

冷凍同種骨移植における骨形成に関する実験的研究

—成長ホルモン全身投与および多孔性の冷凍同種骨移植—

井上 猛

冷凍同種骨移植において全身的な成長ホルモン投与 および皮質に穴を開けることが骨形成にどのような影響を与えるかを調べるために、家兎を用いて実験的研究を行った。成熟家兎の腸骨に1×0.7 cm 大の骨欠損を作製し、一方の腸骨には新鮮自家骨を、他方の腸骨には、冷凍同種骨を移植し、ヒト成長ホルモンを0.5 I.U./kg/week 筋肉注射した。コントロール群としては、ヒト成長ホルモンを投与せずその他の条件を同じにした移植群を用いた。術後4週目と8週目に家兎を屠殺し、X線学的、組織学的、およびテトラサイクリンを用いたラベリング像観察法にて骨形成を検討した。

また皮質に穴を開けた冷凍同種骨とそのままの形状の冷凍同種骨を家兎の両側の腸骨に移植した。術後4週、8週、16週、24週目に屠殺し、X線学的、組織学的、およびテトラサイクリンを用いたラベリング像観察法を用いて、移植骨片内の骨形成を検討した。

成長ホルモン投与群では、コントロール群において認められた術後の骨粗鬆化は認められず、逆に移植骨片全体の骨硬化が認められた。また、母床と移植骨の接合部において、幼弱な新生骨がラベリング像を伴って大量に認められた。皮質に穴を開けた冷凍骨移植群は、術後24週目の時点で移植骨全体が高度な骨粗鬆の状態となっていた。また、ラベリング像観察法にて、まだら状のラベリング像が移植骨片内に術後16週目で認められた。

(平成2年8月29日採用)

Experimental Study on Deep Frozen Allograft — Systemic Administration of Growth Hormone and Drilled Deep Frozen Allograft—

Takeshi Inoue

1. The influence of systemic administration of growth hormone on bone formation was studied in the rabbit. Deep frozen allogenic bone was grafted in the ilium and transfixed with a #24 needle to the matrix. Fresh homogenic bone was grafted in the contralateral ilium. One international unit dose of biosynthetic growth hormone (Nordisk®, Denmark) was injected intramuscularly twice a week starting from the second day after operation throughout the experimental period. Four and eight weeks after operation, the rabbits were sacrificed and the grafted bone with surrounding iliac bone was resected for examination. Roentgenographically, deep frozen allografts treated with systemic human growth hormone showed osteosclerotic change in the whole graft area at four weeks and eight weeks

after operation, while the control group showed osteoporotic change. Histologically, allografts treated with growth hormone tend to exhibit more increased woven bone formation in the margin of the graft than the control group at eight weeks after operation. In a tetracycline labelling examination, the woven bone in the margin of the graft showed single labelling.

2. The influence of drilling on the new bone formation in deep frozen allografts was studied in the rabbit. A drilled frozen allograft was grafted in the ilium and transfixed with a #24 needle to the matrix. Non-drilled frozen bone was grafted in the contralateral ilium. At four, eight, sixteen and twenty-four weeks after operation, rabbits were sacrificed and the grafted bone with surrounding iliac bone was resected for examination. Roentgenographically, the drilled deep frozen allografts showed marked osteoporotic change at twenty-four weeks after operation. Histologically, they showed atrophy of trabeculae. In the tetracycline examination, the drilled allografts showed patchy labelling in the grafted bone at sixteen weeks after operation, but the non-drilled allografts showed no tetracycline labelling. There was no significant difference in the mineral appositional rate between drilled and non-drilled allografts. (Accepted on August 29, 1990) *Kawasaki Igakkaishi* 16(2): 141-152, 1990

Key Words ① Deep frozen allograft ② Growth hormone
③ Drilled deep frozen allograft

I. はじめに

冷凍同種骨移植と新鮮自家骨移植の治癒経過を比較検討した研究は数多い。¹⁾ いずれの骨移植でも移植後の骨細胞はいったん死滅し、宿主側の細胞誘導により移植骨の吸収と置換が生じるといわれており、両移植の治癒形式には全く差を認めず、その置換速度のみが異なるにすぎないといわれている。また冷凍移植骨の抗原性に関しても1981年小沢らは、second set skin rejection system を用いてその抗原性を測定し、冷凍骨にも多少の抗原性は残っているものの新鮮同種骨にくらべて明らかに抗原性が低下していることを証明した。²⁾ 1985年渡辺は、キラーT細胞活性の測定および補体依存性細胞障害試験で冷凍移植骨の抗原性は自家骨とほとんど変わらないことを発表した。³⁾ また純系マウスを用いての研究や、⁴⁾ ヒトHLAの測定で抗原性と骨癒合を調べた研究でも明らかな差は認められないという報告が多い。⁵⁾ 現在、一般的には自家骨移植および人工骨として期待されているハイドロキシアパタイトの移植が主に

行われている。しかし自家骨移植は、移植骨採取のための外科的処置が必要であるとともに、その採取量にも制限があり、ハイドロキシアパタイト等の人工骨も長年にわたって吸収置換されないまま、骨内に残存すると考えられている。⁶⁾ 骨の欠損部は、将来自分の骨で置換されることが望ましいと考えられるため、冷凍骨移植はその条件を満たす理想的なものといえる。

成長ホルモンが骨に対してどのような影響を及ぼすかは、1953年以来特に骨折の実験によって研究が行われてきた。新鮮な骨折に対しては、その骨癒合を速めることはないが、偽関節の癒合を速めるのには有効であり、またその強度を増すであろうということがわかっている。しかし骨移植と成長ホルモンの関係は、ほとんど研究されていない。

