原	著
---	---

家兎下顎骨における血管束導入の移植骨に及ぼす 影響に関する実験的研究

川 口 哲 司

東京医科歯科大学歯学部第1口腔外科学教室 (主任: 塩田重利教授)

(1981年12月15日 受付)

Experimental Studies on Effects on Grafted Bone by Means of Transplantation of Vessels in Mandible of Rabbits

Tetsuji Kawaguchi

The First Department of Oral Surgery, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University
(Chief: Prof. Shigetoshi Shioda)

Experimental studies were carried out in order to investigate the effects on the grafted bone by means of the transplantation of the facial artery and vein with their peripheral microanastomoses passing through the grafted bone in the mandible of the rabbits and their controls.

The observation was made macroscopically and microscopically for 12 weeks by X-ray films, photographs and histologic findings (embedding in the paraffin and Rigolac and staining with Hematoxylin-Eosin and Tetrachrome, labelling method by Tetracycline and Calcein), using the microangiograms and the Spalteholz method.

The summary of results is as follows:

1) In the control group, the grafted bone was almost absorbed at about three weeks and at the same time a new bone formation started. Graft union was completely attained at about six weeks.

2) In the experimental group, the grafted bone was partially absorbed at about two weeks and at the same time there occurred a new bone formation. Graft union was completely attained at about four weeks after the bone graft with the vessels.

The transplanted vessels to the grafted bone were well revascularized during the observation period.

It seems that the results of this experimental study can be applied to the clinical situation.

目 次

I. 緒 言

II. 実験材料および実験方法

1. 実験動物

2. 実験方法

1) 導入血管

2) 手術手技

3. 観察方法

1) 肉眼の所見

2) 超軟X線写真

3) 病理組織学的所見

(1) 脱灰標本

(2) 非脱灰標本

- 4) ラベリング像
- 5) Microangiography
- 6) 透明標本

Ⅲ. 成 績

Ⅳ. 考 察

1. 実験方法について
2. 実験成績について
 - 1) 移植骨の運命について
 - 2) 導入血管について
 - 3) 骨新生について

Ⅴ. 結 論

Ⅰ. 緒 言

骨移植は、顎・顔面・口腔領域において奇形、変形、顔面骨骨折、顎骨嚢胞および腫瘍などの治療に際し、機能の回復のみならず審美性の改善にも重要な手術法の1つである。

従来より、骨移植には採取骨の種類により自家骨移植、同種骨移植、異種骨移植などがあり、また移植骨の採取後の状態により新鮮骨移植と保存骨移植とがあるが、顎・顔面・口腔領域では感染への抵抗性や生着性、採取後の処理の容易さなどから新鮮自家骨移植が一般に行われている¹⁾。

しかるに、口腔内細菌による術後感染や、悪性腫瘍などの放射線治療における母床の脆弱化や、拡大手術等による母床軟組織の不足などの母床の問題、骨移植後の固定期間とその間の食事等の問題、さらに口腔衛生などを考えると、血行のよい骨片の移植ができれば感染への抵抗性は増大し、母床についてもかなりの悪条件下で骨移植が可能となり、移植骨の早期生着が期待でき固定期間も短縮できることになり、術後管理は容易になり、患者の精神的・肉体的苦痛が緩和できると思われる。

近年、各種筋皮弁の開発に伴い、骨への血行を温存したまま周囲軟組織とともに移植する island flap²⁻⁵⁾ や、Microsurgery⁶⁻¹¹⁾ による free graft などの良好な結果が報告されているが、island flap は採骨部位の制限や新鮮創の作成が必要であり、また Microsurgery は手技的な困難さがあ

り、手術時間や麻酔時間を延長させ、術後管理も繁雑であり、顎・顔面・口腔領域の臨床には不向きと思われる。

1978年保利ら¹²⁾は、動・静脈血管束を直接遊離骨や壊死骨に移植し、これらの骨に旺盛な血管・骨新生がみられたと報告しているが、顎・顔面・口腔領域への骨移植に際し、これら動・静脈血管束を導入した報告はみられない。

そこで、著者は顎・顔面・口腔領域において、移植骨に動・静脈血管束を導入し、移植骨への血行を保存した場合の移植骨の運命、骨新生の過程ならびに導入血管の開存状態を検索し、本法の臨床応用の可能性を調べるために動物実験を行い、興味ある知見を得たので報告する。

Ⅱ. 実験材料および実験方法

1. 実験動物

骨移植に影響を与える因子、すなわち実験動物の大きさ、年齢などにほとんど差のない体重 3.5 kg 前後の日本白色家兔を、本学医学部附属動物実験施設内の恒温 ($20 \pm 1^\circ\text{C}$)、恒湿 ($70 \pm 10\%$) の条件のもとに、オリエンタル RC-5 固型飼料と水で1週間以上飼育し、異常のないことを確認したうえで実験に供した。

2. 実験方法

1) 導入血管

本実験において骨移植時、移植骨内に導入する血管は、血管の大きさおよび解剖学的に移植部への導入の容易な部位を考慮し、また末梢の微小循環を保存するために顔面動脈、および顔面静脈を1つの血管束として用いた。

Barone によれば、家兔の顔面動脈は外頸動脈から分岐した舌顔面動脈から分岐し、下顎骨下縁部の血管圧痕部を通過し、咬筋枝を分岐したのち、顔面前方に進み下唇動脈を分岐し上唇動脈となる。顔面静脈は顔面動脈と吻合しながら伴行し、オトガイ下静脈となり外頸静脈に注ぐという(図1)。

本実験では、下顎骨血管圧痕部から顔面動・静脈を約30mmにわたり剝離・露呈させ、末梢部で

A. c. e.: 外頸動脈, A. f. l.: 舌顔面動脈, A. f.: 顔面動脈, A. l. i.: 下唇動脈, A. l. s.: 上唇動脈, V. c. e.: 外頸静脈, V. s. m.: オトガイ下静脈, V. f.: 顔面静脈, V. l. i.: 下唇静脈, V. l. s.: 上唇静脈

図1 顔面部の動脈・静脈 (Barone (1977) による)

は顔面動脈, および顔面静脈間の微小循環を保存した状態で Dexon 糸5-0にて結紮・切断し, 導入血管束とした。切断部の顔面動脈の直径は約 0.5 mm, 顔面静脈の直径は約 0.8 mm である。

2) 手術手技

全身麻酔剤 Nembutal (25 mg/kg) を耳静脈より注射し, 右側顎下部に 2% Xylocaine を皮下注射し, 皮膚切開を加えて下顎骨骨体部下縁を露出, 電気エンジンにて 10×8 mm の骨片を採取した(図2)。つぎに, 左側に同様の切開を行い, 前述の顔面動・静脈を確認し, 血管を損傷しないように末梢部の微小循環を保存した状態で血管束を作成・切離, 同側の下歯槽動・静脈を下顎孔付近で結紮・切断後, 下顎骨骨体部下縁から右側と同様に 10×8 mm の骨片を採取し, 骨欠損部を作成した。ついで, 前述の右側から採取した骨片の中央部に近遠心的にスチール・バーにて孔をあけ, 先に作成した顔面動・静脈血管束を導入し, 移植骨は母床骨と近遠心各1箇所を 0.3 mm 鋼線で固定し, 導入した血管束は周囲の軟組織に結紮固定

し, 実験群とした。移植部の骨膜は周辺部を含めて切除した(図2)。

図2 実験方法

対照群は同様な操作を行い、移植骨片への血管束導入は行わなかった。

以上の手術は可及的に無菌的に行い、術後の感染防止のために、術当日を含め4日間、Penicillin系抗生物質 5 mg/kg を連日投与した。

3. 観察方法

対照群および実験群ともに、移植後3日目、1, 2, 3, 4, 6, 8, 12週目の各時期に屠殺し、観察用資料とした。

対照群・実験群とも移植後に感染したもの、および実験群において導入血管に閉塞のみられたものは、研究対象より除外した。なお、実験群では屠殺直前に、Angiographyを行った(表1)。

