Histopathogenesis of Thickening of the Hoof Wall Laminae in Equine Laminitis

Tsutomu KAMEYA, Keiji KIRYU and Mikihiro KANEKO

*Equine Health Laboratory, Japan Racing Association,
27-7 Tsurumaki 5, Setagaya-ku, Tokyo 154*

Hiroshi SATOH

*Department of Comparative Pathology, Faculty of Veterinary Medicine,
Hokkaido University, Sapporo-shi, Hokkaido 060*

(Received for publication November 16, 1979)

Abstract. Histopathological observation was conducted mainly on the laminar layers of 17 affected and 13 unaffected hoofs from 10 laminitis-affected horses and also on the branches of digital nerves and the vascular nerves of digital arteries and veins from laminitis-affected and 20 control laminitis-unaffected horses. The laminar layer in the laminitis-affected hoofs thickened and was 22.2 ± 8.3 mm thick (A), while 6.6 ± 4.1 mm in the laminitis-unaffected (B) and 3.7 ± 0.9 mm in 43 control hoofs (C); there were significant differences between A and B, A and C, and B and C, respectively. Principal changes in the laminitis-affected hoofs were: (a) in the epidermal laminae, irregular striking growths of the epithelium, hydropic degeneration of epithelial cells, nonformation, defective formation or degeneration of onychogenic fibrils, and formation of keratohyalin granules; (b) in the dermal laminae and laminar corium, edema, capillary and venular dilatation, and edema of the nerve bundles. The peripheral nerves, including the vascular nerves, showed frequent edema and/or multifocal loss of nerve fibers in the nerve bundles. The morphological entity of the thickening of the laminar layer was regenerative growths of the epidermal laminae in the line of defective onychogenic process (squamous metaplasia). The changes in the laminar layer may have been effected by circulatory disturbances and such a disorder of vascular movement as is inferred from the organic disturbances in the peripheral nerves may have played an important role as the origin of the circulatory disturbances.

馬の蹄葉炎における蹄壁内層肥厚の形態病理発生

亀谷 勉・桐生啓治・兼子樹広

日本中央競馬会競走馬総合研究所

佐 藤 博

北海道大学獣医学部比較病理学教室

さきに、著者の一人亀谷が、蹄葉炎罹患馬の臨床学的考察を行なった [2]。その際、蹄骨壁側面と蹄壁外面との距離の増大（蹄壁内層肥厚）をレ線像で観察し

た。今回はこの変化の成立ちを探るべく、病理組織学的検索を行なった。

Table 1. Horses affected with laminitis

Case No. ¹⁾	Breed ²⁾	Sex ³⁾	Age (year)	Affected hoof ⁴⁾	Duration of illness (month)	Termination ⁵⁾	Path. Acc. No.
8	Th	M	5		4	K Mar. 14 '66	No. 6
1	Th	M	6		2	K Jun. 23 '61	No. 8
12	Th	G	10		35	K Jun. 10 '69	EHL-190
3	Th	F	3		4	K Jan. 10 '69	No. 2
6	Th	F	3		2	D Dec. 12 '65	No. 4
9	Th	M	4		6	K Feb. 27 '67	No. 10
5	Th	M	4		1	D Jun. 17 '64	No. 3
7	Th	M	5		2	K Feb. 19 '66	No. 5
21	Th	M	4		1	K Mar. 9 '71	EHL-281
18	AA	F	3		2	K Aug. 20 '70	EHL-249

¹⁾ Each individual case is identical with that of the same Case No. in Kameya's report [2].

²⁾ Th, Thoroughbred; AA, Anglo-Arab.

³⁾ M, Male; F, Female; G, Gelding.

⁴⁾ For example, , , and show laminitis affection in left forefoot, right forefoot and hindfeet, respectively.

⁵⁾ K, Killed; D, Died.

