

CARTILAGE

軟骨是結締組織的特化，所以結構仍可分為細胞與細胞外質（**extracellular matrix**）。基質包括 **fibers** 和 **ground substance**。

結構

1. 軟骨細胞位於腔隙(**lacunae**)中

腔隙中會有由多個子細胞形成的軟骨細胞群 (**isogenous group**)。

2. 軟骨細胞分泌細胞外質(**extracellular matrix**)。

包括：**a. fibers (collagen and elastic)**

b. ground substance 如 **glycosaminoglycans**，**proteoglycans**，**hyaluronic acid** & **glycoprotein** 等

軟骨特質

1. 從結締組織特化而來

2. 能夠忍受物理性的壓力而不扭曲→→支持和連結軟組織

3. 在胚胎期間有更多軟骨細胞（尤其在四肢骨）：軟骨會變硬骨

4. 無血管和神經（血管和神經位在 **perichondrium**）

5. 軟骨有三種，主要差異取決於基質的組成不同

Hyaline Cartilage (透明軟骨)

1. 分布最廣。如肋軟骨，關節，呼吸道

2. 纖維：主要是由 **type II collagen (collagen fibrils)** 組成。**Type II collagen** 在 LM 下不易分辨，一部份是因為組成是 **fibril**，另外就是其折射率（**refractive index**）與包裹在外的 **ground substance** 幾乎相同。

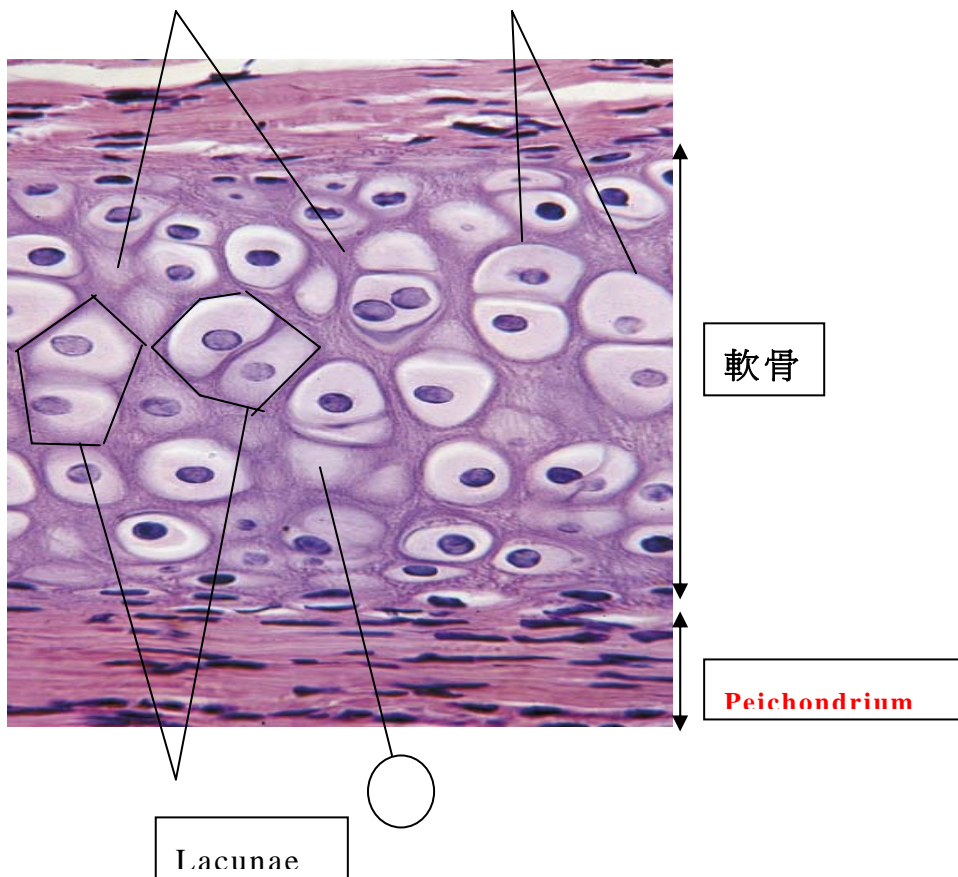
3. **chondroitin** 屬於 **glycosaminoglycan** 一類，與 **core protein** 組成 **proteoglycan**。

