

学 位 論 文 題 名

EXPERIMENTAL STUDY
ON VASCULARIZED BONE GRAFTS
- HYPERTROPHY OF THE GRAFTED BONE -

(血管柄付き骨移植術の実験的研究 - 移植骨の横径増大 -)

学位論文内容の要旨

【目的】血管柄付き腓骨移植術後に移植骨の横径増大が認められることはよく知られている。特に、若年者や下肢再建例、移植骨の骨折例では旺盛な横径増大が観察される。しかし、その実験的報告は僅かであり、移植骨の骨折や創外固定による横径増大の影響に関する実験の報告はない。今回、我々はラットを用いて血管柄付き骨移植を行い、移植骨の横径増大に対する移植骨の骨折や創外固定の影響について実験的研究を行ったので報告する。

【材料・方法】実験には、15週齢の雄WKAラット（平均体重370g）を用いた。実験1では以下の4群を6匹ずつ作成し移植骨の横径増大を観察した。Ⅰ群）非血管柄付き遊離骨移植群（筋肉・骨膜をすべて除去）、Ⅱ群）骨膜付き骨移植群、Ⅲ群）血管柄付き骨移植群、Ⅳ群）骨折群（血管柄付き骨移植群の移植骨中央に骨折を作成）。実験2は血管柄付き骨移植群でⅤ群）創外固定継続群と、Ⅵ群）骨癒合後創外固定除去群の2群を各々6匹作成、荷重による横径増大の影響を観察した。また、36匹のラットをDonorとして移植尺骨採取のため使用した。手術方法：Recipientラットの脛骨骨幹部に2cmの骨欠損を作成し、K-wireによる創外固定で固定した。実験1のⅠ群はDonorラットの尺骨を骨膜下に剥離し、骨幹部を移植した。Ⅱ群は骨膜を温存し移植した。Ⅲ群はDonorより上腕動静脈を柄とする血管柄付き尺骨を採取した。この際、前腕尺側筋群に皮膚を付け monitoring flapとした。Recipientラットの脛骨に移植後、上腕動静脈を伏在動脈、大腿静脈にそれぞれ端々吻合した。Ⅳ群はⅢ群と同様の手技で移植骨を採取後、移植骨中央に骨膜の連続性を保ったまま用手的に骨折を作成、移植後血管吻合を行った。実験2はⅢ群と同様の手技で手術を行った。術後、monitoring flapにより血行状態を確認、経時的にX線撮影を行った。実験1では、ラットは7週で屠殺した。創外固定は屠殺時まで装着した。術直後、術後2週、4週にtetracycline、xylenol-orange、calceinをそれぞれ投与し、骨多重ラベリングを行った。実験2では、ラットは11週で屠殺した。Ⅴ群は屠殺時まで、創外固定を装着し、Ⅵ群は6週で創外固定を抜去した。術直後、術後5週、10週にtetracycline、xylenol-orange、calceinをそれぞれ投与し、骨多重ラベリングを行った。移植骨中央より横断切片を採取し光学顕微鏡下に組織学的検索、蛍光顕微鏡下に骨動態を分析した。移植時の正常尺骨の横断面積に対する移植骨の面積の割合を横径増大率とした。また骨ラベリングにより、0週における横断面積に対する各ラベリングまでの骨形成量を骨形成率とした。実験2では正常脛骨に対する移植骨の断面積も計測し、適応率とした。また横断面積にしめる髓腔面積の占める割合を計測し髓腔率とした。

【結果】実験1；骨癒合までの期間は、近位骨接合部で、Ⅰ群：4.5週、Ⅱ群：3.7週、Ⅲ群：2.8週、Ⅳ群：3.3週であり、Ⅲ、Ⅳ群はⅠ群より有意に早期骨癒合を認めた。遠位骨接合部はⅠ群：5.8週、Ⅱ群：6.0週、Ⅲ群：5.5週、Ⅳ群：5.8週と各群間に有意差を認めなかった。組織学的検索では、Ⅰ群ではほとんど形態の変化を認めず壊死骨の状態であった。Ⅱ群では周辺部で骨皮質の増大を認めたが中心部は壊死骨のままであったⅢ群では阻血を思わせる所見はなく、著明な骨皮質の増大を認め、特に背側方向への増大が著しかった。Ⅳ群ではⅢ群以上の骨皮質の増大を認め背尺側方向への増大が著明であった。骨ラベリングでは、正常尺骨では尺側を中心に規則正しい骨新生が軽度認められた。Ⅰ群ではほとんどラベリングは認められなかった。Ⅱ群では、不規則なラベリングを認めた。Ⅲ、Ⅳ群では背尺側を中心とする規則的なラベリングが認められた。横径増大率は、平均でⅠ群：0.98、Ⅱ群：1.31、Ⅲ群：1.81、Ⅳ群：2.33で各群間に有意差を認めた。骨形成率は正常尺骨で2週：3.0、4週：2.6、7週：3.0、Ⅱ群で2週：9.5、4週：15.3、7週13.0、Ⅲ群で2週：47.8、4週：15.8、7週：20.5、Ⅳ群で2週：78.7、4週：29.0、7週：17.1でⅢ、Ⅳ群で術後早期に旺盛な骨形成を認めた。

