

## 微小循環系における血管径の測定

——観察法による差異の検索——

都 筑 文 男    藤 村    朗    伊 藤    一 三

佐々木 利 明    野 坂 洋 一 郎

岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座\*（主任：野坂洋一郎教授）

〔受付：1980年10月1日〕

**抄録：**微細循環の観察計測法には種々の方法がある。そのうち血管鑄型法はアクリル樹脂の改良などにより近年広く用いられている。しかし、この方法を用いて血管径を計測した報告は比較的少ない。そこで、ラットの空腸を用い、血管鑄型法と他の観察法（毛細血管顕微鏡法、透過型電子顕微鏡、血管内墨汁注入法、Microangiogram）との比較検討を行い、合わせて血管構築についても観察した。

1. 血管鑄型法による血管径の計測値は Microangiogram を除いた他の方法の値とほぼ近似し、血管計測法として有効な手段といえる。
2. ラット空腸の血管構築は吸収・分泌に適し、流量調節が容易に行える形態をなしていた。

### I 緒 言

微細循環の観察方法には生理的条件下における毛細血管顕微鏡法、血管鑄型法、透過型電子顕微鏡、血管内色素注入法（墨汁など）、Microangiogram など各種の観察法があり<sup>1)</sup>、いずれも有効なものであるが必要に応じて最も適切な方法を用いるのが便宜である。このうち血管鑄型法は、アクリル樹脂の改良により微細血管への注入が容易となり、その立体的な観察や樹脂面に印記された細胞表面構造などの観察が可能のため近年広く用いられてきた<sup>2)3)</sup>。また、血管径の計測には毛細血管顕微鏡法<sup>4)5)</sup>、透過型電子顕微鏡<sup>6)</sup>、血管内色素注入法<sup>7-14)</sup> などにより多くの報告がなされている。しかし、血管鑄型法においては樹脂の収縮性や注入圧の

問題などがあり、立体的な血管構築の観察が主で、その血管径についての報告は少ない。しかも、この方法での測定値の妥当性についてはほとんど論議されていない。しかし、病理・解剖学的に血管系の立体的構築とともに、その血管径の変化を測定することが可能となれば、今後、多くの研究に有意義なものとなることが考えられる。そこで、血管径計測について血管鑄型法と他の観察法を比較検討した。また、血管径の計測において血管網の分類を行う必要上、合わせてラット小腸の血管構築について観察を行ったのでここに報告する。

### II 実験材料および方法

実験材料として、年令がほぼ等しく体重 300 g 前後の成熟雄 Wister 系ラット 7 匹を用い

On the measurment of diameter of the microvessels in the microcirculation system.

Some differences in the several methods of observation

Fumio TSUZUKU, Akira FUJIMURA, Ichizoh ITOH, Toshiaki SASAKI and Yohichiro NOZAKA

(Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka 020)

\*岩手県盛岡市中央通 1 丁目-3-27 (〒020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 5 : 154-162, 1980

た。麻酔は、すべて塩酸ケタミン(ケタラル®) 0.5 ml/100 g の腹腔内注射によった。また、実験部位はすべて空腸を使用した。

### 1. 観察方法

観察方法には以下の5種類を用いた。

#### (1) 毛細血管顕微鏡法

ラットを麻酔後、腹部正中に切開し、腸管を引出し加温生理食塩水(37°C)浸漬下で、毛細血管撮影用顕微鏡装置(富士工業社製)にてできるだけ無圧下で観察撮影を行った。撮影方法および条件は若野<sup>15)</sup>の方法に従った。

#### (2) 血管鋳型法

ラットを麻酔下で開胸し、左心室よりカニューレ(内針1.1mm, 外針1.6mm)を挿入固定し、両側大伏在静脈を切断瀉血しつつ、加温生理食塩水(37°C) 500mlにて灌流し、血球の混入がなくなった時点で、4°Cに冷却した4%ホルムアルデヒドと2.5%グルタルアルデヒドの混合固定液(カコジル酸ナトリウム緩衝液希釈, pH7.2)に切り替え灌流固定後アクリル樹脂(Mercox®, 大日本インキ化学工業)約40gを可及的等圧(注入圧100~120mmHg)で同部位より注入した。灌流固定後、蒼白となった腸管が樹脂の色で淡青色に変色したことを確

