

〔原 著〕

骨傷治癒過程の実験的検討
—軟X線所見とマイクロラジオグラム所見を中心に—

金子 昌幸, 前田 静一, 後藤 邦彦,
佐野 友昭, 郭 東英, 大西 隆,
金子 和子

東日本学園大学歯学部歯科放射線学講座

(主任: 金子昌幸 教授)

Experimental Studies on the Healing of Bone Injuries

Masayuki KANEKO, Seiichi MAEDA, Kunihiko GOTO,
Tomoaki SANNO, Toei KAKU, Takashi OHNISHI, and Kazuko KANEKO

Department of Dental Radiology, school of Dentistry,
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY

(chief: Prof. Masayuki KANEKO)

Abstract

Soft X-ray radiography and microradiography were applied in following the healing process of bone injuries experimentally induced in rat mandibulae.

Thirty rats of about 200 g were used and fractures were produced in the mandibulae. Soft X-ray radiography and microradiography were carried out 4 days, 7 days, 14 days, 21 days, and 28 days after the fracturing.

Histological examinations were made to evaluate the relationships between the findings.

The soft X-ray radiograms and microradiograms clearly showed the healing process of the bone injuries in detail. The histological findings supported these results.

Key words : Soft X-ray radiography, microradiography, rat mandibulae, bone fracture

はじめに

顎骨における骨傷治癒過程を経日的に観察する方法としては、X線検査がその主流を成して

いるといえる。しかし、通常のX線所見として認められる骨の変化は、骨塩の増減が30%以上必要であるといわれ、骨塩沈着が微量な骨傷初期の段階では、判定が極めて困難な場合が殆

んどである。また、通常のX線検査では、骨傷部における骨塩の沈着量の増大によって、X線不透過性が経日的に増強するものの、骨組織の細部にわたる構造を観察することは不可能である。

