下顎頭関節軟骨の修復過程に関する電子顕微鏡学的観察

佐藤 公治・岡 達・星野 洸*

Ultrastructural studies on the healing process
of the injured condylar cartilage

Koji SATOH・Tohru OKA・Takeshi HOSHINO*

Abstract: The healing process of the injured condylar cartilage of the temporomandibular joint (TMJ) was investigated in rats to ascertain the fine structural characteristics of the repaired tissue and the influence of age on healing.

Cartilage injury was prepared by cutting the condylar heads of Wistar male rats (4 weeks, 16 weeks, and 1 year old) to the subchondral bone with a # 700 dental fissure bur.

The animals were sacrificed immediately and 3 days, after the operation and 1, 2, 3, 4, 6, and 10 weeks postoperatively and were examined both histologically and ultrastructurally.

The results obtained were as follows:

1. In the young group (4 weeks old), proliferation of cartilage cells occurred in 2~3 weeks and cartilaginous repair was completed 6 weeks after operation.

2. In the young adult group (16 weeks old), the proliferation of undifferentiated mesenchymal cells from the surface proliferating cell zone to the deep layer was observed.

The above-mentioned cells differentiated to chondrocytes 4 weeks postoperatively.

The differentiation of undifferentiated mesenchymal cells in the bone marrow into chondrocytes was also suggested, and cartilaginous repair was completed by 10 weeks after operation.

3. In the old group (1 year old), the proliferation of undifferentiated mesenchymal cells was not obvious until 2~3 weeks after operation. Although the cells differentiated into chondrocytes in 4~6 weeks, collagen fibril formation was insufficient in the lower level of the repaired tissue.

4. In all of the groups, the main findings regarding healing was undifferentiated mesenchymal cells in the surface layer of TMJ condylar cartilage (initially in the proliferating cell zone).

It was shown that these cells have remarkable potential for healing in condylar cartilaginous tissue.

Key words: condylar cartilage of TMJ (下顎頭軟骨), healing process (修復過程), ultrastructural studies (電子顕微鏡学的観察)

藤田保健衛生大学医学部歯科口腔外科
(主任: 岡 達教授)

* 名古屋大学医学部解剖学講座
(主任: 星野 洸教授)

Department of Oral Surgery, School of Medicine, Fujita Health University (Chief: Prof.

Tohru Oka)

* Department of Anatomy, School of Medicine, Nagoya University (Chief: Prof. Takeshi Hoshino)

受付日: 平成4年1月16日

I. 結 言

下顎関節軟骨は、関節部骨折、変形性顎関節症、軟骨軟化症などの病態においては損傷、断裂、磨耗などさまざまな病変を認めることがある。その場合、関節軟骨がいかなる修復機転をとるかは、これらの病態、治療法の選択、予後に関連する事項として解明を要する問題である。

関節軟骨の修復過程については、膝関節を中心とした多くの研究がある。Mankin¹⁾ (1962) は幼若動物の関節軟骨には再生能があるとしたが、Campbell²⁾ (1969) はそれを否定し創修復にあずかった線維性組織の軟骨化生による修復過程を主張するなど、実験条件の設定の相違などのために、十分な見解の一致をみていない。

一方、下顎関節軟骨の場合、骨端軟骨を欠き、表層は線維性結合組織で覆われるなどの組織像を示し、また増齢に伴い形態学的、組織学的に変化するとされている³⁻⁸⁾。

したがって、膝関節の創傷治癒の知見とは同一視できない側面をもつと考えられる。

中田⁹⁾ (1983) は、初めて下顎関節軟骨の実験的損傷治癒について組織学的観察を行い、軟骨細胞による修復機転が存在することを認めたが、実験動物の個体成熟度による治癒過程の相違にはふれていない。

臨床上、顎関節疾患において対象となる患者は若年者から高齢者に及び、したがって患者年齢と疾患予後との関連が大きな問題点とされ、個体成熟度という因子の関節軟骨損傷修復へのかかわりの解明が重要視される。

かかる観点から、われわれはこれまで下顎関節軟骨の実験的損傷における修復経過の詳細ならびに実験動物の個体成熟度による修復過程の差異をあきらかにする目的で一連の研究を行ってきた。

今回、著者らは幼若群(生後4週)、未成熟群(生後16週)、成熟群(生後1年)の3群のラットに対し軟骨下骨組織にまで達する実験的損傷を作製、その修復過程と個体成熟度の及ぼす影響について、より微細構造の動態をあきらかにするため電子顕微鏡学的観察を中心に、各群の修復態度の差異について検討を加えたので報告する。

II. 実験材料および研究方法

1. 実験材料

Wistar 系雄ラット、生後4、16週のもの各42匹、生後1年のもの40匹を使用し、それぞれを幼若群、未成熟群、成熟群とし、各群に対して無処置の対照群を設けた。

飼育は水道水と飼育用固形飼料 CE-2® (日本クレア

図1 損傷作製法

社製)により行った。

2. 研究方法

ネブタール 25 mg/kg 腹腔内注射麻酔後、左耳前部を剃毛、消毒し、中田⁹⁾の方法に準じ皮膚切開、皮下組織を鈍的に剝離、骨面から関節包を関節円板を含めて上方にもち上げ下顎頭を露出、術創を直视下においた。

