

実験的な粥状動脈硬化に対する超音波治療の効果

— 組織定量的な検討 —

李 相 忠*, 王 樂 民*, 王 考 銘*
 田 国 良*, 黄 泰 安*, 金 晓 明*
 王 敏*, 魏 紫 博*, 董 壮 蔚*

要 旨

本研究では兎に作成した高脂血症及び動脈粥状効果に対する超音波治療の効果を、病理組織学的に計測定量して検討したものである。超音波治療群の血清コレステロール、大動脈全長にわたる粥状硬化病巣の体積あたりの密度、及び罹患した冠動脈の本数とその病巣の体積あたり密度、などは自然消退群に比べて有意な低下 ($P < 0.05$ または $P < 0.002$) を認めた。これらの結果から、超音波治療は血清コレステロールを低下させ、冠動脈における粥状硬化の消退にとって効果があることが示唆された。

緒 言

1929年に Harvey らが超音波を初めて心臓にあてた実験を行って以来、多くの学者が心臓疾患に対する超音波の治療効果を研究してきた。しかし、これまでの実験はショックなどの重大な副作用のために十分な研究成果は得られなかった。1971年に山中は超音波の音エネルギー、周波数及び超音波をあてた時間を適当に選択すれば心筋梗塞の治療に有効であることを示唆する論文を発表した¹⁾。1975年以来筆者らは狭心症に対する超音波治療を行いその有効性を確かめ報告してきた²⁾。

本研究では、兎に実験的に作った高脂血症及び動脈硬化に対して超音波治療が有効であることを、組織学的な変化から定量的に検討した。

材料と方法

実験動物には中国大耳白兎30匹 (雄雌各15匹、体重2.5~3.0kg) を使った。10匹ずつをモデル群 (第1群)、自然消退群 (第2群)、超音波治療群 (第3群) に分け、高コレステロール添加 (卵黄粉 5 g, ラード1.5 g, 基礎餌43.5 g) 飼料を100日間与えた。

101日目にモデル群の動物から心臓、血管を採取した。他の2群には基礎餌をさらに63日間与えた。超音波治療群では、毎日中国製洛陽74-II型超音波治療器で800 kHz/秒、1.0 w/cmの超音波を1日20分間、前胸部を脱毛して照射した。

1. 血清コレステロール：各群で20日間毎に1回耳動脈から4 mlを採血し、血清コレステロールを測定した。
2. 大動脈：各群6~7匹 (合計19匹)、模式図1-5 (Fig. 5)の如く大動脈を12 cmの長さに切開いて内膜面を観察の後、内に巻いてパラフィン包埋した。30 μ mの間隔で厚さ6 μ mの切片による半連続切片とし、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色及び弾性繊維染色をして標本を観察した。光学顕微鏡で病変の動脈壁の厚さを測定後大動脈全長の断面に占める病巣の面積と分布を計測し、病変部分の体積密度を計算した。
3. 冠状動脈：実験終了までに3群で計24匹が生存していた。バントバルビタール200~240 mgの静脈で麻酔後、開胸して心臓と大動脈を摘出した。心臓は冠動脈入口に固定液 (2% Paraformaldehyde-2.5 Glutaraldehyde 0.1M

*中国ハルビン医科大学基礎医学部

PBS)を注入し、24時間(4℃)固定した後、肺動脈弁輪から3mmずつ心臓を横断した。最大径のレベルは6個に切り分けて、切面の上を出すようにパラフィンで包埋した。パラフィン切片はHE染色と弾性繊維染色を行い光学顕微鏡で観察した。HE染色標本で、冠状動脈を大枝(管径300μm以上)、中枝(管径50~299μm)及び小枝(管径49μm以下)に分類し、断面の病巣を数えて、病巣面積と分布の密度を方型測定板で測定した。血管全周型病変では管壁厚を計った。

