

異所の骨形成に関する組織化学的研究

京都大学医学部整形外科教室（指導 近藤鋭矢教授）

浦 田 固 志

〔原稿受付 昭和35年7月15日〕

HISTOCHEMICAL STUDIES ON ECTOPIC BONE FORMATION

By

KOSHI URATA

From the Department of Orthopaedic Surgery, Kyoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. EISHI KONDO)

In this study, the osteogenesis after implantation of some skeletal tissues into the autogenous muscle was examined by radiologic and histochemical techniques, and isolation of chemical stimulating substance was attempted which, when injected into muscle, can initiate new bone formation.

In this experiment, use was made of young rabbits.

Results :

1) The ratio of cases of new bone formation to cases of implanted tissues were as follows ; cancellous bone 82.6%, bone marrow 82.1%, compact bone 60.5%, clot formed by bone injury 50.0% and periosteum 29.4%.

2) The implanted tissues were necrotized at early stages, and fibroblasts around the implanted tissues were transformed into osteoblasts by metaplasia, and the osteoblasts formed new bone tissues.

3) Glycogen-and alkaline phosphatase reaction were positive in the osteoblasts and transforming cells which were undergoing into osteoblasts. By toluidinblue metachromasia stain hyaluronic acid was shown positive in the osteoblasts and the young bone cells, and chondroitin sulfuric acid was shown positive only in the cartilaginous cells.

4) According to the Annersten's method, extract of bone marrow and cancellous bone were prepared with acid alcohol. The extract was injected into the young mesenchymal tissue. In 3 of the 44 cases of injected muscles, new bone tissues were found by gross and microscopic examination.

目 次

第1章 緒言

第2章 骨系統各種組織の骨形成能力

第1節 実験方法

第1項 実験動物

第2項 手術方法

第3項 観察方法

(1) レントゲン学的観察

(2) 組織学的及び組織化学的観察

第2節 実験成績

第1項 レントゲン学的所見

- (1) 骨髓移植群
- (2) 海綿骨移植群
- (3) 緻密骨移植群
- (4) 骨膜移植群
- (5) 骨損傷部凝血移植群

第2項 組織学的及び組織化学的所見

- (1) 骨髓移植群
- (2) 海綿骨移植群
- (3) 緻密骨移植群
- (4) 骨膜移植群
- (5) 骨損傷部凝血移植群

第3章 骨組織から抽出された化学物質の刺激による異所的骨形成現象

第1章 緒 言

整形外科の領域に於ける骨形成に関する問題の重要性は改めて述べる迄もなく、又、近年土木工事の増加及び規模の増大、重工業の発達、交通機関の高速化等に伴つて骨損傷患者が激増し、骨移植術の機会が増加すると共に骨形成機転に関する研究は一段と重要性を帯びて来た。この方面の研究は極めて古くより興味を持たれ、既にHippokratesが骨組織の再生能力を認め、Galenusの著書にも骨折修復過程についての観察が記されている。骨形成機転に関しては現在迄に多数の研究がなされ、種々の学説が唱えられて来たが、未だ完全な結論には到達していない。今日迄の諸説をBertelsen (1944)の総括を基にしてまとめて見ると、大略次の4説になる。

1. 古典的骨芽細胞説、骨芽細胞の分裂増殖によつて骨形成が行われるという説である。Duhamel (1741) Ollier (1859), Axhausen (1908), Lexer (1929)。
2. 骨細胞説、骨細胞の分裂増殖によつて骨形成が行われるという説である。Goodsir (1845), Macewen (1912)。
3. 化生説(骨誘導説)、骨損傷の刺激により pluripotent な幼若結合組織がその分化の方向を変えて骨組織を形成するという説である。Barth (1893), Baschkirzew & Petrow (1912), Levander (1938), Annersten (1940), Bertelsen (1944)。
4. 骨形成二元論、Bier (1918) が唱えた骨芽細胞

第1節 実験方法

第1項 実験動物

第2項 抽出液作製並びに注射方法

第3項 観察方法

第2節 実験成績

第4章 総括並びに考按

- (1) 骨系統各種組織の骨形成能力と移植後の運命について
- (2) 骨形成及び骨吸収時の組織化学的所見、及び石灰化の機序について
- (3) 間葉系各種組織の相互移行について
- (4) 骨誘導物質について

第5章 結論

参考文献

附图

説と化生説の折衷論である。

近年、化生説と骨形成二元論が有力になり、間葉系細胞より化生という変化により骨組織が作られる現象を実験発生学的な用語を用いて骨誘導現象と称する様になった。この骨誘導現象の本態を追及する為に Levander (1938) は仮骨より作つたアルコール抽出液で結合組織内に骨組織を作製するのに成功して以来、特殊骨誘導物質の存否について種々論議が行われて来たが、この問題の結論は現在、未だ出ていない。

一方骨新生時の代謝過程についても古くより研究がなされているに拘わらず、現在尚、未知の分野が広い。これは医学の一専門分野の発達のみで解決される問題ではなく、多方面の平行的発達を必要とする為である。以上述べた如く、骨形成の問題は現在尚、未知の分野が多く、諸説が入り乱れている状態であり、その本態解明の一端に資せんとして今回の実験を行つた。

第2章 骨系統各種組織の骨形成能力

第1節 実験方法

第1項 実験動物

生後約3ヵ月半で、体重1.5~2.0kgの家兎を特に雌雄の区別にこだわらずに使用した。飼育にあつては1匹ずつ隔離し、妊娠、出産等の為に体調に変化が生ずるのを防いだ。餌料としては1日に約250gの豆腐粕と約100gの青色野菜を与えた。

第2項 手術方法

移植組織として骨髓、海綿骨、緻密骨、骨膜、骨損傷部凝血の5種類を用いた。

骨髓は両側脛骨粗面の骨皮質を削除して骨髓腔を露出し、豌豆大の赤色骨髓を粘膜炎で採取し、直ちに自家大腿屈筋内に移植した。

海綿骨は両側脛骨稜より腸骨翼にかけて骨膜を剝離し、Luer氏骨鑿子で直径約1cmの円板状の骨片を採取し、その骨皮質を除いた海綿骨を直ちに自家大腿屈筋及び背筋内に移植した。

骨皮質は前腕尺骨の骨幹部を採取し、骨膜及び骨髓を可及的に完全に除去して、自家大腿屈筋及び背筋内に移植した。上記3群の実験では、予め1側の筋肉内に50%アルコール0.7ccをつめたゲラチンカプセルを埋没し、その1週目の結合組織を移植母床とした実験も行った。

骨膜移植群では脛骨の内側面より2cm×0.5cmの大きさの骨膜を隣接する筋肉と共に採取し、自家大腿屈筋内に移植した。

骨損傷部凝血は骨髓採取時に流出する血液を下腿末梢端でピーカーに受け取り数分間放置して凝固させ、それを自家大腿屈筋内に移植した。以上の手術操作はすべて無菌的に行つた事は勿論である。

第3項 観察方法

術後3日、5日、1週、10日、2週、3週、7週、10週、15週と逐次屠殺して標本を採取した。

(1) レントゲン学的観察

レントゲン機械は島津製作所製平安型を使用し、条件は2次電圧54kV、電流50mA、時間1.5秒、管球とフィルム面との距離1m、増感紙を用いず撮影した。レントゲン写真はすべてルーペを用いて観察した。

(2) 組織学的及び組織化学的観察

標本はレントゲン撮影を行つた後、迅速に冰冷無水アルコールアセトン等量混合液に浸漬固定、骨髓、骨膜、及び凝血移植群の3週以内のものは脱灰をせず、その他はEDTA液で脱灰した後、ツエロイゲンに包埋した。標本はすべて15~25μの連続切片を作り、10枚毎にマイエル氏法によるヘマトキシリンエオザン重染色(以下HE染色と略す)を行つて立体的な観察を加え、適当な層で特殊染色として高松、赤星氏法によるアルカリフオスファターゼ反応(以下F反応と略す)、McManus氏過沃素酸Schiff法による一般多糖類染色(以下PAS反応と略す)、Von Kossa氏硝酸銀法によるカルシウム染色(以下Ca染色と略す)、マロリー染色、Best氏カルミン染色によるグリコーゲン反応(以下G反応と略す)、大野氏法によるメタクロマナー反応(以下メタ反応と略す)、更にワイゲルト氏弾力線維染色

を加えて骨形成時の代謝状態をうかがつた。

第2節 実験成績

第1項 レントゲン学的所見

(1) 骨髓移植群

1週目迄の標本では全く石灰沈着像が認められないが、10日目になつて図3に示す様な粟粒大の淡い骨影像が現われる。週が進むにつれて骨影は鮮明になると共に球形となり、7週では1/2米粒大、10週には米粒大、15週目には豌豆大と発達する。筋肉内移植群より結合組織内移植群の骨陰影の発達は弱い。

(2) 海綿骨移植群

5日目から1週目になると海綿様の繊細な骨梁像は所々で吸収されて、斑点状陰影の集団となる。それが10日目になると、再び骨梁間の連続性が生じてもとの海綿様になり、漸次網目が濃くなる。3週目になると中央部の骨梁に吸収が始つて陰影は薄くなり、逆に周辺部は濃厚となつて全体としては球形に近づき、5週目には球形はほぼ完成する。

(3) 緻密骨移植群

図4に示す様に1週目には全体として陰影がうすくなる。2週目では周辺部に於て軽度であるが蚕喰状の吸収像が認められ、3週目になるとその程度が強くなる。5週になると中央部でも吸収が進み、丁度骨髓炎の腐骨を見る様である。10週になれば吸収は益々進むが骨新生も進み、全体として海綿骨移植群の所見と似て来る。

