

幼若ラットの口蓋における各種手術創の治癒過程に関する 組織学的ならびに走査電子顕微鏡的研究

伝 庄 信 也

札幌医科大学口腔外科学講座 (主任 小浜源郁 教授)

Histological and Scanning Electron Microscopic Studies on the Healing Process of Various Surgical Wounds on the Palate in Young Rats

Shinya DENSHO

*Department of Oral Surgery, Sapporo Medical College
(Chief : Prof. G. Kohama)*

The healing process of various palatal wounds according to palatoplasty was studied for up to 12 weeks postoperatively in young rats operated upon at 3 weeks of age, using macroscopical, microscopical and scanning electron microscopical observations.

In Group I with the cutting of palatal neurovascular bundle, few changes were seen histologically or scanning electron microscopically.

In Groups II-IV (II; elevation of mucoperiosteum, III; flap formation of mucoperiosteum, IV; excision of mucosa), with the preservation of the periosteum, obscure periosteum and degenerated bone were seen histologically, and resorbed changes were seen by scanning electron microscopy, in the early stage after operation. Fourteen days postoperatively, histological and scanning electron microscopic findings were similar to those on the unoperated side, that is to say, periosteal ossification was restored.

In Group V with the excision of mucoperiosteum, histologically, sequestered bone was seen in the early stage after operation, a layer of osteogenic cells appearing on the palatal surface of the bone at 14 days after operation. Following the development of submucosal scar tissue, the layer began to become obscure, and fibrous conjunction between bone and scar tissue was seen without distinct periosteum 56 days postoperatively. Scanning electron microscopic findings were unique in this group. Lack of blood vessel holes and osteocyte lacunae, irregularity of the bone surface and adherence of collagen fiber to the bone were seen at 84 days postoperatively, with no periosteal ossification eventually being noted.

From these findings, it can be stated that when the periosteum was preserved by operation on the palate, damage to bone was slight and periosteal new bone formation was restored. When mucoperiosteum was excised, however, damage to bone was marked, and regeneration of bone and perionsteum was prevented. It is suggested that this was caused by decrease in vascularization following the development of submucosal scar tissue.

(Received February 2, 1982 and accepted March 1, 1982)

1 結 言

唇裂、口蓋裂は顔面奇形の中でもきわめて頻度が高く、顔面の醜形と言語障害を有する疾患である。それ

ゆえ、これらの障害を克服するために、古くから種々の手術法が考案されてきた。

特に口蓋裂においては、良好な言語成績を得るための手術法として、言語発達初期の2歳未満に口蓋粘膜

骨膜弁を形成し、鼻咽腔閉鎖機能の獲得を主眼とした pushback 法¹⁾が広く用いられている。しかし、本法によると口蓋に広範な骨の raw surface を生じ、のちに著しい癒痕化をきたしやすいため、患児の成長に伴って起こる上顎骨発育障害と癒痕組織との関係が問題とされるようになってきた。^{2,3)}そこで上顎骨発育障害をも考慮して、硬口蓋部への手術侵襲を極力小さくし、良好な言語成績と上顎骨発育を同時に得る手術法の開発が試みられつつある。すなわち軟口蓋のみを幼児期に閉鎖し、ある程度上顎骨の成長をみた上で硬口蓋を閉鎖する multi-stage の術式を用いる方法^{4,5)}または粘膜炎を骨膜上で切開剝離する方法^{6,7)}などが報告されている。また小松、小浜⁸⁾は上顎骨発育を抑制せずに良好な言語発達を得るための手術法適応の診断基準の一つとして、術前の口蓋裂の鼻咽腔形態分類を試みている。この分類によると、鼻咽腔の比較的小さい症例では、手術侵襲の範囲を縮小することが可能であり、大きな鼻咽腔をもつ症例では、硬口蓋粘膜の広範な剝離が余儀なくされるが、その際骨面に raw surface をできるだけつくりたくないよう、骨膜上の剝離を行うことが可能であると報告している。これらの骨膜上剝離法を適応した術式によると、かなり良い成績が期待されるが、手術成績の長期予後調査はいまだ不十分であり、その基礎的検討も十分に行われていない現状である。

従来、口蓋部に創を作成することによる同部の創の治癒過程⁹⁻¹⁸⁾ならびに上顎骨発育抑制についての報告^{9,18-23)}があるが、口蓋形成手術に準じた各種の創を口蓋に形成し、その治癒過程を軟組織と硬組織の両面から検索した報告は見当たらない。そこで、幼若ラットの口蓋に種々の創を形成し、その治癒過程を炎症、器質化、骨の変性、骨膜の再生ならびに骨改造機転などの面から、組織学的検索を行った。また、骨の変性と骨新生は骨に進入する血管の影響を受けるとされており²⁴⁻²⁹⁾口蓋創傷による骨面の変化を、組織学的観察と並行して走査型電子顕微鏡 scanning electron microscope(以下 SEM と略)で観察し、骨面の吸収破壊、血管孔、骨形成などの様相³⁰⁻⁴²⁾を検索した。

これらの実験結果から、臨床における各種手術法と上顎骨発育との関連性を考察できるものと考え、その基礎実験として本研究を試みた。

2 実験方法

2.1 実験動物

実験材料には、離乳後間もない生後3週齢(約50g)の雄ウィスター系ラット190匹を用い、次項で述べる

ように手術群5、対照群1の計6群に分け実験を行った。

術後14日目までは創面への機械的刺激をできるだけ避けるのと、固形飼料に比較し食物摂取が容易と考え、オリエンタル社製粉末飼料を与え、その後は同じオリエンタル社製固形飼料を与えた。

飼育期間は、手術の治癒過程を経目的に観察しうるように、術後1, 3, 7, 14, 28, 56, 84日とし、各群の各期日に5匹ずつ(組織学的検索用3匹, SEM用2匹)をエーテル麻酔死させた後に断頭し、実験に供した。

2.2 各種手術群と創形成法

対照群以外の手術群は、口蓋形成手術創のモデルとして、口蓋形成手術の基本的手術手技に準じて、血流障害、粘膜骨膜剝離、粘膜骨膜弁の形成、粘膜下および骨面の raw surface について、創傷治癒過程が比較検討しうるように、Fig. 1のごとく Group I~V に分

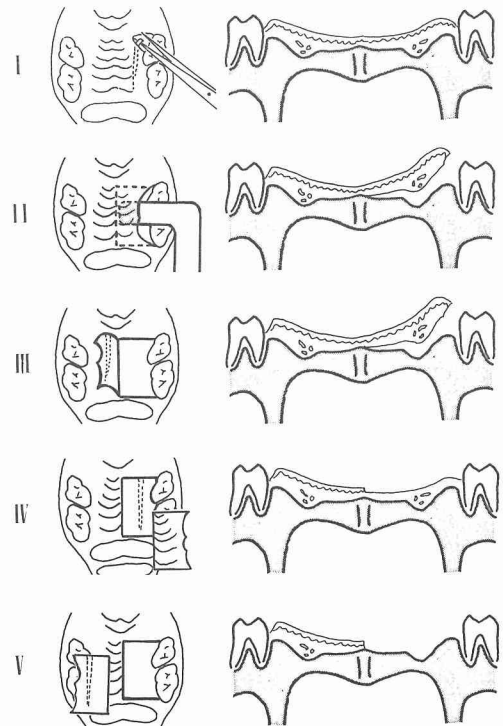


Fig. 1 Palatal aspect of rats in their 3rd postnatal week. Surgical designs for animals in each of the groups are shown; surgery was performed on the right side only. I : cutting of neurovascular bundle, II : elevation of mucoperiosteum, III : flap formation of mucoperiosteum, IV : excision of mucosa, V : excision of mucoperiosteum.