1) 肉眼的所見

屠殺後、肉眼的に移植骨の母床骨への骨癒合状態を観察し、さらに実験群については導入血管の開存状態を調べた。

表1 観察方法

* 印は実験群のみ実施

2) 超軟X線写真

屠殺後、左下顎骨を摘出し、可及的に付着している軟組織を除去し超軟X線撮影を行い、移植骨・母床骨間隙の骨新生の状態を観察した。

超軟X線撮影装置はSoft X-ray unit OMC 603型(オーミクロン社)を、フィルムはFuji softex film FG(富士写真工業社)を使用し、撮影条件は管電圧35kVp、管電流3mA、焦点・フィルム間距離30cm、撮影時間1分でを行い、現像にはRendol(富士写真工業社)を、定着にはRenfix(富士写真工業社)を用いた。

3) 病理組織学的所見

各時期に採取した標本を10%緩衝Formalinにて固定後、脱灰標本および非脱灰標本を作成し、病理組織学的検索を行った。

(1) 脱灰標本

脱灰には橋本式交流電気脱灰器(福岡研明社)を、脱灰液には5%工業用塩酸を用い、通電条件は電流2~3A、電圧4~6V、通電時間48時間とした。脱灰終了後、通法のごとくParaffin包埋し、厚さ約6μの切片を作成し、Hematoxylin-Eosin染色を行った。

(2) 非脱灰標本

Formalin固定標本を系列アルコールで脱水し、Styrene monomer(Hydroquinone非含有)溶液・2容器、ポリエステル樹脂溶液で包埋し、60°C・12時間で重合した。樹脂包埋標本は、マルトースライサーMC-501Dで薄切し、スピードラップML-150DcおよびH・T式硬組織研磨装置(マルトー社)を用い、厚さ約30μの非脱灰薄切研磨標本を作成¹⁴⁾し(表2)、Tetrachrome染色を行った。

4) ラベリング像

ラベリング剤として、①Tetracycline系抗生物質Achromycin末を家兎体重当たり5mg/100g、②Calceinを家兎体重当たり1.5mg/100gを用い、移植後2週目に2日間Achromycinを、その2週後に2日間Calceinを家兎に筋肉内注射し、その後2週目ごとに同様の操作を交互に繰り返した。

ラベリング像の観察に当たり、前述の非脱灰薄

表2 非脱灰薄切標本作成法

資料採取	
固 定	: 10% Formalin 液
脱 水	: 系列 Alcohol
置 換	: Styrene monomer I (Hydroquinone 非含有) Styrene monomer II
包 埋	: ポリエステル樹脂溶液 I ポリエステル樹脂溶液 II
	ポリエステル樹脂溶液組成 { Rigolac 2004 : 7 容 Rigolac 70F : 3 容 プロモータ E : 3 滴/20ml パーメック N : 3 滴/20ml }
重 合	: ポリエステル樹脂 60℃, 12時間
切 断	
研 磨	: 厚さ約30 μ 薄切標本作成

切標本を作成し、落射蛍光顕微鏡装置(BH-RFL, オリンパス社)を用い、BG3, UG5, V, Y475 の各フィルターを組み合わせ、母床骨・移植骨間隙のラベリング線を観察した。

5) Microangiography

実験群において移植骨に導入した血管の開存状態、ならびに血管の新生状態を観察するために、屠殺に先立ち、導入血管束動脈より局所灌流した後、造影剤を注入し、Microangiogram を撮影した¹⁵⁾。

灌流方法は 22 G. Medicut を留置針として用い、導入動脈の中枢側より 37℃ の 2% Heparin 加生理的食塩水を灌流液として、約 30mmHg の圧力で順行性に注入し、導入静脈より瀉血した。造影剤は Micropaque (英国 Damancy 社) に 5% Gelatin 加生理的食塩水を加え、20% Micropaque になるように調整し、これに後述の透明標本のために 0.5% Trypan blue を全体量の 2% となるよ

うに混和した溶液を、二重のガーゼで口過・作成した。この造影剤を、先の灌流に用いた 22 G. 留置針より約 80 mmHg の圧力で注入し、静脈から造影剤の流出を確認後、流出防止のため導入血管束の動・静脈を結紮し、断頭・冷却し、造影剤の硬化を確認したうえで左下顎骨を摘出した(図3)。

摘出標本は、10%緩衝 Formalin 液で固定後、橋本式交流電気脱灰器にて前述と同一条件にて脱灰した標本を、前頭断・矢状断に厚さ約 2 mm に薄切し、超軟X線撮影を行った(表3)。

図3 Angiography

- 1: 移植骨, 2: 母床骨, 3: 導入動脈, 4: 導入静脈, 5: 結紮糸, 6: ポリエチレンチューブ, 7: 注入器, 8: 血圧計, 9: 三方活栓

撮影には、Spectroscopic film タイプ 649-O (Kodak 社)を使用し、撮影条件は管電圧 15kVp、撮影時間 4 分とし Contact Microangiography を撮影、現像には D-19 (Kodak 社処方)を、定着には Renfix を用いた。

現像したフィルムは、Bioleit で封入し顕微鏡観察した。

6) 透明標本

Microangiography で得られた血管像を、さらに立体的に観察するために、Spalteholz¹⁵⁾ 変法¹⁶⁾ に従い透明標本を作成した。

Microangiography 用に作成した薄切標本を 3%過酸化水素水にて骨髓細胞を漂白後水洗し、H・T 式硬組織研磨装置で約 1 mm に手ずり研磨し、Spalteholz 標本を作成し、スライドガラスに載せ、これに Spalteholz 液 (Benzyl Benzoate, Methyl Salicylate 3 : 5 混合液)を満たし、その上にカバーガラスをのせて実体顕微鏡 (SM-6, コン社)にて観察した(表 3)。

表 3 Microangiography および透明標本作成法

Ⅲ. 成 績

移植後 3 日目

肉眼的所見では、母床骨と移植骨の境界は明瞭で、移植骨は鋼線による固定のみで動揺がみられ、手術時所見とほとんど変化は認められない。

超軟 X 線所見では、母床骨と移植骨の境界は明瞭で両骨端間隙に X 線不透過像は認められない。

病理組織学的所見では、対照群・実験群ともに、母床骨と移植骨の間隙に手術操作によるものと思われる、結合組織内の強い浮腫と充血を主体とする急性反応がみられる。実験群では、母床骨と移植骨の間隙に多くの毛細血管が観察され、血管の周囲にはリンパ球・形質細胞を主体とした小円形細胞の浸潤が軽度ではあるが、局限してみられる(図 4)。また、一部では、異物巨細胞の活発な貪食反応がみられる。移植骨の骨細胞は健在で吸収はみられない。移植骨の一部では組織の細胞に空胞変性がみられるところもある。

移植後 1 週目

肉眼的所見では、移植骨はまだかなりの動揺が残っており、3 日目の所見とほとんど変化はない。

超軟 X 線所見では、母床骨と移植骨の境界はいまだ明瞭である。

病理組織学的所見では、対照群・実験群ともに、母床骨と移植骨の間隙では移植後 3 日目に認められた間質の浮腫、および充血は消失傾向を示しているが、リンパ球・形質細胞を主体とした小円形細胞の浸潤は著明になっている。移植骨の骨髓内にもリンパ球・形質細胞の浸潤がみられ、骨梁の一部には変性および吸収が旺盛なところもみられる。実験群では、移植骨断端部に認められる吸収最前端部には、局限した破骨細胞の存在を認め小円形細胞の浸潤もみられ、一部では大食細胞の盛んな貪食反応や好中球の浸潤、さらに線維素の析出も認められる(図 5)。

