

虚血腸管壁在神経叢障害に関する免疫組織化学的研究

日本医科大学第1外科

陳 大志 恩田 昌彦 森山 雄吉 中島米治郎

虚血によるイヌ腸管壁在神経叢障害の発生および進展様式を免疫組織化学的手法で検索し、壁在神経叢障害の程度にはS-100蛋白の染色性と組織学的所見をあわせ、スコア一化し検討した。対照群では壁在神経叢はS-100抗体により濃染され、組織学的変化はなかった。虚血群では小腸分節の支配動、静脈を遮断した後30分群では染色性の低下、神経細胞と線維の変性などが見られ、粘膜下と筋層神経叢の障害度スコアはそれぞれ2.4, 0.6であった。虚血150分では染色性の消失、神経線維の膨化および神経細胞の壊死などが著明になり、障害度スコアは9.4, 7.9に進行した。Silicon membrane oxygenatorを用いた低酸素血灌流群においてもほぼ同様な障害が認められた。一方、マウスを用いたischemia-reperfusionの実験では、虚血60分群の粘膜障害は血行再開後3日で回復したが、壁在神経叢障害の回復には14日間を要した。虚血90分群では血行再開14日目で粘膜障害を回復したにもかかわらず、神経叢の障害に明らかな回復はなく、虚血120分群では障害の進行が認められた。

Key words: intestinal nerve plexus, hypoxic perfusion, immunohistochemistry, S-100 protein

緒 言

消化管の生理機能の特徴の1つとして、外来神経である交感神経と副交感神経の支配を受けているほかに消化管壁内に神経節細胞が存在し、いわゆる壁在神経叢を持っていることがあげられる。この神経叢は交感神経や副交感神経とは独立した自律機能を発揮し、外来神経をすべて遮断してもかなりの腸管機能は維持され、運動はもとより、消化、吸収機能も営むことができる¹⁾。近年、壁在神経叢に関する研究は散見されるが²⁾、いまだ不明な点が多く、しかも病態に関する形態学的研究は少ない。一般に、低酸素状態において神経組織が障害を受けやすいことは知られているものの³⁾、虚血による神経組織の形態学的研究のほとんどが脳、脊髄などに限られている⁴⁾。それゆえ虚血腸管にみられる壁在神経叢の形態学的変化と、虚血後の再灌流時の組織変化について検索することは意義あるものと考えられる。

著者は神経細胞や線維の形態学的変化に加えて神経組織の骨格蛋白であり、しかも機能面においても細胞内カルシウムイオンを介した細胞機能の調節を担うS-100蛋白につき免疫組織化学的に検索し、壁在神経叢障害の発生および進展様式を、さらに障害された壁在

神経叢の血流再開後の変化についても検討したので報告する。

I. 実験材料と方法

実験1: 体重12~28kgの雑種成犬をペントバルビタール麻酔後人工呼吸下に開腹し、長さ約15cmの小腸分節を数か所選び、ヘパリン1,000IU/kgを静注後、支配動静脈を遮断できるようにして以下の3群に分けた。

対照群: 開腹後直ちに1個の小腸分節を切除し、対照群とした(n=5)。

虚血群: いくつかの小腸分節の支配血管を結紮し、その後30, 60, 90, 120, 150, 180, 210分で虚血腸管を切除した(それぞれn=5)。

低酸素血灌流群(低酸素群): 小腸分節を取り出して直ちに腸間膜の動、静脈にカニューレーションし、Silicon membrane oxygenator⁵⁾で5%CO₂+95%N₂を混合することにより得た灌流血の動脈血酸素分圧を約40mmHgとして、小腸分節の腸間膜動静脈をベルスタルテイクポンプで血流量を30ml/min/100g組織以上に保ち、それぞれ30, 60, 90分間灌流したのちに実験に供した(それぞれn=5)。

実験2: 12週の体重28~32gのddy系マウスを麻酔下に開腹し、長さ約1.5cmの小腸分節を選び、以下の3群に分けた。

対照群: 開腹後直ちに小腸の一部を切除した

(n=5).

虚血群：小腸分節の支配動脈、静脈を結紮、30、60、90、120分の虚血時間後に、腸管を切除した(それぞれn=5).

再灌流群：支配動脈の血流を無傷式の血管クリップを用いて遮断し、腸管の色により虚血範囲を糸で標識した後、血管クリップの柄を開腹創から露出させるように腹壁に固定した。設定時間のとおりに血管クリップをはずして再灌流した。血流再開後1日、3日、7日、14日でそれぞれ再開腹し、標識した腸管を切除した(それぞれn=5)。なお、術後の飲食は血流再開後1日目は禁食、禁水、2日目には水のみ、3日目には少量の固型飼料を与え、4日目からは通常の飲食をさせた。

組織標本は緩衝ホルマリン液で48時間固定後パラフィン切片を作成し、H & E染色をほどこして腸壁の全体像を把握し、さらに polyclonal でもって作製した抗ウシ S-100抗体 (100倍稀釈 Dakopatts 社製 No. Z 311) を用いて免疫組織化学的染色 (ABC 法) を行い⁶⁾、光顕的に観察した。壁在神経叢障害の程度の判定には神経細胞や線維の変性壊死に加えて神経組織の骨格蛋白である S-100蛋白の変化を合わせて評価するほうがより適確であると考え、それを簡略かつ明瞭に表現するためにスコア化した。すなわち対照群の粘膜下および筋層神経叢の染色状態を0とし、一部分の神経組