け手術創を形成した。手術はエーテル吸入麻酔下に行い、手術部位は臼歯部右半側硬口蓋で、右側上顎第1臼歯 M_1 近心部から、第2臼歯 M_2 遠心部までとし、その範囲は約 2.5×5 mm の大きさとした。各種手術創の形成は以下の方法に従って行った。

2.2.1 対 照 群

手術群の対照としては、手術群と同様に飼育された生後3, 7, 15週齢のラット15匹を用いた。すなわち手術創形成後の組織変化と口蓋の発育過程との関連性を観察するために、正常な口蓋の発育を示すラットの口蓋の組織変化を対照とした。

2.2.2 口蓋神経血管束(neurovascular bundle)

切断群 (Group I)

M_2 遠心部口蓋側歯頸部に切開を入れ、周囲組織に対する侵襲をできるかぎり最小限にするように考慮して、口蓋神経血管束を切断した。

2.2.3 粘膜骨膜剝離群 (Group II)

M_1 ~ M_2 口蓋側歯頸部に切開を入れ、口蓋神経血管束を損傷しないように、同部より粘膜骨膜を剝離し、弁を形成せずに元にもどした。

2.2.4 粘膜骨膜弁形成群 (Group III)

M_1 ~ M_2 口蓋側歯頸部と M_1 近心部、 M_2 遠心部に横切開を入れ、口蓋正中部を基部とする M_1 ~ M_2 の長方形の粘膜骨膜弁を形成し、弁は元にもどし手指で圧迫した。その際、口蓋神経血管束は切断した。

2.2.5 粘膜切除群 (Group IV)

骨膜に達しないように、 M_1 ~ M_2 口蓋側歯頸部および口蓋正中に縦切開、 M_1 近心部と M_2 遠心部に横切開を入れ、11番のメスで口蓋動静脈を損傷しないように粘膜を切除し、骨膜上の raw surface を形成した。

2.2.6 粘膜骨膜切除群 (Group V)

Group IV と同様の切開線にそって骨まで達するように切開を入れ、粘膜骨膜を切除して骨を露出した。さらに露出骨は小綿球にて擦過し、残っている軟組織を除去した。

2.3 観 察 方 法

2.3.1 肉眼的観察

断頭後、口蓋部粘膜上皮の再生、骨面の状態、口蓋ヒダの変化などの観察を行った。

2.3.2 組織学的観察

肉眼的観察を行った後、10%中性ホルマリンで固定した頭蓋骨から硬口蓋部の前額断ブロックを作成し、Plank u. Rychlo 法で脱灰した後パラフィン包埋し⁴³⁾、薄切後ヘマトキリン・エオジン、マッソン染色を行って検鏡した。

2.3.3 SEM による観察

10%中性ホルマリンで固定した組織は、骨面を損傷することなくピンセットで軟組織を除去後、水洗し4%次亜塩素酸ナトリウム溶液中に10分間放置し、さらに1%トリプシン溶液中に37°Cで120時間放置して細胞成分を溶解した。その後超音波洗浄し、アセトン系列で脱水し、酢酸イソアミルで置換後、炭酸ガスで臨界点乾燥をして、観察面にカーボンコーティングと金イオンコーティングを施し、走査型電子顕微鏡 (Mini-SEM) で観察した。

観察部位は骨口蓋の横口蓋縫合より前方で口蓋溝部とした (Fig. 15)。同部は骨面が平坦で観察しやすく、創の中央部に位置し手術による影響を最も受けやすい部位ということから、観察部位として選択した。

3 成 績

3.1 肉眼的、組織学的所見

3.1.1 対 照 群

肉眼的には、生後3週齢のラットの口蓋には数条の横口蓋ヒダが認められ、上顎第1, 2臼歯がみられた。生後5週目ごろに、上顎第3臼歯が萌出していた。

組織学的には、生後3週齢ラットの口蓋側骨梁は海綿状を呈し、その表面には2~3層の骨芽細胞が付着しており、骨膜は厚く細胞成分に富んでいた。骨芽細胞の形態は大型で卵円形を呈し、新生骨のさかんな形成がみられた。粘膜下組織は疎性結合組織に乏しく、口蓋動静脈、口蓋神経を認めた。また鼻腔側には、一層の薄い骨膜とその外側には繊毛上皮を認めた (Fig. 3)。

その後加齢的に口蓋側骨面は平坦化し、骨膜は薄く層状構造が明確になり、骨芽細胞数は減少していた。

生後15週齢の対照群では、骨は大部分緻密骨で、平坦な口蓋側骨面には薄い線維性の骨膜が被覆しており、骨芽細胞は一層の配列を呈し、その密度は粗で細胞形態は扁平、小型であった (Fig. 4)。

3.1.2 口蓋神経血管束切断群 (Group I)

肉眼的には、 M_2 遠心部の切開創が術後3日目までみられるが、術後7日目からは非手術側と類似の所見であった。

組織学的所見では上皮、粘膜下組織、骨膜、骨芽細胞の形態、密度および骨組織は非手術側と類似の所見を呈し、その状態は術後1日目から84日目まで変化がみられなかった。

3.1.3 粘膜骨膜剝離群 (Group II)

肉眼的には、歯頸部の切開創以外、横口蓋ヒダなどの変化はみられず、創は術後3日目で治癒し、非手術

側とほとんど区別ができなかった。

組織学的所見では、術後1日目の粘膜下組織には出血、浮腫、軽度の炎症細胞浸潤を認め、口蓋側骨膜は不鮮明で骨芽細胞もきわめて少なかった(Fig. 5)。口蓋側骨表層の骨細胞の核に変性消失を認め、鼻腔側の骨膜にはやや肥厚がみられた。

術後3日目でも、粘膜下層に軽度の炎症細胞浸潤がみられ、口蓋側骨膜は不鮮明で骨芽細胞は少なかった。口蓋側骨表層に骨細胞の核の変性、消失を認め、歯槽骨部の骨髄内に少数の破骨細胞がみられた。一方、鼻腔側の骨髄内には多数の骨芽細胞が増殖し、類骨の形成がさかんであった。