4. 病変部の超微構造：冠状動脈と大動脈の病変部から採取し、通常の方法によって超薄切片を作製し、H600A型電子顕微鏡で観察した。

統計的処理はStudent's t testにより行い、 $P < 0.05$ を有意とした。

結 果

I. 血清コレステロール：モデルを作った100日目、3群共全て血清コレステロール値は実験開始時の値より5~6倍増えた。163日目に自然消退群と超音波治療群とで100日目の状態と比較すると、血清コレステロールがそれぞれ4.9倍と8.8倍低下していた。超音波治療群は自然消退群よりも49%低値を示し、両群には有意な差があった(図.1 $P < 0.002$)。

II. 大動脈：粥状硬化病巣は大動脈の基部に最も多く、胸部大動脈で最少であった。病変部では内膜が厚くなり大量の泡沫細胞が出現していた。筋層の平滑筋細胞が増殖、変形し配列が乱れ、モノサイトと泡沫細胞が見られた(写真1, 2)。

III. 冠状動脈：第1群, 第2群, 第3群を合わせて冠状脈の断面を4,516個数えた。そのうち病変数は578個で多くは中小枝であった。主な病変として内皮細胞の腫脹, 細胞質の脂滴増加, 細胞接合部の破壊観察された。また内皮直下にコラーゲンと弾性繊維の増加, それに断裂が見られた。ここにはモノサイトと泡沫細胞が出現し, 平滑筋細胞の増殖が認められた(写真5, 6)。血管中膜の筋層では平滑筋細胞の増殖, その中に少量の泡沫細胞も観察された。管壁の病変は巣状型, 全周型で管径が狭くなっていたが, 血管腔の面積減少をパーセント比率で見ると, 大部分は25%以下の減少であった(写真3,

4)。

全周型の病変が認められる管壁の厚さは、超音波治療群では自然消退群に比べて8μm薄く($P < 0.05$)、病巣分布の体積密度でみると超音波治療群が最も低かった($P < 0.01$)。超音波治療群においては病変の存在する冠状動脈の断面数は約8%と少なく、冠状動脈, 特に大枝では病変が全く認められなかった(図. 2-4)。

考 察

各群の冠状動脈と大動脈の病変は文献の粥状硬化の早期モデルと基本的に一致した³⁾。冠状動脈のない腔狭窄の程度は、多くの場合25%以下の減少であり、大動脈では肉眼的に観察される病巣は殆どない。