4. **perichondrium** 是緻密的結締組織（**dense connective tissue**），有血管神經可供給軟骨細胞營養。

- a. 在組織玻片製作過程中，軟骨細胞會萎縮
- b. territorial matrix 在 HE 染色下偏藍色，而 interterritorial 則比較淡藍。這是因為 territorial matrix 的 glycosaminoglycans 較多。
- c. perichondrium 內側靠軟骨部分細胞較多（扁平的 chondroblast 和 fibroblast），外側較遠部分則是纖維多。
- d. collagen 在 HE stain 下呈粉紅色（被 eosin 染色）

interterritorial matrix

territorial matrix



Elastic cartilage (彈性軟骨)

1. 分布：**auricle, walls of external acoustic meatus, auditory tube, epiglottis, etc**
2. 一般 **HE** 染色下，**elastic fiber** 通常看不到。只有在少數地方，如彈性軟骨中，會聚集成粗的構造，才能看到。

Fibrocartilage (纖維軟骨)

1. 分布：**intervertebral disks** 椎間盤, **symphysis pubis** 恥骨聯合 & **attachments of certain ligaments to cartilaginous surfaces of bones**
2. 簡單的說，**fibrocartilage** 就是 **chondrocyte** 和其 **matrix** 分散在結締組織所形成的構造。所以在 **LM** 下不易找到。而結締組織內的纖維是屬於 **type I collagen (collagen fibers)**

BONE

骨頭的構成

1. **Calcified(鈣化)intercellular material** 使得養分不易輸送，主要依賴 **canaliculi (骨小管)** 的 **gap junction**
2. **3 種骨細胞 osteocyte, osteoblast, osteoclast**
3. 還有內外的兩層膜 **periosteum (圍骨膜)** , **endosteum (內骨膜)** , 在軟骨缺此構造), 表面有 **osteoprogenitor cells**

軟骨，硬骨比較

硬骨	periosteum	osteocyte	osteoblast	osteoclast
軟骨	perichondrium	chondrocyte	chondroblast	chondroclast

1. **Cartilage matrix** :

Main type II collagen fiber，其他有 proteoglycans, glycoprotein, chondronectin..

2. Bone matrix :

a. Organic matrix : type I collagen

b. Inorganic matrix : calcium & phosphorus 形成 hydroxyapatites or mineral salts

3. 硬骨是非常特別的結締組織，其纖維構成硬骨組織的實體。另一項的重要特徵是，硬骨的纖維以特殊的走向排列，並加上鈣化的基質，來加強骨頭硬度。

Microscopic Structure of Bone

1. Haversian canal 內走神經和血管，平行長骨長軸，canal 內圍表面有 endosteum
2. Volkman's canal 與長骨長軸垂直，連結 central canal，周圍無同心 lamella環繞。
3. lamellae 中的 collagen fiber 同一層走向相同，相鄰內外兩層走向交錯
4. endosteum的分佈在 compact bone最內層，lining of Haversian canal，sponge bone的 trabeculae上

