

肋軟骨の研究

その2. 肋軟骨の組織学的研究——その年齢的变化

西野健二

結核予防会結核研究所 (所長 岩崎龍郎)

受付 昭和45年3月14日

STUDIES ON THE HUMAN RIB CARTILAGE*

Report 2. A Histological Study of the Human Rib
Cartilage in Relation to Aging

Kenji NISHINO

(Received for publication March 14, 1970)

In the previous paper, histological findings of rib cartilage were studied in order to elucidate its mode of calcification and ossification on the X-ray film. In the present study, a further histological observation was made on the changes of stainability of the ground substance, atrophy and uneven distribution of the cartilage cells and the deformation of vessels in relation to age.

The vessels were found in the rib cartilage of fetus and infants. This finding was contrary to the Patten's observation stating no vessel was found in the growing cartilage. Various changes appeared on the structure of "canal" (the lumina in which the vessels penetrating ground substance of the cartilage situate) in the cartilage of puberty such as fibrous, granular and cartilagelike transformation or their mixture. In the middle age or older, enlargement of the "canals" with appearance of osseous or osteoid tissue on their walls with disappearance of the vessels and the appearance of fatty and bone-marrow tissue in the lumina were noted. (Fig. 1)

The following changes in the stainability of the ground substance of cartilage appeared first in puberty; namely, pinc halo surrounding the cartilage cells by Azan stain, black one by silver impregnating stain and dark purple ring between the halo and cartilage cells by Weigert's elastica stain (Fig. 2). In the cartilage of the middle age or older, red halos by Azan stain were observed everywhere, which correlate likely with the calcium deposit in the cartilage, since the granular substances stained in blue by hematoxylin and in red by Azan were found in the rib cartilage showing evident calcification on the X-ray film. From the above findings, it is likely that the calcification of ground substance of rib cartilage begin in puberty.

Fibrous transformation of ground substance of cartilage was noted slightly in infants, showed gradual increase with age, and after puberty, it was markedly found.

As shown in Table, atrophy of the cartilage cells appeared in puberty, and it increased in degree with age accompanying disappearance of the nuclei. Uneven distribution of the cartilage cells was noted with atrophy of the cells in the middle age or older, and it was prominent in

* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Kiyose-machi, Kitatama-gun, Tokyo 180-04 Japan.

senile age.

The columnal zone of flattened cells in the growth zone which correspond to the epiphyseal cartilage plate of long bone was thick in fetus, decreased in thickness with age and disappeared in puberty. The cystic zone of hypertrophic cells also disappeared slightly later than the disappearance of the columnal zone. (Fig. 3)

はじめに

私は前報²⁾において人肋軟骨のX線写真に認められた化骨陰影および石灰陰影に対応する組織所見について報告した。今回はX線写真上に陰影の現われない組織変化、すなわち基質の染色性の変化、血管の変形および細胞の変化等について考察を加えた。

軟骨基質の化学的組成については、組織化学的検査方法や電子顕微鏡を用いてもなおかつ不明の点が多く残されているが、光学顕微鏡による検討もまた必ずしも行き届いているとはいえないように思われる。以下肋軟骨の年齢的变化についての組織学的研究成績を報告する。

材料と方法

検査材料は東京都監察医務院および結核予防会結核研究所における剖検例 40 例（胎児 3 例, 0 歳 8 例, 1~10 歳 7 例, 11~20 歳 3 例, 21~40 歳 6 例, 41~76 歳 13 例）の肋軟骨（第 I, 第 II および第 V 肋軟骨）である。

まずホルマリン液固定の後、10% 蟻酸・イオン交換樹脂法によつて脱灰した。脱灰時間は幼少年では数日から 1 週間、青年以後は 1 週間から 2 週間であつた。

脱灰後、型のようにパラフィン包埋、厚さ 5μ の切片を作り、全切片にヘマトキシリン・エオジン（以下 HE）、アザン、ワイゲルトのエラスチカ（以下エラスチカ）および鍍銀法の諸染色を施し、一部にはゴモリ氏メトナミン銀染色、コッサの方法およびアルシャン青法をもあわせ施して検鏡した。

