

# The Effect of Anticoagulants in Microvascular Surgery

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/7881">http://hdl.handle.net/2297/7881</a>

## 微小血管吻合における抗凝固剤の影響

金沢大学医学部整形外科学講座 (主任: 野村 進教授)

島 村 浩 二

(昭和61年5月27日受付)

成熟家兎を使用して微小血管吻合を行ない、ヘパリン、ウロキナーゼを用いてその開存に対する影響を調べた。外径1 mm以下の前耳介動静脈を露出し、3種類の実験モデルを作製した。マイクロ用剪刀で切断した clean cut type をI群、2 cmの間隔をおいて2本のモスキート鉗子で挟み逆方向の力を加え切断した avulsion type をII群、2本のモスキート鉗子で5 mmの間隔をおいて15分間圧迫しその中央をマイクロ用剪刀で切断した crush type をIII群とした。血管吻合時には手術用顕微鏡を使用し10-0 ナイロン糸で単純結節縫合を行なった。II群とIII群で薬剤非投与群をII a, III a群、ヘパリン3000 u/kgを投与した群をII b, III b群、ウロキナーゼ6000 u/kgを投与した群をII c, III c群、両薬剤投与群をII d, III d群とした。各群とも動・静脈各10本ずつを観察の対象とした。開存の有無は吻合後1, 3, 6, 12, 24, 48, 72時間目と1週目に直接肉眼で確認した。I群では動・静脈各10本とも開存し、以下II a群で動脈10本中4本(4/10)、静脈2/10、II b群で動脈7/10、静脈0/10、II c群で動脈8/10、静脈1/10、II d群で動脈10/10、静脈2/10、III a群で動脈2/10、静脈0/10、III b群で動脈7/10、静脈2/10、III c群で動脈6/10、静脈1/10、III d群で動脈6/10、静脈2/10に開存がみられた。以上より clean cut 以外の外傷性血管損傷では、抗凝固剤を使用した方が開存率は向上すると結論した。

---

**Key words** microvascular anastomosis, anticoagulants, heparin, urokinase

---

歴史的にみて、小血管の吻合は Shumacker ら<sup>1)</sup>や Seidenberg ら<sup>2)</sup>の実験で、1950年代までにある程度の開存率は得られるようになっていたが、安定した成績を得るには至らなかった。しかし、その後 Chase<sup>3)</sup>は4倍のルーペを用いて犬の上腕動脈(平均外径1.5 mm)の吻合を行ない、36例の中25例が完全に開存し残りも狭窄や血栓形成を認めたが、完全に閉塞したものはなく、マイクロ用の鉗子、持針器、剪刀を用いれば、低倍率の手術でも良い開存率が得られると述べている。

微小外科とは、一般的には「非常に微細な組織に対して顕微鏡を用いて行なう手術」を言い、外径が3 mm以下の血管を対象とする場合を微小血管外科と呼んでいる<sup>4)</sup>。外径が3 mm以下の血管を正確に吻合するには、どうしても手術用顕微鏡が必要であり、これを最初に利用したのが Jacobson ら<sup>5)</sup>である。彼らは犬及び

家兎の頸動脈(犬の平均外径3.2 mm, 家兎の平均外径1.4 mm)を吻合し100%の開存率を得ている。

Buncke ら<sup>6)</sup>は、特殊加工した縫合糸(10-0 ナイロン)や各種の手術器具を考案し、微小血管吻合法に改良を加えて完全切断した家兎の外耳の動・静脈(外径約1 mm)の端々吻合を行ない再接着に成功している。このように手術用顕微鏡の利用、縫合糸の開発、手術器具の進歩等で1960年代で既に実験的には外径1 mmまでの血管吻合が可能になってきた。

臨床的には、Malt ら<sup>7)</sup>が行なった上腕完全切断の再接着が世界最初の成功例とされており、その一年後には Kleinert ら<sup>8)</sup>が前腕の不完全切断の再接着に成功した4症例を報告している。指の完全切断の最初の成功例として Komatu ら<sup>9)</sup>による母指の再接着が報告された。その後も相次いで多数の成功例が報告され、現在では微小血管吻合の技術は整形外科医にとって一般的

Abbreviations: ADP, adenosine 5'-diphosphate; AMP, adenosine 5'-monophosphate; AT, antithrombin; H & E stain, hematoxylin and eosin stain.

な手術手技になりつつある。微小血管吻合術は整形外科領域で種々の外傷や疾病に応用されるに至ったが、その中でも最も代表的なものは切断指の再接着である。

金沢大学整形外科でも1974年から1981年までに完全切断、不完全切断を合わせて511指に再接着術を行ない、93%の高い生着率を得ている<sup>10)</sup>。しかし成功例が必ずしも1回の手術のみで生着している訳ではなく、62指は術後の循環障害のため更にもう一度手術を行っている<sup>11)</sup>。外傷の種類、損傷の程度、吻合時の状態等により血栓形成が発生すれば再接着が失敗する例があるため、術後1週間～10日間はヘパリン、ウロキナーゼ、低分子デキストラン等の抗凝固剤を利用して

しかし、これだけ微小血管外科の技術が向上し普及したにも拘わらず、微小血管吻合後の術後管理に抗凝固剤が必要か否かは未だ意見の一致をみない<sup>12)</sup>。そこで今回、著者は家兎の外耳の動・静脈(外径1mm以下)を利用して3種類の血管損傷のモデルを作製し、顕微鏡下で微小血管吻合を行ない、ヘパリン、ウロキナーゼを用いて、その開存に対する影響を調べた。

#### 材料および方法

実験に先立ち、微小血管吻合に際して吻合の技術を安定させるため、家兎の外耳の動・静脈で約100回血

管吻合の訓練を行ない、確実に開存が得られるように努めた。

#### 1. ヘパリンの投与量を決定するための実験

##### 1. 方法

体重2～3kgの成熟家兎4羽を用い、确实かつ容易に採血できるようにゾムノペンチール(ペントバルビタール・ナトリウム)の静脈内注射(25.6mg/kg)で麻酔した。採血は両側の耳介静脈より行ない、Lee-White法に従って凝固時間を測定した。ヘパリンの投与方法には、静脈内投与方法、皮下投与方法、筋肉内投与方法等があるが、本実験では作用が緩徐で持続時間の長い皮下投与方法を堀口<sup>13)</sup>の実験を参考にして行なった。それによると静脈内投与では凝固時間は投与後6時間で投与前の値に戻るが、皮下投与では投与後12時間経過しても投与前の2倍以上の値を示し、初回投与量の半量を皮下に追加投与することで投与後24時間経過しても投与前の2倍以上の凝固時間を維持することができる。本実験ではヘパリン2000u/kgを初回に、1000u/kgを12時間後に追加投与した。投与前の凝固時間を対照とし、投与後6時間までは1時間毎に凝固時間を測定し、以後は3時間毎に測定した。

