大腿骨頭の成長軟骨帯に侵入する微小血管構造の 成長にともなう変化

長崎大学整形外科

平 野 徹・神 代 敏 之

Mohammad E.Rabbi・小 田 純 爾

田 口 勝 規・岩 崎 勝 郎

Terminal Microvasculature Invading Growth Plate During Growth

by

Toru Hirano, Toshiyuki Kumashiro, Mohammad E.Rabbi,
Junji Oda, Katsuki Taguchi and Katsuro Iwasaki

Department of Orthopaedic Surgery,
Nagasaki University School of Medicine

We investigated structural changes in blood vessels invading the growth plate during growth. Rat femoral heads comprising vascular casts were observed using an optical microscope and a scanning electron microscope. Narrowing of the growth plate thickness was accompanied histologically with a decrease in bone trabeculae in the primary spongiosa after the epiphyseal nucleus appeared in the femoral heads. Tips of the vascular casts terminated in the chondrocyte cavities of the deepest part of the hypertrophic zone. Scanning electron microscope showed that blood vessels invading the growth plate had long sinus structures with bulbous ends. The density of the blood vessel invasion declined as the rats grew older, and they transformed into shorter sinus structures with rod-shaped ends.

The present study suggests a close relationship between the structure of blood vessels invading the growth plate and the degree of endochondral ossification.

Key words : Femoral heads (大腿骨頭), Growth plate (成長軟骨帯), Microvasculature (微小血管構造), Scanning electron microscope (走査型電子顕微鏡)

はじめに

大腿骨頭の成長軟骨帯は、大腿骨近位部の形成に深く関与しており、その異常によってさまざまな骨頭変形や頸部短縮などの成長障害をきたす¹⁾³⁾。成長軟骨帯における内軟骨性骨化には、骨幹端から侵入する血管が重要な役割を演じている⁵⁾⁸⁾。この血管は血流が鬱滞しやすく、細菌感染の場となりやすい⁷⁾。特に、乳児の大腿骨近位部の細菌感染は、容易に股関節へ波及して化膿性股関節炎を起こす⁴⁾⁷⁾。先に述べたような、成長期に起きるさまざまな股関節部疾患の病態を

理解するうえで、この血管の立体的微細構造を解明することは必要不可欠である。本研究は、ラット大腿骨頭の成長軟骨帯に侵入する血管が、成長とともにどのように変化するか、光顕および走査電顕を用いて検索する目的で行った。

材料および方法

実験には、生後5, 7, 9および15週齢の雄ウイスターラットから摘出した各週群それぞれ8個の大腿骨を使用した。

Vascular casts 標本作製のため、エーテル麻酔下

に腹部正中切開し、腹部大動脈と下静脈を展開した。腹部大動脈にポリエチレンカテーテルを挿入後、下大静脈を切開瀉血しながら腹部大動脈からヘパリン加生食水を用いて 100mmHg の圧で還流した。次に、メチルメタクリレート (Mercor ; 大日本インキ化学工業) を用手的に 100-120mmHg の圧で約 20ml 注入した。メチルメタクリレートが完全に硬化するのを待って、両側大腿骨を摘出した。摘出標本は 10%ホルマリンで固定し、塩酸・ギ酸混合液で徹底的に脱灰した。

光顕的に、vascular casts と成長軟骨帯との関係を観察するため、各週齢群 3 個ずつ大腿骨近位部のヘマトキシリン・ヨージン染色切片を作製した。

走査電顕的観察のため、各週齢群で残りの 5 個の脱灰標本を 80%エタノールで脱脂し、大腿骨頭外側半分を樹脂で紙に接着した。その後に骨端核の大部分を実体顕微鏡下に切除した。そして、20%水酸化ナトリウムで腐食後、水洗、乾燥した。標本は資料台に固定後、金を蒸着し、走査型電子顕微鏡 (JSM-35S, JEOL) で観察した。

結 果

光顕所見：成長軟骨帯は、生後 5, 7 週では、増殖細胞層が 7-10 個の軟骨細胞から、それに続く肥大細胞層が 3-5 の軟骨細胞からなっていた。それら軟骨細胞は、規則正しく柱状に配列していた。肥大細胞層の最深部では、vascular casts が軟骨細胞窩に充満していた。Primary spongiosa には、細長い骨梁が密集していた (図 1)。大腿骨頭には、生後 7 週以降、骨化核が形成された。成長軟骨帯は、生後 9 週以降になると、菲薄化傾向を示した。生後 15 週では、肥大細胞層の柱状配列は乱れ、軟骨細胞の数は著しく減少した。その最深部の vascular casts は、疎に存在しているだけとなった。Primary spongiosa の骨梁密度も減少し、短小化した。

走査電顕的観察所見：標本は樹脂で縁取られているため、大腿骨頭内における vascular casts の位置を正確に把握することができた (図 2)。成長軟骨帯へ侵入する血管の末梢部は、生後 5, 7 週では、それにほぼ直角に走行する sinus 構造を示し、分枝や吻合に乏しかった。それらの末端は、直径約 20 ミクロンの囊腫状となり数石状に密に配列していた (図 3)。表面は、ほとんどが顆粒状であった。その血管分布は、

