

坐骨神経切断及び股動静脈結紮の骨折治癒機転及び 骨端軟骨部に及ぼす影響に関する実験的研究

特にアルカリフォスファターゼ並びに多糖類の組織化学的観察

京都大学医学部整形外科教室 近藤鋭矢教授指導
厚生年金玉造整形外科病院 (院長 塩津徳政博士)

林 瑞 庭

原稿受付昭和33年 8月12日

EFFECTS OF CUTTING OF THE SCIATIC NERVE AND LIGATURE OF THE FEMORAL VESSELS ON THE HEALING MECHANISM AFTER FRACTURE AND ON THE EPIPHY- SEAL LINE

(WITH SPECIAL REGARD TO HISTOCHEMICAL
OBSERVATIONS OF ALKALINE PHOSPHATASE
AND POLYSACCHARIDES)

by

JUI-TING LIN

From the Tamatsukuri Welfare Pension Orthopedic Hospital
(Chief : Dr. NORIMASA SHIOTSU)

directed : Prof. Dr. EISHI KONDO Orthopaedic Surgical Clinic of Kyoto University Medical School

Sixty young rabbits were divided into 4 groups and the sciatic nerve was cut in the first group, the femoral vein was ligated in the second, the femoral artery was ligated in the third and the femoral vein and artery were both ligated in the fourth. After these preparations fracture was surgically made in the metatarsal bones and the healing process and accompanying changes in the epiphyseal line were observed both roentgenologically and histologically. At the same time phosphatase and PAS reactions were examined and their time courses and distributions of these substances were discussed.

The results obtained were as follows :

1. In the first group in which the sciatic nerve had been cut, comparing to the control, the callus in the seat of fracture was somewhat abundant. Though the absorption and displacement of the callus which was thus abundantly formed delayed slightly, healing was perfectly accomplished in the seat of fracture. In the experimental group too, as was seen in the control group, the longitudinal width of the epiphyseal cartilage increased partly due to the influences of the injury in the bones in the early stage(1 week) after fracture. But the formation of bone trabeculae at epiphysis was not so vigorous, which subsided mostly in the middle and late stages.

2. Only slight changes were observed in the second group in which the femoral vein had been ligated. The animals presented almost the same time course as the control, and no significant difference was observed. It appeared that the effects of the local stagnation of blood due to the ligation of the femoral vein were quite small.

3. On the contrary, in the third and fourth groups in which the femoral artery and the both femoral vein and artery had been ligated respectively, the formation of callus was quite poor in the seat of fracture. The reconstruction of the callus also delayed until the late stage (4-5 weeks) when it was promoted greatly. However, in some cases, the ossification was not accomplished and pseudoarthrosis was resulted. In the early and middle stages (2-3 weeks) the longitudinal width of the epiphyseal disc increased partly or mostly and insufficiency of bone trabeculae formation at the epiphysis was present.

In some cases these abnormalities did not recover in the late stage. It can be concluded that the ligation of femoral artery affected the formation of bone greatly.

4. Each of the above stated treatments on the nerves and vessels having been performed, the distribution of alkaline phosphatase and PAS reaction positive substance in the fractured site and epiphyseal band and the fluctuation of their concentrations were precisely examined and the significance was considered.

5. As a result it was ascertained that phosphatase made its appearance in the active tissues with vigorous metabolism at a high concentration. On the contrary, in the undifferentiated tissues or in those the activity of which had already subsided, it appeared only at a low concentration.

6. Phosphatase had no direct relation to the calcification of bone and makes its appearance at the site where ossification is actively proceeding. It is supposed that it plays some important parts in the differentiation of cells or formation of the protein substate of the bone.

7. It is observed that, in the stage preceding to calcification, the substance which reacts to PAS test increased while phosphatase reaction decreased in extent and that, in some parts of the static and producing layers of the epiphyseal band, PAS reaction was strongly positive while phosphatase reaction was negative. To understand the relation between these two phenomena, further study would be required.

目 次

第1章 緒 言

第2章 骨折治癒機転及び骨端軟骨部のレ線学的・組織学的観察

第1節 観察方法

第2節 実験成績

第1項 対照群に於けるレ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

II 組織学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

第2項 第1実験群(坐骨神経切断例)に於けるレ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

II 組織学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

第3項 第2実験群(股静脈結紮例)に於ける

レ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

II 組織学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

第4項 第3実験群（股動脈結紮例）に於ける

レ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

II 組織学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

第5項 第4実験群（股動・静脈同時結紮）に於けるレ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

II 組織学的所見

A) 骨折部 B) 骨端軟骨部

第3節 小 括

第3章 骨折治癒機転及び骨端軟骨部の組織化学的観察

第1節 観察方法

第1章 結 言

骨折の治癒過程に於ては肉芽組織の形成は予備的な段階であり、之等が化成されて暫定的な仮骨となり、更に複雑な組織修復を経て治癒に向うものである。この治癒に到達する過程が内的、外的因子に依つて質的、又は形態的に著しい影響を受けることは既に諸家の研究により明らかにされている。而してこの機転は成長期にあるものでは骨端軟骨部にも種々の変化を与え、長管状骨の骨成長に影響があると思われるが、神経障害に対する支配下の骨の影響については種々研究されているにも拘らず、今日に到るもなお厳密な関係は明瞭ではない。神経切断に依つて筋肉の不働化及び血流の変化を齎らすことは明らかであるが、之に依つて起る支配下の骨の変化、又は骨折部の仮骨の変化が筋肉の廃用によるものか、循環障害によるものか、将又神経切断そのものによるか、その区別は甚だ困難である。

著者はこの関係を再検討すべく幼若家兎を使用し、坐骨神経切断及び股動・静脈結紮を行い、中足骨に於ける骨折修復の過程及び骨端軟骨部への影響をレ線学的並びに組織学的に検討すると共に、骨、軟骨代謝に

第2節 実験成績

第1項 対照群の Alkaliphosphatase（以下 Al-P-aseと略す）及び「PAS」反応所見

I 骨折部所見

A) Al-P-ase反応 B) 「PAS」反応

II 骨端軟骨部所見

A) Al-P-ase反応 B) 「PAS」反応

第2項 処置群の Al-P-ase 反応 及び「PAS」反応所見

1) 坐骨神経切断例の Al-p-ase反応 及び「PAS」反応

2) 股静脈結紮例の Al-P-ase 反応 及び「PAS」反応

3) 股動脈結紮例の Al-P-ase 反応 及び「PAS」反応

4) 股動脈・静脈同時結紮例の Al-P-ase 反応及び「PAS」反応

第3節 小 括

第4章 総括及び考按

第5章 結 論

主要文献、附図

重要な役割を演ずる Alkaliphosphatase（以下 Al-P-aseと略す）、及び「PAS」反応陽性物質の骨折部及び骨端軟骨部に於ける消長の推移を組織化学的に検討した。

第2章 骨折治癒機転及び骨端軟骨部のレ線学的、組織学的観察

第1節 観察方法

体重500～700gの健康幼若家兎60羽を使用、之を4群に分け、各家兎の両側中足骨に同時に人工的に骨折を起さしめた。

第1群は左側臀部で坐骨神経を露出して之を約0.2cm切除し、右側は神経切除を行わずに対照として観察に供した。

第2群では大腿三角部で股静脈を露出して上下2ヵ所之を結紮し、右側は対照として使用した。

第3群は大腿三角部で股動脈を露出して、上下2ヵ所之を結紮し、右側は対照として使用した。

第4群は大腿三角部で股動・静脈を露出して、上下2ヵ所之を同時に結紮し、右側は対照として観察に供した。

以上4群とも主として「おから」、野菜等によつて

飼育した。

観察期間は第1群から第4群迄すべて5週間とし、各週毎に中足骨を剔出観察した。骨折片の転位の著明なもの、或は感染等の二次的要因の加わつたものは除外した。骨折端接合の全く同様なものを求めることは困難であるが、それでも中足骨の場合は比較的転位が少いので、略々所期の目的を達し得た。各動物とも剔出標本を直ちに「レ」線撮影し、無水アルコール、純アセトン等量液にて固定、5%E.D.T.A.液にて脱灰し、ツエロイジン包埋後切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン二重染色、Lillie氏過ヨード酸 Schiff 反応、Al³⁺-P-ase 反応染色による検索を行った。

第2節 実験成績

第1項 対照群に於けるレ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部

中足骨の如き小さな長管骨の骨折実験では前述の如き二次的要因、或は動物個体の栄養状態に強く影響されるため、レ線学的に微細な変化を求める事は困難であるが、著明な変化について概括的に記載する。

骨折初期(第1週末)

第1週末では既に骨折端よりやや離れた部分で骨幹に沿って淡い陰影を生じているのを認める。

骨折中期(第2～3週末)

第2週末では骨幹部より生じた陰影はその幅を増大しつつ骨折端に向つて拡大し、濃度も増加して典型的な嚢状形成を呈する。

第3週末になると、両端からの陰影が全く連絡し、骨折部を中心として架橋を完成して紡錘状となり、骨折端の骨幹部皮質の陰影が濃くなり、お互いに接合してくるが、多くはなお中央部に帯状の透明帯を残している。

骨折後期(第4～5週末)

第4週末に於ては骨折部を中心に紡錘状に外仮骨陰影の大部分は吸収され、中央帯状透明層が消失すると共に、骨幹部骨皮質は全く癒合して密網状陰影にて満されている。第5週末になると、中央部の陰影は僅かに薄い線として残存して骨折部の修復は略々完成される。

B) 骨端軟骨部所見

骨折初期では骨端軟骨陰影が濃度を増大し、骨端軟骨透明帯の縦の幅員の増大を伴う例も多く認められたが、骨折中・後期では略々正常に復し殆んど特記すべき変化が見られなかつた。

