

Title	家兔耳介軟骨膜の軟骨新生能に関する実験的研究
Author(s)	細川, 互
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/36626
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

主論文

家兎耳介軟骨膜の軟骨新生能に関する実験的研究

細川 互

日本形成外科学会誌
第8巻 第3号 (209~223) 別刷
1988年3月発行

.....軟骨膜 軟骨新生 軟骨再生 軟骨誘導.....

家兎耳介軟骨膜の軟骨新生能に関する実験的研究

細川 亙*

Experimental Study of Chondrogenic Potential
of Rabbit Ear Perichondrium

Ko HOSOKAWA, M.D.*

**Department of Plastic and Reconstructive Surgery,
Kagawa Medical School, Kagawa, 767-07*

The chondrogenic potential of perichondrium was first recognized by Skoog et al. in 1972. Since then, many studies of perichondrial grafting have been reported, but many questions remain unanswered regarding the essential processes of perichondrial neochondrogenesis. The author has performed several experiments using rabbit auricular perichondrium to investigate these questions.

EXPERIMENT I : Histological study of the development of cartilage after vascularized perichondrial grafting.

Materials and Methods

A perichondrocutaneous graft with a central neurovascular bundle of about 2×4 cm was obtained from the convex side of each ear (Fig. 1~3) and transplanted to a skin defect made on the posterior part of the neck. All the grafts had been removed by one and a half years after transplantation and 58 specimens were obtained in total.

Results

The perichondrocytes in the specimens obtained on the first to the third day had none of the characteristic features of chondrocytes (Fig. 4).

The newly-formed chondrocytes were first seen on the fourth day (Fig. 5).

From several to 20 layers of young chondrocytes were seen in some specimens obtained from the fifth day to the second week (Fig. 6).

The neocartilage harvested between the third and fifth weeks was nearly 20 layers thick and covered with a thick, fibrous tissue (Fig. 7).

Some sections of the neocartilage had matured by the seventh week, but others remained immature even one and a half years after transplantation. Also, some areas became ossified (Fig. 8).

Elastic fibers in the neocartilage were clearly demonstrated using resorcin-fuchsin or orcein stains (Fig. 9).

EXPERIMENT II : Comparative study of cartilage formation in vascularized and free

*香川医科大学形成外科

grafting.

Materials and Methods

Thirty-eight adult rabbits were used. Vascularized and free perichondrial grafts from the rabbits' ears were transplanted to the nuchal subcutaneous tissue, and their cartilage formation was compared in the seventh week.

Results

The probability of cartilage formation was higher in the vascularized perichondrial grafts than in the free grafts ($p < 0.01$). There was no difference between the histological features of neocartilage regenerated from the free grafts and that from the vascularized grafts (Fig. 10).

EXPERIMENT IIIA : Comparative study of cartilage formation from perichondrium with and without blood clots in diffusion chambers.

Materials and Methods

Eighteen rabbits were used and 1 cm² of perichondrium was sealed with (group b) and without (group a) blood clots in Millipore diffusion chambers and buried subcutaneously. Two weeks later, the chambers were harvested and studied histologically.

Results

Cartilage formation was recognized in the chambers of both groups (Fig. 11) and there was no statistically significant difference in probability of neochondrogenesis between the two groups.

EXPERIMENT IIIB : Study of transfilter induction by perichondrium.

Materials and Methods

Several Millipore diffusion chambers, in which 1 cm² of panniculus carnosus was sealed, were wrapped in vascularized perichondrial flaps and placed on the necks (Fig. 12, group c). For controls, the others were buried subcutaneously without being wrapped (group d).

Results

There was no histologically recognizable cartilage formation in the chambers of either group.

EXPERIMENT IV : Study of cartilage induction potential of freeze-dried perichondrium.

Materials and Methods

Inactive (group a) and active (group b) perichondrium was freeze-dried and transplanted subcutaneously (Fig. 13). Two to seven weeks later, specimens were obtained and histologically examined.

Results

There was no histologically recognizable cartilage induction around the transplanted tissue in either group (Fig. 14).

DISCUSSION

Perichondrium is thin, dense connective tissue between cartilage and surrounding soft tissue.

The author histologically investigated the process of cartilage formation after vascularized perichondrial grafting. The newly-formed chondrocytes were first seen on the fourth day. The time required for cartilage maturation is reported as 7 weeks by Ohlsen and between 3

and 6 months by Maruyama. The author observed immature neocartilage even in the 18th month.

Some researchers have insisted on the significance of blood clot attachment or capillary ingrowth to the perichondrial grafts for cartilage formation. The author demonstrated the development of cartilage from perichondrium in Millipore diffusion chambers without blood clots. This result clearly showed that neither blood clot nor ingrowth of capillaries into the perichondrium is essential for neochondrogenesis. Furthermore, a comparative study (experiment III A) showed that a blood clot does not promote neochondrogenesis.

The transfilter bone induction activity of bone has been proven. The author failed to demonstrate cartilage induction from perichondrium. The induction mechanism seems to take little or no part in cartilage formation of perichondrial grafting.

SUMMARY

The author has reported the process of perichondrial neochondrogenesis, and the irrelevance of blood clot or capillary ingrowth into the perichondrium for cartilage formation. It was also shown that the induction mechanism takes little or no part in the process.

はじめに

軟骨膜は軟骨と軟部組織の移行部に存在する緻密な線維性結合組織であり、軟骨表面のうち、関節腔に露出する部位と骨に移行する部位とを除くすべての面を被覆している膜である。軟骨膜は、単に軟骨を取り囲むだけの線維性被膜のように見えるが、軟骨を新生するという点において、単なる被膜ではないことがわかっている。

この軟骨膜の軟骨新生能は、胎生期のみならず成熟個体の軟骨膜においても認められており、特に、Skoogらの家兎耳介軟骨膜を用いた1972年の報告²²⁾以来、家兎以外では、犬^{4,20)}、ヒト²⁴⁾などの動物種で、また耳介軟骨膜以外では、肋軟骨膜^{3,5,7,20)}で、いずれも、軟骨新生能が確認されている。しかし、その新生経過や、新生に関与する各種の因子、新生機序などの検討はほとんどなされていない。

著者は、成熟家兎耳介を用いて、有茎皮膚軟骨膜複合移植実験、有茎・遊離軟骨膜移植比較実験、diffusion chamber 応用の軟骨膜移植実験、さらに凍結乾燥処理軟骨膜移植実験を行い、軟骨膜からの軟骨新生について、若干の知見を得たので報告する。

実 験

1) 実験 I : 有茎皮膚軟骨膜複合移植実験

a) 目的 : 軟骨膜からの軟骨新生の過程を組織学的に検討する。

b) 実験材料および方法 : 実験動物は生後約5ヵ月で2.0~4.0 kgに成長した白色家兎を用いた。耳介の後静脈よりネンブタールを初回30 mg/kg 静注し、実験中適宜追加した。麻酔導入後、耳介と後頸部とを剃毛した。後頸部には、左右両側にそれぞれ約2×4 cmの皮膚欠損創を作成した。両耳介凸面側では、耳介中央(Fig. 1)に中心動静脈を軸として約2×4 cmの大きさの長方形の皮切をデザインした(Fig. 2)。同皮切から軟骨に達する切開を入れた。軟骨と軟骨膜との間の剝離は、メスホルダーの柄の後端を用いて鈍的に行った(Fig. 3)。これにより中心動静脈束を茎とする皮膚軟骨膜複合組織片が作成された。組織片が後頸部に届くように中心動静脈束を中枢に向かって剝離し、組織片を皮下トンネルを通して後頸部皮膚欠損創に移動し縫合した。移植片採取部は、軟骨と耳介内面の皮膚を切除して開窓耳介とした。場合によっては、耳介を切断した。

移植後、経時的に1年6ヵ月後まで移植片を採取した。死亡や感染などにより除外された家

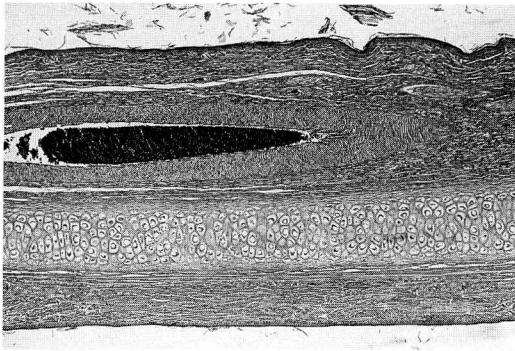


Fig. 1

Transverse section of the center of rabbit ear. (H&E, original magnification $\times 6.3$)

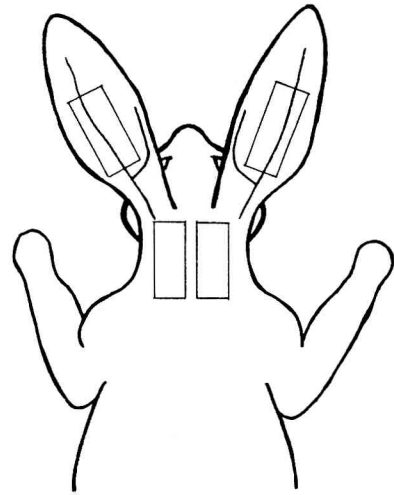


Fig. 2

Experiment I

Vascularized perichondrocutaneous flap obtained from the center of the ear is transferred to the nuchal area.

