骨膜の骨形成能に関する研究

1. 家兎尺骨骨膜の年齢差による骨形成能の比較について

津山 建・松田光悦・市川 徹・西村泰一
北 進一

Studies on the osteogenetic capacity of the periosteum

1. A comparison of the osteogenetic capacity with the periosteum
from corpus ulnae of antebrachium of the young and adult rabbitsKen TSUYAMA · Mitsuyoshi MATSUDA · Thoru ICHIKAWA · Taiichi NISHIMURA
Shin-ichi KITA

Abstract: There have long been arguments on the existence or otherwise of a periosteal osteogenic capacity.

In more recent experiments many investigators have supported this concept. However, few studies have been made on this capacity in the aged.

The purpose of this paper is to restudy osteogenic capacity in the periosteum and to compare differences in this capacity with advancing age.

Japanese white rabbits were divided into 3 groups by age; 1-month, 1-year and 1 1/2 year old periosteum was removed from the shaft of the ulna and immediately free grafted into muscle of the anterior forearm. Samples from these animals were examined by X-ray and light microscope.

The following results were obtained;

- 1) New bone formation in the grafted periosteum occurred in 42 (70%) out of 60 cases.
- 2) The developmental stage of new bone formation was more rapid in young rabbits than in adult ones.

The results of these experiments indicate that the periosteum has an osteogenic capacity, greater in younger rabbits.

Key words: periosteum (骨膜), osteogenic capacity (骨形成能), bone formation (骨形成)

緒 言

口腔外科領域では腫瘍などにより広範な顎骨切除が行われることが多い。この場合これら骨欠損部に対して骨創の早期治癒、顎の変形および機能障害の防止を目的として骨移植が一般に行われる。しかし、骨移植を行わず

に骨膜のみを保存し、骨膜の有する骨形成能を利用して顎骨の再建を計るという試みがなされている¹⁾。

骨膜の骨形成能に関しては、長年論争がつづけられてきたが、現在では骨膜には骨形成能があるという考えが一般に支持されている。しかし年齢による骨形成能の差に関しては実験的報告が少なく、いまだにあきらかではない。

そのため、われわれは骨膜の骨形成能を確認し、さらに年齢によって骨形成能に差があるか否かを調べることを目的として、各年齢の家兎を用いて遊離骨膜移植実験を行い、X線学的および組織学的に骨形成の有無およびその程度について検討を行った。

旭川医科大学医学部歯科口腔外科学講座

(主任：北 進一教授)

Department of Oral and Maxillofacial Surgery,
Asahikawa Medical College (Chief: Prof. Shin-ichi Kita)

受付日：昭和63年12月6日

図1 骨膜採取部位

実験方法

1. 実験動物

実験動物には雌雄の別なく日本白色家兎を54羽用いた。54羽のうち生後1年の家兎30羽、生後1か月および生後1年6か月の家兎がそれぞれ12羽であった。1年齢群は、骨膜の骨形成能を確認する実験に用い、1か月齢および1年6か月齢群は、年齢差による骨膜の骨形成能の差を検討する実験に用いた。

2. 遊離骨膜移植法

Pentobarbital sodium (ネンブタール) 30 mg/kg 静脈麻酔下に、両側前肢前腕尺骨部より 3×7 mm の骨膜を採取し(図1)、それをおのおのの反対側前腕上部の尺側手根屈筋と尺側手根伸筋との間に遊離骨膜移植し、筋肉縫合のうえ皮膚縫合を行った(図2)。術後の感染を予防するため抗生物質の筋肉内注射を行い、さらに皮膚縫合創部にアクロマイシン軟膏を塗布した。

3. 観察方法

1年齢群は移植後4週目に、1か月齢群と1年6か月齢群は移植後1, 3, 7, 10, 14, 21日目にそれぞれ致死量の麻酔薬投与により屠殺した。屠殺後、前肢前腕部を摘出し、softex によるX線撮影を行った後、組織学的観察に供した。

softex の撮影条件は、50 KV, 35 mA, 30 sec とした。

組織学的観察は、通法に従い、Hematoxyline-Eosin 染色を行った上で鏡検した。

実験成績

1. 骨膜の骨形成能に関する検討

本実験では移植後4週目における骨形成の有無について検討を行った。X線学的に骨膜移植部に一致して不透過像を認め(写真1)、しかも組織学的に骨組織と確認できたものを骨形成ありと判定した。その結果、総数30羽のうち、両側の骨膜移植部に骨形成を認めたものの17羽、片側のみに認めたもの8羽、両側ともに認めなかったものが5羽であった(表1)。すなわち移植例数60例のうち42例(70%)に骨形成を認めた(表2)。この骨形成部の組織像をみると、比較的成熟した新生骨組織がみられ、一部に破骨細胞が認められた(写真2)。

