

## 切断肢指再接着後の骨長軸成長に関する 実験的研究

砂 川 融

広島大学医学部整形外科学教室 (主任: 生田義和教授)

受付 平成7年11月1日

受理 平成7年12月26日

切断肢指再接着後の骨長軸成長に対する阻血時間の影響を調べる目的で、5週齢ラット後肢切断再接着モデルを作製し、以下の実験を行った。

1. 切断肢を室温中(約20℃)に放置し、阻血時間を0, 2, 4, 6, 9時間とし、術後10週で再接着肢の脛骨を評価した。阻血時間が6時間を超えると長軸成長障害が出現した。組織学的には、脛骨近位成長軟骨帯に部分閉鎖や早期閉鎖を認めた。
2. 阻血6時間群を術後1, 2, 4週で評価した。術後1週ですでに長軸成長障害は出現し、組織学的には脛骨近位成長軟骨帯中央部を中心とした広範な壊死像が認められた。術後4週で組織学的に成長軟骨帯は中央部で完全に消失していた。
3. 切断肢を冷温保存(約4℃)し、阻血6および9時間群を作製して冷温保存の有用性について検討した。冷温保存すれば阻血9時間群においても長軸成長障害は起こらず、組織学的にも何ら異常所見を認めなかった。

以上の結果より、次のような結論を得た。すなわち、阻血時間が延長すると再接着肢に術後早期から長軸成長障害が出現した。組織学的には成長軟骨帯の壊死で、阻血による成長軟骨細胞の直接的な障害と同時に、阻血による骨端動脈系の障害による間接的な影響の可能性が示唆された。切断肢指再接着においては阻血時間がなるべく短くなるように努め、特に成長期では切断肢指を冷温保存しておくことが、骨の長軸成長障害を最小限に軽減する効果のあることが確認された。

**Key words :** Replantation, Ischemia, Bone growth, Epiphyseal plate, Experiment

微小外科技術の進歩、普及に伴い切断肢指再接着術は救急医療の場において必須の手術手技となり、現在では再接着の成否よりも、術後成績が問われるようになってきている。また、再接着術はその適応が厳選されるようになってきたが、小児においては知覚回復などの成績が比較的優れていることや精神衛生上の観点から、如何なる場合にも適応があるとされ、積極的に再接着が行われている。しかし、小児特有の問題として、再接着肢指の成長がある。臨床では再接着肢指の骨の長軸成長は、健側の80~90%程度に抑制されると諸家により報告されている<sup>8,15)</sup>。その原因の一つとして、成長軟骨に対する阻血の影響が考えられる。実験的に様々なモデルや方法でこの問題について検討されているが<sup>4,6,12,13)</sup>、明確な結論が得られていない。そこで著者は小児切断肢指再接着モデルとして幼若ラットを使用し、骨長軸成長に対する阻

血の影響について検討した。

### 方 法

#### 1. 実験モデルの作製

骨長軸成長の盛んな生後5週、体重100~120gのWistar系雄幼若ラットをペントバルビタール腹腔内麻酔の後、右後肢を大腿中央部で完全切断し、再接着術を行った(Fig. 1)。切断肢に対して乾燥を防止する処置以外、灌流などの特別な処置は行わなかった。再接着にあたっては、まず、神経、血管縫合を容易にし、縫合部の緊張をやわらげる目的で、大腿骨を切断部で約3mm切除、短縮した後、19G注射針を髓内釘として固定した。続いて肉眼で筋肉縫合を行った後、手術用顕微鏡下で坐骨神経を縫合し、大腿動脈と大腿静脈をそれぞれ吻合した。神経と血管の縫合には

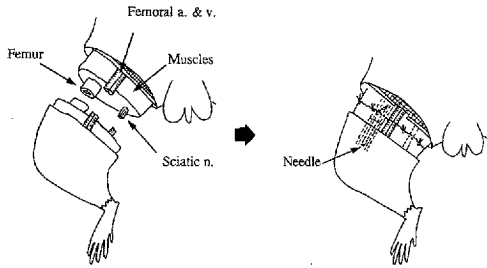


Fig. 1. The method of replantation.

First, osteosynthesis of the femur with intramedullary singular pinning, and muscle suture were performed. Then, the sciatic nerve was sutured, and finally, the femoral artery and vein were anastomosed under an operating microscope.

11-0ナイロン糸を使用し、神経は2~3針神経周膜縫合を、血管は6~8針の結節縫合を行った。吻合した血管外径は、動脈が約 0.6 mm, 静脈が約 0.8 mm であった。血管吻合の後、約15分間再接着肢の血流が良好であることを確認し、最後に皮膚縫合を行った。術後は個体の保温のみを行い、薬物療法や再接着肢の外固定は行わなかった。

2. 実験1: 阻血時間の変化により、骨長軸成長に及ぼす影響が出現するかを調査するための実験。

切断肢の血流途絶から血流再開までの時間、つまり阻血時間を0時間、2時間、4時間、6時間、9時間とする5群(以下それぞれをx時間群と呼ぶ)を作製した。0時間群は大腿動静脈茎だけを温存して他のすべての組織を切断した後、同様に再接合した。阻血の間切断肢は、乾燥を防止するため生理的食塩水含有ガーゼに包み、室温中(約20℃)に放置した。作製したモデル数