II 組織学的所見

A) 骨折部所見

第1週末では骨折端部を中心に多量の線維性結合組織が認められ、骨折端間に器質化されつつある凝血塊が散見される。骨折端附近の線維結合組織中には軟骨又は類軟骨組織が認められ、軟骨性仮骨は骨幹部皮質に近いほど成熟しており、一部には既に軟骨内化骨機転が営まれているのが見られる。一方骨折端よりやや離れた部分では骨芽細胞に富む新生骨梁が骨幹部皮質と直角又は骨折端附近の軟骨性仮骨へ向つて伸展している。外骨膜は著しく肥厚し骨折端附近では、軟骨性仮骨等で外方に押し上げられている。又骨折端よりやや離れた骨幹内面より骨髓腔に向う一層又は二層の骨芽細胞を有する幼若類骨骨梁、即ち内仮骨が認められる。骨折端附近の骨皮質は壊死に陥っているが、やや離れた所では逆に Havers 氏管、Valkmann 氏管の拡張によつて凸凹不整多孔性が認められる。

第2週末になると、外仮骨は骨折部を中心に膨脹が著明となり丘状を呈する。即ち軟骨性仮骨は益々増大するとともに、大部分の細胞は泡化成熟して楕円形又は球状を呈し、所謂硝子様軟骨となる。新生骨梁は多量の骨芽細胞を含有すると共に破骨細胞も多数認められるようになり、軟骨性仮骨との接触部で旺盛な軟骨内化骨機転が営まれている。更に軟骨内に侵入した血管を中心とした化骨現象や、外骨膜より線維性結合組織が増殖し、軟骨細胞を吸収すると同時に、他方では外骨膜性細胞の化成による骨組織の新生も認められる。

第3週末になると、骨化機転は益々進行し、軟骨性仮骨は減少するが、軟骨組織の遺残している骨梁が多数認められるようになる。骨折端間隙は類骨組織で閉鎖される一方、破骨細胞も多数認められ、吸収機転もかなり進行しているのが見られる。然しながら軟骨性仮骨がなお一部残存しているのが認められた。

第4週末では、外仮骨の吸収機転は著しく進行し、骨折端附近の団塊状小軟骨組織を残して、仮骨の大部分は骨梁化する。

第5週末になると、軟骨性仮骨は完全に消失し、骨折部で多数の破骨細胞の認められる少量の骨梁を見るのみとなり、骨髓腔形成が完成に近いことを示している。

B) 骨端軟骨部

第1週末では大部分骨端軟骨の縦の幅員が増大し、骨幹端新生骨梁もやや旺盛である。

軟骨細胞の配列は静止層、増殖層、成熟層、石灰化層と比較的整然と並んでいる。一部には中央部で特に幅員が増加し、骨幹側深く突出しているのが認められた。増殖軟骨細胞は殆んど成熟軟骨細胞で占められている。

第2週末では骨折初期に見られた骨端軟骨の変化は殆んど見られなくなり、僅かに骨幹端骨梁がやや旺盛に認めるのみとなる。軟骨細胞の配列は整然として居り、化骨線も略々典型的な弧状を画く。

第4～5週末では骨端軟骨幅員は狭小化するが、軟骨細胞の配列は整然としている。骨幹端骨梁形成は初期に比しやや減少する。

第2項 第1実験群（坐骨神経切断例）に於けるレ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部

第1週末では骨折端よりやや離れた骨幹皮質に沿う淡い陰影を認め、第2週末になると陰影はその幅と濃度を増加することは対照と同様である。然しながら外仮骨陰影は僅かながら一般的に対照に比して豊富である。

第3週末では両端からの陰影が全く連絡し第4～5週末に到つて骨折端皮質の癒合は完成し骨折部の修復は略々完了する。

B) 骨端軟骨部

第1週末では骨端軟骨透明帯の縦の幅員の増大を伴う例を多く見られ、骨折中・後期でも略々対照と同様な経過が認められた。

II 組織学的所見

未分化線維性結合組織、軟骨性仮骨、類軟骨性組織、骨幹皮質に沿う新生骨梁材共に第一週末には量的にやや豊富に認められ、第2週末に至つてもこの傾向が続いて居り、一方軟骨内化骨機転も対照に劣らず旺盛である。骨折後第3週目になると、骨化機転が進行するが、やや過剰に生じた軟骨性仮骨の吸収、改造が対照ほど進行して居らず、軟骨組織を含有した骨梁が比較的多数見られた。骨折後第4週目になると、外仮骨の吸収は著しく進行するが、なお団塊状小軟骨組織を多く認める。

第5週末では略々対照同様骨折端の癒合は完成する。

B) 骨端軟骨部

骨折初期では骨端軟骨は対照と同様、幅員の一部又は大部分が増大している。一方骨幹端新生骨梁形成は

正常又はやや劣っているのが認められた。骨折中期では軟骨細胞の配列のやや乱れている例があつたが、初期の如く幅員の増大している例は見られなかつた。

骨折後期では対照と同様、骨端軟骨幅員の狭小と、骨梁形成がやや貧弱化する。

第3項 第2実験群（股静脈結紮例）に於けるレ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部

第1週末では骨折端よりやや離れた骨幹皮質に沿う淡い陰影が認められる。第2週末では幅が増大し、濃度も増大するが、外仮骨陰影が量的にやや少い例が多少見られた。第3週末では骨折部を中心として両側の陰影は架橋状に繋り、外仮骨陰影は量的にやや減少するが、濃度は益々増強する。第4～5週末では骨膜性仮骨陰影は殆んど吸収され、骨端部皮質は互に全く癒合し、骨折部は密網状陰影で横断されるのみとなり、骨折部の修復は略々完成する。

B) 骨端軟骨

骨折初期では軟骨透明帯の幅員増大が認められる例が多く見られ、一方之に接する骨幹端陰影の増強が認められた。骨折後第2週目では透明帯の幅員の増大は殆んどなくなり、僅かに骨幹端陰影の増強が残存しているのみで、第3週末以後は略対照と同様である。

II 組織学的所見

第1週末 骨折端附近では類軟骨組織、軟骨性仮骨が認められる。やや離れた骨幹皮質に接して、類骨組織が認められ、骨折端間は器質化されつつある凝血塊及び幼若結合組織で満されている。第2週末になると外仮骨は骨折端部を中心に丘状に膨隆し、類骨組織も中央部に向つて發育しているのが認められたが、未だ連絡するに至らないものが多い、軟骨性仮骨も大部分成熟泡化し、軟骨内骨化機転も旺盛であるが、仮骨量がやや少い例が少数ながら認められた。第3週末になると骨梁の増殖は益々盛んとなり、骨折端部で連絡架橋する。この場合、軟骨組織を多く含有した骨梁が豊富に認められるのは対照と同様である。第4週末になると、上記の骨梁を残して軟骨性仮骨は殆んど吸収、置換されて消失し第5週末に至つて骨折端部の骨性癒合は略々完成する。

B) 骨端軟骨部

第1週末 骨端軟骨は大部分増大するが、配列は規則整然としている。石灰化軟骨層に近い所に数層の染色性の悪い萎縮に陥つた軟骨細胞層の認められるもの

がある。軟骨内化骨機転は比較的正常に保たれている。増殖した細胞は大部分成熟軟骨細胞である。

第2週末 軟骨層は殆んど正常に復し、化骨線はほぼ規則正しい弧状を画いて居り、軟骨内化骨機転も正常である。

第3週末になると軟骨幅員はやや狭小化し骨梁形成もやや減弱し、第4～5週末へと続いている。

第4項 第3実験群（股動脈結紮例）に於けるレ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部

第1週末では、大部分外仮骨陰影が見られない。第2週末になつて、骨幹皮質に沿う外仮骨陰影が漸く明瞭となるが、対照に比して量的に僅少で且つ影像がやや淡明に認められる。又仮骨陰影が偏側にのみ出現する例もある。

第3週末では仮骨陰影は量的にも、質的にも増強し、骨折端部ではほぼ架橋連絡される。第4～5週末に至つて骨膜性仮骨陰影は大部分消失し、骨折部の骨性癒合はほぼ達成されるが、条件の悪い例では第5週末でも骨折部に透明帯として残存し、明らかに骨癒合が遅延しているのも認められた。

B) 骨端軟骨部

第1週末では、骨端軟骨透明帯の縦の幅員の一部又は大部分の増大と同時に、骨幹端陰影の増大が認められる。第2週末に至つても、対照と異なり初期に見られた変化が残存して居り、軟骨透明帯の増大と共に、骨幹端陰影の稀薄化の認められる例があつた。

第3週末ではかかる変化が殆んど見られなくなり、第4～5週末と続いているが、条件の悪い例では、骨端軟骨透明帯及び骨幹端陰影の早期消失、又は骨幹端部の異常肥厚の認められた例があつた。

II 組織学的所見

A) 骨折部

骨折端間の血塊の器質化がやや遅延している。骨折端附近には類軟骨組織又は軟骨性仮骨が見られ、やや離れた骨幹皮質に接して幼若新生骨梁が認められるが、量的には対照に比し僅少である。而も軟骨性仮骨では成熟軟骨細胞は非常に少く、軟骨内化骨機転も殆んど出現していない。第2週目では軟骨性仮骨の量が増加すると共に、質的には分化成熟度も増加するが、なお対照に比して僅少で、軟骨内化骨機転も甚だ貧弱である。而も之に接する新生骨梁は骨芽細胞が少く、又骨折端間に充分器質化されていない凝血塊が未だ残

存している例も認められ、明らかに仮骨形成が障害されていることが知られる。

第3週末では、骨化機転がやや進行するとともに、軟骨性仮骨の軟骨細胞は殆んど成熟し、軟骨内化骨機転も漸く盛んとなる。

第4週末になると、恢復がやや速くなり、軟骨仮骨の大部分は吸収置換されて骨梁化し、第5週目では大部分骨折端間の骨性癒合が達成された。然しながら、条件の悪い例では第5週末に到つても骨折間隙がなお大部分線維性結合組織で満され、中に吸収整理されない小骨片を認め、骨折部の骨性癒合の充分達成されていない例も認められた。

B) 骨端軟骨部

骨端軟骨細胞層の幅員の一部又は大部分の増大が認められ、化骨線に近い3～4層に染色性の悪い萎縮軟骨細胞層が見られる。化骨線も所々で断裂し、残存軟骨基質梁は短く、原生骨梁形成もやや貧弱に認められる例が見られた。骨折2週目でも、骨幹端深く突出増大した軟骨細胞層、化骨線の消失、骨幹端骨梁中に於ける吸収されない軟骨細胞層の存在、骨梁の疎開、且不整等の種々な所見を呈する例が見られ、明らかに軟骨内化骨機転の障害と認められる。第3週末以後ではかかる変化を呈する例が少くなるが、第5週末に至つて骨幹端骨梁の異常肥厚例や、骨端軟骨細胞が殆んど消失し、骨幹端面側に僅かに残存し、而も骨梁も殆んど消失している興味ある例が見られた。

