

原 著

同種移植腸管の微細血管構築の研究 (Microangiography ならびに病理組織学的検討)

京都府立医科大学第2外科学教室 (主任: 橋本 勇教授)

木 村 敏 之

MICROVASCULAR STUDY OF EXPERIMENTAL SMALL-BOWEL HOMOGRAFTS: MICROANGIOGRAPHY AND PATHOHISTOLOGY

Toshiyuki KIMURA

Second Department of Surgery, Kyoto Prefectural University of Medicine

同種臓器移植における拒絶反応の病態を究明するための形態学的検討は、とくに血管病変が、移植免疫反応の強い影響を受けることが推測され欠かせない。

著者は臨床的に問題の多い同種腸管移植も、基礎的な病理組織学的研究と微小循環動態を比較検討することは重要であると考え実験に着手した。超軟X線撮影法を用いて、同種移植腸管の microangiogram を作成し、経時的に観察した結果、微小循環障害は移植後48時間頃に、絨毛の基底部に始まり、粘膜下組織の筋板直下へ進行するが、さらに粘膜下組織の充血、絨毛の乏血、移植5日以後には粘膜下組織の乏血へと、拒絶反応により irreversible な変化へ進行することが判明した。

I 結 言

近年、腎をはじめとして、各種臓器の同種移植は臨床的にもさかんに行われるようになり、その成績も年々向上しつつあるが、同種移植に伴う拒絶反応やその病態が、本質的に解明されたわけではなく、臨床成績向上の要因は、主にすぐれた経口免疫抑制剤の開発と、それを中心とした免疫抑制処置法の進歩に負うところが大きい。

同種腸管移植では、その臨床例は全世界でいまだ5例が、Deterling¹⁾、Lillehei²⁾、Olivier³⁾、Alican⁴⁾らによつて報告されているにすぎず、その成績は不良である。これは、その適応となる対象患者が限られていること、術前状態が悪く、術後の静脈血栓症、さらに感染症の合併を避け難いことなどが大きな原因と考えられる。しかし、腸管移植の実験的研究は Lillehei⁵⁾らをはじめとして、それ以来数多く行われている。移植腸管片はその生着状態を肉眼的に観察し得るだけでなく、移植免疫反応の病態を知るために必要な病理組織学的所見はもちろ

ん、消化吸収機能、腸管運動機能など生化学的、生理学的所見を提供し、また denervation やリンパ路遮断などの問題点をも含むことなど、腸管移植によつて得られる知見は数多い。しかし、これらの実験的研究によつてもなお、同種移植腸管にみられる拒絶反応の病態が十分に解明されたとはいい難い。そこで著者は、同種腸管移植に伴う諸変化のうち移植直後から認められる腸管の血流障害、腸間膜根部リンパ節の著明な腫脹、腸管粘膜の脱落、萎縮など、急速に進行する拒絶反応の過程と考えられる変化に注目し、これらの重要な因子は本質的には移植免疫反応に起因する微小循環障害にあると考え、本研究に着手した。方法としては、microangiography を用いて、移植腸片が拒絶される過程の腸管の微細血管構築を検討し、一方、拒絶反応に複雑に関与していると考えられる腸壁リンパ装置と、腸間膜根部リンパ節についても微細血管に認められる変化を経時的に観察し、若干の新しい所見を得たので報告する。

II 実験方法

II-1. 実験動物

体重約10kgから15kgの雑種成犬30頭を用い、ほぼ同じ体重の2頭を選んで donor と recipient の組合わせを作成した。しかし、犬の種類、性別、血液型などは考慮に入れなかつた。これとは別に5頭の雑種成犬を用いて自家移植を行い対照群とした。

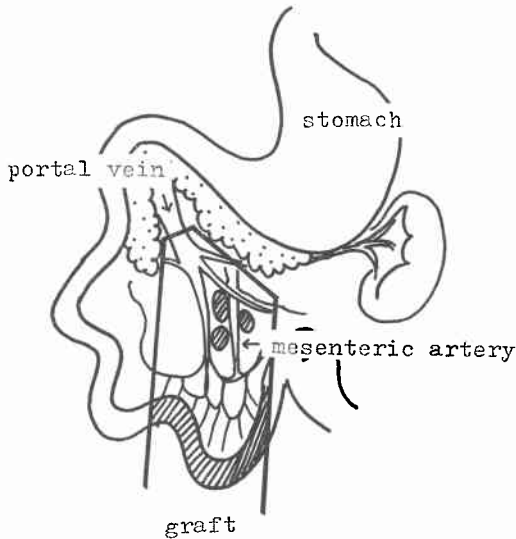
II-2. 同種腸管移植の手術手技

Donor と recipient 犬は、ともに経口気管内挿管半閉鎖麻酔 (Halothane+oxygen) のもとに無菌的に手術操作を行った。

A. donor 犬の手術

移植腸管を得る方法は、移植片の宿主に対する過多抗原による影響を除く意味から Barnett⁹⁾ らの方法に従つた (図1)。すなわち、上腹部正中切開にて開腹し、上腸間膜動静脈を根部で剥離し、血管周囲のリンパ管、神経

図1 donor 犬の手術



は、結合組織とともに結紮切離する。ついで、移植片とする空腸回腸移行部の腸管約20cmを支配する血管のみを、腸間膜および根部リンパ節を含めて温存し、それ以外の腸管を支配する上腸間膜動静脈の分枝は、すべて結紮切離する。さらに、血流支配の無くなつた腸管を切除すると、上腸間膜動静脈本管を血管茎とする腸管分節、すなわち腸管移植片を作成することができる。

移植片は摘出した後、上腸間膜動脈より約 100ml のヘパリン加乳酸リンゲル液で腸管が蒼白となるまで灌流

した。

B. recipient 犬の手術

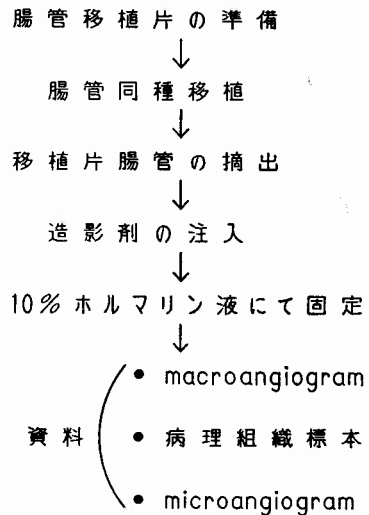
右旁腹直筋切開で開腹した後、右の腸骨動静脈を剥離し露出する。血管吻合は5—0 atraumatic needle nylon糸を用いて、まず総腸骨静脈と、移植片の上腸間膜静脈を端側に吻合、ついで外腸骨動脈と上腸間膜動脈を端々に吻合した。total warm ischemic time は平均約60分であつた。recipient 犬小腸の一部腸管および腸間膜を切離し、この部分へ移植腸管を順蠕動性に挿入両端をそれぞれ端々吻合し、移植腸管と recipient 腸管との連続性を確立し移植を完了した。

