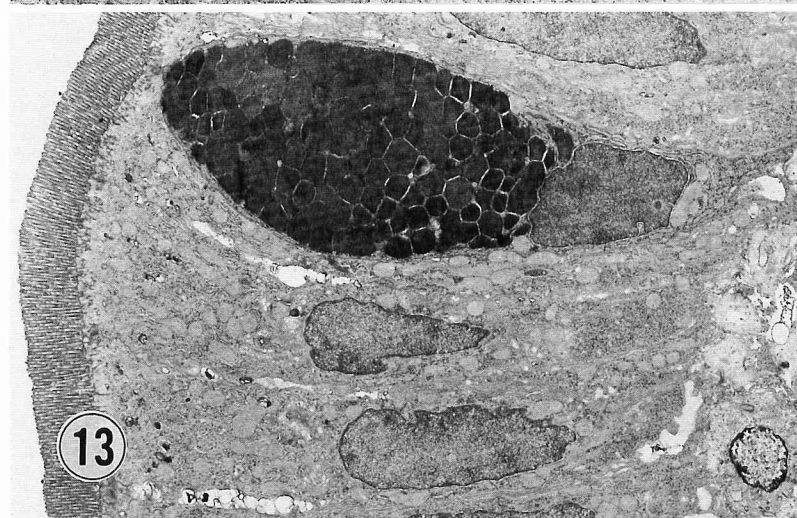
+ : 変化高度 ± : 変化軽度 - : 変化なし

+- はおのおの実験例1匹の所見を示す

- 図8 1時間血行遮断後1日目の空腸粘膜の光顕像(無治療群)  
絨毛中部および上部を中心に細胞の平低化が見られるが、上皮の連続性は回復している。粘膜固有層の浮腫が軽度に見られる。(×200)
- 図9 1時間血行遮断後1日目の空腸吸収上皮細胞の電顕像(無治療群)  
糸粒体は膨化している。小胞体腔の膨化、細胞間隙の拡大が軽度に認められる。(×9,300)
- 図10 1時間血行遮断後2日目の空腸吸収上皮細胞の電顕像(無治療群)  
核膜腔と小胞体腔の空胞化がつづく細胞とすでに回復した細胞が観察される。核の形が不揃いである。微絨毛も不規則な配列を示す。(×3,500)
- 図11 1時間血行遮断後4日目の空腸吸収上皮細胞の電顕像(無治療群)  
核膜腔と小胞体腔はすでに回復している。糸粒体のクリスタも回復しているが一部に軽い膨化が認められる。(×8,700)







目では絨毛の中部まで、さらに2日目には絨毛の上部まで回復して正常に近付いていた(表3)。

#### b 電顕像

血行遮断解除1日目では、吸収上皮細胞は絨毛下部において粗面小胞体、糸粒体、細胞間隙の変化が軽度となったが、絨毛中部では非治療群との間に差がなく、2日目の所見では絨毛中部において電顕像の変化は軽度となった。(表5, 6, 図12-14)。非治療群と比較し、絨毛の下部から中部さらに上部へとより速やかに異常所見の軽減して行く像が観察された。

### 2 Prostaglandin E<sub>1</sub> 療法

#### a 光顕像

血行遮断解除1日目から2日目にかけ、粘膜吸収上皮細胞の軽度の浮腫は依然として認められるが、絨毛の短縮や細胞の脱落および平低化などの変化は軽減されていた。杯細胞の数および粘液量の回復は補助療法により無治療群と比較して促進されていた。血行遮断解除後1日目では絨毛の中部、2日目では絨毛の上部まで正常に近い杯細胞が観察された(表3, 図15)。

#### b 電顕像

血行遮断解除1日目では、絨毛下部において粘膜吸収上皮細胞の粗面小胞体、糸粒体および細胞間隙の変化が軽減されていた。2日目には、絨毛中部まで粗面小胞体、糸粒体、細胞間隙の変化が軽度となり、絨毛の下部から中部へと次第に修復が進行している像が観察された(表5, 6, 図16, 17)。5匹の実験において1例程度は治療に充分反応せず軽度の変化を残すものがあった。回復過程における細胞小器官の変化では、3者併用群と prostaglandin E<sub>1</sub> 治療群の間には本質的な差異を見出すことはできなかった。

