

馬蹄の走査電子顕微鏡による観察

藤井俊策・田村達堂・岡本敏一

広島大学生物生産学部
1979年4月28日 受理

Scanning Electron Microscopical Observations of the Equine Hoof

Shunsaku FUJII, Tatsudo TAMURA and Toshikazu OKAMOTO

Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Fukuyama

(Figs. 1-21)

蹄は四肢の遠位端を被う角質性の著しく変形した皮膚組織であり、蹄表皮と蹄真皮から構成されている。蹄表皮は一般的な表皮と相同的組織であり、表皮の角質層がとくに肥厚し、硬固となったいわゆる角鞘部である。蹄真皮は蹄表皮の内層を占め、外皮の真皮と相同的線維性結合組織層である。蹄表皮と蹄真皮は緊密に嵌合して狭義の蹄を構成している。

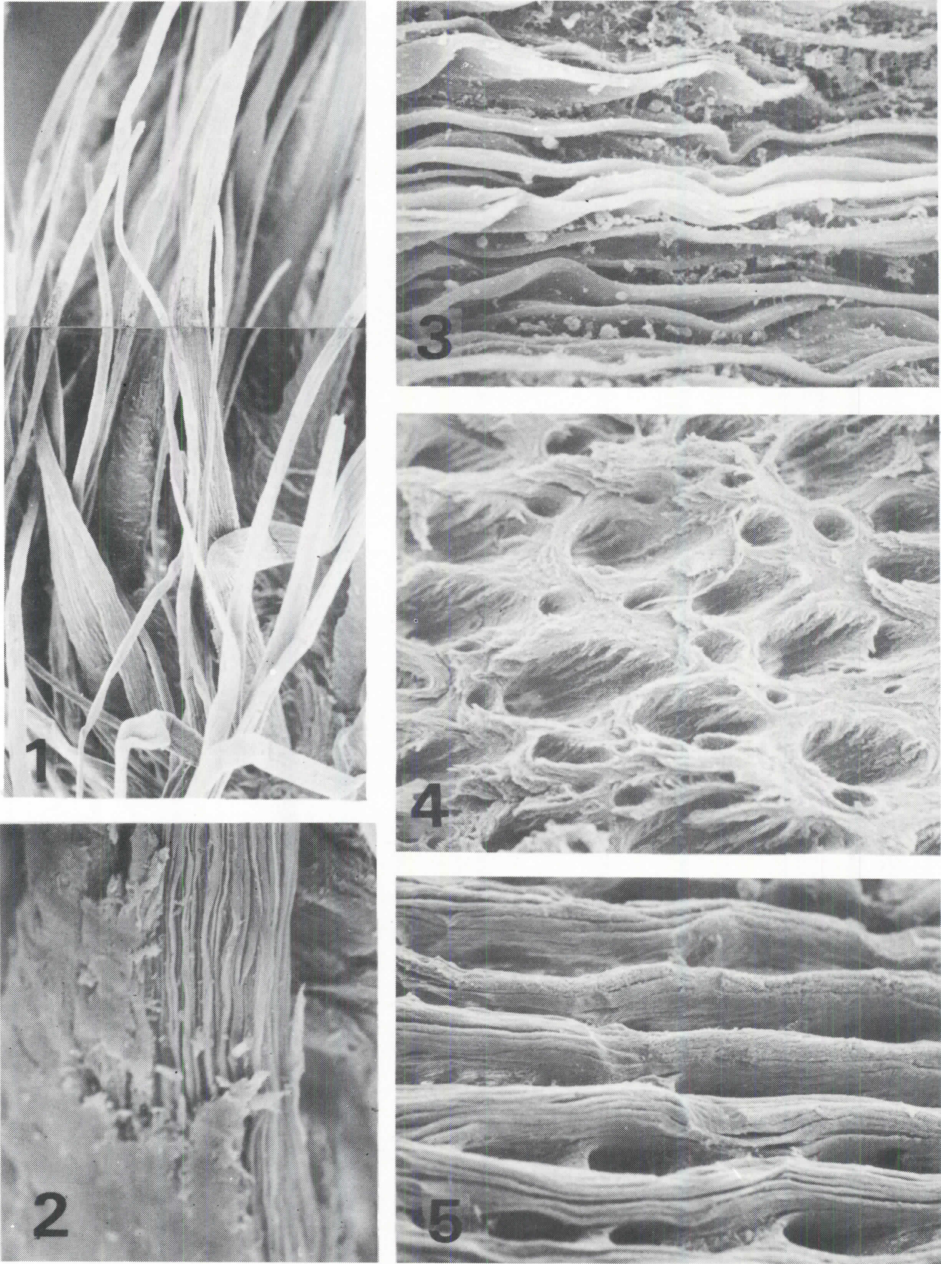
ウマの蹄の構造については、古くから多数の研究者によって肉眼的並びに組織学的に詳しく報告されている^{1,2,6,7,8})。しかし蹄は何分にも角質化した硬組織であるため、薄切標本の作製が極めて困難であり、このため光顕的並びに透過型電顕的に微細構造を調べるには相当の制約を受ける。これに反して、最近広く常用されている走査型電子顕微鏡は、硬組織の構造観察には極めて有力な装置であり、数多くの報告が行われている。本研究はこれに着目し、ウマの蹄の表皮並びに真皮の構造を走査型電子顕微鏡を用いて立体的に調べ、従来の光学顕微鏡下の所見と比較検討した。

