

血管柄付き下顎骨異所性移植モデルによる
ラット下顎頭の形態学的研究

堀川 明 義

血管柄付き下顎骨異所性移植モデルによる
ラット下顎頭の形態学的研究

梶川明義

《はじめに》

下顎頭軟骨は四肢の関節軟骨あるいは骨端軟骨と異なり、顎関節における関節軟骨としての役割と下顎骨の成長軟骨としての役割を合わせ持つ特殊な軟骨である。下顎頭軟骨と四肢の骨端軟骨を比較すると、いずれも成長軟骨の役割を持つものの、両者は発生の過程から大きく異なっており、四肢の骨端軟骨が長管骨の軟骨性原基内に骨化中心が現れた際に残された一次軟骨であるのに対し、下顎頭軟骨は下顎の軟骨性原基であるメッケル軟骨とは別に軟骨性原基を包む被膜から分化、形成された二次軟骨である^{2,4)}。従ってその形態においても大きな差異を持ち、四肢骨端軟骨では硝子軟骨の中で軟骨細胞が間質性に増殖し、柱状配列を示して肥大して内軟骨性化骨を示すのに対し、下顎頭軟骨では表層に未熟な細胞の集積した細胞増殖層があり、ここで増殖し分化した軟骨細胞が肥大し内軟骨性化骨を行っている。一方、関節軟骨として比較すると、四肢の関節軟骨では滑膜の下に直ちに軟骨が連続するのに対し、下顎頭軟骨では滑膜の下に細胞増殖層から分化すると考えられる線維層があり、その下に成長軟骨の機能を合わせ持つ軟骨層が存在する。この様に成長軟骨と関節軟骨の二つの機能を合わせ持つ下顎頭軟骨で先天性あるいは後天性に障害が発生すれば、顔面の形態にとって直接的、間接的影響が発生する。直接的には成長軟骨としての障害から下顎骨の片側の発育異常が起り、間接的には顎関節の異常に起因する左右差のある咀嚼運動による二次変形が起こって来る。このため下顎頭軟骨は、頭蓋顎顔面形成外科領域において極めて重要な部位のひとつと云うことができる。

この興味深い『特殊な』下顎頭軟骨に対し、周囲組織が及ぼす作用については多くの議論があった^{7, 27, 28, 29, 43)}。すなわち下顎骨は咀嚼運動という非常に強力な力学的ストレスの影響下に置かれているが、この上顎骨や咀嚼筋など下顎頭外から加えられるの力(=外的因子)が下顎頭の軟骨形成および内軟骨性化骨にどのように作用しているかという議論である。そこでこれを明らかにするため、これまで外的因子を除去して下顎頭を観察する研究が種々行われてきた。それらの研究の内、in vitroのものは幼若な下顎頭軟骨組織を培養するもの^{3, 4, 12, 17, 42)}であるが、培養環境が人工的なものなので生体との条件の

違いが問題である。一方 *in vivo* の実験としては『下顎に外力を与え、その影響を見る』方法と『通常の外的因子を排した状況下に下顎頭を置き、その成長を見る』方法の二つが行われてきた。しかし前者の内のひとつである筋肉を切断^{14, 25)}する方法は、①咀嚼に問題が生じるため餌の摂取が低下し、発育に影響する②切断そのものが確実か判定しにくい③片側の切断では咀嚼運動そのものは残るため、機能因子の完全な除去とは言えない、などの多くの問題を抱えていた。また関節の牽引²⁰⁾、圧迫^{22, 23)}等による方法も正常飼育下での機能的因子の除去とはとても呼べないものであった。一方、後者としては下顎頭の皮下埋入^{12, 19, 22, 32)}や脳内埋入^{5, 6, 26)}などの異所性移植実験が種々行われてきたが、単なる埋入移植では虚血による細胞の変性を完全に避けることができず、移植が可能であったとしても、4日間ばかりかかるとされる移植組織周辺部からの *revascularization* までの阻血期間²²⁾が大きな問題であった。

以上の如く、これまでの外的因子を排除しようとした実験は、いずれもモデルに多くの問題を抱えており、明確な結論に至ることができなかった。そこでこれらの問題を解決するため、同週齡近交系ラットを用いた『血管柄付き下顎骨異所性移植モデル』を開発し、実験を行った。本モデルでは2匹の同週齡近交系ラット間で同一血管を用いて移植を行うことにより、内的遺伝的因子、血行動態、ホルモンなどの変化を最小限に抑え、下顎頭の組織環境を正常時に近い状態に保ったまま、咀嚼運動などの力学的ストレスをはじめとする外的因子を排除した状態で下顎頭の成長を観察することが可能であり、外的因子の下顎頭軟骨に及ぼす影響を検討する上で有用である考えられる。また本モデルを用いた実験から、下顎骨と顎関節の再建を骨軟骨の血管柄付き移植により行える可能性を探ってみたいと考えた。

《研究目的》

本研究は以下のことを目的として行った。

①新たに開発した同週齢近交系ラットによる『血管柄付き下顎骨異所性移植モデル』を用いて、内的遺伝的因子、血行動態、ホルモン等の組織環境を正常時に近い状態に保ったまま、咀嚼運動などの力学的ストレスをはじめとする外的因子を排除した状態で下顎頭の成長を観察し、下顎頭における軟骨形成および内軟骨性化骨に対する外的因子の影響を検討する。

②このモデルの変化を観察することにより、下顎骨および顎関節の再建における血管柄付き骨・軟骨移植の可能性を検討する。

《実験材料および方法》

I. 実験動物

6週齢、雄、体重 150 ± 5 gのLewis近交系ラット（日本チャールズリバー社）をdonorラットとrecipientラットの2匹一組として使用した。飼育にあたっては、個別のゲージで固形飼料（オリエンタルMF）および水道水を自由に摂取させた。

II. 実験モデルの作製法

移植モデルの作製は、ネプブタール[®] (pentobarbital sodium) 30mg/kg腹腔内投与による全身麻酔下に行った。

まずdonorラットから右下顎骨に周囲軟部組織を含めて血管柄付き移植組織(=graft)として採取した。剃毛後、仰臥位で固定したラットの頸部からオトガイ部に皮切を置き、皮下を剥離し、手術用顕微鏡(Zeiss OPM7)下に総頸動脈、外頸静脈を血管柄として、右側下顎骨を舌骨右1/2、咬筋、側頭筋、翼突筋などの筋肉、その他周囲軟部組織をできるだけ含めるように一塊として採取した。この際、内頸動脈は結紮切離し、下顎骨正中は左右の切歯間で離断した。また顎関節の関節腔は関節円板を境に下顎窩側の関節上腔と下顎頭側の関節下腔に分かれているので、関節の離断は関節上腔側で行い、graftに関節円板を含めることにより関節下腔を温存し、下顎頭軟骨が露出しないように注意した。採取した移植組織はrecipientラットの準備の間(約15分間)生理食塩水ガーゼに包み、4°Cで冷蔵庫にて保存した。

次に、同様に剃毛し仰臥位で固定したrecipientラットの頸部にJ字形皮切を置き、皮下を剥離しポケットを作成した。移植床血管としてはgraftの採取部と同じ右総頸動脈と外頸静脈を剥離して準備した。ここへ保存しておいたgraftを血管吻合を行って移植した。吻合は手術用顕微鏡下に針付き10-0ナイロン(S&T社V43)を用いて直径約1mmの動脈(recipient: 総頸動脈-

graft : 総頸動脈)に10針、直径約1.5mmの静脈 (recipient : 外頸静脈— graft : 外頸静脈)に12針をかけ、それぞれ端々吻合で行った。吻合部の開存を確認後、移植部皮膚を突き破らない様に切歯を根本で切り捨て、graftを皮下ポケットに挿入し、ナイロン糸にて2箇所固定した後、閉創した(図1)。

III. 評価法

(1) 移植モデルの血行状態の評価

① Radioactive microsphere 法による血流測定

移植1日後のモデル6匹を用いて、ネプタール[®]全身麻酔下に高橋ら^{40, 41)}の方法に準じて^{99m}Tc-MAA (テクネチウム大凝集人血清アルブミン: 長径10~60 μ m、半減期約6時間) 0.6cc=2.2mCiを左心房に注射し、5分後に屠殺してgraftを採取した。またrecipientラットの移植床と反対側の左下顎組織をcontrolとして採取した。Graftおよびcontrolの放射線量をアロカ社製ARC300放射線測定器を用いて各々3回ずつ測定し、その平均値をその標本の単位時間あたり放射線量(CPM)とし、重量あたり放射線量を求めて比較した。

② レーザードップラー血流計を用いた局所血流測定

移植1日後のモデル3匹を使用し、ネプタール[®]麻酔下にバイオリサーチセンター社製レーザードップラー血流計(半導体レーザー: 780nm、ニードル型極小プローブ: 直径1.1mm)及びMac Labシステムを用いて局所血流を測定した。測定部位はgraftの下顎頭および咬筋、recipientラットの咬筋および総頸動脈の4点とした。血流量はmV単位の相対値として計測され、変化をグラフとして記録した。

③ バリウムを用いたgraftの血管造影

Graft内の血管の保存状態を確認するため、移植7日後のモデル3匹から採取した標本を用い、graftの総頸動脈よりバリウムを注入し、還流したバリウ

ムが外頸静脈より流出してきたところで注入を止め、Softex CSM-2型X線発生装置（日本ソフテックス社製）を用い軟X線写真を撮影した。標本を遮光したフィルムに下顎骨外側面が隙間なく接着するように置き、管球からフィルム面までの距離35cm、管電圧37Kv、管電流 4mAで露出時間は8秒とした。X線フィルムは富士写真フィルム社製工業用FRを使用した。

(2) 一般染色による組織学的観察

30匹のモデルを作製し、移植1日、2日、4日、7日、14日後の5群に分けて6匹ずつ屠殺して血管柄の開存を確認後、graftを採取した。またrecipientラットの移植部と反対側である左側下顎骨をcontrolとして採取した。軟X線写真撮影後、10%ホルマリンで固定したのち10%EDTA (pH 7.0) で1週間脱灰し、アルコール系で脱水した。下顎頭の長軸方向矢状断中央の前端、後端および頂点を墨汁でマークし、パラフィンに包埋した後、墨汁の印を目標に最大前後径となる面で厚さ約3 μ mの連続切片を作製した。Hematoxylin-Eosin染色、Toluidine Blue染色、Azan-Mallory染色を行い、光学顕微鏡下に観察した。検鏡にはニコン社製MICROPHOTO-FXAを使用した。

(3) BrdU 免疫組織化学染色による観察

非R1の細胞増殖検出システムとして主として腫瘍細胞の検出に用いられて来たBrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine、アマシヤム社製)を下顎頭組織の分裂期の細胞に取り込ませ、抗BrdUモノクローナル抗体を用いて検出し、幼若細胞の増殖および分化を追跡して経時的变化を測定した。

① BrdUの投与方法

第1群：細胞の分化・成熟を追跡する目的で行った。30匹のモデルを用い、移植術直後にBrdU3mg/体重100gをrecipientラットの腹腔内に投与して通常の飼育を行い、移植1日、2日、4日、7日、14日後に6匹ずつ屠殺し、血管柄の開存を確認後graftを採取した。またrecipientラット左側の下顎骨をcontrol

として採取した。

第2群：細胞増殖能の変化を調べる目的で行った。18匹のモデルを用い、移植術直後、3日後、7日後にそれぞれ6匹ずつ、第1群と同様の方法でBrdUを腹腔内投与し、投与2日後にgraftとcontrolを採取した。

②標本の作製、観察

採取したgraftとcontrolを直ちに70%エタノールにて1週間固定後、10% EDTA(pH 7.0)で1週間脱灰し、アルコール系で脱水した後、下顎頭の長軸方向矢状断中央の前端、後端および頂点を墨汁でマークし、パラフィンに包埋した後、墨汁の印を目標に最大前後径となる面で厚さ約3μmの連続切片を作製した。

3%過酸化水素・メタノールで脱ペルオキシダーゼ処理を行った後、37°Cの4N塩酸水に30分間浸してDNAの単鎖化を行い、37°Cの0.02%アクチナーゼで3分間処理を行った。この後、30倍希釈抗BrdUモノクロナール抗体(一次抗体)を37°Cで60分間反応させ、さらに抗マウスIgG_{2b}抗体(二次抗体)を室温で10分間反応させた。これを室温でHRP標識ストレプトアビジンに10分間、DAB希釈液に10分間浸してBrdUを取り込んだ核を発色させ、最後にHematoxylinによる反対染色を弱めに行い、光学顕微鏡で検鏡した。