Table 2. Thickness of the laminar layer of the toe wall in sagittal section¹⁾

Laminitis-affected horses		Control horses ²⁾ (Laminitis-unaffected)
17 affected hoofs (A)	11 unaffected hoofs (B)	43 hoofs (C)
22.2 ± 8.3 mm	6.6 ± 4.1 mm	3.7 ± 0.9 mm

There are significant differences ($P < 0.001$) between A and B, and A and C, and $P < 0.05$ between B and C.

¹⁾ The most thickened part of the laminar layer was measured.

²⁾ 11 light horses with fracture, 3~5 years of age, which are protocolled by Path. Acc. No. of our Laboratory, EHL-697~701, 707, 708, 729, 730, 733 and 734.

材料および方法

1. 前報 [2] 42 例の蹄葉炎罹患馬のうちの 10 例 (Tables 1, 3) の罹患蹄 17 および非罹患蹄 13, 計 30 蹄を検索の対象とした。また, 日常剖検例のうちの非蹄葉炎軽種馬 11 例の 43 蹄を, 蹄葉炎罹患蹄の肉眼的観察を助けるための対照材料とした (Table 2)。

2. 蹄壁の肉眼観察 蹄尖部蹄壁の矢状断面につい

て, 蹄壁内層すなわち葉状層 (laminar layer, stratum lamellatum) を中心に, 肉眼的観察を行なった。葉状層の厚さの計測はその最大部位で行なった。

3. 組織学的検索部位 蹄葉炎馬 30 蹄 (Table 3) の蹄尖部蹄壁の矢状断面から, 葉状層を中心として, 背-腹断組織片を各数箇所採取した。

蹄に関係のある指 (趾) 動脈, 指 (趾) 静脈並びに指 (趾) 神経からも組織片を採取した (Table 3)。ま

Table 3. Tissues histologically examined in laminitis-affected horses

Case No.	Laminitis-affected hoof ¹⁾	Tissues examined ²⁾		
		Toe-wall laminae	Digital nerves	Digital arteries and veins
8	● 	○ 	○ 	○
1	● 	○ 	○ 	○
12	● 	○ 	○ 	○
3	●● 	○ 	○ 	○
6	●● 	○ 	○ 	○
9	●● 	○ 	○ 	○
5	● 	○ 	○ 	○
7	● 	○ 	○ 	○
21	●● 	○ 	○ 	○
18	●● 	○ 	○ 	○
Total	17	30	25	23

¹⁾ See the remarks on Table 1.

²⁾ For example, , and show the left forefoot, right forefoot and all four feet, respectively.

た、血管神経の観察を助けるため、対照として、日常剖検例のうちから非蹄葉炎軽種馬20例を選び、それらからも指（趾）動脈を採取した（Table 4）。

4. 組織学的検索法 組織材料の固定には 10% フォルマリン液を使用した。包埋はパラフィンによる。組織切片薄切は 5 μ m で行なった。組織切片標本の染色にはヘマトキシリンエオジン染色およびアルシアン・ブルー染色を用いた。

成 績

1. 蹄壁葉状層の固定後肉眼所見

蹄葉炎罹患蹄の全てにおいて葉状層が肥厚していた。その肥厚の程度は蹄負縁に近い程大であった（Figs. 1, 2）。17罹患蹄の葉状層の厚さは 22.2 ± 8.3 mm で、蹄葉炎馬の非罹患11蹄の 6.6 ± 4.1 mm、および対照馬34蹄の 3.7 ± 0.9 mm との間にはそれぞれ有意差（ $p < 0.001$ ）があった。蹄葉炎馬非罹患蹄の葉状層の厚さと対照馬蹄のそれとの間にも有意差（ $p < 0.05$ ）があった（Table 2）。

蹄葉炎罹患蹄の葉状層は、肥厚が重度な場合ほど、

より構築不整であった。蹄壁真皮（laminar corium）との境も、一般に不整であった。肥厚葉状層は乳白色で、密実であった。そしてその葉状層は、罹患馬の非罹患蹄および対照蹄のそれらと比較して、ナイフによる切断に際して幾分抵抗が小さかった。肥厚葉状層に裂隙が形成されていることもあった（Case No. 3 の左前肢蹄，No. 5 左後肢蹄，No. 7 左後，No. 9 左前，No. 18 全肢蹄，No. 21 両側後）。裂隙部は暗褐色を呈していることもあった。