材料と方法

本研究には、福山競馬場で骨折のために廃用になったアングロノルマン系種の蹄を用いた。先ず、と殺直後に蹄を第1指関節から離し、ついで蹄の各部、すなわち蹄冠部、蹄壁部、蹄負縁部、蹄底部、蹄叉部から真皮を含めて、それぞれ約1cm³大の組織塊を切出した。しかしこのままの試料では、蹄表皮と蹄真皮が嵌合しているために走査電顕観察には適当ではない。そこで、予めできるだけ自然の状態でも両層を分離することを試みた。この方法としては組織の浸解分離液を用いた。種々の浸解液の中で、馬蹄の場合には酢酸液または水酸化バリウム液が好結果をもたらした。

方法は、材料を大量の1%酢酸液または飽和の水酸化バリウム液に、液を毎日交換しながら2~3日間浸漬した。組織が十分に膨潤した後、ピンセットで軽く真皮を剥ぎとると、両層は容易に分離された。この浸解操作によって多少の組織の破壊は避けられない。なお両浸解液のうち酢酸液が水酸化バリウムに比較して細胞構造を良好に保つようであった。

分離されたそれぞれの組織塊はさらに小塊とし、10%ホルマリン液で十分に固定した。固定組織は水洗後、常法によって漸強エタノールを通して脱水し、酢酸イソアミルに導き、臨界点乾燥法で乾燥した。ついで金で蒸着し、走査電子顕微鏡を用いて15KVの加速電圧下で観察した。



- Fig. 1. The outer surface of the coronary corium at the middle portion of the corona. Note numerous filiform papillae (Coronary papillae) arising from the surface of the corium. The papillae vary somewhat in length and shape. Most of them lost their cellular covering by maceration. $\times 15$.
- Fig. 2. Magnification of a coronary papilla. The papilla is enveloped by the germinal layer in the left part, and it exposes the core of the papilla in the right part by separation of the layer. $\times 500$.
- Fig. 3. Magnification of the naked papilla in Fig. 2. The surface appears to be covered by a thin membranous coat largely wrinkled longitudinally. $\times 2,300$.
- Fig. 4. The inner surface of the coronary epidermis. Note numerous funnel-like openings (horn tubes) which contain the coronary papillae. $\times 35$.
- Fig. 5. The outer surface of the coronary epidermis near the bulb. In this region, fine parallel striae of the epidermis are formed and they continued on the epidermal lamellae at the inner edge of the coronary groove. $\times 35$.

