梅花鹿 (*Cervus nippon* Temminck) の 慢性フッ素中毒の骨病理像

吉川 博康¹⁾, 藤原 弘明¹⁾, 李 力 権²⁾, 夏 志 平²⁾,
潘 耀 謙²⁾, 王 水 琴²⁾, 吉 川 堯¹⁾

1) 北里大学獣医学部産学部獣医学科獣医病理学講座 〒034 十和田市東二十三番町 35-1

2) 長春農牧大学動物医学系病理教研室 中国吉林省長春市西安大路 175

(1996.7.22 受付, 1996.7.30 受理)

Osteopathology of Chronic Fluoride Toxication in Sika Deer (*Cervus nippon* Temminck)

Hiroyasu YOSHIKAWA¹⁾, Hiroaki FUJIWARA¹⁾, Liquan LI²⁾, Zhiping XIA²⁾,

Yaoqian PAN²⁾, Shuiqin WANG²⁾ and Takashi YOSHIKAWA¹⁾

1) Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Sciences,
Kitasato University, Towada City, Aomori 034, Japan

2) Department of Veterinary Medicine, Changchun University of Agriculture and Animal Sciences, Changchun, China

ABSTRACT. An histopathologic examination was carried out on two 8- and 9-year old Sika deers (*Cervus nippon* Temminck), that had osselets in various parts of their bones, at a deer ranch in Jilin, China. Each animal received feed containing a fluoride additive ranging in amount from 1.08~1.60 mg/kg/day for about 7 months. The fluoride contents of the osselets examined were in the range of 499.00~1,069.00 ppm. Autopsies revealed osselets of various sizes in the limbs and facial bones. The histological findings obtained showed an increase in the connective tissue, cartilage and bone formation, increased osteoid, and the formation of new trabecular bone. These pathological changes most likely belong to periosteal hyperostoses.

Key words : Chronic fluoride toxication, Sika Deer, Osselets, Pathology, Periosteal hyperostoses

Jpn. J. Zoo Wild. Med. 1(2) : 99-104, 1996

緒 言

フッ素は生体内では硬組織の形成に關与する微量元素である。しかし、過剰摂取によって起こるフッ素中毒は、急性では胃腸障害や腎臓障害、慢性では斑状歯や歯形成不全および骨病変が生じることが報告されている^{2,10)}。フッ素は自然界では火山灰に含まれることが多く、そのため世界的に火山地帯において家畜ないし野生動物にもたらす影響が注視されている¹⁾。近年、アルミニウム工業の廃液による

フッ素中毒が発生しており、環境汚染の観点からも重要な問題となっている^{4,11)}。

動物のフッ素中毒に関する報告は比較的多く、実験例の報告も多数みられる。その大部分は血液、歯、骨および泌乳などについての臨床的または生化学的研究である。一方、フッ素中毒における病理像としては、歯エナメル質の低形成および骨芽細胞の低形成が挙げられている^{1,3,6,12)}。Shupeら(1992年)は、牛におけるフッ素中毒の総説の中で歯および骨の病理形態学的特徴は Periosteal hyperostoses,

吉川 博康ら

Osteosclerosis, Exostosis および Osteoarthritis であると論じている¹⁰⁾。

中国では古来より鹿茸は漢方薬として重宝され、養鹿は重要な産業として定着している。著者らは中国吉林省において、飼料添加物に起因し多発性骨瘤形成を特徴とする梅花鹿 *Cervus nippon* Temminck の慢性フッ素中毒症を検索する機会に恵まれた。本論文は、梅花鹿の慢性フッ素中毒症における骨病変について、病理形態学的に検討したものである。

材料および方法

検索症例

梅花鹿の成鹿を約 600 頭飼育する某鹿牧場で、1994 年 1 月下旬より四肢、肋骨および頭蓋骨に骨瘤を形成する鹿が多発した。なお、当牧場では 1993 年 9 月～1994 年 4 月まで、多量のフッ素を含んだ飼料が給与されていた。添加剤中のフッ素含有量は 116.908～242.862 ppm で、1 日当たりのフッ素の摂取量は体重比で 1.08～1.6 mg/kg と計算された。