(4) 骨膜移植群

3週目に始めて粟粒大の新生骨影像が現れる。7週、10週になるにつれて石灰沈着量が益々濃くなるが、大きさの発達はあまりない。

(5) 凝血移植群

2週目に1/2米粒大の地図様の新生骨影像が現われ、3週になると豌豆大となつて石灰沈着量も増して来る。週が進むにつれて球形となり、中央部の陰影は漸次うすくなる。

第2項 組織学的及び組織化学的所見

(1) 骨髓移植群

筋肉内移植3日目には移植骨髓細胞は核融解、核崩壊、核濃縮等の色々な変性像を示し、赤血球も大部分崩壊している。変化は中央部よりも周辺に強い。どの種類の骨髓細胞が強い抵抗性を示すかは明らではないが巨大細胞は最も抵抗が強い様である。5日目になると周囲より白血球及び幼若結合組織の浸潤が始まる。骨髓細胞及び網様組織の細胞の変性の程度は益々進み、

正常の染色性を示す細胞は認められない。1週目には幼若結合組織の侵入は益々旺盛となり、骨髓細胞は殆ど崩壊消失し、僅かにこわれた核が散在するのみである。移植組織が超生増殖する所見はどこにも認められない。1週目に始めて新骨形成が見られる。(図5)。即ち侵入した幼若結合組織の所々で線維芽細胞はこれ迄の細胞境界の不明瞭な紡錘型より漸次境界のはつきりした円型乃至多角型の大型の細胞となる。核も大きく円型となり、更に染色質も増して骨芽細胞に移行する(図6)。骨芽細胞は最初単なる不規則な細胞集団であるが漸次2列の樹枝状に配列し、その間に骨梁を形成する。新骨梁の一部には既に石灰塩が沈着し、幼若骨細胞も認められる。フ反応は移行期の細胞及び骨芽細胞、更に幼若細胞に強陽性である(図12)。移行期の細胞及び骨芽細胞には細胞外の方に強く、骨細胞には細胞内に強い。マロリー染色では移植組織の周辺より侵入する幼若結合組織は美麗な青染を示す膠原線維を多量に含み、骨梁の基質も同じ線維からなっている。興味ある所見は、新骨梁の膠原線維と周囲の結合組織の線維とは、互いに移行錯綜しており(図7)(図8)、骨芽細胞が線維芽細胞より移行したものである事はこの所見からも推察出来る。骨梁が一度出来ると周縁の骨芽細胞から添加的に膠原線維が分泌され(図13)、それに石灰が沈着して発達して行く。周囲の線維芽細胞より新しく骨芽細胞が出来ると共に古いものは漸次骨細胞になって骨梁内に埋没される。PAS反応は結合組織及び移行期の細胞には強陽性であるが骨芽細胞の集団及び幼若骨梁の基質に強陽性である(図14)。Ca染色では骨梁を形成している膠原線維にそつて微細顆粒状の石灰沈着が認められる(図9)、(図10)。ワイゲルト染色では幼若結合組織にも新骨梁にも弾力線維は全く認められない。グ反応は移行期の細胞には中等度陽性、骨芽細胞には強陽性である(図11)。メタ反応はpH 7.0では骨芽細胞、幼若骨細胞及び新生骨梁には中等度陽性だが石灰沈着した部分には急に陽性度が弱まる。pH 2.5ではいずこにも陽性像は認められない。この事はヒyaluron酸が骨芽細胞及び幼若骨梁にのみ豊富に存在する事を示している。筋肉内移植10日目では、新生骨梁の石灰沈着は進み、Ca染色で見ると線維構造も掩われるようになる(図10)。骨芽細胞列と骨梁の石灰沈着部との間には未だ石灰化していない前石灰化層又は石灰沈着準備層とでも称すべき層が存在する(図10)。マロリー染色では新骨梁は石灰沈着が進むにつれて橙色を帯びるようになる。

筋肉内移植2週から3週になると新生骨組織は局部的には樹枝状であるが全体としては球形を示す様になり、内部の骨梁には破骨細胞が多数現われる。移植組織を取巻く結合組織は骨膜様になる。或る標本では新生骨組織の中に軟骨組織が骨組織及び結合組織との移行像を示しながら存在する。軟骨組織にはPAS反応は強陽性であり、メタ反応もpH 7.0, pH 2.5共に強陽性でヒヨンドロイチン硫酸の存在を示している。

5週より7週になると骨球の内部の骨梁は殆ど吸収され、幼若結合組織と脂肪組織で埋められる様になる(図15)。骨梁を構成する骨細胞は益々成熟し、それ迄の不規則な配列が層状構造を示す様になる。基質に対する細胞数の割合も少なくなる。骨芽細胞は球の外面に多く、破骨細胞は内面に多い。

10週から15週になると骨球内部には、次第に細網線維と毛細血管とで網様組織が作られ、その網眼を骨髄細胞が埋めて造血機能を営む様になる。

結合組織内移植群では母床の反応性は劣り、新骨形成の時期もおそく又その量も少ない。そして既存の結合組織細胞が骨形成を行つた所見は全く認められない。

(2) 海綿骨移植群

5日目から1週目になると、移植組織に周囲より幼若結合組織の侵入が始まり、移植組織は殆ど変性消失し、骨小腔は空虚となつている。この時期に周囲より侵入する幼若結合組織と移植骨梁との境界部で骨形成が認められる。

新骨梁の発達形式には次の3型が認められる(図16)

第1型：添加的骨形成。移植骨梁に添加的に新骨組織が発達する。

第2型：樹枝様骨形成。移植骨梁と1端で連絡し、樹の枝を伸ばす様に発達する。

第3型骨梁：独立的骨形成。移植骨梁とは全く組織的連続性なしに発達する。

これらの3型とも、その骨芽細胞は周囲の線維芽細胞より移行したものである。独立的骨形成が認められた事は骨誘導現象の根拠となる所見である。勿論、添加的又は樹の枝を出す様に発達する新骨組織でも、新旧骨梁間にははつきりとした境界線が認められて(図17)、両者の移行像はない。この事も移植組織から新骨梁が発達したものではない事を示す所見である。

新骨形成時の特殊染色所見は前群で認めたのと同様である。

10日目から2週目になると、移植組織は成熟した結合組織で取囲まれ、移植骨梁間は周囲の結合組織より侵入

する幼若結合織で埋められる。中央部の移植骨梁にはその周囲に組織球が多量に見られて、著明な吸収を示し、漸次疎結合織に変つて行く。しかしこの移植壊死骨梁の吸収時には破骨細胞は全く認められない。(図20)。新骨梁は部分的には樹枝状であるが、全体としては球形の様に発達していく。新生骨梁が吸収される所には破骨細胞は多数認められる(図19)。球形の新骨梁の最外層は骨膜様の結合織膜で包まれ、内部には早くも骨髄細胞が現われて造血を始めている所もある。新骨組織の骨細胞は未だ幼若で、胞体は球形に近い大型であり、まだ突起は見られず、その配列は不規則であつて基質に対する細胞数も多い。フ反応は前項で述べた様に移行期の細胞、骨芽細胞、幼若骨細胞に陽性であり、破骨細胞には陰性である。又吸収されつゝある骨梁では全く陰性で、骨吸収とアルカリフォスファターゼは無関係である事を示している。マロリー染色では移植壊死骨梁が吸収される時には線線な膠原線維をもつた疎結合織になつて行くが、新骨質が添加しつゝある骨梁では骨芽細胞がぎつしりと並び、密で隙間のない膠原線維を作り出している所見が見られて、非常に対照的である(図21)。

3週より5週になると、新骨梁の骨細胞の成熟度は相当進む。骨細胞の形も扁平化し、幾分層状配列を示す様になり、細胞数に対する骨基質の量は増してくる。

7週、10週と進むと、移植壊死骨梁は殆ど吸収されつくし、新生骨組織は球形を完成し、その外面は外骨膜、内面の或る部分は骨芽細胞列、或部分は内骨膜で被われる様になる。内腔には網様組織が見られ、その網眼の中には骨髄細胞が現われて造血機能が認められる。

結合織内移植群では、移植組織の吸収も新骨組織の形成もおそく、又、その骨形成の程度も弱い。

(3) 緻密骨移植群

筋肉内移植3日目では移植骨細胞は大部分変性に陥り、核濃縮、核崩壊、核消失等が認められるが骨髄に面した側にて殆ど正常の染色性を示している所もある。Havers氏管内の細胞は抵抗が強くて正常に近い染色性を保っている。フ反応はHavers氏管内の細胞に中等度陽性である。

5日目より1週目になると、幼若結合織が移植組織を取囲み、骨片の僅かな陥凹部にも入り込んでいる。移植骨細胞は殆ど変性消失している。移植骨梁が幼若結合織と接する所で樹枝状又は添加的に骨形成が認められる(図22)。その骨形成所見は海綿骨移植群で述べ

た通りである。

10日目より2週、3週と進むにつれ、新骨梁の発達は旺盛となる。骨膜側よりも骨髄側の骨形成が活潑であり前述の3型式の発達所見が見られる。

5週目では移植骨片の吸収は相当進み、大きな陥凹部が所々に出来て、そこを多核巨細胞や組織球等が埋めている。Havers氏管にそつて侵入した結合織もその周囲の骨質を吸収する為Havers氏管は太くなる。

7週より10週になるにつれて新骨組織の成熟度は益々進み、骨細胞も扁平化して突起を出し、層状配列を示す様になる。

(4) 骨膜移植群

1週目では移植片は線維芽細胞、組織球、肥胖細胞等からなる幼若結合織で囲まれており、その中には少数ながら多核巨細胞も含まれている。移植組織は外膜粗層で剝がれて移植されており、強靱層は殆ど正常の染色性を示しているが、粗層には幼若結合織の侵入が始まっている。PAS反応は移植骨膜に微陽性であり、マロリー染色では移植骨膜は強青色を呈しており、特に強靱層の膠原線維は太くて密度も高い。