生理的食塩水水下、歯科用フィッシャーバー(#700)にて下顎頭横径に一致する前額断方向で軟骨下骨組織に達する損傷を加えた後、洗浄、縫合閉創した(図1)。

幼若群、未成熟群で各2匹が不適切な麻酔のために術直後に死亡した。

各群とも、損傷直後、3日、1、2、3、4、6、10週に各5匹を屠殺し、下顎頭を摘出して検索材料とした。

試料の一部は、10%中性ホルマリン溶液で固定、10% EDTA 溶液で脱灰した後、通法に従いパラフィン包埋、矢状断 5 μ m の切片を作製、H-E およびトルイジンブルー (pH 4.1) 染色を施し光学顕微鏡で観察した。

電子顕微鏡学的観察のためには、2.5% グルタルアルデヒド、2.0% パラホルムアルデヒド含有リン酸緩衝液 (pH 7.4) にて 4°C、24時間の前固定を行い、10% EDTA 溶液で5日間脱灰した後、PBS 緩衝液で洗浄し、2% オスミウム溶液で2時間の後固定をした。その後、エタノール系列で脱水後、Epon 812® に包埋、ライヘルト型ウルトラミクロトームにて超薄切片を作製、酢酸ウラニル、クエン酸鉛の2重染色施行後、日立 HU-12A 透過型電子顕微鏡で観察した。

また超薄切片とともに 1 μ m の切片を作製、1% トルイジンブルー染色 (pH 7.0) で加温染色を行い、光学顕微鏡で観察した。

なお本実験観察における軟骨層の組織学的層区分は、Bloom ら¹⁰⁾ (1975) の層区分に基づき関節腔側から、線維層 (fibrous zone)、増殖細胞層 (proliferating cell zone)、成熟細胞層 (mature cell zone)、肥大細胞層 (hypertrophic cell zone) の4層に区分した。

III. 実験成績

1. ラットの体重変化

各群の経日的体重変動を表1に示す。

表 1 実験動物群の体重変動 (n=5: 平均±標準偏差 g)

		0 週	1 週	2 週	3 週	4 週	6 週	10 週
幼若群	対照群	88±7.5	136±4.9	180±6.3	226±13.6	272±7.5	366±19.6	424±16.3
	実験群	88±4.4	125±17.1	166±17.6	210±10.0	255±25.0	333±26.2	438±25.9
未成熟群	対照群	464±8.0	472±14.7	472±24.0	496±19.6	520±26.8	526±29.4	582±31.9
	実験群	438±30.6	424±27.7	457±27.6	481±25.3	503±31.5	521±41.6	575±15.0
成熟群	対照群	703±76.8	708±69.8	718±69.8	725±73.0	715±66.9	720±37.4	728±69.1
	実験群	701±58.7	670±40.6	682±70.6	703±26.8	695±38.4	720±28.3	703±83.6

写真 1 生後 4 週ラット：下顎頭関節軟骨光顕像 (トルイジンブルー (pH 7.0) 染色, ×66)
F：線維層, P：増殖細胞層, N：成熟細胞層
H：肥大細胞層

写真 3 生後 1 年ラット：下顎頭関節軟骨光顕像 (トルイジンブルー (pH 7.0) 染色, ×66)
F：線維層, P：増殖細胞層, M：成熟細胞層,
H：肥大細胞層

写真 2 生後 16 週ラット：下顎頭関節軟骨光顕像 (トルイジンブルー (pH 7.0) 染色, ×66)
F：線維層, P：増殖細胞層, M：成熟細胞層,
H：肥大細胞層

t-検定にて未成熟群の損傷後 1 週においてのみ実験群で対照群より有意 (p<0.05) に体重が少なかった以外は、実験群と対照群の体重に有意差は認められなかった。

2. 対照群の光学顕微鏡および電子顕微鏡学的所見

1) 光学顕微鏡学的所見

- ①幼若群：軟骨層は全体に厚く、細胞成分に富み、4 層が区分できる。線維層、増殖細胞層には未分化間葉系細胞が豊富に存在し、肥大細胞層も厚く、軟骨性化骨が盛んに認められる (写真 1)。
- ②未成熟群：幼若群のラットと比較して軟骨層の厚さは各層で減少し、骨梁は厚みを増加するが、骨髓腔は広く残っていた。組織学的に 4 層が明瞭に区別された (写真 2)。
- ③成熟群：軟骨層は全体に菲薄化し、層区分も不明瞭であったが、増殖細胞層に相当する細胞はいまだ存在し、特に滑膜へ移行する辺縁部でその割合が多くみられた。軟骨下骨からの血管系の侵入はほとんどみられず、軟骨と骨の境界は明瞭であった (写真 3)。

2) 電子顕微鏡学的所見

- 軟骨層を形成する 4 層の微細構造は基本的に同じ構造を示したので、未成熟群 (生後 16 週) の所見を中心に各層の微細構造学的特徴を以下に記載する。
- ①線維層：粗面小胞体が中等度に発達した紡錘型の線維芽細胞様細胞がみられ、基質中には膠原細線維が密に関節表面に対し平行かつ 2 次元的に直交する方向に走行