今回著者は、自家骨移植及び同種骨移植の経過が成長ホルモンの投与によってどのように変化するかを、非脱灰標本のH-E染色、およびテトラサイクリンラベリングによる石灰化速度

の測定、ソフテックス撮影による骨密度の測定を行い比較検討した。また、穴を開けた冷凍移植骨は、その穴から未熟な間葉系細胞が入り込み、骨置換が進むのではないかという予測に基づき、上記と同様の方法で検討した。

II. 実験方法

1. 実験動物

実験動物には、雄の成熟家兎を用いた。偶然に免疫性の近い家兎同志の移植を避けるために、日本家兎と、Newzealand white rabbitの2種を用い、それぞれを donar と recipient とした (Fig. 1)。

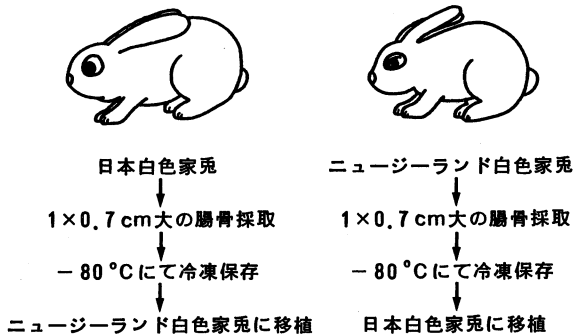
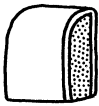
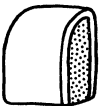


Fig. 1. Newzealand white rabbits and Japanese rabbits were chosen as experimental animals.

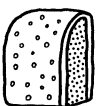
○冷凍同種骨



○新鮮自家骨



○冷凍同種骨の皮質に穴を開けた群



移植

腸骨

注射針

移植骨

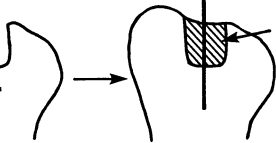


Fig. 2. Deep frozen allogenic bone, fresh autogenic bone and drilled deep frozen allogenic bone were grafted in ileum and transfixed with needle.

2. 移植骨片の採取および保存

pentobarbital sodium (ネンブタール®) 0.5 ml/kg の静脈麻酔により入眠させ、腸骨稜部を剃毛し、消毒を行う。同部位に皮切を加え、腸骨に付着している筋肉を剝離し、歯科用バーとノミを用いて 0.7×1 cm 大の長方形に骨を採取した。採取した骨は、骨膜を除去し、速やかに -80°C で無菌的に保存した。冷凍保存には、超低温保存庫 (プルトフリーザ) を用いた。

3. 移植手術

2週間以上 -80°C で保存した移植骨片を室温の生理食塩水に漬けて凍解させた後、移植骨採取と同様の方法により、0.7×1 cm 大の骨欠損部を作製してそこに移植骨片を 24 ゲージ注射針で串刺しにして固定した。対照とした自家骨移植群は、同サイズの移植骨片を一度取り出し、骨膜を取り除いた後同部位に固定したものである。皮質に穴を開けたグループは、同種骨移植直前に歯科用バーを用いて径 1 mm の穴を左右の皮質に開けたものを用いた (Fig. 2)。

4. 対照と成長ホルモン投与方法

5つのグループにおいて動物モデルを作製した。

- ① 冷凍同種骨移植群
- ② 新鮮自家骨移植群
- ③ 冷凍同種骨移植群で皮質骨に穴を開けた群
- ④ 冷凍同種骨移植群+成長ホルモン投与
- ⑤ 新鮮同種骨移植群+成長ホルモン投与

成長ホルモンは、ヒト成長ホルモン (ノルデスク) を 0.5 I.U./kg/week を 2回において筋肉注射した。

実験期間は、術後 4週、8週、16週、24週とし、

各グループでそれぞれ実験例数を5羽となるようにした。成長ホルモン投与群は、術後4週と術後8週で検討した。

5. 組織学的観察法

屠殺した家兎より腸骨全体を取りだし、10%中性ホルマリンによる固定を1週間行い、脱水した後、methyl metacrylateに包埋した。これをマルトー社製内周刃カッターにて約40 μ mの厚さの切片にした後ガラス研磨法により、20 μ mの薄切切片を作製し、Cole H-E染色を行い光学顕微鏡で観察した。⁷⁾

6. ラベリング像観察法

各実験期間の屠殺17日前にテトラサイクリン50mgを筋肉注射し、14日後に再びテトラサイクリン50mgを筋肉注射した。上記と同様の方法にて20 μ mの非脱灰標本を用いて蛍光顕微鏡でラベリング像を観察した。二重ラベリング像を呈したものは、その幅を3か所で測定し平均して、投与間隔である14で割り、1日の石灰化速度を測定した。⁸⁾

7. ソフテックス撮影および自動画像解析装置

家兎の屠殺後腸骨を採取して10%中性ホルマリンにて1週間の固定後アルコールにて脱水をした後ソフテックス撮影を行った。ソフテックス撮影の条件は一定に、焦点・フィルム間距離45cm、管電圧3kV、管電流5mA、照射時間1分30秒である。このフィルムで骨癒合を確認するとともに、自動画像解析装置(IBAS)を用いて骨粗鬆の状態を判定した。

III. 結 果

1. 組織所見

① 冷凍同種骨移植群

4週目で、すでに移植骨と母床との間隙は、完全に消失しており、その接合部にも比較的成熟した骨梁がみられた。移植骨の骨髓腔内は、肉芽組織が増殖していた。骨梁の構造に変化は認められないが、骨細胞の染色性は著明に低下しており、細胞は壊死に陥っているものと思われた(**Fig. 3**)。周囲の母床では、骨細胞の染

色性は良好であるが、活発な類骨形成像や、破骨細胞はみられなかった。皮質骨に穴を開けたグループでも、同様の所見であり、特に新生骨の侵入が促進されているような像は認められなかった。成長ホルモンを加えたグループでも、移植骨内には、特に変化は認められなかった。

8週目では、移植骨と母床との接合部位に幼稚な新生骨が、わずかに出現してきている。しかし、その量は自家骨移植群に比べると明らかに少ない。移植骨の骨髓腔内の肉芽組織は、残存していた。移植骨内の骨梁は4週目と比べて変化はない。新生骨が、移植骨内に侵入している像は認められなかった。皮質骨に穴を開けたグループでも同様の所見であった。成長ホル



Fig. 3. Microscopic findings of the frozen allograft in four weeks after operation
Necrotic trabeculae and proliferation of granulation tissue were observed (H-E stain, $\times 40$).

