

# 人 椎 間 板 の 加 齢 的 変 化

## — 組織化学及び電顕像の比較研究 —

昭和34年12月9日 受付

信州大学医学部病理学教室

(指導: 石井善一郎教授, 矢川寛一助教授)

渡 辺 庄 司

## Aging of the Human Intervertebral Disc from the Aspect of Histochemistry and Submicroscopic Structure

Shoji Watanabe

Dept. of Pathology, Faculty of Medicine of Shinshu University

(Director: Prof. Z. Ishii and Assist. Prof. K. Yagawa)

ひとの椎間体は上下の軟骨板の間に形成された線維軟骨組織で、所謂髄核及び線維輪とからなっている(図1)。

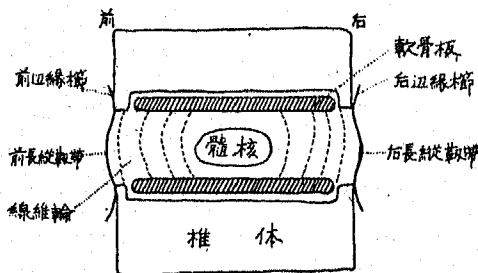


図1. 椎間体模型図(西による)

椎間板の年令的推移乃至は病的変化については多くの業績があるが(Norlen 1927, Keyes 1932, Joplin 1935, 塚田 1939, Coventry 1945, Peacock 1951~52), その特有な線維軟骨組織についての組織化学的研究は甚だ少く、又その電子顕微鏡による研究は Sylven 等 (1951) によつて行はれただけである。

著者は椎間板の年令的変化を諸種の組織化学的方法を用いて線維成分、基質、軟骨細胞の所見を検討し、併せてその電子顕微鏡像と比較検討を行つた。

### 前編 人椎間板の組織化学

#### 材料と方法

ひとの胎生5ヶ月より82才までの肉眼上椎体に病変

を認めない屍体を用い、それ等の第3乃至第4腰椎椎間板80例に就て調べた。固定はすべて10%ホルメルンにより染色法は次の諸法を施した。

- 1) Hematoxylin-Eosin 染色 (H-E)
- 2) Azan Mallory 染色 (A-M)
- 3) Van Gieson 染色 (V-G)
- 4) Weigert 氏 Resorcin-Fuchsin 染色 (E)
- 5) Goldner 氏 Masson's Trichrome 染色変法 (G-M)
- 6) Lillie 氏多糖類染色 (L)
- 7) Hale-Rinehart 氏酸性多糖類染色 (H-R)
- 8) 大野氏 Toluidin 青法 (M)
- 9) Brachet 氏 Pyronine-Methylgreen 染色 (P-M)
- 10) Feulgen-Rossenbeck 氏 Feulgen 反応 (F)
- 11) 5.0% Trichlor acetic acid, 60°C, 1時間処置後の Pyronine-Methylgreen 染色 (T-P-M)
- 12) Mayer 氏 Mucicarmin 染色 (M-M)
- 13) Weigert 氏 Gram 染色 (G-W)
- 14) Pap 氏鍍銀染色 (P)
- 15) 川村-矢崎氏脂質染色 (K-Y)

#### 肉眼的所見

胎生期: 椎間板は全般に亘つて半透明灰白色を呈し、著しく緻密な線維輪の中央に僅かに透明度の高い髄核を認める事が出来る。上下の軟骨板は肥厚している。

脚註 軟骨組織の退行性病変の諸研究の中、本論文においては橋本の分類を採用した。

- 1) 軟骨細胞の変化: 染色度の増強, 単純な萎縮, Verdämmerung, 核の消失, 濃縮, 空胞形成, 胞体の空胞形成, 網状化, 膨化, 半月形成, 石灰沈着。
- 2) 軟骨基質の変化: 染色性的変化, 消失, 石灰沈着。
- 3) 基質の変化: 染色性的変化, 顆粒乃至滴状物形成 (好酸性, 好塩性)。

4-8才: 胎生期と同様透明白色で、髓核は卵円形で中央に位し、周囲との境がやゝ明になる。軟骨板は胎生期に比し少しく厚さを減ずる。

10-20才: 線維輪は白色で幅広く、透明白色の髓核とは可成明瞭に区別出来るようになる。中央に位した髓核は、剖面上強く膨隆し、又1例においては、軽微乍ら黄色の変性壊死部が発見された。軟骨板の厚さは4-8才例のそれと殆んど変らない。

21-30才: 20才代においては線維輪の幅が10才代に比しやゝ広い以外大差は認められない。

31-40才: 線維輪が不透明白色輪と透明白色輪(一部粘液変性を起した部位に当る)とが交互に並列し線維輪の幅も広く、輪走、縦走の線維束間隙が広い事を示しており、中央の髓核を包囲している。

41-50才: 髓核に相当する中央の透明白色部は殆んど消失し、全般に亘り白色不透明で、中央から後方にかけて黄色変性壊死巣が带状に広がっている。軟骨板は愈々菲薄化する。

51-60才: 線維輪は益々幅が増加し、全体として脱水乾燥感を呈し、髓核部位の剖面からの膨隆度は衰えている。

61-70-82才: 全体として脱水乾燥感が著しく高まり、髓核部位の膨隆殆んど缺如し、黄色変性壊死病変は中央部より可成広般に亘り後後に向つて進展している。

### 光学顕微鏡の所見

#### 1) 脊索細胞

胎生5ヶ月における脊索細胞は(写真1)大きな泡沫状円形胞体をもち細胞核は濃縮して小円形をとり細胞膜壁に接した位置をとる。

胞体内に沈着している物質は組織化学的に M-M (+), H-R (+), L (+) で Pyronine 色調を呈し、又 K-Y (-) で糖蛋白の性状を示す。細胞によつては細胞膜の一部が微細線維性を呈し或は細胞突起をスパイク状に形成しているが、それ等の中 P 法により微細好銀線維形成を認めるものもあり、又 A-M で淡青色、L (+), M-M (+) H-R (+), pH 2.5 及び 4.1 で異染性を呈するものもあつた。これ等は所謂 Tono-fibrillen と考えられる。

脊索細胞は生后4ヶ月例においても尚増殖を認めたものもあるが、4年以後は次第に変性消失の傾向を示すようになり、後に髓核の壊死崩潰物質と混在し、その細胞陰影をとどめているのは精々17年例迄であつた(写真2)。

#### 2) 髓核

髓核は胎生期にあつては、粘液様物質を基質とし、その中に脊索細胞を容れている組織からなる。この粘液様物質は H-E で微細網状、M-M (+), L (+), H-R (+) で、異染性を示すが、線維成分は胎生末期に至る迄認める事は出来ない(写真1)。生後4ヶ月ではこの粘液様物質のほかに髓核周辺部の緻密な線維軟骨組織が強度の粘液化を起し、これ等兩者の中に E に好染する微細な弾性線維及び好銀線維が認められるようになるが、この現象は軟骨基質の粘液化に密接な関連性をもつているように考えられる(写真3)。生后4年例においては既に線維軟骨組織の微細顆粒状崩潰壊死が起つており、又このような崩潰像は30-40才代に極めて顕著であるが、それ以後は進展せず、70才以后再び強くなるようである。

この崩潰壊死物質を雲絮状物と顆粒状物とにわけて観察すると、前者は L (+), M-M (+), H-R (+), pH 2.5 及び 4.1 で異染性を示し、P-M で Pyronine 色調、T-P-M で Pyronine 色調及び Methylgreen 色調をとり P により多数の好銀線維形成を認める事が出来る(写真3)。一方顆粒状物は一部 K-Y (+) の微細脂質顆粒のほか、P-M で Methylgreen 色調をとる核様顆粒を中心として、その周囲に Pyronine 色調物質が外殻を形成する粗大顆粒で T-P-M により中心の Methylgreen 色調は消失し、又 G-M で赤色を呈する(写真4)。

即ち兩者共に線維軟骨組織の崩潰産物であり、特に粗大顆粒状物は軟骨細胞嚢及び骨の変性壊死物質と解釈される。

又兩者に混じて未だ変性壊死に陥つていない所謂 Chondron が残存しており、軟骨細胞嚢及びその外周をとりまく基質——明かな暈を形成するもの、せぬものを含めて——の変性は軟骨細胞自体の変性壊死に比し、遙に抵抗性の強い事を窺う事が出来る。