第5項 第4実験群（股動・静脈同時結紮例）に於けるレ線学的・組織学的所見

I 「レ」線学的所見

A) 骨折部

第1週末では外仮骨陰影は全然出現しない。

第2週末では骨幹皮質に沿う外仮骨陰影が出現するが、対照に比し僅少、且つ稀薄である。第3週末では両端からの陰影が漸く連絡し、第4週末に至つて外仮骨陰影が消失し骨折端部の癒合が見られ、対照に類似して来る。第5週末で骨折端部は大部分の例で達成された。然しながら転位のやや甚しかった条件の悪い例で、骨折部がなお透明帯として残存し、仮関節様の状態を呈するものも認められた。

B) 骨端軟骨部

第1週末では骨端透明帯の縦の幅員の増大と同時に、骨幹端陰影が稀薄化している例が多く見られた。第2週末でも同様な変化が見られるが、第3週末ではこの変化が少くなる。然しながら第4、5週目に至つて

骨幹端陰影の不規則化の認められる例もあつた。

II) 組織学的所見

A) 骨折部

第1週末では骨折端間、又はその附近で凝血塊が見られ、その周辺に多数の多核巨大細胞が見られるが、一般にその器質化が遅延している。第3実験群と同様、骨幹皮質に接して見られる幼若新生骨梁、類軟骨組織、軟骨性仮骨は対照に比して甚だ少く、且つ充分分化成熟した軟骨細胞を有する軟骨性仮骨も少い。軟骨内化骨機転も未だ殆んど出現していない。第2週末に至つて軟骨性仮骨の量がやや増加すると共に、仮骨内軟骨細胞も泡化成熟するが、軟骨内化骨機転は対照に比し貧弱である。骨梁は骨芽細胞が少く、これに反し破骨細胞が多く見られ、増殖機転よりも吸収機転の方が旺盛な感がある。第3週末に至つて新生骨梁形成がやや旺盛となり、軟骨内化骨機転も活発となるが、一部には充分分化していない類軟骨組織も散見され、仮骨形成障害が残存していることが知られた。

第4週末でもなお多くの軟骨性仮骨を残存し、骨折の治癒機転がやや遅延している感があるが、第5週末になると条件の良好な例では大部分骨折端の骨性癒合が達成されている。然しながら転位のやや甚しかつた少数の例では、骨折端間隙に、不規則な形を呈する軟骨細胞を有する軟骨性仮骨が見られ、この部で軟骨内化骨機転が営まれており、又吸収されていない遊離骨折片も認められ、仮関節様所見の見られる例もあつた。

B) 骨端軟骨部

第1週末では骨端軟骨細胞層の縦の幅員が著しく増大し、配列もやや乱れている例が多い。増大した軟骨細胞層の一部に萎縮した軟骨細胞層が見られ、化骨線も不規則となり、甚しい例では消失している。而も骨幹端原生骨梁、二次性骨梁は疎開、且つ短かく、軟骨内化骨機転の障害が明かである。第2週末では更に多彩な変化が見られる。即ち萎縮軟骨を含む細胞層が多く見られ、化骨線の完全消失とともに、骨幹端新生骨梁の著しい形成不良を示す例や、骨端軟骨の中央部が分離し、中に無構造組織の認められる例等が見られた。第3週末でもなお軟骨細胞層内に骨端より骨梁が進入している例が見られた。第4,5週末では、軟骨細胞層の著しい狭小化、細胞配列の不規則化が見られる例があつた。

第3節 小 括

1) 対照群では第1週末で軟骨性仮骨、新生骨梁形

成がかなり認められ、骨折端間の凝血塊は大部分器質化され、一部では軟骨内化骨機転も既に出現している。第2週末では豊富な軟骨性仮骨や新生骨梁で骨折端間を紡錘状に包み、軟骨内化骨機転も非常に旺盛となつている。第3週目になると骨化機転が益々進行し第4週末になると外仮骨の吸収が急速に始まり、第5週末に至つて骨折端間の骨性癒合が略々達成される。

骨端軟骨部では、骨折の影響で第1週末に骨端軟骨の縦の幅員の増大、及び骨幹端新生骨梁形成がやや旺盛に認められる例が多いが、軟骨細胞の配列は整然としている。第2週末では、この現象が殆んど見られなくなり、僅かに骨梁形成がやや旺盛に認められるのみとなる。第3週以後では軟骨副員の狭小化以外特記すべき所見がなかつた。

2) 坐骨神経切断例では、骨折の初期、中期に於いて外仮骨形成が比較的豊富で、軟骨内化骨機転もかなり旺盛に認められた。骨折後期では仮骨の整理、吸収に多少の遅延があつたが、第5週末では殆んど例で骨折端骨性癒合が達成された。

骨端軟骨部では骨折初期に対照と同様、軟骨幅員の増大が認められたが、骨幹端骨梁形成はさほど旺盛ではない。骨折中・後期は対照と全く同様である。

3) 股静脈結紮例では骨折の初期・中期に対照に比して仮骨形成のやや不良な例が少数例認められたが、大部分は対照に比して余り遜色が見られない。軟骨内化骨機転も比較的旺盛であり、仮骨の整理も順調で、第5週目には大部分に於て骨性癒合が達成されていた。

骨端軟骨部は骨折の初期では骨端軟骨の幅員の増大が認められるが、染色性の悪い萎縮細胞の見られる例もあつた。骨梁形成は略々正常又は多少劣る程度である。第2週末以後は対照に比し比して特に変つた所見が見られなかつた。

4) 股動脈結紮例では骨折初期、中期を通じて外仮骨の量が著しく少量で、軟骨内化骨機転も甚だ貧弱である。骨折後期ではこの仮骨障害が、やや恢復し、第5週末になると大部分の例で骨性癒合が営まれていた。然しながら条件の悪い例では、この時期に至つても尚仮関節様所見を呈するものがあつた。

骨端軟骨部でも骨折初期に増大した軟骨中に萎縮した軟骨細胞層を認め、軟骨内化骨機転の著しい障害が見られた。この状態で骨折中期まで経過するが、骨折後期では骨端軟骨部の早期閉鎖の所見も見られた。

6) 股動・静脈同時結紮例

骨折初期、中期を通じて前者と同様に外仮骨形成が

貧弱、且つ軟骨内化骨機転も甚だ減弱している。骨折後期に至ると大部分回復するが、転位のやや甚かつた少数例に仮関節様所見を呈しているのが見られた。

骨端軟骨部の変化は骨折初期、中期を通じて更に多彩を呈するが、骨折後期にも尚軟骨細胞の配列の乱れを認めた例があつた。

第3章 骨折治癒機転及び骨端軟骨部の組織化学的観察

第1節 観察方法

I, アルカリフォスファターゼ証明法 (高松・赤星法に依る)

- 1) 無水アルコール・純アセトン等量混合液で固定 (2~3日)
- 2) 5% E.D.T.A. (5% Diodiumsalt と 5% Tetrasodiumsalt の等量混合液 pH 7.0) 液で脱灰する (4~7日間)
- 3) ツェロイジン包埋を行い切片を作製する
- 4) 切片を水洗して 1% 塩化マグネシウム液にて再活性化する。
- 5) 基質液 1% β -グリセロリン酸ソーダ
 { 1% 塩化カルシウム
 Palizsch 硼酸緩衝液 (pH 9.2) }
 に入れて反応せしめる (8~15時間)
- 6) 5% 硝酸銀に 7~10分
- 7) 37% 中性ホルマリン還元 (7~10分)
- 8) 再び水洗した後 0.1% 塩化金液に 2~3 時間漬けて金属液を金に置換する。
- 9) 5% チオ硫酸ソーダで定着。
- 10) 充分水洗した後、ケルネエヒロートを使用し後染色する。

Al-P-ase 作用部位は美麗な紫又は青紫色に染色され、後染色により細胞核、その他は淡赤色に着色する。

II 多糖類染 (Lilli氏法 PAS反応)

- 1) 切片をリリー氏酸化剤 10分間漬ける。
- 2) 水洗後 Schiff 試薬に 15~45分間作用せしめる。
- 3) M/20 異性重亜硫酸水液にいれ、4~5分間づつ 3回洗う。
- 4) 流水で洗った後、鉄ヘマトキシリン第1溶液の中に約 1 時間、第2溶液の中に 10~20分後染色
- 5) 飽和ピクリン酸溶液で脱色。

多糖類陽性のものは赤~赤紫色となる。

第2節 実験成績

第1項 対照群の Al-P-ase 反応及び「PAS」反応所見

I) Al-P-ase 反応

第1週末 骨幹皮質に沿って配列する幼若新生骨染、骨染間線維結合組織、破骨細胞はいずれも中等度陽性、造骨細胞は強陽性又は中等度陽性である。線維結合組織は概ね陰性であるが、骨幹皮質に接する所、又は骨端附近では弱陽性を呈する。肥厚しつつある外骨膜内層は強陽性であるが、外層は陰性。軟骨性仮骨では骨幹皮質に近い分化成熟軟骨細胞層は中等度陽性から強陽性であるのに対し、未分化幼若型、又は類骨組織は弱陽性である。又この時期に出現する軟骨性仮骨で Al-P-ase 反応の全然見られないものもある。即ち一般に類軟骨組織から中間体、成熟細胞層へと移行するに従つて Al-P-ase の活動が増強する。血塊は陰性、又は弱陽性、之を取り囲む線維性結合組織、多核巨大細胞は弱陽性から中等度陽性に反応する。内仮骨の新生骨梁は弱陽性、骨折端、遊離骨片は痕跡的に見られるのみとなる。Haver氏管、Volkmann氏管、及び血管の内腔壁は中等度陽性に反応する。