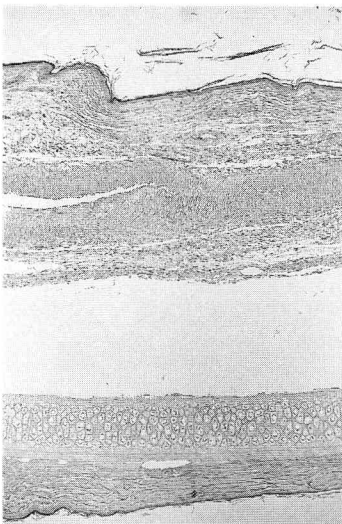


Fig. 3

Perichondrocutaneous graft with a central neurovascular bundle was obtained from the convex side of rabbit ear. (H&E, original magnification $\times 6.3$)

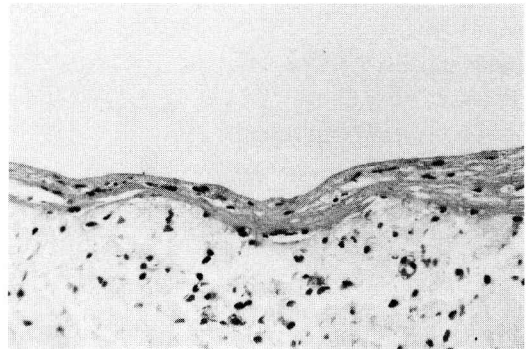


Fig. 4

Perichondrium two days after transplantation. The perichondrocytes had none of the characteristic features of chondrocytes. (H&E, original magnification $\times 25$)

兎を除くと、32羽から58標本が得られた。採取した標本は、10%ホルマリン固定したのち、パラフィン包埋した。各標本につき3切片を作成し、HE染色後、光学顕微鏡にて観察した。なお、新生軟骨が確認された標本の一部について、レゾルシンフクシン、オルセイン染色を行った。

c) 結果：移植後3日以内に得られた5標本15切片からは、明らかな軟骨新生を認める

組織像は得られなかった。移植軟骨膜は膨化し浮腫状となっており、軟骨膜中の細胞は移植前にくらべて丸みを帯びてきているが、明らかな細胞数の増加は認められなかった(Fig. 4)。

移植後4日目に得られた5標本15切片中4標本7切片に明らかな軟骨新生像が認められた。軟骨新生の程度は細胞層で2~3層程度のもの

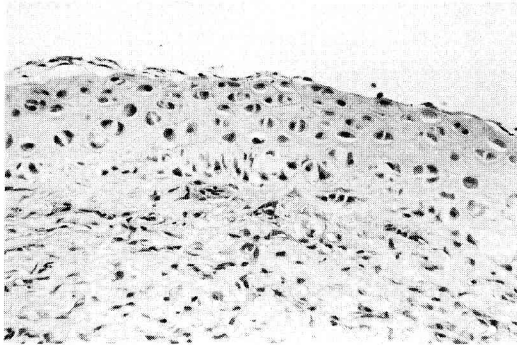


Fig. 5

Four days after transplantation. Newly-formed cartilage, several cells thick, was seen. (H&E, original magnification $\times 25$)

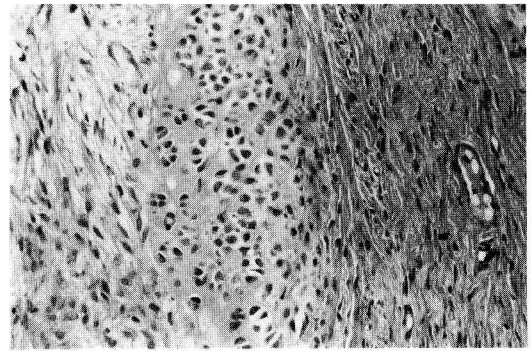


Fig. 6

Nine days after transplantation. There was no clear membranous structure such as perichondrium around neocartilage (H&E, original magnification $\times 25$)

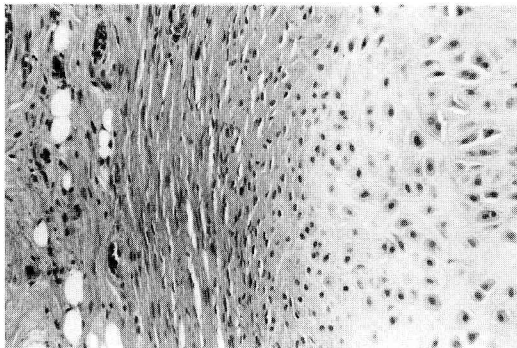


Fig. 7

Three weeks after transplantation. A broad fibrous layer between the neocartilage and the surrounding soft tissue was observed. (H&E, original magnification $\times 25$)

から6~7層程度増殖しているものまであった (Fig. 5)。

移植後、5日目から2週目までに得られた15標本45切片中10標本23切片に新生軟骨が確認された。この時期の新生軟骨は幼若な軟骨細胞が数層~20層程度にまで増加していた。この時期の前半の新生軟骨には、周囲に軟骨膜様の密性線維性結合組織は認められなかった。(Fig. 6)。

移植後3週目から5週目までに得られた14標本42切片中11標本26切片に新生軟骨が確

認された。この時期の軟骨は、細胞層は20層程度までで、その周囲に厚い線維性結合組織を有していた (Fig. 7)。

移植後7週目以降に得られた19標本 (7週目12標本, 3ヵ月目3標本, 6ヵ月目2標本, 1年6ヵ月目2標本) 57切片中18標本48切片に新生軟骨が確認された。新生軟骨は、本来の軟骨と同様の像を呈する成熟したもの、比較的未熟なもの、両者が混在するもの、いずれも見られた。7週目に得られた新生軟骨30切片中10切片, 3ヵ月目以降に得られた新生軟骨18切片中17切片に成熟した軟骨像を呈する部分が存在していた。なお1年6ヵ月後に得られた標本にもなお未熟な像を呈する部分が見られた。また、この時期に見られる新生軟骨周囲の線維性結合組織は薄く、本来の軟骨膜類似の像を呈しているものが多かった。

骨化を呈したものは7週目以降の新生軟骨48切片中、7切片に見られたが、いずれも軟骨の一部が骨化しているだけであり全体が骨化している切片は見られなかった (Fig. 8)。

なお新生軟骨には、弾性線維染色で弾性線維が細胞のまわりに密集しているのが認められた (Fig. 9)。

d) 小括: 本実験は、軟骨膜移植後の経時的組織変化を検索するためのものであるが、組織標本を固定、染色して観察するため、同じ標

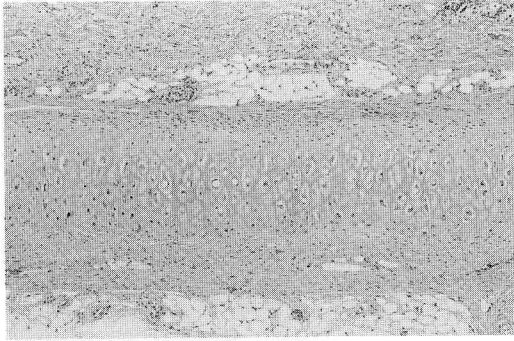


Fig. 8 A

Seven weeks after transplantation. Some neocartilage showed quite mature appearance. (H&E, original magnification $\times 16$)

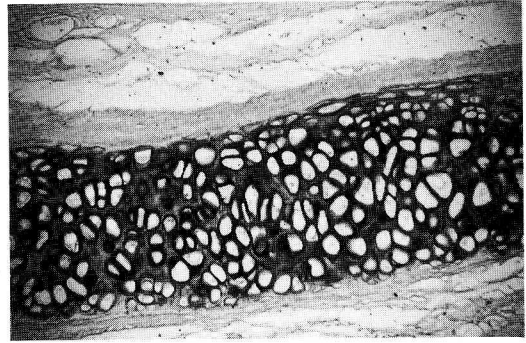


Fig. 9

Neocartilage containing large amount of elastic fibers. (Orcein, original magnification $\times 25$)

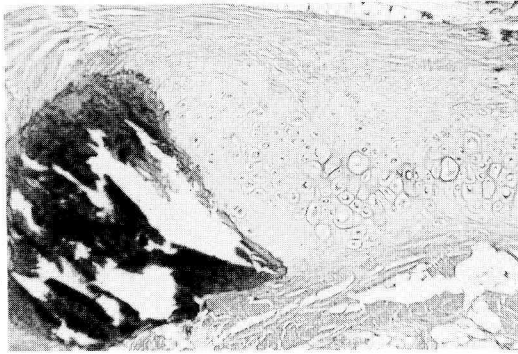


Fig. 8 B

Seven weeks after transplantation. Some neocartilage was mature, some immature, and some became ossified. (H&E, original magnification $\times 16$)

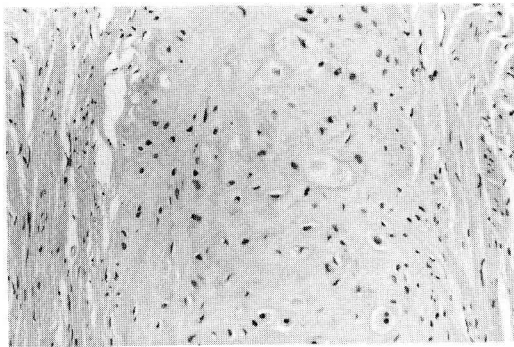


Fig. 8 C

One and a half years after transplantation, some neocartilage was not very mature. (H&E, original magnification $\times 25$)

本を経時的に観察しているわけではない。そこで標本間に生じる誤差をできるだけ少なくしなければ時間的経過を追いがたいと思われた。そこで、実験方法として、生着・非生着・感染など、標本に条件差が出やすいと思われる遊離移植²¹⁾をさけ、十分な血行を保持できる血管柄付有茎移植を用いた。また、皮膚付き複合組織移植としたのも、皮膚をはがす操作に伴う血管障害などが、標本誤差となるおそれがあるので、この操作を避けるためであった。

実験結果を経時的にまとめれば、有茎移植された軟骨膜は移植後4日目ころから細胞の増殖が始まり、新生軟骨を生じた。移植後3週目ころまで新生軟骨の増殖は続くが、特に10日目ころまでの分裂増殖が著しいと思われた。分裂増殖の著しい時期には、新生軟骨に軟骨膜様の密生線維性結合組織の被膜は存在せず、その後、分裂の鎮静とともに徐々に出現してきた。その出現経過は、軟骨周囲に厚い線維性結合組織が生じその後その厚さが徐々に減少して、薄い膜様構造になった。軟骨の成熟時期に関しては、7週目以降、成熟した組織像を呈する標本が増加したが、1年6ヵ月を経てもまだ成熟した像を呈さないものもあり、結論は出しがたかった。文献的には、7週目とするもの¹⁹⁾、3~6ヵ月目とするもの¹²⁾、6ヵ月目でも成熟していない標本があることを指摘するもの¹⁰⁾などがあり、かなり個体差、標本差があるものと思われた。

2) 実験Ⅱ：有茎・遊離軟骨膜移植実験

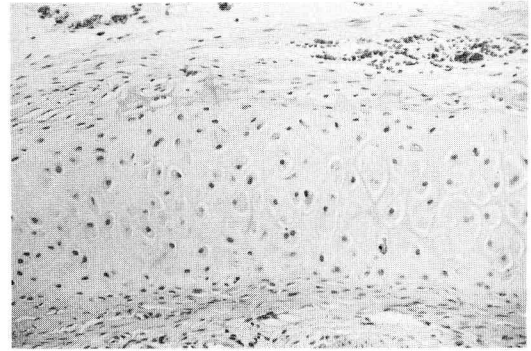
a) 目的：軟骨膜新生能の血行依存性を、有茎・遊離の2種の移植法を用いて比較し検討する。

b) 実験材料および方法：実験動物は生後約5ヵ月で体重2.0~4.0kgに成長した白色家兎38羽を用いた。実験Ⅰと同様に麻酔および剃毛を行った。後頸部では、長さ約3cmの正中皮膚切開後、左右両側に皮下剥離を行い、左右それぞれ約3×3cmの皮下ポケットを作成した。両耳介凸面側で実験Ⅰと同様の部位に1.5×3cmの長方形の皮切をデザインした。以後、一侧の耳介では血管柄付き軟骨膜を採取し、他側の耳介では遊離軟骨膜を採取した。血管柄付き軟骨膜を採取する耳介においては、実験Ⅰと同様の操作により皮膚軟骨膜複合組織片を作成したのち、鋭的にハサミを用いて皮膚を皮下組織から剥離して、血管柄付き軟骨膜を作成した。遊離軟骨膜を採取する耳介においては、血管柄を切断して、同様の方法で遊離軟骨膜を作成した。2種の軟骨膜はいずれも、軟骨に接していた面を内側となるように2つ折りとし、後頸部の皮下ポケットにそれぞれ移植した。なお、血管柄付き軟骨膜は、耳介から後頸部皮下ポケットまで、皮下トンネルを通して移植部位に移動した。

