

骨再植後の血管再構築に関する実験的研究

—特に単純遊離骨と血管柄付骨の比較—

入 江 雅 之

岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座（主任：藤岡幸雄教授）

〔受付：1986年10月27日〕

抄録：下顎骨の単純遊離骨と血管柄付骨再植後における血管再構築と骨改造の様相を形態学的に比較検討した。39匹の雑種成犬の下顎骨下縁部に無または有下歯槽血管付骨片を再植した。再植後、経時的に屠殺し、墨汁注入透明、H.E.、血管鑄型の各標本の作製ならびに血管面積率を計測した。単純遊離骨群の海绵骨部では母床から再植片に向かって新生血管が侵入、増殖し、その後に微小血管網を形成しつつ骨梁に沿って新生骨を形成した。しかし、緻密骨部では骨髓側とフォルクマン管、ついで接合部からの血管新生に続いて骨新生が行われ、その後は両骨部とも漸次、血管再構築、骨改造および骨性癒合への過程が進行した。一方、血管柄付骨群では母床と再植片の既存血管が利用され、より早期に上記の過程が進行した。血管面積率は単純遊離骨群では7または14日目までは著しい低値を示したが、血管柄付骨群では1または7日目においても一定の値が保たれ、以後は正常下顎骨の値に近づいた。血管再構築と骨改造への過程は緻密骨部に比べ海绵骨部が、また単純遊離骨群に比べ血管柄付骨群が時間的に早く、量的に多い傾向にあった。

Key words : vascularized bone, angioarchitecture, bone graft, vascular casts.

緒 言

従来、口腔外科領域における外傷、腫瘍、嚢胞などの手術後の骨欠損に対する修復、再建は欠損の大きさや範囲に応じて種々の方法が用いられてきた。しかしながら、悪性腫瘍切除後には広範囲の軟組織欠損を伴ったり、また放射線治療後や二次再建時には血行不良な癒痕組織が多いために、これまでの緻密骨を主体とした単純遊離骨移植による下顎骨再建では、術後に感染などの合併症をきたしやすく、成功率はきわめて低い^{1, 2)}。これに対し、骨皮弁³⁾および筋骨皮弁⁴⁾は上記の移植条件の不良な部位においても移植骨への血行を保持した状態で移植でき、成功率が高い。さらに、最近では microsurgery

を用いた血管柄付遊離骨移植^{5, 6)}が下顎骨再建に応用される傾向にある。

近年、このような皺勢から血管柄付遊離骨移植後の治癒過程に関する組織学的研究が行われている⁷⁻¹²⁾。しかしながら、移植骨の血行^{12, 14)}や血管再構築ならびに骨改造への過程に関する追求はきわめて少なく、とくに下顎骨再建に関連したこの種の報告はみられない。

そこで、血管柄付遊離骨移植の実験モデルとして、犬の下顎骨下縁部に下歯槽動静脈を含んだ血管柄付骨片とこれを含まない単純遊離骨片とを各々左右側に再植した。その後、経日的に血管内注入標本作製し、これら再植片の血管再構築および骨改造の過程を光顕的、走査電顕的ならびに血管面積率の計測値から比較検討し

An experimental study on the angioarchitecture of rerafted bone tissue : a comparison between free and vascularized bone tissue.

Masayuki IRIE

(Department of Oral Surgery I, 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. 11 : 291-315, 1986

2) 血管柄付骨再植群

単純遊離骨再植群とは反対側の下顎骨下縁に同様の皮膚切開を加え、下歯槽管内容物を残して骨削した。ついで、末梢側断端部の下歯槽管内容物を3-0絹糸を用いて結紮、切離した。中枢側断端部の下歯槽管内容物はそのまま保存し、血管柄付骨片を同部に再植した (Fig. 1 b)。

3) 再植後の処置

両群とも術後1週間はセフェム系抗生物質 (ケフロジン100mg/kg) を筋肉注射し、感染予防に努めた。なお、感染、骨折などの合併症をきたした6例は実験対象から除外した。再植後1日目、3日目、7日目、14日目、30日目、90日目、180日目ごとに血管内注入材を注入してから屠殺した (Table 1)。

3. 血管内注入法

全身麻酔下 (ネブタール0.5ml/kg) で左右総頸動脈および外頸静脈を剖出した後、静脈内留置針を左右総頸動脈に挿入して、ヘパリン加生食水 (ヘパリン/生食=10単位/ml) にて約20分間灌流し、外頸静脈より瀉血した。生食灌流後、左右同時に手圧で墨汁を約100mlずつ注入しながら灌流した。ついで、外頸静脈を結紮し、さらに墨汁を100mlずつ注入した後、

ただちに左右総頸動脈を結紮した。血管鋳型注入材 (大日本インキ社製 Mercocox blue) の注入も墨汁注入と同様の手技で行った。

4. 標本の作製および観察方法

墨汁注入後に断頭し、10%中性ホルマリンにて固定を3週間行い、プランク・リクロ液により脱灰して、5%硫酸ナトリウム水溶液で中和し、水洗、脱水後に通法に従ってツェロイジンに包埋した。包埋ブロックは下歯槽動脈が水平になるように設定して、近遠心方向に200μ厚で薄切し透明標本用とした。一部10μ厚のH.E.標本用切片を作製した。透明標本は再植片と母床との血管構築の過程を、またH.E.標本では組織像を光学顕微鏡下で観察した。

血管鋳型材注入後は室温で乾燥を防ぎながら数時間放置後に断頭して下顎骨を取り出し、10% KOH 溶液で1~2日間軟組織を腐蝕させ、湯洗後に実体顕微鏡下で骨表面の血管を観察した。その後5~10%のHClで骨を溶解した。水洗後、試料の凍結乾燥および白金蒸着を順次に行い、骨内の血管構築を走査型電子顕微鏡 (日立 S430) 下で観察した。

5. 血管面積率の計測

透明標本の血管面積率は画像解析装置 (IBAS

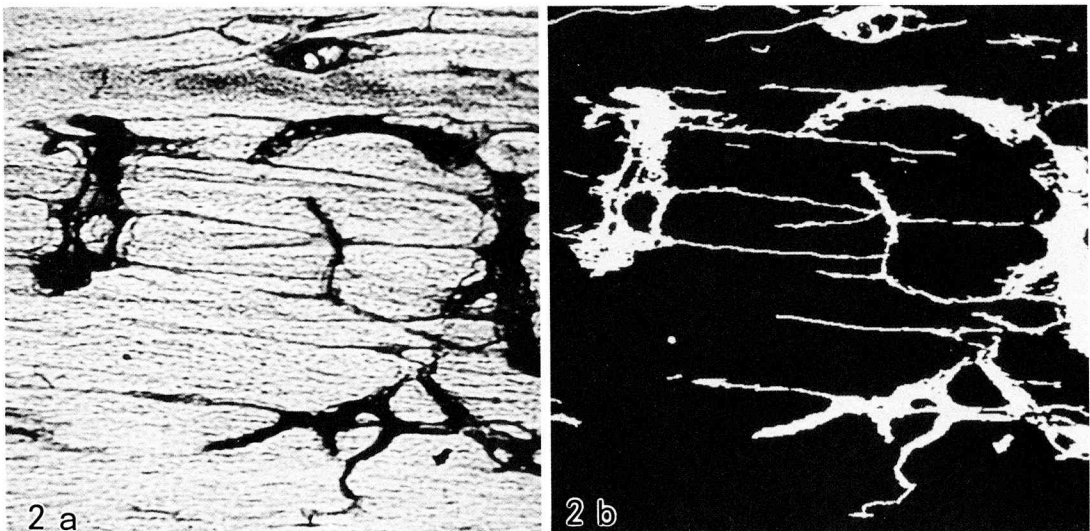


Fig. 2 Two typical pictures of the India ink preparation before (a) and after (b) analyzing the vascular level of the regrafted bone.

2000) を用いて計測した。なお、計測は光学顕微鏡下で画像を拡大しながら海綿骨部と緻密骨部に分けて解析した。また、画像解析に際しては画像を追加、消去できる独自のプログラムを作製し、各個体の下歯槽管を含む6枚の透明標本について単位面積あたりに血管の占める割合を計測し、その値を血管面積率とした(Fig. 2)。

実験成績

1. 正常下顎骨

1) 海綿骨および骨髓腔

墨汁注入標本：海綿骨骨梁間に骨髓腔が存在し、その骨髓腔中に細い密な網状の血管が分布していた。海綿骨には規則正しい介在層板や骨小腔が認められた (Fig. 3 a)。

血管鋳型標本：骨髓腔の血管は直径 10μ 程度の細い血管で、網状の血管叢を形成していた (Fig. 3 b)。

2) 緻密骨

墨汁注入標本：緻密骨には近遠心方向に平行に走行するハバース管とこれらをつぶフォルクマン管があり、そこには血管網が形成され、ま

た規則正しい介在層板や骨小腔がみられた。骨膜の血管は緻密骨の血管と連絡していた (Fig. 4 a)。

血管鋳型標本：緻密骨には下歯槽血管より分岐した $50\sim 100\mu$ 程度の血管がフォルクマン管を経てハバース管に入り互いに連絡していた (Fig. 4 b)。

2. 単純遊離骨再植群

1) 再植後1日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：母床の海綿骨断端部にわずかに血管から漏出したと思われる墨汁のうっ滞像がみられたが、再植片内には血管はみられなかった。

血管鋳型標本：母床と再植片の接合部付近に断端がカリフラワー状の血管の挫滅を思わせる像がみられたが、再植片内には血管像はみられなかった。

(2) 組織像

母床と再植片の接合部および下歯槽管部には著明な出血巣がみられた。母床と再植片の接合部付近の海綿骨および緻密骨では骨細胞の核の

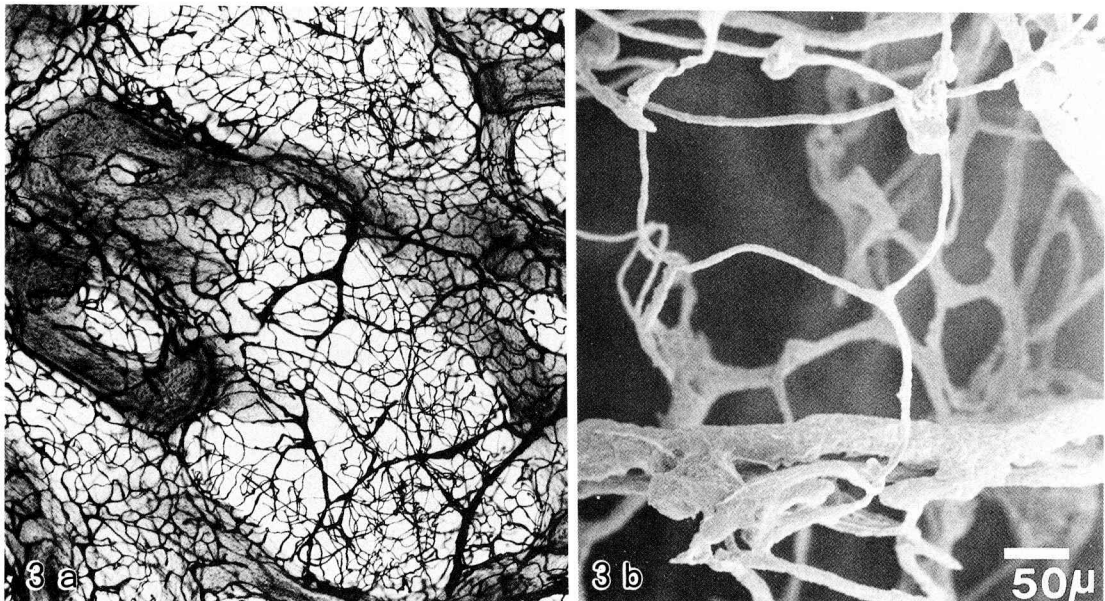


Fig. 3 Ring-like vascular pattern in the spongy area of the normal mandible. a: $\times 34$, transparent preparation of India ink. b: $\times 150$, SEM.