写真 4 生後16週ラット：線維層の電顕像

写真 7 生後16週ラット：肥大細胞層の電顕像

写真 5 生後16週ラット：増殖細胞層の電顕像

写真 8 幼若群：損傷後1週（トルイジンプルー（pH 7.0）染色，×50）

損傷部は線維性結合組織で被われていた。

写真 6 生後16週ラット：成熟細胞層の電顕像

していた。

幼若群では膠原細線維が束状構造を形成する傾向がみられた（写真4）。

②増殖細胞層：クロマチンに富んだ核を有し、粗面小胞体が軽度に発達した未分化間葉系細胞が認められ、細胞質に対する核の割合は大きかった。基質中の膠原細線

維の走行は不規則であった（写真5）。

③成熟細胞層：楕円形から類円形の軟骨細胞が存在、粗面小胞体、ミトコンドリア、ゴルジ装置などの発達が認められた。膠原細線維は3次的に走行、基質小胞も散在していた（写真6）。

④肥大細胞層：類円形の肥大した軟骨細胞からなり、細胞内小器官は退化、細胞領域の形成がみられた。基質中には細い膠原細線維とプロテオグリカン顆粒が観察された（写真7）。

3. 実験損傷幼若群の所見

1) 光学顕微鏡学的所見

損傷後3日：損傷時とほぼ同等の大きさの欠損が存在、損傷底部にフィブリン様物質の析出が認められた。

損傷後1週：損傷部両断端からわずかに軟骨層の増殖がみられるが、損傷底部ははまだフィブリン様物質を含む線維性結合組織にて被われていた（写真8）。

損傷後2週：損傷部は軟骨細胞層の増殖によりほぼみたされるが、増殖の方向は深部へ向かっていた。線維性結合組織が両側から増殖してきた軟骨細胞層間には1層

写真 9 幼若群：損傷後2週（トルイジンブルー
(pH 7.0) 染色, ×66)

深部への軟骨細胞層の増殖がみられた。

写真 11 幼若群：損傷後6週（トルイジンブルー
(pH 7.0) 染色, ×66)

損傷部の修復はほぼ完了した。

写真 10 幼若群：損傷後3週（トルイジンブルー
(pH 7.0) 染色, ×100)

増殖細胞層, 成熟細胞層に相当する細胞が深部でもみられた。

写真 12 幼若群：損傷後3日の電顕像
フィブリン様物質の析出(←)がみられた。

介在していたが、損傷底部にはすでに存在していなかった(写真9)。

損傷後3～4週：損傷部は完全に軟骨細胞層にて修復されるが、軟骨層には肥厚がみられ層区分も不明瞭で増殖細胞層, 成熟細胞層に相当する細胞が深層でも多く存在した(写真10)。

損傷後6～10週：損傷後6週ではほぼ軟骨層, 損傷骨梁部の修復は完了し、層区分も明瞭となり、健常部と同様の所見を呈した(写真11)。

2) 電子顕微鏡学的所見

損傷後3日：損傷面には、不規則に走行する膠原細線維中にフィブリン様物質の析出がみられた。変性して無構造となった細胞や破壊された細胞破片様構造物が多く存在し、他には細胞内小器官に乏しい扁平な細胞がわずかに認められるのみであった(写真12)。

損傷後1週：損傷部を被覆する線維性結合組織中に紡錘形の線維芽細胞様細胞が認められた。その細胞質内に

写真 13 幼若群：損傷後1週の電顕像

は拡張した粗面小胞体, ミトコンドリアなどの細胞内小器官の他, 少量のライソゾームがみられた。基質中には不規則に走行する膠原細線維が認められたが、束状構造の形成はみられなかった(写真13)。

写真 14 幼若群：損傷後2週の電顕像
クラスターを形成する細胞群。

写真 16 幼若群：損傷後3週の電顕像
楕円形の軟骨細胞がみられた。

写真 15 幼若群：損傷後3週の電顕像
線維芽細胞様細胞間に膠原細線維が束状構造を形成していた。

写真 17 幼若群：損傷後6週の電顕像
成熟した軟骨細胞がみられた。
基質中では膠原細線維間にプロテオグリカン顆粒、
基質小胞がみられた。

損傷後2週：増殖してきた軟骨層中には、軟骨層各層に相当する細胞がみられるようになった。増殖してきた細胞は、未成熟群や成熟群のような長い細胞突起はみられなかった。

中間層以下では楕円形で、良く発達した粗面小胞体とミトコンドリアを有する軟骨細胞が認められ、それらの細胞ではクラスターを形成する細胞群もみられた。細胞間基質中の膠原細線維は3次的に交錯して走行し、基質小胞様構造も散見された(写真14)。

損傷後3～4週：表層では線維芽細胞様細胞間に多量の膠原細線維が介在し、それらはより密となり束状構造を形成し関節表面に対し平行に、互いに直交しながら走行する所見が観察された(写真15)。中間層以下では、楕円形から類円形で粗面小胞体、ミトコンドリアが中等度に発達した軟骨細胞がみられた。基質中にはわずかにプロテオグリカンと思われる電子密度の高い顆粒と3次的に網目状に走行する膠原細線維がみられたが、個々の線維は疎であった(写真16)。

損傷後6～10週：深層では、次第に成熟した軟骨細胞が増加し、これらの軟骨細胞は小細胞突起を有し、細胞領域を形成、細胞質内には粗面小胞体とミトコンドリアの他、グリコーゲン顆粒、脂肪滴、大きな空胞などが認められた(写真17)。

基質中には不規則に走行する膠原細線維、電子密度の高いプロテオグリカン顆粒、基質小胞が観察され、プロテオグリカン顆粒は細胞周囲基質、細胞領域基質に多くみられ、基質小胞は細胞領域間基質中に多い傾向であった。