織で染色性の軽度の低下が見られればスコアを1、全体の軽度低下は2、それに一部分に著明な低下が見られれば3、全体の著明な低下は4、さらに一部分に染色性の消失が伴えば5、そして全体に消失すれば6と、染色性の変化を6段階に分けた (Table 1A)。組織学的所見については、視野内で膨化した神経線維が少数で、変性したグリア細胞の数が1/3以下であればスコアを1、膨化した神経線維と変性したグリア細胞が約半数で、少数の壊死したグリア細胞および変性した節細胞が認められれば2、神経線維の膨化とグリア細胞の変性壊死が2/3以上で、節細胞の壊死が認められれば3、すべての神経組織が壊死状態を呈している場合は4と設定した (Table 1B)。また、総合判定の際に染色性の変化を表現するスコア-Aと組織学所見を表現するスコア-Bとの両方の合計スコアを用いて評価し、各群とも10視野の平均スコアで比較した。なお、再灌流後における粘膜の修復過程については、腸管の単位長さの粘膜の占有面積と絨毛の占有面積を画像解析装置 (オリンパス製 SP-500) で測定し、各群の粘膜総面積に対する絨毛面積の占有率をt検定で比較した (p<0.05を有意差ありとした)。

II. 成績

実験 1

対照群：粘膜下神経叢は粘膜下層に島状に分布し、筋層神経叢は輪状筋と縦走筋の間に拡がり、両神経叢

Table 1

(A) S₁₀₀ staining reactivity of nerve tissue

score	nerve fibers	glia cells
0	normal	normal
1	partly mildly declined	normal
2	all mildly declined	minority declined
3	partly significantly declined	majority declined
4	all significantly declined	all significantly declined
5	partly disappeared	partly disappeared
6	all disappeared	all disappeared

(B) Changes of nerve fibers and cells

score	nerve fibers necrosis	glia cells		ganglia cells	
		degeneration	necrosis	degeneration	necrosis
0	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
1	minority	<1/3	n.p.	n.p.	n.p.
2	half	half	minority	minority	n.p.
3	majority	>2/3	majority	majority	minority
4	all	—	all	—	all

abbreviation n.p. : nothing particularly

Fig. 1a Control (0-min. ischemia) : Submucous plexuses are strongly stained by S-100 antibody (score A : 0) and no histological damage is seen in nerve fibers (*) and neurocytes (\uparrow , score B : 0). Ischemia groups : After 30~90-min. of ischemia, there partly appear progressive hypochromasia, degeneration and necrosis of nerve fibers, glia cells and gangliocytes. In the photographs of 30-, 60-, 90-min. the damage score (A+B) are about 2+1, 3+2, 4+3 respectively. (S-100 stain, ABC, $\times 600$)

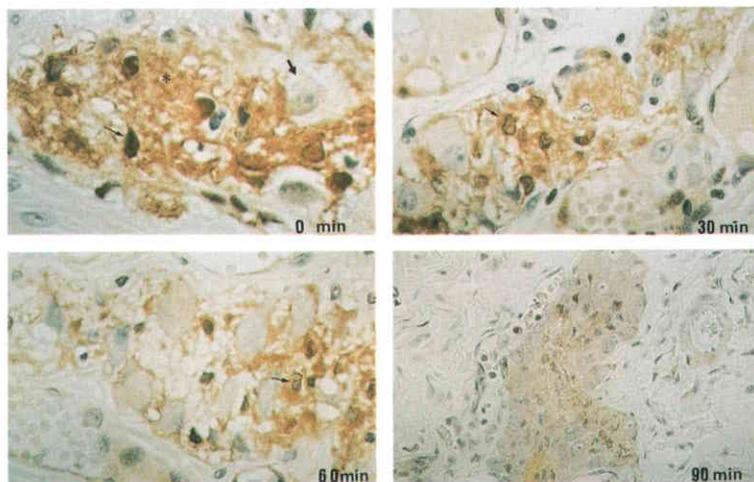
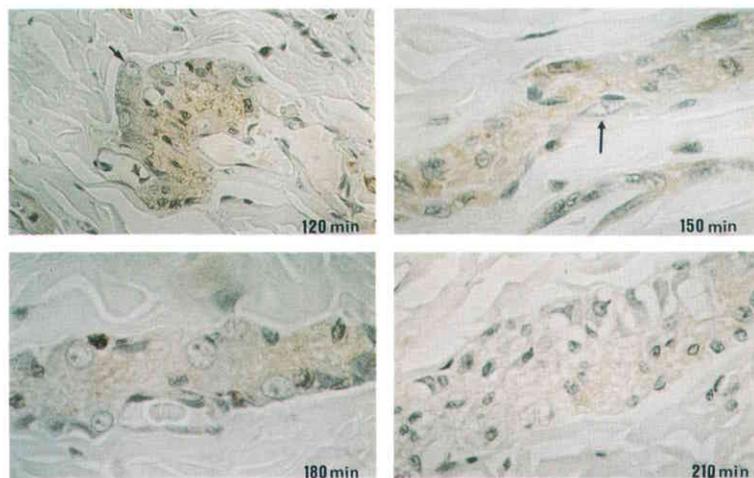