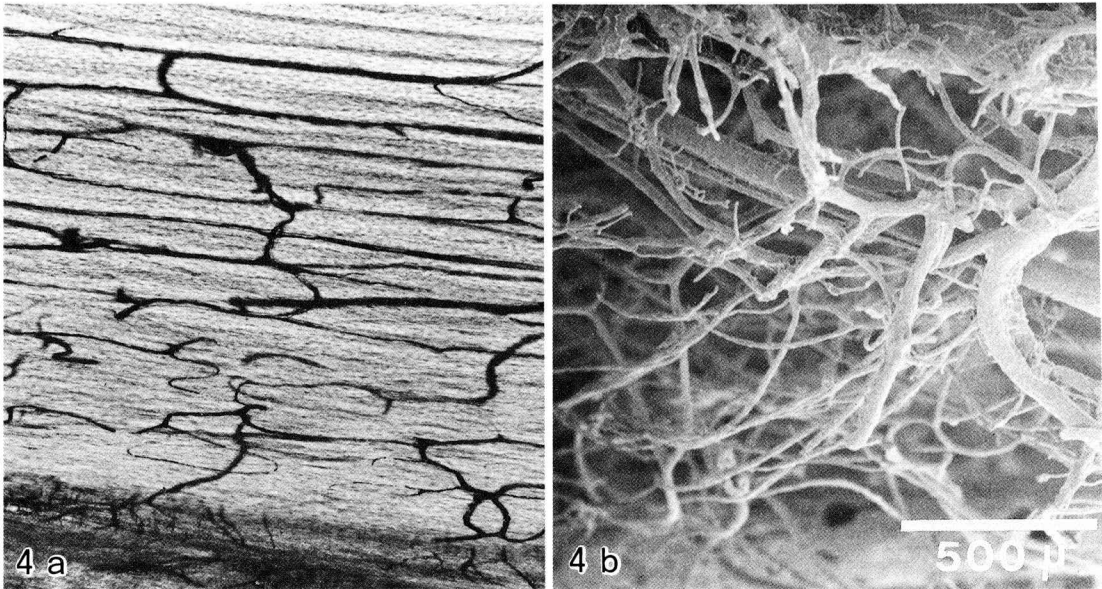


Fig. 4 Parallel vascular pattern in the compact area of the normal mandible. a : $\times 34$, transparent preparation of India ink. b : $\times 50$, SEM.

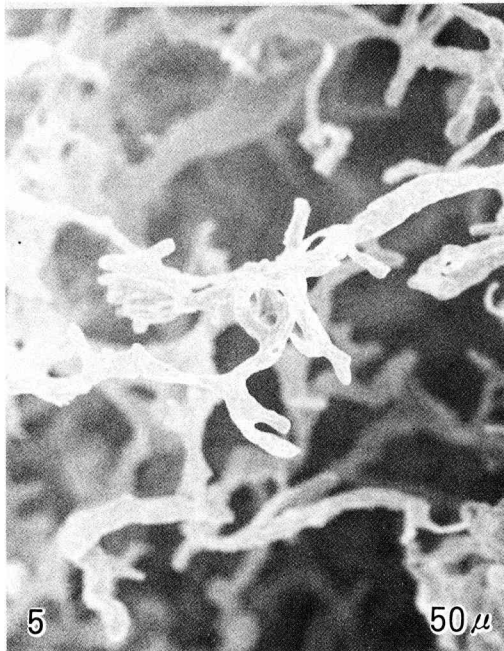


Fig. 5 A few vascular sprouts in spongy area of the recipient bone after free bone regrafting ($\times 100$, SEM).

染色性が著しく低下していたが、他の部では骨小腔中にヘマトキシリンに濃染した骨細胞の核

を認めることができた。

2) 再植後 3 日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：母床の海綿骨断端部には中枢側から歯槽側にかけてわずかに墨汁が血管から漏出したと思われる像がみられたが、再植片には依然として血管がみられなかった。

血管鋳型標本：再植片には血管像はみられなかった。しかし、母床の海綿骨部には少数の小さい血管芽像がみられた (Fig. 5)。

(2) 組織像：再植 1 日目と同様に母床と再植片の接合部全体にわたっての出血巣がみられた。

3) 再植後 7 日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：母床の海綿骨部から再植片をとりまくように、比較的密な叢状の侵入血管が増殖し、とくにそれが母床海綿骨部中枢側に著明であった。しかし、再植片内にはほとんど血管はみられなかった。また、母床と再植片の緻密骨接合部に侵入、増殖してきた肉芽組織には走行の不規則な血管が認められた (Fig. 6 a)。

血管鋳型標本：母床の海綿骨歯槽側に多数の

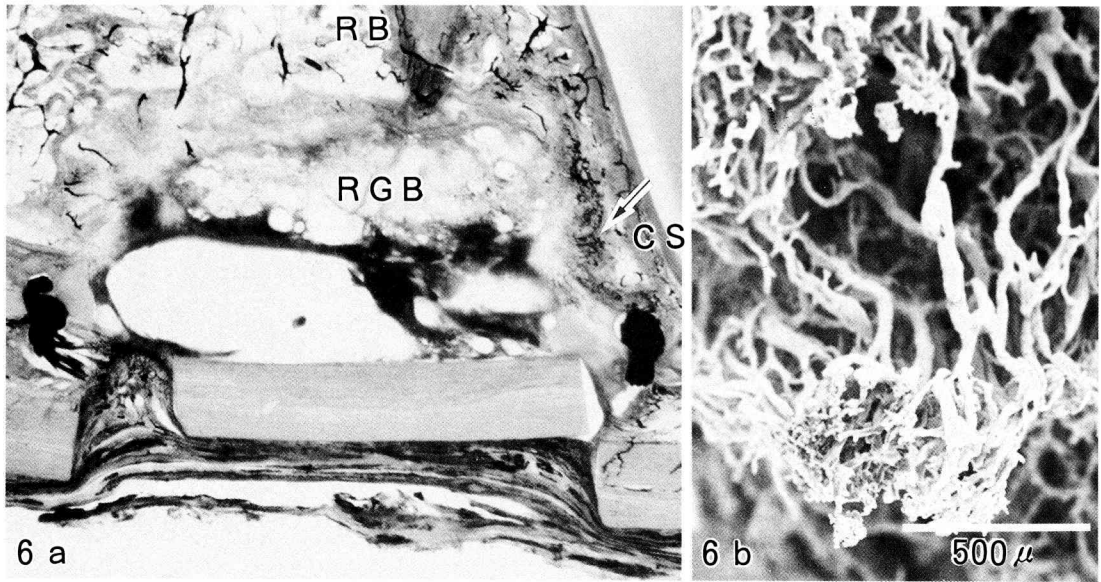


Fig. 6 Vascular pattern 7 days after regrafting of the free bone.
 a : arrow shows that blood vessels originated from central site (CS) of the recipient bone (RB) are infiltrating into the regrafted bone tissue (RGB). ($\times 5$, transparent preparation of India ink). b : irregular netlike vessels in the spongy area of the recipient bone ($\times 50$, SEM).

新生血管像および血管芽像がみられた。一方、密な太い肉芽組織の血管像もみられたが、いまだ再植片内には到達していなかった (Fig. 6 b)。

(2) 組織像

母床と再植片の接合部には幼若な肉芽組織が形成されつつあった。とくに、骨膜側より緻密骨接合部への侵入が著明であった。これら幼若な肉芽組織は下歯槽管部へも侵入していた。再植片との接合部に近い母床の緻密骨骨髓側および海綿骨部には新生血管を伴う幼若な新生骨が添加されていた (Fig. 7)。その新生骨の周囲には骨芽細胞が比較的規則正しく配列していた。再植片緻密骨部における骨細胞の核の染色性は全体的に著しく低下していた。

4) 再植後14日目

(1) 血管像

墨汁注入標本 : 比較的太い密な叢状の血管が母床海綿骨部の中樞側、歯槽側および末梢側から再植片の海綿骨部に向かって侵入していた。さらに、緻密骨接合部間では骨膜側より入り込

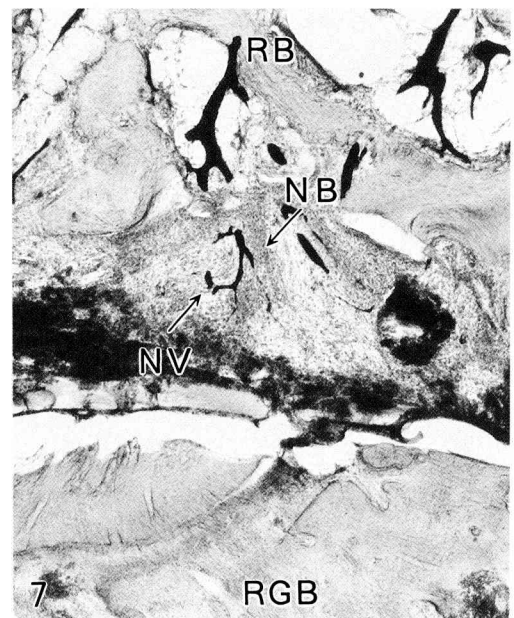


Fig. 7 New bone (NB) accompanied by the new vessels (NV) in the spongy area of the recipient bone tissue (RB) 7 days after regrafting ($\times 34$, H.E. stain) RGB : regrafted bone tissue.

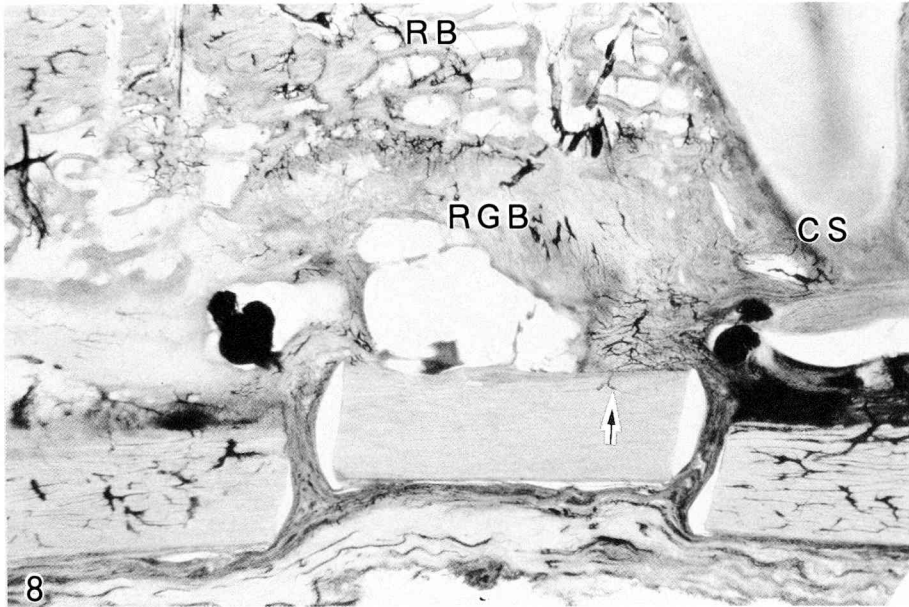


Fig. 8 Vascular pattern 14 days after free bone regrafting (× 5, transparent preparation of India ink). New vessels (arrows) from the bone marrow site are infiltrating into the compact area. RGB : regrafted bone tissue. RB : recipient bone.