術後、経静脈的に3日間輸液を行い、その間完全に絶食にした。15症例全例とも全期間を通じて、免疫抑制剤の投与は行わなかつた。

C. 対照群 (自家移植群)

5頭の成犬を用いて、経口気管内挿管半閉鎖麻酔のもとに、上腹部正中切開で開腹、まず上腸間膜血管幹部を十分に露出し、神経、リンパ管を含めた周囲組織を剥離切断し、ほぼ全小腸が上腸間膜動脈および静脈によつてのみ連絡している状態とした後、一旦切離した。その後直ちに Lillehei⁹⁾ らの方法にしたがい、同所的に上腸間膜動静脈を切離した部位でおのおの再吻合した。ついで腸管を2カ所において離断し端々吻合を同部位で施行した。術前後の管理は、同種腸管移植犬と同様、術前24時間絶食、術後3日間は経静脈的に輸液と Penicillin 1.0 gr/日を投与、その後は経口的に投与した。

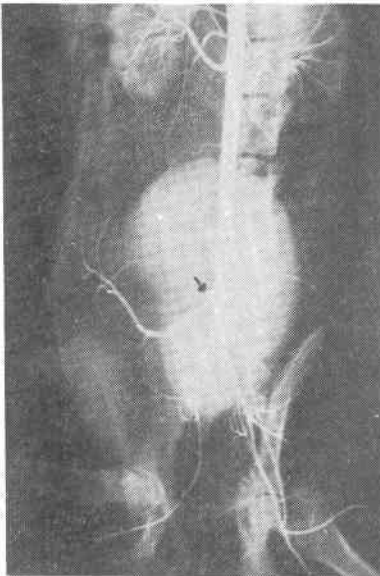
表1 実験順序



II-3. 検査方法

表1の順序にしたがって研究を進めた。同種腸管移植群では、移植後1時間、2時間、3時間、6時間、12時間、24時間、2日、3日、5日目と経時的に開腹（場合によつては屠殺）しておのおの5～7回標本を得た。また最長観察期間は8日間であつた。その間一部の症例では、大腿動脈から挿入した catheter を留置し、60%の血管造影剤20ccを注入し、適宜生体内での移植腸管の血管造影を行つた（写真1）。宿主犬から摘出した標本には、16%の微細血管観察用造影剤を一定の圧で注入し、10%ホルマリン液で固定した。超軟X線撮影にはSOFTEX 会社製作の Type CMB、ならびに CMR の撮影装置を用いた。また、パラフィン包埋した block から病理組織学的検索を行つた。

写真1 (矢印は血管吻合部)



A. 顕微X線法（超軟X線撮影）

(a) 造影剤の注入

摘出した移植腸管の造影には、まず上腸間膜動脈へ catheter を挿管し、これを通じてヘパリン加乳酸リンゲル液で灌流した後、3%ゼラチン分解物重合体を加えた16% micropaque (Damancy and Company 製) を、38℃～40℃に加熱しながら、注入圧120mmHgでゆつくり注入した。この場合、腸管は38℃前後に温めた生理的食塩水中に浮遊させ、また一定の注入圧を得るため灌流回路中に改良した血圧測定用の manometer を用い

た。造影剤の注入が適切に行われた腸管は、漿膜をとおして腸管全体が白色を呈し、粘膜面では少量の造影剤の漏出がみられる。注入が終了すれば直ちに周囲をガーゼでくみ、10%ホルマリン液に入れて固定した。

(b) 超軟X線による撮影

(i) macroangiogram の作成

10%ホルマリン固定を48時間以上行つた後、摘出組織標本全体を撮影した。超軟X線発生装置は、日本 SOFT EX 会社製の Type CMB を使用し、film はSOFTEX film (Fuji) を用いた。曝射電圧35KV、電流3mA、曝射時間60秒、焦点距離45cmの条件で撮影したあと、現像にはソフドール（富士）を用いた。鮮明な画像を得るためには被写体を film 面に充分密着させる必要があつた。

(ii) microangiogram の作成

移植腸管の微細血管構築を立体的に把握するために、著者は観察用切片の厚さが約300μの① semi-microangiogram と50μの② contact-microangiogram の両者について検索した。

10%ホルマリン液により充分固定された腸管標本から①を作成し、同じ切片の一部をパラフィン包埋したのち②を作成した

① semi-microangiogram

充分固定された組織標本から厚さ約300μの凍結切片を作成し、濾紙で軽く圧迫脱水した後、電圧30KV、電流3mA、曝射時間15分、焦点距離25cmの条件で撮影した。超軟X線発生装置は macroangiogram 作成時に使用した Type CMB を、film はKODAK spectroscopic 用 safety film type 649-0 を用いた。この場合、資料が乾燥して film 面から離れたり、変形したり、また乳剤膜面を傷つけりしないよう注意した。現像液の調製に D-19 (表2) を使用、これを20℃に加熱し約5分をかけて現像した。

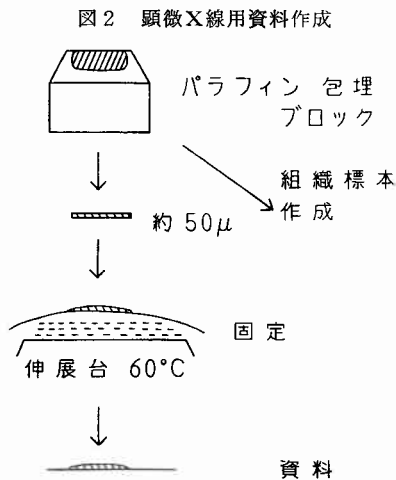
② contact-microangiogram

病理組織用切片を得るために作成したblock から、厚

表2 D-19処方

Hot water (50°C)	500cc
Metol	2.5 g
Sodium Sulfite anhydrous	90.0 g
Hydroquinone	8.0 g
Sodium Carbonate anhydrous	52.5 g
Potassium Bromide	5.0 g

冷水を加えて1000ccとする。



さ約50 μ の切片を切り出し、これを市販のサランラップ上に密着、伸展させたのち撮影した。変形、たわみなく密着させるためには適度の加温を必要とした(図2)。超軟X線装置には Type CMR を使用し、電圧7KV、電流3mA、曝射時間10分、焦点距離40mmの条件で撮影した。film は①と同じ Type 649-0 (KODAK) を使用し、現像も D-19 処方を用いた。