##### 2) ヘパリン投与量

ヘパリン投与前の凝固時間は図1の如く9分～12分30秒であったが、ヘパリン2000u/kgの皮下投与後1時間の測定では、それぞれ62分、54分、65分、

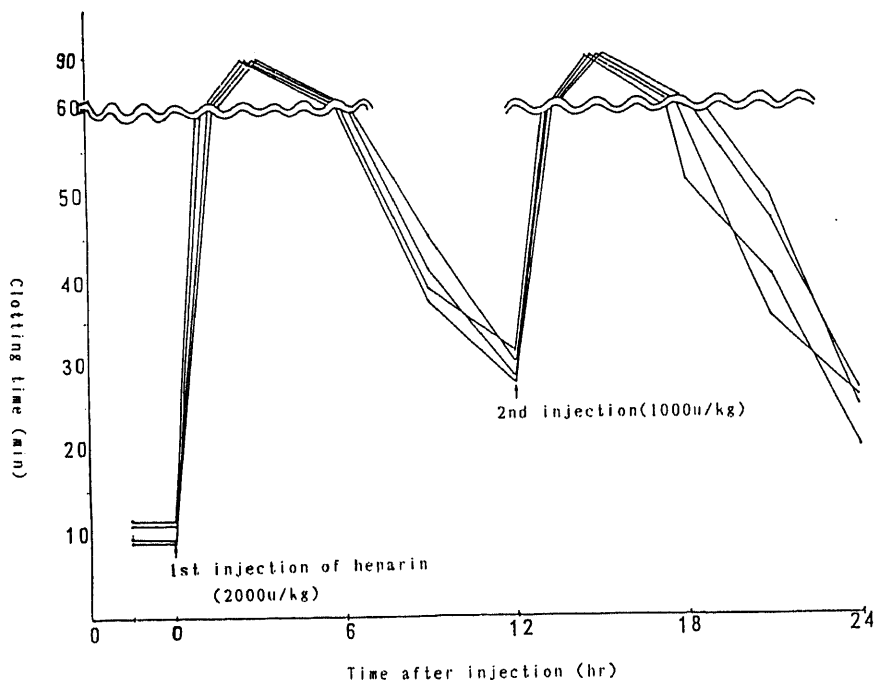


Fig. 1. Changes of clotting time after hypodermic injection of heparin in four rabbits.

58分と投与前の5～6倍の延長がみられ、3時間目で最も延長して90分台を示し6時間目で60分台となった。以後は3時間間隔で観察したが、凝固時間は短縮し続け9時間目に38分、45分、41分、36分を示し、12時間目にはそれぞれ31分、29分、27分30秒、26分で投与前の2～3倍となった。ここで更にヘパリン1000 u/kgを皮下に追加投与したところ、15時間で60分以上の延長を示し、以後は次第に短縮を続けたが、24時間目でも、23分30秒、19分、25分、25分30秒とまだ2～3倍の延長を示していたので、以下の実験ではこの方法を用いてヘパリンを投与した。

II. 実験モデルの作製

体重2～3kgの成熟家兎90羽(吻合失敗例は除外)を使用し、ゾムノベンチールの静脈内注射による麻酔下に、一側の前耳介動・静脈(外径1mm以下を使用)を手術用顕微鏡を用いて露出し実験に使用した。実験群はできるだけ臨床的分類に沿うように以下の3種類のタイプを作製した。

I群 clean cut type: 切断しようとする血管壁に損傷を加えないように周囲を十分に剝離し、血管縫合用止血固定鉗子を用いて血流を遮断しマイクロ剪刀で切断した(図2)。

II群 avulsion type: I群と同様に血管を露出して2cm間隔をおいて2本のモスキート鉗子で挟み、互いに逆方向の力を加えて断裂させた(図2)。

III群 crush type: I群と同様に血管を露出して2本のモスキート鉗子で5mmの間隔をおいて15分間圧迫し、その中央をマイクロ剪刀で切断した(図2)。

各群とも血管吻合時には、血管縫合用止血固定鉗子を用いて血流を遮断し、内腔をヘパリン加生理的食塩水にて洗浄し、手術用顕微鏡下にS & T社の10V34のナイロン糸で動脈8針、静脈6針の単純結節縫合を行なった。

III. 抗凝固剤の投与方法

1. ヘパリン

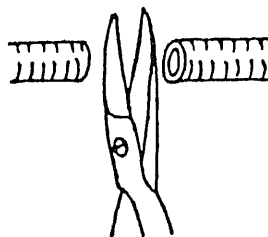
既述した通り初回量2000 u/kg、12時間後に1000 u/kgを皮下投与した。

2. ウロキナーゼ

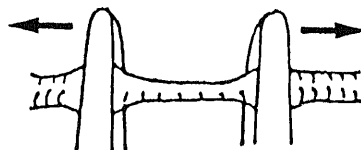
各種動物を用いて作製した血栓にヒトウロキナーゼを作用させ、50%溶解をもたらすウロキナーゼ濃度を測定した伊賀<sup>14)</sup>の報告によると、家兎はヒトの10倍量が必要とする。

511指の切断指再接着の臨床例には600 u/kgを使

Group I - clean cut type



Group II - Avulsion type



Group III - Crush type

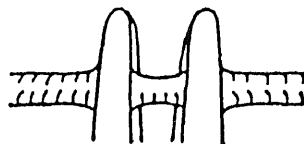


Fig. 2. Schematic presentation of experimental preparation of vessels: group I, a control group in which vessel was cut with microscissors; group II, in which vessel was torn by two mosquito- forcepses; group III, in which vessel was compressed by two mosquito-forcepses for fifteen minutes and was cut with microscissors.