## IV 考 察

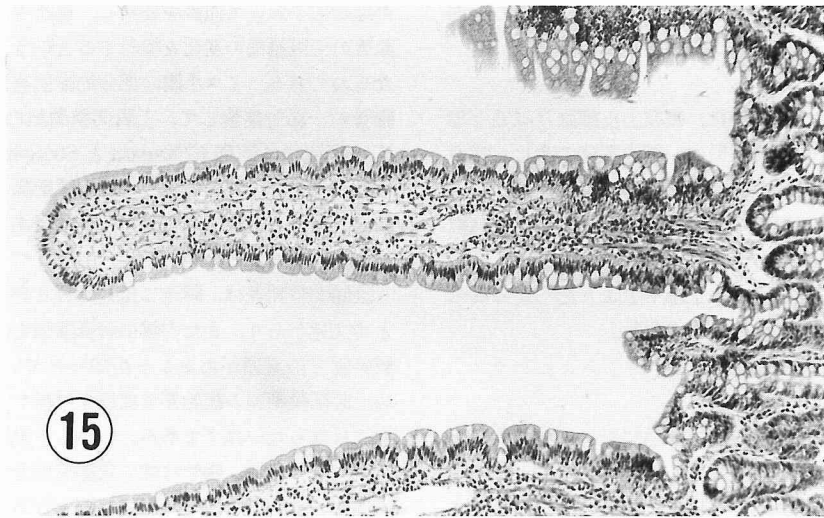
本研究で用いた実験モデルは、イヌの上腸間膜動脈

の起始部において血流を遮断し、遮断中および遮断解除後の回復過程の変化を検討するという、非常に苛酷なものである。イヌ小腸の部分的虚血実験としては、腸管の一部を結紮して、上腸間膜動脈の枝を Tyrode 液で灌流する実験が Nagata と Steggerda<sup>(41)-(43)</sup> により行われたが、本実験は、上腸間膜動脈を腹大動脈分岐部で血行を遮断する広範囲の実験であり、影響が大きい。

上腸間膜動脈は、臍十二指腸動脈を介して腹腔動脈との交通があり、また大腸の辺縁動脈を介して下腸間膜動脈との交通があることが知られている<sup>9)</sup>。このため上腸間膜動脈の起始部で血行を遮断しても完全な虚血にはならないはずである。しかし、実験中動脈をクランプした途端、腸管は強い収縮反応を示し、腸間膜の血管の拍動がまったく見られなくなる点から、実験中の腸管においては血流がほとんど遮断されていたと考えられる。大腸も含め広範囲の腸管に虚血が生じ、それに続くショック状態からの離脱ができず、死に至る実験例は非治療群においては約3分の1に及んでいる<sup>(44)</sup>。これは血流遮断解除後に虚血腸管から各種の血管作動物質が放出されることによるものであろう<sup>(1)(5)(17)(20)-(22)</sup>。Norlén ら<sup>(24)(31)(32)</sup> の用いた実験モデルでも、ラットの小腸の4分の1だけを2時間遮断した方法で、遮断解除後心拍出量は減少し、小腸の血流の低下は血行を遮断しなかった部分にも認められたという。今回観察した腸管はようやく死を免れた幸運な実験例から採取したものであることを強調したい。

腸管虚血における上皮細胞の障害性については、従来より光顕による観察によって障害が評価されることが報告されている<sup>(33)(34)</sup>。上皮細胞の変化はおもに虚血後数時間まで光顕により観察されてきた<sup>(34)</sup>。しかしながら臨床的な症状は虚血後速やかに現れる。電子顕微鏡学的な検索によれば腸管虚血がおきて数分後から上

- 図12 3者併用治療を行った1時間血行遮断後1日目の空腸吸収上皮細胞の電顕像  
細胞間に空隙が残るものの糸粒体の膨化、核膜腔と小胞体腔の空胞化は認められない。(×10,000)
- 図13 3者併用治療を行った1時間血行遮断後2日目の空腸吸収上皮細胞の電顕像  
細胞間に空隙が残るものの糸粒体の膨化、核膜腔と小胞体腔の空胞化はみられない。一部で核の輪郭が不整である。杯細胞には粘液が充満している。(×3,500)
- 図14 3者併用治療を行った1時間血行遮断後4日目の空腸吸収上皮細胞の電顕像  
細胞間の空隙は観察されない。核の形、大きさ、核質もほぼ正常に回復している。(×8,700)