10日目になれば強靱層は幾分線維の走向が乱れているが、尚殆ど原型を示している。粗層と周囲の結合織との境界部に樹枝状の新生骨梁が見られ、その骨芽細胞も前項で述べたと同様に線維芽細胞との移行像を示している(図24)(図23)。この群で特異的な所見はワイゲルト染色で移植組織の粗層に弾力線維の増殖が強く認められる事である(図26)。しかし新生骨組織には全く認められないのは今迄のべて来た通りである。

第2週より3週になると移植組織を取囲む結合織の量は少くなると共に成熟度は高まる。強靱層は殆ど正常像で残存しているが、粗層は消失しその後は類軟骨組織で埋められている(図25)。その細胞数は基質に比して多く、細胞境界は不明瞭で配列は不規則、核は大型の円型である。基質は染色性に乏しい硝子様組織であり、その中に線維様構造がうかがわれる。類軟骨組織の辺縁部で新骨組織が出来ているが、その骨芽細胞は類軟骨組織の細胞から線維芽細胞へ、更に骨芽細胞になつたものと考えられる様な移行像を示している。マロリー染色で見ると類軟骨組織もその基質は膠原線維であり、その線維の走行は大体平行して走っているがあまり密でない。PAS反応は新生骨梁及び類軟骨組織には中等度陽性、移植骨膜の強靱層には弱陽性である。フ反応は骨芽細胞列及び移行期の細胞に強陽性であり、類軟骨組織にも細胞内外に中等度陽性であ

る。ワイゲルト染色では類軟骨組織には波状を呈しつゝ大體平行に走る弾力線維が多数認められる。グ反応は類軟骨細胞、骨芽細胞及び移行期の細胞に陽性である。メタ反応は pH 7.0 で新生骨細胞に中等度陽性であり、基質には弱陽性である。類軟骨組織は基質も細胞も強陽性である。pH 2.5 では類軟骨組織には微陽性であるが、その組織は陰性である。

5 週、7 週と進むと、移行組織の外膜強靱層丈はまだ存在し、変性膨化した膠原線維とその核が認められる。新骨組織の成熟は進み、細胞は扁平、層状配列を示す様になる。類軟骨組織も漸次結合織に置換されて量は少くなる。

(5) 骨損傷部凝血移植群

移植血腫の中には骨髓組織の混入はさき難い為、この実験での新骨形成率 50% という成績も純粹に血腫のみの骨形成能力とは考えがたい。しかし新骨梁は周囲の幼若結合織内に認められ、特に混入骨髓組織と新骨形成部位とが近接している様な所見はなく、又僅かな混入骨髓組織で豌豆大の骨組織を作るとは考えられず、やはり移植血腫の働きが主役を演じているものと思う。新生骨梁の形成過程、その組織化学的所見等はすべて骨髓移植群と同様である。

第 3 章 骨組織から抽出された化学物質の刺戟による異所的骨形成現象

第 1 節 実験方法

第 1 項 実験動物

実験動物としては体重 1.5~2.0 kg の家兎を特に雌雄の区別なく使用した。飼育方法及び餌料は第 2 章に於て述べた通りである。

第 2 項 抽出液作製及び注射方法

抽出液作製の材料としては前章で検討せられた各種骨組織の中で最も骨形成率の高い骨髓と海綿骨を使用した。

抽出液作製方法はアンネルステンの方法に依つた。即ち屠殺直後の家兎より腸骨及び管状骨を採取し、海綿骨及び骨髓を取出して、Luer 氏骨鑿子で出来るだけ細く碎き、更に製粉器にかけて泥状の骨パルプを作つた。別に 100 cc の 96% アルコールに 5 cc の 1/10 規定の塩酸を加えた溶媒を作つておき、骨パルプ 1 g に 3 乃至 4 cc 溶媒を加えた。この混合物を冷却しながら一昼夜攪拌振盪した後遠心分離して有型成分を沈澱させて上澄を採取し、真空ポンプで減圧濃縮して容積を 1/3~1/4 とした。出来た液を氷室に保存し、2 日~3

日の中に使用した。注射場所として両側大腿伸筋を選び予め 4 日前に 40% アルコール 4 cc を注射して幼若結合織を作製しておいて、そこへ抽出液を 2 cc づゝ隔日に 3 回注射した。実験例は 44 例であり、対照として溶媒のみを 20 例に注射した。

第 3 項 観察方法

10 週目に屠殺して両側大腿伸筋を採取した。標本はツェロイザン包埋として連続切片を作つた。染色は連続切片 10 板毎に HE 染色を行つて新骨組織を探がした。新骨組織を含む適当な層でフ反応、PAS 反応、マロリー染色、Ca 染色等の特殊染色を試みた。

第 2 節 実験成績

新骨組織が得られたのは 44 例中 3 例であり、対照群には 1 例も新骨組織は認められなかつた。新生骨組織は筋組織の中で結合織で囲まれており、その形は球形である(図 27)(図 30)。周囲の結合織は骨梁と移行像を示す所もあれば(図 32)骨膜となつて新骨組織を囲んでいる所もある(図 23)。新生骨組織の内部には造血機能を有する骨髓組織が認められる(図 29)。骨梁は成熟し、骨細胞は扁平で層状に配列している。Ca 染色では新骨梁に一致して石灰沈着が認められ(図 28)、フ反応は骨細胞には陰性であるが、内外両骨膜は陽性である。PAS 反応は周囲を取囲む結合織及び内外骨膜に中等度陽性であるが骨梁には陰性である。マロリー染色では新骨梁を取巻く結合織及び外骨膜は膠原線維の為に強青色であり、骨梁は石灰沈着が進んで橙青色である。

第 4 章 総括並びに考按

(1) 骨系統各種組織の骨形成能力と移植後の運命について

骨損傷の修復過程に於て骨系統の各種組織が果たす役割については古くより種々の論議がなされ、或る説は骨膜を、或る説は骨髓を、又或る説は緻密骨こそ骨修復の主役を演ずると主張してきた。そもそもこのような研究は、骨折部とか骨損傷部の組織所見では確認されうる問題ではなく、骨系統の各種組織を軟部組織内に移植する事によつて確かめられる。というのは骨折部、骨損傷部の標本ではいかに早期から観察したとしても、各組織が解剖学的に近接している為にそれを区別する事は出来ないからである。このような骨組織の遊離移植実験は Ollier(1858)が最初に行い、その後この研究は多数の学者によつて引継がれて、今日迄続けられて来た。しかし未だ最終的な結論には到達していな

い、こゝで今回の実験所見を綜括しながらこの問題について考按を試みて見よう。

骨 髄

骨髄組織の遊離移植実験は Ollier (1858), Bruns (1881), Bier (1918), 宮内 (1918), 上田 (1919), Leriche & Policard (1926), Bull (1928), Levander (1940), Williams (1957) 等の多数の先人が行い自家移植例では相当高率に新骨組織が得られる事が判明している。しかし移植組織の運命及び新骨形成の機転についての主張は一致せず、宮内 (1918), Williams (1957) 等は骨髄細胞は死滅するが網様組織の細胞は生存を続け、分裂増殖して骨形成を行うと主張し、Bull (1928) 等は特殊非特異的な骨芽細胞が混在し、それが超生増殖して新組織を作るといつている。

Leriche & Policard (1926) は骨髄移植に際して見られる骨形成は標本採取の時に混入した骨片から発達したものであると主張した。Bier (1918), Levander (1940), Urist & McLean (1952) は以上の説に対して化生説を唱え、移植組織は早期に死滅するけれども幼若結合組織の分化の方向をかえて骨芽細胞に化生させる能力を持った刺戟物質を分泌し、その影響によつて幼若結合組織が骨組織に変化するといつのである。

今回の著者の実験では移植組織は全部壊死に陥つて、どの様な細胞も超生増殖しない。そして新骨組織は移植組織ではなくて周囲の幼若結合組織内に認められた事は Levander 等の骨誘導説を裏書きする所見である。

緻密骨、海綿骨及び骨膜

Ollier (1858) 以来骨移植実験は多数行われたが、前述の如くその移植骨の運命及び新骨形成機転についての説明はまちまちである。即ち Ollier は移植した骨膜及び骨皮質は生存を続け、骨形成を行うと主張した。しかし Barth (1893) はその説に反対し、移植された骨組織は海綿骨、緻密骨、骨膜、骨髄等すべて壊死に陥り、骨形成は周囲の組織の化生によつて行われると述べた。Axhausen (1909) もこの問題の究明に努め、骨皮質、骨髄等は死滅するが骨膜のみは生存を続けるといつている。近年になり、Levander (1938), Annersten (1940), Lacroix (1947), Hartley & Tanz (1949) 等は移植骨の骨形成能は移植組織が超生分裂増殖するのではなく、化学物質が移植骨より遊離されて、その刺戟によつて周囲の幼若間葉系組織の分化の方向が變つて骨組織を形成すると主張した。今回の実験でも海綿骨及び緻密骨を移植した場合にはすべて死滅し、

移植後も生存を続けるという所見は全く認められず Barth, Axhausen 等の説を裏書きする所見を得た。Levander は移植骨梁と組織的連続性を有しない独立した新骨組織が見られる事で骨誘導現象の大きな根拠としているが彼の観察は標本の一断面を見ているものであつて、この点に大きい欠点がある。組織の連続性を論議する時には連続切片法によつて立体的な観察を加えねばならない。今回の著者の実験はその欠点を埋めたものである。

