



Title	人工血管に新生した内皮細胞の抗血栓性：門脈移植実験による検討
Author(s)	大竹, 節之
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第3789号
Issue Date	1996-03-25
DOI	10.11501/3111913
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/51302
Type	theses (doctoral)
File Information	000000297105.pdf



[Instructions for use](#)

①

人工血管に新生した内皮細胞の抗血栓性
—門脈移植実験による検討—

大竹節之

北海道大学医学部外科学第二講座
(指導 加藤紘之教授)

平成8年3月

人工血管に新生した内皮細胞の抗血栓性

— 門脈移植実験による検討 —

大竹節之

A n t i t h r o m b o t i c P r o p e r t y o f
N e w G r o w i n g E n d o t h e l i a l
C e l l s o n t h e P r o s t h e t i c
V a s c u l a r G r a f t s

— E x p e r i m e n t a l S t u d y o f
P o r t a l V e i n R e p l a c e m e n t —

S e t s u y u k i O h t a k e

T h e S e c o n d D e p a r t m e n t o f
S u r g e r y , H o k k a i d o U n i v e r s i t y
o f M e d i c i n e , S a p p o r o
0 6 0 , J a p a n

人工血管に新生した内皮細胞の抗血栓性に関する実験的検討

成犬を用いた門脈の人工血管置換実験において、high porosity (繊維長 $60\mu\text{m}$) EPTFE人工血管を用いて有茎大網で被覆することによって、良好な治癒過程が得られることが知られている。しかし、人工血管内面に新生した内皮細胞の抗血栓性については不明である。今回、抗血栓性因子であるPGI₂とNOの産生に関して検討を行った。成犬の門脈にhigh porosity ($60\mu\text{m}$) EPTFE人工血管を置換した。3ヵ月後に人工血管を摘出して、トリプシン処理により内皮細胞様細胞の採取培養を試みた。アセチル化LDLを用いてこれが新生内皮細胞であることを確認した。対照として、成犬の門脈及び下大静脈から採取培養した内皮細胞を使用した。各々の細胞から産生されるPGI₂の基礎産生量とトロンビン刺激による産生量をRIA法にて測定した。NO産生量はGriess'法にて測定した。PGI₂基礎産生量はグラフトと門脈、グラフトと下大静脈の間には有意差を認めなかった。トロンビン刺激産生量は基礎産生量より有意に増加した。トロンビン刺激産生量同士を比較するとグラフトと門脈、グラフトと下大静脈の間には有意差を認めなかった。NOに関しては、グラフトと門脈の間には有意差を認めなかったが、下大静脈との間には有意差を認めた。以上より、人工血管に新生した内皮細胞は、門脈や下大静脈の内皮細胞と比較して抗血栓性の点で大きく劣るということはなく、遜色の無い抗血栓性を発揮するものと考えられた。

Experimental Study on the Antithrombotic Properties of the Newly Growing Endothelial Cells on Prosthetic Vascular Grafts

On experimental portal vein replacement of mongrel dogs with high porosity EPTFE grafts (fibril length: $60\mu\text{m}$) wrapped in the omental pedicle flap, it has been reported that healing process is promoted. But it is not clear on the antithrombotic properties of the newly growing endothelial cells on prosthetic vascular grafts. PGI₂ and NO are known as antithrombotic factors that restrain the agglutination of platelets. We evaluated PGI₂ and NO production from the newly growing endothelial cells on prosthetic vascular grafts. High porosity EPTFE grafts were implanted at the portal veins of mongrel dogs. After 3 months we

removed the grafts and tried to procure the new growing endothelial cells by trypsinization and culture them. We confirmed by using Dil-Ac-LDL that endothelial-like cells on prosthetic vascular grafts were as same as the endothelial cells. As control cells, we used the endothelial cells of canine portal vein and infra vena cava. The basal PGI₂ production from each cells and the thrombin-stimulated production of PGI₂ were measured by radioimmuno assay. Thrombin concentration was established at 2 unit/ml. On the basal PGI₂ production there was no significant difference between the grafts and the portal veins, and between the grafts and the infra vena cava. The PGI₂ production of the grafts increased significantly by stimulating with thrombin. On the thrombin-stimulated production There was no significant difference between the grafts and the portal veins, and between the grafts and the infra vena cava. NO production of the grafts was measured by the Griess reaction. On NO production there was no significant difference between the grafts and the portal veins. But the grafts produced significantly more NO than the infra vena cava ($P < 0.05$). This study suggests that the newly growing endothelial cells on the prosthetic vascular grafts may have the antithrombotic properties equal to the endothelial cells on the portal vein and the infra vena cava.

Key words: Portal vein replacement, newly growing endothelial cells, antithrombotic properties, PGI₂ production, NO production

〔 緒 言 〕

近年，膵臓・胆道領域の門脈侵潤癌に対して門脈合併切除が積極的に行われるようになり，また門脈圧亢進症に対するシャント手術の際にも門脈系静脈の再建が必要となることがある．現在のところ一般的に，総・外腸骨静脈や頸静脈などを用いた自家静脈による再建が第一選択とされているが¹⁾，口径差や屈曲，圧迫，採取の困難性などの問題点があり，臨床的に満足できる開存性をもった人工血管の確立が強く望まれている．静脈再建によく用いられる人工血管として

expanded polytetrafluoroethylene (EPTFE) が臨床的，実験的にも検討されている²⁾が，諸家の報告では開存率の点と良好な内膜治癒が得られない点で必ずしも満足のいくものではなかった³⁾．そこで我々は，人工血管の開存性向上をめざして，犬を用いた実験的検討において人工血管の繊維長を通常の2倍にすることによって

マクロファージなどの細胞侵入を容易にし、さらに血流を温存したいわゆる有茎大網にて移植血管の全周を被覆することによって、大網の持つ治癒促進作用、免疫能、血管新生能に期待した。その結果移植血管の修復治癒が促進され、良好な開存性を得ることに成功した^{4) 5)}。しかし、人工血管内面に新生した内皮細胞様細胞の抗血栓性に関してはいまだ不明な点が少なくない。人工血管の長期開存性を得るには、この内面に新生した内皮細胞様細胞の持つ抗血栓性の検討が必要と思われ、今回筆者は、成犬の門脈に移植した人工血管より内皮細胞様細胞の採取、培養を試み、細胞から産生される抗血栓性因子であるプロスタサイクリン (PGI₂) と nitric oxide (NO) の定量的評価を行った。

[材料と方法]

実験は北海道大学医学部『動物実験に関する指針』に従って行った。

1. 人工血管移植

動物は雑種成犬（体重8～15kg）を使用した。麻酔は塩酸ケタミン10mg/kgの筋注とサイアミラールナトリウム10～15mg/kgの静脈内投与で導入した後，気管内挿管調節呼吸下にサイアミラールナトリウムで維持した。上腹部山型切開で開腹し，門脈を肝門部から脾静脈流入部まで剥離露出した。胃十二指腸静脈を結紮切離した後，門脈を約2cm切除して人工血管にて置換した。使用した人工血管は，Technograftと同様の壁構造を有するEPTFEでらせん状に外側補強してあり，長さ4cm，内径8mmで繊維長は，臨床で通常用いられている2倍の長さの60μmである（Fig 1）。吻合は，6-0 polypropylene糸を使用し連続縫合による端々吻合を行った。門脈遮断前に100単位/kgのヘパリンナトリウムの静脈内投与を行い，中枢側吻合時は門脈血行遮断時間を短縮するために門脈下大静脈間にシャントチューブをおいた。最後に，右胃大網動脈の

血行を温存するようにして，大網の右側約3分の1を人工血管の全周に被覆した（Fig 2）．術当日と翌日のみ抗生剤を使用した．術後の抗凝固療法は一切行わなかった．

2．内皮細胞様細胞の採取培養

3ヵ月後に犠牲死させ，人工血管の両端を結紮して摘出した．その際吻合部は含まないように注意した．人工血管にQuick-cath 22 G（Baxter社製）を挿入し，内腔をヘパリン加生理食塩水にて洗浄した後トリプシン液を注入して20分間静置した

（Fig 3）．その後脱落した細胞を含んだトリプシン液を回収した．同様の操作を2度繰り返した．採取した細胞は，6穴プレート（Corning社製）を用いて20%ウシ胎児血清を含むRPMI 1640培地にて37度で培養した．細胞はconfluentになるまで培養し，継代が1代ないし2代までの細胞を使用した．

対照として，成犬の門脈と下大静脈より上

記と同様の方法でトリプシン液を用いて採取培養した内皮細胞を使用した。継代も同様に1代ないし2代までとした。

3. 評価方法

a) 光顕的観察

人工血管から採取培養した細胞を光顕的に門脈，下大静脈の内皮細胞と比較検討を行い，アセチル化LDL (DiI-Ac-LDL)⁶⁾にて培養した細胞が内皮細胞であることを確認した。

b) PGI₂定量

confluentになるまで培養した細胞を，phosphate-buffered saline (PBS)にて洗浄した後，無血清のRPMI 1640，3 mlにて5分，10分，30分間培養した。その際，PBSやRPMIの温度，培養温度は37度に統一した。培養液を回収し，PGI₂の最終安定産物である6-keto-PGF_{1α}の培養液中の濃度をRIA法⁷⁾にて測定した。最後に各々の細胞数を

数えて細胞あたりの産生量を算出し、これを基礎産生量とした。次に別の $w e 1 1$ の細胞を P B S にて洗浄した後トロンビン (2 単位 / $m l$) の入りの無血清培養液にて同様に 5 分、10 分、30 分間培養した後同様に細胞あたりの $6 k e t o - P G F 1 \alpha$ の濃度を測定した。これをトロンビン刺激産生量とした。

c) $N O$ 定量

1×10^5 個の培養細胞を無血清の R P M I 1640 培養液中で 37 度で 48 時間培養し、 $N O$ の代謝産物である $N O_2^-$ の液中濃度を G R I E S S 法⁸⁾ にて測定した。

なお統計学的検討は、数値を (平均値) \pm (標準誤差) にて標記し、有意差検定には W i l c o x o n 検定を使用した。危険率 5 % 以下を有意差ありと判定した。

[結果]

a) 光顕的観察

36頭を犠牲死させ、そのうち2頭を組織標本用に使用し、残りの34頭中19頭に内皮細胞様細胞の採取が可能であった。

3か月後に摘出した人工血管の内腔面の肉眼所見を示す (Fig 4 (a))。内膜の線維性肥厚は見られるが、血栓の付着や血栓が器質化されたと思われる様な所見は認められなかった。ほぼ全面にわたり白色で光沢のある仮性内膜の新生を認めた。新生仮性内膜の組織像を示す (Fig 4 (b), (c))。H. E 染色像では、内面最上層に一層の内皮細胞様細胞が配列しているのを認めた。A Z A N 染色像では仮性内膜全体にわたり良好な線維化を認めた。

人工血管から採取した内皮細胞様細胞と門脈から採取した内皮細胞を R P M I 1 6 4 0 培地にて c o n f l u e n t になるまで培養増殖した (Fig 5 (a), (b))。いずれも N / C 比が大きく、多角形の胞体を持ちそれが敷石状に配列されていた。培養した細胞は、D i l -

A c - L D L にて胞体を赤色に発色させて内皮細胞であることを確認した (F i g 6) .