は0時間群が5匹、2時間群が5匹、4時間が6匹、6時間群が9匹、9時間群が5匹の合計30匹であった。

評価は、骨長軸成長のほぼ終了する生後15週、術後10週で、吻合した大腿動・静脈の開存を手術用顕微鏡あるいは血管造影にて確認した後、再接着側および健側(非再接着側)の脛骨を摘出し行った。まず、その長軸長を最小目盛 0.05 mm のノギスで実測し、再接着側長軸長を健側長軸長で除して脛骨長軸長比を百分率として求め、再接着肢の長軸成長の指標とした。次に、再接着側および対照として健側の脛骨近位成長軟骨帯の組織学的検討を行った。組織切片はヘマトキシリン・エオジン染色およびサフラニン・O染色を行った。統計学的処理には一因子分散分析と Post-hoc test として Bonferroni-Dunn 検定を行い、 $p < 0.05$  を有意差ありとした。

3. 実験2: 阻血が延長すると、術後どの時点で骨長軸成長に影響が出現するのか、またその機序を検討する目的の実験。

阻血0時間群と6時間群をそれぞれ15匹ずつ作製し、術後1週、2週、4週の時点でそれぞれ5匹ずつ、実験1と同様な評価を行った。

4. 実験3: 冷温保存が、阻血の骨長軸成長に対する影響の防止に関して有用か否かを調査するための実験。

切断肢を乾燥を防止するために生理的食塩水含有ガーゼに包んだ後、冷温(約4℃)中に保存し、阻血6時間群と9時間群をそれぞれ5匹ずつ作製した。術後10週で実験1と同様に評価した。

## 結 果

### 1. 手術成功率(生着率, Table 1)

麻酔による死亡と考えられた個体を除いた手術成功

Table 1. Success Rate of Replantation

Duration of Ischemia	State of Preservation	Success	Failure	Death	Success Rate %
0	Warm	20	0	0	100
2	Warm	5	5	0	50.0
4	Warm	6	7	2	40.0
6	Warm	24	21	4	49.0
6	Cold	5	5	0	50.0
9	Warm	5	10	0	33.3
9	Cold	5	6	0	45.5
Total except 0 Ischemia		50	54	6	45.5

**Table 2.** Relationship between Duration of Ischemia and Tibia Length % Ratio

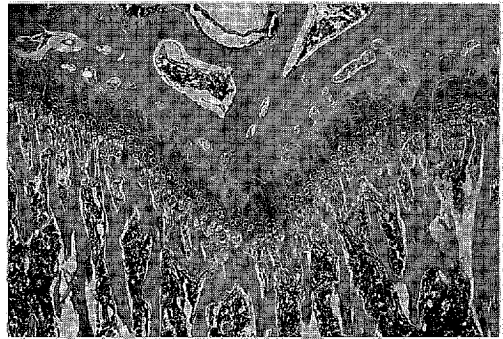
Duration of Ischemia hours	0	2	4	6	9
Number of Rats	5	5	6	9	5
Tibia Length % Ratio Mean ± SD %	100.9 ± 1.1	98.3 ± 1.0	99.8 ± 0.3	97.2 ± 4.3	87.9 ± 9.5*

SD: standard deviation.

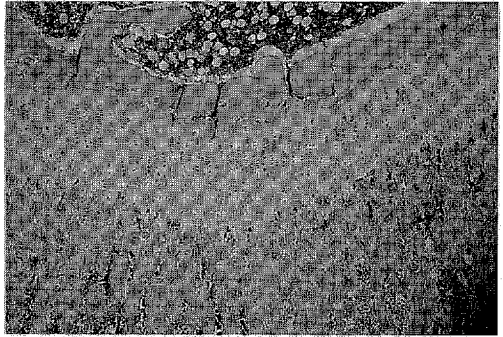
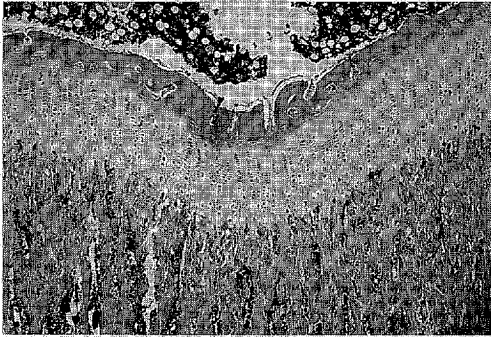
\* p < 0.05

率を Table 1 に示す。部分生着はなく、完全生着か完全壊死のいずれかであった。阻血時間の延長に伴い成功率は低下する傾向にあり、一方、同一阻血時間でも切断肢を冷温保存することで、成功率は高くなっ

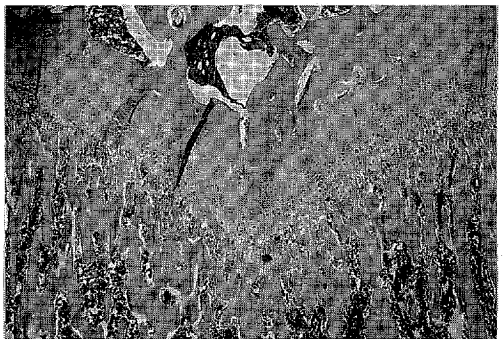
た。また、阻血時間の延長により術後の再接着肢の浮腫の程度は高度となり、持続期間も延長する傾向にあったが、冷温保存することでいずれも軽減された。