術後7日目では、上皮、粘膜下組織、鼻腔側粘膜骨膜、骨の性状とも非手術側と同様の所見を示し、口蓋側骨膜においても、非手術側と類似の所見を呈していた(Fig. 6)。

術後14日目以後では、上皮、粘膜下組織、骨膜および骨の性状とも非手術側との間に特に差はみられなかった。しかし手術側の骨は非手術側と比較してやや薄く、それは術後84日目まで同様の傾向であった。

3・1・4 粘膜骨膜弁形成群 (Group III)

口蓋部の切開創は術後3日目ごろには、治癒傾向を示し、術後7日目以後の口蓋の形態、横口蓋ヒダは、非手術側とほぼ同様の所見であった。

組織学所見では、術後1日目の粘膜下組織には軽度の炎症細胞浸潤、出血をみとめ、口蓋側骨膜は一部にその形態をとどめるが、大部分は層状構造を失い骨芽細胞もほとんど認められなかった(Fig. 7)。

術後3日目では、粘膜下層の軽度の炎症細胞浸潤と口蓋側骨膜の不鮮明化がみられ、口蓋側の骨表層には骨細胞の核の変性消失を認め、少数の破骨細胞が付着していた。

術後7日目の口蓋側骨膜は明確な層状構造を示し、非手術側に比較し、やや肥厚していた。また骨梁は非手術側との間に差は認められなかった(Fig. 8)。

術後14日目では上皮、粘膜下組織、骨膜、骨梁などは非手術側と類似の所見を示し、術後28日目以後では手術側の骨は非手術側に比較してやや非薄であった。

3・1・5 粘膜切除群 (Group IV)

肉眼的には、術直後は粘膜下組織が露出しており、その後同部は肉芽で被覆され周囲からの上皮の再生が進む。術後7日目でも一部肉芽組織が認められ、術後14日目で創は再生された上皮で覆われていた。再生された上皮表面には口蓋ヒダはみられず、やや瘢痕様であった。

組織学的所見では、術後1日目の粘膜下組織は口腔に露出しており、口蓋神経血管束は保存されていた。その周囲には軽度の炎症細胞浸潤をみとめ、口蓋側骨膜は不鮮明で骨芽細胞の数は非手術側に比較し著しく少なく、骨表層の一部に骨細胞の核の変性消失を認めた。

術後3日目より上皮細胞の遊走(migration)が開始されるが、まだ大部分は肉芽組織で被われ多数の炎症細胞浸潤を認め、口蓋側骨膜は不鮮明で、骨芽細胞の数もきわめて少なかった。口蓋側骨表層には骨細胞の核の変性消失を認め、骨面ならびに骨髄内に破骨細胞の出現をみた。

術後7日目では、創中央部は依然として肉芽組織で覆われ、一部に器質化が開始されていた。創周囲から再生された上皮の表皮突起は反応性に増殖していたが、角質層は薄かった。口蓋側骨膜の構造は不鮮明であり(Fig. 9)、また歯槽骨骨髄内にはわずかに破骨細胞が認められた。

術後14日目において上皮は完全に再生され、表皮突起の反応性増殖とその下部組織の器質化が進行していた。口蓋側骨膜は明確な層状構造を示しやや肥厚していたが、骨は非手術側に比較し非薄であった(Fig. 10)。

術後28日目以後は上皮、粘膜下組織、骨膜は非手術側との間に差はみられなかった。手術側の骨はやや非薄で、この所見は術後84日目まで持続していた。

3・1・6 粘膜骨膜切除群 (Group V)

肉眼所見は術直後は骨面が広く露出しており、術後3日目で大部分は肉芽で覆われ、周囲からの上皮の再生がみられた。術後7日目でも肉芽の露出している部分が多く、術後14日目で手術部は再生された上皮で被覆されていた。再生された上皮表面は瘢痕様の所見で、同部に口蓋ヒダは認められなかった(Fig. 2)。

組織学的所見では、術後1日目の口蓋側の骨細胞は深部まで核の変性壊死をきたし、露出した骨面には、多数の好中球を混じた細菌集塊が付着していた。炎症細胞浸潤は骨髄内にも波及し、鼻腔側骨膜は軽度の肥厚がみられたが、鼻腔側骨組織には変性壊死はみられなかった。

術後3日目には、上皮は非手術側の一部が肥厚し、わずかにmigrationがみられた。骨細胞は鼻腔側に達するまで核の消失をみとめ、露出している骨面には多数の細菌集塊が付着し、鼻腔側骨面には多数の破骨細胞が付着していた。鼻腔側の骨膜は著明な肥厚を認め、壊死性変化をまぬがれた鼻腔側骨表面には、多数の幼若間葉細胞が出現し、樹枝状の類骨が形成されていた(Fig. 11)。

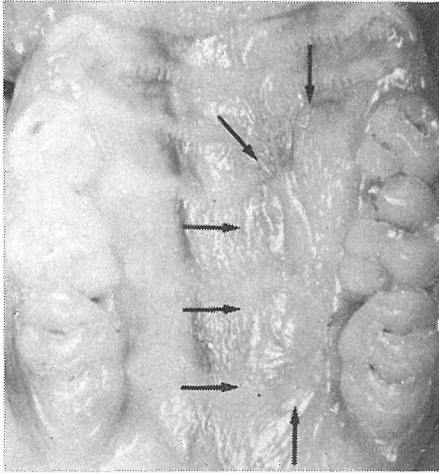


Fig. 2 Palatal aspect of maxilla from Group V at 84 days after operation. Note the marked development of scar tissue (arrows) on the operated side. X 3.

術後7日目の口蓋側の骨は壊死におちいり、同部は肉芽組織で置換されていた。壊死骨は肉芽組織によって、まさに排除されようとしており、周囲には破骨細胞が付着していた。壊死性変化をまぬがれ、残存した骨周囲には、多数の幼若間葉細胞がみられ、類骨の形成を認めた。上皮は周囲から migration が進行するが、依然として肉芽組織に覆われている部分が多かった。

術後14日目で、上皮は完全に再生され、その下部組織は線維性結合組織や線維芽細胞で満たされ、その線維の走行はほぼ骨面に平行であった。口蓋側骨面には多数の骨芽細胞が配列し、骨膜様の形態を備えて、不規則ながら類骨の形成を認めた (Fig. 12)。

術後28日目の表皮突起は不規則な形態をとり、歯槽部の方向へ傾斜する配列を示し、再生された上皮の下部組織は密な線維性結合組織で満たされていた。口蓋側骨面に形成された骨芽細胞層はやや不鮮明になるが、新生骨の形成を認めた (Fig. 13)。しかし手術側の骨は非手術側に比較し、菲薄であった。