髓核は線維輪が年令と共にその幅を増加するに従つて狭小となるが、特に54才以降においてこの現象は著しい。髓核の線維軟骨組織の加令の変遷を、基質と軟骨細胞両面から観察してみた。

線維軟骨基質は既述の様に、胎生5ヶ月例では良く發育した線維輪に接して僅く僅かの粘液様物質のみからなるが、後程線維輪の粘液化に伴つて生后4ヶ月例において、始めて弾性線維、好銀線維が認められるようになるが、染色上明に膠原線維と考えられる線維の出現はこれ以降である。即ちこの場合には髓核部位が H-E で可成濃淡の差が現はれ微細線維構造と太い線維構造が窺はれるようになる。兩者を組織化学的に分

析すると表1のようになる。微細線維は主として弾性線維と好銀線維とであり(写真5), 太い燃りを示す線維は主に膠原線維であるが, それらの染色性は軟骨基質存在の為蔽はれ不明瞭となるが特に後者の場合はA-M, V-G 染色によつても決定し難い。この染色性の複雑な可変性は線維が太くなる程著明である事は次項の線維輪の所で了解されよう。

この様な太い線維は加令的に求心的な増加を示すので全般的にH-Eでエオジンの色調が強くなつてくる。基質は一般に著明な異染性(pH 2.5, 4.1, 7.0において)を呈し, 且又H-R(+)でChondroitin-硫酸の存在が推定される。

軟骨細胞に関しては, 胎生期においては星芒状の形をとり, 核は円形, 中等度の色質量を示し, 生后においては軟骨細胞腔は拡大すると共に胞体の変性萎縮も強度となる。髄核にある軟骨細胞は, 線維輪におけるそれよりも, 同年令においては変性が著しく, その加令的推移をみると, 核の濃縮, エオジン染色度の増加, 胞体内の空胞形成或は網状化, Verdämmerungは20才代迄に多くみられ, 軟骨細胞囊の染色性の变化, 基質の顆粒乃至滴状物形成はそれ以後加令と共に益々著明となり, 又軟骨細胞が数ヶ集りその外周に明瞭な厚い量を形成するのは60才前後である。一般に核はP-MにてMethylgreen色調, F(+), 異染性を示さず, 胞体はP-MでPyronine色調, 異染性を示し, 又若干の脂質顆粒が20~30才代に出現する(写真6)。

軟骨基質の好エオジン性の顆粒乃至滴状物はA-Mで赤色, P-MでMethylgreen色調をとる核様物を囲むPyronin物質で, G-Mで赤色, G-W(+), (-), L(-), pH 4.1及2.5で異染性を示さない(写真7)。軟骨細胞囊は好銀線維により緻密に閉鎖されると共に(写真8), E, M-M, Lで好染し, P-MでMethylgreen色を基調にしたPyronine色調を呈し且又異染性を示す。

以上の様な正常の線維軟骨組織に認められる今一つの変化は所謂粘液化である。粘液化を起した部位はM-Mで強染するのが特徴的で(写真9), 微細な線維のすべてがEで強染される。これらの線維は又L弱陽性で, びまん性にMethylgreen色調をとり, H-Rは

初期(+), 後に(-)となる。粘液化は胎生期より既に認められ36才頃迄に著明となり, 以後一進一退する。

### 3) 線維輪

胎生期においては, 線維輪の幅が極めて広く, 輪走, 縦走する線維は個々に分別し得る(写真10)。線維核は色質に富み長橢円形で, 胞体も亦同様の形をとる。然し生后この細胞周囲に軟骨細胞囊が出現し, 軟骨細胞であることが判明する。

線維はA-Mで藍色, V-Gで淡紅色を呈する軟骨基質に被覆された膠原線維であるが, 同時に又既に胞生5ヶ月例でEで染る弾性線維, Pで好染する好銀線維も認められる。

生後の線維輪にみられるエオジン好性の線維束は時にV-Gで黄染, A-Mで赤染し, 又一部に微細脂質顆粒が線状に沈着する事もある。

1才以降では粘液化も現はれるが, この現象は20~30才代では減少し57才以後再び著明となり大体前述髄核の組織化学的所見と同様である。

線維輪に存在する軟骨細胞は交互に輪走, 縦走する各線維束の辺縁部に位置し, 20才頃より軟骨細胞腔は拡張し, 核の濃縮及びエオジン好性, 胞体の空胞形成網状化並びに膨化を起すが, 軟骨細胞囊及び基質の顆粒状乃至滴状変化が認められるのは57才以降であり, 軟骨細胞の集簇化は62才以降に認められる。その他の組織化学的所見は髄核と大体同様である。

### 考 按

1. 脊索細胞: この細胞体内の空胞に関しては, 塚田は頭頂間距離8.3cm胎児において既にその出現を認め, その化学的性質は糖原, 脂質顆粒等と考えられている。彼は又脊索細胞の細胞陰影の残存を30才前後迄認めている。

著者の得た結果では, 本細胞は生后4ヶ月迄増生するが, それ以後は退行変性を起し細胞陰影として認める事が出来るのは17才迄であり, それ以降は髄核の崩壊死と混在し, その特異像を認める事が出来なくなる。又胞体内沈着物質は組織化学的に糖蛋白質と考えられる。脊索細胞に認められたTonofibrillenは一部

	H-E	A-M	V-G	E	L	G-W	P	K-Y	P-M	T-P-M	M-M	G-M
微細線維	紫	藍	淡紅	(+)(±)	+	(+)(-)	黒・紫	(-)	M	M	(+)	緑
粗太線維	淡紅	青	淡紅	(±)	+	+	紫	(-)	P+M	P+M	(+)	緑

表 1

に P、及 E 陽性線維のある点から既に所謂 Chordareticulum を形成しつつあると考えられる。

2. 髓核：塚田は髓核を次の様に定義している。

—髓核は一部は脊索細胞及び脊索細胞遺残間に存在する元来の粘液様顆粒様物質と、一部は線維輪より進入した線維性軟骨及びその粘液様、顆粒様崩潰物よりなる—。

この髓核線維軟骨は上下の軟骨板に密に付着している、その外側は線維輪に移行している。

髓核の椎間板における位置に関しては中央部 (Brauns)、中央より背側 (Rick, 浪越)、中央より前部 (Schrader)、等といわれているが、一般には中央より一部前方、大部分後方に存在しているといえる。

組織化学的には崩潰壊死顆粒は P-M で可成明瞭化する軟骨囊及び基質の壊死物質であり、Periodic acid の作用しない Desoxy Ribonucleic acid がその部に存在すると考えられる。

又崩潰壊死部において、好銀線維が可成明瞭に出てくるのは、基質の化学的变化により軟骨細胞周囲の好銀線維が Mucoid 物質の消失の為 demaskieren され明瞭化したと考えられる。

偕、髓核の主体をなす所の線維軟骨基質は従来から Chondro-albumoid, Chondromucoid, Chondroitin-硫酸を含有し、又 Hyaluron 酸は存在せぬといわれているが、著者検査結果においても pH 2.5, 4.1, 7.0 で異染性を示し、H-R (+) である事からもこのことは肯定される。

Chondroitin-硫酸は PAS 反応陰性であるが、往々にして加水分解を受ける為陽転する事があるといわれている。

線維軟骨組織は明かにその線維構成分子は膠原線維、好銀線維、弾性線維よりなるが、一般に軟骨基質に表面を蔽はれる為、かなり Chondroitin-硫酸の性状が強調される結果、膠原線維は表 1 の様な染色態度をとる事になる。

髓核の軟骨細胞は線維輪のそれに比し、遙に若年者例において既に退行性変化が著しく、又変性時には胞体内脂質沈着は減弱する。又この際細胞外周基質が暈状に可成の抵抗性を示す為、扁平硝子様軟骨細胞と呼ぶ者もある。

髓核の粘液化部は Chondro-mucoid-gallerte 性状の原線維に乏しい軟骨組織基質と解釈されているが、M-M に強染する糖蛋白特に Mucin の多いこの基質に弾性線維染色 E に強染する微細線維の出現理由に関しては、Sylvén は Chondroitin-硫酸の消失を挙げている。即ちこれ等微細弾性線維は Demaskierung

の過程において E が陽転化したか或はもともと弾性線維として軟骨基質に表面を被覆されていたものが裸出されたかの何れかと考えられる。

線維軟骨組織の水含有量は年令的にも、時間的にも変動が可成著しく、Fick は椎間体は圧力により容積を減小する事なく、又生理的にどの様な形態をもとり得ると述べている。