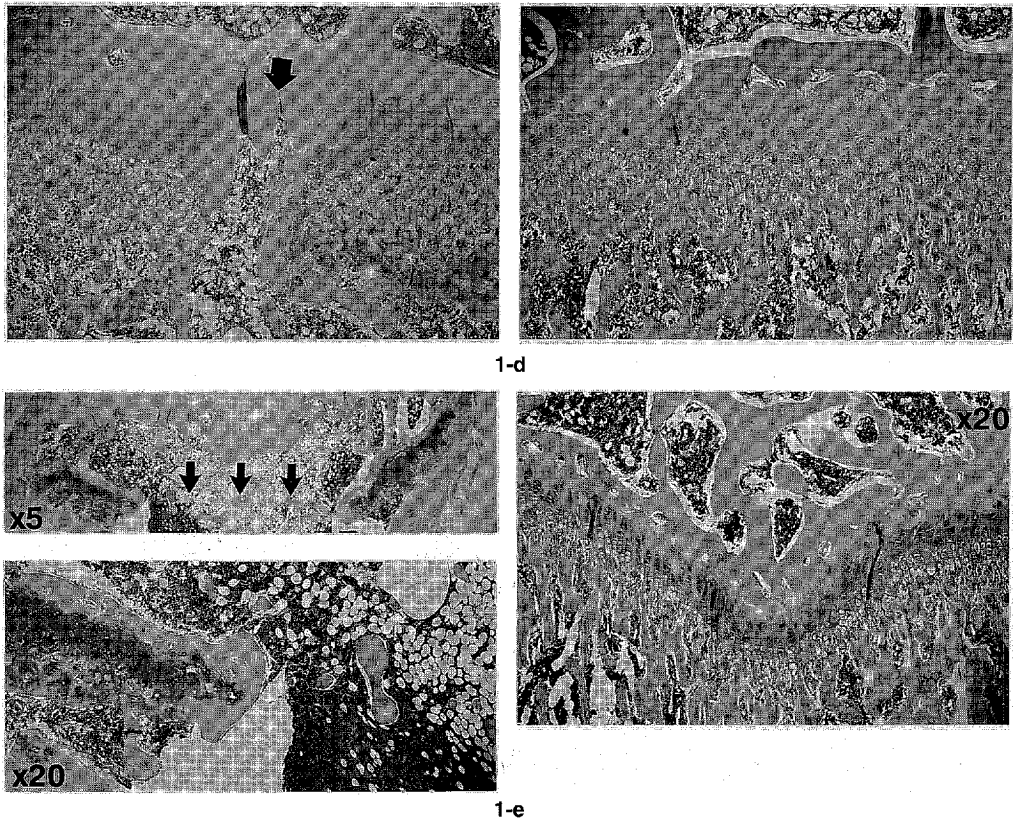
1-a



1-b



1-c



**Photo. 1.** Photomicrographs of epiphyseal plate of proximal tibia 10 weeks after replantation (Hematoxylin-Eosin stain,  $\times 20$ ).

Left: replanted side. Right: opposite side. a: 0 hour, b: 2 hours, c: 4 hours, d: 6 hours, e: 9 hours of ischemia.

Within 4 hours of ischemia, there were no abnormal findings. With longer than 6 hours of ischemia, destruction of the epiphyseal plate occurred (“d” arrow), and with 9 hours of ischemia, complete destruction of the center of the epiphyseal plate occurred (“e” arrows).

2. 実験 1

1) 脛骨長軸長比 (Table 2)

6時間以上の阻血で成長障害を生じる例が出現し、阻血9時間では著明な成長障害を認めた。統計学的には9時間群と他のすべての群の間で有意差を認めた。

2) 脛骨近位成長軟骨帯組織像 (Photo. 1a-e)

0時間群と2時間群では軟骨細胞の柱状配列は正常で、障害を疑わせる所見はなく、成長軟骨帯の幅も健側と比べて差を認めなかった。4時間群では、ごく限られた範囲で成長軟骨帯が閉鎖し、骨性架橋形成を認めるものがあったが、健側と比べ長軸長に差はなかった。6時間群では、4時間群で認めたわずかな範囲での

**Table 3.** Time Course of Tibia Length % Ratio with 0 and 6 hours of Ischemia

Duration of Postoperation weeks					
		1	2	4	10
Duration of Ischemia hours					
0		101.4 $\pm$ 0.5 (5)	101.5 $\pm$ 1.1 (5)	100.2 $\pm$ 0.2 (5)	100.9 $\pm$ 1.1 (5)
6		97.9 $\pm$ 1.5 (5)	97.5 $\pm$ 3.9 (5)	95.5 $\pm$ 6.6 (5)	97.2 $\pm$ 4.3 (9)
		Mean $\pm$ SD, (Number of rats)			
		※N.S.			

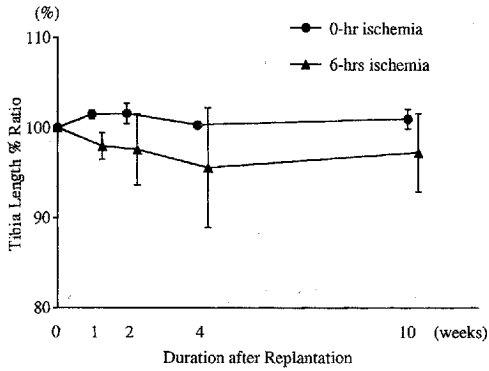


Fig. 2. Time Course of Tibia Length % Ratio with 0 and 6 hours of Ischemia.