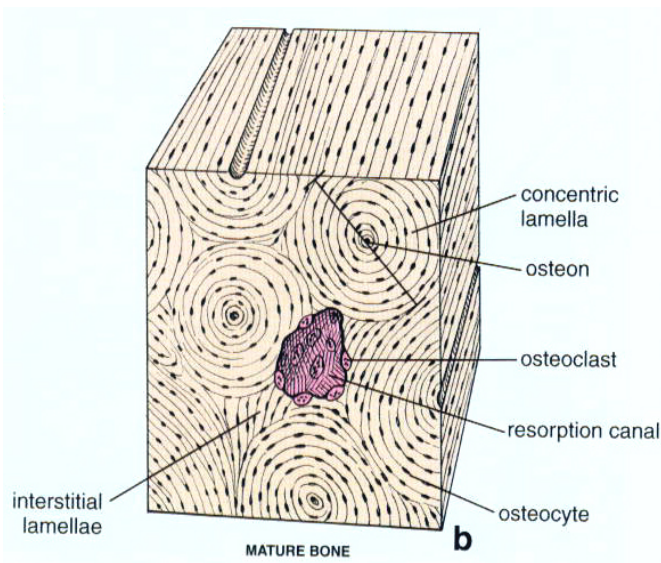
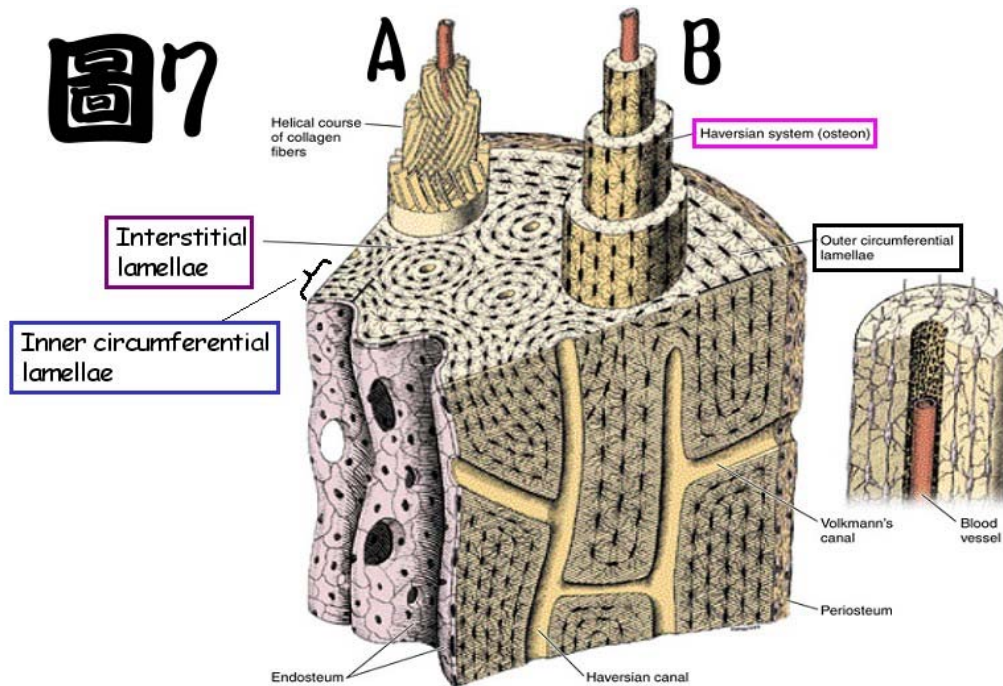


圖 7



Matrix

1. **Ground section**：研磨至薄片，未染色，看不到有機質
2. **Decalcified section**：脫鈣法，例如泡 **EDTA** 再用 **HE** 染色
3. 脫鈣法時，基質會染成紅色，因為它成份有 **collagen fiber**

Bone Cells

1. Osteoprogenitor cell

- a. 由 **mesenchymal cells** 分化而來
- b. 可以在 **periosteum** 和 **endosteum** 的表面發現，也叫做 **periosteal cells** 或 **endosteal cells**，具有分裂與增殖的能力。
- c. 是處於休眠狀態的細胞。觀察時，細胞淡染扁平，核呈微長或橢圓。受到刺激時（如骨折），會轉成活躍的 **osteoblast**

2. Osteoblast

- a. **Osteoblast** 是由 **osteoprogenitor cell** 分化來的，主要分泌硬骨基質（即負責基質的鈣化）。具有很多 **rER**，是 **basophilic**，

所以 HE 下染成 blue

- b. 剛分泌出來的基質尚未鈣化時，稱為 **osteoid**（淡染）。
- c. **osteoblast** 會有很細的細胞質凸起，以 **gap junction** 與隔壁的 **osteoblast** 或是 **osteocyte** 連通。到後來，這些通道會被鈣化的硬骨基質包裹，形成 **canaliculi**。
- d. 當鈣化的基質包裹 **osteoblast** 時，**osteoblast** 就會轉型為 **osteocyte**

