

閉塞性血栓の器質化：
光学顕微鏡及び電子顕微鏡による観察

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9029

閉塞性血栓の器質化：光学顕微鏡及び 電子顕微鏡による観察

金沢大学医学部病理学第一講座（主任：梶川欽一郎教授）

岡 田 仁 克

（昭和57年11月12日受付）

ラット総頸動脈を二重結紮し、結紮間部の血栓の器質化過程を、1日から1年にわたり、光顕的及び電顕的に観察した。血流の杜絶と共に大部分の内皮細胞は速やかに壊死に陥るが、生き残った内皮細胞は血栓内に増殖し毛細血管を形成する。同時に中膜平滑筋細胞が血栓内に増殖し、膠原線維と弾力線維が形成される。新生毛細血管による再疎通が開始されると、そこから遊出する多数の大食細胞によって凝血残滓は急速に除去され、器質化が促進される。増殖した平滑筋細胞は毛細血管の周囲を取り囲み、器質化血栓の中央に位置する毛細血管は小動脈様の血管に発育し、再疎通が完成する。これらの所見から、閉塞性血栓の器質化は血腫の器質化と違って、障害された血行を回復しようとする生体の適応反応であると結論された。

Key words Occlusive thrombus, Organization, Recanalization

閉塞性血栓は一般に血管壁から増殖する肉芽組織によって置換され、新生毛細血管の発育と共に再疎通が起るものと考えられている。しかし、実験的血栓の器質化に関する光学顕微鏡（以下光顕と略す）及び電子顕微鏡（以下電顕と略す）を用いた観察の結果、血栓内に増殖する主要な細胞は平滑筋細胞であり、形成された線維性組織には多量の弾力線維が沈着することが明らかになってきた^{1)~5)}。さらに、器質化血栓に形成される血管は、単に毛細血管に止まらず、ある場合には中膜の構造を具備した小血管に発育することが指摘されている^{2)4)~6)}。これらの成績は閉塞性血栓の器質化は、凝血が結合組織によって置換されるという古典的器質化の概念とは違った過程であることを示唆している。したがって、このような観点に立つて閉塞性血栓の器質化の過程を再検討する必要があると思われる。本研究は、実験的閉塞性血栓の器質化に関する細胞の種類と起源、及び器質化血栓の再疎通の形態発生を明らかにする目的で計画されたものである。

材料および方法

Wistar系ラット（雄、250~500g）の右総頸動脈を周囲組織から剝離し、0.5~1cmの間隔で血液を入れたまま、絹縫合糸で二重結紮した。手術後1, 3, 7日, 2, 3, 4, 5, 6週, 2, 4, 6カ月, 1年目に組織を採取した。これらの組織から光顕及び電顕標本を作製した。

光顕標本：組織を10%中性ホルマリンで固定後、パラフィン切片として、ヘマトキシリン・エオジン、エラスチカ・ワンギーソン、オイルレッドO、及びベルリン青染色を施した。

電顕標本：組織を2.5%グルタル・アルデヒド(0.1M カコジル酸ソーダ緩衝液 pH 7.4)中に1時間固定後、2%オスミウム酸(0.1M カコジル酸ソーダ緩衝液 pH 7.4)で4°C、2時間の固定を行った。次いでエタノール系列で脱水、エポック 812で包埋した。

試料はダイヤモンドナイフを用い、LKBウルトラト

Light and Electron Microscopic Study on the Organization of Occlusive Thrombus.
Yoshikatsu Okada, Department of Pathology (I), (Director: Prof. K. Kajikawa), School
of Medicine, Kanazawa University.

ーム 8800 型で超薄切片を作製し、酢酸ウラニール・硝酸鉛の二重染色を行った。一部の標本には、0.02%の割合にリンタングステン酸アンモニウムを加えた酢酸ウラニールと硝酸鉛の二重染色を施した。また弾力線維同定のため、タンニン酸染色⁷⁾も行った。

電顕試料は日立 H-500 型電子顕微鏡で直接倍率 1,200~3,000 倍で撮影した。

ペリカンインク注入試験：血栓の再疎通を調べる目的で結紮後 3, 4, 5, 6 週に Ehrlich ら⁸⁾の方法に準じて、生理食塩水で 50%に稀釈したペリカンインクを用いた注入試験を行った。ラットを麻酔後開胸し、左心室から右総頸動脈結紮部直前に内針 27 G, 外針 20 G の静脈留置針を挿入、固定した。内針抜去後、静脈留置針に接続したシリンジに手動でほぼ一定の圧を加え、ペリカンインク溶液を注入した。注入後、直ちに結紮間部を切り出し、縦切標本を作製して光顕的に観察した。

成 績

1 日

光顕所見：結紮間部の血管腔には凝血が充満し、内皮細胞はほとんど消失する。中膜に著変なく、外膜には手術による小出血と軽度の白血球浸潤が認められる。結紮部には出血を伴って多数の好中球と単球の浸潤が認められる。

電顕所見：血管腔はフィブリンを混じた赤血球、血小板、白血球の凝塊で満たされ、血小板や白血球に変性が見られる。内皮細胞の大部分は壊死に陥り剝離するが、一部に剝離を免れた扁平な内皮細胞が残存する。内皮細胞の剝離によって露出した内弾性板に血小板や赤血球が付着し、中膜内側に血漿と好中球の浸潤が見られる。

3~7 日

光顕所見：凝血の赤血球は崩壊し、所々ヘマチン結晶の沈着が認められる。注目される所見は血管内壁からの細胞増殖である。これらの細胞は卵円形又は紡錘形を呈し、しばしばシート状又は網状に配列しながら、融解した凝血の間隙に沿って増殖する。中膜平滑筋細胞は腫大し、血管腔に対して垂直に配列する。結紮部には好中球と単球の浸潤が増加する。

電顕所見：3 日目では動脈内壁から内皮細胞の活発な増殖が認められる(図 1, 2)。増殖した内皮細胞はリボゾームに富み、核分裂が認められる。時々内皮細胞に赤血球の貪食が認められる。管腔の形成はないが、細胞は tight junction 様の接着装置で接合し、シート状の配列を示す(図 2)。基底膜はほとんど認められない。

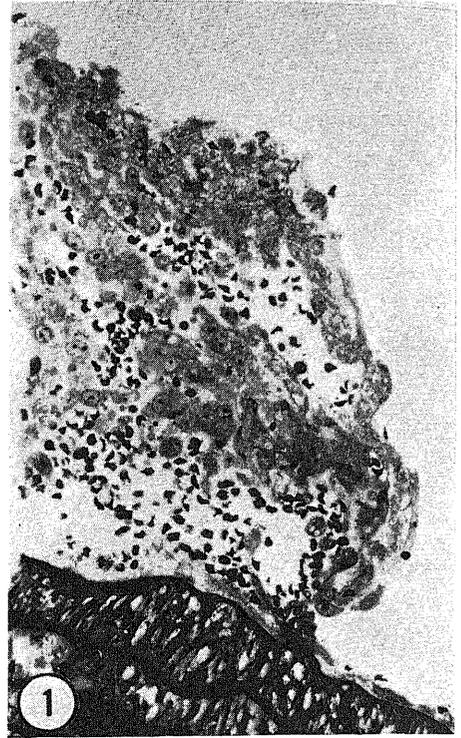


Fig. 1. Light micrograph showing endothelial cells proliferating in the thrombus in a sheet-like manner from the uninjured endothelium. 3 days after ligation. Epon embedded 1 μ m section. Toluidine blue stain. $\times 320$.