んだ結合組織中に密で不規則な血管の侵入像がみられた。また、再植片緻密骨の骨髓側からフォルクマン管内に細く形態の不規則な血管がわずかに侵入していた (Fig. 8)。

血管鋳型標本：母床の海綿骨部から再植片に向かう旺盛な新生血管像がみられた。とくに、肉芽の侵入部には互いに密に連絡している網状血管像が観察された。

(2) 組織像：海綿骨部中枢側では母床から再植片に向かっての血管侵入がみられ、新生骨の形成が活発であった (Fig. 9)。これらの所見はとくに歯槽側において著明であった。新生骨の骨梁は幼若で不明瞭な部分が多く、また骨小腔中にはヘマトキシリンに濃染した核を認め、その配列は不規則であった。再植片の緻密骨部および海綿骨部にはわずかな骨吸収像と新生骨の添加像がみられた。再植片緻密骨部では骨細胞の核の染色性が著しく低下していた。

5) 再植後30日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：再植片の緻密骨部では骨膜側

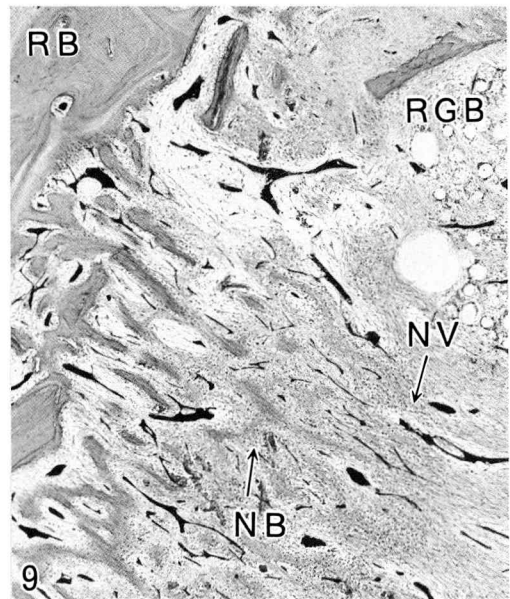


Fig. 9 Histological findings 14 days after free bone regrafting (×34, H.E. stain). New vessels (NV) originated from recipient bone (RB) are proliferating with newly formed bone (NB) into the regrafted bone tissue (RGB).

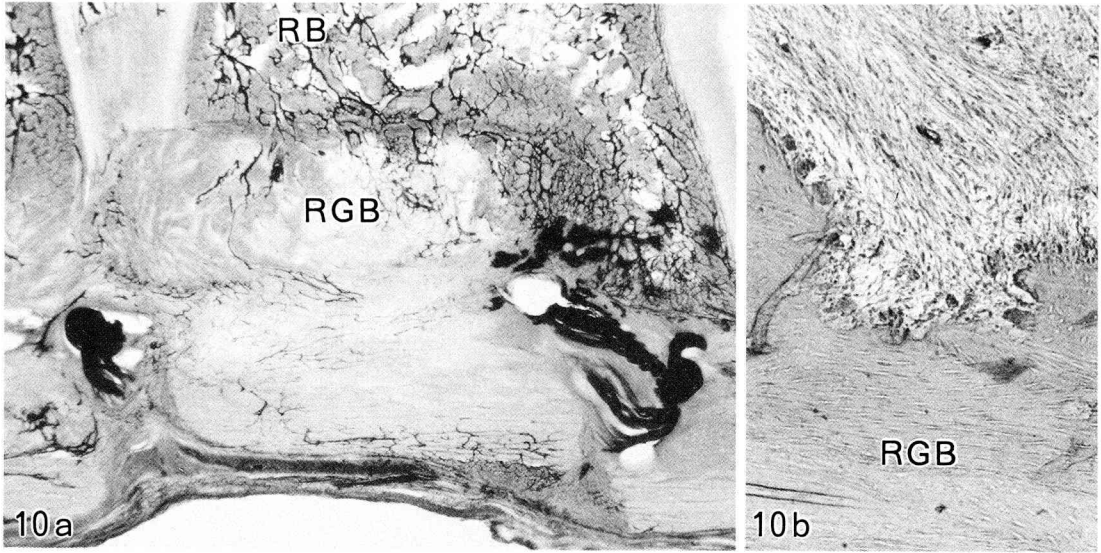


Fig.10 Findings 30 days after free bone regrafting. a : New vessels (arrow) originated from the bone marrow and the periosteum of recipient bone (RB) are infiltrating into the compact area of regrafted bone tissue (RGB). ($\times 5$, transparent preparation of India ink). b : many osteoclasts represented in the Howship lacunae ($\times 85$, H.E. stain).

と骨髓側からの比較的太い血管の侵入がみられ、これらは互いに吻合していた。再植片と母床の接合部付近では再植14日目に比べより密な太い侵入血管がみられた。しかし、母床からの侵入血管は再植片の中央部においてはまだ疎であった (Fig.10a)。

血管鑄型標本：母床の海綿骨部から再植片へ侵入する血管像はさらに旺盛となり、直径50～100 μ 程度の比較的太い像としてみられた。これらの侵入血管は分岐が多く、血管芽像も多数存在し、新生血管どうしの連絡も密であった (Fig.11)。

(2) 組織像：再植片海綿骨の新生骨は骨梁が太く明瞭となったが、骨小腔の配列は不規則で層板構造はまだ不明瞭であった。その新生骨は骨梁が不明瞭で、血管を取り囲みつつある像を呈していた。再植片の緻密骨に沿ってハウシッ窩に破骨細胞が出現し、これによる骨の吸収像がみられた。またこの部には血管の豊富な結合組織が増殖していた (Fig.10b)。

6) 再植後90日目

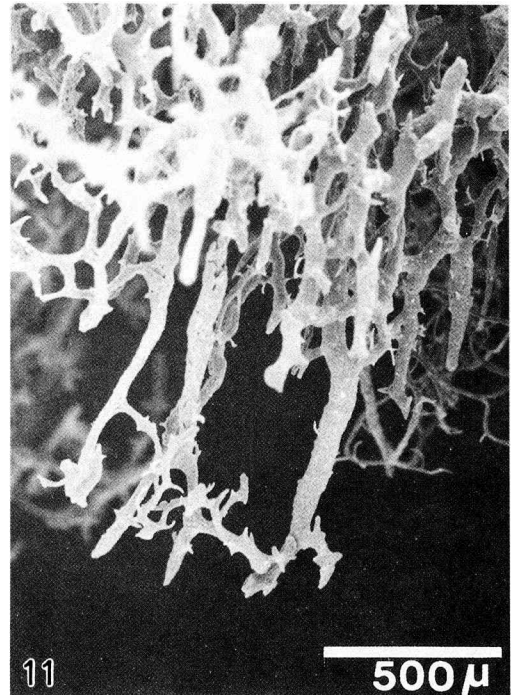
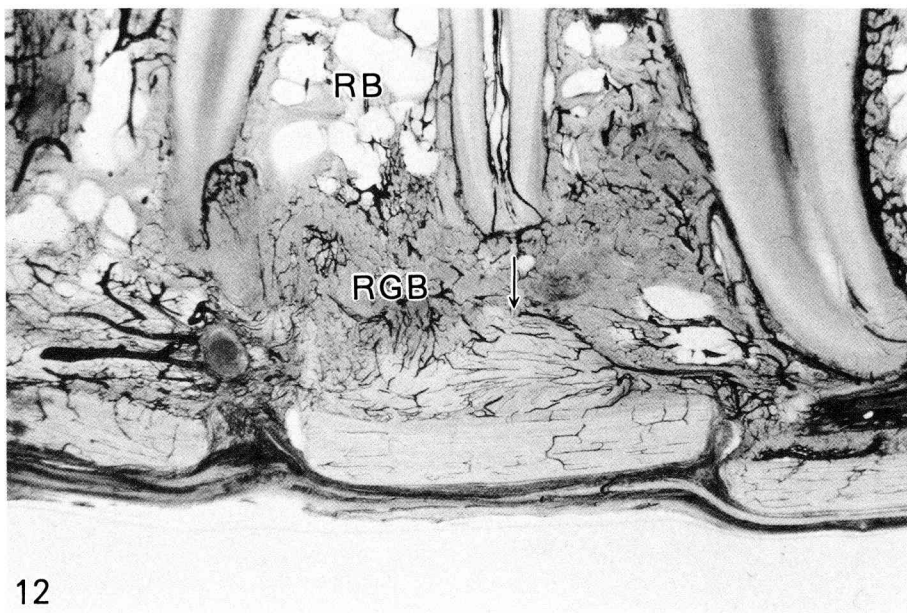


Fig.11 Thick vessels originating from the spongy area of the recipient bone infiltrate the regrafted bone tissue 30 days after free bone regrafting ($\times 50$, SEM.).



12

Fig.12 Vascular pattern 90 days after free bone re-grafting. Dense vascular network (arrow) in the spongy and compact areas of re-grafted bone tissue (RGB) (x5, transparent preparation of India ink). RB : recipient bone.

(1) 血管像

墨汁注入標本：再植片海綿骨部の下歯槽管相当部にも、比較的太い血管が母床の中枢側および末梢側から侵入し、中央部で吻合しつあった。なお、末梢側に比べ中枢側からの血管侵入が優勢であった。母床の海綿骨部歯槽側と緻密骨部では血管の太さや走行が正常下顎骨の像に近くなっていたが、再植片緻密骨部では正常下顎骨に比べ血管が全体的にやや疎であった (Fig.12)。

血管鋳型標本：再植片と母床の海綿骨部の境界には直径10 μ 程度の比較的太い密な網状血管像がみられた (Fig.13a)。しかし、再植片緻密骨部の血管は正常下顎骨に比べやや細く、疎であった (Fig.13b)。

(2) 組織像：海綿骨部では新生骨の形成によって母床と再植片の境界部が不明瞭になっていた。しかし、緻密骨部ではそれらの境界はまだ明瞭であった。海綿骨部における新生骨は骨梁が太く明瞭で、骨小腔の配列は比較的規則正しかった。再植片の緻密骨骨髓側には骨芽細胞が多数

配列し、旺盛な骨新生がみられ、その部に樹枝状の新生血管が密に分布していた (Fig.14)。

7) 再植後180日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：再植片と母床の海綿骨接合部は不明瞭となり、その境界は判然としなかった。再植片と母床には比較的細い血管が均一に規則正しく走行し、血管の分布は正常下顎骨の海綿骨部とほぼ同程度の部分もみられるようになった。再植片と母床の緻密骨接合部における血管は不明瞭となり、わずかに判別できる程度であった。この部の血管は正常下顎骨に比べて太く不規則な走行を呈し、なおも再構築の過程が進行していることを示していた (Fig.15)。

血管鋳型標本：再植片海綿骨部の血管は全体的に直径10 μ 程度の太さであり、密に網状をなしていた。再植片と母床の緻密骨接合部の血管は太く密で、走行が不規則な傾向を示していた。

(2) 組織像

再植片と母床の境界は海綿骨部および緻密骨部ともに不明瞭になっていた。しかし、再植片

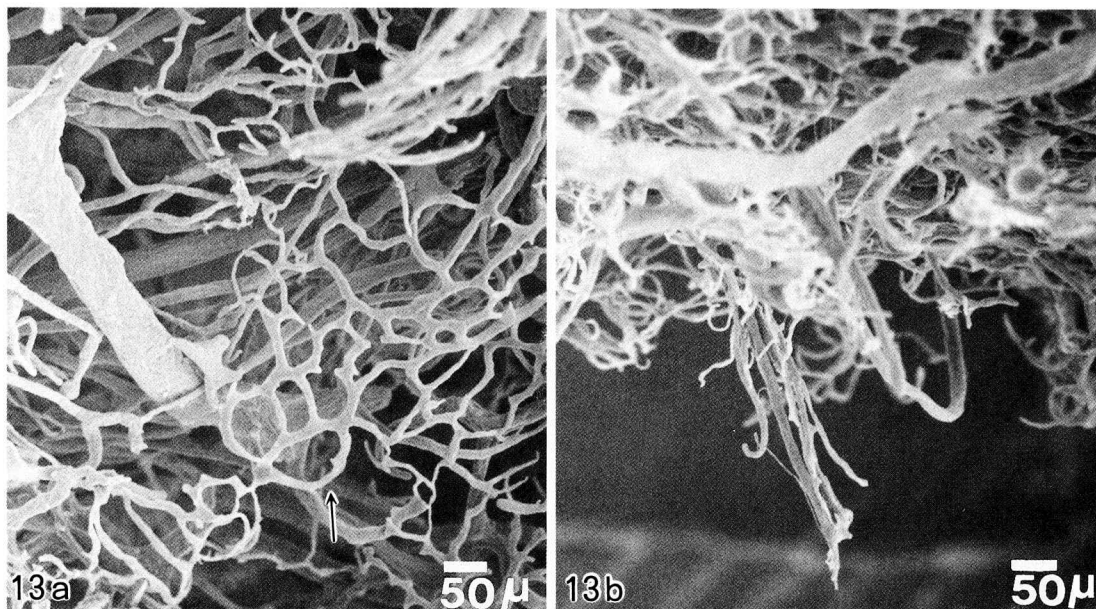


Fig.13 Findings 90 days after free bone regrafting (SEM). a : ring-like vascular pattern (arrow) in the spongy area of regrafted bone tissue ($\times 100$). b : comparatively thin vessels in the compact area of regrafted bone tissue ($\times 100$).

