

発育に伴うラット脛骨関節軟骨の構造変化に関する研究

福祉社会デザイン研究科ヒューマンデザイン専攻博士前期課程1年

日下 翔太

福祉社会デザイン研究科ヒューマンデザイン専攻博士前期課程1年

神尾 強司

ライフデザイン学部健康スポーツ学科教授

大迫 正文

要 旨

本研究はラット脛骨関節軟骨を用いて、未石灰化層と石灰化層の構造を発育段階ごとに部位別に観察することで、その機能的な意義について検討することを目的とした。

本研究では3、5、9および13週齢のラットを材料として用い、脛骨を摘出して速やかに固定液に浸漬した。そして種々の標本を作製し光学および走査電子顕微鏡により観察した。

関節軟骨は、幼若な段階では全体が厚いがその後、基質線維が増加して、外力に抵抗し得る構造を獲得するとともに厚さの減少が認められた。中間層の細胞数はどの部位でも発育に伴い有意に減少し、前方部では3週齢から5週齢の間に、また、後方部では5週齢から9週齢の間で急激に細胞数が減少した。タイプIコラーゲンの反応は9および13週齢の関節軟骨中に見られた。タイプXコラーゲンは3週齢と5週齢の肥大軟骨細胞に反応が認められたが、9週齢と13週齢では反応がみられなかった。

発育に伴う軟骨細胞の密度低下や小型化は相対的な細胞間基質の増大を意味するものであり、これには発育に伴って基質線維やプロテオグリカンが増加したことが関係していると考えられる。骨基質に含まれるタイプIコラーゲンが発育後期の関節軟骨に現れるのは加重への抵抗性が関わっているためと思われる。

これらのことから、発育期の関節軟骨では基質線維を含む細胞外基質の変化によって強度的強化が図られていることが示唆された。

キーワード：成長、関節軟骨、組織構造

はじめに

変形性膝関節症は関節軟骨の退行性疾患であり、主に50歳以上が8割を占め年間約90万人もの患者が増えている¹⁾。変形性膝関節症では軟骨の基質恒常性が破綻し、その結果軟骨の力学的特性が変化することでさらに軟骨を破壊する。症状としては疼痛や腫脹があり、さらに進行すると可動域制限や骨の形状変化が起こる。変形性膝関節症の治療としては消炎剤やサポーターの使用、筋力強化および、ヒアルロン酸製剤の関節腔内注射などの保存療法と、人工関節置換、軟骨移植ならびに変性部位の摘出などの手術療法がある²⁾。

一方、関節軟骨を組織学的に観察すると4つの層に区分することができ^{2),3),4)}、関節腔側から表層、中間層、深層および石灰化層からなる。軟骨細胞間を埋める基質は主にタイプIIコラーゲンと糖タンパクであるプロテオグリカンからなる。また、石灰化層には肥大細胞が分泌するタイプXコラーゲンが存在する。さらに深層と石灰化層の間にはタイドマークと呼ばれる構造物が存在することが知られている⁵⁾。タイドマークは加重がかからない部位で観察されるが⁶⁾、変形性膝関節症の関節軟骨でも観察されるためその重症度をはかる指標にも使われる。タイドマークは石灰化前線の役割があるとされているが、その発生機序や役割について詳しく知られていない。このように軟骨の未石灰化層と石灰化層の境界は軟骨の維持に関係があると考えられる。

本研究はラット脛骨関節軟骨を用いて、未石灰化層と石灰化層の構造を発育段階ごとに部位別に観察することで、その機能的な意義について検討した。

実験方法

実験材料

実験材料として、3、5、9および13週齢のwistar系雄性ラット各8匹を用いた。

標本の摘出と固定

ラットを炭酸ガス吸入による深麻酔で安楽死させ、後肢の皮を剥離し軟組織を除去して脛骨を摘出した。摘出後、歯科用ハンドモーターにて脛骨近位骨端を内外的中央部で矢状切断した。その後、速やかに4%パラフォルムアルデヒド液またはカルノブスキー液に浸漬し固定した。前者で固定されたものは以下に述べるパラフィン切片作成に用い、後者で固定されたものはリゴラック樹脂包埋標本と走査電子顕微鏡 (SEM) 標本の作製に用いた。

なお、パラフィン切片標本およびリゴラック樹脂研磨標本はそれぞれ脛骨近位骨端矢状断の内側を用いた。

パラフィン切片の作成

4%パラフォルムアルデヒドで固定した標本は、8%EDTA(pH7.2~7.4)に4℃の状況下で浸

漬して脱灰し、水洗に続いて70、90、100および100%エタノールにて脱水した(各20分ずつ)。さらに安息香酸メチル I～III(各30分)、ベンゼン I、II(各30分)およびパラフィン I～III(各半日)に浸漬して透徹を行った。その後パラフィン包埋し、ミクロトームにて厚さ5 μ mの矢状断連続切片を作製した。それらの切片には以下に示すコラーゲンタイプ I およびタイプ X の免疫染色を施し、光学顕微鏡により観察した。