実験2；骨癒合はⅤ群、Ⅵ群とも6週までに近位、遠位とも骨癒合を得た。Ⅵ群では創外固定抜去後旺盛な横径増大を認めた。組織学的検索では、Ⅴ群、Ⅵ群とも阻血を思わせる所見はなかった。骨多重ラベリングではⅤ群、Ⅵ群とも5週までは背尺側を中心とした骨形成を認めた。Ⅴ群ではその後の10週までの骨形成は軽度であり、橈側では骨吸収も認められたが、Ⅵ群では全周性に旺盛な骨形成を認めた。横径増大率はⅤ群：1.82、Ⅵ群：2.70であった。骨形成率はⅤ群が5週：53.5、10週：23.2、Ⅵ群が5週：56.0、10週：93.3とⅥ群で創外固定除去後明らかな骨形成を認めた。適応率はⅤ群：63.0%、Ⅵ群：93.2%でⅥ群ではほぼ正常脛骨の断面積まで横径増大した。髓腔率は正常尺骨：5.1%、Ⅴ群：5.7%、Ⅵ群：5.4%で有意差を認めなかった。

【考察】骨膜付き移植群でも横径増大が認められたが、これは周囲の組織による血行再開のためと思われた。正常尺骨では、背尺側を中心に横径増大が認められるが、血管柄付き骨移植群でも創外固定下で、同方向に横径増大が認められた。これは、本来の横径増大を踏襲し、増幅したものであった。創外固定を継続すると一定以上には横径増大が起らず、一方では骨吸収も観察された。創外固定を抜去すると、全周性に横径増大が認められ、正常脛骨とほぼ同程度の増大を示した。これは、創外固定下では、移植骨への荷重が創外固定に分散されるため正常尺骨と同方向の骨新生が行われたが、創外固定抜去により力学的ストレスに適応して本来の骨新生方向とは異なり全周性に骨新生が行われたためと思われる。臨床例でも創外固定抜去後徐々に横径増大が認められるが、本実験では臨床例とほぼ同モデルを作成し短時間で創外固定の影響による移植骨増大の形態、髓腔の変化を観察し得た。血管柄付き骨移植の骨折モデルは、過去に報告されていないが、骨折群でも、正常尺骨と同方向に、術後早期から著明な横径増大が認められ、人工的に横径増大を促進することができた。臨床でも、移植腓骨の骨折後に横径増大を認めるが、骨癒合までの時間を考慮すると、最終的な全荷重までには非骨折例に比べ時間を要した。臨床でも、手術操作時に移植腓骨に対して骨折などの侵襲を加えることにより、その後の移植骨肥大の促進を期待できる可能性がある。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 安 田 和 則

副 査 教 授 杉 原 平 樹

副 査 教 授 金 田 清 志

学 位 論 文 題 名

EXPERIMENTAL STUDY ON VASCULARIZED BONE GRAFTS — HYPERTROPHY OF THE GRAFTED BONE —

(血管柄付き骨移植術の実験的研究－移植骨の横径増大－)

血管柄付き腓骨移植術後に移植骨の横径増大が起こることは知られているが、移植骨の横径増大に関する実験は少なく、特に移植骨骨折例の骨動態、創外固定の影響に関する研究は皆無であった。そこで申請者は、ラットを用いて血管柄付き尺骨を脛骨に移植し、移植骨の横径増大を観察し、移植骨骨折例の骨動態、創外固定による影響に関して検討した。