7 日目には内皮細胞の細胞索の間に、線維芽細胞様の紡錘形細胞の増殖が認められる。内皮細胞は管腔を形成し始める。しかし管腔はまだ不完全で、内腔は狭く形は不規則である。シート状の内皮細胞の先端に 1 個の赤血球を包む小腔として認められるものや、管腔が完全に閉鎖していないものがある。管腔を包む内皮細胞は核小体の明瞭な核を有し、リボゾームが豊富で、粗面小胞体やゴルジ装置の発育は比較的良好である。所々マイクロフィラメントの集束が認められ、少数のリソゾーム様の小体が散見される。Wibel-Palade 顆粒は認められない。細胞の輪郭は不整であるが、接着装置によって互に接着する。基底膜はほとんど形成されず、細胞基底面に基底膜様物質が断続的に付着するにすぎない。

内皮細胞間の線維芽細胞様細胞はよく発育した粗面小胞体とゴルジ装置によって特徴づけられる。この細胞はしばしば管腔を形成する内皮細胞に接近し、内皮細胞に沿って長い原形質突起を延ばす(図 3)。線維芽細胞様細胞の周辺には細い膠原線維の沈着が観察され

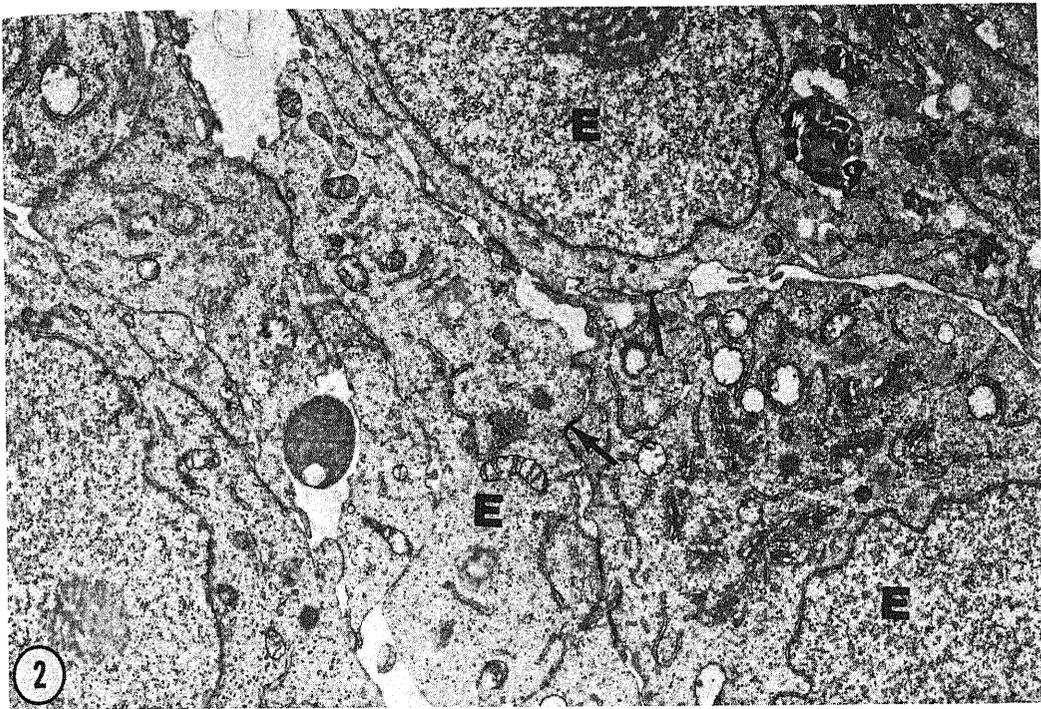


Fig. 2. Proliferating endothelial cells in the thrombus. Note tight junction-like junctional complexes (arrows) between these cells. 3 days after ligation. E: endothelial cell. $\times 6,000$.

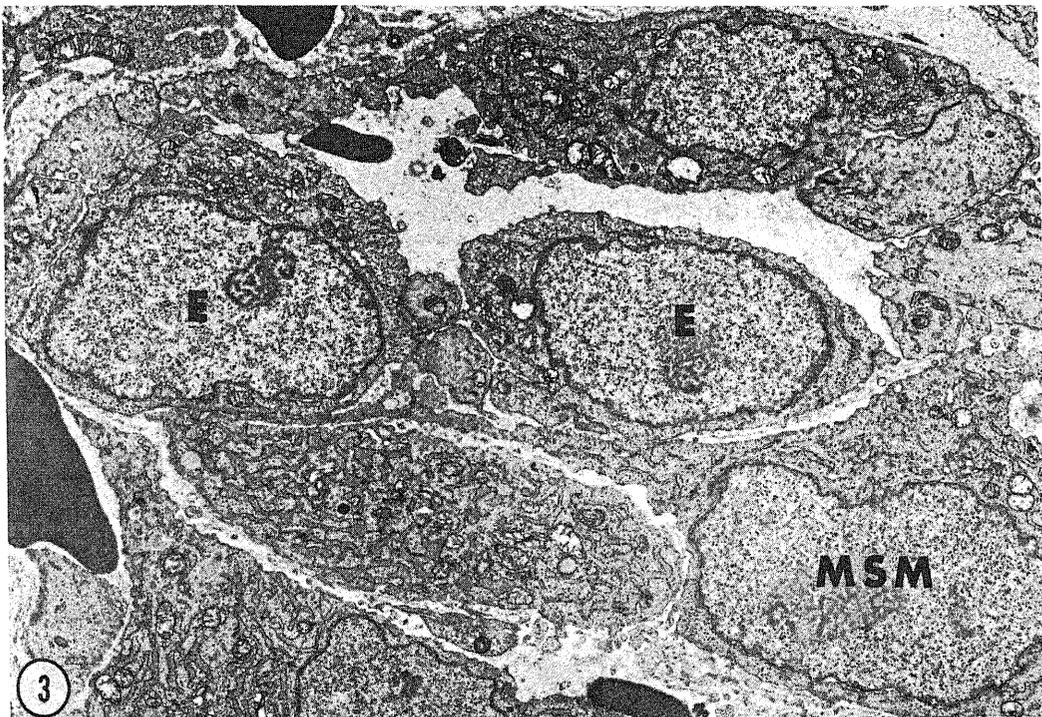


Fig. 3. A capillary seen in the early stage of capillary formation. A modified smooth muscle cell is observed near the endothelial cells. 7 days after ligation. MSM: modified smooth muscle cell. $\times 4,800$.

る。

中膜内側には血液の浸入があり、平滑筋細胞の増殖が認められる。平滑筋細胞はミオフィラメントの減少と粗面小胞体の発育によって線維芽細胞様の細胞、すなわち修飾平滑筋細胞(modified smooth muscle cell)に変形する(図4)。これらの細胞は内弾性板の間隙を通して血腔内へ侵入することが観察される。これらの所見から、上述の血腔内に見られる線維芽細胞様細胞は修飾平滑筋細胞に由来するものと考えられる。

2～3週

光顕所見：凝血の赤血球はほとんど融解し、赤血球の破片を含む多量のヘマチンの集塊とフィブリンを混じた無定形物質に分解され、これらの中には紡錘形細胞の増殖が続いている。この時期における最も注目すべき所見は、増殖細胞の間に毛細血管が形成され、その周囲に多数の大食細胞の浸潤が認められることである。毛細血管腔には新鮮な赤血球が充満し、結紮外の血流との間に交通が生じていることが示される。毛細血管周囲に浸潤した大食細胞は多量のヘモジデリンを含有し、時々多核巨細胞が形成される(図5)。

結紮部には好中球の浸潤は減少し、大食細胞、線維芽細胞及び新生毛細血管を含む肉芽組織が増殖する。

結紮系の周囲には異物巨細胞が認められる。大食細胞は多量のヘモジデリンを含有している。新生毛細血管は赤血球を満ちし、結紮部から血腔内に浸入する。

中膜内側には軽度の水腫と弾力線維の断裂が見られ、平滑筋細胞は腫大し、血腔内への増殖が観察される。

インク注入試験では、結紮部の毛細血管はインクで満たされるが、血腔内の新生毛細血管内にはインクはほとんど認められない。

電顕所見：内皮細胞の管腔の形成が進行し、シート状の内皮細胞はほとんど消失する。血管腔は拡張し、かつ延長する。管腔を包む内皮細胞には核分裂が認められ、細胞分裂によって血管腔が増加することが示される。血管腔の間には多数の修飾平滑筋細胞の増殖が続いているが、次第にミオフィラメントの増加と共に粗面小胞体が減少し、平滑筋細胞の形態を示す細胞が増加する。これらの細胞は内皮細胞の周囲を取り巻くように配列し、内皮細胞及びそれに接する平滑筋細胞は連続性の基底膜で包まれる(図6)。このようにして毛細血管は小血管に発育する。細胞間には膠原線維が増加し、その間に赤血球の断片、ヘマチン結晶、変性した白血球や血漿成分の凝塊が散在性に認められる。