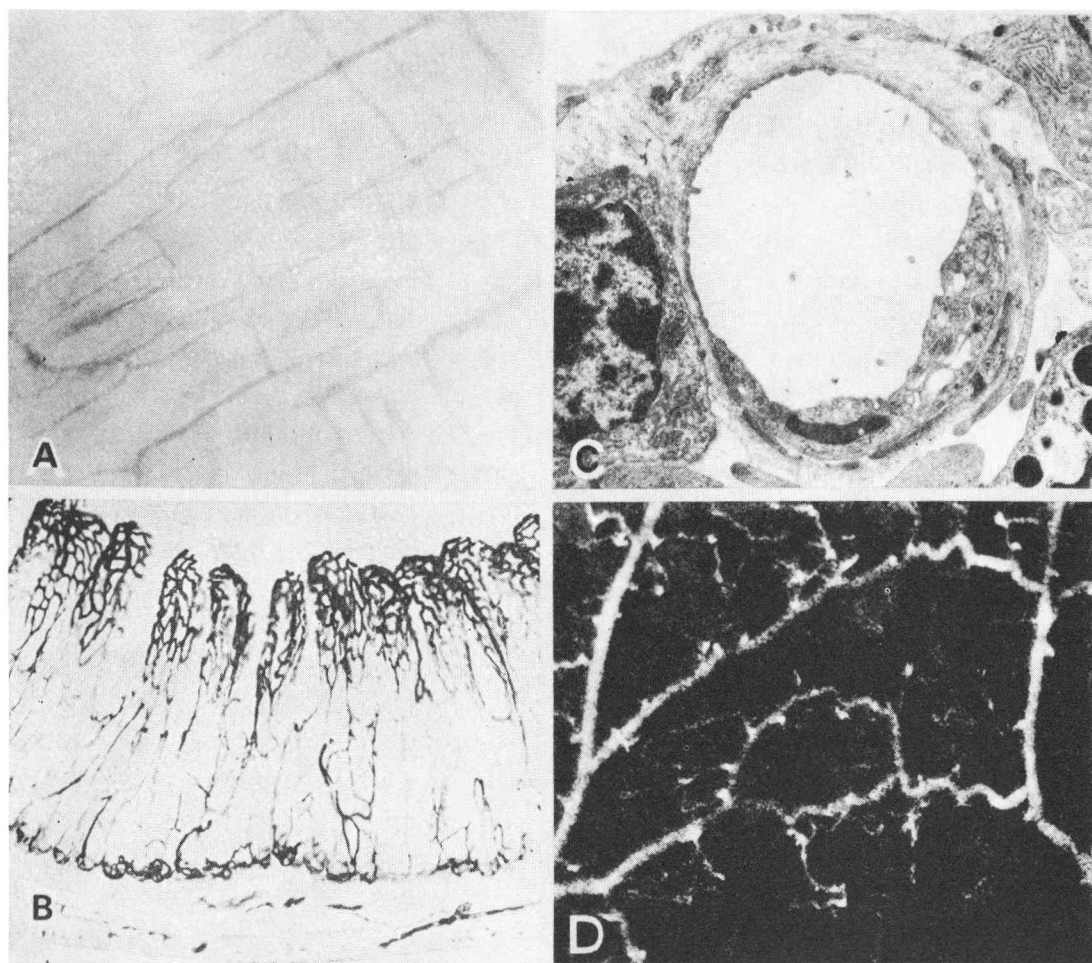


図1 実験に使用した微細血管観察法

A: 毛細血管顕微鏡法	ラット空腸 縦走筋層	×95
B: 血管内墨汁注入法	ラット空腸	×70
C: 透過型電子顕微鏡	ラット空腸 有窓毛細血管	×7600
D: Microangiogram	ラット空腸 伸展標本	×70