③BrdU標識細胞の計測

下顎頭の長軸方向矢状断中央の切片で、中央部および後部それぞれの幅500μmを取り、proliferative zoneをA層、transitional zoneからhypertrophic zoneを1/2の厚さに分け、浅い方をB層、深い方をC層とし、この中のBrdUを核に取り込んで標識された細胞の数を各部、各層毎に計測した。また、すぐ次の切片にHematoxylin-Eosin染色を行い各部、各層の幅500μmの全細胞数を計測し、これを用いて下記のようにBrdUの取り込まれた細胞の比率を求めた(図2)。

幅500μm内のBrdU標識細胞数

BrdU標識率 = $\frac{\text{幅500}\mu\text{m内のBrdU標識細胞数}}{\text{幅500}\mu\text{m内の全細胞数 (Hematoxylin-Eosin 染色)}} \times 100 (\%)$

幅500μm内の全細胞数 (Hematoxylin-Eosin 染色)

④統計処理

コンピューター（Apple社製Macintosh Quadra 800）で統計プログラム Stat View 4.02を使用して、graftおよびcontrolのBrdU標識率の経時の変化を解析、比較検討を行った。

（4）軟X線撮影による骨形態計測

移植前、移植1日、2日、4日、7日、14日後に、それぞれ6匹ずつのモデルから標本を採取した際、graftおよびcontrolの軟X線写真撮影を行い、下顎骨の形態変化を観察、計測した。

①下顎骨標本の軟X線写真撮影方法

撮影装置はSoftex CSM-2型X線発生装置（日本ソフテックス社製）を用い、各標本を遮光したフィルム上に直接下顎骨外側面が隙間なく接着するように置き、管球からフィルム面までの距離35cm、管電圧37Kv、管電流4mAで露出時間は8秒で撮影した。X線フィルムは富士写真フィルム社製工業用FRを使用した。

②計測方法

得られた下顎骨標本の軟X線写真をイメージスキャナー（SHARP社製JX-325M）を用いて400dpiの解像度のコンピューター画像として取り込んだ後、各画像上で下記4つの距離を0.01pixelまで3回計測し、平均値をそれぞれの距離とした（コンピューターはApple社製Macintosh Quadra 800、画像取り込みプログラムはAdobe Photoshop 2.5J、画像解析プログラムはNIH image 1.47を使用）。1 pixel = 0.06mm。

③計測距離

下顎体部と頭部の大きさを代表する値として以下の距離を規定し、測定した（図3）。

- (1) 下顎体部の長さ BL (下顎角最突出部—オトガイ隆起最下点突出部)
- (2) 下顎体部の高さ BH (下顎体部下縁接線—筋突起最上点)
- (3) 下顎頭部の長さ HL (下顎頭部前後切痕接線—下顎頭部先端)
- (4) 下顎頭部の高さ HH (下顎体部下縁接線—下顎頭部最上点)

④統計処理

コンピューター上で統計プログラム Stat View 4.02を使用し、計測各データの経時的变化を解析、graft と control で比較検討を行った。

《結 果》

I. 移植モデルの体重変化

移植後14日間の飼育を行ったモデルの recipient ラット6匹の体重を測定し、非移植術ラット6匹を control として比較した。recipient ラットの体重は移植時平均150gであったが、移植直後5~10g減少するものの、それ以降は順調に増加を示し、以後7日後に平均183g、14日後には平均219gに増加した。Mann-Whitney 検定において、7日後、14日後の recipient ラットの体重は同日齢 control ラットの体重と有意の差を認めなかった(図4)。

II. 移植モデルの血行状態

① Radioactive microsphere 法による血流測定(図5)

6例の graft、control 各々の重量あたり放射線量を測定した。その結果 graft 群の平均は13215.2(標準偏差3941.0) CPM/g、control 群の平均は14100.5(標準偏差4191.2) CPM/gとなり、Wilcoxonの順位検定で graft 群と control 群の間に有意の差は認められず、graftの血行が recipient ラットの下顎組織の血行とほぼ同等であることが示唆された。

尚、標本が二つの群に分かれる様に見えるのは、モデル作製および血流測定を3匹ずつ2回に分けて行ったためで、投与した ^{99m}Tc -MAAの調整がその都度少しずつ異なるせいである。

② レーザードップラー血流計を用いた局所血流測定(図6)

3例の測定結果はいずれも図の様なグラフとなり、graftの咬筋の血流は recipient の咬筋のものと同等であり、graft全体として良好な血行が保たれていると考えられた。また graftの下顎頭の血流は graftおよび recipient ラットの咬筋の血流を大きく上回って recipient ラットの頸動脈のものに近い値を示し、下顎頭の良好な血行が確認された。

③バリウムを用いた graft の血管造影 (図7)

血管造影は、3例いずれにおいても途中でのバリウムの漏出は見られず、造影写真には総頸動脈、外頸静脈、内側上顎動静脈、外側上顎動静脈、前深側頭動静脈、後深側頭動静脈、浅側頭動静脈、咬筋動静脈など主な動静脈が描出された。

④一般組織染色

一般組織染色による観察に用いた各採取時期6例ずつの graft の組織標本では、関節軟骨細胞の明かな生存像と周囲組織の良好な毛細血管の開存を確認した。

以上より移植下顎組織の血行が良好に保たれていることを確認した。

Ⅲ. 下顎頭の組織変化

(Hematoxylin-Eosin 染色、Toluidine Blue 染色、Azan-Mallory 染色)

① Control 下顎頭軟骨細胞の層構造

各採取時期の6例ずつの control、30標本の下顎頭組織所見ではいずれも正常下顎頭軟骨で示されると同様の層構造を認め、標本採取時期による特記すべき差異は見られなかった。

以下に control の所見を示す (図8)。

<下顎頭外>

Articular disc of TM joint (関節円板) : 線維成分に富み、厚さ100~200 μ m で中央部が薄く、辺縁部が厚い。表面に1層の滑膜が走っていた。

Subdisc articular cavity (関節下腔) : 関節円板の下顎頭側に閉鎖された関節腔が確認された。

<下顎頭部>

Articular zone (線維層) : 線維成分に富み細胞成分は少なく、細胞は紡錘形を呈していた。関節下腔側には1層の滑膜が走っていた。Azan-Mallory染色で膠原線維が青色に濃染された。

Proliferative zone (増殖層) : 細胞は紡錘形を呈し発達が良く、規則的に5~15層に重層し密度が大変高かった。細胞間質は下層に比べ少なかった。

Transitional zone (移行層) : 細胞は6~8層に重層し、移行層という名前のとおり proliferative zone と hypertrophic zone の中間的、過渡的な像を示して、上層から下層に行くに従い細胞の形は紡錘形から類円形となり、大きさははだいに大きくなっていった。細胞間には軟骨基質が多く認められた。Toluidine Blue 染色で軟骨基質は青紫色に良く染められた。

Hypertrophic zone (肥大層) : 細胞は5~7層に重層し、上層から下層に行くに従い細胞の形は類円形から長円形となり、その大きさは一段と大きくなっていった。長円形の細胞の長軸は関節面と垂直方向を指していた。

Degenerative zone (変性層) : 軟骨細胞の核の萎縮、細胞の破壊が認められ、破軟骨細胞と豊富な骨芽細胞による骨への置換が見られた。ここより下層には骨層が続き、骨梁は関節面と垂直方向に伸びていた。

②移植下顎頭軟骨細胞の変化

Controlの組織標本がどの採取時期でもほぼ同様の所見を呈していたのとは対照的に、各採取時期6例ずつの graft の標本では短期間に、以下のような極めて劇的な変化を観察した。同じ採取時期の標本間では多少の差は見られたものの、ほぼ同じ特徴を示した。著明な変化ではあるが、細胞や核の変性といった軟骨を皮下などに埋め込んだ場合に見られるような阻血による変化は見られず、組織はいずれも活性を維持し良好な生命環境においての「移植による変化」と考えられた(図9)。

(移植1、2日後) Transitional zone の細胞に肥大した細胞がやや多く認められるようになり、hypertrophic zone がやや厚くなった。関節下腔はきれいに

保たれていた。

(移植4日後) Transitional zone から hypertrophic zone の厚みが、control に比べ厚くなっている部分と薄くなっている部分が認められた。細胞の形や大きさも浅層から深層に行くにつれて類円形から長円形、小から大に並ぶといった配列が乱れ、種々の形、大きさが混在していた。細胞の形は長円形が少なくなり類円形のまま肥大したものが目立った。関節下腔は良く保たれていた。

(移植7日後) Transitional zone から hypertrophic zone の細胞の厚みのばらつきがさらに著明になり、厚い部分では30から40層にまで重なり、また他の場所では軟骨層が欠落してしまった所も認められた。Toluidine Blue 染色でも軟骨基質の厚みの変化が著明に観察された。Hematoxylin-Eosin 染色、Azan-Mallory 染色で軟骨層の欠落した部分では、proliferative zone より下層に横方向に走る線維性の骨形成が見られた。場所によっては軟骨細胞群より浅層に割り込むように新たに形成された線維性の骨が認められた。Azan-Mallory 染色では articular zone の肥厚も目立ち始めた。関節下腔はまだ保たれていたが、縮小傾向が認められた。

(移植14日後) Transitional zone から hypertrophic zone まで軟骨細胞はほとんど消失してしまった。Toluidine Blue 染色でも軟骨基質はところどころわずかに染め出されるのみであった。残った proliferative zone も厚さにばらつきが見られ、方向性も乱れていた。proliferative zone の直下からは線維性の骨によって埋め尽くされてしまった。また Azan-Mallory 染色で明らかなように articular zone は著しい肥厚を示し、線維は不規則に走り、細胞成分の増加、血管の増殖が認められた。また関節下腔は閉鎖してしまった標本が多く見られた。

IV. 下顎頭軟骨の増殖・成熟 (BrdU 免疫組織化学染色)

第1群: 移植後直ちに BrdU を投与した群 (表1、図10、11)

(移植1日後) Graft、control 共、proliferative zone であるA層の約20~30%の細胞の核に BrdU の取り込みを認めた。graft では中央部、後部ともB層の細胞の1~7%が標識されていたが、control では標識されたものは見られな

った。C層の細胞は graft、control 共に、標識されていなかった。

(移植2日後) Graft ではA層の標識率が20%以下に低下し、B層の細胞の標識率が5~13%に上昇、C層の細胞にも標識されたものが見られ始めた(0~3%)。control でもB層に標識された細胞が見られた(3~9%)が、まだC層の細胞は標識されたものが見られなかった。

(移植4日後) Graft、control 共にB、C層の細胞の標識率が上昇し、graft では hypertrophic zone の最深部にも BrdU 標識細胞が認められ始めたが、control ではまだほとんど認められなかった。

(移植7日後) Control でも hypertrophic zone 最深部に BrdU 標識細胞が見られるようになった。Graft、control 共にB、C層の細胞の標識率がさらに上昇し、10~20%のところまで低下して来たA層の標識率とほぼ同じ水準に達した。

(移植14日後) Graft では軟骨細胞がほとんど消失し、B、C層の測定が不能となった。このもともと軟骨層であった部分には新たに骨梁が横方向に走る骨組織が見られ、その中には BrdU で標識された細胞がわずかに見られた。A層は残されていたが、標識率はさらに低下し10%以下になっていた。Control では層構造に変化のないまま、A、B、C各層の BrdU の標識率が一様に10%前後まで低下していた。

測定できた各採取時期、各層の標識率について対応する graft と control の間で Wilcoxon の順位検定を行ったが、有意の差は認められなかった。

第2群：移植直後、3日後、7日後に BrdU を投与し投与2日後に採取(表2、図12、13)

Graft 群では投与時期が移植直後より3日後、7日後と遅くなるほどA層の標識率は高くなる傾向があった。特に中央部でその傾向が著明であった。B、C層における標識率の変化は顕著でなかった。ただし7日後投与群は移植9日後であり、下顎頭軟骨は軟骨層の不均一化がかなり進んで来ており、細胞数全体の減少も認められた。

一方 control 群では投与時期が遅くなるにしたがい、A、B、C各層の標識率が低下する傾向が認められた。

各採取時期、各層の標識率について対応する graft と control の間で Wilcoxon の順位検定を行ったが、有意の差は認められなかった。

V. 軟X線写真計測による下顎骨形態計測 (表3、図14)

(1) 下顎体部の長さ BL (下顎角最突出部—オトガイ隆起最下点突出部)

Control で日齢にほぼ比例し増大したのに比べ、graft では移植後1～4日後は急激な増大が見られたが、その後は成長が見られなかった。Wilcoxon の順位検定で移植4日後の標本で graft が control より有意に大きく、逆に移植14日後の標本では control が graft を有意に上回った。

(2) 下顎体部の高さ BH (下顎体部下縁接線—筋突起最上点)