本研究においては冠状動脈の断面における病変の発生状況, 病巣の広がりや密度及び大動脈全長

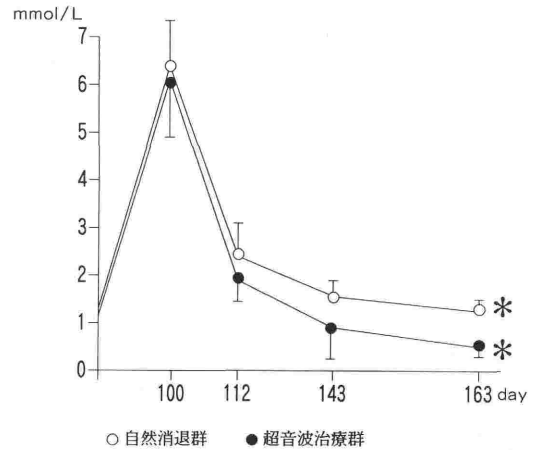


Fig. 1 超音波による血清コレステロール降下作用

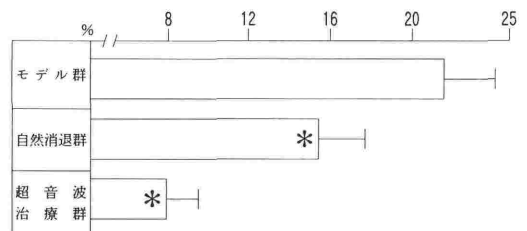


Fig. 2 3群における大動脈病変の体積密度の比較

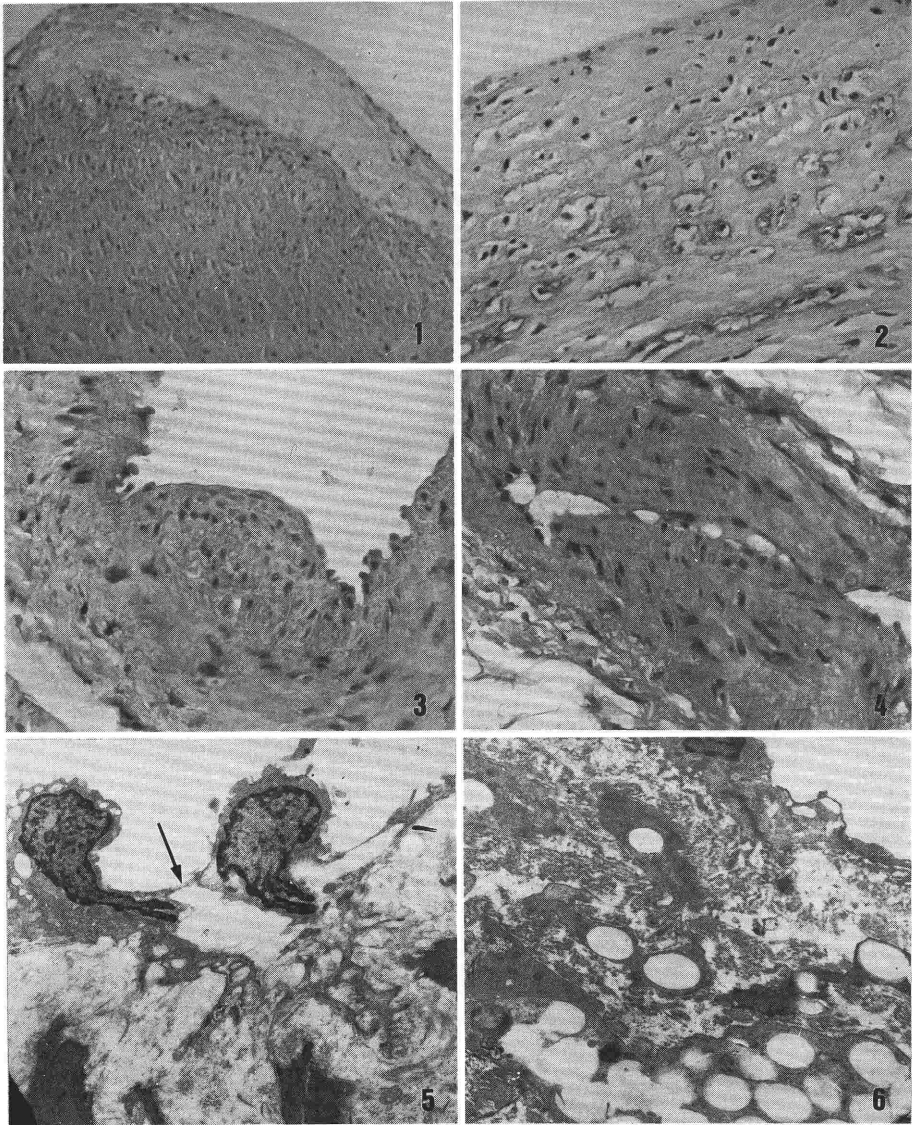


写真1 大動脈の筋層は肥厚し、内膜が瀰漫性に増殖肥厚している。

HE 染色, 160倍

写真3 冠状動脈は巣状に増厚し管腔は狭窄している。

HE 染色, 320倍

写真5 冠状動脈の内皮細胞が分離し(↑), 細胞質に脂肪滴が目立つ。

電顕, 8,700倍

写真2 大動脈の内膜肥厚とその下に広範な泡沫細胞の出現がある。

HE 染色, 320倍

写真4 冠状動脈は全周性に増厚し管腔が狭窄している。

HE 染色, 350倍

写真6 冠状動脈の内膜下層に大量の脂肪滴をもった“泡沫細胞”がある。

電顕, 9,000倍

の内膜と断面，病巣の大きさから，全体に分布する体積密度を計算した．これらはいずれも超音波治療群で最も低く，自然消退群に比べて有意な減少であった．これは超音波に動脈硬化病巣を除去する作用があることを示しており，筆者らの以前の報告と一致している⁴⁾．

