

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 池田 祥
 学位 博士 (農学)
 学位記番号 新大院博 (農) 第 178 号
 学位授与の日付 平成 30 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 博士論文名 鶏脛骨軟骨異形成症に関する組織化学的研究

論文審査委員 主査 教授・山田 宜永
 副査 教授・高田 良三
 副査 教授・中野 優
 副査 准教授・杉山 稔恵

博士論文の要旨

ニワトリの深刻な疾病のひとつとして、脚弱が知られている。脚弱は脛骨の脆弱化により骨折を引き起こし、起立困難となる疾病であり、養鶏産業に多大な経済的損失をもたらしている。脚弱の原因として、脛骨軟骨異形成 (Tibial Dyschondroplasia : TD) が主たる原因であることが示されている。TD の発症に関してはこれまで様々な研究がなされており、急速な成長を示すブロイラーの幼雛期において脛骨近位端の成長板に軟骨塊が残存し、軟骨肥大層が肥厚するなどの報告がされているが、その発症機構の詳細は未だ明らかとなっていない。本研究ではブロイラーにおける TD 発症機構を解明するため、以下の実験を行った。

1. TD に発症に関するメカニカルストレスの影響

体重増加の緩慢な産卵鶏と体重増加が急速なブロイラーに Tetramethylthiuram disulfide (Thiram) 添加飼料を給与して、人為的に TD を誘発した (自由摂取)。また、Thiram を給与するとともに、制限給餌することによりブロイラーの急激な体重増加を緩和させ TD 発症の観察を行った。産卵鶏においては Thiram 給与による TD の発症はみられず、正常な脛骨近位端成長板がみられた。一方で、Thiram 給与のブロイラーでは 15 日齢以降で TD が誘発され、20 日齢において全ての個体に重度の TD が発症し、脛骨近位端成長板には軟骨塊が残存していた。また、制限給餌による体重増加を緩和させた結果、20 日齢において TD index (TD の指標) の値が小さくなり、自由摂取と比較して成長板に残存する軟骨塊が小さくなっていた。

2. 成長板における免疫組織化学的観察

重度の TD を発症する 20 日齢のブロイラーの脛骨骨端を採取し組織切片を作製し、免疫組織化学法による II 型コラーゲン、X 型コラーゲン、ケラタン硫酸、コンドロイチン-6-硫酸の局在を観察した。その結果、対照区では、増殖軟骨細胞層に II 型コラーゲン、肥大軟骨細胞層に X 型コラーゲンが局在していた。試験区の TD 病変において X 型コラーゲンは対照区と同様の局在であったが、II 型コラーゲンは増殖軟骨細胞層に加え、病変部を含む肥大軟骨細胞層にも観察された。また、コンドロイチン-6-硫酸は、TD において肥大軟骨細胞層において、その局在が少なかった。

3. TD 病変における軟骨細胞の細胞死と石灰化

TD 病変について TUNEL 法を用いて細胞のアポトーシスを観察するとともに、カスパーゼの局在について、免疫組織化学的に観察した。対照区において、軟骨細胞のアポトーシスは肥大層石灰化部でのみわずかに観察された。また、カスパーゼの局在は、増殖層と肥大層の軟骨細胞において観察された。一方、試験区の TD 病変においては、アポトーシスは病変中央部の軟骨細胞において多数観察された。カスパーゼの局在は、病変中央部の軟骨細胞では観察されず、増殖層から肥大層に移行する領域の軟骨細胞で強く観察された。石灰化に関して対照区においては、肥大軟骨細胞層石灰化部で均一に石灰化が進行し、成長板深部まで侵入した血管に破骨細胞が観察され、正常に軟骨内骨化が進行していた。一方、TD 病変においては、血管侵入が成長板に観察されず、破骨細胞は海綿骨周辺でのみ観察され、肥大軟骨細胞層において石灰化は乏しく、不均一な石灰化が観察された。

以上の結果から、TD ではメカニカルストレスによって増殖層から肥大層に移行する領域の軟骨細胞においてアポトーシスが誘発され、その後の軟骨細胞の分化が阻害されるものと考えられた。また、メカニカルストレスによって、成長板におけるコラーゲンやグリコサミノグリカンの局在に変化が生じ、その後の石灰化に障害をきたして正常な軟骨内骨化が阻害され、成長板内に軟骨塊が残存して TD が発症すると考えられた。

審査結果の要旨

本研究は、ブロイラーの飼養において最も問題となっている脛骨軟骨異形成症について、その病変を組織化学的に観察し、その発症機構について考察したものである。本研究により、TD 発症には急速な体重増加による脛骨近位端へのメカニカルストレスの負荷が必須であることを明らかにした。また、TD 発症の際には、増殖層から肥大層へ移行する軟骨細胞にアポトーシスが起り、肥大軟骨細胞層における II 型コラーゲンと X 型コラーゲンの混在とコンドロイチン-6-硫酸が減少することを示し、肥大軟骨細胞の分化が阻害されていることを明らかにした。

これらの研究成果は、脚弱発症機構の解明における学術的基盤となり、今後、脚弱の具体的予防策の構築に貢献するものと考えられる。なお、本論文の成果の一部は、申請者を筆頭著者として、レフリーシステムの確立された学術雑誌「日本家禽学会誌」に受理され、掲載予定である（平成 30 年 4 月発行第 55 巻掲載）。よって、本論文は博士（農学）の博士論文として十分であると認定した。