

発育に伴うラット脛骨骨端板の 構造変化に関する研究

Study on Structural Changes in Tibial Growth Plate of Growing Rats

秋 山 和歌子* 飛 田 哲 也* 大 迫 正 文*
AKIYAMA Wakako TOBITA Tetsuya OHSAKO Masafumi

要 旨

本研究は、発育期ラット脛骨の近位骨端軟骨および関節軟骨の構造を観察し、それらの構造を比較することにより、発育に伴う骨端軟骨各細胞の構成変化について検討することを目的とした。

実験材料として、1、2、3、5、7、10、13および14週齢のウィスター系雄性ラット、各6匹ずつを用い、それらを安楽死させた後、下肢骨を摘出した。その標本を用いて、アリザリンレッドおよびアルシアンブルーの二重染色による透明標本作製し、肉眼的に観察した。また、他の標本を用いて、脱灰パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し組織学的に観察した。

1週齢の骨端板では、肥大軟骨細胞層が骨端板全体の厚さの半分近くを占めていた。骨端板の各細胞層は、発育が進むにしたがって順次厚さが減少するが、その中でも肥大軟骨細胞層の減少が著しかった。関節軟骨の中間層と骨端板の増殖軟骨細胞層のいずれにも細胞柱がみられ、前者の細胞は細長い、後者の細胞は球形をなしていた。また、関節軟骨の深層は、幼若な段階では肥大化した細胞が認められるが、発育に伴って肥大化は抑制された。それに対して、骨端板の増殖軟骨細胞層および肥大軟骨細胞層では成熟した段階に至るまで肥大化した細胞が存在した。

以上のことから、発育にともなう骨端板の厚さの減少には、軟骨細胞の細胞分裂能の低下と基質合成の減少の双方が関わっていると考えられた。関節軟骨の細胞間基質が広いのは、加重に抵抗性を示す基質線維を密におくスペースを確保するためであり、一方、骨端板でそれが狭いのは骨梁の芯となる石灰化軟骨基質を形成するためであろうことが推測された。

キーワード：骨端板、関節軟骨、軟骨細胞、基質線維

はじめに

骨端板は成長軟骨ともよばれ、骨の長軸方向への成長に深く関わる。この軟骨は、骨幹端に存在し、発育に伴って厚さが減少し、最終的に全てが骨に置換されて、骨端閉鎖となる¹⁻³⁾。しかし、骨端板は発育の初期から骨幹端に存在するのではなく、胎生期に骨端全体を構成する軟骨内に二次骨化点が

* 東洋大学ライフデザイン学部健康スポーツ学科 Toyo Univ. Faculty of Human Life Design

連絡先：〒351-8510 埼玉県朝霞市岡48-1

出現することによって、その部位に関節軟骨とともに出現する⁴⁾。これらの関節軟骨および骨端板は、組織学的にはいずれも硝子軟骨に分類されるが、関節軟骨は発育に伴って基質線維が密になり、またコラーゲンタイプも変化し、線維軟骨様の構造を示すようになる。関節軟骨は幼若な段階では浅層から深層にかけてタイプⅡコラーゲンが存在し、石灰化層以下ではタイプⅠコラーゲンが存在する。しかし、発育が進むにしたがって関節軟骨が薄くなるとともにタイプⅠコラーゲンが多くなるとされている⁵⁾。

骨端板も硝子軟骨で構成され、細胞の密度や形ならびに大きさの違いからそれは静止軟骨細胞層、増殖軟骨細胞層および肥大軟骨細胞層に分類され、さらに肥大軟骨細胞層の下部には予備石灰化帯が存在する³⁾。発育に伴って、骨端板の厚さが薄くなるのに伴い、これらの層も減少する⁵⁾。これらの各細胞層には、軟骨細胞の機能上の違いが現れていると思われるが、発育に伴って各細胞層がどのような過程を経て薄くなるかということに関しては詳細な報告がなされていない。また、骨端板内の軟骨細胞は肥大化した後、周囲の基質に予備石灰化をもたらした後に、死滅すると考えられている。その結果、残された軟骨小腔を取り囲む石灰化軟骨が骨髓腔中に伸び出すこととなり、骨髓腔中の造骨系の細胞がその石灰化軟骨表面に付着して骨を添加する。このようにして、骨髓中に存在する骨梁が形成される¹⁾。しかし、骨梁の芯となる石灰化軟骨梁が骨端板において、どのように形成されるかについても詳細は明らかにされていない。

そこで、本研究は発育期ラット脛骨の近位骨端軟骨および関節軟骨の構造を観察し、それらの構造を比較することにより、発育に伴う骨端軟骨各細胞の構成変化について検討することを目的とする。

方 法

実験材料として、1、2、3、5、7、10、13および14週齢のウイスター系雄性ラット、各6匹ずつを用いた。深く麻酔をかけることによって、それらを安楽死させ、死亡を確認後、下肢を摘出した。その下肢の標本から軟部組織を除去して、それを歯科用エンジンにてトリミングし、さらに脛骨の中央部で矢状切断した。それらをカルノブスキー固定液（5%グルタルアルデヒドと4%パラフォルムアルデヒドを含む）に一晩浸漬して固定した。