用したので、本実験ではその10倍量にあたる1日量18000単位(6000 u/kg体重)を使用し6000単位を8時間毎に一側の耳介静脈より投与した。

#### IV. 各群における薬剤の投与方法

以下の各実験群には、それぞれ動脈10本、静脈10本の吻合を使用した(9群90羽)。

I群 clean cut type は薬剤非投与群でコントロール群とした。

II群 avulsion type は、ヘパリン、ウロキナーゼの投与の有無で以下の4グループに分けた。

II a 群: 薬剤非投与

II b 群: ヘパリンのみ投与

II c 群: ウロキナーゼのみ投与

II d 群: ヘパリン、ウロキナーゼを併用投与

III群 crush type もII群と同様のグループ分けを行なった。

III a 群: 薬剤非投与

III b 群: ヘパリンのみ投与

III c 群: ウロキナーゼのみ投与

III d 群: ヘパリン、ウロキナーゼを併用投与

#### V. 成績判定法

各群とも薬剤は7日間連続投与し血管吻合部の開存の有無は吻合後1時間、3時間、6時間、12時間、24

時間、48時間、72時間目に創部を開き、手術用顕微鏡下に血管吻合部を露出し、radical patency test で判定した。

これは吻合部より末梢側でマイクロ用鉗子で血管を軽く圧迫し、他のマイクロ用鉗子で更に末梢へと血管をしごいてその部分の血液を除き、最初に圧迫した鉗子はずすと血液が流入してくることで開存を判定した。簡便な方法として臨床で広く用いられており、本実験では血管の損傷部を避けてできるだけ末梢側(静脈では中枢側)で判定した。

1週目には血管吻合部を切離摘出し開存の有無を直接肉眼で確認した。なお、I、II、III群の血管壁の損傷状態の差異を観察するために、各群4羽づつ薬剤未使用群を作り血管吻合部を血管軸に沿って縦断切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色後、吻合部周辺の組織学的検索を行なった。

#### 成 績

##### I. 各群における薬剤の効果

###### 1. I群 clean cut type

動・静脈各10本とも1週間にわたって開存していた。

###### 2. II群 avulsion type (表1)

Table 1. The number of vessels occluded in group II

Group	Time after operation								Patency rate
	1	3	6	12	24	48	72(hr)	1 week	
A		●●	●●●	●					4/10
V		●●●	●●●●		●				2/10
A			●		●●				7/10
V		●●●●	●●●●		●●				0/10
A			●		●				8/10
V		●●●●●●	●●	●					1/10
A									10/10
V		●●●●	●●●●						2/10

Group II a, in this group, no anticoagulant was injected; group II b, a total dose of 3000 u/kg of heparin was injected; group II c, a total dose of 6000 u/kg of urokinase was injected; group II d, both a total dose of 3000 u/kg of heparin and a total dose of 6000 u/kg of urokinase were injected. A, artery; V, vein; ●, occluded vessel.

1) 動脈

II a 群: 術後1時間目で血栓形成により閉塞した血管は1本もなく、3時間目で2本が閉塞し6時間目で3本、12時間目で1本に更に閉塞がみられたが、それ以後に閉塞したものはなく、また再開通したものもなかった。

1週間にわたって開存していた血管は4本であった。開存率は4/10であった。

II b 群: 術後3時間目までに閉塞した血管は1本もなく、6時間目までに1本が閉塞しこれは中枢側に狭窄がみられ、そこから血栓が始まっていた。24時間目までに2本に閉塞がみられた。開存率7/10であった。

II c 群: 術後3時間目までに閉塞した血管は1本もなく、6時間目と24時間目までに1本ずつ閉塞していた。開存率は8/10であった。

II d 群: この群で閉塞した血管は1本もなく開存率は10/10であった。

2) 静脈

II a 群: 術後3時間目までに3本、6時間目までに4本、24時間目までに1本が閉塞し、血栓形成は引きのばされた血管壁全体にわたっており吻合部より末梢側にみられた。開存率は2/10であった。

II b 群: 術後3時間目と6時間目までに各4本ずつ、24時間目までに2本が閉塞し結局開存した血管は1本もなかった。開存率は0/10であった。

II c 群: 術後3時間目までに6本、6時間目までに2本、12時間目までに1本が閉塞しわずか1本だけが開存していた。開存率は1/10であった。

II d 群: 術後3時間目と6時間目までに4本ずつ閉塞し、以後は閉塞せず2本が開存していた。開存率は2/10である。

3. III群 crush type (表2)

1) 動脈

III a 群: 術後3時間目まで4本、6時間目までに3本、24時間目までに1本の計8本が血栓のため閉塞し、開存率は2/10であった。

III b 群: 術後3時間目までに2本、6時間目までに1本が閉塞し、その中2本は末梢部に軽度の狭窄を認めた。開存率は7/10であった。

III c 群: 術後3時間目までに1本、6時間目までに3本が閉塞していた。開存率は6/10であった。

III d 群: 術後3時間目までに3本、6時間目までに1本が閉塞していた。開存率は6/10であった。

2) 静脈

III a 群: 術後3時間目までに6本、6時間目までに

Table 2. The number of vessels occluded in group III

Group	Time after operation								Patency rate	
	1	3	6	12	24	48	72(hr)	1 week		
III a	A		●●●●	●●●		●				2/10
	V		●●●●●●	●●●●●						0/10
III b	A		●●	●						7/10
	V		●●●●●●	●●	●					2/10
III c	A		●	●●●						6/10
	V		●●●●	●●●●		●				1/10
III d	A		●●●	●						6/10
	V		●●●●●●	●●						2/10

Group III a, in this group, no anticoagulant was injected; group III b, a total dose of 3000 u/kg of heparin was injected; group III c, a total dose of 6000 u/kg of urokinase was injected; group III d, both a total dose of 3000 u/kg of heparin and a total dose of 6000 u/kg of urokinase were injected. A, artery; V, vein; ●, occluded vessel.

