

阻血下における血流量と骨癒合の関係

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9051

阻血下における血流量と骨癒合の関係

金沢大学大学院医学研究科整形外科科学講座 (主任: 野村 進教授)

松 本 忠 美

(昭和58年1月25日受付)

家兎の大腿動脈のみ結紮と、大腿動脈及び総腸骨動脈の両者を結紮した2段階の阻血状態を作製した後、腓骨を骨折させて、骨癒合に関しては、X線学的、組織学的に、又、血流量に関しては、impedance plethysmographyを用いて、両者の関係を検討した。大腿動脈を結紮した群において、血流量は、結紮直後健側に比較して20%位まで低下し、1週後50%、2週後70%と急速に回復し、その後は80%前後の血流を維持した。腓骨の骨癒合経過は、X線学的、組織学的にcontrol群と差異は認められなかった。しかし、大腿動脈及び総腸骨動脈を結紮した群においては、血流は、結紮直後ほとんど0近くまで低下し、1週後健側に比較して10%、2週後30%、5週後50%と血流の回復は緩徐であり、その後は60%前後の血流を維持した。腓骨の骨癒合はおこらず偽関節となった。以上の結果より、骨癒合において、仮骨形成がさかんな骨折後2～5週の時期に、血流が正常の50%以下に低下した場合、骨癒合はおこらず、70%以上に維持されるとほぼ正常の骨癒合がおこることがわかった。

Key words Fracture Healing, Blood Supply, Blood Flow

最近、microvascular surgeryの発達に伴い、今まで切断を余儀なくされていた切断肢(指)あるいは高度の血管損傷をともなった骨折例でも、再接着されるようになってきており、それに伴い、阻血下での骨折を治療する機会が多くなってきている。循環障害が骨癒合に影響する事はよく知られた事実であるが、その詳細な点に関しては、今だ説明されていない点が多い。Dax¹⁾, Lexer²⁾, Huggins³⁾は、長管骨の栄養動脈を結紮し、Trueta⁴⁾は、長管骨の栄養動脈、関節周辺より骨端部に入る動脈、あるいは骨膜周囲の血流を遮断し、microangiographyを利用して、微小血管の変化と骨癒合の関係を動物実験で検討している。これらの実験は、微小血管の変化という形態学的な方面からの検討である。臨床家にとって、最も興味ある事は、血流低下の程度と骨癒合の関係すなわち、どの程度血流が低下すれば、仮骨形成が障害されるかという問題である。又、生体には一時的に血流の低下があっても、側副血行による代償性の血流増加が期待できるわけで、どの程度の代償が可能であるか等の問題もある。しか

し、血流の低下を量的にとらえ、骨癒合との関係をみた報告はない。

著者らは、血流低下の程度と骨癒合の関係を解明すべく、家兎をもちいて、その大腿動脈結紮と大腿動脈及び総腸骨動脈結紮の2段階の阻血状態を作り、impedance plethysmographyを使用して、経時的に下腿の血流を測定し、更に、これらの阻血状態における腓骨骨折の骨癒合をX線学的、組織学的に検討した。

対象および方法

I. 骨折の作製

成熟家兎、雄、体重3～4kgを用い、ペントバルビタール(pentobarbital) [32.4 mg/kg]で静脈麻酔後、無菌的に右腓骨外側に約1.5cmの皮膚切開を加え、直視下で右腓骨骨幹部近位3分の1を、骨膜と共に完全横骨折させた。家兎の腓骨は、骨折後も脛骨が副木の働きをし、転位は起らないものと考え、外固定はしなかった(図1)。

II. 阻血状態の作製

The Relationship between Fracture Healing and Blood Flow under Ischemic Condition.
Tadami Matsumoto, Department of Orthopedic Surgery (Director, Prof. S. Nomura),
School of Medicine, Kanazawa University.

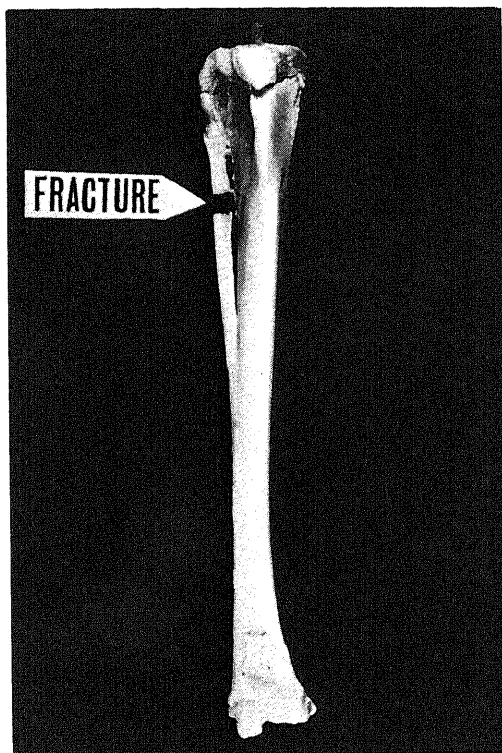


Fig. 1. Site of fracture (rt. rabbit fibula).

阻血状態の作製にあたり、家兎腹大動脈より生理的食塩水にて動静脈還流を行った後、Technovit (4143)を用いて、下腹部及び下肢の動脈鋳型標本を作製し⁵⁾⁶⁾、これを参考にして動脈の結紮部位を決定した(図2)。

右腓骨を骨折させた家兎に、さらに、下記の2段階の阻血状態を作製し、非結紮をcontrol群とした。

A群——右大腿動脈結紮

B群——右大腿動脈、右総腸骨動脈結紮。

C群——非結紮 (control 群)

右大腿動脈の結紮は、外側回旋動脈分岐部より遠位2 cmで行った。

右総腸骨動脈の結紮は、経腹膜的進入法で、深腸骨回旋動脈分岐部直上で行った。

III. 血流測定

1. 血流測定法

血流測定に関しては、impedance plethysmography^{7)~13)}(日本光電 AI-600 G, ED-600 G). 記録装置(日本光電 WT-645 G)を用いて行った(図3)。

ただし、本装置は人の心拍出量及び四肢の血流測定用に作製されたものであるため、人の手指及び家兎の四肢位の微小血流が測定出来る様に改良した。

電極は、家兎であるためテープ電極は使用せず、直径0.6 mmのKirschner 鋼線2本を用い、それを家兎下腿外側皮下に約1 cm 刺入して2電極とし、電極間距離は4 cmとした(図4)。

血流測定は、前記手術を施したA, B群の家兎(各



Fig. 2. Specimen of the vascular mold (lower abdomen and femoral regions in rabbit). The sites of ligation were illustrated by the symbol ↑. Group A: ligation of femoral artery. Group B: ligation of femoral and common iliac artery.

10羽)の両下腿同一部位を同時に、結紮直後より毎週、8週まで経時的に測定した。なお、これら測定中全経過を通して、2電極間の impedance は450~550Ωを示し、電極刺入部位が一定であることを示した。

2. 血流計算法

上記測定により、脈波(ΔZ 波)及び脈波の微分波($\frac{dz}{dt}$ 波)の記録波形が得られる(図5)。

これより、 ΔZ , $\frac{dz}{dt}$ の値は、

$$\Delta Z = 0.1 \times \frac{A}{10}, \frac{dz}{dt} \text{ min} = 1.0 \times \frac{B}{10} (\Omega \cdot \text{sec})$$

また、T(駆出時間)は、

$$T = \frac{C}{50} (\text{sec})$$

(ただし、Cは $\frac{dz}{dt}$ 波形の立下り勾配の15%の点と $\frac{dz}{dt}$ 波形の上向きスパイクの間隔)

1回の駆出量 ΔV は、

$$\begin{aligned} Z_0 &: \text{電圧電極間全インピーダンス } (\Omega) \\ \frac{dz}{dt} \text{ min} &: \Delta Z \text{ の1次微分値 } (\Omega/\text{sec}) \\ T &: \text{駆出時間 } (\text{sec}) \end{aligned}$$