一部の標本は、95%エタノールおよびアセトンによる脱水後、アリザリンレッドおよびアルシアンブルーの混合液に浸漬して染色し、さらにサリチル酸メチルに浸漬して、透明化を図った。これを肉眼観察用の透明標本とした。また、組織学的観察用の標本作成では、他の摘出標本を用いて、ブランククロ液に1週間浸漬して脱灰し、5%硫酸ナトリウムにより脱酸および水洗を行った後、70、95、100%エタノールからなる脱水系列（各30分）を用いて真空脱水し、アセトン（各30分、2回）に浸漬した。その後、安息香酸メチル（各1時間、3回）およびベンゼン（各30分、2回）にて透徹を行い、融解したパラフィンに浸漬し（各24時間、3回）、十分にパラフィンを標本に浸透させた後に包埋した。包埋したブロックは適度なサイズにトリミングし、台木に貼り付けマイクロームにて厚さ5 μm の矢状断完全連続切片を作成し、ヘマトキシリンエオジン（HE）染色を施して光学顕微鏡により観察した。

所 見

1. 肉眼的観察所見

1、2、3、7および13週齢のラットから摘出された脛骨を用いて、アリザリンレッドとアルシアンブルーの二重染色による透明標本を作製し、発育に伴う骨端軟骨の形態変化を観察した。まず、1週齢では脛骨の骨幹はアリザリンレッドによって赤く染色され、近位および遠位の関節軟骨および骨端板はアルシアンブルーの色素をとって青色に観察される。この週齢では両骨端全体が青くなっており、2および3週齢も同様な染色性を示す。しかし、2週齢から青く染まる骨端の深部に赤く染まる部分が出現し、3週齢ではそれが拡大する。7週齢になると、骨端は全体が骨幹と同様にアリザリンレッドに赤く染色され、このような状態は13週齢においても観察される。また、これらの週齢では骨幹端に不明瞭ながら骨を横断するような細く青い線が認められる。(図1)

2. 組織学的観察所見

14週齢の脛骨の脱灰パラフィン縦断切片にHE染色を施して弱拡大で観察すると、骨端板は骨端と骨幹端の間に介在し、14週齢においてもある程度の厚さが維持されている。それに対して、骨端表面を覆う関節軟骨は、骨端板に比べてかなり薄い。骨端ではやや太い骨梁が網状に配列しているが、骨端板より下方、すなわち骨幹端では、骨端板に近い方から一次および二次海綿骨が存在し、その骨梁は基本的に下方に向かうにしたがって順次太さを増すが、それらは主として上下方向に配列している。(図2)

骨端板の軟骨細胞の配列状態を観察するために、脱灰パラフィン切片にHE染色を施して観察すると、まず、3週齢では、骨端板に軟骨細胞がかなり多く存在する。増殖軟骨細胞層においても細胞が密に存在することに関連して、細胞柱は整然と上下方向に配列せず、やや蛇行して観察されるものも多い。肥大軟骨細胞層においても細胞はかなり密に存在し、特にこの層の下部では著しい軟骨小腔の開大が認められる。このようなことが関連して、肥大軟骨細胞層では典型的な細胞柱は認められない。(図3a)

5週齢について観察すると、骨端板は3週齢に比べて各細胞層の厚さが減少し、それによって骨端板全体の厚さが減少する。いずれの細胞層においても細胞がやや小型化し、特に肥大軟骨細胞層ではそのような状態が多く認められる。また、増殖軟骨細胞層では細胞が上下方向に配列し始め、軟骨細胞柱様の構造も出現する。(図3b)

10週齢の骨端板では、5週齢のものと比較してさらに厚さが減少する。細胞層別にみると特に肥大軟骨細胞層の厚さの減少が顕著である。5週齢の肥大軟骨細胞層では10個以上の細胞が上下方向に重なって存在しているが、10週齢では5～7個程度の細胞が重なっている。各細胞層の細胞にはさらに小型化が認められる。(図3c)

14週齢の骨端板の厚さは10週齢のものとほぼ同様である。この週齢の骨端板では細胞の密度が10週齢に比べて低下している。また、肥大軟骨細胞層の厚さが顕著に低下し、この層では3～4個程度の細胞が連なるのみとなる。(図3d)

次に、骨端板の軟骨細胞の形態と細胞間基質との関係を観察するために、それぞれの週齢の骨端板

を拡大して観察すると、以下のような所見が得られた。

3週齢では肥大軟骨細胞層の上下的な幅が厚く、細胞も大型で密に存在する。そのことに関連して細胞は、列をなして配列せず、また細胞間基質もかなり乏しい。(図4a.)