超音波による粥状硬化を改善するメカニズムはまだ不明だが，血中の脂質を低下させる作用と密接に関連するものと考えている．本研究では実験終了期の血清コレステロール値は超音波症候群の方が自然消退群より49%も低値を示し有意な差

があることが判明した．高脂血症の臨床治療例57人では，超音波治療の21日後に患者の血清コレステロールとトリグリセライド値が12%と20%低下し，治療前と比べて有意な差があることも確認されている⁵⁾．Bond は，動脈硬化消退の体積は血清コレステロール降下の程度と正比例すると報告している⁶⁾．超音波の血中脂質低下作用は脂質の酸化と排泄を促すのか，あるいは反射波によって腸管の脂質吸収が抑制されること，及び肝臓コレステロール合成の抑制による結果であろうと考えられているが，この問題はさらに検討が必要である．

一般に超音波は細胞の運動を活発にし細胞膜の浸透性を増強する．そして組織細胞の粒子の振動数を増やすなど多様な生物学的作用がある⁷⁾．し

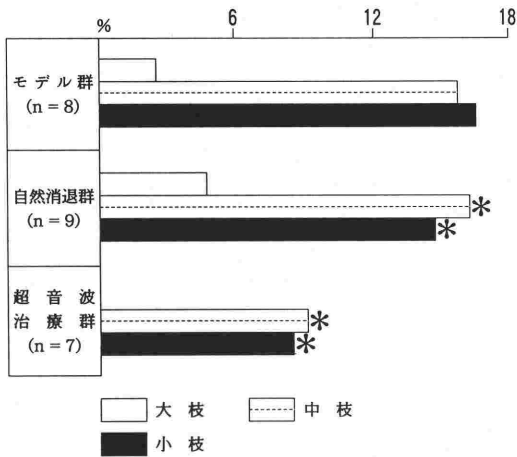


Fig. 3 3群における冠状動脈の組織切片4,516個に病変を認める割合 (%)．



Fig. 4 3群における冠状動脈の病変程度の比較．*印は統計的有意を示す．

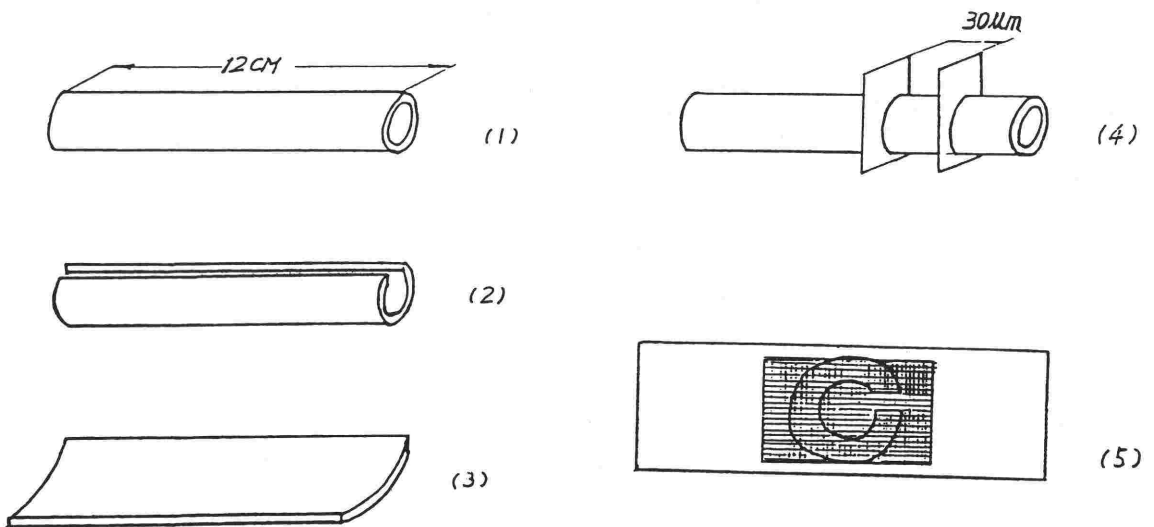


Fig. 5 大動脈標本の作成

たがって、病巣部にある脂質の異常に大きい分子は、移動し局所からの離脱を促進させるのではないかと推測する。このようなことが粥状硬化病巣を除去する作用として大きな役割を果たしたであろう。

