

論文審査の結果の要旨

氏名：久保田 桜

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名： β -aminopropionitrile 投与による鶏胚骨格異常の解析

審査委員：(主査) 教授 高橋 富久

(副査) 教授 磯川 桂太郎

教授 鈴木 直人

教授 米原 啓之

胚組織の骨格要素は、発生の進行に応じて種々の形態変化を遂げる軟骨や骨であり、その主要な構成成分は細胞外のコラーゲン線維である。コラーゲン性の骨格原基は、将来の生体各部の骨性骨格の雛形をなすが、その物性や性状にはコラーゲンの分子内および分子間の架橋が大きく関わっている。これらの架橋形成を担うのがリシルオキシダーゼであり、一方、この酵素の活性を選択的に阻害するのが β -aminopropionitrile (BAPN) である。BAPN は、スイートピー *Lathyrus odoratus* から抽出、同定された物質であるが、スイートピーの種子を摂取させた家畜では、骨の形態異常、解離性大動脈瘤、皮膚の弛緩など、ラチリズム lathyrism とよばれる諸症状が現れることが知られていた。BAPN は、こうしたラチリズムの原因物質であると判明しており、その投与によって、コラーゲン原線維内で分子間凝集が攪乱され、骨性ラチリズムが生じることが明らかになっている。本研究では、鶏胚を実験動物として用い、卵殻に開窓して卵内で発生中の発生日齢(ED)3-9日目の鶏胚にBAPNを投与した。その後、発生を一定期間継続させ、ED5-10となった鶏胚を取り出して固定し、薄切法を用いず胚全体としての骨と軟骨の二重染色および骨・軟骨以外の組織については透明化処理を施すという方法を用いて、BAPNの投与で骨格要素に生じる異常の特徴、異常形態の再現性、出現経緯を精査した。さらに、注目すべき変形が高い再現性をもって観察された骨をアルカリ法によって胚組織から取り出し、その微細構造的な変化について、走査型電子顕微鏡による観察を行った。

その結果、以下の結果および結論を得た。

1. 卵内で発生中のED4の鶏胚に350 $\mu\text{g}/\text{egg}$ のBAPNを投与した場合、ED10での生存率は約50%であり、骨および軟骨で構成される骨格要素の変形異常は生存胚のすべてで観察された。
2. 変形異常の発生には部位特異性があり、外篩骨、下顎、椎骨、椎肋骨あるいは後肢の骨格要素(脛足根骨および足根中足骨)などで観察され、前肢の骨格要素、骨盤、大腿骨などではみられなかった。
3. 脛足根骨では、骨幹中央部が伸筋側に突出する特徴的な屈曲変形が高い再現性をもって出現した。ED4でのBAPN投与後、屈曲度は経日的にED10まで増大した。ED5-8での投与によっても屈曲変形は生じた。但し、ED8での投与では、脛足根骨の近遠心にある骨幹端2箇所屈曲が生じた。ED9での投与では屈曲変形は生じなかった。
4. 脛足根骨の屈曲変形の凹部には線維層板骨の過形成が認められ、同部には活発な骨基質形成を行う骨芽細胞の存在を示唆する多数の骨小窩が観察された。屈曲変形の凸部の骨面は平滑で線維層板骨はみられず、骨小窩も乏しかった。
5. BAPN投与胚の脛足根骨内面には、破骨細胞性の明瞭な吸収窩が多数みられたが、非投与胚の屈曲をみない脛足根骨内面では、破骨細胞性吸収窩は不明瞭で数もわずかであった。

以上の結果は、BAPNの投与による骨格要素の変形異常とくに脛足根骨でみられる屈曲変形は、高い形態的再現性をもって出現し、発生段階や部位的にも特異性がみられることを示している。また、骨変形の基盤であるBAPNによる骨格原基の強度減弱には、骨改造におけるバランスの異常も影響してい

る可能性が示唆された。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成28年3月9日