Graft、control 共に日齢に比例して増大傾向が見られた。各時期の2群間に有意の差は見られなかった。

(3) 下顎頭部の長さ HL (下顎頭部前後切痕接線—下顎頭部先端)

BHと同様に graft、control 共に日齢に比例して増大傾向が見られた。各時期の2群間に有意の差は見られなかった。

(4) 下顎頭部の高さ HH (下顎体部下縁接線—下顎頭部最上点)

BH、HLと同様に graft、control 共に日齢に比例した増大傾向を認めた。Control に比較し graft がやや大きな数値を示したが、その差はわずかで有意の差は認めなかった。

(5) その他

下顎頭の形態は control では成長に連れわずかずつ関節部の前後径が増大傾向を示し、縦長の関節面を形成したが、graft では関節部の前後径は移植後の時間経過と共にむしろ縮小し、ラグビーボール状から棍棒状に変化して行った (図15)。

I. 研究方法に対する検討

①血管柄付き下顎骨異所性移植モデルについて

これまでの諸家の使用してきた *in vivo* で異所性移植により外的因子を除去して下顎頭を観察するモデルは、下顎頭を皮下^{1, 2, 19, 23, 25}や脳内^{9, 20}に埋入するものがほとんどであったが、ただの埋入移植では（著者も行って見たが）組織を見れば明かなことであるが、虚血による細胞の変性を完全に避けることができない。たとえ移植できたとしても4日間はかかると思われる移植床周囲組織からの *revascularization* までの阻血期間²³は、わずか4～5日²²、あるいは5～7日^{2, 8}とされる発育期ラットの下顎頭軟骨細胞の分化成熟の *life span* にとってあまりに長すぎる。また、軟骨が軟骨膜の再血行なしに他の方法で栄養されているとすれば、その栄養状態は正常とはかけ離れた、単なる『生体内培養』と言わざるを得ない。これらのモデルの問題点を解決し、できるかぎり正常に近い状態で外的因子を排除した下顎頭の観察モデルとして、同週齢近交系ラットを用いた『血管柄付き下顎骨異所性移植モデル』を開発し、実験を行った。本モデルは平林が開発した『近交系ラット異所性頭部移植モデル』^{15, 16}を基礎として新たに開発したもので、2匹の同週齢近交系ラット間で同一血管を用いて移植を行うことにより、内的遺伝的因子、血行動態、ホルモン等の変化を最小限に抑え、下顎頭部の組織環境を正常時に近い状態に保ったまま、咀嚼運動などの力学的ストレスをはじめとする外的因子を排除した状態で下顎頭の成長を観察することが可能である。このため下顎頭の軟骨形成および内軟骨性化骨に対して外的因子の与える影響を検討する上で有用なものであると考えた。尚、本モデルを利用すれば、これまで *in vitro* でしか行えなかった力学的ストレスの非存在下に各種ホルモンや局所伝達物質を付加した実験⁴⁴も、*in vivo*での観察が可能になるのではないかと考えている。

使用ラットの週齢を決めるにあたっては、発育期のラットということで6週齢のものを使用した。これは Furstman⁹ や三木²⁴らが『3～7週齢がラットの下顎頭の形態が安定して、大きく成長する発育期にあたる』としているこ

とを参考とし、血管吻合の容易さ、移植術後の体力等も考慮したためである。

移植の範囲については、当初、側頭骨を含めて顎関節全体を移植することを試みたが、出血のコントロールが難しい点や、移植組織が大きくなり過ぎて皮下ポケットに納めにくくなると、新たに圧迫などのストレスの加わる心配がある点などを考慮し、関節円板を含めた半切下顎骨を移植することにした。顎関節は関節円板を境に関節窩側の関節上腔と下顎頭側の関節下腔に分かれているため、関節離断を関節上腔で注意深く行い、関節円板を移植組織側に残して関節下腔を温存することにより下顎頭軟骨の露出を防ぐことが可能である。また半切した下顎骨には筋肉など周囲軟部組織をできるだけ含めるようにし、下顎骨の周囲を可能な限り正常に近い状態で保つように配慮した。切歯は graft を納めた際、移植部の皮膚ポケットを突き破り潰瘍を形成するため、やむを得ず切り落とすことにした。

実験モデルの安定性を確認するため、体重変化の測定および血行状態の検査を行った。Recipient ラットの体重は移植直後わずかに減少するものの、その後は順調な増加を示し、移植7日後、14日後には移植手術を行っていない同日齢の正常ラットと有意の差を認めず、良好な栄養状態にあることを確認した。また血行については一般組織染色による血管開存の確認をはじめ、 ^{99m}Tc -MAA を用いた Radioactive microsphere 法による血流計測、レーザードップラー血流計による局所血流計測、バリウムによる血管造影を行い、いずれにおいても移植組織全体の良好な血流状態および下顎頭部の正常と変わらぬ血行を確認した。尚、Radioactive microsphere 法による血流計測では手術による反応性の変化が問題となり、この方法による結果だけでは血流が良いと言い切れないと判断したため、他の二法も加えて血行の良さを確認した。

②各分析方法について

移植により力学的ストレスなどの外的因子を排除された下顎頭の変化を観察するため、一般染色による組織学的観察、BrdU 免疫組織化学染色法による観察、軟X線撮影による骨形態計測を行った。予備実験により、移植された下顎頭は2週間以内、特に1週間以内に著明な変化を示すことが分かったため、標本採取は移植1日、2日、4日、7日、14日後に行うことにした。

一般染色による組織観察は、ホルマリン固定下に Hematoxylin-Eosin 染色、Toluidine Blue 染色、Azan-Mallory 染色を行って光学顕微鏡下に行い^{25, 28, 30)}、いずれも下顎頭軟骨細胞の急激かつ特徴ある変化を観察した。

そこでこの変化がどのように進行するのか経時的な分析を行うため、1982年に Gratzner ら¹⁰⁾によって細胞増殖検出システムとして開発され、主として腫瘍細胞の検出^{18, 22, 30, 31)}や病態の修復機転等の検討¹⁾に用いられてきた BrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine) を細胞の標識として用い、免疫組織化学染色^{30, 37)}を行って軟骨細胞の増殖・成熟を追跡、測定し、コンピューターを用いて解析した。BrdU は cell cycle の内の S 期に合成される DNA に取り込まれる物質であり、新たに増殖した軟骨細胞の標識および軟骨細胞の分化の追跡に利用した。In vivo での BrdU の標識時間は血管投与で約30分で十分であるとされる²²⁾。また分解は肝において速やかに脱ブロム化を受け、10分後には血中濃度は10%以下になるとされ、一回の投与で連続的な標識は無いと考えられている^{21, 22)}。今回の実験において著者は BrdU 3mg / 体重100g を腹腔内投与したが、この方法でも1日後の control の標本における proliferative zone の細胞の標識率は20~30%と高く、深部各層への標識率の経時的移行も極めて滑らかであった(図11)。標識率の測定には Blackwood²⁾、Folke⁸⁾、野口²²⁾、岡田³²⁾らが³H-thymidine を用いて行ったオートラジオグラムの分析法を参考に、下顎頭の中央部および後部それぞれについて幅500 μ mで、proliferative zone をA層、transitional zone ~ hypertrophic zone を1/2の厚さに分け、浅い方をB層、深い方をC層として計測し、BrdU の取り込まれた細胞の比率を求めた。Transitional zone、hypertrophic zone を層毎にせず新たにB、C層を設けたのは、移植によって細胞の形態、配列が極めて無秩序になり、そのままではB層とC層の境界が定まらず計測が困難であると判断したためである。BrdU を用いる方法は、従来³H-thymidine を取り込ませる方法と比較して、ラジオアイソトープを使用せずに増殖細胞の検出が可能であり、実験で施設、時間などの制約を受けず、実施者の健康等に対する安全面からも大変に有用な方法と考えられる。

一般染色による組織形態学的観察によって下顎頭内の大きな変化が観察されたが、これらが下顎頭の形態に及ぼす変化を検討するため、採取した標本を軟

X線で撮影し、画像をコンピューターに取り込んだ。伊藤²⁹⁾、花田¹¹⁾らの下顎骨計測法を参考に、独自に下顎体部と頭部の大きさを代表する値としてそれぞれ2つずつの計測距離を定め、拡大画面上で測定した。測定単位はコンピューター画像上の pixel (1 pixel \approx 0.06mm) を使用し、測定点は決定しやすく誤差の少ないものを選び、下顎体部の長さ (BL) として下顎角部最突出部とオトガイ隆起最下点突出部との距離、下顎体部の高さ (BH) として下顎体部下縁接線と筋突起最上点との距離、下顎頭部の長さ (HL) として下顎頭部前後切痕接線と下顎頭部先端との距離、下顎頭部の高さ (HH) として下顎体部下縁接線と下顎頭部最上点との距離を測定した。各距離の変化を graft と control で比較分析すると共に、組織学的変化と対応させ考察を加えた。

II. 結果に対する検討

①一般染色による組織形態学的変化について

移植によって下顎頭部、とりわけその軟骨に短期間に極めて激しい変化を観察した。長管骨の骨端軟骨ほどではないものの、正常の下顎頭軟骨においては proliferative zone から transitional zone、hypertrophic zone、さらに degenerative zone へとある程度、軟骨細胞の規則的配列が見られるが、移植された下顎骨の下顎頭軟骨細胞は移植後の時間経過とともに細胞の形、大きさ、配列とも不規則になり、軟骨層の厚みは場所により control より厚くなった部分と逆に薄くなった部分が現われながら変化を続け、14日後までに軟骨細胞はほぼ消失してしまった。そして軟骨の消失した部分には、代わって骨形成が認められた (図9)。岡田³³⁾は皮下移植モデルで軟骨部の骨化について血管が侵入し局所酸素濃度が上昇したり、移植床の間葉系細胞が関節円板を通して侵入し影響を与えた可能性を唱えたが、今回の結果で見ると軟骨の消失と骨形成の進行した移植7日後の標本でも関節下腔は保たれており、下顎頭軟骨への血管新生は見られておらず、血管新生による変化ではないと考えている。移植14日後には関節下腔の閉鎖した標本が多く認められたが、この変化は下顎頭軟骨の変化より遅れたものであり下顎頭軟骨の変化の原因ではないと考えてい

る。尚、関節腔の狭小化や閉鎖は平林らの行った3週齢ラットの頭部全体を10週齢ラットの鼠径部に移植する実験^{15, 16)}でも観察されており、顎関節組織の損傷によるものではなく顎関節機能の排用性変化のひとつではないかと考えている。本実験で見られた軟骨消退に伴う新しい骨形成は、通常の内軟骨性化骨で見られる縦方向に走る骨梁とは異なり、proliferative zone と transitional zone の間に割り込むように横方向に広がって起こっており、正常時に軟骨芽細胞に分化していた被膜下の未分化間葉系細胞が骨芽細胞へと分化し、線維性化骨が行われたことを示唆するものと考えられた。

② BrdU 免疫化学染色による下顎頭軟骨の分化増殖能について

第1群（移植後直ちに BrdU を投与）では、移植1日後と2日後のA層（proliferative zone）の標識率は graft 群、control 群共に20～30%と高く、BrdU の良好な取り込みが観察された。標識率の推移から、標識された細胞のB、C層（transitional zone～hypertrophic zone）への移行は、移植7日後まで graft 群が control 群より遅れることはなく、むしろやや早い傾向が見られたが、有意の差は認められなかった（図10、11）。この結果は、移植され外的力学的因子を失った下顎頭においても軟骨細胞の成熟速度に低下は起こらず、移植された時点で存在した軟骨細胞は順調に成熟を進めることを示していると考えられた。

次に第2群（移植3日後、7日後に BrdU を投与）では、A層の細胞の標識率において、control 群では投与時期が遅くなると、やや低下する傾向が見られたのに対し、graft 群では逆に上昇傾向を示した（図12、13）。この結果の内 control の変化は、6週齢から7週齢に移行するラットの加齢による細胞増殖能の変化が標識率の低下に現われたことが推測される。一方 graft の変化は、移植早期に proliferative zone の細胞増殖能が一時的に高まる可能性を示唆するものと考えられる。B、C層については、採取時期が投与2日後という比較的早い時期であったため取り込みが少なく、差が見られなかった。また移植7日後のモデルではB、C層に軟骨細胞が少なくなり、次第に骨組織に置換されて来ているにもかかわらず、A層に BrdU の良好な取り込みが認められた。これは移植によって軟骨細胞に分化しなくなった後は、未分化間葉系細胞が骨芽細