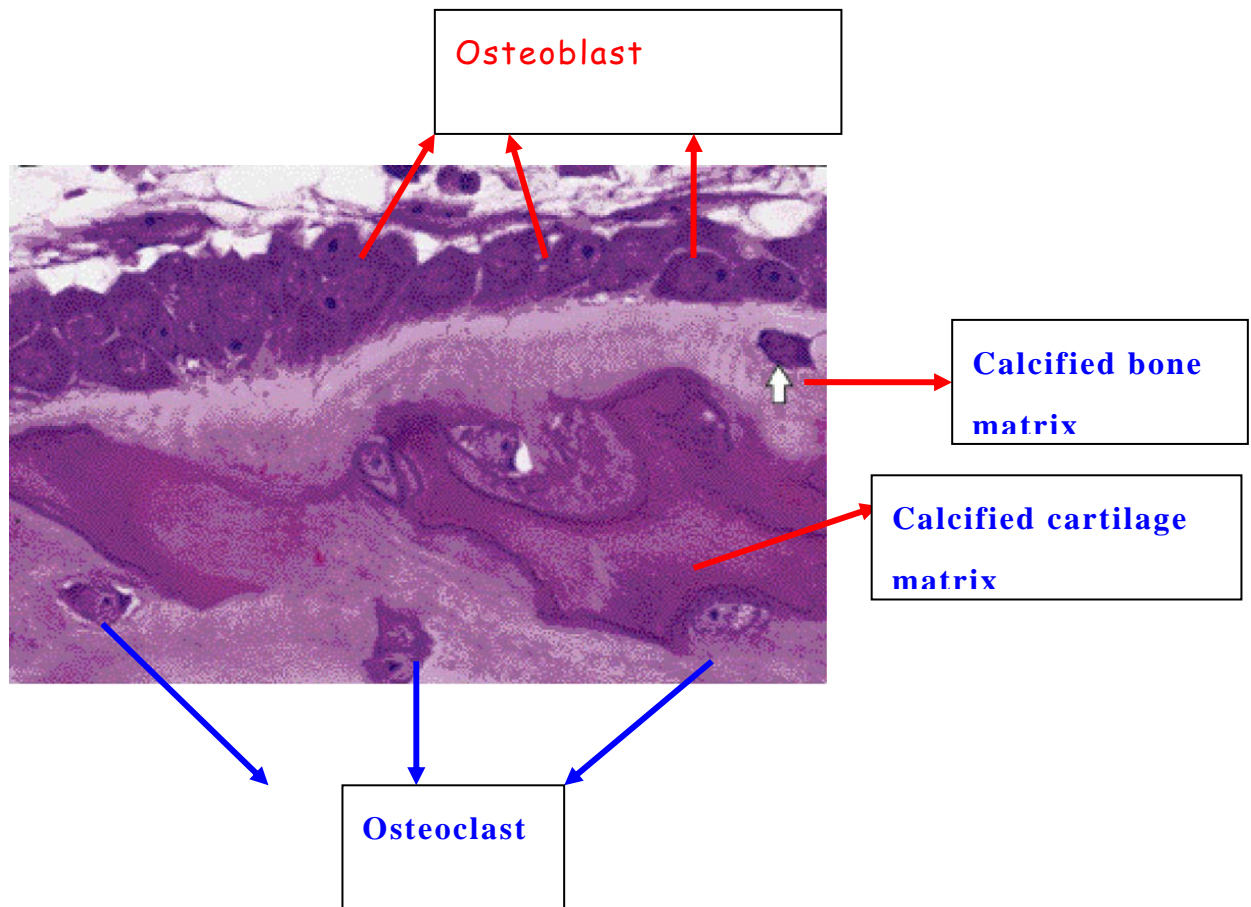
附註：一般而言，會分泌物質(蛋白質)的細胞，如 **osteoblast**，**chondroblast**，**fibroblast** 等等，都會被 HE 染呈藍色。

3. Osteocyte

- a. **osteocyte** 比較扁平，長軸與 **lamella** 方向平行，環繞中心
- b. **osteocyte** 的 **process** 被 **bone matrix** 包住形成的通道為 **canaliculi**（骨小管）
- c. 養分即由 **central canal** 擴散，再由 **process** 的 **gap junction** 傳給其他 **osteocyte**
- d. **osteocyte** 也會產生 **bone matrix**，但很少，僅維持周圍的新陳代謝

4. Osteoclast

- a. **osteoclast** 細胞膜形成凹陷，有 **ruffled border**(EM 才看得到)。
- b. **ruffled border** 附近有 **clear zone** 包圍封閉，以增加 H^+ 的濃度。
- c. 內有多種 **enzyme**，並在 **ruffled border** 處把質子打出去進行蝕骨作用，所以 HE 染色下特別紅。
- d. **Osteoclast** 的三個特徵：多核，細胞大，HE 下 **very very 紅**
- e. **Osteoclast** 與上述三個細胞，其實並無"血緣"關係。**Osteoclast** 主要來自骨髓中的 **monocyte**，經過核分質不分，或是多個 **monocyte**（發育中的 **osteoclast** 也行）融合而來。這也是 **osteoclast** 多核的原因。
- f. 血鈣不足時，會刺激 **osteoclast** 努力工作，把骨鈣釋出至血液中。



BONE FORMATION

Bone formation (osteogenesis) 分爲兩類：

- 1. Intramembranous ossification (膜內骨化)**
- 2. Endochondral ossification (軟骨內骨化)**