B. 病理組織学的検索

Contact-microangiogram を作成した block から、同時に厚さ5~7 μ の切片を作成し、染色には hematoxylin-eosin 染色 (H.E)、および periodic acid-Schiff 染色 (PAS) を全例に、一部の症例には、methylgreen pyronin 染色を行い、鏡検観察した。これらの病理標本と microangiogram を対比検討することにより、移植腸管の微細血管構築上の変化がいかなる組織学的変化を伴うか明らかとなった。

III 実験成績

III-1. 自家移植

A. 肉眼的所見

移植直後には著明な変化を認めないが、2日目頃には、腸間膜、漿膜の肥厚、小出血、わずかな紅色充血などが出現する。ついで次第に漿膜の肥厚が明白となり、また1週間前後でもなお腫脹を認めるが、蒼白にみえる部分は全くない。一方腸間膜リンパ節は、2日目頃から腫脹を認めるが軟らかく、その後も著明に腫大するには至らなかった。腸管吻合を行つた部分での肉眼的癒合は約1週間前後に完成されている。

B. 超軟X線所見

a) macroangiogram

犬の腸管の血管系は、基本的にはヒトのものと比較しても大きい差を認めない。すなわち、上腸間膜動脈の末梢は腸管の周囲で辺縁血管を構成し、腸管長軸に垂直方向に直血管が腸間膜の両面で、あるいは片面で、漿膜筋層を穿孔し、粘膜下へ進入する。粘膜下では、直血管相互を吻合している細動脈からなる動脈吻合が存在している。(Benjamin⁷⁾、(藤城)⁸⁾。自家移植された腸管の血管造影像は、正常犬の腸管のそれと異なり、移植後2日目から、腸管ならびに腸間膜の血管系は拡張し、直線化の傾向を示す。直血管にも直線化が現れ、相互の吻合血管もより豊富に観察できる。

また腸吻合部には、術後4日目にして直血管相互の吻合枝が出現して、栄養している所見も観察できる。

(b) microangiogram

観察にあたって、既述の如く2つの方法を用いた。すなわち、① semi-microangiogram、② contact-microangiogram である。

(i) 正常成犬の小腸微細血管構築

写真2は小腸の輪切で観察した血管構築の semi-microangiogram である。

写真2 正常成犬の小腸微細血管構築

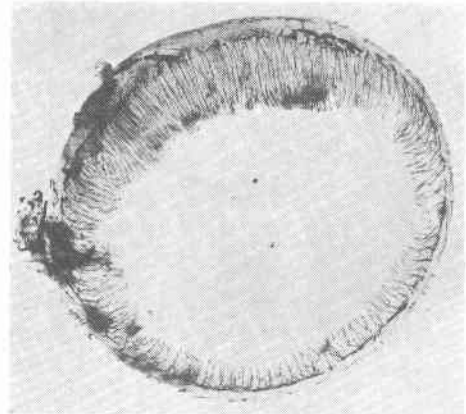


写真3は腸管長軸に沿つた面で切つた粘膜下血管叢の血管構築を semi-microangiogram で観察したものである。前者では、主絨毛動脈の走行、腸管壁各層に分布する血管、粘膜筋板周囲の血管網、また後者では、粘膜下血管叢に細動脈吻合が観察されるが、これは筋層を貫いた直血管の分枝が粘膜下組織内において放射状に手をひろげた細動脈から構成されていることがわかる。

写真4は粘膜筋板周囲を contact-microangiography で

写真3 正常小腸の粘膜下血管叢

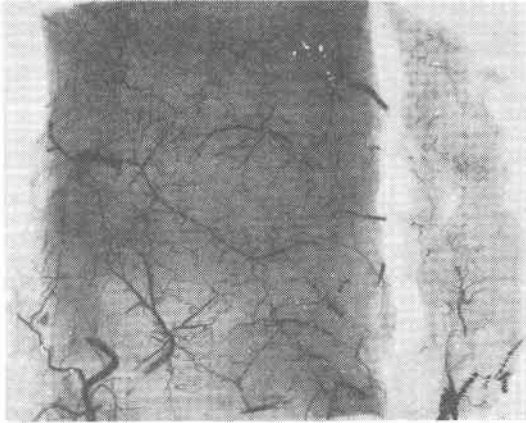
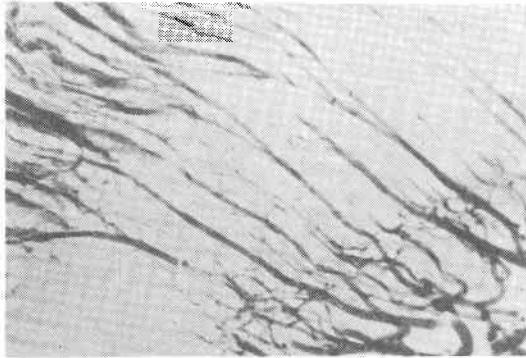


写真4 正常小腸の contact-microangiogram



観察したもので、細動脈から血管網へ、さらに毛細血管網へと分枝している様子が観察される。対照とした自家移植犬の術後4日目頃の微細血管構築を観察すると、主に粘膜下血管叢、絨毛動脈などに血行の盛んな所見があり、8日目には、吻合部を通じて移植腸管側から造影剤が容易に自家固有腸管へ移行するのがみられ、移植腸管の粘膜下血管叢から漿膜下にかけて血管が豊富にみられる。このように微細血管構築上からみても腸吻合は完成していることがわかる。

III-2. 部分的同種小腸移植

A. 肉眼的所見

移植腸管は血流再開直後より、正常腸管に較べてやや紅色が強くなり、腸間膜にも小出血斑を認めることが多かった。腸管の蠕動運動は早期より良好で、時間を経るにしたがい腸管の充血、暗赤色の色調が増し、大部分の症例では、移植後3日を過ぎる頃に腸管の拡張が著明となった。そこへ、腸間膜、漿膜の肥厚が加わり、5日目以降

では、血管吻合部の血流は良好であるにもかかわらず、腸管壁の蒼白部が増加し、腸間膜動脈の拍動も微弱となった。一方、移植腸管の腸間膜根部リンパ節は、移植後24時間を経過した全例に著明な腫大を認めた。特に3日目から5日目にかけて、数個の腫大したリンパ節が集まって大きいものでは鶏卵大にまで達していた。しかし、宿主犬の固有の腸間膜リンパ節は肉眼的に何らの異常も認めなかつた。また他の領域におけるリンパ節の腫大も認められなかつた。