胞に分化し骨を産生していることを示唆する所見ではないかと考えられた。

③軟X線写真による下顎骨形態変化について

短期間の観察ではあったが、軟X線撮影による下顎骨の形態計測でも興味ある結果を得た。移植された下顎骨の骨体部の高さは control と有意の差を持たずに増大を続けたが、骨体部の長さは4日目まで一時的に増加速度が早まった後、7日目以降は逆に抑制されていた(図14-1)。この原因としては、咀嚼運動などの外的力学的因子を失ったことにより下顎体部の膜性化骨の速度に何らかの変化が生じたことや、移植によって咬合による上顎の規制が失われことなどが考えられるが、明確な機序は不明である。一方、下顎頭については形態をラグビーボール状から棍棒状に変えながらも、その長さ、高さとも増大を続け、control と有意の差を認めなかった(図14-2、15)。しかしこの間の組織学的観察結果では、下顎頭軟骨の明らかな消退と線維性化骨が認められていることから、移植によって内軟骨性化骨が行われなくなった後は膜性化骨によって成長が引き継がれていく可能性が示唆されたものと考えられる。

Ⅲ. 下顎頭軟骨細胞の成長に対する外的因子の影響

Enlow⁷⁾によれば軟骨細胞の成長には、軟骨膜における細胞の新生添加による『膜性成長 (appositional growth)』と、それより深部での基質内に包埋された直後の分裂、肥大による『間質性成長 (interstitial growth)』の二つのメカニズムがあるとされる。しかし今回の実験における BrdU を用いた免疫組織化学染色による観察で、正常下顎頭の proliferative zone から hypertrophic zone の細胞の内、BrdU 投与直後に標識されたのは proliferative zone の細胞だけであり、『膜性成長』における細胞増殖は確認されたが、『間質性成長』における細胞増殖は認められなかった。このため今回観察した発育期の下顎頭軟骨の成長は、未分化間葉系細胞から軟骨芽細胞への分化増殖が見られる『膜性成長』が主なもので、『間質性成長』と言われる軟骨細胞に分化した後の細胞増殖は行われないのではないかと考えられた。

本研究のBrdUを用いた観察結果において、移植下顎頭でcontrolと有意の差を持たずにBrdU標識軟骨細胞の深部への移行が認められたことから、移植により力学的ストレスをはじめとする外的因子を除去された下顎頭でも、軟骨細胞の成熟速度は正常あるいはそれ以上に保たれていると考えられた。つまり軟骨細胞自体の成熟には外的因子の影響はそれほど大きくなく、遺伝的にある程度規定されて自律的に行われているのではないかということである。ただし軟骨細胞の形や大きさ、配列には不規則さが目立ち、個々の軟骨細胞を統括するコントロール機能が停止し、『秩序の喪失』が起こったと考えられた。したがって軟骨細胞の秩序ある成熟の維持には外的因子の影響も無視できないと言える。また移植14日後までに軟骨細胞がほとんど消失してしまい内軟骨性化骨が維持できなかったことから、下顎頭の軟骨形成における外的因子の重要性が指摘されたが、これを同じ様に内軟骨性化骨を示す四肢の骨端軟骨と比較するとどうであろうか。当教室のChiuは幼若ラットの下肢を大人のラットに移植する実験を行ったが、四肢の骨端軟骨は移植により外的力学的因子を奪われた後もある程度、内軟骨性化骨を維持することが観察されており、本研究の下顎頭軟骨で認められたような急激な変化は見られなかった。このことは四肢の骨端軟骨と下顎頭軟骨が同じ成長軟骨でありながらかなり異質なものであることを示している。元々両者の間には骨端軟骨が一次軟骨、下顎頭軟骨が二次軟骨という違いがあり、軟骨の性質も骨端軟骨が関節軟骨と同じ硝子軟骨であるのに対し、下顎頭軟骨は線維性軟骨と硝子軟骨の複合型であり、軟骨細胞の配列の仕方も骨端軟骨でははっきりした柱状配列が見られ、成長の方向性が明かであるのに対し、下顎頭軟骨では細胞の配列はやや雑然としており方向性が明確でないなどの違いが見られる。四肢の骨端軟骨は、同じ一次軟骨である頭蓋底軟骨と同様に外的因子の影響が少ないと考えられ、外的因子の影響を受けやすい下顎頭軟骨の他の成長軟骨に対する特異性が示唆された。

IV. 未分化間葉系細胞からの分化に対する外的因子の影響

一般組織染色による観察で、移植によって力学的ストレスなどの外的因子を

失った下顎骨では、時間経過と共に軟骨細胞の消退と線維性化骨による置換および articular zone の線維の肥厚が観察されたことから、未分化間葉系細胞から軟骨芽細胞への分化の過程が停止し、骨芽細胞あるいは線維芽細胞への分化に置き換わってしまったのではないかと考えられた。すなわち下顎頭における軟骨細胞の維持には外的力学的因子が必要であるとえられる。さらに本研究では BrdU を用いた実験で、下顎頭軟骨が線維性化骨で置換される過程でも proliferative zone で活発な細胞の増殖が確認されたことや、短期間の観察ではあるが、軟X線写真による計測で内軟骨性化骨が減退した後も下顎頭の成長が続いていることが示されたことから、移植された下顎頭では内軟骨性化骨が停止しても膜性化骨により骨の成長が維持されて行く可能性が示唆された。

これらのことから下顎頭部の軟骨膜も元々は下顎体部の骨膜と同じもので、骨形成能を有しており、顎関節における『圧』などの機能的な外的因子の影響を受けて軟骨膜に変化し、軟骨細胞を産生しているのではないかと考えられる。このことはこれまで仮説として言われて来ている⁷⁾。柔軟で、圧が存在するところでも成長できる軟骨と違い、骨は大きな圧の加わる場所や血行の少ないところでは膜性に成長はできないとされる。石灰化される骨にとって圧の少ない、血行の豊富な骨膜からの十分な酸素供給が不可欠であるからである。顎関節として大きな『圧』を受け続け、しかも関節腔という血管増殖に対する障壁を持つ下顎頭部においては、下顎体部と同様な膜性化骨は不可能である。そのため正常な下顎骨においては、下顎骨全体を包む骨膜の内、下顎頭の部分だけが軟骨膜となって『圧』に強い軟骨細胞を作り出し、内軟骨性化骨の形で有効に骨成長を進めていると考えられる。本研究結果はこの考えを強く支持するものである。移植下顎頭においては、『圧』を取り去られたことにより内軟骨性化骨の条件が失われ、下顎骨の他の部位と同じ膜性の化骨に戻って行ったことが考えられる。

本研究結果だけから考えると、下顎頭における未分化間葉系細胞から軟骨細胞への分化にとって外的因子の影響が絶大であるかのように思えるが、果たしてそうであろうか。下顎頭軟骨細胞の最初の分化は受精後15日、また間葉細胞の集積開始だけなら受精後13日とされ²⁴⁾、顎関節の完成や咀嚼運動の開始以前である。したがって下顎頭軟骨の最初の構築には、内的因子が外的因子より

も大きく関わっていると考えられる。今回の実験だけではどの段階で外的因子の影響がより大きくなるかは明かでないが、未分化間葉系細胞から軟骨細胞への分化の過程においても、時間的調節はあるものの内的因子と外的因子両者の関わりがあることを否定できない。しかし少なくとも本研究で用いた生後発育期のラットにおいては、外的因子の下顎頭の軟骨形成と内軟骨性化骨の維持に果たす役割は大きいと言って良いであろうと考える。

V. 下顎骨および顎関節の再建における血管柄付き骨・軟骨移植の可能性

下顎頭軟骨は顎関節の関節軟骨として、また下顎骨の成長軟骨として極めて大切な組織であり、下顎頭部の欠損に対するマイクロサージャリーを応用した再建法に対する期待は少なくない。血管柄付きで下顎骨移植を行った本研究において下顎頭軟骨の維持における外的力学的因子の重要性を認め、下顎頭部の軟骨膜が下顎体部の骨膜と同じものである可能性が示されたが、このことは良好な血行を維持した骨膜に一定の力学的ストレスを加えることにより軟骨膜への変換と軟骨形成、さらに内軟骨性化骨の可能性を示唆するものではないだろうか。もちろんその実現には圧のみならず種々の条件を整える必要があると考えられるが、本実験で行った方法を応用することにより何らかの方法が見つけ出される可能性はあるものと考ええる。今後も実験を重ね、その方法の開発をめざして行きたいと考えている。

《ま と め》

下顎頭の軟骨形成および内軟骨性化骨に対する外的力学的因子の影響を明らかにするため、近交系ラットを用いた『血管柄付き下顎骨異所性移植モデル』を開発し、実験を行った。本モデルは2匹の同週齢近交系ラット間で同一血管を用いて移植を行うことにより、内的遺伝的因子、血行動態、ホルモン等の変化を最小限に抑え、下顎頭部の組織環境を正常時に近い状態に保ったまま、咀嚼運動などの力学的ストレスをはじめとする外的因子を除去して、下顎頭の成長を観察することが可能である。

実験により以下の結果を得た。

- ①一般組織染色による観察で、移植下顎頭の軟骨細胞は不規則な分化増殖像を示し、移植14日後までにほぼ消失し、線維性化骨によって置換されるのを認めた。この間、移植7日後までは関節下腔が残されていた。
- ②BrdUを用いた観察で、移植下顎頭で既に軟骨細胞に分化した細胞の成熟速度に低下は見られなかった。
- ③BrdUを用いた観察で、移植後軟骨細胞の消退と線維性化骨による置換の見られた時期でも、proliferative zoneの細胞増殖能に低下は見られなかった。
- ④軟X線写真による形態計測で、短期間の観察ながら移植下顎頭は形態を変化させながらも成長を続ける可能性が示唆された。

以上の結果より以下の結論を得た。

(Ⅰ) 下顎頭において軟骨細胞に分化後の細胞の成熟過程はほぼ自律的に行われるが、未分化間葉系細胞から軟骨芽細胞への分化の過程には咀嚼運動などの外的力学的因子が大きな影響を与えていると考えられた。

(Ⅱ) 下顎頭部の軟骨膜も元々は下顎体部の骨膜と同じものであり、膜性化骨を行う能力を有しているが、強い圧を受ける顎関節という外的因子の影響を受けて軟骨膜となり、内軟骨性化骨を行っている可能性が強く示唆された。

(Ⅲ) 下顎頭部の再建において、力学的因子を付加することにより血管柄付き骨・軟骨移植法の開発の可能性が考えられた。

《参 考 文 献》

- 1) 有村明彦 : 抗 bromodeoxyuridine モノクロナール抗体を用いた胃潰瘍治療過程における S phase 細胞の検討. 日消誌, 88 (3): 664-671, 1991.
- 2) Blackwood, H. J. J. : Growth of the mandibular condyle of the rat studied with tritiated thymidine. arch. Oral Biol., 11: 493-500, 1966.
- 3) Copray, J. C. V. M., Jansen, H. W. B., and Duterloo, H. S. : Growth of the mandibular condylar cartilage of the rat in serum-free organ culture. Arch. Oral Biol., 28: 967-974, 1983.
- 4) Copray, J. C. V. M., Jansen, H. W. B. & Duterloo, H. S. : The role of biomechanical factors in mandibular condylar cartilage growth and remodeling in vitro. In : Developmental aspects of temporomandibular joint disorders. Edited by D. S. Carlson, et al., Center for Human growth and Development, the University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, 1985.
- 5) Duterloo, H.S. : In vivo implantation of the mandibular condyle in the rat. Thesis, University of Nijmegen, 1967.
- 6) Duterloo, H. S. & Wolters, J. M. : Experiments on the significance of articular function as a stimulating chondrogenic factor for the growth of secondary cartilages of the rat mandible. Trans. Eur. Orthod. Soc., 103-115, 1971.
- 7) Enlow, D. H. : Handbook of facial growth, 2nd Ed. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1982.
- 8) Folke, L. E. A. and Stallard, R. E. : Cellular kinetics within the mandibular joint. Acta Odont. Scand., 25: 437-489, 1967.

- 9) Furstman, L. L. : Normal age changes in the rat mandibular joint. *J. Dent. Res.* 45, 291-296, 1966.
- 10) Gratzner, H.G. : Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new agent for detection of DNA replication. *Science* 218: 474-475, 1982.
- 11) 花田晃治 : 頭部X線規格写真によるラットの顎顔面頭蓋の成長発育に関する研究, *口病誌* 34: 18-74, 1966.
- 12) Hasegawa, S. : A study of growth inhibitory factor in rabbit mandibular condylar cartilage. *Jpn. J. Oral Biol.* 26, 232-240, 1983.
- 13) 橋本敏昭 : カルチトニンの成長期顎骨に及ぼす影響に関する実験的研究. *九州歯会誌* 41, 886-915, 1987.
- 14) Hinton, R. J. : Myotomy of the lateral pterygoid muscle and condylar cartilage growth. *Europ. J. Orthodontics* 12: 370-379, 1990.
- 15) Hirabayashi, S., Harii, K., Sakurai, A., Takaki, E.K., and Fukuda, O. : An experimental study of craniofacial growth in a heterotopic rat head transplant. *Plat. Reconstr. Surg.* 82: 236-243, 1988.
- 16) 平林慎一, 波利井清紀, 菅原康志, 尾形義友エバルド : 近交系ラット異所性頭部移植モデルによる頭蓋顔面骨成長の研究—下顎頭について. *日形会誌*, 9: 751-760, 1989.
- 17) 開 裕司, 宿南知佐, 井上博之 : 軟骨内骨形成のメカニズム. *実験医学*, 13 (4): 22-30, 1995.