Fig. 1b After 150-min. of ischemia, the chromasia of submucous plexuses disappeared, and many degenerated, necrotic neurocytes (\uparrow) are developed, the damage score (A+B) are about 5+3. (S-100 stain, ABC, $\times 600$)



の骨格はS-100抗体により濃染される神経グリア細胞とその線維により構成され、その間にS-100抗体染色陰性の神経節細胞が高頻度に見られた(**Fig. 1a, 2a**)。

虚血群：粘膜下神経叢では神経線維とグリア細胞の染色性は虚血30分から時間の経過に伴い低下し、120分

でほぼ消失していた。虚血60分では神経線維の膨化とグリア細胞核の空泡化および核の変形など細胞変性、壊死の変化が見られ、虚血90分後には神経節細胞も変性または壊死を呈していた。虚血150分では神経叢の染色性はほとんど消失し、神経組織は壊死に陥っていた

Fig. 2a Intramuscular plexuses hypochromasia (↑) and neurocytes degeneration appeared after 60-, 90-min. of ischemia, the damage score (A+B) are about 1+2, 4+2 respectively. (S-100 stain, ABC, ×400)

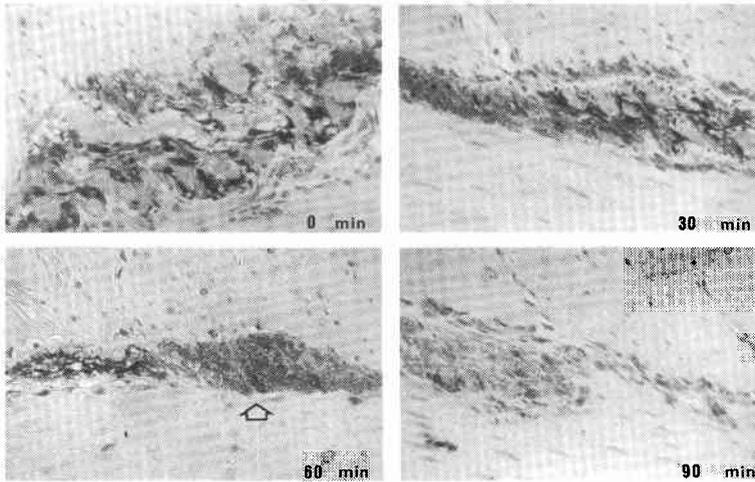
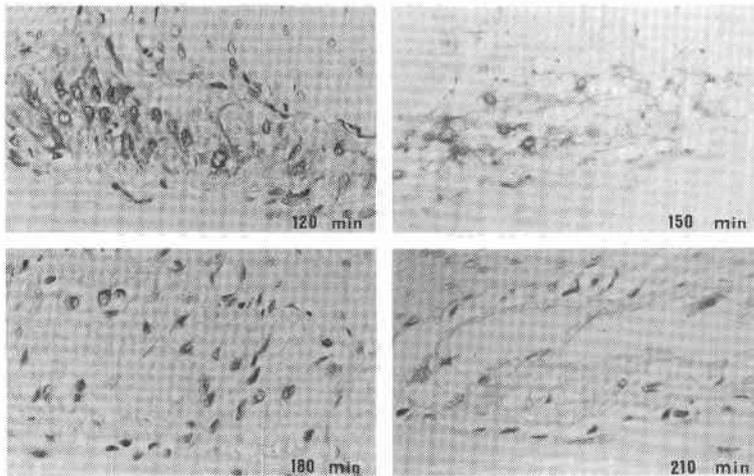


Fig. 2b After 150-min. of ischemia, the damages of intramuscular plexuses are nearly the same as submucous plexuses (score 4+3). (S-100 stain, ABC, ×400)

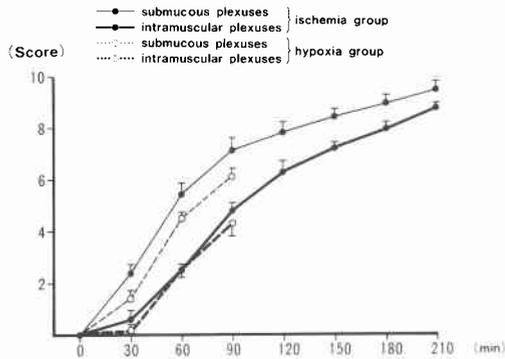


(Fig. 1a, 1b). 一方、筋層神経叢においては虚血30分で神経組織の染色性に変化は見られなかったが神経叢周膜内の浮腫が著明に認められた。神経細胞の変化は粘膜下神経叢より約30分ほど遅れて出現したが、虚血150分後には両神経叢ともほぼ同程度の障害を呈していた(Fig. 2a, 2b)。すなわち、虚血30分から210分にかけて30分ごとの障害度スコアをみると、粘膜下神経叢では2.4, 5.5, 7.1, 7.8, 8.4, 8.9, 9.4, 筋層神経叢では0.6, 2.5, 4.8, 6.3, 7.2, 7.9, 8.9であり、粘膜下神経叢の方が筋層神経叢より早く障害されたこ

とが認められた(Fig. 3)。なお、腸管は血流遮断後、その蠕動を5分以内に停止し、痙攣状態を呈した。また、H & E染色の標本でみると虚血30分において絨毛先端の軽度の浮腫と上皮細胞層の剝離が見られたが、上皮細胞の形態的な変化は光顕的に認められなかった。筋層では平滑筋線維の変性が虚血120分で見られ、180分では限局性に壊死が認められた。

低酸素素群：低酸素素灌流30分から90分にかけて腸管の蠕動は経過とともに弱くなり、90分後には完全に停止した。組織の変化では、絨毛の浮腫や上皮細胞の剝

Fig. 3 The damage scores of submucous plexuses in hypoxic group are decreased significantly than those of ischemia group, but no clear difference is seen in intramuscular plexuses.