認し、動静脈を結紮し、約 70°C の温水にて 2 時間重合後、2 日間 10% 中性ホルマリンにて固定を行った。その後、空腸を約 1 cm の長さに切り出し、アルカリ性水溶液 (20% 水酸化カリウム溶液) にて軟組織を腐食除去し流水にて洗浄し鋳型標本を作製した。鋳型標本は凍結乾燥後、オスミウム酸ガスにて固定し、金蒸着を施し、走査型電子顕微鏡 (日立, HSM-2B) にて観察を行った。

### (3) 透過型電子顕微鏡による観察

血管鋳型法と同様に、灌流固定後、空腸を切り出し、1% OsO<sub>2</sub> にて 1 時間固定し、通法に従い、エタノール上昇列にて脱水後、エポン 812 に包埋した。標本はミクロトーム (LKB-8800 型) で薄切、酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色を施し、透過型電子顕微鏡 (日本電子, JEM-100B) により観察した。

### (4) 血管内墨汁注入法

血管鋳型法と同様に、灌流固定後、墨汁 (カイメイ K. K. 製) 約 40 ml を可及的等圧にて注入後、10% 中性ホルマリンにて 2 日間固定を行った。その後、空腸を約 1 cm の大きさに採取し、約 50  $\mu$ m の厚さで凍結切片にし、通法に従いエタノール上昇列で脱水後、キシレンを通し、合成樹脂封入剤にて封入し透明標本を作製し観察した。

### (5) Microangiogram

血管鋳型法と同様に、灌流後、造影剤として沃化銀コロイド<sup>16)</sup>を可及的等圧にて注入し、10% 中性ホルマリンにて固定した。その後、空腸を 2~3 cm に切断し、腸間膜付着部で縦切開し漿膜側がフィルム面にあたるように展開し、軟 X 線発生装置 (Softex 社, Type EMR) にて Microangiogram を撮影した。使用フィルムは密着用リスフィルム (Fuji Lith Orth Vo75) で、撮影条件は、30 K V, 6 mA, 10 sec で行った。

### 2. 計測方法および統計処理

計測は焼付した写真上、または、Micro Promer (Leiz 社製) にてスクリーン上に拡大投影した血管を Graf-Pen (Nac 社製) にて行

った。読取精度は 1/100 mm である。統計は推計学的処理法により、平均値の差の検定は t 検定 (有意水準 1%) を用いた。

### 3. 計測基準および計測部位

計測基準は森<sup>17)</sup>の小血管の分類に従った。毛細血管 (CP) は pericyte のみが存在するもので、その直径が最小値を示すものとし、細動脈 (AO) は毛細血管前細動脈といわれ筋細胞のないもので、その分枝する本幹から明らかに動脈と判定できるもの、また、細静脈 (VN) は、毛細血管後細静脈といわれ、筋細胞がなく結合組織鞘のみにおおわれ、その合流する幹が静脈と判定できるものとした。

計測部位および計測した血管の種類は表 1 に示す。

## IV 実験成績

### 1. 観察法による差異について

#### 1) 毛細血管について

部位および観察法による管径は、表 2 に示す通りである。腸絨毛部、粘膜固有層においては観察方法間における有意の差は認められず、輪走および縦走筋層においては有意の差が認められた。特に、縦走筋層についてみると毛細血管顕微鏡法では 6.75  $\mu$ m、血管鋳型法では 5.71  $\mu$ m とその差は約 1  $\mu$ m であるのに対し、Microangiogram では 12.74  $\mu$ m と他の 2 つの観察法の約 2 倍の管径を示した。

#### 2) 細動脈について

部位および観察法による管径は、表 3 に示す通りである。各観察法間には、どの部位においても有意の差がみとめられた。また、縦走筋層についてみると、毛細血管顕微鏡法では 8.92  $\mu$ m、血管鋳型法では 11.76  $\mu$ m とその差は約 2.8  $\mu$ m であった。

