

| | | | |
|----------|------------------------------|-----------|----------|
| 氏 名 (本籍) | つち 土 | や 屋 | たけし 剛 |
| 学位の種類 | 農 | 学 | 博 士 |
| 学位記番号 | 農 博 第 | 1 8 0 | 号 |
| 学位授与年月日 | 昭和 5 1 年 | 3 月 2 5 日 | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 5 条第 1 項該当 | | |
| 研究科専攻 | 東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 畜産学専攻 | | |
| 学位論文題目 | めん羊の尿結石症発生要因に関する機能形態学的研究 | | |

論文審査委員 (主 査)

教授 玉手 英 夫 教授 松 本 達 郎

教授 津 田 恒 之

助教授 星 野 忠 彦

論文内容要旨

最近わが国では濃厚飼料多給，粗飼料少給，短期肥育を行う若令肥育が普及している。しかし，この肥育方式は種々の非病原性の疾患をまねきやすく，とくにわが国では尿結石症が多発して問題となっている。この尿結石症は重症例では膀胱と尿道に結石の形成があり，とくに陰茎S状曲部尿道の結石沈着や内包皮結石のため尿路閉塞がおこり，膀胱破裂，尿毒症などにより肥育牛が死亡することがある。その他，食欲の低下，増体の停滞など肥育にとって不利な結果をまねくことが多い。この尿結石はリン酸マグネシウムアンモンを主成分とし，また，尿中に多量の結石沈澱物を排泄することも特徴である。

若令肥育牛の尿結石症に関する星野の病理組織学的研究によると，結石は，実質性結石，腎杯結石，膀胱結石，陰毛結石として若令肥育牛に高率に発現し，品種や性別に無関係であって，陰毛結石だけは雄と去勢牛のみにみられた。結石の大部分は無構造で多糖類を含有する。腎臓ではMg，Caの沈着とネフローゼがみられた。また，上皮小体の機能亢進，副腎皮質球状層の過形成，前頭骨での線維性骨異栄養を観察し，これらが尿結石症の発現と関連があることを示唆している。

尿結石症の発生要因として，第1に濃厚飼料，とくに米ヌカ，フスマなどに多量に含まれるP，Mgの過剰摂取と尿中への過剰排泄とが考えられている。第2の要因としては星野が示唆した上皮小体および副腎皮質の機能亢進が考えられる。このことはヒトでも上皮小体機能亢進症や副腎皮質機能亢進症の患者で尿結石症が多くみられることとも一致している。第3の要因として第1胃内の異常発酵が考えられる。すなわち，濃厚飼料多給時において反すう家畜は乳酸アシドーシスをおこしやすいことが知られている。乳酸はめん羊で直接血中に投与すると尿中のP，Mg，Caの排泄を増すことが報告されているので，濃厚飼料を多給した若令肥育牛では第1胃内の乳酸発酵も尿結石症の要因として十分考えられるものと思われる。

第4に尿結石の形成には，その基質の存在が不可欠である。これは，結石の成長あるいは膠質沈着の機縁を提供するもので，種々の結石でこれまでに多糖類，剝脱した上皮細胞などが結石の基質として見出されている。とくに若令肥育牛にみられた結石では星野は多量の多糖類（中性多糖，酸性多糖）の存在をみとめ結石形成に重要な意義があるものと考えたが，その由来および尿中増加機転については明らかにしていない。

本研究は若令肥育牛に多発する尿結石症の発現機序を，実験動物としてめん羊およびラットを用いて明らかにし，以上の諸要因，とくに尿結石形成と多糖類との関連性を機能形態学的研究を行なって明らかにしようとした（第1章）。

1. ラットにおける実験的尿結石症(第2章)

反すう家畜は第1胃をもち、栄養的、代謝的に特異性が大きい。そこで研究の第一歩として、単胃動物であるラット70頭を用いて、尿結石発生試験を行い、先にあげたような種々の発生要因の検討を行った(表1)。