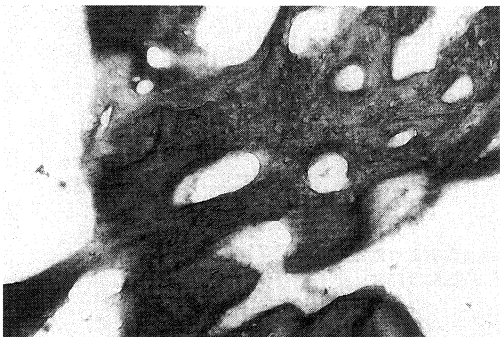


Fig. 4. Microscopic findings of the frozen allograft in eight weeks after operation
Woven bone were observed in the connections of the host bone and the graft bone (H-E stain, $\times 100$).

モンを加えたグループでは、接合部において旺盛な幼弱新生骨の出現を5枚中3枚の標本で観察できた (Fig. 4).

16週目では、接合部に生じた幼弱な新生骨が、移植骨内部に侵入しており、壊死している母床の骨梁と新生骨が接触している像が多く認められた (Fig. 5). しかし、新生骨の侵入している範囲は、その接合部よりわずか1~2mm程にすぎず、移植骨内部には、壊死している骨梁がそのままの形で残存していた。移植骨の骨

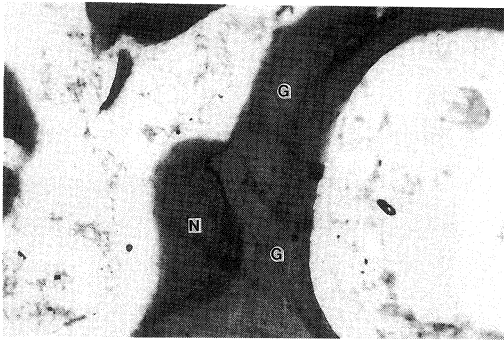


Fig. 5. Microscopic findings of the frozen allograft in sixteen weeks after operation

In the margin of the graft, new woven bone appeared in contact with necrotic trabeculae (H-E stain, $\times 100$).

G: necrotic trabeculae in the margin of the graft
N: new woven bone

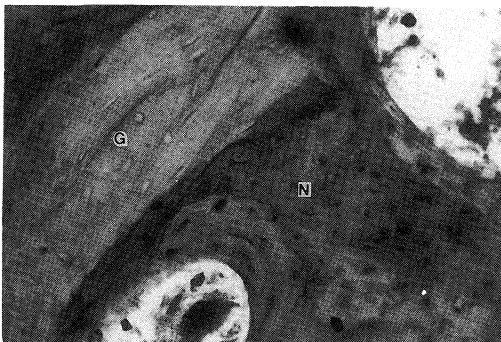


Fig. 6. Microscopic findings of the graft

Twenty-four weeks after operation, new woven bone appeared in contact with necrotic trabeculae of the graft (H-E stain, $\times 200$).

G: necrotic trabeculae in the graft
N: new woven bone

髄腔内の肉芽組織は、ややその範囲が減少していた。皮質骨に穴を開けたグループでも同じような所見が得られた。

24週目では、移植骨内部にまで幼弱な新生骨が出現しており、壊死骨と直接接合している所見が多く認められた (Fig. 6). 一部の新生骨は、層板状を呈しており、その辺縁には、一層の骨芽細胞が存在し、類骨形成像も認められた。しかし中心部にはいまだかなりの壊死骨が存在していた (Fig. 7). 移植骨骨髄腔内は、ほぼ正常の形態を示していた。皮質骨に穴を開けたグループでは、移植骨内の骨梁の面積が著明に減少していた。

② 新鮮自家骨移植群

4週目では、接合部に幼弱な新生骨の形成を認めた。移植骨片の骨梁は、その構造に変化は認めなかったが、骨細胞の染色性は著明に低下しており、骨細胞が壊死していることが示唆された。新生骨が移植骨内へ侵入している所見は、認められなかった。母床の骨梁は、その辺縁に一層の骨芽細胞が並び、類骨形成を示しており、正常の骨の吸収と形成が行われていることが観察された。また、骨梁間の骨髄腔には、肉芽組織が増殖していた (Fig. 8). 成長ホルモンを加えたグループでは接合部に未熟な新生骨がより多く認められたが、移植骨内部には変化は認められなかった。

8週目では、接合部に生じた新生骨が徐々に内部に広がっていく像がみられたが、まだ移植

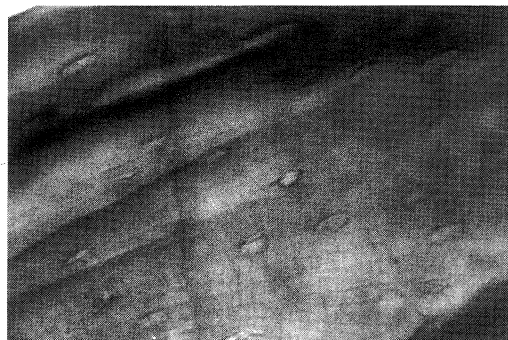


Fig. 7. Microscopic findings of necrotic trabeculae in the graft in twenty-four weeks after operation (H-E stain, $\times 400$)