また、骨化開始部位では膠原細線維は密であった。

4. 実験損傷未成熟群の所見

1) 光学顕微鏡学的所見

損傷後3日：損傷時と同様、軟骨下骨にまで達する欠損が存在、損傷底部には骨髓腔と連続してフィブリン様物質が認められた。

損傷後1週：損傷部両断端からわずかに軟骨層の増殖

写真 18 未成熟群：損傷後 1 週（トルイジンブルー (pH 7.0) 染色, $\times 66$)

損傷部は大部分線維性結合組織で被われていた。

写真 20 未成熟群：損傷後 3 週（トルイジンブルー (pH 7.0) 染色, $\times 80$)

損傷部では軟骨層の肥厚がみられた。

写真 19 未成熟群：損傷後 2 週（トルイジンブルー (pH 7.0) 染色, $\times 50$)

線維層, 増殖細胞層に相当する細胞が深部に増殖していた。

写真 21 未成熟群：損傷後 4 週（トルイジンブルー (pH 7.0) 染色, $\times 80$)

軟骨側と骨端側でメタクロマジーが認められた。

がみられるが、損傷部の多くは線維性結合組織にて被われていた (写真18)。

損傷後 2 週：損傷部両断端から線維層, 増殖細胞層に相当する細胞が深部へ向かって増殖し, その間には関節腔表面から連続する線維性結合組織が介在していた。

また, 損傷底部では骨髄由来と考えられる未分化間葉系組織が残存, 増殖してきた軟骨細胞層のこれに接する部分では細胞成分に乏しい軟骨基質のみからなっていた (写真19)。

損傷後 3～4 週：損傷部では肥大細胞層を中心とした軟骨層の肥厚がみられたが, 最深部ではいまだ増殖細胞層, 成熟細胞層に相当する軟骨細胞が存在した (写真20)。

細胞成分がほとんど存在しない軟骨基質のみからなる部分をはさんだ関節側と骨端側でトルイジンブルー染色でメタクロマジーを示す所見を認めた (写真21)。

損傷後 6～10 週：肥大細胞層の肥厚がみられた部分

写真 22 未成熟群：損傷後 6 週 (トルイジンブルー (pH 7.0) 染色, $\times 80$)

軟骨層区分は次第に明瞭になった。

で, 軟骨性骨化により骨梁の再生がみられるとともに軟骨層区分も明瞭となり軟骨修復がほぼ完了した所見であった (写真22)。

写真 23 未成熟群：損傷後3日の電顕像

写真 25 未成熟群：損傷後2週の電顕像
損傷底部にみられた多核巨細胞。 写真 24 未成熟群：損傷後1週の電顕像
損傷部へ増殖してきた長い細胞突起を有する未分化な細胞と線維芽細胞様細胞。 写真 26 未成熟群：損傷後4週の電顕像
楕円形の軟骨細胞。

2) 電子顕微鏡学的所見

損傷後3日：損傷底部ではフィブリン様物質の析出と変性壊死傾向を示す細胞が多数みられた（写真23）。

損傷後1～2週：損傷部へ増殖した細胞は、クロマチンに富んだ大きな核と多数の長い細胞突起を有し、細胞内小器官は未発達で互いに結合するように配列する細胞と粗面小胞体の良く発達した線維芽細胞様細胞からなり、前者には2核を有する細胞も存在した（写真24）。

底部の骨髄由来未分化間葉系組織中には、辺縁がクロマチンに富む数個の形態不規則な核をもち、ミトコンドリアが良く発達し、細胞辺縁がひだ状を呈する多核巨細胞が散見された（写真25）。

損傷後3～4週：損傷底部付近では、楕円形の軟骨細胞が増加した。核は、円形で偏在し、粗面小胞体、ゴルジ装置、ミトコンドリアなどの細胞内小器官が認められた。細胞周囲には、プロテオグリカン顆粒がわずかにみられたが、膠原細線維形成は不十分であった（写真26）。

損傷後6～10週：深層では類円形で良く発達した粗面

写真 27 未成熟群：損傷後10週の電顕像
成熟した軟骨細胞。

小胞体、ミトコンドリアなどの細胞内小器官を有する成熟した軟骨細胞が増加、基質中にも不規則に走行する疎な膠原細線維中に細胞周囲基質を中心としてプロテオグ

写真 28 成熟群：損傷後1週（トルイジンブルー（pH 7.0）染色，×80）

損傷部にフィブリン様物質の析出がみられた。

写真 30 成熟群：損傷後6週（トルイジンブルー（pH 7.0）染色，×160）

中間層から深層で軟骨細胞への分化が認められた。

写真 29 成熟群：損傷後2週（トルイジンブルー（pH 7.0）染色，×160）

損傷部には未分化な細胞の増殖がみられたが骨面との境界は明瞭に残存した。

写真 31 成熟群：損傷後10週（トルイジンブルー（pH 7.0）染色，×160）

骨との境界は明瞭に残存した。

リカンと思われる電子密度の高い顆粒が多く、また細胞領域間基質には多数の基質小胞が観察された（写真27）。

5. 実験損傷成熟群の所見

1) 光学顕微鏡学的所見

損傷後3日：損傷時と同様の軟骨下骨に達する欠損が存在していた。

損傷後1週：損傷部への組織修復は、軟骨層の増殖、骨からの組織修復いずれもなく、損傷面に軽度のフィブリン様物質の析出が認められるのみであった（写真28）。

損傷後2～3週：損傷部は修復組織によってほぼ満たされるものの骨面との境界は明瞭で境界部にはいまだフィブリン様物質が存在した。修復組織中の細胞成分は乏しく、それらは多角形、不整形形態の未分化な細胞で、増殖方向も不規則であった（写真29）。