成 績

I. 肋軟骨の血管系の年齢的变化

私は軟骨基質を貫通する血管（細動脈およびジヌソイド）と結合織とからなる管状構造を canal¹⁾²⁾ と呼んだ。胎児および乳児の標本では canal の横断面に変化はみられなかつたが、6 歳の標本には線維状あるいは胞状の変形が軽度に認められ、17 歳の標本には赤血球のつまつた普通の形のジヌソイド（第 1 報²⁾ 図 11 参照）のほかに、図 1 に示すようなさまざまな変形が認められた。すなわち線

維化したもの（図 1-2, 7, 8, 9, 10）、顆粒状のもの（図 1-4, 8）、大きな顆粒があつてその内部が蜂窠状になつたもの、無定形物質のみられるもの（図 1-7, 9, 10）、新しく軟骨組織化したもの（図 1-3, 4, 6）、あるいはこれらの変化の入り混つたもの（図 1-4, 6, 7, 8, 9, 10）等であつて、このように変形した canal の横断面にはジヌソイドの構造はもはや明らかには認められなかつた。

30 歳代まではこの程度の変化であつたが、40 歳以上の標本では canal の変形はより複雑になつた。すなわち canal の内腔は不規則に拡大し、腔壁に osteoid（図 1-11）あるいは骨組織の基質構造（図 1-12）が認められ、腔内には骨髓組織（図 1-12）や脂肪組織が認められたのである。

以上要するに、胎児期から老年期にいたるまで肋軟骨にはかなりの数の血管が認められ、思春期には canal の構造に著明な変形が起こり、40 歳以後になるとそれまでの変形のほかに canal 腔に骨組織や脂肪組織が認められた。

II. 軟骨細胞の年齢的变化

第 I 肋軟骨の標本（HE 染色）について、細胞核の変形と細胞数の増減を検討し、その成績を表に示した。すなわち標本ごとに 200 コの核の形を観察し、顕微鏡 1 視野