骨皮質の骨形成能力が海綿骨のそれよりも低い事は多くの実験者の一致した見解である。Urist & McLean (1952), Siffert (1955)。

Siffert は緻密骨を細片化し、その表面積を広くして移植した。その結果は添加的な新骨組織は確かに或る程度増したが、その発達に弱く、全体としては海綿骨に遙かに及ばない。この事より骨髄と緻密骨の混合形態をとる海綿骨ではその骨髄成分により多くの骨誘導物質が存在するものと考えられる。

骨髄と海綿骨とはその出来た新生骨の量的又は質的の差は認められない事より、移植された骨組織の骨塩が新骨組織の材料として直接利用されるのではなく、新骨梁の骨塩は全身的な血行によつて供給されるものと考えられる。

Axhausen が骨膜の超生増殖を主張して以来、それに対する賛否両説があつたが、現在では未成熟動物の骨膜は骨形成を行い、成熟動物ではそれが行われないというのが大方の意見である。そしてその原因として動物の成長に伴う骨膜の解剖学的変化、即ち最内層 (Cambium 層) が成熟動物では消失するという事実で説明されて来た。Baetzner (1921), Levander (1938), Urist & McLean (1952), Cohen & Lacroix (1955)。しかしこの問題について Urist & McLean は興味ある実験を行つている。即ち成熟した白鼠の脛骨を骨折させ、数日後の骨膜を採取して前眼房内に移植した結果、旺盛な骨形成を見た。この事より成熟骨膜の骨形成能は潜在しているものであり、骨折等の刺戟により再び骨形成能を獲得するものである事がわかる。今回の著者の実験成績の 29.1% の骨形成率は使用した家兎が生後 3 ヶ月という未成熟期の最後のものである為、幼若動物を用いた Urist & McLean の 50% 及び Cohen の 100% という値より低いのは当然と思われる。

前述の Urist & McLean の実験及び今回の抵抗性が強く且つ、弾力性軟骨を豊富に形成するという所見より、骨膜の仮骨形成に対する重要性及び移植骨を吸収

から保護する役目のある事がうなずかれるものである。

骨損傷部凝血

骨損傷部凝血の骨形成能についても現在迄の研究者の間では結果は一致していない。即ちBier(1918)はその価値を重要視して、骨損傷時には該部の血腫が大きい役割を果たすと主唱した。Urist & McLeanは骨折後1日、2日、3日、4日と日を置いて局所の凝血を前眼房内に移植したが、1例も新骨形成を得なかつた実験からその価値を否定している。今回の著者の実験では新鮮な凝血を直ちに移植したが50%の骨形成率を取めた。著者の実験ではどうしても骨髓成分の混入をさける事が出来ず、厳密な実験とはいえないが、通常の

骨折でも骨髓成分は迷入しているものであり、臨床的な価値はあると思われる。そしてこのように半数に新骨形成を得た事は凝血も骨誘導物質の含有量が多くて相当骨形成能が高い事を示しており、骨折の手術に際して、凝血を除く事が仮骨形成によくない影響を与える事を証明するものである。

著者の今回の実験における骨形成率は第1表の通りである。海綿骨が最も旺盛であり、次に骨髓、緻密骨、骨損傷部凝血、骨膜の順となる。この中で骨膜は使用動物の年令、移植前の刺激の有無等で骨形成能に大きい差を有するため同一に論ずる事は出来ない。この順位はUrist & McLeanの骨形成能の順序と少し異なるが使用動物、移植場所等の差がある為、当然結果に

表 1

移植組織	移植全例数	骨形成例数	骨形成率	骨形成順位	Urist, McLean の骨形成順位
海綿骨	46	38	82.6%	1	3
骨髓	28	23	82.1	2	2
緻密骨	38	23	60.5	3	4
骨損傷部凝血	10	5	50.0	4	5
骨膜	17	5	29.4	5	1

相違が見出されたものと思われる。

(2) 骨形成及び骨吸収時の組織化学的所見及び石灰化の機序について

骨形成の本態、特に石灰化の問題についても早くより多数の研究がなされて来たものであるが、未だ結論は出ていない。今回の実験により新骨形成は移植組織を取巻く結合織内に見られる事が確認されたが、しかばその機序はどのように考えるべきであろうか。最初に問題となるのは骨芽細胞である。その機能については骨形成を行なう特殊細胞である事は、大多数の研究者の認める所であるが、それを否定する研究者もいないではない。即ち、Leriche & Policard (1926)等は骨芽細胞は線維芽細胞の一変性形態にすぎないものと見なしてその骨形成能を否定している。しかし Pritchard(1956)等の言を待つ迄もなく、骨芽細胞は造骨に際して重要な役目を果たす事は間違いないと思われる。今回の実験に於ても線維芽細胞が漸次移行して骨芽細胞になり、その骨芽細胞は膠原線維を分泌して、骨梁を成長させ又、自らも骨細胞に移行して行く事は確認された。その起源についてDietrich(1926)、松森(昭32)等は血管内皮細胞にそれを求め、佐藤(1954)は組織球を主張している。しかし今回の実験所見より見ると線維芽細胞より移行したものと思われる。

次に結合織の膠原線維の成因については、Wolbach (1933)等は線維芽細胞より分泌された precollagen が細胞外で重合して膠原線維を作ると主唱し、Porter (1951)の電子顕微鏡的観察で確認された。骨梁の基質である膠原線維の起源についても Pritchard (1956)は骨芽細胞から分泌された線維様蛋白が細胞外で重合して膠原線維を作ると推論している。今回の実験では、移植組織を取囲む結合織中の膠原線維と、新骨梁中のそれとが互に移行錯綜している所見が確認されたが、この事は結合織中の膠原線維が線維芽細胞より分泌されたと同様な機転で、骨梁の膠原線維も骨芽細胞から分泌されたものであり、このような膠原線維の生産機能の点から見ても、骨芽細胞は線維芽細胞より移行したものと考えてよいと思われる。

しからばこのように骨芽細胞より分泌された膠原線維は、いかなる代謝過程を経て石灰化するのであろうか。現在迄に石灰化機序については Robison(1923)のアルカリフォスファターゼ説に始まり、Glock(1940)、Gutmann(1941)のグリコーゲン説、Cartier(1952)等のATP説等が現われたが、いずれもかなりの合理性と矛盾を含んでおり、複雑な石灰沈着過程をこのような1種類の化学物質で説明する事は無理である。

次に軟骨にはコンドロイチン硫酸が豊富に認められ

るが、石灰化すると消失する事より、Gersch & Catehpol(1949), Loewi(1953)等はコンドロイチン硫酸のdepolymerisationによつてCaイオン親和性の側鎖が遊離し、ここに石灰沈着が起るのであらうと推論し、Matthews(1952)は老人軟骨に於てコンドロイチン硫酸が減少すると共に、コラーゲンの増加する事を証明し、コンドロイチン硫酸コラーゲン複合体の石灰沈着に対する意義は極めて重要視されるにいたつた(高重合粘液多糖類イオン交換作用説)。田中、波多野(1956)も真珠及び貝殻の形成について⁴⁵Caを使用した実験を行い、石灰化基質は磷を含む複合蛋白体である事を証明している。

以上の諸説を要約すると

1) 粘液多糖類蛋白複合体(コンドロイチン硫酸コラーゲン複合体)のCa親和性側鎖が遊離してCaイオンが骨基質の糖蛋白体に固定する。

2) 組織液の磷酸塩又は局所の代謝によつて生じた磷酸塩が基質と結合して磷、Ca、糖、蛋白複合体を作る。今回の実験に於て、骨芽細胞列から石灰沈着部迄の前石灰沈着層に於てこの1, 2の過程は行われると考えられる。

3) Ca, 磷, 糖, 蛋白複合体からのカルシウム結合物が遊離して磷酸(又は炭酸)カルシウムが分離沈着し、残された骨基質は再び新しいサイクルを繰返すのに用いられる。今回の実験に於ては、このようにして遊離された石灰塩が膠原線維に沈着し、Ca染色で微細顆粒状に見出されたものと思われる。

この方面の研究を進めるにあたつては、非常に初期の幼若骨組織を未脱灰のまま薄切し、組織化学的な染色を加える方法が非常に重要であるが、今回の実験に於て認められたように、自家骨髓組織を筋肉内に移植した場合には高率に新骨組織が得られ、その10日以前の標本は脱灰なしで充分薄切が可能となつて、これを材料にする事は非常に有力な方法であると思う。

次に骨吸収の問題について考按を試みて見たい。Koelliker(1873)が破骨細胞の骨吸収能を報告して以来、一般にはこれが認められて来たがRecklinghausen(1910)等は破骨細胞の吸収能を否定し、岩(1952)もそれに賛意を唱え、少くとも破骨細胞には喰食作用がない事を生体染色法で証明した。Bhaskar(1956)等も破骨細胞の存在だけで骨吸収現象の存在を意味するものではなく、骨組織の吸収にはその他に内分泌ホルモン(主に副甲状腺ホルモン)の影響を重要視しなければならないと主張している。又破骨細胞の起源に関しては

Leriche & Policard(1926), Heller(1950)等は造骨細胞と同一のものでその一状態像に過ぎないと言ひ、Recklinghausen(1910), Weinmann(1947)等は破骨細胞は骨基質の液状融解後に骨細胞の融合によつて生ずると述べ、Lacost(1923), 吉村(1952)等は血管内被細胞が肥大遊離したものと考えている。この問題については現在未だ結論が出ていないが、細胞の動向観察をなす方法が発見される事がその先決問題であらう。