B. 超軟X線所見

(a) macroangiogram

同種腸管移植術後48時間を経過した宿主犬では、その腸間膜動脈、辺縁血管は自然な分枝と彎曲を呈し、直血管の走行にも硬さを認めない(写真5)。これに対して、同一宿主犬の移植腸管の macroangiogram は、腫脹した腸間膜リンパ節に分布する小動脈が目につき、直血管には全体に直線化の傾向を認め、辺縁血管の走行にも硬さを認める(写真6)。

これらの辺縁血管、直血管における変化は移植後12時

写真5 宿主犬小腸の macroangiogram

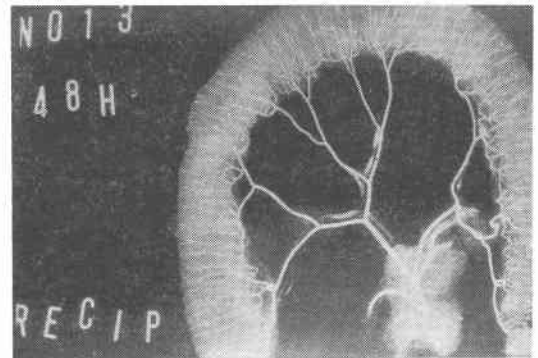
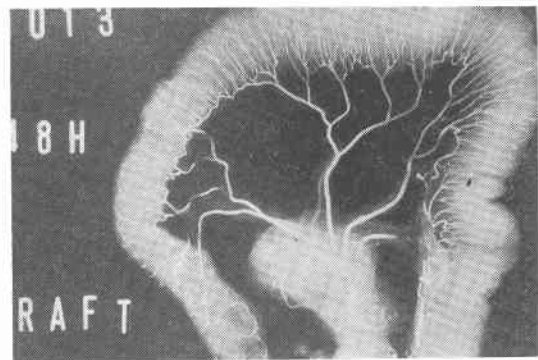
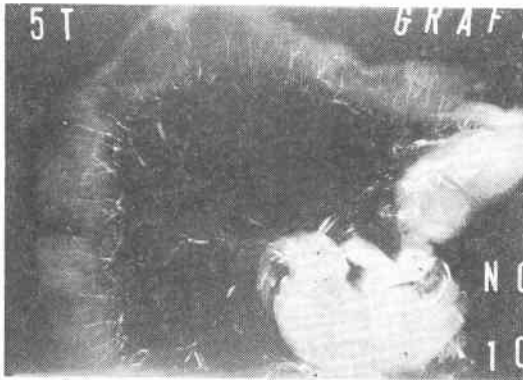


写真6 移植腸管の macroangiogram (移植後48時間)



時間頃から現われはじめるもので72時間(3日)目には、腸間膜動脈の直線化、ないしは狭小化が現われる。とくに、辺縁血管から直血管にかけて狭小化が著しく、腸管壁には直血管相互と吻合している細動脈の数も増加する。術後5日目になると、腸間膜動脈の狭小化が著しく、一部に蛇行も認め、腸間膜根部リンパ節に侵入する血管の数は増加しているが、狭窄を認める。とくに移植腸管の辺縁血管から直血管にかけて、狭小化ならびに閉塞が進行している。閉塞していない直血管では、一部に枯枝状、針金状の所見もあり、この時期には移植腸管の血流が極めて乏しくなっていることが推測される(写真7)。

写真7 移植後120時間目の macroangiogram



(b) microangiogram

移植後6時間目では、むしろ粘膜下組織の血行は乏しい。移植後24時間を経過すると、粘膜下血管叢は造影も良好となるが、粘膜筋板周囲の血管網では、まだ絨毛動脈、主絨毛動脈に部分的血行途絶を認める。

移植後48時間を経ると、漿膜に分布する血管は増加しており、さらに、粘膜下血管叢から主絨毛動脈にかけても血行が良好となる。

粘膜筋板周囲の血管網も整然と造影され、この時期の腸管壁に分布する血管は全体に充血性である(写真8)。

移植後72時間を経過すると、粘膜下血管叢の血管構築には異常を認めなくとも、より末梢の絨毛動脈には、はやくも狭小化が現われ、わずかであるが血行の途絶した細動脈も認められる。粘膜下血管叢の基底を構成する血管と、絨毛動脈が主絨毛動脈に分枝する点との距離(これは主に粘膜下組織に該当する)がひらいてくる(写真9)。

術後120時間を経過すると、粘膜下血管叢の血管構築

写真8 移植後48時間目の microangiogram

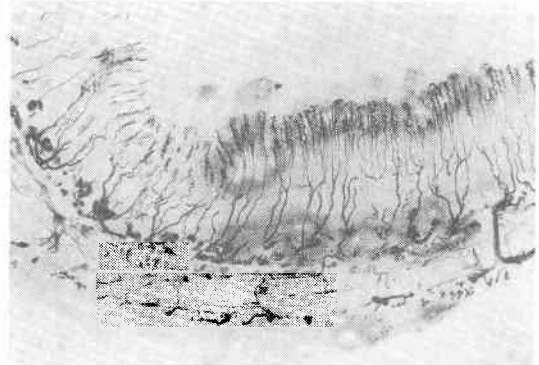


写真9 移植後72時間目の microangiogram



写真10 移植後120時間目の microangiogram



は、著明な血管系の乱れと消失が特徴となる。すなわち、動脈は粘膜下組織でその先端が狭小化し、さらには途絶するにいたる。また、分布が疎となつた主絨毛動脈にはその走行に硬さがみられ、粘膜筋板周囲の毛細血管網は、その整然とした網目様構築が完全に消失し、網目が渦を巻くように乱れている。以上のように、この時期

になると、絨毛への血行は極めて乏しく基底部分のみ保たれているにすぎない(写真10, 11)。

一方、腸壁リンパ装置の1つであるリンパ濾胞が存在する部分の微小血管構築についても、特徴ある所見がみられる。すなわち、移植直後には、リンパ濾胞によつて圧排された粘膜下血管叢から、数本の細動脈が杯中心へ

写真11 移植後120時間目のcontact-microangiogram

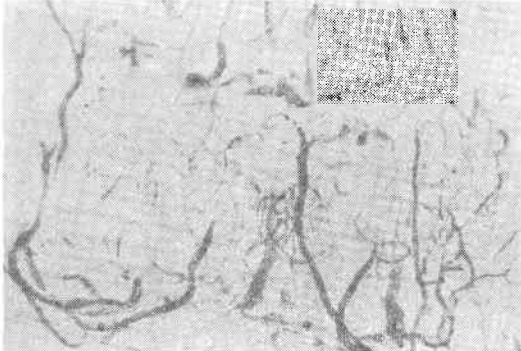


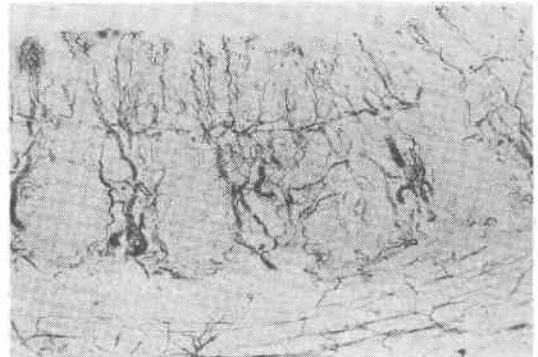
写真12 腸壁リンパ濾胞の microangiogram (移植直後)