骨性架橋形成や、線維化を認める頻度が増大したが、これらの長軸成長障害は健側比で3%以下であった。一方、健側と比べ10%以上の低成長を示したものでは、成長軟骨帯は中央部で広範囲に消失し、骨端と骨幹端の髓腔は連続していた。残存した部分においても、全体的に成長軟骨細胞の配列は乱れ、柱状構造は消失し、幅も全体的に健側と比べて減少していた。9時間群では、成長軟骨帯中央部は広範囲にわたり消失して骨端と骨幹端の髓腔が連続し、辺縁部の残存した成長軟骨帯も柱状構造は消失していた。

3. 実験 2

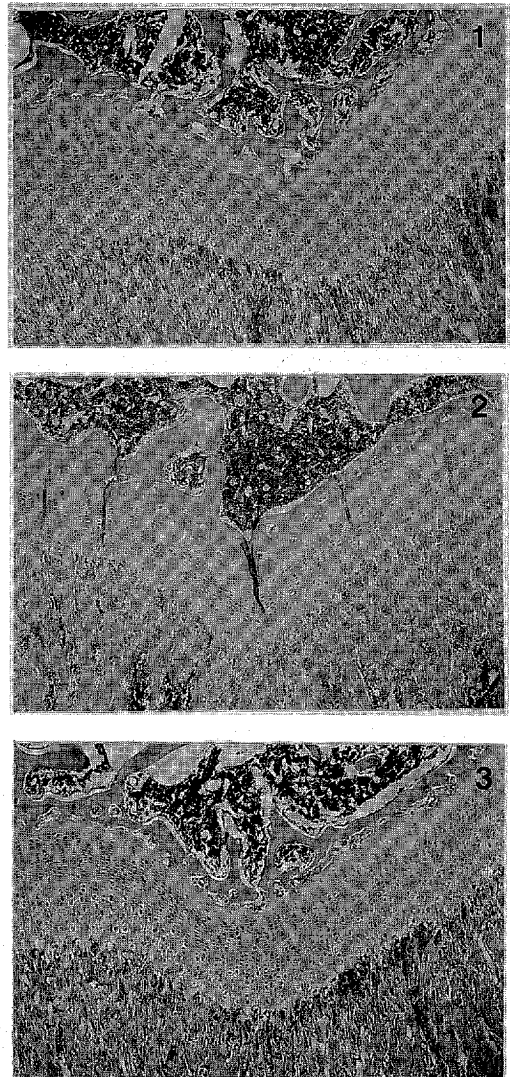
1) 脛骨長軸長比 (Table 3)

0時間群では術後1週から2週までごく軽度の過成長となり、術後4週以降はほぼ等成長となった。一方、6時間群では術後1週の時点ですでに低成長となり、同程度の成長障害が成長終了時点まで継続していた。統計学的には、全期間を通じて0時間群と6時間群の間に有意差は認めなかった (Fig. 2)。

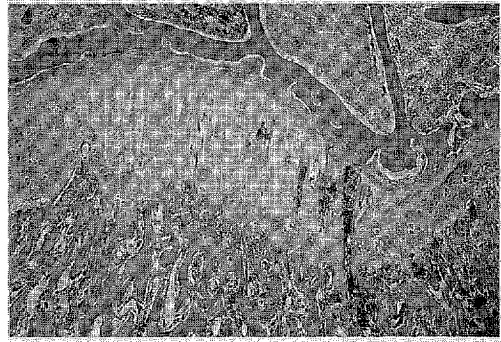
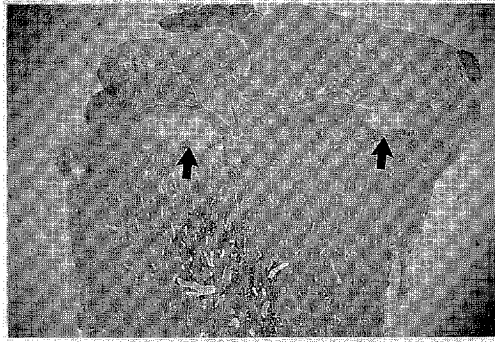
2) 脛骨近位成長軟骨帯組織像 (Photo. 2)

0時間群では、全経過を通じて成長軟骨帯の構造は正常で、健側と比較して差を認めなかった (Photo. 2a)。6時間群では、術後1週の時点で成長障害はいずれも健側と比べ4%以下であったが、成長軟骨帯中央部の増殖細胞層を中心とした広範囲な壊死と線維化を認め、一部では血管の侵入があった (Photo. 2b)。また、壊死部の骨端側および骨幹端側の骨髓組織の壊死も著明で、血管構造は消失し、線維芽細胞の増生を認めた。一方、柱状構造の残存部分では骨端側の血管構造は保たれていた (Photo. 2c)。サフランin・O 染色では、壊死部に一致して軟骨基質の染色性が低下し