3. 線維輪：浪越によれば線維輪とは求心性に走る結合線様軟骨様の所謂 Lamellensystem からなり、種々の方向に走る線維により緻密に連絡し、且多数の軟骨細胞を含有する。

線維輪の前方及び側方に位する線維は特に強靱で辺縁槽内に移行し特に Sharpey の線維と呼ばれる。

上記浪越の定義では、結合線様軟骨様と記載されているのは、線維輪組織が結合線と軟骨組織との混在であるか、又は線維軟骨のみからなるか、将又輪状に配列された線維が Knorpelfaser により連絡しているのか不詳であつたためであるが、線維輪の線維は太く、軟骨基質による表面被覆が完全に行はれているため、古典的染色法でははつきり線維が認められなかつたためと考えられる。

塚田は身長 8.3cm 胎児で既に配列細胞間に基質が生じ、中央部において輪状配列が著明となると述べ、又 Uebermuth は線維輪形成は胎生 6 ヶ月に始まるといっているが、著者は既に膠原線維、弾性線維、好銀線維からなる線維輪形成を胎生 5 ヶ月例において認める事が出来た。

## 結 論

人の第 3～4 腰椎椎間板 80 例 (胎生 5 ヶ月～82 才) に就て組織化学的検索を行つた結果——

1. 脊索細胞は 5 ヶ月胎児において既に胞体内に糖蛋白沈着が著明であり、又その細胞陰影 (Zellschatten) は 17 才頃迄遺存するがそれ以後は髓核崩潰巢内にまき込まれ不明となる。

2. 髓核及び線維輪は共に線維軟骨組織であり、髓核においては生后 4 ヶ月児に、線維輪においては 5 ヶ月胎児に、既に明かに膠原線維、弾性線維、好銀線維の形成を認める事が出来たが、これ等は何れも軟骨基質により線維表面を蔽はれている為、古典的染色ではその特徴を示さない。

3. 線維軟骨の壊死崩潰部は粘液化部とは同様に Chondroitin-硫酸の加水分解が行はれ、且つ前者においては更に軟骨細胞囊及び軟骨細胞自身の変性壊死による DNA の付加がみられ又好銀線維が Demaskierung の結果明瞭となる。

4. 髓核の軟骨細胞は線維輪の軟骨細胞よりも若年者において既に変性壊死をきたす。

### 後篇 人椎間板の電子顕微鏡像

膠原線維の電顕像は Schmitt (1942), Gross (1948, 1950), Gale (1950), Porter (1949, 1951), 宮田 (1954), 梶川 (1953, 1955) 等により、弾性線維のそれは Gross (1948), Franchi (1951), 河瀬 (1957) により、又軟骨細胞のそれは Robinson (1956), Sheldon (1958), Scott (1956) 等により研究されたが、これら膠原、弾性、好銀線維から構成されている椎間板の線維軟骨組織の電顕の研究は現在の所 Sylven (1951) によつて行はれたに過ぎない。

著者は人椎間板の組織化学的研究と併行して、その電顕像に就て両者の比較検討を行った。

### 材料と方法

材料は前編において使用したものをを用いた。電子顕微鏡資料作製にあつては次の前処置を施した。

- A) 2.0%オスミウム酸及び pH 7.4 の緩衝液の等量混合液にて固定后モノマー包埋し、超薄切片作製
  - B) トリブシン 10.000 HUM/cc (モチダ製品) (pH 7.1 磷酸緩衝液) にて無菌的に1昼夜 37°C に放置消化后固定包埋
  - C) 1.0%醋酸に1昼夜 5°C に放置后固定包埋
  - D) (C) 法にて固定后更に (B) 法で消化后包埋
  - E) (C) 法にて固定后更に 1.0% 醋酸で3分間煮沸后包埋
  - F) (E) 法にて処置后更に (B) 法にて消化后包埋
- 以上の超薄切片は全てコロジウム膜に載せ、日立 HU 9 C 型電子顕微鏡により観察撮影した。

### 観察成績

#### A 処置による観察成績

線維軟骨組織内には極く短い、屈曲、分枝等を缺く微細な黒染線維のみが一面に現はれている。この線維は種々の密度をとつて配列しているが、一部のものには一定の週期をもつた線条が認められる。線条間隔は 650 Å を示し微細な膠原線維と考えられる。これら線維の走行は一定ではなく到る処にその横断面と思はれる円形、楕円形の極微細顆粒状物が束状をなして認められる。又均等にそまる不正塊状物は、微細膠原線維よりやや高い電子密度を示し、軟骨基質の微細顆粒状崩潰物質と考えられる (写真11, 13)。又線維構造が大

部分崩潰消失し、基質も同じく崩潰して無形塊状物となつている所見は、前編に記載した雲架状崩潰壊死巣に相当すると考えられる (写真12)。10ヶ月胎児の板間体を観察すると (写真14) 成人 (写真11-13) に比し膠原線維は更に微細で (写真14の倍率は11-13の約2.5倍) で且疎鬆であり、基質の壊死が全く起つていない事が特徴である。

軟骨細胞囊及び軟骨細胞に関しては、10ヶ月胎児の軟骨細胞囊は写真15のように紡錘形をとり未だ明な暈は形成されていないが、周囲には繊細な縮毛状の好銀線維でとりかこまれている事は前編所見に一致する。軟骨細胞囊の染色性の変化は20才以降に著明となる。

成熟軟骨細胞 (写真16, 17) を観察すると胞体表面は微細突起状を呈し、細胞質内に電子密度の比較的高い均等無形体が存在するが、これは所謂フェルト様物質と称せられるものであろう。この物質の内部には更に電子密度の高い粗大顆粒数個が認められるが、これは脂肪球で、20才以降に細胞質内に出現する。糸粒体、Endoplasmic reticulum は不明瞭で細胞質内は Microsome で充満し比較的明るくみえる。写真16, 17には核は切片中に現はれていない。

軟骨細胞周縁には明かな暈が形成されており (写真18, 19)、写真18においては多数の微細顆粒状物が認められ、又その外側軟骨基質に認められる黒色粗大無形物はフェルト様物質である。写真19においてはこれら崩潰壊死物質は殆んどみられず、暈周辺基質に多数の微細膠原線維をみるに過ぎない。

#### B 処置による観察成績 (写真20)

トリブシンで消化作用をうけた線維軟骨組織は細い線維と太い線維の両者が交錯し、共にそれらの表面から極く微細な所謂 Protofibril を派生している。太い線維の幅は 1100 Å で横走線条が明で、線条間隔は 650 Å である。細い線維は太い線維に比し線条の不明瞭なものが多いが、幅 460 Å で線条間隔は同じく 650 Å である。これらの線維は Microfibril に属すと考えられ数本が長軸に方面に合して更に太い線維を構成する。

#### C 処置による観察成績 (写真21)

B 処置に比し細い線維の線条がより明瞭に現はれ、且又太い線維の線条微細構造も可成追究可能である。各線維の幅、線条間隔はBと同様であるが、太い線維には時に幅 2500 Å のものも認められる。太い線維の表面凹凸状態をみると、線条と平行して谷の部分の中央に1つの峯が、山の部分に更に3つの小峯が認められる。又、長軸に平行した峯の部位に幾つかの小峯を認める。

#### D 処置による観察成績 (写真12, 13)

細い線維の線条がより明瞭化している外はBと略同様である。各線維表面から出る Protofibril は叉状乃至樹枝状に枝分れし隣接線維のそれと吻合を行つてゐる事が明であり(写真13), 且又約 110Å 前後の間隔をもつ線条が認められる。

E 処置による観察成績(写真14)

煮払操作の為膠状になつた為か, 細い線維にもその表面から派出する Protofibril が明瞭化し, 隣接 Microfibril のそれと相互に網絡し網状構造を作る事が分る。

F 処置による観察成績(写真15)

細い線維の幅は 640Å, 線条間隔 640Å であるが何れも短く離断し, その断端は鈍て鋸歯状を呈するものが多い。Protofibril は完全に消化され, 又太い線維は強く消化分解され無構造な不整な幅をもつ線維に化している。

付 10ヶ月胎児のC処理による観察成績

(写真16)

成人例に比し細い線維が太いものより圧倒的に多く, 幅 460Å, 線条間隔 460Å を示す。併し中には 200Å 前後の幅をもつより微細な線維も混在しているが, その線条間隔は矢張 460Å である。