Fig. 1. Schema of Various Transformations of Canal

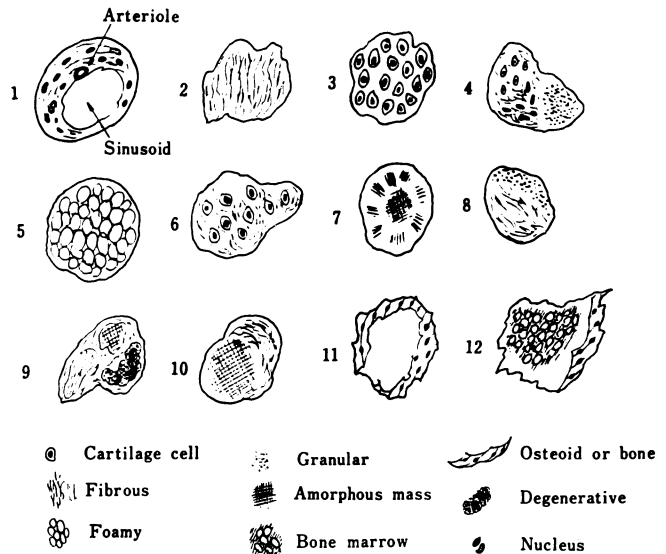


Table. The Changes of the Cartilage Cell in Relation to Age

| Type of nucleus Age | | Morphological changes of cartilage cell* | | | | | Uneven distribution of cells | Number of cells per field (10×40)** |
|------------------------|--------------|--|--------------|-------------|-------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| | | I normal | II shrinkage | III atrophy | IV pycnosis | V disappearance and karyolysis | | |
| 44 days | No treatment | 129 | 54 | 0 | 4 | 13 | — | 150 |
| | Decalcified | 7 | 136 | 3 | 7 | 47 | | |
| 3 months | No treatment | 161 | 9 | 1 | 4 | 25 | — | 100 |
| | Decalcified | 19 | 88 | 2 | 12 | 79 | | |
| 6 months | No treatment | 180 | 6 | 0 | 2 | 12 | — | 90 |
| | Decalcified | 25 | 92 | 2 | 3 | 78 | | |
| 7 yrs | | 0 | 43 | 12 | 50 | 95 | — | 70 |
| 10 | | 0 | 20 | 5 | 56 | 119 | ± | 40 |
| 17 | | 5 | 23 | 20 | 104 | 48 | + | 30 |
| 29 | | 0 | 0 | 9 | 70 | 121 | + | 20 |
| 40 | | 0 | 0 | 10 | 110 | 80 | ++ | 20 |
| 53 | | 0 | 0 | 8 | 80 | 112 | ++ | 20 |
| 72 | | 0 | 0 | 17 | 0 | 183 | ++ | 20 |

Notes: * Distribution of morphological changes counted among 200 cartilage cells.

** The mean of cartilage cells in 3 visual fields.

(10×40)の細胞数を数えた。細胞が消失していても軟骨腔 (lacuna) の認められるものは1コに数えた。

脱灰の影響をみるため、44日、3カ月および6カ月の肋軟骨の無脱灰標本と脱灰標本とを比較したところ、脱灰標本では無脱灰に比べて原形質や核の収縮 (shrinkage) が著しく、核消失を示すものも多かった。

核の収縮がホルマリン固定やパラフィン包埋時の加温によつてある程度ひき起こされることは分かっていたが、10% 蟻酸の細胞に及ぼす影響は予想外に強く、その事実は表に明らかである。

すなわち表に示した数字は、実際の年齢的变化のうえに脱灰操作による artefact の加わつた数を示しており、とくに核の収縮 (shrinkage) はその大多数が artefact であると思われる。核の萎縮と濃縮は17歳ではそれ以前に比べて増加を示し、29歳以上では核の濃縮と消失が著明であり、72歳では細胞の核はほとんど消失していた。

また顕微鏡1視野 (10×40) の細胞数を数えてみると、乳児では90以上あつたものが年とともに漸減してゆき、17歳では30になり、29歳以降は20で不変であつた。

また軟骨細胞は加齢とともに減少するだけでなく、細胞の分布状態に偏りのあることが分かつた。この分布の偏り (すなわち細胞の部分的過疎化) は10歳の標本にすでに軽度認められたが、思春期になるとかなり著明になり、40歳以降には顕著に認められた。このような細胞過疎区域は、「IV-3. 基質に認められたその他の変化」の項に述べる軟骨構造のなくなつた部分に相当す

ると思われる。

Ⅲ. 肋軟骨基質の染色性の年齢的变化

最初に、基質の呈色性に及ぼす脱灰の影響を知るため、生後44日、3カ月および6カ月の3例について、無脱灰と脱灰両種切片の染色性を各染色法について比較してみたが、両者の間にほとんど差異はみられなかつた。

以下5種類の染色法について基質の染色性の年齢的变化を検討したが、まずそれらの成績の要点を略図にして図2に示しておく。

1. アザン染色による所見

胎児から10歳までの標本では基質はほぼ均質に青く染まつた。基質の組成であるコラーゲンがアニリン青をとるためである。17歳の標本では青く染まつた基質の所々に、1コないし数コの細胞を囲むピンク色の輪状層が認められた。20歳ではピンク色の輪の幅が広くなり、これまで青1色であつた基質に橙色や赤色をとる部分が所々みられた。29歳ではピンク色や赤色の輪も多少認められたが、標本の辺縁部 (軟骨膜に近い部分) と軟骨細胞の周囲の小部分が青く染まつているだけで、基質は一般的にピンク色、橙色あるいは赤色に染まつていた。そして、そのような基質の所々に青く染まつた線維状構造が認められた。40歳を越えると、標本の辺縁部以外の基質は強く赤色をとるようになり、線維化もいつそう著明になつた。