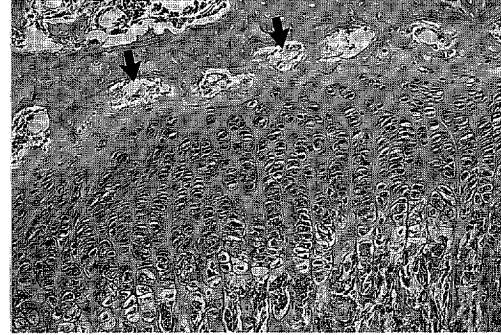
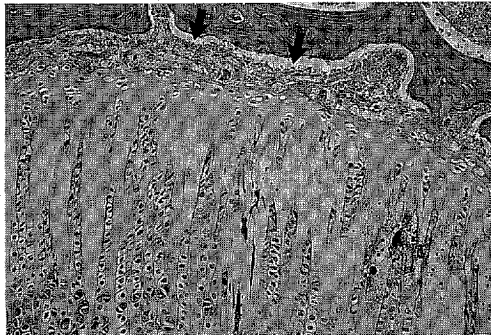
ていた (Photo. 2d)。術後2週で健側と比べ10%程度の成長障害を示したものでは、成長軟骨帯は中央部で消失していたが、骨幹端と骨端の境界は明瞭であった。髓腔内の線維芽細胞の増生は著明で、一部で血管の再生も認めた (Photo. 2e)。術後4週で健側と比べ10%以上の成長障害が生じたものでは、成長軟骨帯は中央部で消失し、骨端と骨幹端の髓腔は連続していた。健側と比べ5%以下の成長障害を認めたものでは、一部限られた範囲で成長軟骨帯の連続性が断たれ、骨性架橋形成や線維化、あるいは骨端と骨幹端の髓腔の連絡を認めた (Photo. 2f)。



2-a



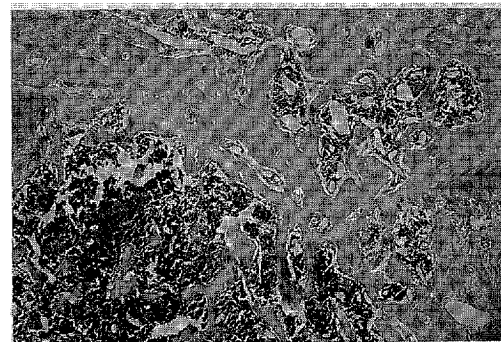
2-b



2-c



2-d



2-e

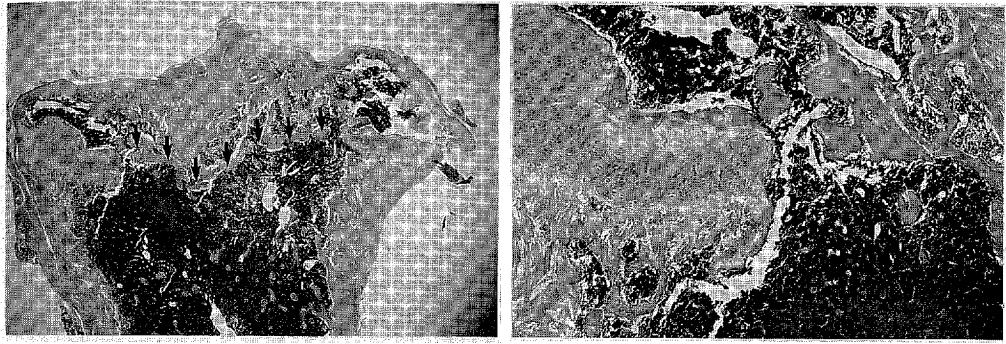
#### 4. 実験3

##### 1) 脛骨長軸長比 (Table 4)

6時間群, 9時間群ともに明らかな成長障害は認めなかった。統計学的には, 阻血9時間において室温保存群と冷温保存群の間に有意差を認めた (Fig. 3)。

##### 2) 脛骨近位成長軟骨帯組織像 (Photo. 3a, b)

6時間群および9時間群ともに, 健側と比較して成長軟骨帯の幅に著変なく, 成長軟骨細胞の配列は正常で, 軟骨基質の染色性に異常なく, 障害を疑わせる所見を認めなかった。



2-f

**Photo. 2.** Photomicrographs of epiphyseal plate of proximal tibia of replanted side with 0 and 6 hours of ischemia ( Hematoxylin-Eosin stain except "d". d: Safranin-O stain).

a: 0 hour of ischemia, 1: 1 week, 2: 2 weeks, 3: 4 weeks after replantation (×20). b-f: 6 hours of ischemia, b-d: 1 week, e: 2 weeks, f: 4 weeks after replantation (b, e and f, left: ×5, right: ×20. c: ×50. d: ×20)

With 0 hour of ischemia, there were no abnormal findings.

With 6 hours of ischemia, massive segmental necrosis and fibrosis in the proliferative zone occurred at one week after replantation ("b" arrows). Epiphyseal vessels over the necrotic epiphyseal plate were completely destroyed and filled with fibroblasts ("c-left" arrows), and those over the intact epiphyseal plate remained ("c-right" arrows). There was a decrease in safranin-O staining of the pericellular matrix in the necrotic and fibrous areas ("d" arrows). At two weeks after replantation, the central part of the epiphyseal plate disappeared ("e" arrows), and at four weeks after replantation, complete destruction of the epiphyseal plate occurred ("f" arrows).