また、Angiography のため導入動脈より注入した Trypan blue は導入静脈内にもみられ、移植骨骨髓内の小血管内でも散在性に観察される

(図6)。

Microangiogram では、移植骨骨髓内へ導入した血管束の動・静脈ともに造影されており、動脈および静脈の一部に新生血管を思わす分岐像がみられるが、骨髓内の在来血管との吻合の有無については不明である(図7)。

移植後2週目

肉眼的所見では、対照群・実験群ともに母床骨と移植骨との生着は認められず、移植骨にはまだ動揺が認められ、移植骨と母床骨の境界は明瞭である(図8)。

超軟X線所見では、対照群・実験群ともに母床骨と移植骨の境界は明瞭である。

病理組織学的所見では、対照群・実験群ともにリンパ球・形質細胞の浸潤は軽度になってくる。この時期では、移植骨の吸収は一段と進行し、移植骨片内に限局した小円形細胞の浸潤したところに多数の大食細胞の出現がみられる。母床骨と移植骨との間隙を占める結合組織にみられた浮腫や充血は、ほぼ消失している。全域にみられた細胞浸潤は、さらに消退傾向を示してくる。骨梁の吸収は、1週目に比べさらに増強しているが、実験群では、母床骨および移植骨断端部および吸収最前部では破骨細胞に隣接して、骨芽細胞が配列しており、新生骨の形成がみられる(図9)。

移植後3週目

肉眼的所見では、移植後2週目とほぼ同様の所見であるが、母床骨と移植骨の間隙は線維性に癒着し、移植骨の動揺は軽度となっている(図10)。

超軟X線所見では、対照群において母床骨と移植骨の境界は明瞭であるが、実験群において新生骨を思わせるX線不透過像が、母床骨と移植骨の間隙に認められる(図11)。

病理組織学的所見は、対照群では、すでに小円形細胞や大食細胞などの反応性細胞浸潤はほとんど消失し、骨吸収は認められるものの、2週目に比べ鈍化しているが、移植骨の骨吸収量はその大部分を占め、広範な脂肪組織に置換され骨欠損腔となり、吸収最前部では、境界不明瞭な密度の高い線維性結合組織がみられ、そこでは未熟な骨

芽細胞の増殖が散見されるが、いまだ新生骨梁はみられない。この時期において母床骨断端部では、無数の骨芽細胞がみられ、旺盛な骨新生所見がみられる(図12)。

一方、実験群では、3週目では母床骨と移植骨の間隙の反応性細胞浸潤は消失し、密な線維細胞の集まりによる線維性結合組織で占められ、いたるところに骨芽細胞の旺盛な増殖が骨新生を伴っており、母床骨断端部だけでなく移植骨断端部にもみられる。両断端間の結合組織内には、増成した毛細血管が多数みられる。この頃には、移植骨周囲の炎症性細胞の浸潤は消失し、骨吸収反応もほとんど認められない(図13)。

Tetrachrome 染色標本では、対照群において新生骨の形成は、母床骨断端部にわずかに認められるが、移植骨骨細胞の染色性は低下している(図14)。一方、実験群においては、新生骨の形成は母床骨および移植骨両断端部において著明であり、移植骨の骨細胞も母床骨のそれと同様に染色性は良好である(図15)。

ラベリング所見では、移植後2週目に筋肉内注射した Tetracycline が新生骨に取り込まれ、黄色のラベリング線とし観察される。対照群においては、母床骨断端部に明瞭な黄色のラベリング線がみられるが、移植骨断端部ではほとんど観察されない(図16)。一方、実験群において、母床骨および移植骨両断端部に1本の黄色のラベリング線が明瞭に観察される(図17)。

Microangiogram では、導入血管と移植骨骨髓内血管との吻合を思わせる所見が観察される(図18)。

移植後4週目

肉眼的所見では、対照群において、まだ移植骨に軽度の動揺がみられるが、実験群においては移植骨に動揺は認められず、両骨端間は骨性癒合を思わせた。移植骨に導入した血管束動・静脈の開存はこの時期でも明らかである(図19)。

病理組織学的所見では、対照群において、母床骨断端部に骨梁形成がみられ新生骨形成が存在し、骨吸収後に形成された著明な線維性結合組織

内に発生する骨芽細胞から骨新生がはじまっているが、移植骨断端部では明瞭な新生骨形成は認められない(図20)。一方、実験群では、移植骨の骨梁からの骨新生はさらに進行し、母床骨・移植骨間を満たし、母床骨および移植骨の間隙は新生骨で連絡しており、導入した血管の開存も確認された(図21)。

Tetrachrome 染色標本では、対照群において母床骨断端部に新生骨の形成がみられるが、移植骨断端部では、骨細胞は一部生存しているものもあるが、新生骨の形成は観察されない(図22)。実験群においては、新生骨は母床骨と移植骨の間を満たし Tetrachrome 色素に良染し、活発な骨形成像として観察される(図23)。

移植後 4 週目のラベリング所見は、移植後 2 週目の Tetracycline による黄色のラベリング線と、移植後 4 週目の屠殺前日に投与された Calcein による緑色のラベリング線との、2 本のラベリング線が形成中の新生骨に認められる。対照群においては、母床骨断端部に Tetracycline による黄色と、Calcein による緑色の 2 本のラベリング線がみられるが、移植骨断端部では線状のラベリング線は 1 本も観察されず、緑色で帯状に染色されている像がみられる(図24)。実験群では、母床骨および移植骨両断端部にそれぞれ 2 本のラベリング線が観察され、さらにこれらのラベリング線は母床骨と移植骨の中間部に混入しており、新生骨の骨細胞もラベリングされているのが認められる(図25)。

移植後 6 週目

肉眼的所見では、対照群・実験群ともに移植骨は母床骨と骨性癒合しており、全く動揺は認められない(図26)。

超軟 X 線所見では、両群ともに母床骨および移植骨間隙には骨組織を思わせる X 線不透過像がみられる(図27)。

病理組織学的所見では、対照群において母床骨と移植骨は新生骨によって一部連絡しているが、まだ移植骨断端部に密度の高い結維性結合組織が多くみられ、骨芽細胞が散在性に観察される(図

28)。実験群においては、移植後 4 週目に連絡した母床骨および移植骨断端部よりの新生骨は増成し、骨組織が緻密化の傾向を示し、骨細胞を中心に同心円状に配列し、ハーバース層板の構造を示すようになる(図29)。

移植後 8 週目

肉眼的所見では、対照群・実験群ともに、母床骨と移植骨は、その境界がほとんど判別不可能となり、強固に骨性に癒合している(図30)。移植骨に導入した血管の動・静脈はともに開存しており、導入直後に比べ、顔面動・静脈はやや細くなっている傾向が認められた(図31)。

超軟 X 線所見では、骨組織を思わせる X 線不透過像が母床骨と移植骨の間隙を満たしており、骨梁もかなり明瞭に観察されるようになってくる(図32)。

病理組織学的所見では、対照群において母床骨と移植骨の間隙は新生骨で満たされていて(図33)、移植骨内の線維性結合組織で満たされていた部分は新生骨で置換され、その間にわずかに線維性結合組織がみられる。実験群においては、母床骨と移植骨の間隙を占める骨組織は大部分が緻密骨化し、完成された骨組織の形態を示すようになり(図34)、また移植骨骨髓も本来の形態を有し、その大部分は脂肪組織と骨髓組織からなり、毛細血管も多く観察され、造影剤の流入が認められた。

透明標本では、移植骨に導入した血管束動・静脈から分岐した微小血管が、移植骨骨髓内の在来血管と吻合した新生血管を思わせる像も観察される(図35)。

移植後 12 週目

肉眼的所見では、移植骨は母床骨と強固に癒合し、その境界もほとんどわからない。

超軟 X 線所見でも母床骨と移植骨の間隙にみられる X 線不透過像は、さらに不透過性を増している。

病理組織学的所見では、対照群において緻密骨化が進行中であるが、実験群では緻密骨化され完成した骨組織の形態を備えているが、ハーバース管はまだ拡大しているのがみられる(図36)。両群