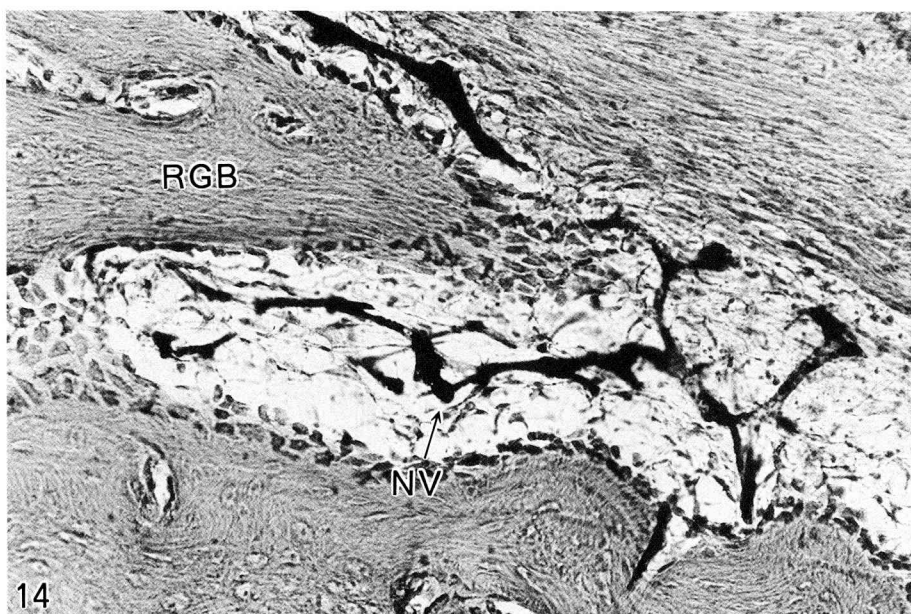


Fig.14 Histological findings of the free bone after 90 days ($\times 170$, H.E. stain). Many osteoblasts are represent along the regrafted bone tissue close to new vessels (NV). RGB : regrafted bone tissue.

の海綿部中央部ではやや骨梁が太く密であった。
また、再植片と母床の緻密骨接合部では太い血

管を取り囲むようにハバース管が形成されていた。
この部のハバース管は太く多数存在し、骨

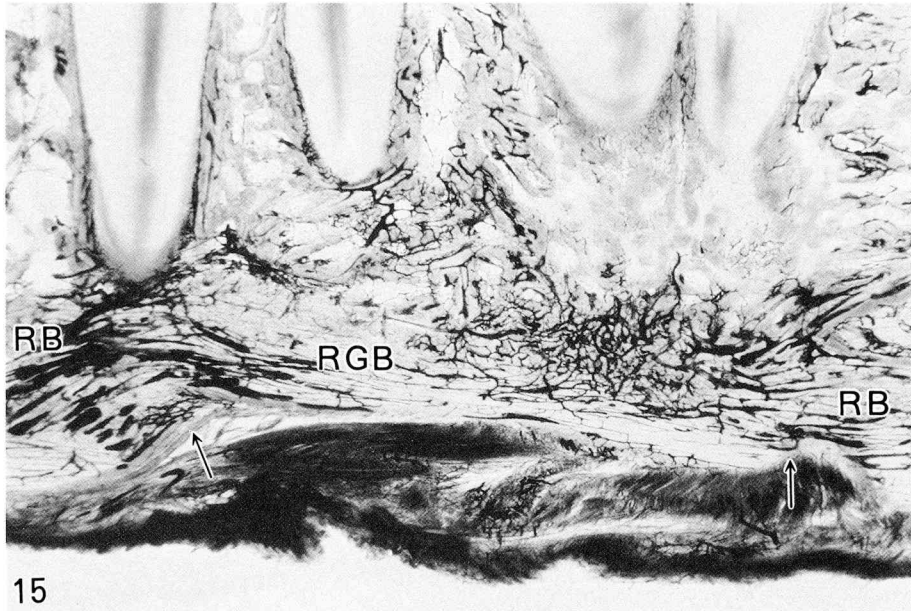


Fig.15 Vascular pattern 180 days after bone regrafting ($\times 5$, transparent preparation of India ink). The border (arrow) between regrafted bone tissue (RGB) and recipient bone (RB) is unclear, but vessels at the border are comparatively thick and angioarchitecture is approximating normal mandible tissue.

小腔の配列は規則的で層板構造を呈していた。一方、海綿骨部ではほとんどが新生骨によって置換されていた。

3. 血管柄付骨再植群

1) 再植後 1 日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：再植片の周辺部には血管像はみられず、中央部にのみみられ、かつ正常下顎骨に比べて細く疎であった。

血管鋳型標本：再植片の海綿骨部および緻密骨部には下歯槽血管から樹枝状に分布する血管像がみられたが、母床と再植片の接合部付近には全くみられなかった。また、再植片と母床の接合部付近における血管の断端はカリフラワー状の像を呈し、血管の挫滅を思わせた。

(2) 組織像

母床と再植片の接合部には全体にわたって出血像がみられた。母床と再植片の接合部付近における骨細胞の核の染色性は著しく低下していたが、中央部では核が明瞭に認められた。

2) 再植後 3 日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：1 日目同様に再植片の周辺部では血管像が疎で、また中央部では細かった (Fig.16)。

血管鋳型標本：再植片と母床の接合部付近には少数の小さい血管芽像がみられた。また、海綿骨部の歯槽側接合部付近では 10μ 程度の分岐の少ない毛細血管様像が再植片と母床を連絡していた (Fig.17a)。再植片の緻密骨部では骨髓側から走行する血管の先端にまだ血管芽像はみられなかった (Fig.17b)。

(2) 組織像

再植後 1 日目と同様に母床と再植片の接合部全体にわたって出血像がみられるのみで、再植片には骨の吸収や新生骨の添加はみられなかった。

3) 再植後 7 日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：再植片周辺部の血管は 3 日目

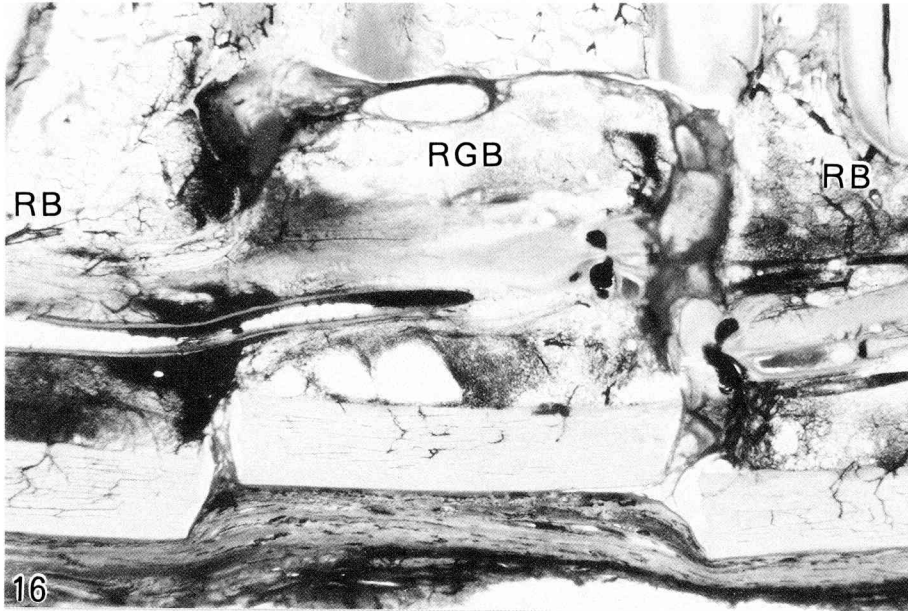


Fig.16 Vascular pattern of the vascularized bone on the 3rd day after regrafting ($\times 5$, transparent preparation of India ink). Comparatively fine vessels are present in the regrafting bone tissue (RGB). RB : recipient bone.

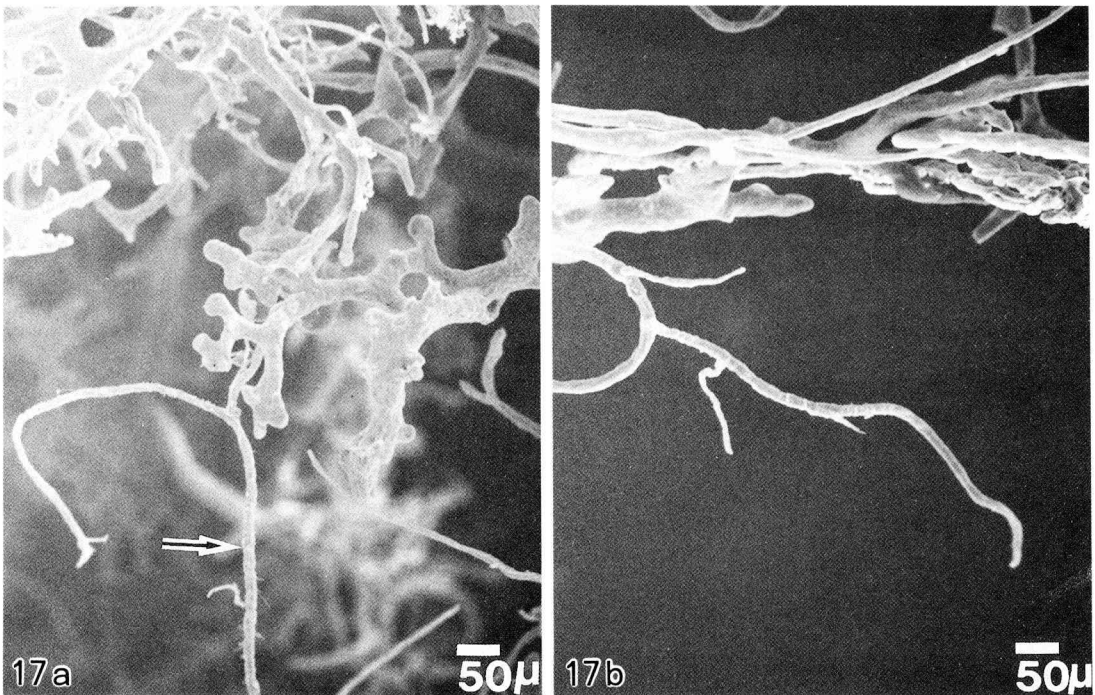


Fig.17 Vascularized bone on the 3rd day after regrafting (SEM). a : capillary anastomoses (arrow) between regrafted and recipient bone tissues ($\times 100$). b : old vessels of the compact area ($\times 100$).