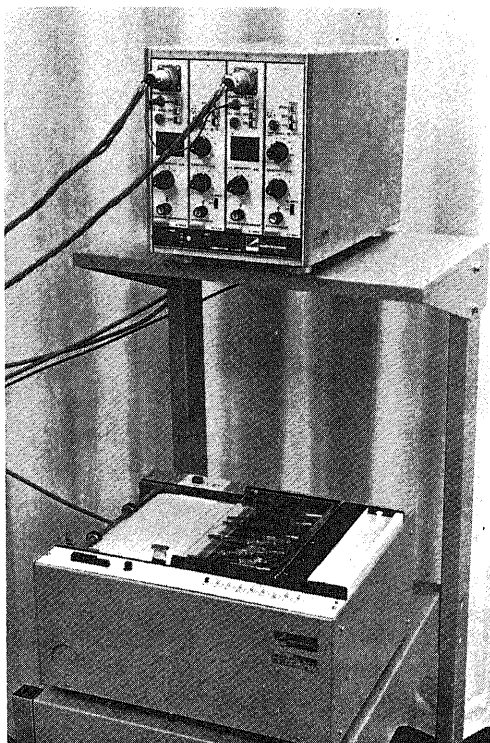


Fig. 3. Device of the measurement of blood flow. Upper: impedance plethysmography (AI-600 G), differential unit (ED-600 G). Lower: recorder (WT-645 G).

L : 電圧電極間距離 (cm)

ρ : 血液比抵抗 ($\Omega \cdot \text{cm}$)

とすると、Kubicek ら¹¹⁾の研究により、

$$\Delta V = \rho \left(\frac{L}{Z_0} \right)^2 \cdot \frac{dz}{dt} \text{ min} \cdot T$$

ただし、ここで求められる値は、電極に kirschner 鋼線を使用した2電極を用いているため、必ずしも絶対値を示すものではなく相対値であり、又、測定時の麻酔の深さ、室温の変化など血流に影響を及ぼす因子を除外する目的で、患側で求められた値の健側で求めら

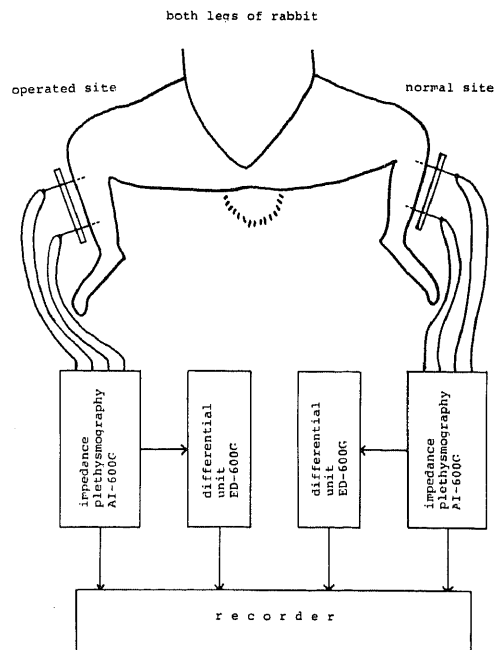


Fig. 4. Measuring method of blood flow. (lower legs of rabbit).

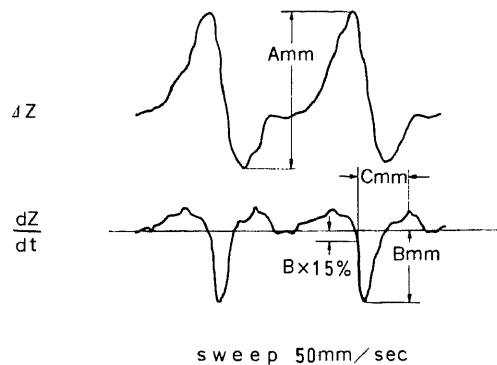


Fig. 5. Model of simultaneous recording of ΔZ , $\frac{dz}{dt}$.

れた値に対する比をもって血流の指標とした。

IV. 骨癒合の検討

1. X線学的検討

A, B, C群の各群, 各家兎について, 結紮1週後より12週まで, 毎週, エーテル(ether)吸入麻酔を行った後, Softex-CMB型装置及び高感度用 Softex-Filmを用いX線撮影を行ない検討した。

X線学的な骨癒合の判定を, 渡辺ら¹⁴⁾は, 骨折線の不鮮明化, その消失, 骨梁の交通, 骨のremodellingの完成をもっておこなっているが, 家兎の腓骨において, 骨梁ははっきりと読影出来ず, 又, 骨のremodellingの完成は, 長期の経過観察を要するため, 本実験では, 骨折線の不鮮明化及びその消失をもって骨癒合の指標とした。

2. 組織学的検討

前記A, B, C群の各群について, 骨折, 結紮の手術後2週目より, 3週, 4週, 5週, 6週, 7週, 10週, 12週の各週, 3~5羽づつ骨折させた腓骨を採取し, 10%フォルマリン(formalin)にて固定した後, E.D.T.A. (ethylene diamine tetra acetic acid, 4 Na salt, tetrahydrate)にて脱灰し, パラフィン(paraffin)固定して組織標本作製した。染色は, 各々の標本のすべてにヘマトキシリン-エオジン(hematoxylin-eosin)染色(以下, H-E染色と略す)及びサフラニンOファーストグリーン(safranin-O-fast green)による軟骨染色¹⁵⁾(以下, safranin-O染色と略す)を行った。

成 績

I. 肉眼的所見

A, C群は, 全例, 患肢に肉眼的異常を認めなかった。

B群においては, 術直後より右下肢は弛緩性麻痺を呈し, 自動運動はみられず, 引きずり走行を示した。又, 趾先は軽度のチアノーゼを呈した。その後, 1週目で患肢の筋萎縮が明瞭に認められるようになり, 以後, 徐々に増強した。又, この頃より患肢の膝, 足関節に拘縮が出現する様になり, 術後2週目頃になると, 膝関節軽度屈曲位, 足関節伸展位をとる例が多かった。趾先部は, 一部の家兎において, 術後2~3週目で壊死におちいり, その後, ミイラ化した。

II. 血流測定結果

血流測定には impedance plethysmographyを用い, 脈波(ΔZ), その微分波($\frac{dz}{dt}$)を求め, それより, kubicekら¹⁶⁾の計算式により相対値を求め, 患側血流値の健側血流値に対する比をもって, 患側の阻血状態を示した。

実際の測定波形(ΔZ , $\frac{dz}{dt}$)の例を示すと, A群では, 結紮直後, 血流は低下したが, その時の記録波形は規則的な脈波形, 微分波形を示し, 血流比は20%前後で

あった。その後, 急速に回復し, 3週目で80%位となり, その後は変化せずにこの状態が続いた(図6)。

それに対し, B群においては, 結紮直後, 血流がほとんど0近くまで低下し, 本実験で使用した血流測定装置において, 波形上, ΔZ は規則的な脈波形を示さず, $\frac{dz}{dt}$ 波形も不規則で, 数値が読みとれなかった。したがって血流値の計算は出来なかった。その後, 1週でやっと脈波が記録される様になり, その時の健側に対する患側の血流比は10%前後であった。それ以後も血流の回復は緩徐であり, 5週目でやっと50%位となり, 8週目でもわずか60%位までしか回復しなかった(図7)。

A, B群各々10羽の健側に対する血流比を平均値で表わし, それを経時的に見ると, A群では, 結紮直後21.9±4.7%に低下したが, 1週後53.5±14.1%, 2週後71.6±11.8%と急速に回復し, 3週後81.6±23.6%となり, その後は80%前後の血流比を維持した。

B群においては, 結紮直後, 本装置において波形上数値が読みとれない程度に血流が低下し, 1週後10.9±5.4%, 2週後28.4±4.4%, 3週後32.7±8.7%, 4週後40.5±13.2%, 5週後49.7±17.1%と血流比の回復は緩徐であり, その後, 8週を経過しても61.1±21.5%にすぎなかった(図8)。

すなわち, 右大腿動脈を結紮したA群では, 比較的早く側副血行路が発達し, 術後1週目50%, 3週後で80%と血行の回復が速かったが, 右大腿動脈及び右総腸骨動脈を結紮したB群では, 結紮直後, ほとんど血流がなくなり, 側副血行路の発達も遅く, 術後, 5週を経過しても健側の50%位の血流比にしか回復しなかった。