D i l - A c - L D L は , 線維芽細胞や平滑筋細胞には陰性で内皮細胞に陽性に標識される蛍光抗体である . また , ここで内皮細胞の p u r i t y が 7 0 % 以下のものはこれからの測定には使用しなかった .

b) P G I 2 産 生 量

門脈内皮細胞の P G I 2 基礎産生量は , 5 , 1 0 , 3 0 分値で各々 3.5 ± 1.1 , 7.6 ± 1.8 , 7.9 ± 1.1 p g / 1×10^4 個であった . また , 下大静脈内皮細胞の P G I 2 基礎産生量は , 3.3 ± 0.8 , 6.8 ± 1.1 , 6.9 ± 1.3 p g / 1×10^4 個であった . それに対して人工血管の内皮細胞の基礎産生量は 6.4 ± 2.3 , 10.2 ± 2.5 , 10.0 ± 1.9 p g / 1×10^4 個であった (F i g 7) .

人工血管と門脈 , 下大静脈の P G I 2 基礎産生量とはいずれも有意差を認めなかったが , 全体的に人工血管のほうが門脈や下大静脈と

比較して産生量が多い傾向にあった。

各々の内皮細胞をトロンピンで刺激した場合の産生量は，門脈内皮細胞で5，10，30分値は各々28.7 ± 6.1，43.6 ± 3.3，41.4 ± 6.9 pg / 1 × 10⁴個であった。また，下大静脈内皮細胞で，36.4 ± 9.8，50.6 ± 7.1，75.8 ± 12.9 pg / 1 × 10⁴個といずれの値も基礎産生量と比較すると当然のことながら有意に上昇していた。また，人工血管の内皮細胞のトロンピン刺激産生量も33.4 ± 4.8，60.1 ± 13.8，68.0 ± 11.0 pg / 1 × 10⁴個と静脈の内皮細胞の場合と同様に有意に産生量の増加を認めた (Fig 8)。次に門脈，下大静脈と人工血管内皮細胞の刺激産生量同士を比較したが，各々に有意差は認められなかった (Fig 9)。

c) NO 産生量

48時間後の培養液中のNO₂⁻量は，門脈で22.9 ± 7.4 μM，下大静脈で14.48 ± 3.5 μM，人工血管で32.1 ± 8.5 μMで

あり，人工血管と門脈の間では有意差を認めなかったが，人工血管と下大静脈の間には有意差を認めた (F i g 1 0) 。

[考 案]

近年の消化器外科の進歩に伴い，肝胆膵領域悪性腫瘍に対してより根治性の高い拡大術式が安全に施行されるようになった。その際の門脈合併切除も積極的に行われるようになった^{1) 2)}。また，門脈圧亢進症に対するシャント手術として遠位脾腎静脈シャント，左胃静脈・下大静脈シャントなどが門脈系静脈に対して行われている^{9) 10)}。現在、一般に門脈系静脈の血行再建には腸骨静脈や内頸静脈，脾静脈，伏在静脈のような自家静脈が第一選択であるが，実際には，径や長さの不適合，屈曲や圧迫に対する脆弱性，採取の煩雑さなどが問題になることが少なくない。代用血管として十分な開存が期待できる人工血管が開発されれば，手術手技も一段と簡便なものになり，積極的に使用されることが期待

できる。静脈再建用の人工血管として E P T F E が実験的にも臨床的にも検討されている^{3) 11)}。しかし、大熊^{1 2)}のイヌを用いた実験での開存率は82%で、急性閉塞をおこせば致命的となる門脈の血行再建においては必ずしも満足のいく成績とは言えず、実際、臨床においても同様であった^{2) 3)}。そこで良好な壁交通性を持つ繊維長が通常の2倍のいわゆる High porosity E P T F E (60 μ m) 人工血管^{1 3) 1 4)}を使用し、創傷治癒作用をもつ有茎大網法を併用することにより、良好な修復治癒および抗感染性が得られることが期待されている。従来、静脈系のような低圧、低流速下においては抗血栓性が重視されているが、人工血管に新生した内皮細胞様細胞自体の持つ抗血栓性に関してはいまだ不明な点が少なくない。内皮細胞からは P G I 2 をはじめとして N O や t - P A , t h r o m b o m o d u l i n など様々な抗血栓性因子が放出される^{1 5)}が、P G I 2 はそ

のなかでも特に重要な物質として知られている¹⁶⁾。P G I 2 は、細胞膜を構成するリン脂質から産生されるアラキドン酸からいわゆるアラキドン酸カスケードを経て生成され、強力な血小板凝集抑制作用や血管平滑筋弛緩作用を発揮する。しかし、極めて不安定な物質であり、半減期は2分で6 k e t o - P G F 1 α へと不活化される¹⁷⁾。移植血管からのP G I 2 産生に関しては中山らは、自家静脈を動脈に移植した場合、静脈の内皮細胞は移植された環境に合わせて徐々に動脈化してP G I 2 産生能が亢進する¹⁸⁾と述べているが、逆に移植後内皮細胞機能が低下するという報告も散見される^{19) 20) 21)}。また、B u d d らは、内皮細胞を人工血管にs e e dして動脈に移植した場合、人工血管のP G I 2 産生量は動脈の内皮細胞に劣るとしている²²⁾。しかし、人工血管に新生した内皮細胞を単離培養してそのP G I 2 やN Oなどの抗血栓性因子の産生に関する報告はなく、その機能に関して

はいまだ不明のままである。

人工血管に新生した内皮細胞様細胞の抗血栓性を調べるには、内皮細胞様細胞の採取培養が必要であった。なぜなら人工血管の細片をそのままヘパリン生食に浸して P G I 2 産生を調べる方法は、内皮細胞以外の細胞、例えば平滑筋細胞から産生される P G I 2^{2,3)}^{2,4)} も測定する可能性があったと思われた。また N O の場合もマクロファージからの産生量も測定される可能性があった。またその細片の中にどれくらいの内皮細胞が含まれているのかが不明である。成犬 34 頭のうち 19 頭にトリプシン液による内皮細胞の採取が可能であったが、さらに効率の良い方法が望まれた。採取ができなかったものの理由としては、細胞採取の技術的未熟さ、仮性内膜肥厚のための内腔表面積減少による内皮細胞数自体の減少、c o n t a m i n a t i o n 等が考えられた。今までは文献的に、人工血管内面の最表層に一層に新生した細胞を内皮細

胞様細胞と呼んでいる²⁵⁾²⁶⁾が、トリプシン液により採取され、DiI-Ac-LDLによって確認された内皮細胞がそれに当たるものと思われた。

EPTFE人工血管に新生した内皮細胞のPGI₂基礎産生量は、門脈や下大静脈の場合と比較しても有意差は認められず、むしろ人工血管の産生量の方が高い傾向にあった。内皮細胞は動脈と静脈のように存在する部位によりその環境に合わせた機能を発揮することが知られている。したがって、新生した内皮細胞の機能が移植後3ヵ月を経ても全体的に機能が活性化されたままか、または手術の影響による炎症等の局所的な環境の変化に対応したためと考えられた。また10分値と30分値では産生量に上昇はみられず、10分の時点ですでにplateauに達していた。一過性の速やかなPGI₂産生はホスホリパーゼA₂の活性化に伴って生じ¹⁷⁾²⁷⁾、酵素活性は細胞質内遊離Ca²⁺濃度に依存し²⁸⁾、

一連の反応が10分の時点でほぼ完結したためと考えられた。これはH U V E Cの場合と同様であった¹⁷⁾。トロンビンで刺激した時のP G I 2産生量は、他の静脈の場合と同様に基礎産生量の5倍以上の有意な増加を示した。また刺激産生量同士を人工血管と静脈で比較しても有意差は認められなかった。内皮細胞にはトロンビンレセプターの存在が知られており、これを介してP G I 2の産生が行われる。トロンビン2単位/m lはかなりの高濃度であり、レセプターを介するP G I 2の産生の限界能を示していると思われるが、人工血管に新生した内皮細胞はその点においても遜色のない機能を発揮するものと思われた。

N OはL-アルギニンからN O合成酵素(N O S : n i t r i c o x i d e s y n t h a s e)を介して生成される。1980年に血管内皮細胞から放出される構造不明の血管弛緩物質(E D R F : e n d t h e l i u m r e l a x i n g

f a c t o r) として発見されて以降²⁹⁾、神経伝達作用、心筋収縮力制御作用、細胞傷害作用等様々な働きをすることがわかってきたが、血小板凝集抑制作用もあることが明らかになっている。NOが血栓形成抑制にどの程度まで関与しているかは不明であるが、いわゆるズリ応力依存性のNO産生放出機構が明らかにされてきたように³⁰⁾³¹⁾、血栓形成性の状況下に果たすNOの役割は大きいものと考えられる。今回の検討では、人工血管に新生した内皮細胞のNO産生は門脈の内皮細胞と有意差を認めず、下大静脈と比較すると有意に高かった。これは、PGI₂の場合と同様に新生内皮細胞のNO産生能がある程度活性化されているためと推察される。

これらの結果を総合すると、有茎大網被覆によるHigh porosity EPTFE人工血管移植術において、移植3か月後はほぼ全面にわたって内皮細胞が新生し、仮性内膜自体も線維化がかなり進行しており、治癒と言う

点ではすでに完了しているが、内皮細胞の機能面でも少なくとも抗血栓性においては遜色のない働きをしていることが推察される。これらの確信を得るには、今後さらに血流モデルでの検討が必要と思われた。同等の抗血栓人工血管の長期開存と言う点においては局所の炎症の存在や吻合部の内皮細胞の傷害、吻合部狭窄、乱流形成、壁すり応力等様々な因子が絡み合ってくるが、少なくとも新生内皮細胞の機能低下による血栓傾向の助長はないものと考えられる。

【 結 語 】

1. 有茎大網被覆 High porosity EPTFE人工血管による門脈置換実験において新生した内皮細胞の単離培養を試みた。
2. 移植後3カ月の時点では光顕上ではすでに治癒過程は完了していた。
3. 人工血管に新生した内皮細胞のPGI₂基礎産生量やトロンビン刺激産生量は門脈や下

大静脈の場合と同等の産生量を示した。

4. NOも門脈や下大静脈の場合と比較しても遜色のない産生量を示した。

5. 以上より, EPTFE人工血管に新生した内皮細胞は正常静脈内皮細胞と同等の抗血栓性を獲得していることが示唆された。

【謝辞】

稿を終えるにあたり, 御指導, 御校閲を賜
わりました恩師, 加藤紘之教授に深く感謝申
し上げます。また, 常々御指導いただいた高
橋利幸講師, 西部俊哉博士に感謝申し上げます。
懇切な御指導御助言を賜わりました同病
理学第一講座 石倉 浩講師, 吉木 敬教授
に感謝申し上げます。また御協力いただいた
教室員諸氏, 動物実験施設職員各位に心より
お礼申し上げます。