#### 3) 細静脈について

表 4 に示すように腸絨毛部の血管鋳型法と透過型電子顕微鏡 (TEM)、TEM と血管内墨汁注入法との間には有意の差がみとめられず、その他の方法間には有意の差がみとめられた。また、縦走筋層についてみると、毛細血管

表1 微細血管観察部位と血管の種類

	毛 顕 微 鏡 法	血 管 鑄 型 法	透 電 子 顕 微 鏡	血 墨 汁 注 入 法	Micro- angiogram
腸 絨 毛		CP AO VN	CP VN	CP AO VN	
粘 膜 固 有 層		CP VN	CP VN		
輪 走 筋 層		CP	CP	CP	
縦 走 筋 層	CP AO VN	CP AO VN			CP

CP : 毛細血管 AO : 細動脈 VN : 細静脈

表2 毛 細 血 管 の 血 管 径

	毛 顕 微 鏡 法	血 管 鑄 型 法	透 電 子 顕 微 鏡	血 墨 汁 注 入 法	Micro- angiogram
腸 絨 毛		$5.98 \pm 0.35$ (116) ↑ ↑	$5.49 \pm 0.67$ (74) ↑ ↑ ↑	$6.11 \pm 0.47$ (253) ↑ ↑	
粘 膜 固 有 層		$4.38 \pm 0.37$ (104) ↑	$4.13 \pm 0.94$ (29) ↑		
輪 走 筋 層		$6.67 \pm 0.46$ (134) ↑	$3.17 \pm 0.57$ (86) ↑ ↑	$4.53 \pm 0.18$ (242) ↑	
縦 走 筋 層	$6.75 \pm 0.34$ (101) ↑	$5.71 \pm 0.28$ (187) ↑			$12.74 \pm 0.60$ (140) ↑

単位 :  $\mu\text{m}$ 標本平均 (M)  $\pm$  標準誤差 (S. E)  
(標本数 N)↑ ↑  
差の有意性の判定

顕微鏡法では  $12.54\mu\text{m}$ , 血管鑄型法では  $14.20\mu\text{m}$  とその差は約  $1.7\mu\text{m}$  であった。

## 2. 血管鑄型標本の走査型電子顕微鏡による ラット空腸の血管構築

ラット空腸の血管は腸間膜内を走る上腸間膜動脈が分布する。最外層の漿膜下層には血管網は形成せず、その内側にある縦走筋層に直線的な格子状 (約  $80 \times 120\mu\text{m}$ ) の毛細血管網を形成する (図2)。つづいてその内側にある輪走筋

層は、縦走筋層の血管網よりさらに細い多角形の網目状の血管網を形成する (図3)。さらに内側の粘膜下層には比較的太い動静脈が走り、これらの血管から粘膜筋板をつらぬき、腸絨毛基底部の粘膜固有層に粗な血管網を形成している。一方、腸絨毛基底部の粘膜固有層からは、腸絨毛下の粘膜固有層に向って柱状の細動静脈がみられる (図4)。この数は、腸絨毛の大きさなどにより異なるが、細静脈は1~2本

表3 細動脈の血管径

	毛細血管 顕微鏡法	血管鋳型法	血管内 墨汁注入法
腸絨毛		$10.46 \pm 1.20$ (35)	$6.42 \pm 0.29$ (234)
		↑	↑
		(+)	
縦走筋層	$8.92 \pm 0.74$ (25)	$11.76 \pm 0.92$ (101)	
	↑	↑	
		(+)	

単位:  $\mu\text{m}$  標本平均M(±)標準誤差(S.E.)  
(標本数N)

↑ ↑  
差の有意性の検定

くらい存在した。また、細動脈のうち、腸絨毛基底部分から腸絨毛の毛細血管網に流入するものの他に、基底部分より絨毛頂部まで毛細血管を分枝することなく腸絨毛中央部を上行し、頂部で噴水状に分枝するものがある。細静脈は腸絨毛頂部より漸次毛細血管を集め口径を増す。腸絨毛の毛細血管網の形状はその腸絨毛の形態に従うが、やや細長い籠目状の血管網(約 $15 \times 70 \mu\text{m}$ )で頂部に向うにしたがって細くなる。