本研究で使用した検索症例は、添加剤投与中止から約 1 年後の 1995 年 5 月に剖検された梅花鹿の雌、8 歳(症例 1)、雄、9 歳(症例 2)の 2 例である。それらは麻酔下で、放血安楽殺後、以下の方法により検索された。

フッ素の定量

骨組織および骨瘤について灰化处理し、蒸留フッ素試薬を加え分光光度計(上海製、722 型)により測定した。

X 線検査

骨瘤および骨組織は、X 線装置(上海製、F-10 型)および軟 X 線装置(Softex)を用いて観察した。

走査型電子顕微鏡学的検索

剖検時採取された骨および骨瘤組織の小片は、Glutaraldehyde-OsO₄ で固定し、脱水後、臨界点乾燥、白金蒸着し、S-500 型(Hitachi)走査型電子顕微鏡で観察した。

病理組織学的検索

剖検時に採取した全身性諸臓器は、中性緩衝ホルマリンで固定後、アルコール上昇脱水・パラフィン包埋し、薄切後 Hematoxylin-Eosin 重染色(HE 染色)を施し鏡検した。また、骨組織および骨瘤は、ホルマリン固定あるいは Picric acid-Formalin-Formic acid(PFF)固定後、HCl-NaCl 液またはテトラ酢酸エチレンジアミン 4 ナトリウ

ム(EDTA-4 Na)で脱灰処置後、一般諸臓器と同様に包埋、薄切し、HE 染色および Azan-Mollory 染色を施し鏡検した。

結 果

骨組織のフッ素含量

骨および骨瘤中のフッ素含量は、症例 1 では 1,069.09 ppm、症例 2 では 499.82 ppm で、牛におけるフッ素含有量の正常範囲内(401～1221 ppm)にあった⁹⁾。

剖検所見

症例 1 では、左後肢中足骨に極めて硬い 3 個の骨瘤を形成していた(写真 1-A)。それら骨瘤は互いに融合し、長径 15×直径 8 cm 大になっていた。骨瘤部縦断面の観察では、中足骨は厚い新生骨によって包まれていた。骨瘤は既存の骨皮質の外側に硬く粗な骨質構造から構成されていたが、白色の充実巢も混在していた(写真 1-C)。

症例 2 では、右側前肢の橈骨と尺骨が癒着変形し、さらに、右側中手骨、右側中足骨、両側眼瞼骨および左側下顎骨に骨瘤が形成されていた。すなわち、右側中足骨は骨瘤形成で骨表面は粗造となり太くなっていた。左側中手骨表面にはピンポン球大に至る多数の骨瘤を形成していた。左側中足骨の骨幹中央部から遠位端領域は、骨質の増生によってその径を増し表面は粗造となっていた。両側眼瞼周囲骨質は、極めて硬い突出性の骨瘤を形成し、鋸断面は緻密で大理石様の光沢を呈していた。それら骨瘤の断面は粗な骨様組織を示していた。

X 線所見

症例 1 の中足骨周囲に形成された骨瘤は外側方向に不規則に走行する繊細な骨梁として写し出された(写真 1-B、2)。一方、中足骨皮質は透過密度がやや粗となっていたが、正常構築を保持していた。症例 2 の中手骨および下顎骨の皮質は外骨膜から増殖した骨様組織によって、その径を増していた。眼瞼に形成された極めて硬固な骨瘤は、緻密な骨質よりなっていた。

走査型電子顕微鏡所見

骨瘤組織のハーバス管の配列は不整となり、その間の骨基質線維は均一性を失い多方向に錯走していた。ハーバス管の層状構造も配列不整となっていた(写真 3-A, B)。骨小腔は大小不同を示し、その分布は不規則でしばしば集合性に観察された。

鹿フッ素中毒の骨病理

写真 1 症例 1, 左中足骨に形成された大型骨瘤の剥皮後の肉眼像(A)。同骨瘤は X 線像で 2 個の骨瘤から形成され, 骨瘤内に繊細な骨梁が映し出されている (B)。骨瘤縦断面では, 既存の皮質骨 (矢頭) の外側に粗な骨質構造が観察される (C)。