5週齢になると骨端板の軟骨細胞には、3週齢に比べて著しい変化が現れる。まず、細胞が小型化し、骨端板における細胞の密度が3週齢に比べて低下することにより、整然と並んで軟骨細胞柱を形成する。また、この細胞数の減少は肥大軟骨細胞層で著しくみられ、また、個々の細胞の大きさも顕著に減少し、その結果、この層の厚さは3週齢の半分以下となっている。このように骨端板における軟骨細胞の密度は全体的に3週齢に比べ密度が減少するが、そのようなことは、骨端板の中でも静止軟骨細胞層から増殖軟骨細胞層においてみられ、肥大軟骨細胞層では細胞間基質は未だ乏しい状態にある。(図4b)

10週齢においても、骨端板の軟骨細胞の小型化はさらに進行し、静止軟骨細胞層から増殖軟骨細胞層までは細胞間基質の増大が認められる。しかしながら、肥大軟骨細胞層では細胞が小型化しても密度の低下は見られず、これまでの週齢と同様にこの層における細胞間基質の増大は観察されない。(図4c)

14週齢は、骨端板各細胞層の細胞の大きさ、密度ならびに配列状態が基本的に10週齢のものにかなり類似しており、細胞増殖層までの細胞間基質の増大は進行するが、やはり肥大軟骨細胞層における細胞間基質は未だ狭い状態にある。(図4d)

さらに、骨端板と同様な発生学的な由来をもつ関節軟骨の構造と比較することによって、脛骨骨端板の構造的特徴をより明らかにするために、関節軟骨を組織学的に観察し、次のような所見を得た。

3週齢の関節軟骨における深層および石灰化層の細胞は大きく肥大化し、それらが密に存在する。これらの層における細胞間基質は狭く、同週齢の骨端板におけるものとほとんど変わらない。細胞間基質はHE染色でヘマトキシリンに淡い紫色に染まる。(図5a)

5週齢の関節軟骨深層および石灰化層では、3週齢のものに比べて細胞の密度や大きさに大きな変化がみられる。まず、いずれの層も厚さが減少しているが、これは細胞の小型化と密度の低下によってもたらされる。石灰化層の細胞間基質の幅は3週齢のものとあまり変わらないが、深層では基質の顕著な増加が認められる。しかし、この週齢においても細胞の典型的な上下方向の配列、すなわち軟骨細胞柱の形成は未だなされていない。この週齢の細胞間基質も3週齢と同様にヘマトキシリンに淡く染色される。(図5b)

10週齢になると、5週齢までと異なり、深層および石灰化層の細胞の小型化が顕著となり、特に5週齢までにみられた石灰化層の肥大した細胞は全く観察されない。また、この週齢の軟骨細胞の特徴は、それが整然と上下方向に配列し、典型的な細胞柱を形成することにある。また、細胞間基質は全体的にヘマトキシリンの色素をとって淡い紫色に染色される。しかし、深層および石灰化層の中でも深部では、上下方向に広がりをもつ軟骨細胞柱間の広い基質が、HE染色でエオジンの色素を多くとって濃いピンク色に染色される。(図5c)

14週齢の深層および石灰化層の細胞の密度や配列状態は、基本的に10週齢のものとはほぼ同様である。また、これらの層のHE染色による染色性も10週齢のものとはほとんど変わらない。しかし、細胞の外形が10週齢ではほぼ球形であるのに対して、14週齢では紡錘状のものが出現する。それらの細胞は長

軸を細胞柱にほぼ平行、すなわち、紡錘状の細胞の長軸は関節軟骨表面に対して、垂直な方向に向けられている。(図5d)

考 察

本研究は、骨端板の発育に伴う構造変化について検討することを目的に、発生学的に同じ由来をもつ関節軟骨と比較しつつ、観察を行った。以下にその所見をもとに考察を進める。

胎生期や出生後の初期段階においては、骨端全体は軟骨で構成されている。二次骨化点の出現によって、その部位の軟骨が関節軟骨と骨端板に分かれ、それぞれ異なる機能を有するようになるが、その時期は出生後とされている⁴⁾。本研究では、種々の発育段階にあるラット後肢にアリザリンレッド・アルシアンブルーの二重ブロック染色を施し、下肢骨を骨化した部位と、未だ骨化しない部位に区分して、それらの発育変化について観察している。1週齢では、脛骨の骨幹はアリザリンレッドによって赤く染色され、近位および遠位の骨端はアルシアンブルーの色素をとって青色に観察される。この週齢では両骨端全体が青くなっており、2および3週齢も同様な染色性を示す。しかし、2週齢から青く染まる骨端の深部に、赤く染まる部分が出現し、3週齢ではそれが拡大する。この染色法による染色性と、骨および軟骨の区分について示した報告⁴⁾によると、骨化した部位はアリザリンレッドに赤色に染まり、未石灰化の部位、すなわち軟骨は、アルシアンブルーによって青色に染まるとされている。この報告に本研究の結果をあてはめると、1週齢の近位骨端はほぼ全てが軟骨で構成されているが、2週齢では、骨端の深部に赤色に染まる部位が観察されていることから、2週齢以降で骨端の軟骨内の骨化した部位が徐々に拡大しているであろうことが理解される。

3週齢になると、その骨端の軟骨内でアリザリンレッドに染まる部分が拡大している。ラットにおける3週齢は、離乳期に相当するものであり、骨端の軟骨内で3週齢までに骨化が進むのは、離乳期以降の運動量の増加に向けた構造変化であると考えられる。

骨端板は、長骨の場合、その長軸方向の成長をもたらし、発育が進むにしたがって上下的な厚さが順次減少して、最終的に全て骨に置換される⁶⁾。本研究で観察した7および13週齢の脛骨の肉眼観察標本では、骨幹端にアルシアンブルーで青く染まる部位はほとんど観察されない。しかし、組織切片で観察すると、10および14週齢においても骨端板は認められる。ウイスター系ラットの場合、生後11週齢まで体重は増加し⁷⁾、骨端板は生涯を通して残るとされている。このことから、本研究で観察した14週齢までのラットでは、肉眼的に骨端板が消失するように見えても、実際には未だ存在し、13週齢においてもわずかな成長をとげているであろうことが推測される。