光顕で認められるように、多数の大食細胞の増殖が

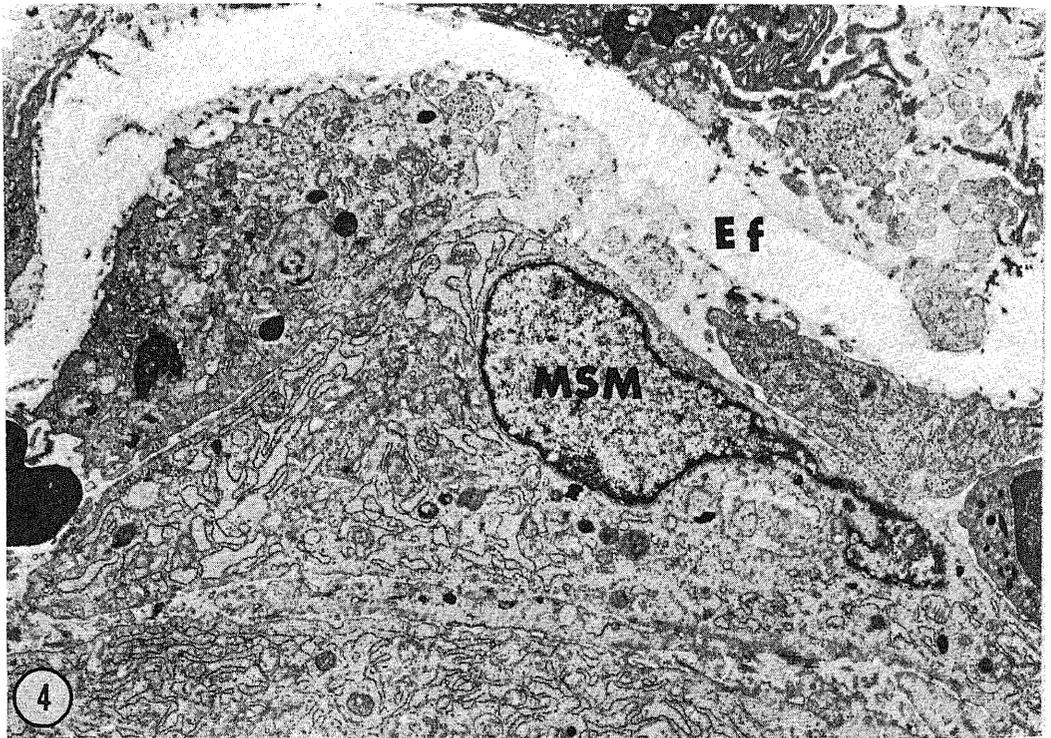


Fig. 4. Modified smooth muscle cells proliferating in the media. 7 days after ligation. Ef : internal elastic lamina. $\times 4,800$.

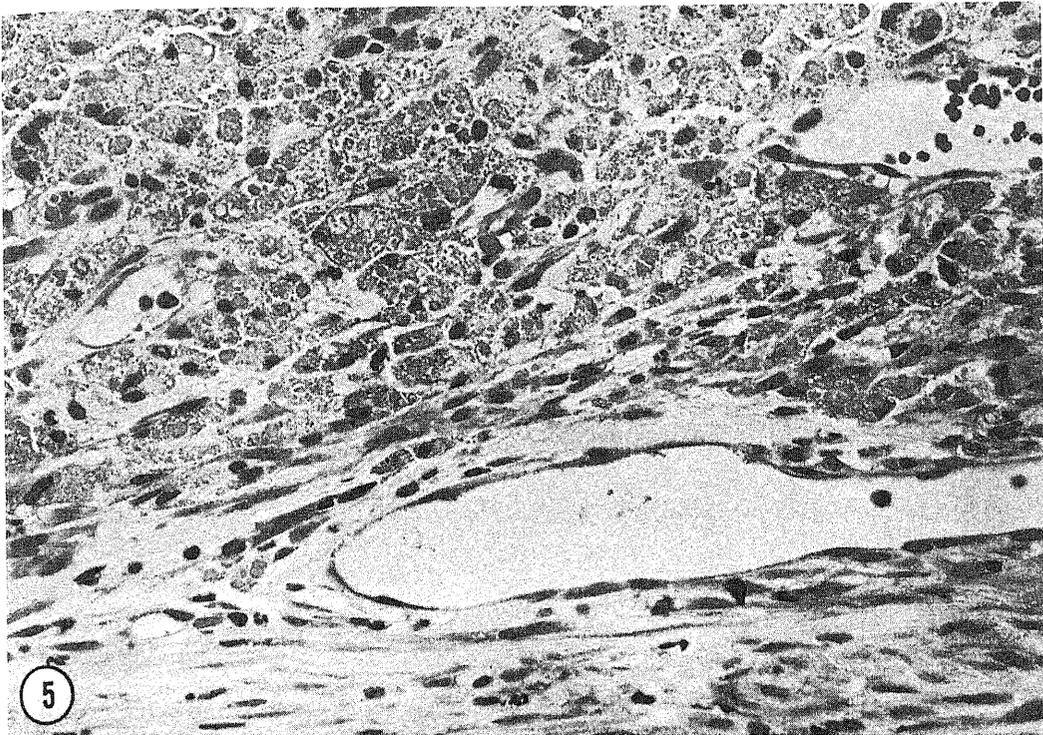


Fig. 5. Light micrograph showing macrophages emigrating from newly formed capillaries. 3 weeks after ligation. H. E. stain. $\times 460$.

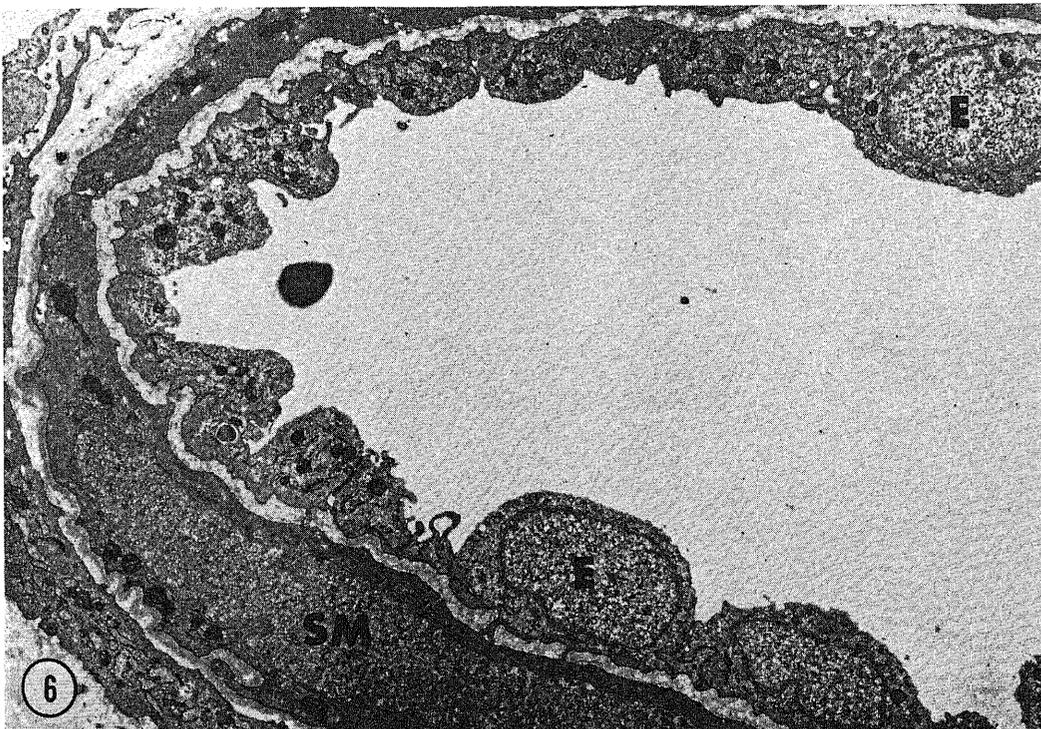


Fig. 6. A newly formed blood vessel encircled by smooth muscle cells. 3 weeks after ligation. SM: smooth muscle cell. $\times 6,000$.