そこで、今回、我々は、ラット下顎骨々体部に実験的骨傷を作製し、その治癒過程を経日的

に観察するとともに、細部にわたる骨構造の変化を追及する為に、軟X線検査とマイクロラジオグラフィーを用い、以下の実験を行ったので報告する。

材料ならびに方法

実験動物としては、体重200g前後の雄性ラッ

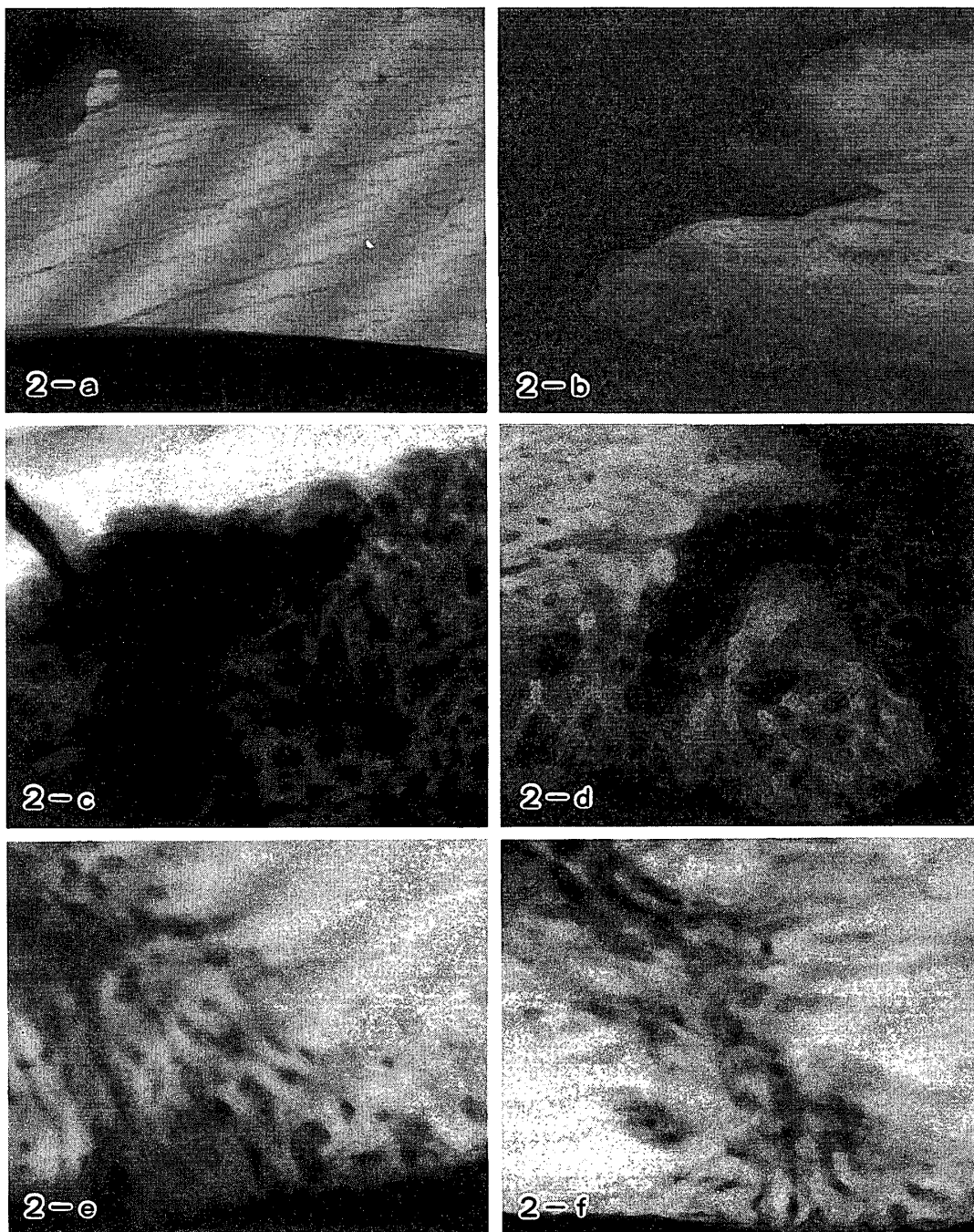


Fig. 1 Soft X-ray radiograms obtained from the mandibulae (1-a : control, 1-b : 4 days after injury, 1-c : 7 days after injury, 1-d : 14 days after injury, 1-e : 21 days after injury, 1-f : 28 days after injury).

トを用いた。ラットは実験開始に先立って一定条件の室内で、約一週間の予備飼育を行った。実験に供したラットの数は1群を5匹とし、経日的観察用の5群と対照用の1群の総計30匹である。

実験方法は、ラットの下顎骨々体部を皮膚外部より鉗子にて可及的に同一条件の骨折を惹起

させる方法をとった。その後、観察日までオリエンタル固形飼料と水道水を無制限に投与し、何等の整復処置を施すことなく、自然治癒を期待することとした。経日的観察は骨傷作製後4日目、7日目、14日目、21日目、28日目と対照の各群とし、骨傷部の軟X線所見、マイクロラジオグラム所見ならびに病理所見を同一試料を