- 文 献
- 1) 下 沢 英 二 , 加 藤 紘 之 , 直 江 和 彦 ,
高 橋 利 幸 , 中 島 公 博 , 道 家 充 ,
奥 芝 俊 一 , 岡 安 健 至 , 田 辺 達 三
(1 9 9 3) : 膵 癌 ・ 胆 管 癌 に お け る 門 脈
合 併 切 除 症 例 の 検 討 . 静 脈 学 4 : 7 1 -
7 7 .
 - 2) 田 中 紘 輝 , 古 川 勉 , 西 俊 平 (1 9 9 1)
: 人 工 血 管 (G o r e T e x) を 用 い た 門 脈
再 建 4 例 の 経 験 - 進 行 膵 癌 に 対 し て - .
胆 と 膵 , 1 2 : 1 0 3 - 1 0 6 .
 - 3) N o r t o n L , E i s e m a n B (1 9 7 5) :
R e p l a c e m e n t o f p o r t a l v e i n
d u r i n g p a n c r e a t e c t o m y f o r
c a r c i n o m a . S u r g e r y , 7 7 : 2 8 0 -
2 8 4 .
 - 4) 岩 代 望 (1 9 9 5) : 門 脈 再 建 用 人 工 血
管 と し て の 大 網 被 覆 H i g h - p o r o s i t y
e x p a n d e d
p o l y t e t r a f l u o r o e t h y l e n e グラ

フトの有用性に関する実験的検討，脈管学，7：497-504.

- 5) 西部俊哉，岩代望，佐藤兆昭，平野聡，佐藤幸作，武山聡，大竹節之，宗村忠信，田中栄一，本原敏司，加藤紘之，奥田泰弘，山之内昭介，田辺達三(1995)：代用血管による門脈系静脈の血行再建．静脈学，6：301-305.
- 6) Voyta J. C, Netland P. A, Via D. P, Zetter B. R (1984) : Specific labeling of Endothelial Cells using Fluorescent Acetylated - Low Density Lipoprotein. J. Cell Biology, 99: 81-86.
- 7) Powell W. S (1980) : Rapid Extraction of Oxygenated Metabolite of Arachidonic Acid from Biological

S a m p l e s U s i n g

O c t a d e c y l s i l y l S i l i c a .

P r o s t a g l a n d i n s , 2 0 : 9 4 7 - 9 5 7 .

8) G r e e n L . C , W a g n e r D . A .

G l o g o w s k i J , S k i p p e r P . L ,

W i s h n o k J S , T a n n e n b a u m S R

(1 9 8 2) : A n a l y s i s o f

n i t r i t e , n i t r i t e a n d

[¹⁵ N] n i t r i t e i n b i o l o g i c a l

f l u i d s . A n a l . B i o c h e m . 1 2 6 :

1 3 1 - 1 3 8 .

9) K a t o h H , S i m o z a w a E ,

K o j i m a T , T a n a b e T (1 9 8 9) :

M o d i f i e d s p l e n o r e n a l s h u n t

w i t h s p l e n o p a n c r e a t i c

d i s c o n n e c t i o n . S u r g e r y , 1 0 6 :

9 2 0 - 9 2 4 .

1 0) 上 林 純 一 , 川 崎 富 夫 , 森 武 貞 (1 9 9 3)

: 人 工 血 管 を 用 いた 左 胃 静 脈 ・ 下 大 静 脈

シ ャ ン ト . 外 科 臨 床 , 6 8 : 1 1 2 4 -

1128 .

- 11) 木村泰三, 松本博志, 杉浦光雄 (1976)
: Expanded polytetrafluoro-
ethyleneの人工血管への応用、門脈
系への応用、poreと仮性内膜について。
人工臓器, 5: 85-89.
- 12) 大熊恒郎 (1984) : Expanded
polytetrafluoroethylene 人工
血管による門脈再建術一特に治癒過程の
検討。日外会誌 85: 1558-1569.
- 13) Clowes A W, Kirkman T R,
Reidy M A (1986): Mechanism
of arterial graft healing.
Rapid transmural capillary
ingrowth provides a source
of intimal endothelium and
smooth muscle in porous
PTFE prosthesis.
Am. J. Pathol., 123: 220-230.
- 14) Golden M A, Hanson S R,

- Kirkman TR, (1990) :
Healing of
polytetrafluoroethylene
arterial grafts is
influenced by graft
porosity. J. Vasc. Surg., 11:
838-845.
- 15) 小山高敏, 青木延雄 (1994) : 内皮細胞
と血栓形成. 医学のあゆみ 170 : 492 -
495.
- 16) Moncada S (1982) : Biological
importance of prostacyclin.
Br. J. Pharmacol 76 : 3-31.
- 17) 中川雅夫, 澤田昌平 (1994) : 血管内
皮細胞における PGI₂ 産生の制御調節機
構 - 細胞内情報伝達との関連 -. 血管
17 : 115-124.
- 18) 中山一雄 (1992) : 自家静脈グラフト
の Prostacyclin 産生能. 日外会誌,
10 : 1341-1346.

- 19) Bush HL, Jakubowski JA,
Curl GR (1986): The natural
history endothelial
structure and function in
arterialized vein grafts.
J. Vasc. Surg., 3: 204 - 209.
- 20) Cross KS, El-Sanadiki MN,
Murry JJ (1988): Functional
abnormalities of
experimental autogenous
vein graft neoendothelium.
Ann. Surg. 208: 631 - 635.
- 21) Castellarnau C, Cullare C,
Lopez S (1989): Prostacyclin
and thromboxane production
by autogenous femoral
veins grafted into the
arterial circulation of the
dog. Thrombosis
Haemostasis, 61: 279 - 284.

- 22) Budd JS, Allen K, Hartley J,
Walsh A, James RFL,
Bell PRF (1992):
Prostacyclin production
from seeded prosthetic
vascular grafts. Br. J. Surg.
79: 1151-1153.
- 23) Baenzinger NL, Becherer PR
Majerus PW (1979):
Characterization of
prostacyclin synthesis in
cultured human arterial
smooth muscle cells, venous
endothelial cells and
fibroblast. Cell, 16: 967-971.
- 24) Larrue J, Rigaud M, Daret D,
(1980): Prostacyclin
production by cultured
smooth muscle cells from
atherosclerotic rabbit

- aorta. Nature, 285: 480 - 484.
- 25) Noishiki Y, Tomizawa Y,
Yamane Y, Matsumoto A
(1994): Effectiveness of
fragmented autologous
adipose tissue as a sealer
of porous textile grafts:
Effect on endothelial
development. J. Vasc Surg, 20
: 279 - 287.
- 26) Stewart MS, Melissa GB,
Lee RG, Ernest TA (1994):
The role of circulating
cells in the healing of
vascular prostheses. J. Vasc.
Surg, 19: 585 - 593.
- 27) 藤本正文, 有田 斎 (1993): 血管内皮
細胞におけるプロスタサイクリン産生調
節機序. 血管と内皮, 3: 63 - 71.
- 28) Ono. T, Tojo H, Kuramitsu S,

K a g a m i y a m a H , O k a m o t o M
(1 9 8 8) : P u r i f i c a t i o n a n d
C h a r a c t e r i z a t i o n o f a
M e m b r a n e - a s s o c i a t e d
P h o s p h o l i p a s e A 2 f r o m R a t
S p l e e n . J . B i o l . C h e m . , 2 6 3 :
5 7 3 2 - 5 7 3 8 .

2 9) F u r c h g o t t R F , Z a w a d z k i J V
(1 9 8 0) : T h e o b l i g a t o r y r o l e
o f e n d o t h e l i a l c e l l s i n t h e
r e l a x a t i o n o f a r t e r i a l
s m o o t h m u s c l e b y
a c e t y l c h o l i n e . N a t u r e , 2 8 8 :
3 7 3 - 3 7 6 .

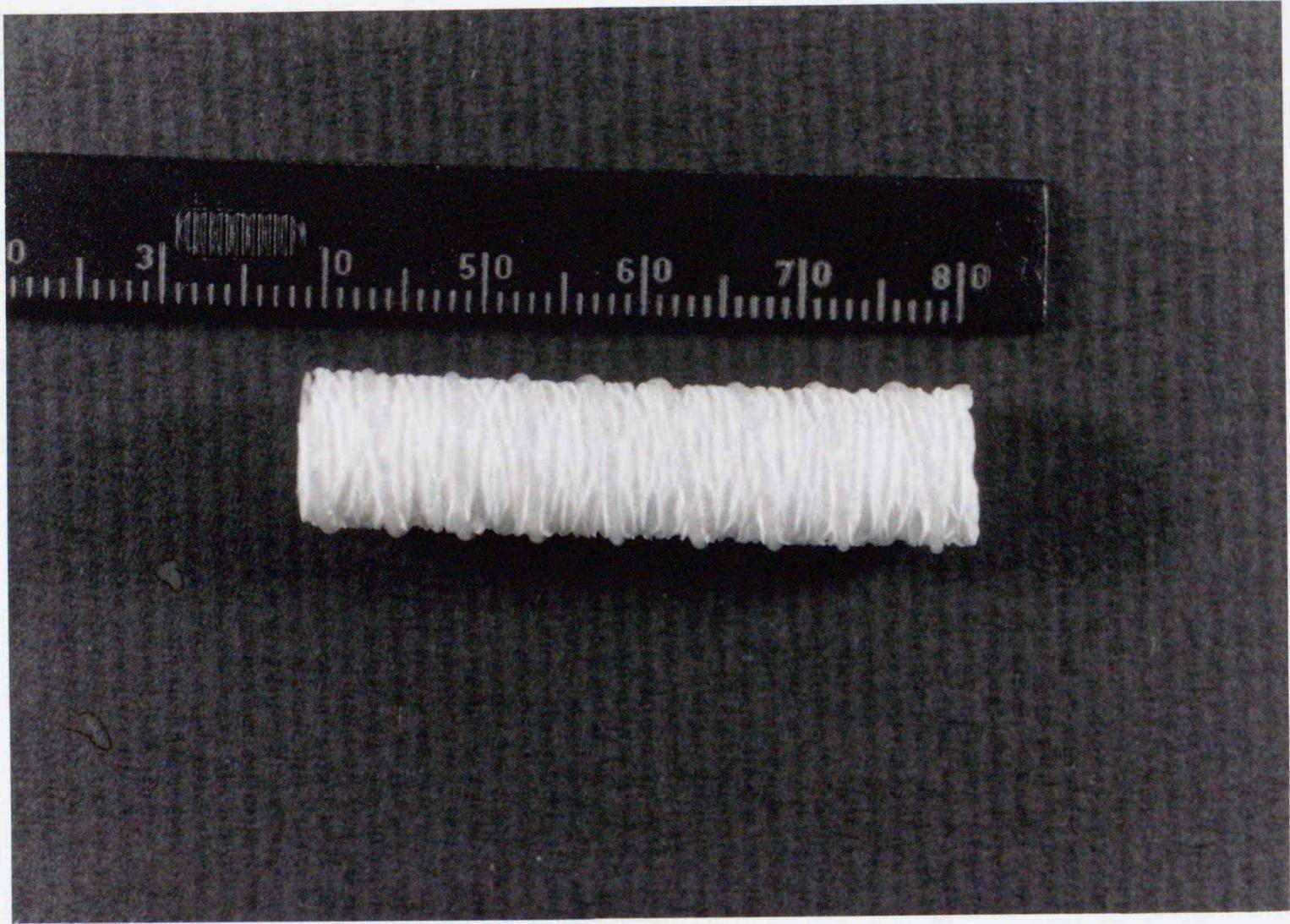
3 0) H u t c h e s o n I R , G r i f f i t h T M
(1 9 9 4) : H e t e r o g e n e o u s
p o p u l a t i o n s o f K^{+} c h a n n e l s
m e d i a t e E D R F r e l e a s e t o
f l o w b u t n o t a g o n i s t s i n
r a b b i t a o r t a . A m . J . P h y s i o l

1 1 3 : 1 9 0 - 1 9 4 .