離, 脱落などが見られ, 90分間灌流後に虚血群とほぼ同様の粘膜障害を呈していた。壁在神経叢の障害は経時的に進行し(Fig. 4), 障害度スコアで見ると, 粘

膜下層では30, 60, 90分でそれぞれ1.3, 4.4, 6.1, 筋層では0.1, 2.4, 4.4であり, 粘膜下神経叢の障害度は虚血群より軽度であるが, 筋層神経叢の障害度は虚血群と比べ差は見られなかった (Fig. 3).

実験 2

対照群: 腸管壁は正常な組織像を呈しており, 粘膜の総面積を100%とすれば, 絨毛の占有面積は粘膜総面積の約50%を占めていた (Fig. 5)。壁在神経叢はS-100抗体により濃染され, 特に神経節細胞もS-100抗体染色が陽性を示していた。また神経組織の異常は見られず, 障害度スコアは0.0であった (Fig. 6)。

虚血群: 粘膜障害については虚血60分で絨毛の長さが縮小し, 90分で絨毛の完全破壊および120分で陰窩部細胞の変性, 壊死も見られた (Fig. 7a, 7b)。虚血後30分ごとの一定視野内の粘膜の総面積に対する絨毛の面積の占有率はそれぞれ47.5%, 39.1%, 15.1%, 1.4%であり, 時間とともに粘膜障害の進行が有意に認められた ($p < 0.01$, Fig. 5)。

Fig. 4 Submucous plexuses of hypoxic perfusion group (Figures above): Hypochromasia and slight degeneration of most nerve tissues are noted after 60-min. of hypoxic perfusion, and when 90-min., the damages become more serious. Intramuscular plexuses of hypoxic perfusion group (Figures below): Hypochromasia in glia cells and nerve fibers is observed after 60-min. of hypoxic perfusion, when 90-min., part nerve tissues develop degenerate and necrotic changes. (S-100 stain, ABC, $\times 400$)

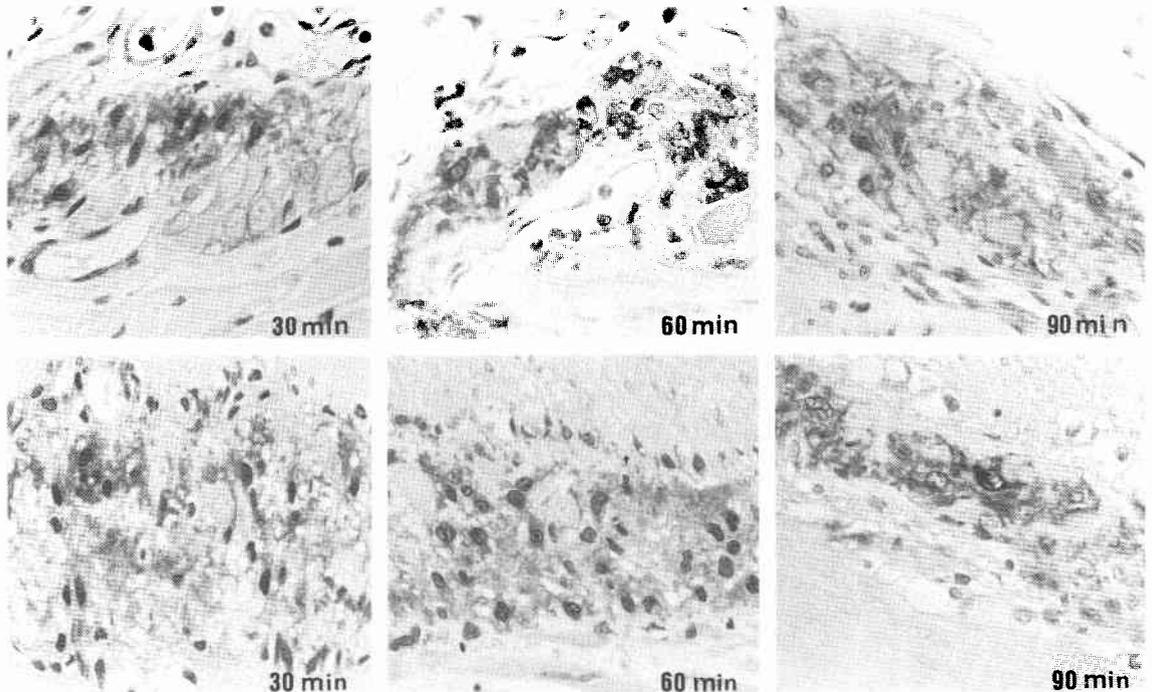


Fig. 5 With the ischemic period prolonged, the ratio of villi area to mucosal area is remarkably decreased. After reperfusion 3 days, the villi area recover to normal in the groups of 30- and 60-min. ischemia; while this recovery is observed after 7- and 14-day of reperfusion in the groups of 90- and 120-min. ischemia.

