

## 論文審査の結果の要旨

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）

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

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（ふしょ）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骨（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、以下の結果および結論を得た。

1. 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、ED8までに、伸長しかつ互いに平行な位置関係を示すに至った。
2. 桿状軟骨の中央部表面での骨化はED8に始まり、3本それぞれにおいて環状の骨襟となった。その後BCは、軟骨表面を近遠心両方向に伸長し、骨性小柱や骨梁の形成によってその幅径も増大した。
3. 幅径増大とともにBCは互いに近接し、ED17ではBCから伸び出た骨梁によってBC間にブリッジ形成が認められるようになった。ED20までにBC間の骨性癒合はさらに進行し、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。しかし、それぞれの骨髓腔間にはED20においてなお隔壁の残存が認められた。
4. ALP陽性細胞は、骨化開始予定域の軟骨膜、続いて骨襟の外周を覆う骨膜で認められ、BCの幅径増大にともなってBCの外周に近い骨梁表面にも分布していた。しかし、BC壁の大部分を占める骨梁にはALP陽性細胞は認められず、骨梁間チャンネルはED20に至るまで充実性のオステオンに移行することはなかった。TRAP陽性の破骨細胞は、ED10以降に骨内膜でその分布が認められた。
5. 骨膜性のALP陽性細胞と骨内膜性の破骨細胞は、3本のBC間の癒合時に、それぞれ骨性ブリッジの形成とBCの幅径増大に応じた骨髓腔の拡大とを担うと考えられた。破骨細胞は、3つの独立した骨髓腔の統合に向けた隔壁除去にも関わっていたが、隔壁除去は孵化以前には完了をみなかった。

以上の結果は、自脚部の軟骨性原基に生じる3つの骨襟が単一複合骨としての跗蹠骨を形成する過程では、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

進行することを明らしたものであり、組織発生的な研究に寄与するところが大きであると考えられた。

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

令和元年12月19日