尿結石はP過剰給与のみではみられず、P過剰給与の条件下で上皮小体ホルモン(PTH)あるいは乳酸を投与することによって発生した(表2)。得られた腎盤結石の形状は様々であるが、すべてがリン酸マグネシウムを主成分としていた。また、結石中には中性多糖、酸性多糖の相当量の沈着があることが組織化学的に観察された。

P過剰給与区では腎臓組織に種々の障害がみられた。すなわち、糸球体に軽度の壊死があり、ボーマンのう腔にはエオジン好性の顆粒がみられ、ボーマンのう基底膜は若干肥厚していた。近位尿細管では上皮細胞はやや高さが低くなり、刷子縁の脱落、腔内へマトキシリン-エオジン陽性の顆粒が軽度に見られた。ヘンレ係蹄の下行脚では多糖性尿円柱、基底膜の肥厚、核濃縮、および上皮細胞の脱落がみられた。ヘンレ係蹄の上行脚では尿細管はやや拡張しており、上皮細胞は水様性になり、風船化しているものもあった。また、腔内には脱落細胞が少数観察された。髓質外帯部の集合管の腔内には脱落細胞やPAS陽性の顆粒などがみられた。

以上述べた腎臓の組織変化は、P過剰給与の条件下でPTHまたは乳酸を投与することによってさらに増し、これらの尿細管上皮細胞の退行変性による結合織の増生が、髓質外帯部で中等度認められた。また、Deoxycorticosterone Acetate(DOCA)投与によってもP過剰給与の条件下で腎臓障害の増加が認められたが尿結石は発生しなかった。

以上の組織所見は星野が若令肥育牛の尿結石症で報告した腎臓尿路系の退行変性像とよく一致しており、尿結石症そのものは必ずしも反すう家畜特有なものではないことが明らかになった。

組織化学的に検討すると腎臓組織では、Caの沈着と多糖類の沈着とが注目され、その程度は腎臓の障害度とほぼ平行していた。すなわち、P過剰給与下でPTHあるいは乳酸を投与した区で最も多かった。この沈着は尿細管の退行変性によって増生してきた結合織に多く、つぎに髓質部のヘンレ係蹄の上行脚、集合管にみられた。また、多糖類はCa沈着部位のほか、下位尿細管の腔内に顆粒状にみられた。

組織化学的には、この多糖類はPAS陽性の中性多糖とアルシアンブルー陽性の酸性多糖を含んでいた。さらに、この酸性多糖はコンドロイチン硫酸とヒアルロン酸の双方を含むこ

とが明らかになった。

これらのことより、ラットでは尿結石症の発現要因としてP過剰摂取でのPTHあるいは乳酸の投与が有効であり、かつ尿結石の形成には過剰の無機塩の排泄のほかに、腎臓の障害と多糖類の組織内沈着が密接な関連を持つことが明らかとなった。

2. めん羊における実験的尿結石症（第3章）

前節の成績により、ラットでもP過剰の条件下でPTHや乳酸投与により尿結石症が発生することが判明した。

そこでPTH、乳酸の投与が反すう家畜での尿結石症の発現要因として同様に評価されるか否かを知るため、めん羊5頭を用い、P、Mg過剰給与の条件下で、PTH、蔗糖またはDOCAを投与して、尿結石症の形成と腎臓組織の変化について形態学的に検討した。なお、蔗糖は第1胃内で乳酸に変化されるので、乳酸投与よりもめん羊における実験に適していることを考慮してえらんだものである（表3）。

PTHを投与しためん羊は左右腎臓とも腎盤に大小の不整形の結石が中等度発現した。DOCAを投与しためん羊は腎盤に少量の砂粒大の結石がみられたのみであった。蔗糖を大量に投与しためん羊では50日間投与で腎盤と膀胱に相当量の結石がみられた。P、Mgのみを過剰投与しためん羊は腎盤、膀胱、尿道のいずれにも結石は認められなかった（表4）。