免疫染色

パラフィン切片をレモゾール I (5分)、レモゾール II (2分)、100%エタノール I (1分)、100%エタノール II (1分)で脱パラフィンを行った後、内因性ペルオキシダーゼ阻止のために0.3%過酸化水素メタノールにより室温で20分間処理した。0.01Mリン酸緩衝食塩水(pH7.2~7.4、PBS)で洗浄後、抗原賦活化のために0.1%羊精巢由来ヒアルロニダーゼ(SERVA Electrophoresis GmbH)を用いて、37℃で1時間酵素処理を行った。ヒアルロニダーゼの希釈にはPBSを用いた。さらにPBSで洗浄後、3%BSA(和光純薬工業株式会社)/PBSで室温、30分のブロッキングを行った。ブロッキング液を除去した後、一次抗体はウサギ抗ラットタイプ I コラーゲン抗体(アドバンス社)および、ウサギ抗ヒトタイプ X コラーゲンポリクローナル抗体(ABBIOTEC)を用い、室温で2時間反応させた。一次抗体はPBSでそれぞれ1:400、1:300に希釈した。免疫染色にはVECTASTAIN ABCキットを用い、一次抗体の後にPBSで洗浄し、キットの二次抗体を室温で2時間反応させ、PBSで洗浄後、キットのABC試薬を室温で30分間反応させた。次いでPBSで洗浄しDABで発色した。発色後、対比染色としてメチルグリーンで30分染色し、素早く水洗した後に濾紙で水分をとり、アセトン、アセトン:キシレン(1:1)、キシレンにそれぞれ浸漬し、バルサムで封入した。

樹脂包埋研磨標本の作成

リゴラック樹脂包埋標本の作製ではパラフィン包埋と同様の方法で脱水し、アセトン I、IIに30分ずつ浸漬し透徹を行った。さらに、リゴラック樹脂とアセトンの混合液に浸漬した。その割合は1:1(3時間)、3:1(6時間)、7:1(半日)、リゴラック樹脂原液(1日)、リゴラック樹脂原液(1日)で行い、その後、樹脂に包埋し加温重合を行った。温度は各1日37、45、55、60℃で加温した。重合が終わったブロックはバンドソーでトリミングし、砥石および研磨用フィルムを用いて研磨して脛骨矢状断研磨標本を作製した。この標本は0.1N塩酸でエッチングを行った後、トルイジンブルー染色を施し、形態計測および光学顕微鏡による観察を行った。

SEM観察用標本の作製

SEM用標本作製ではまず、ハンドモーターによって矢状断された脛骨をさらに矢状面に

凍結切断を行い、トルイジンブルーで染色を施した。そして、実態顕微鏡で観察しながら次亜塩素酸ナトリウムに浸漬し、関節軟骨の未石灰化層を除去した。その後、切断面を砥石で研磨し、四酸化オスミウムに4時間浸漬し後固定を行った。固定後、70、90、100%エタノールを用いてそれぞれ20、30、40分間脱水を行った。そして、n-ブチルアルコールで凍結しフリーズドライヤーで真空凍結乾燥を行い、乾燥終了後、試料台に接着し、カーボンコーターを用いてカーボンの真空蒸着を行った。さらに、イオンスパッタを用いてプラチナ蒸着を施し、SEMにより関節軟骨の未石灰化層と石灰化層の境を観察した。

形態計測

形態計測では脛骨近位骨端を関節軟骨の形態、染色性および大腿骨からの荷重部位から判断し、前方、中央および後方に区分して、それぞれの部位における関節軟骨と骨端海綿骨を測定した。関節軟骨は表層、中間層、深層および石灰化層に分類し、それぞれの厚さ、面積、細胞数ならびに細胞周囲長を測定した。骨端海綿骨は骨梁の面積と周囲長を計測し、骨量BV/TVと骨梁幅tb/thを求めた。

統計処理

形態計測の群間の比較には、一元配置分散分析およびTukey法を多重比較検定としてSPSSにて行った。いずれも $P < 0.05$ を有意差ありと判断した。

結果

リゴラック樹脂に包埋した各週齢の脛骨近位骨端の矢状断標本を研磨しトルイジンブルー染色を施して観察すると、3週齢から週齢が進むにしたがって骨端は前後的に大きさを増すが上下的にも大きくなった。

各週齢における関節軟骨および骨端海綿骨の構造的特徴については、まず3週齢の関節軟骨では、前方から後方に至るまで全体に厚く、部位差はほとんど認められなかった。関節軟骨はこの染色で表層の淡く染まる層と深層の濃く染まる層に分かれ、両層の厚さの比率はほぼ同程度であった。この層区分に関しても部位差は認められなかった。骨端海綿骨の中でも関節軟骨直下では細い骨梁が密に存在し、この状態に部位差は認められなかった。それに対して、海綿骨の深部では骨梁が存在しない領域が広がっていた。

5週齢になると骨端の後方部においてのみ上下的な厚さの減少がみられた。関節軟骨は3週齢に比べて全体的にやや薄くなるが、後方部の厚さの減少が顕著であった。関節軟骨の染色性に関しては、3週齢に比べて表層の淡く染まる層が厚くなり、深層の濃く染まる層は厚さが減少し、前者と後者の比は3：1程度となっていた。骨端海綿骨の骨梁は3週齢に比べて全体的に密になり、関節軟骨と骨端板とを連結する骨梁も出現した。しかし、この週齢におい

でも骨端海綿骨の深部には骨梁の存在しない領域が認められた。関節軟骨直下の骨梁は3週齢に比べ、骨梁が互いに連結している状態が多く見られた。

9週齢の骨端の上下的な厚さは5週齢とほぼ同様であるが、前後方向に著しく大きさを増し、その結果、5週齢までの骨端に比べて全体的に前後方向に長い形態を示した。先の週齢の後方部に加え、この週齢の関節軟骨は前方部においても厚さの減少が見られ、中央部のみが厚さが維持されていた。関節軟骨の中で表層の染色性の低い領域と深層の染色性の高い領域を比べると、5週齢のものに比べて後者がかなり薄くなった。骨端の海綿骨は全体的に5週齢に比べて骨梁の密度が増すとともに、関節軟骨と骨端板の間を連結するような長い骨梁も出現した。関節軟骨直下の海綿骨は、中央部では前方および後方部に比べ太い骨梁が認められた。