今回の著者の実験では壊死骨梁の吸収部には破骨細胞は全く見られず、石灰塩が漸次融出して膠原線維が現われ、次いでその膠原線維も吸収されて、あとには疎結合組織が見られた。一方骨細胞の豊富な新生骨梁が吸収される所ではその辺縁に多くの破骨細胞が現われるが、骨質の吸収像には移植壊死骨の場合と差がない。このような所見より破骨細胞は特に骨質吸収等の機能は持たず、骨質は何か他の化学的物理的機転で吸収され、その結果遊離された骨細胞が互いに融合するか、又は組織球等に喰食されて出来たものと思われる。

(3) 間葉系各種組織の相互移行について

Barth(1893), Levander(1938)が骨移植に際して得られた新骨組織は結合組織の移行したものであると主張して以来、この問題の探究は多くの研究者によつて続けられて来た。Levander, Annersten, Bertelsen等は化学的刺戟を重要視し、その抽出を試みて或る程度成功しているが、吉村(1952)は物理的刺戟に着目し、骨折部に引張り作用を加えると、その仮骨は結合組織性仮骨となり、圧縮作用を加えると軟骨性仮骨となる事を確かめている。著者の今回の実験でも以上の諸説を裏書きする結果が得られた。即ち図3の如く間葉系細胞は線維芽細胞より骨芽細胞又は軟骨細胞、更に骨細胞と移行したり、又骨組織より逆に線維細胞になり得る。更に興味ある事は新生骨組織の中に造血機能を有する骨髓組織が認められた事である。千島(1954)もこのような骨組織と骨髓組織又は血液細胞との移行像を観察して、血液細胞の基礎組織を骨組織に求めたが、現在のところ広く認められるにいたつていない。今回の実験では直接骨組織より移行する所見は得られなかつたが、そこに出来た骨髓組織は正常の場所とは遠く隔り、又流血中を通つて既存の骨髓細胞が到達したとも考えられない為に、骨組織より由来したと思われぬ。

間葉系細胞のどのような種類のものが骨芽細胞にな

図1 佐藤による間葉系細胞間の移行形式

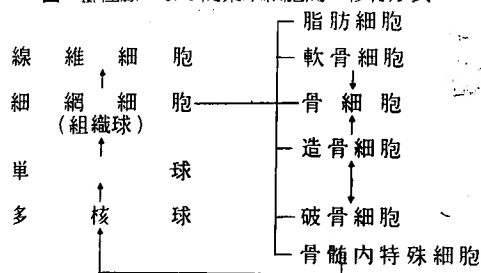
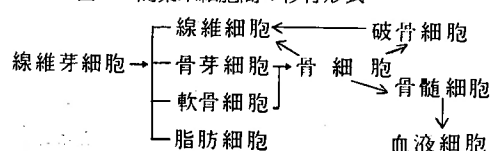


図2 間葉系細胞間の移行形式



るかについては佐藤(1954)は組織球を取上げており図1のような移行形式を想定しているが今回の実験の観察結果によると骨芽細胞と移行する細胞は胞体の境界が不明瞭である事、核が染色質に乏しく円形乃至類円形である事、メタクロマゼーを現わさない事より組織球よりも線維芽細胞を考えたい。しかし、その確認には生体染色をなす必要があり、著者の今回の実験でもこの細胞の認定には今一つの決め手に欠けている。次に間葉系細胞の成熟過程のどの時期に刺戟が加われれば、その分化の方向をかえうかを知る為に予め、幼若結合織を作つておいて、そこへ刺戟物質を移植して、その骨形成現象を観察したが、そこに見られた骨組織は未処置の筋肉内移植時のものより量も少く、出現時期も遅い。この事より既製結合織が骨組織に分化したとは考えがたく、そこに出来たものは刺戟物質を移植した事により生じた幼若結合織の移行したものである。この所見より線維芽細胞の分化の方向を変えて骨芽細胞に移行させる為には、非常に初期の段階で刺戟を加える必要があると思われる。

(4) 骨誘導物質について

既述の如く今回の実験に於て骨形成に際しては骨誘導なる機転が重要な役割を果している事を強調した。そもそも誘導なる概念は、Spemann(1936)の報告に始まる。即ち彼は胎生学的な実験を行なつてゐる際に非特異性未分化な細胞をある組織に移植した場合、その移植床の影響によつて或る一定の方向に分裂増殖して行く事を見出し、それを誘導という言葉で表現した。Levander(1938)は緻密骨を筋肉内に移植した場合の新骨形成が移植骨組織の分裂増殖ではなくて移植

母床の間葉系幼若未分化細胞が移行したものである事を推定し、このような変化は、移植骨より化学物質が流出して幼若間葉系細胞に到達し、その分化の方向をかえたものと考え、骨誘導現象の概念を提供した。そして骨折部仮骨より得たアルコール抽出液を幼若結合織内に注射して22%に新骨組織を作り得た。彼以後このような化学物質を追求して Annersten(1940), Bertelsen(1944), Lacroix(1945), Hartley(1949, 1951) Roth(1950)等は骨系統の組織を材料とし、その抽出方法も種々工夫をこらし、夫々或る程度の成果を収めた。Lacroix(1945)はこのような化学物質に対してOsteogeninと名づけている。今迄の報告の中で最も高率に骨形成を得たのはBertelsenであり、骨髄を材料として酸性アルコール抽出方法によつて83%という成功率を収めた。しかしHeinen(1949)等はこのような特殊化学物質の存在を否定し、単なるアルコールだけの刺戟でも骨細胞が得られると主張している。本邦では松本(1955)はアルコール抽出液で実験を試みたが新骨組織を得る事は出来なかつた。一方かかる骨誘導現象を骨系統以外の各種組織の移植で追求する研究もSacredotti & Frattin(1902)が腎血管の結紮によつて腎盂皮下結合織に骨形成を認めて以来、中本(1927), Huggins(1933), 新井(1956), 高橋(1957)はモルモット胆嚢粘膜炎を腹壁皮下に埋没して高率に骨形成を認め、Huggins(1936), 松本(昭30)等は家兎及び犬の膀胱粘膜炎を筋肉内に移植して、その周囲の結合織内に骨組織を作り得た。現在迄の研究では骨誘導物質がどのような化学物質であるか、又、未分化細胞のいかなる部分に刺戟を及ぼして、その分化の方向を変えるのか等は確かめられていないがLevander(1946)はリポイド様物質で脂肪酸の一種であらうと推定している。今回の著者の実験では骨形成を見たのは44例中3例であり、これをもつてOsteogeninの存在を断言する事は出来ないが、対照群には1例も骨形成が見られなかつた事より、このような物質の存在の可能性は充分考えられる。この方面の結論は尚今後の研究を待つ所が多い。

第5章 結 論

骨系統の各種組織を筋肉内に移植して、その骨形成過程を組織学的、組織化学的に観察し、骨誘導現象によつて新骨組織が形成される事を確かめ、更にこの骨誘導現象を惹起する化学物質の追及を試みて、次のような結果を得た。

1) 骨系統の各種組織を筋肉内に移植した場合の新骨形成率は海綿骨、骨髄、緻密骨、骨膜の順に低下する。

2) 骨損傷部の凝血を筋肉内に移植してその59%に新骨形成を見た。この事は骨折手術に際して、該部の凝血が仮骨形成に有効である事を意味する。

3) 骨形成の最も早いのは組織学的には5日目であり、レ線学的にはそれより5日乃至1週間遅い。

4) 移植組織は骨膜を除いて早期に壊死に陥り、超生増殖する像は全く認められない。周囲の幼若結合組織中の線維芽細胞が骨細胞に化生して、即ち、骨誘導現象により新骨組織が作られていく。新骨梁は最初、樹枝状であるが、漸次球形に変わり、内部に造血性骨髄を含むようになる。

5) 新骨梁は骨芽細胞より分泌された膠原線維が基質となり、そこに微細顆粒状の石灰塩が沈着して硬化していく。骨芽細胞列と石灰化部の間には石灰沈着準備層があり、PAS反応、フ反応、メタ反応等が陽性である。

6) 骨髄及び海綿骨より酸性アルコールで抽出液を作り、それを結合組織内に注射して、44例中3例に骨形成を認めた。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わった恩師近藤教授に感謝いたします。尚本研究は財団法人和風会医学研究所の設備及び研究費の援助による所が大であり、感謝の意を表します。

