ヒト声帯粘膜固有層の年齢的発達 —5歳以降の変化について—

山下 耕太郎¹⁾・石井 甲介²⁾・廣瀬 肇³⁾・佃 守⁴⁾

Development of the Lamina Propria of Human Vocal Fold in Childhood —Changes after 5 Years of Age—

Kotaro Yamashita¹⁾, Kosuke Ishii²⁾, Hajime Hirose³⁾
and Mamoru Tsukuda⁴⁾

The lamina propria of the human vocal fold consists of superficial, intermediate, and deep layers. This stratified structure is thought to be beneficial to phonation. Each layer has a different physiological property because of different alignment and distribution of collagen and elastic fibers.

Concerning collagen and elastic fibers, developmental changes in the vocal fold structure are studied in children. Vocal folds are obtained at autopsy from 11 subjects, ranging from 5 to 22 years of age.

Prior to the observation of collagen fibers, elastic fibers and cells are digested with 10% sodium hydroxide treatment, while for the observation of elastic fibers, collagen fibers and cells are digested with 80% formic acid treatment. Specimens are then examined under a scanning electron microscope.

In children of age 5, longitudinal collagen and elastic fibers are noted in all the layers of the lamina propria of the vocal fold. The distribution of fibers is uniform, irrespective of the depth.

In children of age 12, thin coiled fibers are noted in the superficial layer, while thin irregular fibers are detected in the deep layer.

In children of age 17, the differentiation of the superficial and deep layers is more evident.

This change is probably related to the complicated modality of phonation.

In male subjects after adolescence, the curvature of curly collagen fibers has decreased and the diameter of fibers has increased. In males, the development of the vocal fold is thought to be completed after these changes.

Key words: ヒト声帯, 年齢的発達, 粘膜固有層, 膠原線維, 弾性線維

1. 緒 言

ヒト声帯の構造に関しては、物理的特性と調節機構の異なるいくつかの層よりなるという層構造の概念が確立されている^{1, 2)}。層構造が小児期に発達する過程は、光学顕微鏡により既に観察されている³⁾。しかし、層構造の物理的特性を決定すると考えられる粘膜固有層の膠原線維と弾性線維の、微細な形態の年齢変化・発達の詳細は十分には解明されていない。

小児期の声帯微細構造の発達を知ることは、完成型としての成人声帯構造の解明の一助になるとともに、小児期特有の声帯疾患の病態の解明にも役立つと考えられる。

そこで、われわれは、小児声帯粘膜固有層の膠原線維と弾性線維の走行・分布を、水酸化ナトリウムおよび蟻酸による消化法をもちいて、走査型電子顕微鏡下に観察した。今回は5歳以降から成人に至るまでの変化について報告する。

1) 横浜船員保険病院耳鼻咽喉科

2) 埼玉医科大学総合医療センター耳鼻咽喉科

3) 北里大学医療衛生学部言語聴覚療法学

4) 横浜国立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

1) Department of Otorhinolaryngology, Yokohama Senin Hoken Hospital, Yokohama

2) Department of Otorhinolaryngology, Saitama Medical Center, Saitama Medical School, Kawagoe

3) Department of Speech Pathology, School of Allied Health Science, Kitasato University, Sagami-hara

4) Department of Otorhinolaryngology, School of Medicine, Yokohama City University, Yokohama

2. 研究材料および方法

(1) 研究材料

研究材料は、神奈川県立こども医療センターの剖検症例のうち、5歳より22歳までの計11例より得られた声帯を用いた。性、年齢、死因を表1に示す。症例は身長・体重が正常で、外表奇形・喉頭疾患を伴わないものとした。また、染色体異常例、脳性麻痺例、精神発達遅滞例は除外し、年齢相応の言語発達を獲得していたと思われる症例を対象とした。さらに対照として、60歳代から80歳代の成人声帯10例もあわせて観察した。

(2) 方法

10%ホルマリン内に保存されていた喉頭を、後面披裂部間に、正中縦切開を加え横切開し、喉頭室から声門下のレベルで、甲状軟骨・声帯・披裂軟骨を一塊にして切り出した。さらに声帯を、長軸方向および横軸方向に切断した。

膠原線維の観察のためには、10%水酸化ナトリウムによる消化法を用いた。すなわち、2%グルタルアルデヒドで前固定後、37℃、10%水酸化ナトリウムにて5～7日間処理し、細胞成分と弾性線維を消化した。

弾性線維の観察のためには、90%蟻酸による消化法を用いた。すなわち、3%パラホルムアルデヒドで前固定後、45℃、90%蟻酸にて1～3日間処理し、細胞成分と膠原線維を消化した。