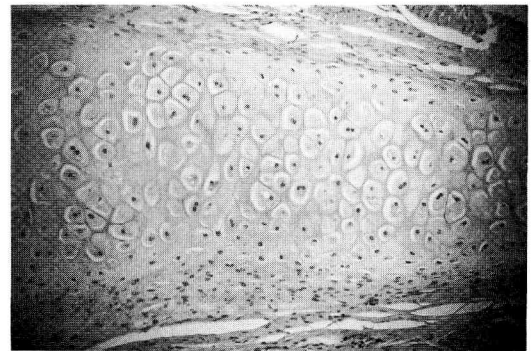
移植後7週を経て、両側の移植片を採取した。死亡や明らかな感染などにより除外された家兎を除く個体は31羽であり、計62標本が得られた。採取した標本は、10%ホルマリン固定したのち、パラフィン包埋した。各標本につき、おのおの無作為に3ヵ所の切片を作成し、HE染色を行い観察した。

c) 実験結果：光学顕微鏡的観察によって新生軟骨(+)と判定されたものは、血管柄付き移植では31標本93切片中、27標本67切片、遊離移植では、31標本93切片中18標本34切片であった。2種の移植法において切片中の軟骨出現率には統計学的に有意差がみられた($p < 0.01$)。

組織学的には、血管柄付き移植から生じた新生軟骨と遊離移植から生じた新生軟骨(Fig. 10)



A



B

Fig. 10

Experiment II

Neocartilage seven weeks after transplantation. A: Vascularized grafting. B: Non-vascularized grafting. (H&E, original magnification ×25)

とで特に明白な差異を認めなかった。新生軟骨のなかに骨化のみられた切片は血管柄付き移植では67切片中12切片、遊離移植では34切片中5切片であり統計学的に有意差は認められなかった。 $(p > 0.05)$ 。

d) 小括：軟骨膜の有茎移植と遊離移植における軟骨新生の差異を論じた報告は散見される。Maruyama¹²⁾は家兎耳介軟骨膜を用いた実験で、有茎移植のほうが遊離移植よりも軟骨再生が明白で安定していると述べている。一方、Donskyら²⁾は遊離移植と微小血管吻合による有茎移植とを比較し、両者に差がないとしている。

われわれの実験結果では、有茎移植は遊離移

植とくらべて、軟骨新生率ではまさっているが、生じた新生軟骨の組織像については移植法による差異を認めなかった。高戸ら²⁵⁾は有茎皮膚軟骨膜複合移植と遊離軟骨膜移植とを比較し著者と異なる結論を導いているが、その実験結果でもやはり軟骨新生率は有茎移植において高い結果が出ている。

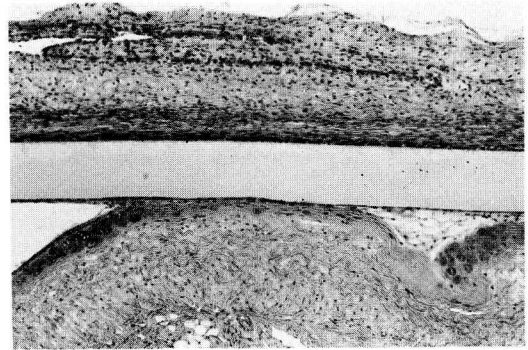
なお、軟骨新生率に関しては、資料の取り方が問題となる。正確には、移植された軟骨膜の面積中、新生軟骨を生じた部分の面積の割合をもって軟骨新生率とするのが正当と思われる。しかし、移植後の組織の収縮、彎曲などの点や標本作成上の問題から、そのような計測は実際には困難である。移植された1枚の軟骨膜を1単位として同一標本から多くの横断切片を切り出し、そのなかの1つにでも新生軟骨が確認されればその標本を新生軟骨(+)と判定する方法⁹⁾では、全体のごく一部にしか軟骨ができていない場合でも全体に新生している場合でも同じく陽性となるので、差異を確認しがたくなる。むしろ、1切片を1単位として陽性率を計算するほうが、本来の新生率に近いものと考え、著者は有意差の検定において切片を単位として用いた。

3) 実験Ⅲ : Diffusion chamber を用いた実験¹¹⁾

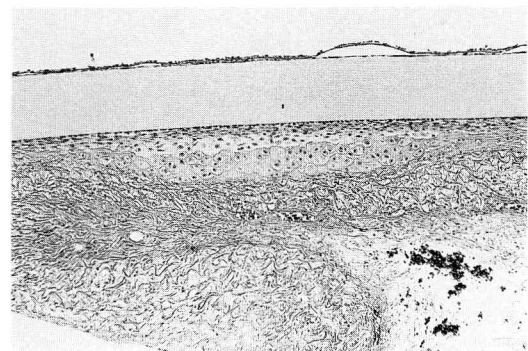
実験Ⅲ A

a) 目的 : 血餅の付着または軟骨膜への毛細血管侵入が、軟骨膜からの軟骨新生に必要であるか否かを検討する。さらに、filter を通しての軟骨膜による軟骨誘導の有無を確認する。

b) 実験材料および方法 : 実験動物は生後約5ヵ月で体重2.0~4.0 kg に成長した白色家兎を用いた。diffusion chamber としては、Algire 型 diffusion chamber (内径10 mm, 外径14 mm, 厚さ2 mm のルーサイトリング, 直径14 mm, 厚さ150 μ m, pore size 0.45 \pm 0.02 μ m の HA タイプのミリポアフィルター) を用いた。実験 I と同様に麻酔後、耳介と背部の剃毛を行った。背部には1羽あたり8ヵ所の皮下ポケットを作成した。片側耳介から実験Ⅱ



A



B

Fig. 11

Experiment III A

Neocartilage was seen inside the chamber (lower area), and no transfilter induction was recognized outside (upper area). A : Group a. B : Group b. (H&E, original magnification $\times 6.3$)

の遊離軟骨膜を採取した手技で、約2 \times 4 cm の軟骨膜を採取し、これを8等分して各約1 \times 1 cm の小片とした。a 群では生理食塩水で洗浄して血餅の付着をなくし、diffusion chamber 1 個につき1片を Hanks 液1滴を加えて封入した。b 群では、Hanks 液の替わりに封入時に同家兎より採取した血液1滴を加えた。封入後、背部に作成してある皮下ポケットに1個ずつ計8個の chamber を埋め込んだ。移植後2週目に全 chamber を採取した。死亡により除外された家兎、周囲の感染や破損により除外された chamber を除き、a 群9羽より61 chamber, b 群9羽より、59 chamber が得られた。標本

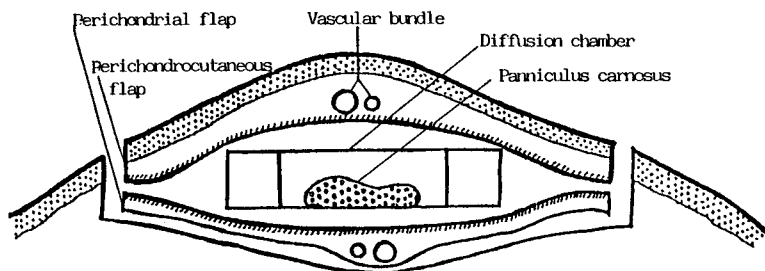


Fig. 12

Experiment III B

A Millipore diffusion chamber, in which 1 cm² of panniculus carnosus is sealed, is placed on a perichondrial flap transplanted to the neck, and covered by a perichondrocutaneous flap.

は10%ホルマリン固定し、アルコール系列で脱水後、ルーサイトリングを溶解させるためクロロホルムに浸した。その後は通常のようにパラフィン包埋し、各標本につきおのおの3ヵ所の切片を作成し、HE染色を行い観察した。

c) 実験結果：a群では61 chamber 183 切片中、18 chamber 24 切片で、b群では59 chamber 177 切片中、11 chamber 13 切片で chamber 内に新生軟骨が確認された(Fig. 11)。軟骨新生率は統計学的に両群で有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。両群で生じた軟骨は組織学的に明らかな差異を認めなかった。

なお、chamber 周囲組織に新生軟骨を認めた切片はなかった。

実験 III B

a) 目的：filter 膜を通しての軟骨膜による軟骨誘導の有無を確認する。

b) 実験材料および方法：実験動物は生後約4ヵ月で体重2.0~3.0 kg に成長した白色家兔を用いた。diffusion chamber は実験 III A と同様のものを用いた。実験 I と同様に麻酔後、両耳介、後頸部および背部を剃毛した。後頸部には正中に約2×4 cm の皮膚欠損創を作成した。背部には約3 cm の正中皮膚切開を行い、その左右両側に皮下ポケットを作成した。

片側耳介からは実験 I と同様の手技で約2×4 cm の血管柄付皮膚軟骨膜複合組織片を作成挙上した。他側耳介からは実験 II と同じように

血管柄付軟骨膜を挙上した。この両側の血管柄付き組織片を皮下トンネルを通して、後頸部の皮膚欠損創に移動した。まず血管柄付軟骨膜を軟骨に接していた面を表にして皮膚欠損創に貼り、その上に後述する chamber を2個のせた。さらにその上に血管柄付き皮膚軟骨膜複合組織片を皮膚側を表にして覆い、縫合した。これにより2個の chamber は2枚の血管柄付きの軟骨膜にはさまれた状態となった(Fig. 12)。なお、各 chamber 内には、後頸部皮膚に含まれる筋肉 panniculus carnosus を、1 chamber あたり約1 cm² 封入した。control としては、同じく panniculus carnosus を封入した chamber 2個を背部の皮下ポケットに埋入した。頸部で軟骨膜に包まれた chamber をc群、背部皮下に埋められた chamber をd群とする。移植後2週目以降に屠殺し chamber を採取した。途中死亡した家兔、周囲の感染や破損・滅失した chamber を除き、7羽よりc群13 chamber d群11 chamber が得られた。標本は実験 III A と同様に処理し、各標本につきおのおの3ヵ所の切片を作成し HE 染色を行い観察した。

c) 結果：c群、d群いずれの chamber 内にも、軟骨新生はみられなかった。

実験 III の小括：軟骨膜からの軟骨新生に必要な条件として以前より血餅の必要性が主張されている。これは、1つには臨牀的に耳介軟骨膜下血腫発生後に califlower ear を生じるこ