骨からの修復関与は認められなかった。

損傷後4～6週：線維芽細胞様未分化細胞の増殖が引き続きみられるが、増殖方向にやや規則性が現れ、表

層では線維芽細胞様細胞が関節表面に対して平行に配列するようになった。中間層から深層では、楕円形、類円形の軟骨細胞が増加、一部ではクラスターを形成して細胞周囲でメタクロマジーを呈する所見も認められた（写真30）。

この時期においても骨組織からの修復関与はなく、骨面との境界は明瞭に存在していた。

損傷後10週：損傷部の完全な軟骨層修復はみられず、骨とも明瞭に境されたままで、修復組織の骨との境界部は細胞成分が少なく、基質中のメタクロマジーも乏しかった（写真31）。

2) 電子顕微鏡学的所見

損傷後1週：修復組織はみられず、損傷面にはフィブリン様物質の析出、変性壊死に陥りつつある細胞の他にマクロファージ様細胞が認められた（写真32）。

損傷後2～3週：損傷部には未分化な細胞の増殖が著明となり、これらの細胞は形態不整で長く多数の細胞突起を有するのが特徴であった。細胞質に対する核の占め

写真 32 成熟群：損傷後1週の電顕像
フィブリン様物質の析出 (←) がみられた。

写真 35 成熟群：損傷後6週の電顕像
深層でみられた軟骨細胞。

写真 33 成熟群：損傷後3週の電顕像
増殖してきた未分化な細胞間にギャップジャンクション (←) が認められた。

写真 34 成熟群：損傷後6週の電顕像
中間層にみられた軟骨細胞。

る割合が大きく、粗面小胞体が中等度に発達していた。また、増殖してきた未分化間葉系細胞間に細胞接着装置としてのギャップジャンクションも認められた。この時

写真 36 成熟群：損傷後10週の電顕像
骨 (B) から膠原細線維が垂直に伸びてくるが、境界部にはフィブリン様物質 (←) が残存し、軟骨側の膠原細線維形成は不十分であった。

期の基質中では、膠原細線維がわずかに認められるにすぎなかった (写真33)。

損傷後4～6週：中間層から深層で軟骨細胞への分化が認められた。

中間層では、細胞は楕円形を呈し、細胞質に対する核の占める割合は小さくなり、細胞内小器官では粗面小胞体の発達はさらに著明で一部には拡張を示す所見もみられた。ミトコンドリアも増加し、その他細胞質内フィラメント、空胞形成が認められる細胞も存在した。

基質中では、膠原細線維の他にプロテオグリカンと思われる電子密度の高い顆粒が増加、基質小胞も散在していた (写真34)。

深部の軟骨細胞は類円形となり粗面小胞体, ゴルジ装置の他, ミトコンドリアの発達が著明であった。これらの細胞はあきらかな細胞領域を形成し, 細胞周囲基質ではプロテオグリカン顆粒が多く存在した。細胞領域間基質では, 細胞周囲基質と比較してプロテオグリカン顆粒は少なく, 膠原細線維間に基質小胞が多く観察された(写真35)。

損傷後10週: 深部の骨との境界部分では, 細胞成分に乏しく骨から密な膠原細線維が境界面に垂直方向に伸びてくるのに対し, 軟骨側では, フィブリン様物質がまだ存在, プロテオグリカン顆粒は存在するものの膠原細線維形成は不十分であり, 完全な修復はみられなかった(写真36)。

IV. 考 察

1. 関節軟骨の修復と個体成熟度の及ぼす影響について

関節軟骨損傷後の修復に関する研究は, 過去に膝関節を中心に多数の業績があり, 加齢, 損傷の大きさ, 深さ, 損傷部位, 損傷後の運動などがその修復態度に影響を及ぼすとされている^{11,12)}。

しかし, 従来の報告は軟骨細胞に増殖能力があるとされる幼若動物を対象としたものがほとんどで, 成熟動物を対象としたものあるいは個体成熟度の違いが及ぼす影響について言及したものは少ない。

顎関節に関しては, 中田⁹⁾ (1983) が初めて生後6週ラットの関節軟骨損傷後の修復過程について研究を行い, 軟骨内に限局する損傷, 軟骨下骨梁に及ぶ損傷いずれにおいても, 軟骨細胞自体の強い反応性増殖により修復が行われることをあきらかにした。しかし本論文では個体成熟度の影響については言及していない。

個体の成熟度の及ぼす影響については, 膝関節では, 牧¹³⁾ (1974), 榊田¹²⁾ (1987) らの光顕およびオートラジオグラフィーを応用した研究がある。

その結果によれば, 幼若ラットの膝関節では大部分は軟骨細胞の反応性増殖により, また未成熟ラットでは未分化間葉系細胞の軟骨細胞への分化により, いずれも硝子軟骨で修復される。これに対し成熟ラットでは未分化間葉系細胞が表層では結合組織に, 深層部では骨組織に分化して損傷部を補填, 軟骨細胞による修復はみられなかったとし, 個体の成熟度により異なった修復機転をとることを確認している。

