

博士（獣医学） 武知雅人

学位論文題名

鶏のクル病の骨病変に関する超微形態学的研究

学位論文内容の要旨

鶏のクル病はビタミンD、カルシウムおよびリン欠乏、あるいはカルシウムとリンの血中比率の不均衡により生じる疾患である。そして、骨端軟骨の肥厚と軟骨基質の石灰化障害、および骨幹端における未分化細胞の出現を伴う破骨細胞と骨芽細胞の増殖が特徴病変である。骨端軟骨の肥厚は軟骨細胞の成熟遅延、軟骨基質の石灰化障害は石灰化の進行遅延、骨幹端の変化は二次性上皮小体機能亢進症に起因すると考えられている。しかし、クル病病変の個々の細胞の超微形態あるいは細胞活性に関する研究は少なく、その病変の病理発生については未だ不明な点が多い。一方、正常な鶏の骨端軟骨ならびに軟骨内骨化の超微形態については、哺乳動物との類似性が示唆されているが、詳細な検索はなされていない。鳥類の骨端軟骨には血管が豊富であり、軟骨細胞を取り巻く環境は哺乳動物のそれとやや異なっている。また、従来変性細胞として余り注目されていなかった石灰化層の軟骨細胞は、活発な生命活動を営むとともに、軟骨基質の石灰化に重要な役割を果たしていることが近年の研究で明らかにされつつある。

本研究では、最初に正常な鶏の骨端軟骨における軟骨細胞の成熟過程と、その過程における軟骨細胞の役割を明らかにした。次いでこの知見を基にクル病鶏の骨端病変の細胞動態を形態学的に観察し、その病理発生について検討した。

第1章では、正常な鶏の骨端軟骨を超微形態学的ならびに酵素組織化学的に検索した。この検索は、特に石灰化層の軟骨細胞と軟骨基質の石灰化との関係について注目して実施した。検索には肉用種鶏の雄雛10羽(4, 7, 14, 18, 21日齢)を用いた。静止軟骨層の軟骨細胞は、活発な蛋白産生を示唆する超微形態像を示した。増殖軟骨層の軟骨細胞は、分裂期細胞の特徴を有し、有糸分裂により増殖していた。成熟軟骨層の軟骨細胞は、細胞小器官が発達し蛋白産生能が最も高い細胞であると考えられた。石灰化層では、軟骨基質の石灰化段階に一致して3型の軟骨細胞が出現していた。すなわち、軟骨基質の石灰化初期像が観察される上部では淡明細胞、石灰化進行像が観察される中間部では星型細胞、石灰化が完熟し軟骨内骨化が進行する下部では肥大淡明細胞が認められた。これらの各軟骨細胞はその機能が異なり、それぞれ石灰化の開始、進行および維持に関与すると考えられた。また、石灰化層の最外層および表層に限局して粗面小胞体とライソゾームに富み、ACPase活性を示す細胞が観察された。この細胞は未石灰化基質を吸収することにより、破骨細胞の石灰化基質の吸収および骨組織への置換を促すと考えられた。軟骨細胞の運命については、肥大淡明細胞は軟骨小腔内に侵入した単球により貪食され、軟骨小腔から離脱した粗面小胞体とライソゾームに富む細胞は生存し、造骨系細胞に分化する可能性が示唆された。

第2章では、実験的に作出したクル病鶏の骨端軟骨を超微形態学的および酵素組織化学的に検索した。この実験では、肉用種鶏の雄雛20羽を対照群とビタミンD欠乏群（D欠群）に分け、後者には初生からビタミンD欠乏飼料を与えた。検索材料は4, 7, 14, 18, 21日齢時に各群2羽ずつを解剖して得た。この結果、14日齢以降に骨にクル病病変が発現し、超微形態学的にも変化が観察された。

静止軟骨層、増殖軟骨層および成熟軟骨層の軟骨細胞では、細胞小器官が減少しており、蛋白產生能の低下が示唆された。さらに、静止軟骨層の軟骨細胞にはマイクロフィラメントが出現していた。増殖軟骨層では有糸分裂像がみられたが、軟骨細胞数あたりの分裂細胞数は減少していた。また、増殖軟骨層および成熟軟骨層の軟骨細胞では、ライソゾームが増加し、両層では変性細胞巣がしばしば観察された。石灰化層では、基質小胞内のアパタイト結晶の出現とアパタイト結晶塊の形成を特徴とする初期石灰化像が認められた。しかし、コラーゲン線維へのアパタイト結晶の沈着が不十分なため、アパタイト結晶塊の融合あるいは連結は阻害されていた。また、この領域に出現する軟骨細胞は石灰化の開始に関与する淡明細胞のみであり、石灰化の進行に関与する星型細胞は認められなかっただ。酵素組織化学的には、正常な鶏と同様に ALPase 活性が骨端軟骨の静止軟骨層と増殖軟骨層上部を除く全層で観察され、軟骨細胞の染色態度にも異常はみられなかった。以上の結果から、クル病鶏の骨端軟骨の肥厚は、軟骨細胞の増殖ならびに基質產生亢進によるものではなく、軟骨細胞の成熟遅延によることが示唆された。また、軟骨基質の石灰化障害は石灰化の進行遅延であり、軟骨細胞が石灰化の進行に必要な機能を有する細胞に分化しないためと考えられた。