皮細胞の変化が現れることが知られてきた<sup>33)</sup>。そこで電子顕微鏡学的に上皮細胞の変化を観察することで腸管虚血の精密な評価が可能であり、より有効であると考え本研究が行われた。腸管虚血中の変化を電子顕微鏡学的に観察すると、急性期（5分～10分）にすでに粘膜吸収上皮細胞の核および細胞小器官に変化が見られた。その初期の変化は特に糸粒体と小胞体に顕著であり、この結果はBrownら<sup>33)</sup>の報告とよく一致していた。また核染色質や核膜の変化も早い時期から認められ、Ghadially<sup>45)</sup>は「核に見られる異常な変化は、糸粒体の形態の変化とエネルギー産生の低下に続く2次の現象として現れる」と主張しているが、本研究においても、核の変化と糸粒体の変化はほぼ同時に進行している像が多く、相関が見られた。虚血腸管では上皮細胞内において速やかにアシドーシスが進行し、細胞内のATPが減少するといわれる<sup>34)</sup>。糸粒体の変化が早期から現れることはこのことを裏付けるものであろう。血行遮断10分後の粘膜上皮細胞について特に絨毛中部と下部にて比較した結果、絨毛中部においてより顕著な変化が認められた。絨毛の部位による電顕的变化の差についての検討は本研究がはじめてのものである。

文献上、halothane, fluoroxene, enfluraneの各麻酔剤を60分間使用した後のヒト肝細胞の変化では、糸粒体と小胞体の膨化が最も早くから認められたとの報告<sup>36)</sup>がある。この変化はヒトの死後変化でみられる肝臓・腎臓・脾臓などの細胞破壊像および自己融解の像とも共通している<sup>36)37)</sup>。生体の細胞に対する様々な障害因子により引き起こされるこれらの変化は、原因の如何にかかわらず腸管吸収上皮細胞に現れる初期の変化と類似していた。これらの変化のうち糸粒体と小胞体の膨化した状態は、混濁腫脹 (cloudy swelling) と呼ばれる状態であり、特に小胞体が水腫様に大きくな

ると空胞状を呈することが知られている<sup>45)</sup>。

血流遮断解除後の変化も観察された。本研究においては、電顕により観察すると血流遮断中に顕著であった糸粒体や小胞体の変化は解除後4日目まで続いていたが、4日目は1日目、2日目と比較すると変化は軽度となっていた。血流遮断後の急性変化においては小胞体と糸粒体および核の変化が特に大きく、これらの変化は4日目まで残った。この回復過程の電子顕微鏡学的観察も文献にはなく、本研究が初めてである。

杯細胞の動態と虚血による変化については光顕像から多くの知見が得られた。杯細胞の粘液顆粒は腸陰窩の底部から徐々に大きくなり、絨毛の基部ではほぼ成熟した細胞の形態を示す。杯細胞の活発な代謝活動は腸陰窩において行われているものと思われ、絨毛に移行した段階では粘液顆粒の増大傾向は見られない。杯細胞では核も細胞質も吸収上皮細胞と比較して細胞内の小範囲を占めるに過ぎず、電顕像では虚血による変化は現れず、一部に暗調細胞に見られるような核の濃染像が見られるが、糸粒体や小胞体などの変化は観察されなかった。杯細胞において虚血による変化が現れない理由は不明である。

一方杯細胞が生物の消化吸収作用や各種疾患において重要な役割を果たすことが知られている。荻原<sup>44)</sup>によれば、上腸間膜動脈の起始部で30分間血行を遮断させると、小腸の吸収上皮細胞に対する杯細胞の比率は遮断解除後4日目には有意に上昇し、7日目には遮断前の値に戻り、この消長は粘膜のhexosamineの消長と類似したパターンを示したという。

本研究の治療群において使われた薬品は、aprotinin (商品名 Trasylol), phenoxybenzamine, 低分子 dextran そして prostaglandin E<sub>1</sub> であり、それぞれに固有の薬理効果があることが知られている。aprotinin は蛋白分解酵素阻害剤であり, trypsin, kal-