第2週末では、益々増大する骨梁は、骨折端に近づくほど Al-P-ase 反応が強くと出現する。これは骨折端附近の骨梁は吸収、置換、増殖と旺盛な活動を行つているのに対し、離れている骨梁は一般に改造機転が完成し、活動が衰弱しているためと考える。この時期になると軟骨性仮骨の大部分は成熟した軟骨細胞で占有され Al-P-ase 反応も、之等の細胞間質、原形質内で中等度から強度に出現する。然しながら軟骨内化骨機転の行われている化骨線に接する泡化軟骨細胞層では細胞間質から Al-P-ase 反応が甚だ低下しているのが認められた又軟骨性仮骨内に侵入した血管を中心とした化骨しつつある領域、外骨膜細胞の化成による骨組織の新生部でも急速に、Al-P-ase 反応の減弱がみられた。

骨折後第3週末になると、軟骨性仮骨が少くなり、仮骨の骨染化が進行し、それとともに Al-P-ase 反応も質量共に低下するが、この時期に多く見られる骨梁内に残遺する軟骨組織では尚お中等度の Al-P-ase 反応がみられる。

第4週、第5週末では更に Al-P-ase が低下、改造された緻密な骨層板では Al-P-ase は弱陽性を呈するのみとなる。然しながら骨梁間線維結合組織、破骨細胞は尚お中等度陽性であつた。

II 「PAS」反応所見

第1週末 幼若新生骨梁、肥厚しつつある外骨膜、

及び線維結合組織はともに弱陽性、破骨細胞は中等度陽性である。類軟骨細胞組織、軟骨性仮骨もその分化の程度に拘らず中等度陽性に反応する。Haver氏管、Volkmann氏管内腔壁は強陽性である。一方骨端間で器質化しつつある凝血塊は陰性で、周囲結合組織は中等度陽性、巨大多核細胞も中等度陽性である。

第2週末 増大した骨梁は弱陽性であるが、軟骨性仮骨は中等度から強陽性を呈し、Al-P-ase 反応と類似しているが、化骨線附近の泡化軟骨細胞層や、軟骨性仮骨内の血管を中心とした化骨しつつある領域では逆に反応が増強する。第3週末に多く見られる骨梁中に残遺する軟骨組織は、反応が非常に強く出現して居り、非常に印象的である。第4～5週末になると強い反応を呈する軟骨性仮骨は殆んど見られなくなり、従つて骨折部の反応は急激に低下することはAl-P-ase 反応と全く同様である。

B) 骨端軟骨部所見

I, Al-P-ase 反応

静止層は陰性であるが、増殖軟骨細胞層は痕跡程度から弱陽性、成熟軟骨細胞層に移行する所から中等度陽性となり、成熟軟骨細胞層に至つて最高度に達し、化骨線に接する石灰化軟骨細胞層では細胞間質からAl-P-aseが減少、又は消失し、単に核周囲に強く吸着されているAl-P-aseを見るのみとなる。化骨線を形成している遺残軟骨細胞は陰性で、遺残軟骨梁は弱陽性、破骨細胞は中等度陽性に出現する。骨幹端原生骨梁は弱陽性から中等度陽性、二次性骨梁は弱陽性である。骨折第1週末に見られた増大軟骨細胞層では、正常の成熟軟骨細胞層より染色性は低下し、弱陽性から中等度陽性である。

II) 「PAS」反応所見

軟骨静止層細胞間質、及びその先端に位置する結合組織は強陽性に反応し、増殖軟骨層、成熟軟骨層、予備石灰化層はともに中等度陽性である。軟骨細胞自体は陰性、破骨細胞、骨芽細胞は弱陽性で、遺残軟骨梁、原生骨梁ともに中等度陽性で、遺残軟骨梁、原生骨梁ともに中等度陽性で、二次性骨梁では弱陽性である。増大した成熟軟骨細胞層は中等度陽性である。

第2項 処置群のAl-P-ase反応及び「PAS」反応所見

I 坐骨神経切断例

a) Al-P-ase反応所見

骨折後第1週末 比較的豊富に見られる類軟骨組織

又は軟骨性仮骨の中で、反応が未だ出現していないか、又は染色性の弱い仮骨部が多く認められた。新生骨梁は中等度陽性に反応している。第2週末では軟骨性仮骨は殆んど例外なしに中等度陽性から強度陽性、第3週以下では一時染色性の強い軟骨性仮骨の残存を多く認めるが、第4～5週末では対照と同様反応が急激に低下する。

一方骨端軟骨部では第1週末に見られた増殖した軟骨細胞細胞層の染色度は対照と同様、成熟軟骨細胞層より劣っている。

b) 「PAS」反応所見

第1週末 骨幹皮質に近い成熟軟骨細胞の一部では幼若型の軟骨細胞に比し染色性が良好であつたが、Al-P-ase 反応のように大きな差異は見られなかつた。破骨細胞は中等度陽性である。第2週末では軟骨性仮骨の所々に血管を中心とした化骨領域で、鳥巣状に特に染色性の良好な部分が見られるが、一般に中等度陽性である。第3週末では骨梁中に残遺している軟骨組織に強い反応が保たれて居り、量的に多く見られた。第4週以後骨梁化のの進行とともに反応が低下する。

骨端軟骨部で見られた増殖軟骨細胞層はAl-P-aseの所見と異なつて染色性は低下することなく逆に強く反応していた。

II, 股静脈結紮例

a) Al-P-ase反応所見

骨折第1週末染色性良好な軟骨性仮骨は対照に比しやや少量である。第2週末では、強陽性に染色される軟骨性仮骨は多量に認められるのに対し、骨梁は染色性が弱く対照が鮮明である。骨梁化が進行するに従つて、第4～5週ではAl-P-ase反応が急激に低下する。骨端軟骨部では、増殖した軟骨細胞層は染色性が低下して居り、殊に萎縮軟骨細胞層では著明に低下している。

b) 「PAS」反応所見

第1週末 軟骨性仮骨の染色性の良否が見られず略々中等度陽性である。第2週末では染色性の良好な軟骨性仮骨が豊富に見られ、対照と同様骨梁化の進行とともに反応は低下する。一方骨端軟骨では萎縮軟骨細胞層の染色性は低下するが、他の増殖軟骨細胞層ではかかることはない。

III) 股動脈結紮例

第1週末 骨折端間の血塊にはAl-P-ase 反応を有するものではなく、後染色で真赤に見られる。之は血塊の器質化が殆んど行われていないこと示している。こ

の時期では、軟骨性仮骨の染色性は対照に比して不良なものが多く、新生骨梁の染色性も同様である。第2週末では、軟骨性仮骨の染色性は増大するが、一部には尚お染色性の悪い仮骨部を認めた。第3週目では更に染色性が増加し、対照で第2週目に見られた染色性の強い軟骨性仮骨が散見されるようになる。第4~5週では骨梁化の進行するとともに反応は低下する。

第5週末で癒合の遅延している例では、弱陽性に染色性の弱い結合組織で満たされて居り、残存遊離骨片は痕跡的で、周囲結合組織は中等度陽性、又この中に散見される多核巨大細胞も中等度陽性である。

骨端軟骨部

骨折初・中期に見られた骨端軟骨部の萎縮軟骨細胞層の一部には染色性の全然認められないものがある。又第5週末で骨端両側に軟骨島を残している例では、この部分及び周囲の骨梁が中等度に染色されているが、他の部分では Al-P-ase 反応が殆んど見られなかった。

b) 「PAS」反応所見

骨折初期骨折端部の血塊は Al-P-ase 反応と同様、殆んど染色されない破骨細胞は中等度陽性である。第2週末では軟骨性仮骨は中等度陽性から強陽性に染色されている部分が見られるが、一般的に対照に比し染色性が悪い。第5週末に見られた遅延治癒骨折部の線維結合組織、遊離骨片は共に染色性は弱い、消失することはない。骨端軟骨部での萎縮軟骨細胞層は弱陽性で Al-P-ase の様に消失しない。然も第5週末に見られた骨端軟骨の早期閉鎖例では、残存軟骨島に尚お強く染色性が保たれていた。

IV) 股動・静脈同時結紮例

骨折初期(第1週末)第3実験例と類似の所見を呈する。即ち骨折端間の凝血塊は Al-P-ase 反応陰性なものも多く、又染色性の強い成熟軟骨細胞を含む軟骨性仮骨は少く、染色性の弱い類骨組織、又は未分化結合組織が比較的多い。第1週末では軟骨性仮骨での染色性は増加するが、新生骨梁とともに対照に比べれば劣っている。第3週末になると漸く染色性の強い軟骨性仮骨が多く見られる。仮骨の骨梁化が進行するとともに第4~5週末で染色性が著しく低下する。然しながら転位がやや甚しく仮関節様所見を呈した例では、残存している軟骨性仮骨に尚お弱陽性から中等度陽性の反応が認められる。又遊離骨片は痕跡的であるが周囲結合組織には中等度陽性に見られ、骨性癒合の達せられた

例に比し尚お多量の Al-P-ase が存在しているのを認めた。

B) 「PAS」反応所見

骨折第1週目に多く認められる凝血塊は前者と同様、染色されない。又破骨細胞も中等度陽性である。第5週末に見られる仮関節様所見を呈する部位では、残存している軟骨性仮骨は中等度陽性、骨折端間骨梁も弱陽性から中等度陽性に反応し、染色性は低下していない。骨端軟骨部でも前者と同様で、殊に骨端軟骨内に進入した骨梁は染色性が悪く周囲軟骨と明瞭に区別することが出来る。