4本が閉塞し開存した血管は1本もなかった。開存率は0/10であった。

III b群: 術後3時間目までに5本, 6時間目までに2本, 12時間目までに1本が閉塞し開存率は2/10であった。

III c群: 術後3時間目までに4本, 6時間目までに4本, 24時間目までに1本が閉塞した。開存率は1/10であった。

III d群: 術後3時間目までに6本, 6時間目までに2本が閉塞した。開存率は2/10であった。

以上の結果, 閉塞はすべて24時間以内に起こり, それ以後閉塞を来した血管は1本もなかった。

## II. 組織学的所見

各群とも閉塞は24時間以内に生じていた事から術後48時間目の血管を対象とした。

### 1. 動脈

I群: 4例とも血管壁は全体によくその形状を保っており, 縫合部は小さな入江状になり凝血やフィブリン様物質によっておおわれ, 炎症細胞の浸潤を認めた。縫合糸の周辺には炎症細胞の浸潤はあまり認めなかった。内膜の内皮細胞は縫合部周辺のみが脱落し再生はまだみられなかった。中膜には腫脹や炎症細胞の浸潤がみられ, 外膜の膠原線維には変性, 壊死がみられた(図3)。

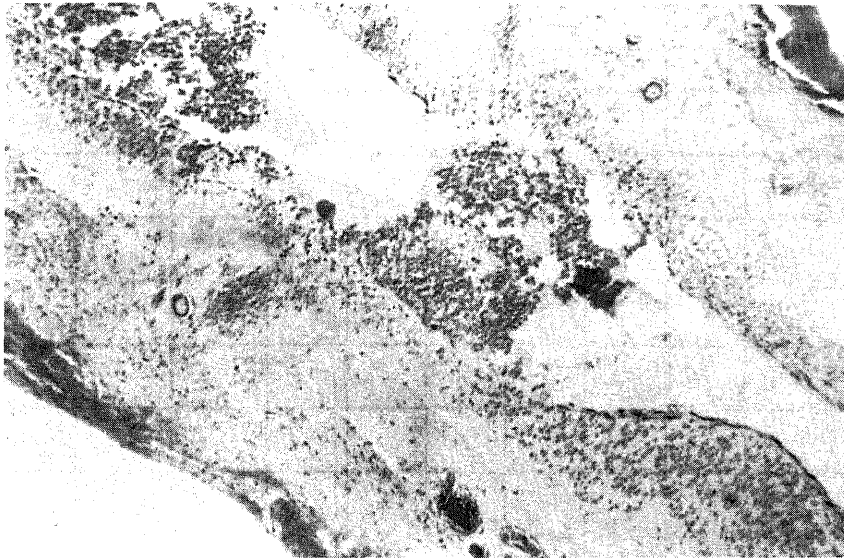


Fig. 3. Histological findings of the artery in group I at the 48th hour after operation. The suture site is covered with clotted blood and fibrin. Infiltration of acute inflammatory cells are seen in the suture site. Desquamation of endothelial cells of the intima was limited to the suture site. Regeneration of endothelial cells is not seen at all. H & E stain,  $\times 40$ .

II群: 血管壁はまだ全体に形状は保たれているが, 縫合部周辺で内膜, 中膜は腫脹し一部入江状にくびれていた。内皮細胞は広範囲にわたって脱落し, 代わって炎症細胞が内膜全体をおおうように浸潤していた。内膜の剝離, 断裂は認めなかった。外膜には牽引によると思われる膠原線維の変性壊死がみられた4例中3例に血栓の形成がみられた(図4)。

III群: 血管壁は圧迫のため全体にわたって断裂がみられた。内膜から中膜にかけて著明な炎症細胞の浸潤や膠原線維や筋の変性を認め, 内膜は剝離し管腔を塞いでいた。内皮細胞は全くみられなかった。血栓の形成をみない例は1例で他は全て血栓により閉塞を示していた(図5)。

### 2. 静脈

I群: 全例血管壁の形状はよく保たれており縫合部で内膜, 中膜の軽度の腫脹がみられるが, 管腔は十分保たれており軽度の炎症細胞の浸潤がみられた(図6)。

II群: 血管壁には全体に腫脹がみられるが, 形状はまだ保たれている。4例とも全体にわたって内膜が剝離し著明な血栓形成がみられた(図7)。

III群: 血管壁は圧迫のため全体に腫脹していたが, 一部菲薄化している部位もみられた。内膜は剝離が認められたが細胞浸潤は著明ではなかった。4例とも管



Fig. 4. Histological findings of the artery in group II at the 48th hour after operation. Edema and constriction are seen in the intima and media around the suture site. Endothelial cells of the intima are extensively dropped out and marked infiltration of inflammatory cells are observed in the intima. There is no fragmentation of intima. Marked formation of a thrombus is seen. H & stain,  $\times 40$ .

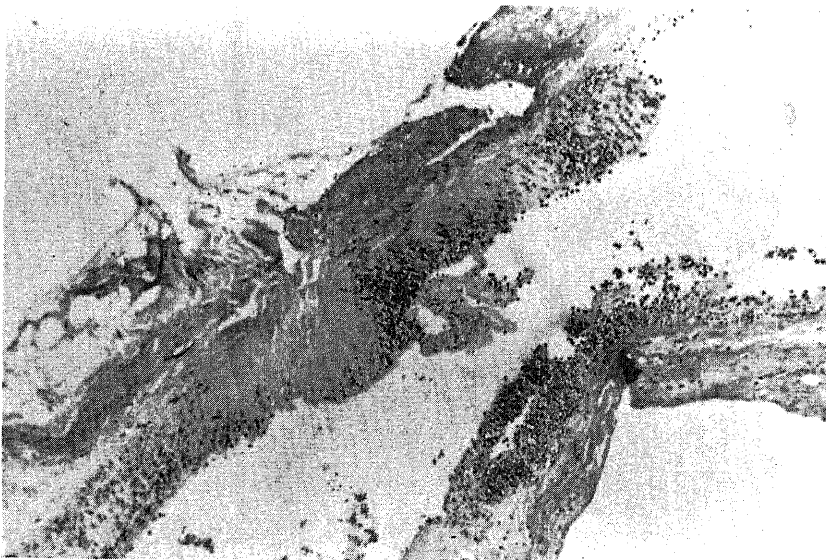


Fig. 5. Histological findings of the artery in group III at the 48th hour after operation. Marked infiltration of acute inflammatory cells, desquamation and fragmentation of the intima are seen. Endothelial cells are not seen at all. H & E stain,  $\times 40$ .





Fig. 6. Histological findings of the vein in group I at the 48th hour after operation. Edema is seen in the intima and media of the suture site but lumen is maintained for its entire extent. H & E stain,  $\times 40$ .