## 考 按

人の椎間板における膠原線維を電顕により初めて観察した Sylven 等(1951)は, その線維の線条間隔を平均 635Å としたが, この値は著者の得た 650Å と近い。更に彼は横の板間体の膠原線維を観察し, その幅は 170~1260Å の種々のものが混在するが, その線条間隔はいづれも 635Å であるといつてゐる。著者の観察では太い線維(1100Å)と細い線維(460Å)が認められ時には 2500Å, 200Å のものもあるが, その線条間隔は現在認められている膠原線維の線条間隔と大差はない。他臓器組織においてはその他, 間隔が 210Å と短周期(SLS)と 2400Å~1000Å の長周期(FLS)とがあるが, 人椎間板には認められなかつた。

膠原線維の微細構造に関してはCの処置に観察において谷の部分に更に一つの峯があり, 山の部分に当る所に3つの峯を認めた事は Gross 及 Schmitt(1948)の a, b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>, c, d, e の6つの微細構造に, 或は Sylven(1951)の3つの帯に一致する。著者が記載した Protofibril とは電顕的に線条の証明可能な段階の最微細線維を指すのであり, 宮田の述べる 200~800Å (平均 560Å) 幅の網状線維よりも尚微細な線維であり Microfibril の表面から出て樹枝状に分れる約 80Å のものを意味する。

次に膠原線維, 好銀線維, 弾性線維の3者を化学的, 組織化学的電顕的に比較検討してみよう。

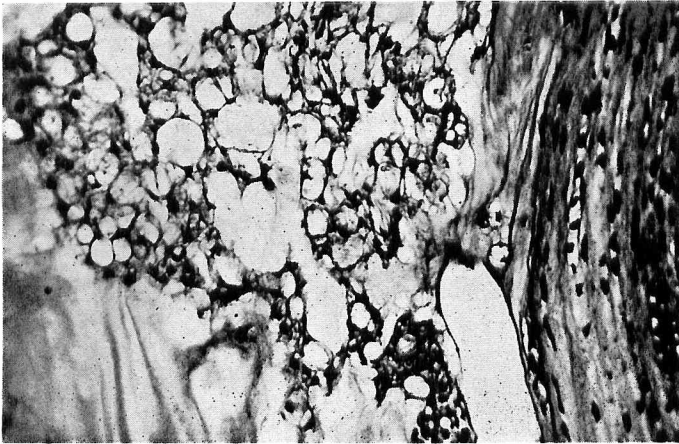
膠原線維は醋酸及び蟻酸で膨化し, 煮沸水解によりゲラチンとなる。又 Trypsin をはじめ, Pepsin, Collagenase で消化分解される。従来 Trypsin によつて基質や Protofibril が除去され Microfibril の特有な構造が明かになるといはれているが, 著者の得た成績(B, D 処理)では Protofibril は明に存在し, E の如く醋酸で煮沸の後 Trypsin 消化ではじめて Protofibril が消化している事を知つた。Collagen のアミノ酸には Glycine, Proline, Hydroxyproline, Tryptophane, Tyrosin が含まれているというが, 線維基質の特徴としては粘弾性, PAS 染色性, Evans 青による生体被染色性, 異染色性等があげられるが, PAS は本来陰性で基質の解重合の結果陽性化すると解せられる。

胎生后期及び乳幼児の膠原線維は根本的には成人のそれと異る所なく, 大体平均して線条間隔は 640Å で線維の幅は 210~220Å の細い線維が多いといはれているが, 著者検案例でも10ヶ月胎児に 200Å の膠原線維が認められた。

in vitro の線維形成実験においても形成初期にあつて径 50Å 前後の微細線維が生じ, 更にその表面に Molecular collagen の沈着と, 側面における Protofibril の融合によつて次第に太い線維が出来上つてゆくと考えられるが, 著者検案所見の至る所において認められた Protofibril の網状構造とその線条構造は意義あるものと思はれる。

好銀線維は PAS 陽性物質と密接な関連性をもち, 幅約 100Å, 線条間隔 650Å の線維といはれているが, 著者の所見での細い線維は 460Å と 200Å であり, この線維が好銀線維に当るものと著者は考えてゐる。然し電顕的に膠原線維との間に根本的な構造上の差異はみられない。本好銀線維は膠原線維同様 Trypsin や Collagenase で消化されるが弱有機酸では膨化せぬといはれ, 又 Tyrosin や Tryptophane を含まないともいはれている。

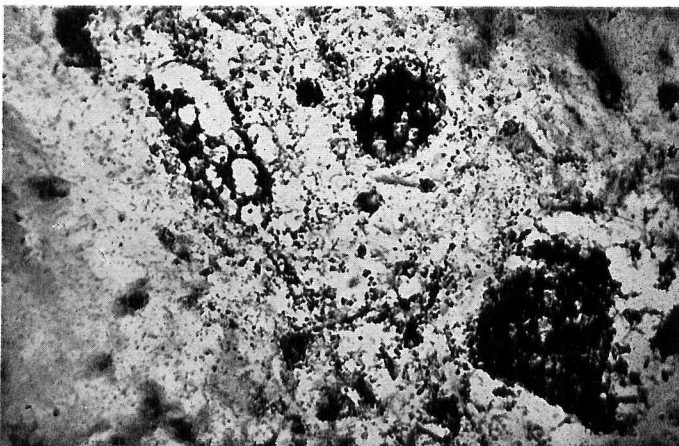
弾力線維は著者の観察からは組織化学的に証明出来るに拘はらず, はつきり指摘する事が出来なかつた。弾性線維の化学的成分である Elastin は Trypsin で消化されるが, この線維は一般に幅 3000~1000Å の抗 Trypsin 性の独自の紐状物の集束(coiled fibrils)と Trypsin 消化性, 耐熱性の無構造物とよになつてゐると考えられ, 熟しても膠にならず, 又線維自体は相対性の抗 Trypsin 性であり, 又線条を欠く点膠原線維と相違している。



1. H-E 染色

5ヶ月胎児

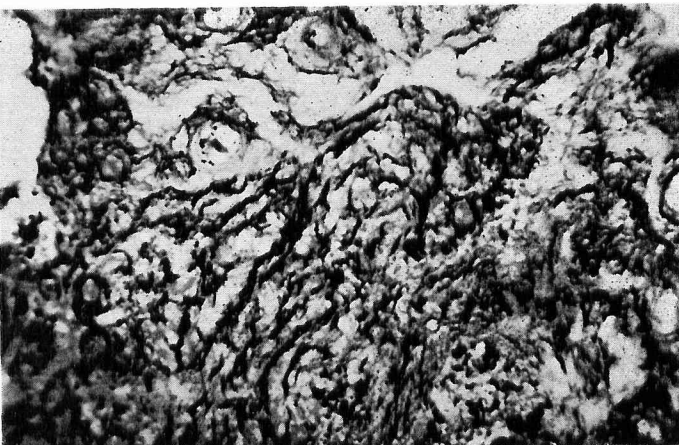
中央部に脊索細胞，左下部に粘液様物質，右側に線維輪がみえる



2. H-E 染色

11才

髓核の線維軟骨の微細顆粒状崩潰物と共に，これと区別困難な脊索細胞の細胞陰影を認める  
(右下部)