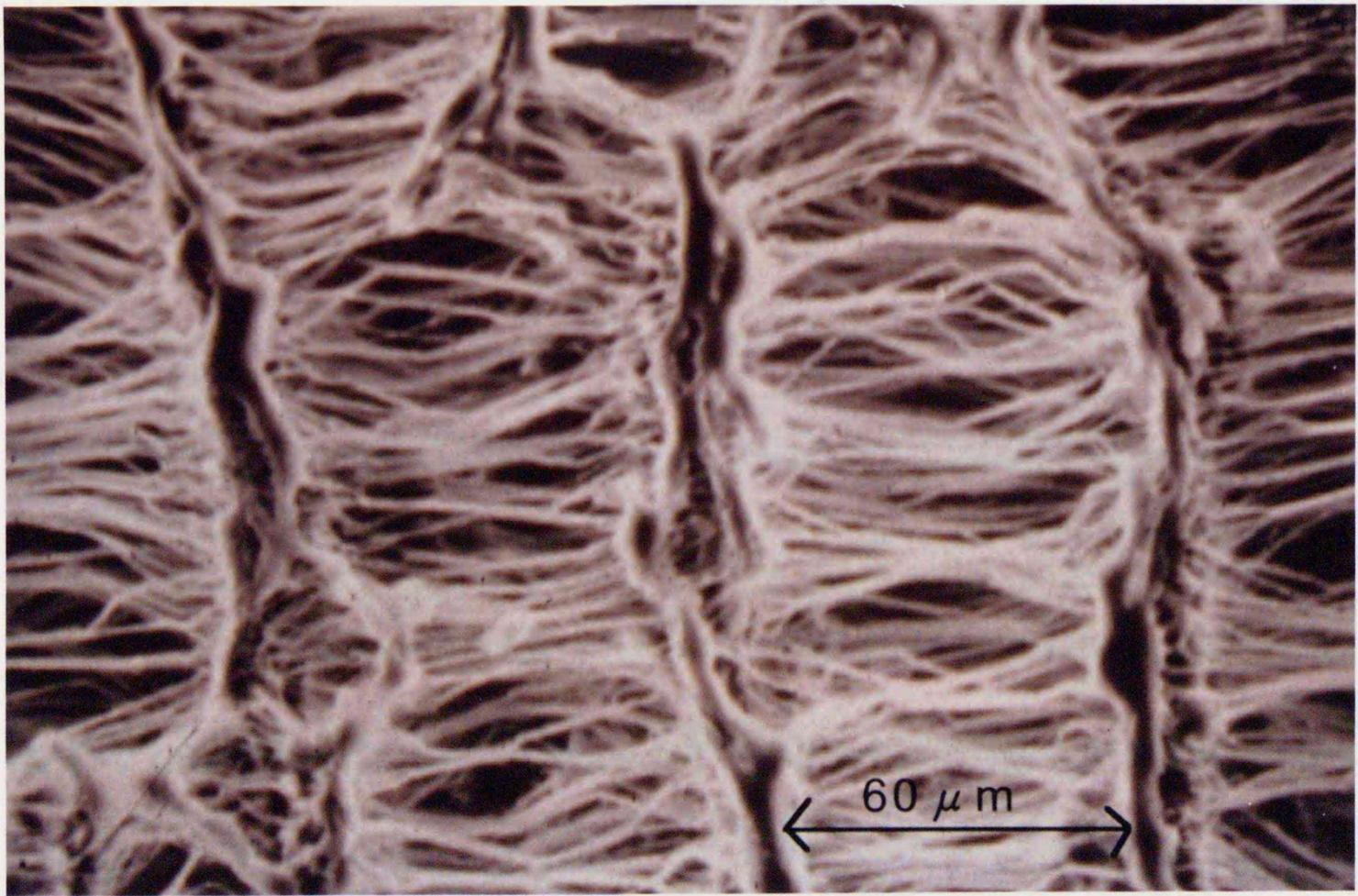
3 1) 安 藤 讓 二 (1 9 9 4) : S h e a r s t r e s s と

内 皮 細 胞 . 医 学 の あ ゆ み , 5 : 5 1 7 -

5 2 1 .



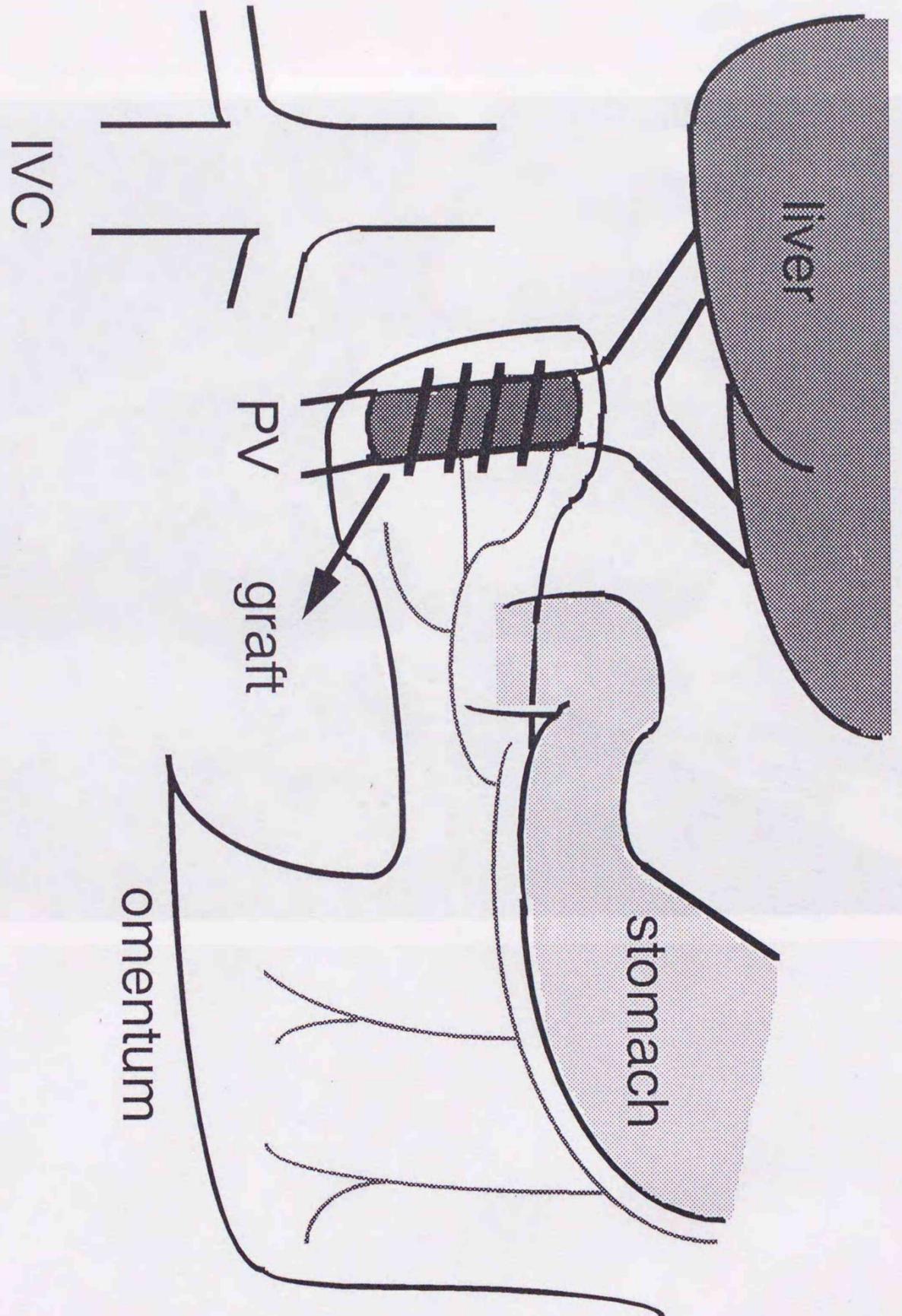
(a)



(b)