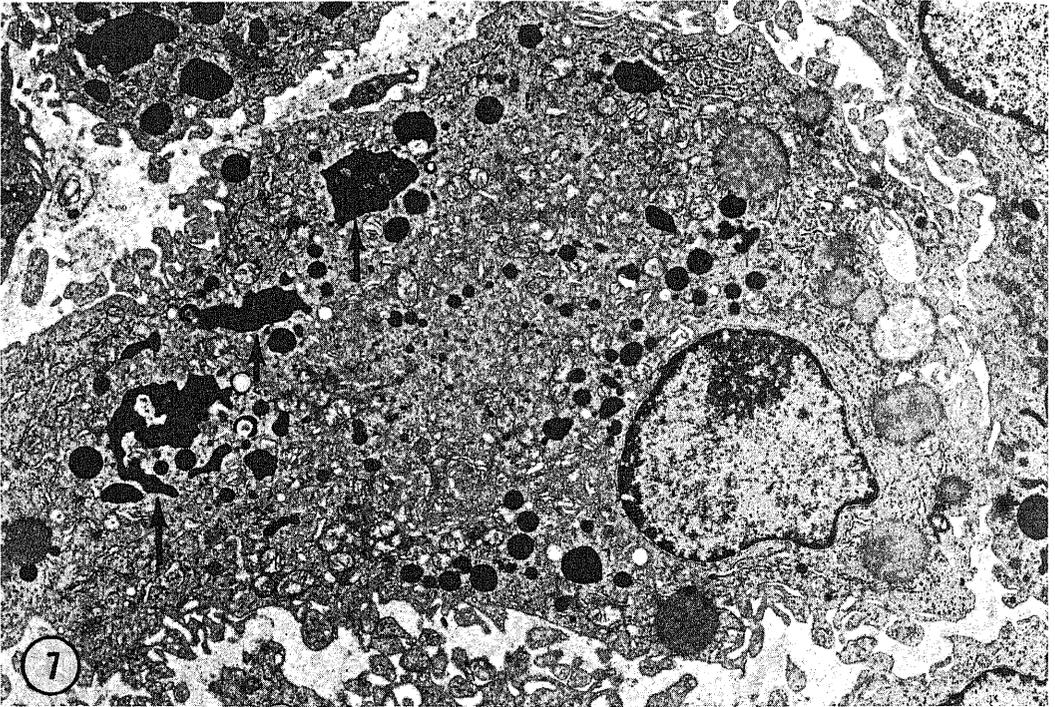


Fig. 7. An infiltrating macrophage in the thrombus. Many phagosomes (arrows) are noticeable in the cytoplasm. 3 weeks after ligation. $\times 6,000$.

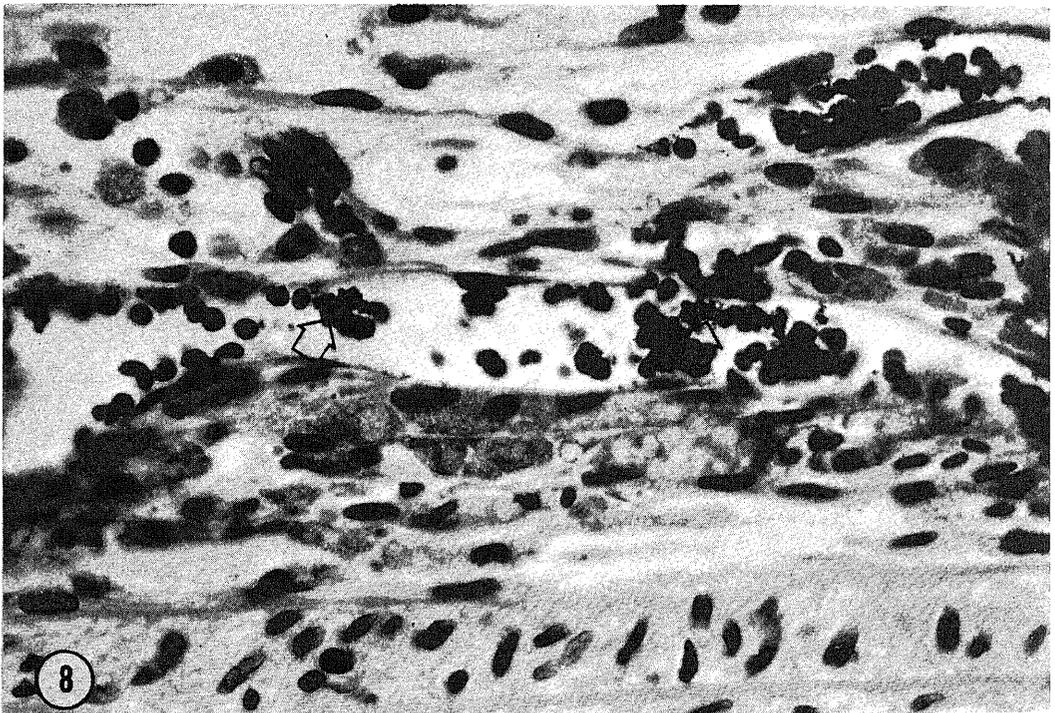


Fig. 8. Light micrograph showing developing blood vessel in the organized thrombus. Note erythrocytes and particles of injected ink (arrows) in the lumen. 6 weeks after ligation. H & E stain. $\times 390$.

目立つ。大食細胞には核分裂が認められ、原形質には赤血球、細胞崩壊物、ヘモジデリン又は不定形物質を含む多数の貪食リソゾームが認められる(図7)。

中膜における滲出液は減少し、修飾平滑筋細胞は次第に平滑筋細胞の形態に回復する。

4～6週

光顕所見：血栓の大部分は紡錘形細胞の増殖によって器質化され、凝血はヒアリン様物質の小塊として散在性に認められるにすぎない。細胞間には膠原線維のほかに、繊細な弾力線維の形成が見られる。大食細胞は減少するが、ヘモジデリンを含む大食細胞が毛細血管の周囲や変性した凝血の内に残存している。少数の泡沫細胞も認められる。毛細血管は所々類洞様に拡張し、新鮮な赤血球で満たされる。特に器質化血栓の中央に位置する血管は内腔が広く、動脈内を縦走し再生血管の主流となる。結紮部には拡張した毛細血管を含む線維性組織が増加する。

インク注入試験では結紮部の毛細血管及び器質化血栓内の毛細血管にインクが認められ、完全な血流が再開されていることが示される(図8)。

電顕所見：様々な大きさの血管が形成され、その間にはほとんど平滑筋細胞で占められ、修飾平滑筋細胞は

ごく少数しか認められない(図9)。細胞間には多量の膠原線維が沈着し、平滑筋細胞に近接して弾力線維の形成が認められる(図10)。大食細胞及び凝血の残滓は著しく減少する。新生血管は扁平な1層の内皮細胞で被われ、その外側は1層又は数層の平滑筋細胞で取り巻かれる。

2～6ヶ月

光顕所見：血栓の器質化は進行し、凝血はほとんど完全に線維性組織で置換され、中央部には拡張した小血管が縦走し、周辺部には毛細血管が散在性に認められる。線維性組織の細胞は平滑筋細胞様の桿状核を有し、束状に配列し、細胞間には多量の弾力線維が形成される。毛細血管周囲には所々、ヘモジデリンを含む大食細胞が残存し、オイルレッドO染色で脂肪滴が証明される細胞が混在する。