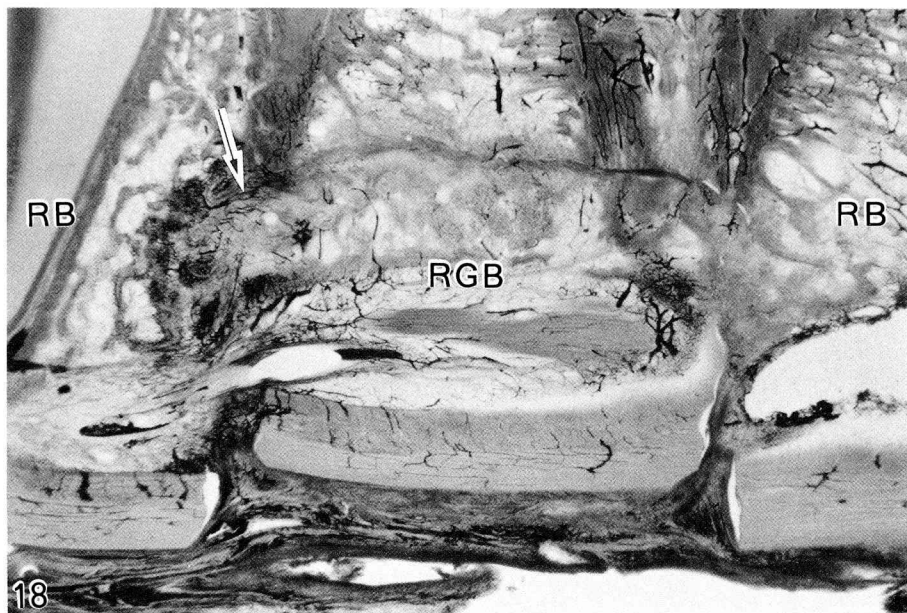


Fig. 18 Vascular pattern of the vascularized bone after 7 days ($\times 5$, transparent preparation of India ink). Dense anastomoses of the vessels (arrow) between regrafted bone tissues (RGB) and recipient bone (RB).



Fig. 19 Numerous newly formed vessels protruding in the regrafted bone tissue after 7 days ($\times 50$, SEM).

に比べてやや多く、また再植片中央部ではそれがやや太くなっていた。下歯槽血管を中心とした放射状の血管が母床との接合部に向かって伸びていた (Fig. 18)。

血管鋳型標本：再植片と母床の海綿骨接合部付近には多数の新生血管像および血管芽像がみられ、3日目に観察された直径 10μ 程度の分岐の少ない吻合血管像が増加していた (Fig. 19)。緻密骨部の血管にはいまだ血管芽像はみられず、また骨膜側の血管像は疎であった。

(2) 組織像

母床と再植片の接合部には幼若な肉芽組織の形成があり、とくに緻密骨接合部では著しかった。母床の緻密骨骨髓側、母床と再植片の海綿骨接合部、再植片の緻密骨骨髓側などに、比較的太い血管が密に分布し、新生骨が添加されていた (Fig. 20)。新生骨の骨梁は不明瞭で、骨小腔の配列は不規則であった。再植片の緻密骨骨髓側には下歯槽血管から分岐した樹枝状の血管が密に分布し、新生骨の添加とフォルクマン管を中心としたわずかな骨の吸収像がみられた

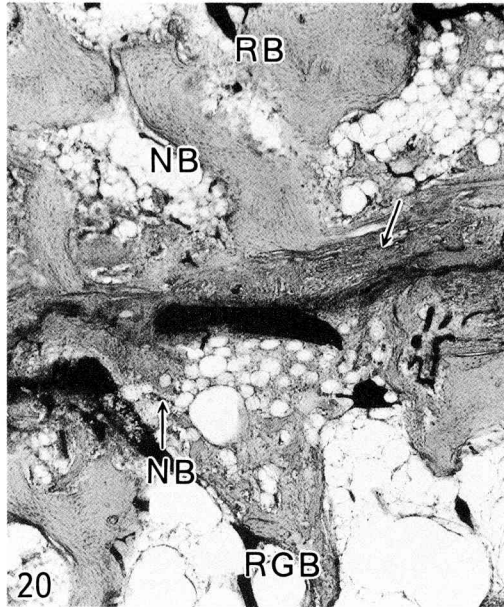


Fig.20 Histological findings on the conjunction (arrow) of the spongy area between recipient bone (RB) and regrafted bone tissue (RGB) on the 7th day after vascularized bone regrafting ($\times 34$, H.E. stain). New bone (NB) formed new vessels in both sites.

(Fig. 21)。

4) 再植後14日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：再植片全体に正常下顎骨と比べて太く密な叢状血管がみられ、とくに再植片と母床の接合部付近では著明であった。再植片の緻密骨には周囲結合組織から侵入したと思われる多数の血管が分布していた。母床海綿骨部でも再植片を取り囲むように太く密な叢状血管が分布し、これらは互いに密に吻合していた (Fig. 22)。

血管鋳型標本：再植片全体に密な血管像が張り巡らされていた。再植片と母床の海綿骨接合部では直径 $50\sim 100\mu$ 程度の比較的太い吻合血管像がみられ (Fig. 23a), さらに血管芽像のほかに真っすぐな特徴のある新生血管像が多かった。再植片緻密骨部の血管からは新生血管と思われる細く形態の不規則な像の分岐がみられ、

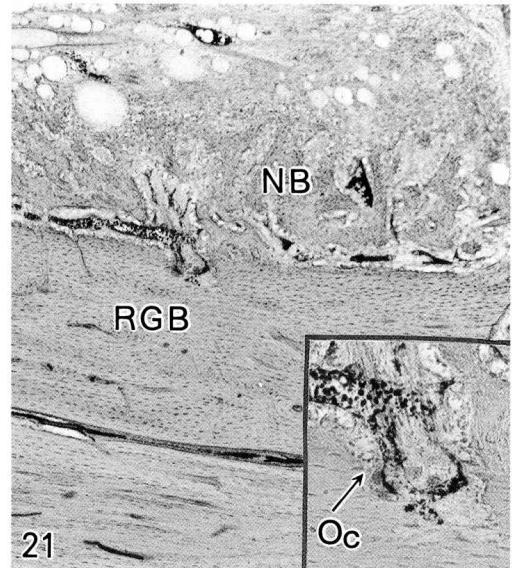


Fig.21 Histological findings on the compact area on the 7th day after vascularized bone regrafting ($\times 34$, H.E. stain). Newly formed bone (NB) along the bone marrow of compact area and a few osteoclasts (Oc) in the right corner (high magnification, $\times 85$). RGB : regrafted bone tissue.

互いの連絡が密になっていた (Fig. 23b)。

(2) 組織像

7日目とほぼ同様の部位にさらに多量の新生骨が添加されていた。新生骨はまだ骨梁が不明瞭で、骨小腔の配列も不規則であった。新生骨の添加部には血管像が多く (Fig. 24), 再植片の緻密骨部には骨の吸収と新生骨の添加が旺盛であった。再植片の海綿骨部には7日目に比べさらに多量の新生骨の添加がみられた。

5) 再植後30日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：再植片全体にわたって正常下顎骨に比べ太く密な血管が網状に分布し、とくに海綿骨部ではそれが著明であった (Fig. 25)。再植片と母床の吻合血管は14日目に比べてその数は増加し、また太さは著しく増大していた。

血管鋳型標本：再植片と母床の海綿骨接合部には直径 $50\sim 100\mu$ の密な吻合血管像がみられ、14日目に比べて太く強固なものとなっていた

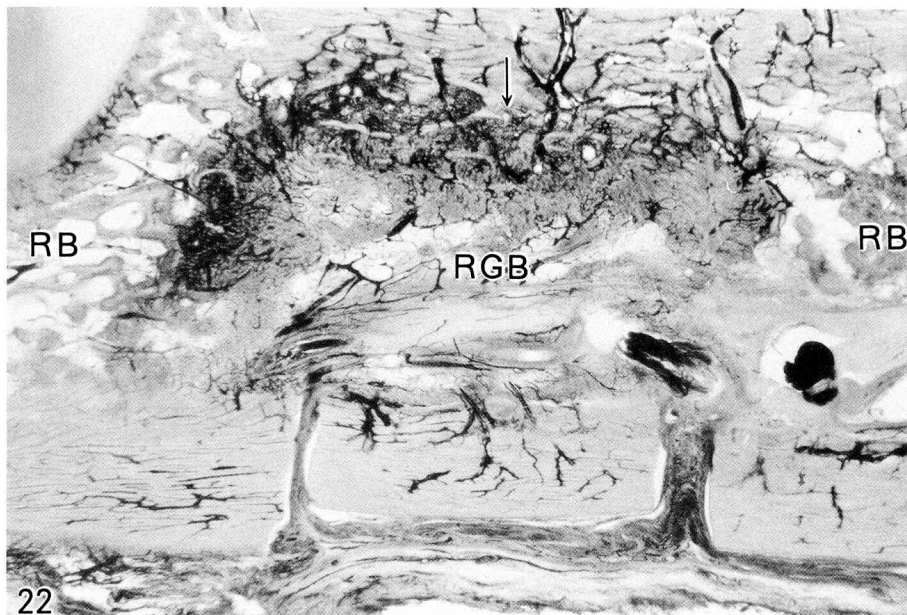


Fig.22 Vascular pattern on the 14th day after vascularized bone regrafting (×5, transparent preparation of India ink). It shows a dense network (arrow) in the conjunction of spongy area between the regrafted bone tissues (RGB) and recipient bone (RB) with anastomoses of the vessels. Vessels from the bone marrow have infiltrated the compact area.

(Fig.26a)。また、形態の不規則な類洞様血管像もみられた (Fig.26b)。再植片緻密骨部の血管は正常下顎骨のそれに近い像を呈するようになっていた。

(2) 組織像

母床の緻密骨骨髓側および母床と再植片の海綿骨接合部には多量の新生骨が形成されていた。また、緻密骨中枢側接合部には骨性癒合がみられ、かつ新生骨部の血管と母床のハバース管内を走行する血管とが吻合していた。新生骨の骨梁は比較的明瞭で太く、骨小腔の配列も一部では規則的であるが、まだ層板構造の形成には至らなかった (Fig.27)。一方、再植片では緻密骨部ならびに海綿骨部ともに骨吸収像が少なくなり、骨添加像が主体をなしていた。

6) 再植後90日目

(1) 血管像

墨汁注入標本：再植片の血管は30日目に比べて細く疎となり、走行も規則的で、かつ血管の

分布は正常下顎骨とほぼ同程度になっていた。また、再植片と母床の海綿骨接合部付近では血管が比較的太く密な網目状を呈していた (Fig.28)。

血管鑄型標本：再植片における海綿骨部の血管像は正常下顎骨のそれに類似した像になりつつあり、下歯槽動脈は再植片内で数本のやや細い血管に分岐し、末梢の下歯槽動脈との間で側副循環路を形成していた (Fig.29)。

(2) 組織像

母床と再植片の海綿骨接合部は骨梁が密で太く、骨小腔の配列は規則的で層板構造を呈していた。既存の海綿骨と添加骨との識別は困難であった。一方、再植片の緻密骨部は骨小腔の配列が規則正しく、かつ骨細胞の核の染色性が保たれていた。その骨髓側には多数の血管が分布し、新生骨が多量に添加していた (Fig.30)。

7) 再植後180日目

(1) 血管像

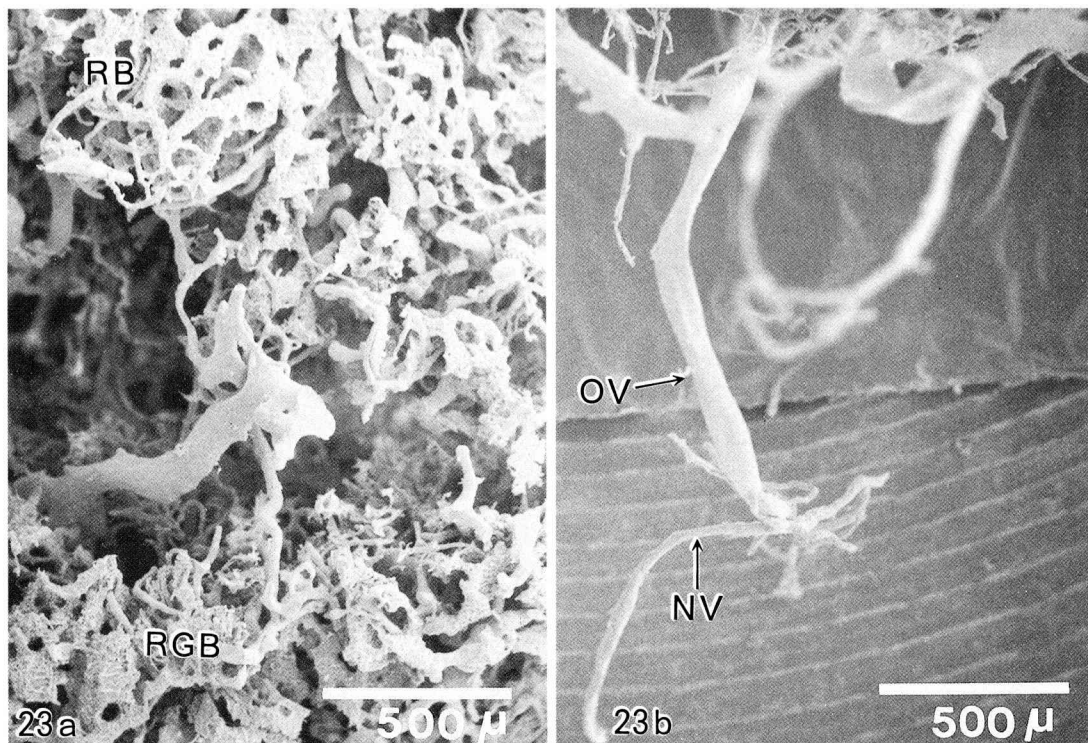


Fig.23 Vascularized bone regrafting on the 14th day. a : anastomose of vessels between regrafted bone tissues (RGB) and recipient bone (RB) b : newly vessels (NV) from old vessels (OV) ($\times 50$, SEM).