這兩種方式最先出現的都是 **primary bone (woven bone)**，很快的又被 **secondary bone (lamellar bone)** 取代。兩者的區分在於是否有軟骨做爲骨頭成形的模版。不過要注意的是，將骨骼形成的過程分爲兩類，並不代表這些骨頭終其一生都是膜狀骨 (**membrane bone**) 或是軟骨內骨 (**endochondral bone**)。這兩個名稱只是指剛開始的骨頭形成機制。骨骼在發育過程中，會快速的重塑改造 (**remodel**) 來取代原先的的骨骼，而取代骨均會在原來的骨頭表面生成 (如骨內的

trabeculae上)。

硬骨的合成與 **removal** 是同時發生的。這種重塑現象 (**remodeling**) 一生都存在著，只是有速率的差別

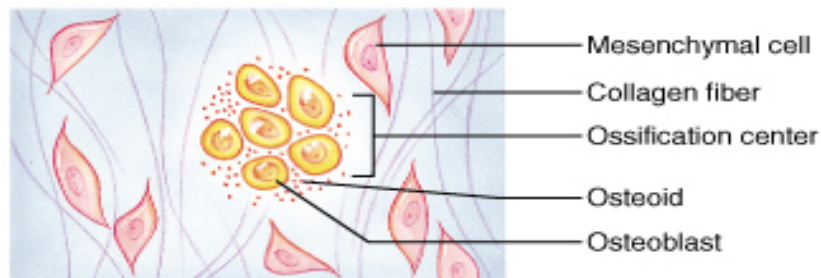
Intramembranous Ossification (膜內骨化)

1. 膜內骨化發生於間葉組織的聚集處 (**condensations of mesenchymal tissue**，為非常原始為分化的疏鬆結締組織)，其分化為 **osteoblast**，並被自己向內分泌的 **bone matrix** 往外推，形成如膜狀的構造，故名
2. 形成部位：**skull (except a few at the base)**，**clavicle (鎖骨)**
growth of short bones，thickening of long bones

成骨步驟：

一定要把這張圖想像成立體的！(所以中間聚集的是一個球狀，形成骨頭的是長條形的)

A.



① An ossification center appears in the fibrous connective tissue membrane.

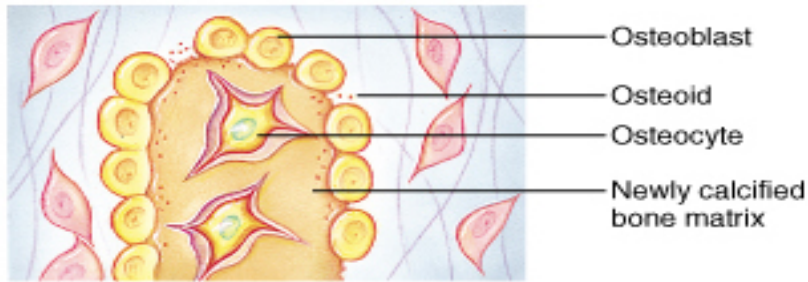
- Selected centrally located mesenchymal cells cluster and differentiate into osteoblasts, forming an ossification center.

膜內骨化

是由

mesenchyme 的原始間葉組織的細胞聚集成一個 **ossification center**，這個 **center** 裡面的細胞會分化成比較圓的成骨細胞(**osteoblasts**)，而 **osteoblasts** 會分泌硬骨基質(**bone matrix or osteoid** - 這是未鈣化的基質)。分泌基質變多之後 **osteoblast** 彼此會被 **matrix** 推開成下一張圖的構

造，在這裡要特別注意 **ossification center** 是一個球狀的構造。
B.



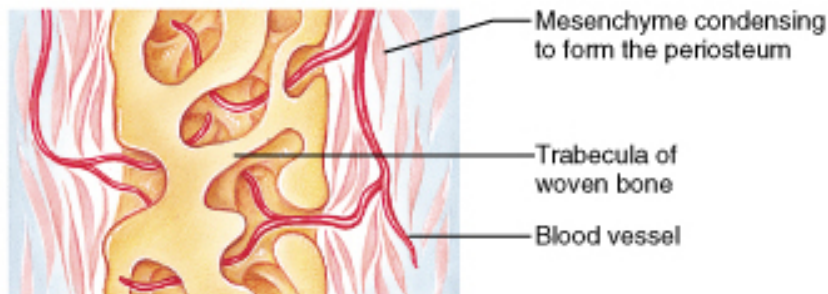
在基質
 推開的過
 一些原始

- ② **Bone matrix (osteoid) is secreted within the fibrous membrane.**
- Osteoblasts begin to secrete osteoid, which is mineralized within a few days.
 - Trapped osteoblasts become osteocytes.