術後56日目では、上皮下の線維性結合組織は癒痕化が進み、膠原線維束を形成していた。口蓋側骨膜は一層不鮮明になり、骨面に付着する骨芽細胞の配列も乱れていた。口蓋側の骨梁は海綿状で、上皮下の線維性結合組織と骨は膠原線維で密に結合していた。

術後84日目の表皮突起は歯頸部に傾斜し、上皮下の線維性結合組織は術後56日目と同様に膠原線維束を形成していた。明確な骨膜はみられず、線維性結合組織と骨が直接結合している像を呈していた (Fig. 14)。

3.2 S. E. M. 所見

3.2.1 対照群における所見

生後3週齢のラットの口蓋部骨面は、口蓋正中縫合、横口蓋縫合が確認でき、骨口蓋表面は歯槽部、正中部付近では骨面凹凸不整で楕円形の血管孔が多数開存していた (Fig. 15)。血管孔は大きく、周囲基質の少ない蜂巣状を呈していた。一方口蓋溝部は前者に比較し骨面は平坦で血管孔も円形に近く、周囲基質には直径15~20 μ の不正円形の骨小腔がみられた (Fig. 16)。

その後、加齢とともに口蓋溝部の血管孔の密度は減少し、周囲基質の占める割合が大きくなっていった。

生後15週齢ラットの同部の血管孔は小さく円形を呈し、基質は平坦で骨小腔は少なかった (Fig. 17)。

3.2.2 Group I

術後1日目の血管孔の形態、密度、周囲基質の形状とも非手術側との間にほとんど差はみられず、それは術後84日目まで変化はみられなかった。術後3日目に血管孔の密度がわずかに増加し、部分的に吸収窩⁴⁰⁾がみられるが (Fig. 18)、一過性的な変化で、術後7日目以後は非手術側と同様の所見を呈していた (Fig. 19)。

3.2.3 Group II

術後1日目では卵円形あるいは円形の血管孔を認め、周囲基質は一部構造が不明確になり、骨面には蛇行する線維成分が認められた。また血管孔内あるいは骨面に不定形の汚物の付着を認めた。

術後3日目の骨面は凹凸不整で、多数の吸収窩を認め、その辺縁は鋭利で著しい吸収像を呈していた。血管孔は残存していたが、その配列や大きさは不規則であった。

術後7日目の血管孔は術後3日目より不鮮明で周囲基質は鋭利な骨面を形成し、多数の吸収窩が認められた (Fig. 20)。

術後14日目では浅い吸収窩がわずかに見られるが、血管孔も再構築され、骨基質にも骨小腔が多数存在し、骨新生がさかんに進行している所見を呈していた (Fig. 21)。

術後28日目以後も血管孔の形態、密度、および骨小腔の密度など非手術側と類似の所見を示していた。

3.2.4 Group III

術後1日目では、血管孔、骨小腔とも非手術側と類似の所見であるが、骨面には線維成分が付着していた。

術後3日から7日目では血管孔はわずかに残存しているものの、多数の吸収窩を認め、その辺縁は鋭利で著しい吸収像を示していた (Fig. 22)。

術後14日目にいたり、骨面は一部吸収窩が残存するが、大部分は再生された血管孔と周囲基質に骨小腔の

存在を認め (Fig. 23), 術後 28 日目も非手術側と類似の所見を呈し, 術後 84 日目まで変化はみられなかった。

3・2・5 Group IV

術後 1 日目では血管孔, 骨小腔など非手術側と類似の所見を示していた。

術後 3 日目より術後 7 日目にかけて, 吸収窩が多数出現し, 骨面は凹凸不整で血管孔, 骨小腔はほとんどみられなかった (Fig. 24)。

術後 14 日目では手術側の骨面, 血管孔の密度, 形態とも非手術側と類似の所見で (Fig. 25), それ以後も手術側と非手術側とは類似の所見を示していた。

3・2・6 Group V

術後 1 日目の血管孔, 骨基質はほぼ非手術側と類似の所見であったが, 術後 3 日目で, 骨面は多数の吸収窩が認められ (Fig. 26), 一部に壊死骨と思われる線維成分に乏しい不均一な構造物を認めた (Fig. 27)。

術後 7 日目でも多数の吸収窩がみられ (Fig. 28), 強拡大では膠原線維の断裂を認めた (Fig. 29)。

術後 14 日目の骨面には血管孔, 骨小腔などの構造が認められず, 表面は著しく不規則な形態を示していた。

術後 28 日目では骨面は凹凸不整で, 血管孔, 骨小腔などの構造はみられなかった (Fig. 30)。

同じく術後 56 日～84 日目でも骨面に血管孔は認められず, 表面は比較的平坦になるが, 縦横に線維成分が走行して骨を覆っている像を呈していた (Fig. 31)。

3・3 各群における成績の比較

以上述べた光顕および SEM 所見の特徴をまとめると, Table 1, 2 のようである。すなわち, I 群は各組織にほとんど変化がみられず, II, III 群では術後早期に骨膜の不鮮明化と口蓋側骨表層の骨細胞の変性ならびに骨の吸収がみられたが, 組織学的には術後 7 日目に骨膜, 骨ともほぼ正常な形状に復し, SEM 所見でも術後 14 日目には正常な骨面の様相を示していた。IV 群では, 術後 14 日目に上皮が再生し, II, III 群に比較し骨膜の鮮明化が若干遅延する傾向を示すが, その後は II, III 群と類似の治癒経過を示していた。

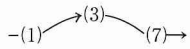
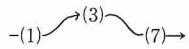
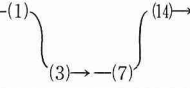
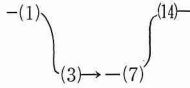
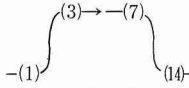
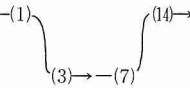
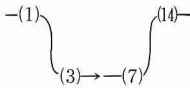
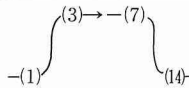
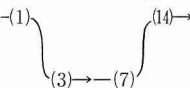
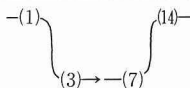
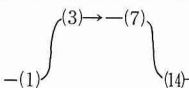
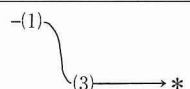
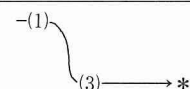
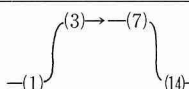
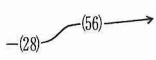
一方 V 群では骨の壊死性変化がみられ, 術後 14～28 日目に骨膜様組織の形成を認め, 同組織は, 粘膜下組織が癒着化するところから, 不鮮明化していった。また SEM 所見で, 長期間にわたり骨面は著しく不規則な様相を呈し, 正常な血管孔が再構築されなかった。さらに骨面は密な線維成分が付着している像を呈していた。