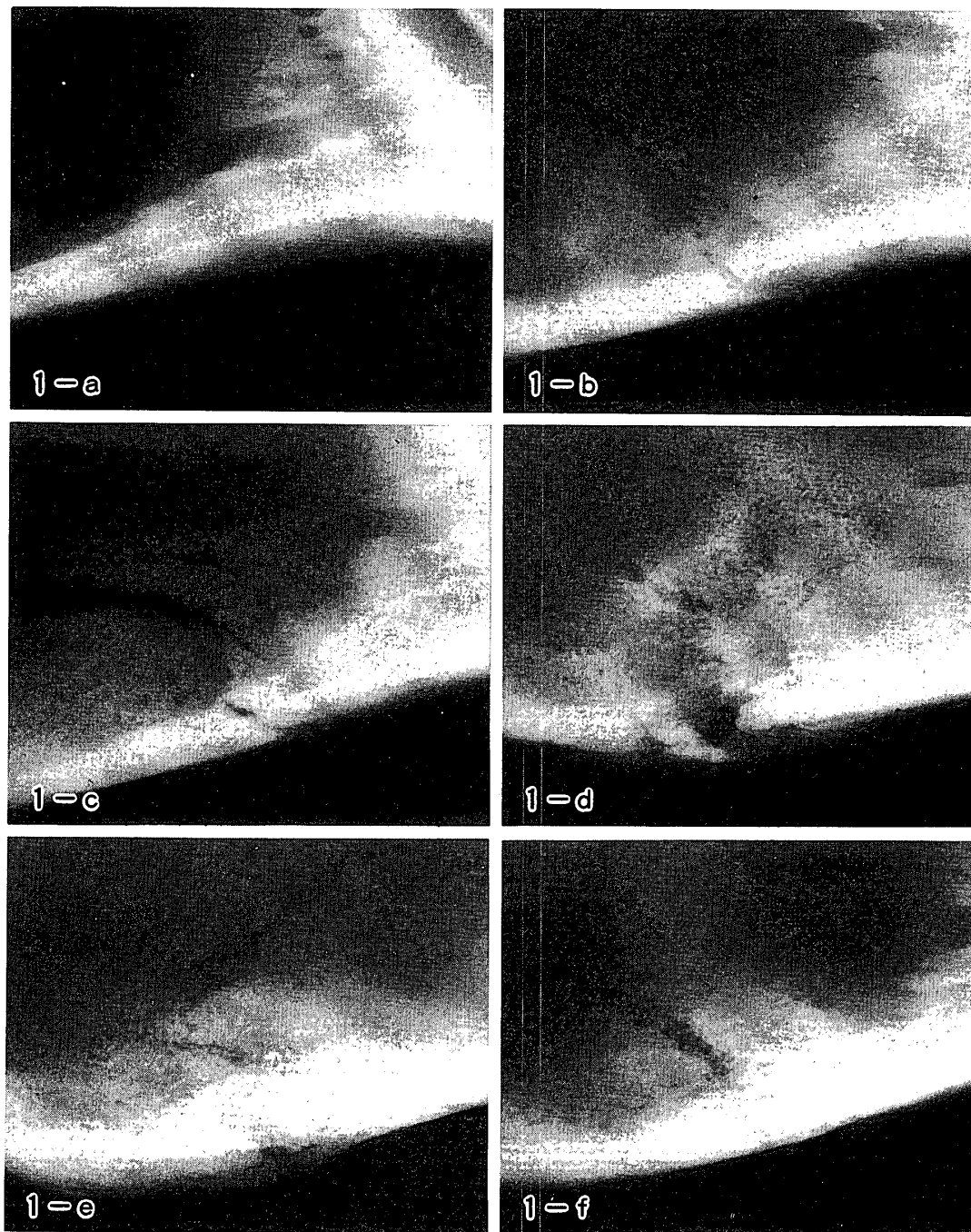


Fig. 2 Microradiograms obtained from the mandiblae (2-a ; control, 2-b ; 4 days after injury, 2-c ; 7 days after injury, 2-d ; 14 days after injury, 2-e ; 21 days after injury, 2-f ; 28 days after injury).

用いて得ることとした。

軟 X 線撮影は、ラットの下顎骨を屠殺直後に摘出し、10%中性ホルマリンで固定後に、軟組織を可及的に除去して、綜研社製軟 X 線発生装置にて、管電圧20kVp, 距離30cm, 撮影時間50秒の条件で行った。マイクロラジオグラフィ用試料は軟 X 線撮影用と同一試料を用い、通法に

従って、ポリエステル樹脂に包埋し、研磨標本作製装置(マルトー社製スピードラップ ML-150 Dc)にて約 $100\mu\text{m}$ の厚さとした²⁾。マイクロラジオグラムの作製は、管電圧20kVp, 距離15cm, 撮影時間2000秒の条件で行った。また、同一標本をさらに $50\mu\text{m}$ まで研磨した後、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して検鏡に供した。