13週齢の骨端の形態はほぼ9週齢のものに類似しているが、9週齢よりやや上下方向に薄くなった。この週齢の関節軟骨は後方部と、特に前方部の厚さの減少が顕著に認められ、中央部の厚さが維持された。しかし、中央部の厚さは9週齢に比べて薄くなった。骨端海綿骨における骨梁の太さは9週齢よりさらに太くなり、関節軟骨と骨端とを連結していた。9週齢に比べ関節軟骨直下の海綿骨の太さは増し、中央部では骨梁間にほとんど隙間がみられなかった。

このように骨端自体は9週齢から13週齢にいたるまでに、骨端の全体的な形態がやや扁平となり、それは骨端の後方部から生じた。また、関節軟骨はまず後方部の厚さの減少が生じ、それに続いて前方部でみられるが、中央部の厚さの減少は極めて緩やかであった。5週齢では骨端海綿骨の中でも前端および後端部において、前後方向に配列する骨梁が出現し始め、そのような配列を示す骨梁は9週齢から13週齢に進むにしたがって太さや長さが増した。(図1)

脛骨の骨端における海綿骨の骨量を部位別に比較すると、3週齢と5週齢の間では前方部では有意な差はなかったが、それ以外の部位では有意差が認められた。5週齢から9週齢になると前方および中央部では急激に増加した。しかし、後方部の骨量は発育期間中徐々に増加した。9週齢から13週齢の間では、中央と後方部で有意な差がなかったが、前方では有意差がみられた。(図2)

脛骨関節軟骨の各部位における中間層の厚さを比較すると、いずれの部位も3週齢では厚さに差は無いが、前方および後方部は成長に伴い減少した。しかし、中央部ではどの週齢の間にも厚さに有意差はなく変化がなかった。(図3)

関節軟骨各部位の中間層の細胞数はどの部位でも発育に伴い有意に減少した。中央部は前方および後方部に比べて9週齢と13週齢で細胞数が多かった。中間層の細胞数はどの部位でも発育に伴い有意な減少がみられた。後方部では3週齢と5週齢および9週齢と13週齢の間には有意差がみられなかったが、それ以外の全てに有意差が認められた。前方部では3週齢か

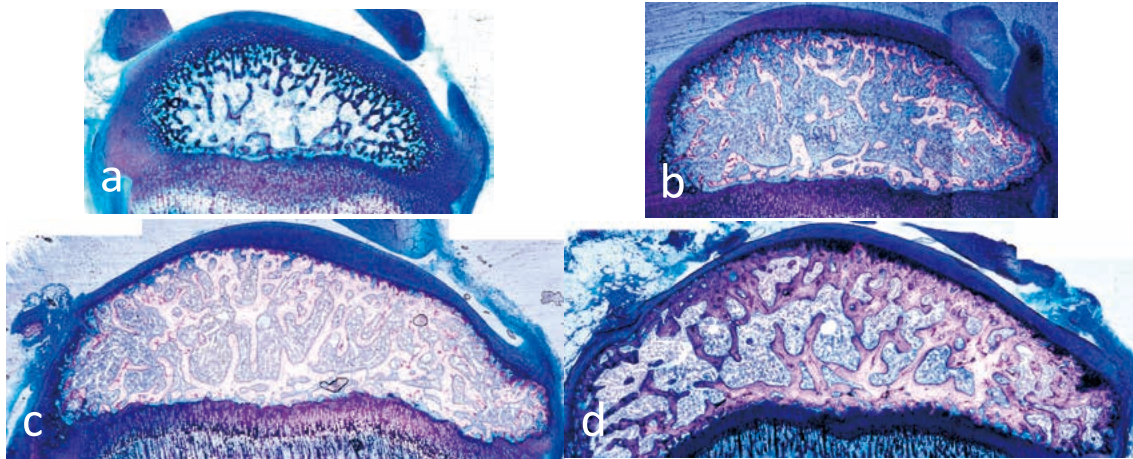


図1. 骨端弱拡大像
 (リゴラック樹脂包埋研磨標本、トルイジンブルー染色)
 a:3W、b:5W、c:9W、d:13W
 いずれの写真も左側が前方、右側が後方に相当する