**Table 4.** Relationship between Temperature of Preservation of Amputated Limb and Tibia Length % Ratio with 6 and 9 hours of Ischemia

Duration of Ischemia hours	Temperature of Preservation (State)	
	20°C (Warm)	4°C (Cold)
6	97.2±4.3 (9)	100.4±1.3 (5)
9	87.9±9.5* (5)	100.6±0.9 (5)
	Mean±SD, (Number of rats) *p<0.05	

考 察

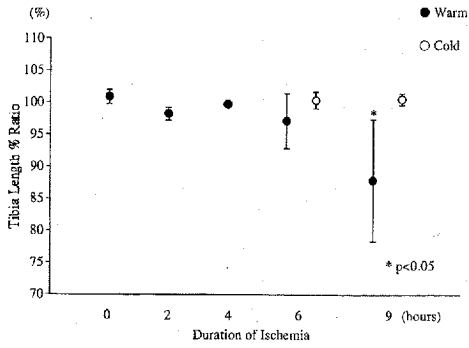
臨床的に小児切断肢指再接着後の骨長軸成長は、健側と比べ80～90%程度に抑制されるとの報告がある<sup>8,15)</sup>。

再接着後の骨長軸成長は、受傷部位や受傷状況に影響されることはもちろんであるが、その他の因子として、骨切り、脱神経、切断肢指の阻血、再接着肢への血流量等が考えられる。

骨切りや脱神経の影響については、0時間群で健側とほぼ同程度の成長が見られたことから、影響は少ないものと考えられ、また、脱神経は脛骨の長軸成長に

影響を与えないと Garces ら<sup>5)</sup>はラットを用いた実験から報告している。

成長軟骨帯が十分機能するためには、成長軟骨細胞が正常で骨端動脈系と骨幹端動脈系の両方の血流と酸素分圧が十分であることが必要である<sup>2)</sup>が、成長軟骨帯は血流を温存して移植すれば、阻血時間が短い場合にはほぼ正常な機能を有し、骨長軸成長は障害されないことが実験的に証明されている<sup>3,7,10)</sup>。阻血時間が長くなった場合には、骨長軸成長にどのような影響が出現し、如何なる変化が成長軟骨帯に出現するかということについては、様々なモデルを用いた実験の結果が報告されている<sup>4,6,12,13)</sup>。それらによると、阻血時



**Fig. 3.** Relationship between Duration of Ischemia and Tibia Length % Ratio.

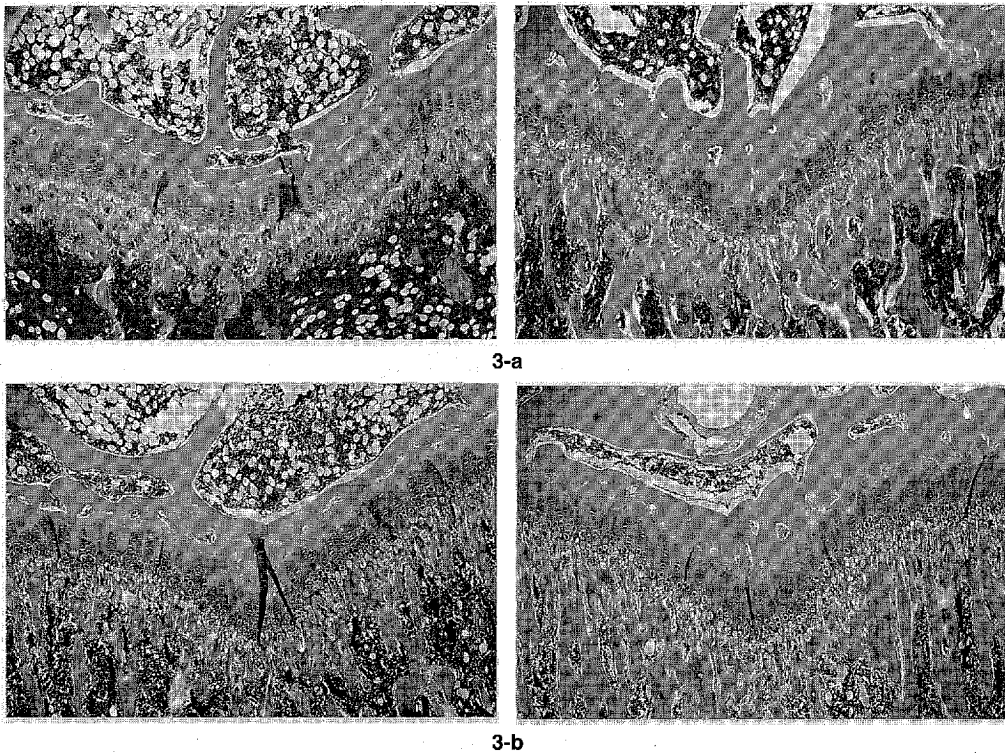
間の延長にともない成長障害が出現するという点ではほぼ一致しているがその結果は一定しておらず、阻血が2時間ですでに成長障害が出現する<sup>6)</sup>といったものから、6時間までは過成長を示した<sup>4)</sup>というものまで様々である。また、成長障害の過程や、その原因について