とから連想されるのであろう。実験的にも、Skoogらのグループが血餅の重要性を報告した。^{19, 23)}しかし、一方、血餅に関して重視していない研究者も多い^{1, 12)}。著者の一連の実験（実験I, II）においても、移植実験の際にわざと血餅を軟骨膜に付着させることはしていないが軟骨の新生は高頻度にみられた。しかし、通常の移植実験では、術後に移植部位に血腫を生じている可能性を否定できない。これは移植部位を関節内にも選んでも同じことである²⁴⁾。そこで著者は、軟骨膜をdiffusion chamber内に封入し血腫がまったく関与し得ない条件で実験を

行った。同様の実験は広瀬²⁾が行い、新生軟骨を認めなかったと報告しているがその原因は不明である。著者による実験結果は、血餅接触の必要性を明らかにすると同時に一部研究者が示唆する軟骨膜内への毛細血管侵入の必要性⁸⁾をも否定したものと思われる。

また実験IIIは軟骨誘導に関する実験でもあった。骨においてはtransfilter bone inductionが確認されている⁶⁾。軟骨誘導因子が骨形成（誘導）因子と同一または類似したものであり、かつ、軟骨膜性軟骨新生に、この因子が関与しているとすれば、transfilter cartilage induc-

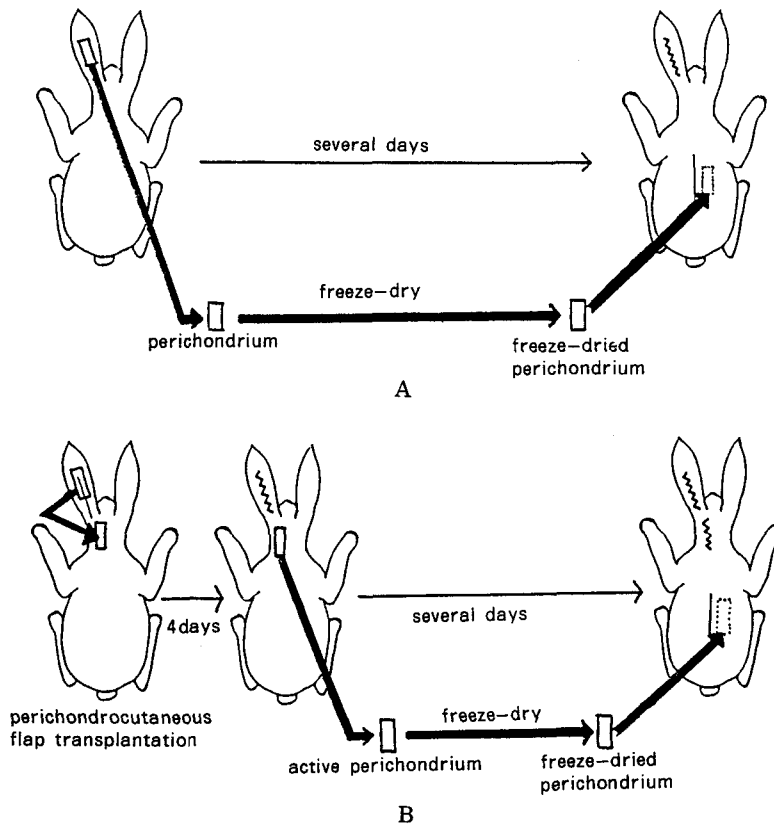


Fig. 13

Experiment IV

A : Group a. Perichondrium is obtained, freeze-dried, and transplanted subcutaneously. B : Group b. First, vascularized perichondrocutaneous flap is transplanted to the neck. Four days later activated perichondrium is obtained, freeze-dried, and transplanted subcutaneously.

tionが認められる可能性があると考えた。しかしながら、実験ⅢAでchamber外に、また実験ⅢBのc群でchamber内にいずれも新生軟骨は認められなかった。軟骨膜からの軟骨新生に軟骨誘導因子は関与しないか、関与してもわずかであるか、または、filterを通しては関与しないか、いずれかであろうと思われる。なお、軟骨誘導に関してはさらに実験Ⅳを行った。

4) 実験Ⅳ

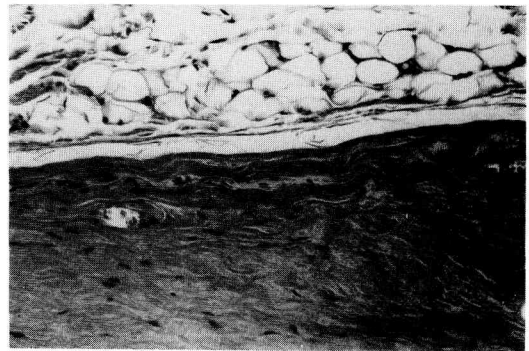
a) 目的： 静止期軟骨膜、および、活動期軟骨膜中の軟骨誘導因子の存在を確認する。

b) 実験方法および材料： 生後約4ヵ月に1.5~3.0 kgに成長した白色家兎を用いた。通常に従い麻酔後、耳介を剃毛した。静止期軟骨膜を用いる群(a群)では、実験Ⅱの手技で耳介より遊離軟骨膜を採取し、これを直ちに-70℃に凍結後、約15時間乾燥処理した。凍結乾燥された軟骨膜は-20℃で2~3日保存したのち、再び全麻下に家兎背部皮下に自家移植した。活動期軟骨膜を用いる群(b群)では、まず実験Ⅰの手技で耳介から血管柄付皮膚軟骨膜複合組織片を作成し、後頸部に作成した皮膚欠損創に移植した。続いて移植後4日目に全麻下に同移植片から皮膚を剥離して活動期軟骨膜を採取し、これをただちに-70℃に凍結後、約15時間乾燥処理した。凍結乾燥された活動期軟骨膜は-20℃で2~3日保存したのち、全麻下に家兎背部皮下に自家移植した(Fig. 13)。

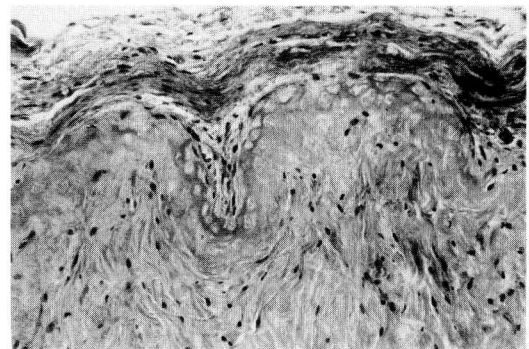
ab両群とも、移植後7週目に移植片を採取した。途中死亡した家兎、感染した移植片を除外し、a群では12羽から12標本、b群では15羽から15標本が得られた。得られた標本は、10%ホルマリン固定後パラフィン包埋し、各標本につき3切片を作成し、HE染色にて光顕的に観察した。

c) 結果： ab両群とも新生軟骨を認めた標本はなかった。b群では、明らかに新生軟骨が凍結乾燥処理されたと思われる部位も散見されたが、同部に接した移植床にも軟骨の誘導は見られなかった(Fig. 14)。

d) 小括： 骨の骨誘導能に関する研究は進



A



B

Fig. 14

Experiment IV

Neither activated nor non-activated freeze-dried, perichondrium induced cartilage formation around it.

A : Group a. B : Group b. (H&E, original magnification $\times 25$)

んできている¹³⁾。脱脂凍結乾燥処理された骨が、周囲の間葉系細胞から骨細胞を誘導することは広く知られており、近年では誘導を生じる因子、骨形成因子の抽出精製作業が進んでいる。一方、軟骨の軟骨・骨誘導能は骨にくらべてきわめて劣るといわれている¹⁶⁾。著者の研究対象である軟骨膜からの軟骨新生に関しては、それが、誘導によるものなのか、一部に誘導が関与するのか、または誘導は全然関与しないのか、定かでない。軟骨膜からの軟骨新生に誘導が関与するとすれば、軟骨誘導因子の存在が推測される。骨と軟骨とは系統発生的および組織発生的にきわめて近い関係にある。骨形成因子による骨誘導に際しても、まず軟骨が誘導されるこ

とがわかっている。このような点から、軟骨誘導因子が存在するとすれば、骨誘導（形成）因子ときわめて類似した、または同一のものと予想される。骨誘導（形成）因子は前述したように、凍結乾燥処理により失活しないことがわかっているので、同処理を軟骨膜に行って、移植片周囲に新生軟骨が誘導されるか否かを調べたのがこの実験であった。活動期の軟骨膜としては、実験Ⅰの組織学的検索により、新生軟骨細胞が出現して、急速な増殖を始める有茎移植後4日目の軟骨膜を用いた。結果としては、凍結乾燥処理された静止期、活動期いずれの軟骨膜も周囲組織を軟骨に誘導することは確認されなかった。

考 察

1) 軟骨膜の構造について

本来軟骨膜は軟骨の周囲に存在する結合組織の層であるが、軟骨表層では、軟骨細胞が次第に平たくなってこの結合組織層に移行するので組織学的にはその境界は判然としなない(Fig. 1)。しかし、軟骨は硬組織で、軟骨膜は軟部組織であり、その硬度の違いは比較的明瞭である。軟骨からの軟骨膜の剝離は手技的には容易とはいえないが、硬組織と軟部組織との境界で正しく剝離されたか否かの確認は肉眼的にも比較的容易である。なお、軟骨膜は、2~3層構造を有するとされているが、判然とはしていない。

2) 軟骨新生に影響する因子について

Skoogらは1972年有茎軟骨膜から軟骨新生が起こることを報告した²²⁾。軟骨膜の軟骨新生能に関しては、その後、主として軟骨膜の血行状態に主眼をおいた実験が行われてきている。遊離移植と有茎移植との比較、遊離移植における移植床の違いによる比較などがおもなものである。著者は前者に関する実験を実験Ⅱで行い、有茎移植が軟骨新生率においてまさっているという結論を得た。その原因としては、遊離移植軟骨膜の部分的不生着が一番考えやすい。われわれは、かつて、有茎および遊離軟骨膜移植を行い、早期に移植片を切り出し検討したことがある⁹⁾が、それによれば、遊離移植片には、組