- 18) Huang, S-M., Duh, Q-Y., Ito, S., Shibuya, M., Siperstein, A. E., and Clark O.H. : Bromodeoxyuridine incorporation in thyroid neoplasm. *Endocrine Surg.* 9 (3): 245-249, 1992.
- 19) Irving, J. T. and Durkin, J. F. : A comparison of the mandibular condyle with those in the upper tibial epiphysis during the onset and healing of scurvy. *Arch. Oral Biol.* 10, 179-185, 1965.
- 20) 伊藤恒賢, 森島淳希, 外尾亮治, 上松嘉男, 滝沢隆安, 後藤信男 : ラット下顎骨の発育に及ぼす給与飼料の影響, 獣医情報科学誌 22, 25-30, 1989.
- 21) Kriss, J.P., Maruyama, Y., Tung, L.A., Bond, S.B., and Revesz, L. : The fate of 5-bromo-deoxyuridine, and 5-iododeoxyuridine in man. *Cancer Res.* 23: 260-268, 1963.
- 22) 神野正敏, 武田 康, 中村 忍 : 細胞増殖マーカーのFCM計量解析への応用 : BrdU (bromodeoxyuridine). *日本臨床*, 50 (10): 49-53, 1992.
- 23) Koski, K. and Makinen, L. : Growth potential of transplanted components of the mandibular ramus of the rat-1. *Suom. Hammaslak Toim.* 59: 296-308, 1963.
- 24) 三木 毅 : ラット顎関節の発生並びに発育に関する研究, *京大口科記要* 12: 1-33, 1972.
- 25) 森田修一 : ラット下顎頭軟骨の生後発育に関する微細構造学的, 細胞化学的研究, *日矯歯誌* 41: 171-201, 1982.
- 26) Meikle, M.C. : In vivo transplantation of the mandibular condylar joint of the rat ; An autoradiographic investigation into cellular changes at the condyle. *Archs Oral Biol.*, 18: 101-1020, 1973.

- 27) Moss, M. L. : The primacy of functional matrices in orofacial growth. *Dent. Practitioner*, 19: 65-73, 1968.
- 28) Moss, M. L. : Functional cranial analysis and the functional matrix. *Am. Speech Hear. Assoc. Rep.*, 6: 5-18, 1971.
- 29) Moss, M. L. : Neurotrophic regulation of craniofacial growth. In : *Control Mechanisms in Craniofacial Growth*, Edited by J. A. McNamara Jr. Center for Human growth and Development, The University of Michigan, Ann arbor, Michigan, 1975.
- 30) 中村 忍 : 塗沫乾燥標本および bromodeoxyuridine を用いた in vivo におけるヒト白血病細胞動態の解析. *日臨細誌* 27: 531-535, 1988.
- 31) Nakata, B., Chung, Y-S., Yokomatsu, H., Sawada, T., Kubo, T., Kondo, Y., Satake, K., and Sowa, M. : Flow cytometric bromodeoxyuridine / DNA analysis of hyperthermia and / or adriamycin for human pancreatic adenocarcinoma cell line capan-2. *Jpn. j. cancer Res.* 83, 477-482, 1992.
- 32) 野口規久男 : 外力を与えた際の幼若ラット下顎頭の研究 - ^3H -thymidine オートラジオグラフィによる観察. *口病誌* . 37 (3): 222-241, 1970.
- 33) 岡田充泰 : ラット下顎頭の発育に関する実験的研究. *阪大歯学誌* . 22 (1): 21-45, 1977.
- 34) Petrovic, A. G. : Mechanisms and regulation of mandibular condylar growth. *Acta Morphol. Neerl. Scand.*, 10: 25-34, 1972.
- 35) Petrovic, A. G., Stutzmann, J. J. & Outdet, C.L. : Control processes in the

postnatal growth of the condylar cartilage of the mandible. In : Determinants of mandibular form and growth, edited by McNamara, J. A. jr., Center for Human Growth and Development, The University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, 1975.

36) Petrovic, A. G., Stutzmann, J. J. & Gasson, N. : The final length of mandible. In : Craniofacial Biology, edited by D.S. Carlson, Center for Human Growth and Development, The University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, 1981.

37) Raza, A., Ucar, K., and Preisler, H.D. : Double labeling and in vitro versus in vivo incorporation of bromodeoxyuridine in patients with acute nonlymphocytic leukemia. *Cytometry* 6 : 63-640, 1985.

38) 塩田 覚, 南 英治, 角野博俊, 小野尊睦 : ラット下顎頭軟骨に関する電子顕微鏡的研究. *日口外誌*, 26(3): 628-636, 1980.

39) Suzuki, S. : Histomorphometric study on growing condyle of rat. *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.*, 33: 23-34, 1986.

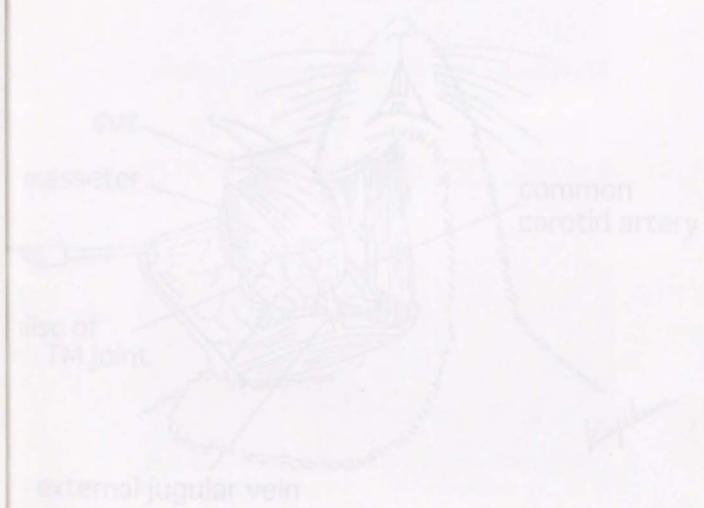
40) 高橋 寛, 山室隆夫, 奥村秀雄, 笠井隆一, 多田健治 : Radioactive Microsphere 法による Rat 骨血流量の測定. *中部日整災誌*, 31 (2): 747-749, 1987.

41) 高橋 寛, 山室隆夫, 奥村秀雄, 吉田成仁, 坪井直生 : Radioactive microsphere 法による Rat 骨血流量の測定 (第2報). *中部日整災誌*, 32 (1): 472-473, 1989.

42) 内田淳正, 菊地寿幸, 下村 裕 : 内軟骨性骨化における成長軟骨基質分解の調節. *骨代謝* 14, 21-28, 1981.

43) Van Limborgh, J. : Therole of genetic and local environmental factors in the control of postnatal craniofacial morphogenesis. Acta morphol. Neerl-Scand., 10: 37-47, 1972.

44) 山本資晴 : ヒト成長ホルモンがラット下顎頭の成長に及ぼす組織学的研究. 福岡歯大誌. 17 (2): 145-160, 1990.



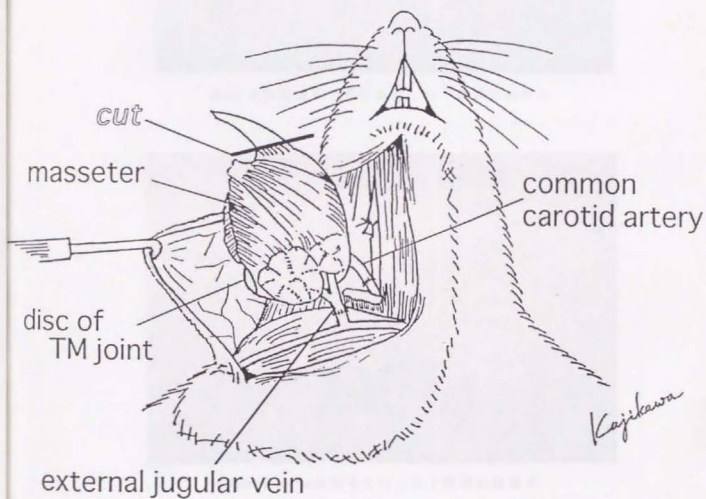
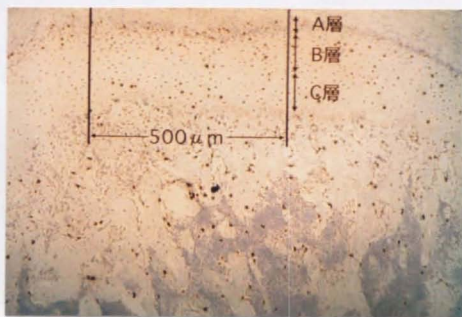
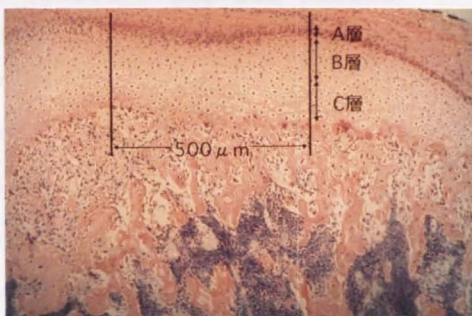


図1 血管付き下顎骨異所性移植モデルの作製方法

Graftの総頸動脈、外頸静脈をrecipientラットの同一血管に端々吻合し、「血管柄付き下顎骨」を移植した。切歯は移植部皮膚ポケットを突き破らぬよう根元で切り落とし、頸部皮下に埋入固定した。



BrdU免疫組織化学染色を行った下顎頭組織標本



Hematoxylin-Eosin染色を行った下顎頭組織標本

図2 BrdU標識軟骨細胞の計測方法

BrdUを投与したモデルから採取した標本の下顎頭長軸方向矢状断中央の切片にBrdU免疫組織化学染色およびHematoxylin-Eosin染色を行い、各層のBrdU標識率を測定した。

A層：Proliferative zone

B層：Transitional～hypertrophic zoneの浅層1/2

C層：Transitional～hypertrophic zoneの深層1/2

$$\text{BrdU標識率} = \frac{\text{幅}500\mu\text{m内のBrdU標識細胞数}}{\text{幅}500\mu\text{m内の全細胞数(Hematoxylin-Eosin染色)}} \times 100(\%)$$

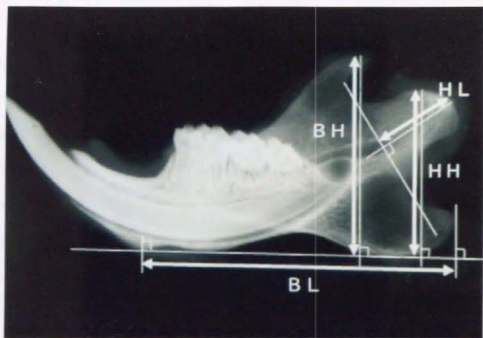


図3 軟X線写真上による下顎骨形態計測部位

- BL : 下顎体部の長さ (下顎角最突出部—オトガイ隆起最下点突出部)
 BH : 下顎体部の高さ (下顎体部下縁接線—筋突起最上点)
 HL : 下顎頭部の長さ (下顎頭部前後切痕接線—下顎頭部先端)
 HH : 下顎頭部の高さ (下顎体部下縁接線—下顎頭部最上点)

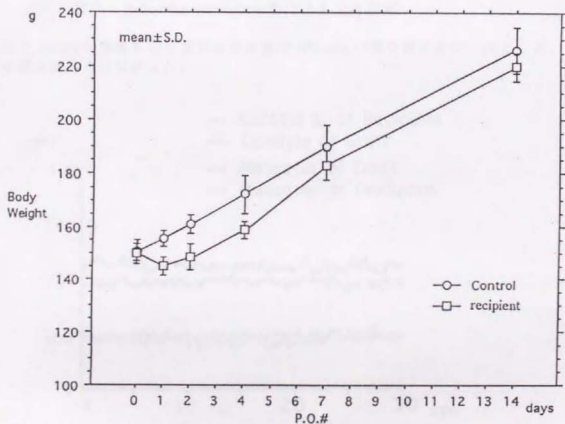


図4 recipient ラットの体重変化

移植モデルの Recipient ラット 6 匹の体重を測定し、同日齢非移植術ラット 6 匹の体重と比較した。移植 7 日および 14 日後では有意の差を認めなかった。