第3章では、クル病鶏の骨幹端病変と上皮小体について超微形態学的ならびに酵素組織化学的に検索した。検索材料は、第2章の実験で用いた鶏から採取した。

検索の結果、14日齢以降の骨幹端にクル病病変が観察された。この病変には破骨細胞が増数していたが、その多くは軟骨柱および骨梁表層から離脱していた。離脱した破骨細胞は、発達した細胞質突起を有し、正常な ACPase 活性を示した。軟骨柱あるいは骨梁表層に残存する破骨細胞は ruffled border を形成せず、大型の石灰化片は phagocytosis、小型のアパタイト結晶塊は pinocytosis によって吸収されており、破骨細胞の骨吸収には ruffled border を介さない別の機序のあることが示唆された。これらの破骨細胞は正常な破骨細胞に比べ強い ACPase 活性を示した。クル病鶏の骨芽細胞では、粗面小胞体腔の拡張が認められ、ALPase 活性と ACPase 活性は正常な骨芽細胞と同様の反応を示した。また、病変に出現していた未分化細胞は、球形細胞と紡錘形細胞の2型に分類された。超微形態学的および酵素組織化学的特徴から、前者は前破骨細胞、後者は前骨芽細胞であるとみなした。7日齢以降、上皮小体は肥大し、主細胞が増生していた。増生した主細胞は、超微形態学的に、粗面小胞体が発達する合成期の細胞と、ゴルジ装置の発達と分泌顆粒の増数を特徴とした分泌期の細胞であった。以上の所見から、クル病鶏では上皮小体機能亢進により破骨細胞と骨芽細胞の前駆細胞が刺激されて増生し、これに伴い骨幹端で破骨細胞と骨芽細胞が増数すると考えられた。

## 学位論文審査の要旨

主査 教授 板倉 智敏  
副査 教授 菅野 富夫  
副査 教授 橋本 晃  
副査 教授 岩永 敏彦

### 学位論文題名

## 鶏のクル病の骨病変に関する超微形態学的研究

鶏のクル病における骨病変は、骨端軟骨の肥厚と軟骨基質の石灰化障害、及び骨幹端における未分化細胞の出現を伴う破骨細胞と骨芽細胞の増殖を特徴とする。申請者は、鶏にクル病を作出し、その骨病変を超微形態学的に研究した。

最初に、病変を理解するために正常鶏の骨端軟骨の発達過程、特に石灰化層の軟骨細胞と軟骨基質の石灰化との関係を検索した。検索は4～21日齢の肉用種鶏について行った。石灰化層の軟骨細胞は、軟骨基質の石灰化段階に関連づけて3型に分類された。すなわち、軟骨基質の石灰化初期像を示す軟骨層上部では淡明細胞、石灰化進行像が観察される中間部では星型細胞、石灰化が完熟し軟骨内骨化が進行する下部では肥大淡明細胞が認められた。肥大淡明細胞は、軟骨小腔に侵入した大食細胞により貪食されていた。これら3型の細胞のほかに、未石灰化軟骨基質の吸收に関与する粗面小胞体とライソゾームに富む細胞が認められた。この細胞は造骨系細胞に分化する可能性が示唆された。

クル病については、肉用種鶏の初生時からビタミンD欠乏飼料を給与し、4～21日齢の間経日に採材して検索した。骨端の静止軟骨層、増殖軟骨層および成熟軟骨層の軟骨細胞では、細胞小器官が減少し、蛋白産生能の低下が示唆された。石灰化層では、石灰化の開始に関与する淡明細胞のみが認められ、石灰化の進行に関与する星型細胞は認められなかった。石灰化層の軟骨基質では、初期石灰化像は認められたが、コラーゲン線維へのアパタイト結晶の沈着は不十分であった。以上から、クル病鶏の骨端軟骨の肥厚は軟骨細胞の成熟遅延であること、軟骨基質の石灰化遅延は石灰化に必要な機能を有する軟骨細胞への分化のないことが重視された。

骨幹端の病変は14日齢以降に発現した。この病変は、上皮小体の機能亢進により破骨細胞と骨芽細胞の前駆細胞が刺激されて増殖し、結果として破骨細胞と骨芽細胞の増殖がもたらされることが証拠づけられた。

以上のように、申請者は、鶏のクル病の骨病変の超微形態像を明らかにし、同時に鳥類の軟骨内骨化機転に新知見をもたらした。よって審査員一同は、武知雅人氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。