罹患蹄の蹄壁真皮は、水腫性に見え、葉状層の肥厚の重度な蹄において時に約2倍に繊維性肥厚を呈していたが（Fig. 2），一般にはわずかに肥厚しているに過ぎなかった。

2. 組織学的所見

A. 蹄壁葉状層

1) 罹患蹄

表皮葉（epidermal laminae）は非常に不規則に、著しく増殖していた（Figs. 3, 4）。表皮葉の太さおよび長さは著しく不揃いであった。一次表皮葉と二次表

Table 4. Incidence of vascular nerve disturbances¹⁾ in the digital arteries and veins

Laminitis ²⁾ -affected hoof	Number of case	Forefeet				Hindfeet				Total	
		Left		Right		Left		Right		Total	
		Artery	Vein	Artery	Vein	Artery	Vein	Artery	Vein	Artery	Vein
1	1/1 ³⁾	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	4/4	3/4
2	. ⁴⁾	.	2/2	1/2	.	.	.	.	2/2	1/2
3	2/2	1/2	2/2	1/2	1/1	1/1	.	.	5/5	4/5
2	2/2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	.	.	4/4	3/3
1	1/1	1/1	1/1	0/1	1/1	0/1	1/1	.	4/4	1/3
1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	4/4	4/4
Total	10	7/7	5/6	8/8	5/8	5/5	4/5	3/3	1/2	23/23	16/21
⁵⁾	20	1/20	.	6/20	.	4/20	.	3/20	.	14/80	.

¹⁾ Edema and/or axon degeneration in the nerve bundles.

²⁾ See the remarks on Table 1.

³⁾ Numerator: Number of the feet of which the blood vessels had the diseased vascular nerve bundles.
Denominator: Number of the feet of which the blood vessels were examined.

⁴⁾ Not examined.

⁵⁾ Control Thoroughbred, 4-9 years of age, laminitis-unaffected, almost all of which fractured; Path. Acc. No. of our Laboratory, EHL-431~433, 435~443, 449~455 and 464.

皮葉のそれぞれの大きさの釣合いはほとんど取れていなかった。表皮葉の基底細胞にはしばしば有糸核分裂像が観察された (Fig. 5)。表皮葉は、しばしば上皮細胞の水腫性変性、核濃縮を、時には水腫性の組織疎鬆化を呈してした。水腫性変性に陥った細胞はしばしば細胞質内にエオジン淡染液状物を含んでいた (Figs. 8, 9)。表皮葉は蹄芽原繊維 (onychogenic fibrils) の無形成、不完全形成あるいは変性を呈していた (Figs. 3, 4, 5)。不完全形成の場合、蹄芽原繊維はしばしば表皮葉中心部に不連続的に島嶼状に存在していた。変性は不完全に形成されている蹄芽原繊維に起こり、水腫性膨化、均質化あるいは融解から成っていた。表皮葉に蹄芽原繊維が連続的に完全に形成されているような像はほとんど見出されなかった。表皮葉の有棘細胞にはしばしばケラトヒアリン顆粒の産生が見られ、時には基底細胞にもそれが見出された (Fig. 10)。

真皮葉 (dermal laminae) は、配列の不整、太さおよび長さの不整、並びに毛細血管および小静脈の拡張を呈していた (Figs. 3, 4, 6)。真皮葉には軽い出血を見ることもあった。表皮葉に接する真皮葉領域にはし

ばしばエオジン淡染の液状物質 (水腫液) の滞留があった (Figs. 6, 7)。

2) 非罹患蹄

表皮葉は時に太さおよび長さの不揃いを呈していた。上皮細胞は一般に水腫性変性に陥っていた。表皮葉のあるものには、蹄芽原繊維の不足あるいは欠如、有棘細胞におけるケラトヒアリン顆粒の産生、あるいは基底細胞における有糸核分裂像の散在が見られた。