墨汁注入標本：再植片と母床の血管は太さおよび密度が正常下顎骨に類似し、分布も比較的均一で規則的になっていた。しかし、緻密骨接合部の血管は走行は規則正しいが、周囲のものに比べてやや太く密で、なお再構築の過程にあることを示していた (Fig.31)。

血管鋳型標本：再植片と母床の緻密骨接合部における血管像は正常下顎骨のものに比べてやや太い傾向があった。

(2) 組織像

再植片と母床の境界は海綿骨部ならびに緻密骨部においても判然としなくなっていた。再植片と母床の緻密骨接合部では太い血管を取り囲むようにハバース管の形成がみられた。この部ではハバース管は太く多数存在し、骨小腔の配列は規則的で層板構造が認められた。

4. 血管面積率

単純遊離骨群の海綿骨部では1日目から7日

目までは著しく低値を示したが、7日目の0.63から14日目の10.54にかけては急激に上昇した。その後、緩徐に上昇し、90日目の16.25は正常下顎骨における海綿骨部の17.44との間に Mann-Whitney の U-test では有意差が認められなかった。さらに、180日目の17.41は正常下顎骨のそれに近くなっていた。これに対し、血管柄付骨群における1日目の5.12は、すでに正常下顎骨の約29%を占め、3日目の5.35から上昇傾向をたどり、7日目の7.74から14日目の19.08にかけては急激に上昇し、14日目には正常下顎骨における海綿骨部の値と有意差が認められなくなり、その後も上昇して30日目の26.24でピークに達した。しかし、その後は急激に下降し、90日目には17.73となり、単純遊離骨群における値と有意差がなくなって、180日目には2群とも正常下顎骨の値にきわめて接近していた (Fig. 32a)。

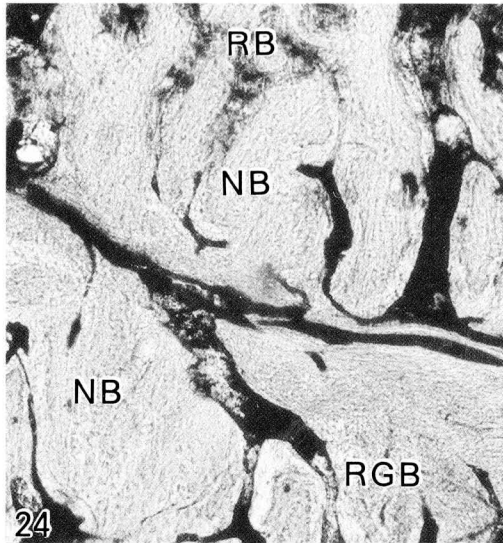


Fig.24 Histological findings on the 14th day after vascularized bone regrafting ($\times 85$, transparent preparation of India ink). New bone (NB) have formed, with proliferation of the vessels on both the recipient bone (RB) and regrafted bone site (RGB).

一方、単純遊離骨群における緻密骨部では14日目の0.13まではきわめて低値を示したが、その後30日目の3.58にかけては急激に上昇した。その後も上昇傾向をたどり、180日目には11.88となり、正常下顎骨の12.56と有意差がなくなった。これに対し、血管柄付骨群における1日目の4.88は正常下顎骨の約39%を占め、7日目の5.22までほとんど変化しなかった。しかし、それから14日目の9.02にかけては急激に上昇し、30日目には9.74となり、正常下顎骨と有意差がなくなっていた。その後も緩徐に上昇を続け、180日目には12.50となり、2群ともほぼ正常下顎骨の値に近似するようになった (Fig. 32b)。

総括ならびに考察

1. 血管新生と骨新生について

Urist ら^{16, 17)}は1965年、高分子蛋白である bone morphogenetic protein (BMP) が間葉系細胞を骨芽細胞に分化させ、新生骨を形成するに至ることを報告して以来、骨誘導に関する

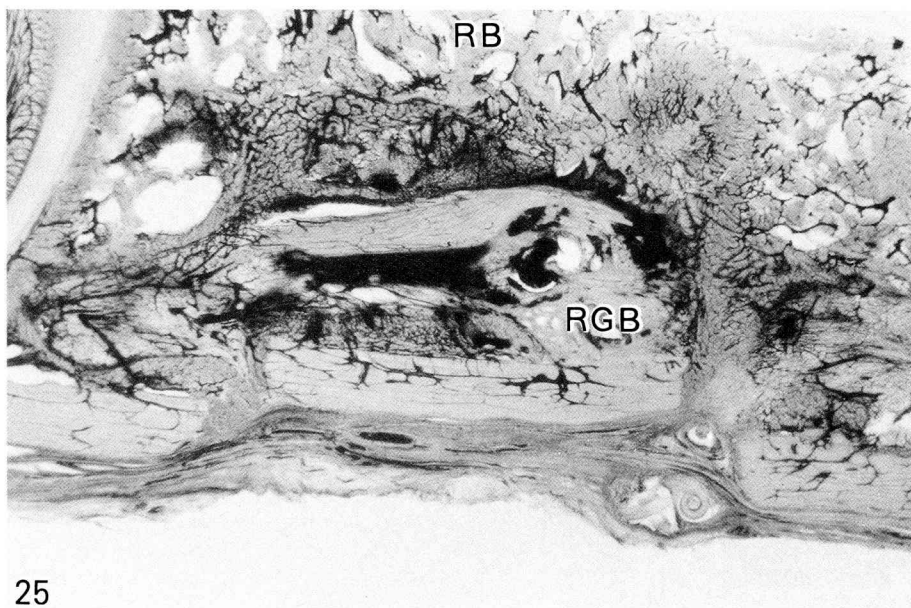


Fig.25 Vascular pattern on the 30th day after vascularized bone regrafting ($\times 5$, transparent preparation of India ink). The regrafted bone tissue (RGB) shows a fairly developed vascularization. RB : recipient bone.

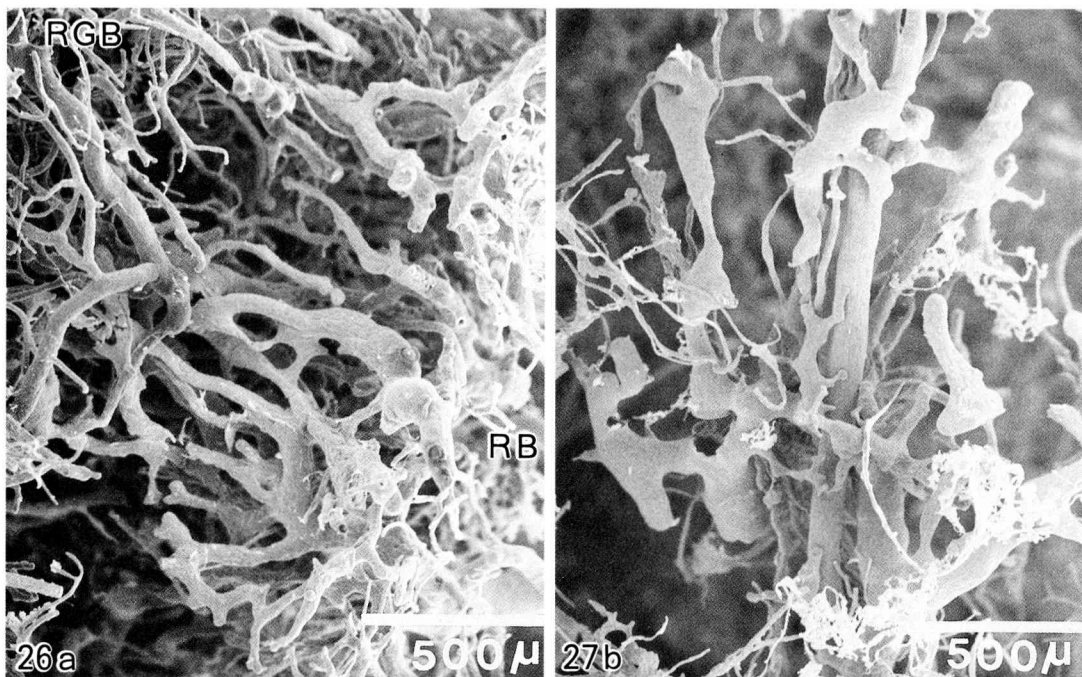


Fig.26 Findings on the 30th day after vascularized bone regrafting ($\times 50$, SEM). a : thick anastomoses of vessels on the conjunction site of compact area in the regrafted bone tissues (RGB) and recipient bone (RB). b : sinusoid vessels in the conjunction of spongy area in the regrafted bone tissues and recipient bone.

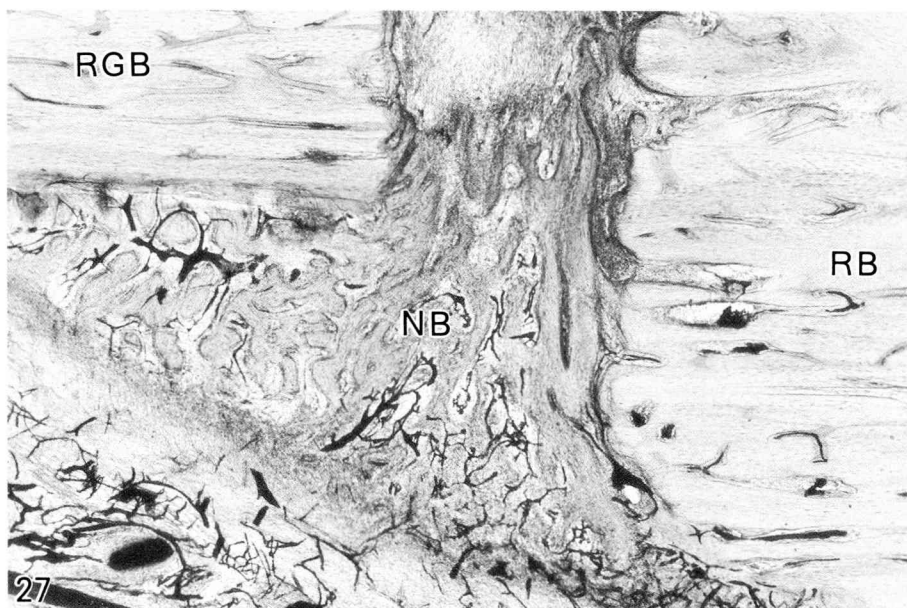


Fig.27 Bony union of the compact area in the regrafted bone tissue and recipient bone ($\times 34$, H.E. stain). RGB : regrafted bone tissue, RB : recipient bone, NB : new bone.