- 図15 3者併用治療を行った1時間血行遮断後1日目の空腸粘膜の光顕像  
図8に比べ絨毛中部の上皮が波状に配列し正常化しているのが目立つ。杯細胞の数および粘液の回復も速やかである。(×200)
- 図16 Prostaglandin E<sub>1</sub> 治療を行った1時間血行遮断後1日目の空腸吸収上皮細胞の電顕像  
絨毛下部では核、糸粒体、小胞体の異常は軽度である。核の不整形が一部に認められる。(×3,500)
- 図17 Prostaglandin E<sub>1</sub> 治療を行った1時間血行遮断後2日目の空腸吸収上皮細胞の電顕像  
絨毛中部でも核、糸粒体、小胞体の異常は軽度となっている。核の形、大きさも整っている。(×3,500)



likrein, plasmin などによるキニン生成を抑制する他, myocardial depressant factor<sup>20)-22)</sup>などの産生も抑制し, 虚血臓器のライソゾーム膜を安定させる作用<sup>27)</sup>も指摘されており, 血管拡張, 毛細血管の透過性の亢進, 平滑筋の収縮を抑えるなどの薬効があることが知られている。そのため臨床的にはエンドトキシンショック, 外傷性ショックなどの急性期の治療に使用されている。phenoxybenzamine は持続の長い  $\alpha$ -遮断薬であり, 末梢循環不全と不整脈に対する薬効があって, 従来, 開心術後の低心拍出量症候群など心原性ショックの治療に用いられてきた<sup>23)</sup>。Norlén ら<sup>24)</sup>はラットを用い小腸の4分の1を虚血状態にした実験例に phenoxybenzamine による治療を試みているが, 本剤の単独使用例には効果がなく, 血漿を併用すると血流が改善されることを確かめた。低分子 dextran は抗血栓作用と血漿増量作用があり, 末梢血管閉塞性疾患の治療に用いられている<sup>25)46)</sup>。prostaglandin  $E_1$  は cAMP を介して血管拡張作用があるといわれ, 四肢や腹部の血管閉塞性疾患の治療に用いられている<sup>28)-30)</sup>。本研究においては, aprotinin, phenoxybenzamine, 低分子 dextran の3者併用群および prostaglandin  $E_1$  単独投与群の2つの補助療法を行い, 血流遮断解除後のおおのの効果を腸管吸収上皮細胞の電子顕微鏡学的な変化としてとらえ, 評価した。

非治療群に比べ, 両治療群はともに吸収上皮細胞の小胞体, 糸粒体等の形態の回復に改善が見られた。荻原<sup>44)</sup>は3者併用療法により血流の改善と生存率の向上が見られるとしている。prostaglandin  $E_1$  単独投与群においてもわずかに血流が改善することが認められたが, 電子顕微鏡学的観察における両者の効果の違いは血流改善の程度によるものと考えられる。2つの治療法の効果については血流改善の面からも電子顕微鏡学的所見からも3者併用療法のほうがより有効であった。しかしこのことは prostaglandin  $E_1$  の効果の劣ることを示すものではなく, prostaglandin  $E_1$  と他の何種類かの薬剤を併用することによってより粘膜の修復を促進する可能性を示唆したものといえよう。

腸管吸収上皮細胞の膨化変性所見の出現には2つの理由が考えられる。1つには細胞の老化である。上皮細胞が絨毛の基部から先端に達するまでの時間は, ラジオオートグラフィーを用いた研究などから約2日を要することが確かめられている<sup>47)</sup>。正常であれば若い細胞が絨毛基部から順調に上昇してくるために絨毛中部以上でも形態は正常であるが, ショック状態からの

回復が遅れ, 腸管の血流の回復が不十分な場合, 血流遮断により絨毛基部における細胞分裂が阻害されるために, 絨毛中部においても老化変性した細胞が存在している可能性がある。Takaki ら<sup>30)</sup>, 高木<sup>37)</sup>は暗調細胞 (dark cell) は細胞の原形質の脱水, 構造の緻密化を特徴とし, これがいわゆる細胞のコロイドのゲル化を示し, 細胞原形質の自然な老化現象の形態的表現であると主張している。本研究でも血行遮断解除後1日目には暗調細胞が頻々観察されたが2日目, 4日目と段々に減少していった。もう1つは血流遮断による各部位の上皮細胞の代謝障害である。血流遮断解除後, なんらかの補助療法を行うことにより粘膜の血流を改善させることは, 上皮細胞の代謝を改善させるとともに上皮細胞の増殖を正常に近付け生存率を向上させることが期待できる。