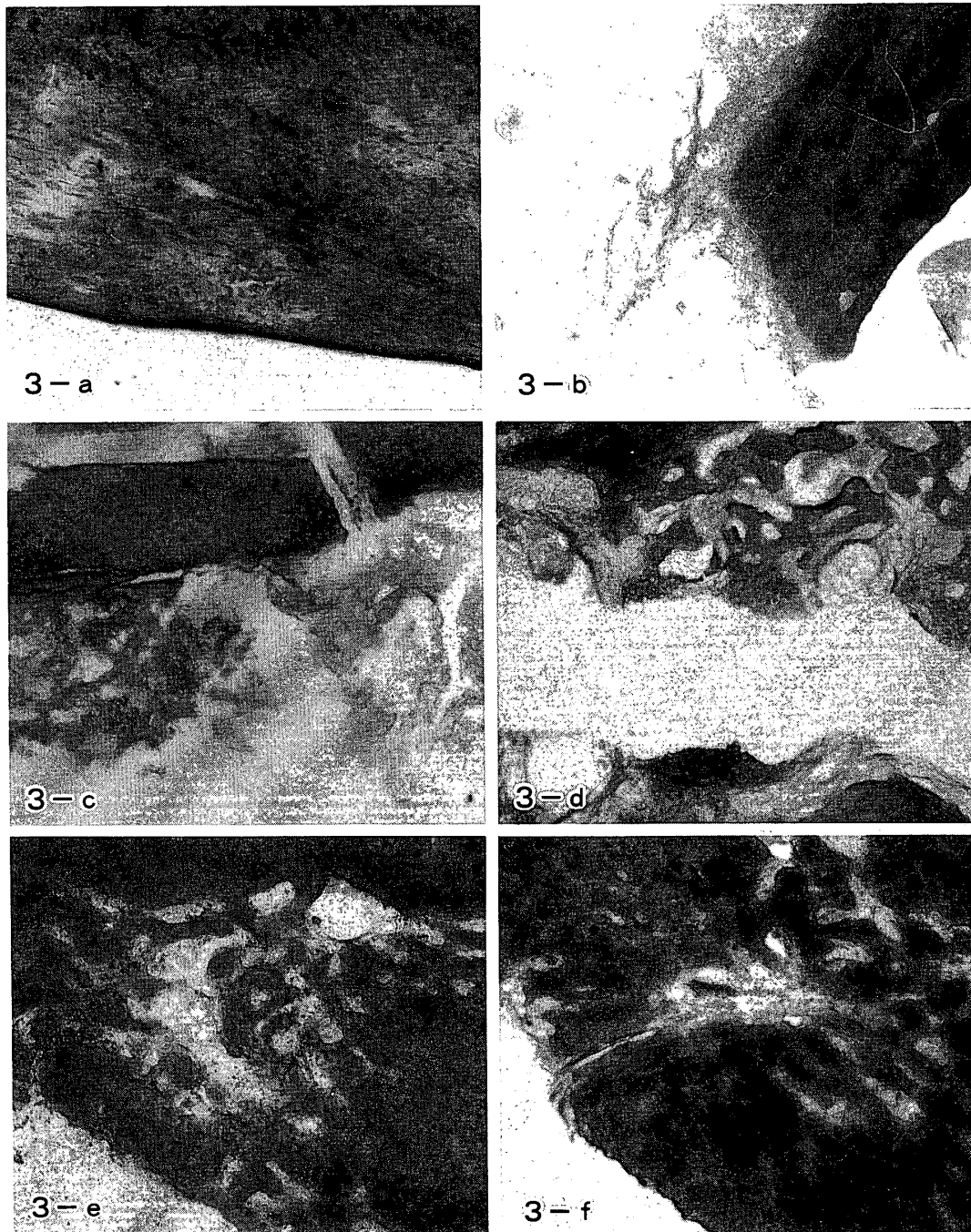


Fig. 3 Light micrographic sections of the injured mandiblae (3-a ; control, 3-b ; 4 days after injury, 3-c ; 7 days after injury, 3-d ; 14 days after injury, 3-e ; 21 days after injury, 3-f ; 28 days after injury).

実験結果

ラット下顎骨々体部に実験的骨折を作製し、その治癒過程を、軟 X 線検査、マイクロラジオグラフィーならびに病理学的検査を用いて経日的に観察し、以下の結果を得た。

1. 軟 X 線所見 (Fig.1)

対照では骨皮質部が一様の X 線不透過像として認められる。骨傷作製後 4 日目では、ラット下顎骨下縁の骨皮質部に鮮鋭かつ明瞭な骨折線が認められる。7 日目でも骨折線は鮮鋭かつ明瞭であり、4 日目と同様、同部に石灰化を思わせる所見は認められなかった。しかし、14 日目になると骨折線内部は新生仮骨によって満たされ、X 線不透過性の増大が認められた。また、外骨膜性仮骨によると思われる軽度の膨隆が骨皮質外側に認められた。21 日目では骨折線内部における石灰化がさらに進行し、下顎骨下縁の一部を除き、骨皮質の X 線不透過性は健常部とほぼ同様となった。しかし、仮骨形成による骨皮質部の膨隆は未だに消退せず、半透過性として認められた。28 日目では皮質骨にわずかな X 線透過像が認められるものの、骨皮質部の仮骨による膨隆は消退し、ほぼ健常部と同様の X 線不透過性を呈した。

2. マイクロラジオグラム所見 (Fig.2)

対照では層板状の骨構造が明瞭に認められる。骨傷作製後 4 日目では骨傷端が鮮鋭かつ明瞭であるものの、骨傷端付近で初期の骨の吸収が認められる。しかし、この段階においての外骨膜性の仮骨発生を認めることは出来なかった。7 日目になると、骨膜性の仮骨形成と骨の吸収窩が顕著に認められ、網状の骨構造を呈した。しかし、それらは十分な石灰化を示すことはなく、その太さも細いものであった。従って、X 線不透過性もさほど強くない状態であった。14 日目では、外骨膜性に生じた仮骨が 7 日目に比較してさらに太くなり、骨傷部は両端から架橋され

