胸椎黄色靱帯骨化に関する電顕的観察

山口大学整形外科

川 上 不二夫・河 合 伸 也
丘 茂 樹・田 中 浩
石 田 洋一郎

Scanning and Transmission Microscopic Observation of Ossification of Thoracic Ligamentum Flavum

by

Fujio Kawakami, Shinya Kawai, Shigeki Oka,
Hiroshi Tanaka and Yoichiro Ishida

Department of Orthopaedic Surgery, Yamaguchi
University School of Medicine, Ube.

We observed thoracic ligamentum flavums which had been surgically removed, by use of a scanning electron microscope and transmission electron microscope. They were from 8 cases of ossification of thoracic ligamentum flavums and 9 cases of spinal canal stenosis or spinal tumors with no other ossification in roentgenograms for the control. These specimens were further observed by Toluidine blue staining and Van Gieson staining. In the case of ossification of the thoracic ligamentum flavum, close to the site of ossification, various degenerative changes were observed such as wavy pattern of elastic fibres, increase of collagen fibres, irregular patterns, and appearance of oval and rosen-shaped granular particles. Nearer the site of ossification, appearance of chondrocyte and calcification of matrix were observed. At the site of ossification, Haversian systems with osteogenicity were observed. These findings could show that ossification of thoracic ligamentum flavum may be the result of a course of endochondral ossification. We discuss more about the course of ossification from the viewpoint of degeneration of ligaments.

はじめに

靱帯骨化の原因につき、生力学的機序、内分泌学的因子、遺伝的素因等の観点から解明の努力がすすめられている。当教室では、これまで走査電子顕微鏡を利用することにより、その三次元的形態から骨化過程の解明をすすめてきた。今回、走査電顕に加え、透過電顕による黄色靱帯骨化部及びその近傍の観察を加え、骨化過程の検討を行った。

対象及び方法

対象は、胸椎黄色靱帯骨化症8例、対照として骨化を有しない脊柱管狭窄症や脊髄腫瘍9例につき手術時採取された黄色靱帯を脱灰グルタルアルデヒド固定

・アルコール脱水後走査型電顕観察用、透過型電顕観察用にわけ前者は臨界点乾燥、金蒸着を行い、後者はエポキシ樹脂置換、加熱硬化処理後、ミクロトームで得られた切片に酢酸ウラン・クエン酸鉛により二重染色を施し、それぞれ観察した。また、光顕用としてToluidine blue 染色、Van Gieson 染色し観察した。

結 果

これまでの丘¹⁾の走査型電顕による観察では、対照群であるレ線上骨化を有しない黄色靱帯では、椎弓間部においては、弾力線維は、一般に規則正しく縦走し、その太さは3 μ 前後である。一部に樹枝状に枝分かれし、隣接線維と連絡する microfibril が存在す

図1 変性した弾力線維と紡錘形、鎖状物質の出現

図2 A: 骨化部及び骨化近傍(Toluidine blue 染色)

B: 軟骨細胞の出現 (Van Gieson 染色)

図3 A: 膠原線維の波状走行 (×3700)

B: 骨細胞 (×7000)

る¹⁾。椎弓付着部では、弾力線維は、骨付着部に近づくにつれ、各線維間の境界が不明瞭となり、線維束を形成しながら、層状構造を示す骨コラーゲンにある一定の角度で侵入している。付着部に沿って毛細血管が認められる。胸椎黄色靱帯骨化症においては、骨化部に近づくにつれ、癒合傾向にある弾力線維の線維束は大きな波状を呈し、枝分かれした microfibril の網目状構造などの変性所見を認める。各線維間には紡錘形・鎖状の物質の出現を多数認める (図1)。

胸椎黄色靱帯骨化症の骨化部及びその近傍の Toluidine blue 染色では、骨化近傍に近づくにつれ、弾力線維の蛇行が著明となり、弾力線維の数は減少し、しだいに均質な間質成分が増加している。骨化近傍では、細胞成分は、明瞭ではないが、Toluidine blue に均質に濃染する石灰化部分を認め、軟骨細胞による基質の石灰化と考えられた。さらに近傍では、Haversian system へ移行する骨化部があり、骨芽細胞の存在をうかがわせる (図2 A)。図2 Bは、靱帯付着部における Van Gieson 染色であるが、移行部の弾力線維は、枝分かれ、蛇行し、淡染した基質内に大きな核を中心とする円形の軟骨細胞が認められる。

骨化近傍の透過電顕によると、Toluidine blue 染色にて均質にみられる間質では、膠原線維が縦横に入り乱れ、波状を呈して走行している。canaliculi は、明瞭でないが、大きな核を有する紡錘形の骨細胞を認めた (図3 A, B)。

考 察

靱帯付着部及び骨化近傍部において、軟骨細胞の出現、周辺基質石灰化、骨細胞を経る Haversian system の形成を認め、黄色靱帯骨化は内軟骨性骨化と推測できる。1977年酒匂²⁾らは骨標本による検討から、黄色靱帯骨化は、20才以上に生じ、年齢と共に増加する傾向があることより変性を基盤とした生理現象とも考えられるとした。また、1970年 Scapinelli は、組織に加わる牽引力、圧迫力、回旋力など局所的力学的因子の変化により細胞の metaplasia を生ずると説いており、黄色靱帯骨化の力学的原因について、その骨化近傍は興味深い観察部位と思われる。今回の骨化移行部の観察において、骨化過程における初期像として、膠原線維の増加、弾力線維及び膠原線維の変性が推測された。変性部に動員される未分化間葉系細胞が

軟骨細胞へ分化する過程が必要と思われ、今回、透過型電顕を利用したが、線維芽細胞、軟骨芽細胞の骨化近傍における同定は困難であったため、軟骨細胞への分化は証明され得なかった。

結 語

1. 胸椎黄色靱帯骨化症8例、対照として靱帯骨化を有しない脊柱管狭窄症や脊髄腫瘍9例につき、手術時採取された黄色靱帯を走査型及び透過型電顕を用い観察した。
2. 骨化近傍に軟骨細胞を認め、黄色靱帯骨化症は内軟骨性骨化であると推測された。
3. 透過型電顕による骨化近傍の観察を加え、骨化過程の検討を行った。

参 考 文 献

- 1) Oka, S.: Scanning electron microscopic observation of ossification and calcification the ligamentum flavum. Arch. Jpn. Chir., 51: 671-694, 1982.
- 2) 酒匂 崇・他: 黄色靱帯骨化の病態. 臨整外, 12: 368-376, 1977.
- 3) Scapinelli, R.: Observations on the mechanically induced differentiation of cartilage from fibrous connective tissue, J. Pathol. 101: 85-88, 1970.

質 問

九州大学 杉岡 洋一

走査電顕、透過電顕の外見から内軟骨々化が推定されたとのことであるが、骨化形態の観察にはむしろ光顕レベルの観察で十分で、むしろ広い範囲の所見が得られると思う。

軟骨基質の石灰化の状態に関して軟骨細胞の変性所見、柱状配列などはどのようなであったか。

解 答

山口大学 川上不二夫

光顕レベルで軟骨細胞の出現を認めるならば、内軟骨性骨化であると断言することは容易であるが、靱帯変性より骨化に至るまでの各細胞、間質の変化をとらえたくて透過電顕による観察を加えた。

石灰化物質の出現については、同定していない。

質 問

鹿児島大学 酒匂 崇

骨化機序の原因について演者は何を考えているか。

解 答

山口大学 川上不二夫

骨化機序の原因は、慢性牽引による変性であると考えている。その他の factor については、現在のところ解答できない。