## V 考 察

### 1. 観察法による差異について

#### 1) 毛細血管について

毛細血管の直径は血管鋳型法、透過型電子顕微鏡および血管内墨汁注入法の3方法で観察し

たが、腸絨毛と粘膜固有層ではそれぞれの計測値間に有意の差が認められなかった。これにたいして輪走筋層においては有意の差が認められた。これは透過型電子顕微鏡の計測時、血管内腔の形態が不規則なものが多く、管腔内に細胞質の突出した最短部の直径を計測したため $3.17 \mu\text{m}$ と小さい値を示したことが、また、血管内墨汁注入法の計測時この筋層の血管の観察がやや困難なため誤差を生じたことなどにより有意の差が認められたものと思われる。しかし、腸絨毛などの血管のように計測が容易な部位においては、観察方法が異ってもほぼ同一の結果が得られると考えられる。一方、縦走筋層において、毛細血管顕微鏡と血管鋳型法を比較すると、その差は約 $1 \mu\text{m}$ であるが有意の差が認められた。この差は毛細血管顕微鏡の観察における焦点の不鮮明さ、さらに血管と対物レンズの間に軟組織が介在することによる測定差を考えると、他の方法に比較して相対的に誤差範囲は少なかった。また、Microangiogramは他の方法の約2倍の値を示した。これは生理的食塩水による灌流後、固定液にて固定を行わずに造影剤を注入したこと、また、軟X線写真の性質上の不鮮明さによるものではないかと思われる。

#### 2) 細動脈、細静脈について

細動脈、細静脈は $6.42 \sim 11.76 \mu\text{m}$ ,  $8.91 \sim$

表4 細 静 脈 の 血 管 径

	毛細血管 顕微鏡法	血管鋳型法	透過型 電子顕微鏡	血管内 墨汁注入法
腸 絨 毛		$17.92 \pm 2.23$ (40)	$12.97 \pm 8.56$ (8)	$10.80 \pm 0.74$ (118)
		↑	↑	↑
		(+)	(+)	(+)
粘 膜 固 有 層		$22.23 \pm 1.54$ (126)	$8.91 \pm 7.27$ (9)	
		↑	↑	
		(+)		
縦 走 筋 層	$12.54 \pm 0.53$ (86)	$14.20 \pm 1.39$ (72)		
	↑	↑		
		(+)		

単位:  $\mu\text{m}$  標本平均(M)±標準誤差(S.E.)  
(標本数N)

↑ ↑  
差の有意性の検定



図2 縦走筋層の血管鋳型標本の走査型電子顕微鏡像 ×250  
格子状の毛細血管網がみられ、血管軽度屈曲している  
その下層には輪走筋層の毛細血管網が観察される  
LC : 縦走筋層の血管網, CC : 輪走筋層の血管網

22.23 $\mu\text{m}$ とそれぞれ非常に広範囲にわたっている。これは実験方法で述べた基準に基づいて行われた計測であるが、それぞれの方法上まったく同種の血管を測定することは不可能であり、また森によれば、細動脈は8~15 $\mu\text{m}$ 、細静脈は20 $\mu\text{m}$ 以下と記載されているように、その管径は一定ではない。このことが上記の計測結果を生じたものと思われる。一方、ほぼ生理的な管径を示すといわれている<sup>5,18,19)</sup>毛細血管顕微鏡法と血管鋳型法を比較すると、細動脈、細静脈のいずれにおいても血管鋳型法が1.7~2.8 $\mu\text{m}$ 程度太く、有意の差が認められた。このことより、計測においてはその血管の性質を充分考慮する必要があると思われる。