ともに、移植骨骨髓は本来の形態を備えている。

透明標本では、移植骨に導入した動脈から多数の血管が新生し、それぞれの血管は入り乱れているのが観察された(図37)。

IV. 考 察

骨移植は、外科臨床において骨欠損部の修復や補填、偽関節の治療等に用いられるが、移植骨の運命および移植骨の母床骨に対する生着機転についてはいまなお不明な点が多い。

移植骨の母床骨への生着には、移植骨への血行の存在が重要であり、移植骨への血行を保つ骨移植術は古くから考案されてきたが、近年ますます多くの研究者により移植骨への血行を保存、あるいは新設する種々の方法が考案・報告され、実用化されている。しかし、いずれも術式選択上の制約、手技上の困難さ、術後管理等に問題があり、当科領域における臨床応用には難点が少なからずある。そこで、血管束の採取や導入など手技的に簡便な移植骨内血管束導入法を顎骨に応用し、その臨床的価値について実験的研究を行った。

1. 実験方法について

Phemister (1914)¹⁷⁾は、移植骨への栄養補給、すなわち血液循環の有無が移植骨の骨新生に重要な役割を及ぼすと述べており、Trueta (1957)¹⁸⁾, 1960¹⁹⁾, 1963²⁰⁾, Stringa (1957)²¹⁾ とも移植骨の骨新生能は血管の関与によると報告しており、骨移植に当たっては、移植骨に対する血行がその予後を左右する重要な因子とされている。

Rhineland (1974)²²⁾は、骨を栄養する動脈には、大別して骨膜系動脈と骨髓系動脈との二種があり、そのうち骨膜系動脈は骨皮質外側 1/3 を、また骨髓系動脈は骨髓および骨皮質内側 2/3 を栄養すると述べている。したがって、移植骨への血行を保存する骨移植法には、骨膜系動脈を保存する方法と骨髓系動脈を保存する方法とがある。

骨膜系動脈を保存する方法には、筋皮弁付骨移植や皮弁付骨移植などがあり、Hellstadius (1942)²³⁾, Davis と Tayler (1952)²⁴⁾, 倉田ら (1957)²⁵⁾ は筋皮弁付骨移植を行い、移植骨の母

床骨への早期生着を報告している。また、Dagen (1970)²⁶⁾, Snyder (1970), Conley (1972)²⁷⁾, Finseth ら(1976)²⁸⁾ は皮弁とともに腸骨や肋骨などを移植し、移植骨の骨形成能が保存されていたと報告している。一方、骨の主栄養動脈である骨髓系動脈を保存するものでは、Strauch ら(1971)²⁹⁾ の血管柄付肋骨を移植した報告があり、血管柄付骨移植の有用性を報告しており、Östrup (1974) は Microsurgery を用いて、イヌの肋骨を肋間動・静脈を付け遊離骨移植を行い、良好な結果を得たと報告している。

臨床的には、McKee (1961) がヒトの下顎骨再建に血管付肋骨移植を行い良好な結果を報告し、また、Tayler (1975) は栄養血管を付けた腓骨を移植し良好な成績を報告している。

本邦では、土井 (1976) が大腿骨に微小血管縫合法を用いた遊離血管柄付肋骨移植を行い、移植骨に骨形成能が保存されていたことを報告している。その後、藤巻 (1977), 生田 (1978) とも血管縫合法を用いた骨移植を行い、良好な結果を得たと報告している。

血管柄付骨移植すなわち island flap の場合は、移植骨への血行は保存されているが、術中の血管損傷や血管柄の捻転などによる血行障害のほか、移植骨への血行を骨膜系動脈のみに依存しているため、移植骨全体への循環血液量の不足などが懸念される。

血管柄付遊離骨移植は、最近の急速な Microsurgery の普及により、臨床応用されるようになってきているが、Microsurgery の手技には熟練を要し、また、血管柄付遊離骨片の採取部位からの移植用動・静脈柄作成、血管縫合などの手技の困難さやそれに伴う手術時間・麻酔時間などの延長、さらに術後の縫合症などによる障害や、術後管理上の問題などのため、広く一般臨床において用いられるには解決すべき問題が残されている。

骨組織への血管移植は、Woodhouse (1963)³⁰⁾ がイヌにおいて上腕動脈を上腕骨に移植し、移植動脈と骨髓内動脈との間に吻合がみられたと報告したのが最初とされ、Dickerson ら (1963)³¹⁾,

1966³²⁾, 1968³³⁾), Boyd ら (1965)³⁴⁾, Torto ら (1967)³⁵⁾は健常骨に動脈を移植し、移植動脈からの血管新生およびその新生血管周辺における骨新生を報告している。

本邦では、保利 (1978) が健常骨に動脈を移植し、移植血管は初期に静脈洞へ血液の流出路を求め、移植血管自体の生命を確保しつつ細小血管を増生させ、血管網を作り在来の血管と結び付くと述べ、さらに遊離骨や壊死骨に動・静脈を含む血管束を移植した場合、血管束の動・静脈間に存在する微小循環が発達し、微細な数多くの血管が移植血管を中心に放射状に増生し、新生血管となると報告している。

移植骨への血管束導入法による骨移植を前述の island flap による骨移植と比較すると、island flap による方法は血管束動・静脈が確実に保存されるため、血管の捻転や屈曲、圧迫などによる血行障害に対し十分な注意をすれば成功率の高い良好な方法ではあるが、採骨部位が限定されるためにその適応に制約がある。一方、移植骨への血管束導入法は、遠隔部位より採取した骨移植にも応用でき、また周辺部よりの血行を手軽に用いることができ、その適応は広く、移植骨への血管束導入に際しては、末梢の微小循環を保存し、血管の屈曲・捻転などによる血行障害に注意すれば、臨床的に利用価値の高い方法であると思われる。また、血管柄付遊離骨移植と比べると、血管柄付遊離骨移植は遠隔部位から採取した移植骨とともに、十分な周囲軟組織を同時に移植できる点では優れているが、Microsurgery による血管縫合手技の困難さ、手術時間の延長、術後の血栓形成や循環障害など管理上の困難さがある。

保利は整形外科領域、とくに長管骨への骨移植における血管束導入法について報告しているが、顎骨における移植骨への動・静脈血管束導入の報告はみられない。

そこで著者は血行の豊富な顎・顔面・口腔領域において、移植部に近い場所に導入用の動・静脈血管束を作製し移植骨に導入する骨移植を、実験動物を用いて行い、移植骨と母床骨の変化を肉眼

的・X線的・組織学的所見を経時的に観察し、臨床的有用性を検索した。

導入血管に関して、保利は遊離骨に動脈移植を行い、この場合静脈系の循環がなく血管の開存がみられないと報告している。しかし、遊離骨に静脈を移植し、その断端を他の動脈に端側縫合し循環を保った場合には、移植静脈の開存がみられており、また遊離骨に微小循環の存在する動・静脈血管束を移植した場合にも、移植動・静脈間に交通がみられると報告している。そこで著者は、本実験において導入血管として、末梢部微小循環を保存した動・静脈血管束を用いた。

なお、骨組織に血管束を導入するに当たって、Woodhouse, Torto らは “Transplantation”, Boyd は “Implantation”, 保利は “移植” という表現を用いているが、本実験では、対象となる骨は移植骨という遊離骨であり、遊離骨内を近遠心的に微小循環を保存させながら通過させるという方法採ったので “導入” という表現を用いた。

移植骨において、血管束導入による移植骨の運命、母床骨・移植骨間隙の骨新生の状態を観察するために、実験に際しては、下歯槽動・静脈を結紮・切断し、骨膜は移植骨の周辺部を含めて母床側まで大きく切除し、骨髄系および骨膜系動脈からの栄養を遮断し、その影響を可及的に除いた。

骨移植では、手術後の感染防止と移植骨の固定が十分に行われれば、移植骨の母床骨への生着率は高いといわれており、本実験では手術後の感染防止のために抗生物質を投与し、移植骨の固定には 0.3 mm 鋼線を用いた。