向つて進入している(写真12)。移植後72時間を経ると、おそらくリンパ濾胞自身の変化、ならびに粘膜下組織への細胞浸潤によるものと推測されるが、血管叢を構成する動脈は蛇行し、著しく屈曲してリンパ濾胞を囲んでいる。さらに、濾胞へ分布する血管は、移植直後のものと比較してその数が増加し、固有筋層側からも多数進入しているのが認められる(写真13)。

これらの点より、移植された腸壁リンパ濾胞も、活発な免疫反応の場の1つになっていることが推測される。微細血管構築上、絨毛動脈周辺の血行については、リンパ濾胞の存在の有無によつてその差を認め難いが、絨毛基底部分や粘膜筋板の血行はリンパ濾胞存在部に蛇行、消

写真13 腸壁リンパ濾胞の microangiogram (移植後72時間)



失が目立ち、また血管の分布が疎であることから、この部分では循環障害がより起り易いものと思われる。

III-3. 病理組織学的検索

A. 自家移植腸管

48時間以前の変化では、粘膜上皮の脱落が軽度認められる程度である。その後、軽度の粘膜下組織内の浮腫、粘膜基底部分と漿膜に細胞浸潤を認めるが粘膜ならびに筋層ともに細胞浸潤もなく正常形態を保つ。一方、腸間膜リンパ節には、主に小円形細胞が中心部のリンパ洞に満ちているのを観察でき、リンパ濾胞も正常の構築を保っている。しかし、部分的には時に大リンパ球の出現、細胞浸潤、うつ血様変化をリンパ濾胞の中心部に認める場合もある。

B. 同種移植腸管

移植後48時間の所見で目立つたものは、粘膜上皮の一部に剝離、脱落を除いて少ない。その後、小血管あるいは粘膜筋板周囲を中心に浸潤する小円形細胞が出現し、72時間頃にはそれが、特に粘膜筋板ならびにその直下の粘膜下組織に著明となり、粘膜上皮の脱落した部分はもちろん、一部の健全な粘膜も萎縮する傾向にある。著明なリンパ球を中心とする小円形細胞の浸潤は、粘膜筋板内に、あたかもリンパ濾胞を形成するような様相を呈し、さらに、粘膜筋板を破つて、散在性に粘膜下組織にもみられる。また、筋層、漿膜にも小円形細胞が浸潤しはじめる(写真14)。

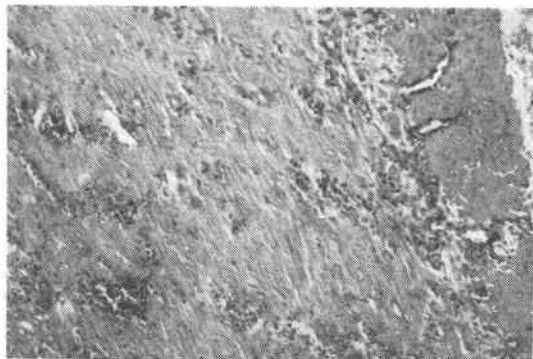
移植後120時間を経ると、著明な粘膜下組織の浮腫とともに、細胞浸潤は筋層内に拡がり、絨毛上皮は基底部分を除いて脱落し、萎縮が著明となり移植片に拒絶反応が進行していることがわかる(写真15)。

一方、宿主側固有腸管の病理組織学的所見は、移植後

写真14 小円形細胞の浸潤(1部濾胞状)移植後72時間目(100倍)H.E.染色



写真15 固有筋層内の円形細胞浸潤移植後120時間目。(200倍)H.E.染色

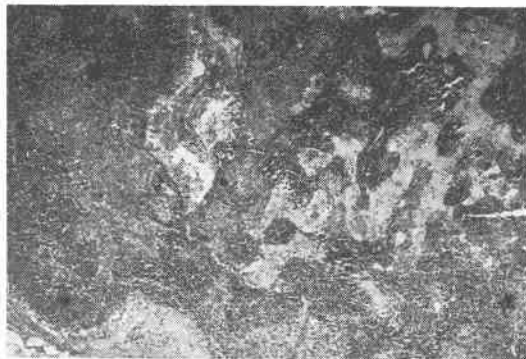


3日頃まで、軽度の粘膜下組織の浮腫、細胞浸潤を認めるぐらいであり、4日以後でも著明な変化はなく、開腹操作による炎症反応と思われる所見のみで、絨毛上皮などに著明な変化を認めない。

ところで、移植片とともに移植された腸間膜リンパ節の組織学的な変化は3日目以降にはじまる。すなわち、リンパ濾胞内において、芽中心を残こして、とくに小円形細胞を中心とする細胞成分の減少が起り、濾胞の周辺リンパ洞には円形細胞が出現し、時には大型のリンパ球も散在する。4日目以降、芽中心が不明瞭となり、リンパ濾胞内の細胞成分が消失し、ついにはリンパ濾胞そのものが失われる。一方、周辺リンパ洞には小円形細胞が多数出現し、実質内に小出血、うつ血、リンパ管の著明な拡張などリンパ節そのものが荒廃した様子をみせている(写真16)。

移植腸管の腸壁リンパ濾胞における変化も本質的には濾胞の縮小、消失という経過をとるが、その周囲には大

写真16 腸間膜根部リンパ節、移植後120時間目(200倍)H.E.染色



型単核細胞を含む細胞浸潤が認められ、細網組織がむしろ増殖する傾向がみられる。一方には拒絶反応の進行にともなう細胞浸潤もみられ病理組織学的所見は複雑である。

IV 考 察

同種腸管移植は、その対象が、腸間膜動脈血栓症、あるいは広範囲の腸閉塞による全小腸の壊死など、限られた疾患で、臨床上これを実施する機会は極めて稀である。現在までに全世界で報告されている臨床例は、僅か5例にすぎず、その移植成績も不良で、術後極めて早期に死亡している(Deterling)¹⁾、(Lillehei)²⁾、(Alican)⁴⁾。