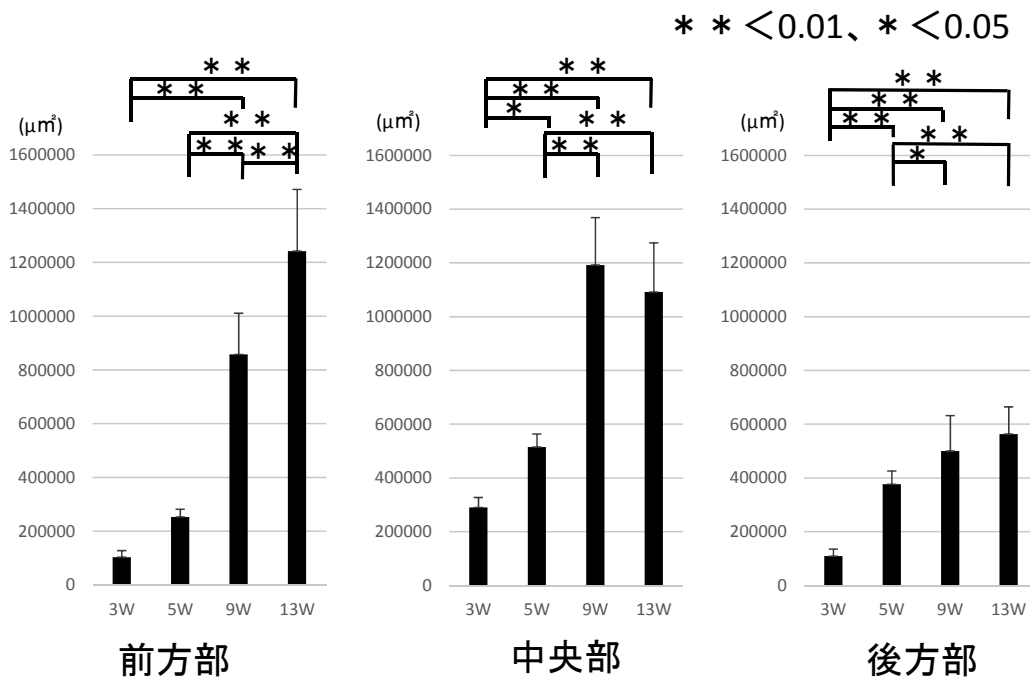


図2. 骨端各部位の骨量

ら5週齢になると急激に細胞数が減少した。後方部では5週齢から9週齢になると急激に細胞数が減少した。(図4)

関節軟骨各部位の中間層の細胞周囲長を比較すると、前方部では3週齢と比較して他の週齢全て小さいが、5週齢以降で有意差はみられない。中央および後方部では週齢ごとの変化

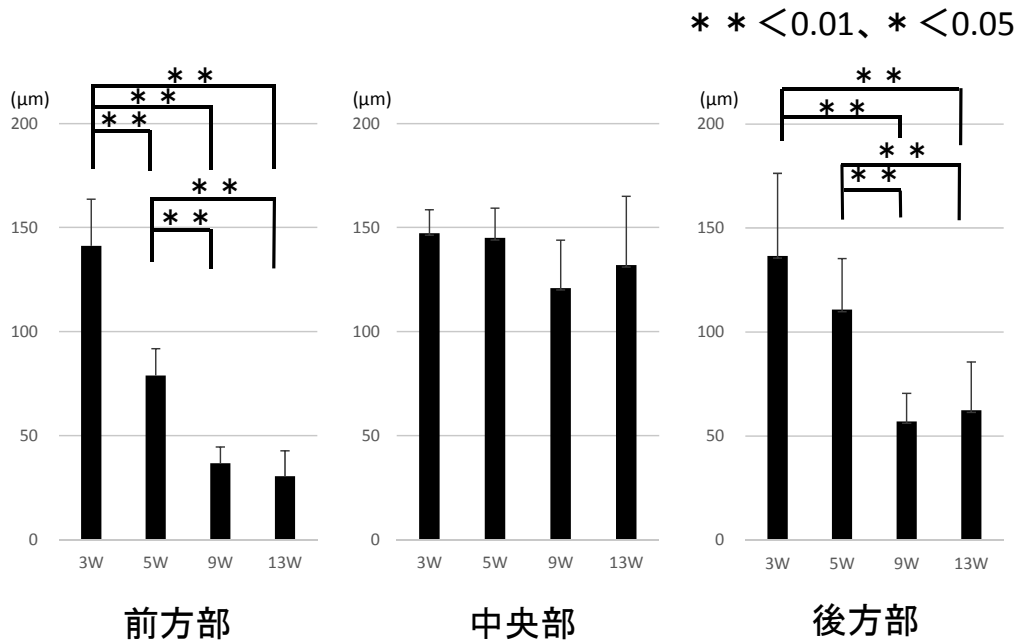


図3. 各部位における関節軟骨中間層の厚さ

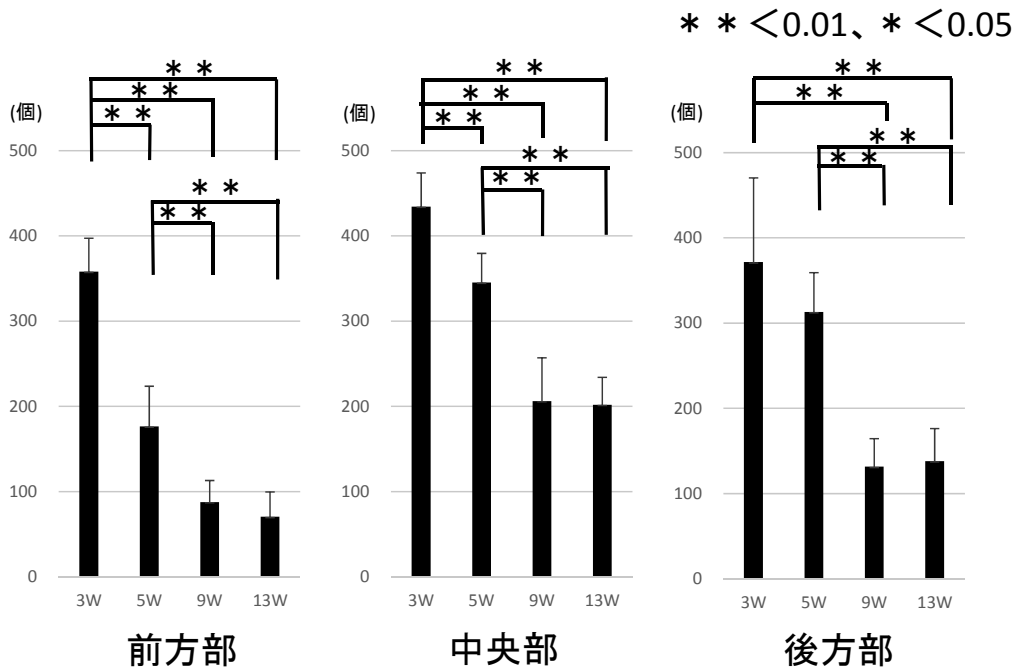


図4. 各部位における関節軟骨中間層の細胞数

はみられなかった。(図5)