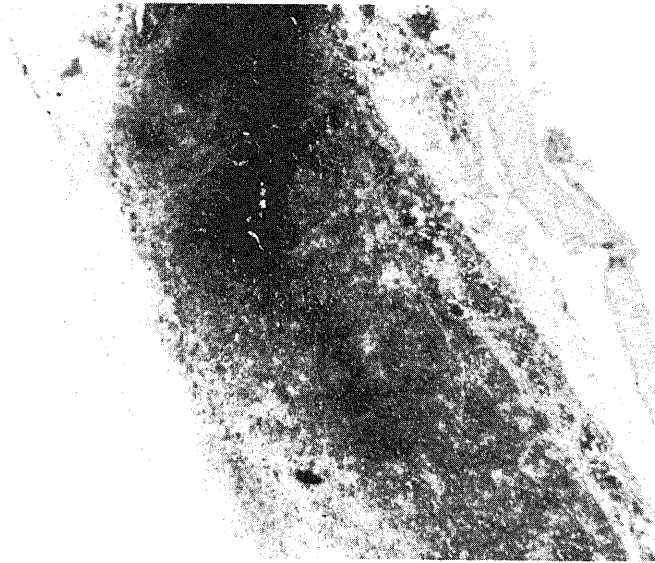


Fig. 7. Histological findings of the vein in group II at the 48th hour after operation. Lumen is maintained but extensive exfoliation of the intima and marked formation of an occlusive thrombus are seen. H & E stain,  $\times 40$ .

腔が狭くなり閉塞状態を示していた (図 8)。

### 考 察

微小血管外科, 特に切断指の再接着では, 1 mm 以下の血管を吻合する機会が多い。1 mm 以下の血管吻合では術者の技術的な面が最も影響するため, 適当な器具の使用と正確な縫合手技が大切である。この実験においても I 群の clean cut type で動脈・静脈とも全て開存したことは, 必要最小限度の血管損傷による切断の場合は, 抗凝固剤を使用しなくても手術手技だけで十分開存することを証明した。しかし, II a 群, III a 群では開存したものは半数にも満たない。臨床例では clean cut type は極めて稀で, 殆ど全てが外傷により II, III 群のような血管損傷がおこるので手術手技だけでは対処できないと考えねばならない。

血栓とは, 生体内の血管内に血液の構成成分から形成される凝塊のことをいうが, この血栓の成立に血流や血管壁や血液性状の変化が関与することは, Virchow<sup>19)</sup>によって klassische trias として指摘された。これは微小血管吻合においてもそのままではまり, 特に前二者の血流の変化と血管壁の性状の変化が主な原因となる。

血流下での血栓形成過程は止血血栓の形成とほぼ同じと考えられ<sup>16)</sup>, 多数の実験がある。その一人である

Lüscher<sup>17)</sup>によると, 血栓形成の最初は内皮の損傷の結果露出した内皮下組織へコラーゲンの伸介で血小板が粘着する。トロンピン, アドレナリン, セロトニン等が血小板の粘着凝集を促進し, これらの作用が強力であれば血小板の放出反応がおり, ADP, 血小板第 4 因子, セロトニン, カテコラミン等が放出され, 同時に凝集活性と血管収縮作用をもつ thromboxane  $A_2$  の生成がおり, 流血中の血小板は凝集して凝塊を作る。そして崩壊と再建の繰り返しで血管内腔を狭窄し血栓が成長していくという。また, 直接血管壁を障害させ血栓を作った Johnson<sup>18)</sup>の実験もある。血管が損傷を受けると, その部位へ血小板が粘着することは前述したが, 逆に正常な内皮細胞へはプロスタグランディン  $I_2$  の関与で血小板は反応しないと言われている<sup>19)</sup>。血管内皮細胞はアラキドン酸からプロスタグランディン  $I_2$  を生成する<sup>20)</sup>。このプロスタグランディン  $I_2$  の抗血小板凝集作用は強力で血管内皮細胞が障害されるとプロスタグランディン  $I_2$  の生成はおこらない。また, 血管内皮はプラスミノゲンアクチペータを放出し, このアクチペータはフィブリンと親和性をもつので, フィブリンに結合したプラスミノゲンを直接活性化し局所で血栓溶解能を発揮するので内膜が損傷されると, この機構も破壊され血栓形成を促進する。

臨床的に血栓形成に関与する因子として, Jørgensen<sup>21)</sup>は, 1) 物理的外傷が加わること 2) 血管壁

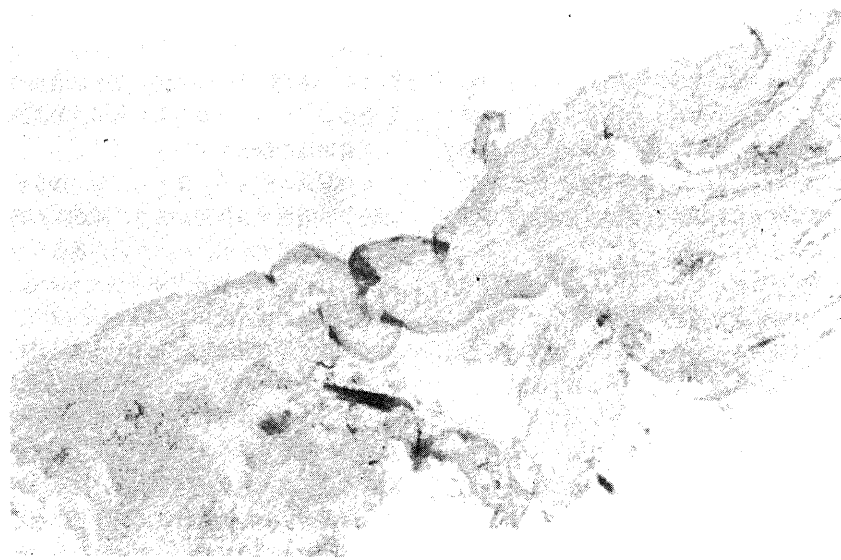


Fig. 8. Histological findings of the vein in group III at the 48 th hour after operation. The wall of the blood vessel is entirely swollen and the intima is exfoliated. The continuity of the wall of the blood vessel is barely maintained. H & E stain,  $\times 40$ .