しかし動物実験では、手術手技が比較的容易なところから、単に移植免疫反応の解明のためではなく、神経やリンパ路の切断、腸管の運動や吸収機能におよぼす影響を検討するために、その研究手段として応用され、かなり多くの報告がみられる(Goott)⁹⁾、(Lillehei)¹⁰⁾、(Preston)¹¹⁾、(Alican)⁴⁾、(岸野)¹²⁾、(Hardy)¹³⁾。

腸管移植に関する実験的研究は、1959年に初めてLillehei⁹⁾らによつて行われた。彼らは、完全に体外に遊離した腸管でも、自家移植の場合には充分機能をもつて生着し得ることを確認した(Goott)⁹⁾後、同種移植実験を行つたが、単に生着日数を検討したにとどまり、同種移植免疫反応に関する病態などについては言及するに到らなかつた。その後Lilleheiらは、同種腸管移植実験をすすめて、全腸管移植と部分的腸管移植を比較検討した結果、両者間では免疫反応に差がみられ、前者では、移植片に大きな変化が生ずる以前に、宿主の死が先行することを知り、これは抗原過多による graft versus host 反応の結果であると推論した。また、いずれの場合でも、腸

間膜リンパ節の腫脹が著明であつたと報告している。Alican⁹ とも、同種移植腸管での腸間膜の肥厚と、リンパ節の腫脹を強調しているが、全腸管移植における graft versus host 反応の可能性は否定し、腸管移植においても、他の移植臓器同様の拒絶反応が惹起されるものと結論している。一方、Ruiz²¹ によると、拒絶反応に重大な影響を与え、免疫抑制剤を使用しない全腸管移植では、突然に Graft versus host 反応を起こすと報告されている。

同種移植腸管の経時的変化について、Preston¹¹ らは、はじめに粘膜の破壊、つづいて腸分泌の減少が起こることが特徴的であると、Cohen²⁰ らは、組織学的に検討した結果として、粘膜における円形細胞浸潤とうつ血が初期変化として始まり、つづいて、上皮の破壊、出血、goblet 細胞の消失、さらに、血管周囲と筋層への著明な細胞浸潤をもつて拒絶反応が確立すると述べている。

また、Barnett⁶ らは、部分的腸管移植を行った実験で、移植後日数の経過とともに、腸間膜動脈の拍動が减弱し、擦過による腸管壁からの出血量も減少し、さらに組織学的には、hyaline 変性が著明に認められるなどの所見から、移植片脱落の過程は、徐々に進行する血行障害によるものだろうと示唆している。

現在、臓器移植のなかでは、腎移植が臨床的にも頻繁に行われており、同種移植腎の拒絶反応の発現機序としては、移植免疫反応によつて生ずる腎内血流障害が原因であるとする報告が多い (Dempster¹⁴)、(Simonsen)¹⁵、(Kountz)¹⁶。同種移植腸管の拒絶反応時の病態については、移植される抗原量が多い上に、移植片とともに多量のリンパ節も同時に移植されるので、この点他臓器の移植の場合と異なり複雑で、むしろ、Graft versus host 反応が先行するという説と、他臓器の場合と同様血行障害を中心とした反応経過をとるとする説が相半ばして、まだ結論はでない。いずれにしても、大量の移植抗原や免疫学的能力の大きいリンパ組織を含む graft を移植した場合、宿主側に Runt disease 様の免疫反応が起こることは充分考え得ることであり、とくに全腸管移植の場合は、広汎な腸管腔内に多種多量の細胞群が存在するために、これらの細胞が関与する endotoxin や感染が、宿主に影響を与えて、Graft versus host 反応が起こることも否定できない。

著者の実験は、腸間膜リンパ節を含む部分腸管移植であり、移植片摘出時の肉眼的所見は、Preston¹¹ らの報告と同様、腹水はしばしば血性で、腸間膜根部リンパ節

は著明に腫大して、移植3日後には鶏卵大となり、移植腸管は全体に充血状態を示し拡張していた。この場合でも血管吻合部はよく血行が維持されていたし、腸間膜の動脈拍動も良好であつた。病理組織学的には、粘膜筋板をはさんで小円形細胞の浸潤、さらに粘膜上皮の脱落、粘膜下組織、筋層への細胞浸潤、リンパ節内ならびに周辺リンパ洞内の小円形細胞浸潤、リンパ液貯留などが認められた。これらの所見は Preston¹¹、Alican⁹ らの述べた所見と一致する点が多い。

著者は同種移植腸管における免疫反応の進行状況を、その微細血管構築の面から micro-angiography を用いて形態学的に検討したが、この点については、高橋¹⁷のいう臓器構造論によれば、腸管の微細血管構築は、腸管機能の優位を保つ必要性から「調節型」の構築を示し、特に腸絨毛に分布する毛細血管は、生体の循環動態の影響を受け易いと考えられる。しかし、同種腸管移植を行った場合には、直血管から末梢側の粘膜下組織血管網を中心とした細動脈、毛細血管群は、直接移植免疫反応の接点になると推測される。まず、著者の行った microangiography からみた同種移植腸管の血管像では、移植後48時間を経過すると、とくに目立つのは、宿主側腸間膜リンパ節と比較して移植片リンパ節周囲に著明な血管の新生を認めることであるが、これらの変化は、リンパ節を舞台として盛んな免疫反応が行われていることを推測させる。一方、移植腸管の直血管、辺縁血管は、72時間目頃から明らかに直線化、狭小化を認め、120時間を経たものでは、辺縁血管の狭小化、直血管の枯枝状変化へと進行し、移植片全体に著しい血行障害が認められる。この点からも、移植後48時間以後は、自家移植の場合とは異なつた末梢循環動態が進行していると考えられる。そこで著者は、同種移植後の腸管微循環を血管構築の面からつぎの3期に分類した。

すなわち、

1. 粘膜下組織の充血期
2. 粘膜、絨毛の乏血期
3. 粘膜下組織の乏血期

である。それぞれ主として移植後2~3日目頃、3~4日目頃、および5日以降にみられる変化である。micro-angiogram でみた正常犬の小腸粘膜下血管叢は、写真3のごとくその血管径が直血管の次の次元の血管からの集合で構成されている。しかし、それらが構成している血管網は直血管相互を吻合する細動脈を除いて、終末動脈状の血管構築を示している。したがつて、主絨毛動脈の

血行障害はその栄養領域の粘膜下組織、さらには粘膜に不可逆性の変化をもたらすことが推測出来る。また、Jacobson¹⁸⁾によれば、絨毛粘膜固有層の毛細血管網は、粘膜下血管叢から分枝した絨毛動脈とは別に、直接粘膜筋板を通じて絨毛へ向かう血管網からなるとし、Maximom-Bloom¹⁹⁾も、組織解剖学的に腸の循環系について述べる中で、2種類の小動脈の枝が粘膜へ向けて分枝していると報告しているが、この点に関しては著者の実験結果写真4からもよく理解できる。