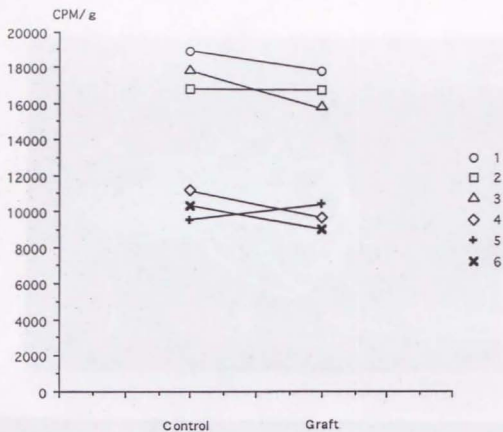


図5 Radioactive microsphere 法による血流測定

Graft と control の重量あたり放射線量の間で Wilcoxon の順位検定を行ったところ、有意の差は認められなかった。

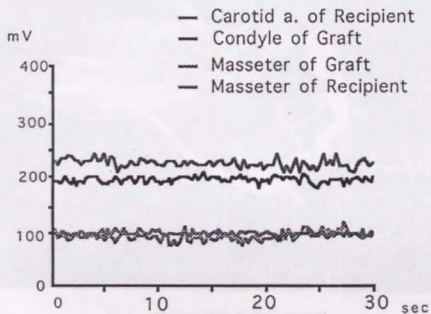


図6 レーザードップラー血流計を用いた局所血流測定

Graft の咬筋の血流量は recipient ラットの咬筋の血流量と差が無く、また graft の下顎頭部の血流量は咬筋の血流量を上回り、recipient ラットの頰動脈に近い値を示した。

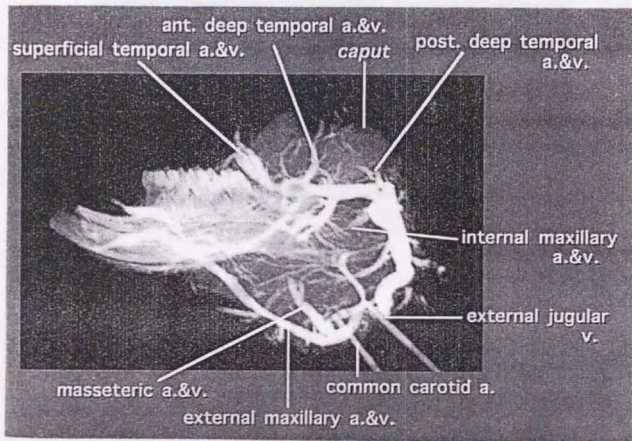
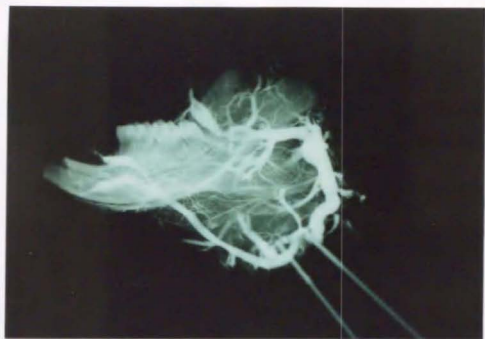


図7 移植下顎組織の血管造影

移植7日後に採取した graft の総頸動脈よりバリウムを注入し、環流し外頸静脈より流出したところで軟X線撮影を行った。

Graft 内の主な動静脈が描出され、これらの血管が良く保存されていることが確認された。

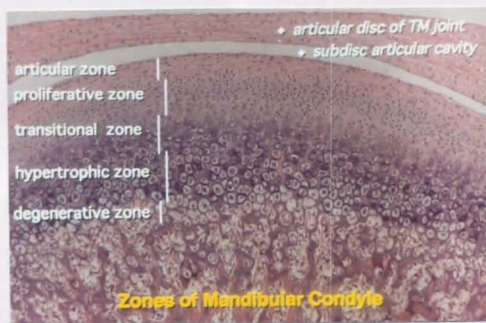
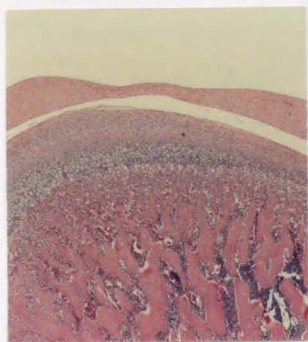


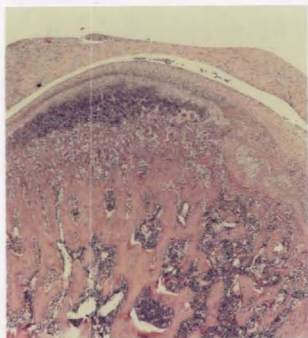
図8 正常下顎頭軟骨の層構造 (Hematoxylin-Eosin 染色)

Controlの下顎頭組織では、いずれの採取時期でも、この正常下顎頭の写真で示されると同様の内軟骨性化骨を行っている層構造が認められた。

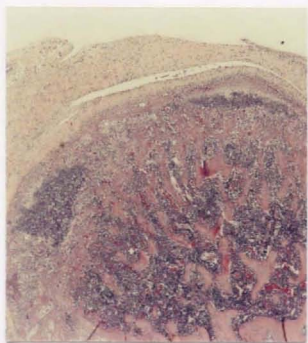
下顎頭の上には顎関節円板との間に閉鎖された関節下腔を認め、腔に面して滑膜が一層走っているのが見られた。下顎頭の表層は線維成分に富む articular zone (線維層) があり、その下に細胞密度の高い proliferative zone (増殖層) を認め、以下 transitional zone (移行層) から hypertrophic zone (肥大層) まで軟骨細胞が次第に大きさを増しながら並び、細胞の周囲には軟骨基質が認められた。degenerative zone (変性層) では軟骨細胞の核の萎縮、細胞の破壊が見られ、ここより下層では骨芽細胞によって置換された骨が縦に走る骨梁を形成して認められた。



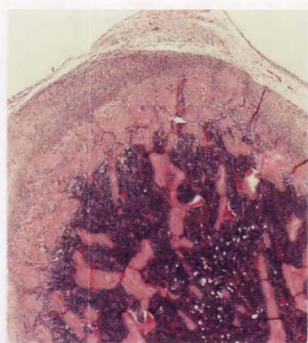
Control



移植 4 日後



移植 7 日後

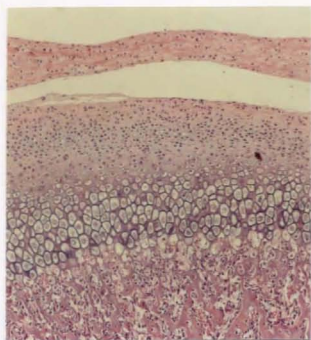


移植 14 日後

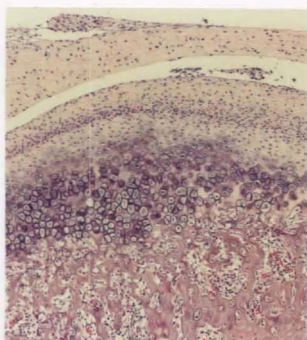
← 100 μ m

図 9-1 移植下顎頭軟骨 (Hematoxylin-Eosin 染色、弱拡大)

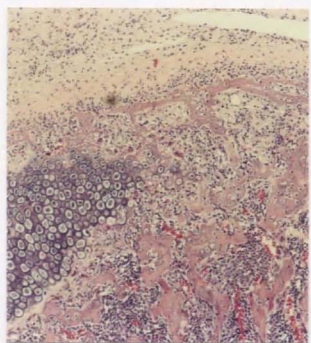
軟骨細胞層の厚みが不規則に変化し、14日後には消失した。関節腔は次第に狭小して行ったが、移植7日後までは確認された。



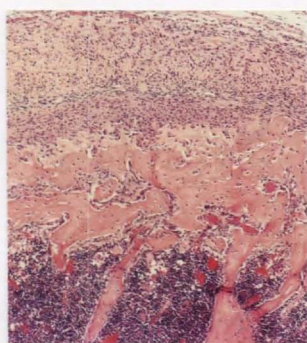
Control



移植 4 日後



移植 7 日後

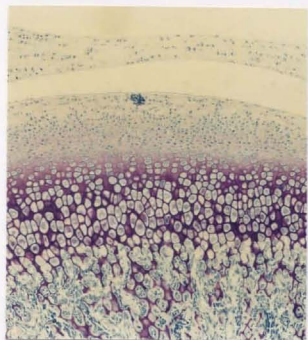


移植 14 日後

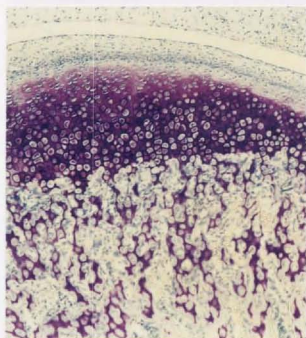
— 100 μ m

図 9-2 移植下顎頭軟骨 (Hematoxylin-Eosin 染色、強拡大)

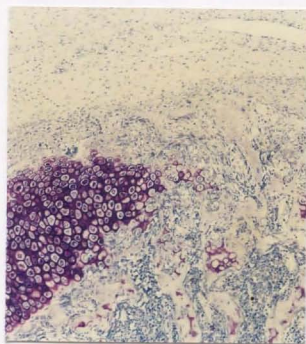
軟骨細胞は形、大きさ、配列を不規則に変化させながら消失して行った。
軟骨の消失部には線維性の化骨が認められた。



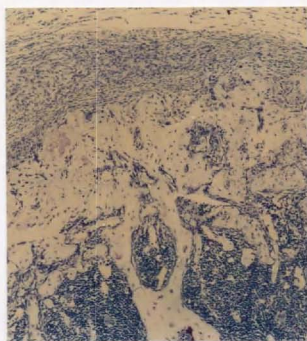
Control



移植 4 日後



移植 7 日後

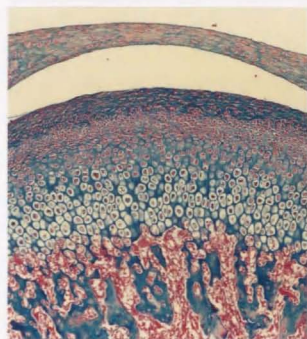


移植 14 日後

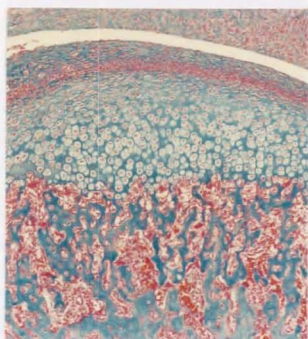
100 μ m

図 9-3 移植下顎頭軟骨 (Toluidine Blue 染色、強拡大)

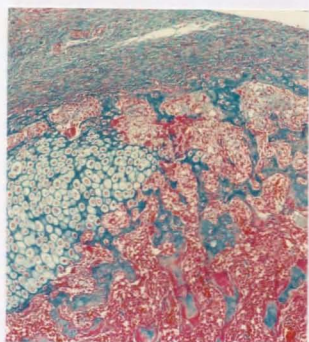
軟骨基質は厚みを変化させながら限局して行き、14日までにほぼ消失した。



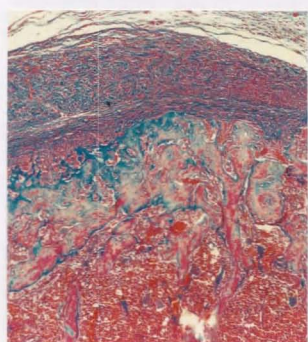
Control



移植 4 日後



移植 7 日後

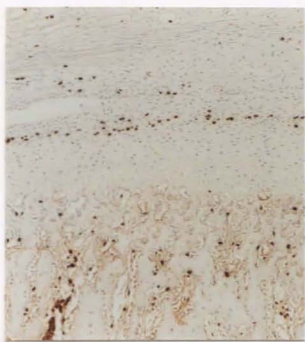


移植 14 日後

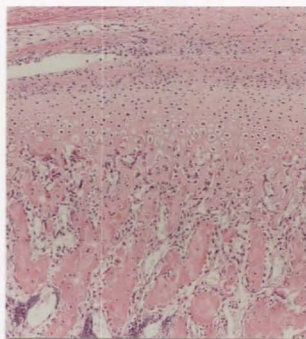
— 100 μ m

図 9-4 移植下顎頭軟骨 (Azan-Mallory 染色、強拡大)