中膜は萎縮状でうねりを示し、平滑筋細胞の変性と弾力線維の破壊と凝集が認められる。外膜は線維性に肥厚する。

電顕所見：血栓中央の主血管の構造的特徴が一層明瞭となる。主血管は拡張し、扁平な内皮細胞で被われ、外側に4～6層の平滑筋細胞が輪状に配列し、中膜様の構造がつくられる(図11)。内層の平滑筋細胞は細長

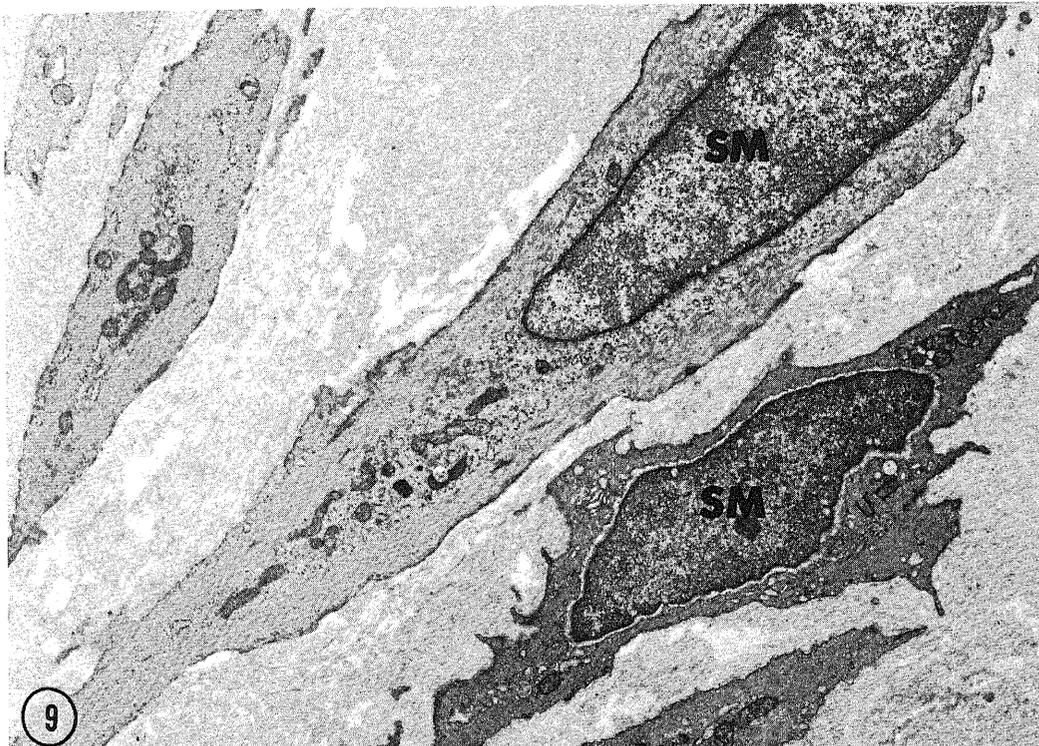


Fig. 9. Smooth muscle cells proliferating in the organized thrombus. 5 weeks after ligation. $\times 6,000$.

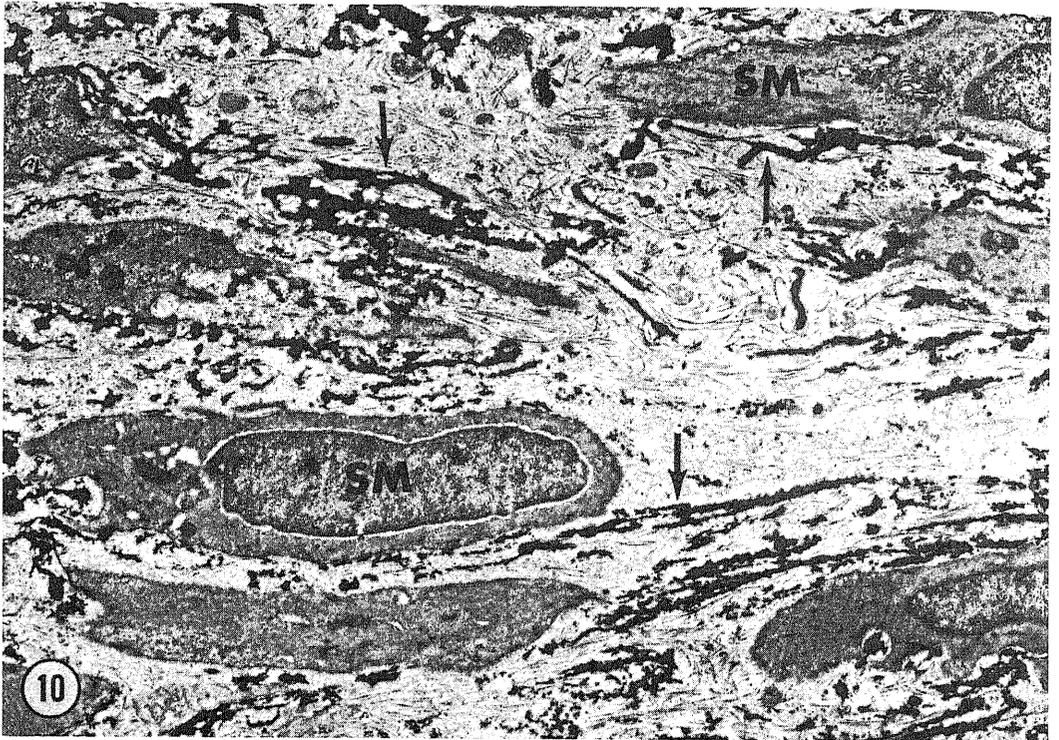


Fig. 10. Proliferating smooth muscle cells and the associated formation of collagen and elastic fibers (arrows) in the organized thrombus. 5 weeks after ligation. Tannic acid stain. $\times 7,500$.