今回行ったラット下顎頭関節軟骨損傷後の修復過程についてみると, 幼若群では修復初期には線維性結合組織の介在がみられたが, 修復の主体は軟骨細胞層の反応性増殖であり, 早い時期から層区分が比較的明瞭で, 損傷部には各層に相当する軟骨細胞が存在した。これは, 中田⁹⁾ の報告とはほぼ同じ所見であった。

これに対し, 未成熟群では, 骨髄由来の線維性結合組織がまず損傷部を被覆し, やや遅れて増殖細胞層を中心とする表層の未分化間葉系細胞が深部へ増殖し, 損傷後4週で深部から軟骨細胞への分化が認められた。

さらに同時期には, 深部で細胞成分をほとんど含まない軟骨基質のみからなる層をはさんで骨端側にもトルイジンブルー染色でメタクロマジーを示す所見が認められ, 骨髄由来の未分化間葉系細胞から軟骨細胞への分化が考えられる所見であった。

幼若群, 未成熟群では損傷後6~10週で軟骨修復はほぼ完了した。

成熟群では, 未成熟群よりやや遅れて損傷後2~3週で表層からの未分化間葉系細胞の増殖がみられ, 4~6週で深層から軟骨細胞への分化が認められたが, 損傷後10週になっても, 骨との間に裂隙が存在し, 完全な軟骨修復は得られなかった。また, 全過程を通して骨組織からの修復関与はみられなかった。

以上の結果を膝関節における牧¹³⁾, 榊田¹²⁾ の報告と比較すると, 膝関節では幼若群の場合のみ軟骨細胞の反応性増殖による修復がみられたのに対し, 顎関節では各群とも修復の主体をなすのは増殖細胞層を主体とした軟骨表層に存在する未分化間葉系細胞の反応性増殖とそれに続く軟骨細胞への分化であった。しかしその増殖, 分化能は加齢とともに減少すると考えられ, 未成熟群では膝関節と同様深部で骨髄由来組織から軟骨細胞への分化が起こると考えられた。

成熟群になると石灰化亢進により, タイドマークが形成されるとともに血管系の侵入がほとんど認められないために, 軟骨下骨髄からの未分化間葉系細胞の修復関与はみられなかった。

膝関節軟骨修復機序と異なる知見が得られた原因としては, 両関節の運動, 荷重様式, 形態的ならびに組織学的相違があげられる^{14,15)}。下顎頭部は骨端軟骨を欠く構造であり, 下顎頭関節軟骨は, 幼若群のような離乳期から咬合接触関係確立期には growth center としての役割を担い¹⁶⁾, その後も荷重の変化などに対応するための局所的な remodeling center として機能するものと考えられ¹⁷⁾, その場合, 特に下顎頭表層に存在する増殖細胞層を中心とする未分化間葉系細胞が重要視される¹⁸⁾。

2. 透過型電子顕微鏡による観察所見について

関節軟骨損傷後の修復組織の性状について, 透過型電子顕微鏡を用いて観察を行った報告は久保¹⁹⁾ (1983) の報告をみるにすぎない。同報告によれば, 生後7週齢の未成熟ラットの膝関節軟骨損傷後の修復過程では, 損傷部へ増殖した未分化間葉系細胞が, 損傷後4週で深層から軟骨細胞へ分化し, 損傷後12週で修復細胞は対照関節軟骨に酷似していたという。しかし, 損傷後48週では, 細胞密度の減少, 修復細胞内のグリコーゲン沈着, 脂肪滴形成などの変性所見が観察され, 軟骨基質の構造も正

常の膠原細線維の3次元的網目構造に乏しく細線維化がみられたとしている。

われわれの研究では、幼若群では修復初期から良く発達した粗面小胞体とミトコンドリアを有する軟骨細胞が出現し、2核を有する細胞やクラスターを形成する細胞群がみられ、基質中では特に表層近くで膠原細線維が密で束状構造を形成しながら関節表面に平行に直行しながら走行していた。

未成熟群では、修復の主体をなすのはクロマチンに富んだ大きな核と多数の長い細胞突起を有し、細胞内小器官は未発達で互いに結合するように配列する未分化な細胞と、粗面小胞体の発達した線維芽細胞様細胞であった。

これらの細胞は損傷後3～4週で深部から粗面小胞体、ゴルジ装置、ミトコンドリアなどの細胞内小器官が認められる楕円形の軟骨細胞へと分化し、基質中にも成熟に従いプロテオグリカン顆粒と不規則に走行する疎な膠原細線維の形成がみられた。

成熟群でも未成熟群とほぼ同様な修復過程を示したが、修復速度は遅延した。すなわち損傷後10週においても、骨との間には裂隙が残存し、同部にはフィブリン様物質が存在、骨方向からは膠原細線維が垂直方向に形成されているのに対し、軟骨側での膠原細線維形成は不十分で、変形性関節症変初期の水平亀裂に類似した病態を示した^{20,21)}。

また、増殖してきた未分化間葉系細胞間に細胞接着装置としてのギャップジャンクションが認められたことは、遊走してきたこれらの細胞間で増殖、分化に関する細胞間情報伝達が行われていることを示す所見であった²²⁻²⁴⁾。