骨の中心部にはそのような像は認められない (Fig. 9). 母床の骨梁は、類骨形成が著明であった。移植骨の骨髓腔内の肉芽組織はまだ残存していた。成長ホルモンを加えたグループは、移植骨内への新生骨の侵入がさらに進んでおり、骨置換がより促進されていることが推測された。

16週目では、新生骨の侵入が進んでいるが、いまだ中心付近には達していない。しかし移植骨の辺縁部では、壊死骨と新生骨が接触し、徐々に新生骨に置換されてゆく所見が多く認められた。その量は、明らかに同種骨移植群より広範囲であった (Fig. 10)。

24週目になると、新生骨は、移植骨の中央部にまでも認められた。移植骨内で未熟な新生

骨と、壊死している骨梁とが接している所見が多く認められた。移植骨の内部の新生骨は、層状になりつつあるものが多く (Fig. 11), その部分では、類骨形成も盛んに行われていた。骨髓腔内の肉芽組織は、ほぼ消失して、正常な骨髓で満たされていた。

2. テトラサイクリンラベリング所見

① 冷凍同種骨移植群

4週目では、移植骨内部にはラベリング像は全く認められない。母床においてもラベリング像はほとんど認められなかった。成長ホルモンを投与したグループ、皮質骨に穴を開けたグループにおいても全く同じ所見であった。

8週目でも母床の骨梁には、ラベリング像は

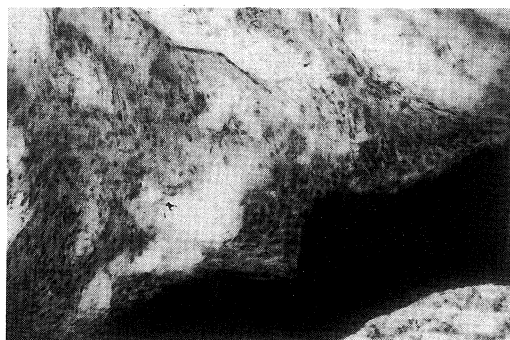


Fig. 8. Microscopic findings of fresh autograft in four weeks after operation
Granulation tissue proliferated in the marrow cavity (H-E stain, $\times 200$).

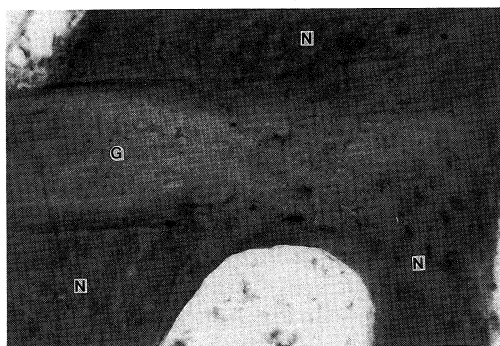


Fig. 10. Microscopic findings of fresh autograft in sixteen weeks after operation (H-E stain, $\times 200$)
G: necrotic trabeculae in the graft
N: new woven bone

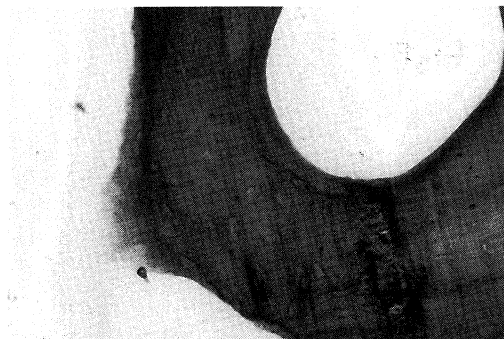


Fig. 9. Microscopic findings of fresh autograft in eight weeks after operation
In the center of the graft, new woven bone was not observed (H-E stain, $\times 200$).

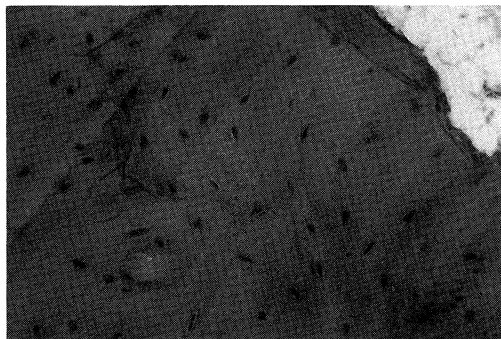


Fig. 11. Microscopic findings of new bone in the graft
Lamellar structures is observed in new bone area in the graft (H-E stain, $\times 200$).

認められなかった。移植骨内部にも、いまだラベリング像は認められなかった。しかし、成長ホルモンを加えたグループでは、5枚中2枚の標本で母床に一重のラベリング像が認められ、移植骨と母床との接合部において旺盛な新生骨の増殖が認められ、その周囲に一重のラベリング像が認められた (Fig. 12)。

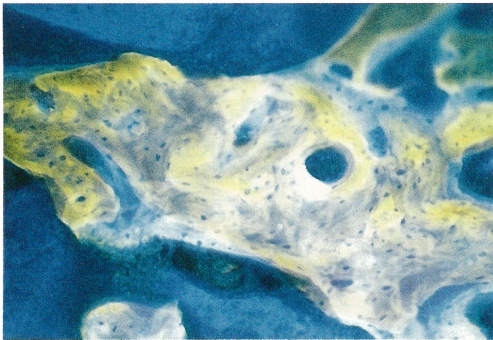


Fig. 12. Microscopic findings of woven bone in the connections of the host bone and the graft bone
Woven bone was labelled by tetracycline (Fluorography, $\times 100$).