の炎症や浮腫 3) 内皮の断裂, 内膜の破壊, 出血等をあげており, 本実験もこれらの因子を満たす状態で実験モデルを作製した。

I 群の動・静脈はマイクロ用剪刀で鋭利に切断しただけであり, 血管吻合後1週間を経過しても血栓で閉塞したものは1本もなかった。組織学的にみても縫合部位の小範囲に内皮細胞の脱落と中膜の腫脹や炎症細胞の浸潤を認め軽度の凝血をみたのみで, 微小血管吻合部の技術を習得した者が, 本群のような atraumatic な手術操作を行った場合たとえ内膜の損傷があっても血管腔を閉塞するまでには至らないと考えられる。

II a 群では動脈の開存率が 4/10, 静脈が 2/10 であった。組織学的には動脈は広範囲にわたって内皮細胞が脱落していたが, 内膜剝離はみられなかった。静脈では内膜剝離がみられた。III a 群では動脈の開存率は 2/10, 静脈は 0/10 であるが, 組織学的にはいずれも内膜が剝離しこの内膜剝離の程度の差がそのまま開存率の差となって表れていた。

この様に微小血管吻合における血栓形成の予防の第一は, 血管, 特に内膜を損傷しない atraumatic な手術操作であるが, 切断指等の症例では外傷そのものによる血管内膜の損傷が考えられるので抗凝固剤の併用の必要性が問題となる。

抗凝固療法は生体で止血機能を障害しない程度に凝固能を低下させ, 血栓症の発生を予防し, また, 血栓の成長を阻止することである。現在使用されている代表的な抗凝固剤として 1) 経口抗凝固剤 2) 血小板阻害剤 3) ヘパリン 4) 血栓溶解剤等がある。

1) にはワーファリンがあり, これは肝での II, VIII, IX, X 凝固因子, プロトロンビン生成とトロンビン形成を抑制し血液の凝固能を低下させるが, 投与後の効果発現までに 24~48 時間かかり遅効性のため, 臨床的にはヘパリン等を使用した後の抗凝固能を維持するために使用されている。

2) はアスピリンやディピリダモールで代表されている。アスピリンの場合には血小板中のプロスタグランディンの生成を抑えるといわれている。血小板に刺激が加わると血小板の膜からアラキドン酸が遊離し, プロスタグランディンやトロンボキサンができて血小板を凝集させたり血管を収縮させたりする。この生成に働くサイクロオキシゲナーゼにアスピリンが働いて血小板のプロスタグランディンの合成を抑え, 血小板の凝集を抑制する。また, ディピリダモールは血小板の活性化反応を抑制するサイクリック AMP を破壊するフォスホディエステラーゼの活性を抑え, 血小板中のサイクリック AMP の濃度が高まって血小板の粘

着と凝集が抑えられると考えられている。3) のヘパリンは血液中に存在するアンチトロンビン III (AT III) と結合することで血液凝固阻止作用が促進されるので, その凝固作用は AT III 濃度に依存している<sup>22)</sup>。ヘパリン・AT III 複合体にはトロンビンに対する阻害の他に X II a, X I a, IX a, VII a をも阻害し, また線溶系のプラスミンをも阻害する。ヘパリンは血小板が凝集するとき, 血小板より放出される血小板第 4 因子と拮抗する<sup>23)</sup>。

4) のウロキナーゼは人尿中に存在する天然のプラスミノゲンアクチベータの一種で特異的にプラスミノゲンを活性化しプラスミンに変換してフィブリンや血栓を溶解する。

上記の中で現在では臨床的には 3) と 4) が主に使用されているので, 本実験ではヘパリンとウロキナーゼを用いて微小血管吻合でその開存に対する効果を調べた。

Solandt ら<sup>24)</sup>や Estes<sup>25)</sup>はヘパリンの投与量は, 投与後の全血凝固時間 (Lee-White 法で測定) を投与前の 2~3 倍にコントロールすることで決定され, それで十分臨床効果が得られると述べており, 本実験でも初回 2000 u/kg 体重, 追加投与 1000 u/kg 体重を皮下投与することで 24 時間全血凝固時間を投与前の 2~3 倍にコントロールすることができた。その結果, ヘパリンを投与した II b 群と III b 群の動脈では, いずれも開存率が 7/10 であり, ヘパリンの効果を伺わせた。Kieswetter ら<sup>26)</sup>は, 犬の実験で小動脈に切開を加え連続縫合でこれを閉鎖し, ヘパリン 5-10 mg/kg を筋肉又は静脈内に手術直後より毎日投与してその効果を検討した。対照群では 83.3% の高率に血栓性閉塞が発生したのに, ヘパリン投与群では 6.7% に過ぎずヘパリンの有効性を報告している。

ヘパリンは前述したように, V, VIII を除く全ての凝固因子を阻害する作用があり, 凝固系が連鎖反応を始める前に使用すれば, ヘパリンの量は少なくてもよいと考えられ, これが血栓発症予防の low-dose ヘパリン療法の根拠になっている。Wessler ら<sup>27)</sup>によると, X a の 1 単位を阻害することはトロンビン 50 単位の発生を防止することになり, 一方凝固系が既に活性化してからヘパリンを投与した場合にはより大量のヘパリンが必要になるという。この様にトロンビンの前段階の酵素である X a を阻害すればヘパリンは少量ですむ。この理由から一般的には既に発症した血栓症には大量のヘパリンが, 血栓症の予防には少量のヘパリンが使用されている。本実験では 9000 u/day を使用したが血栓による閉塞は 24 時間以内に起こっており, それ以後は血栓形成も閉塞した血管の再開通もみられないこ

とより low-dose 投与法に相当すると思われる。

ウロキナーゼを投与した II c 群と III c 群の動脈の開存率はそれぞれ 8/10, 6/10 で半数以上は開存を示した。ウロキナーゼの投与方法として、Suyama ら<sup>29)</sup>は血栓溶解を起こすには、1時間あたり 120,000~140,000 単位の投与量が必要であると述べ、伴<sup>29)</sup>は 0.1 g の血栓を溶解するには約 12,000 u/kg の量が必要になると言う。この様に線溶療法には大量のウロキナーゼが必要であるというのが現在の一般的な意見である。また伴<sup>29)</sup>によれば、ウロキナーゼの血栓溶解効果は次の諸条件を満足する必要があると述べている。既に、1) 血栓内にプラスミノゲンがあること、2) 血中にプラスミノゲンが十分あること、3) 血栓内のフィブリンが可溶性のフィブリンであること、4) 血栓の器質化がおこる前に作用させること、5) 血栓内又は血中にアンチプラスミンが多量に存在しないこと、6) 血栓局所の循環血液が十分にあること、7) 血栓周囲組織が線溶活性をおこしうる組織であることである。