以上、3群とも基本的な修復態度は増殖細胞層を中心とする未分化間葉系細胞の損傷部への増殖、軟骨細胞への分化といえる。

未分化間葉系細胞の供給源が膝関節では軟骨下骨髄組織であるのに対し、顎関節では増殖細胞層を中心とする表層の軟骨細胞が重要な役割を果たすものと考えられた。

3. 増殖細胞層を中心とする未分化間葉系細胞について

われわれの研究から、下顎頭関節軟骨の修復に際して、表層部に存在する未分化間葉系細胞は特異的な機能をもつと考えられた。

この領域に存在する細胞群については、最近出生直後から離乳期の幼若動物を用いた研究が多くみられる。

Öberg ら²⁵⁾ (1967) は、幼若豚に対するオートラジオグラフィーを用いた検索で、増殖細胞層の未分化間葉系細胞が軟骨細胞に分化し、軟骨層の肥厚に関与するとした。

また、Hansson ら²⁶⁾ (1977) はヒト顎関節の形態学的

観察で未分化間葉系細胞が形態分化により組織のリモデリングに役立つと述べている。一方、Stegenga ら²⁷⁾ (1989) は下顎頭関節軟骨の増殖細胞層は、組織修復能を有する未分化間葉系細胞を含み、リモデリングに際して重要な役割を果たすと主張した。

また、Livne ら²⁸⁾ (1987) によれば、出生直後のマウスの電顕的観察で、下顎頭表層直下には chondrogenic cell からなる層があり、これらの細胞は軟骨芽細胞へと分化する間葉系細胞の集団であるという。その形態学的特徴として多く長い細胞突起を有し、細胞質中央に核小体に富んだ核、発達した粗面小胞体とミトコンドリアのほか、細胞質内フィラメントやライソゾーム様小空胞があり、長い細胞突起を介して隣接細胞と情報伝達を行っているとの見解を報告している。

Luder ら²⁹⁾ (1988) も離乳直後のラットの組織学的およびオートラジオグラフィーによる観察の結果、同じく表層直下に polymorphic layer が存在し、同層の細胞は不規則、多角形で mitosis がしばしば観察され、深層の硝子軟骨への細胞を供給する progenitor cell または stem cell としての機能をもつとした。

線維層の細胞については、水野ら^{30,31)} (1988) のコルヒチン投与後のラット下顎頭関節軟骨の観察があり、線維層の線維芽細胞様細胞は、6週齢までは増殖能を有し、成長期の線維層の発育は内部の細胞増殖と線維性基質の生産によると報告している。

今回の実験でも損傷部へ増殖してきた細胞は形態学的にこれらの細胞と類似しており、損傷修復に際しても表層部に存在する増殖細胞層を中心とする未分化間葉系細胞が重要な役割を果たすものと考えられた。

これらの未分化間葉系細胞の研究は、対象として幼若動物を使用した実験がほとんどで成熟後も増殖能力をもち続けるかについてはあきらかでないが、高齢者の変形性関節症病変で増殖性変化を認めることはしばしば経験され^{20,27,32,33)}、今回の実験結果からも形態学的には成熟個体でも一定の条件下で増殖能力が発現するものと考えられた。

V. 結 語

下顎頭関節軟骨損傷後の修復過程に関して、微細構造動態の解明および個体成熟度の及ぼす影響について検索する目的で、実験的損傷を施した幼若群(生後4週)、未成熟群(生後16週)、成熟群(生後1年)の3群のラットに対して、組織学的、電子顕微鏡学的観察を行い、得られた結果は次のように要約できる。

1. 幼若群では、修復の主体は軟骨細胞層の反応性増殖であり、損傷後2～3週で損傷部には各層に相当する軟骨細胞が存在し、損傷後6週で軟骨修復はほぼ完了した。

2. 未成熟群では、増殖細胞層を中心とする表層の未分化間葉系細胞が深部へ増殖し、損傷後4週で深部から軟骨細胞への分化が認められた。

さらに、骨髄由来組織からの軟骨細胞への分化を示す所見もみられた。損傷後10週で軟骨修復はほぼ完了した。

3. 成熟群では、未成熟群よりやや遅れて損傷後2～3週で表層からの未分化間葉系細胞の増殖がみられ、4～6週で深層から軟骨細胞への分化が認められた。損傷後10週になっても、損傷底部の膠原細線維形成は不十分で完全な軟骨修復は得られなかった。

4. 各群とも修復の主体をなすのは増殖細胞層を中心とする表層部に存在する未分化間葉系細胞で、下顎頭関節軟骨の表層部に存在するこの細胞群は特殊な機能をもつものと思われた。

稿を終えるにあたり、終始ご教示、ご協力をいただきました本学歯科口腔外科学教室、および名古屋大学医学部解剖学第2講座の教室員各位に深甚なる謝意を表します。

本論文の要旨は、1990年4月第44回日本口腔科学会総会（於：松江）、1990年10月第35回日本口腔外科学会総会（於：岡山）、1991年5月第45回日本口腔科学会総会（於：京都）において発表した。