実験には、15週齢の雄WKAラットを用いた。まずⅠ群)非血管柄付き遊離骨移植群(骨膜を除去)、Ⅱ群)骨膜付き骨移植群、Ⅲ群)血管柄付き骨移植群、Ⅳ群)骨折群(血管柄付き骨移植群に骨折を作成)の4群を各々6匹作成、7週で屠殺した。次に血管柄付き骨移植群でⅤ群)創外固定継続群と、Ⅵ群)骨癒合後創外固定除去群の2群を各々6匹作成、11週で屠殺し創外固定による横径増大の影響を観察した。手術方法はRecipientラットの脛骨骨幹部の骨欠損部に尺骨を移植し創外固定で固定した。Ⅲ群はDonorよりmonitoring flap付き血管柄付き尺骨を採取した。Ⅳ群はⅢ群と同様の手技で移植骨を採取後、移植骨中央に骨膜の連続性を保ったまま骨折を作成した。Ⅵ群は6週で創外固定を抜去、その他の群は屠殺時まで創外固定を装着した。術後一定時期に骨標識物質を投与し多重ラベリングを行った。移植骨中央の組織学的検索、骨動態を分析した。移植時の正常尺骨の横断面積に対する移植骨の面積の割合を横径増大率とした。また骨ラベリングにより、0週における横断面積に対する各ラベリングまでの骨形成量を骨形成率とした。Ⅴ、Ⅵ群では正常脛骨に対する移植骨の断面積も計測し、適応率とした。

骨癒合までの期間は、近位骨接合部で、Ⅲ、Ⅳ群はⅠ群より有意に早期骨癒合を認めた。遠位骨接合部は各群間に有意差を認めなかった。組織学的検索では、Ⅰ群は壊死骨の状態

で、Ⅱ群は周辺部で骨皮質の増大を認めたが中心部は壊死骨のままであった。Ⅲ群は阻血を思わせる所見はなく、特に背尺側方向の骨形成が著しく、Ⅳ群はⅢ群以上の骨皮質の増大を認めた。骨ラベリングでは、正常尺骨では背尺側を中心に規則正しい骨新生が軽度認められた。Ⅰ群ではほとんどラベリングは認めず、Ⅱ群では、不規則なラベリングを認めた。Ⅲ、Ⅳ群では背尺側を中心とする規則的なラベリングが認められた。横径増大率は、平均でⅠ群：0.98、Ⅱ群：1.31、Ⅲ群：1.81、Ⅳ群：2.33で各群間に有意差を認めた。2、4、7週までの骨形成率はⅡ群で各々9.5、15.3、13.0、Ⅲ群で47.8、15.8、20.5、Ⅳ群で78.7、29.0、17.1でⅢ、Ⅳ群で術後早期に旺盛な骨形成を認めた。Ⅴ、Ⅵ群に関しては、6週までに両群とも骨癒合を得た。組織学的検索では、Ⅴ群、Ⅵ群とも阻血を思わせる所見はなかった。骨多重ラベリングではⅤ群、Ⅵ群とも5週までは背尺側を中心とした骨形成を認めた。Ⅴ群ではその後の10週までの骨形成は軽度で、橈側では骨吸収も認められたが、Ⅵ群では全周性に旺盛な骨形成を認めた。横径増大率はⅤ群：1.82、Ⅵ群：2.70であった。骨形成率はⅤ群が5週：53.5、10週：23.2、Ⅵ群が5週：56.0、10週：93.3とⅥ群で創外固定除去後明らかな骨形成を認めた。適応率はⅤ群：63.0%、Ⅵ群：93.2%でⅥ群ではほぼ正常脛骨の断面積まで横径増大した。

血管柄付き骨移植群では創外固定下で、正常尺骨と同方向に横径増大が認められた。これは、本来の横径増大を踏襲し、増幅したものであった。創外固定下では一定以上には横径増大が起こらず、一方では骨吸収も観察された。創外固定を抜去すると、全周性に横径増大が認められ、正常脛骨とほぼ同程度の増大を示した。これは、創外固定下では、移植骨への荷重が創外固定に分散されるため正常尺骨と同方向の骨新生が行われたが、創外固定抜去により力学的ストレスに適応して本来の骨新生方向とは異なり全周性に骨新生が行われたためと思われる。本実験では臨床例とほぼ同モデルを作成し短時間で創外固定の影響による移植骨増大の形態を観察し得た。骨折群では、正常尺骨と同方向に術後早期から著明な横径増大が認められ、人工的に横径増大を促進することができた。

公開発表に際し、副査の金田清志教授から創外固定の固定力の差による影響、移植骨と母床骨との横径の差による影響、移植骨の近位と遠位間における骨形成の差などに関する質問があった。また副査の杉原平樹教授から移植骨中央と骨接合部での横径増大の機序の差、膜性骨と長管骨との差、横径増大の部位と時期などに関する質問があった。さらに主査の安田和則教授から骨折作成部位と解析部位との関係、長管骨の形状に関する基本的制御機構、および今後の研究の展望などに関する質問があった。申請者は何れの質問に対しても研究成果と文献を応用し、妥当な回答を行った。

本研究は血管柄付き移植骨における横径増大の骨動態に与える因子の効果を実験的に解明した初めての研究であり、今後の臨床応用へ向けて多くの示唆を与えるものであった。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。