第3節 小 括

1) Al-P-ase反応について

骨折初・中期に見られる類軟骨組織、及び軟骨性仮骨では、類軟骨組織から幼若型、中間体、成熟型へと移行するに従つて反応が増強し、石灰化直前の軟骨細胞層や、血管を中心として化骨しつつある領域では、反応が急激に低下する。骨梁では、線維結合組織から直接化成したばかりの新生骨梁から、旺盛な増殖並びに吸収を行つている化骨線附近の骨梁へと、順次反応が強くなるが、更に改造のかなり進行した骨梁から、改造の完了した骨梁へと移行するに従つて反応が減ずる遊離骨片及び骨折端部附近では痕跡程度の反応が見られるに過ぎない。凝血塊は陰性又は弱陽性で器質化が進むにつれて染色性が増強する。血塊周囲の線維結合組織、多核巨大細胞は中等度陽性である。骨折3~4週目に見られる所の骨梁中に遺残する軟骨組織には尚お中等度の反応がみられた。以上の所見から第2週から第3週目にかけて Al-P-ase の存在が質的並びに量的に最大で、骨梁化が進行するに従つて減少することが明かである。骨端軟骨部では静止層は陰性、増殖細胞層の一部では尚お痕跡程度であるが、成熟軟骨細胞層に移行するに従つて染色性が増強し、石灰化直前になると再び減弱する。又骨折初期に見られた増殖軟骨細胞層は正常な軟骨部位よりも染色性が低下しており、この部と明瞭に区別される。坐骨神経切断では骨折初期に染色性のない軟骨性仮骨を多く認めた。股静脈結紮例では骨端軟骨に染色性の低下した、萎縮軟骨細胞層が出現していた。股動脈結紮例では骨折初期の凝血塊に反応が殆んど陰性であることが特徴的で、第2週目でも尚お染色性の軟骨性仮骨が多く存する。股動・静脈結紮例では前者と類似し、殊に仮関節部位では、正常の骨癒合を営んだ対照に比して Al-P-ase 多量に残存しているのをみとめた。

Ⅱ 「PAS」反応について

Al-P-ase 反応に比して染色範囲が非常に広い。類軟骨仮骨、軟骨性仮骨では成熟細胞層の一部を除いて、分化の程度と関係なく略々様に中等度に反応する。又化骨線附近の予備石灰層、血管を中心とする化骨しつつある領域では Al-P-ase とは逆に強陽性に反応が出現する。骨梁は一般に弱陽性、血塊は陰性で後染色で黒く染色される。破骨細胞細胞は中等度陽性である。第3~4週目に見られた骨梁中に遺残している軟骨組織では Al-P-ase と同様強く染色性が保たれている。以上の所見から、「PAS」反応も第2週目で反応が最強で、骨梁化が進行すると共に反応が低下する。骨端軟骨部では、静止層、及び之に接する結合組織で Al-P-ase と逆に強陽性に染色し、増殖した骨端軟骨細胞も特に染色性に低下しない。坐骨神経切断例では、Al-P-ase 反応の見られない軟骨性仮骨にも染色性が中等度に認められた。股動脈結紮例では骨端軟骨に出現した萎縮軟骨細胞層で染色性が低下している。股動脈結紮例では、第5週目の骨端軟骨早期閉鎖例での残存軟骨部に尚お強い反応が見られた。股動・静脈同時結紮例でも、第5週の仮関節様所見で、遊離骨片は弱陽性、軟骨性仮骨、骨折端間結合組織も中等度に反応し、Al-P-ase 反応と同様強い染色性を保有していた。

第4章 総括及び考按

Grey and Carr (1915) は犬及び家兎の家験で、腰仙神経叢に行く後根を切断した場合は、骨に何等の変化をも与えないが、前根を切断すると、後肢の骨萎縮を惹起する。然しながらギブス固定による不働性骨萎縮は更に甚しいと報告している。本邦の松尾は脊髓損傷の場合における移植骨の骨性癒合に就いて検討したが、この場合には脊髓副交感神経の機能喪失、脊髓後根中を遠心性に走る少径線維を通ずる副交感神経衝動の停止によつて、一次的にも、二次的にも著明な骨性癒合の遅延を来す。前角傷害に於いては健側に比して明らかに遅延するが、これは主として運動麻痺に由来する不働性筋萎縮に統括する骨の生活機能の低下によるもので、造骨能の低下は軽微である。又脊髓前根及び坐骨神経切断においては前に者の間に位する成績が見られるが、一般に前根切断の方が移植骨の生着は優つて居り、坐骨神経切断の成績には或る程度の不定性があると述べている。一方手島は脊髓前根切断による麻痺の骨再成に及ぼす影響についての実験的研究

で、麻痺側では骨の添加機転も共に低下し、化骨現象は常に遅延すると述べている。久保 (1953) は脊髓損傷麻痺域に於ける急性骨萎縮に関する実験的研究に於て、僅かに1例ではあるが、坐骨神経切断例では対照に比して殆んど変化が見られなかつたと報告している。又 Mc. Master and Roome (1934) は坐骨神経の切断によつて腓骨の骨折治癒期間が遅延することはないとしている。然るに久木田 (1956) はこれと反対に、坐骨神経切断によつて急速に進展する骨萎縮を認めたと述べている。

以上の諸報告を総合すると、脊髓損傷及び前角傷害ではその支配下の骨の造骨能に障害を与えるが、脊髓前根の切断では造骨能への影響は殆んど見られず、坐骨神経切断ではその実験成績がやや不定であるとの結果が出ていられる。著者の実験では、骨折初・中期では骨折部での仮骨形成はやや豊富で、骨吸収置換はやや遅延するが、骨折端間の骨性癒合は充分達成される。然しながら豊富に見られた軟骨性仮骨中には骨折初期に Al-p-ase 反応の見られないものも比較的多数に出現する傾向を示している。坐骨神経切断によつて交感、副交感神経の機能の断絶の起り、このために支配下の組織栄養障害や血液循環障害をもたらす、造骨能に影響を与えることが予想されるが、著者の実験では骨折後期に於ける化骨の遅延及び Al-P-ase 反応の減弱した軟骨の比較的大量遺残する傾向をみとめた。然しその影響は比較的僅少で、逆に外仮骨がやや豊富に見られる例が多かつたのは、骨折部の固定が筋麻痺によつて不完全となり、異常可動性による刺激が加えられたことと、骨折端部の転位の大きい例が多かつたためではなからうかと思われる。次に股動脈結紮によつてもたらされる骨折の鬱血による修復状態を観察した結果からみると、骨折初、中期に於いてやや外仮骨形成が阻害された少数例が認められたが、大部分の例では仮骨の形成、吸収、置換の諸機転への影響は殆んど認められなかつた。これは結紮による影響が、血管の速かな吻合で容易に代償されたためではないかと想像される。股動脈単独結紮又は股動・静脈同時結紮の場合では骨折初・中期において仮骨形成は著しく不良で、軟骨内化骨機転も貧弱であつた。又之に伴つて Al-P-ase 反応、「PAS」反応も対照に比し質量共に著しく減弱しているのが認められた。これらの所見は股動脈結紮による循環障害が、仮骨の形成及び改造に著しい障害を与え、又 Al-P-ase、「PAS」反応物質の減少をもたらすことを明らかにしているものと

言えよう。骨折後期になつて血管の再成、又は吻合が完成すると共に、造骨能、仮骨改造は一般に著しく回復するが、条件の悪い例では骨折端間の骨性癒合が達成されないで、仮関節を来したものも見られた。骨端軟骨部では骨幹端部の血液循環の変化によつて大きな影響を受けるであろうことは当然考えられる所である。Harris and McDonald (1936) は交感神経節状索切除術により、Borel は家兎の股動脈を結紮して下肢長の短縮を来し、又股静脈を結紮して過成長を得たと述べ、Pearse (1930) も静脈性鬱血を形成して長管骨の成長を促進し得たと報告している。一方骨傷による骨成長への影響も諸家によつて追求されているが、Ollier (1867) は長管骨の骨幹部に打撲を与えて過成長を認め Ferguson (1933) は骨中間部の骨穿孔及び骨髓腔の搔爬により、Bisgard は成長期の山羊の脛骨に幹部に骨折を起して共に長管骨の過成長を認めている。Trueta (1953) も成長期にある長管骨が屢々骨折によつて一時的の骨の過成長を招来すると述べている。著者の実験結果では人工的骨折を起した場合、骨折初期に於ては、骨端軟骨部で軟骨の縦の幅員の増大と同時に骨幹端新生骨梁の形成がやや旺盛に認められた。この場合増殖した軟骨細胞は大部分成熟軟骨細胞で Al-P-ase 反応は低下しているが、「PAS」反応には変化が見られなかつた。骨折と同時に坐骨神経も切断した例、及び股静脈結紮例では同様に軟骨の幅員が増大するが、骨幹端の新生骨梁形成は前者ほど旺盛でなく、却つてやや低下している例も見られた。殊に股静脈結紮例では Al-P-ase 反応の減弱している萎縮軟骨細胞も見られた。股動・静脈同時結紮例又は、股動脈単独結紮例では人工的骨折によつて骨端軟骨帯の厚さの増加が認められた。この場合 Al-P-ase 反応の減弱又は殆んど消失した萎縮軟骨細胞が多数含まれていたり、中央部で分裂したりして、佝僂病の際に骨端軟骨部に現われる所見と類似した所見を呈していたことは興味ある事実と考える。その上骨幹端の新生骨梁形成は著しく貧弱で、化骨線の断裂又は消失も見られ、軟骨内化骨機転の強い障害を示していた。骨折後期になると骨端軟骨の早期閉鎖も見られたが、これは血液循環の障害によつて骨端軟骨の増殖が停止されたためと思われる。

いづれにしてもかかる変化は当然長管状骨の長径成長に大きな障害を与えるものと思われる。以上の所見を総合すると、単なる人工的骨折は骨折初期には骨端軟骨に刺激影響を与えるが、骨端軟骨への障害は股動脈結紮の場合が最も著明で、坐骨神経切断が最も軽

く、股静脈結紮はその中間の強さを示していた。組織化学的には次の如き知見が得られた。Al-P-ase 反応染色には E.D.T.A. 液を使用して脱灰し、後染色にケルネヒトロートを用いた。この場合成書には核が染まると述べられたものもあるが、染色方法が適当であれば特異性変化が少く、フォスフォモノエストラゼは核内には存在せず原形質にのみ顆粒状に現われるものであつて、核が染色されるのは吸着現象によるものであろうとする高松・赤星氏の説を確認した。軟骨性仮骨では軟骨様組織、幼若型、中間体、成熟軟骨細胞層の順に染色性が増大する然しながら石灰化の前段階にある細胞、萎縮軟骨細胞では Al-P-ase 活動が減弱している。骨組織では化成されたばかりの幼若骨梁添加、吸収機転の旺盛な骨梁へと反応が増強するが、緻密な層密な層板骨へと改造されるに従つて反応が低下し、又壊死に陥つた骨組織では染色性が殆んどみとめられなくなる。