所見と考察

蹄冠部

四肢末端の皮膚は蹄冠部において蹄に移行しており、移行部の皮膚は5～6mm幅に隆起し肉冠を形成している。肉冠は蹄冠縁に存在する蹄冠溝を充填し、蹄冠部を指輪状に縁取り、隆起を減じつつ後下方に伸び、蹄球部において皮膚に移行している。

肉冠を走査電子顕微鏡下で観察すると、外表面は毛を欠いた単純な角質層であって、輪廓不鮮明な角化細胞で被われていた。内表面は図1に示すように無数の乳頭が、その表面から派生しているのが認められた。これが蹄冠真皮乳頭である。図に見るように、乳頭は形、大きさは様々であるが、何れも長い糸状を呈しているのが特徴である。一般に丸味を帯びた長く太い大型の乳頭が多く認められ、長いものでは2～3mmに達した。これより細く短い乳頭も見られ、その多くは扁平化し、テープ状を呈している。乳頭は先端に移行するにしたがって次第に細くなり、末端は切断されたような形で終わっている。ウマの蹄冠真皮乳頭は5～6mmの長さであるといわれており^{8,9)}、今回の観察ではこれよりも短かく、また乳頭が扁平化している点などは、角細管を遊離する際に先端部が切れたり、乾燥のため変形したものと考えられる。

光顕像では、乳頭は胚芽上皮で被われているが、今回の分離標本ではこの上皮はわずかに乳頭基部にしか残っていないで(図2)、大部分の乳頭は真皮表面を直接に露出していた。これは浸解の操作によって胚芽層が脱落したためによる。曝露された乳頭の表面は、図2に見るように著しく皺状構造を呈している。この皺は乳頭基部においては長軸に平行に走っているが、先端に移行するにつれて線維に分離し網状に配列していた。図3は乳頭の外表面を拡大したものであるが、皺状構造は均質無構造の非細胞性組織に見えた。多分基底膜様の物質が乳頭の真皮結合組織の線維束を包んでいるのであろう。

一方、蹄冠真皮と結合する蹄冠表皮は、その内面に図4に示すように、大小の漏斗状の開口部を多く具えていた。これは蹄冠真皮乳頭を受容する蹄冠角細管である。角細管の大きさは、上記の蹄冠真皮乳頭の大きさと全く対応している。注目されることは、小径の角細管は大径の角細管の間に存在しており、新生の角細管と思われる。角細管の形はほぼ円形であり、内表面には縦走する皺壁が認められ、これが上記の乳頭髄質の皺壁と嵌合している。

蹄冠部の内縁で蹄冠表皮が蹄壁皮葉に移行する部位では、表皮は索状に隆起し、この隆起が皮葉に移行していた。蹄冠溝の索状隆起は蹄球部に近くなると一層明瞭になり、角細管はこの隆起間溝に規則正しく配列する傾向を示した(図5)。