osteoid
 程會有的

osteoblast 陷在裡面，這些細胞會成熟為骨細胞(**osteocyte**)，要注意的是在 **osteoblast** 分泌基質它也同時在進行分裂，當這些細胞彼此推開之後會在基質外排成一圈，形成未來骨頭的構造(可知此時越接近中間的基質，形成時間越早。而越外面的基質則越年輕)。**Osteoid** 過幾天就會開始“礦物質化”**mineralized** 或鈣化 **calcified**(也是從中間往外)而變成熟。

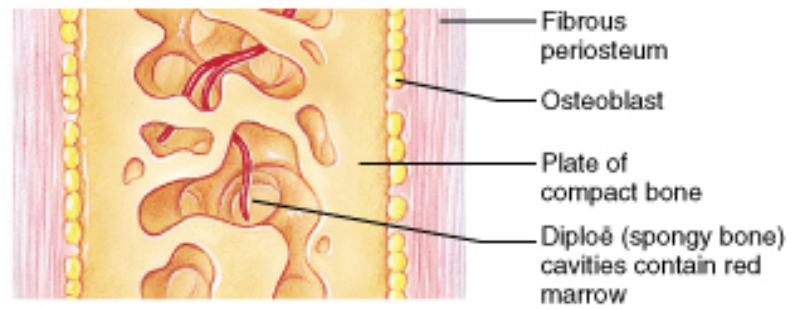
C.



- ③ **Woven bone and periosteum form.**
- Accumulating osteoid is laid down between embryonic blood vessels, which form a random network. The result is a network (instead of lamellae) of trabeculae (woven bone).
 - Vascularized mesenchyme condenses on the external face of the woven bone and becomes the periosteum.

胚胎血管侵入，形成一些空腔以及 **network of trabeculae**(骨小樑的網路)，這些空腔就是未來有骨髓的地方，但不一定是骨髓腔(因為我們現在膜內骨化大部分都在講扁平骨，所以未來這些空腔的地方會形成海綿骨)。血管侵入後帶進 **osteoblasts** 和 **osteoclasts**，而外面的原始間葉組織 (**mesenchyme**)會在未來的骨頭外面慢慢濃縮形成 **periosteum**。

D.



④ Bone collar of compact bone forms and red marrow appears.

- Trabeculae just deep to the periosteum thicken, forming a compact bone layer that is later replaced with mature lamellar bone.
- Spongy bone (diploë), consisting of distinct trabeculae, persists internally and its vascular tissue becomes red marrow.

外層未來變成骨頭的地方形成 **compact bone**，內層形成 **sopngy bone**。血管被留在裡面但仍然和外界相通，空腔內開始出現骨髓。

※簡化步驟

mesenchyme→**osteoblast**→分泌 **osteoid**→成熟變 **osteocyte**→血管侵入形成空腔及 **trabeculae network**→形成骨頭及 **periosteum**

3.

- 在 **mesenchymal condensation layer** 會有一群間葉細胞分化成 **osteoprogenitor cells**，再分化成 **osteoblasts**，形成 **ossification center**。
- 這些 **osteoblasts** 會分泌 **bone matrix (osteoid)**。隨著時間 **osteoblasts** 會被 **osteoid** 向外分散開來，而 **osteoid** 也逐漸鈣化 (**calcification**)。此時，一些留在中央被 **matrix** 包圍住的 **osteoblasts** 漸漸變成 **osteocytes**。故愈靠近 **osteoblasts** 的 **osteoid** 鈣化愈少，愈靠近中心鈣化愈多。
- osteoid** 鈣化後會形成骨針 (**bone spicules**)。接著有些 **osteoprogenitor cells** 會跑到剛形成的骨針上，轉型為 **osteoblasts**，繼續分泌 **osteoid (appositional growth)**。久而久之，骨針彼此相互癒合形成 **network of trabeculae (woven bone)** 構成了 **spongy bone**。
- network of trabeculae** 形成同時，血管伸入其中的空腔 (也帶來了 **osteoclast**)。另一方面，**vascularized mesenchyme** 則聚

集在 **woven bone** 外面並轉變成 **periosteum**。 **Membrane bone** (或稱 **Intramembranous bone**) 正式形成。