つぎに、同種移植後の microangiogram の変化を組織学的所見と併せ検討すると、主絨毛動脈は通常2~3本の絨毛動脈を分枝すると同時に、別に粘膜筋板を貫いて腺底部へ向う細動脈を有し、これは途中で粘膜筋板周囲で整然とならぶ血管網を形成する。移植後早期には手術操作の影響もあり、これら一部の主絨毛動脈に血管の蛇行、時にちぢれ、破綻を認めるが、これらの変化も24時間以内に回復し、粘膜下組織の充血期を迎える。この時期の病理組織学的所見は、粘膜筋板周囲の細胞浸潤、絨毛の部分的崩壊、小血管周囲への細胞浸潤などである。移植後72時間を経ると、粘膜絨毛への細血管、とくに絨毛動脈の蛇行、ちぢれが現われ、また絨毛動脈の直線化が顕著となる。一方、毛細血管網は、整然さが失われて走行にも乱れがみられる。すなわち、粘膜の乏血期である。病理組織学的には、粘膜下組織の浮腫が著明であり、リンパ濾胞の存在する部分では、濾胞内へ進入する細動脈が増加し、粘膜下血管叢は濾胞によつて圧排されている。組織学的には、筋層、漿膜にも軽度の細胞浸潤と肥厚が認められる。主絨毛動脈の血行の途絶、枯枝様変化などがみられ、血管構築上からみても、前述した絨毛の血管網を構成する2種類の血管がともに障害された所見が認められる。これらの原因は、主に粘膜筋板直下の粘膜下組織や、ときに出現する粘膜筋板内の濾胞状の小リンパ球の浸潤によるものと考えられる。粘膜筋板を中心とした細動脈、毛細血管群において、免疫反応が進行し、拒絶反応がつづく、次第に粘膜下組織の血管は減少し、粘膜筋板ならびにその周囲の毛細血管網は乱れ、蛇行し、うずまき状となり、ついには血管網が消失する。腺窩から表層の粘膜には毛細血管網を欠き、多数の絨毛動脈が消失する。その結果、終末動脈様性格の故に粘膜上皮の脱落、あるいは萎縮への移行は時間の問題となる。これが粘膜下組織の乏血期である。病理組織学的には、小円形細胞の浸潤が、粘膜筋板周囲、筋板内に著明に認められ、さらに固有筋層、漿膜にも著明な細胞浸

潤を認める。拒絶反応がこのまま進行すれば、絨毛への血行の改善は望み得ないことは明白である。

このような微細血管構築の経時的变化から、移植後5日を過ぎると移植片腸管の吸収機能は低下しはじめることが推測される。また、文献的にもCohenら²⁰⁾の glucose 吸収実験では、移植後5日以降にその吸収曲線が平坦化すると報告されており、移植腸管における吸収機能低下は microangiogram でみた微細血管構築の荒廃の時期とよく一致している。岸野らも同種移植腸管の酵素組織学的変化を観察し、GOT (glutamic oxaloacetic transaminase), LAP (leucine amino peptidase) の活性が移植後早期—5日目頃—に低下をみたとしている。一方、拒絶反応の早期診断に C¹⁴D glucose による吸収機能検査の有用性を主張する Hardy¹⁹⁾ らは、免疫抑制処置として ALS (antilymphocyte serum) を用いた犬の部分同種腸管移植実験のなかで、術後8日目頃には吸収曲線が完全に平坦化したと報告している。拒絶反応の病理組織学的診断はその翌日になされることが多く、またその際興味あることに、腸粘膜の絨毛は形態も整っていたが、吸収曲線は徐々に低下し、非治療群との間に大きな差を認めなかつたとしている。彼らはその理由として、移植片に含まれる多くのリンパ組織が有する免疫学的役割をあげているが、なお検討の必要があらう。このように同種移植腸管では、移植後120時間を経過する頃から回復不可能な微小循環障害が始まり、この時期は病理組織学的に拒絶反応の発現時期と一致するもので、同種腸管移植の今後の発展は、この時期をのりきるためにより強力にして安全な免疫抑制手段の開発にかかっているといつても過言でない。多くの移植抗原を含んだまま移植された腸管は、移植免疫反応として時に、Graft versus host 反応の形で宿主を死に到らしめる場合もある (Ruiz)²¹⁾ が、一般的には、移植片のみが宿主から拒絶を受ける。すなわち、host-versus-graft 反応である。これらの免疫反応の主役は、今日、分化ならびに増殖時期の違った各種リンパ球であるとされ、胸腺依存性リンパ球であるといわれている。また、作用面から effector lymphocyte とも呼ばれるものである。しかし、その本質は明らかになつていない。著者の実験で、腸管とともに移植された腸間膜根部リンパ節は、肉眼的にも移植後24時間にして腫大するが、この部分の microangiogram を観察すると、新しく造影される細血管が増加している。山口ら²⁰⁾は、家兎で実験を行い、血行性刺激ならびに全身的循環障害の場合に、血行性刺激の受容器として著しい二

次小節内成熟リンパ球を中心とする核崩壊像をみた述べている。これらの変化としては、エンドトキシンを経動脈的に投与した場合、12時間ではじまり、24時間後には大型貪食細胞や遊離した核片が、リンパ濾胞の周辺に向つて移動し、48時間後になると、貪食細胞はリンパ洞に多数みられると報告している。著者も、対照群の腸間膜リンパ節には、その二次小節の構築、細胞成分に変化を認めないのに対し、移植片リンパ節には、移植後3日頃からリンパ球を中心とする小円形細胞が濾胞から減少し、細網組織、あるいはリンパ基質と接触する毛細血管網 (Post capillare Venen)-PCV-(Schulze)²³⁾ の増加がみられ、ついには、周辺濾胞内にも細胞の減少がみられた。約3日間(48時間~72時間)の時間的遅延を、移植片と宿主間のリンパ組織内における免疫反応成立に要する期間とすれば、山口ら²⁴⁾の実験にみられたと同様の病態が、同種移植されたリンパ節においても起こっているものと考えられる。移植片腸管を中心に考えた場合には、移植片は常時免疫能力を有するリンパ球の移入を受け、玉置²⁵⁾が報告している同種移植病のリンパ節の所見と極めてよく似た組織像を呈する。