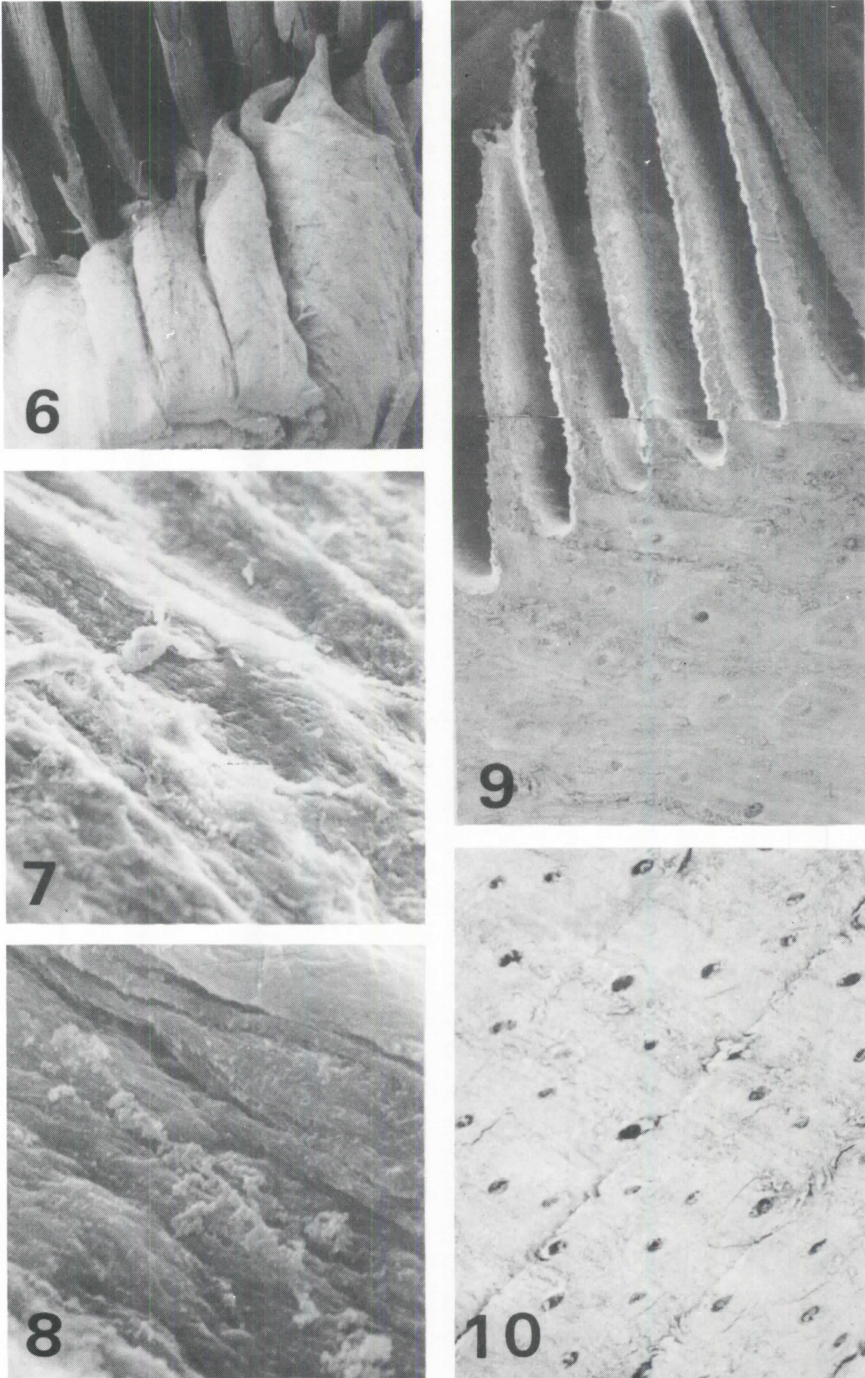
蹄壁部

蹄壁は蹄鞘の前と側面部位を占め、蹄壁表皮と蹄壁真皮から構成されている。蹄壁表皮は厚く、内側から外側に向って皮葉層(内層)、中間層、外層の3層に区別される。

蹄壁真皮の外表面を観察すると、図6に示すように、ここでは乳頭を形成することなく、葉状のヒダすなわち真皮葉を形成している。図は蹄壁表皮に緊密に嵌合している真皮葉が、表皮葉から分離しかかっているところを示したものである。蹄壁真皮は図に見るように断面では線維性構造を示しているが、表面は一見平坦に見える。しかしこれを拡大すると、図7に示すように低い皺状隆起がわずかに認められる。この隆起は組織切片では明瞭に認められる第1次皮葉から派生する第2次皮葉である。第2次皮葉の表面は輪廓は不鮮明であるが、紡錘形の胚芽上皮の細胞が識別された(図8)。

次に、蹄壁表皮の構造について、蹄前壁中央部を中心に記載する。蹄壁最内層の表皮葉は図9に示すように、角質性の皮葉が規則正しく並んで配列している。表皮葉の断面は全体として角質化した線維構造を呈している。表面には第2次真皮葉に対応する溝状陥凹が認められた。

蹄壁の中間層には、図9と10に示すように無数の角細管が認められた。角細管の構造ならびに配列は、蹄壁の各層の間に少し差があった。すなわち図9の表皮葉の起始部の角細管は、一般に管径は小さいが、管腔は髄質によって充填されている。さらにこれらの角細管は列をなして配列し、管腔を取り囲む同心円状の皮質層が明瞭である。この層は切片標本での皮質層であるが、走査電顕下では細胞成分は識別されなかった。以上のような構造の角細管は角質化の進んでいない未分化のものと考えられる。