図 1 生後 5 週ラットの大腿骨頭成長軟骨帯。

Vascular casts は、肥大細胞層最深部の軟骨細胞窩へ侵入している。HE 染色、 $\times 400$ 。

図 2 生後 5 週ラット大腿骨頭の走査電顕所見。

骨頭輪郭は樹脂で縁取られており、成長軟骨帯へ侵入する末端は数石状に配列している。

$\times 30$ 。

生後 9 週では疎となり、sinus 構造の長さは短縮傾向を示した。また、末梢の形態は囊腫状と幹状が入り混

図3 図2の侵入血管の拡大像。密に分布している sinus 構造の末端は、囊腫状を呈している。そこには樹脂が sinus から漏れたことを示す顆粒状構造がいたるところに認められる(矢印)。×400。

図4 生後15週ラットの成長軟骨帯への侵入血管。Sinus 構造の密度は減少し、それらの末端は短幹状になった。×400。

じていた。生後15週になると、成長軟骨帯への侵入血管の分布はさらに疎になり、互いに吻合し網目状構造が目立つようになった。末端の sinus 構造は、ほとんどが短幹状となった(図4)。

考 察

本研究は、大腿骨頭の骨化核が出現する以前では、厚い成長軟骨帯へ侵入する血管が密に分布し、sinus 構造を有していることを明らかにした。それらの末端は囊腫状に拡張し、そこには血管内皮細胞間に fenestration があることを裏付けるような顆粒状構造

が認められた⁶⁾。骨化核が出現した後、成長軟骨帯が菲薄化するにつれて、侵入血管の分布は疎になり血管吻合が増加しループを形成した。

成長軟骨帯へ侵入する血管の形態について、必ずしも一致した見解は得られていない。Trueta and Morgan⁸⁾ は、その末端はループ状になっていることを指摘した。それに対して、Stanka et al.⁵⁾ は、走査電顕でその微細構造を観察し、sinus 構造が存在することを報告している。本研究は、その血管形態が成長するにつれて後者から前者のそれへと変化することを示唆していた。

軟骨細胞窩を突き破りながら成長軟骨帯へ侵入するこの血管は、内軟骨性骨化に深く関与している⁵⁾⁸⁾。血管内皮細胞は、さまざまな angiogenetic factors に反応して増生する²⁾。それだけでなく、血管内皮細胞は、骨芽細胞へ分化する前駆細胞の源である可能性が指摘されている⁶⁾⁹⁾。本研究でも、加齢にともなって起きる成長軟骨帯の菲薄化、すなわち内軟骨性骨化の低下と侵入血管の密度の減少とは、密接に関係していることを示す所見が得られた。

成長軟骨帯に侵入する血管は、前述のように内軟骨性骨化に関与するだけでなく、細菌感染の場合でもある⁴⁾⁷⁾。本研究は、骨化核の形成される前の内軟骨性骨化が盛んな時期に成長軟骨帯に侵入する血管は、吻合の乏しい血流鬱滞の起きやすい sinus 構造が豊富であることを明らかにした。人間の乳児化膿性股関節炎は、ここの細菌感染巣が波及して起きると考えられている⁴⁾⁷⁾。この乳児化膿性股関節炎も大腿骨頭に骨端核が出現前に発生することが多く、この時期に成長軟骨帯へ侵入する血管は、ラットのそれに見られたような特徴的な形態を有しているのであろう。

ま と め

- ① ラット大腿骨頭の成長軟骨帯へ侵入する血管の成長にともなう変化を検討するため、vascular casts 標本作製し、光顕および走査電顕で観察した。
- ② 光顕的に、大腿骨頭骨端核の出現以降、成長軟骨帯は菲薄化した。そこへ侵入する血管内 vascular casts の最先端は、肥大細胞層深層の軟骨細胞窩まで至っていた。
- ③ 走査電顕的に、成長軟骨帯に侵入する血管は、囊腫状末端を有する sinus 構造を示した。成長とともに、これら血管分布は疎になった。血管吻合は増加

し, sinus 構造は短幹状になった。

- ④ 以上, 成長軟骨帯へ侵入する血管形態と内軟骨性骨化の程度との間には, 密接な関係のあることが示唆された。

参 考 文 献

- 1) Cooperman DR, Charles LM, Pathria M, Thompson GH : Post - mortem description of slipped capital femoral epiphysis. J Bone Joint Surg 74B : 595 - 599, 1992.
- 2) Folkman J, Klagsbrun M : Angiogenetic factors. Science 235 : 442-447, 1987.
- 3) Kalamchi A, MacEwen GD : Avascular necrosis following treatment of congenital dislocation of the hip. J Bone Joint Surg 62A : 876-888, 1980.
- 4) Obletz BE : Acute suppurative arthritis of the hip in the neonatal period. J Bone Joint Surg 42B : 23 - 30, 1960.
- 5) Stanka P, Bellack U, Lindner A : On the morphology of the terminal microvascular during endochondral ossification on rats. Bone Mineral 13 : 93-101, 1991.
- 6) Streeten EA, Brandi ML : Biology of bone endothelial cells. Bone Mineral 10 : 85-94, 1990.
- 7) Trueta J : The three types of acute haematogenous osteomyelitis. A clinical and vascular study. J Bone Joint Surg 41B : 671-680, 1959.
- 8) Trueta J, Morgan JD : The vascular contribution to osteogenesis. I : studies by the injection method. J Bone Joint Surg 42B : 97-109, 1960.
- 9) Trueta J : The role of the vessels in osteogenesis. J Bone Joint Surg 45B : 402-418, 1963.