III. 骨癒合の結果

1. X線学的所見

C群すなわちcontrol群では, X線学的に2週で, 骨皮質にそって外仮骨が出現するが, これら外仮骨による骨折部での連絡は認められず, 3週目で骨折部により一部外仮骨による連絡がみられる様になり, その後, 徐々に外仮骨による癒合が進行し, 5~6週で骨折線は不鮮明となり, 6~7週で骨折線が消失した。この時点で, X線学的に, 外, 中間仮骨による連絡が完成した(図9)。

A群においては, X線学的に, C群すなわちcontrol群とほぼ同様の経過をたどった。

B群においては, X線学的に, 一部, 3週目頃に外仮骨の形成を見た家兎もあったが, 大部分は, 骨折部において全く仮骨が形成されず, 又, 骨折線の不鮮明化, その消失も認められず, 12週を経過しても, 内, 中間, 外仮骨による骨癒合は, 全く認められなかった。

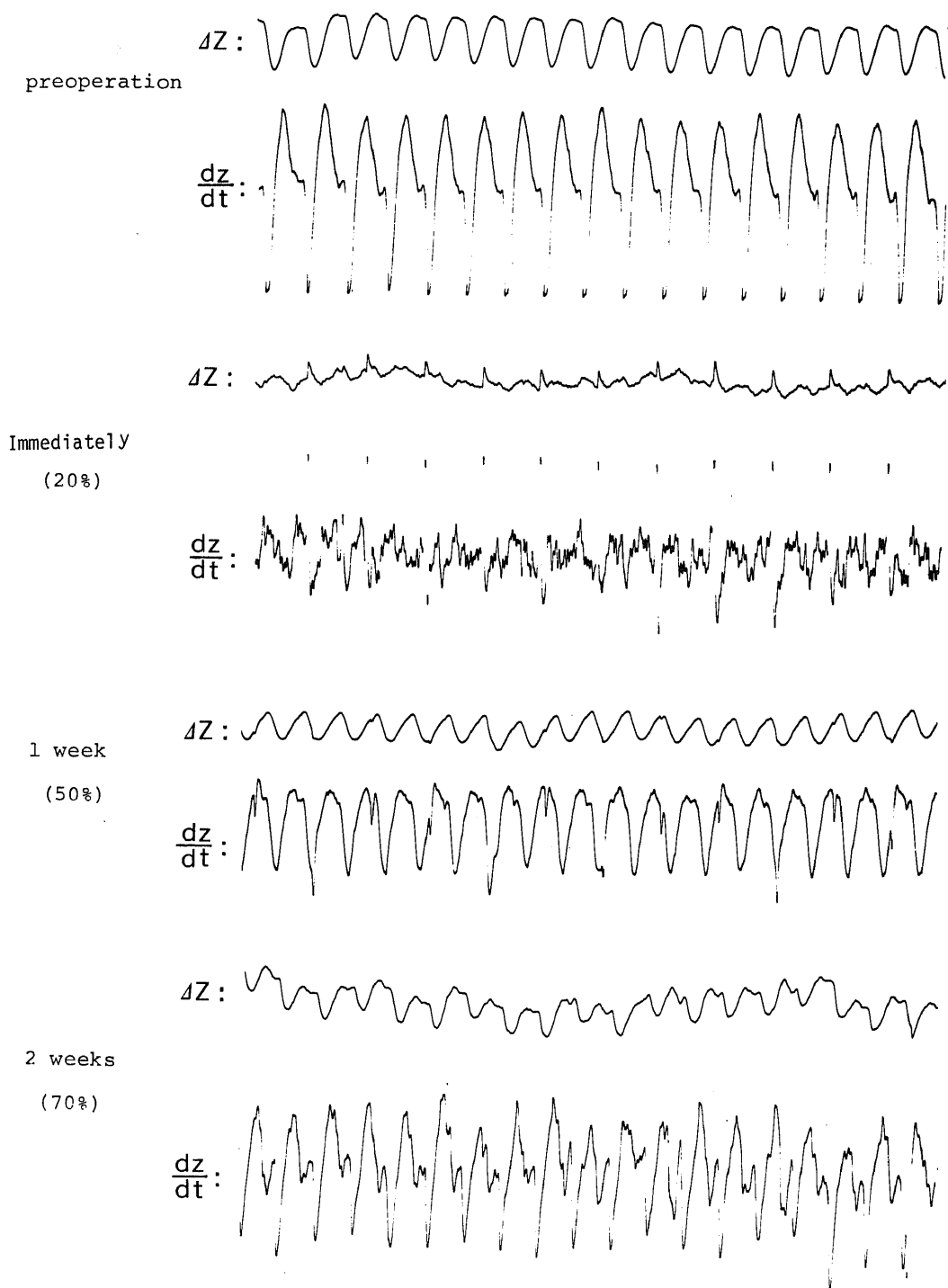


Fig. 6. Simultaneous recordings of ΔZ and $\frac{dz}{dt}$ obtained from experiments of group A. (preoperation, immediately after operation, one week, two weeks after operation) The ratio of blood flow was shown with figures.

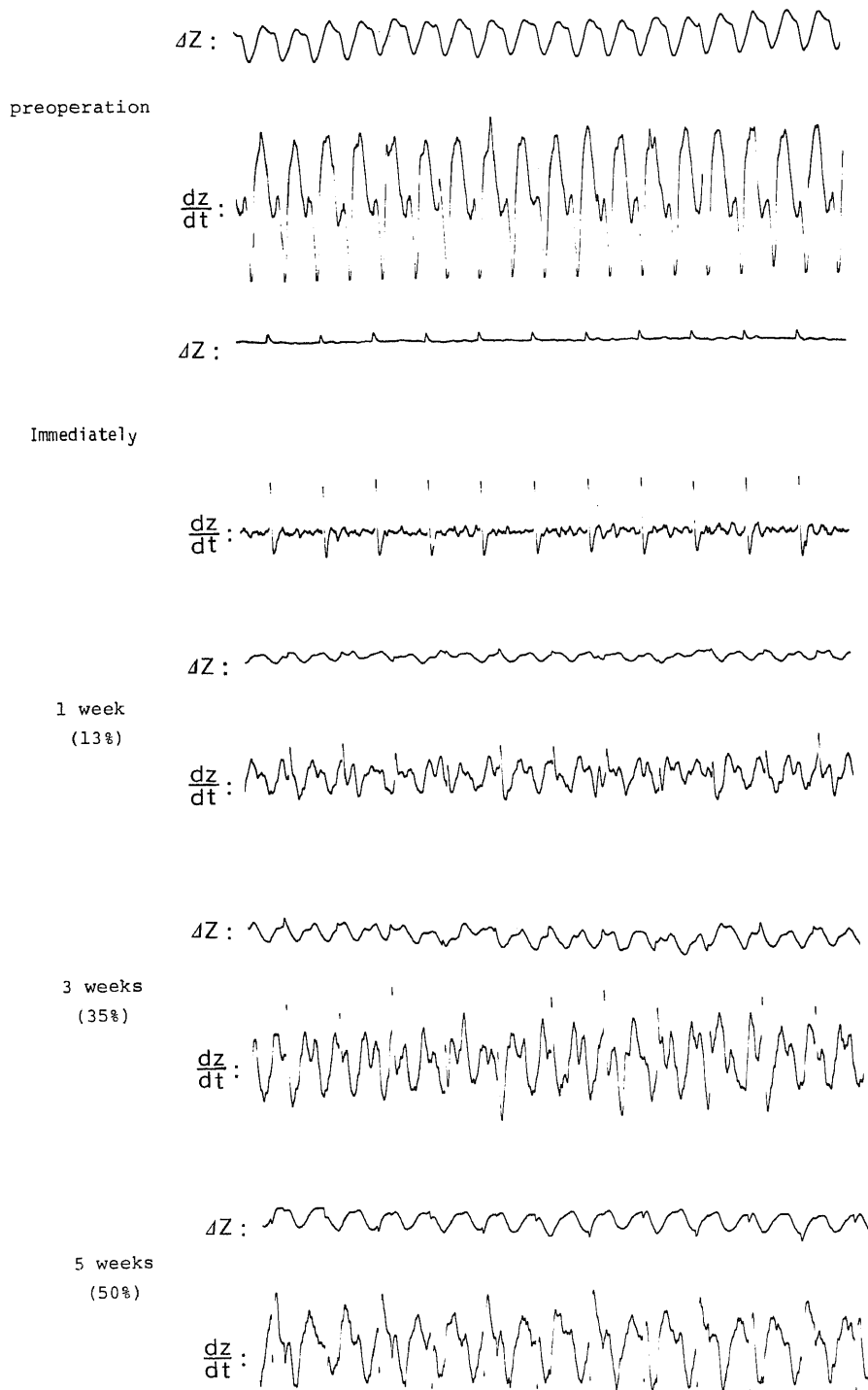


Fig. 7. Simultaneous recordings of ΔZ and $\frac{dz}{dt}$ obtained from experiments of group B. (preoperation, immediately after operation, one week, three weeks, five weeks after operation) The ratio of blood flow was shown with figures.