- Fig. 6. A figure showing separation of the laminar corium (below) from the epidermal lamellae (upper) by maceration. x15.
- Fig. 7. The lateral side of the primary dermal lamina. Note the secondary dermal laminae are revealed as a low ridge. x700.
- Fig. 8. Magnification of Fig. 7. The surface of the secondary dermal laminae it covered by the spindle-shaped germinal cells. x3,000.
- Fig. 9. Transverse view of the laminar region of the wall. Note the primary epidermal laminae extending from the stratum medium of the wall. The stratum medium contains numerous horn tubes varying in width, shape, and appearance of the medulla. The horn tubes adjacent to the stratum internum are generally small and have a somewhat distinct cortical layer. x39.
- Fig. 10. Transverse view of the stratum medium at the middle portion of the wall. Many circular or oval-shaped horn tubes are distributed in the horny matrix. Some of them have a compact tubular horn keratinized highly, and incompletely keratinized zones run in layers between it. x30.

表皮葉層から中層に移行するに従って、管径の大きい、管腔の空虚な角細管が多く認められた(図10)。角細管の管腔の充実したものを縦断像で示すと図11のとおりである。図に見るように、管腔は扁平化した大形の細胞や小形の紡錘形細胞によって埋められており、線維構造はほとんど認められない。これに反し

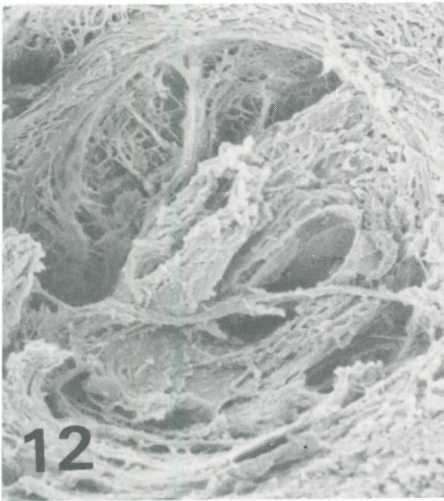
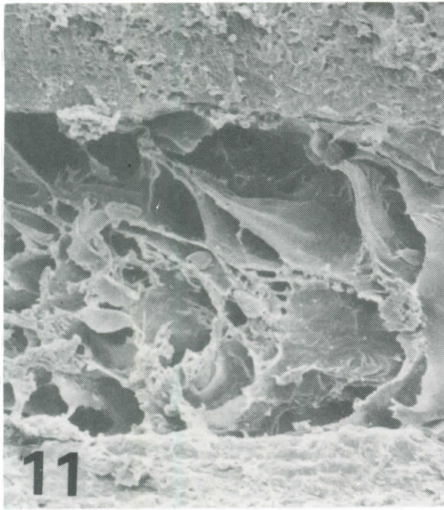


Fig. 11. Sagittal view of a horn tube with somewhat filled medulla. The medulla is composed of keratinized, flattened cells. $\times 900$.

Fig. 12. Transverse view of a horn tube with hollow medulla. The lumen of the tube is occupied coarsely by keratinized fibrous elements. $\times 900$.

て、管腔が空虚に見えたものは図12のように、細胞成分は認められず、線維成分のみが複雑に交織していた。角細管の髄質は先端に移行するに従って角質化が進み、中空性の含気状態になることが知られている^{6,7,9)}。従って、上記のような角細管の髄質の差異は、角質化の進行度を示すものである。角質化が進むと、髄質細胞は扁平化し、線維化するものと考えられる。

角細管の形成に関して、戸原ら^{1,4,5)}は角細管は蹄冠真皮以外の場所の蹄壁真皮葉からも発生すると報告している。上記の真皮葉に隣接した部位の幼若と思われた角細管は、真皮葉から形成されたものとも考えられた。

蹄壁外層の外表面は平滑、無構造に見えた。

角細管の間に介在する角間質は均質の構造ではなく、図9と10に見るように疎性と密性の角質物質が走行を異にしているために生じたものと思われる。一方、これとはほぼ直交するように別の層状構造が認められる。この層は約5 mmの幅を有し、狭い結合層を介して蹄壁周囲と平行に配列し、蹄壁の外層に近づくほど顕著である(図10)。層間の結合質は脆弱であるためか、乾燥によって容易に裂け目を生じた。裂蹄はこのような蹄表皮の層状構造によって生ずるものと考えられる。