骨端板は、細胞の大きさ・形ならびに配列状態によって、骨端側から順にいくつかの層（静止軟骨細胞層、増殖軟骨細胞層、肥大軟骨細胞層および予備石灰化帯³⁾）に区分されている。

本研究における1週齢の骨端板では、肥大軟骨細胞層が骨端板全体の厚さの半分近くを占めている。骨端板の各細胞層は、発育が進むにしたがって順次厚さが減少するが、その中でも肥大軟骨細胞層の減少が著しい。骨端板では軟骨細胞の最終分化、すなわち肥大軟骨細胞化にROS（活性酸素）が必要とされている⁸⁾。関節軟骨における細胞の肥大化の抑制や、骨端板においても肥大軟骨細胞層の細胞密度の低下がみられていることから、これらの軟骨では活性酸素の産生が抑えられていると考えられ

る。

次に、骨端板における細胞の密度ならびに配列状態についてみると、3週齢の骨端板は密度が極めて高く、柱状の細胞配列は認められない。しかし、5週齢以降では、細胞の密度が徐々に低下するとともに、それが上下方向に整然と並んで、典型的な細胞柱が形成される。

骨端板では、増殖軟骨細胞層で細胞の分裂が行われ、それによって出現した細胞は、順次各細胞柱の中に組み込まれ、その結果、軟骨細胞柱は骨端側に向かって伸びる。一方、分裂後の時間の経過にともなってそれぞれの細胞が肥大化し、骨端板の下部においてその多くは死滅すると考えられている。骨端板にはこのような細胞の周期がみられるが、成長するのにともなって、軟骨細胞の分裂能は低下する⁹⁾。軟骨細胞の分裂能の低下やそれが分泌する基質線維も減少することによって、骨端板は厚さが減少すると考えられる。発育にともなう骨端板の厚さの減少には、このような細胞分裂能の低下と基質合成の減少の双方が関わっていると考えられる。

小型で球形のBリンパ球は、抗原提示を受けると形質細胞に分化する。形質細胞は、抗体であるタンパク質を合成するために粗面小胞体やゴルジ装置などの細胞小器官を細胞質内に著しく増加させ、結果的にこの細胞はリンパ球に比べてかなり大きくなる。一方、腱や靱帯の中にみられる線維芽細胞は、周囲の密に存在するコラーゲン線維束のわずかな隙間に存在し、このような細胞は線維束に圧平され、細長い形を呈する。このように細胞は、機能状態や周囲の環境条件によってその形が変化する。3週齢における増殖軟骨細胞層の細胞は球形で大型であるが、5週齢以降のそれらは3週齢に比べてかなり小型化している。しかし、3週齢以降の軟骨細胞が1週齢よりも機能的な低下があるとは考えにくく、これは軟骨基質との関係もあると思われる。幼若な細胞では、細胞小器官が細胞質内に収まっているのに対して、細胞が分化し、より狭い細胞質の中に小器官が密に配置されることによって細胞が小型化すること、さらに同じ細胞小器官の量であってもそれぞれの活性が高まっていることも考えられる。

さらに、細胞間基質には基質線維が多く存在するが、細胞密度が低下することは相対的に細胞間基質の増大を意味するものである。腱や靱帯のような密性結合組織では、コラーゲン線維の太い線維束の間に線維芽細胞が整然と列をなして存在する。本研究で観察した5週齢以降の関節軟骨で明瞭な細胞柱が確認されたことから、それ以降の骨端板には基質線維が増加したと考えられる。しかし、骨端板では、14週齢においても肥大化した細胞がみられ、このことから、骨端板における細胞間基質の基質線維の増加については疑問が残る。

安孫子¹⁰⁾は胎生期から生後25週齢までのラット関節軟骨の基質線維について観察し、それは発育に伴って増加することを認め、その増加には関節の運動や加重ならびに栄養摂取が深く関わるとしている。

関節軟骨は幼若な段階では厚いが、徐々に厚さが減少することが示されている¹¹⁾。また、関節軟骨の中では、浅層の細胞はタイプIコラーゲン線維を分泌するが、それは関節軟骨表面にはほぼ平行に配列することによって¹²⁾、円滑な運動をもたらすと考えられている。さらに、中間層の細胞は、関節軟骨において非常に重要な構造物であるタイプIIコラーゲン線維とアグリカンを分泌するとされている¹³⁾。本研究で観察した各週齢の中間層の細胞は、3および5週齢の場合、球形で配列が不規則であるが、10および14週齢では、側方からやや圧平されて紡錘状の形をなし、上下方向に整然と配列している。