各週齢の関節軟骨中央部におけるタイプIコラーゲンの免疫染色を比較すると、成長に伴って骨梁は密で太さを増した。3週齢および5週齢では関節軟骨直下の骨梁間に間隙がみら

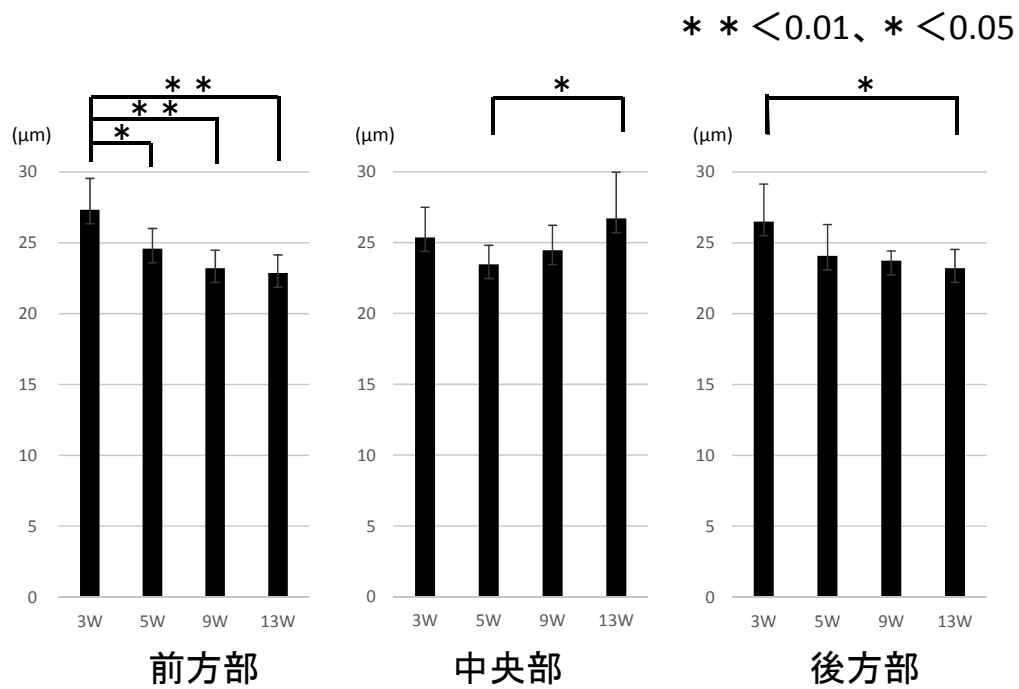


図5. 各部位における関節軟骨中間層の細胞の周囲長

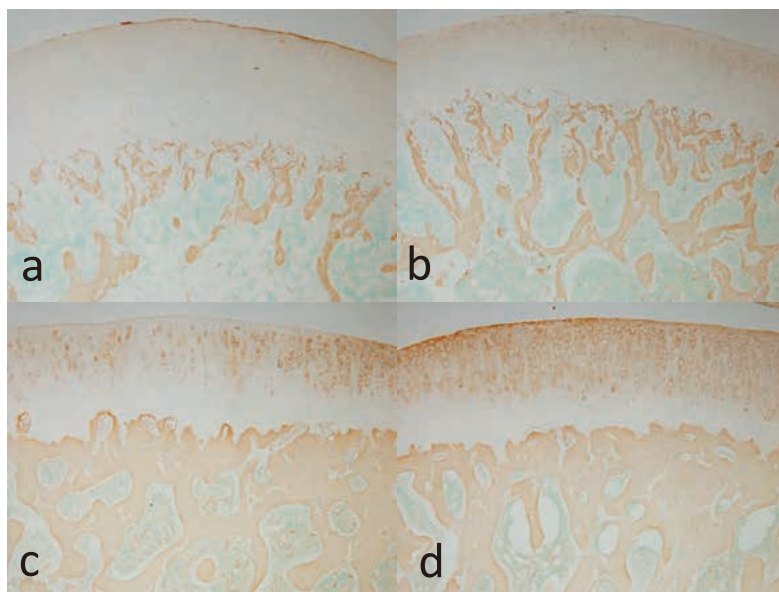


図6. 中央部におけるタイプ I コラーゲンの局在
 (脱灰パラフィン切片、タイプ I コラーゲン免疫染色、メチルグリーン染色)
 a:3W、b:5W、c:9W、d:13W

れ、軟骨が骨髓腔に露出していた。9週齢ならびに13週齢では関節軟骨直下の骨梁間に間隙がみられず、関節軟骨から骨が連続していた。3週齢と5週齢は関節軟骨の肥大細胞の軟骨小腔に沿って骨が形成された。9週齢および13週では関節軟骨中にもタイプ I コラーゲンの反