本論文の要旨は昭和35年4月2日、第33回整形外科学会総会に於て発表した。

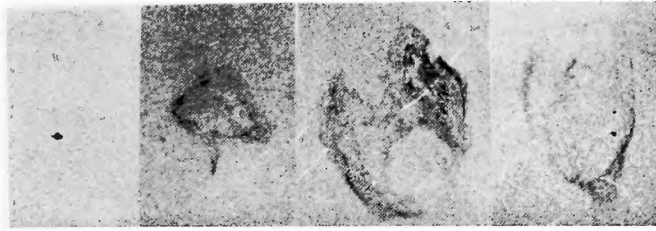
参 考 文 献

- 1) Annersten, S. : Experimentelle Untersuchungen ueber die Osteogenese und die Biochemie des Fracturcallus. Acta Chir. Scand., Supp l. 60, 1, 1940.
- 2) 新井東一 : 胆嚢粘膜移植による骨及び弾力線維の誘導について。慶応医学, 33, 22, 昭31.
- 3) Axhausen, G. : Die histologischen und klinischen Gesetze der freien Osteoplastik auf Grund von Tierversuchen. Arch. f. Klin. Chir., 88, 23, 1909.
- 4) Baetzner, W. : Ueber experimentelle freie Periostverpflanzung. Arch. f. klin. Chir., 118, 501, 1921.
- 5) Barth, A. : Ueber histologische Befunde nach knochenimplantationen. Arch. f. Klin. Chir., 46, 409, 1893.
- 6) Bertelsen, A. : Experimental investigations into post-foetal osteogenesis. Acta Orthop. Scand., 15, 139, 1944.
- 7) Bhaskar, S. N. et al. : A morphological and histochemical study of osteoclasts. J. Bone & Joint Surg., 38-A, 1335, 1956.
- 8) Bier, A. : Beobachtungen ueber Regeneration beim Menschen. Deutsch Med. Wochenschr. 44, 281, 1918.
- 9) Bier, A. : Beobachtungen ueber Regeneration beim Menschen. XI. Abhandlung. Spezieller Teil. Regeneration der Knochen Deutsche Med. Wochenschr., 44, 281, 1918. (66 Urist & McLean より引用)
- 10) Bruns, P. : Ueber Transplantation von Knochenmark. Arch. f. klin. Chir., 26, 1881. (36 Levander より引用)
- 11) Bull, Ch. R. : Experimentelle Studien ueber Knochentransplantation und Knochenregeneration. Oslo, 1928. (36 Levander より引用)
- 12) Cartier, P. : Mecanisme enzymatique de l'ossification. These Sc., Paris, 1952. (61 Stolkowski より引用)
- 13) Chase, S. M., et al. : The fate of autogenous and homogenous bone grafts. A historical review. J. Bone & Joint Surg., 37-A, 809, 1955.
- 14) 千島喜久男 : 骨髄造血学説の再検討—血球の可逆的分化説—. 東京, 医学書院, 1954.
- 15) Cohen, J. & Lacroix, P. : Bone and cartilage formation by periosteum. J. Bone & Joint Surg., 37-A, 717, 1955.
- 16) Dietrich & Hans : Die Histogenese des Callus. Arch. f. klin. Chir., 141, 27, 1926. (45 松森より引用より)
- 17) Gersch, I. & Catchpole, H. R. : The organisation of ground substance and basement membrane and its significance in tissue injury, disease and growth. Am. J. Anat., 85, 457, 1949.
- 18) Gutman, A. B. & Gutman, E. B. : A phosphorylase in calcifying cartilage. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 48, 87, 1941. (61 Stolkowski 引用より)
- 19) Hancox, N. : The osteoclast. The biochemistry and physiology of bone. 213-250, New York, Academic Press Inc., 1956.
- 20) Hartley, J. et al. : Osteogenesis produced by a chemical extract of bone. J. Mt. Sinai Hosp., 15, 383, 1949.
- 21) Hartley, J., & Tanz, S. S. : Experimental osteogenesis in rabbit muscle. Arch. Surg., 62, 845, 1951.
- 22) Heinen, J. H., et al. : The experimental

- production of ectopic cartilage and bone in the muscles of rabbits. *J. Bone & Joint Surgery*, **31-A**, 765, 1949.
- 23) Heller, M. et al. : Cellular transformation in mammalian bones induced by parathyroid extract. *Am. J. Anat.*, **87**, 315, 1950. (Bhaskar より引用)
- 24) Huggins, C. B. : The formation of bone under the influence of epithelium of the urinary tract. *Arch. Surg.*, **22**, 377, 1931.
- 25) Huggins, C. B. : Function of the gall bladder epithelium as an osteogenic stimulus and the physiological differentiation of connective tissue. *J. Exp. Med.*, **58**, 393, 1933.
- 26) Huggins, C. B. : Experiments on the theory of osteogenesis. *Arch. Surg.*, **32**, 915, 1936.
- 27) 市川 収 : 細胞化学. 東京, 本田書店, 1953.
- 28) 岩 喬 : 仮骨組織石灰化に関する研究. *日整会誌* **26**, 89, 昭27.
- 29) 河村謙二 : 骨移植. 東京, 医学書院, 1954.
- 30) Koelliker, A. : Die normale Resorption des Knochengewebes und ihre Bedeutung fuer die Entstehung der typischen Knochenformen. Leipzig, F. C. W. Vogel, 1873. (7 Bhasker より引用)
- 31) Lacost, A. : Sur l'origine et l'évolution des osteoclasts. *C. R. Soc. de Biol., Paris*, **88**, 704, 1923. (7 Bhasker より引用)
- 32) Lacroix, P. : Recent investigations on the growth of bone. *Nature*, **156**, 576, 1945.
- 33) Lacroix, P. : Organizers and the growth of bone. *J. Bone & Joint Surg.*, **29**, 292, 1947.
- 34) Leriche, R., Policard, A. : Les Problemes de la physiologie normale et pathologique de l'os. Masson, Paris, 1926. (49 Pritchard より引用)
- 35) Levander, G. : A study of bone regeneration. *Surg. Gynec. Obst.*, **67**, 705, 1938.
- 36) Levander, G. : An experimental Study of the Role of the bonemarrow in bone regeneration. *Acta Chir Scand.*, **83**, 545, 1940.
- 37) Levander, G. : Alcohol-soluble osteogenetic substance from bone marrow. *Nature*, **157**, 587, 1946.
- 38) Lexer, E. : Knochenbildung im Bindegewebe osteoplastischer Herkunft. *Deut. Zeitschr. f. Chir.*, **217**, 1, 1929.
- 39) Lison, L., 今泉訳 : 組織化学及び細胞化学. 東京, 白水社, 1956.
- 40) Loewi, G. : Changes in the ground substance of ageing cartilage. *J. Path. Bact.*, **65**, 381, 1953.
- 41) Macewen, W. : Discussion on development and growth of bone, normal and abnormal. Opening paper. *British Med. J.*, **2**, 766, 1912. (13 Chase より引用)
- 42) Matthews, B. F. : Collagen chondroitin sulfate ratio of human articular cartilage related to function. *Brit. M. J.*, **4793**, 1295, 1952.
- 43) 松本 昶 : 組織移植と骨組織新生に関するの実験的研究(第1報). *外科の領域*, **3**, 222, 昭30.
- 44) 松本 昶 : 組織移植と骨組織新生に関するInductionの実験的研究(第2報). *外科の領域*, **3**, 572, 昭30.
- 45) 松森 茂 : 骨形成に関する実験的研究. *四国医誌* **11**, 75, 昭32.
- 46) 宮内賢一郎 : 骨髓移植の動物試験的研究. *日外会誌*, **18**, 47, 大7.
- 47) 中本良春 : モルモット胆嚢上皮細胞の異所的増殖に就て.
- 48) Ollier & Louis : De la production artificielle des os au moyen de la trasplantation de perioste et des greffes osseuses. *Comp. Rend. Soc. de Biol.*, **5**, 145, 1858. (13 Chase より引用)
- 49) Pritchard, J. J. : The osteoblast. The biochemistry and physiology of bone. 179-212, New York, Academic Press Inc., 1956.
- 50) Von Recklinghausen, F. : Untersuchungen ueber Rachitis und Osteomalacie. Jena, F. Fisher, 1910. (7 Bhasker より引用)
- 51) Robison, R. : The possible significance of hexosephosphoric esters in ossification. *Biochem. J.*, **17**, 286, 1923.
- 52) Roth, H. : Extraktversuche mit konserviertem Knochengewebe. *Schweiz. Med. Wochenschr.*, **80**, 1051, 1950.
- 53) Rouiller, C. : Collagen fibers of connective tissue. The biochemistry and physiology of bone, 107-147, New York, Academic Press Inc., 1956.
- 54) Sacredotti, C. und Frattin, G. : Ueber die heteroplastische Knochenbildung. *Arch. f. Pathol. Anat.*, **168**, 431, 1902.
- 55) 斎藤 弘 : 移植自家骨片の運命に関する実験的研究. *千葉医会誌*, **30**, 434, 1952.
- 56) 佐藤光永等 : 線維細胞, 軟骨細胞, 骨細胞, 破骨細胞, 骨髓細胞の相互関係, (異物に対する組織反応ⅤⅢ). *日病会誌*, **43**, 487, 昭29.
- 57) 佐藤光永等 : 筋及び腱よりの骨形成, 特に多核巨細胞, 筋形成細胞, 骨細胞, 軟骨細胞について (異物に対する組織反応ⅤⅥ), *日病会誌*, **44**,

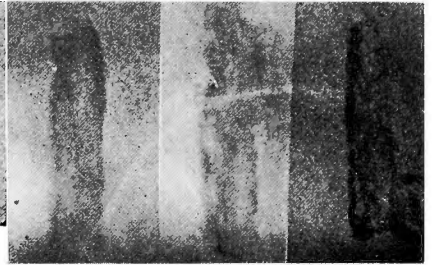
- 295, 昭30.
- 58) Siffert, R. S. : Experimental bone transplants. *J. Bone & Joint Surg.*, **37-A**, 742, 1955.
- 59) Spemann, et al. : Fortgesetzte Versuche zur Analyse der Induktionsmittel in der Embryonalentwicklung. *Naturwiss.*, **21**, 505, 1933.
- 60) Spemann, H. : Experimentelle Beiträage zueiner Theorie der Entwicklung. Berlin, 1936.
(35 Levander 1938 より引用)
- 61) Stolkowski, J., 松岡 訳 カルシウムと生命. 東京, 白水社, 文庫クセジュ, 1959.
- 62) 高橋左近: 膀胱粘膜, 胆嚢粘膜並びに前立腺上皮の脳内移植による骨組織並びに弾力線維新生について. *慶応医学*, **34**, 409, 昭32.
- 63) 高松英雄・赤星義彦: 硬組織におけるアルカリフォスファターゼの組織化学的証明法. *日外宝*, **26**, 301, 昭32.
- 64) 田中正三等: Ca^{45} を使用する真珠及び貝殻形成の化学機構の研究. (アイソトープ研究利用総覧 307~311). 東京, 日本原子力産業会議, 昭 32.
- 65) 上田寛一: 骨髄の自家移植に就きて. *日外会誌*, **17**, 28, 大6.
- 66) Urist, M. R., Mclean, F. C. : Osteogenetic potency and new-bone formation by induction in transplants to the anterior chamber of the eye. *J. Bone & Joint Surg.*, **34-A**, 443, 1952.
- 67) Urist, M. R., Mclean, F. C. : The local physiology of bone repair. *Am. J. Surg.*, **83**, 444, 1953.
- 68) Weinmann, J. P., & Harry, S. : Bone and Bones. *Fundamentals of Bone Biology*. St. Louis, The C. V. Mosby co., 1947.
- 69) Williams, R. G. : A study of bone growing from autografts of marrow in rabbits. *Anat. Rec.*, **129**, 187, 1957.
- 70) Wolbach, S. B. *Am. J. Pathol.* **9**, 689, 1933.
(53 Rouiller より引用)
- 71) 吉村義之: 仮骨分化の実験病理学的研究. *日整会誌*, **26**, 73, 昭27.
- 72) 吉村義之等: 異所的骨形成に就て. 第1報軟骨形成について. *日病会誌*, **41**, 222, 1952.