消化処理の時間は、検体の大きさにより増減し、消化が不十分にならぬよう、また観察対象物の消化が進まないよう留意した。

さらに標本を1%タンニン酸処理後1%オスミウム酸にて後固定し、洗浄、脱水後、臨界点乾燥、白金の蒸着を行った。

このようにして完成した標本を、走査型電子顕微鏡（日立S-4100）にて観察した。

一部の標本は、パラフィン包埋し、切片にelastica Van-Gieson染色を行い、光学顕微鏡下に観察した。

表1 研究材料

症例	年 齢	性	死 因
1	5歳2カ月	女	拡張性心筋症
2	5歳9カ月	男	腹部横紋筋肉腫
3	5歳9カ月	男	低酸素性脳症
4	12歳5カ月	女	脳変性症
5	12歳6カ月	女	白血病
6	12歳8カ月	男	再成不良性貧血
7	15歳2カ月	男	肝硬変
8	15歳8カ月	男	肝腫瘍
9	16歳11カ月	男	間質性肺炎
10	17歳11カ月	男	心奇形術後突然死
11	22歳	女	汎腹膜炎

3. 結 果

5歳児では、膠原線維は、粘膜固有層の全層にわたり、太いカール状線維束の長軸方向の走行がみられ、浅層・深層は区別できなかった（図1、2）。

図1 5歳 膠原線維 弱拡大 ×100
浅部から深部まで一様な線維が走行する。

図2 5歳 膠原線維 強拡大 ×500
カール状の線維束が長軸方向に走行する。

図3 5歳 弾性線維 弱拡大 ×100
深さにかかわらず一様な線維が走行する。

図4 5歳 弾性線維 強拡大 ×500
直線状線維束に細いコイル状線維がからみつく。

図5 12歳 膠原線維 浅層・中間層 ×500
浅層はやや疎で、細いコイル状線維が増えている。

図6 12歳 膠原線維 深層 ×500
やや太い線維が不規則・無方向性に走行する。

図7 12歳 弾性線維 浅層 ×500
細いコイル状線維が出現する。

図8 12歳 弾性線維 中間層 ×500
直線状線維が長軸方向に走行し、分枝が増える。

図9 12歳 弾性線維 深層 ×500
細いコイル状線維を認める。

図10 17歳男性 膠原線維 浅層 ×500
細いコイル状線維が小塊状をなす。

図11 17歳男性 膠原線維 中間層 ×500
線維束は、急激に太さを増し、カール状彎曲が小さくなる。

図12 17歳男性 膠原線維 深層 ×500
やや太い線維が不規則・無方向性に走行する。

図13 17歳男性 弾性線維 浅層・中間層 ×500
浅層には細いコイル状線維を認める。

5歳児では、弾性線維は、長軸方向に、ほぼ直線状に走る太い線維束に、細いコイル状の線維が無方向性からみついていた。深さにかかわらず、ほぼ同様な線維が走行しており、浅層・深層は区別できなかった(図3, 4)。

このように5歳では、粘膜固有層の全層にわたり、一様な線維の走行・分布を示した。

12歳児では、膠原線維は、浅い部分に細いコイル状線維が増加していた(図5)。また深い部分には、やや太い線維が不規則に走行していた(図6)。中間層の太い線維束は、長軸方向にカール状に走行していた(図5)。

12歳児では、弾性線維は、浅い部分と深い部分で、細いコイル状線維が増え、中間層の線維の性状との差が認められるようになっていた(図7, 9)。中間層の長軸方向の線維束は、その太さを増し、また分枝を認めるようになっていた(図8)。

このように12歳では、浅層と深層の分化が出現していた。

17歳男性では、膠原線維は、浅層は細いコイル状線維からなり、成人にみられる小さな塊状の構造を認めた(図10)。

中間層では、12歳に比べて、長軸方向の太い線維束が、

その太さを増し、カール状走行が、その彎曲が小さくなり、やや直線状の走行に変化していた(図11)。

なお後述するように、女性ではこの中間層の変化は見られなかった。

深層は、やや太い線維が、不規則・無方向性に分布し、中間層から分化していた(図12)。

17歳男性の弾性線維では、細いコイル状線維からなる浅層が分化していた(図13)。

中間層の長軸方向の線維束は、その太さをさらに増し、分枝がより目立つようになっていた(図13)。

深層も、浅層と同様に細いコイル状線維からなるが、成人と比べると、まだ長軸方向の走行が多かった(図14)。

このように17歳では、浅層・深層の分化は明瞭となる。また中間層の線維も成熟していた。

図15に、22歳女性の中間層膠原線維を示した。この線維は、女性では、12歳と22歳で、明らかな差はなく、カール状走行を示した。一方男性では、17歳以降では、カールの彎曲が小さくなり、直線状に近い走行となり、また線維束の太さは急激に増していた(図11)。このように、思春期