Table 1 Histological findings in each group

	mucosa	submucosa	periosteum	bone
Group I cutting of neurovascular bundle				
Group II elevation of mucoperiosteum		slight inflammation (1~3)	obscure (1) ↓ normal (7)	degeneration (1) ↓ normal (7)
Group III flap formation of mucoperiosteum		slight inflammation (1~3)	obscure (1) ↓ normal (7)	degeneration (1) ↓ normal (7)
Group IV excision of mucosa	migration (3~14)	moderate inflammation (1~14) ↓ slight fibrosis (14~)	obscure (1) ↓ normal (14)	degeneration (1) ↓ normal (7)
Group V excision of mucoperiosteum	migration (3~14)	marked inflammation (1~14) ↓ fibrosis (14~) ↓ collagen bundle (56~)	fibrous layer with osteoblast (14~28) ↓ not clear (56~)	degeneration (1) ↓ sequester (3) ↓ osteoid (7~28)

() : postoperative days

Table 2 Scanning electron microscopic findings in each group

	blood vessel holes	osteocyte lacunae	resorption lacunae	collagen fiber adhered to bone
Group I cutting of neurovascular bundle				
Group II elevation of mucoperiosteum				
Group III flap formation of mucoperiosteum				
Group IV excision of mucosa				
Group V excision of mucoperiosteum				

Arrows indicate increase or decrease in number.

() : postoperative days

* : irregularity of bone surface

4 考 察

口蓋裂児では、正常な言語機能を獲得する上で、1~2歳の幼児期に破裂部の閉鎖手術を行うことが望ましいとされている。しかしながら本手術は、口蓋粘膜の広範な剝離移動を余儀なくし、術後に骨あるいは骨膜上の raw surface を生じ、癢痕化をきたしやす。したがって、幼児期の口蓋部の癢痕化と骨組織の障害の程度は、成長期にある患児の上顎骨発育に大きな障害を及ぼす可能性があると考えられている。^{2,3)} それゆえ近年では、上顎骨発育の観点から、raw surface の範囲をできるだけ少なくし、癢痕化を防止する手術法も試みられつつある。⁶⁻⁸⁾ しかしその臨床成績の調査および基礎的検討はいまだに不十分であり、特に骨組織への影響に関する検索は行われていない現状である。

本研究では、ヒト口蓋手術創のモデルとして、種々の手術侵襲を反映するように、ラットの硬口蓋部に各種口蓋形成手術法に準じた5群の手術創を形成してその治癒過程を検索し、その臨床的意義について考察を試みた。

ラットの硬口蓋は、ヒト口蓋組織と同様に硬い粘膜骨膜が骨を覆っており、線維性の骨新生からなる層板骨を形成し、しかもラットでは成長が早いので全成長期を通して、短期間に創形成後の治癒過程ならびに上顎骨発育への影響を観察できる特徴をもっていること

から、実際の臨床における幼児期の口蓋形成手術創のモデルとして利用しようと考えられた。

以下、各種手術創が上皮、粘膜下組織、骨膜および骨の各組織に及ぼす影響について各群間の比較検討も行った。

すなわち、上皮の再生過程についてみると、粘膜あるいは粘膜骨膜を切除し開放創を形成したIV、V群において、上皮組織の再生は早期よりみられ、術後14日目では再生上皮によって覆われ、両群に差はほとんどみられず、骨膜保存の有無の関与は認められなかった。また開放創の炎症は治癒経過とともに軽減したが、上皮化完了までみられ、表皮突起は反応性に増殖していた。特にV群の長期観察例では表皮突起が歯槽部の方向へ傾斜していた。このような表皮突起の側方面への傾きは、側方向へ発育する骨口蓋と発育しない癢痕組織による発育方向の歪みによって惹起されたものと考えられた。

粘膜下層の癢痕化はIV群では軽度であり、V群では顕著であった。特にV群では、粘膜下層は線維成分で満たされ、術後56日目の所見では膠原線維束を形成し、なおかつ骨膜を介在することなく直接、骨と結合していた。¹⁸⁾ この膠原線維束と骨との直接の結合は光顕、SEM いずれにおいても観察された。すでに伝庄ら¹⁸⁾は、収縮能を有する癢痕組織⁴⁴⁻⁴⁶⁾と骨との直接の結合を認め、上顎骨の発育抑制を惹起する所見を報告している

が、今回の実験でも類似の所見であった。一方 I, II, III群では組織欠損がなく開放創が存在しないため、癒痕化はほとんど見られなかった。

骨膜の変化では II, III群の骨膜剝離群についてみると、術後 1~3 日目で骨膜の不鮮明化がみられ、術後 7 日目ではほぼ非手術側と類似の所見を示していた。またこれらの所見は II, III群との間に差はみられず、口蓋動脈、神経の切断の有無との関連はみられなかった。II, III群と同様の実験報告^{17,47)}では、治癒過程における早期の変化については検索しておらず、術後 15 日目に骨膜の著明な肥厚がみられたと述べているが、今回の実験では肥厚は軽度であった。骨膜の反応性の肥厚は骨膜下の死腔および血腫の形成に左右されると考えられるので、著者は創形成後に粘膜骨膜を手指で圧迫し、死腔の形成をできるだけ防止したため、骨膜の肥厚が軽度であったと考えられた。

IV群の粘膜を切除して粘膜下組織を保存した例でも、骨膜の不鮮明化がみられ、II, III群に比較し、骨膜の鮮明化が若干遅延する傾向を示すが、上皮が再生し炎症が消退する術後 14 日目には、非手術側と類似の所見を呈し、軽度の骨膜の反応性肥厚を認めた。しかし術後 28 日目以後は、骨膜の肥厚はみられなかった。すなわち骨膜保存例においては、術後 7~14 日目で骨新生能を回復していた。⁴⁸⁻⁵⁰⁾

V群の粘膜骨膜切除例では、伝庄ら¹⁸⁾は犬による実験で骨膜様組織^{9,10,51)}を認め、長期観察群における同組織の不鮮明化を報告している。今回のラットによる実験でも同様の所見で、膠原線維束が形成されることから、骨膜様組織の不鮮明化が観察された。これは粘膜下組織の癒痕化に伴い、幼若間葉組織から分化した骨膜様組織^{18,51)}も線維化し、骨膜としての形態と機能が損なわれていったものと考えられた。

骨への影響についてみると、I群ではほとんど異常所見を認めず、非手術側と類似の所見を呈していた。II, III, IV群の骨膜保存例では組織学的には、手術後早期に口蓋側骨表層に骨細胞の変性を認めるが、術後 7 日目以後はほぼ非手術側と同様に類骨の形成が認められた。¹⁷⁾しかし骨面の SEM 所見では、術後 7 日目まで骨の吸収窩がみられ、術後 14 日目になって骨面の形状、血管の構築ならびに骨小腔は、非手術側と同様の所見を示していた。組織学的に手術側の骨が、非手術側と類似の所見を示している同時期の SEM 所見で、さかんに吸収改造している像を示しているということは、骨膜は術後 7 日目に形態的にはほぼ正常に復し、機能的にはその後も、術後 14 日目まで骨膜性の吸収改造が進