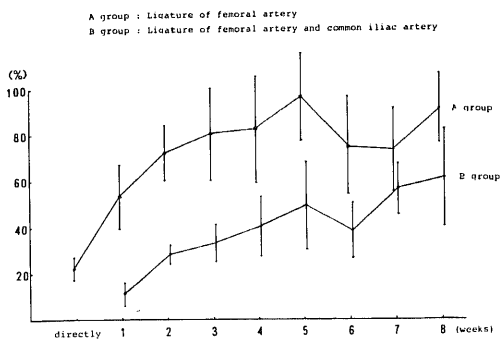


Fig. 8. Ratio of blood flow. (right lower leg vs left lower leg).

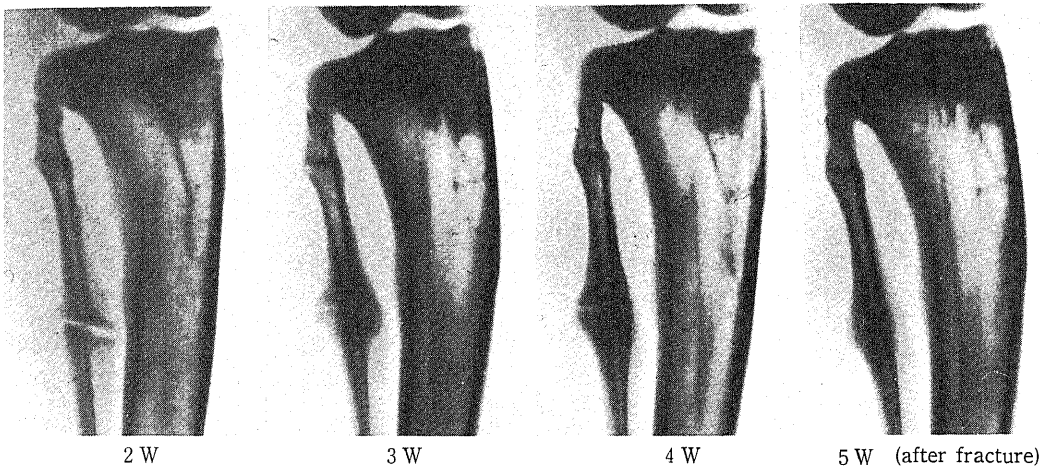


Fig. 9. Radiographical findings of group C. In this group fractures are united and much external callus is produced. Group C is the control of group A & B.

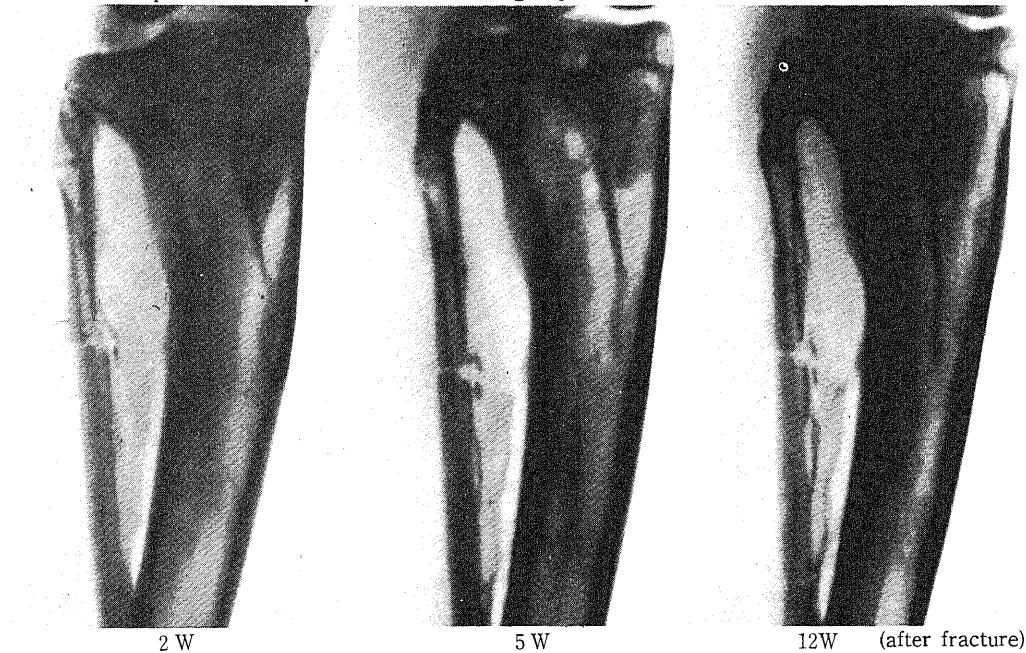


Fig. 10. Radiographical findings of group B. In this group fracture healing can not be completed and external callus is not produced.

そして、骨折部周辺の骨は軽度の萎縮を呈した(図10)。

骨癒合を骨折線の不鮮明化、骨折線の消失した週の平均値で見ると、A群の骨折線の不鮮明化は、 5.9 ± 1.2 週、骨折線の消失は、 6.8 ± 1.1 週で起こり、C群すなわち control 群の骨折線の不鮮明化は、 $5.3 \sim 1.0$ 週、骨折線の消失は、 6.8 ± 1.0 週で起こった。これらは、統計学的に有意の差はなかった(表1)。

2. 組織学的所見

X線学的に、仮骨形成が認められる骨折後2週目より標本を作製して検討した。

仮骨の命名法については、Weinmannら¹⁰⁾に従い、錨着仮骨(anchor callus)、橋状仮骨(bridging callus)、結合仮骨(uniting callus)、閉鎖仮骨(sealing callus)の名を主として使用した。又、便宜上、骨折部周辺の前記仮骨の出来る場所の名を、錨着部、橋状部、結合部、閉鎖部として表わすことにした(図11)。

1) C群(control群)の組織学的所見

骨折後2週:すでに anchoring bony callus は形成されており、骨折線に近い部分では、粗い骨梁をもつ叢状海綿様骨の像を呈し、骨折部を離れるに従って、それらは板層状仮骨へと変化していた。橋状部、結合部、閉鎖部は、大部分細胞密度の高い線維性組織で占められており、所々に島状に軟骨様組織が存在した。又、結合部近くには、一部凝血巣が存在した。ここでみられる軟骨様組織は、safranin-O では染色されなかった(図12)。

骨折後3週:anchoring bony callus は、2週目に比較して、骨折部付近まで板層状仮骨化されていた。橋状部は、大部分軟骨組織で占められ、一部に叢状海綿様仮骨が形成され、それらによる骨片の連絡がみられた。結合部、閉鎖部は、細胞密度の高い線維性組織及び軟骨組織で占められていた。これら軟骨組織は、safranin-O にて赤く染色されていた(図13)。

骨折後4～5週:anchoring bony callus は、ますます骨折部に向かって板層状仮骨へと変化し、橋状部においては、外側部より内側部に向かって、叢状海綿様仮骨による骨片の連絡が進み、5週目では、橋状部