写真 2 症例 1, 中足骨々瘤形成部横断の軟 X 線像
既存の皮質骨 (SC) 周囲に多数の骨梁から構成される新生骨組織 (NO) が認められる。

骨および骨瘤の病理組織所見

2 例とも骨瘤の組織像は, 質的に同様であった。その特徴は異常骨質の増殖性変化であった。すなわち, 明らかな骨瘤形成骨では外骨膜は線維性に肥厚し, 骨膜下層領域では間葉系細胞ないし骨芽細胞の増殖と軟骨および新生骨梁の

形成が認められた(写真 4-A)。また, 外骨膜下に増殖した結合組織は, しばしば骨化していた。これら増殖性変化によって外骨膜下は外側に向かって著しくその幅を増していた。新生類骨組織は Azan-Mollory 染色に赤染し, 骨細胞は萎縮し骨小腔の拡張を伴っていた。骨基質は疎となり, 骨

吉川 博康ら

写真4 症例1, 中足骨々瘤

外骨膜の結合織性増生(*)と、軟骨を伴う類骨および骨梁形成。新生骨梁の骨小腔は拡張している(A)。既存骨質(*)に対して外側に形成される新生骨を示す(B)。新生骨梁中の骨小腔は拡張し、周囲に破骨細胞(矢印)が散見される。HE染色, ×100

線維の走行不整と染色性の不均一性を示していた。また、骨単位の層板は配列不整を示し、その大きさも不揃いであった。一方、新生骨梁周囲には多数の粗性結合組織と骨芽細胞が観察されたが、破骨細胞の出現は少数であった(写真4-B)。症例1の右中手骨では、骨膜下に軟骨が広く形成され、同時に骨化を来していた。これら骨膜下に新生された骨組織と既存の骨皮質は区画され、その境界は明瞭であった(写真4-B)。既存の骨皮質領域では、一見、正常構造を保持しながらも極く一部でハーバス管の大小不同と、それを取り囲む層板構造の不整化が認められた。また、骨細胞も変性萎縮性であった。症例2の下顎骨および眼瞼骨の骨瘤は、いずれも緻密骨からなり骨細胞はことごとく変性壊死に陥っていた。

一般臓器の病理所見

2例共に一般諸臓器には特記すべき病変は観察されなかったが、脾臓およびリンパ節にリンパ球減少と髄外造血が認められた。

考 察

フッ素混入飼料を採取した梅花鹿の諸骨に形成された骨瘤の病理形態学的特徴は、①外骨膜下結合組織の増殖と軟骨および骨化、②新生骨梁ないし類骨増生、③新生骨梁の変性変化で、その本態は外骨膜性骨増生(periosteal hyperosteoses)と要約される。

ヒトおよび家畜における慢性フッ素中毒症では、異常歯と骨格異常が顕著に出現することが知られている^{1,2,5,10}。今回検索した2例においては、いずれも異常歯は観察されなかったが、異常骨の組織形態は牛で報告されている慢性フッ素中毒に酷似している^{2,3,5,8,10}。

Shupeら^{7,10}は、牛にフッ素を実験的に投与したところ、骨病変は60 ppm/day以上の長期投与により高率に発生し、骨質内のフッ素濃度は4,296 ppm以上であったことを報告している。それら骨格の病理組織像として外骨膜の肥厚、疎性結合組織の増生、島状石灰化軟骨、異常骨組織の増生、不整骨単位の形成、異常仮骨、骨細胞の変性等の変

鹿フッ素中毒の骨病理

写真3 症例1, 下顎骨, 走査型電子顕微鏡像

新生骨瘤部 (NO) は緻密骨 (SC) に比較し, 骨線維の走行が不規則となり (A), ハーバス管 (H) の層状構造と骨小腔 (矢頭) の配列不整が明らかである (B)。A: $\times 250$, B: $\times 500$