行しているものと考えられた。すなわち II, III, IV群の骨膜保存例では、術後 14 日目になると、口蓋側の骨膜は、正常な骨膜性の骨新生能を回復することが推察された。

しかし、骨膜保存例での骨口蓋の厚さについてみると、術後 3 日目ごろから手術側に軽度の非薄化がみられ、正常な骨膜性の骨新生が回復しても、同様の傾向が持続していた。この所見はさかんに成長する幼児期での手術による口蓋側の骨の変性、吸収および骨新生の停止による一時的な骨形成遅延と関連があるものと推察された。また、なかにはほぼ非手術側と同程度の骨の厚さを示す例もみられたが、それらは組織レベルでの catch-up growth^{52,53)}が獲得されたものと考えられた。

一方、V群の粘膜骨膜を切除した例においては、口蓋側の骨の血流障害に加えて、機械的刺激および感染による炎症性変化が長期間にわたって持続し、骨の傷害は大で、^{12-14,19)}術後 14~28 日目になると骨膜様組織の出現とともに骨新生が認められるが、^{12,13,18)}その後は徐々に骨膜様組織は不鮮明化し、骨新生は低下する傾向を示していた。また術後 3~28 日目の鼻腔側骨膜は肥厚し、さかんな骨新生が観察され、口蓋側骨組織の傷害に対する、代償性の骨新生と考えられた。¹⁸⁾SEM 所見での口蓋側骨面は、術後 3 日目ごろから血管孔が認められなくなり、著しい骨の吸収と壊死性変化が術後 7 日目まで確認された。その後も術後 14 日目から 84 日目まで血管孔の再構築は乏しく、骨質に骨小腔もほとんど認められず、また術後 56 日目以後の長期観察群では、骨面に密な線維性組織の付着がみられた。すなわち組織所見で一時期骨膜様組織と類骨の形成が認められるが、SEM 所見では骨膜部を介しての骨への血流、骨小腔の形成が障害され、骨膜性の骨新生を獲得できなかったものと考えられた。

以上の光顕、SEM 所見をまとめると、口蓋部の創傷における治癒機転は、各種手術侵襲によって惹起される炎症の程度と骨膜の介在の有無によって大きく左右された。すなわち骨膜保存例においては、軽度の炎症と口蓋側骨表層の変性吸収がみられるが、術後 14 日目には骨膜性の骨新生が認められた。一方、粘膜骨膜切除例では、著明な炎症と骨の壊死性変化がみられ、粘膜下組織の癒痕化に伴い骨膜および骨の再生能、骨の血管孔の再構築が障害され、同様に骨小腔の形成もほとんど認められない所見を示し、骨膜性の骨新生が認められなかった。さらに粘膜骨膜切除群での癒痕組織との直接の結合は、骨の発育に抑制的に作用するもの

と考えられた。

以上の実験成績から、直接臨床的意義を求めることは、なお飛躍があるが、本実験において癒痕組織の形成と顎骨に与える影響との関連性がみられたことから、臨床的意義を考察することは重要と考えられた。

臨床例において、現在最も広く用いられている pushback 法を適応し、粘膜骨膜弁を広範に剝離移動すると著しい術後の上顎骨発育不全が多数経験され、これらの所見は本実験の V 群における raw surface 形成後に生じた癒痕組織による著しい骨組織傷害に類似した所見ともみなされ、実際の臨床でも同様の骨組織の傷害が起こりうる可能性を示すものと考えられた。また I～IV 群の実験成績では、骨組織の傷害が軽微であったことをも考慮に入れると、幼児における口蓋形成手術の適応にあたって、特に上顎骨発育の観点からは手術侵襲の少ない Langenbeck¹⁾法かまたは、破裂の閉鎖のために、口蓋粘膜弁の広範な剝離移動を余儀なくされる場合には、極力口蓋骨面に raw surface を形成しない骨膜上剝離法などの術式が、より大きな利点を有するものと、実験を通して示唆された。

5 結 論

幼若ラットの口蓋部に口蓋形成術に準じた各種の創を形成し、その治癒過程を経時的に組織学的ならびに SEM による観察を行い、次の結果を得た。

1. 口蓋神経血管束の切断例では、口蓋部組織の組織学的変化は認められず、SEM 所見でも骨にほとんど影響がみられなかった。

2. 骨膜保存例 (II, III, IV 群) において組織学的所見では、骨膜の不鮮明化、骨の変性を認めるが、II, III 群では術後 7 日目に、IV 群では術後 14 日目に非手術側と類似の所見を呈していた。SEM 所見でも、術後早期には骨の著しい吸収変化を認めるが、術後 14 日目には、非手術側と同様の骨面、血管構築、骨小腔の形態を示していた。すなわち骨膜保存例においては、術後 14 日目には骨膜性の骨新生能を回復していた。

3. 粘膜骨膜切除例 (V 群) における組織学的変化は、骨の壊死性変化が著明で、術後 14 日目ごろから口蓋側骨面に骨膜様組織を認め、類骨の形成を認めるが、粘膜下組織の癒痕化に伴い、骨膜様組織は不鮮明になっていた。56 日以後は骨と癒痕組織は明らかな骨膜を介在することなく線維性の結合を示していた。また SEM による観察では、骨の壊死性変化がみられ、その後も骨の血管構築に乏しく、骨面の不規則性と、さらに癒痕組織による被覆が認められ、骨膜性の骨新生は

みられなかった。

4. 以上の結果は口蓋部の創において、骨膜を保存した例では、骨の損傷は軽度であり、一方粘膜骨膜切除例では、骨膜ならびに骨の再生が長期間にわたり障害されることを示し、その障害の原因として、粘膜下組織の癒痕化に伴う骨への血流障害が主なものであると考えられた。従って口蓋形成手術に際し、上顎骨発育の観点から、できるだけ骨面に raw surface を生じない術式を選択することは、大きな利点を有すると考えられた。

謝 辞

稿を終るに臨み、終始御指導と御校閲をいただいた小浜源郁教授、ならびに御校閲をいただいた本学病理学第 2 講座小野江為則教授、北海道大学歯学部口腔病理学講座雨宮璋教授に深謝いたします。さらに本研究を行うにあたり御教示いただいた Department of Oral Pathology, Harvard Dental School 小田島哲世博士、また御援助いただいた教員各位、石塚久恵研究補助員に感謝いたします。