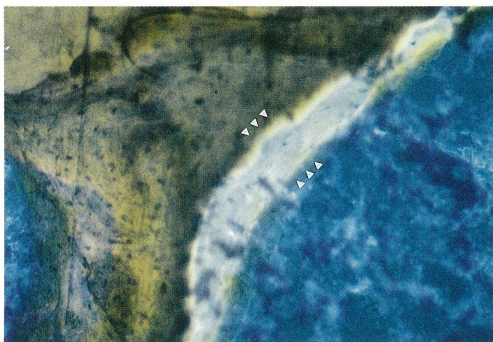


Fig. 13. Microscopic findings of double tetracycline labelling in the allograft (Fluorography, $\times 400$)

16週目では、移植骨の周辺部で一重のラベリング像がわずかに観察されるのみであった。母床には二重のラベリング像が認められた。皮質骨に穴を開けたグループでは、移植骨内部にまだら状の一重のラベリング像が認められた。

24週目では、移植骨の内部で二重のラベリング像が多く認められ、一日の石灰化速度は $2.67 \pm 0.51 \mu\text{m}$ であった。皮質骨に穴を開けたグループの石灰化速度は $2.18 \pm 0.81 \mu\text{m}$ であった (Fig. 13)。

⑥ 新鮮自家骨移植群

4週目では、まだ移植骨内部にラベリング像は認められない。母床の骨梁には、一重のラベリング像が認められた。成長ホルモンを加えたグループでは接合部に出現した幼弱な新生骨に一重のラベリング像が認められた。

8週目でも、まだ移植骨内部には、ラベリング像は認められない。母床の骨梁には、二重のラベリング像が認められた。成長ホルモンを加えたグループでも、移植骨内部にはラベリング

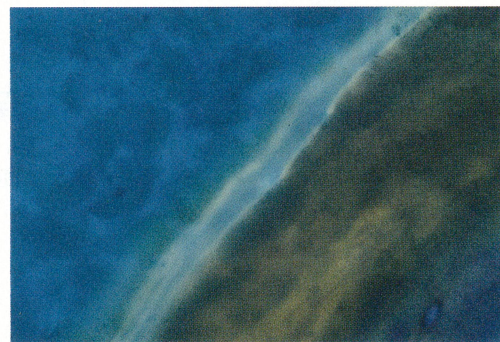


Fig. 14. Microscopic findings of double tetracycline labelling in the autograft (Fluorography, $\times 200$)

Table 1. Summary of the changes of bone density

	4 週 目	8 週 目	16 週 目	24 週 目
冷 凍 同 種 骨	51.5 ± 10.84	27.4 ± 11.80	26.6 ± 10.70	25.2 ± 16.20
新 鮮 自 家 骨	55.4 ± 8.76	43.6 ± 26.70	59.2 ± 25.20	45.8 ± 26.90
冷凍同種骨に穴を開けた群	59.8 ± 11.99	29.4 ± 15.20	27.6 ± 17.80	8.2 ± 5.60
冷凍同種骨+成長ホルモン	42.0 ± 17.00	52.8 ± 22.80		
新鮮自家骨+成長ホルモン	31.8 ± 15.73	37.8 ± 31.40		

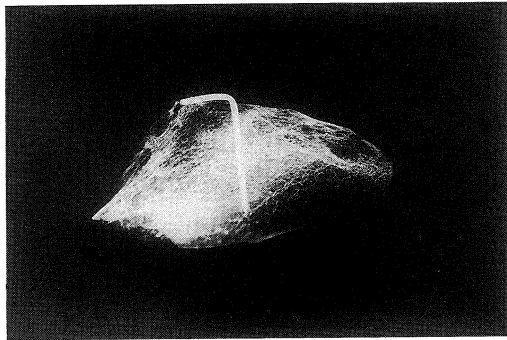


Fig. 15. Soft X-ray findings of fresh autograft in eight weeks after operation
The graft bone showed rigid union with the host bone. There was no significant difference in bone density between the graft and the host bone.

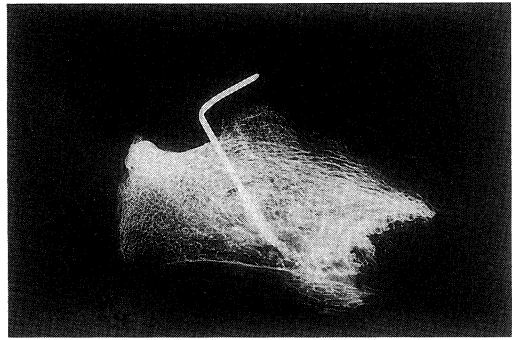


Fig. 16. Soft X-ray findings of deep frozen allograft in twenty-four weeks after operation
There was no significant difference in bone density between the graft and the host bone.

像は認められなかった。

16週目では、5枚中3枚の標本で移植骨内部に一重のラベリング像が認められた。

24週目では、移植骨内部に二重ラベリング像が認められ、1日の石灰化速度は $1.87 \pm 0.47 \mu\text{m}$ であった (Fig. 14)。

3. ソフテックス像および自動図画解析装置を用いた骨粗鬆程度の解析

同条件で撮影したソフテックス写真を用いて骨粗鬆の程度を定量的に解析した。移植骨全体のX線吸収率を求めるために、家兔の腸骨をソフテックス撮影し、移植骨内で白く写る面積が移植骨全体の面積の何%であるかを測定した (Table 1)。

新鮮自家骨移植群は、4週目から8週目にかけて軽度の骨粗鬆化の傾向が認められるが、8週目から16週目にかけて骨硬化が始まり、24週目では、ほぼ移植時と同程度のX線吸収率を示していた (Fig. 15)。