以上の所見によつて Al-P-ase 新陳代謝の旺盛な而も活動的な組織に多量に出現し、未分化静止状態の組織や、既に活動の衰えている組織には少量しか存在しないことが明瞭に認められた。Al-P-ase の生物学的意義については、Robinson が石灰沈着に直接関係があると唱えた時代から大きく飛躍し、現在ではこの酵素は骨組織ばかりでなく、血漿、腸粘膜、腎臓、乳汁等にも存在し、物質中間代謝に重要な役割を果すものと云われている。一方骨組織内の石灰化機序についても所謂 Al-P-ase 説、グリコーゲン説、高重合粘液多種類のイオン交換作用説、等種々論じられているが、その真の機序に就ては今日でも尚明らかでない。

Bevelander, Johnson (1950) は結合織性化骨部において骨塩沈着の際、粘液多糖類は著しく増加するが、グリコーゲンは逆に消失すると云つてゐる。又 Moog, Wenger (1950) も胎児及び成熟動物の脊椎骨 Al-P-ase 着存在する部位の細胞原形質及び細胞外に過ヨード酸シーフ反応物質を認め、この反応物質が Phosphatase 活動のために必要な化学的条件を準備すると論じている。著者の実験結果では骨塩沈着の前段階では Al-P-ase が減少するのに対し、「PAS」反応陽性物質が増増加し、又骨端軟骨の静止層、増殖層の一部で Al-P-ase 反応が見られないのに、逆に「PAS」反応物質はこの領域で強烈に出現する所見が認められた。然し PAS 反応出現域は Al-P-ase 出現域に比して広範であるので、この両者の関係を適確に把握することは出来ない。唯以上の所見によつて Al-P-ase は骨形成時

の石灰化に直接関係を有すると考えるよりは、骨組織に於て骨蛋白基質形成、細胞の分化の盛んに行われている部位に出現し、それらの機転により多くの役割を果していると思ふのが妥当ではなかろうかと思ふ。

第5章 結 論

幼若家兎を使用し、之を4群に分け、第1実験群では坐骨神経切断、第2実験群では股動脈結紮、第3実験群では股動脈結紮、第4実験群では股動・静脈同時結紮を行い、中足骨に骨折を起さしめ、その治癒機転並びに之に伴つて起る骨端軟骨部の変化を「レ」線学的、組織学的に観察し、併せてAl-P-ase反応、「PAS」反応を検して、その消長分布を詳細に検討し、次の結論を得た。

1) 第1実験群(坐骨神経切断例)では骨折部の外仮骨量は対照に比し比較的豊富で、過剰に生じた仮骨の吸収、改造はやや遅延するが、骨折部癒合は時期的には特に遅延することなく達成される。骨端軟骨部では骨折初期は対照と同様に軟骨の縦の幅員の一部又は大部分の増加を来すが、骨幹端新生骨梁の形成は正常又はやや減弱している事が認められた。骨折中期以後は殆んど対照と同様な経過が見られた。

2) 第2実験群(股動脈結紮)では骨折初・中期で対照に比し仮骨形成がやや不良な例が少数例認められたが、大部分が対照と同様な経過を辿り、骨折端の骨性癒合も充分達成された。骨端軟骨部も骨折初期に増大した軟骨細胞中に萎縮した軟骨細胞が見られる程度で、股動脈結紮による局所の鬱血が骨折治癒機転並びに骨端軟骨部への影響は比較的僅少である。

3) これに対し第3実験群(股動脈結紮)、第4実験群(股動・静脈同時結紮)では、骨折部の仮骨形成は質的・量的にも少く、仮骨改造機転も遅延するが、後期に至つて大部分回復し骨折端骨性癒合が達成される。然しながら中には最後まで骨性癒合が達成されず仮関節の状態に止つている例も認められた。骨端軟骨部にも全期間を通じて多彩な変化が見られ、股動脈結紮による循環障害が、骨形成能及び長管状骨の成長に大きな影響を与えることが認められた。

4) 上記の神経、血管に対する夫々の処置を行つた時の骨折部及び骨端軟骨部に於けるAl-P-ase及び「PAS」反応陽性物質の分布状態とその消長からみると、Al-P-aseは新陳代謝の旺盛な活動的な組織に多量に出現し、未分化静止状態の組織、又は既に活動の

衰弱している組織には僅かしか出現しないことを確認した。この事からAl-P-aseは、骨形成の旺盛な部位に出現し、骨蛋白基質の合成、細胞の分化等に対し何等かの重要な役割を果しているものと推測される。

5) 石灰沈着の前段階ではAl-P-ase反応が低下するの、「PAS」反応物質は却つて増加すること、骨端軟骨部の静止層、増殖層の一部でAl-P-ase反応が見られないのに対し、「PAS」反応は強陽性であることを知つた。併し両者の関係を適確に把握するには尚お今後の研究に俟たねばならない。

稿を終るに臨み、御懇篤な御指導、御校閲を戴いた恩師近藤鉄矢教授並に本研究についての数々の御助言を戴いた京大整形外科赤星義彦講師に衷心より謝意を表する。

主 要 文 献

- 1) Axhausen G ; Ueber dem histologischen Vorgang bei der Transplantation Von Gelenkenden 1~50
- 2) Bourne G. H. ; The Biochemistry and Physiology of Bone 1~806, 1956.
- 3) Gomori G ; Calcification and Phosphatase Am. J. pathol. 19, 197~209, 1943.
- 4) Gillespie J. A. ; The Nature of The Bone Changes associated with Nerve Injuries and Disuse, J. Bone and Joint Surg, 36-B, 464~469, 1954.
- 5) Siffert R. S. ; The Effect of Staples and Longitudinal Wires on Epiphyseal Growth
- 6) Weinmann J. P. ; Bone and bones 289~312, 1947.
- 7) Warth, Ham ; Histology 215~259, 1953.
- 8) Wilson C L ; Experimental Studies on Epiphyseal Stimulation J. Bone and Joint Surg, 38-A, 1096~1104, Oct. 1956
- 9) Yamagishi, Yoshimura ; The Biomechanics of Fracture Healing J. Bone and Joint Surg. 38-A, 1035, Oct. 1955.
- 10) 大浦 策 ; 骨再生作用に及ぼす脾摘出の影響の実験的研究 日外誌 36, 6, 昭和10.
- 11) 玉井達二 ; 骨折血腫の実験的研究 新潟医誌 117~126 昭和25.
- 12) 久保 ; 高松 ; 解磷酵素(Phosphatase)の組織化学的研究 1~12, 日病誌, 昭和26.
- 13) 蒲原宏 ; 脱灰操作を伴う硬組織のアルカリフォスファターゼの組織化学的証法について整形外科 2, 4, 247, 昭和26.
- 14) 藤本憲司 ; 骨新生と吸収とについて整形外科 2, 1, 昭和26.
- 15) 蒲原宏 ; 化骨組織のアルカリフォスファターゼ及びヒヨンドロイチン硫酸の組織化学的所見について 日整誌 25, 218~219, 昭和27.
- 16) 福原正 ; 骨移植に於けるAlkaline phosphataseの組織化学的研究 日整誌, 246~247, 昭和27.
- 17) 久保 ; 脊髄損傷麻痺域に於ける急性骨萎縮に関する実験的研究 日整会誌, 27, 427~439, 昭和28.
- 18) 吉村義之 ; 仮骨分化の実験病理学的研究 日整誌 26, 2,

73~88, 昭和28. 19) 市川 収;細胞化学 357~365, 106~122, 1953. 20) 岩喬;仮骨組織石灰化に関する研究 日整誌 26, 2, 89~101, 昭和28.
21) 手島幸三;脊髓前根切断麻痺肢に於ける骨再生及び関節制動術に関する実験的研究 日外宝函 23, 5, 463~475, 昭和29. 22) 石沢政男;組織学提要 1, 118~167. 23) 大吉清;局所刺戟の長管状骨々長径成長に及ぼす影響に関する研究(第2報) 日整誌 23, 5, 542~561, 昭和29. 24) 竹内忠男;アルカリ性フォスファターゼ反応における随伴反応について 東京医新誌 70, 7, 5~8, 昭和29.
25) 神前武和;酵素学 227~251, 昭和30. 26) 岩喬;骨折時のアルカリ性フォスファターゼについ

て 日整誌 29, 4, 407~421, 昭和30. 27) 大吉清;骨成長帯に対する Stapling の影響に関する実験的研究 日整誌 29, 6, 597~611, 昭和30. 28) 河野道忠;生物力学的見地より見たる骨折治癒 日整誌 29, 6, 567~585, 昭和30. 29) 松尾久男;脊髓前角傷害麻痺域に於ける骨移植に関する実験研究 日整誌 30, 7, 861~876, 昭和31. 30) 高松;赤星;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 日外宝函 26, 2, 301~305, 1957.
31) 原田基男;骨と栄養(第9報) 日整誌 31, 4, 361~362, 昭和32. 32) 西新助;軟骨内骨化の過程質疑応答集, 10, 昭和31. 33) 久木田光郎;骨萎縮の実験的研究 日整誌 30, 7, 821~839, 昭和32.