文 献

1. 鬼塚卓弥：形成外科手術書，528-533，南江堂，東京（1969）。
2. 広瀬恒久：口蓋形成術後における上顎歯弓の経時的变化の観察—口蓋裂単独症例について—。日口蓋誌 4, 15-47（1979）。
3. Dahl, E.: Transverse maxillary growth in combined cleft lip and palate. A longitudinal roentgencephalometric study by the implant method. Cleft Palate J. 16, 34-41（1979）。
4. Slaughter, W. B., Pruzdinsky, S. and Harris, H. L.: Cleft lip and cleft palate: Surgical considerations. Pediat. Clin. N. Amer. 3, 996-1046（1956）。
5. Hotz, M. and Gnoinski, W.: Comprehensive care of cleft lip and palate children at Zürich University: A preliminary report. Amer. J. Orthodont. 70, 481-504（1976）。
6. Perco, M. A.: Primary closure of the cleft palate using a palatal mucosal flap: An attempt to prevent growth impairment. J. Max-Fac. Surg. 2, 40-43（1974）。
7. 上石 弘：口蓋粘膜弁による口蓋形成術。形成外科 22, 790-796（1979）。
8. 小松世潮，小浜源郁：唇顎口蓋裂児の術前の鼻咽腔形態に関する検討，第 II 報口蓋裂型と鼻咽腔形態の関連について。日口蓋誌 5, 131-144（1980）。

9. Herfert, O.: Fundamental investigations into problems related to cleft palate surgery. *Brit. J. Plast. Surg.* **11**, 97-105 (1958).
10. Dabelsteen, E. and Kremenak, C. R.: Demonstration of action in the fibroblasts of healing palatal wounds. *Plast. Reconstr. Surg.* **63**, 429-435 (1978).
11. Searls, J. C., Kremenak, C. R. and Rittnan, B. R.: Quantitative characterization of changes in cellularity and collagen fiber size in contracting palatal wounds. *Cleft Palate J.* **16**, 373-380(1979).
12. 奥田勝計: 口蓋における凍結創および外科的切除創の治癒過程について. *日口外誌* **26**, 1183-1200 (1980).
13. 新橋 武, 石井昌博, 友成 博, 猪熊 勉, 土田義隆, 大島 襄, 須賀昭一: 口蓋に対する侵襲が顔面骨に及ぼす影響についての硬組織的研究(第III報) *形成外科* **23**, 459-461 (1980).
14. 稲村とし江, 松本康博, 瀬戸皖一, : 口腔粘膜における創傷治癒過程の観察, *形成外科* **23**, 496-497 (1980).
15. Jonsson, G. and Hallmans, G.: Healing of palatal defects with and without skin grafts. An intraindividual experimental study on dogs. *Int. J. Oral Surg.* **9**, 128-189 (1980).
16. 稲村とし江: 走査電顕による口蓋粘膜の創傷治癒過程の観察, *鶴見歯学* **6**, 41-61 (1980).
17. Barro, W. B. and Latham, R. A.: Palatal periosteal response to surgical trauma. *Plast. Reconstr. Surg.* **67**, 6-16 (1981).
18. 伝庄信也, 小松世潮, 北 進一, 小田島哲世: 幼犬の口蓋粘膜骨膜切除による上顎骨発育の変化に関する実験的研究, *札幌医誌* **50**, 499-512 (1981).
19. 森谷研介: 口蓋裂修復術に関する実験的研究. *日耳鼻* **69**, 1738-1749 (1966).
20. Kremenak, C. R., Huffman, W. C. and Olin, W. H.: Growth of maxillae in dogs after palatal surgery: I. *Cleft Palate J.* **4**, 6-17 (1967).
21. Kremenak, C. R., Huffman, W. C. and Olin, W. H.: Growth of maxillae in dogs after palatal surgery: II. *Cleft Palate J.* **7**, 719-736 (1970).
22. Searls, J. C. and Biggs, D. R.: Surgically induced maxillary growth inhibition in rats. *Cleft Palate J.* **11**, 1-16 (1974).
23. Jonsson, G. and Stenström, S.: Maxillary growth after palatal surgery. An experimental study on dogs. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* **12**, 131-137 (1978).
24. Trueta, J.: The role of the vessels in osteogenesis. *J. Bone Joint. Surg.* **45-B**, 402-418(1963).
25. Silberman, F. S., Solá, C. K. and Cabrini, R. L.: A study of the vascular distribution after periosteal stripping of the long bones. *Surg. Gynec. Obstet.* **125**, 1311-1315 (1967).
26. Rhineland, F. W. and Ohio, C.: The normal microcirculation of diaphyseal cortex and its response to fracture. *J. Bone Joint. Surg.* **50-A**, 784-800 (1968).
27. 清水博文: 骨移植に関する実験的研究. *日口外誌* **14**, 2-16 (1968).
28. Bell, W. H.: Revascularization and bone healing after anterior maxillary osteotomy: a study using adult rhesus monkeys. *J. Oral Surg.* **27**, 249-255 (1969).
29. Bell, W. H., Fonseca, R. J., Kennedy, J. W. and Levy, B. M.: Bone healing and revascularization after total maxillary osteotomy. *J. Oral Surg.* **33**, 253-260 (1975).
30. Boyde, A. and Hobdell, M. H.: Scanning electron microscopy of lamellar bone. *Z. Zellforsch.* **93**, 213-231 (1969).
31. Boyde, A. and Hobdell, M. H.: Scanning electron microscopy of primary membrane bone. *Z. Zellforsch.* **99**, 98-108 (1969).
32. 滝口励司: 走査型電子顕微鏡による無歯顎顎堤表面の形態学的研究. *歯科学報* **74**, 1677-1684 (1974).
33. 滝口励司: 走査電子顕微鏡による無歯顎の歯槽堤の表面の微細構造. *歯科学報* **76**, 1911-1918 (1976).
34. Sela, J., Bone remodeling in pathologic conditions. A scanning electron microscopic study. *Calcif. Tiss. Res.* **23**, 229-234 (1977).
35. 滝口励司: 歯槽部の骨隆起の走査電顕所見. *歯科学報* **77**, 545-548 (1977).
36. 滝口励司, 江川 薫, 申 富雄: ラットの骨口蓋の走査電子顕微鏡的研究. *歯基礎誌* **21**, 285-291 (1979).
37. Egawa, K., Suzuki, I. and Takiguchi, R.: Fine structure of the osteocyte lacunar wall. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* **21**, 127-135 (1980).
38. 江川 薫, 井出吉信: 老齢ラットの顎骨表面の血管孔の走査電子顕微鏡的研究. *歯科学報* **80**, 113-116 (1980).
39. 祐川励起: 走査電子顕微鏡によるヒト頭蓋冠頭頂部の観察. *歯科学報* **80**, 187-191 (1980).
40. 谷内良弘, 中村輝夫, 滝口励司: 皮質骨の走査電子顕微鏡的研究. *歯基礎誌* **22**, 400-406 (1980).
41. 江川 薫, 中村輝夫, 谷内良弘: 増齢に伴う顎骨表面の血管孔の密度の変化について. *歯基礎誌* **22**, 418-421 (1980).
42. 江川 薫: 増齢に伴う骨基質形成の変化について. *歯基礎誌* **23**, 147-153 (1981).
43. 高木 実, 清野和夫, 石川悟朗: パラフィン包埋法