図14 17歳男性 弾性線維 深層 ×500
細いコイル状線維を認める。

図15 22歳女性 膠原線維 中間層 ×500
17歳男性（図12）と比較すると、線維束は細く、依然カール状に走行する。

以降、中間層の膠原線維の形態に、男女間で差が観察された。

中間層弾性線維も女性より男性の方がやや太くなる傾向を認めた。

なお、浅層、深層には、思春期以降の男女間で、著明な差はなかった。

4. 考 察

声帯は粘膜上皮、粘膜固有層、および声帯筋の三部分から構成される。このうち固有層は、主に弾性線維、膠原線維および細胞成分と細胞間質質からなる。平野^{1, 2)}は、声帯粘膜固有層の中で、線維は均等に分布するわけではなく、分布の差によって固有層は浅層、中間層および深層に区別され、それぞれの層は物理的特性と調節機能が異なるという層構造の概念を提唱した。各層の線維の微細構造について、透過型電子顕微鏡による観察の報告⁴⁾、走査型電子顕微鏡による観察の報告⁵⁾がある。しかし弾性線維、膠原線維、細胞成分は混在するため、各線維の詳細な分布、走行は把握しにくい。石井⁶⁾は、膠原線維の観察には、水酸化ナトリウムにより弾性線維と細胞成分を消化し⁷⁻⁹⁾、弾性線維の観察には、蟻酸により膠原線維と細胞成分を消化する方法^{7, 10)}を導入し、各線維のより詳細な微細構造を報告した。膠原線維は組織の形態保持、弾性線維は与えられた力に対する復元力というそれぞれ違った機能を持ち、それぞれの微細構造を別々に把握することは、層構造の声帯振動における意義を解明するのに有用な方法と考える。

声帯の微細構造の年齢的变化については、遠藤¹¹⁾、栗田³⁾、平野¹²⁾の光学顕微鏡による観察の報告がある。遠藤は、年齢とともに細胞成分が減少し、弾性線維が増加し、思春期には靱帯部の浮腫状変化、線維の粗鬆化がみられたと述べている。また栗田は、年齢とともに弾性線維が、固有層中間部に、また膠原線維が深部に増え、16歳頃には層構造ができはじめ、20歳頃に層形成は完成すると述べている。その後、小児期の声帯に関し、電子顕微鏡による追試の報

告は見当たらない。これは小児喉頭剖検標本が非常に入手し難いことにもよると思われる。今回、幅広い年齢層にわたる多数の小児喉頭剖検標本を観察する機会を得たので、水酸化ナトリウムおよび蟻酸による消化法を導入し、走査型電子顕微鏡による観察を行った。以下得られた所見について、若干の考察を加えたい。

(1) 浅層と深層の分化

5歳では、声帯粘膜固有層の全層にわたり、一様な線維が走行するが、12歳では、浅層ならびに深層の、中間層からの分化が始まり、17歳では、成人の層構造の完成に近づいていた。

石井⁶⁾は、成人声帯粘膜固有層の膠原線維は声帯の層構造を維持する働きをもち、弾性線維は前筋・内筋の収縮・弛緩あるいは声帯振動による変形からの敏速な回復に働くのではないかと推察している。

今回の検討で、10歳代に、浅層・深層の分化が進むことが確認されたが、これは次のような変化と考えられる。

浅層内に細いコイル状弾性線維の出現することにより、浅層は粘膜波動の生ずる場として、あらゆる方向に動きやすい柔軟な構造をもつようになる。また浅層内に細い膠原線維が増え、さらにそれが成人にみられる小塊状分布をとるようになることによって、浅層は粘膜波動の際、層内の構造を保持し、安定した粘膜波動の維持に役立つように変化していると考えられる。このような変化は、発声機能の発達、特に粘膜波動の多様化に対応しているとも考えられる。

一方、深層においても、コイル状弾性線維が増えることによって、深層は内筋の収縮・弛緩による声帯の厚みの変化に対応して伸び縮みしやすくなると考えられる。また深層内に無方向性の膠原線維が増えることにより、深層は内筋の変形が粘膜および粘膜固有層におよびにくいように変化し、声帯の基本構造を維持しやすくなっているのではないかと考えられる。この深層の分化も発声機能の発達、特に喉頭調節の複雑化に対応していると思われる。

(2) 中間層弾性線維の変化

中間層の弾性線維は年齢とともにその太さ、分枝を増していた。石井⁶⁾によれば、中間層では弾性線維は長軸方向に走行し、前筋・内筋の収縮による声帯の緊張を、弛緩時速やかに元の状態に復元させる働きをもつと考えられている。今回の観察結果のように、弾性線維が年齢とともにその太さ、分枝を増すのは、その弾力性を高め、敏速かつ幅の広い喉頭調節に対応する変化と考えられる。