移植後の経過と共に軟骨の線維性化骨による置換と articular zone の肥厚を認めた。



BrdU 免疫組織化学染色

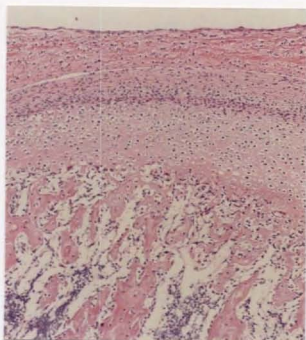


Hematoxylin-Eosin 染色

投与 1 日後



BrdU 免疫組織化学染色



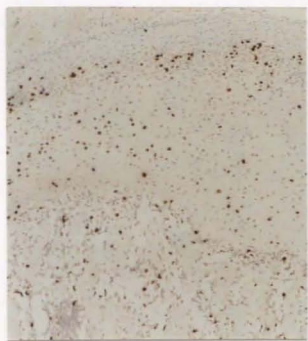
Hematoxylin-Eosin 染色

投与 4 日後

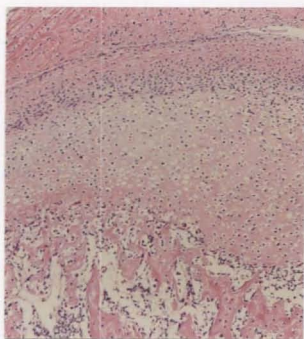
← 100 μm

図 10-1 a 移植直後 BrdU 投与群の graft 下顎頭軟骨 (強拡大)

BrdU で標識された細胞は投与 1 日後は proliferative zone に集中して認められるが、時間の経過と共に transitional ~ hypertrophic zone にも見られるようになり、移植 4 日後には hypertrophic zone 最深部にも BrdU で標識された細胞が認められた。

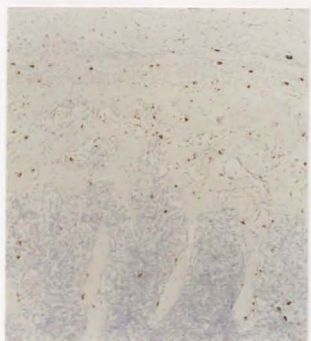


BrdU 免疫組織化学染色

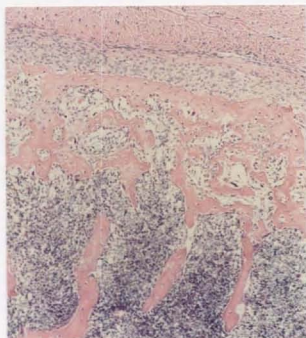


Hematoxylin-Eosin 染色

投与 7 日後



BrdU 免疫組織化学染色



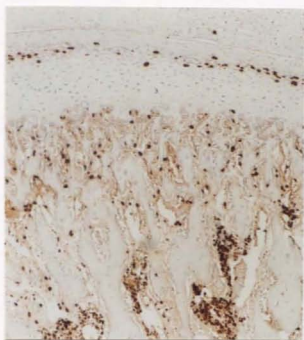
Hematoxylin-Eosin 染色

投与 14 日後

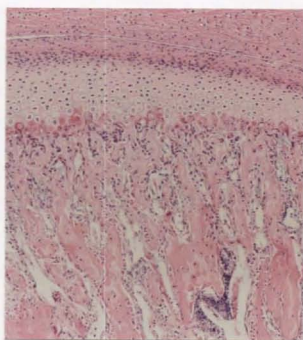
100 μ m

図 10-1b 移植直後 BrdU 投与群の graft 下顎頭軟骨 (強拡大)

移植 7 日後には肥厚した軟骨細胞層全体に BrdU で標識された細胞が認められたが、14 日後になると軟骨細胞そのものがほとんど認められなくなってしまった。

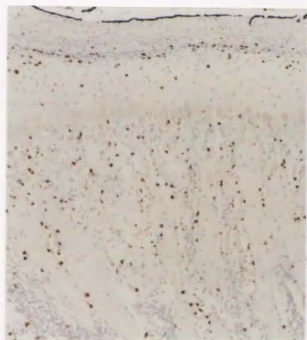


BrdU 免疫組織化学染色

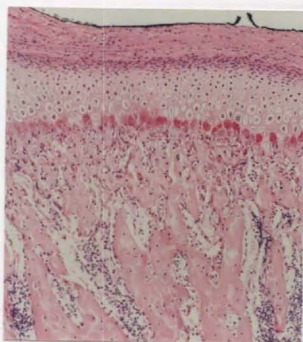


Hematoxylin-Eosin 染色

投与 1 日後



BrdU 免疫組織化学染色



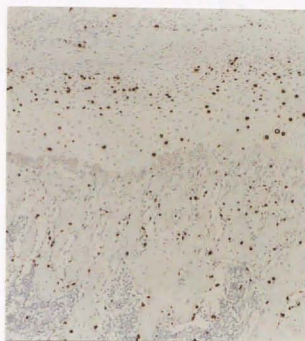
Hematoxylin-Eosin 染色

投与 4 日後

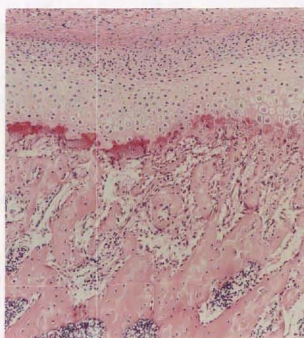
← 100 μ m

図 10-2 a 移植直後 BrdU 投与群の control 下顎頭軟骨 (強拡大)

Graft と同様、投与直後は BrdU で標識された細胞は proliferative zone に集中して見られたが、時間経過と共に深層でも認められるようになった。ただし 4 日後ではまだ hypertrophic zone の深部に BrdU 標識細胞はほとんど認められなかった。

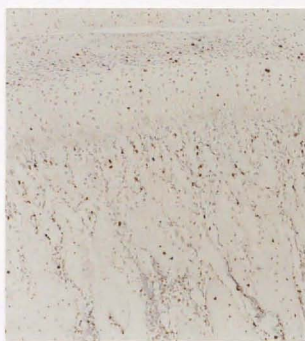


BrdU 免疫組織化学染色

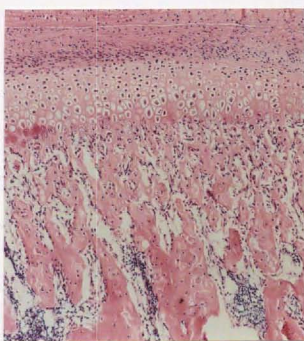


Hematoxylin-Eosin 染色

投与 7 日後



BrdU 免疫組織化学染色



Hematoxylin-Eosin 染色

投与 14 日後

— 100 μ m

図 10-2 b 移植直後 BrdU 投与群の control 下顎頭軟骨 (強拡大)

Control でも投与 7 日後になると hypertrophic zone 最深部の細胞に BrdU で標識されたものが見られるようになった。14 日後になると軟骨の層構造に変化のないまま全体の BrdU 標識細胞が少なくなっていた。

(Graft)

	A 層		B 層		C 層	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
P. O. #1d	23.6	5.6	3.9	2.9	0.0	0.0
P. O. #2d	16.6	3.4	7.8	1.7	1.9	1.7
P. O. #4d	16.7	2.5	12.3	1.8	5.8	1.8
P. O. #7d	15.3	6.0	23.0	3.3	19.8	9.2
P. O. #14d	6.4	3.2	-	-	-	-

(Control)

	A 層		B 層		C 層	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
P. O. #1d	29.7	4.9	0.0	0.0	0.0	0.0
P. O. #2d	22.6	5.6	4.8	1.7	0.0	0.0
P. O. #4d	18.7	2.2	12.4	10.2	0.6	1.0
P. O. #7d	14.4	3.1	12.5	6.3	9.4	3.4
P. O. #14d	8.9	1.7	7.2	2.1	5.6	2.5

表 1-1 移植直後 BrdU 投与による軟骨細胞の標識率 (中央部) (%)

(Graft)

	A 層		B 層		C 層	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
P. O. #1d	23.0	5.3	1.8	1.8	0.0	0.0
P. O. #2d	18.5	2.3	8.6	3.8	1.1	1.1
P. O. #4d	18.6	3.0	16.2	5.6	15.2	8.4
P. O. #7d	17.3	7.3	12.0	4.6	16.0	9.2
P. O. #14d	8.8	1.5	-	-	-	-

(Control)

	A 層		B 層		C 層	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
P. O. #1d	21.2	4.0	0.9	1.5	0.0	0.0
P. O. #2d	24.4	6.4	6.6	2.8	0.0	0.0
P. O. #4d	21.0	2.2	18.1	3.3	7.5	10.2
P. O. #7d	20.2	1.4	19.4	6.2	18.7	3.0
P. O. #14d	11.4	1.5	9.3	1.7	10.0	1.0

表 1-2 移植直後 BrdU 投与による軟骨細胞の標識率 (後部) (%)

移植直後に BrdU を投与し、1、2、4、7、14 日後に 6 匹ずつから標本を採取 (図 10)。Graft と control の下顎頭中央部 (表 1-1) と後部 (表 1-2) で、図 2 に示した方法で A、B、C 各層の細胞の BrdU 標識率を測定し、その平均と標準偏差を求めた。

各部、各層の標識率の変化を図 11-1、2 のグラフに示す。

尚、移植 14 日後の graft では軟骨細胞が消失し B、C 層は測定不能であった。

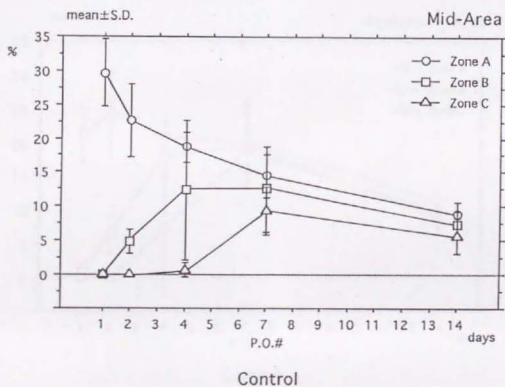
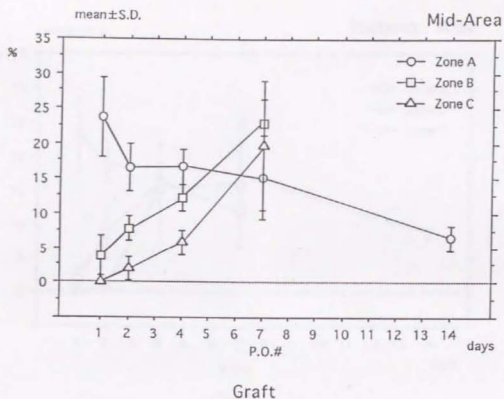


図1 1-1 移植直後 BrdU 投与群の軟骨細胞の標識率(中央部) (%)

Graft、control 共 Zone A の標識率は投与 1 日後に最も高く、次第に低下して行き、Zone B、C 標識率は次第に上昇して 7 日目に Zone A とほぼ同水準に達した。

投与 14 日後には Graft では軟骨細胞そのものがほとんどなく、測定不能となり、Control では標識率が各層とも 10% 前後に低下して行った。

投与 7 日後までの各層、各時期の標識率で graft と control の間に有意の差は認められなかった。

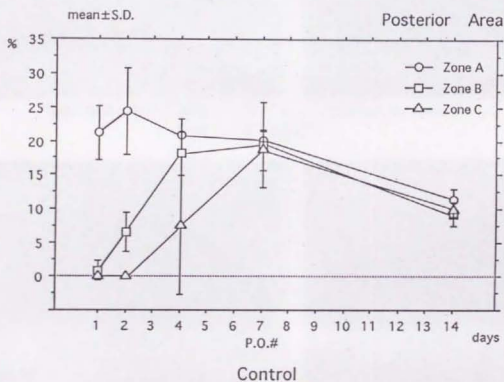
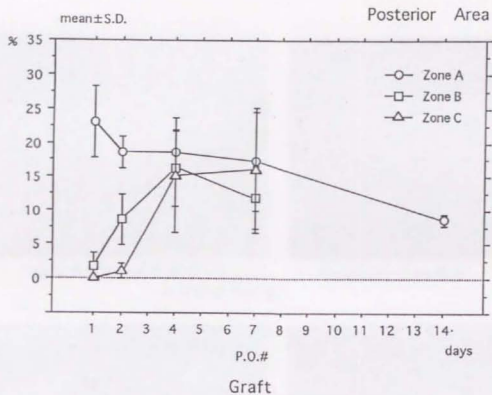
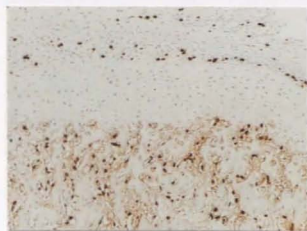
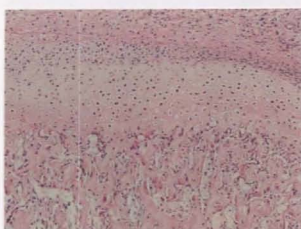