これらのことから、5週齢までの中間層は細胞間基質に線維が乏しく、10週齢以降では線維が密に存在するために細胞が圧平されると思われる。

深層の細胞はタイプXコラーゲン線維を分泌するとともに、予備石灰化に向けた石灰化にも関わりとされている¹³⁾。本研究で観察した3週齢の関節軟骨では、肥大軟骨細胞層が非常に厚く、そこには大型の細胞が密に存在している。この層の細胞は、5週齢では著しく減少し、それ以降ではほとんど認められない。また、HE染色された切片で深層を観察すると、基質はエオジンに濃く染まっている。このことから、深層においても基質線維が密に存在し、10週齢以降における中間層の線維の密度を考え合わせると、関節軟骨全体に線維が豊富に存在することによって、大腿骨側からの加重に抵抗性を示す構造となっていると思われる。

関節軟骨の深層と先に述べた骨端板の肥大軟骨細胞層を比較すると、まず、関節軟骨については、3週齢で肥大化した細胞が認められるが、5週齢以降ではほとんどみられない。それに対して、骨端板では14週齢になるまで肥大化した細胞が存在する。このことは、関節軟骨の場合には、その下部において広い細胞間基質が確保され、反対に骨端板の周りではそれが狭いということを意味する。関節軟骨は、細胞間基質に軟骨表面に対して垂直方向に配列したタイプXコラーゲン線維が密に存在することによって加重への抵抗性をもたらし、そのために細胞間基質が広がっていると思われる。

一方、骨端板の場合には、石灰化軟骨が芯となって骨梁を生成するためにこちらは細いことに意味がある。また、骨梁は石灰化度の高い石灰化軟骨基質とそれよりも石灰化度の高くない骨が合わさることによって強度が高められている。石灰化軟骨基質が高度に石灰化するためには、そこに基質線維が少ない方が有利となる。これらのことから、先に述べた5週齢以降の骨端板において基質線維が密になる可能性は低く、関節軟骨と骨端板のいずれにも細胞柱が出現し、その細胞間基質の構造には、基質線維の密度に違いがあることが推測される。

以上のことから、関節軟骨の中間層と骨端板の増殖軟骨細胞層のいずれにも細胞柱がみられるが、前者の細胞は細長いのに対して、後者の細胞は球形をなしており、このことから骨端板の基質線維は関節軟骨のそれより密度が疎になっていることを示していると思われる。また、関節軟骨の深層は、幼若な段階で肥大化した細胞が認められるが、発育に伴って肥大化はみられなくなる。しかし、骨端板の肥大軟骨細胞層では成熟した段階に至るまで肥大化した細胞が存在し、細胞間基質が狭い。このことは、後者は石灰化して骨梁の芯をなすために、その基質を狭くする意味もあることが推測される。

本研究はライフデザイン学部研究等倫理委員会の審査により承認されたものである。

結 論

関節軟骨と骨端板とでは、細胞の形や肥大化の状況が異なっており、これには加重への抵抗性を高めるか、または、骨梁形成の際の芯をなすものになるかという点にそれぞれの機能的役割の差異が現れているであろうことが示唆された。

謝辞

本研究を進めるにあたり、多くのご協力をいただいた研究室の大学院生および学部生の方々に深謝致します。

参考文献

- 1) 大迫正文、他:発育期ラットの皮質骨形成に関する組織学的研究.スポーツ健康科学紀要 4: 55-65, 2004.
- 2) 大迫正文:発育にともなうラット下顎頭軟骨の各細胞の構成変化について. 東洋大学紀要教養課程篇 (保健体育) 3: 35-58, 1993.
- 3) 上田晃三、他:骨の成長発達.バイオメカニズム学会誌 32:57-60,2008.
- 4) 金子元彦、他:発育期ラットの脛骨近位骨端の構造変化.スポーツ健康科学紀要 第4号, 45-53, 2004.
- 5) 大迫正文、他:発育に伴う脛骨海綿骨の構造変化に関する観察. スポーツ健康科学紀要, 3: 51-61, 2003.
- 6) Mescher, A.L. et al.: Jungueira's Basic Histology McGraw-Hill, pp121-139, 2010.
- 7) 石橋正彦、他:実験動物学ラット. 講談社, 1984.
- 8) 岸本英樹、他:酸化低比重リポ蛋白によるウシ培養関節軟骨細胞における肥大軟骨細胞様形質の誘導.近畿大医誌 34: 239-250, 2009.
- 9) Walker, K.V.R. and Kember, N.F.: Cell kinetics of growth cartilage in the rat tibia. II. measurements during ageing. Cell Tissue Kinet., 5: 409-419, 1972.
- 10) 我孫子幸子、他:ラット膝関節と椎間円板の軟骨における膠原線維の発達. 広島大学保健学ジャーナル 2: 34-40, 2002.
- 11) 荻原優:ラット脛骨関節軟骨における細胞の構造に及ぼす加重減少の影響,福祉社会デザイン研究科修士論文14-15, 2010.
- 12) 大澤恭子、他:変性軟骨における力学・材料特性の機能領域別特性.生体医工学 47 :554-559,2009.
- 13) 沖田実:関節可動域制限－病態の理解と治療の考え方－. 三輪書店, 2008.