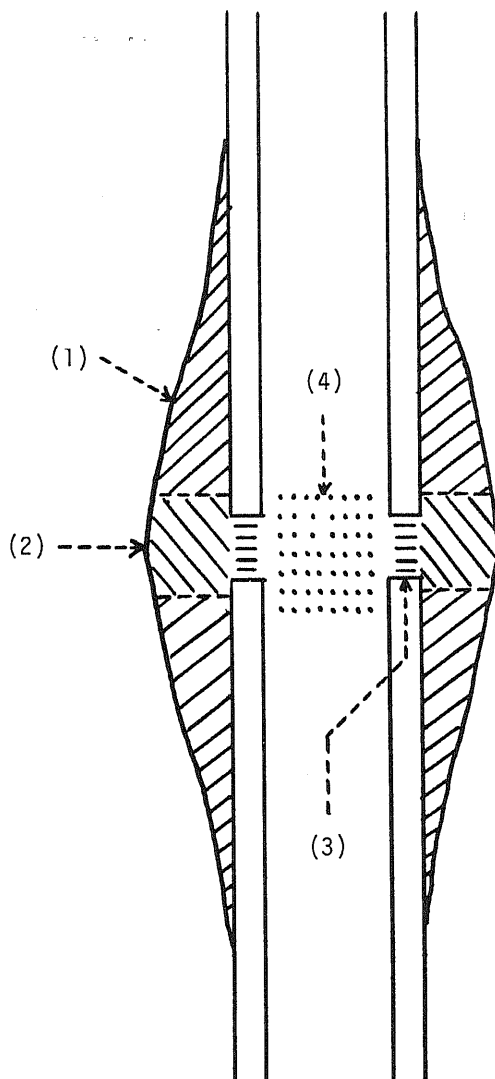


Fig. 11. Diagram of the callus in a simple fracture of a long bone. (from Weinmann and Sicher)¹⁰⁾. (1) Anchoring callus, (2) Bridging callus, (3) Uniting callus, (4) Sealing callus.

Table 1. Radiographical results of fracture healing.

Fracture line	group A	group B	group C
not clear	5.9 ± 1.2 ※	nonunion	5.3 ± 1.0
disappeared	6.8 ± 1.1	nonunion	6.8 ± 1.0

(weeks)

※ Length of time (weeks in average) which was necessary for the healing of fracture.

全体が叢状海綿様仮骨による bridging bony callus にて占められる例もあった。この時期に、閉鎖部では、一部 sealing bony callus が形成され、それらによる骨片の連絡もみられるようになった。結合部は、大部分軟骨組織の状態で、一部に uniting bony callus が出現していた。この時期の軟骨組織もすべて safranin-O にて染色されていた (図 14)。

骨折後 6～7 週：anchoring bony callus, bridging bony callus は板層状化し、海綿様仮骨はほとんどなくなり完全に連絡していた。閉鎖部では、海綿様仮骨が形成され、sealing bony callus による連絡が認められ、結合部では、uniting bony callus が形成され連絡した。つまり、この時点で、外、中間、内仮骨による完全な連絡が完成した。又、それまで存在した軟骨組織は、点状にしか存在しなくなるが、それらも safranin-O にて染色されていた (図 15)。

骨折後 12 週：外仮骨 (anchoring callus, bridging callus) はすべて板層状骨となり、remodelling が進んでいた。結合部は、板層状仮骨により完全に連絡し、骨折部は不明となっていた。又、内仮骨 (sealing callus)

は骨吸収が進み、正常骨髄に置き換えられていた。この時点で、軟骨組織は認められなかった (図 16)。

2) A 群の組織学的所見

光顕上、A 群は、組織学的に C 群すなわち control 群と、ほぼ同様の仮骨形成の経過をたどり、内、中間、外仮骨による骨片の連絡が 6～7 週で認められた。A 群の骨癒合は、経時的にまた組織学的に、C 群すなわち control 群と差異は認められなかった。

3) B 群の組織学的所見

骨折後 2 週：anchoring bony callus は、中枢骨折の骨折部より遠位にわずかに形成されているが、板層状構造というより、骨梁間隙が広く叢状海綿様化骨であり、この骨膜性の仮骨反応は、A、C 群に比較して極端におちていた。又、骨皮質は、A、C 群に比較して広範囲に壊死におちいており、この現象は、中枢骨片より末梢骨片に著明に認められた。錨着部の大部分は線維性組織で占められていた (図 17)。橋状部、結合部、閉鎖部は、ほとんど線維性組織で占められており、所々に軟骨様組織が島状に存在した。しかし、これら軟骨様組織は、A、C 群に比較して極端に少なかった。

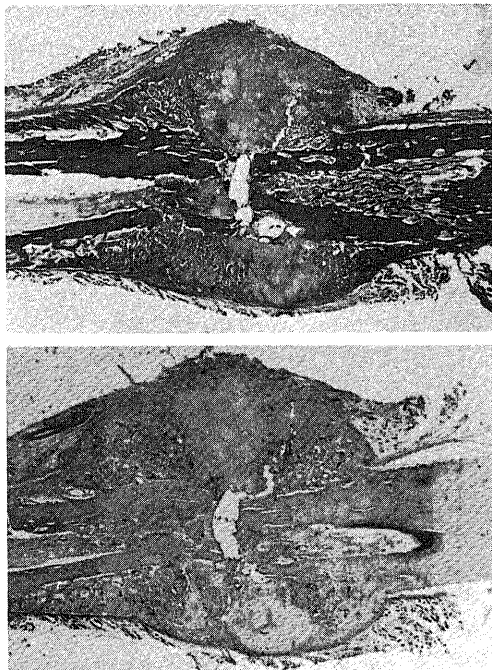


Fig.12. Histological findings of group C: two weeks after operation. Anchoring bony callus is produced but fracture regions are not dyed by safranin-O. Upper: H-E stain, Lower: Safranin-O-fast green stain.

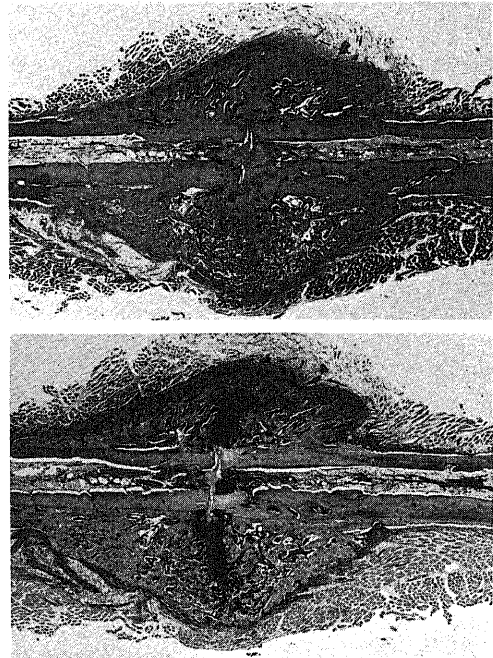


Fig.13. Histological findings of group C: three weeks after operation. Much anchoring bony callus is produced. Fracture regions are occupied by cartilaginous and fibrous tissues and the cartilages are dyed by safranin-O. Upper: H-E stain, Lower: Safranin-O-fast green stain.

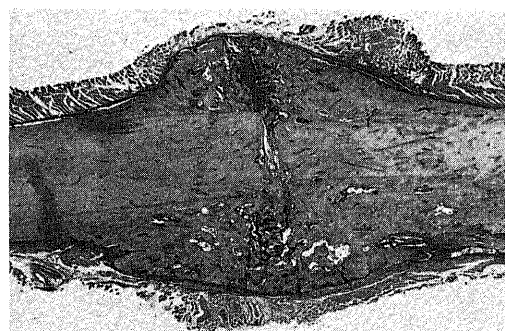
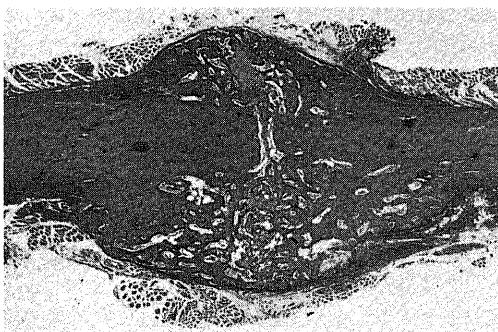


Fig. 14. Histological findings of group C: five weeks after operation. Bridging bony callus is united in the fracture regions. Sealing and uniting bony calluses are produced. Cartilage is dyed by safranin-O. Upper: H-E stain, Lower: Safranin-O-fast green stain.