図3 骨髓移植群のレ線像



5日 10日 7週 15週

図4 緻密骨移植群のレ線像



5日 3週 10週

図5 骨髓移植1週 ×100 H. E. 染色 幼若結合組織の侵入部分に樹枝状骨形成が見られる

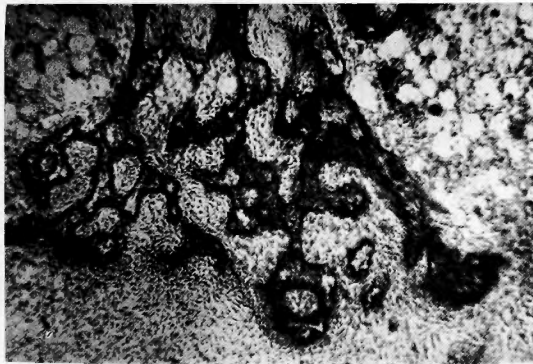


図6 骨髓移植1週 ×420 H. E. 染色 骨芽細胞と周囲の結合組織の線維芽細胞との間に移行像が見られる。

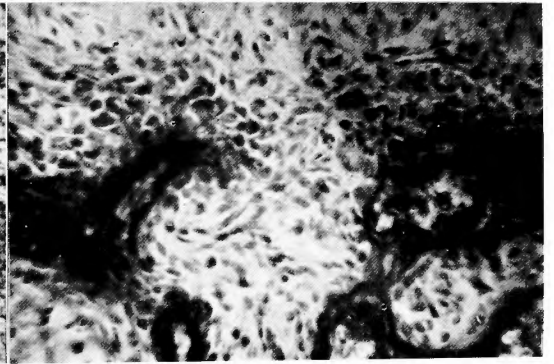


図7 骨髓移植1週 ×100 マロリー染色 新生骨梁と周囲結合組織の膠原線維は互いに移行錯綜している。



図8 図7の強拡大所見 ×420

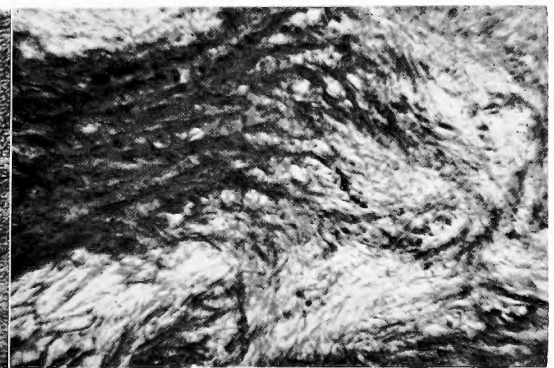


図9 骨髓移植1週 ×420 Ca染色 新骨梁の膠原線維に微細顆粒状の石灰塩が沈着する。

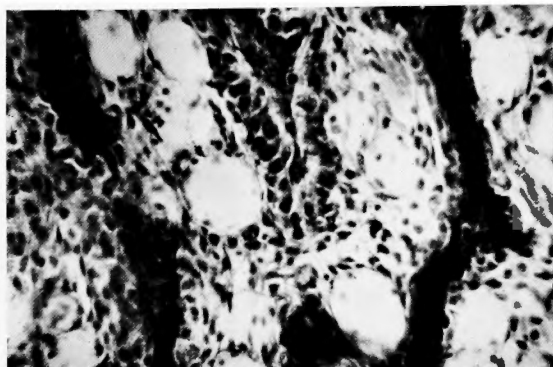


図10 骨髓移植10日 ×420 Ca染色 新骨梁の骨芽細胞列と石灰沈着部の間には石灰沈着準備層が存在する。

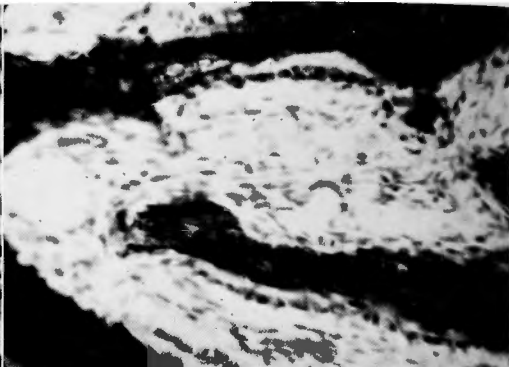


図11 骨髓移植1週 ×520 グ反応 移行期の細胞と骨芽細胞はグ反応陽性を示す。

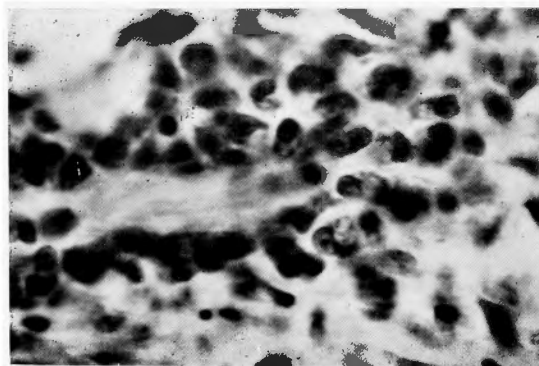


図12 骨髓移植10日 ×420 フ反応 移行期の細胞と骨芽細胞には主に細胞外に陽性幼弱骨細胞には細胞内に陽性。

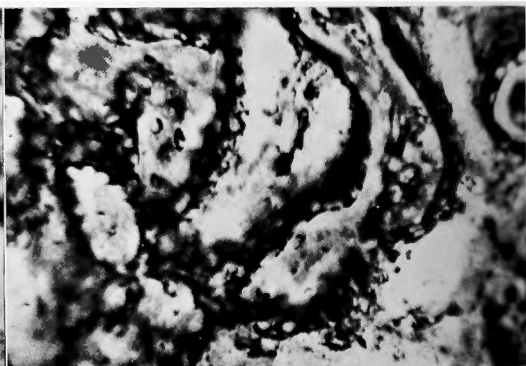


図13 骨髓移植10日目 ×420 マロリー染色 新しく添加した骨基質はマロリー染色で強靱染する。

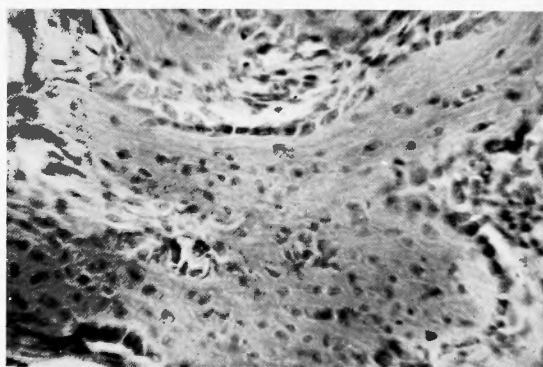


図14 骨髓移植10日目 ×420 PAS反応 骨芽細胞及び新骨梁はPAS陽性である。



図15 骨髓移植7週 ×100 H. E. 染色 新骨組織は球形となり内外骨膜で被われている。

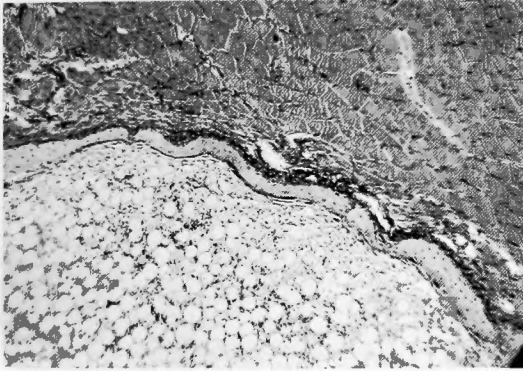


図16 海綿骨移植2週 ×100 H. E. 染色 移植骨細胞は変性消失し、新骨組織が添加的、樹枝状又は独立的に発達している。

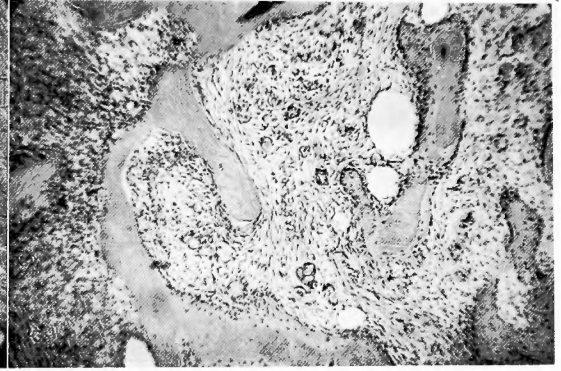


図17 海綿骨移植1週 ×420 H. E. 染色 新旧骨組織間には明らかに層の差が認められて両者の移行像はない。

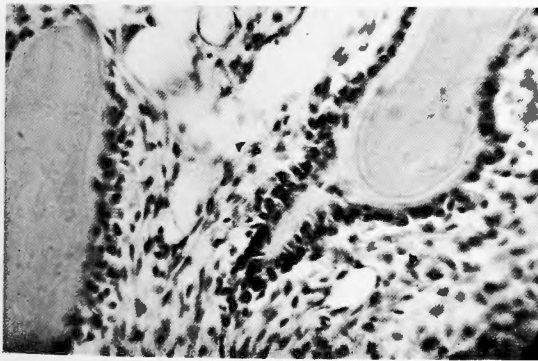


図18 海綿骨移植2週 ×420 メタ反応 移植骨梁に添加した新骨梁はメタ反応陽性である。