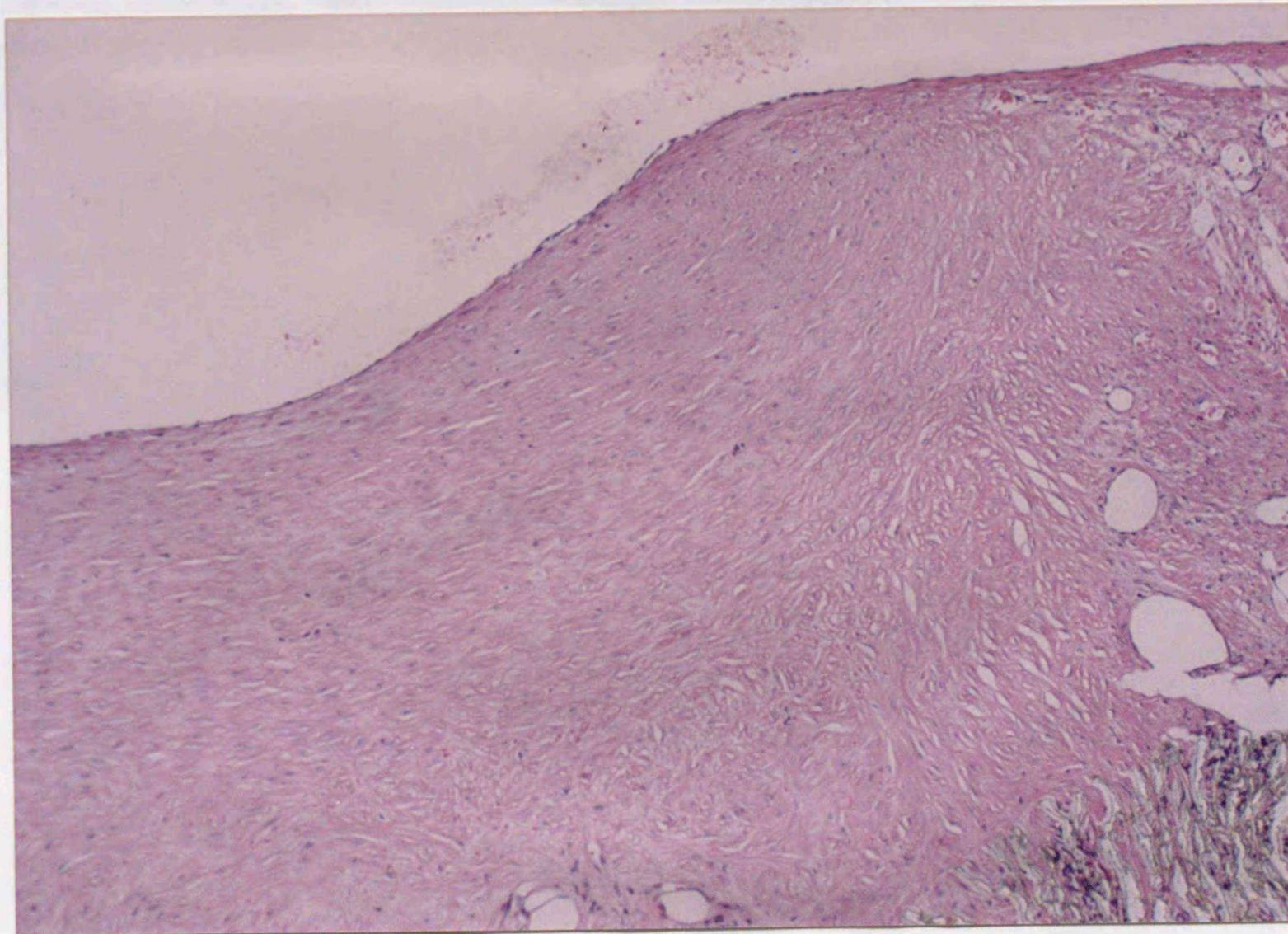
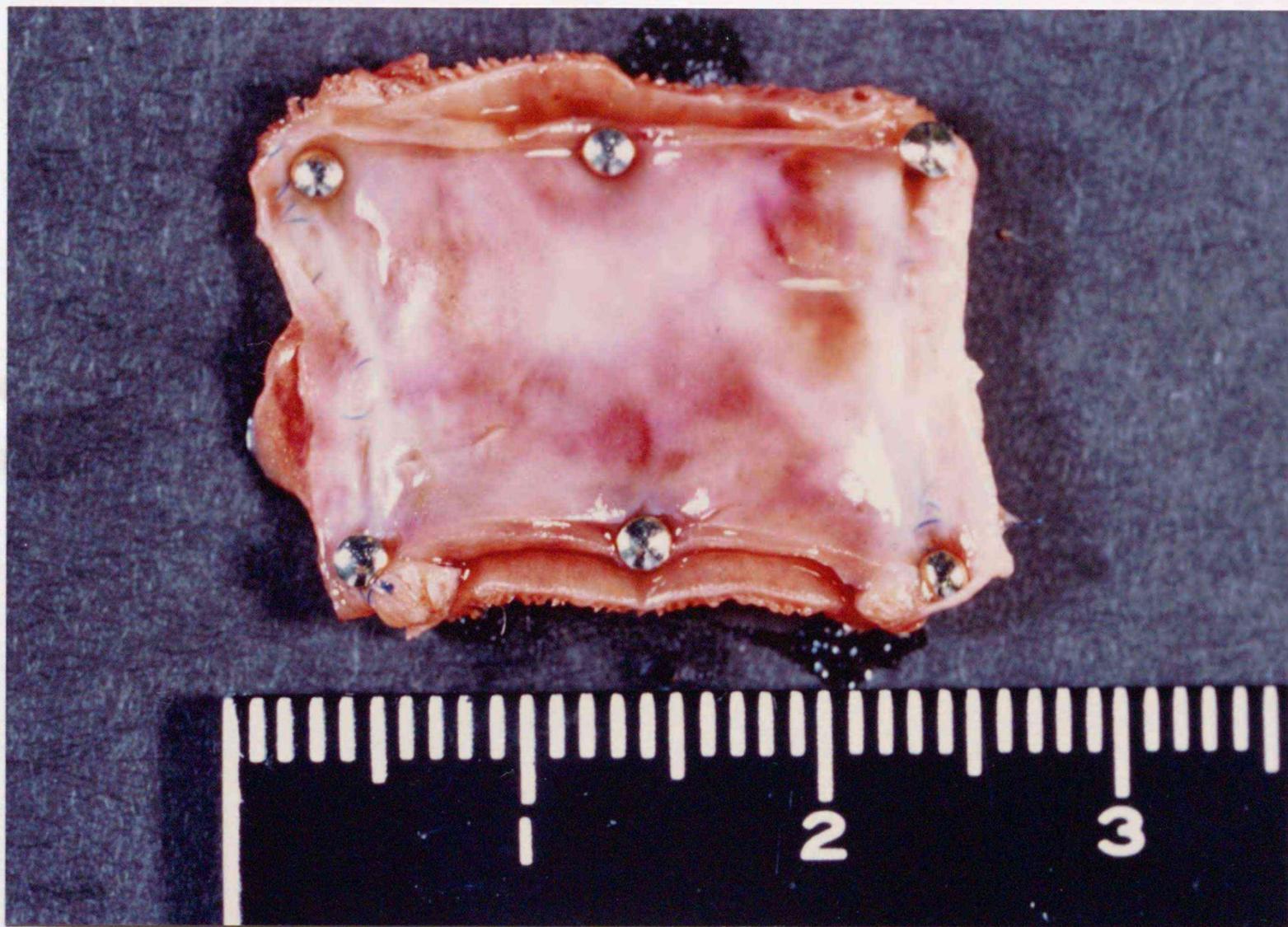
人竹 綱之 Fig I (a) (b)