2. 年齢差による骨膜の骨形成能の差に関する検討

本実験では移植後1, 3, 7, 10, 14, 21日目のそれぞれにおける各年齢群の骨形成の有無およびその程度について比較検討を行った。

移植後3日目までは、両群ともに骨膜移植部に骨形成は認めなかった。

移植後7日目では、1か月齢群に初めて骨形成を認めた(写真3)。組織学的には、数層に規則正しく配列した比較的細胞成分に富む線維性の結合組織からなる移植

図 2 移植部位

表 1 骨形成の有無

左右両側に骨形成	(+)	17羽
左右いずれか片側に骨形成	(+)	8羽
左右両側に骨形成	(-)	5羽
総 数		30羽

表 2 骨形成の割合

移植例数 (60例)	骨形成 (+)	42例 (70%)
	骨形成 (-)	18例 (30%)

骨膜の周囲に、肉芽組織が認められた。その肉芽組織に接して、やや大型の骨芽細胞が細い骨梁を多数形成しており、また骨細胞も多数みられた(写真4)。一方1年6か月齢群では骨形成を認めたものはなかった。

移植後10日目では、1か月齢群では骨形成を認め、組

写真 1 1 年 齢 家 兎。骨膜移植後 4 週 目。骨膜移植部に骨形成を認める。

写真 2 1 年 齢 家 兎。骨膜移植後 4 週 目。比較的成熟した新生骨と一部に破骨細胞がみられる。

織学的には細い骨梁が癒合し、比較的成熟した新生骨組織が認められた。その周囲に1層の骨芽細胞が存在し、骨中に埋入された骨細胞が多数認められた(写真5)。しかし1年6か月齢群では骨形成は認められなかった。

移植後14日目では、1か月齢群では骨形成を認め、組織学的には骨梁がほとんど癒合し層板構造がみられ、一部破骨細胞による骨吸収の部分もみられた(写真6)。一方1年6か月齢群では依然として骨形成は認めなかった(写真7)。

移植後21日目では、1か月齢群では骨形成を認め、組織学的には14日目とはほぼ同様の組織像がみられた。1年

写真 3 1 か月齢家兎。骨膜移植後 7 日目。骨膜移植部に骨形成を認める。

写真 5 1 か月齢家兎。骨膜移植後10日目。比較的成熟した新生骨がみられる。

写真 6 1 か月齢家兎。骨膜移植後14日目。骨梁はほとんど癒合している。

写真 4 1 か月齢家兎。骨膜移植後 7 日目。骨芽細胞が細い骨梁を形成している。

6 か月齢群では初めて骨形成が認められた (写真 8)。組織学的には、数層の移植骨膜と思われる細胞成分に富む線維性結合組織がみられ、その内側に比較的骨梁に富む成熟した新生骨組織が認められた (写真 9)。

このように 1 か月齢群においては移植後 7 日目に骨形成が認められたのに対し、1 年 6 か月齢群では移植後 14 日目においても骨形成は認めず、21 日目にたって初めて骨形成を認めた (表 3)。

考 察

実験動物を用いて遊離骨膜移植を行い、最初に骨膜に

表 3 年齢と骨形成の関係

年 齢	1 か月 齢	1 年 6 か月 齢
日		
1	(-)	(-)
3	(-)	(-)
7	(+)	(-)
10	(+)	(-)
14	(+)	(-)
21	(+)	(+)

骨形成能があることを証明したのは Ollier²⁾ である。しかし彼はすべての実験において骨形成を認めたわけではなく、骨形成が得られなかった原因として移植骨膜に、骨膜の最深層で骨質に接し細胞成分に 富み、骨形成に最も重要な成分といわれている cambium layer が含まれていなかったことをあげている。その後 Grohe³⁾, McWilliams⁴⁾, Mayer and Wehner⁵⁾ らなどが実験動物を用いて骨膜移植後、骨形成が得られたことを報告し