付図説明

図1. 発育に伴う骨端軟骨の形態変化 (アリザリンレッドとアルシアンブルー染色による透明標本)

写真は左側から、1、2、3、7および13週齢の脛骨骨端軟骨の変化を示している。1週齢では、脛骨の骨幹は赤く染色され、近位および遠位の骨端軟骨は青色に観察される。2および3週齢では青く染まる骨端の深部に、赤く染まる部分が出現し、7週齢以降では骨端全体が骨幹と同様に赤く染色される。

図2. 14週齢の脛骨縦断標本の弱拡大像 (脱灰パラフィン切片、HE染色)

骨端板 (GP) は骨端と骨幹端の間に介在し、14週齢においてもある程度の厚さが維持されているが、関節軟骨 (AC) は骨端板に比べてかなり薄い。骨幹端では、骨端板に近い方から一次および二次海綿骨が存在し、その骨梁は基本的に下方に向かうに従って順次太さを増すが、それらは主として上下方向に配列している。

図3a. 3週齢の骨端板における軟骨細胞の配列状態 (脱灰パラフィン切片、HE染色、弱拡大像)

3週齢の増殖軟骨細胞層では細胞が密に存在し、細胞柱はやや蛇行している。肥大軟骨細胞層においても細胞はかなり密に存在し、特にこの層の下部では著しい小腔の開大が認められる。肥大軟骨細胞層では典型的な細胞柱は認められない。

図3b. 5週齢の骨端板における軟骨細胞の配列状態 (脱灰パラフィン切片、HE染色、弱拡大像)

5週齢の骨端板では、3週齢に比べて各細胞層の厚さが減少し、それによって骨端板全体の厚さが減少する。

いずれの細胞層においても細胞がやや小型化するが、増殖層では細胞が上下方向に配列し始め、軟骨細胞柱様の構造も出現する。

図 3c. 10 週齢の骨端板における軟骨細胞の配列状態（脱灰パラフィン切片、HE 染色）

10 週齢の骨端板の全体の厚さは 5 週齢よりさらに減少し、特に肥大軟骨細胞層の厚さの減少が顕著である。5 週齢の肥大軟骨細胞層では 10 個以上の細胞が上下方向に重なって存在しているが、10 週齢では 5～7 個程度の細胞の重なりとなり、細胞の小型化が認められる。

図 3d. 14 週齢の骨端板における軟骨細胞の配列状態（脱灰パラフィン切片、HE 染色）

14 週齢の骨端板の厚さは 10 週齢のものとはほぼ同様である。この週齢の骨端板では細胞の密度が 10 週齢に比べて低下する。また、肥大軟骨細胞層の厚さが顕著に低下し、この層では 3～4 個程度の細胞が連なるのみとなる。

図 4a. 3 週齢の骨端板における軟骨細胞の拡大像（脱灰パラフィン切片、HE 染色）

この週齢の肥大軟骨細胞層は、上下的な幅が厚く、細胞も大型で密に存在する。そのことに関連して細胞は、列をなして配列せず、また細胞間基質もかなり乏しい。

図 4b. 5 週齢の骨端板における軟骨細胞の拡大像（脱灰パラフィン切片、HE 染色）

5 週齢になると骨端板の軟骨細胞は細胞が小型化するとともに、細胞密度も低下して、軟骨細胞柱を形成する。肥大軟骨細胞層では細胞の大きさと密度の顕著な低下がみられ、この層の厚さは 3 週齢の半分以下となる。そのような変化は、骨端板の中の静止軟骨細胞層から増殖軟骨細胞層においてみられ、肥大軟骨細胞層では細胞間基質は未だ乏しい。

図 4c. 10 週齢の骨端板における軟骨細胞の拡大像（脱灰パラフィン切片、HE 染色）

この週齢においても、骨端板の軟骨細胞の小型化はさらに進行し、静止軟骨細胞層から増殖軟骨細胞層までは細胞間基質の増大が認められる。しかし、肥大軟骨細胞層では細胞が小型化しても密度の低下は見られず、細胞間基質の増大は観察されない。

図 4d. 14 週齢の骨端板における軟骨細胞の拡大像（脱灰パラフィン切片、HE 染色）

この週齢における骨端板各細胞層の細胞の大きさ、密度ならびに配列状態は基本的に 10 週齢のものにかなり類似しており、増殖軟骨細胞層までの細胞間基質の増大は進行するが、やはり肥大軟骨細胞層における細胞間基質は未だ狭い状態にある。

図 5a. 3 週齢における関節軟骨の細胞の大きさならびに配列状態（脱灰パラフィン切片、HE 染色）

3 週齢関節軟骨の深層および石灰化層の細胞は大きく肥大化し、それらが密に存在する。これらの層における細胞間基質は狭く、同週齢の骨端板におけるものとほとんど変わらない。細胞間基質は HE 染色でヘマトキシリンに淡い紫色に染まる。