2. エラスチカ染色による所見

胎児から10歳までは基質はワイゲルトの色素をほとんどとらず、とつても弱く斑点状に認められるだけであつた。10歳の標本には細胞の周囲に暈 (halo) のように

Fig. 2. The Changes of Stainability of the Cartilage Matrix in Relation to Age

| Age Staining method | 6 yrs. | 17 yrs. | 29 yrs. | 40 yrs. | ⊙ Normal nucleus ● Pycnosis ○ Disappearance |
|------------------------|--------|---------|---------|---------|---|
| | Azan | | | | |
| Silver | | | | | ○ Black |
| Elastica | | | | | ○ Dark purple |
| HE | | | | | ○ Violet |

ワイゲルトの色素を弱くするものがみられたが、細胞に密接した基質に明瞭にワイゲルトの色素をとる層が認められたのは17歳の標本であった。29歳以後にはこの層の紫色のとり方は加齢とともに強くなった。

3. 鍍銀法による所見

胎児から少年期までは基質は均質にきわめて弱く銀をとっていたが、17歳になるとアザン染色にみられたピンク色の輪に一致して銀をとる輪が認められた。29歳では銀をとる輪は幅を増した。40歳をすぎると、細胞に密接した部分（すなわちエラスチカ染色で紫色に染まった部分）以外の基質は均質に強く銀をとるようになり、銀の輪はもはや認められなかつた。

4. HE染色による所見

胎児から少年期までは基質はエオジンで均質に淡いピンク色に染まった。17歳では細胞に密接した基質が弱く塩基性に染まった。29歳ではこの部は強く塩基性に染まり、さらに細胞の周囲だけではなく基質の随所が紫色をとるようになった。40歳をこえると、基質の所々に紫色に染まった顆粒状物質が明瞭に認められ、その顆粒状構造の付近の軟骨細胞はいずれも強い萎縮を示していた。

5. アルシアン青染色による所見

本法による染まり方はアザン染色によく似ている。アザン染色で青と赤に染まる部分は本法ではコバルト色とピンク色に染まった。染まり方の年齢的变化を比べてみると両者の成績は平行を示した。

IV. 肋軟骨基質の石灰化と線維化

1. 基質の石灰化

胎児や乳児の肋軟骨は軟らかいので、無脱灰でもマイクロームにかけることができたが、5歳以後になると硬くなって脱灰しなければ切れなかつた。脱灰すれば組織に沈着した石灰は溶解消失する。したがって脱灰標本は人工的にコッサ陰性となり（前報²⁾ 132頁参照）、本来存在するはずの石灰沈着を顕微鏡下に認めることができない。しかしながら石灰化を推定できるような所見が全

くみられないかというとはなかつた。すなわち HE 染色標本には以下述べるような組織変化が認められたのである。

X線写真で明らかに石灰沈着の認められた肋軟骨（44歳、53歳および76歳）の脱灰 HE 染色標本を観察すると、X線写真の石灰陰影に対応する基質に骨髄組織、osteoid あるいは骨組織の基質構造が認められ、その周辺に塩基性色素をとる顆粒状物質が認められた。この部分を強拡大でみると、微小顆粒が軟骨細胞を包囲しており、包囲された細胞は他の部分の細胞に比べて強い萎縮を示していた。同じ顆粒状部をアザン染色でみると、顆粒は赤色をとり、鍍銀法

では銀を強くとっていた。

すでに「III. 肋軟骨基質の染色性の年齢的变化」の項に述べたように、17歳のアザン染色標本には細胞を囲むピンク色の輪が、鍍銀法では前法のピンクの輪に一致して銀の輪が認められたのである。

以上の所見から、アザン染色でピンク色あるいは赤色をとり、鍍銀法で銀をとるところの輪状あるいは顆粒状の基質部分は石灰沈着そのものを示すのではないけれども、この部分が石灰沈着に関係のある物質に変化していることを示すものと思われた。