真皮葉は軽く水腫性であった。

B. 蹄壁真皮

蹄葉炎馬の罹患蹄および非罹患蹄は水腫、並びに毛細血管および小静脈の拡張を呈していた。このような変化は罹患蹄においてその程度がより強かった。小さい細小血管は、しばしば壁の水腫性疎鬆化あるいは膨化を、そしてあるものは水腫性かつ繊維性膨化 (血管の変性) を呈していた。神経束にはしばしば水腫が起っていた。

C. 蹄壁の炎症変化

蹄葉炎罹患蹄の約半数 (8/17; Case Nos. 1, 5-8, 21) において、蹄壁真皮を中心に好中球、円形細胞あ

るいはその双方の軽度の浸潤が観察された。1例 (Case No. 1) の非罹患蹄にも極めて稀に同様の細胞浸潤が見出された。

D. 指 (趾) 神経, 並びに指 (趾) 動・静脈の血管神経

1) 蹄葉炎罹患馬

蹄葉炎馬における検索全25肢の指 (趾) 神経 (Table 3) は, 蹄葉炎の罹患, 非罹患を問わず, 神経束内水腫あるいは多巣性神経繊維脱落あるいはその双方を呈していた。脱落巣はしばしば清掃細胞を含み, 時に膠原繊維増殖を伴っていた (Fig. 11)。

蹄葉炎の罹患, 非罹患に関係なく, 検索全23肢の指 (趾) 動脈の, そして検索21肢の指 (趾) 静脈のうちの16肢のその血管神経束にしばしば病変が存在していた (Tables 3, 4)。病変は水腫あるいは軸索膨化あるいはその双方からなっていた (Fig. 12)。動脈および静脈の内膜はしばしば水腫性で, それらの壁栄養血管はときにそれ自身の壁の水腫性疎鬆化あるいは膨化を呈していた。

2) 対照馬

非蹄葉炎馬の指 (趾) 動脈の血管神経束は, 80肢中14肢においてのみ, 稀に軽微な水腫を呈していただけであった (Table 4)。

考 察

レ線像で蹄葉炎罹患蹄に見られた蹄壁内層の肥厚 [2] は, 主として葉状層表皮葉の増殖によることが今回の病理組織学的検索によって明らかとなった。

蹄葉炎罹患蹄の蹄壁葉状層の表皮葉における, 上皮細胞の増殖, 蹄芽原繊維の無形成, 不完全形成あるいは変性, ケラトヒアリン顆粒の産生, 並びに上皮細胞の水腫性変性は, 次のようなことを意味しているものと考えられる。すなわち, (a) 表皮葉に起こる持続的かつ緩慢な退行性変化が, 上皮細胞の持続的な再生を促している; (b) しかし, 再生上皮細胞は, 持続的な水腫性変性の影響により, 蹄質形成に向って正常な角化を起し得ず, しばしば誤った方向, すなわち皮膚表皮におけるような角化方向の発育 (類表皮化生) を起こす。

表皮葉の水腫性変性の成因を考える場合, 真皮組織とくに真皮葉における水腫, 血管拡張並びに小さい細小血管の変性の存在が重視されなければならない。このような循環障害は, 指 (趾) 支配の指 (趾) 神経, 指 (趾) 動・静脈の血管神経系, 並びに蹄壁真皮走行神経

における病変存在により推定される血管運動変調が一つの大きな成因となって起こったものと理解される。

馬の蹄葉炎の病理発生において, 蹄の角化過程を問題にしている研究者として Obel [4] がいる。氏は馬における急性の産後性並びに食餌性蹄葉炎は蹄における角化過程の障害であり, 角化帯からの蹄芽原繊維 (onychogenic substance) の崩壊・消失によって特徴づけられると結論している。因みに, 牛の蹄葉炎例において, Nilsson [3] も表皮葉における蹄芽原繊維 (onychogenic substance) の消失を観察している。