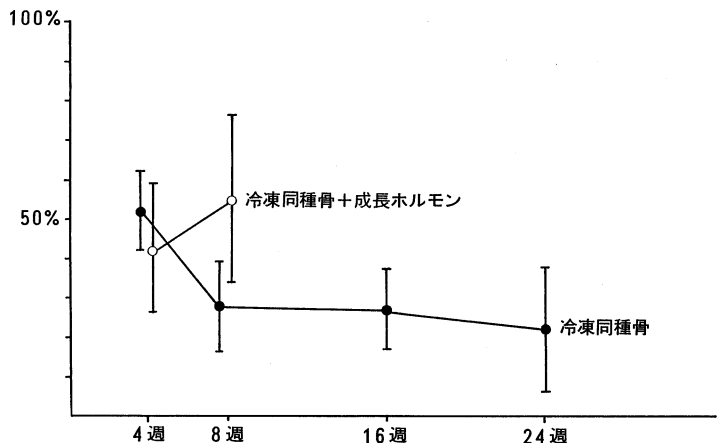


Fig. 17. Changes of bone density in the graft

closed circle : deep frozen allograft
open circle : deep frozen allograft treated with growth hormone

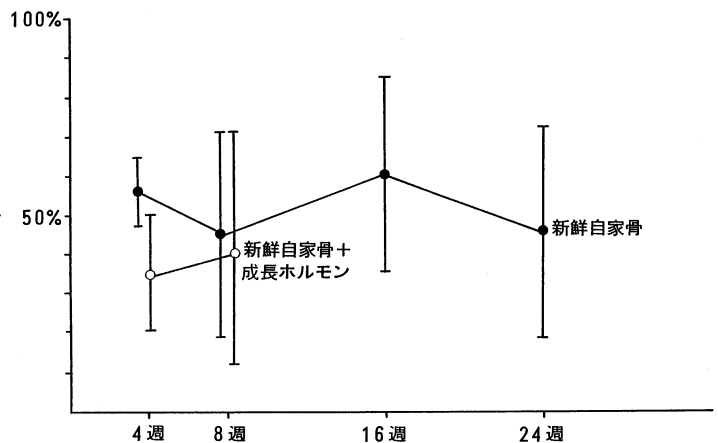


Fig. 18. Changes of bone density in the graft

closed circle : fresh autograft
open circle : fresh autograft treated with growth hormone

冷凍同種骨移植群は、4週目から8週目にかけて著明な骨粗鬆化が認められ、8週目から24週目にかけても骨硬化は起こらず、24週目の時点では移植時のほぼ半分程度のX線の吸収率を示しており (Fig. 16)、新鮮自家骨移植群と比べ、明らかに骨粗鬆化が進んでいた。成長ホルモン投与群は、新鮮自家骨移植群、冷凍同種骨移植群ともに4週目から8週目にかけて骨粗鬆化は起こらず、逆に骨硬化が認められた (Figs. 17, 18)。

冷凍同種骨の皮質に穴を開けた群は、16週目までは、通常の冷凍骨移植群とほぼ同様の経過を推移したが、24週目の時点では、著明な

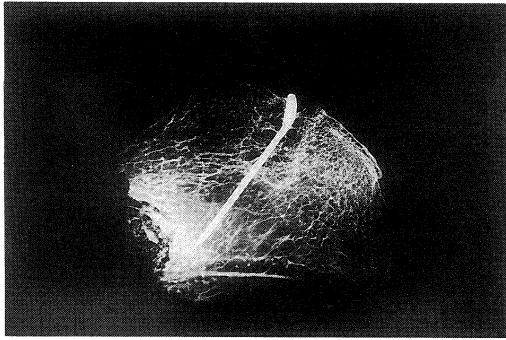


Fig. 19. Soft X-ray findings of drilled deep frozen allograft in twenty-four weeks after operation
The graft bone showed marked osteoporosis.

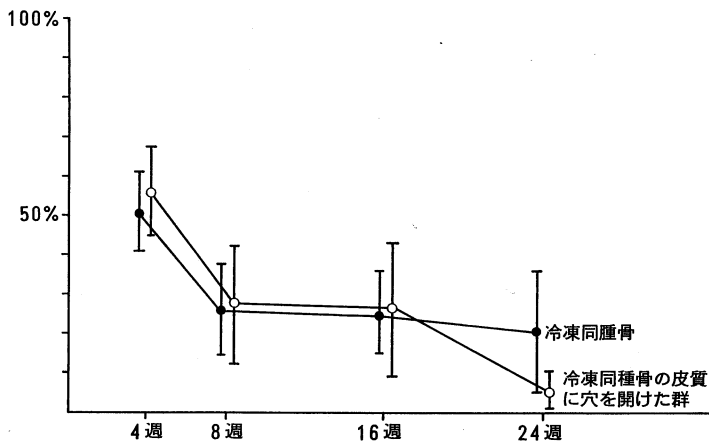


Fig. 20. Changes of bone density in the graft
closed circle : non-drilled deep frozen allograft
open circle : drilled deep frozen allograft

骨の粗鬆化が起こり (Fig. 19)、X線の吸収率は、移植時のほぼ1/5程度になっていた (Fig. 20)。

IV. 考 察

冷凍同種骨移植は、1940年代から臨床で用いられている比較的古い治療法であるが、その成績が、自家骨移植に比べて劣っていることや、特に日本では、死体からの骨の採取がむずかしいことなどによって、その使用はごく限られた施設で行われているにすぎない。⁹⁾しかし、欧米においては同種骨移植が一般化しており^{10)~13)}骨腫瘍摘出後の骨欠損や、脊椎固定手術における骨移植などで自家骨と変わらない成績をあげている報告さえ散見できる。¹⁴⁾しかし一般的には、その骨癒合は自家骨移植に比べて劣っており、80%程度の成功率であるといわれている。⁹⁾