すなわち、一定量以上の免疫能力のある細胞が、血行を通じて宿主に排除されることなくリンパ組織に定着し、増殖すれば、強い免疫反応が生じ、移植片のリンパ節は著明に腫大して、大型円形細胞が増殖するが、時期が進むにつれ、小円形細胞の崩壊と減少、さらには細網細胞の増殖へと変化するものと思われる。それ故に、移植されるリンパ組織を一定量にすることが可能ならば、そこに現われる組織学的所見の変化は、本来の宿主のリンパ球が有している免疫能力に比例して現われることも推測され興味深い。さらに、著者の実験において、移植片の粘膜筋板周囲には、宿主から起源すると考えられる小円形細胞の浸潤がみられ、ときには浸潤細胞が集団をなし、濾胞状に出現する場合もあつたが、吸収機能の低下を、拒絶反応の最初の徴候とする (Hardy¹³⁾) 考えもあり、粘膜筋板周囲の微小循環障害は、ただちに粘膜基底部の細胞に影響を与え吸収障害を発現するとも考えられる。

一方、宿主側の固有腸管に附属するリンパ節には、肉眼的にも、また組織学的にも、移植片腸管のリンパ装置に観察された如き著明な変化を認めなかつた点から、いわゆる Graft versus host 反応の作用はなかつたものと考ええる。

結局、移植腸管にみられる移植免疫反応も、その中心

は細胞性免疫によると考えるが、細菌毒素の影響や、過多リンパ組織、移植抗原による GVH 反応など、他の臓器移植の場合と異なる点も多く、今後一層の検討を要すると思われる。

VI 結 語

雑種成犬30頭を用いて、同種腸管移植を行つた。移植片は長さ約20cmの分節小腸であるが、腸間膜リンパ節を含めたまま、異所性に移植した。移植前後に免疫抑制剤を一切投与せず、その拒絶反応の進行過程を微小血管造影法と病理組織学的検索法を用いて追求した。

1. 移植された腸管の微細血管構築について観察した結果、移植後48時間を経過すると辺縁血管から直血管にいたる動脈系に、狭小化ならびに、部分的閉塞が認められた。

2. 顕微鏡的にみられる微小循環障害はまず絨毛基底部にはじまり、粘膜下組織の筋板直下に進行するが、移植免疫反応の病理組織学的指標となる円形細胞浸潤は、血管網の豊富な粘膜筋板を中心とした層に強く認められた。

3. 血管構築の変化からみて、移植後48時間以後の腸管の微小循環状態の変化を、粘膜下組織の充血期(移植後2~3日)；粘膜、絨毛の乏血期(移植後3~4日)；粘膜下組織の乏血期(移植後5日以後)の3型に分類した。

4. microangiography の面から腸管リンパ装置を観察すると、同種腸管移植後、リンパ小節内へ進入する細血管が24時間以後増加しているが、宿主の免疫抑制処置を行っていないとき、移植腸管のリンパ小節内リンパ球はかえつて急激に減少していつた。

稿を終るに臨み、ご指導、ご校閲を賜つた恩師橋本勇教授に深甚なる感謝を捧げるとともに、終始ご指導、ご鞭撻下さつた岡隆宏博士ならびにご協力いただいた田中承男博士、教室の移植研究班の諸兄に深甚なる謝意を表する。

本論文の要旨は、第9回日本移植学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Deterling, R.: Intestinal transplantation, discussion. *Am. J. Surg.* 121, 159, 1971.
- 2) Lillehei, R.C. et al.: Transplantation of stomach, intestine, and pancreas: Experimental and clinical observations. *Surgery* 62, 721—741, 1967.
- 3) Olivier, C.: Homotransplantation orthoto-

- pique de l'intestin grele et des colons droit et transverse chez l'homme. *J. Chir. (Paris)* 98, 323, 1969.
- 4) Alican, F., et al.: Intestinal transplantation: Laboratory experience and report of a clinical case. *Am. J. Surg.* 121, 150—158, 1971.
 - 5) Lillehei, R.C. et al.: The physiological response of the small bowel of the dog to ischemia including prolonged in vitro preservation of the bowel with successful replacement and survival. *Ann. Surg.* 150, 543—560, 1959.
 - 6) Barnett, W.O. et al.: Experimental small-bowel homografts. *Am. J. Dig. Dis.* 7, 833—838, 1962.
 - 7) Benjamin, H.B. et al.: A vascular study of the small intestine. *Surg. Gyn. Obst.* 108, 134—140, 1959.
 - 8) 藤城保男, ほか: 腸管の微小循環。呼吸と循環, 20, 33—43, 1972.
 - 9) Goot, B. et al.: Mesenteric lymphatic regeneration after autografts of small bowel in dogs. *Surgery* 48, 571—574, 1960.
 - 10) Lillehei, R.C. et al.: The present status of intestinal transplantation. *Am. J. Surg.* 105, 58—72, 1963.
 - 11) Preston, F.W. et al.: Function and survival of jejunal homotransplants in dogs with and without immunosuppressive treatment. *Transplantation* 3, 224—229, 1965.
 - 12) 岸野泰雄, ほか: 自家および同種移植腸管の酵素組織学的変化。医学と生物学, 84, 95—100, 1972.
 - 13) Hardy, M.A. et al.: Effect of antilymphocyte serum and other immunosuppressive agents on canine jejunal allografts. *Ann. Surg.* 171, 51—60, 1970.
 - 14) Dempster, W.J.: Kidney homotransplantation. *Brit. J. Surgery* 40, 447—465, 1953.
 - 15) Simonsen, M. et al.: Biological incompatibility in kidney transplantation in dogs. *Acta. Path. Microbiol. Scand.* 32, 1—84, 1953.
 - 16) Kountz, S.L. et al.: Mechanism of rejection of homotransplanted kidney. *Nature (Lond.)* 199, 257—260, 1963.
 - 17) 高橋 徹: 血管構築と末梢循環。総合臨床, 21, 2550—2559, 1972.
 - 18) Jacobson, L.F. et al.: The vascular pattern of the intestinal villi in various laboratory animals and man. *Anat. Rec.* 114, 85—93, 1952.
 - 19) Maximom, A.A. et al.: Chapter 24, the intestine, vessels and nerves. *A textbook of histology* p 396, 1957.
 - 20) Cohen, W.B. et al.: Absorptive function in canine jejunal autografts and allografts. *Surgery*, 65, 440—446, 1969.
 - 21) Ruiz, J.O. et al.: Problems in absorption and immunosuppression after entire intestinal allotransplantation. *Am. J. Surg.* 123, 297—303, 1972.
 - 22) 山口寿夫, ほか: 血管構築よりみたリンパ節の機能構造。最新医学, 21, 1157—1165, 1965.
 - 23) Schulze, W. et al.: Untersuchungen über die Capillaren und Postcapillaren Venen Lymphatischer Organe. *Zeitschr. f. d. ges. Anat.* 1, 421—462, 1925.
 - 24) 玉置憲一: 同種移植病のリンパ節。最新医学, 21, 1235—1243, 1966.