以上のことをまとめると, 腸管の虚血中の全身および粘膜上皮細胞において速やかに出現するアシドーシスなどを引き起こすと考えられる細胞内の急激な変化が確認された。さらに回復過程における上皮細胞回復の経時的変化と絨毛の部位別の差, また粘膜の修復に対する薬剤効果の様子が動的に捉えられるなど, 小腸粘膜上皮細胞の電子顕微鏡学的観察により腸管虚血の新しい病態像が見出された。そのために臨床的に応用可能な腸管虚血に対する補助療法の有効性が電子顕微鏡学的観察においても確認された。

## V 結 語

イヌの上腸間膜動脈の起始部で血流を遮断し, 血流遮断中および血流遮断を解除した後の小腸粘膜上皮細胞の変化を光顕像ならびに電顕像から検討した結果, 下記の結論が得られた。

- 1 光顕像では血流遮断後15分で, 上皮細胞の平低化と絨毛の先端部から上皮細胞の脱落が認められ, 上皮細胞の配列は正常の絨毛に見られる蛇行がなくなり直線的となった。
- 2 血流遮断中, 電顕像で最も早くから見られる変化は, 糸粒体と小胞体の膨化であり, 核質・核膜の変化が続いて認められた。これらの変化は光顕像では未だ異常の認められない血流遮断後5分~10分に早くも観察された。
- 3 血流遮断解除後の回復過程で観察される細胞小器官の異常は, 糸粒体, 小胞体, 核の変化が主であり, 細胞間隙の拡大, 暗調細胞の増加も認められた。これらの異常所見は, 血流遮断解除後2日目頃より,

絨毛の下部から中部へと徐々に正常化して行き、4日目には絨毛の上部を除き異常は軽度となった。

- 4 血流遮断解除後に行った aprotinin, 低分子 dextran, phenoxybenzamine の3者併用群および prostaglandin E<sub>1</sub> を用いた補助療法の効果を検討した結果、2つの治療群はともに1日目には絨毛下部で、2日目には絨毛中部において上皮細胞の異常所見が軽減されており、補助療法により絨毛の下部から中部へと修復が促進されている状態が観察された。

(1978年5月, 札幌), 第79回日本外科学会(1979年5月, 札幌), 第66回日本消化器病学会(1980年4月, 東京), 第17回日本消化器外科学会(1981年2月, 長崎), 第69回日本消化器病学会(1983年4月, 大阪)において発表した。

稿を終えるにあたり、協同研究を行って下さった荻原迪彦先生、沼田 稔先生、林 四郎先生、白田信光先生、市川良治技官、またご指導を賜った永田哲士教授に心から感謝いたします。