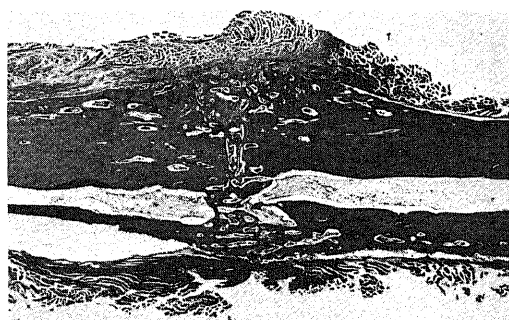


Fig. 15. Histological findings of group C: seven weeks after operation. Bridging, uniting and sealing bony calluses are united. H-E stain.

骨折後3週：中枢骨折のanchoring bony callusは、2週目に比較して多く形成されているが、それらは、橋状部にまで達しておらず、錨着部の大部分は線維性組織の状態であった。橋状部、結合部、閉鎖部はおおむね線維性組織で占められており、中枢骨片の近くに、わずかに島状に軟骨組織が存在した。又、閉鎖部の正

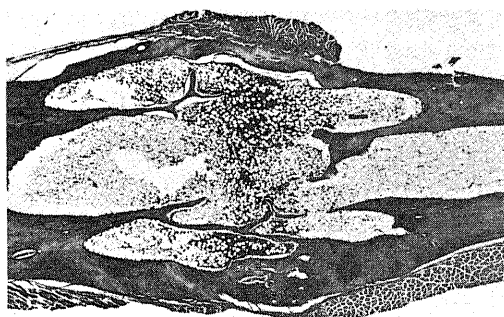


Fig. 16. Histological finding of group C: twelve weeks after operation. The remodelling is more extensive and internal callus is almost disappeared. H-E stain.

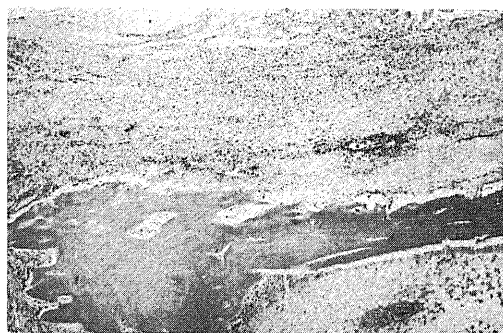


Fig. 17. Histological findings of group B: two weeks after operation. Anchoring region is occupied with fibrous tissue and the necrosis of cortical bone is seen in the fracture region. H-E stain.

常骨髓との境界部には、骨内膜よりのわずかな叢状海綿様骨が認められた。この時期の軟骨組織は、safranin-Oにて染色されていた(図18)。

骨折後4週：錨着部においては、anchoring bony callusの形成は進まず、線維組織の状態であり、特に、末梢骨片においては、anchoring bony callusはほとんど形成されていなかった。橋状部、結合部、閉鎖部はほとんど線維性組織で占められており、わずかに、中枢骨片近くに軟骨組織が存在した。しかし、閉鎖部と正常骨髓の間に、2週目頃より出現した骨内膜性の海綿状仮骨は認められた(図19)。

骨折後5～7週：錨着部、橋状部、結合部、閉鎖部は線維性組織で占められており、軟骨組織は存在しなかった。又、骨皮質は、広範囲に萎縮していた。しかし、閉鎖部と正常骨髓の境界部には、骨内膜よりの反応性の仮骨が認められた(図20)。この時期に、safranin-Oにて赤く染色される部位はなかった。

骨折後12週：中枢骨片のanchoring bony callus

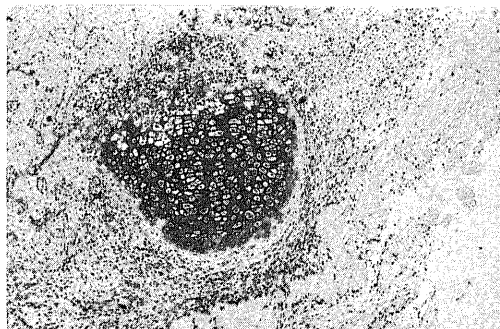


Fig. 18. Histological findings of group B: three weeks after operation. Insulated cartilage is seen in fracture region and dyed by safranin-O. Upper: H-E stain, Lower: Safranin-O-fast green stain.



Fig. 19. Histological finding of group B: four weeks after operation. Fracture region is occupied with fibrous tissue. H-E stain.



Fig. 20. Histological findings of group B: six weeks after operation. Fracture region is occupied with fibrous tissue but internal callus is produced. H-E stain.

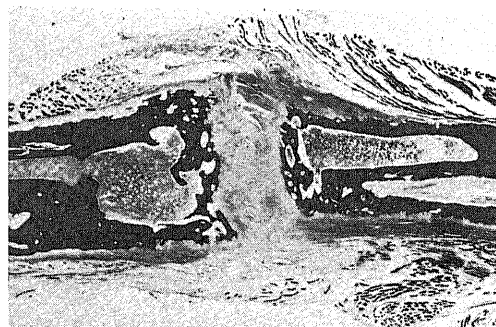


Fig. 21. Histological findings of group B: twelve weeks after operation. Pseudoarthrosis is produced. Fracture region is occupied with fibrous tissue and bone marrow is closed by internal callus. Upper: H-E stain, Lower: Safranin-O-fast green stain.

考 察

骨折治療に及ぼす影響因子の内、骨折部における血流量の多寡は古くより重要と考えられている。今回、家兎腓骨々折を種々の程度の阻血状態におく実験(A, B, C群)を試み、骨癒合と血流量との関係を解明した結果より、次の問題点につき考察を加えた。

は吸収され消失し、橋状部、結合部、閉鎖部における線維性組織は瘢痕組織化し、骨折部は完全に偽関節の状態を呈した。この時期では、閉鎖部と正常骨髓の間に出来た骨内膜性の仮骨は、骨折端にて骨髓を閉鎖する様に形成されていた。又、A, C群に比較して広範囲に骨萎縮が認められた(図21)。

I. 阻血状態の作製とその血流測定法について

長管骨を栄養する血行には、栄養動脈よりの血行、骨髓周辺部より骨膜に入る血行、関節周辺より骨端部に入る動脈よりの血行などがあり、骨折では、これらすべての血行が骨癒合に影響を及ぼす。そこで、骨折部を一定の阻血状態におくには、これらすべての血行を一定の割合で低下させなければならない。ゆえに、本実験においては、家兎下肢の血管鋳型標本を作製し、それを参考として、骨折部よりかなり離れた中枢の動脈を結紮して、骨折部を含む下腿全体を2種即ちA、Bの阻血状態下におく試みを行った。

血流測定法には、電磁血流測定法、超音波血流測定法、静脈閉塞性 plethysmography、水素クリアランス法、radiation clearance 法、impedance plethysmography など色々な測定法がある。しかし、超音波血流測定法、水素クリアランス法、radiation clearance 法は、局所的な血流を測定する方法であり、又、電磁血流測定法は、検出部を血管に装着して測定するため、測定時に血管の露出が必要である。これらは、家兎下肢全体の血流を測定する本実験に不適当である。この目的には、静脈閉塞性 plethysmography、impedance plethysmography が適当であるが、家兎は毛におおわれており、容積変化を測定する静脈閉塞性 plethysmography は適さなく、使いやすさと経時的に連続測定が出来、微小血流が測定出来るということから、impedance plethysmography が最適と考えられた。そこで、本研究の対象とした腓骨骨折部周辺の血流は、下腿全体の血流と比例関係にあると考え、家兎下腿全体の血流を impedance plethysmography にて測定した。