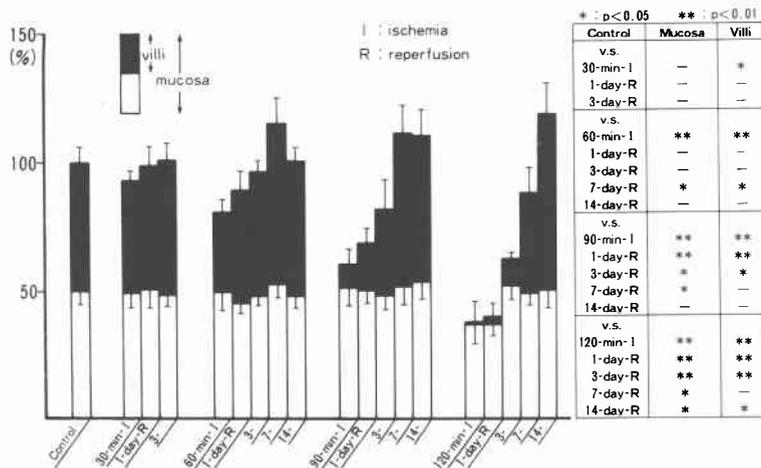
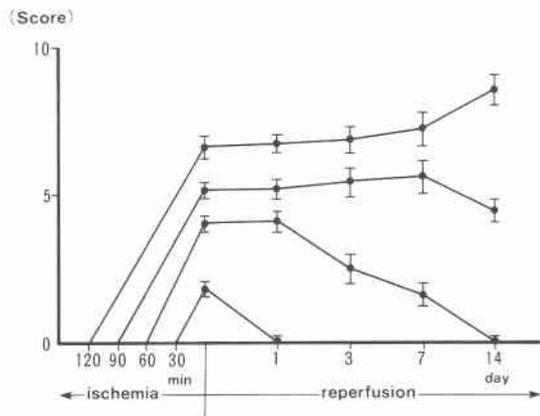


Fig. 6 The plexus damages of 30- and 60-min. ischemia are recovered to normal after 1- and 14-day reperfusion respectively. While after 14-day reperfusion, no recoveres were found in the group of 90-min. ischemia, and the damages even become serious in the group of 120-min. ischemia,



虚血30分から壁在神経叢の染色性は時間とともに低下し、90分ではほぼ消失し、神経組織の変性、壊死も著明になった。虚血120分で神経細胞の数は著しく減少し、神経細胞はほとんど変性壊死状態に陥った (Fig. 8a, 8b). すなわち虚血後30分ごとの障害度のスコアは1.8, 4.0, 5.1, 6.6であった (Fig. 6).

再灌流群：虚血30, 60分の粘膜障害は再灌流後1日目, 3日目で正常に回復した (Fig. 7a), 虚血90, 120分群ではそれぞれ7日目, 14日目で絨毛の長さが回復したものの (Fig. 5), 異常な粘膜組織像を呈していた (Fig. 7b). 壁在神経叢の障害は、虚血30分のものでは再灌流後1日目で回復したが、60分のものでは虚血直後のスコアが4.0, 3日目には2.5, 7日目には1.6となり、14日目ではほぼ正常に回復していた。しかし、虚血90分のものでは再灌流14日後壁在神経叢の障害度スコアは4.4で十分な回復を認めず、虚血120分ではスコアは8.3とさらに障害の進行が認められた (Fig. 6, 8a, 8b).

血流再開後の開腹所見では虚血30, 60および90分の再灌流14日目において腸管の壊死は見られなかったが、虚血120分群では20例中8例に腸管の壊死が認められた。虚血と再灌流時間が長くなるとともに、腸管の癒着および口側腸管の拡張が高頻度に見られるようになり、虚血90, 120分再灌流7日後では全例に認められた。また、虚血120分で3例が死亡し、死因のいずれもが虚血腸管の壊死、穿孔による汎発性腹膜炎であった (Table 2).

考 察

消化管壁在神経叢は神経グリア細胞や神経線維ならびに神経節細胞によって構成され、食道から肛門まで広く分布し、そのニューロンの数は $10^7 \sim 10^8$ 個であり、

Fig. 7a The villi damages of 30- and 60-min. ischemia completely recovered after 1- and 3-day reperfusion. (H & E, $\times 100$)