移植骨内に血管束を導入するに際して、血管束の導入部での屈曲・圧迫などによる狭窄や、閉塞による循環障害をきたさないように母床骨の血管束導入部と導出部に、スチール・バーで骨溝を作成し、この骨溝より導入血管束を移植骨内に導入し、骨や周囲軟組織による屈曲・圧迫が起こらないように配慮し、その結果導入血管の高い開存率をうることができたと思われる。

導入血管の開存・新生および骨髄内血管との吻合状態を観察するために、Microangiography お

よび透明標本作成を行った。辻によれば、Microangiography用の造影剤は、硫酸バリウム製剤である Micropaque を用いており、Micropaque は粒子が超微粒子であることにより微細な部分の造影に適しているが、50% Micropaque では動脈系および毛細管までしか造影できず、25% Micropaque の場合ではさらに静脈系にまで移行する可能性があるとして述べている。そこで本実験では、骨内の微小血管を考慮に入れて、辻の使用した50% Micropaque をさらに低濃度にし、微小血管への流れをよくするために20% Micropaque を調整し用いたところ、導入血管束の動・静脈間の微小血管も良好に造影されることを確認し、これを使用した。さらに、Microangiogram の均質な像をうるために Micropaque に Gelatin を加え、注入時の目詰まりを避けるために二重のガーゼでろ過することにより粒子を一定にした。また、この造影剤に 0.5% Trypan blue を添加することにより、透明標本での動・静脈の観察を容易にした。その際、0.5% Trypan blue は血管に適当な染色性を有するように、全体量の2%の濃度にした。

2. 実験成績について

1) 移植骨の運命について

Barth(1908)^{36,37)}は移植骨の運命について、移植骨は移植後しだいにすべての要素が死滅し、母床骨から生じる新生骨により置換されると述べ、朝倉(1962)³⁸⁾は、移植骨骨細胞は壊死に陥り、母床骨からの新生骨により置換されることを実験的に証明している。また、Mayer と Wehnel(1954)³⁹⁾、山口(1959)⁴⁰⁾らは、移植骨骨細胞は移植後も生存し、骨新生に関与するが、移植骨は母床骨から新生する骨組織によって置換されるとしている。Matti(1931)⁴¹⁾、河村(1955)ら⁴²⁾は、移植骨の海綿骨質の骨細胞のみが残存し、骨新生ならびに母床骨との骨性癒合などに関与すると述べている。

本実験の対照群では、移植後1週目に移植骨に吸収がみられ、2週目には、Tetrachrome 染色標本において移植骨骨細胞の染色性の低下と骨質の著明な吸収がみられ、3週目には、吸収は鈍化

し移植骨は全体的にほぼ吸収され、線維組織に出現する骨芽細胞により、新生骨に置換されてくる。一方、実験群では、移植後1週目には、移植骨の吸収がわずかにみられ、対照群と同様の経過をたどるが、2週目の Tetrachrome 染色標本では移植骨に骨細胞の活性が観察され、骨吸収部には骨芽細胞も出現し、新生骨形成がみられる。移植後3週目では、骨吸収像が減少しており、対照群に比べ移植骨全体の吸収量は軽度で、移植骨骨梁に新生骨の添加が起こっている。

Villanuevaら(1964⁴³⁾, 1966⁴⁴⁾)によると Tetrachrome 染色は新生または改造中の骨組織に染色性を有し、類骨層は緑色に、石灰化度の低い部分の骨は赤色になり、骨と類骨は区別でき、またハーバース管を中心とする osteon および骨細胞が、明瞭に観察されるといわれている⁴⁵⁾。

したがって、これらのことから、移植骨への血管束導入を行った実験群では、移植骨骨細胞の Tetrachrome 染色性に低下がみられないことから、骨細胞の活性低下や壊死は起こらなかったものと考えられ、さらに盛んな新生骨形成もみられる。

Rosinghら(1969)⁴⁶⁾は、骨細胞の生存の有無を骨細胞の核の DNA 含量で決定されると述べており、一方、土井は骨細胞の形態学的変化により移植骨の生存を決定し、移植後24時間から12週間の間継続して移植骨骨細胞に形態的变化がなく、骨細胞が骨小腔に存在すれば骨細胞は活性を保っていると判断しており、Heipleら(1963)⁴⁷⁾も同様の意見を述べている。

本実験で、対照群においては移植後2週目に移植骨の骨細胞の活性は低下し、移植骨の大部分に骨吸収がみられるが、移植後3週目には骨新生がみられるようになり、その後徐々に骨細胞の活性も認められるようになる。一方、実験群においては、全観察期間を通じて、移植骨骨細胞には、Tetrachrome による染色性の低下はみられず、骨吸収も一部に限局しており新生骨が移植骨に添加している像がみられる。

以上のことから、対照群の移植骨の運命につい

ては、Mayer と Wehner, 山口らの所見と一致しているが、実験群ではその運命は異なり、移植骨の骨質は一部に吸収がみられるが、大部分は保存され骨新生能を有していると思われる。

2) 導入血管について

実験群において、移植後 1 週目に導入血管から造影剤を注入した組織所見では、導入静脈内にも Trypan blue が認められ、また母床骨・移植骨間隙にみられる肉芽組織内にもそれが散在性に観察された。同時期の Microangiogram においても、移植骨骨髓内に導入した血管束の動・静脈がともに微小血管まで明瞭に造影されており、動・静脈の一部に血管の新生を思わす分岐像がみられたが、骨髓内の在来血管との吻合については不明であった。

移植後 3 週目の Microangiogram 像において、導入血管に注入した造影剤が移植骨骨髓内に広範囲にみられることから、導入血管と移植骨骨髓内、在来血管との吻合を思わせる所見が得られた。

肉眼的には、移植後 6 週目においても導入血管の開存が認められた。

移植後 8 週目の透明標本では、移植骨に導入された血管は在来の移植骨骨髓内の血管と吻合している像や、新生血管を思わせる像も観察された。

移植後 12 週目の透明標本では、移植骨に導入した動脈から多数の血管が派生している所見がみられ、これらの血管が入り乱れて観察された。

本実験で移植骨に導入された血管は、移植後 1 週目に導入動脈から注入した Trypan blue が骨髓内の血管にみられたことから、この時期ではすでに導入された血管は骨髓内、在来血管と吻合しているものと思われる。

導入血管の太さについて、保利は細い血管を移植した場合の方が新生血管の増生が旺盛であると述べており、また骨本来の栄養血管の大きさについて生理的な面から考察し、骨の栄養血管の総和を推定して導入血管の大きさを求めている。

嘉村 (1959)⁴⁸⁾によれば、下顎骨の主栄養動脈は下歯槽動脈であり、さらに補助動脈の流入もあるとされている。

本実験ではこれらの点を考慮して、下顎骨の栄養血管の総和を推定して顔面動脈を導入することにした。それによって、ほぼ移植骨本来の血流量にすることができたので、移植骨への血流量にあまり変化がなくなり、在来血管との吻合が起こりやすくなったのではないかと考えられる。

したがって、移植骨に導入した血管は容易に新生し、さらに移植骨骨髓内の在来血管と吻合したと考えられる。

3) 骨新生について

従来より骨移植における移植骨の母床骨への生着機転についての報告は多いが、いまだ定説はない。

斎藤 (1959)⁴⁹⁾によれば、新鮮自家骨移植の場合には、移植骨の骨細胞は染色性を失い、骨髄も壊死に陥り、骨小腔は空虚となり、移植骨は吸収されるとともに、母床骨からの新生骨による骨添加により造成した骨梁となり層板骨になると述べており、山口 (1959)、清水 (1968)⁵⁰⁾も移植骨は壊死に陥り、母床骨側からの新生骨の進展により骨改造機転が起こるとしている。