また、各種のホルモンやビタミン等の全身あるいは局所的な投与によって骨折または骨移植の成績を向上させようという試みもなされている。^{15)~18)}成長ホルモンの骨に対する作用に関しては、1953年 Shepanek が骨折に対して初めて実験を行い、¹⁹⁾成長ホルモンの全身投与で仮骨の量は対照と比べて多いが、骨癒合に差は認められなかったと報告した。それ以来、

成長ホルモンの骨折治療に及ぼす影響について多くの研究がある。新鮮な骨折に対しては、骨癒合に関する違いは認められないが、偽関節においてその骨癒合を促進するという報告が多い。^{20)~23)}Reddi らはラットを用いて、成長ホルモンが未分化間葉系細胞の骨細胞への分化と増殖を加速させるとともに破骨細胞の活動性も同時に向上させると報告した。²⁴⁾成長ホルモンの骨移植に対する作用については、Wittbjer が1983年に自家骨移植に用いてX線と骨シンチグラムで成長ホルモン投与群の

骨癒合が対照群よりも進んでいたと報告した。自家脱灰骨移植に対して同様に成長ホルモンを投与した実験では、その骨癒合に有意差は認められなかった。^{25), 26)}

冷凍骨移植の際皮質骨に穴を開ける方法は、その穴から未分化間葉系細胞が侵入し、骨置換が促進されるのではないかという予測のもとで実験を行った。1990年、S. R. Babin らは臨床例で冷凍同種骨移植の際に皮質骨にドリルで穴をあけ、その穴から新生骨が侵入していたことを報告した。²⁷⁾

著者の実験では、移植骨として海綿骨を用いたため、4週間で全てのグループにおいて完全な骨癒合が得られていた。組織学的所見では、新鮮自家骨、冷凍同種骨とも16週目より徐々に骨置換が始まり、24週目では移植骨の中央部にまで置換が進んでいた。ただ骨置換は、新鮮自家骨でより広範囲であった。諸家の報告では、骨置換は8週目頃には移植骨のほぼ半分が新生骨によって骨置換されているとしているものが多いが、²⁸⁾ 著者の実験ではそれが大きく遅延していた。その原因として考えられることは、骨移植手術の際に腸骨に付着している筋肉を剝離しているために腸骨への血行が一時的に遮断され、その血行が十分再開されるのに4週間程度の期間が必要であるためであろう。それを裏付けるものとして4週目の母床の骨梁は、その骨細胞の染色性こそ保たれているものの、周囲には骨芽細胞は認められず、類骨形成が行われている像も認められなかった。血行再建は、自家骨移植群が同種骨移植群に比べて早い傾向にあった。成長ホルモンを加えたグループでもほぼ同様の所見が認められたが、移植骨と母床との接合部で幼弱な骨組織が、8週目の標本で多く認められた。皮質骨に穴を開けたグループでは16週目までは対照群と差は認められなかったが、24週目においては、移植骨内の骨梁の萎縮が進んでいた。テトラサイクリンを用いたラベリング像でも上記の結果を裏付ける所見が得られた。すなわちどのグループにおいても8週目までは移植骨内にラベリング像は

認められず16週目において母床からわずかに侵入してくる幼弱な新生骨とともにラベリング像が認められはじめ、24週目できれいな二重ラベリング像がすべてのグループで認められた。二重ラベリング像を用いて1日の石灰化速度をもとめたが、新鮮自家骨、冷凍同種骨の間に有意差は認められなかった。また、冷凍同種骨移植群と穴を開けた冷凍同種骨移植群においても1日の石灰化速度に有意差は認められなかった。皮質に穴を開けたグループでは、16週目の時点で2枚の標本にてまだら状の一重のラベリング像が認められ、皮質の穴から新生骨が侵入している可能性が示唆された。ソフテックス像を用いた移植骨の骨粗鬆の程度の測定結果では、新鮮自家骨、冷凍同種骨とも4週目から8週目にかけて骨粗鬆が進んでいるのに対し、成長ホルモン投与群では、むしろその期間に骨硬化が進んでおり、骨の吸収が抑制されているのではないかという印象を得た。皮質骨に穴を開けた冷凍同種骨群では16週目までは、対照群とほぼ同様の結果であったが、24週目においては、骨粗鬆が著明に進んでいた。

V. 結 語

著者は同種冷凍骨移植に対する成長ホルモンの全身投与の影響を調べるために家兎を用い、実験的研究を行った。また同時に皮質骨に穴を開けた冷凍同種骨は、その骨置換が促進されるのではないかとこの予測のもとに同様の研究を行った。

1. 成長ホルモンの全身投与において、明らかな骨癒合、骨置換の促進は認められなかったが、移植後4週から8週までの間に対照群に骨粗鬆化が起こったのに対して成長ホルモン投与群では、骨粗鬆化は起こらず、逆に骨硬化が起こり、骨吸収が抑制されていることが示唆された。

2. 皮質骨に穴を開けた冷凍同種骨は、移植後16週で移植骨内部にテトラサイクリンラベリングがまだら状にみられ、骨置換が対照に比

べてやや進んでいることが示唆された。24週目では骨粗鬆の程度が極端に進んでいた。また、24週目で石灰化速度の測定を行ったが、有意差は認められなかった。

稿を終わるにあたりご指導を賜り、ご校閲をいただきました川崎医科大学整形外科 渡辺 良教授に深く感謝いたします。また、川崎医科大学整形外科学教室 秋山直美研究補助員に感謝いたします。