写真 7 1 年 6 か月齢家兎。骨膜移植後14日目。骨形成は認められない。

写真 8 1 年 6 か月齢家兎。骨膜移植後21日目。初めて骨形成を認める。

写真 9 1 年 6 か月齢家兎。骨膜移植後21日目。比較的骨梁に富む新生骨がみられる。

一方 Brown and Brown⁷⁾ らは、犬を用いて骨膜移植実験を行ったが、骨形成は得られなかったと報告し、骨膜には骨形成能があるという説に疑問を投げかけている。また、Phemister⁸⁾、Davis and Hunnicutt⁹⁾ らも骨膜には骨形成能はないと報告している。このように骨膜の骨形成に関しては種々の議論があるが、最近では骨膜には骨形成能があるという考えが一般に支持されているようである¹⁰⁻¹³⁾。

われわれは家兎を用いて遊離骨膜移植を行い、移植後4週目に骨形成の有無をX線学的および組織学的に観察したが、総移植例の70%に骨形成を認めた。このようにわれわれの実験成績においても、骨膜には骨形成能を有することが確認された。なお移植例の30%に骨形成が認められなかったが、これは多くの研究者^{6,7,14,15)} が報告しているように実験手技に問題があり、骨形成に重要な cambium layer を十分含んで骨膜を採取することができなかったことにその原因があると思われる。

一般に骨膜は内外2層からなり、外層には多くの膠原線維と線維芽細胞が存在する。内層は細い膠原線維が疎に認められ、骨質に接して1~2層の骨芽細胞ないしは幼若間葉系細胞が存在する。この骨膜に由来する骨形成の機序に関しては多くの議論があるが、いまだに明らかにされていない。この点に関しては今後の研究が期待される。

骨膜の骨形成能に関して、年齢による差があるかどうかについては種々の議論がある。Ollier²⁾ は家兎を用いて遊離骨膜移植を行い、幼若な家兎では骨形成を認めたが、成熟家兎では認めなかったという。Riees¹⁴⁾ は犬を用いて遊離骨膜移植を行い、1年齢以上の犬の骨膜には cambium layer が欠如しているため、骨膜移植部に骨形成は認めない。しかし幼犬の骨膜には cambium layer が存在し、そのため骨形成が認められたと報告している。また Urist and Mclean¹⁶⁾ はラットを用いて骨膜移植を行い、生後3週の幼若なラットでは骨形成を認めた

ている。また Burman and Umansky⁶⁾ らは、cambium layer を含んで骨膜移植を行えば骨形成は得られることを強調している。

が、成熟ラットでは認めなかった。この原因として年齢による cambium layer の有無、骨形成能の差をあげている。一方、Buchholz¹⁷⁾は成熟家兎を用いて遊離骨膜移植を行い、骨形成能を認めたといい、Koch¹⁸⁾も同様に成熟家兎の骨膜にも骨形成能があると報告している。さらに篠原¹⁹⁾は家兎を用いて遊離骨膜移植を行い、幼若なものほど骨膜の骨形成能は強いが、成熟家兎でも cambium layer を含んで移植すれば骨形成は認められると結論している。

われわれは1か月齢と1年6か月齢の家兎を用いて遊離骨膜移植を行い、移植後21日まで経日的に骨形成の状態をX線学的、組織学的に観察し、骨膜の骨形成能の程度を比較検討した。その結果1か月齢では移植後7日目に骨形成を認めた。それに対して1年6か月齢では移植後14日目においても骨形成が認められず、移植後21日目にいたって初めて骨形成を認めた。すなわち1か月齢では1年6か月齢に比べ、少なくとも1週間以上早く骨形成が認められた。このことから幼若年齢の骨膜は成熟年齢の骨膜よりも強い骨形成能を有していることが示唆された。このように骨膜の骨形成能には年齢的な差が認められたが、1年6か月齢の家兎においても移植後21日目には骨形成を認めていることから、成熟家兎の場合は骨膜の骨形成能を有しないのではなく、骨形成能が減退しているものと考えられる。落合¹⁹⁾は人の骨膜の加齢的变化について研究し、骨膜には胎6か月頃に著しい機能的活性をもつ細胞群が出現し、小児期から機能が減退し始め、青年期から老年期になるにしたがって細胞数の減少ならびに細胞機能の減退がみられると述べている。このような骨膜の細胞機能、cambium layer の活動力の加齢的な低下が、骨形成能の加齢的な減退の理由と考えられる。

骨膜の骨形成能の強さを評価する方法はまだ確立されていないが、①骨膜を移植してから骨形成が認められるまでの期間、②骨膜移植後に形成された骨量、③形成された骨組織の成熟度などを比較して判定することが考えられる。