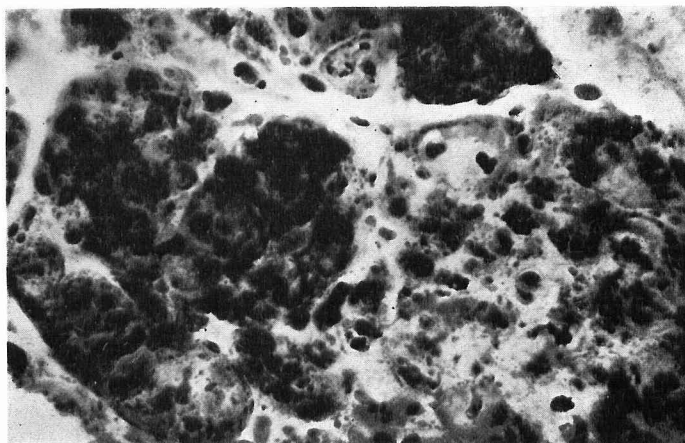


3. Pap 鍍銀染色

髓核崩潰壊死部に demaskieren  
されて現われた好銀線維

4. 川村-矢崎氏脂肪染色

髓核崩潰部に現われた多数の脂肪滴



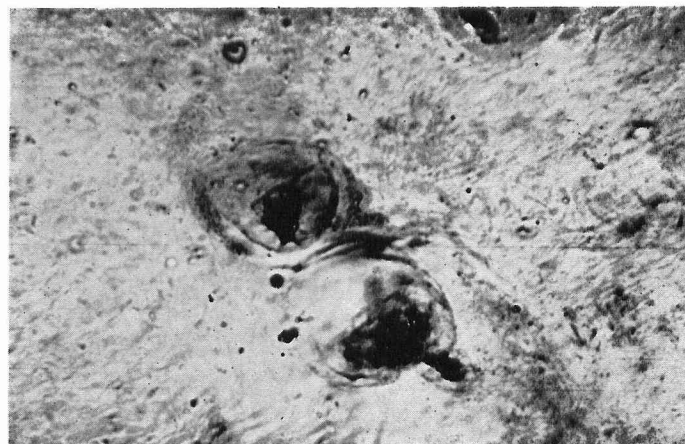
5. Pap 氏鍍銀染色

髓核の線維軟骨にみられる毛状好銀線維



6. 川村-矢崎氏脂肪染色

軟骨細胞体内には微細脂肪顆粒がみられるが、軟骨囊、暈には認められない



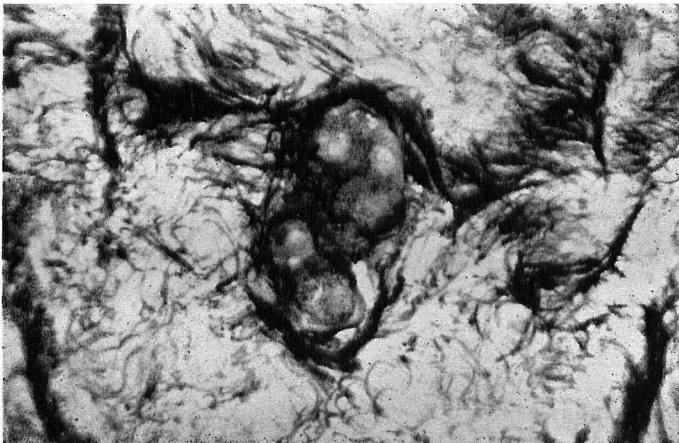




7. Mallory Azan 染色

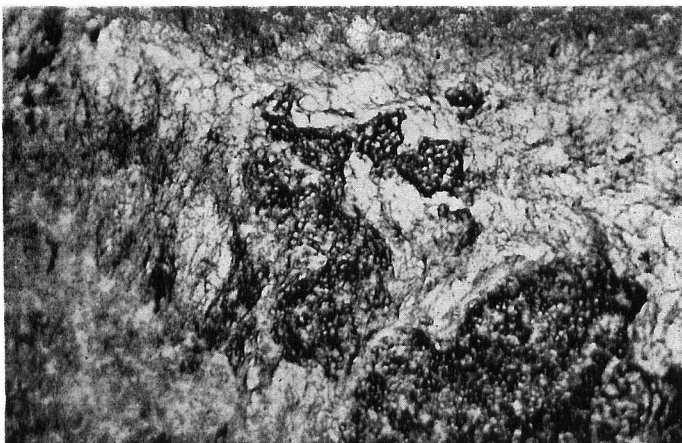
41才例

軟骨嚢及び線維軟骨基質の崩潰壊  
死物と思われる赤染顆粒の散在



8. Pap 氏鍍銀染色

軟骨嚢は好銀線維の緻密な網で囲  
繞されている



9. Mayer 氏 Mucicarmin 染色

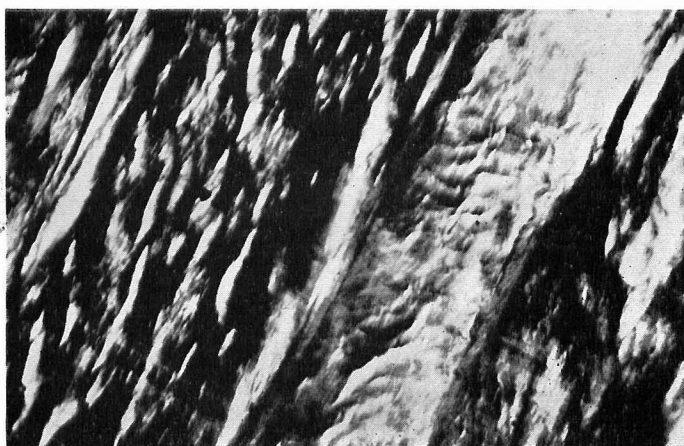
40才例

Mucicarmin に好染する髓核の線  
維軟骨粘液化部

10. Mallory Azan 染色

41才例

太い膠原線維束よりなる線維

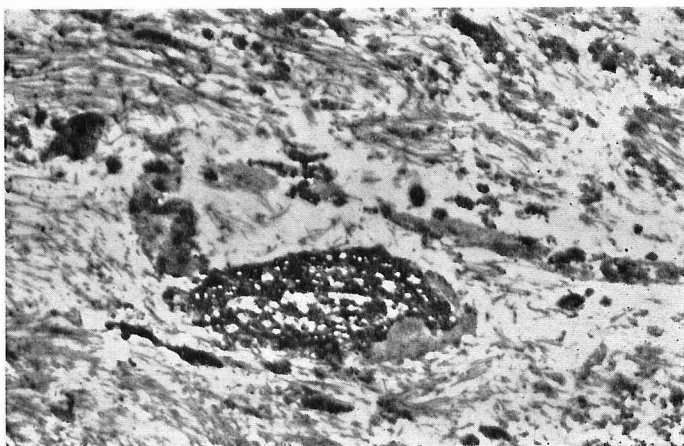


(11~26は電顕像)

11. 2%オスミウム酸固定

直接倍率 2,450

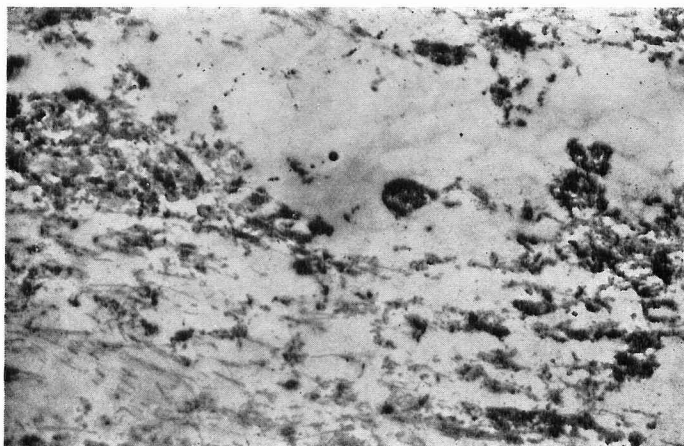
微細な線維は総て膠原線維と考えられ、その中の或ものは詳細に観察すると線条をもつ。中央の電子密度の高い楕円体は軟骨囊の壊死部である