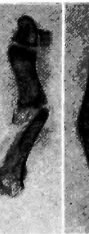
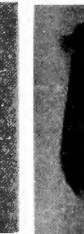
股動脈時同靜脈結紮		对照	股動脈結紮		对照	坐骨神經切断		对照	第 1 週
									
									第 2 週
									
									第 3 週
									
股動脈時同靜脈結紮		对照	股動脈結紮		对照				第 4 週
 			 			 			
 			 			 			第 5 週



図1 股動脈結紮例 骨折第1週末所見
骨折端附近では軟骨性仮骨は殆ど見られず，新生骨梁形成も甚だ貧弱で，凝血塊の器質化は遅延している。

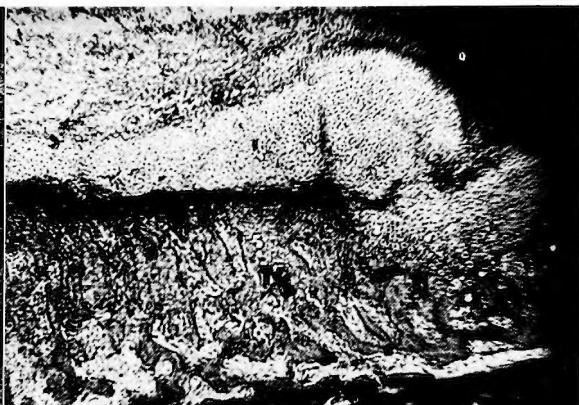


図2 坐骨神経切断例 骨折第1週末所見
骨折端よりやや離れた骨幹皮質よりの幼若新生骨梁形成は旺盛，且つ軟骨性仮骨も比較的豊富に見られ，一部に既に軟骨内化骨機転が見られる。

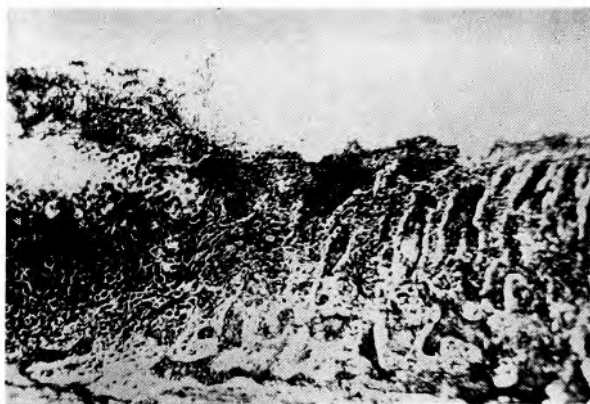


図3 同アルカリフォスファターゼ反応染色所見
幼若新生骨梁及び骨幹皮質に近い軟骨性仮骨には多量の Al-P-ase が認められるのに対し，骨幹よりやや離れた軟骨性仮骨には殆んど染色性の認められないものも多く見られる。

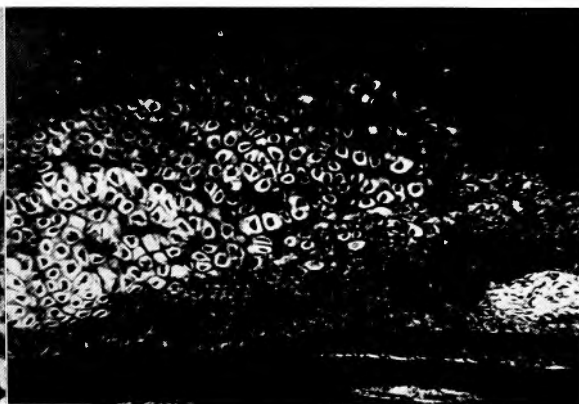


図4 骨折第1週末の「PAS」反応所見(対照群)
軟骨性仮骨は中等度陽性に反応している。骨幹皮質附近の線維結合組織は弱陽性に染色されている。

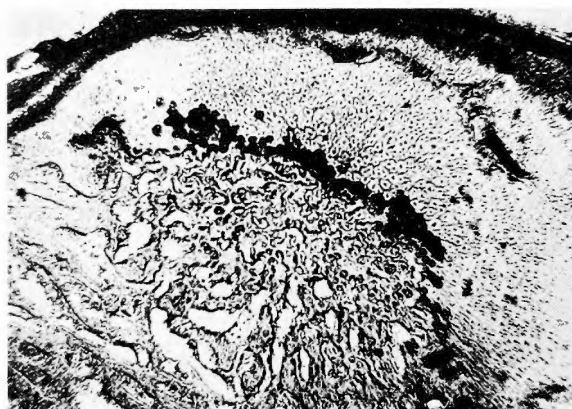


図5 対照群 骨折第2週末の所見

骨折部を中心に外仮骨によつて紡錘状隆起を呈する旺盛な軟骨内化骨機転が認められ、骨梁に多数の骨芽細胞と共に破骨細胞も見られ、添加、吸収機転が盛んなことを示している。

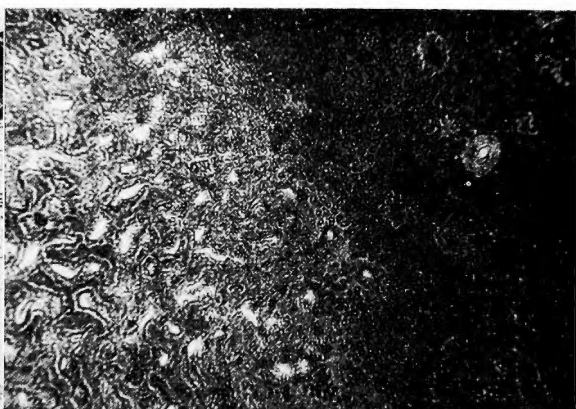


図6 坐骨神経切断例 骨折第2週末

軟骨性仮骨及び骨梁形成は比較的豊富に認められ、軟骨内化骨機転も十分に営まれている。

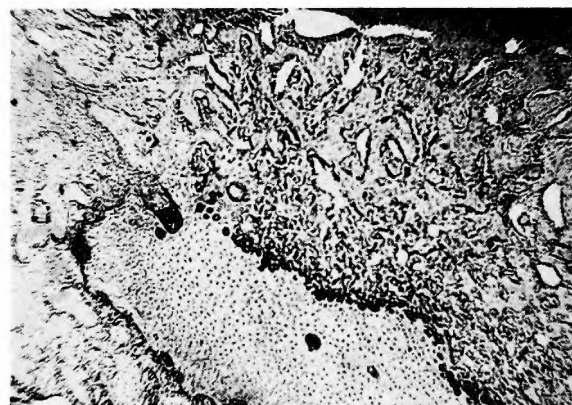


図7 股静脈結紮例 骨折第2週末

軟骨性仮骨、新生骨梁形成共対照に比し余り遜色が認められない。軟骨内化骨機転も比較的旺盛に営まれている。



図8 股動脈結紮例 骨折第2週末

軟骨性仮骨の量は対照に比し僅少で、新生骨梁中の骨芽細胞も少く、且つ軟骨内化骨機転は甚だ貧弱である。



← 図9 股動・静脈同時結紮例 骨折第2週末

股動脈結紮例（第3実験群）と同様、軟骨性仮骨は第1週末に比しやや増加し、成熟度も増強しているが、尚対照に比し少く、軟骨内化骨機転も甚だ貧弱である。

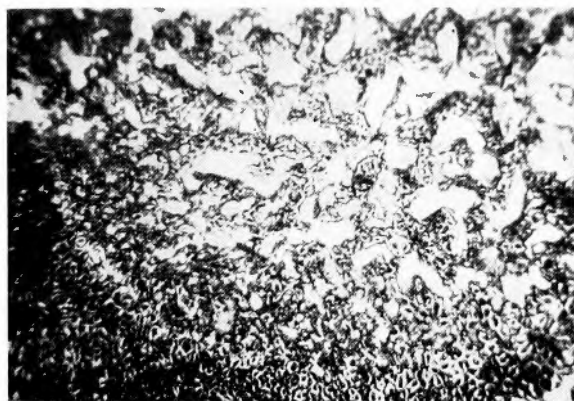


図10 骨折第2週末軟骨内化骨機転が営まれている領域の Al-P-ase 反応の所見
骨梁及び、軟骨性仮骨は強い反応を呈するが化骨線に接する石灰化直前の軟骨層では反応が減弱している