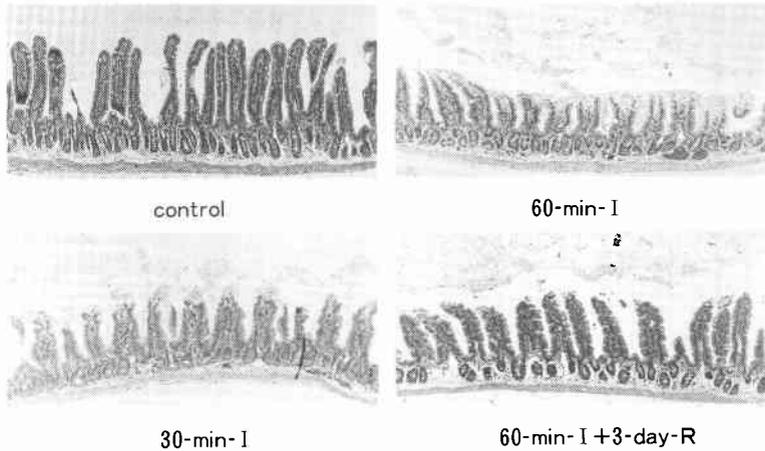
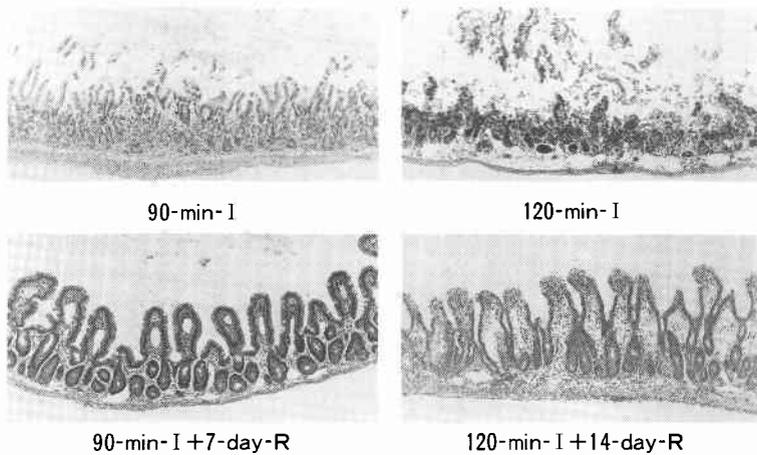


Fig. 7b In the groups of 90- and 120-min. ischemia, structural disorder could still be found after 7- and 14-day reperfusion even though villi height restored. (H & E, $\times 100$)



脊髄とはほぼ同数であるといわれている¹⁾。この神経叢は消化管の吸収、分泌、運動ないし免疫機能の調節において重要な役割を果たしているので消化管の脳ともよばれている。また壁在神経叢は交感神経系および副交感神経系と並んで第3の自律神経系であるという提唱もあり¹⁾、その重要性に対する認識が高まっている。

ところが、壁在神経叢に関する生理学および解剖学的研究は多い^{2)7)~9)}が、虚血状態における形態学的変化を観察した研究は見当たらない。

Kobayashi ら²⁾は、免疫組織化学的手法を用いて壁在神経叢の骨格蛋白が S-100蛋白により組成されてい

ることを報告しており、神経叢の機能面においても S-100蛋白はカルシウム結合蛋白として細胞機能の調節を担うことが推定されている。そこで、著者は S-100蛋白の染色性の変化と神経組織の組織形態学的変化に基づき、虚血による壁在神経組織障害の発生および血流再開後の転帰について検討して以下のような結果を得た。①イヌ小腸の壁在神経叢の虚血性変化は粘膜や平滑筋細胞などの神経叢以外の組織より早く出現した。②筋層神経叢より粘膜下神経叢のほうが早期に障害され、虚血120分後では両神経叢の一部の組織が不可逆的な変化を呈していた。③低酸素状態においても完全虚血

Fig. 8a The plexus damages of 30-, 60-min. ischemia group are recovered after 1-, 14-day reperfusion. (S-100 stain, ABC, $\times 200$)

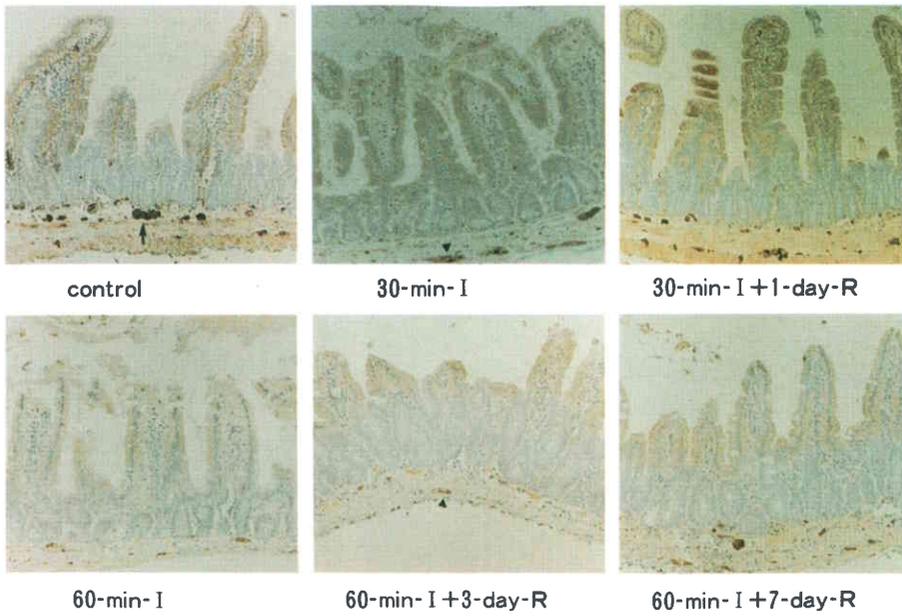


Fig. 8b After reperfusion 14 days, almost no damage recovery is found in the group of 90-min. ischemia ; and in the group of 120-min. ischemia, the plexus damages develop even more serious. (S-100 stain, ABC, $\times 200$)