織学的に壊死部を認めることがあったのに対し、有茎移植片には壊死部はみられなかった。もちろん、軟骨膜からの軟骨新生の機序がまだ解明されていない現在、軟骨新生の条件として軟骨膜の生着が不可欠であるとは必ずしも断定できない。しかし、新生軟骨細胞が軟骨膜細胞自身の分化増殖で生じるのであれば、新生に生着は不可欠のはずである。また、軟骨膜細胞が軟骨誘導因子を産生することにより軟骨膜内外の細胞を軟骨細胞に分化増殖させるものと仮定しても、不生着の軟骨膜が軟骨新生を引き起こすためには、移植時すでに軟骨膜中に誘導因子が含まれている必要がある。実験Ⅳの結果から考えてこの可能性は少ない。このように、移植軟骨膜の不生着が起これば軟骨新生は生じないものと考えるのが妥当である。さらに、ある程度の栄養の供給は細胞の分裂増殖に不可欠のものであるから、生着した軟骨膜の栄養状態が軟骨新生に影響を与えることも当然予想される。軟骨新生に必要な栄養量は、遊離軟骨膜移植でも新生軟骨を生じることからみて、遊離移植片が良好な状態で生着すれば、それで十分に足る程度のものであると考えられる。結局、著者の実験で遊離移植のほうが有茎移植よりも軟骨新生率が低い結果が出たのは、軟骨膜の部分的不生着、および不十分な生着（組織自体は生存できるが、分裂増殖はできない程度の生着）が原因であろうと考えられる。したがって軟骨膜を有茎移植することは、軟骨膜への確実な血行供給を確保し、安定した軟骨新生をはかるという点において意味をもつと考えられる。

なお、軟骨細胞の培養が、すでに広く行われているので^{14, 15)}、著者は軟骨の新生を期待して、軟骨膜の組織培養も試みた。その結果、199 Hanks + 20% Fetal Bovin Serum, 37°C 5% CO₂の条件下で、培養軟骨膜のきわめて限局した部位にわずかに軟骨への分化傾向がみられたのみであった。これを実験ⅢAの結果と対比してみると、軟骨膜性軟骨新生を促進するfilter透過性の物質が血液中に存在することも考えられる。

3) 軟骨新生の機序について

広瀬⁸⁾は、軟骨膜性軟骨形成の機序に着目した報告を行っている。そして、軟骨膜からの軟骨新生に2つの経路があることを想定している。その1つ目は、軟骨膜移行層の細胞が軟骨芽細胞に分化し軟骨形成をなすもので、2つ目は、軟骨膜線維層の細胞や移植床の線維芽細胞が、未分化間葉細胞に脱分化し、この未分化間葉細胞が新生軟骨により誘導され軟骨芽細胞に再分化し軟骨の新生に至るものである。著者も組織誘導の有無を確かめるために実験ⅢおよびⅣを行った。実験Ⅳの結果、静止期の軟骨膜、活動期の軟骨膜、いずれも凍結乾燥処理したものは、移植床の軟骨誘導を生じなかった。また、実験Ⅲでは、軟骨膜から生じた新生軟骨は filter を通しての軟骨誘導を示さなかった。軟骨誘導因子は、凍結乾燥処理によって失活せず、また、filter を通しての作用が可能である(骨形成因子に関してはこの2点は証明されている)と仮定すれば、この実験結果は、軟骨膜からの軟骨新生に組織誘導が関与していないことを示唆するものと思われる。すなわち軟骨膜からの軟骨新生の経路は広瀬の想定する1つ目の経路によるものであろうと思われる。軟骨膜中には、軟骨細胞へ分化することが定まった細胞が存在しており、静止時には分化成熟が抑制されているが、軟骨膜の軟骨からの剝離という操作を引き金として、抑制が解除されて軟骨細胞へ分化成熟すると推測される。一方、軟骨の増殖が停止する機序についてはまったく不明である。

4) 新生軟骨の性状について

著者の一連の実験は、すべて家兎耳介軟骨膜すなわち弾性軟骨の軟骨膜を用いての実験である。実験Ⅰで得られた新生軟骨は、組織学的に弾性軟骨と思われた。また、仁科¹⁶⁾は兎耳介軟骨膜から生じた新生軟骨をアミノ酸分析し、その結果新生軟骨が弾性軟骨に特有なイソデスマシンとデスマシンを含有していることを生化学的に証明している。このように弾性軟骨の軟骨膜から生じる軟骨は、弾性軟骨であることが証明されている。

軟骨には弾性軟骨のほか、硝子軟骨、線維

軟骨がある。硝子軟骨のひとつである肋軟骨の軟骨膜からの軟骨新生は、いくつかの実験により確認されているが^{3, 5, 7, 20)}、再生した軟骨の種類に関しては定かな報告がない。軟骨膜性の軟骨新生ではないが、同じく硝子軟骨である関節軟骨の損傷の治癒に際しては、再生する軟骨の大部分が線維軟骨であるという¹⁷⁾。したがって、硝子軟骨膜からの新生軟骨が必ずしも硝子軟骨であるとは限らないと思われる。線維軟骨膜については、軟骨新生能の有無自体について報告がなく今後の研究を待つ必要がある。

新生軟骨中に骨化がみられることの報告は多い。Takato²⁶⁾はきわめて高頻度に骨化を認めているが、著者が実験Ⅱで得た標本では新生軟骨を認めた101切片中、骨化像のみられたものは17%であった。また、この骨化はいずれも新生軟骨の一部に起こっているだけであり、著者が移植後最も長期間をおいて観察した1年6ヵ月後の新生軟骨においてさえ、その大部分は軟骨のままであった(Fig. 8)。この点で、軟骨膜からの軟骨新生は、骨新生の途中経過として生じる軟骨新生とは明らかに異なっている。

5) 軟骨膜移植の臨床応用について

現在、軟骨移植が用いられる手術は多いが、軟骨新生能を有する軟骨膜移植は、軟骨自体を移植する場合と違い、既存の軟骨量や軟骨形態に左右されないという利点がある。しかし、臨床への応用を進めるにあたっては、軟骨新生の確実性を高めること、新生量の予測、できればそのコントロールが可能になること、新生軟骨の力学的強度に関する知識を得ること、などが重要な点であり、今後、さらに研究を要する事項である。

まとめ

家兎耳介軟骨膜からの軟骨新生に関して実験を行い、新生の経過についての組織学的知見を得た。

軟骨膜の有茎移植と遊離移植とを比較し、軟骨の新生率に関して、前者が優れているという結論を得た。

さらに、新生の条件、機序についての実験を

行い、つぎのような結論を得た。

1) 血餅, および, 移植軟骨膜内への血管の侵入は, 軟骨新生のための必要因子ではない。血餅による新生促進も認められない。

2) 軟骨膜からの軟骨新生機序には, 組織誘導の関与はないか, あってもわずかであると思われる。

また, 軟骨膜からの軟骨新生一般に関して, 著者の実験結果に文献的資料を加えて考察した。

稿を終えるにあたり, 御指導御協力下さいました香川医科大学形成外科秦維郎助教授はじめ教室員の各位, 香川医科大学共同利用機器室の皆様, および大阪大学医学部皮膚科松本維明講師に厚く感謝いたします。また, 御校閲を賜りました大阪大学医学部皮膚科吉川邦彦教授に深謝いたします。なお, 本研究の一部は, 文部省昭和62年度科学研究費補助金(奨励研究A-62771089)の交付を受けて行われた。

文 献

- 1) Brent, B. & Ott, R.: Perichondro-cutaneous graft. *Plast. Reconstr. Surg.*, **62** : 1~14, 1978.
- 2) Donski, P. & O'Brien, B. M. : Perichondrial microvascular free transfer ; An experimental study in rabbits. *Br. J. Plast. Surg.*, **33** : 46~53, 1980
- 3) Engkvist, O., Skoog, V. Pastacaldi, P., et al. : The cartilaginous potential of the perichondrium in rabbit ear and rib. *Scand. J. Reconstr. Surg.*, **13** : 275~280, 1979.
- 4) Engkvist, O. : Reconstruction of patellar articular cartilage with free autologous perichondrial grafts ; An experimental study in dogs. *Scand. J. Reconstr. Surg.*, **13** : 361~369, 1979.
- 5) Engkvist, O. & Wilander, E. : Formation of cartilage from rib perichondrium grafted to an articular defect in the femur condyle of the rabbit. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, **13** : 371~376, 1979.
- 6) Goldhaber, P. : Osteogenic induction across millipore filters in vivo. *Science.*, **133** : 2065~2067, 1961.
- 7) Kon, M. & Hooff, A. : Cartilage tube formation by perichondrium ; A new concept for tracheal reconstruction. *Plast. Reconstr. Surg.*, **72** : 791~795, 1983.
- 8) 廣瀬 勇 : ウサギ軟骨膜の自家移植実験における軟骨形成. *歯科学報*, **84** : 815~841, 1984.
- 9) 細川 互, 秦 維郎, 矢野健二, 松賀一訓 : 家兎耳介軟骨膜移植による軟骨再生について ; 有茎移植と遊離移植とにおける軟骨再生率について. *形成外科*, **30** : 271~276, 1987.
- 10) Hosokawa, K., Hata, Y., Yano, K. & Matsuka, K. : Histological study of the development of cartilage after perichondrial vascularized grafting. *Ann. Plast. Surg.*, **19** : 515~518, 1987.
- 11) Hosokawa, K., Hata, Y., Yano, K. & Matsuka, K. : Cartilage Formation from perichondrium in diffusion chamber. *Ann. Plast. Surg.*, in Press.
- 12) Maruyama, Y. : An experimental study on cartilage formation in autogenous perichondrial transplantation in rabbits. *Keio J. Med.*, **28** : 63~72, 1979.
- 13) 中原治彦, 高岡邦夫 : 骨形成因子の臨床応用の可能性 ; 骨誘導能を有する生体材料の開発. *形成外科*, **30** : 535~542, 1987.
- 14) 仁科博道, 中島加代子, 荻野洋一 : ラット耳介軟骨細胞の培養下における Proteoglycan Aggregate 生合成とエラスチンの産生. *日形会誌*, **1** : 141~149, 1981.
- 15) 仁科博道 : 耳介軟骨細胞における脂質蓄積と石灰化および骨化との関連性について. *日形会誌*, **3** : 289~302, 1983.
- 16) 仁科博道 : 軟骨膜. *図説臨床形成外科講座*, 添田周吾, 塚田貞夫, 大浦武彦編, **1** (創傷治

- 癒, 組織移植), 92~93, メジカルビュー社, 東京, 1987.
- 17) 仁科博道: 軟骨損傷の治癒機序, 図説臨床形成外科講座, 添田周吾, 塚田貞夫, 大浦武彦編, 1 (創傷治癒, 組織移植), 36~37, メジカルビュー社, 東京, 1987.
- 18) 野上 宏, 寺島洋治: 軟骨誘導能からみた骨基質と軟骨基質. 日整形, 52: 1224~1225, 1978.
- 19) Ohlsen, L.: Cartilage formation from free perichondrial grafts; An experimental study in rabbits. Br. J. Plast. Surg., 29: 262~267, 1976.
- 20) Ohlsen, L. & Nordin, U.: Tracheal reconstruction with perichondrial grafts. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg., 10: 135~145, 1976.
- 21) Ohlsen, L. & Widenfalk, B.: The early development of articular cartilage after perichondrial grafting. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg., 17: 163~177, 1983.
- 22) Skoog, T., Ohlsen, L. & Sohn, S. A.: Perichondrial potential for cartilaginous regeneration. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg., 6: 123~125, 1972.
- 23) Skoog, T., Ohlsen, L. & Sohn, S. A.: The chondrogenic potential of the perichondrium. Chir. Plastica, 3: 91~103, 1975.
- 24) Skoog, T. & Johansson, S. H.: The formation of articular cartilage from free perichondrial grafts. Plast. Reconstr. Surg., 57: 1~6, 1976.
- 25) 高戸 毅, 波利井清紀, 中塚貴志: 軟骨膜の軟骨形成能に関する研究; 第1報: 家耳介軟骨膜を用いた実験. 日形会誌, 6: 14~22, 1986.
- 26) Takato, T., Harii, K. & Nakatsuka, T.: The development of bone after perichondrial grafting; An experimental study using ear and rib perichondrium in rabbits. Br. J. Plast. Surg., 40, 636~641, 1987.
-

参考文献

漏出抗癌剤の体外誘導法（第2報）

細川 互・秦 維郎
矢野健二・松賀一訓

日本形成外科学会誌
第8巻 第1号 (33~37) 別刷
1988年1月発行

.....抗癌剤漏れ 難治性潰瘍 発疱性抗癌剤 穿刺法 体外誘導法.....