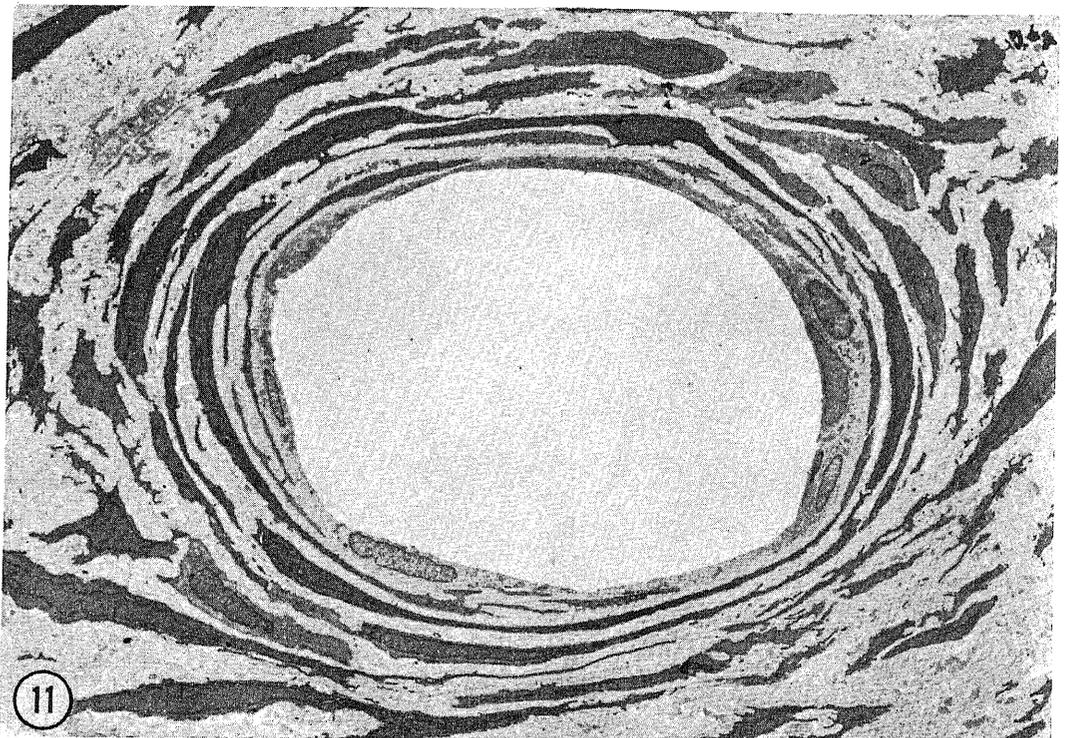
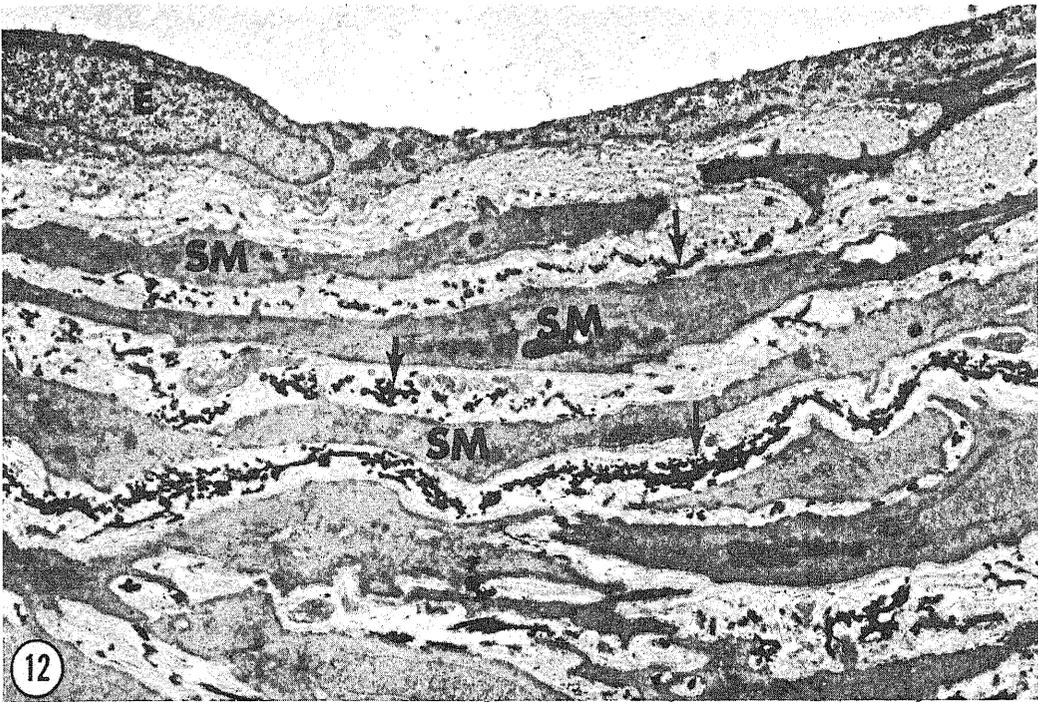
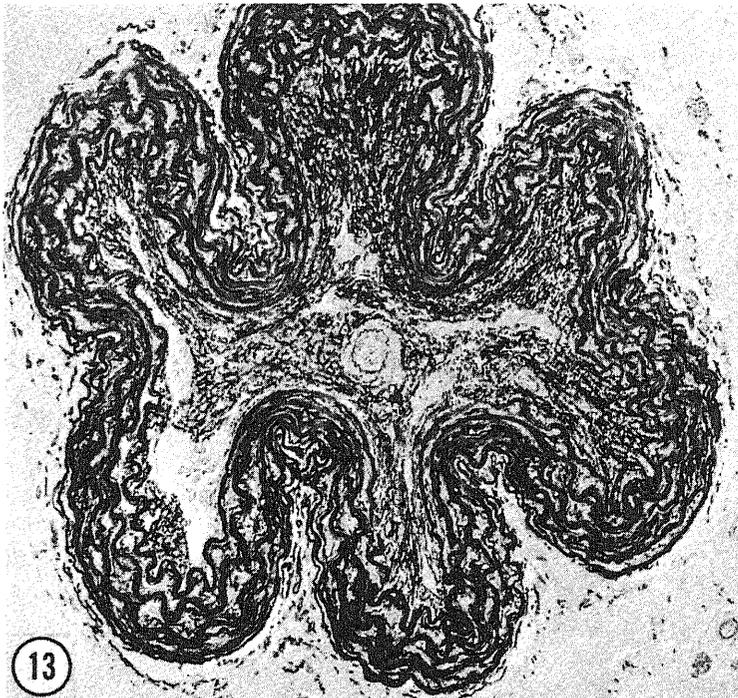


Fig. 11. A small blood vessel formed in the organized thrombus. 6 months after ligation. $\times 2,100$.



12

Fig. 12. Picture showing multilayered smooth muscle cells and the intervening elastic fibers (arrows) in a newly formed small vessel. 6 months after ligation. Tannic acid stain. $\times 6,200$.



13

Fig. 13. Light micrograph showing a small artery-like vessel with deposits of elastin in the organized thrombus. Note marked contraction of the carotid artery. 1 year after ligation. Elastic, Van Gieson stain. $\times 245$.

い原形質突起を延ばし内皮を取り巻き、外層にいくにしたがって、紡錘形となり間質の平滑筋細胞に移行する。細胞間の弾力線維は増加し、平滑筋細胞の走行に沿って層板状配列をとるが、内層ほど少なく、内皮細胞と最内層の平滑筋細胞の間には弾力線維はほとんどなく、多層化した基底膜様物質の沈着が認められる(図12)。

血栓の周辺部では前時期と同じく、1~2層の平滑筋細胞で包まれた小血管が散在する。小血管外側の間質には不規則に配列する平滑筋細胞と多量の膠原線維、弾力線維が認められる。所々、ジデロゾームを含む大食細胞が散在する。

中膜平滑筋細胞は萎縮し、虚脱に陥った細胞間に膠原線維と弾力線維が密集する。

1年

光顕所見：結紮間の動脈壁には中膜弾性板の肥厚を伴った萎縮とうねりが認められ、狭窄した動脈内腔は線維性組織で占められる(図13)。線維性組織の中央には内弾性板をもつ小動脈様の血管が走り、周辺部には類洞様に拡張した毛細血管が認められる。これらの血管の間には細長い細胞が束状に配列し、細胞間に多量の太い弾力線維が沈着する。ヘモデジリン含有の大食細胞はなお散在性に認められる。

電顕所見：新生血管の構築は6ヶ月のそれとほぼ同様であるが、間質の平滑筋細胞は萎縮し、細胞間には密に配列する膠原線維と弾力線維が認められる。ジデロゾームを含む平滑筋細胞と大食細胞が散在する。

考 察

本研究で認められた主要な所見は次の通りである。(1)頸動脈二重結紮で血流が杜絶すると内皮細胞の壊死に続いて、傷害を免れた内皮細胞の活発な増殖が開始され、(2)次いで中膜平滑筋細胞が凝血中に増殖し、(3)新生された毛細血管を介して初期の再疎通が起り、(4)その結果浸潤する多数の大食細胞によって凝血は急速に貪食され、(5)増殖した平滑筋細胞による膠原線維と弾力線維の形成と共に毛細血管の一部が動脈様の小血管に発育し、再疎通が完成する(表1)。

I. 内皮細胞の増殖

血栓が形成されると早期に内皮細胞の増殖が開始されることは多くの研究者によって観察されているが、その起源については意見が分れる。Buck²⁾は動脈二重結紮の結果、壊死に陥った内皮の表面を被覆する血液単球が内皮細胞に変わること示唆した。この見解は剝離内皮の再生⁹⁾¹⁰⁾や凝血の培養¹¹⁾の観察結果からも支持された。一方、内皮細胞が傷害されると、生き残った内皮細胞から連続的に増殖が起るという見解が主張された^{12)~15)}。本研究では結紮後3日目からすでに動脈内皮から連続的に内皮細胞が血栓内に増殖することが観察された。増殖細胞は、Wibel-Palade顆粒や基底膜を欠くが、tight junction様の接着装置で互に接合しシート状に増殖するという特徴によって内皮細胞と同定される。内皮細胞のこのような特徴は、培養内皮細胞¹⁶⁾や血管の剝離内皮の再生¹⁷⁾において観察されてい