尿結石症の発現しためん羊では表5に示したように腎臓の障害は強く、とくに結石が多く発現したPTH投与、または蔗糖投与50日のめん羊ではヘンレ保蹄の上行脚の細胞質に多量のPAS陽性顆粒がみられた。また、集合管ではPAS陽性顆粒のほかにアルシアンブルー陽性の酸性多糖性の顆粒が上皮細胞ならびに腔内にみられ、とくに結石が多く発現したPTHまたは蔗糖投与のめん羊で顕著であった。

この酸性多糖は組織化学的にはラットと同じように、コンドロイチン硫酸とヒアルロン酸の双方が含まれていると考えられた。

3. めん羊の尿結石症発現に対するPTH、蔗糖、Pの単独投与の効果（第4章）

前節の実験によって、めん羊はP過剰給与の条件下で、腎臓障害を起こすことと、PTHあるいは蔗糖の投与によって、この腎臓の障害は著増し、多量の尿結石の発現をみる事が判明した。すなわち、めん羊においても尿結石症の発現要因はラットと同様にP過剰摂取とPTH、乳酸が重要であると考えられる。しかし、P過剰給与とPTHまたは蔗糖大量投与

との相互関係は不明である。そこで本節ではめん羊7頭を用いてP, PTH, 蔗糖をそれぞれ単独投与し、各々の腎臓に及ぼす影響について機能形態学的に観察した(表6)。

尿結石はP, PTH, 蔗糖の各単独投与ではみられなかった。しかし、腎臓の障害は主に糸球体、近位尿細管、ヘンレ係蹄の上行脚、および集合管などでみられ、PTH投与区がもっとも著しかった。すなわち、近位尿細管の各種脱水素酵素、ATPアーゼなど19種類の酵素を組織化学的に検討したところ、その大部分は近位尿細管上皮で、その活性が低下していた。

また、電顕的観察では、基底膜の肥厚、上皮細胞の壊死、変性、細胞破壊による細胞質成分の尿細管腔への流出などの障害像がみられた。さらにヘンレ係蹄の上行脚の障害が著しく、上皮細胞はミトコンドリアがほとんど消失し、基底部陥入のない細胞が多くなっており、明調化した細胞質にはグリコーゲン顆粒の沈着による糖原変性がみられた。これらの部位は尿細管における主な再吸収部であることから、腎臓における再吸収機能の著しい低下がおこるものと考えられる。また、PTH投与では髓質部集合管上皮細胞の酸性多糖を含有する介在細胞の発達が顕著であり、酸性多糖の分泌像も認められた。腔内には酸性多糖の顆粒が著しく増加していた。

蔗糖投与区では、PTH投与区とほぼ同様の腎臓の障害がみられたが、その程度はやや軽かった。また、介在細胞の酸性多糖の分泌像がみられた。

P投与区では、腎臓の障害は比較的軽度であり、PTH投与区と蔗糖投与区にみられたヘンレ係蹄の上行脚の糖原変性、髓質部集合管の介在細胞の酸性多糖の分泌像はほとんどみられなかった。しかし、電顕的観察ではPTH投与、蔗糖投与の腎臓にみられた障害が、P投与によっても軽度であるが惹起されることがわかった(表7)。

これらの成績より、PTHまたは蔗糖の投与は近位尿細管、ヘンレ係蹄の上行脚、集合管に退行変性を惹起し、近位尿細管およびヘンレ係蹄の上行脚の再吸収能を低下させるとともに、ヘンレ係蹄の上行脚に糖原変性を起こし、さらに髓質部の集合管では多量の酸性多糖の出現を促すものと思われる。

以上の諸成績からみると、尿結石の発現に関して次のように考えられる。すなわち、尿結石はP過剰摂取だけでは発現せず、PTH, 蔗糖の単独投与でも発現しない。しかし、P過剰給与の条件下でPTHあるいは蔗糖を投与することによってはじめて発現した。

尿結石が発現した場合の組織化学的観察では、腎臓尿細管の退行変性とくにヘンレ係蹄の上行脚の糖原変性が顕著であり、集合管の介在細胞の酸性多糖と集合管腔内の多糖類の沈着が著しかった。そして尿細管上皮に壊死の多くみられた腎臓の場合に、尿結石が見出されている。