以上のことにより、血管鋳型法の管径は毛細血管顕微鏡法、透過型電子顕微鏡および血管内

墨汁注入法にはほぼ近似の値を示すと考えられる。しかし、鋳型標本作製にあたっては灌流、固定、樹脂注入圧などを一定にし観察計測することが誤差を最小にする条件となる。このように注意深く作成された血管鋳型標本による管径の測定は容易に血管網全域に亘り非常に多数の血管計測を短時間に行え、さらに、血液の流路に沿って逐一計測が可能となり、血液分布領域の容量の推定にも意義深いものと考えられる。

## 2. 血管鋳型標本によるラット空腸の血管構築について

小腸の血管構築については長年に亘り多くの研究者により、ヒトおよび各種の動物において多くの研究がなされてきた<sup>7-14,16,20-24)</sup>。これらは主に墨汁などの色素剤や造影剤を用いた観察である。血管鋳型標本による血管構築は大





図3 輪走筋層の血管鋳型標本の走査型電子顕微鏡像 ×250  
多角形の網目状の血管網が観察される  
A : 比較的太い細動脈, C.C : 輪走筋層の毛細血管網

橋<sup>25)</sup>らにより報告されており、著者らの観察もこれと同一の結果が得られ、分泌・吸収に非常に適した血管構築をなしている。特に筋層に分布する血管は筋肉の収縮方向に適したコイル状をなしている。腸絨毛部において基底部より起始し、絨毛頂部まで枝を分枝することなく上行し、頂部で噴水状に分枝する細動脈については、色素注入標本では十分に観察がなされていなかった枝であるが、鋳型標本により始めてその詳細を明確に出来た。この枝が絨毛への血液流入量を調節しているものと考えられる。

## VI 結 論

成熟雄 Wister 系ラット 7 匹の空腸を用い、血管径（毛細血管、細動脈、細静脈）の計測にあたり、血管鋳型法（SEM）と他の観察法〔毛細血管顕微鏡法（C.M.）、透過型電子

顕微鏡（TEM）、血管内墨汁注入法（I. Ink）、Microangiogram〕を比較検討し、合わせて空腸の血管構築について検索し次の結果を得た。

### 1. 観察法による差異について

#### 1) 毛細血管について

- (i) 腸絨毛および粘膜固有層においては 4.13~6.11 $\mu\text{m}$  の値を示し、観察方法間には差がなかった。
- (ii) SEMとC.M.との測定値間には有意の差が認められ、その差は約1 $\mu\text{m}$ であった。
- (iii) Microangiogram による測定値は、他の方法での約2倍の値を示した。

#### 2) 細動脈、細静脈について

細動脈、細静脈の管径はそれぞれ6.42~11.76 $\mu\text{m}$ , 8.91~22.23 $\mu\text{m}$ と広範囲の値を示し、これは条件や計測部位を一定にすることが困難なためと思われた。