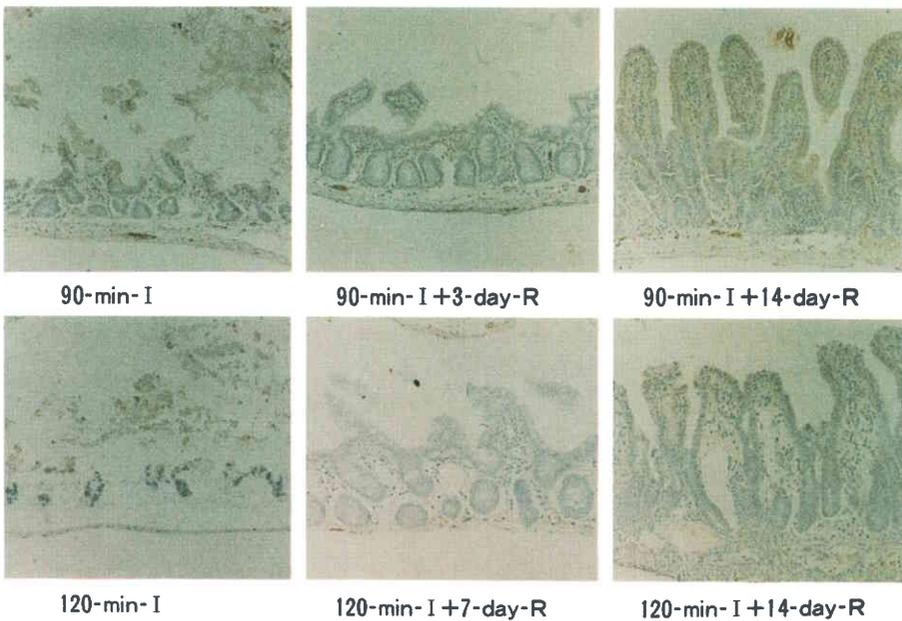


Table 2 Macroscopic findings after reperfusion

Duration of ischemia	30 min.				60 min.				90 min.				120 min.			
Day after reperfusion	1	3	7	14	1	3	7	14	1	3	7	14	1	3	7	14
No. of cases (n=)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Survived intestine	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	2	4	3
Adhesive intestine	0	0	0	0	0	2	2	4	0	3	5	5	0	5	5	5
Proximal dilatation of the ischemic intestine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	0	0	4	5
Necrosis or perforation of the ischemic intestine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	1*	2*

(*death)

状態に類似した組織障害が見られた。④マウス虚血腸管の粘膜障害は虚血120分でも血流再開2週間には形態的に回復したが筋層の修復は見られなかった。⑤マウス小腸の壁在神経叢障害の形態学的な回復限界は虚血時間が60分以内であり、90分以上の虚血では回復しにくく、腸管が生存しても運動機能障害の残存が示唆された。

今回の実験では、腸管の血流を遮断すると、直ちに腸管の蠕動は停止し、痙攣状態を呈した。名越ら¹⁰⁾によれば血行遮断を行うと、その直後より腸管の筋電図の spike component は消失すると報告されていることから、これは虚血による機能的な反応として出現したものと考えられる。すなわち、虚血により脳、脊髄では神経細胞より非特異的に大量の興奮性神経伝達物質が放出され、シナプス後細胞の過剰興奮が引き起こされ、その結果としてシナプス後細胞が抑制状態に陥るといわれているが¹¹⁾¹²⁾、腸管壁でも同様のことが起こっていると考えられる。

Chiu ら¹³⁾によると虚血後30分で腸絨毛の浮腫、粘膜上皮の剥離などが見られたが、上皮細胞の細胞レベルの変化はほとんど見られなかったという。これに対し、今回得た成績でみるように壁在神経叢では神経組織の変性が早く出現し、時間とともに障害は進展し、2時間になるとかなりの障害が見られた。このことは、壁在神経叢は粘膜や平滑筋細胞などの組織より虚血に対する反応が敏感であり、障害の進行も速いと考えられる。

粘膜下神経叢が筋層神経叢より先に障害されたことについては主に2つの理由が考えられる。その1つは虚血により腸管壁血流の再分配が起こり、粘膜下層血管の抵抗が強くなるため¹⁴⁾、粘膜下および粘膜層の血流量は減少し、粘膜下神経叢はさらに酸素欠乏状態に陥るためと考えられる。一方、Stead ら¹⁵⁾によれば粘膜

下層には肥満細胞や好酸性ならびに好塩基性顆粒細胞などが多数存在し、膜-膜接触の方式で壁在神経組織に密接しているという。虚血によりそれらの肥満細胞や顆粒細胞内にある血管作動性物質や酵素などが細胞外に放出され¹⁶⁾、粘膜下神経組織が傷害されるものと推測される。また粘膜障害のために腸管内有毒物質が腸管壁内へ浸透することにより粘膜下神経叢が先に影響されることも推察される。筋層神経叢障害については、筋層神経叢の外環境は粘膜下神経叢と違い、そのまわりに平滑筋組織が密接するため平滑筋細胞の異常収縮や持続痙攣により神経叢への負荷が加わることが考えられ、平滑筋細胞の持続痙攣により筋層の酸素とエネルギーの消耗が増加し、筋層神経叢障害の進行が加速されるものと思われる。