このような障害が顕著であるのは、P過剰給与条件下でPTHあるいは蔗糖を投与した場合であった。

すなわち、尿結石の発現にはP過剰摂取によるPの尿中排泄の増加の他に、尿中への多糖類とくに酸性多糖類の過剰排泄が必要と考えられる。この多糖類の過剰排泄はPTH, あるいは蔗糖投与による腎臓の障害の増加にともなう骨由来の多糖類の増加も考えられるが、本実験の成績からみると髓質部集合管の介在細胞における酸性多糖の分泌が重要ではないかと考えられる。

表 1 ラットの材料および方法

| 区 | 処理 実験期間 | 無 処 理 | | DOCA | PTH | 乳 酸 |
|------|------------|-------|-----|------|-----|-----|
| | | 20日 | 50日 | 20日 | 50日 | 50日 |
| Ca-P | | | | | 5 | 5 |
| Ca | | | | | 5 | 5 |
| P | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 対 照 | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

ラ ッ ト ; ウイスター系雄70頭(体重100g)

Ca ; 炭酸カルシウム 5%

P ; リン酸-ナトリウム・2水塩 5% - 10%

基礎飼料 ; プロイラー後期用飼料

DOCA ; Deoxycorticosterone Acetate 0.2mg/日

PTH ; Parathormone 2.5U. S. P./日

乳 酸 ; 0.06M/100g基礎飼料

表 2 ラットの尿結石発現

| | 無 処 理 | | DOCA | PTH | 乳 酸 |
|-------|-------|-----|------|-----|-----|
| | 20日 | 50日 | | | |
| Ca-P | | | | + | + |
| Ca | | | | - | + |
| P | - | - | - | + | + |
| 対 照 区 | - | - | - | - | - |

表 3 めん羊の材料および方法

| | 処 理 | 実験期間 |
|-------|-----------|------|
| めん羊-A | Mg, P+PTH | 30日 |
| " B | " +DOCA | " |
| " C | " +蔗糖 | 50日 |
| " D | " " | 30日 |
| " E | " ——— | " |

基礎飼料 ; 乳牛用配合飼料と乾草(オーチャードグラス)を1:1

Mg ; 酢酸マグネシウム 2%

P ; リン酸-ナトリウム・2水塩 3%

PTH ; 250U.S.P./日 10日間

DOCA ; 100mg/日 10日間

蔗糖 ; めん羊-C 10%20日間+20%10日間

めん羊-D 10%30日間

表 4 めん羊の尿結石発現

| | 腎 盤 結 石 | 膀 胱 結 石 | 膀 胱 炎 |
|-------|---------|---------|-------|
| めん羊-A | 卅 (米粒大) | - | - |
| " B | + (砂粒大) | - | - |
| " C | 卅 (米粒大) | 卅 (粟粒大) | + |
| " D | 卅 (#) | - | - |
| " E | - | - | - |

表 5 めん羊の腎臓組織変化

| 部 位 | 糸球体 | ボーマンのう | 近位尿管 | 上行脚 | 上行 | 遠位 | 集合管 |
|----------------|-------|--------|----------------------------|------------------|---------------------|-----|-------------------------------------|
| 組織の 変化 区 | 萎縮の肥厚 | 基底膜の肥厚 | 基底膜の肥厚 尿細管の拡張 刷子縁の脱落 | 基底膜の肥厚 腔内糖蛋白質 | 基底膜の肥厚 細胞質のPAS顆粒 | 風船化 | 腔内陽性細胞顆粒 腔内ABPAS細胞顆粒 腔内脱落細胞顆粒 |
| | + | + | + | + | + | + | + |
| | + | - | - | + | + | - | + |
| | + | + | + | + | + | + | + |
| | + | + | + | + | + | + | + |
| めん羊 A | + | + | + | + | + | + | + |
| " B | + | - | - | + | + | - | + |
| " C | + | + | + | + | + | + | + |
| " D | + | + | + | + | + | + | + |
| " E | - | - | + | + | + | + | + |