血管内に超音波端子を挿入する「外科的な超音波治療」が有効であるメカニズムは、機械的な振動に基づく直接的な作用とそれを分離し運び去る作用が深く関連すると考えられる^{8,9)}。また、Siegelらは超音波 Probe (20 KHz, 音のエネルギー 20~50 w) を使って、正常組織と血管内には損傷を与えず、動脈粥状硬化による狭窄及び完全閉塞区の斑腫病変の除去に成功し血流が再開した報告をしている¹⁰⁾。本研究は超音波による冠状動脈硬化の治療であるが、さらには粥状硬化病巣を除去する作用を利用した血管整形術として利用できる可能性を示唆している。超音波治療法は、今後は心臓、脳、四肢の血管にみられる粥状硬化症の治療にとって新しい手段になることを期待したい。

(本研究は、中国自然科学基金による研究費の援助を得て行ったものである。)

謝辞 本研究をまとめるに際し、貴重な御意見、御指導を戴いた新潟市民病院臨床病理部長の岡崎悦夫先生に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 日本超音波医学会編：超音波医学基礎から臨床まで、医学書院、東京、206-207頁、1973
- 2) 郭 玉僕ほか：超音波治療冠心病200例臨床観察、黒竜江医薬 6：11-17, 1977
- 3) 黄 士通：家兎実験性動脈硬化の超微結構観察、中華心血管病雑誌 10(1)：58-60, 1982
- 4) 李 相忠ほか：超音波抗家兎実験性動脈硬化病理研究総結報告、ハルビン医科大学、1983
- 5) 薰 壯麗ほか：超音波降血脂、降血圧、抗心律失常療効的臨床観察、ハルビン医科大学学報 24(5)：407-409, 1990
- 6) 庄 漢忠ほか訳：実験動物和人体動脈粥様硬化の消退、国外医学参考資料心血管病分冊ほか 1：1-4, 1978
- 7) 超音波療法：第四軍医大学編 第一版、26-35, 1979
- 8) Marberger M, Stackl W, Hruba W, et al: Late sequelae of Ultrasonic lithotripsy of renal calculi. J Urol 133: 170-174, 1985
- 9) Segura JW, Leroy AJ: Percutaneous ultrasonic lithotripsy. Urology 23: 7-10, 1984
- 10) Siegel RJ, Fishbein MC, Forrester J, et al: Ultrasonic plaque ablation. Circulation 78: 1443-1448, 1988

**Effects of Ultrasonic Treatment on Experimental Atherosclerosis
—A Quantative Study by Histomorphometry—**

Li Xiang zhong*, Wang Le min*, Wang Xiao ming*,
Tiang Guo liang*, Huang Tai an*, Jin Xiao ming*,
Wang Min*, Wei Zi bio*, Dong Zhuang li*

*Department of Basic Medicine, Harbin Medical School, Republic of China

Our paper reports significant effects of ultrasonic treatment on experimental hyperlinemia and atherosclerosis of the rabbits, using an apparatus of Type 74-II Ultrasonic Treatment made in China.

Marked decreases were observed in serum cholesterol levels and volume density of atherosclerotic lesions in the aorta and the coronary artery,

after ultrasonic treatment for two months, compared with the control ($P < 0.002$, $P < 0.05$ or 0.01).

The results indicate that ultrasonic treatment could have an action of reducing the intensity of lesions in experimental hyperlipemia and atherosclerosis of the rabbits.

Key Words : Ultrasonic wave, Atherosclerosis, Serum cholesterol

(Circ Cont 16 : 353~357, 1995)