本実験では、対照群においては、移植後 3 週目に母床骨断端部に新生骨形成が認められるが、移植骨断端部にはまだ新生骨の形成は観察されず、吸収された移植骨内の線維組織に骨芽細胞の出現により新生骨が形成されてきた。

さらに移植後 6 週目になると、移植骨断端部に新生骨形成が認められるようになり、母床骨断端部からの新生骨とは一部で連絡しており、移植後 8 週目には母床骨と移植骨の間隙は新生骨でみだされ、移植後 12 週目には骨緻密化が起こってきた。

一方、実験群では移植後 2 週目に、母床骨および移植骨断端部に線維組織が増成し、その中に骨芽細胞が出現し、新生骨形成が開始された。移植骨内では吸収されずに残った大部分の骨質に添加様の新生骨形成がみられた。移植後 3 週目には、母床骨・移植骨両断端部に骨新生像が観察されるようになり、移植後 4 週目には母床骨と移植骨の間隙は新生骨によりみだされており、移植後 6 週

目には新生骨の量が増大し、移植後8週目には骨緻密化が起こっているのが認められた。

骨ラベリングについては、従来より行われ、成長過程の骨や歯に生体染色を行う発育の時刻描記法が開発されており、岡田・三村(1937)⁵¹⁾の酢酸鉛による時刻描記法が多く用いられている⁵²⁾。Milchら(1957)⁵³⁾、Hulthら(1962)⁵⁴⁾、Uristら(1963)⁵⁵⁾は、血液中に投与された Tetracycline は新しく石灰化しつつある硬組織と結合・沈着し、ラベリング線として蛍光顕微鏡下に観察されると述べている^{56, 57)}。

Kariyamaら(1959)⁵⁸⁾は、Tetracycline・Ari-zalin・Calcein の3種の生体染色剤を用い、ワニの軟骨形成の観察に使用し、色調の異なるラベリング線の観察に成功している。

本実験では、骨新生の時期および新生骨の量などの変化を観察しやすくするために、色調の異なる2種類の硬組織ラベリング剤として、Tetracycline および Calcein を用いた。

対照群では、移植後3週目に母床骨断端部に Tetracycline による黄色のラベリング線が明瞭に観察されたが、移植骨断端部ではラベリング線は認められなかった。移植後4週目には母床骨断端部に Tetracycline による黄色のラベリング線と、Calcein による緑色のラベリング線が認められたが、移植骨断端部には Tetracycline によるラベリング線はほとんどみられず、Calcein による緑色で带状に染色された像が観察された。すなわち、対照群の移植骨断端部では移植後2週目に投与した Tetracycline の沈着はほとんど認められず、移植後4週目に投与した Calcein がわずかに沈着していた。このことから対照群では母床骨断端部に新生骨の形成は早期よりみられるが、移植骨断端部には骨新生はかなり遅れ、移植骨骨質が Calcein により带状に染色されていることから、移植後4週目に、移植骨に大幅な骨改造が起こっているものと考えられる。

一方、実験群では3週目に Tetracycline による黄色のラベリング線が、母床骨と移植骨両断端部にみられ、さらに4週目には、Tetracycline に

よる黄色のラベリング線と Calcein による緑色のラベリング線がみられ、両骨端間隙にはラベリングされた骨細胞が多数観察され、移植骨は、対照群に比べ、早期より盛んな骨新生や骨細胞の活性を示すことがうかがわれる。

高橋によると、Tetracycline は、①骨の形成を示す場所以外にびまん性に淡い Tetracycline 像がみられる場合、②形成を示さない骨単位、骨梁の表面に Tetracycline が観察される場合 (Edge sclerosis)、③骨小腔などの腔壁に Tetracycline が一過性に付着する場合、④骨の有する自然蛍光の場合などは、骨の形成を計測する際には除外しなければならないと述べているが、本実験の場合には、組織学的にも観察された新生骨形成の部位、および広範な吸収のみられた対照群の移植骨部にラベリング像が明瞭に観察されているので、骨形成の計測には全く差しつかえないものと考えられ、Calcein についても同様に判断した。

超軟X線所見では、移植後3週目に、実験群で母床骨・移植骨間隙に新生骨を思わせるX線不透過像がみられ、一方、対照群では、移植後6週目によりやく両骨端間隙に同様のX線不透過像が認められた。

Edelstynら(1967)⁵⁹⁾、Hengstら(1967)⁶⁰⁾は、X線写真では骨のCa量が30~70%変動しないと、骨陰影像として観察されないと報告している。

したがって、X線像では組織像に比較して骨新生像が遅れて描出されるので、本実験の成績は、Edelstyn、Hengst の所見を裏付けているものと思われる。

肉眼的所見では、移植骨に動揺がみられなくなった時期は、対照群で移植後6週目、実験群で移植後4週目であり、組織学的に両群とも、母床骨・移植骨間隙が新生骨でみたされる時期と一致していた。

骨移植における骨新生は、対照群では移植後3週目において母床骨から新生骨の形成が観察されたが、移植骨断端部では移植後6週目に骨形成が認められ、この時期に母床骨と移植骨は一部連絡

している像が得られた。実験群では、移植後 2 週目で母床骨および移植骨両断端部に新生骨形成がみられ、移植後 4 週目では母床骨と移植骨はすでに連絡している像が認められた。

V. 結 論

骨移植に際して、移植骨に動・静脈血管束を導入し、移植骨の細胞動態に関しては組織所見、また導入血管の開存状態に関しては肉眼的所見、Microangiogram および透明標本 (Spalteholz 標本) により観察した。さらに骨新生に関しては、超軟 X 線写真所見、肉眼的所見、病理組織学的所見により検索を行い、つぎの結果を得た。

1. 肉眼的所見においては、対照群では、移植骨は移植後 6 週目に母床骨に生着するが、実験群では対照群より早く、移植後 4 週目に生着しているのが観察された。

2. 超軟 X 線所見では、対照群では移植後 6 週目に、母床骨と移植骨の間隙に骨組織を思わせる X 線不透過像が認められるが、実験群では移植後 3 週目にすでに、母床骨・移植骨間隙に新生骨組織を思わせる X 線不透過像が観察され、6 週目には X 線不透過度は増強されていた。

3. Tetrachrome 染色による組織所見では、対照群は移植後 3 週目で移植骨の骨細胞の染色性の低下がみられ、移植後 4 週目には染色性は徐々に回復に向かっていった。一方、実験群では、観察した全期間を通じて移植骨の骨細胞の染色性の低下は認められなかった。

4. H-E 染色所見では、対照群において移植後 3 週目に移植骨は大部分吸収がみられ、吸収後の線維組織の中から骨芽細胞が誘導され、それによる新生骨形成がはじまり、移植後 6 週目には母床骨・移植骨間は骨性に癒合していた。一方、実験群では、移植後 2 週目に対照群に比べてわずかに骨吸収が認められるが、吸収されなかった大部分の骨梁において直接、骨芽細胞による新生骨の添加が行われ、移植後 4 週目には、母床骨と移植骨は骨性に癒合していた。

5. ラベリング所見では、対照群においては、

移植後 3 週目に母床骨断端部に Tetracycline によるラベリング線が観察されたが、移植骨断端部ではほとんど認められなかった。移植後 4 週目では、母床骨断端部に Calcein による 1 本のラベリング線がみられたが、移植骨断端部ではわずかに染色されているのが認められるのみで、ラベリング線としては観察されなかった。一方、実験群では、移植後 3 週目に母床骨および移植骨両断端部に Tetracycline によるラベリング線が認められ、移植後 4 週目には Tetracycline および Calcein による、2 本の明瞭なラベリング線が両断端部に観察された。

6. Microangiogram による導入血管の開存についての検索では、実験群において、移植後 1 週目に導入血管より注入した造影剤が骨髓内小血管に認められたが、この時期における Microangiogram では、導入血管の一部に、新生血管を思わせる分岐像がみられるものの、骨髓内の在来血管との吻合については不明であった。移植後 3 週目では、導入血管と骨髓内 в 来血管との吻合を思わせる所見が観察された。また、移植後 6 週目の透明標本では、移植骨に導入された血管は、移植骨骨髓内の在来血管と吻合した新生血管を思わせる像が観察され、移植後 12 週目の透明標本では、移植骨に導入された血管から多数の血管が新生している像が認められた。