2. 基質の線維化

青と赤のコントラストが鮮かで所見がとりやすいところから、線維化に関しては主にアザン染色標本について考察した。

基質の線維状構造（いわゆるアスベスト様構造）は幼年期にすでに軽度に見られるが、17歳の標本には著明に認められ、その後加齢とともに増強を示した。

17歳の標本には淡青色に染まった基質内に網目状に濃く青をとる構造がみられた。この網目の部分を強拡大でみると、均質に濃青に染まっているのではなく、濃青に染まった短い線維が密にあるいは疎に集まっているため全体として濃青にみえたのである。このような網目の内側には1コないし数コの軟骨細胞が認められ、これらの細胞はいずれも強い萎縮を示していた。すなわち核は萎縮、濃縮、融解あるいは消失を示しており、細胞が消失して軟骨腔(lacuna)だけ残っているものもあつた。細胞が消失すると、そのあとは線維化してゆき、消失した細胞の数や配列の状態に従って帯状または円形に近い形の線維化区域を形成していた。

20歳では基質は青色のほかは橙色や赤色をとるようになった。そして橙色や赤色の基質に青い線維構造が疎にあるいは密に認められるので、17歳に比べて非常に多彩にみえた。線維構造には長短硬軟さまざまな形がみられた。

40歳以上では基質はもつぱら赤色に染まるようにな

り、線維化は加齢とともに広くかつ著明になった。

鍍銀法でみると線維は銀をとって黒く染まっていた。

3. 基質に認められたその他の変化

20歳以後の標本には、石灰化や線維化のほか軟骨細胞のみえなくなった、すなわち軟骨構造のなくなった部分認められた。このような部分には細胞は認められてもきわめてわずかであつて、それらは強い核萎縮、核濃縮あるいは核消失を示していた。アザン染色でみると淡青色をとる部分、橙色または赤色をとる部分あるいは青、橙および赤が雑然と入り混つた部分というように同一標本でも部分によつて異なる染まり方を示した。HE染色ではこのような部分は、むらにピンク色をとっており、塩基性色素はとつていなかった。

このような軟骨構造のなくなつている基質部分と石灰化や線維化との関係ははつきりしないが、普通の基質とは物質が変わつているに違いないと思われた。

V. 肋軟骨成長帯の年齢的变化

第I肋軟骨の成長帯について観察したところをまとめてみると次の通りであつた。柱状層は胎児で最も厚く、乳幼児ではかなり厚かつたが、10歳では薄くなり、17歳では認められなかつた。胞状細胞は20歳ころまで認められた。

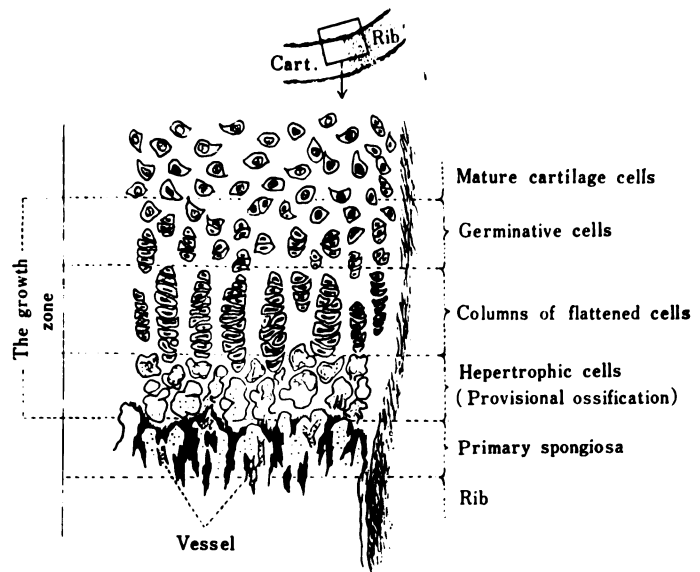
図3は10ヵ月胎児の肋軟骨成長帯の略図である。長管状骨の骨端軟骨板はdiaphysisの成長に寄与するだけであるが、肋軟骨の成長帯は肋骨と肋軟骨双方の成長に関与している。肋軟骨の成長帯については従来の胎生学や組織学の成書に記載がないので、ここに私のスケッチを示す。