Table 1. Tissue components in the process of organization of occlusive thrombus

	1 day	3-7 days	2-3 weeks	4-6 weeks	2-6 months	1 year
Blood coagula	+	+	+	±	-	-
Proliferation of endothelial cell	-	+	±	-	-	-
Modified smooth muscle cell	-	+	+	±	-	-
Smooth muscle cell	-	-	+	+	+	+
Macrophage	-	-	+	+	±	±
Capillary	-	-	+	+	+	+
Small blood vessel	-	-	-	-	±	+
Recanalization	-	-	+	+	+	+
Contraction of carotid artery	-	-	-	-	+	+

-: absent ±: occasionally present +: present ++: prominent

る。血液単球は血栓内に含まれているが、多数のリゾゾームによって内皮細胞と区別され、内皮細胞に転化するという証拠は認められなかった。中膜からの平滑筋細胞は内皮細胞より遅れて増殖し、粗面小胞体の発育が良好な点及び細胞相互の接着がほとんどない点で内皮細胞と区別される。

II. 平滑筋細胞の増殖

閉塞性及び壁在性血栓は中膜平滑筋細胞の増殖によって器質化されることは多くの研究によって確められている¹¹²⁾¹¹³⁾¹¹⁵⁾。増殖平滑筋細胞は一般にミオフィラメントの減少と共に粗面小胞体が発育し修飾平滑筋細胞の形態を示し、この細胞はコラーゲン、エラスチン及びプロテオグリカンの合成能を持っていることが知られている¹¹⁸⁾。本研究においても増殖初期の修飾平滑筋細胞は粗面小胞体とゴルジ装置の発育が良好なため線維芽細胞と類似した形態を示すことが観察された。これまで血栓内に「線維芽細胞」又は「線維芽細胞様細胞」が増殖すると記載された報告があるが¹¹¹⁾¹¹⁹⁾²⁰⁾、その大部分は修飾平滑筋細胞に相当するものと思われる。Wienerら¹⁹⁾は中膜に線維芽細胞は存在しないので、血栓内の「線維芽細胞」は外膜から侵入したものであると推定している。しかし、外膜からの線維芽細胞の侵入は認められず、結紮によって内皮が傷害されると、中膜平滑筋細胞が修飾平滑筋細胞に変わって内弾性板の間から血栓内へ侵入する像が観察されるので、血栓内の「線維芽細胞」は中膜からの修飾平滑筋細胞であることは明らかである。血栓の器質化が進行するにしたがって、修飾平滑筋細胞は次第に平滑筋細胞に変わり、同時に膠原線維と弾力線維が形成される。これらの所見から、血栓の器質化に関与する主要な細胞は中膜からの平滑筋細胞であることが出来る。

平滑筋細胞の増殖機序については Ross 及び協同研究者¹⁶⁾¹⁸⁾によって発見された血小板由来の増殖因子が注目されている。この因子は血小板 α 顆粒から放出される耐熱性ペプチドで、動脈硬化症や創傷治癒のように血小板凝集を伴う傷害における平滑筋細胞や線維芽細胞の増殖に重要な役割を演ずるものとされている。血栓の器質化においても血小板から遊離する増殖因子が平滑筋細胞の増殖を誘発する可能性がある。しかし、Guyton ら²⁾は血小板の多い動物と少ない動物における閉塞性血栓の器質化を比較したところ、平滑筋細胞の増殖に差異が認められなかったことから、平滑筋細胞の増殖には血小板因子より、好中球又は大食細胞からの因子が作用している可能性を指摘した。同様に Braunstein ら²¹⁾も皮下に血小板を注入した場合に惹起される筋線維芽細胞の増殖には血小板そのものより、その周囲に浸潤する好中球の関与が大きいことを示唆

した。血栓に含まれる血小板は比較的短時間で変性、崩壊するので、平滑筋細胞の初期増殖には血小板因子が作用するとしても、平滑筋細胞の持続的増殖には他の因子が関与するものと推定される。

血栓器質化の末期には、他の研究者によって報告されているように¹¹²⁾¹¹⁵⁾、動脈壁は著しい収縮を示す。この原因については、Bhawan ら¹⁾は器質化血栓内に増殖した平滑筋細胞の収縮に基くものと推定した。しかし、器質化の進行と共に、間質を構成する平滑筋細胞は萎縮状でその配列は不規則である。したがって、これらの平滑筋細胞の収縮が動脈壁全体の強い収縮をひき起すことは考え難い。一方、中膜には平滑筋細胞の萎縮と弾性板の圧縮が認められる。このような中膜の変化は血管内腔からの栄養補給の障害と、血流低下のため平滑筋細胞に対するストレスが減少したことに基因するものと考えられる。これらの所見から、動脈壁の著明な収縮は血行障害による中膜の虚脱の結果であると推定される。

III. 再疎通

血栓の再疎通の第一歩は毛細血管の形成である。肉芽組織における毛細血管の新生は既存の毛細血管からの出芽によって行われることはよく知られている²²⁾。Bhawan ら¹⁾は血栓内の毛細血管の新生は、結紮周囲に発生する肉芽組織の毛細血管からの出芽によるものと考えた。本研究においても、結紮部の肉芽組織から血栓内へ新生毛細血管が侵入する像が観察された。しかし、肉芽組織から毛細血管が侵入する以前に、血栓内に動脈内壁から内皮細胞が増殖し、血管腔を形成することが注目される。既存の毛細血管からの出芽の場合には、血流が内皮細胞索の開通に重要な因子となるが、血栓内にシート状に増殖した内皮細胞がどのようにして血管腔を形成するかは明らかでない。増殖した内皮細胞は赤血球、その他の血液成分を包みこむように原形質突起を延ばす傾向が見られるので、血液成分との接触が管腔形成の推進因子となるのかも知れない。これらの管腔が結紮部の肉芽組織からの毛細血管と連続すると、血流が毛細血管の発育をさらに助長するものと考えられる。

毛細血管による再疎通は結紮後 2～3 週間で開始される。この時期には血栓を構成する凝血はヘマチン結晶を混じた無定形物質に変わっているが、新生毛細血管には新鮮な赤血球が充盈しているので、再疎通が起こっていることを知ることができる。しかし、注入されたインクの流入はほとんど認められず、この時期の再疎通が十分に機能していないことが示唆される。

毛細血管性再疎通と共に認められる顕著な所見は多数の大食細胞の浸潤である。これらの細胞は血液閘門

の不完全な新生毛細血管から遊出した血液単球に由来するものと考えられる。大食細胞は変性した凝血を貪食し、その結果、この時期を境に血栓の器質化は急速に進行するのである。増殖した修飾平滑筋細胞は毛細血管の周囲を取り巻き、細胞間には膠原線維と弾力線維が形成され、時間の経過と共に修飾平滑筋細胞は平滑筋細胞の形態に戻り、次第に中膜様構造が形成され、結局内弾性板を伴った小動脈様の血管に発育する。このような血管の発育はすべての血管に一樣に起こるのではなく、器質化血栓のほぼ中央に位置する血管領域に最も顕著に認められ、周辺部では毛細血管のままに発育が停止する。血流は次第に血栓中央の主血管を通過して流れるようになり、この血行力学的影響が血管の発育を一層促進するものと思われる。中央の主血管と周辺の毛細血管との機能的関係は明らかではないが、後者は動脈の外膜血管又は中膜の栄養血管と類似した機能を営むものと思われる。

同様な器質化血栓における小血管の形成は他の研究者によっても報告されている⁴⁾⁵⁾。興味あることは、動脈血栓では小動脈が、静脈血栓では小静脈の構造をもつ血管が再成されることである⁴⁾。この事実は、血栓の再疎通は血行力学的因子によって影響され、生理的血行動態を保持しようとする反応であることを示している。