以上により、骨移植に際して、移植骨に動・静脈血管束の導入を行えば、導入しないものに比べ、早期から血管の開存が得られ、母床骨断端部のみならず移植骨断端部からの新生骨形成が促進され、早期より新生骨による骨癒合が行われていることが判明した。

したがって、本手術手技は臨床的応用に極めて有用であることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるに当たり、終始ご懇篤なるご指導とご校閲を賜った塩田重利教授、ならびにご校閲を賜った第 2 口腔外科学教室榎本昭二教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本研究に際し、終始ご懇切なるご教

示, ご指導いただいた橋本賢二講師に衷心より感謝の意を表するとともに, 本研究の遂行に当たり, 種々のご協力, ご鞭撻下さった大西正俊助教授ならびに大分医科大学歯科口腔外科清水正嗣教授に心から感謝いたします。またご理解とご協力をいただいた第1口腔外科学教室第5研究室の諸氏ならびに教室員各位に心から謝意を表します。

なお, 本論文の一部は, 第35回日本口腔科学会総会(昭和56年6月・東京)において口演発表した。

文 献

- 1) 杉岡洋一, 江口正雄: 骨移植—その適応と手技のポイント—. 災害医学, 20: 49-59, 1977.
- 2) Blair, V. P.: Surgery and Disease of the Mouth and Jaws. St. Louis, 1918, C. V. Mosby, pp. 269-273.
- 3) Snyder, C. C., et al.: Mandibulo-facial restoration with live osteocutaneous flaps. Plast. Reconstr. Surg., 45: 14-19, 1970.
- 4) Dabis, J. B., et al.: Muscle-Pedicle Bone graft in hip fusion. J. Bone Joint Surg., 53-A: 1645-1647, 1971.
- 5) Strauch, B., Bloomberg, A. E., et al.: Effect of anticoagulant therapy on bone repair. J. Bone Joint Surg., 38-A: 270-276, 1956.
- 6) Östrup, L. T. and Fredrickson, J. M.: Distant transfer of a free living bone graft by microvascular anastomoses. Plast. Reconstr. Surg., 54: 274-285, 1974.
- 7) McKee, D.: Immediate reconstruction of mandible in tumor surgery. South M. J., 54: 620-623, 1961.
- 8) Tayler, I., et al.: The free vascularized bone graft. Plast. Reconstr. Surg., 55: 533-544, 1975.
- 9) 土井一輝: 微小血管吻合による遊離血管柄付骨移植の実験的研究. 日整会誌, 51: 1375-1386, 1977.
- 10) 藤巻有久: 骨欠損部に対する血管柄付骨移植. 災害医学, 20: 537-542, 1977.
- 11) 生田義和, 他: 血管柄付遊離骨移植の手技とその問題点. 災害医学, 21: 1131-1140, 1978.
- 12) 保利喜英, 他: 骨組織への血管移植. 日整会誌, 52: 25-44, 1978.
- 13) Barone, R., et al. (望月公子訳): 兎の解剖図譜. 東京, 1977, 学窓社, 142-198ページ.
- 14) 後藤澄雄: 大切片標本作製とソフテックス検査. 整形外科, 31: 303-310, 1980.
- 15) 辻 陽雄: Microangiography. 臨整外, 5: 117-124, 1970.
- 16) Culling, C. F. A.: Handbook of Histopathological Techniques, 2nd., London, 1963, Butterworth, pp. 437-439.
- 17) Phemister, D. B.: The fate of transplanted bone and regenerative bone transplants. Clin. Orthop., 87: 27-31, 1972.
- 18) Trueta, J., Morgan, J. D.: The vascular contribution to osteogenesis. I. Studies by the injection method. J. Bone Joint Surg., 42-B: 97-109, 1960.
- 19) Trueta, J.: The vascular contribution to osteogenesis. II. Studies with the electron microscope. J. Bone Joint Surg., 42-B: 367-376, 1960.
- 20) Trueta, J.: The role of the vessels in osteogenesis. J. Bone Joint Surg., 45-B: 402-418, 1963.
- 21) Stringa, G.: Studies of the vascularization of bone grafts, J. Bone Joint Surg., 39-B: 395-420, 1957.
- 22) Rhinelander, F. W.: Tibial blood supply in relation to fracture healing. Clin. Orthop., 105: 34-39, 1974.
- 23) Hellistadius, A.: On the ability of bone tissue to survive in pedicle bone graft. Acta Chir. Scand., 86: 85-86, 1942.
- 24) Davis, J. B. and Taylor, A. N.: Muscle pedicle bone grafts: Experimental study, Arch. Surg., 65: 330-336, 1952.
- 25) 倉田陽太郎: 筋柄骨移植に関する実験的研究. 日整会誌, 31: 348-349, 1957.
- 26) Degen, I. L.: Modelling and transfer of composite bone autograft in a tubed flap an experiment. Acta. Chir. Plast., 12: 133-138, 1970.
- 27) Conley, J.: Use of composite flaps containing bone for major repairs in the head and neck, Plast. Reconstr. Surg., 49: 522-526, 1972.
- 28) Finseth, F., et al.: Composite groin flap with iliac-bone flap for primary thumb reconstruction. J. Bone Joint Surg., 58-A: 130-132, 1976.
- 29) Strauch, B., et al.: An Experimental approach to mandibular replacement: island vascular composite rib grafts. Brit. J. Plast. Surg., 24: 334-337, 1971.
- 30) Woodhouse, C. F.: The transplantation of patent arteries to bone, J. Internat. College of Surgeons, 39: 437-446, 1963.
- 31) Dickerson, R. C. and Duthie, R. B.: The diversion of arterial blood flow to bone. J. Bone Joint Surg., 45-A: 356-364, 1963.
- 32) Dickerson, R. C.: The diversion of arterial blood flow to growing bone. Surg. Gynecol. Obstet., 123: 103-110, 1966.