本実験でのウロキナーゼの投与量 600 u/kg は余りにも少なすぎるが、前述した報告例はいずれも血栓が発症してから投与量であり、できた血栓をいかに線溶するかを議論している。これに反して著者の実験は外径 1 mm 以下という微小血管で血管損傷を加えた後、血管吻合を行ない血栓が確実に形成されるという前提に立った上で、血栓の発症前にウロキナーゼを作用させている。過半数に開存がみられ、一度血栓で閉塞したものは再開通がみられないことより、ウロキナーゼも血栓溶解作用より血栓の発症に予防的に作用したと考えられる。青木<sup>30)</sup>によれば、この作用はウロキナーゼの直接作用というより  $\alpha_2$ -plasmin inhibitor などの阻害因子を中和することにより、内因性の線溶活性が働き易くなったためだと言う。

ヘパリンとウロキナーゼを併用した II d 群と III d 群の開存率はそれぞれ 10/10, 6/10 で好結果を示した。元田ら<sup>31)</sup>はウロキナーゼの 5000~50000 単位を 10分~2時間で投与すると血中の線溶活性はみられず、むしろ凝固能亢進が認められたと報告し、また、逆に大量に投与すれば血栓溶解を抑制すると Ogston ら<sup>32)</sup>は述べている。更に Prentice ら<sup>33)</sup>は 180000 u/kg の初回投与と同量の維持量でも凝固能の亢進がおこると指摘している。Bizzi ら<sup>34)</sup>はこの凝固能亢進はヘパリンの前投与で防止できると述べている。著者の実験では少量投与による凝固能の亢進をヘパリンで防止しているとは考え難く、開存率の好結果から両薬剤とも血栓予防に有効に作用したと思われる。

静脈は II 群 III 群とも薬剤の使用の有無に拘わらず開存率は悪かった。これは動・静脈とも同程度の外力が

加わった場合は動脈より静脈により強い血管壁の性状変化や血流の緩徐化、停止が起り、そのため血栓が発生し易いと思われる<sup>21)35)</sup>。これより avulsion や crush type の損傷を受けた静脈は損傷部位を可及的に切除し clean cut に近い状態での血管吻合が必要と思われる。

## 結 論

成熟家兔の外径 1 mm 以下の前耳動・静脈を利用して微小血管吻合を行ない、ヘパリン、ウロキナーゼを用いてその開存に対する影響を調べた。マイクロ用剪刀で切断した clean cut type を I 群、2 cm の間隔において 2 本のモスキート鉗子で挟み逆方向の力を加えて切断した avulsion type を II 群、2 本のモスキート鉗子で 5 mm の間隔において 15 分間圧迫しその中央をマイクロ用剪刀で切断した crush type を III 群とした。II 群と III 群で薬剤非投与群を II a, III a 群、ヘパリン 3000 u/kg を投与した群を II b, III b 群、ウロキナーゼ 6000 u/kg を投与した群を II c, III c 群、両薬剤投与群を II d, III d 群とした。各群とも動・静脈各 10 本ずつを観察の対象とし、開存の有無は吻合後、1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 時間目と 1 週間目に直接肉眼で確認し、以下の結論を得た。

1) Clean cut type では、動脈・静脈とも抗凝固剤を必要とせず、atraumatic な手術操作だけで全例開存した。

2) 動脈の開存率は、II a 群で 4/10, II b 群で 7/10, II c 群で 8/10, II d 群で 10/10, III a 群で 2/10, III b 群で 7/10, III c 群で 6/10, III d 群で 6/10 と抗凝固剤非投与群に比較して投与群が高率を示し、外傷性動脈損傷の場合は抗凝固療法を併用した方が、開存率は向上した。

3) 静脈では抗凝固剤の使用の有無に拘わらず、いずれの群でも開存率は悪かった。損傷部位は可及的に切除し、Clean cut に近い状態での血管吻合が必要と思われた。

4) 本実験で血栓性閉塞は全て術後 24 時間以内に発生し、それ以後は新たな閉塞も、閉塞した血管の再開通もおこらなかった。ヘパリン 3000 u/kg、ウロキナーゼ 60000 u/kg の投与量は、血栓塞栓症の治療や血栓溶解作用より血栓発症に予防的に作用したと考えられた。

## 謝 辞

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師野村進教授に深甚なる謝意を捧げます。また、始終御教示を戴いた福井医科大学の吉村光生助教授に篤く感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨は第60回中部日本整形外科災害外科学会において発表した。