馬の蹄葉炎の際の循環障害に関しては, Rooney [5] 並びに Coffman ら [1] の観察が興味を呼ぶ。Rooney [5] によれば, 蹄葉炎が起こるときは, 指 (趾) 動脈系は収縮を来す; 血管拡張は通常血管痙攣期を経て現われ, そして蹄内血液停滞を来すに至る。Coffman ら [1] によれば, 食餌性蹄葉炎においては, 指 (趾) 動脈の収縮と毛細血管床における血液停滞とによって, 蹄壁真皮は正常な血液供給を受けていない。

馬の蹄葉炎の際の表皮葉上皮における変性に関しては: Rooney [5] は急性蹄葉炎例には急性虚血性の変化の一つである空腔性変性が表皮葉上皮に起こることを観察している; Obel [4] は急性蹄葉炎において, 蹄における角化過程の障害 (上述) により, 二次表皮葉上皮に強靱性の減弱化と体重による上皮の過度伸張が起こり, 重症例では部分的に壊死が起こると考察している。

蹄葉炎の際に末梢神経系の器質的障害が注目されたことは, 馬においてはこれまでにない。しかし牛において, 蹄壁真皮における神経束の水腫と神経周膜の繊維化を Nilsson [3] が観察している。

蹄葉炎罹患蹄に見られた真皮葉におけるエオジン染色水腫液の滞留は, 持続的な循環障害のあらわれであると解される。この組織像は葉状層における組織離断あるいは組織解離の招来を推測させる。肉眼的に葉状層に見られた裂隙形成は, このような循環障害が一つの大きな成因となってもたらされたものであるのかも知れない。Rooney [5] が観察した急性蹄葉炎における変化, すなわち蹄骨からの蹄の分離とその分離隙における血液の充満, がこのような成立ちによって起こったものであるのか, あるいは Obel [4] の考察, すなわち二次表皮葉における壊死 (上述) が広範になるときは表皮葉 (角質葉 *horny laminae*) と真皮葉 (知覚葉) との間に完全解離が起るといふ, そのような方法で起ったものであるのかは興味ある問題である。

蹄葉炎罹患馬の非罹患蹄における葉状層の肉眼および組織像は、その蹄が亜臨床型蹄葉炎罹患を示しているのかも知れない。

蹄葉炎罹患蹄における炎症細胞浸潤は、約半数の蹄のみに、軽度なものとしてしか観察されなかった。馬の蹄葉炎の組織学的変化の根幹は非炎症性性格のものであるとみなされる。

要 約

蹄葉炎罹患馬10例の罹患蹄17および非罹患蹄13を、蹄壁肥厚の成立を探るべく、葉状層を中心に病理組織学的に観察した。指（趾）神経並びに指（趾）動・静脈の血管神経についても検索した。

罹患蹄は全て葉状層の著しい肥厚を呈していた；その厚さは 22.2 ± 8.3 mm (A) であった。罹患馬の非罹患蹄における厚さは 6.6 ± 4.1 mm (E)，そして対照43蹄における厚さは 3.7 ± 0.9 mm (C) であった。A と B, 並びに A と C の間にはそれぞれ有意差 ($p < 0.001$) があった；B と C との間にも有意差 ($p < 0.05$) があった。

罹患蹄の主要組織病変は：(a) 表皮葉における不規則な強い上皮増殖，上皮細胞の水腫性変性，蹄芽原繊維の無形成，不完全形成あるいは変性，並びにケラトヒアリン顆粒の産生；(b) 真皮葉並びに蹄壁真皮における水腫，毛細血管および小静脈の拡張，並びに神経束水腫。末梢神経（血管神経を含む）はしばしば神経束水腫または多巣性神経繊維脱落またはその双方を呈