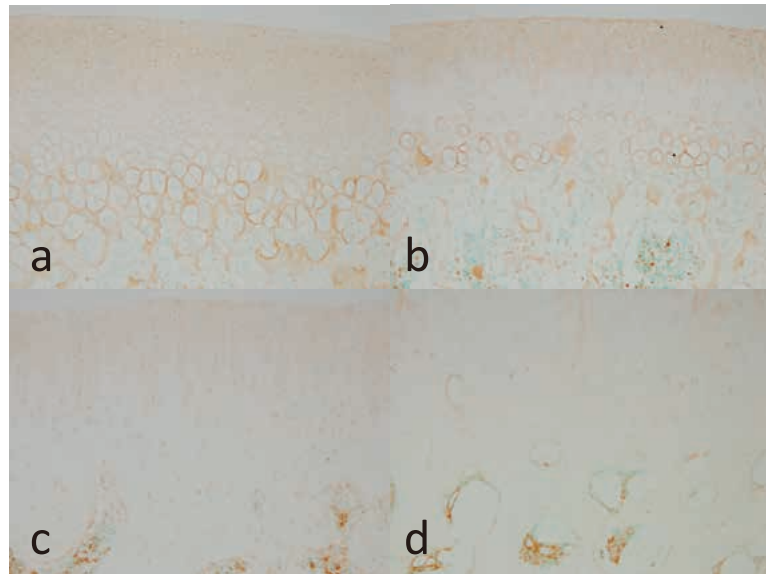


図7. 中央部におけるタイプXコラーゲンの局在
(脱灰パラフィン切片、タイプXコラーゲン免疫染色、メチルグリーン染色)
a:3W、b:5W、c:9W、d:13W

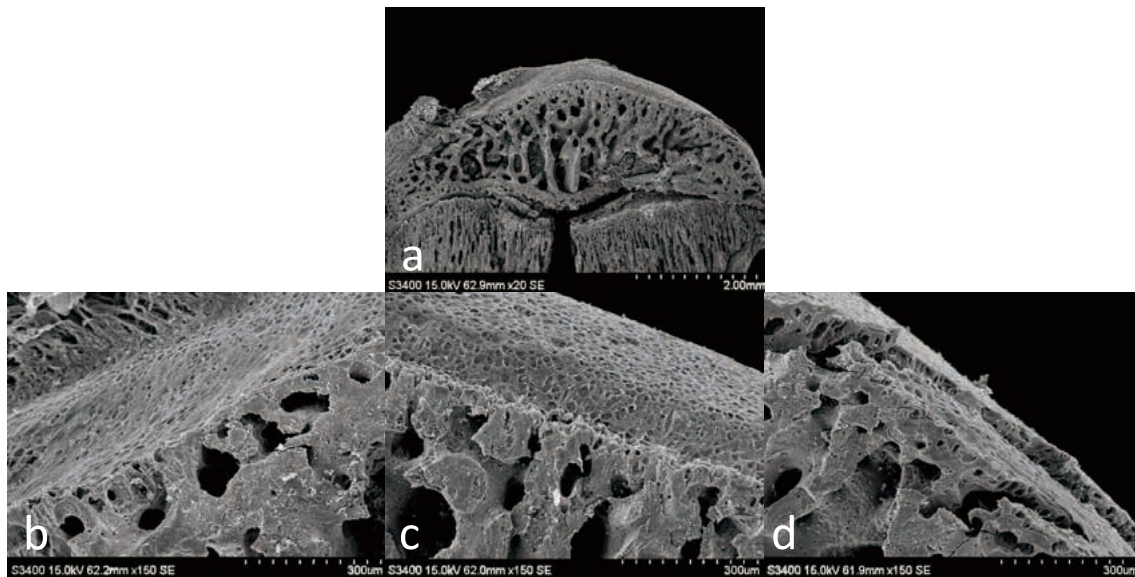


図8. 13Wの関節軟骨における未石灰化—石灰化層の境界部
(矢状割断次亜塩素酸ナトリウム処理標本、SEM像)
a:全体像、b:後方部拡大、c:中央部拡大、d:前方部拡大

応が見られた。(図6)

関節軟骨中央部のタイプXコラーゲンについて免疫染色を行った結果、3週齢と5週齢の肥大軟骨細胞に反応がみられた。3週齢では5週齢に比べて肥大細胞が大きく、5週齢では肥大

細胞が小さい。9週齢と13週齢では反応がみられなかった。(図7)

13週齢の関節軟骨を次亜塩素酸ナトリウムで処理し、未石灰化層と石灰化層の境界部を露出させた標本を走査電子顕微鏡で観察すると、前方部および後方部は平坦であった。それに比べ中央部では凹凸がみられた。(図8)

考 察

一般に、関節軟骨は成長に伴って薄くなる。10週齢と2年齢のwistar 系雄性ラットの距腿関節における関節軟骨を比較した報告によると、後者では関節軟骨の厚さが減少し、軟骨の細胞層別にみると表層から中間層にかけて減少することが示されている⁷⁾。本研究では、3週齢の場合、前方から後方に至るまで全体に厚く、部位による差はほとんど認められなかったが、5週齢になると後方部においてのみ厚さの減少がみられた。9週齢では関節軟骨全体の前後径が増し、前方部においても厚さが減少した。13週齢ではかなり薄くなるが、9週齢以降でも中央部は厚さが維持されていた。このように、関節軟骨はまず後方部の厚さの減少が生じ、それに続いて前方部でみられるが、中央部の厚さの減少はきわめて緩やかであった。