大肝 肝臓 Fig 2

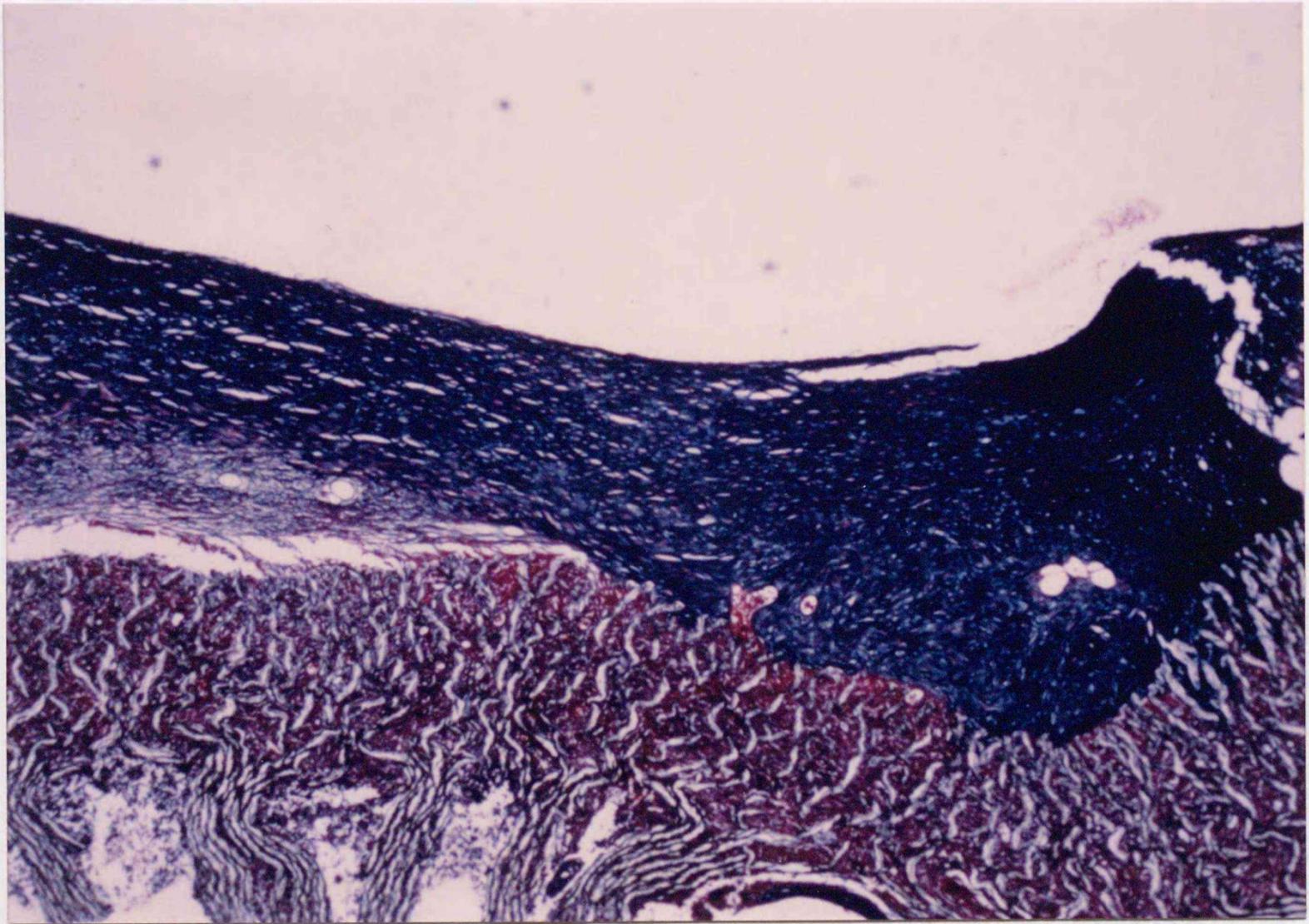




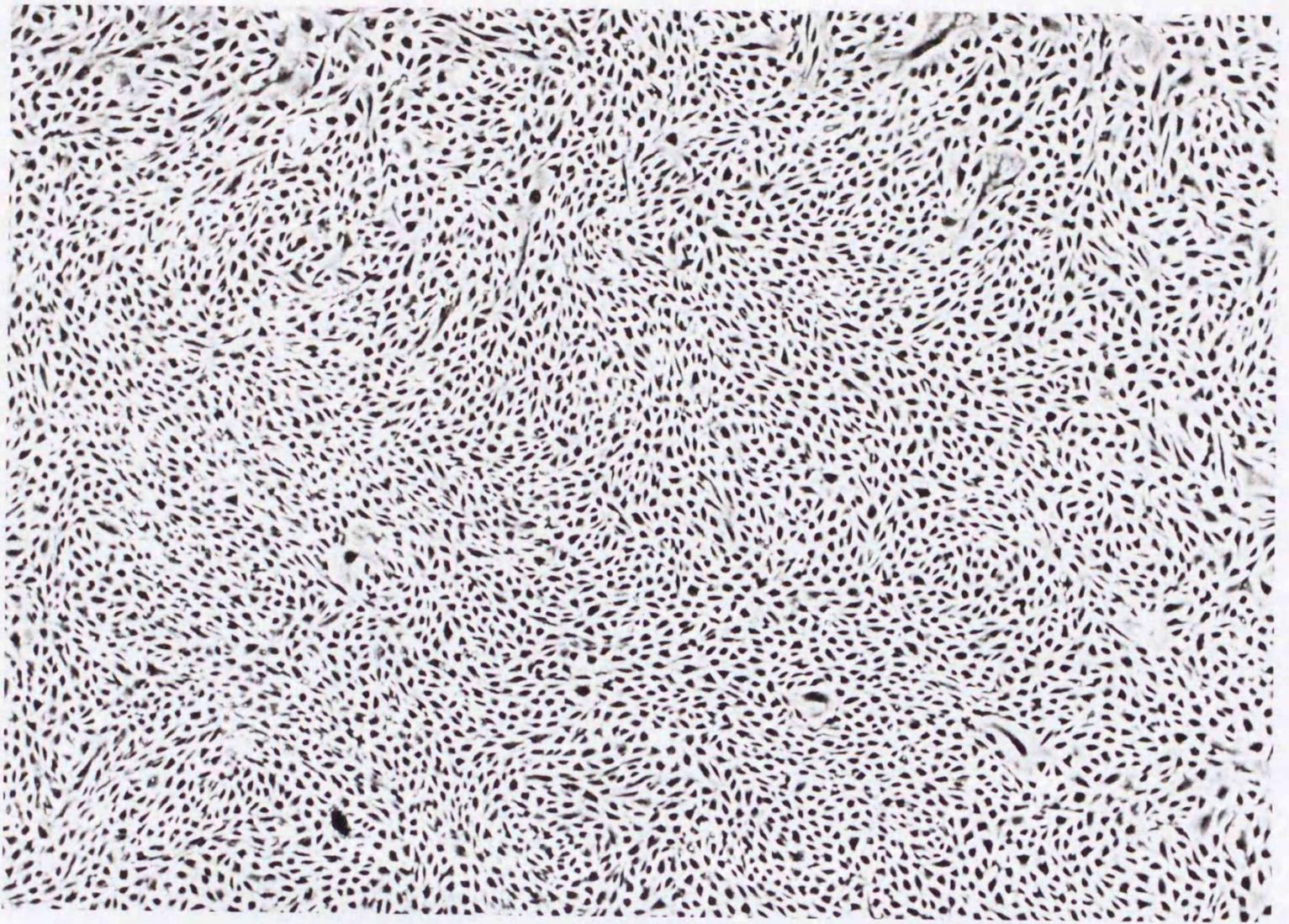
大野 昭二 氏 3.



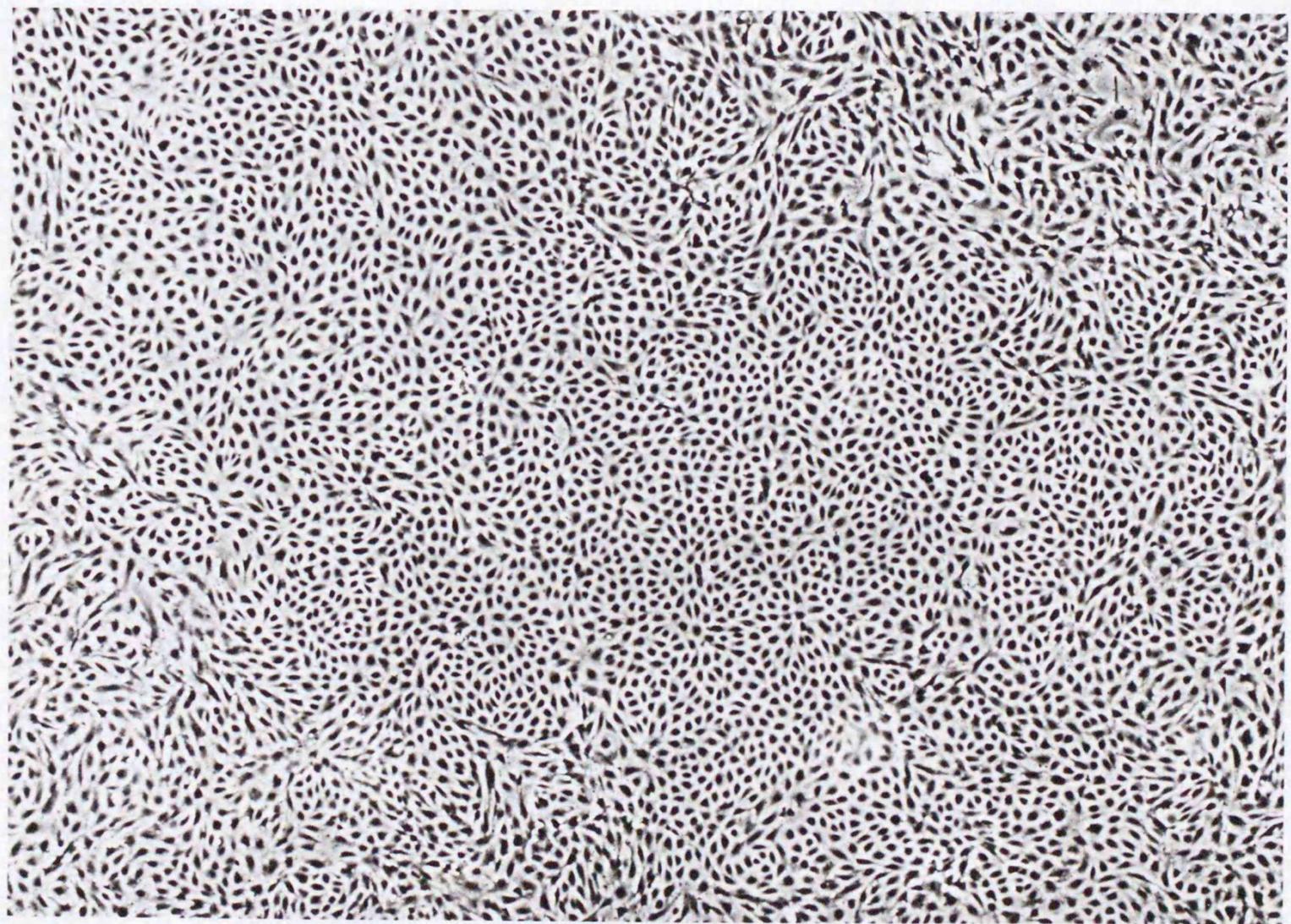
大竹 節之 Fig 4(a), (b)



植物组织 Fig 4(10)

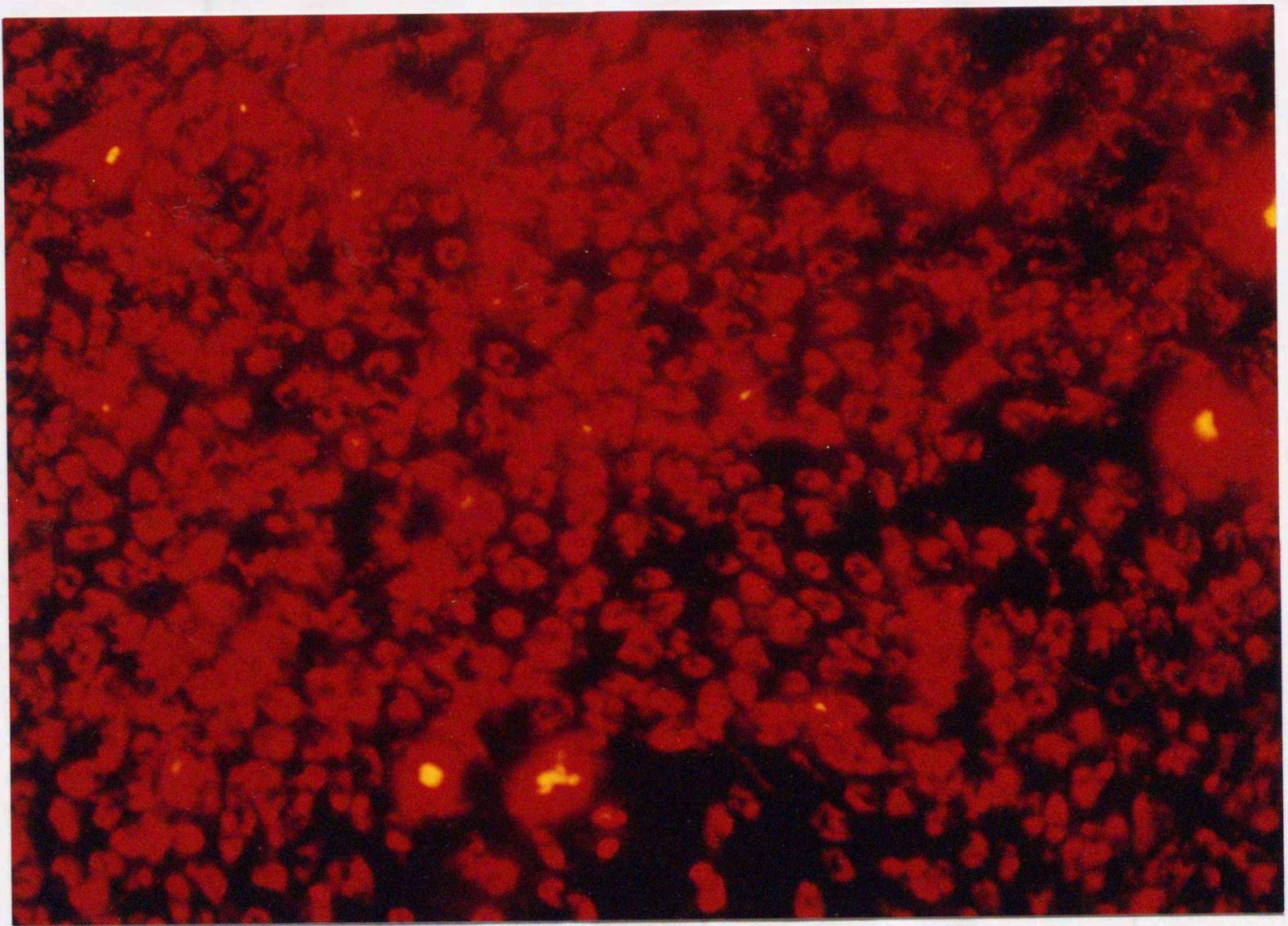


(a)



(b)

大野 昭之 Fig 5 (a) (b)



大分子之

Fig 6.

quantin-8
PV(n=8)
N/C(n=8)