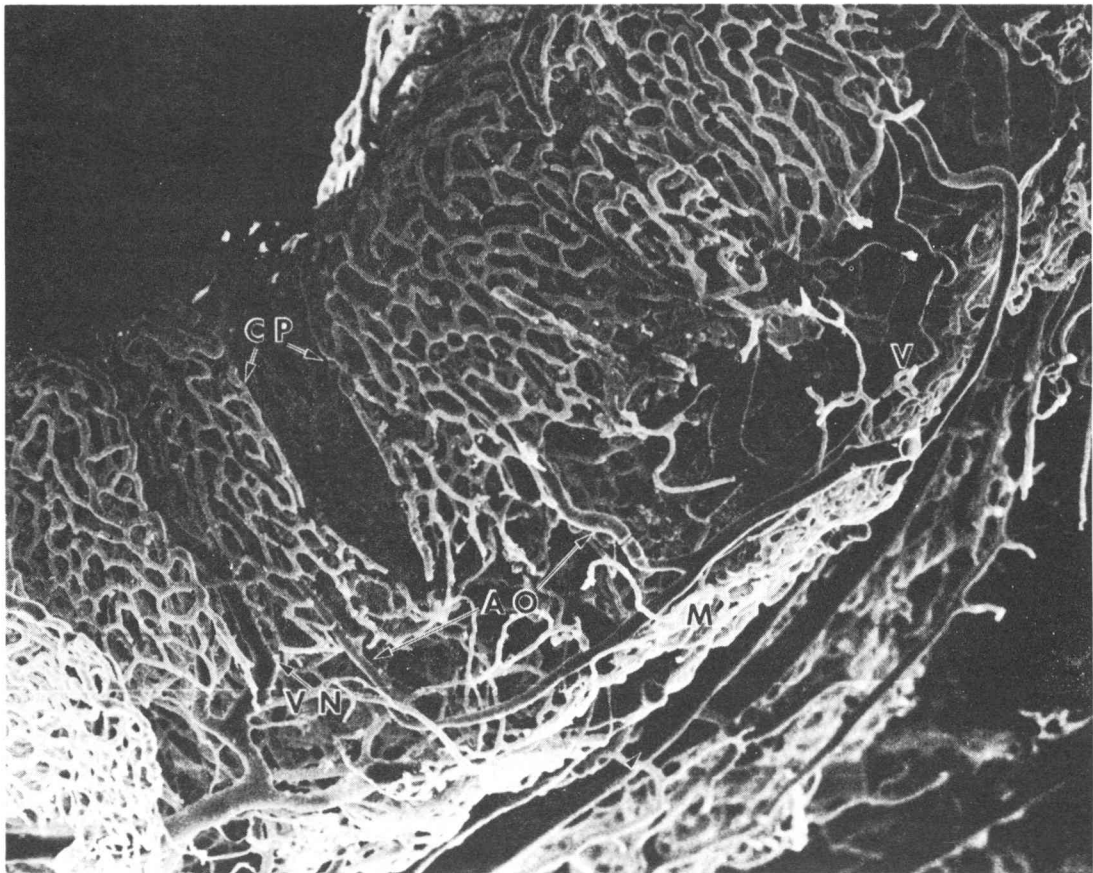


図4 ラット空腸横断面の血管鋳型標本の走査型電子顕微鏡像 ×125  
 籠目状になった絨毛の血管網及びそこに分布する細動脈(AO)や細静脈(VN)  
 が観察される。  
 CP : 絨毛の毛細血管網 V : 太い細静脈 M : 筋層の血管網  
 AO : 細動脈 VN : 細静脈

以上より、血管鋳型標本の管径は、C.M.,  
 TEM そして I.Ink の管径とほぼ近似の値を  
 示すと考えられ、血管計測に有効な手段といえ  
 る。

2. 空腸の血管構築は吸収、分泌に適した形  
 態を呈していた。

本論文の要旨は、第5回岩手医科大学歯学会総会  
 (昭和54年10月)に於いて発表した。

**Abstract :** On the observation and the measurement of microcirculation, there are many methods. Recently, it is often used that the cast is taken by means of injection of acrylic resin and is observed by scanning electron microscope. However, there was only a little report concerning the validity of the measurement of microvessels. Therefore, in this study, jejunum of a rat was used. This study was attempted to examine the difference between the cast and the other methods (capillary microscope, electron microscope, Indian ink injection and microangiogram). In addition to the microvascular system of the rat's jejunum was observed on the cast.

Results were as follows :

1. Compared with the other methods except microangiogram, it almost regards the diameters of



vessels which were measured on the cast in the approximate value with them. The cast can be very useful method at the measurment.

2. The vascular system of the rat's jejunum is useful for the purpose of absorption, secretion and control of the amount of the following blood easily.