図 5b. 5 週齢における関節軟骨の細胞の大きさならびに配列状態（脱灰パラフィン切片、HE 染色）

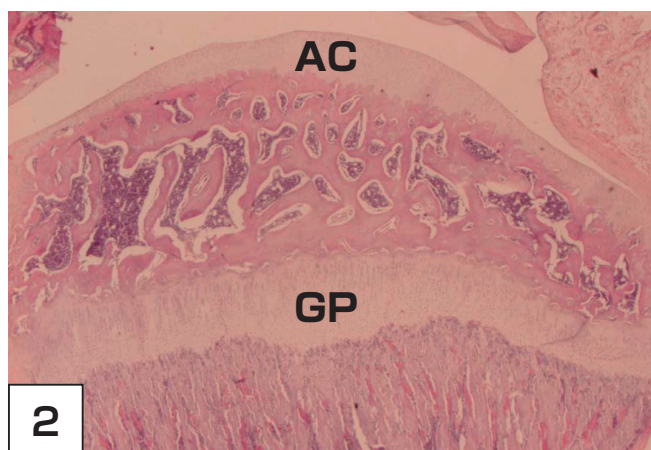
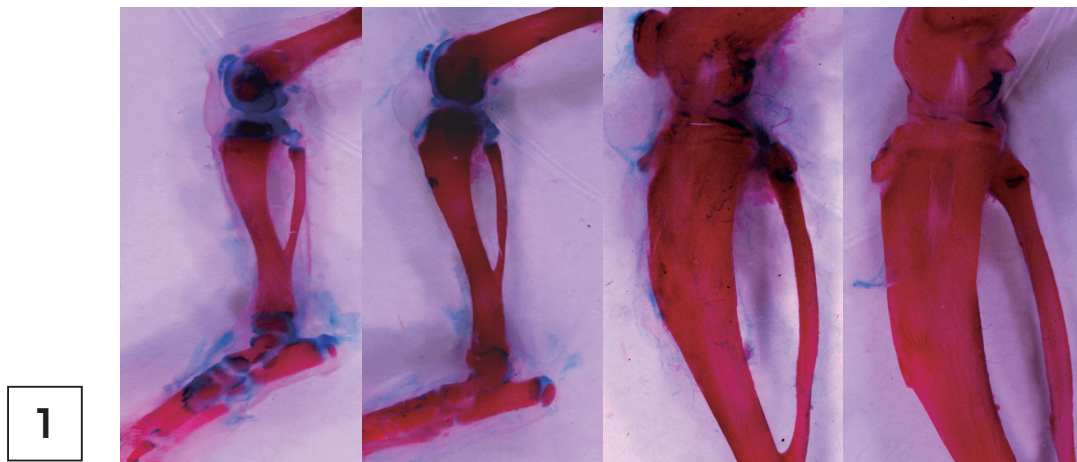
5 週齢の関節軟骨深層および石灰化層では、3 週齢のものに比べて層の厚さや、細胞の密度と大きさが減少する。石灰化層の細胞間基質の幅は 3 週齢のものとあまり変わらないが、深層では基質の顕著に増加する。しかし、この週齢においてもすなわち軟骨細胞柱の形成は未だなされない。