## VI あとがき

なお、本研究の内容は第64回日本消化器病学会

## 文 献

- 1) 玉熊正悦, 堀江良秋: 腸の循環障害. 医学のあゆみ, 94: 531-539, 1975
- 2) Habboushe, F., Wallace, H. W., Nusbaum, M., Baum, S., Dratch, P. and Blakemore, W. S.: Nonocclusive mesenteric vascular insufficiency. Ann Surg, 180: 819-822, 1974
- 3) 林 四郎, 荻原迪彦, 山浦芳徳: 腹部の虚血性疾患. 外科治療, 38: 637-643, 1978
- 4) 浜口栄祐, 木村信良, 石塚慶次郎, 金井英吉, 松尾泰伸, 松崎 淳: 腸間膜血管閉塞症. 外科, 24: 15-30, 1962
- 5) 阿部治美, 下山孝俊, 池田敏明, 北里精司, 進藤和彦, 徐 福清, 松尾和彦, 村上英世, 葉玉哲生, 賀来清彦, 池田栄雄, 牟田博夫, 釘宮敏定, 富田正雄, 調 亟治, 辻 泰邦: 腸間膜血管閉塞症の治療. 外科, 37: 371-376, 1975
- 6) Singh, R. P., Shah, R. C. and Lee, S. T.: Acute mesenteric vascular occlusion: A review of thirty-two patients. Surgery, 78: 613-617, 1975
- 7) Eidemiller, L. R., Nelson, J. C. and Porter, J. M.: Surgical treatment of chronic visceral ischemia. Am J Surg, 138: 264-268, 1979
- 8) 三島好雄, 井上敏直: 腹部外科領域における血管外科の意義. 外科治療, 48: 675-680, 1983
- 9) 三島好雄: 虚血性腸炎と急性腸間膜動脈閉塞症. 臨床消化器内科, 3: 1101-1108, 1988
- 10) 大串直太, 池田正尚, 木下誠一, 後藤 登, 大西克幸, 管 昇, 西村浩治, 井上賢二, 岩橋寛治, 曾我部仁史, 恒川謙吾: 急性腸間膜動脈閉塞症. 腹部救急医療の進歩, 6: 145-149, 1986
- 11) 八重樫寛治, 三島好雄: 虚血性腸疾患の取扱い. 臨床医, 14: 1792-1795, 1988
- 12) 多田祐輔, 上野 明: 腸管虚血と血管外科—いわゆる Abdominal angina について—. 外科治療, 48: 705-711, 1983
- 13) 林 四郎, 荻原迪彦, 山浦芳徳, 青地 一: 腸間梗塞症の治療—上腸間膜動脈血栓症を中心にして. 医学のあゆみ, 110: 389-397, 1979
- 14) 林 四郎, 荻原迪彦, 山浦芳徳, 青地 一: 急性腸間膜動脈閉塞症の病態とその治療. 外科治療, 42: 353-360, 1980
- 15) Clavien, P. A., Muller, C. and Harder, F.: Treatment of mesenteric infarction. Br J Surg, 74: 500-503, 1987
- 16) Ottinger, L. W.: The surgical management of acute occlusion of the superior mesenteric artery. Ann Surg, 18: 721-731, 1978
- 17) 林 四郎, 荻原迪彦, 沼田 稔, 山浦芳徳: 腸管の循環障害—その病態と修復過程(臨床的, 実験的研究). 脈管研究, 3: 7-16, 1978