言及しているものは稀である。特に再接着モデルを用いた報告は見られない。

そこで著者は幼若ラット後肢切断再接着モデルを作製し、一連の実験を行った。その結果、阻血4時間までは成長障害は出現せず、組織学的にはごく限られた範囲での骨性架橋形成や線維化を認めるのみであった。しかし、阻血6時間で成長障害は出現し始め、9時間では著明に成長が障害され、組織学的にも広範囲の成長軟骨帯の破壊が確認された。筋組織も阻血が6時間を超えると障害されると報告されており<sup>9)</sup>、骨長軸成長においてもほぼ同程度の阻血時間が限度であると考えられた。

経時的に骨長軸成長障害の過程を観察すると、術後1週ですでに低成長となり、組織学的には術後4週で成長軟骨帯の破壊は完成されていた。つまり、成長軟骨帯に対する障害は術後早期に出現し、成長終了まで持続することが示唆された。

阻血による成長軟骨帯への影響としては、成長軟骨細胞に対する直接的な障害と、阻血による微小循環障害 (no reflow phenomenon) や再灌流障害 (reperfu-



**Photo. 3.** Photomicrographs of epiphyseal plate of proximal tibia with 6 (a) and 9 (b) hours of ischemia in a state of cold preservation ( Hematoxylin-Eosin stain,  $\times 20$  ). Left: replanted side. Right: opposite side.

Abnormal findings were not observed.



sion injury) による二次的な成長軟骨細胞障害が考えられる。本実験においては、阻血時間の延長に伴い再接着成功率が低下し、術後の浮腫の程度、持続期間が延長する傾向にあったことは、再接着肢に微小循環障害や再灌流障害が生じていた可能性を示唆している。術後1週の組織所見で、周囲の骨髄組織を含めて成長軟骨帯の広範囲な壊死像を認めたが、これは阻血そのものによる細胞障害が起こったことを推察させる。一方、解剖学的により末梢の血流に支配されている成長軟骨帯中央部が障害の中心となっていたことや、成長軟骨帯の壊死に陥った範囲に一致して骨端側の血管構造が消失していたことから、血管系の障害が先行し、二次的に成長軟骨帯が障害された可能性も示唆している。Trueta<sup>16)</sup>は物理的に骨端動脈系を障害し、その後の成長軟骨帯の変化を報告している。それによると、骨端動脈系が障害されるとその支配領域に一致して増殖細胞層の壊死、線維化が生じる。これは本実験の結果と全く同様であった。特に健側と比べ3%以下の成長障害、あるいは成長障害を生じなかった例の組織所見で認められた、ごく限られた範囲での成長軟骨細胞障害は、血管系の障害が先行していた可能性が高い。一方、高度の成長障害を生じたモデルでは成長軟骨帯の早期閉鎖の傾向があったが、これは成長軟骨細胞に対する阻血の直接的な影響や、再接着後の持続的血流量の低下が影響しているものと考えられた。

阻血時間の延長に伴う障害を防止、あるいは抑制する目的で切断肢を種々の溶液で灌流あるいは保存する実験的研究が行われ、その有効性が報告されている<sup>1,12,14)</sup>。しかし、切断肢指の灌流を行うことは、手技的な問題や設備の問題から臨床的には普及していないのが現状で、一般的には単純な冷却のみが行われている。実験的に切断肢の単純冷却保存は、阻血時間延長に伴う筋組織の変性や再接着後毒血症 (replantation toxemia) による個体の死亡を抑制することが報告されている<sup>9,17)</sup>。そこで著者は、一般的に臨床で行われている単純冷却保存が、阻血による骨長軸成長障害防止にも有効であるか否かを調査した。今回の実験では、室温保存においては明らかな骨長軸成長障害が出現した阻血9時間においても、冷温保存では成長障害は出現せず、組織学的にも何ら異常所見が無かったことから、骨長軸成長障害の防止という点においても、切断肢指の冷温保存は有用であることが判明した。任ら<sup>11)</sup>は、ラットの大腿動脈を用いて保存時間と血管の微細構造の変化を調査し、血管自体の変性予防における冷温保存の有用性を報告している。成長軟骨帯の障害の原因の一つとして血液循環障害を考えた場合、冷

温保存による血管障害防止が間接的に成長軟骨帯の障害を防止していることが推察される。また、冷却による組織代謝の抑制が直接的に成長軟骨細胞障害を防止していることも考えられる。

切断肢指再接着において、阻血時間が延長すれば骨長軸成長に障害が出現することは明らかであり、本障害を防止するために出来るかぎり阻血時間の短縮に努め、血流再開まで切断肢指を冷却しておくことの重要性が改めて認識された。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、懇切なる御指導、御校閲を賜りました恩師生田義和教授に深甚なる謝意を表します。また、組織学的分野において御指導いただきました広島大学医学部保健学科梶原博毅教授に感謝の意を表します。さらに終始御協力いただきました整形外科学教室の皆様にも厚く御礼申し上げます。

尚、本論文の要旨の一部は第21、22回日本マイクロサージャリー学会 (1994 弘前, 1995 札幌)、第13回日本骨・関節・軟部組織移植研究会 (1994 広島)、第84回中部日本整形外科災害外科学会 (1995 大津)、第10回日本整形外科学会基礎学術集会 (1995 軽井沢)、The 2nd Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies (1995 San Diego, USA) において発表した。