漏出抗癌剤の体外誘導法 (第2報)

細川 亙*・秦 維郎*
矢野健二*・松賀一訓*

Early Management to Discharge Extravasated Vesicant Chemotherapeutic Agent ; Second report

Ko HOSOKAWA, M.D.*, Yuiro HATA, M.D.*,
Kenji YANO, M.D.* and Kazunori MATSUKA, M.D.*

**Department of Plastic Surgery, Kagawa Medical School, Kagawa, Japan 761-07*

A rat model was employed to determine the efficacy of dermabrasion and dermal puncture as early management of doxorubicin (DOX, Adriamycin) extravasations.

MATERIALS AND METHODS

1) Experiment 1 :

Anesthetized SD rats were administered a dose of 2 mg of DOX suprapanniculus-subdermally on the back, and ; In group A (60 rats) : untreated, In group B (20 rats) : immediately followed by local dermabrasion (about 8 mm in diameter and 10/1,000 inch thick), topical instillation of 3 cc of saline, and squeezing the drug. In group C (20 rats) : immediately followed by puncture (10 times with 18 gauge needle) of the skin, topical instillation of 3 cc of saline, and squeezing the drug.

The quantity of drug squeezed out was measured in B (10 rats) and C (10 rats).

Skin lesions were measured every week.

2) Experiment 2 :

The effect of the puncture method performed not just after DOX injection was investigated. Anesthetized SD rats were administered a dose of 2 mg of DOX suprapanniculus-subdermally on the back.

Group D (20 rats) : after three hours, treated in the same way as group C.

Group E (21 rats) : after six hours, treated in the same way as group C.

RESULTS

1) Results of experiment 1

Resulting skin ulcers (Fig. 1) were the largest and took the longest time to heal in control group A, and were the smallest and took the shortest time to heal in group C (Fig. 2 and Table 1).

The quantity of drug squeezed out was greater in group C than in group B (Table 2).

2) Results of experiment 2

*香川医科大学形成外科

The treatment was almost ineffective in both groups (Fig. 3 and Table 3).

DISCUSSION

Skin necrosis following vesicant chemotherapeutic agent extravasation is a significant clinical problem. A variety of substances have failed to show any favorable preventive effect on such extravasations. We believe that the most reliable method of preventing ulcer formation after extravasation is to discharge the drug from the tissue. We first thought of abrasion for early management of vesicant chemotherapeutic agent extravasations and reported this. Although it is effective, the dermabrasion method has some faults. We next thought of a method of puncture to solve them. The efficacy of the two methods was investigated and compared. The results shown in this paper revealed the superiority of the puncture method over the abrasion method. The puncture method is a good method of early management of chemotherapeutic agent extravasations, but our data simultaneously proved the necessity of prompt treatment.

CONCLUSION

Dermabrasion and puncture for early management of DOX extravasations were investigated. The puncture method proved more effective. But the puncture method was ineffective when performed only three hours after extravasation.

はじめに

抗癌剤の投与による副作用には各種のものがあるが、形成外科と深いつながりにあるのが、血管外漏出による組織壊死である。近年筋膜皮弁²⁾や、動脈皮弁等¹⁾を用いた術式により、従来は難治性とされていたこの種の潰瘍の治療も比較的容易になりつつある。しかしながら、漏出後早期に適切な治療を行うことによって潰瘍の発生自体を予防する方がはるかに望ましい。

われわれは漏出後早期の治療法として漏出薬剤の体外誘導法を実験的に試みている。今回は漏出抗癌剤の体外誘導法の一つとして穿刺法を試み、すでに報告した剥皮法と比較した。また漏出から治療までの時間が治療効果に与える影響についても実験的に調べたので報告する。

実験材料および方法

実験は、250~400gのSD系ラットを用い、背部にて行った。薬剤としては発疱性抗癌剤のひとつである塩酸ドキシソルピシン(アドリアマイシン)、溶解液は生理食塩水を用いた。注入量はRudolphらの報告³⁾を参考として、2mgとした。なお、注入部位は皮膚直下で、

panniculus carnosus上とした(Fig. 1)。

実験 (1)

A) 群：ラット 60 匹：塩酸ドキシソルピシン 2 mg (2 mg/ml × 1 ml) を皮下注射し、放置した。

B) 群：ラット 20 匹：A 群と同様に皮下注射したのち直ちに剥皮し、さらに注入部位周囲に 27 ゲージの注射針をつけたシリンジで生理食塩水 3 cc を注入後マッサージ(薬液の圧出を意味する：以下同じ)を行った。

C) 群：ラット 20 匹：A 群と同様に皮下注射したのち直ちに穿刺し、B 群と同様に生食 3 cc を注入後マッサージを行った。

剥皮はすでに報告した方法で行った¹⁾。穿刺は注入部位を中心とした約 1~2 平方センチメートルの皮膚内に 10 ヶ所、18 ゲージの注射針を用いて皮膚全層を貫くように行った。

B, C 両群それぞれ 10 匹に関してはマッサージの際に剥皮創または穿刺創から圧出された液体を回収し、液中に含まれる塩酸ドキシソルピシンの量を測定した。

各群とも、潰瘍の大きさを注入後 2 週目から 1 週ごとに測定した。測定の方法はすでに報告したとおりである¹⁾。

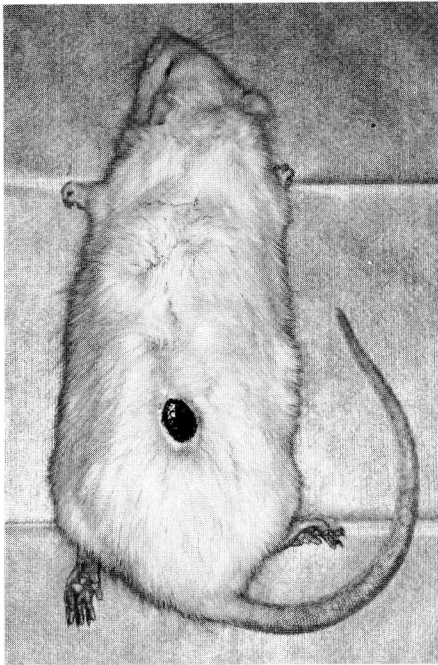


Fig. 1

Ulcer developed after subcutaneous DOX injection (2 mg) took a long time to heal (6 weeks after injection).

実験 (2)

D) 群 : ラット 20 匹 : A 群と同様に皮下注射後 3 時間して穿刺 + 生食 3 cc 注入 + マッサージを行った。

E) 群 : ラット 21 匹 : A 群と同様に皮下注射後 6 時間して穿刺 + 生食 3 cc 注入 + マッサージを行った。

実験 1 と同様に潰瘍の大きさを注入後 2 週目から 1 週ごとに測定した。

実験結果

実験(1)の結果

A, B, C 各群の潰瘍の大きさの平均値を示したのが Fig. 2 のグラフである。観察中死亡したラットは死亡時から除外した。すべての時点において潰瘍の大きさは A 群で最も大きく C 群で最も小さかった。潰瘍の大きさに関する統計学的な有意差 (t 検定により $p < 0.05$ を有意差ありとした。以下同じ) は, AB 間では 8

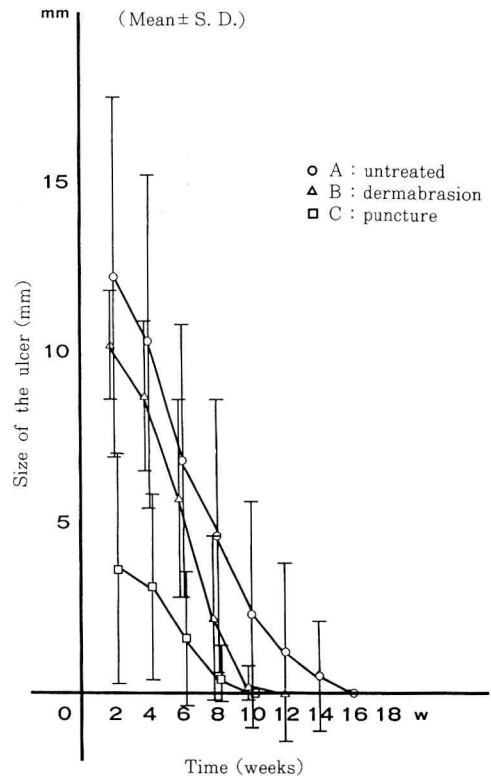


Fig. 2

Sizes of ulcers developed after subcutaneous DOX injection (2 mg) followed/ not followed by immediate management for evacuating the drug.

~12 週で, AC 間および BC 間では経過中のほとんどの時点で認められた。

つぎに, A, B, C 各群で潰瘍の治癒に要した期間の平均値を Table 1 に示した。この際, 潰瘍が治癒する以前に死亡したラットは除外した。潰瘍の治癒に要した期間は A 群で最も長く C 群で最も短かった。AC 間および BC 間では統計学的な有意差が認められた。

B, C 両群でマッサージの際に体外に圧出された塩酸ドキシソルピシンの量の平均値はおおの Table 2 に示すとおりである。統計学的に明らかな有意差をもって C 群が B 群より多かった。

実験(2)の結果

D, E 両群の潰瘍の大きさの平均値を示した

Table 1

Time taken for healing of ulcer. It is shorter in group C than in group A or B ($p < 0.01$).

Group	Count	Mean \pm S.D. (weeks)
A	46	10.1 \pm 1.9
B	20	8.9 \pm 1.9
C	18	5.6 \pm 2.8

Table 2

Amount of DOX discharged from the tissue. It is greater in group C than in group B ($p < 0.01$).