- 33) Dickerson, R. C.: An improved method for diversion of arterial blood flow to bone. *J. Bone Joint Surg.*, 50-A: 1036-1039, 1968.
- 34) Boyd, R. J. and Ault, L. L.: An experimental study of vascular implantation into femoral head. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 121: 1009-1014, 1965.
- 35) Torto, U. D. and Zannini, G.: Technic for arterial transplants into the growing distal epiphysis of femur. *Int. Surg.*, 47: 362-370, 1967.
- 36) Barth, A.: Histologisch Untersuchungen über Knochenimplantation. *Beitrage Pathol. Anat. u. Allgemeinen Pathol.*, 17: 65-71, 1895.
- 37) Barth, A.: Über Osteoplastik. *Arch. Klin. Chir.*, 86: 859-860, 1908.
- 38) 朝倉昭人: 頸部冷凍骨架橋移植に関する実験的研究. 口病誌, 29: 281-303, 1962.
- 39) Mayer, L. and Wehner, E.: An experimental study of osteogenesis. *Amer. J. Orthosurg.*, 12: 213-217, 1954.
- 40) 山口 勝: 家兎における骨移植の実験的研究 [I]. 口科誌, 8: 593-614, 1959.
- 41) Matti, H.: Ueber freie Transplantation von Knochenspongiosa. *Arch. Chir.*, 168: 236-238, 1931.
- 42) 河村謙二: 骨移植. 東京, 1955, 医学書院, 35-38ページ.
- 43) Villanueva, A. R., et al.: A tetrachrome stain for fresh, mineralized bone sections, useful in the diagnosis of bone disease. *Stain Techn.*, 39: 87-94, 1964.
- 44) Villanueva, A. R., et al.: Cortical bone dynamics measured by means of tetracycline labeling in 21 cases of osteoporosis. *J. Lab. Clin. Med.*, 68: 599-616, 1966.
- 45) 高橋栄明: 骨動態 (Bone Dynamics) の組織学的検査法・第2次骨単位を中心として. 臨整外, 4: 63-72, 1969.
- 46) Rosingh, H. B. and James, J.: Early phases of avascular necrosis of the femoral head in rabbits. *J. Bone Joint Surg.*, 51-B: 165-174, 1969.
- 47) Heiple, G. K., et al.: A comparative study of the healing process following different types of bone transplantation. *J. Bone Joint Surg.*, 45-A: 1593-1616, 1963.
- 48) 嘉村健次郎: 人胎児下顎骨の血管分布機構に関する研究. 久留米医誌, 22: 3497-3518, 1959.
- 49) 斎藤志郎: 煮沸自家骨移植に関する実験的研究, 第一編, 煮沸自家骨移植と各種骨移植との比較について. 口科誌, 10: 49-66, 1961.
- 50) 清水博文: 骨移植に関する実験的研究. 日口外誌, 14: 2-16, 1968.
- 51) 岡田正弘, 三村 仁: 鉛塩=依ル骨及ビ歯牙組織新生化灰部位生体染色法. 口病誌, 11: 365-366, 1937.
- 52) 布施貞夫, 松田 登: 錯酸鉛による硬組織の生体染色法. 歯界展望, 15: 297-302, 541-546, 649-651, 863-867, 1958.
- 53) Milch, R. A. and Rall, D. P., et al.: Bone localization of the tetracyclines. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 19: 87-93, 1957.
- 54) Hulth, A. and Olernd, S.: Tetracycline labelling of growing bones. *Acta. Toc. Med. Uppsaliaen*, 67: 221-231, 1962.
- 55) Urist, M. R. and Ibsen, K. H.: Chemical reactivity of mineralized tissue with oxytetracycline. *Arch. Path.*, 76: 484-495, 1963.
- 56) Steendijk, R.: Studies on the mechanism of the fixation of the tetracyclines to bone, from bone and tooth. *M. J. J. Blukwood. Pergamon pres, Oxford*, 1964, pp. 49-63.
- 57) 須賀照一: 硬組織と Tetracycline. 歯学, 53: 1-143, 1965.
- 58) Kariyama, M. and Akai, M., et al.: Three-colour fluorescent labelling method for calcified tissues in a reptile, *Caiman Crocodilus*. *Arch-soral biol.*, 14: 1349-1350, 1969.
- 59) Edelstyn, G. A., et al.: The radiological demonstration of osseous metastases. *Experimental observation, Clin Radiol*, 18: 158-161, 1967.
- 60) Hengst, W. and Ohe, M.: Tumorfrik-lokalisation im Skelet mit Strontium-85. *Fortshr Röntgenstr*, 106: 728, 1967.

付図記号説明

H: 母床骨, T: 移植骨, N: 新生骨, V: 導入血管束, Nc: 新生血管, Ob: 骨芽細胞, Tc: Tetracycline によるラベリング線, Cal: Calcein によるラベリング線

- 図4 実験群3日目の組織像
母床骨と移植骨の間隙には多くの血管が観察され、血管の周囲には小円形細胞の浸潤がみられる（H-E染色，×60）
- 図5 実験群1週目の組織像
母床骨と移植骨の間隙には小円形細胞の浸潤がみられるが、線維素の析出も多く観察される（H-E染色，×67）
- 図6 実験群1週目の組織像
導入血管より注入した造影剤が、移植骨骨髓内の小血管内（←）にも観察される（H-E染色，×40）
- 図7 実験群1週目の Microangiogram 像
導入血管がみられ、新生血管を思わせる所見（⇐ Nc）が観察される
- 図8 対照群2週目の肉眼的所見
母床骨と移植骨の境界は明瞭である
- 図9 実験群2週目の組織像
母床骨および移植骨断端部に骨芽細胞がみられる（H-E染色，×67）
- 図10 実験群3週目の肉眼的所見
母床骨および移植骨は線維性に癒着している
- 図11 実験群3週目の超軟X線像
母床骨と移植骨の間隙にはX線不透過像がみられる
- 図12 対照群3週目の組織像
母床骨断端部に新生骨が観察される（H-E染色，×65）
- 図13 実験群3週目の組織像
母床骨および移植骨両断端部に新生骨が観察される（H-E染色，×65）
- 図14 対照群3週目の非脱灰標本
移植骨の骨細胞は染色性の低下がみられる（Tetrachrome染色，×65）
- 図15 実験群3週目の非脱灰標本
母床骨と移植骨間の新生骨形成は盛んである（Tetrachrome染色，×65）
- 図16 対照群3週目のラベリング像
母床骨断端部に Tetracycline による黄色のラベリング線がみられる（×67）
- 図17 実験群3週目の蛍光顕微鏡像
母床骨および移植骨断端部に Tetracycline による黄色のラベリング線がみられる（×67）
- 図18 実験群3週目の Microangiogram 像
導入血管から新生血管（⇐ Nc）と思われる像が分岐し、骨髓内血管との吻合と思われる部位（☆印）も観察される（×20）
- 図19 実験群4週目の肉眼的所見
導入血管が保存されている
- 図20 対照群4週目の組織像
母床骨断端部では新生骨形成が多くみられるが、移植骨断端部ではほとんど観察されない（H-E染色，×67）
- 図21 実験群4週目の組織像
母床骨および移植骨断端部に骨新生が多くみられ、母床骨と移植骨は一部で癒合している（H-E染色，×67）
- 図22 対照群4週目の非脱灰標本
母床骨断端部の新生骨は多量に形成されているが、移植骨断端部の新生骨はほとんどみられない
- 図23 実験群4週目の非脱灰標本
母床骨・移植骨間の新生骨形成は盛んである
- 図24 対照群4週目の蛍光顕微鏡像
母床骨断端部では Tetracycline による黄色のラベリング線、および Calcein による緑色のラベリング線の2本の線が観察されるが、移植骨断端部では、Calcein による緑色のラベリング像が帯状となって

観察される

- 図25 実験群 4 週目の蛍光顕微鏡像
母床骨および移植骨断端部では Tetracycline による黄色の ラベリング線, および Calcein による緑色のラベリング線が観察される
- 図26 対照群 6 週目の肉眼的所見
移植骨は母床骨と骨性に癒合している
- 図27 実験群 6 週目の超軟X線像
母床骨と移植骨間隙は不透過像で占められている
- 図28 対照群 6 週目の組織像
母床骨と移植骨は骨性に癒合している (H-E 染色, $\times 67$)
- 図29 実験群 6 週目の組織像
新生骨には骨緻密化がみられる (H-E 染色, $\times 67$)
- 図30 実験群 8 週目の肉眼所見
母床骨と移植骨の境界はほとんど判別不可能である
- 図31 実験群 8 週目の肉眼的所見
移植骨に導入した血管束は健在である
- 図32 実験群 8 週目の超軟X線像
母床骨・移植骨間隙は不透過像で占められている
- 図33 対照群 8 週目の組織像
母床骨・移植骨間は新生骨で占められている (H-E 染色, $\times 67$)
- 図34 実験群 8 週目の組織像
母床骨・移植骨間の新生骨は緻密骨化している (H-E 染色, $\times 67$)
- 図35 実験群 8 週目の透明標本
導入血管からの新生血管 ($\leftarrow$ Nc) がみられる
- 図36 実験群12週目の組織像
新生骨は緻密骨化している (H-E 染色, $\times 67$)
- 図37 実験群12週目の透明標本
導入血管から分岐している新生血管 ($\leftarrow$ Nc) が多数観察される

図 4

図 7

図 5

図 8

図 6

図 9

図10

図13

図11

図14

図12

図15

図16

図19

図17

図20

図18

図21

図22

図25

図23

図26

図24

図27

図28

図31

図29

図32

図30

図33

図34

図36

図35

図37