考 案

吉村ら²⁰⁻²¹⁾は人肋軟骨の骨軟骨連合部の組織所見を多数の材料を用いて検討している。染色法はHEおよびワン・ギーソンの方法である。骨閉鎖については、第I肋骨から第VII肋骨にわたつて詳細な報告をしているが、それによると、骨端部の骨閉鎖は20歳ころ始まり、25~26歳で大部分が完成し、30歳では全例に骨閉鎖がみられたとしている。

また15~16歳ころから石灰沈着、アスベスト様物質の出現が始まり、25~26歳以後になると石灰沈着はきわめて強くなる。第I肋軟骨では骨閉鎖は第II肋軟骨以下よりも早く起こり、18歳ですでに完成しているもの

Fig. 3. Schema of Growth Zone of Rib-cartilage (Fetus of 10 months)



もあつたとしている。第I肋軟骨については私も同様の知見を得ている。

さらにベスト氏カルミン染色法により細胞のグリコーゲン発現状態を調べた結果、その所見と骨閉鎖の所見よりして欲しい年齢の推定ができたと述べている。

Patten⁶⁾は軟骨がその形成期(formation)に血管を欠いているのは顕著な事実であると述べた。しかしながら私が胎児、乳児および幼児の肋軟骨について調べたところでは、基質を貫通する相当数の血管を認めた。それでPattenの観察は肋軟骨以外の軟骨についてなされたものであらうと思われる。新生児肋軟骨の血管の立体模型については前報²⁾に報告してある。

Morscher⁷⁾は最近の諸家の研究成果を引用して、成長軟骨(growth cartilage)には性ホルモンの活動が始まるとともに形態的にも機能的にも分化が起こり、性ホルモンは骨端軟骨の成熟を促進すること、思春期は骨格の成長の最後の段階であること、骨端軟骨が完全な成熟に達することは骨端軟骨が消失することと同義であることを述べている。ここに引用されている諸研究は長管状骨についてなされたものらしいが、この所説は肋軟骨にも当てはまると思われる。

従来、文献の記載には肋軟骨基質の思春期以後の経年現象の所見は見当たらないが、私がアザン染色、鍍銀法等で観察したところでは、成人期には基質の色素に対する呈色反応の変化、石灰化および線維化等から、基質そのものに形態学的ならびに質的变化の起こることが推定された。

む す び

1. 胎児の肋軟骨には血管が認められ、その成長帯の柱状層は各年代中最も厚かつた。

2. 胎児期以後少年期までは肋軟骨組織に著しい変化を認めなかつた。成長帯の柱状層は加齢とともに薄くなつた。

3. 思春期の肋軟骨には著しい組織変化、すなわち canal の変形、核萎縮、核濃縮、基質の石灰化および線維化等が認められた。これらの変化は性ホルモンの活動と平行するものであり、この時期に肋軟骨はほぼ成熟に達すると考えられた。成長帯の柱状層は消失していた。

4. 思春期以後は、肋軟骨組織の上述のような形態学的ならびに質的变化は加齢とともに強くなつた。

稿を終るに臨み、ご指導ご校閲を賜つた岡治道先生、ご助言を賜つた東京都監察医務院長吉村三郎先生

および結核予防会結核研究所岩井和郎先生に心からお礼を申し上げます。標本作製の労をとられた石崎政明氏に感謝する。

文 献

- 1) Bloom, W. and Fawcett, D. W. : A Textbook of Histology, 8th Ed., 167, 1962.
- 2) 西野健二 : 結核, 44 : 133, 昭 44.
- 3) 吉村三郎 他 : 日本病理学会会誌, 39 : 81, 昭 25.
- 4) 吉村三郎 他 : 日本病理学会会誌, 40 : 95, 昭 26.
- 5) 吉村三郎 他 : 日本病理学会会誌, 41 : 164, 昭 27.
- 6) Patten, B. M. : Foundations of Embryology. International Student Ed., 326, 1958.
- 7) Morscher, E. : Strength and Morphology of Growth Cartilage under Hormonal Influence of Puberty., 3, 1968.