Group	Count	Mean \pm S.D. (mg)
B	10	0.15 \pm 0.13
C	10	0.73 \pm 0.41

Table 3

Time taken for healing of the ulcer. No significant difference is noticed between groups D and E. Also, the time required is longer in each group than in group C (cf. Table 1. $p < 0.01$).

Group	Count	Mean \pm S.D. (weeks)
D	14	9.1 \pm 2.3
E	19	9.2 \pm 3.7

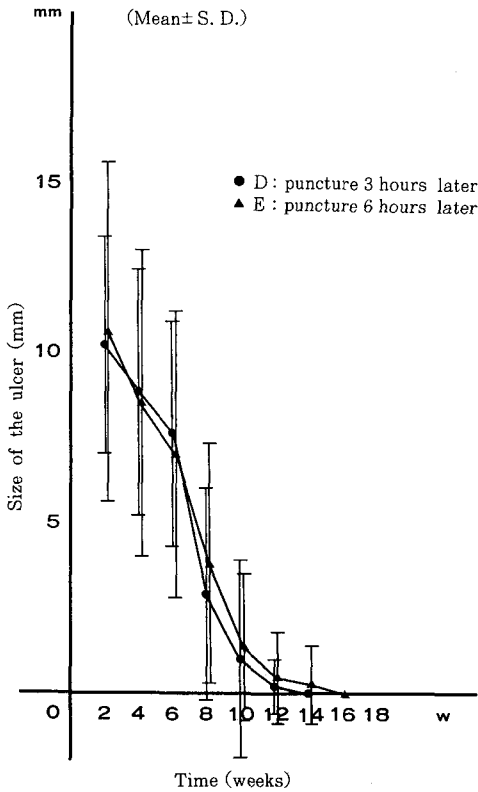


Fig. 3

Sizes of ulcers developed after subcutaneous DOX injection (2 mg) followed by delayed puncture method.

のが Fig. 3 のグラフである。潰瘍の治癒に要した期間の平均値を Table 3 に示した。DE 間にはほとんど差がみられなかった。これら両群を実験 I の A 群と比較すると潰瘍の大きさがやや小さく治癒期間も短縮されてはいるが統計学的な有意差を認めることはできなかった。一方、D、E 両群は C 群と比較すると統計学的に

有意差をもって潰瘍の大きさが大きく、また治癒期間が長かった。

考 察

われわれは、抗癌剤漏出後早期の処置としては、体外への薬液排出が最も確実と考え、その一法としてまず剥皮法を考案し試みた¹⁾。この方法では潰瘍の軽減効果は認められたものの、いくつかの問題点があることがわかった。それは、剥皮の操作が形成外科医など一部の医師以外には困難なこと、また、剥皮はその処置自体で比較的侵襲があること、そして剥皮による潰瘍の予防または軽減効果が十分とはいえないこと、などであった。

そこでわれわれは、これらの問題点を検討し、穿刺法を考案した。この方法は手技が容易であるうえ必要なものは 18 ゲージおよび 27 ゲージ程度の注射針、シリンジ、そして生理食塩水であり、いずれもすぐに用意できるものばかりである。しかも、注射針により小さな穴をあけるだけであるから組織への侵襲も小さい。侵襲が小さいということは、漏出直後の治療法としては重要な条件であると思われる。実際の臨床では漏出直後に潰瘍の発生を確実に予見できる

ことはあまりない。放置しても無事に経過するかもしれない漏出部位に対して侵襲の大きい治療法を用いるのは抵抗がある。その点で、漏出直後のデブリードメン法や皮膚皮下切開法などはもちろん、剥皮法とくらべても穿刺法は比較的使いやすい治療方法と思われる。

さて最も重要な治療効果については穿刺法は剥皮法とくらべて塩酸ドキシソルピシン漏れによる潰瘍発生の予防軽減効果がすぐれていることが明らかになった。なおわれわれは別の発癌性抗癌剤硫酸ビンデシンを用いて実験Ⅰと同様の実験を行ったところ、穿刺法は剥皮法にわずかにまさるものの統計学的な有意差はない、という結果を得た。剥皮法が硫酸ビンデシン漏れには比較的効果があるのに対して塩酸ドキシソルピシン漏れに対しては効果が少ないのは両薬剤の水に対する溶解性の違いが関係しているのではないかと考えた。塩酸ドキシソルピシンは水にやや溶けにくく溶液中の粒子が粗いので真皮層を通りにくい。穿刺法では真皮を貫く穴があるので不溶性の薬剤の場合でも体外に排出されやすい。したがって穿刺法を用いた場合は薬剤が水に溶性、不溶性にかかわらず安定した治療成績をあげたと思われる。

このように漏出抗癌剤の体外誘導法としては穿刺法がほとんどの点で剥皮法よりもすぐれているという結論に達した。しかし、実験Ⅱの結果にみるごとく、この穿刺法も、漏出直後に行われなければ、その効果が激減する。このことから、抗癌剤漏出を生じた際にはその場の医師がただちに穿刺による体外誘導を行うのが最もよいと考えられる。そのためには抗癌剤を注入する立場にあるすべての医師がこのことに留意し、万が一の漏出時にすばやく対応できるようになっておくことが望ましいと思われる。

なお、この実験結果は人間と皮膚皮下構造の異なるラットを用いて得られたものであること

を考慮し、今後、人間により近い皮膚皮下構造を有する動物を用いた実験や臨床的な経験の蓄積などにより、この穿刺法による治療の有効性が追試されていく必要があると思われる。

まとめ

発癌性抗癌剤として最も知られている薬剤のひとつである塩酸ドキシソルピシン（アドリアマイシン）を、ラット背部に皮下注射し、潰瘍発生に対する体外誘導法の効果を調べた。その結果、体外誘導法としては、剥皮法よりも穿刺法の方がすぐれていることがわかった。また、穿刺による体外誘導法は漏出後3時間を経るとその効果は激減することが明らかになった。

本論文の要旨の一部は第13回日本形成外科学会中国四国地方会（昭和62年2月1日、於高松）、第30回日本形成外科学会学術集会（昭和62年4月18日、於東京）において報告した。

なお、本研究においては、塩酸ドキシソルピシンの提供および分析に関して協和発酵株式会社の協力を得た。

文 献

- 1) 細川 互, 秦 維郎, 矢野健二, 松賀一訓: 漏出抗癌剤の体外誘導法—剥皮術を用いて—。日形会誌, **7**: 538~544, 1987.
- 2) 上 敏明, 中島龍夫, 吉村陽子: マイトマイシンCの血管外漏出による上肢難治性潰瘍の治療経験。形成外科, **29**: 51~55, 1986.
- 3) Rudolph, T., Suzuki, M. & Luce, J.K.: Experimental Skin Necrosis Produced by Adriamycin. Cancer Treat. Rep., **63**: 529~537, 1979.
- 4) 高木 正, 田原真也, 菊井知子, 薄 丈夫: マイトマイシンCによる難治性潰瘍の治療法。形成外科, **30**: 437~440, 1987.

参考論文

肋軟骨移植によるわれわれの耳輪形成術

細 川 互 薄 丈 夫
菊 井 知 子 田 原 真 也

The Japanese Journal of
Plastic & Reconstructive
Surgery, Vol. 29, No. 1, 1986
形 成 外 科
第 29 卷 第 1 号 別 刷
克 誠 堂 出 版 株 式 会 社

肋軟骨移植によるわれわれの耳輪形成術

細川 互* 薄 丈夫*
 菊井 知子* 田原 真也*

緒言

小耳症または後天性の外耳欠損の患者に対して外耳を作成するさいには、肋軟骨が支持材として用いられることが多い。肋軟骨移植による外耳形成術は、諸家の文献、学会発表にも見られるごとく、近年著しくその成績が向上してきているように思われる。しかしながら、きわめて良好な結果を得たと思われる再建外耳でさえ、本来の外耳からはほど遠いのも事実である。われわれ形成外科医は、本来の外耳と区別のできない外耳を作れるようになるまで努力し続けなければならないと考える。さて、われわれはここに外耳のうちとくに耳輪部に限って、われわれが最近行っている再建法を報告する。

1. 手術手技

われわれの方法が現在まで報告されている方法と異なる点は、肋軟骨の用い方だけであるから、この点を重点的に述べることにする。用いる肋軟骨は第7肋軟骨で、左右いずれの外耳再建にさいしても、通常、右の肋軟骨は採取している。採取した右第7肋軟骨は図1のような形態をしている。説明の都合上、肋軟骨の各面を図2のように呼称する。一方、耳輪の各部を図3のように呼び、説明のために、耳輪と舟状窩との境界線を想定して、固定縁と呼ぶことにする。なお、ここでは左耳の耳輪再建を例にとって説明する。

われわれの方法では、軟骨膜を付けずに採取された右第7肋軟骨は、基本的にはつぎのように用いられる(図4)。すなわち、肋骨端が耳輪脚に、

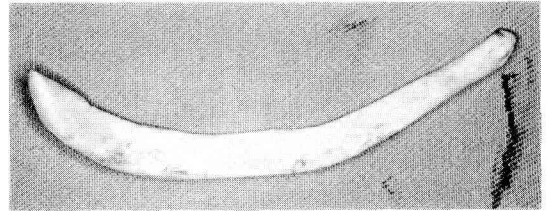


図1 右第7肋軟骨をほぼ全長にわたって採取したもの。軽く頭側に凹である。

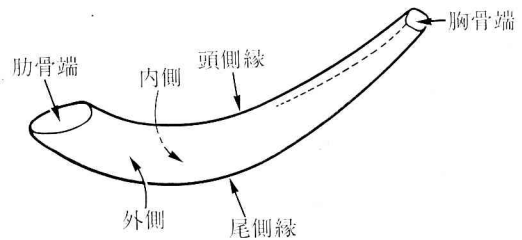


図2 右第7肋軟骨の各面の便宜上の呼称。

胸骨端が耳輪尾に、肋軟骨内側が耳輪外面に、外側が内面に、肋軟骨頭側縁が耳輪遊離縁に、そして尾側縁が固定縁になるように用いるのである。これを基本として軟骨の細工にとりかかる。まず第1に肋軟骨の高さを決める。高さとは頭側縁と尾側縁との間の距離であり、作成すべき耳輪の高さ(遊離縁と固定縁との間の距離)に従って決定する。通常は図5の斜線部分を切除する場合が多い。つぎに、肋軟骨の厚さ(内側と外側との間の距離)を決める。これは、作成すべき耳輪の厚さから決定するのではない。肋軟骨を図4のように曲げながら、もっとも望ましい弾力と強度を有する厚さまで削っていくのである。肋軟骨の硬さにはかなりの個体差があるので、望ましい厚さは各症例で異なることになる(図6)。以上の2工程によって肋軟骨の細工はほぼ終了する。肋軟