白帯部

白帯は蹄壁表皮が蹄底表皮と蹄負縁のところで結合する部分であり、1~2 mm幅の層となって蹄の底部を取り巻いている。

白帯部の横断像は図13に示すように、蹄壁表皮と幅の狭い結合部を介して鋸歯状に嵌合している。図の上部は蹄底表皮、下部は蹄壁表皮である。両者の結合部を拡大して示すと図14のように、結合部は角質部に比べてやや疎性であり、粗大な線維様角質で形成されている。これらの所見から白帯結合部は、蹄壁真皮が蹄壁と蹄底の両表皮によって強く圧縮さ

れ、そこに角質化を伴って形成されたものと考えられた。

また、図に見るように蹄壁表皮側には大型の発達した角細管が多いのに対し、蹄底表皮側には未熟と思われる小型の角細管が並んでいる。蹄底表皮の角細管については次に記する。

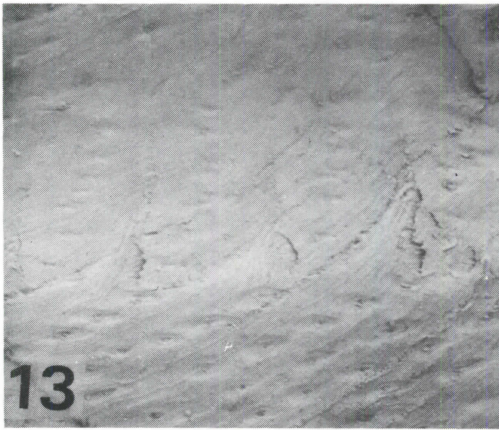


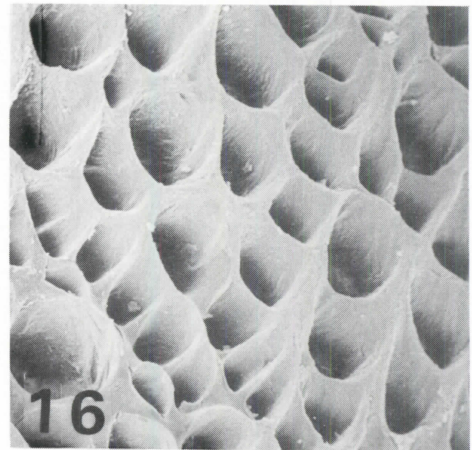
Fig. 13. Transverse view at the white line region of the wall. The white line is formed by the interdigitation of the epidermis of the wall (bottom) and the sole (top). x15.

Fig. 14. Magnification of the junctional region of Fig. 13. The space of juncture is cemented somewhat roughly with gross fibrous elements. x600.



Fig. 15. The outer surface of the sole corium. Note numerous filliform papillae (sole papillae) arising from the surface of the corium. The papillae are short. Compare with the coronary papillae in Fig. 1. x20.

Fig. 16. The inner surface of the sole epidermis. Note numerous funnel-like openings (horn tubes) corresponding to the sole papillae. x35.

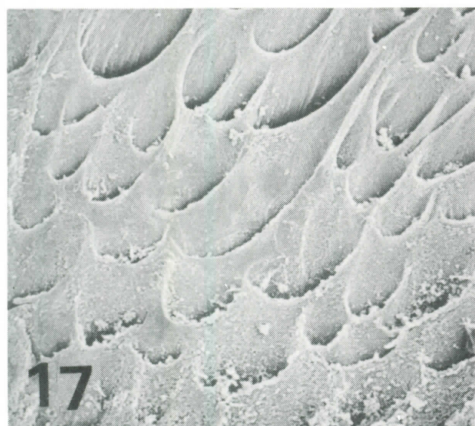


蹄底部

蹄底は蹄の腹面を構成している部位であり、蹄負面から半月状に中心に向かって緩かに陥凹し、後側から伸びる蹄叉を取り囲んでいる。蹄底は蹄壁と同様に蹄底表皮と蹄底真皮から構成されている。

蹄底真皮は蹄冠真皮と同様に、外表面に図15に示すように無数の乳頭を派生していた。蹄底真皮乳頭は図に見るように、構造的には蹄冠真皮乳頭と極めて類似している。しかし、蹄底真皮乳頭は高さが低く、先端に移行するに伴って円錐状に細くなっているのが特徴的であった。