表 6 材料および方法

| | 頭 数 | P T H | 蔗 糖 | P | 実験期間 |
|-------|-----|-------|-----|---|------|
| P T H | 2 | + | - | - | 20日 |
| 蔗 糖 | 2 | - | + | - | " |
| P | 2 | - | - | + | " |
| 対 照 区 | 1 | - | - | - | " |

実験動物 ; めん羊

基礎飼料 ; 乳牛用配合飼料と乾草(オーチャードグラス)を1:1

P T H ; 100U.S.P./日 20日間

蔗 糖 ; 基礎飼料中15%の割合で添加

P ; リン酸-ナトリウム・2水塩 基礎飼料中1.5%添加

表 7 めん羊の腎臓組織変化

| 部位 | 糸球体 | ボーマンのう | 近位尿管 | 上行脚 | 上行 | 遠位 | 集合管 |
|----------------|--------|------------------------------|---------------------------------------|------------------|---------------------------------|-------------|--------------------------------------|
| 組織の 変化 区 | 基底膜の肥厚 | 基底膜の肥厚 腔内PAS顆粒 腔内蛋白質顆粒 | 基底膜の肥厚 腔内蛋白質顆粒 尿細管の拡張 刷子縁の脱落 | 基底膜の肥厚 腔内糖蛋白質 | 基底膜の肥厚 細胞質のPAS顆粒 風船化PAS顆粒 | 腔内顆粒 風船化 | 腔内陽性細胞 腔内PAS顆粒 腔内蛋白質顆粒 脱落細胞 |
| | 萎縮 | 基底膜の肥厚 腔内蛋白質顆粒 | 基底膜の肥厚 腔内蛋白質顆粒 尿細管の拡張 刷子縁の脱落 | 基底膜の肥厚 腔内糖蛋白質 | 基底膜の肥厚 細胞質のPAS顆粒 風船化PAS顆粒 | 腔内顆粒 風船化 | 腔内陽性細胞 腔内PAS顆粒 腔内蛋白質顆粒 脱落細胞 |
| P 蔗 | + | + | + | + | + | - | + |
| T 糖 | + | - | + | + | + | - | + |
| P P | - | + | + | - | + | + | + |
| 対 照 | - | + | + | - | - | - | - |

審査結果の要旨

肥育牛の尿結石症の発生要因を実験的に解明するため、ラット70頭、めん羊12頭を用いて以下の研究を行なった。ラットを用いた実験では、P過剰給与下で上皮小体ホルモン（PTH）または乳酸の投与により尿結石が発現し、腎臓尿路系の退行変性と多糖類の組織沈着を伴っていた。P過剰給与下でのDOCA投与またはP過剰給与では尿結石は発現せず腎臓の組織障害のみが認められた。めん羊を用いてP、Mg過剰給与下でPTHまたは乳酸の代替物として蔗糖の大量投与を行うと、同様に腎臓の組織障害を伴う尿結石の発現を見たが、DOCA投与はあまり有効ではなかった。次にPTH、蔗糖のそれぞれ単独給与による腎臓の組織障害について、光顕組織化学的および電顕学的に観察したところ、PTHまたは蔗糖の投与による腎臓尿路系の退行変性がいちぢるしく、とくにヘンレー系路上行部の糖原変性と髄質部集合管の介在細胞の酸性多糖類の沈着・分泌像が認められた。

以上の成績から尿結石症はP、Mgの過剰摂取による尿中への排泄増加に加えて、P過剰によるPTHの過剰分泌と、乳酸、P等による腎臓の組織障害と酸性多糖類の分泌増加等の諸要因が関与して発生するものと結論された。

以上本研究により、尿結石症の発生要因の解明が行われ、その発生機序がほぼ明らかにされた。このことは尿結石症の発生防止、治療にも有益な示唆を与える重要な基礎的知見であって、審査員一同は、著者は農学博士の学位を授与されるに十分な資格があると判定した。