* 住友病院形成外科

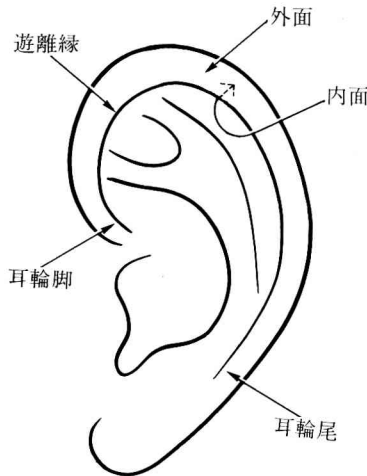


図 3 左外耳の図。耳輪各部の便宜上の呼称。なお、この他、耳輪と舟状窩との境界となる線を固定縁と呼ぶ。



図 5 耳輪脚となる予定の肋軟骨肋骨端の高さを減ずる。

骨の長さは必要なものより少し長めにしておき、側頭部に固定するさい適切な長さに切るほうが良い。以上の肋軟骨の細工において重要なことは、手順を逆にしないことである。初めに厚さを決めると、後で高さを減じた部分の強度が不足し、同部での折れ曲がりが強くなって、耳輪形態が悪くなることがある。

以上で完成した肋軟骨性耳輪は、肋骨端と胸骨端の2点でしっかりと側頭部に固定する。固定する相手は場合によって異なる。後天性の外耳欠損または軽度の小耳症では、残存する耳甲介部の軟骨などに固定する。それらが存在しない場合には、肋軟骨によって作成した耳甲介部分に固定することになる。以上で耳輪支持組織の作成が終了する(図7)。なお、今まで述べた左耳の形成に対して、右耳の場合には、肋軟骨の内外側が逆になるように用いればよい。また、まれに左第7肋軟骨を用いることもあるが、この場合も同様に、肋軟骨の内外側が逆になるだけである。

支持組織が完成したあとは、これに十分薄く十

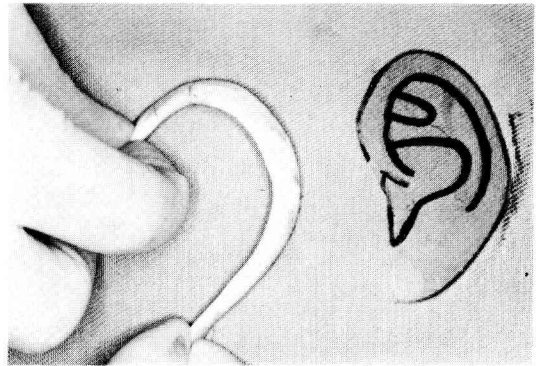


図 4 肋軟骨の両端を固定して耳輪状にしているところ

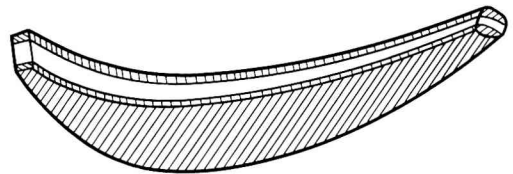


図 6 肋軟骨の厚さを適当に減ずる。

分余裕のある皮弁をかぶせ、皮弁下に持続吸引をかけて皮膚縫合し手術を終了する。支持組織がたとえ理想的であっても、皮弁が不十分であると良い結果は得られない³⁾。なお、耳起こし植皮術は、この手術後、半年前後で行う。

2. 考案

われわれがこの手術法を用いるようになったのは、それまで用いていた方法のいくつかの欠点が消されるからである。文献などでは、耳輪形成には第8肋軟骨を用いることが多い⁴⁾。しかしわれわれは小耳症の場合、外耳形成を学齢に達する前に終了することを望ましいと考えており、その場合、細い第8肋軟骨では耳輪の高さが不足する。また、第7肋軟骨を用いても、肋軟骨の厚さを耳輪の高さとする¹⁾以上、やはり上十分なことが多いので、われわれは肋軟骨を2段に重ねて用いる方法²⁾を行っていた。2段に重ねると耳輪の高さは十分になった。しかし、2段に組む都合上、軟骨をあまり薄くできず、ふ厚い耳輪になりがちであった。また、耳輪の巻き込みを表現するために、2段の軟骨のうち遊離縁側のものを内側に倒して組むことは安定性に問題を生じやすく、意外に困難である。新しい方法ではこれらの欠点が改善された。耳輪はかなり薄くなっている。ま

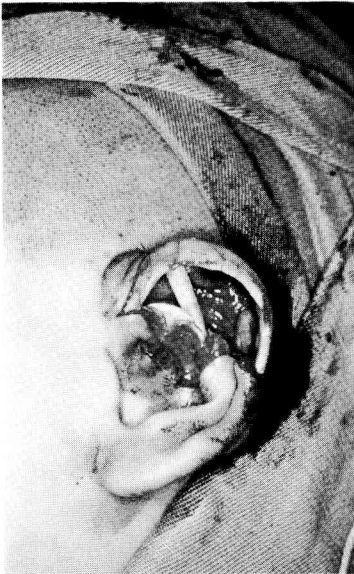


図7 耳輪支持組織（粹組）の完成。なお、この症例では、対耳輪の上脚および下脚の一部も、第7肋軟骨の一部を利用して作成している。



図8 軽度小耳症の術前と健側耳介より作成したモデル。図7と同一症例である。

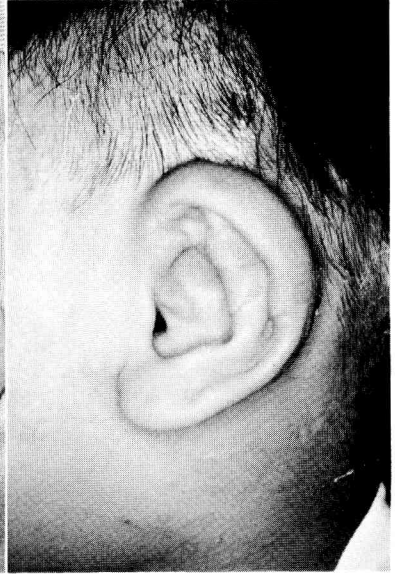


図9 図8の症例をわれわれの方法で手術した耳起し手術後の側面像。



図10 同正面像：耳輪の高さ、薄さ、巻き込みがよく分かる。



図11 図8と同程度の小耳症を、肋軟骨段重ね法で手術した耳起し手術後。一見よく見えるが、耳輪はぶ厚く、巻き込みもない。

た、耳輪の巻き込みは、図1に示す肋軟骨本来の屈曲のために自然に生ずることになる。このようにして生じた耳輪の巻き込みは力学的にみて非常に安定したものであり、肋軟骨両端の固定がはずれるようなことがなければ、術後に倒れてきた

りすることは考え難い構造である。ここで、われわれの以前の耳輪形成術と現在のそれとを比較するために図8, 9, 10, 11を示す。図10はわれわれの現在の耳輪形成術による再建耳輪であるが、耳輪の高さが十分で、かつ薄く、巻き込みも自然

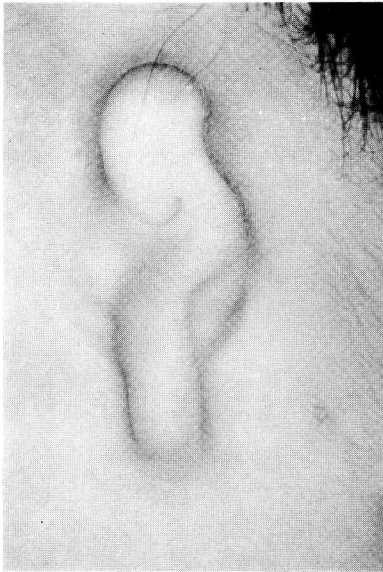


図 12 重度小耳症の術前



図 13 新しい枠組を用いて手術した耳起し手術後。図 10 と比して耳輪枠組の特徴が出ていない。皮膚が厚く、かつ、不足していることによると思われる。

に近い。図 11 は前者と同程度の小耳症を、以前の耳輪形成術で耳輪作成したものである。耳輪の高さは十分であるが、ぶ厚くて巻き込みもない。われわれは新しい方法を現在まで 5 例の小耳症に用いたが、その経験では、図 8 のような皮膚に余裕のある軽度小耳症においては、肋軟骨性枠組が手術結果を左右するもっとも大きな因子となるので、本法による結果の改善がめざましい。一方、皮膚に余裕の少ない重症の小耳症になると、肋軟骨性枠組に皮膚が密着し難くなるので枠組の特徴が出にくくなり、以前の方法と比して手術結果に差を生じるほどではない（図 12, 13）。後天性外耳欠損に対してはまだ使用経験がないが、皮膚の余裕の程度に応じて同様なことが言えよう。この点に関しては、枠組を理想的なものにするのと合わせて、理想的な皮膚による被覆を図らなければ解決されない。被覆組織に関しては現在改良術式を検討中であり、近く報告する予定である。

結 語

われわれは耳輪再建を肋軟骨を用いて行うさい、高く薄く、かつ巻き込みのある耳輪の作成をめざして、われわれが従来用いていた枠組形成を

改良した。本論文では新しい枠組形成法を詳述した。本法による現在までの症例は 5 例と少数で、また、術後の経過期間も最長 1 年半と短いが、これまでの結果では、皮膚に余裕のある症例においては、新しい枠組によって予想通りの結果が得られた。今後、症例を重ね、長期的な結果を調べていく予定である。

この論文の要旨は、第 43 回日本形成外科学会関西地方会において発表した。

参 考 文 献

- 1) Brent, B.: Ear reconstruction with an expansile framework of autogenous rib cartilage. *Plast. Reconstr. Surg.*, 53: 619, 1974.
- 2) Matsumoto, K.: A new method of reconstruction in microtia with emphasis on conchal creation. *Ann. Plast. Surg.*, 5: 51, 1980.
- 3) Oneal, R. M., Rohrich, R.J. and Izenberg, P.H.: Skin expansion as an adjunct to reconstruction of the external ear. *Br. J. Plast. Surg.*, 37: 517, 1984.
- 4) Tanzer, R.C.: Total reconstruction of the external ear. *Plast. Reconstr. Surg.*, 23: 1, 1959.

(1985. 2. 1 受)

ABSTRACT

**Our Helical Framework of
Rib Cartilage**

*Ko Hosokawa, M.D.,**

*Takeo Susuki, M.D.,**

Tomoko Kikui, M.D. and*

*Shinya Tahara, M.D.**

The purpose of this article is to report our technique of helical framework construction. We present a desirable helical framework made of seventh rib cartilage, which has several advantages. It is thin, has sufficient projection, overhangs as an eave especially at its most cephalic portion, is structurally sound, and is easily made.

** Department of Plastic Surgery, Sumitomo Hospital,
Osaka, 530*