一方、蹄底表皮の内面には図16に示すように、蹄底真皮乳頭を受容する大型の角細管口が認められた。



角細管の分布は蹄冠表皮におけるより密であった。角細管は蹄底の傾斜面と平行して伸び、蹄底の中央部では垂直方向に伸びていた。蹄壁に移行するに伴って蹄底の凹みをなす傾斜も増すため、角細管は斜行状であった。さらに傾斜の強い白帯付近では、図17に示すように角細管は著しく斜行し、幼若と思われる角細管が増加した。

Fig. 17. The inner surface of the sole epidermis adjacent to the white line. In this region, the horn tubes are oriented obliquely to the plane of the epidermis. x35.

蹄叉部

蹄叉は蹄球部から楔形に前方に伸び、蹄底に囲まれた部位であり、蹄底より柔軟で弾性に富んでいる。蹄叉も蹄叉表皮と蹄叉真皮から構成されている。

蹄叉真皮は蹄底真皮の連続であり、無数の蹄叉真皮乳頭を形成していた。蹄叉真皮乳頭の構造は上記の蹄底真皮乳頭と同一であった。

蹄叉表皮の腹面は隆起、陥凹を作り複雑な外表面を具えているが、表皮の基本的構造は全く同一であった。蹄叉表皮の外表面には、蹄底表皮に見たと同様の角細管が多数認められた。図18は蹄叉表皮の横断像である。図に見るように蹄叉表皮の角細管は、明瞭な皮質層によって包まれており、全体として角間質の中にやや陥没した状態にある。これは乾燥によって角細管が角間質より強く収縮したために生じたものである。角細管の管径は種々であり、管腔は空虚なもの、充実しているものなど多様である。

角細管を拡大すると図19に示すように、皮質層の細胞が不明瞭ではあるが、原形をとどめて管腔を輪状に取り囲んでいる。これは皮質層が十分に角質化していないことを示す。さらに拡大を増すと、図20に示すように皮質層には多量の線維が層状に交織しているのが認められる。このような皮質の線維構造は、上記の蹄壁、蹄底の角細管には見られなかったことである。

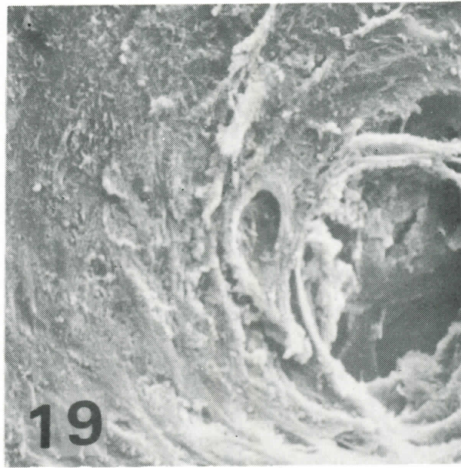
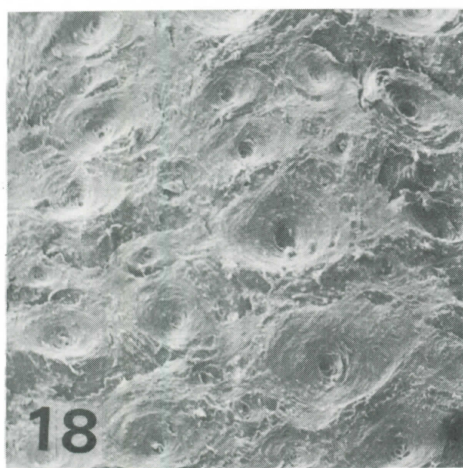


Fig. 18. Transverse view of the frog epidermis at the central ridge. The sole epidermis has many circular or oval-shaped horn tubes surrounded by a more or less distinct cortical layer. Compare with the horn tubes of the wall in Fig. 9. x40.

Fig. 19. Magnification of horn tubes in Fig. 18. Note the circularly arranged cortical cells, which are slightly distinguished, around the horn tubes. x400.