Impedance plethysmography は、もともとテーブ電極を使用し、心拍出量を求めるために開発された装置であるため、本実験においては、家兎の下腿が測定出来る様に改良し、電極は、Kirshner 鋼線を使用した2電極とした。

本実験で求められた値は、必ずしも血流の絶対値を示すものではなく、相対値を示している。impedance plethysmography を使用して、絶対値を述べることは、異論のある報告¹⁰⁾¹⁷⁾もみられるが、相対値を論ずることが出来るということは、諸家^{7)11)~13)}の報告でも明らかである。又、測定時の麻酔の深さ、室温など血流に影響を及ぼす因子を除外する目的で、同時測定による患側で求められた値の健側で求められる値に対する比をもって血流の指標とした。

生体において、一定の阻血状態を実験的に長期間保つことは、非常に困難である。それは、四肢のある動脈を結紮したとしても、それに対して生体の代償機構が働き、側副血行路が作られ、血流が回復して来るか

らである。そこで、血流を経時的に測定する事により、側副血行路による血流の回復程度すなわち阻血状態の変化を観察した。本実験において、図8に示すごとくA群の様に大腿動脈を外側回旋動脈分岐部より2cm遠位で結紮した場合、結紮直後、血流が0とならず、又、血流の回復も比較的早く2週目で健側の70%まで回復した。これは、結紮部上位より分岐している内、外側回旋動脈及び大腿深動脈などより分岐している枝が、大腿動脈遠位筋枝、下行膝動脈、大腿後動脈などより分岐している枝と交通があり¹⁸⁾、大腿動脈を結紮しても、これらにより血流が保たれ、又、この側副血行路が代償性に発達することにより、下腿の血流が回復して来たものと思われる。しかし、B群の様に、大腿動脈に加えて、総腸骨動脈を深腸骨回旋動脈の近位で結紮した場合、結紮直後、ほとんど血流が測定出来ない程度まで低下し、その後の回復も非常に遅く、5週目でも健側の50%位にしか回復しなかった。これは、上記側副血行路より中枢部で結紮したため、ほとんどこれらの血行路の発達は望めず、結紮直後、下腿の血流はほとんどなくなり、その後、わずかに腹壁動脈より外側回旋動脈を介して血行が回復して来たものと思われる。

II. 各群の骨癒合について

本実験において、C群すなわちcontrol群は、X線学的、組織学的に定型的な骨癒合の経過をたどり、骨癒合が完成された。A群すなわち右大腿動脈結紮群は、仮骨形成や骨癒合において、X線学的、組織学的に、C群すなわちcontrol群とほぼ同様の経過をたどり骨癒合が完成された。しかし、B群すなわち右大腿動脈及び右総腸骨動脈を結紮した群では、骨癒合が完成されず偽関節を生じた。

このB群の偽関節の性状は、X線学的にも、組織学的にも、ほとんど外仮骨形成がみられなかった。これに対し、吉岡¹⁹⁾が、実験的に骨折部に間歇的剪断応力を加えて作製した偽関節には、多量の外仮骨形成を伴っていた。これは、吉岡らが報告している偽関節が、外部からの物理的因子によって出来たものであるのに対し、本実験の偽関節は、阻血状態によって出来たもので、血流と物理的因子という2種類の異なった作用因子により発生した偽関節の差と思われる。このことは、臨床例において、血流障害がある際に見られる外仮骨形成のほとんど認められない偽関節の状態と、固定不良時に見られる多量の外仮骨形成を伴った偽関節の状態によく一致した所見である。

一方、本実験において、軟骨性仮骨の状態を知るため、酸性ムコ多糖に特異的に結合し、軟骨組織の証明に用いられる safranin-O-fast green による染色を行

った。本実験のA, C群では、光顕上、骨折後2週目に、軟骨様組織の出現を見、3週以後、軟骨性仮骨が完成した6~7週目まで、赤く染色されていた。B群においても、骨折後3~4週目で、safranin-Oに赤く染色される軟骨組織がわずかではあるが出現した。しかし、やがてsafranin-Oにて染色される部位は存在しなくなった。

骨癒合時における軟骨性仮骨の成因を、Ham²⁰⁾、Girgisら²¹⁾は、橋状部、結合部など骨折初期に血流がほとんどない部分に、軟骨組織が生じることにより、その成因を血流低下つまり阻血状態に求め、吉村ら²²⁾²³⁾は、骨折部に骨軸方向に、間歇的又は持続的圧縮力を加えると、その圧が強いほど軟骨が多量に生じることにより、圧縮力又は可動性という物理的作用に、その成因を求めている。又、Trueta²⁴⁾、Cavadiasら⁴⁾は、両方の成因が関係し合って、軟骨組織が生じると述べている。最近の報告では、Mark²⁵⁾、Bassettら²⁶⁾は、周囲のO₂分圧が低い状態にある場合、軟骨組織が出来やすいと述べ、特に、Nogamiら²⁷⁾は、確かにO₂分圧が低い場合に軟骨組織は生じやすいが、O₂分圧が20%以下に下がった場合、軟骨細胞がhypertrophyや小腔形成におちいると述べている。Brooksら²⁸⁾も述べているように、血流とO₂分圧には相関関係があり、血流が低下するとO₂分圧も低下する。

本実験において、A群は、C群すなわちcontrol群に比較して、生じる軟骨の量に差は認められなかった。しかし、B群すなわち高度の阻血下の骨折群では、骨折部に生じる軟骨組織の量が極端に少なかった。これは、Nogamiらの報告²⁷⁾とよく一致した所見であり、確かに軽度の阻血状態(O₂分圧の軽度低下している状態)においては、軟骨組織は生じるが、高度な阻血状態(O₂分圧が高度に低下している状態)においては、軟骨組織は生じないか、生じてもわずかの量にすぎないことを示すものと考えられる。

III. 阻血状態と骨癒合の関係について

阻血状態での骨癒合を検索した報告は、Trueta²⁴⁾、Cavadiasら⁴⁾が、長管骨の骨折において、栄養動脈、骨膜周辺部よりの動脈、関節周辺部より骨端部に入る動脈の血行をそれぞれ止めることによって阻血状態を作り、骨癒合の状態を観察し、Dax¹⁾、Lexer²⁾らは、長管骨の栄養動脈のみを結紮して、阻血状態を作り、骨癒合を観察したものなどわずかな報告にすぎない。しかも、これらは、すべてmicroangiographyを使用して、微小血管の変化を形態学的に観察したものである。Cavadiasら⁴⁾は、栄養動脈を結紮し、骨膜への血行を止めて、関節周辺部より骨端部に入る動脈による血行のみとした阻血状態下では、長管骨骨幹部の骨折は、

かなりの頻度で骨癒合が得られないと報告し、高度の阻血状態下では、骨癒合が得られない事を示唆しているが、骨折部全体の血流を低下させて、阻血状態を作り、その血流を量的にしかも経時的に測定し、阻血状態を動的にとらえ検討した実験は、これまでになく本実験がはじめてである。

A群の様に血流低下が軽度である場合、すなわち骨折後2~5週の時期に、骨折部周辺の血流が、正常の70%以上に回復する場合、X線学的にも、組織学的にも、仮骨形成には影響を受けず、骨癒合は正常血流時と変わりなく完成された。しかし、B群の様に血流低下が高度で、骨折直後ほとんど血流が0近くまで低下し、その後2~5週の時期に、骨折部周辺の血流が、正常血流の40~50%にしか回復しない場合、X線学的に骨膜性の外仮骨形成が妨げられ、組織学的に外仮骨部は線維化におちいり、橋状部、結合部、閉鎖部に生じる軟骨組織もわずかであり、最終的に同部は瘢痕組織となり、偽関節の状態におちいった。すなわち、骨折部全体の血流が、仮骨形成機序に働き、仮骨がさかんに形成される骨折後2~5週の時期に、正常血流時の40~50%以下に低下していることにより、仮骨形成は強い影響を受け、偽関節になるものと思われる。