た状態を呈した。21 日目では外骨膜性の仮骨は吸収し、骨折線内部に骨梁の形成が認められた。しかし、それらの走行状態は健常骨の骨梁に直交する状態を呈し、28 日目では、骨折部における骨梁がさらに太くなり、骨皮質外側の膨隆はほとんど消失した。

3. 病理所見 (Fig.3)

対照では骨構造が層板状に認められ、ほぼ均一の染色所見を示す。骨傷作製後 4 日目では、健常骨は濃染色性として認められるが、骨傷端周囲は淡染色性を示す。しかし、この段階では仮骨形成を認めることは不可能であった。7 日目では外骨膜性に発生した新生仮骨が網状に認められ、一部は健常部と同様の染色性を示した。しかし、他部は淡染色性を示すのみであった。14 日目では網状の仮骨はさらに太くなり、染色性も骨と同様の所見が増大し、骨梁の密度も高くなった。しかし、骨傷部の架傷は未だに認められなかった。21 日目になると、外骨膜性に認められた仮骨はほぼ消失し、骨折線内部に網状の骨梁形成が認められ、骨傷部は架橋された所見を示した。それらの骨梁は健常部とほぼ同等の染色性を示すものの、密度はやや低めであった。28 日目では、骨折線内部における仮骨形成がさらに著明となり、骨梁一本一本も極めて太く、かつ高密度となり、それらの染色性は健常骨梁とほぼ同様であった。

考 察

今回われわれは、ラット顎骨の骨傷治癒過程の観察を軟 X 線撮影とマイクロラジオグラフィーで経日的に行うとともに、その裏付けを病理学的検査で行い、前述のごとくの結果を得た。

軟 X 線撮影は用いる X 線エネルギーが低く、撮影時間が長くなるものの、歯牙や骨組織を明瞭かつ鮮鋭に描出することが可能である。岩間⁹⁾は 17kVp の管電圧による軟 X 線撮影で骨

傷治癒過程の観察を行ったが、われわれの観察はさらに微細な構造を確認することが可能であった。即ち、骨傷作製後4日目で、骨傷端に沿って現れた瀰漫性の骨吸収像がすでに認められ、7日目では骨折線内部と骨皮質外側に新生仮骨からなる X 線不透過像が認められた。14日目になると、骨折線内部の石灰化はさらに亢進し、骨皮質外側にそって著明な膨隆が認められるなど、岩間³⁾の得た所見に比較して、より明瞭な所見を得ることが可能であった。岩間³⁾はコダック社製のデンタルフィルムで観察したが、われわれはフジフィルム社製の FG を使用したので、その差が解像力の差として現れたものと考えられる。マイクロラジオグラフィと同様にコダック社製 spectrofilm 2004-O を用いれば、さらに微細な骨構造が確認ができたものと考えられる。いずれにしても、岩間³⁾とわれわれの結果は初期の段階で多少の差があるものの骨傷作製後14日目以後28日目頃には、ほぼ同様の治癒過程として認められた。

マイクロラジオグラフィは通常の軟 X 線撮影と比較してさらに細かな観察が可能である。従って、骨傷治癒過程の経日的変化や石灰化の程度を詳細に観察するために、もっとも優れた方法として用いられる。骨組織中のカルシウム量を鋭敏に描出可能であることが須賀²⁾によって報告されている。また、本法を用いた骨傷治癒過程の報告も数多くなされている^{3~9)}。それらの多くは、ラットやマウスの長管骨を用いた実験についてであるが、太田⁴⁾は家兎下顎骨を用いた実験的骨傷を、本法とオートラジオグラフィならびにマイクロアンギオグラフィで観察している。また、岩間³⁾は太田⁴⁾の方法に準じて、ラット下顎骨に外科的方法によって骨傷を作製し、観察法の一つにマイクロラジオグラフィを加えて実験を行った。両者に共通した所見として、骨傷作製後4日目までは骨傷部に著しい変化は認められず、7日目から骨傷端