引用文献

- 1) Mankin, H.J.: Localization of tritiated thymidine in articular cartilage of rabbits. Repair in immature cartilage. *J Bone Joint Surg* 44-A: 688-698 1962.
- 2) Campbell, C.J.: The healing of cartilage defects. *Clin Orthop* 64: 45-63 1969.
- 3) 三木 毅: ラット顎関節の発生並びに发育に関する研究. *京大口科紀要* 12: 1-33 1972.
- 4) 竹之下康治: 下顎頭の年齢的变化に関するX線学的ならびに組織学的研究. *日口外誌* 25: 43-64 1979.
- 5) Morinaga, Y.: Changes in mandibular condyle of the rat with the course of age; an observation by transmission electron microscopy. *Bull Stom Kyoto Univ* 19: 1-19 1979.
- 6) 森田修一: ラット下顎頭軟骨の生後发育に関する微細構造学的、細胞化学的研究. *日矯歯誌* 41: 171-201 1982.
- 7) Campos, M.N.M. and Cruz, A.R.: Morphometric study of mandibular condyle of the rat during postnatal development. *Acta Anat* 123: 189-194 1985.
- 8) 大西陽一郎: ヒト顎関節構造の加齢的推移—とくに新生児より青年期について—. *歯科医学* 51: 391-413 1988.
- 9) 中田茂樹: 下顎頭関節軟骨損傷の修復に関する実験的研究. *日口外誌* 29: 239-252 1983.
- 10) Bloom, W. and Fawcett, D.W.: A textbook of histology. 10th Ed, W.B. Saunders Co, Philadelphia, 1975, p 271-273.
- 11) 新名正由: 軟骨代謝—研究の進歩とその臨床的意義—. *日整会誌* 61: 975-989 1987.
- 12) 榑田喜三郎: 関節軟骨損傷に伴う関節部骨折. *日整会誌* 61: 1305-1321 1987.
- 13) 牧 陽一: ^3H -thymidine autoradiography による関節軟骨損傷の修復に関する実験的研究. *日整会誌* 48: 351-364 1974.
- 14) 田口 望: 顎関節関節軟骨および関節円板の微細構造に関する研究. *日口外誌* 26: 929-944 1983.
- 15) 宮木克明, 村上賢一郎, 他: 家兎顎関節円板切除後の関節構造の修復過程に関する実験的研究—完全円板切除後の関節構造の変化について—. *日口外誌* 36: 2679-2688 1990.
- 16) Copray, J.C.V.M., Dibberts, J.M.H., et al.: The role of condylar cartilage in the development of the temporomandibular joint. *Angle Orthod* 58: 369-380 1988.
- 17) Macalister, A.D.: The development of the human temporomandibular joint, A microscopic study. *Aust Dent* 59: 21-27 1955.
- 18) Meikle, M.C.: Remodeling. Sarnat, B.G. and Laskin, D.M. eds.; The temporomandibular joint. 3rd Ed, Thomas, Springfield, 1979, p 205-226.
- 19) 久保俊一: ラット関節軟骨損傷後の修復過程における電子顕微鏡学的研究. *日整会誌* 57: 167-185 1983.
- 20) de Bont, L.G.M., Boering, G., et al.: Osteoarthritis and internal derangement of the temporomandibular joint: A light microscopic study. *J Oral Maxillofac Surg* 44: 634-643 1986.
- 21) Quinn, J.H.: Pathogenesis of temporomandibular joint chondromalacia and arthralgia. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 1: 47-57 1989.
- 22) Kanno, Y.: Modulation of cell communication and carcinogenesis. *Jpn J Physiol* 35: 639-707 1985.
- 23) 月田早智子, 月田承一郎: 細胞接着装置の分子構築. *代謝* 26: 267-269 1989.
- 24) Shiba, Y., Sasaki, Y., et al.: Inhibition of gap-junctional intercellular communication and enhanced binding of fibronectin-coated latex beads by stimulation of DNA synthesis in quiescent 3T3-L1 Cells. *J Cell Physiol* 145: 268-273 1990.
- 25) Öberg, T., Fajers, C.M., et al.: Autoradiographic studies with ^3H -thymidine on cell proliferation and differentiation in the mandibular condyle. *J Bone Joint Surg* 71-A: 151-159 1989.

- bular joint of young guinea pigs. *Odont Revy* 18: 327-344 1967.
- 26) Hansson, T. and Nordström, B.: Thickness of the soft tissue layers and articular disk in temporomandibular joints with deviations in form. *Acta Odont Scand* 35: 281-288 1977.
- 27) Stegenga, B., de Bont, L.G.M., et al.: Osteoarthritis as the cause of craniomandibular pain and dysfunction: A unifying concept. *J Oral Maxillofac Surg* 47: 249-256 1989.
- 28) Livne, E., Oliver, C., et al.: Further characterization of the chondroprogenitor zone in mandibular condyles of suckling mice. An ultrastructural and cytochemical study. *Acta Anat* 129: 231-237 1987.
- 29) Luder, H.U., Leblond, C.P., et al.: Cellular stages in cartilage formation as revealed by morphometry, radioautography and type II collagen immunostaining of the mandibular condyle from weaning rats. *Am J Anat* 182: 197-214 1988.
- 30) 水野有功, 佐分利紀彰, 他: ラット下顎頭関節軟骨線維層の微細構造と細胞分裂能に関する実験的研究. *日口外誌* 34: 1874-1880 1988.
- 31) Mizuno, I., Saburi, N., et al.: The fine structure of the fibrous zone of articular cartilage in the rat mandibular condyle. *Jpn J Oral Biol* 32: 69-79 1990.
- 32) 石川梧朗監修: 口腔病理学Ⅱ. 改訂版, 永末書店, 京都, 1982, 348-350頁.
- 33) Stegenga, B., de Bont, L.G.M., et al.: Tissue responses to degenerative changes in the temporomandibular joint: A review. *J Oral Maxillofac Surg* 49: 1079-1088 1991.
-