- 18) Blum, H., Chance, B. and Buzby, G. P.: *In vivo* non invasive observation of acute mesenteric ischemia in rat. Surg Gynecol Obstet, 164: 409-414, 1987
- 19) 矢野 洋, 船曳孝彦, 落合正宏, 杉山勝美, 藤田真司, 山口 久, 松原俊樹, 亀井克彦, 三渡久智, 福井博志: 急性腸管虚血の新しい診断と治療. 腹部救急心療の進歩, 6: 29-32, 1986
- 20) Bounous, G., Brown, R. A., Mulder, D. S., Hampson, L. G. and Gurd, F. N.: Abolition of tryptic enteritis in the shocked dog. Arch Surg, 91: 371-375, 1965
- 21) Williams, L. F., Jr., Goldberg, A. H., Polansky, B. J. and Byrñe, J. J.: Myocardial effects of acute intestinal ischemia. Surgery, 66: 138-144, 1969
- 22) Lefer, A. M. and Barenholz, Y.: Pancreatic hydrazes and the formation of myocardial depressant factor in shock. Am J Physiol, 223: 1103-1109, 1972
- 23) 調 亟治, 釘宮敏定, 草場英介, 葉玉哲生, 賀来清彦, 黒岩正行, 福島健一, 高木正剛, 内田雄三, 牟田博夫: 開心術後 low out put syndrome の治療—ノルアド・POB 併用療法の検討—. 日本胸部外科学会雑誌, 26: 121-133, 1978
- 24) Norlén, K., Rentzhog, L. and Wikstroem, S.: Hemodynamic effects of phenoxybenzamine and volume replacement in segmental ischemia of the rat small intestine. Acta Chir Scand, 144: 299-305, 1978
- 25) 大同禮次郎, 恵谷 敏, 佐藤秀一郎, 諸富直文, 惟任 修, 鹿野 実, 今城茂良, 岡西 茂: 末梢血行障害に対する保存的療法—特に低分子デキストランと 纖維素溶解剤 との併用について—. 薬理と治療, 6: 163-170, 1978
- 26) Massion, W. H., Bluemel, G. and Peschl, L.: The role of proteolytic enzymes in refractory hypotension. New Aspect Trasylol Therapy, 5: 73-80, 1972
- 27) Horpacsy, G., Zinsmeyer, J., Schroeder, K. and Schnells, G.: Lysosomal and ATP Changes after renal stalk clamping in rats. I. Protective action of trasylol. Circ Shock, 4: 55-68, 1977
- 28) 対馬信子, 中山 龍: PGE<sub>1</sub> のヒト微小循環に対する影響について—主に末梢血管疾患症例について—. 現代医療, 17: 1107-1112, 1985
- 29) 宮川眞一, 荻原迪彦, 水野 正, 小林忠次郎, 林 四郎: 小腸広範切除術後の腸管機能と PGE<sub>1</sub> 投与—2 症例の臨床経過. 現代医療, 16: 872-876, 1984
- 30) Kauffman, G. L., Jr.: The role of prostaglandins in the regulation of gastric mucosal blood flow. Prostaglandins, 21: 33-38, 1981
- 31) Norlén, K., Rentzhog, L. and Wikstroem, S.: Hemodynamic effects of methylpredonisolone in rats subjected to segmental intestinal Ischemia. Acta Chir Scand, 144: 307-312, 1978
- 32) Norlén, K., Rentzhog, L. and Wikstroem, S.: The effect of dopamine in segmental ischemia of the rat small intestine. Acta Chir Scand, 144: 313-320, 1978
- 33) Brown, R. A., Chiu, C. J., Scott, H. J. and Gurd, F. N.: Ultrastructural changes in the canine ileal mucosal cell after mesenteric arterial occlusion. Arch Surg, 101: 290-297, 1970
- 34) Chiu, C. J., McArdle, A. H., Brown, R., Scott, H. J. and Gurd, F. N.: Intestinal mucosal lesion in low-flow states. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. Arch Surg, 101: 478-483, 1970
- 35) 名和 肇, 長田省一, 井上 仁, 中野 孚, 三枝光夫, 上甲泰弘, 湯本克彦, 小沢 靖, 佐藤正経, 福沢道夫, 大石 山, 相馬哲夫, 牧野惟義, 外野正巳, 大高裕一: 術前照射胃癌細胞の電子顕微鏡学的研究. 外科診療, : 321-325, 1976
- 36) Takaki, F., Suzuki, T., Yasuda, H., Ogawa, K., Aoyagi, S., Shimizu, Y. and Hagiwara, A.: Electron-microscopic cyto-histopathology (I) Studies on autolytic changes of ultra-cellstructures (Autolytic changes of pancreatic excretory cells, renal proximal convoluted tubules cells and liver cells of rat). Jikei Med J, 2: 27-59, 1955
- 37) 高本文一: 細胞傷害の超微形態学. 日病会誌, 53: 17-52, 1959



- 38) Sindeler, W. F., Tralka, T. S. and Gibbs, P. S. : Evidence for acute cellular changes in human hepatocytes during anesthesia with halogenated agents: An electron microscopic study. *Surgery*, 92 : 520-527, 1982
- 39) Watson, M. L. : Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J Biophys Biochem Cytol*, 4 : 475-478, 1958
- 40) Reynolds, E. S. : The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*, 17 : 208-212, 1963
- 41) Nagata, T. and Steggerda, F. : Histological study on the deganglionated small intestine of the dog. *Physiologist*, 6 : 242, 1963
- 42) Nagata, T. and Steggerda, F. : Observation on the increase of binucleate cells in the ganglion cells of the dog's intestine due to experimental ischemia. *Anat Rec*, 148 : 316, 1964
- 43) Nagata, T. and Steggerda, F. : The effect of ischemia on cell division in the columnar epithelium of the dog's small intestine. *Fed Proc*, 23 : 159, 1964
- 44) 荻原迪彦 : 広範な一過性腸管虚血による粘膜組織の障害とその修復過程-血行再開直後の補助療法の効果を含めて-. *信州医誌*, 29 : 687-706, 1981
- 45) Ghadially, F. N. : *Ultrastructural pathology of the cell*. pp. 1-229, Butterworths, London, 1975
- 46) 馬場文彦, 中江純夫, 石橋 修, 塚越 茂, 越川雅宏, 池田晃治 : 末梢血管閉塞性疾患に対するウロキナーゼ注オーツカの使用経験. *現代の診療*, 20 : 41-47, 1978
- 47) Leblond, C. P. : The time dimension in histology. *Am J Anat*, 116 : 1-27, 1963

(2. 9. 25 受稿)