### 文 献

- 1) **Shumacker, H. B. Jr. & Lowenberg, R. I. :** Experimental study in vascular repair. I-Comparison of reliability of various methods of end-to-end arterial sutures. *Surgery*, **24**, 79-89 (1948).
- 2) **Seidenberg, B., Hurwitz, E. S. & Carton, C. A. :** The technique of anastomosing small arteries. *Surg. Gynecol. Obstet.*, **106**, 743-746 (1958).
- 3) **Chase, M. D. & Shwartz, S. I. :** Suture anastomosis of small arteries. *Surg. Gynecol. Obstet.*, **117**, 44-46 (1963).
- 4) 生田義和：微小外科。第1版，3頁，南江堂，東京。1977.
- 5) **Jacobson, J. H. & Suarez, E. L. :** Microsurgery in anastomosis of small vessel. *Surg. Forum*, **11**, 243-245 (1960).
- 6) **Buncke, H. J. Jr. & Schulz, W. P. :** Total ear replantation in the rabbit utilizing micro-miniature vascular anastomosis. *Br. J. Plast. Surg.*, **19**, 15-22 (1966).
- 7) **Malt, R. A. & Mckhann, C. F. :** Replantation of severed arms. *J. A. M. A.*, **189**, 716-722 (1964).
- 8) **Kleinert, H. E., Kasdan, M. L. & Romero, J. L. :** Small blood vessel anastomosis for salvage of the severely injured upper extremity. *J. Bone Joint Surg.*, **45-A**, 788-796 (1963).
- 9) **Komatu, S. & Tamai, S. :** Successful replantation of a completely cut-off thumb. *Plast. Reconstruct. Surg.*, **42**, 374-377 (1968).
- 10) 島村浩二・上野達弥・山内茂樹・岩井義信・野村進・吉村光生：救急医療における切断指再接着の現況。救急医学，**6**，305-309 (1982).
- 11) 島村浩二・野村進・上野達弥・山内茂樹・岩井義信・吉村光生：切断指再接着難航例の検討。整形外科，**33**，1652-1654 (1982).
- 12) 中村純次：形成・整形外科領域におけるマイクロサージャリーの現況。形成外科，**25**，253-258 (1982).
- 13) 堀口泰弘：小動脈再建に関する研究。とくにPatch graftingとHeparinizationについて。日本外科宝函，**34**，1646-1671 (1965).
- 14) 伊賀善郎：ウロキナーゼに関する最近の知見とウロキナーゼ注ミドリの評価，1-9頁，ミドリ十字中央研究所，東京。1979.
- 15) **Virchow, R. :** Uber die akute entzündungder arterien. *Virchows Arch. [A]*, **1**, 272-378 (1847).
- 16) **Mustard, J. F. & Packham, M. A. :** Thromboembolism. A manifestation of the response of blood to injury. *Circulation*, **42**, 1-21 (1970).
- 17) **Lüscher, E. F. :** Biochemistry of platelets and thrombus formation. *Series Haemat.*, **10**, 75-82 (1965).
- 18) **Johnson, A. J. :** Recent advances in experimental thrombogenesis. *Fed. Proc.*, **24**, 827-834 (1965).
- 19) **Moncade, S. & Vane, J. R. :** The role of prostacyclin in vascular tissue. *Fed. Proc.*, **38**, 66-71 (1979).
- 20) **Weksler, B. B., Ley, C. W. & Jaffe, E. A. :** Stimulation of endothelial cell prostacyclin production by thrombin, trypsin and the ionophore A23187. *J. Clin. Invest.*, **62**, 923-930 (1978).
- 21) **Jørgensen, L. :** Vessel wall and thrombogenesis: Vascular injury, Atherosclerosis. *Throm. Diath. Haemorrh., Suppl.*, **54**, 307-314 (1973).
- 22) **Feinman, R. D. & Li, E. H. H. :** Interaction of heparin with thrombin and antithrombin III. *Fed. Proc.*, **36**, 51-54 (1977).
- 23) **Lüscher, E. F. & Kaser-Granzmann, R. :** Platelet heparin-neutralizing factor (Platelet factor). *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **33**, 66-68 (1975).
- 24) **Solandt, D. Y. & Best, C. H. :** Heparin and coronary thrombosis in experimental animals. *Lancet*, **2**, 130-132 (1938).
- 25) **Estes, J. W. :** Kinetics of the anticoagulant effect of heparin. *J. A. M. A.*, **219**, 1492-1495 (1970).
- 26) **Kieswetter, W. B. & Rhumacker, H. B., Jr. :** An experimental study of the comparative efficacy of heparin and dicumarol in the prevention of arterial and venous thrombosis. *Surg. Gynecol. Obstet.*, **86**, 687-702 (1948).
- 27) **Wessler, S. & Yin, E. T. :** Theory and practice of minidose heparin in surgical patients: A status report. *Circulation*, **47**, 671-679 (1973).
- 28) **Suyama, T., Nishida, M., Iga, Y. & Naito, R. :** Difference in thrombolytic effect between high and lower molecularweight forms of urokinase. *Throm. Haemostas. (Stuttgart)*, **38**, 48-52 (1977).
- 29) 伴 一郎：血栓の線溶活性の特異性とUrokinaseの投与量についての検討。Med. Postgrad., **17**，382-393 (1979).
- 30) 青木延雄：線溶療法。臨床と研究，**53**，1030-1033

(1976).

31) 元田 憲・渡部哲也・山口 洋・石見善一・豊田忠之・高橋郁子・塚田理康: 血栓症に対する urokinase 療法についての一考察—少量投与法の反省—。血と脈管, 6, 341-345 (1975).

32) Ogston, C. M., Ogston, D. & Fullerton, H. W.: Observation on the lysis of artificial thrombi by urokinase. *Throm. Diath. Haemorrh.*, 19, 107-111 (1968).

33) Prentice, C. R. M., Turpie, A. G. G., McNicol, G. P. & Douglas, A. S.: Urokinase therapy: Dosage schedules and coagulant side effects. *Br. J. Haematol.*, 22, 567-571 (1972).

34) Bizzi, B., Leone, G. & Accorra, F.: Pre-treatment with heparin in thrombolytic therapy with urokinase. *Haemostasis*, 5, 147-151 (1976).

35) 福島教義・東 健彦: 血流力学からみた血栓発症。総合臨床, 30, 2669-2675 (1977).

**The Effect of Anticoagulants in Microvascular Surgery** Koji Shimamura, Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920—J. *Juzen Med. Soc.*, 95, 531—543 (1986)

**key words**: microvascular anastomosis, anticoagulants, heparin, urokinase

#### Abstract

The present study was pursued to examine the effect of heparin and urokinase on microvascular anastomosis, by using the arteries and veins of rabbit ears. The external diameter of these vessels was less than 1 mm. Anastomosis was performed by using a microscope and stainless steel needles with 10-0 nylon suture. Experimental models were divided into several groups as follows: group I, clean cut type, vessels cut with microscissors; group II, avulsion type, vessels torn by two mosquito-forcepses; group III, crush type, vessels compressed by two mosquito-forcepses for fifteen minutes and cut with microscissors; group II a and III a, no anticoagulant was injected; group II b and III b, a total dose of 3000 u/kg of heparin was injected; group II c and III c, a total dose of 6000 u/kg of urokinase was injected; group II d and III d, both a total dose 3000 u/kg of heparin and a total dose of 6000 u/kg of urokinase were injected. In each group, a series of 10 rabbits were studied. Patency of vessels were examined by the radical patency test. Each patency rate was as follows: as for arteries, 10 of 10 (100%) group I, 4 of 10 (40%) group II a, 7 of 10 (70%) group II b, 8 of 10 (80%) group II c, 10 of 10 (100%) group II d, 2 of 10 (20%) group III a, 7 of 10 (70%) group III b, 6 of 10 (60%) group III c, 6 of 10 (60%) group III d; as for veins, 10 of 10 (100%) group I, 2 of 10 (20%) group II a, 0 of 10 (0%) group II b, 1 of 10 (10%) group II c, 2 of 10 (20%) group II d, 0 of 10 (0%) group III a, 2 of 10 (20%) group III b, 1 of 10 (10%) group III c, 2 of 10 (20%) group III d. From these results it may be concluded that the use of anticoagulants improves the patency rate of the anastomosed vessels in anastomosis of damaged small vessels except for the clean cut type.