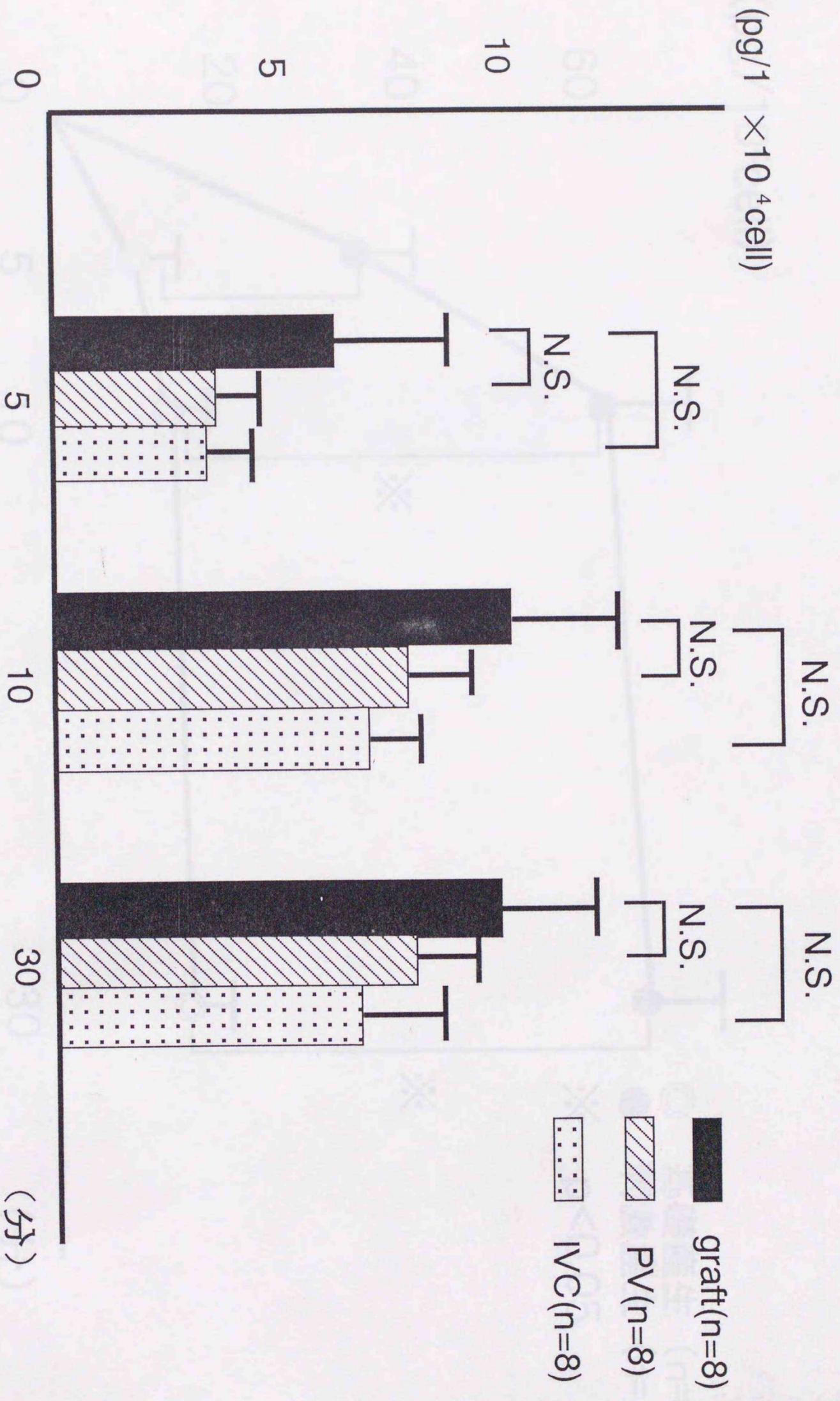


Fig 7

大野 研二 Fig-7

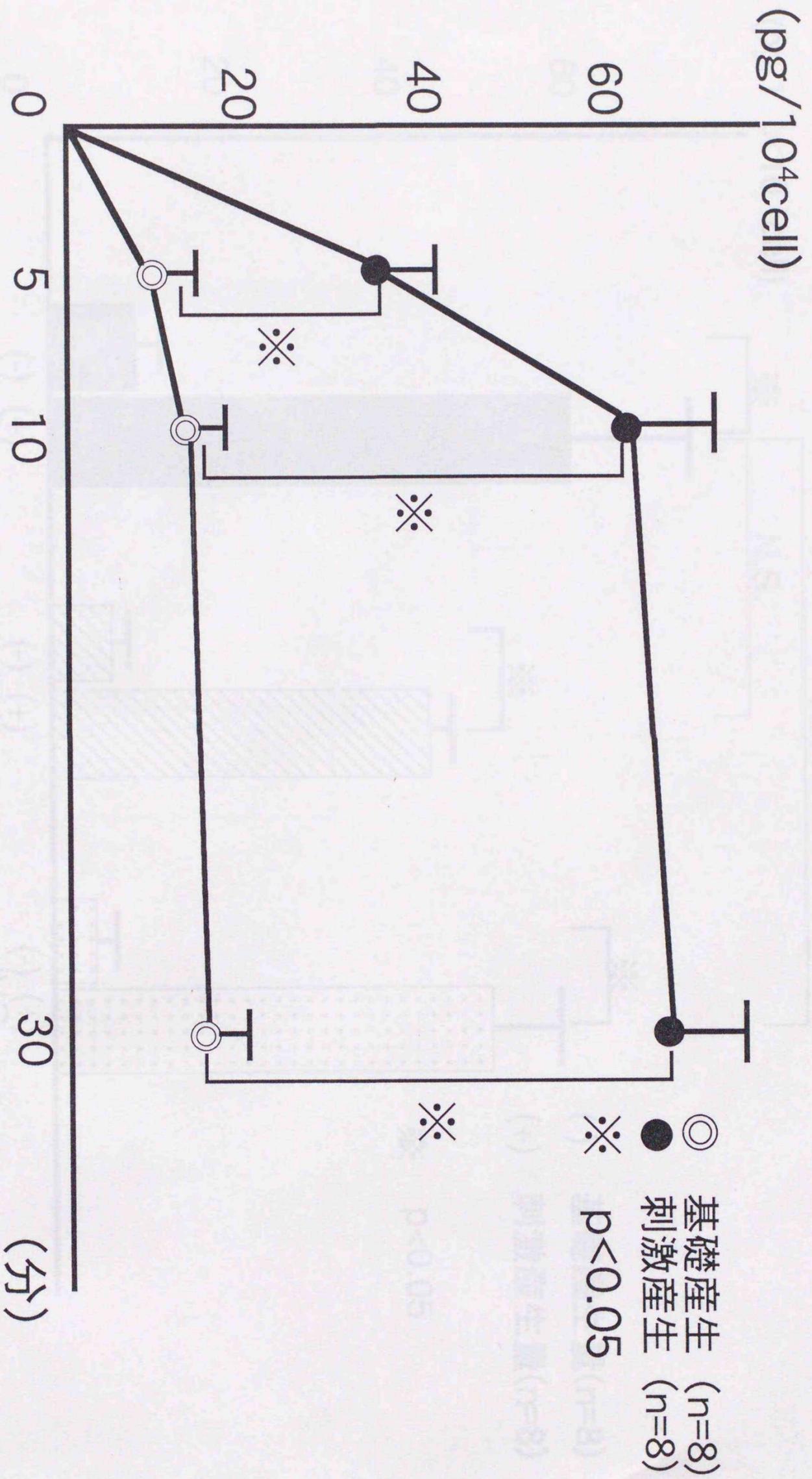


Fig 8

KK 82- Fig 8

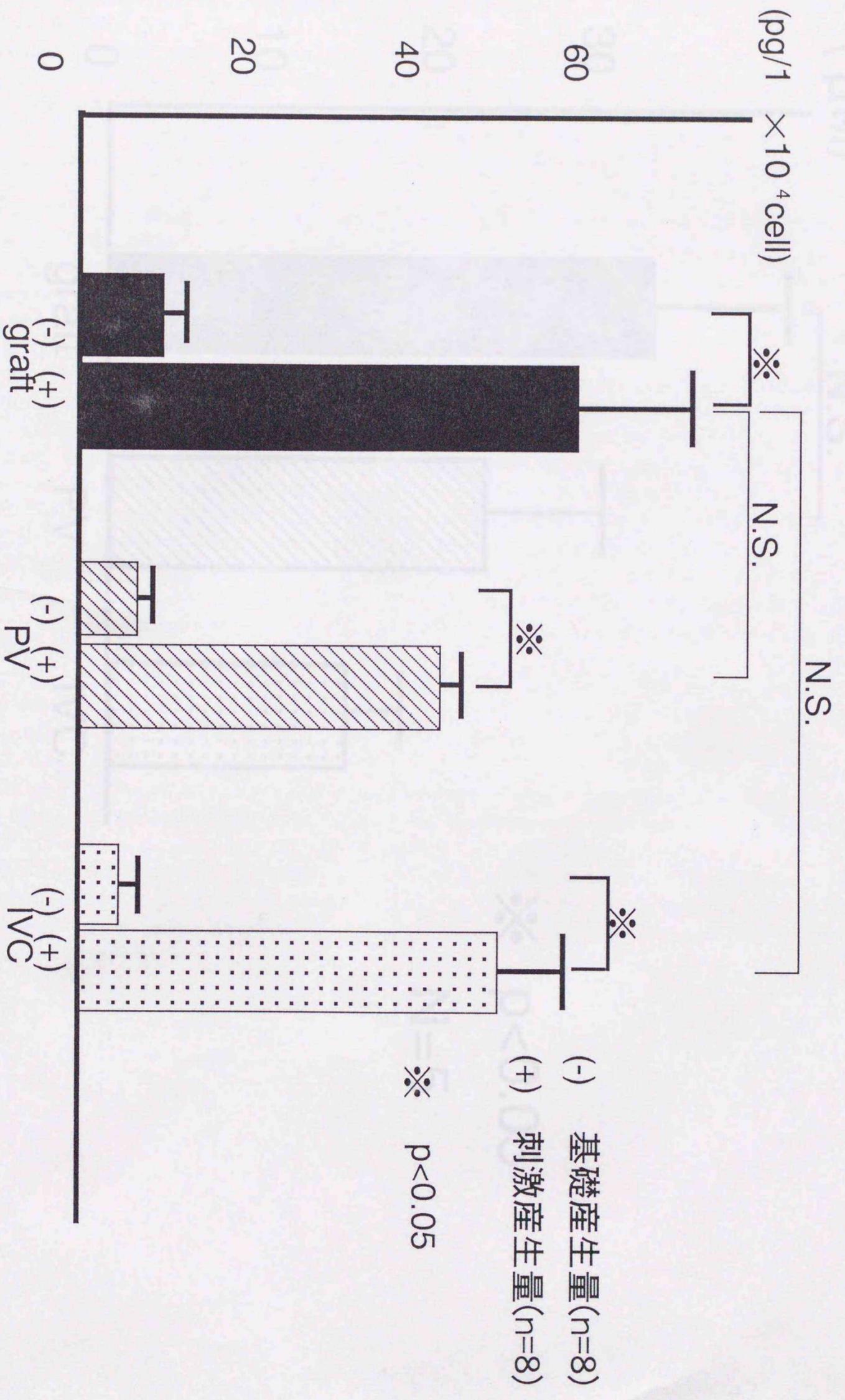
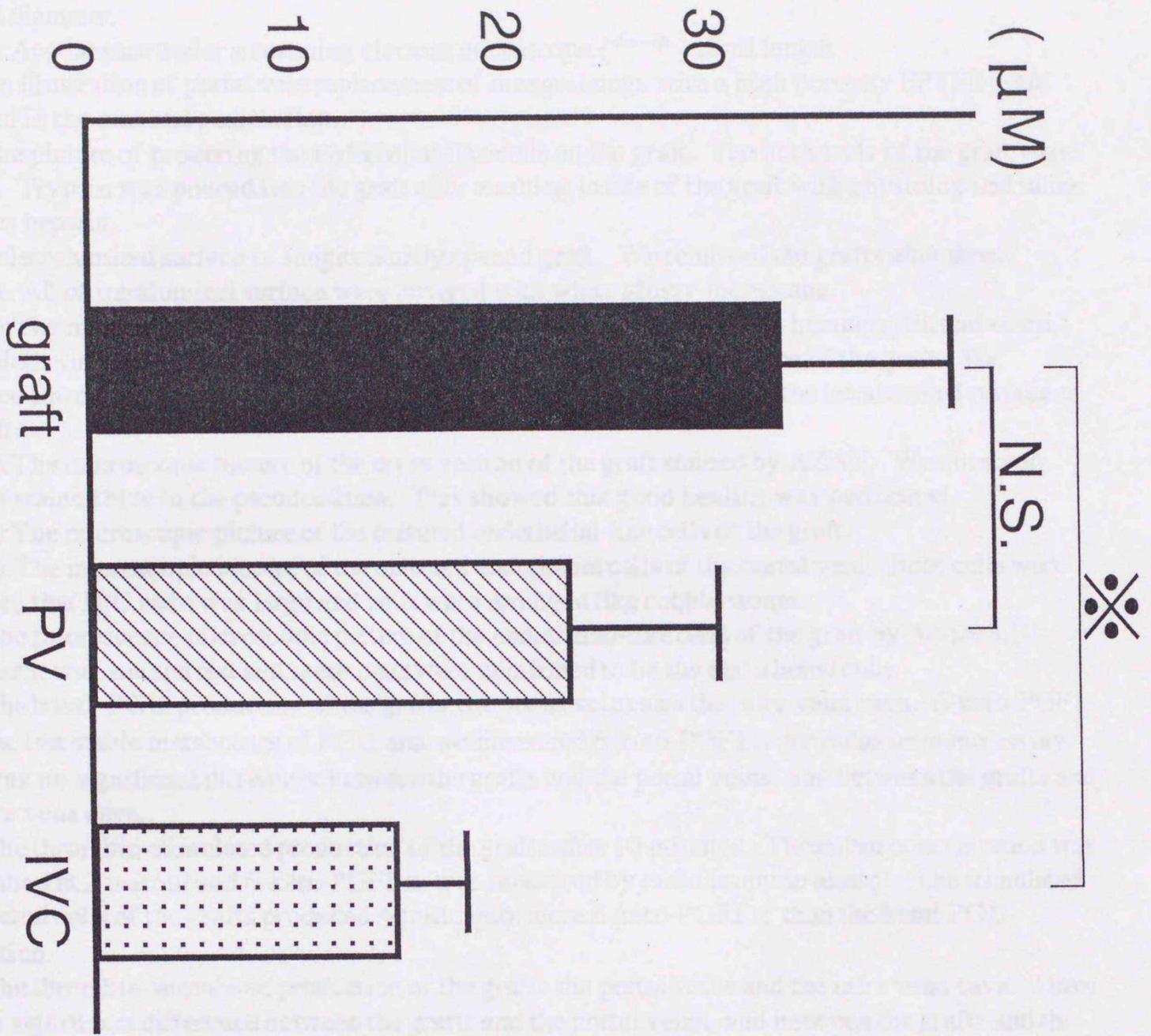


Fig 9



⊗

$p < 0.05$

$N = 5$

Fig 10

Fig 1(a): Appearance of high porosity EPTFE (fibril length: $60 \mu\text{m}$). A 4 cm length of graft 8 mm in internal diameter.

Fig 1(b): Appearance under a scanning electron microscope. (\longleftrightarrow): fibril length

Fig 2: An illustration of portal vein replacement of mongrel dogs with a high porosity EPTFE graft wrapped in the omental pedicle flap.

Fig 3: The picture of procuring the endothelial-like cells on the graft. The both ends of the graft were ligated. Trypsin was poured into the graft after washing inside of the graft with physiological saline added to heparin.

Fig 4(a): Intraluminal surface of longitudinally opened graft. We removed the grafts after three months. All of intraluminal surface were covered with white glossy membrane.

Fig 4(b): The microscopic picture of the cross section of the graft stained by hematoxylin and eosin. The endothelial-like cells were observed in a row on the intraluminal surface of the graft. We observed fibrotic hypertrophy of neointima but thrombus was not seen on the intraluminal surface of the graft.

Fig 4(c): The microscopic picture of the cross section of the graft stained by AZAN. We observed fibrosis stained blue in the pseudointima. This showed that good healing was performed.

Fig 5(a): The microscopic picture of the cultured endothelial-like cells of the graft.

