

論文の内容の要旨

氏名：宇佐美 伸 治

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名： Histomorphological investigations of the avian tarsometatarsus developed from three independent periosteal bone collars
(骨膜性骨襟からの跗蹠骨形成に関する組織形態学的研究)

骨の形成においては、骨の数や位置決めをするパターン形成、基質の形成と石灰化、機能に即した形を生み出す形態形成といった時期的にはオーバーラップするが、その役割が異なる複数の機構が関わっている。これは体肢の長管骨形成においても同様である。鳥類後肢の跗蹠(ふしよ)骨は、足指の骨(鳥類では趾骨)と近位足根骨との間に発生する骨である。すなわち、跗蹠骨は、ヒトの中足骨と遠位足根骨に相当し、第2~4趾骨の近位に生じる3本の長管骨原基が伸長かつ癒合して単一の複合(長管)骨となる。こうした一連の変化は、鳥類と絶滅した獣脚類との共通祖先から現生の鳥類に至る進化の過程が個体発生においても繰り返されている現象だと考えられるが、その詳細は明らかではない。そこで、本研究では6日齢(ED6)以降のニワトリ(*Gallus gallus*)胚での跗蹠骨発生について組織形態学的な変化を検討した。

跗蹠骨の伸長と癒合の全体像を捉えるために、骨・軟骨の二重染色を施した透明化全載標本の観察と形態計測を行った。跗蹠骨の軟骨性原基と軟骨膜、これに沿って形成される骨襟(bone collar)とその後の骨性シリンダー(bone cylinder; BC)及び骨膜組織の変化については、樹脂包埋の準超薄切片で観察を行った。骨襟とBCの立体的微細構造については、アルカリ処理後の骨を実体顕微鏡及び走査電子顕微鏡で観察した。BC間での癒合の進行を捉えるために、準超薄切片での観察に加えて、micro CT及び骨・軟骨膜を可視化するfibrillin免疫組織化学染色を利用した。また、alkaline phosphatase (ALP)とtartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)の酵素組織化学的染色を跗蹠骨の非脱灰組織切片に施すことで、骨芽細胞を含むosteogenicな細胞と破骨細胞が発生過程でどのような分布と変化を示すのかを調べた。

その結果、単一複合(長管)骨としての跗蹠骨を形成するに至る骨襟及びBCの伸長・癒合に関わる諸変化とその発生学的時期が明らかになった。中足部の骨格原基は、遠位方向に扇状に広がった3本の桿状軟骨として自脚部に生じたが、ED8までに、伸長しかつ互いに平行な位置関係を示すようになった。ED8ではそれぞれの桿状軟骨の近遠心的中央部の表面で骨化が始まり環状の3つの骨襟が形成された。その後、これら骨襟は軟骨表面を近遠心両方向に伸長し、また骨性小柱や骨梁の形成によって幅径も増大した(以降BCとする)。BCは、その幅径の増大にもなって相互に近接するようになり、中央のBCは横断面像で矩形、外側及び内側のBCは半円形を呈し、ED13では、3本のBCそれぞれを覆う骨膜組織がBC間で背合わせ状態となった。骨梁形成は同時に多数の骨梁間チャンネル(海綿骨腔)の形成をともない、こうしたBC壁内のチャンネルはBC長軸に対してやや斜走することが走査電顕的な観察で明らかになった。ED17では、進行しつつある癒合面に介在する骨膜組織の背側及び腹側寄りそれぞれ約1/4で、BCから伸び出た骨梁がブリッジ形成を始めたが、この時期の跗蹠骨のマクロ的外観は依然並走する3つのBCとして観察された。しかし、ED20までにはBC間の骨性癒合はさらに進行し、近遠心の骨幹端を除く跗蹠骨骨幹部のマクロ的外観はあたかも1本の長管骨であるかのような表面形態を示すに至った。但し、組織切片及びCTによる断層像が示す骨髓腔は相互に交通が認められるものの、ED20においてなおBC癒合部には隔壁が存在していた。骨芽細胞を含むosteogenicなALP陽性細胞は、骨化の開始予定域の軟骨膜、続いて骨襟の外周を覆う骨膜組織に分布し、骨梁形成の進行で幅径が増大すると、BCの外周に近い一部の骨梁表面にもその分布がみられたが、BC壁の大部分を占める骨梁にはALP陽性細胞は認められなくなった。このため、骨梁間チャンネルは、孵化日齢であるED20に至るまで充実性のオステオンに移行することはなく、BCの横断組織像では広く開口したままであった。一方、

TRAP 陽性の破骨細胞は、ED10 以降に骨内膜に分布することが示された。BC 壁の貫通血管を介して BC 内に到達したと考えられるこれら破骨細胞が骨内膜側の骨梁吸収を担うことは、BC 横断面で骨髓腔の径が発生日齢の進行とともに拡大したことから示された。

以上の組織形態学的な所見は、自脚部の軟骨性原基に生じる 3 つの骨襟に起因する BC が単一複合骨(長管骨)としての跗蹠骨を形成するに至る過程を詳細に明らかにしたものである。とくにその微細構造や骨芽細胞・破骨細胞の分布パターンは、BC の長軸方向への急速な伸長と幅径の急速な増大とによく整合していると考えられた。また、跗蹠骨形成で特異な BC の癒合は、単一の長管骨形成でも観察される骨膜性骨芽細胞による骨の付加的成長と骨内膜性破骨細胞による骨髓腔の拡大とが協調して生じる現象として説明し得ると考えられた。