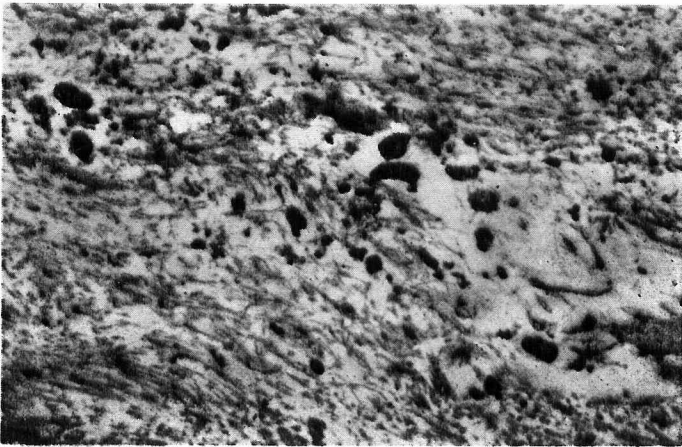


12. 同上固定

直接倍率 2,450

微細膠原線維の崩潰、消失を示し、雲絮状崩潰部(前編)に当る部位である

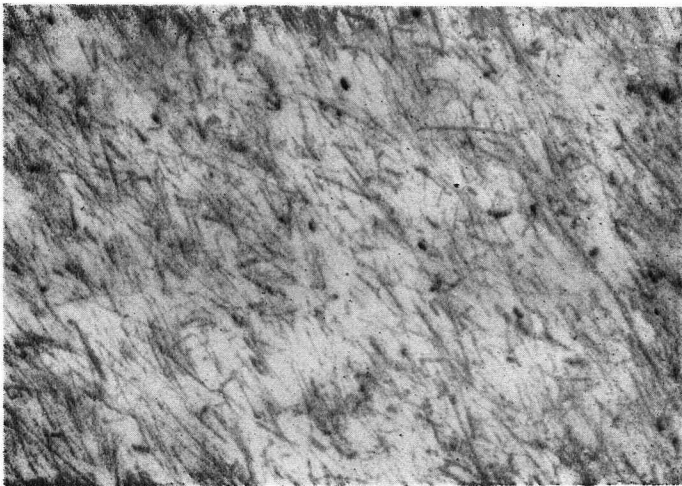




13. 2%オスミウム酸固定

直接倍率 2,450

電子密度の高い **amorphous mass** は前編記載の線維軟骨基質の崩壊死物と考えられる

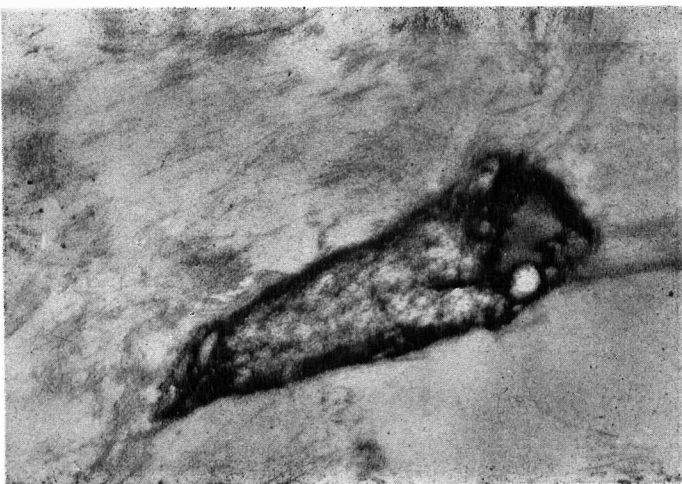


14. 同上固定

直接倍率 5,900

10ヶ月胎児例

微細膠原線維は成人例に比してかなり粗で又 **amorphous necrotic mass** が全く存在しないのが特徴である



15. 同上固定

直接倍率 2,500

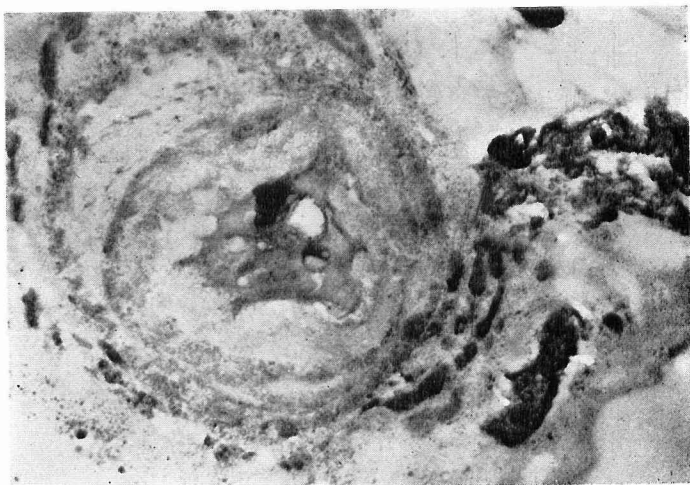
10ヶ月胎児例

切線状に切れた幼若な軟骨嚢でまだ明瞭な暈も形成されていない。周囲は微細膠原線維が囲繞している

## 16. 2%オスミウム酸固定

直接倍率 2,050

中央より稍左寄にみえる円形体は軟骨細胞体でその細胞膜は波状輪廓を示す。胞体中央に位する多突起性塊状物は所謂フェルト様物質であり、その中に更に電子密度の高い脂肪滴がみえる。胞体をめぐって軟骨基質内に壊死塊、フェルト様物質（やゝ電子密度の低い物質）がみえる



## 17. 同上固定

直接倍率 4,800

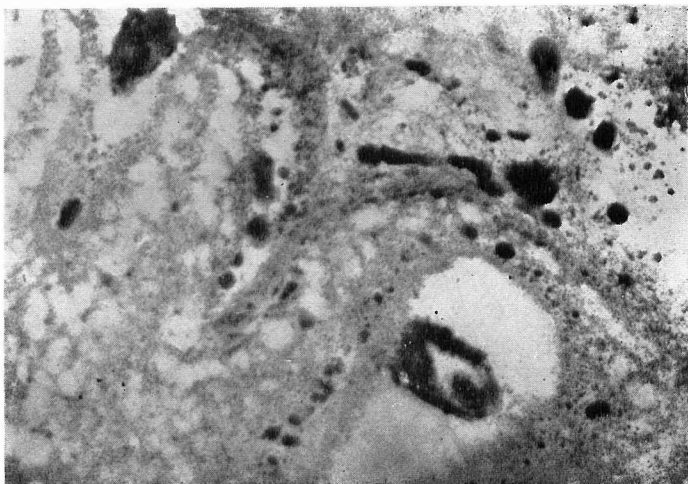
同上像の強拡大であるが糸粒体、Endoplasmic r. は不明瞭である。核は切れていない胞体は Microsome からなる