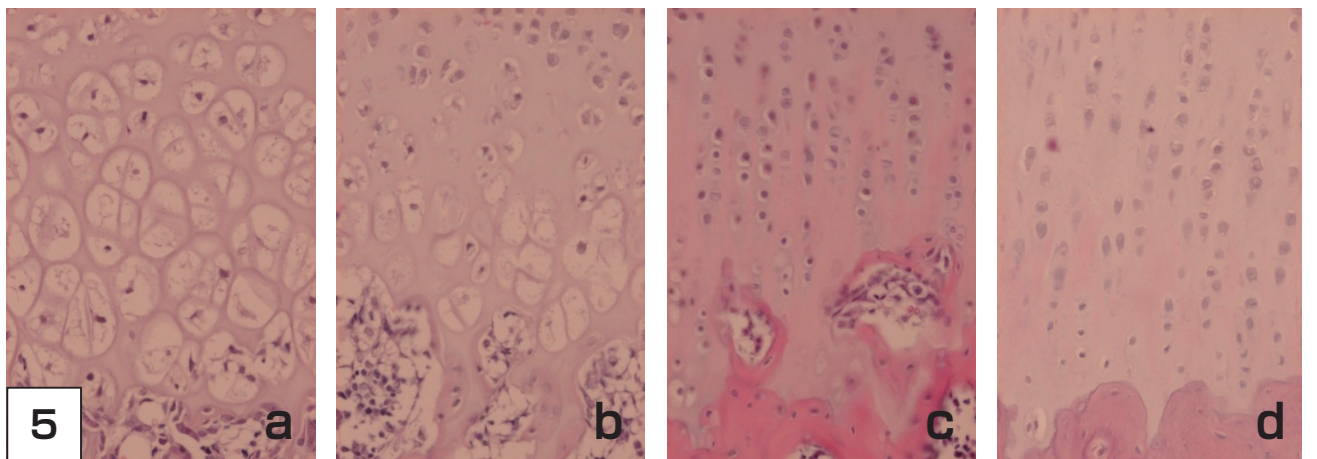
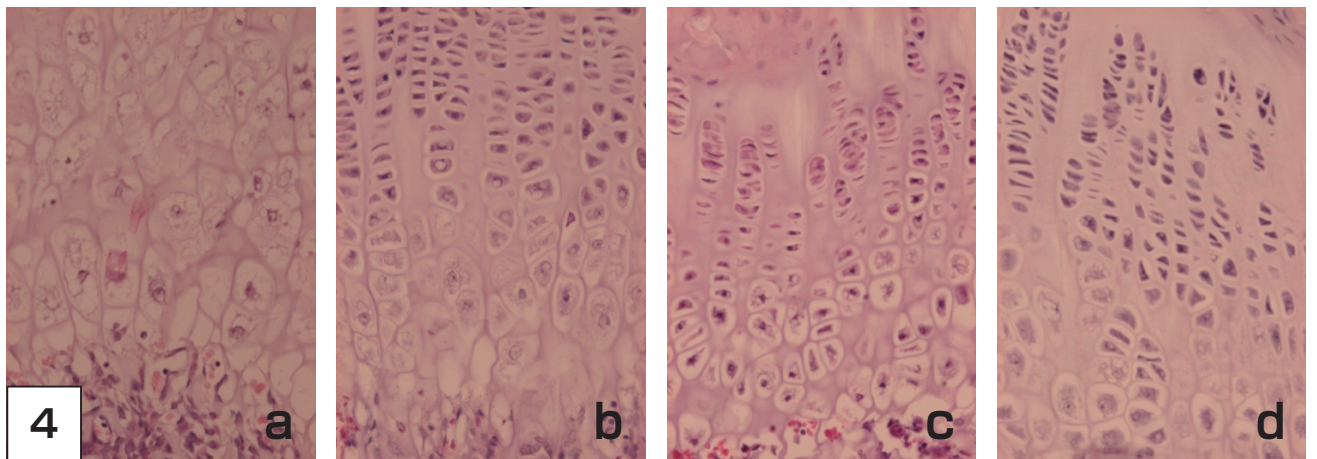
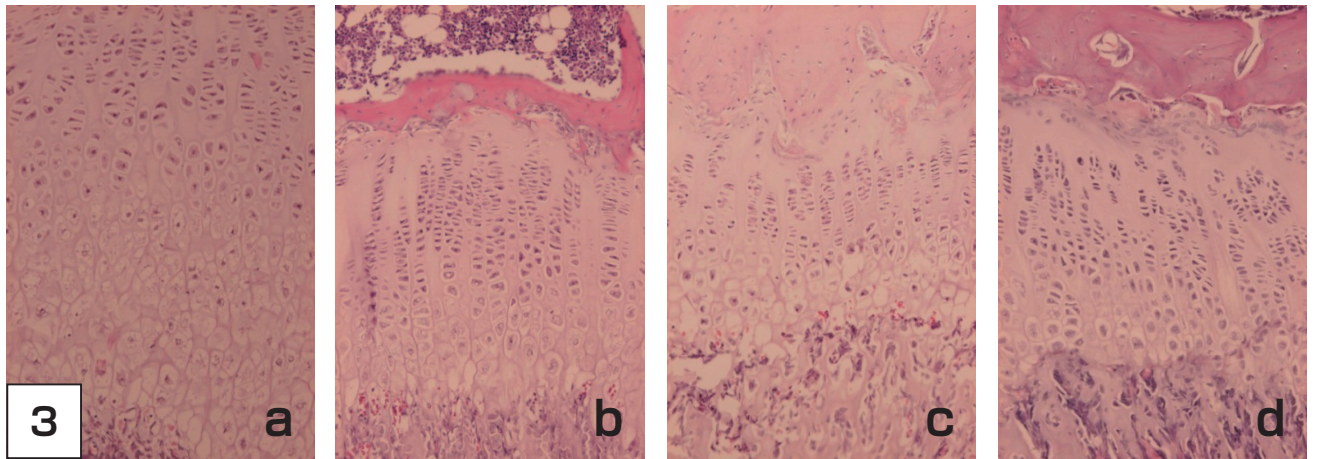
図 5c. 10 週齢における関節軟骨の細胞の大きさならびに配列状態 (脱灰パラフィン切片、HE 染色)

10 週齢になると、軟骨細胞は典型的な細胞柱を形成するが、深層および石灰化層の細胞の小型化が顕著となり、肥大した細胞は全く観察されない。また、深層および石灰化層の中でも深部では、上下方向に広がりをもつ軟骨細胞柱間の広い基質が、HE 染色でエオジンの色素を多くとって濃いピンク色に染色される。

図 5d. 14 週齢における関節軟骨の細胞の大きさならびに配列状態 (脱灰パラフィン切片、HE 染色)

14 週齢の深層および石灰化層の細胞の密度や配列状態や、これらの層の染色性は 10 週齢のものと同様と変わらない。しかし、細胞の外形が 10 週齢ではほぼ球形であったのに対して、14 週齢では紡錘状のものが出現し、それらの長軸は細胞柱にほぼ平行となっている。





Study on Structural Changes in Tibial Growth Plate of Growing Rats

AKIYAMA Wakako

TOBITA Tetsuya

OHSAKO Masafumi

SUMMARY

It aimed to investigate structural changes in cartilage cell layers of tibial proximal growth plate in growing rats. Wistar male rats were used as materials. Their hindlimbs were excised, analyzed and observed macro-and-microscopically.

Hypertrophic cells were found in deep layer of articular cartilage, at immature stage, but they hardly became indicate hypertrophy according to growing. On the other hand, there always existed hypertrophic cells in proliferative and hypertrophic layers of growth plate. It was speculated that the intercellular matrix of articular cartilage was wide because of keeping many matrix fibers resisted to mechanical stress at there. It was understood that space of the calcified cartilage matrix was narrow in growth plate, because that matrix formed bone trabecula and they existed at deep portion of the bone trabecula.

Keywords: growth plate, articular cartilage, chondrocytes, matrix fibers