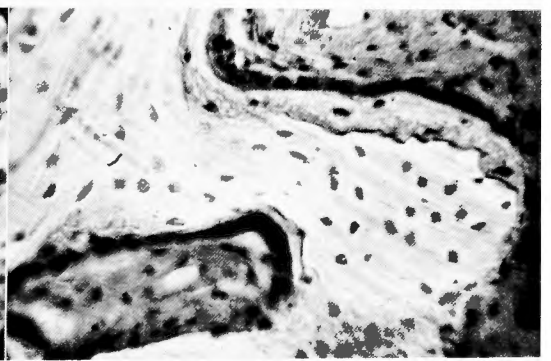


図19 海綿骨移植2週 ×420 H. E. 染色 新生骨組織が吸収される時には破骨細胞が多数認められる。

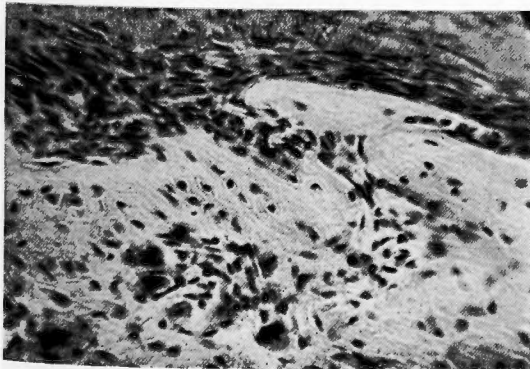


図20 海綿骨移植2週 ×420 H. E. 染色 移植壊死骨組織が吸収される時は破骨細胞は認められない。



図21 海綿骨移植2週 ×100 マロリー染色 新骨梁は膠原線維の強い青色を示すが壊死骨梁が吸収される所では青色は弱い。



図22 緻密骨移植1週 ×420 H. E. 染色 移植骨は早期に死滅し、添加的、樹枝状又は独立的に新骨梁が発達して行く。

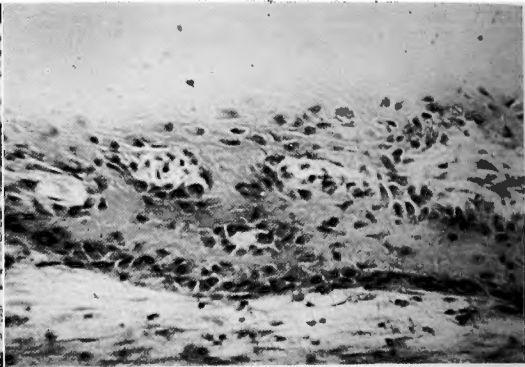


図23 骨膜移植2週 ×100, HE染色移植組織を取巻く結合織の中に形成された樹枝状の新生骨組織。

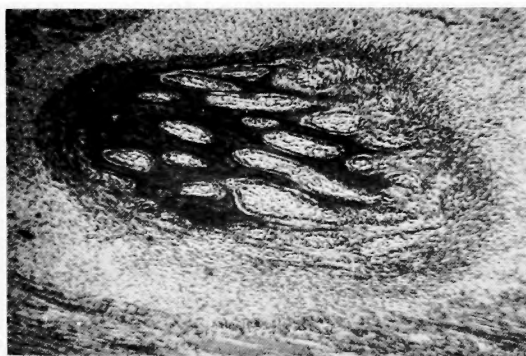


図24 図23の拡大所見, 骨芽細胞と線維芽細胞とは移行像を示し, 骨芽細胞列と石灰沈着部との間には石灰沈着準層が存在する。

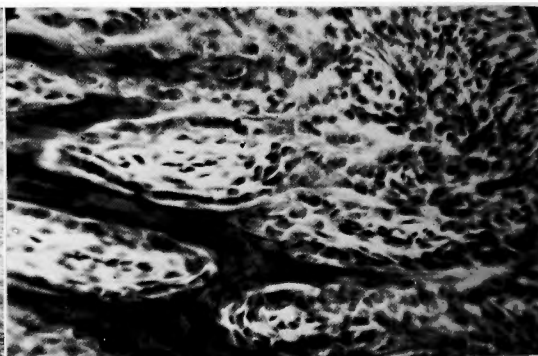


図25 骨膜移植3週×100 H.E. 染色 新生骨梁の左上に類軟骨組織が認められる。新生骨梁の内部には破骨細胞も見られる。



図26 骨膜移植3週×420 ワイゲルト染色 類軟骨組織には弾力線維が豊富である。しかしその線維は新生骨梁には全く認められない。

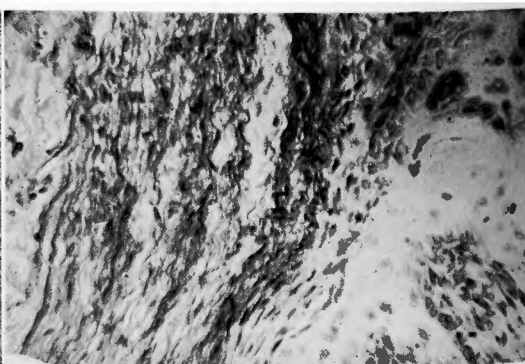


図27 骨組織の抽出液を注射して得られた新生骨 ×100 H.E. 染色

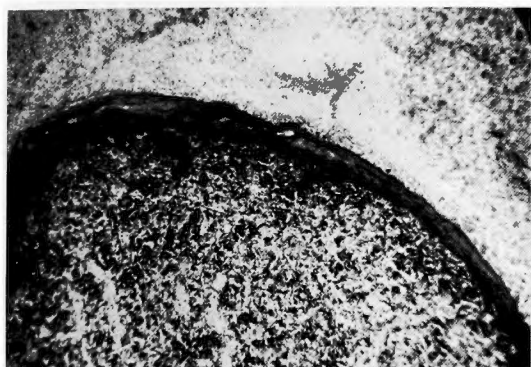


図28 図27と同じ標本, Ca 染色

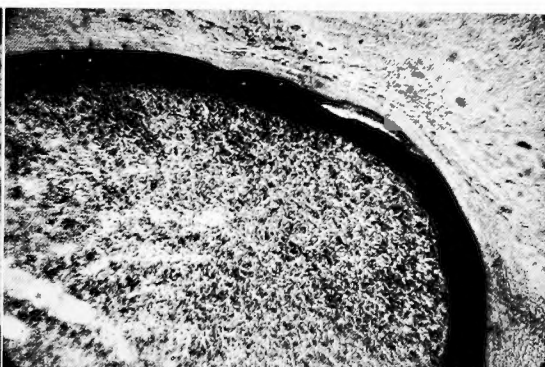


図29 図27と同じ標本, ×420 H. E. 染色 新骨組織は球形で内部に造血性骨髄を持っている。

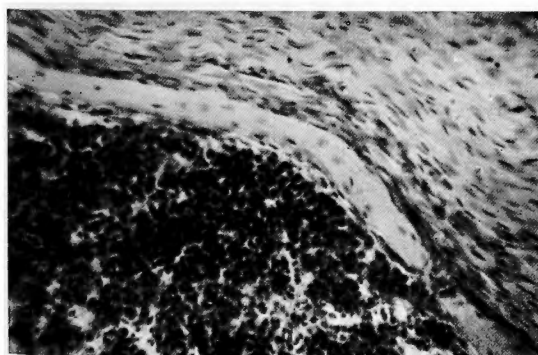


図30 骨組織の抽出液を注射して得られた新生骨, ×100 H. E. 染色

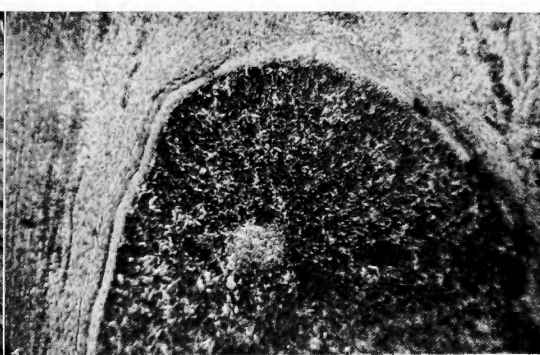


図31 骨組織の抽出液を注射して得られた新生骨 ×100 H. E. 染色

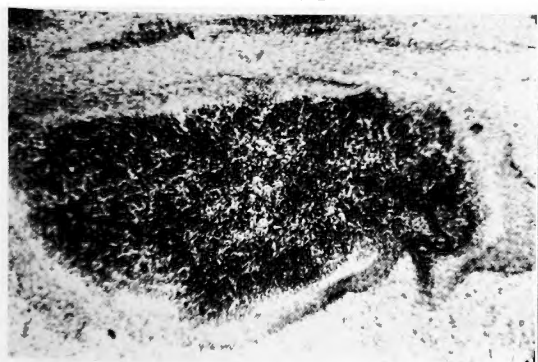


図32 図31と同じ標本 ×420 H.E. 染色 骨組織と周囲の結合組織の間に移行像が認められる。