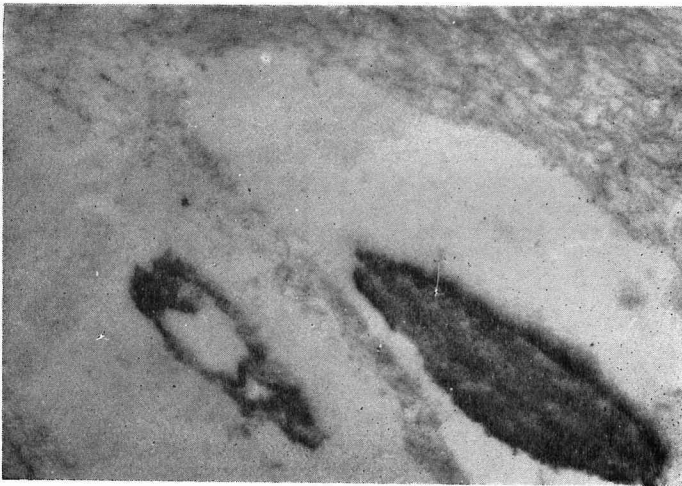


## 18. 同上固定

直接倍率 2,050

軟骨暈の部位で線維成分は全く存在しない。多数の細顆粒状物は壊死物質で基質内に存する塊状物はフェルト様物質である

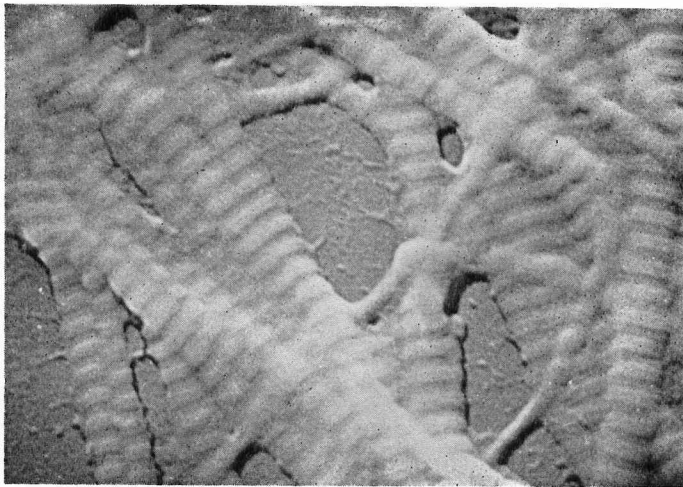




19. 2%オスミウム酸固定

直接倍率 5,900

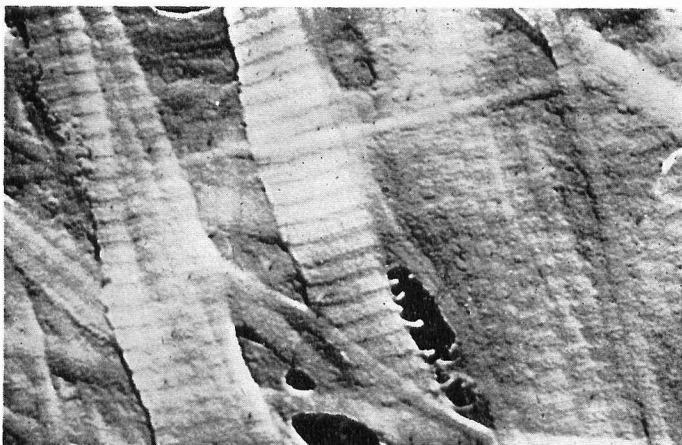
崩潰壊死物は全くみられず軟骨基質内には多数の微細膠原線維を認める丈である



20. トリプシン消化

直接倍率 26,000

幅 1100Å の太い線維と 460Å の細い線維とが入り乱れ、共に線条間隔は 650Å である



21. 1%醋酸固定

直接倍率 19,000

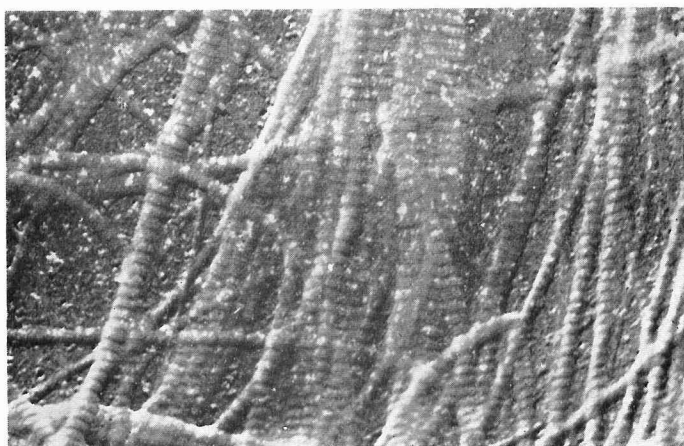
各線維の線条構造が明瞭であるが、線条に平行して、谷部に更に1つの峯が、山の部に更に3つの峯が認められる。又線維長軸に平行に山の部位に数ヶの峯を認める



## 22. 醋酸固定后トリプシン消化

直接倍率 10,000

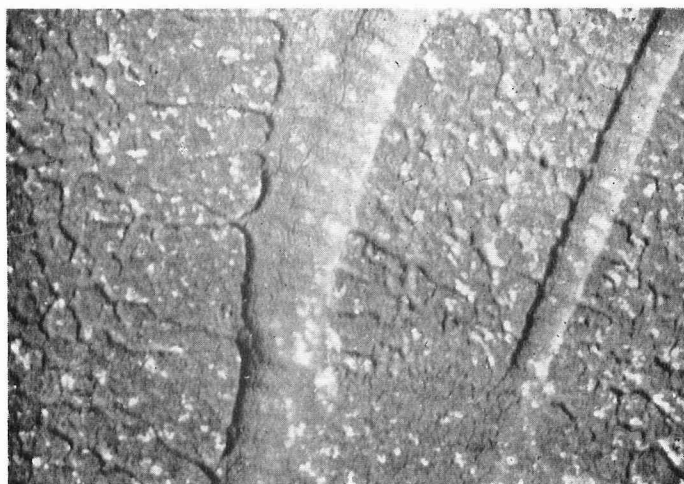
460 Å の細い線維にも写真10, 11  
に比し, 明かに線条を認める事が  
出来る



## 23. 醋酸固定后トリプシン消化

直接倍率 26,000

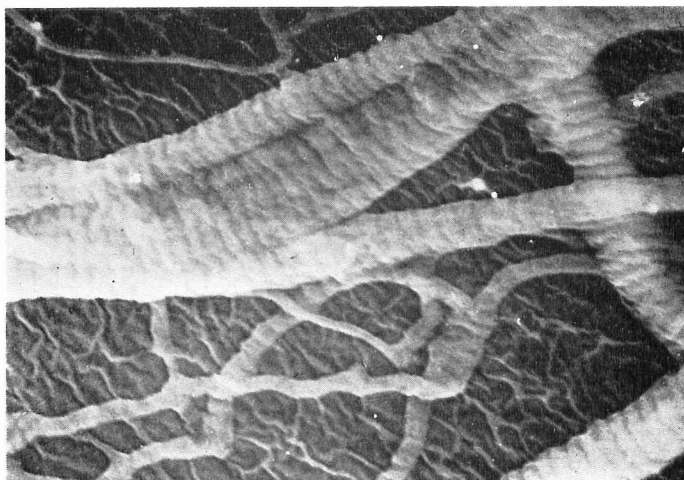
線維表面より出ている Protofibril  
は一部叉状乃至樹枝状分枝を行  
い, 幅は約 80 Å で線条が明であ  
る

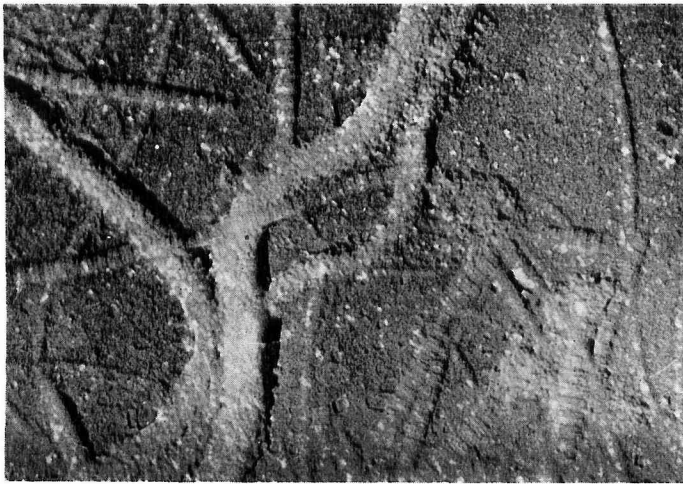


## 24. 醋酸煮沸

直接倍率 26,000

隣接線維の Protofibril が相互に  
吻合連絡して網状構造を作る事が  
分る

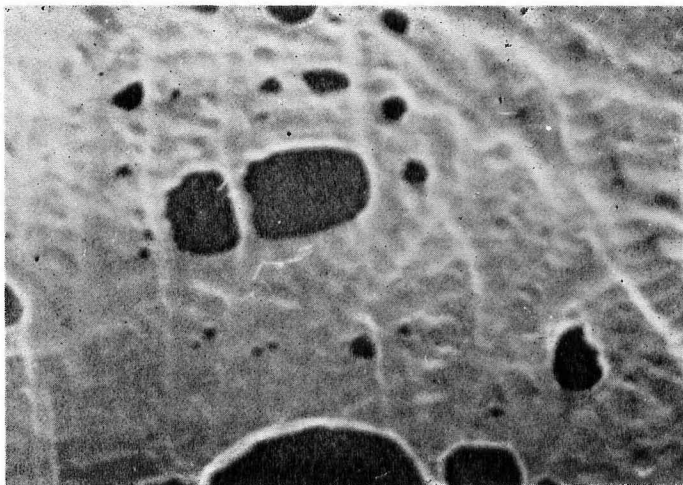




25. 酢酸煮沸后トリプシン消化

直接倍率 26,000

細い線維は消化され、短く離断し、断端は鈍で紡錘状を呈している。太い線維も消化され線条は不明瞭となる



26. 醋酸固定

直接倍率 25,000

10ヶ月胎児

太い線維と細い線維とよりなるが、更に幅 200Å 前後の微細線維が混在している

アミノ酸としては Tryptophane を欠き Glycine, Alanine を含むといはれる。河瀬 (1957) は弾力線維の線維間基質は広義の Elastomucin からなっているといっている。この線維は老年者においては燐化合物が増加しヘマトキシリンで染色される傾向をもつ。著者が電顕像に捕えた線維はいつでも線条を確認出来る事から、微細線維に至るまで総て膠原線維とはいはざるを得ない。恐らくこれら膠原線維の表面を Elastomucin で被銀された様な状態にあるのであろう。

Sheldon 等 (1958) は軟骨基質に認められた所謂フェルト様物質 (写真16, 18) を Elastin そのものと推測している。Sylvén (1951) によれば、椎骨体の変性部においては Mucoïd substance が減少し正常の線条をもつ膠原線維が明かにみられるといっており、Mucoïd の消失と線維の消長との間に関連性のある事は前編においても充分肯定出来る。尚又 Scott 等は軟骨細胞間質に存在する線条の不明な線維をも膠原線維としているが、Robinson (1956) は明にこれら線維に線条を認めており著者の所見と一致する。