4. **osteoprogenitor cells** 的存在可以提供膜內骨化時 **osteoblast** 的穩定來源。

Endochondral Ossification (軟骨內骨化)

1. 軟骨內骨化同樣開始於間質細胞 (**mesenchymal cells**) 在將形成骨頭處的增殖與聚集。不過，間質細胞會先分化成 **chondroblast**，接著製造軟骨基質。這塊先形成的 透明軟骨模型，必須具有成骨的大致形狀與外觀。
2. 軟骨模型一旦建立，軟骨便開始由間質 (**interstitial growth**) 與表面 (**appositional growth**) 生長。模型兩端的間質生長造成軟骨增長，而寬度的增加主要是軟骨膜內 (**perichondrium**) 的軟骨增生。
3. 形成部位：主要是在透明軟骨內進行 (**replacing hyaline cartilage**)。包括頭骨以下的全身骨頭(鎖骨除外)，**short and long bones**
4. 成骨步驟：

Part I. Primary ossification center在diaphysis (骨幹) 形成

- a. 軟骨模型的周圍細胞，產生 **osteoprogenitor cells** 或是 **osteoblasts** 來取代 **chondrocytes**，於是軟骨膜 (**perichondrium**) 功能改變，名存實亡，名稱也換成硬骨膜 (**periosteum**)，或是 **osteogenic layer**。當 **Bone collar** 在軟骨模型中段以膜內骨化方式生成時，軟骨內骨化旋即開始。
- b. 隨著周圍硬骨組織的形成，在軟骨模型中央的軟骨細胞會開始肥大 (**hypertrophy**)，軟骨基質也開始鈣化。鈣化的基質抑制養分的擴散，結果中央的軟骨細胞死亡。
- c. 軟骨細胞一死，基質也開始瓦解，留下一堆 **lacunae**。 **Lacunae** 彼此融合，產生更大的空腔。血管便在這時趁虛而入，佈滿整個

骨幹中央。

- d. 血管以與骨幹垂直的角度侵入 **bone collar** 後，其中所含 **osteoclast** 前趨細胞跑出血管，形成 **osteoclasts**，往骨幹兩端兵分多路吃掉鈣化的軟骨基質。血管並同時帶入了 **periosteum** 的 **osteoprogenitor cells**，在殘餘的鈣化軟骨基質上，繼續堆積 **osteoid**，生成硬骨（稱為 **endochondral bone**）。此時 **primary ossification center** 在 **diaphysis**（骨幹）形成。