図 1 1 - 2 移植直後 BrdU 投与群の軟骨細胞の標識率 (後部) (%)

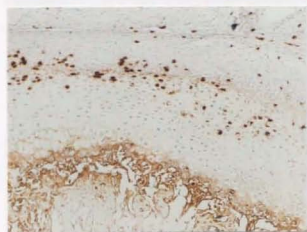
下顎頭中央部とほぼ同様の变化を示した。投与 7 日後までの各層、各時期の標識率で graft と control の間に有意の差は認められなかった。



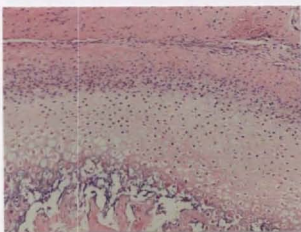
BrdU 免疫組織化学染色
移植直後 BrdU 投与



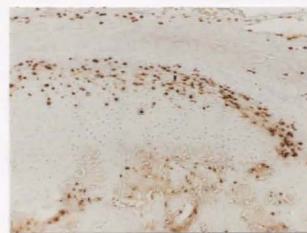
Hematoxylin-Eosin 染色



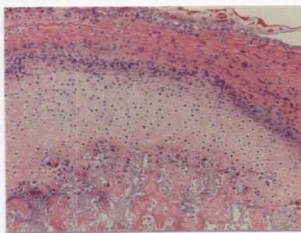
BrdU 免疫組織化学染色
移植 3 日後 BrdU 投与



Hematoxylin-Eosin 染色



BrdU 免疫組織化学染色
移植 7 日後 BrdU 投与

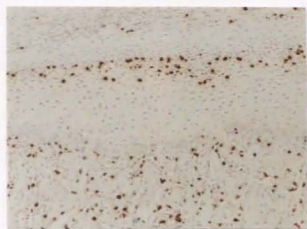


Hematoxylin-Eosin 染色

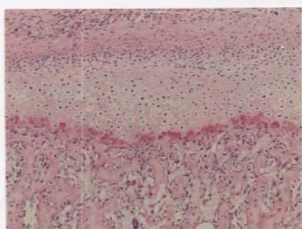
← 100 μm

図 1 2-1 移植直後、3 日後、7 日後 BrdU 投与群の graft 下顎頭軟骨 (強拡大)

どの投与時期でも proliferative zone の細胞に BrdU の良好な取り込みが認められた。



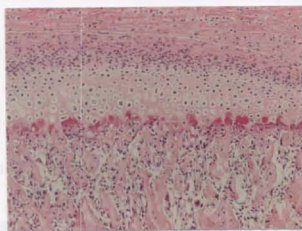
BrdU 免疫組織化学染色
移植直後 BrdU 投与



Hematoxylin-Eosin 染色



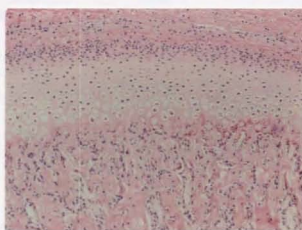
BrdU 免疫組織化学染色
移植 3 日後 BrdU 投与



Hematoxylin-Eosin 染色



BrdU 免疫組織化学染色
移植 7 日後 BrdU 投与



Hematoxylin-Eosin 染色

100 μ m

図 1 2 - 2 移植直後、3 日後、7 日後 BrdU 投与群の control 下顎頭軟骨 (強拡大)

Graft と同様に proliferative zone の細胞に BrdU の良好な取り込みを認めた。

	A 層		B 層		C 層	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
(Graft)						
P. O. #0d	16.6	3.4	7.8	1.8	2.0	1.7
P. O. #3d	18.9	2.2	9.3	4.9	2.5	2.8
P. O. #7d	25.1	5.5	4.6	8.0	0.0	0.0
(Control)						
P. O. #0d	22.6	5.5	4.9	1.7	0.0	0.0
P. O. #3d	20.3	3.2	2.7	4.6	0.0	0.0
P. O. #7d	14.8	2.3	0.0	0.0	0.0	0.0

表 2-1 移植直後、3日後、7日後 BrdU 投与による軟骨細胞の標識率 (中央部)
(%)

	A 層		B 層		C 層	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
(Graft)						
P. O. #0d	18.5	2.3	8.6	3.8	1.1	1.1
P. O. #3d	24.6	9.7	16.7	6.5	4.1	3.6
P. O. #7d	23.1	4.8	0.0	0.0	0.0	0.0
(Control)						
P. O. #0d	24.4	6.4	6.6	2.8	0.0	0.0
P. O. #3d	22.3	1.7	1.5	2.5	0.0	0.0
P. O. #7d	20.0	6.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 2-2 移植直後、3日後、7日後 BrdU 投与による軟骨細胞の標識率 (後部)
(%)

移植直後、3日後、7日後に BrdU を投与しその 2 日後に 6 匹ずつから標本を採取 (図 1 2)。Graft と control の下顎頭中央部 (表 2-1) と後部 (表 2-2) で図 2 に示した方法で A、B、C 各層の細胞の BrdU 標識率を測定し、その平均と標準偏差を求めた。

各部、各層の標識率の変化を図 1 3-1、2 のグラフに示す。

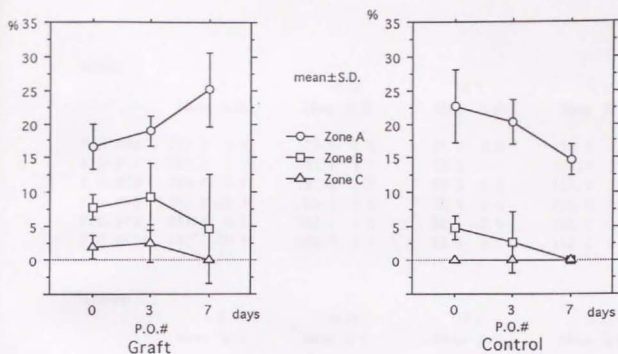


図 13-1 移植 0、3、7 日後 BrdU 投与による軟骨細胞の標識率 (中央部)
(投与 2 日後採取)

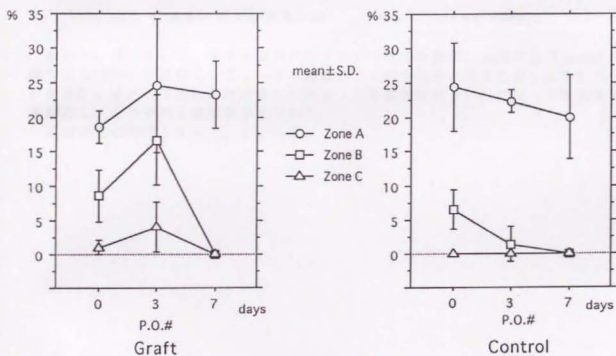


図 13-2 移植 0、3、7 日後 BrdU 投与による軟骨細胞の標識率 (後部)
(投与 2 日後採取)

Zone A の標識率は control では投与時期が遅いほど低下したが、graft では移植 7 日後まででは投与時期が遅い方が標識率は高くなる傾向が見られた。

	B L		B H		H L		H H	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
(Graft)								
P. O. #0d	279.8	6.0	179.0	4.6	77.2	2.9	148.6	3.3
P. O. #1d	287.3	7.7	181.8	4.7	78.5	1.1	152.4	2.1
P. O. #2d	289.0	9.7	181.8	2.6	78.3	2.2	151.7	3.0
P. O. #4d	292.3	10.9	184.5	3.8	78.5	2.4	156.0	2.7
P. O. #7d	287.9	4.5	184.1	4.3	81.1	3.0	155.7	3.5
P. O. #14d	287.4	10.4	189.4	5.5	84.4	4.4	164.1	6.5
(Control)								
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
P. O. #0d	279.8	6.0	179.0	4.6	77.2	2.9	148.6	3.3
P. O. #1d	278.8	8.4	179.3	1.7	78.4	1.9	147.5	4.1
P. O. #2d	278.8	7.7	179.9	4.1	79.3	2.5	150.7	3.1
P. O. #4d	282.5	6.5	183.0	3.9	79.0	2.0	151.5	5.1
P. O. #7d	291.6	7.2	184.8	4.2	82.4	2.1	153.5	3.4
P. O. #14d	295.8	8.8	191.4	5.5	84.5	2.4	160.0	7.5

表3 下顎骨の軟X線形態計測 (単位 1 pixel = 0.06mm)

移植1、2、4、7、14日後の6匹ずつから標本採取時に graft および control の軟X線撮影を行い、写真をコンピューター画像として取り込み、図3に示したB L (下顎体部の長さ)、B H (下顎体部の高さ)、H L (下顎頭部の長さ)、H H (下顎頭部の高さ)を測定し、その平均と標準偏差を求めた。

各値の変化を図14-1、2に示す。

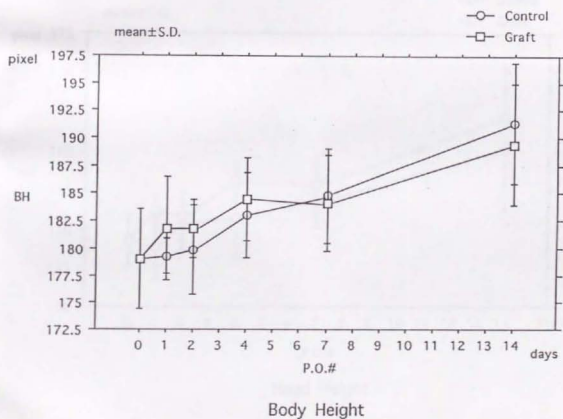
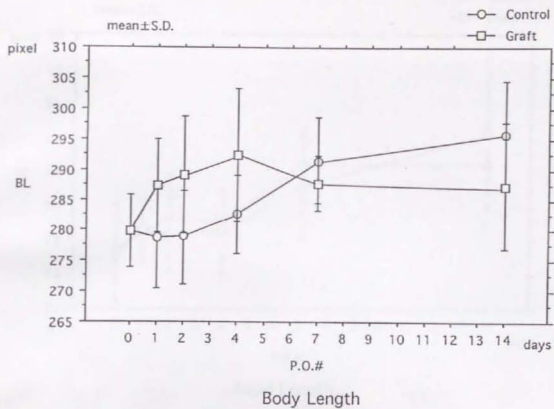


図14-1 軟X線写真による下顎骨形態計測(下顎体部)

BHの成長に graft、control間では有意の差は認められなかったが、BLでは4日後に graftが controlを上回り、14日後には逆に controlが graftを上回った。

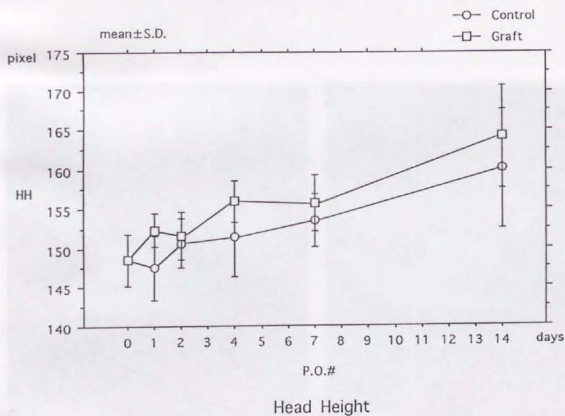
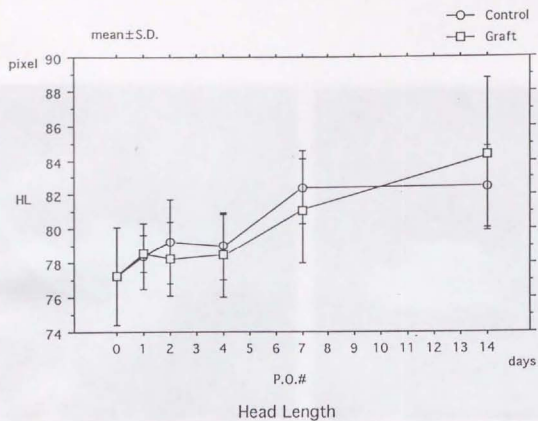


図14-2 軟X線写真による下顎骨形態計測（下顎頭部）

HL、HH共に、時間経過に合わせ成長を示し、graftとcontrolの間に有意の差は認められなかった。



移植前



移植4日後



移植7日後



移植14日後

図15 移植下顎骨の軟X線写真

下顎頭の形態は前後に長いラグビーボール状から棍棒状に変化して行った。