軟骨細胞の電顕像は最近注目される様になり Sheldon (1958) は本細胞は核、細胞質、及その中に存する脂肪球、Endoplasmic reticulum, 糸粒体、フェルト様物質から成ると述べているが著者の経験では糸粒体、Endoplasmic r. は不明瞭であつた。

### 結 論

人の第3, 第4腰椎椎間板の髄核の電顕像を研究して次の結果を得た。

1. 線維軟骨組織の軟骨細胞にも脂肪球フェルト様物質を細胞質内に認めた。

線維軟骨の膠原線維は幅  $1100\text{\AA}$  の太い線維と幅  $460\text{\AA}$  の細い線維からなり、共に  $640\text{\AA}$  の線条間隔を示す。

3. 各膠原線維の Microfibril の表面より出る Protofibril は幅約  $80\text{\AA}$  で微細線条間隔をもつ線維で樹枝状に分枝し、隣接 Microfibril より出るそれと網状に吻合連絡している。

4. 胎児の椎間板線維軟骨を形成する膠原線維及び好銀線維は細い幅  $200\text{\AA}$  線維と、幅  $460\text{\AA}$  の線維が圧倒的多量である事が特徴であるが、それらの線条間隔は成人膠原線維のそれと変らない。

5. 線維軟骨基質の顆粒状崩潰物質はオスミウム酸で均等に黒染する。

謝辞： 拙筆にあたり、本研究の御指導を賜つた石井善一郎教授、矢川寛一助教授に厚く御礼申し上げますと共に病理学教室員一同並びに電顕資料作製に協力せられた沢島好之君に感謝致します。

### 文 献

#### 組織化学に関するもの

- 橋本美智雄他：軟骨組織の退行変化に就て 日病会誌 41 (地), 164-166, 1952 堀沢治吉他：肋軟骨の組織的所見に就て 浪越康夫：畸形性脊椎炎の椎体椎間軟骨及び棘状突起における組織学的研究 日本整外会誌 4, 42-83, 1929 西 新助：頸椎頸髓損傷における椎間板損傷の意義 日本整外会誌 18, 1167-1216, 1944 塚田一雄：人類椎間体の年齢による変化に就て 日病会誌 29, 338-339, 1939 脊椎椎間板の神経分布, 日病会誌 28, 407, 1938 人類椎間体の組織学的研究, 京都府立医大雑誌 25, 1-29, 1939 人類椎間体の組織学的研究 1. 人類胎児における所見：京都府立医大雑誌 24, 1057-1091, 1938 Bargmann, W.: Histologie u. mikroskop. Anat. d. Menschen. 1956 G. Thieme Boemke, F. et al: Handb. spez. path. Anat. Hist. Bd. IX. Teil 4, 1939 Calvé J. & Galland M.: The intervertebral nucleus pulposus. Its anatomy, its physiology, its Pathology. J. Bone & Joint Surg. 12, 555-578, 1930 Cowdry E. V.: Cowdry's Problems of Ageing. Albert I. Lansing, Editor, Baltimore, 1952, Williams & Wilkins. Coventry, M. B., Chormley, R. K. & Kernohan, J. W.: The intervertebral disc: Its microscopic anatomy and pathology. Part I. Anatomy, development and physiology. J. Bone & Joint Surg. 27, 105-112, 1945. Part II. Changes in the intervertebral disc concomitant with age. J. Bone & Joint Surg. 27, 233-247, 1945 Hass G. M.: A quantitative study of reversible stabilization of polysaccharide in dyed cartilage Am. J. Path. 17, 589, 1941 Holman W. L. & Duff G. L.: Pathology of the intervertebral disc. Proc. Med. Sci. Path. Bact. 198, 419-437, 1939 Lehnharz E.: Einführung in die chemische Physiologie. 1952 G. Thieme Lison, L.: Histochemie et Cytochimie animales. 1953 Gauthier-Villars (Japanese translation) Pearse, A. G. E.: Histochemistry, theoretical and applied, 1953. Churchill. Sylvén, B. et al: Biophysical and physiological investigation on cartilage and other mesenchymal tissues. II. The ultrastructure of bovine and human nuclei pulposi. J. Bone & Joint Surg. 33, 333-340, 1951 Turnbridge, R. E. (Editor): Connective Tissue. A Symposium 1957. Blackwell



## 電顕像に関するもの

梶川欽一郎・小野田孝治：結合織電子顕微鏡的研究Ⅳ．コラゲン溶液より再生される線維に就て 日病会誌 44, 62, 1955 梶川欽一郎・住田行夫・武田正孝：結合織の電子顕微鏡的研究Ⅲ．結合織線維の鍍銀染色所見 日病会誌 42, 237-239, 1953 河瀬収・林 正人・横田博保：弾力線維に関する私共の研究 細胞化学シンポジウム 5, 1957 (丸善) 小林忠義他：種々の弾力線維に対する Elastose の作用 日病会誌 43, 254-255, 1954 宮田 榮：結合織の病理形態学的研究 日病会誌 42, 24-46, 1953 Banfield W. G.: Aging of connective tissue. Asboe-Hansen G, Editor. Connective Tissue in Health and Disease, 1954 Munksgaard Campbell, A. C. P. et al: Connective Tissue, New York Acad. Sci. 1951 Franchi, C. M. and De Robertis, E.: Electron microscopic observations on elastic fibers. Proc. Soc. Exp. Med. 76, 515-518, 1951 Gale, J. C.: Electron microscopic studies of collagen from normal and diseased tissues. Am. J. Path. 26, 707, 1950 Gross, J. and Schmitt, F. O.: The structure of human skin collagen as studied with the electron microscope. J. exp. Med. 88, 555-567, 1948 Gross, J.: A study of the aging of collagenous connective tissue of rat skin with electron microscope. A. J. Path. 26, 708, 1950 *ibid.*: The structure of elastic tissue as studied with the electron microscope. J. exp. Med. 89, 699-708, 1949 *ibid.*: The behavior of collagen units as a model in morphogenesis. J. Biophysic. and Biochem. Cytol. 2, 261-274, 1956 Kajikawa, K. and Sumita, Y.: Electron microscopic studies on the connective tissue. Acta. Path. jap. 3, 66-74, 1953 *ibid.*: Electron microscopic studies on the connective tissue. II. The connective tissue fiber und various pathological condition. Acta. Path. jap. 3, 75-83, 1953 Kellgren, J. H.: Some concepts of rheumatic disease. Brit. Med. J. 4768, 1093-98, 1952 Klemperer, P.: The concept of collagen disease. Am. J. path. 26, 505-519, 1950 Naylor, A. et al: The collagenous changes in the intervertebral disc with age and their effect on its elasticity. An X-ray crystallographic study. Brit. Med. J. II. 570-573, 1954 Porter, K. R. and Vanamee, P.: Observations on the forma-

tion of connective tissue fibers. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 71, 513-516, 1949 Porter K. R. and Hawn, C. V. Z.: Sequences in the formation of clots from purified bovine fibrinogen and thrombin. A study with the electron microscope. J. exp. Med. 90, 225-232, 1949 Randall, J. T. (Editor): Nature and Structure of Collagen 1953 Butterworth Robinson, R. A. and Cameron, D. A.: Electron microscopy of cartilage and bone matrix at the distal epiphyseal line of the femur in the newborn infant. J. Biophysic. Biochem. Cytol. 2, 253-260, 1956 Scott, B. I. and Pease, D. C.: Electron microscopy of the epiphyseal apparatus. Anat. Rec. 126, 465-496, 1956 Sheldon, H. and Robinson, R. A.: Studies on cartilage: Electron microscope observations on normal rabbit ear cartilage. J. Biophysic. Biochem. Cytol. 4, 401-406, 1958 Sylven, B. Paulson, S., Hirsh, C. and Snellman, O.: Biophysical and physiological investigation on cartilage and other mesenchymal tissues. II The ultrastructure of bovine and human nuclei pulposi. J. Bone and Joint Surg. 33, 333-340, 1951 Turnbridge, R. E. (editor): Connective Tissue. A Symposium, 1957, Blackwell Vanamee, P. and Porter, K. P.: Observations with the electron microscope on the solvation and reconstitution of collagen. J. exp. Med. 94, 255-268, 1951 Wyckoff, R. W. G. et al: Connective Tissues. New York Acad. Sci. 1952