化を挙げ, それら病態に対して Periosteal hyperostoses, Osteosclerosis, Osteoporosis, Exostosis, Osteoarthritis および Osteomalacia 等の診断名を与えている。フッ素は生体内ではフルオアパタイト $[\text{CaF}_2 \cdot 3 \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \text{F}]$ として, 代謝の活発な骨膜および骨細胞に沈着蓄積し, 外骨膜症ないし異常骨単位を招来することや, 高濃度感作で骨の Ca 沈着を阻害することが知られている²⁾。なお, 6 か月齢から 36 か月齢までの若齢牛の永久歯は, 一般にフッ素作用に対する感受性が高いことが知られているが, 今回の症例において異常歯が認められなかったことは, 年齢的要因との関係が考えられる²⁾。

以上の病理組織学的検索結果から, 全身諸骨に形成された骨瘤の発生要因に対し, フッ素の多給に依ることが強く示唆される。しかし, 骨病変の病理形態発生に関しては, さらに詳細な検討が必要である。

今回の報告は, 梅花鹿における慢性フッ素中毒の初発生の報告とし, 将来重要視される可能性のある野生動物栄養問題のための基礎的情報として提示した。

要 約

中国吉林省の鹿牧場で, 全身諸骨に骨瘤を形成した 8 歳と 9 歳の梅花鹿 *Cervus nippon* Temminck の 2 例について病理学的検索を行った。いずれの症例も約 7 か月間, 体重比で $1.08 \sim 1.60 \text{ mg/kg/day}$ のフッ素が混入した飼料が給与されていた。検索例の骨瘤組織中におけるフッ素含有量は $499.00 \sim 1,069.00 \text{ ppm}$ であった。剖検では四肢骨, 顔面骨などに大小の骨瘤を形成していた。病理組織学的には, 外骨膜結合組織の増生と軟骨および骨化, 類骨増生ないし新生骨梁の形成を特徴としていた。それら骨病変は Periosteal hyperostoses の範疇に属するものと思われた。
キーワード: 梅花鹿, 慢性フッ素中毒, 骨瘤, 外骨膜性骨増生, 病理学

引用文献

1. Johnson LC. 1965. Histogenesis and mechanisms in the development of osteofluorosis. In *Fluorine chemistry*. Smons JH. eds. Academic

吉川 博康ら

- Press. New York. 4:424-441.
2. Jubb KVF, Kenedy PC, Palmer N. 1993. In: Fluorine poisoning In *Pathology of Domestic Animals*. pp. 88-93. Academic Press. Tokyo.
3. Maylin GA, Eckerlin RH, Krook L. 1987. Fluoride intoxication in dairy calves. *Cornell Vet*. 77(1):84-98.
4. Newman JR, Yu MH. 1967. Fluorosis in Black-Tailed Deer. *J Wildl Dis*. 12(1):39-41.
5. Roholm K. 1937. Fluoride intoxication. In *A Clinical-Hygiene Study with a Review of the Literature and some Experimental Investigation*. NTY Nordisk Forlag, Arnold Busck. Copenhagen. Denmark.
6. Shearer TR, Kolstad DL, Suttie JW. 1987. Bovine dental fluorosis Histologic physical characteristics. *Am J Vet Res*. 39(4):597-602.
7. Shupe JL. 1963. The effect of fluorine on dairy cattle. *Am J Vet Res*. 24(99):300-306. 24(102):964-979.
8. Shupe JL, Olson AE, Sharma RP. 1972. Fluoride toxicity in Domestic and wild animals. *Clin Toxic*. 5(2):195-213.
9. Shupe JL. 1980. Clinicopathologic Features of Fluoride Toxicosis in cattle. *J Anim Sci*. 51(3):746-758.
10. Shupe JL, Bruner RH, Seymour JL, Alden CL. 1992. The pathology of chronic bovine fluorosis A review. *Toxicol Pathol*. 20:274-285.
11. Suttie JS, Dickie R, Clay AB, Nielsen P, Mahan WE, Baumann DP, Hamilton RJ. 1987. Effect of fluoride emissions from a modern primary aluminum smelter on a local population of White-tailed Deer. *J Wildl Dis*. 23(1):135-143.
12. Suttie JW, Clay AB, Shearer TW. 1987. Dental fluorosis in bovine temporary teeth. *Am J Vet Res*. 46(2):404-408.