われわれの実験においては、骨膜を移植してから骨形成が認められるまでの期間を用いて骨形成能の強さを評価したが、形成された骨量および骨組織の成熟度に関しては検討していない。この点に関しては今後の検討が必要である。

顎骨切除後、骨移植を行わずに骨膜の骨形成能により骨新生を認めたという臨床報告があり²⁰⁻²²⁾、骨膜の骨形成能を利用した新しい顎骨再建法が期待される。しかしこれらの臨床報告の大部分は若年者に認められたものであり、年齢が重要な要因となっているようである。このような臨床への応用には年齢的な制限があるか否かを解明することは今後に残された重要な問題であると思われる。

本論文の要旨の一部は第32回日本口腔外科学会総会(於：東京)において発表した。

引用文献

- 1) 西嶋克巳, 岸 幹二, 他: 下顎頭を含めた下顎骨片側離断術後の骨新生について. 日口外誌 21: 491-497 1975.
- 2) Ollier, L.: Recherches experimentales sur la production artificielle des os, au moyen de la transplantation du perioste, et sur la regeneration des os, apres les resection et les ablation completes. J de la Physiol de L'Homme et des Animaux 2: 1-30 1859.
- 3) Grohe, B.: Die Vita propria der Zellen des Periosts. Virchow's Arch f Pathol Anat 155: 428-464 1899.
- 4) McWilliams, C.A.: The function of the periostum in bone transplants, based on four human transplantations without periostum, and some animal experiments. Surg Gynec Obstet 18: 159-169 1914.
- 5) Mayer, L. and Wehener, E.: Neue Versuche Zur Frage der Bedeutung der einzelnen Komponenten des Knochengewebes bei der Regeneration und Transplantation von Knochen. Arch Klin Chir 103: 732-762 1914.
- 6) Burman, M.S. and Umansky, M.: An experimental study of free periosteal transplants, wrapped around tendon. J Bone Jt Surg 12: 579-594 1930.
- 7) Brown, W.L. and Brown, C.P.: Preliminary report on experimental bone and periosteal transplantation. Surg Gynec Obstet 17: 681-689 1913.
- 8) Phemister, D.B.: The fate of transplanted bone and regenerative power of its various constituents. Surg Gynec Obstet 19: 303-333 1914.
- 9) Davis, J.S. and Hunnicutt, J.A.: The osteogenic power of periosteum: with a note on bone transplantation. Ann Surg 61: 672-685 1915.
- 10) Cohen, J. and Lacroix, P.: Bone and cartilage formation by periostum. Assay of experimental autogenous grafts. J Bone Jt Surg 37: 717-730 1955.
- 11) 松原 翠, 野村哲郎: 骨組織の誘導に関する研究. 日整会誌 30: 582-583 1956.
- 12) Skoog, T.: The use of periostum and surgical for bone restoration in congenital clefts of the maxilla. Scand J Plast Reconstr Surg 1: 113-130 1967.
- 13) Ritsila, V., Alhopuro, S., et al.: Bone formation with free periosteum, An experimental

- study. Scand J Plast Reconstr Surg 6: 51-56 1972.
- 14) Riess, E.: Experimentelle Studien über die Knochenbildende Kraft des Periostes Arch Klin Chir 129: 750-757 1924.
- 15) 篠原一幸: 遊離骨膜移植に関する実験的研究. 日外会誌 33: 1292-1357 1932.
- 16) Urist, M.R. and Mclean, F.C.: Osteogenetic potency and new bone formation by induction in transplants to the anterior chamber of the eye. J Bone Jt Surg 34-A: 443-476 1952.
- 17) Buchholz, R.: Einige Versuche über künstliche Knochenbildung. Virchow's Arch f Pathol Anat 26: 78-106 1863.
- 18) Koch, H.: Über Knochenregeneration. Arch klin Chir 135: 48-78 1924.
- 19) 落合 勲: ヒト骨膜と電子顕微鏡的研究. 日整会誌 47: 233-253 1973.
- 20) 玄番涼一, 山本悦秀, 他: 若年者の下顎離断切除術後に骨新生の認められた4症例. 口外誌 7: 1623-1624 1980.
- 21) Kazanjian, V.H.: Spontaneous regeneration of bone following excision of section of the mandible. Amer J Orthodont 32: 242-248 1946.
- 22) Steinhäuser, E.: Unterkieferrekonstruktion durch intraorale Knochentransplantate, deren Einheilung und Beeinflussung durch die Funktion-eine tierexperimentelle studie. Schweiz Mschr Zahnheilk 782: 213-234 1968.
-