胎生18日では関節軟骨に膠原線維は見られないが、生後0日から徐々に関節軟骨表面から見られ初め、成長とともに関節軟骨の膠原線維の量が増える⁸⁾。また、6ヶ月齢の雌性ブタの脛骨関節面を関節半月による被覆部と非被覆部に分けて構造の違いを検討している⁹⁾。それによると、非被覆部の軟骨の厚さは被覆部に比べて厚く、線維が密で深層では配列が規則的となっており、このことから非被覆部は加重に対する抵抗性が高いとされている。ラットは四足歩行で、しかも常時膝を屈曲させた運動形態をとり、そのため大腿骨の内側顆および外側顆からの加重は、脛骨の内側・外側の関節面の中でも、前後的な中央部にかかっているであろうことが推測され、後方部は半月板に覆われるために厚さの減少がみられたと思われる。

また、9週齢になると前方部も薄くなった。この時期には骨端全体が前後方向に伸長しており、脛骨近位骨端の前方部には軟骨が消失した。9週齢における関節軟骨前方部の厚さの減少は、骨に置換されるために軟骨が退化したものと思われる。5週齢から13週齢の間に、関節軟骨の後方と前方いずれも厚さが減少したが、その変化には機能上の違いがあるように思われる。

一方、関節軟骨中央部は13週齢においても厚さが維持されていた。この部位は関節半月に覆われない部位である。7週齢と13週齢のラットの脛骨関節軟骨について形態学的に検討した研究でも、関節軟骨の中央部は他の部位に比べて厚いことが示されている⁶⁾。発育期では、幼若な段階で全体が厚いがその後、基質線維が増加して⁹⁾、外力に抵抗し得る構造を獲得するとともに厚さの減少がみられ、後方部に続いて前方部が薄くなるという過程を経て最後に中央部も薄くなるという発育段階が関節軟骨に存在すると思われる。

本研究では、中間層の細胞数はどの部位でも発育に伴って有意に減少し、前方部では3週

齢から5週齢になる間に、また、後方部では5週齢から9週齢になると急激に細胞数が減少した。軟骨細胞の周囲長からみた細胞の大きさは、いずれの部位も3週が最も大きく、その後小型化し、特に前方部では有意な減少が認められた。腱や靭帯のような密性結合組織の細胞は狭い線維束間隙に整然と並び、細胞自体もあまり大きくない。8週齢wister系雄性ラットを用いて、器具を使用し下顎頭軟骨に連続的な圧縮を加えると、軟骨の細胞数と細胞の大きさの低下を示したことが報告されている¹⁰⁾。発育に伴う軟骨細胞の密度低下や小型化は相対的な細胞間基質の増大を意味するものであり、発育に伴って基質線維やプロテオグリカンが増加したことが関係していると考えられる。また、幼若な細胞の中にはやや大型のものがみられ、それらは細胞質が明調である。細胞の分化が進むと暗調となり、電子顕微鏡的には細胞小器官が増加している。軟骨細胞が小型化するのには、上述のように、細胞間基質が狭くなることに加え、細胞小器官が増加することによって機能が高まったためであろうことが推測される。

下顎頭軟骨の肥大層についてX線解析した報告¹¹⁾によると、肥大層中部および下部ではCaとP元素の著明なピークが検出された。肥大層上部から下部にかけてはCaとPの濃度分布が増加することが示されている。また、同様に下顎頭軟骨で発育変化について検討した研究¹²⁾は、肥大軟骨細胞は加齢とともに少なくなり、石灰化層も若い方が厚いとしている。

本研究の観察によると、3週齢の関節軟骨はトルイジンブルー染色で表層の淡く染まる層と深層の濃く染まる層に分かれ、両層の厚さの比率はほぼ同程度であるが、5週齢では深層の濃く染まる層は厚さが減少し、前者と後者の比が3:1になり、9週齢以降ではかなり薄くなった。非脱灰樹脂包埋研磨標本にトルイジンブルー染色を施すと、未石灰化基質はメタクロマジーを起こして紫色に染まり、石灰化基質は濃い青色に染まる。この染色性の特徴を本研究の観察結果に当てはめると、関節軟骨の中でも淡く染まる層は未石灰化層で、濃く染まる層は石灰化層であり、この結果は先行研究⁶⁾に一致するもので、発育に伴って石灰化層が薄くなることを意味している。

本研究でも13週齢の関節軟骨を次亜塩素酸ナトリウムで処理し、未石灰化層と石灰化層の境界部をSEMで観察し、前方部および後方部は平坦であったが、中央部では凹凸がみられた。荻原⁶⁾は、発育期のラットでは前方部でタイドマークがみられるが、中央および後方部ではそれがみられず、その部位の石灰化層と未石灰化層の界面には凹凸が存在することを見出し、このことから、前方部では加重がかからないために両層の深い嵌合が必要なく、そのような部位にタイドマークが出現するとしている。そのような観点から本研究のSEM観察の結果をみると、先に述べた発育初期段階にある5週齢とは異なり、ほぼ成熟段階にある13週齢では前方および後方部よりも中央部に大腿骨側からの加重がかかっているであろうことが推測される。このことは、13週齢における骨端海綿骨の中央部の骨梁が他の部位に比べて太くて密度も高く、骨梁間の間隙も狭くなっていることから理解されることである。

1～9ヶ月齢のラット下顎頭軟骨ではタイプI、IIコラーゲンは成長とともに軟骨全体で発現され、タイプXコラーゲンは石灰化層の上で必ず見られるという報告⁷⁾がある。本研究では、9および13週齢では関節軟骨中にタイプIコラーゲンの反応が見られた。また、関節軟骨中央部のタイプXコラーゲンについて免疫染色を行った結果、3週齢と5週齢の肥大軟骨細胞に反応がみられたが、9週齢と13週齢では反応がみられなかった。タイプXコラーゲンの発現の部位ならびに時期については先行研究⁷⁾と一致するものであった。9週齢雄性マウスを用いた研究¹⁴⁾からは、2、4、6、8週間のトレッドミル走行負荷で、タイプIIコラーゲンの発現の減少および、タイプXコラーゲンの発現の増加が認められたことが示されている。この研究¹⁴⁾は、関節軟骨に負荷をかけることによってタイプXコラーゲンの発現が増加することを示しているが、本研究では発育して体重が増加したがその発現がみられておらず、このことはコラーゲン各タイプの線維の機能的特徴を合わせ、今後の検討課題である。