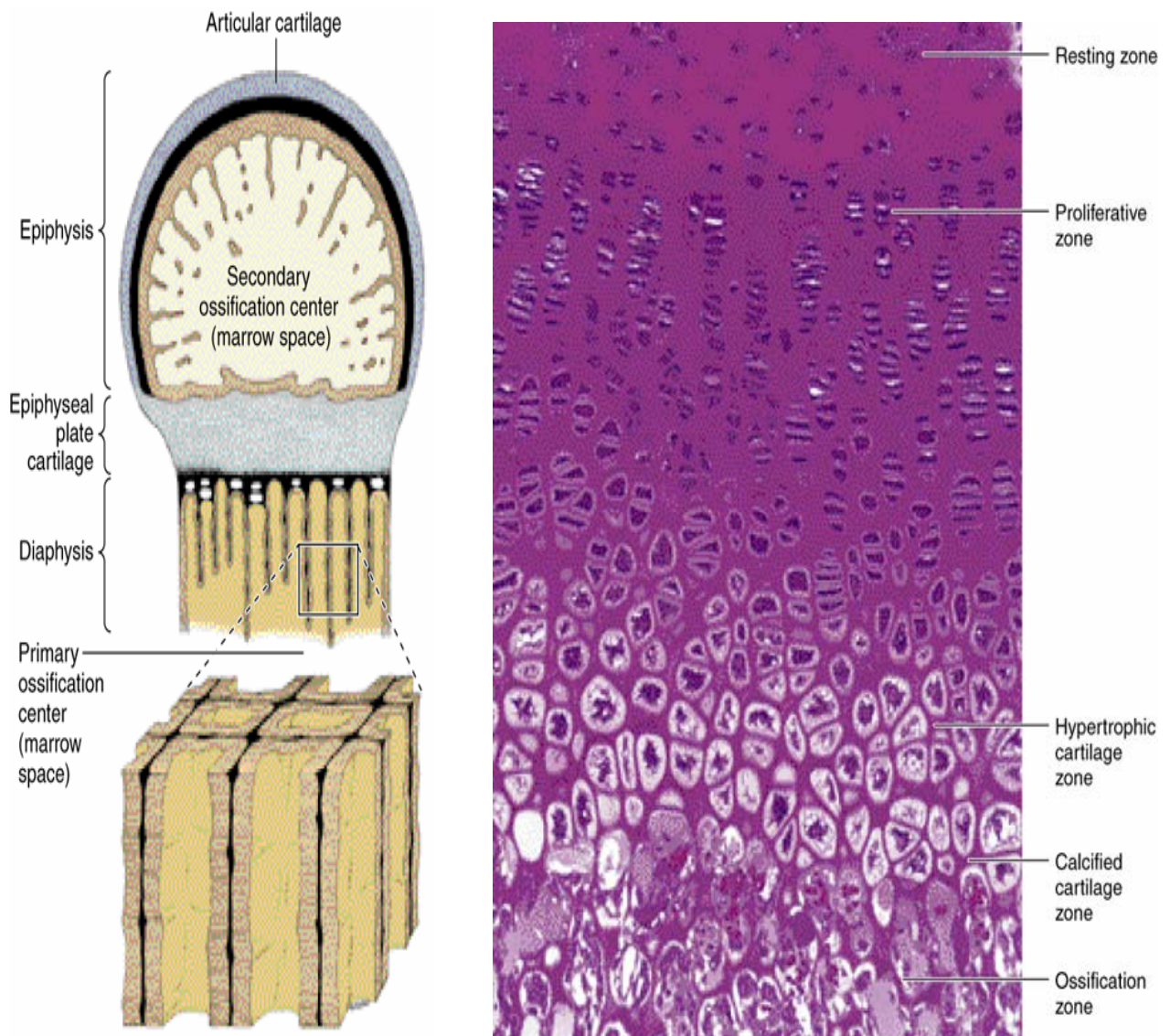
Part II. Secondary ossification center在epiphysis形成

- e. 在 **primary ossification center** 形成後，兩端的 **epiphysis** 其中之一（不會同時）亦被血管侵入，先形成次級骨化中心（硬骨堆積方式如同初級骨化中心）。另一端雖然較慢，不過也叫做 **secondary ossification center**。
- f. **primary ossification center** 向兩端發展。**secondary ossification center** 則呈輻射發展，最後只剩下關節處與 **epiphyseal plates** 仍保有 **hyaline cartilage**。軟骨內骨化的同時，**epiphyseal plate** 內也有許多動作，來增長骨頭。

Epiphyseal Plate

1. 在 **diaphysis** 與 **epiphysis** 交接處，稱為 **epiphyseal plate**。長骨生長主要依賴其中的 **epiphyseal cartilage**。由遠離至接近骨幹中心，可分為五區：
- a. **Resting zone**
此區由 **hyaline cartilage** 組成，並無細胞增生或骨基質的生成。
- b. **Proliferative zone**
此區的 **chondrocytes** 不斷地分裂，並且活潑開心地製造基質。
- c. **Hypertrophic cartilage zone**
含有許多肥大的 **chondrocytes**，基質被擠壓成線狀。
- d. **Calcified cartilage zone**
軟骨外的基質鈣化，使 **chondrocytes** 死亡，此時尚未被血管侵入
- e. **Ossification zone**

血管及 **osteoprogenitor cells** (from **periosteum**) 侵入 **chondrocytes** 死亡後留下的空腔，**osteoprogenitor cells** 轉變成 **osteoblasts**，並在殘餘的鈣化軟骨基質表面 (**trabeculae** 的表面) 排成連續的一層 **cells**，開始堆積 **bone matrix**。 **Osteoblasts** 若陷於其中則形成 **osteocytes**



2. 爲了維持硬骨的適當比例與形狀，外面與裡面的 **remodeling** 速度要隨著生長而調整。這裡，**epiphyseal plate** 必須：
- epiphyseal plate** 厚度要十分固定
 - 軟骨生成的量要等於被吸收的量
 - 吸收的軟骨會由疏鬆的 **spongy bone** 取代

3. 當個體達最大生長時，**epiphyseal plate** 的軟骨細胞便不再增生。最後軟骨用盡，骨幹與骨端的骨髓腔融合。**epiphyseal plate** 也退化成由硬骨組織構成的 **epiphyseal line**