- による硬組織大割切片作製法. 口病誌 **40**, 300-303 (1973).
44. Gabbiani, G., Hirschel, B. J., Ryan, G.B., Statkov, P. R. and Majno, G.: Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. *J. Exp. Med.* **135**, 719-734 (1972).
45. Montandon, D., Gabbiani, G., Ryan, G. B. and Majno, G.: The contractile fibroblast. Its relevance in plastic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* **52**, 286-290 (1973).
46. Olin, W. Jr., Morris, J., Geil, J., Pratt, S. and Kremenak, C. Jr.: Contraction of mucoperiosteal wounds after palatal surgery in beagle pups. *J. Dent. Res.* **53**, 149 (1974).
47. 杉崎正志: 唇裂手術が顔面頭蓋の発育に及ぼす影響に関する実験的研究. 第2報骨膜剝離術による骨面の変化について. *日口蓋誌* **4**, 31-45 (1979).
48. Ritsilä, V., Alhopuro, S. and Rintala, A.: Bone formation with free periosteum. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* **6**, 51-56 (1972).
49. 秦 維郎: 自家遊離移植による骨の誘導新生に関する実験病理的研究. *形成外科* **22**, 93-105 (1979).
50. 森戸卓爾: 自家骨膜移植による骨および軟骨組織形成に関する実験的研究. *歯科学報* **80**, 1723-1737 (1980).
51. Hellquist, R.: Facial skeleton growth after periosteal resection. An osteometric, roentgenographic and histologic study in the rabbit and guinea pig. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Suppl.* **10**, 1-98 (1972).
52. Mapes, A. H., Mazaheri, M., Harding, R. L., Meier, J. A. and Canter, H. E.: A longitudinal analysis of the maxillary growth increments of cleft lip and palate patients (CLP). *Cleft Palate J.* **11**, 450-462 (1974).
53. Krogman, W. M., Mazaheri, M., Harding, R. L., Ishiguro, K. and Bariana, G.: A longitudinal study of the craniofacial growth pattern in children with clefts as compared to normal, birth to six years. *Cleft Palate J.* **12**, 59-84 (1975).

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西17丁目

札幌医科大学口腔外科学講座 伝庄信也

Legends of figures

Fig. 3 and Fig. 4 show transversal histological sections of hard palates from unoperated rats.

Fig. 3 Hard palate from a young rat at preoperative stage. Woven bone is invested with thick periosteum. Arrow indicates periosteum. H. E. $\times 112$.

Fig. 4 Hard palate from an unoperated rat controlled for 84 days. Lamellar bone is enclosed by a thin layer of periosteum. Arrow indicates periosteum. H. E. $\times 112$.

Figs. 5 to 14 show transversal histological sections of hard palates from operated rats.

Fig. 5 Group II, 1 day after operation. Slightly round cell infiltration and degeneration of osteocytes of superficial bone at palatal site are seen. Periosteum is obscure. H. E. $\times 112$.

Fig. 6 Group II, 7 days after operation. Periosteum is clear and bone shows normal form. H. E. $\times 112$.

Fig. 7 Group III, 1 day after operation. Histological changes are similar to Group II (Fig. 5). H. E. $\times 112$.

Fig. 8 Group III, 7 days after operation. Periosteum and bone show normal form. H. E. $\times 112$.

Fig. 9 Group IV, 7 days after operation. Migration has progressed and the development of submucosal primitive connective tissue with slight inflammation is seen. Degeneration of bone is not seen. H. E. $\times 44$.

Fig. 10 Group IV, 14 days after operation. The operated portion is completely covered by regenerated squamous epithelium. Periosteum is thick and bone is thin. Arrow indicates periosteum. H. E. $\times 44$.

Fig. 11 Group V, 3 days after operation. Bacterial clusters are seen on the degenerated bone. Necrotic bone (NB) is absorbed by many osteoclasts. Note the activation of nasal periosteum (NP). Arrow indicates osteoclasts. Masson $\times 44$.

Fig. 12 Group V, 14 days after operation. Submucosa is filled with fibrous tissue and a layer of osteogenic cells is seen on the surface of the bone. H. E. $\times 112$.

Fig. 13 Group V, 28 days after operation. A layer of osteogenic cells is slightly obscure. H. E. $\times 112$.

- Fig. 14** Group V, 84 days after operation. Submucosal collagen fibers are attached immediately to the bone without distinct periosteal intervention. H. E. $\times 280$.
- Figs. 15 to 17 show palatal bone surface of unoperated rats by S E M.
- Fig. 15** Palatal bone surface of a young rat at the preoperative stage. Square indicates observed portion. $\times 30$.
- Fig. 16** The same rat as in Fig. 15. Many blood vessel holes and osteocyte lacunae are seen. The holes are large and round. $\times 360$.
- Fig. 17** Palatal bone surface from an unoperated rat controlled for 84 days. Bone surface is flat and small blood vessel holes have decreased in number. $\times 360$.
- Figs. 18 to 31 show palatal bone surface of an operated rat by S E M.
- Fig. 18** Group I, 3 days after operation. Blood vessel holes have increased slightly. A few resorbed lacunae are seen. $\times 200$.
- Fig. 19** Group I, 14 days after operation. Bone surface, blood vessel holes and osteocyte lacunae are similar to the unoperated side. $\times 300$.
- Fig. 20** Group II, 7 days after operation. Bone surface is embayed with large resorption lacunae. $\times 300$.
- Fig. 21** Group II, 14 days after operation. Bone surface is similar to the unoperated side. $\times 300$.
- Fig. 22** Group III, 3 days after operation. The findings are similar to Group II (Fig. 20). $\times 360$.
- Fig. 23** Group III, 14 days after operation. Bone surface is similar to the unoperated side. $\times 300$.
- Fig. 24** Group IV, 7 days after operation. The findings are similar to Group II and III (Figs. 20 and 22). $\times 240$.
- Fig. 25** Group IV, 14 days after operation. Bone surface is similar to the unoperated side. $\times 300$.
- Fig. 26** Group V, 3 days after operation. Many resorption lacunae have formed over the surface. $\times 300$.
- Fig. 27** The same rat as in Fig. 26. Irregular structure is supposed as sequester. $\times 7000$.
- Fig. 28** Group V, 7 days after operation. Many large resorption lacunae have formed over the surface. $\times 300$.
- Fig. 29** The same rat as in Fig. 28. A break of fiber is seen in the resorption lacunae. Arrow indicates the break of fiber. $\times 2200$.
- Fig. 30** Group V, 28 days after operation. Bone surface has an irregular structure without blood vessel holes. $\times 200$.
- Fig. 31** Group V, 84 days after operation. The surface is covered by a fibrous structure, and blood vessel holes are obscure. $\times 360$.