ところで、虚血による壁在神経叢障害において血流再開後の形態学的な回復の可否は虚血の程度とあまり関係なく、虚血時間の長さによって決められると考えられる。すなわち完全虚血の場合でも一定の時間内であれば完全回復することが可能であり、逆に低酸素状態の場合でもある時間の限界を越えると回復できないことがある。本実験2によると、完全虚血60分以内のマウス小腸では血流再開14日後に壁在神経叢の回復は組織学的に認められたが、虚血90分以上のものでは血流再開14日でもその回復が見られず、形態学的にも口側腸管の拡張が多数の症例で認められ、虚血腸管の運動機能障害の存在が推測された。虚血後壁在神経組織の回復については体性神経系損傷と異なり壁在神経叢にある神経細胞の胞体と軸索がともに傷害され、さらに中枢神経に比べ壁在神経叢はまわりの非神経組織と密接しており、虚血時それらの組織の代謝障害は血行再開後も壁在神経叢に影響を与えることが考えられ、障害の回復はさらに複雑になるとと思われる。すなわち壁在神経叢はある一定時期の虚血状態におかれて

傷害を受けると組織学的、機能的にも回復しにくいものと考えられる。その傷害機序について今後さらに検討する必要があるものと思われる。

本論文の要旨は第36, 37回日本消化器外科学会総会(1990年7月, 1991年2月東京)において発表した。

文 献

- 1) Furness JB, Costa M: Types of nerves in the enteric nervous system. *Neuroscience* 5 : 1—20, 1980
- 2) Kobayashi S, Suzuki M, Endo T: Framework of the enteric nerve plexuses: An immunocytochemical study in the guinea pig jejunum using an antiserum to S-100 protein. *Arch Histol Jpn* 49 : 159—188, 1986
- 3) Pulsinelli WA, Brierley JB, Plum F: Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. *Ann Neurol* 11 : 491—498, 1982
- 4) Clancy RR, Sladky JT, Rorke LB: Hypoxic-ischemic spinal cord injury following perinatal asphyxia. *Ann Neurol* 25 : 185—189, 1989
- 5) 中島米治郎, 恩田昌彦, 林久太佳ほか: 低酸素血流灌流時の犬空腸壁神経叢に対するプロスタグランジン (PGE_1) の障害抑制効果について。日外会誌 91 : 1456—1462, 1990
- 6) Hsu SM, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. *J Histochem J Cytochem* 29 : 577—580, 1981
- 7) Keast JR, Furness JB, Costa M: Origins of peptide and norepinephrine nerves in the mucosa of the guinea pig small intestine. *Gastroenterology* 86 : 637—644, 1984
- 8) Costa M, Furness JB: Somatostatin is present in a subpopulation of noradrenergic nerve fibers supplying the intestine. *Neuroscience* 13 : 911—920, 1984
- 9) Furness JB, Costa M, Emson PC: Distribution, pathways and reactions to drug treatment of nervous tissue with neuropeptide Y and pancreatic polypeptide lack immunoreactivity in the guinea-pig digestive tract. *Cell Tissue Res* 234 : 71—92, 1983
- 10) 名越大起, 小澤哲郎, 宮島良征: 腸間膜血管障害における腸管壁血流, 組織像及び平滑筋活動電位について。日平滑筋会誌 22 : 363—365, 1986
- 11) Wurtman RJ, Zervas NT: Monoamine neurotransmitters and the pathophysiology of stroke and central nervous system trauma. *J Neurosurg* 40 : 34—36, 1974
- 12) Kogure K, Scheinberg P, Matsumoto A: Catecholamines in experimental brain ischemia. *Arch Neurol* 32 : 21—23, 1975
- 13) Chiu CJ, McArdle AH, Brown R: Intestinal mucosal lesions in low flow states. I. A morphologic, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 101 : 478—483, 1971
- 14) Jacobson ED: The gastrointestinal circulation. Edited by Johnson LR. *Gastrointestinal Physiology*. The CV Mosby Company, Saint Louis, 1977, p159—170
- 15) Stead RH, Bienenstock J, Stanisz AM: Neuropeptide regulation of mucosal immunity. *Immunol Rev* 100 : 333—359, 1987
- 16) 恩田昌彦: イレウスの病態と治療。腹部救急診療の進歩 7 : 565—576, 1987

Immunohistochemical Studies on Damages of Intestinal Nerve Plexuses in Ischemic State

Dazhi Chen, Masahiko Onda, Yukichi Moriyama and Yonejiro Nakajima
The First Department of Surgery, Nippon Medical School

The genesis and development of intestinal nerve plexus damage in ischemic and hypoxic states in the dog was investigated using immunohistochemical methods. The intestinal nerve plexuses were strongly stained by S-100 antibody in the control group, but no histological changes were observed in nerve fibers or neurocytes. The S-100 protein staining of intestinal nerve plexuses decreased from 30 minutes of ischemia, and degeneration features of neurocytes and nerve fibers appeared. After 150 minutes of ischemia, the S-100 protein staining of intestinal nerve plexuses almost disappeared, swelling of nerve fibers and necrosis of neurocytes could be clearly observed. Approximately the same degree of damage was found in the perfusion groups with hypoxic blood. On the other hand, ischemia-reperfusion tests were also conducted in mice. After 60 minutes of ischemia, mucosal damage was repaired after 3 days of reperfusion, whereas intestinal nerve plexus damage required 14 days to recover. After 90 minutes of ischemia, mucosal damage had returned to normal 14 days later, but clear repair did not appear in plexuses. In groups exposed to 120 minutes of ischemia, the damage was even more severe.

Reprint requests: Dazhi Chen The First Department of Surgery, Nippon Medical School
1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 JAPAN