結 論

発育期の関節軟骨では基質線維を含む細胞外基質の変化によって強度的強化が図られていることが示唆された。

謝 辞

本研究を進めるにあたりご指導していただいた先生方、また、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。

倫理審査および動物実験委員会による審査

本研究は東洋大学動物実験委員会ならびに福祉社会デザイン研究科研究等倫理委員会の承認を得て実施した。

参考文献

- 1) 川村秀哉、杉岡洋一、廣田良夫、井上一、黒坂昌弘、緒方公介、新名正由、藤井克之、1995、「変形性膝関節症の疫学—患者数推定と患者調査結果の検討—」、『整形外科と災害外科』、44(1)、12-15.
- 2) 古賀良生、2008、「変形性膝関節症—病態と保存療法」、南江堂.
- 3) 藤井克之、井上一、2002「骨と軟骨のバイオロジー 基礎から臨床への展開」、金原出版.
- 4) 沖田実、2008、「関節可動域制限—病態の理解と治療の考え方」、三輪書店.
- 5) H. T. FAWNS and J. W. LANDELLS, 1953, 「HISTOCHEMICAL STUDIES OF

- RHEUMATIC CONDITIONS I. OBSERVATIONS ON THE FINE STRUCTURES OF THE MATRIX OF NORMAL BONE AND CARTILAGE」, 『ANNALS OF THE RHEUMATIC DISEASES』, pp.105-113.
- 6) 荻原優、滝沢彩音、大迫正文、2010、「ラット脛骨関節軟骨における各細胞層の発育変化－タイドマークの構造変化を中心に－」、『東洋大学大学院紀要』、第47集、269-283.
 - 7) 村田健児、金村尚彦、羽田侑里子、飯島弘貴、高柳清美、森山英樹、2011、「ラット足関節軟骨の加齢と運動の影響」、『理学療法—臨床・研究・教育』、第18巻・第1号、61-66.
 - 8) 安孫子幸子、松浦奈津江、川真田聖一、2002、「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」、『広大保健学ジャーナル』、Vol. 2、34-40.
 - 9) 飯島弘貴、青山朋樹、伊藤明良、太治野純一、長井桃子、張項凱、山口将希、秋山治彦、黒木裕士、2013、「半月板を介在して荷重を担う軟骨の組織学的力学的特性—ブタ膝関節を用いた実験研究—」、『理学療法学』、第40巻・第5号、355-363.
 - 10) MICHITOSHI TERAMOTO, SAWA KANEKO, SHUNICHI SHIBATA, MASAKI YANAGISHITA, and KUNIMICHI SOMA, 2003, 「Effect of compressive forces on extracellular matrix in rat mandibular condylar cartilage」, 『Journal of Bone and Mineral Metabolism』, 21, Springer-Verlag, 276-286.
 - 11) 横田芳彦、杉山裕、申富雄、小口幸司、江川薫、1983、「石灰化軟骨基質の立体超微形態と石灰化度の研究」、『昭和歯学会雑誌』、第3巻・第1号、39-44.
 - 12) NAOKO OHASHI, SADAKAZU EJIRI, KOOJI HANADA, and HIDEHIRO OZAWA, 1997, 「Changes in type I, II, and X collagen immunoreactivity of the mandibular condylar cartilage in a naturally aging rat model」, 『Journal of Bone and Mineral Metabolism』, 15, Springer-Verlag, pp.77-83.
 - 13) 古澤満、1995、「成長に伴うラット関節軟骨細胞外基質に関する免疫組織学的研究」、『歯基礎誌』、37、37-49.
 - 14) 橋本 和彦、赤木 将男、2012、「強制走行負荷による非侵襲性マウス変形性膝関節症モデルの作成」、『近畿大医誌』、第37巻・1、2号、11-19.

Study on structural changes of tibial articular cartilage with growth in rats

KUSAKA, Shota
KANO, Tsuyoshi
OHSAKO, Masafumi

Summary

Purpose of this study was to investigate structural and functional meanings of uncalcified and calcified layers of tibial articular cartilages in rats by observing them histologically. Male rats (wistar strain, 3,5,9 and 13-week-old) were used as materials, and tibias were extracted from them. Various specimens were made using those samples, and were observed morphologically.

The articular cartilage was thick in an immature stage, but was going to be thinner because of both increase in matrix fibers and acquiring resistance to external force after that. Cell numbers of an intermediate layer decreased in every portion with growth. Reactions to type I collagen antibody were observed in the articular cartilage of from 9 to 13 weeks old. Reactions to type X collagen antibody were recognized at hypertrophic cell layer from 3 to 5 weeks old, but weren't observed from 9 to 13 weeks old.

It was thought that a decrease in a density and miniaturization of chondrocytes meant a relative increase in an intercellular matrix and this was derived from increase in the matrix fibers and proteoglycans. It was supposed that an appearance of type I collagen fibers that were contained in bone matrix at late growing period gave an enhancing of resistance to a mechanical stress.

Then, it was suggested that the articular cartilages in growing period raised their structural intensity by changing in structures of the intercellular matrixes.

Keywords: Growth, Articular cartilage, Histological structure