周囲での仮骨形成が認められ始め、14日目、21日目と経日的に X 線不透過性が増大し、新生仮骨の緻密化が著明となる。28日目では各仮骨間における相違が見られなくなり、骨梁は全体的にすう粗であるが均一化が進み、それらの走行も明瞭となる。骨皮質外側に出現した膨隆も消退し、健常骨の構造により近くなると述べられている。われわれの実験においては、大筋ではほぼ同様の結果を示しているものの、4日目より骨の一部に吸収などの変化が認められ始め、7日目の段階では新生仮骨の網状構造が出現するなど、太田⁴⁾や岩間³⁾の結果に比べ、初期の変化がより早く現れた。しかし、骨傷作製後14日目以降では、両者の所見とほぼ同様であった。初期の変化の相違は、骨傷の作製方法や大きさの相違によるものと考えられるが、後期においては、それらの相違がさほど影響しないものと推測された。

病理学的な骨傷治癒過程は、まず、最初に、骨傷端付近における出血巣の中に線維素が形成され、骨傷端の架橋が成され、続いて肉芽組織の発生と器質化を生じ、外骨膜性、内骨膜性および骨髄性に線維性結合組織の増殖や仮骨の形成を来すと考えられている。新生骨の形成は骨傷発生後48時間目ごろから既に開始されていると考えられ、外骨膜のカービン層と内骨膜の骨傷部よりやや離れた部位から骨傷端の方向へと進行する。その後、骨傷端が結合される。この際に、過剰に生じた骨の吸収と仮骨の再器質化が起こるとされている。われわれの実験ではマイクロラジオグラフィ用の研磨試料をさらに50 μ m に研磨した標本を染色に使用したため、細かな観察は不可能であった。したがって健常骨と新生仮骨の染色性の比較を行ったのみであり、線維性組織発生から仮骨に至る詳細な検討は行わなかった。しかし、今回の実験における骨傷治癒過程も、ほぼ前述の過程と同様であると考えられる。いずれにしても、初期の段階で

は、骨傷端周囲での線維性組織の出現が、ヘマトキシリン・エオジン染色では淡染色性として認められ、その後、新生仮骨が石灰化の増進をするにしたがって、健常骨と同様の染色性を示すことになったと考えられる。

結 論

われわれはラット顎骨の骨傷治癒過程をX線検査とマイクロラジオグラフィーによって経日的に観察し、それらの所見の裏付けとして病理学的検査を行った。得られた結果に考察を加え、以下の結論を得た。

1. 軟X線検査では、骨傷作製後4日目より骨傷端に瀰漫性の骨吸収像が認められ始め、その後、28日目まで骨傷部の石灰化が徐々に亢進する傾向を示した。

2. マイクロラジオグラフィーでは、骨傷作製後4日目より、骨傷端付近に骨吸収像が認められはじめ、7日目になると、骨皮質外側に網状の仮骨形成が認められた。14日目では同部に著しい石灰化の亢進が認められ、21日目、28日目と経日的に網状構造は消退し、健常骨に直交した放射状の骨梁を形成し、それらの密度の亢進が著明となった。

3. 病理学的検査では、骨傷作製後4日目か

ら軟組織と思われる淡染色性の所見が、骨傷端周囲に認められるものの、健常骨は極めて濃染色性であった。7日目および14日目では、マイクロラジオグラム所見に一致して網状の濃染色性を示した。21日目、28日目と徐々に健常骨と同様の濃染色性を示す傾向を呈した。

以上、3者の結果はほぼ並行関係にあることが判明し、これらによる骨傷治癒過程の観察は極めて有意義であることが確認できた。

文 献

1. 久田欣一：最新核医学，(改定第7版)，pp. 350-355, 1980, 金原出版，東京。
2. 須賀昭一：硬組織のMicroradiography, 歯界展望, 27; 495-515, 1966.
3. 岩間 升：骨傷治癒に関する放射線学的研究, 金沢医理学叢書, 86; 75-94, 1970.
4. 太田 舜：下顎骨骨傷治癒過程に関する放射線学的研究, 84; 37-61, 1970.
5. 松井日出雄： $^{87}\text{m-Sr}$ による骨折治癒過程判定の基礎的研究, 歯学, 59; 386-401, 1971.
6. 庄内晃二：骨折部の仮骨形成過程に及ぼす放射線照射の影響について, 歯学, 62; 1175-1197, 1975.
7. 中原 爽：放射線照射の骨折仮骨形成へ及ぼす影響についての実験的研究, 金沢医理学叢書, 96; 31-47, 1974.
8. 山下一彦：塩化カドミウム中毒による骨損傷部のミネラル代謝の研究, 歯学, 62; 224-240, 1974.