図11 軟骨性仮骨内の Al-P-ase 反応所見
細胞間質、原形質は強い反応を呈するが、核は染まらず後染色で淡赤色に染色されている。

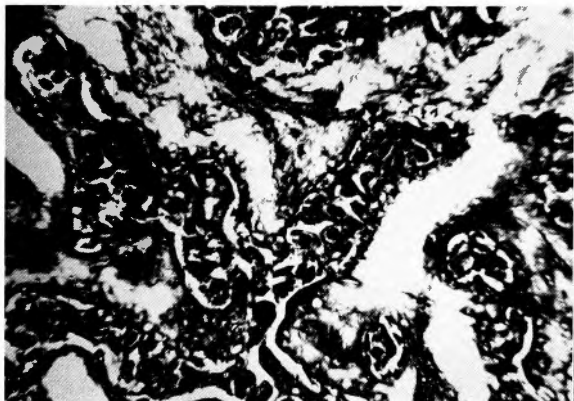


図12 骨梁中に遺残している軟骨組織
吸収、置換されつつある軟骨組織にも尚強い Al-P-ase 反応が保たれている。

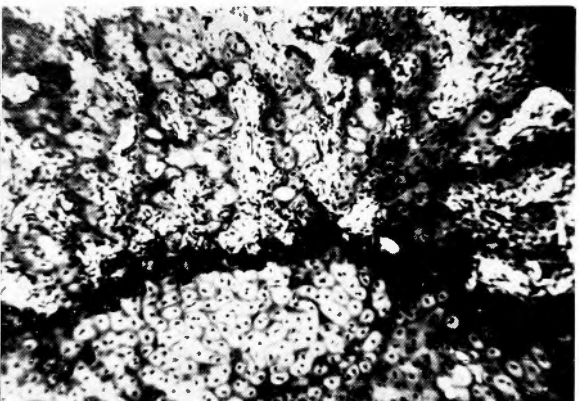


図13 軟骨内化骨機転が営まれている領域の「PAS」反応所見
軟骨性仮骨内、化骨線附近の骨梁内にも強い「PAS」反応が見られる。



図14 軟骨性仮骨内に見られた血管を中心とした化骨領域の Al-P-ase 反応所見
細胞間質内より Al-P-ase 反応が減少している。

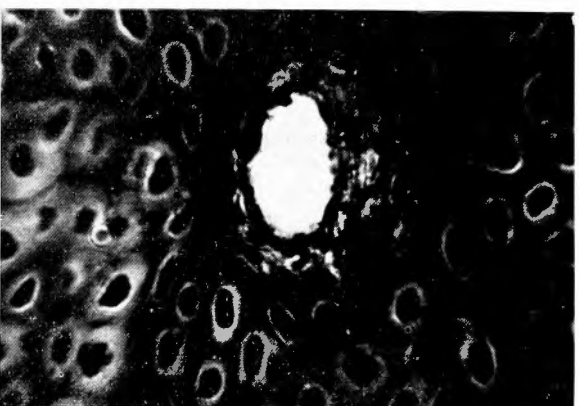


図15 軟骨性仮骨内に見られた血管を中心とした化骨領域の「PAS」反応
前例(図14)とは逆に細胞間質内の「PAS」反応が強く出現している。



図16 対照群 骨折第4週末
仮骨は殆んど骨梁化し、一部に尚軟骨性仮骨巣が残存しているのが見られる。

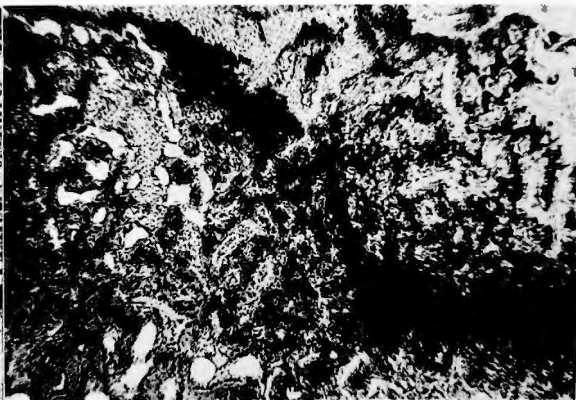


図17 坐骨神経切断例 骨折第4週末
仮骨はかなり骨梁化される一方、尚対照より豊富な軟骨性仮骨が残存している。



図18 対照群の骨折第4週末の Al-P-ase 反応所見
この時期では仮骨の骨梁化の進展と共に Al-P-ase は量・質共に急速に減少する。

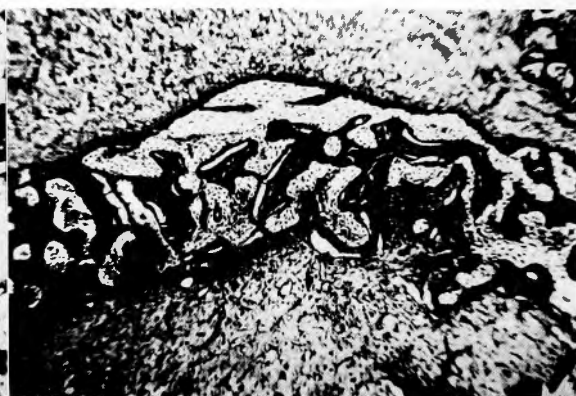


図19 対照群の骨折第5週末の Al-P-ase 反応
骨梁内の Al-P-ase は少量となり、骨幹皮質と略々同様な所見を呈する。所々に中等度に反応している破骨細胞が散見される。



図20 股動・静脈同時結紮例 骨折第5週末の仮関節様所見
骨折間隙に尚多量の軟骨性仮骨が遺残し、一部に軟骨性化骨機転も営まれて骨性癒合が達成されていない。

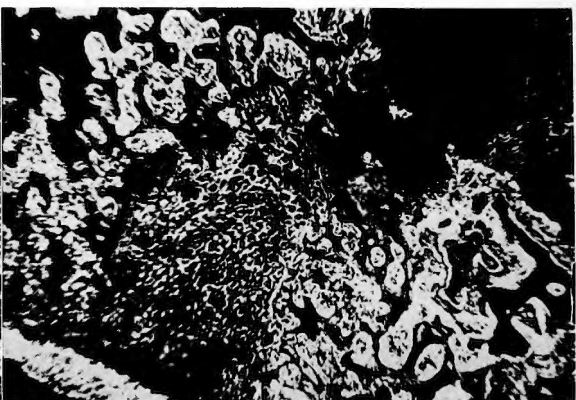


図21 股動・静脈同時結紮例 仮関節領域の Al-P-ase 反応所見
軟骨性仮骨、骨梁内に多量の Al-P-ase 反応が認められ、既に骨性癒合の達成された対照例に比し多くの Al-P-ase が見られた。



図22 健康幼若家兎の骨端軟骨部
骨端軟骨細胞層，骨幹端骨梁の配
列は規則整然として居り，化骨線は
典型的な弧状を画く。

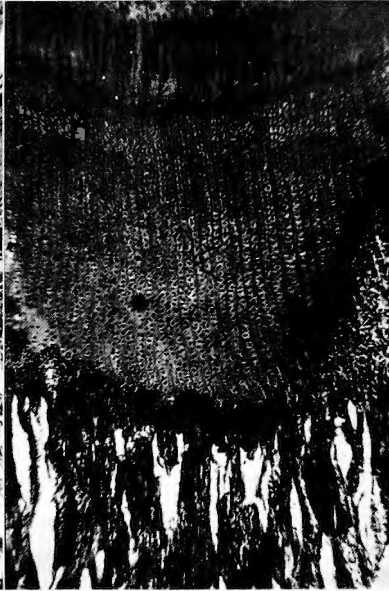


図23 対照群骨折第一週末の骨端
軟骨部
骨折の影響によつて骨端軟骨の縦
の幅員が著しく増大し，化骨線は不
規則となる。骨幹端骨梁形成はやや
旺盛に認められる。



図24 同 Al-P-ase 反応所見
増大した成熟軟骨細胞層の Al-P-
ase 反応は正常の軟骨細胞層の反応
よりやや減弱している。



図25 坐骨神経切断例 骨折第1
週末の骨端軟骨部所見
骨端軟骨層は中央部で著しく増大
し骨幹側深く突出している。骨梁中
に遺残軟骨が認められ，骨幹骨梁形
成やや不良。



図26 対照群 骨折第2週末の骨
端軟骨部
骨端軟骨細胞層，骨幹端骨梁の配
列は整然としている。



図27 対照群 骨折第2週末の骨
端軟骨部の Al-P-ase 反応
静止軟骨細胞層，幼若増殖軟骨層
の一部分に Al-P-ase 反応が見られ
ない。



図28 対照群 骨折第2週末の骨端軟骨部の「PAS」反応
軟骨静止層細胞間質、及びその先端に位置する結合組織はAl-P-ase反応とは逆に強陽性に反応し、増殖軟骨層、成熟軟骨層、予備石灰化層は共に中等度陽性である。



図29 股動・静脈同時結紮例の骨折第2週目の骨端軟骨部
増大した軟骨細胞層の中に萎縮した軟骨細胞層が見られ、化骨線は消失し、骨幹端骨梁形成も甚だ貧弱に認められる。

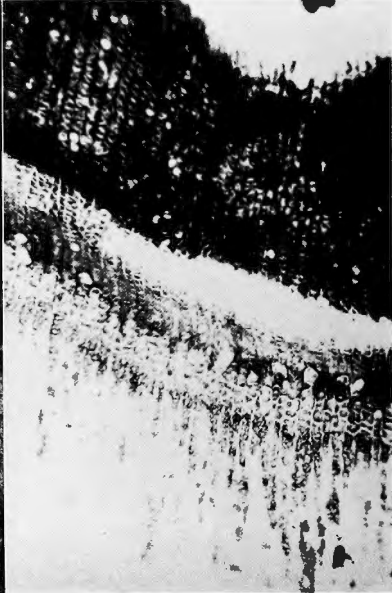


図30 同 Al-P-ase 反応
萎縮した軟骨細胞層では Al-P-ase が減弱又は消失している。



図31 股動・静脈結紮例の骨折第2週末の骨端軟骨部
骨端軟骨細胞層の幅員の増大が認められると同時に中央部で分離像が見られる。



図32 股動脈結紮例の骨折第2週末の骨端軟骨部
骨端軟骨は中央部で幅員を増大しこの突出部では化骨線が消失している。骨幹端骨梁形成も甚だ貧弱である。



図33 股動・静脈同時結紮例骨折第3週末の骨端軟骨部
骨端軟骨内に骨端側より骨梁が進入しているのが認められる。



図34 股動脈結紮例の骨折第3週末の骨端軟骨部
骨幹端新生骨梁中に置換されない軟骨組織が残置している。



図35 股動・静脈同時結紮例の骨折第5週末の骨端軟骨部
骨端軟骨細胞層は幅員狭くなり、配列は不整、然も骨幹端骨梁形成も不良となる。



図36 股動脈結紮 骨折第5週末の骨端軟骨部
骨幹端部の骨性肥厚、軟骨細胞、骨梁も殆んど吸収され消失している。

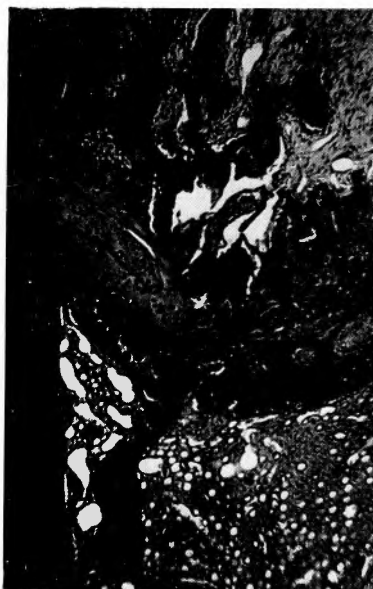


図37 股動脈結紮例の骨折第5週末の骨端軟骨部
骨幹端両側に骨端軟骨細胞層の一部と骨梁が僅か見られるのみとなっている。



図38 骨端軟骨部の Al-P-ase 反応
化骨線に近い予備石灰化層で Al-P-ase が間質から著しく減少しているのが認められる。

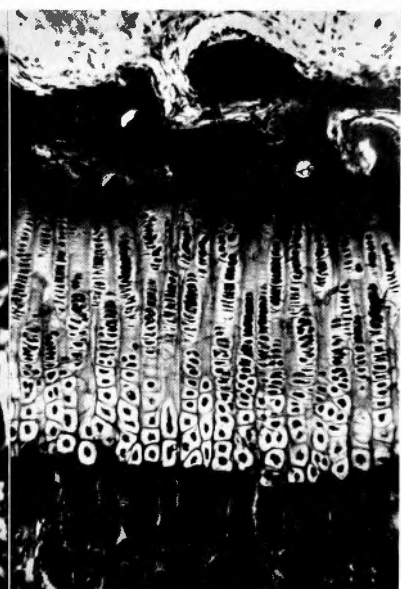


図39 骨端軟骨部の「PAS」反応
静止軟骨細胞層及びその先端に位置する結合織は Al-P-ase 反応と逆に強陽性に見られる。