していた。対照80肢の指（趾）動脈の血管神経には稀にしか病変は見出されなかった。

蹄葉炎における蹄壁肥厚は葉状層肥厚に由来する。葉状層肥厚の形態学的本体は、表皮葉の不完全角化（すなわち不完全蹄質化）方向の再生性増殖（類表皮化生）である。葉状層のこの変化は、末梢神経系病変の存在によって推定される血管運動変調が一つの大きな成因となって起った循環障害の影響であろう。

本論文の要旨は、第74回日本獣医学会（1972年、帯広）で報告した。

文 献

- [1] Coffman, J. R., Johnson, J. H., Guffy, M. M., and Finocchio, E. J. (1970). Hoof circulation in equine laminitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **156**, 76-83.
- [2] Kameya, T. (1973). Clinical studies on laminitis in the racehorse. *Exp. Rep. Equine Health Lab.*, No. 10, 19-40 (in Japanese with English abstract).
- [3] Nilsson, S. A. (1963). Clinical, morphological, and experimental studies of laminitis in cattle. *Acta Vet. Scand.* **4** (Suppl. 1).
- [4] Obel, N. (1948). Studies on the histopathology of acute laminitis. Almqvist and Wiksells Boktryckeri Ab, Uppsala.
- [5] Rooney, J. R. (1970). The Locomotor System. In *Autopsy of the Horse*, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 43-45.

Explanation of Figures

- Figs. 1 and 2. Case No. 3, of which the forehoofs were affected with laminitis. Photomacrographs in sagittal section post-fixation. Fig. 1: Right hindhoof. Fig. 2: Right forehoof. Marked thickening of the laminar layer and corium, and dislocation (sinking and posterior rotation) of the coffin bone.
- Fig. 3. Case No. 6, of which the forehoofs were affected with laminitis. The laminar layer in the right forehoof. Irregular growths of the epidermal laminae showing defective formation or nonformation of onychogenic fibrils. The primary dermal laminae are hyperemic. Hematoxylin-Eosin stain (H-E), $\times 11$.
- Fig. 4. Case No. 7, of which the left hindhoof was affected with laminitis. The laminar layer in the affected hoof. Irregular growth of epidermal laminae with little or no onychogenic fibrils. The venules in the dermal laminae are dilated. H-E, $\times 42$.
- Fig. 5. Case No. 8, of which the left forehoof was affected with laminitis. The growing secondary epidermal lamina in the laminar layer in the affected hoof. In the lamina mitotic figures and nonformation of onychogenic fibrils are seen. H-E, $\times 628$.
- Figs. 6–8. Case No. 9, of which the forehoofs were affected with laminitis. The laminar layer in the left forehoof.
- Fig. 6. In the primary dermal lamina, marked edema (retention of edema fluids) and venular dilatation are seen. H-E, $\times 104$.
- Fig. 7. Edema in the secondary dermal laminae. Nonformation of onychogenic fibrils in the secondary epidermal laminae. H-E, $\times 209$.
- Fig. 8. Vacuolar degeneration of epithelial cells in the secondary epidermal lamina. The cytoplasmic vacuoles are filled with fluid substances. H-E, $\times 417$.
- Fig. 9. Case No. 5, of which the left hindhoof was affected with laminitis. The laminar layer in the affected hoof. The edematous epithelium near the stratum medium, showing edematous loosening of the tissue and vacuole formation in the cells. H-E, $\times 209$.
- Fig. 10. Case No. 6, of which the forehoofs were affected with laminitis. The laminar layer in the left forehoof. Formation of keratohyalin granules in the secondary epidermal lamina. H-E, $\times 310$.
- Fig. 11. Case No. 9, of which the forehoofs were affected with laminitis. Multifocal loss of nerve fibers in the right plantar digital nerve; there are many scavenger cells in the foci. H-E, $\times 82$.
- Fig. 12. Case No. 18, of which the four hoofs were affected with laminitis. The vascular nerve bundle in the adventitia of left lateral digital artery. Focal edema having irregular fibrillary structure in the bundle (arrow). Alucian blue stain, $\times 491$.