## 文 献

- 1) Sobin, S. S. and Tremer, H. M. : Three-dimensional organization of microvascular beds as related to function.
- Baez, S. : Skeletal muscle and gastrointestinal microvascular morphology.
- Wolff, J. R. : Ultrastructure of the terminal vascular bed as related to function., Microcirculation, Ed. Kaley, G. and Altura, B. M., Univ. Park press, Baltimore, 1977.
- 2) 村上宅郎 : 微細血管分布機構研究のための鋳型走査電子顕微鏡法, 細胞, 7 : 11~18, 1975.
- 3) Murakami, T. : Application of the scanning electron microscope to the study of the fine distribution of blood vessels. *Arch. histol. jap.* 32 : 445-454, 1971.
- 4) Kamijo, Y., Suzuki, K., Takahashi, K., Wakatsuki, E., Maeda, T. and Takeishi, J. : Morphological studies on the capillary system in the gingiva in man by means of capillary microscopy, *Bull. Tokyo dent. Coll.*, 5 : 149-169, 1964.
- 5) 中村治郎 : 歯肉切除創の治療経過に伴う毛細血管の新生に関する研究, 口腔病誌, 26 : 1038-1051, 1959.
- 6) Cliff, W. J. : Blood vessels, Cambridge Univ. press, London, 1976.
- 7) 小川義雄 : 微細血管分布に関する研究, 横浜市立大紀要, Series C-6, No. 12 : 1-22, 1952.
- 8) 川戸正治 : 人胎児消化器系統に於ける微細血管分布の研究, 横浜市立大紀要, Series C-24, No. 94 : 91-136, 1958.
- 9) 小川義雄 : 消化管系統に於ける微細血管の分布の研究, 小腸粘膜 (絨毛) における所見, 日本生理誌, 11 : 66-71, 1949.
- 10) 香川典生 : 猫腸粘膜細血管の微細構造に関する研究, 久留米医誌, 18 : 512-543, 1955.
- 11) 西 忠之 : ダイコクネズミの消化管に於ける微細血管分布構造に就いて, 広島医学, 別刊号13 : 364-370, 1960.
- 12) 楠 光雄 : 脊椎動物に於ける消化管粘膜の微細血管表面積測定に依る比較生理学的研究, 広島医学, 別刊号12 : 779-797, 1959.
- 13) 酒井 正 : 小腸粘膜 (絨毛) に於ける微細血管分布に就いて, 広島医学, 別刊号12 : 358-362, 1959.
- 14) 酒井 正 : 消化管系統に於ける微細血管分布の研究総括, 広島医学, 別刊号12 : 370-375, 1959.
- 15) 若野洋一 : 生体観察による口腔粘膜毛細血管の形態に関する研究, I, II, 阪大歯誌, 6 : 263-302, 1961.
- 16) 都富典夫 : Microarteriogram によるヒト胎児消化管における微細血管の解剖学的研究, 歯科学報, 63 : 679-704, 1963.
- 17) 森 堅志 : 形態学から観察した血管及びリンパ管の物質通過, 最新医学, 18 : 1454-1458, 1963.
- 18) 浅野牧茂 : 生体顕微鏡法により観察された皮膚微細循環の動態, 臨牀, 30 : 341-348, 1976.
- 19) 鈴木和夫, 田中規正, 野坂洋一郎, 八木和夫, 市川公一 : 毛細管顕微鏡による口腔粘膜の毛細管像と実像の比較研究, 口腔解剖研究, 27輯, 1-8, 1971.
- 20) Bellamy, J. E. C., Latshaw, W. K. and Nielsen, N. O. : The vascular architecture of the porcine small intestine. *Can. J. comp. Med.* 37 : 56-61, 1973.
- 21) Jacobson, L. F. and Noer, R. J. : The vascular pattern of the intestinal villi in various laboratory animals and man. *Anat. Rec.* 114 : 85-101, 1952.
- 22) Mohiddin, A. : Blood and lymph vessels in the jejunal villi of the white rat. *Anat. Rec.* 156 : 83-90, 1966.
- 23) Nylader, S. and Olerud, S. : The vascular pattern of an isolated jejunal loop. *Acta chir. scand.* 121 : 39-46, 1961.
- 24) Reynolds, D. G., Brim, G. and Sheehy, T. W. : The vascular architecture of the small intestinal mucosa of the monkey (*Macaca mulatta*). *Anat. Rec.* 159 : 211-218, 1967.
- 25) Ohashi, Y., Kita, S. and Murakami, T. : Microcirculation of the rat small intestine as studied by the injection replica scanning electron microscope method. *Arch. histol. jap.* 39 : 271-282, 1976.