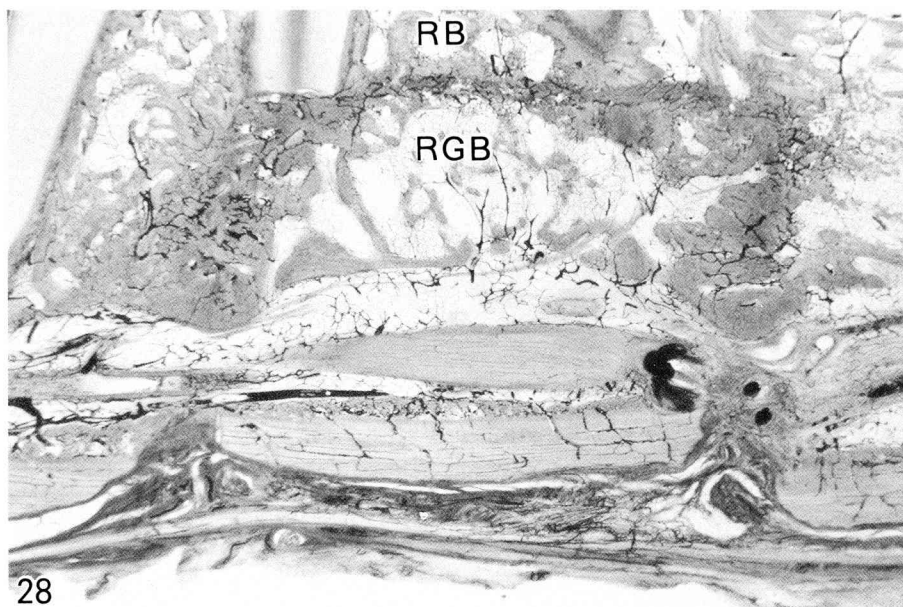


Fig.28 The vascular pattern on the 90th day after vascularized bone regrafting ($\times 5$, transparent preparation of India ink). It is comparatively regular, approximating a normal mandible. RGB : regrafted bone tissue, RB : recipient bone.

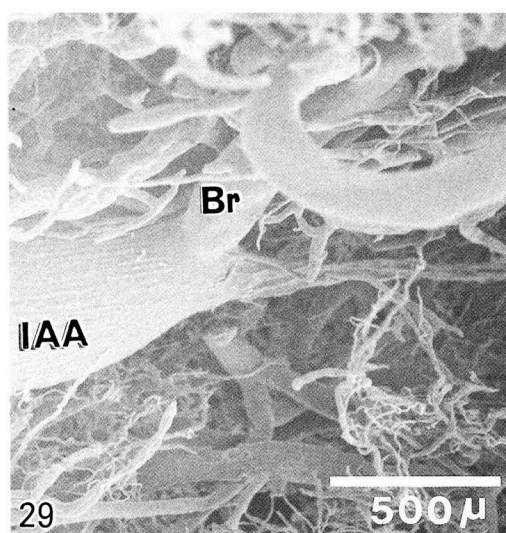


Fig.29 Branches (Br) of the inferior alveolar artery (IAA) in the vascularized regrafted bone tissue after 90 days ($\times 50$, SEM).

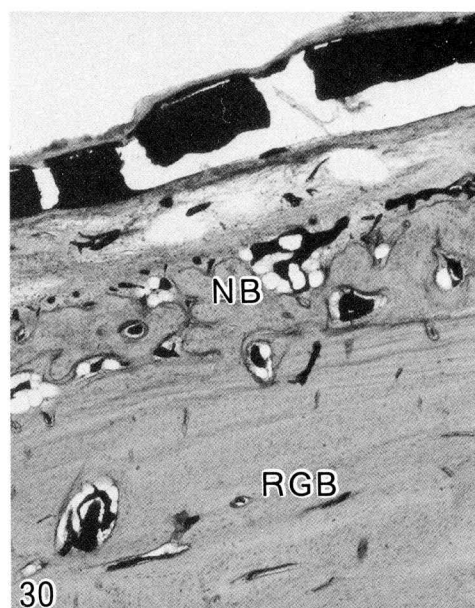
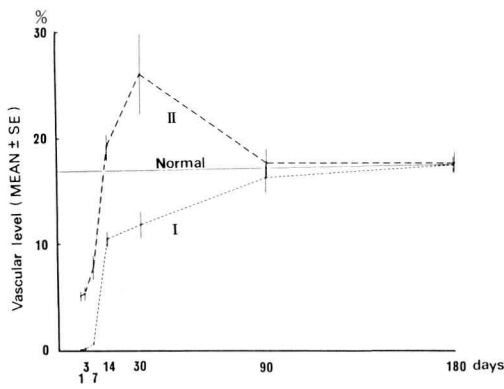


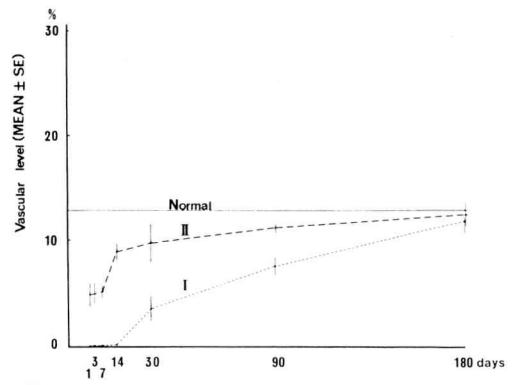
Fig.30 New bone (NB) formed on the bone-marrow site of the compact area in the vascularized regrafted bone tissue after 90 days ($\times 34$, H.E. stain) RGB : regrafted bone tissue.



Fig.31 Vascular pattern on the 180th day after vascularized bone regrafting (× 5, transparent preparation of India ink). The border (arrow) between regrafted bone tissue (RGB) and recipient bone (RB) is unclear and angioarchitecture is approximating normal mandible pattern.



32a



32b

Fig.32 Changes of the vascular level in spongy (a) and compact (b) areas. I : free bone group. II : vascularized bone group. Normal : normal mandible. $p < 0.01$

研究が盛んに追求されるようになった。すなわち、Baylink ら¹⁸⁾は骨形成が骨吸収に引き続いて起こるが、その際に遊離される骨基質内の物質 (coupling factor) が骨芽細胞の増殖を促すことを報告し、Form and Auerbach¹⁹⁾は骨

形成に関与する物質であるプロスタグランジンが血管新生を強力に促進させることを示唆した。その後 Jones and Boyde²⁰⁾が骨芽細胞は血流によって運ばれるホルモンによって形態と機能に変化が起るとし、さらに線維芽細胞成長因子

(FGF)²¹⁾が放出されると骨形成が促されるなど、血管と骨新生との関連性についての報告がみられるようになった。

著者の単純遊離骨への血管侵入は母床から再植片に向かって海綿骨部では7日目に、緻密骨部では14日目にみられた。また、骨新生がこの時期には海綿骨内にみられ、これまでの報告²²⁻²⁴⁾と時間的にほぼ一致していた。これに対し、血管柄付骨群では再植直後から既存血管の一部が利用され、すでに海綿骨部では1日目に、緻密骨部では14日目に、そこから明らかに形や太さあるいは走行や分布の異なる新生血管ならびに血管芽の増殖が観察され、その後に骨新生は7日目に再植片と母床の海綿骨部の両方から同時に形成された。このように、単純遊離骨群および血管柄付骨群とも血管の新生は骨新生に先行していた。

2. 血管再構築と骨改造について

Albee²⁵⁾やStringa²⁶⁾らは移植骨における血管化の大半は新生血管によってなされ、一部では既存血管が利用されるとし、Phemister²⁷⁾は既存血管が利用されないことを示唆する成績を報告していた。著者の実験では再植片と母床には間隙がみられ、適合が不充分であった可能性も考えられるため、榎本²⁴⁾およびSumiら²⁸⁾も指摘しているように、単純遊離骨群では既存血管が利用され難かったものと思われる。これに対し、血管柄付骨群では下歯槽動静脈が保存され、これらから分岐する大部分の既存血管の利用が明らかであった。

血管柄付遊離骨の移植は単純遊離骨のそれとは異なって、移植骨の骨細胞は死滅することなく生存能が保たれているとする報告が多い^{8, 9, 11, 13)}。著者の単純遊離骨群では3日目の母床海綿骨部にみられた新生血管が再植片海綿骨部に侵入し、その後に毛細血管網を伴う結合組織が増殖するとこれに近接した部位に破骨細胞と骨芽細胞が出現し、活発な骨の吸収と新生骨の形成がみられた。この所見は血管新生と骨新生との間に重要な関連性のあることを示唆するものである。その後、血管が密になると海綿骨部、

ついて緻密骨部の骨性癒合が認められ、血管像はほぼ正常下顎骨の分布に近くなった。これに対し、血管柄付骨群では1日目にすでに再植片と母床からの血管新生がみられ、経日的に再植片海綿骨部やフォルクマン管の一部に骨の吸収と新生骨の添加がみられた。その後、吻合血管が密になると骨改造も進行し、海綿骨部、ついて緻密骨部にも骨性癒合が認められた。この頃には血管の分布はむしろ疎になり、再植片と母床の境界が不明瞭となった。

このように、単純遊離骨群では初期の段階においては血管新生が骨新生に先行するが、その後は血管再構築と骨改造の過程がほぼ同時期にみられるようになり、金平²⁹⁾や長縄³⁰⁾の報告に比べて骨改造が早期から行われていた。これは彼らが骨移植であったのに対し、著者は下顎骨骨片の再植であるために骨改造がより進行しやすく、かつすべての部分においての骨改造が行われなくともよいという、環境の差によるものと考えられた。一方、血管柄付骨群でも初期には血管新生が骨新生に先行するが、その後は血管再構築とごく一部の骨改造が同時に進行し、単純遊離骨群に比べこれらの過程が早期に経過していた。これは血管柄付骨群では再植直後から血行が温存されていて、かつ再植骨の生存能も保たれ、骨改造が一部でなされるのみである、などの理由によるものと思われる。

一方、海綿骨部と緻密骨部とを比較すると、単純遊離骨群の海綿骨部では血管の新生と再構築が母床からの侵入に依存しているために7日目から始まり、その後に毛細血管網が形成され、骨の新生と改造が行われた。また、緻密骨部ではそれが14日目から開始され、かつ広範囲で骨改造が行われていた。これに対し、血管柄付骨群の海綿骨部では1日目から血行があり、3日目に再植片と母床からの吻合血管がすでに認められ、その後の血行回復も早いと生存能を保ったまま生着し、骨改造のなされる部分が少なかったものと思われた。また、緻密骨部では血行はあるが、母床の骨膜やハバース管からの血行は遮断され、とくに骨膜側および両断端部では

一定期間内は単純遊離骨群におけるとほぼ同様の経過を示していた。しかし、その後はより急速に血管再構築と骨改造の過程が進行した。

3. 血管面積率について

骨移植を成功させるためには血管がきわめて重要な因子であることから、これまでも骨移植後の血管像^{24, 29)}や血行動態^{30, 31)}に関する種々な研究がなされてきたが、血管密度を客観的に評価した報告はみあたらない。そこで、著者は骨再植後の組織標本における血管密度の変化を数量化し、両群の血管面積率を算出して比較検討した。

すなわち、単純遊離骨群では1～14日目まではきわめて低値を示したが、血管柄付骨群では1日目から正常下顎骨の約29%ないしは39%の値であった。その後、両群とも急激にその値は増加するが、血管柄付骨群は単純遊離骨群に比べ、また海綿骨部は緻密骨部に比べていずれの時期においてもそれが高かった。

一方、これらの血管面積率と血管像の変化には相関性が見られた。すなわち、単純遊離骨群の1～14日目と血管柄付骨群の1～7日目では再植片内の血管新生は少ないが、その後急激に血管面積率が増加し血管の新生が旺盛になり、再植片の血管再構築過程が進行していることを示していた。したがって、これら2群間における血管面積率の時期的、量的な差は、他方では再植片内における血管の新生や再構築過程の差によることを示していた。