以上より、阻血の程度と骨癒合(仮骨形成)との関係は、血流量の減少がある一定線をこえるまで変化はしにいが、それ以下になると骨折治癒機転は、停止することが明らかになり、その境界は正常血流の50%前後にあると推定された。

結 論

阻血状態と骨癒合の関係を検討するために、家兎の大腿動脈、大腿動脈及び総腸骨動脈を結紮した2段階の阻血状態を作製し、それぞれに腓骨を骨折させた。そして、阻血状態つまり血流量に関しては、impedance plethysmographyを用い、骨癒合に関しては、X線学的、組織学的にその経過を追跡し、以下の結果を得た。

1) 大腿動脈を結紮した場合、下腿の血流は、結紮後2週目ですでに、健側の血流の70%位まで回復する。

2) 大腿動脈及び総腸骨動脈を同時に結紮した場合、下腿の血流は、結紮直後ほとんどなくなり、5週を経過しても、健側の血流の40~50%位と回復は緩徐である。

3) 大腿動脈結紮では、腓骨骨折は対照(非阻血)群と同様の正常な骨癒合が得られたが、大腿動脈及び総腸骨動脈同時結紮では、全例骨癒合がみられなかった。

4) 仮骨形成が進む2~5週の時期に、健側の血流の70%以上血流が維持される場合、骨癒合は影響を受

けないが、同じ時期に、健側の血流の50%以下しか血流が存在しない場合、骨癒合は著しい影響を受け、仮骨形成は進まず偽関節となる。

稿を終えるに臨う、御指導、御校閲を賜りました恩師野村進教授に深甚の謝意を表わします。また本研究の遂行にあたり、御助言、御教示を賜りました第1生理学教室の永板鉄夫教授、直接御指導下さいました島巖助教授、御協力下さいました安田俊久技官に深謝いたします。

文 献

- 1) Dax, S.: Ueber die Beziehungen der Zirkulationsstörungen zur Heilung von Frakturen der langen Röhrenknochen mit besonderer Berücksichtigung der Arteria nutritia. *Brun's Beitr. Z. Klin. Chir.*, 104, 313-342 (1917).
- 2) Lexer, E. W.: Über der zeitlichen Ablauf der Heilvorgänge am Knochenbruch. *Brun's Beitr. Z. Klin. Chir.*, 159, 372-381 (1943).
- 3) Huggins, C. & Wiege, E.: The effect on the bone marrow of disruption of the nutrient artery and vein. *Ann. Surg.*, 110, 940-947 (1939).
- 4) Cavadias, A. X. & Trueta, J.: An experimental study of the vascular contribution to the callus of fracture. *Surg. Gyn. Obst.*, 119, 731-747 (1965).
- 5) Taniguchi, Y., Ohta, Y., Tajiri, S., Okano, H. & Hanai, H.: Supplement to new improved method for injection of acrylic resin. *Okajimas Folia Anat. Jap.* 27, 401-406 (1955).
- 6) Taniguchi, Y., Ohta, Y. & Tajiri, S.: New improved method for injection of acrylic resin. *Okajimas Folia Anat. Jap.*, 24, 259-267 (1952).
- 7) O'Donnell, J. A. & Hobson, R. W.: Comparison of electrical impedance and mechanical plethysmography. *J. Surg. Reseach*, 25, 459-464 (1978).
- 8) 市毛彰: Bone marrow pressure および骨髓内血流量に関する研究. *日整会誌*, 52, 1003-1012 (1978).
- 9) 市毛彰・白須敏夫: 骨髓圧および骨髓内血流の測定. *整形外科*, 32, 1891-1895 (1981).
- 10) 山越憲一・伊藤寛志・山田明夫・三浦茂: 電気的インピーダンス法による心拍出量測定に関する研究. *医用電子と生体工学*, 11, 258-267 (1973).
- 11) Kubicek, W. G., Patterson, R. P. & Witsoe, D. A.: Impedance cardiography as a noninvasive method of monitoring cardiac function and other parameters of the cardiovascular system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 170, 724-732 (1970).
- 12) Nyboer, J.: Electorical impedance plethysmography (A physical and physiologic approach to peripheral vascular study). *Circulation*, 2, 459-471 (1960).
- 13) 沖野遙・堀原一・本田西男: 血流測定, (沖野編), 第1版, 1~9頁, 東京, 医学書院(1974).
- 14) 渡辺良・岡正典・笠原吉孝・中根康雄・宮田慶男: AOIによる圧迫骨接合術の問題点. *臨整外*, 7, 101-113 (1972).
- 15) 廣谷速人: 軟骨のサフランin O 染色について, *臨整外*, 11, 1112-1116 (1976).
- 16) Weinmann, J. P. & Sicher, S. H.: Bone and Bones. 314-332, St., Louis, Mosby, (1955).
- 17) Schraibman, I. G., Mott, D., Naylor, G. P. & Charlesworth, D.: Comparison of impedance and strain gauge plethysmography in the measurement of blood flow in the lower limb. *Br. J. Surg.*, 62, 909-912 (1975).
- 18) Brookes, M. & Harrison, R. G.: The vascularization of the rabbit femur and tibiofibula. *J. Anat.*, 91, 61-74 (1957).
- 19) 吉岡豊夫: 実験的偽関節の研究. *日整会誌*, 25, 208-209 (1951).
- 20) Ham, A. W.: A histological study of the early phases of bone repair. *J. Bone Joint Surg.*, 12, 827-844 (1930).
- 21) Girgis, F. G. & Pritchard, J. J.: Experimental production of cartilage during the repair of fractures of the skull vault in rats. *J. Bone Joint Surg.*, 40-B, 274-281 (1958).
- 22) 吉村義之: 仮骨分化の実験病理学的研究, *日整会誌*, 26, 73-88 (1952).
- 23) 吉村義之: 骨折の病理. *日本の医学の1959*, 5, 420-428 (1959).
- 24) Trueta, J.: Blood supply and the rate of healing of tibial fractures. *Clin. Orthop.* 105, 11-26 (1974).
- 25) Von der Mark, K. & Conrad, G.: Cartilage cell differentiation. *Clin. Orthop.* 139, 185-205 (1979).
- 26) Bassett, C. A. L. & Herrmann, I.: Influence of oxygen concentration and mechanical factors on differentiation of connective tissue in vitro. *Nature*, 190, 460-461 (1961).
- 27) Nogami, H. & Urist, M. R.: Substrata prepared from bone matrix for chondrogenesis in

tissue culture. J. Cell Biol. 62, 510-519 (1974).

270, London, Butterworths & Co. (Publishers) Ltd.

28) Brooks, M.: The blood supply of bone. 269-

(1971).

The Relationship between Fracture Healing and Blood Flow under Ischemic Conditions

Tadami Matsumoto, Department of Orthopedic Surgery (Director: Prof. S. Nomura), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920— J. Jusen Med. Soc., 92, 107—121 (1983)

Key words: Fracture Healing, Blood Supply, Blood Flow.

Abstract

Two step ligation models in rabbits were prepared to examine the relationship between fracture healing and blood flow under ischemic conditions: in the group A, one side of the femoral artery and in the Group B, femoral and common iliac arteries were ligated on one side respectively. Immediately after the ligation, each rabbit was intentionally fractured in the ipsilateral side of the fibula. The union of fracture was studied radiographically and microscopically and the blood flow was measured by impedance plethysmography.

The results obtained were compared with those in the contralateral lower leg that was not ligated. In the group A, the blood flow decreased to 20% immediately after ligation but it increased up to 50% after one week, 70% after two weeks, and remained at a blood flow of about 80% thereafter. Radiographical and microscopical differences between the group A and the control group were not observed. In the group B, however, the blood flow decreased to almost zero immediately after ligation, and then increased to only 10% after one week, 30% after two weeks, 50% after five weeks and remained at a blood flow of about 60% thereafter. In the group B, the union of fracture could not be completed successfully and pseudoarthrosis was produced.

The following were concluded: the fracture healing could not be completed successfully when the local blood flow decreased to less than 50%, compared with normal side during two to five weeks after the fracture in which the callus formation was energetical. The successful fracture healing was completed when more than 70% of the blood flow were maintained during that period.