文 献

- 1) 山本 真：骨・軟骨移植の歴史。「別冊整形外科 No. 8, 骨・軟骨移植の基礎と臨床」(真角昭吾編)。東京, 南江堂。1985, pp. 2-5
- 2) 小沢 隆, 糸満盛憲：同種処理骨の抗原性に関する実験的研究。北里医 11 : 482-492, 1981
- 3) 渡辺 晋：-196°C凍結同種皮質骨移植の抗原性と骨形成に関する実験的研究。京都府医大誌 95 : 293-302, 1986
- 4) Bos, G. D., Goldberg, V. M., Zika, J. M., Heiple, K. G. and Powell, A. E.: Immune responses of rats to frozen bone allografts. J. Bone Joint Surg. 65-A : 239-246, 1983
- 5) Muscolo, D. L., Caletti, E., Schajowicz, E., Araujo, E. S. and Makino, A.: Tissue-typing in human massive allografts of frozen bone. J. Bone Joint Surg. 69-A : 583-595, 1987
- 6) 黒沢 尚, 渋谷一行, 村瀬研一, 佐藤 茂, 増島 篤：骨充填材としての合成アパタイト多孔体の実験的研究。「別冊整形外科 No. 8, 骨・軟骨移植の基礎と臨床」(真角昭吾編)。東京, 南江堂。1985, pp. 58-63
- 7) 本間哲夫, 若松英吉：非脱灰研磨染色標本作製法。「骨形態計測ハンドブック」(高橋栄明編)。新潟, 西村書店。1983, pp. 34-44
- 8) 乗松尋道：骨の組織学的形態計測 (1)-hit point 法を中心に。「骨形態計測ハンドブック」(高橋栄明編)。新潟, 西村書店。1983, pp. 80-86
- 9) 糸満盛憲, 真角昭吾, 笹本憲男, 守谷俊一, 山本 真：冷凍保存同種骨移植の成績と骨銀行の問題点。整形外科 30 : 908-912, 1979
- 10) Malison, T. I., Martinez, O. V. and Brown, M. D.: Banking of massive osteoarticular and intercalary bone allografts -12 years' experience. Clin. Orthop. 197 : 44-57, 1984
- 11) Tomford, W. W., Doppelt, S. H., Mankin, H. J. and Friedlaender, G. E.: 1983 bone bank procedures. Clin. Orthop. 174 : 15-21, 1983
- 12) Prolo, D. J. and Rodrigo, J. J.: Contemporary bone graft physiology and surgery. Clin. Orthop. 200 : 322-342, 1985
- 13) Gross, A. E., McKee, N. H., Pritzker, K. P. and Langer, F.: Reconstruction of skeletal deficits at the knee. Clin. Orthop. 174 : 96-106, 1983
- 14) Dodd, A. F., Fergusson, C. M., Houghton, G. R. and Thomas, D.: Allograft versus autograft bone in scoliosis surgery. J. Bone Joint Surg. 70-B : 431-434, 1988
- 15) Knize, D. M.: The influence of periosteum and calcitonin on onlay bone graft survival. A roentgenographic study. Plast. Reconstr. Surg. 53 : 190-199, 1974
- 16) Gerngross, H., Burri, C. and Claes, L.: Experimental studies on the influence of fibrin adhesive, factor XII, and calcitonin on the incorporation and remodeling of autologous bone grafts. Arch. Orthop. Trauma. Surg. 106 : 23-31, 1986
- 17) Meller, Y.: Parathyroid hormone, calcitonin, and vitamin D metabolites during normal fracture healing in humans. Clin. Orthop. 183 : 238-245, 1984
- 18) Andreen, O. and Larsson, S.-E.: Effects of parathyroidectomy and vitamin D on fracture healing. Acta Orthop. Scand. 54 : 805-809, 1983
- 19) Shepanek, L. A.: The effect of endocrine substances (ACTH and growth hormone) on experimental fractures. Surg. Gynecol. Obstet. 96 : 200-204, 1953

- 20) Northmore-Ball, M. D., Wood, M. R. and Meggitt, B. F.: A biomechanical study of the effects of growth hormone in experimental fracture healing. *J. Bone Joint Surg.* 62-B : 391—396, 1980
- 21) Laftman, P.: No effect of growth hormone on recovery of load-protected bone. *Acta Orthop. Scand.* 59 : 24—28, 1988
- 22) Mankin, H. J., Thrasher, A. Z., Weinberg, E. H. and Harris, W. H.: Dissociation between the effect of bovine growth hormone in articular cartilage and in bone of the adult dog. *J. Bone Joint Surg.* 60-A : 1071—1075, 1978
- 23) Bak, B.: Dose response of growth hormone on fracture healing in the rat. *Acta Orthop. Scand.* 61 : 54—57, 1990
- 24) Reddi, A. H. and Sullivan, N. E.: Matrix-induced endochondral bone differentiation: Influence of hypophysectomy, growth hormone, and thyroid-stimulating hormone. *Endocrinology* 107 : 1291—1299, 1980
- 25) Wittbjer, J.: Composite grafts of demineralized compact bone and marrow under systemic biosynthetic growth hormone treatment. *Arch. Orthop. Trauma. Surg.* 104 : 233—237, 1985
- 26) Wittbjer, J., Rohin, M. and Thorngren, K. G.: Bone formation in demineralized bone transplants treated with biosynthetic human growth hormone. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 17 : 109—117, 1983
- 27) Babin, J. R.: The value of drilling of massive deep-frozen bone allografts. Histological findings in an allograft removed after 27 months. *French J. Orthop. Surg.* 4 : 134—137, 1990
- 28) 栗原英之: 冷凍乾燥同種骨の顎部移植に関する実験的研究. *歯科学報* 85 : 633—662, 1985