4. 臨床との関連について

従来の単純遊離骨移植では緻密骨部の感染が多く、またこれは移植後1～14日目頃の緻密骨への血行が乏しい時期に発生しやすい²⁾。著者の結果でも単純遊離骨群における緻密骨の血行再開には術後14日間を費し、その後の血行回復も遅延していた。これに対し、血管柄付骨群における緻密骨部では術後1日目より39%の血行が保たれ、かつその後の血行回復も早かった。したがって、血管柄付骨群は緻密骨部においても初期から血行が保たれ、単純遊離骨群にくらべて感染に強く、また軟部組織に癒痕があり、

血行の乏しい部位の修復、再建にも適応できることが示唆された。

一方、海綿骨部は単純遊離骨群ならびに血管柄付骨群においても早期に血管化がみられ、近時多用されている海綿骨移植の有用性を裏付けていた。しかしながら、血管柄付骨群においても緻密骨の血管化には14～30日を費し、この部は臨床的に感染を合併しやすいことが窺われ、十分な注意を要する。

血管柄付遊離骨移植の血液供給は骨髓と骨膜に由来する肋間動静脈付後方部肋骨¹⁰⁾と骨膜に依存する肋間動静脈付側方部肋骨³²⁾、浅・深腸骨回旋動静脈付腸骨³³⁾および腓骨動静脈付腓骨⁵⁾の2種類に大別できる。臨床的には骨片の採取が容易で、かつ後遺症の少ない骨膜からの血液供給が主体となるものが多用される傾向にあるが、良好な成績が報告されている⁵⁾。著者の行なった実験は骨髓からの血液供給が主体をなす血管柄付骨再植で、微小血管吻合の条件が満たされたと仮定したときのものであり、最近臨床で用いられつつあるこの種の血管柄付骨よりもさらに移植条件の良好なものに相当した。

結 論

雑種成犬の下顎骨下縁に単純遊離骨および血管柄付骨の再植を行ない、墨汁透明標本、H.E.標本、血管鋳型標本を作製し、さらに血管面積率の計測を行なって経日的に比較検討した結果、以下の結論を得た。

1. 再植片における新生血管は単純遊離骨群の海綿骨部では母床から再植片に向って、また緻密骨部では骨髓側のフォルクマン管、次いで骨膜側と接合部から侵入、増殖した。しかし、血管柄付骨群の血管新生は母床のみでなく、既存血管の利用によって、再植片からもみられた。その後、経日的に新生血管が増殖し、互いに吻合しながら微小血管網を形成した。
2. 再植片における血管網の形成は時間の経過とともに母床とほぼ同様の血管構築の様相を呈するに至った。しかし、その過程は単純遊

離骨群に比べ血管柄付骨群が、また緻密骨部に比べ海綿骨部がいずれも早かった。

3. 再植片における新生骨の形成は血管新生と線維性組織の増殖後にみられ、海綿骨部では骨梁に沿って、また緻密骨部では骨髄側およびフォルクマン管に沿って、次いで接合部に骨の吸収と添加が始まり、その後経日的に増大した。
4. 再植片の骨改造への過程は骨の吸収と添加が進行するとともに、再植片と母床の接合部が骨性癒合をみるに至った。しかし、その過程は単純遊離骨群に比べて血管柄付骨群が、また緻密骨部に比べて海綿骨部がいずれも早かった。
5. 再植片の血管面積率は単純遊離骨群では7～14日目までは正常骨に比べ著しい低値を示した。しかし、血管柄付骨群では1～7日目においてもやや低値を示す程度に血行が保たれていた。その後の値は両者とも14～30日目になって急速に増加し、以後は漸次、正常骨の値に近似していった。しかし、海綿骨部は

緻密骨部に比べていずれの期間においても値が高かった。

6. 血管柄付骨群は単純遊離骨群に比べて血管の新生と再構築、あるいは骨の新生と改造などへの過程が、いずれも時間的に早く、また量的に多い傾向にあった。

稿を終えるにあたり、本研究に際し終始ご指導、ご校閲を賜った岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座 藤岡幸雄教授ならびに同口腔解剖学第一講座 野坂洋一郎教授に感謝します。また、ご教示を賜った同口腔病理学講座 鈴木鍾美教授に謝意を表します。さらに終始ご指導、ご鞭撻をいただいた岩手医科大学歯学部口腔外科学第一講座 工藤啓吾助教授に謝意を表します。なお、ご助言をいただいた同口腔病理学講座 武田泰典講師ならびに同口腔解剖学第一講座 藤村 朗助手に感謝します。

本論文の要旨は昭和61年9月第28回歯科基礎医学会総会において口演、発表した。

Abstract : A comparative morphological study was made of both vascularized and free bone tissues in process of angioarchitecture and bone remodeling. Mandibular bone fragments, both those with and without alveolar inferior vessels, of 39 mongrel adult dogs were regrafted. Transparent and H.E. preparations by means of India ink injection, SEM by means of mercox injection and vascular levels measured 7 times over six months.

In the free bone tissues, new vessels from the surrounding recipient bed formed a fine network after infiltrating the spongy area, followed by the formation of new bone tissue along the spongy trabeculae. New vessels from the bone marrow penetrated into the Volkmann's canals of the compact area, where regrafted bone absorption and new bone apposition was taking place. Angioarchitecture and bone remodeling in the regrafted bone tissue advanced gradually, and the bony union between the regrafted and recipient bone tissues was achieved. On the other hand, in the vascularized tissue previous vessels and bone formation process continued in both the regrafted and recipient bone tissues. In the free bone tissue, the vascular levels on the 7th or 14th day were conspicuously low. However, in the vascularized bone tissue the levels showed that blood circulation was maintained even on the first or 7th days, and then gradually returned to normal levels.

In all the angioarchitecture and bone remodeling processes after regrafting the vascularized bone and the spongy areas tended to be superior to the free bone and the compact areas in both rate and area of recovery.

文 献

- 1) Kudo, K. and Fujioka, Y. : Review of bone grafting for reconstruction of discontinuity defects of the mandible. *J. Oral Surg.* 36 : 791—793, 1978.
- 2) 工藤啓吾, 藤岡幸雄 : 下顎骨移植の臨床的研究 その1 28症例の予後について, 日口外誌, 21 : 180—187, 1975.
- 3) 工藤啓吾, 小早川隆文, 横田光正, 佐藤雄治, 伊藤信明, 藤岡幸雄 : 下顎部骨移植の臨床的研究 その8. 移植骨片付D-皮皮弁による下顎骨再建の2例, 日口外誌, 31 : 2354—2362, 1985.
- 4) Kudo, K., Miyasawa, M., Fujioka, Y. and Sasaki J. : Immediate repair of mandibular defects following surgery for carcinoma of the lower alveolus and gingiva using a pectoralis major myocutaneous flap. *J. max. -fac. Surg.* 13 : 116—120, 1985.
- 5) Weiland, A.J., Moore, J.R. and Daniel, R.K. : Vascularized bone autografts. Experience with 41 cases. *Clin. Orthop.* 174 : 87—95, 1983.
- 6) 村瀬雅之, 安達長夫, 生田義和, 渡 捷一, 渡 貞雄, 久保 敬 : 血管柄付骨移植術の骨腫瘍への応用, 臨整外, 12 : 540—547, 1977.
- 7) Östrup, L.T. and Fredrickson, J.M. : Distant transfer of a free, living bone graft by microvascular anastomoses. An experimental study. *Plast. Reconstr. Surg.* 54 : 274—285, 1974.
- 8) Doi, K. : Bone grafts with microvascular anastomoses of vascular pedicles. An experimental study in dogs. *J. Bone Joint Surg.* 59-A : 809—815, 1977.
- 9) Berggren, A., Weiland, A.J. and Dorfman, H. : The effect of prolonged ischemia time on osteocyte and osteoblast survival in composite bone grafts revascularized by microvascular anastomoses. *Plast. Reconstr. Surg.* 69 : 290—298, 1982.
- 10) Puckett, C.L., Hurvitz, J.S., Metzler, M. H. and Silver, D. : Bone formation by revascularized periosteal and bone grafts, compared with traditional bone grafts. *Plast. Reconstr. Surg.* 64 : 362—365, 1979.
- 11) 高戸 毅, 波利井清紀, 中塚貴志, 上田和毅 : 血管柄付骨移植に関する研究 第一報 : 遊離骨移植との比較, 日形会誌, 5 : 487—504, 1985.
- 12) 高野正行 : 血管柄付骨再植の治癒過程に関する実験的研究(抄), 日口外誌, 30 : 2008—2009, 1984.
- 13) 五島 淳, 増原建二, 水本 茂, 玉井 進, 長岡正人 : 移植骨の組織動態 乗松尋道編 : 硬組織多重ラベリング法による検索, 骨形態計測 Vol.6, 骨の定量的分析法, 西村書店, 新潟, 260—268ページ, 1986.
- 14) Berggren, A., Weiland, A.J. and Dorfman, H. : Free vascularized bone grafts : Factors affecting their survival and ability to heal to recipient bone defects. *Plast. Reconstr. Surg.* 69 : 19—29, 1982.
- 15) 黒沢亮助 : 家畜臨床診療医典, 外科編, 朝倉書店, 東京, 26ページ, 1947.
- 16) Urist, M.R. : Bone formation by autoinduction. *Sci.* 150 : 893—899, 1965.
- 17) Urist, M.R., Mikulski, A. and Lietze, A. : Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76 : 1828—1832, 1979.
- 18) Baylink, D., Farley, J., Howard, G., Drivdarl, R., Puzas, E., Masuda, T., Ivey, J., Gruber, H. : Coupling factor. *Adv. Exp. Med. Biol.* 151 : 409—421, 1982.
- 19) Form, D.M. and Auerbach R. : PGE₂ and angiogenesis. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 172 : 214—218, 1983.
- 20) Jones, S. J. and Boyde, A. : Experimental study of changes in osteoblastic shape induced by calcitonin and parathyroid extract in an organ culture system. *Cell. Tiss. Res.* 169 : 449—465, 1976.
- 21) 須田立雄, 小沢英浩, 高橋栄明 : 骨の科学, 第1版, 医歯薬出版, 東京, 22ページ, 1985.
- 22) Marchant, H. : Zur Kenntniss der Knochen Transplantation. *Verhandl. path. Gesellsch* 2 : 368—375, 1899.
- 23) Kiehn, C. L., Cebul, F., Berg, M., Gutentag, J. and Glover, D.M. : A study of the vascularization of experimental bone grafts by means of radioactive phosphorus and the transparent chamber. *Ann. Surg.* 136 : 404—411, 1952.
- 24) 榎本洋史 : 下顎骨への骨移植における血管像の変化に関する実験的研究, 歯科学報, 71 : 92—131, 1971.
- 25) Albee, F.H. : Fundamentals in bone transplanation. *J. Am. Med. Ass.* 81 : 1429—1432, 1923.
- 26) Stringa, G. : Studies of the vascularization of bone graft. *J. Bone. Joint Surg.* 39-B : 395—420, 1957.
- 27) Phemister, D.B. : The fate of transplanted bone and regenerative power of its various constituents. *Surg. Gynec. Obst.* 19 : 303—333, 1914.
- 28) Sumi, Y., Ueda, M., Kaneda, T. Oka, T. and Torii, S. : Dynamic vascular changes in free skin grafts. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 42 : 382—387, 1984.
- 29) 金平康弘 : 下顎骨移植の血管像の変化に関する

- る実験的研究, 口科誌, 28 : 239—260, 1979.
- 30) 長縄吉幸 : 骨移植における血管像の変化に関する実験的研究, 日口外誌, 31 : 207—221, 1985.
- 31) 工藤啓吾, Wiliam, C.B. and Meyer, M.W. : 複合肋骨移植時の血流に関する研究, 日口外誌, 27 : 846—850, 1981.
- 32) Ariyan, S. : The viability of rib grafts transplanted with the periosteal blood supply. *Plast. Reconstr. Surg.* 65 : 140—151, 1980.
- 33) Bitter, K. and Danai, T. : The iliac bone or osteocutaneous transplant pedicled to the deep circumflex iliac artery. I. Anatomical and technical considerations. *J. max. —fac. Surg.* 11 : 195—200, 1983.