以上の所見を総合すると、閉塞性血栓の器質化に関与する細胞は、動脈壁から増殖する内皮細胞と平滑筋細胞で、再疎通は初期の新生毛細血管による再疎通と末期の小血管による再疎通の2段階を経て行われるものと考えられる。初期の毛細血管性再疎通と共に遊出する大食細胞によって凝血は急速に除去され、その結果器質化が促進されて毛細血管は小血管にまで発育する。このように、器質化と再疎通は密接不可分の過程で、器質化そのものが再疎通を目的とした現象であると理解されるのである。従って、閉塞性血栓の器質化は、Dible⁶⁾が指摘するように、細胞の反応様式及び病理学的意義において、血腫の器質化のように、単に異物を結合組織で置換し無害化する過程とは全く違った現象で、障害された血行を回復しようとする生体の適応反応であると結論される。

結 論

ラットの総頸動脈を二重結紮し、1日から1年にわたって、結紮間部に形成された血栓の器質化の過程を光顕的及び電顕的に観察した。得られた結果は次の通りである。

1) 血流杜絶によって大部分の内皮細胞は速やかに壊死に陥るが、傷害を免れた内皮細胞は血栓内に増殖

し、毛細血管を形成する。

2) 中膜平滑筋細胞は内皮細胞と共に血栓内に増殖し、膠原線維と弾力線維を形成する。増殖した平滑筋細胞は初めは修飾平滑筋細胞の形態を示すが、器質化の進行と共に平滑筋細胞に変わり、器質化血栓の主要な構成細胞となる。

3) 血栓の再疎通は2段階で行われる。まず結紮後2～3週間で毛細血管性再疎通が開始され、同時に遊走する多数の大食細胞によって凝血が貪食され、その結果器質化が促進される。次いで、増殖した平滑筋細胞は新生毛細血管の周囲を取り囲み、特に器質化血栓の中央では結紮後1年で小動脈様の小血管にまで発育し、再疎通が完成する。

4) 以上の結果から、閉塞性血栓の器質化は血管の新生によって障害された血行を回復しようとする生体の適応反応であると結論される。

謝 辞

御指導と御校閲を賜りました恩師梶川欽一郎教授に深謝の意を表します。また、本研究遂行に際して御助言、御協力を戴きました教室員各位と電子顕微鏡室技術員の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Bhawan, J., Joris, I., DeGlorani, U. & Majno, G.: Effect of occlusion on large vessels. I. A study of the rat carotid artery. *Am. J. Pathol.*, 88, 355 - 368 (1977).
- 2) Buck, R. C.: Intimal thickening after ligation of arteries. An electron microscopic study. *Circ. Res.*, 9, 418 - 426 (1961).
- 3) Guyton, J. R. & Karnovsky, M. J.: Smooth muscle cell proliferation in the occluded rat carotid artery. Lack of requirement for luminal platelets. *Am. J. Pathol.*, 94, 585 - 602 (1979).
- 4) Scott, G. B. D. & Gracey, L. R. H.: Analysis of the factors concerned in the organization of occlusive thrombi. *Arch. Pathol.*, 87, 643 - 652 (1969).
- 5) Williams, G.: Experimental arterial thrombosis. *J. Path. Bact.*, 69, 199 - 206 (1956).
- 6) Dible, J. H.: Organization and canalization in arterial thrombosis. *J. Path. Bact.*, 75, 1 - 7 (1958).
- 7) Kajikawa, K., Yamaguchi, T., Katsuda, S. & Miwa, A.: An improved electron stain for elastic fibers using tannic acid. *J. Electron Microsc.*, 24, 287 - 289 (1975).

- 8) Ehrlich, H. P., Trelstad, R. L. & Fallon, J. T.: Dermal vascular patterns in response to burn or freeze injury in rats. *Exp. Mol. Pathol.*, **34**, 281 - 289 (1981).
- 9) Stump, M. M., Jordan, G. L. J., DeBakey, M. E. & Halpert, B.: Endothelium grown from circulating blood on isolated intravascular dacron hub. *Am. J. Pathol.*, **43**, 361 - 367 (1963).
- 10) O'Neal, R. M., Jordan, G. L. J., Rabin, E. R., DeBakey, M. E. & Halpert, B.: Cells grown on isolated intravascular dacron hub. An electron microscopic study. *Exp. Mol. Pathol.*, **3**, 403 - 412 (1964).
- 11) Ghani, Z. G.: The role of blood mononuclear cells in the organization of mural thrombi. *J. Pathol.*, **97**, 11 - 21 (1969).
- 12) Ardlie, N. G. & Schwartz, C. J.: A comparison of the organization and fate of autologous pulmonary emboli and of artificial plasma thrombi in the anterior chamber of the eye, in normo-cholesterolemic rabbits. *J. Path. Bact.*, **95**, 1 - 18 (1968).
- 13) Ghidoni, J. J., Liotta, D., Hall, C. W., Adams, J. G., Lechter, A., Barioneuva, M., O'Neal, R. M. & DeBakey, M. E.: Healing pseudointimas in velour-lined impermeable arterial prosthesis. *Am. J. Pathol.*, **53**, 375 - 383 (1968).
- 14) 西良文: 血栓の器質化における血管内皮の増殖機序について. *久留米医学会誌*, **1**, 1 - 21 (1972).
- 15) Mehrotra, R. M. L.: An experimental study of the changes which occur in ligated arteries and veins. *J. Path. Bact.*, **65**, 307 - 313 (1953).
- 16) Ross, R. & Vogel, A.: The platelet-derived growth factor. *Cell*, **14**, 203 - 210 (1978).
- 17) Folkman, J. & Cotran, R.: Relation of vascular proliferation to tumor growth. *Int. Rev. Exp. Pathol.*, **16**, 207 - 248 (1976).
- 18) Ross, R. & Glomset, J. A.: The pathogenesis of atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.*, **295**, 420 - 425 (1976).
- 19) Wiener, J. & Spiro, D.: Electron microscopic studies in experimental thrombosis. *Exp. Mol. Pathol.*, **5**, 554 - 572 (1962).
- 20) Still, W. J. S., Ghani, A. R. & Dennison, S. M.: The organization of isolated mural thrombi in aortic grafts. *Am. J. Pathol.*, **51**, 1013 - 1019 (1967).
- 21) Braunstein, P. W. J., Cuénoud, M. F., Joris, I. & Majno, G.: Platelets, fibroblasts, and inflammation. *Am. J. Pathol.*, **99**, 53 - 62 (1980).
- 22) Schoefl, G. I.: Studies on inflammation. III. Growing capillaries: Their structure and permeability. *Virchows Arch. [Pathol. Anat.]*, **337**, 97 - 141 (1963).

Light and Electron Microscopic Study on the Organization of Occlusive Thrombus Yoshikatsu Okada, Department of Pathology (I), (Director: Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - *J. J. Med. Soc.*, **91**, 967 - 980 (1982)

Key words: Occlusive thrombus, Organization, Recanalization.

Abstract

The organization of occlusive thrombus produced in the rat carotid artery by a double ligation was studied by light and electron microscopy. A segment between two ligatures was examined at appropriate times from one day to one year. Soon after the ligation a large portion of the endothelial layer was destroyed, but survivable endothelial cells began to grow into thrombus and formed blood capillaries. At the same time smooth muscle cells also proliferated into thrombus from the media and produced collagen and elastic fibers. When blood circulation was reestablished by newly formed capillary networks, a lot of macrophages emigrated from the capillaries, and consequently the organization advanced with rapid removal of the residual blood clot by the macrophages. The vessel in the central region of thrombus developed to a maturer vascular

channel with multilayered investment of smooth muscle cells, and finally to a small artery-like structure, thus successful recanalization was accomplished. From these findings, it was concluded that the organization of occlusive thrombus is an adaptive phenomenon tending to restore the original circulation, unlike an organizing process of haematoma.