また、本研究は財団法人土谷記念医学振興基金の助成を受けて行った。

## 参 考 文 献

1. Beppu, M., Takahashi, F., Tsai, T-M., Ogden, L. and Sharp, J. B., Jr. 1989. Experimental replantation of canine forelimbs after 78.5 hours of anoxia. *Plast. Reconstr. Surg.* **84** : 642-650.
2. Brighton, C. T. 1978. Structure and function of the growth plate. *Clin. Orthop.* **136** : 22-32.
3. Brown, K., Marie, P., Lyszkowski, T., Daniel, R. and Cruess, R. 1983. Epiphyseal growth after free fibular transfer with and without microvascular anastomosis. Experimental study in the dog. *J. Bone Joint Surg.* **65-B** : 493-501.
4. Carey, L. A., Weiss, A-P. C. and Weiland, A. J. 1990. Quantifying the effect of ischemia on epiphyseal growth in an extremity replant model. *J. Hand Surg.* **15-A** : 625-630.
5. Garces, G. L. and Santandreu, M. E. 1988. Longitudinal bone growth after sciatic denervation in rats. *J. Bone Joint Surg.* **70-B** : 315-318.
6. Hou, S-M., Wang, T-G. and Liu, M. R. S. 1993. Longitudinal growth after replantation of imma-

- ture extremities on rats. *J. Hand Surg.* **18-A** : 828-832.
7. **Lipson, R. A., Kawano, H., Halloran, P. F., McKee, N. H., Pritzker, K. P. H. and Langer, F.** 1983. Vascularized limb transplantation in the rat. *Transplantation* **35** : 293-299.
  8. 村上恒二, 生田義和, 渡 捷一, 吉岡 薫, 津下健哉 1982. 小児切断指再接着例の検討. 中部整災誌 **25** : 207-209.
  9. 村上恒二 1983. 切断肢指再接着に及ぼす阻血時間の影響についての基礎的および実験的研究. 広島大学医学雑誌 **31** : 485-512.
  10. **Nettelblad, H., Randolph, M. A. and Weiland, A. J.** 1984. Free microvascular epiphyseal-plate transplantation. An experimental study in dogs. *J. Bone Joint Surg.* **66-A** : 1421-1430.
  11. 任 浜海, 清澤智晴, 中山凱夫 1995. 温阻血および冷阻血に対する微小血管の構造変化. ラット大腿動脈における光顕的電顕的観察. 日形会誌 **15** : 447-484.
  12. 清水弘之 1993. Growth Plate の阻血障害に対する灌流効果の検討. 日手会誌 **10** : 98-103.
  13. **Stark, R. H., Matloub, H. S., Sanger, J. R., Cohen, E. B. and Lynch, K.** 1987. Warm ischemic damage to the epiphyseal growth plate: A rabbit model. *J. Hand Surg.* **12A** : 54-61.
  14. 鈴木 潔, 井上五郎, 三浦隆行 1990. ラット Growth Plate の冷却保存に関する実験的研究. 日手会誌 **7** : 205-207.
  15. **Taras, J. S., Nunley, J. A., Urbaniak, J. R., Goldner, R. D. and Fitch, R. D.** 1991. Replantation in children. *Microsurgery* **12** : 216-220.
  16. **Trueta, J. and Amato, V. P.** 1960. The vascular contribution to osteogenesis. III. Changes in the growth cartilage caused by experimentally induced ischemia. *J. Bone Joint Surg.* **42-B** : 571-587.
  17. 薄井正道 1978. "Replantation Toxemia" に関する実験的研究. 切断阻血肢の冷却保存効果について. 日整会誌 **52** : 663-672.

## Longitudinal Bone Growth after Replantation in Immature Rats

Tohru SUNAGAWA

Department of Orthopaedic Surgery, Hiroshima University School of Medicine

(Director: Prof. Yoshikazu IKUTA)

With the aim of studying the effect of ischemia time on longitudinal bone growth following replantation surgery, hind limb replantation model was produced with 5-week-old rats and the following experiments were conducted.

1. The amputated limb was left at room temperature (20 °C) with ischemia time of 0, 2, 4, 6, and 9 hours and the tibia of the replanted limb was evaluated 10 weeks after the surgical procedure. When the ischemia time exceeded 6 hours, growth disturbance of tibia became apparent. Histologically, partial closure and early closure were observed in the epiphyseal plate of the proximal tibia.

2. Evaluation of the rats with 6-hour ischemia was made 1, 2, and 4 weeks after the surgical procedure. Even at one week postoperatively, growth disturbance could be observed, and extensive necrosis was histologically apparent in the central region of the epiphyseal plate of the proximal tibia. Histologically, there was complete destruction of the epiphyseal plate four weeks postoperatively.

3. Study was made on the usefulness of cold preservation of the amputated limb of the rats with ischemia for 6 and 9 hours. By cold preservation, growth disturbance could not be observed even in rats with ischemia for 9 hours. Furthermore, no abnormal findings could be observed histologically.

With extension of the ischemia time, growth disturbance of the replanted limb could be observed with the disturbance becoming apparent soon after the surgical procedure. Necrosis and destruction of the epiphyseal plate observed histologically suggest direct disturbance of chondrocytes due to ischemia and at the same time the possibility of indirect disturbance of chondrocytes due to disturbance of the epiphyseal vessels attributable to ischemia. Our study indicated that in limb replantation, efforts should be made to restrict the ischemia time to the minimal and that cold preservation of the amputated limb is important.