Fig 5(b): The microscopic picture of the cultured endothelial cells of the portal vein. Both cells were observed that N/C ratio was large and cells were arranged like cobble stones.

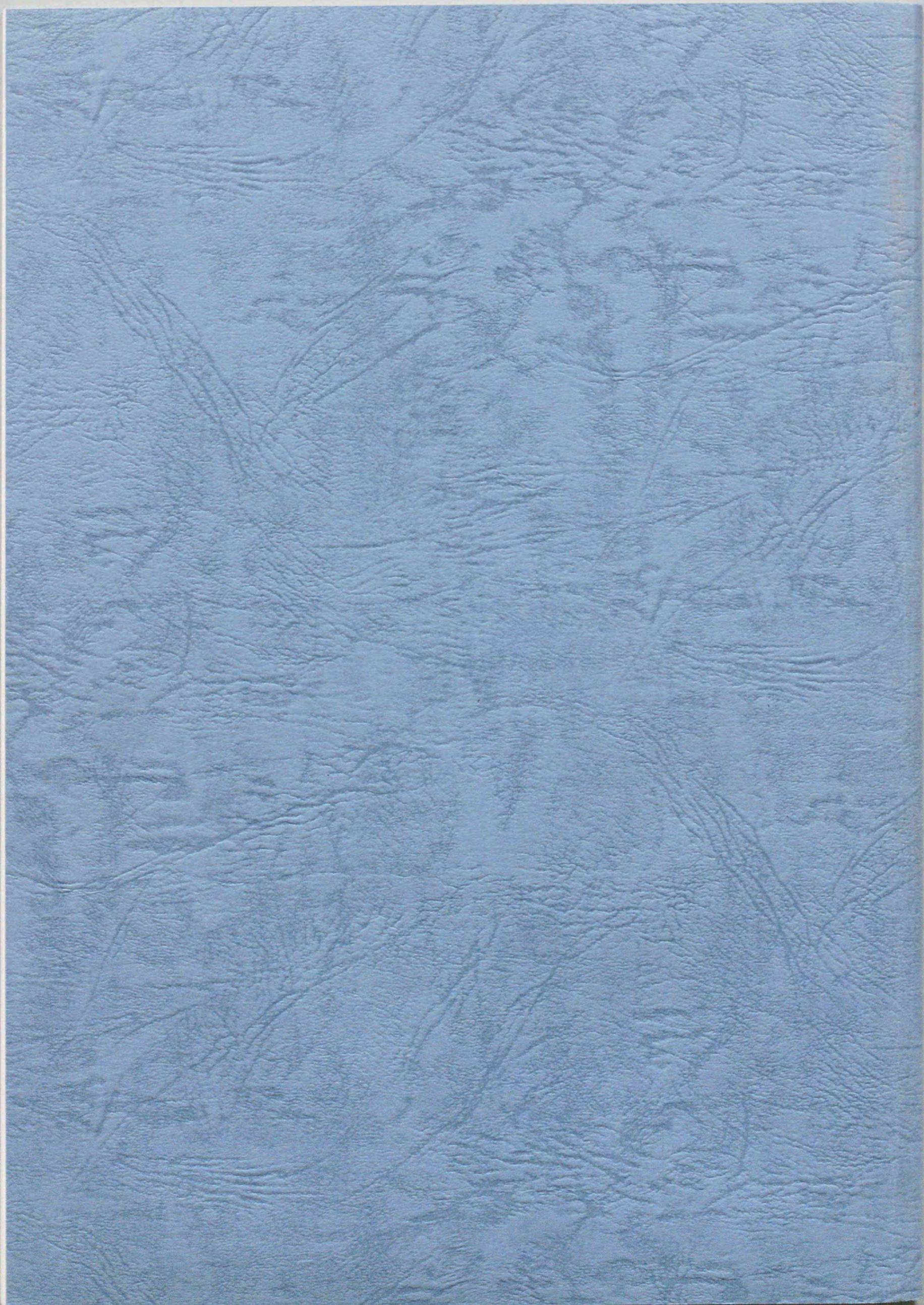
Fig 6: The fluorescence microscopic picture of the endothelial-like cells of the graft by Ac-Dil-LDL. Cytoplasm was stained red and these cells were confirmed to be the endothelial cells.

Fig 7: The basal PGI₂ production of the grafts, the portal veins and the infra vena cava. 6-keto-PGF1 α is the last stable metabolites of PGI₂ and we measured 6-keto-PGF1 α by radio immuno assay. there was no significant difference between the grafts and the portal veins, and between the grafts and the infra vena cava.

Fig 8: The thrombin-stimulated production of the grafts after 10 minutes. Thrombin concentration was established at 2 unit/ml and 6-keto-PGF1 α was measured by radio immuno assay. The stimulated endothelial cells of the grafts produced significantly more 6-keto-PGF1 α than the basal PGI₂ production.

Fig 9: The thrombin-stimulated production of the grafts, the portal veins and the infra vena cava. There was no significant difference between the grafts and the portal veins, and between the grafts and the infra vena cava on thrombin-stimulated production.

Fig 10: NO production of the grafts, the portal veins and the infra vena cava. NO² is the last stable metabolites of NO and was measured by the Griess reaction. There was no significant difference between the grafts and the portal veins. But the grafts produced significantly more NO² than the infra vena cava ($P < 0.05$).



Inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