(3) 中間層膠原線維の変化

中間層の膠原線維は弾性線維に伴走し、長軸方向に働く強い力に対応すると考えられている⁶⁾。

中間層の膠原線維は、思春期以降、男性においてのみ、カール状走行の弯曲が小さくなり直線状に近い走行に変化し、線維束の太さが急激に増加していた。

この変化と変声期との関係は不明である。廣瀬¹³⁾は、声帯の長さと言の高さの関係を簡単な式で表すと、

$$n = \frac{1}{2l} \sqrt{\frac{k \cdot p}{q \cdot s}}$$

$$\left(\begin{array}{l} n \text{ は振動数, } l \text{ は声帯長, } q \text{ は声帯幅} \\ s \text{ は声帯の単位長さ・単位幅当たりの質量} \\ p \text{ は声帯の緊張度, } k \text{ は定数} \end{array} \right)$$

となり、変声時には主に声帯長が増加することにより振動数が減少すると述べている。

カール状走行の弯曲の減少は、思春期の急激な声帯長の伸長に伴う受動的な変化とも考えられる。しかし、変声期の声帯基本振動数の劇的な変化は、声帯長の伸長だけでは説明しがたく^{3, 12)}、粘膜固有層の変化、例えば今回みられた膠原線維の走行・太さの変化が、声帯の緊張度や密度に影響を与えないかについても、今後検討を要すると思われた。

5. ま と め

(1) 5歳では、声帯粘膜固有層の全層にわたり、長軸方向に走行するカール状膠原線維および直線状弾性線維を認め、深さにかかわらず様な線維が走行し浅層・深層の区別はつかなかった。

(2) 12歳では、浅層に細いコイル状の膠原線維と弾性線維が、深層にやや太い不規則に走行する膠原線維と細いコイル状弾性線維が出現し、中間層を走行する線維の性状との違いが認められるようになっていた。

(3) 17歳では、浅層、深層の分化がさらに進み、成人の層構造の完成に近づいていた。

(4) 中間層の弾性線維は年齢とともに太さ、分枝を増していた。

(5) 中間層の膠原線維は、思春期以降男性においてのみ、カールの弯曲が小さくなり、太さが増大していた。

御高配をいただいた神奈川県立こども医療センター病理科部長佐々木佳郎博士、同耳鼻咽喉科部長小河原昇博士、そして日頃より音声・喉頭科学の御指導を賜り、御助言を戴いた横浜船員保険病院院長澤島政行東大名誉教授、横浜市立大学耳鼻咽喉科大石公直助教授に深謝いたします。

本論文の要旨は、第8回日本喉頭科学会(旭川)において発表した。

文 献

- 1) 平野 実ほか：振動体としての声帯の構造。日耳鼻 76：1341～1348, 1973.
- 2) 平野 実：音声外科の基礎と臨床。耳鼻 21：239～440, 1975.
- 3) 栗田茂二郎：人声帯の層構造一形態学的研究一。耳鼻 26：973～997, 1980.
- 4) 平野 実ほか：人声帯粘膜の電子顕微鏡による観察。日耳鼻 77：650～656, 1974.
- 5) 粕谷尚男：正常および病的喉頭粘膜の走査型電子顕微鏡による研究。耳鼻 22：299～330, 1976.
- 6) 石井甲介：声帯粘膜固有層の微細構造。喉頭 7：87～91, 1995.
- 7) 牛木辰男：結合組織成分の走査電顕観察法。細胞 22：10～14, 1990.
- 8) Ohtani O：Three-dimensional organization of the connective tissue fibers of the human pancreas. A scanning electron microscopic study of NaOH treated tissue. Arch Histol Jpn 50：557～566, 1987.
- 9) Ushiki T & Ide C：Three dimensional organization of the collagen fibrils in the rat sciatic nerve as revealed by transmission and scanning electron microscope. Cell Tissue Res 260：175～184, 1990.
- 10) Wasano K & Yamamoto T：Tridimensional architecture of elastic tissue in the rat aorta and femoral artery-A scanning electron microscope study. J Electron Microsc 32：33～44, 1983.
- 11) 遠藤巨夫：喉頭の組織学的研究一特に年齢による組織像の変化について一。日気食会報 23：322～344, 1972.
- 12) 平野 実ほか：声帯の成長、発達と老化一とくに声帯粘膜の変化について一。耳鼻臨床 74：1791～1802, 1981.
- 13) 廣瀬 肇：声の年齢変化。声の検査法基礎編(第2版)(日本音声言語医学会編)：183～202, 医歯薬出版, 東京, 1994.

別刷請求先 〒240 横浜市保土ヶ谷区釜台137

横浜船員保険病院耳鼻咽喉科 山下耕太郎

稿を終えるにあたり、貴重な小児喉頭剖検標本の提供に