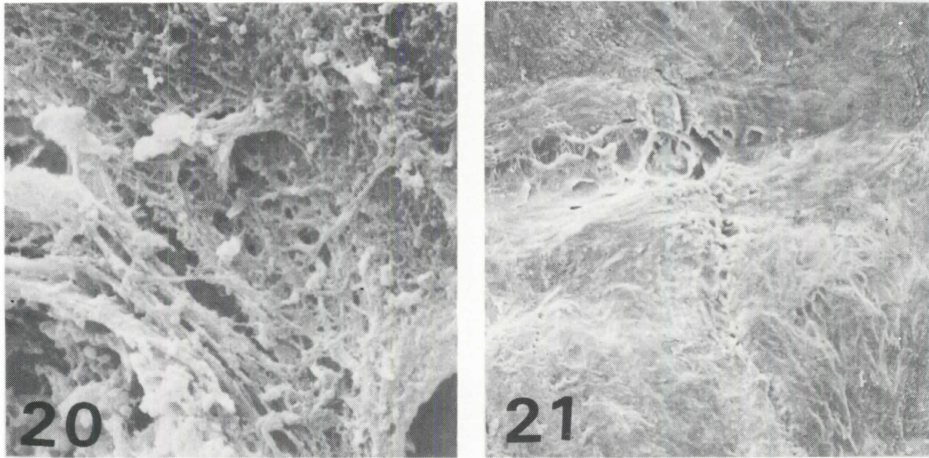


Fig. 20. A high power magnification of the horn tubes of the frog. The horn tubes are enclosed by a network of the elastic fibers. x3,000.

Fig. 21. The intertubular horn of the frog. The intertubular horn is constituted by bundles or sheets of elastic fibers. x 700.

一方、角間質は図21に示すように、線維が束状になって縦横に走っているのが明瞭である。この線維は角質化によって生じた線維構造とは明かに異なり、弾性線維と考える。

以上のように蹄叉表皮は、細胞成分の角質化現象が蹄壁、蹄底表皮ほど著しくなく、また角質化を伴わない弾性線維を多量に含んでいた。蹄叉が柔軟であるのはこのような理由のためである。

要 約

ウマの蹄について、とくにその表皮層と真皮層の構造を走査型電子顕微鏡を用いて観察し、その所見を従来の光学顕微鏡の所見と比較検討した。観察は蹄の各部から小塊を切り出し、1%酢酸液または飽和硝酸化バリウム液に浸漬し、蹄表皮部と蹄真皮部に分離してそれぞれについて行なった。主な所見は以下のとおりであった。

1. 走査電子顕微鏡では、真皮の真皮乳頭ならびに真皮葉の立体的構造がよく観察された。真皮乳頭は一般に糸状を呈しているが、蹄冠真皮乳頭はとくに長糸状であり、蹄底および蹄叉の乳頭は短かく、長円錐状であった。乳頭の皮質と髄質の細胞は角質化の進行とともに扁平化し、最後は線維化した。真皮葉は第1次葉から第2次葉を派出し、それぞれ対応する表皮葉と嵌合していた。真皮葉の外面は胚芽層の細胞で被われていた。

2. 蹄表皮の角細管ならびに表皮葉の構造がよく観察された。角細管の構造と分布は蹄表皮の部位によって多少異なっており、とくに蹄壁内層が中層に移行する部位ならび白帯に隣接する蹄底表皮には、小型の角細管が多く認められた。角間質は線維様構造物が凝縮したような状態で示され、その中に走向の異なる粗大な線維様構造物の層が認められた。

3. 蹄叉表皮は蹄壁、蹄底の表皮に比べて角質化が劣り、角間質に多量の弾性線維が認められた。白帯部における蹄壁表皮と蹄底表皮の結合部は、粗大な線維様構造物によって充填されていた。

引 用 文 献

- 1) 戸原三郎：日獣誌，10, 69 - 83 (1948)。
- 2) 同 上：12, 211 - 221 (1950)。
- 3) 戸原三郎・和賀井文作・宮川 正：農技研報告，G(畜産)，No.3, 15 - 158 (1952)。
- 4) 同 上：同 上，No.5, 9 - 20 (1953)。

- 5) 同上: 同上, No 12, 143 - 153 (1956).
- 6) SISSON, M.: in "SISSON and GROSSMAN'S The Anatomy of the Domestic Animals" (GETTY, R. ed.), Vol. 2, pp.728-735, Saunders, Philadelphia (1975).
- 7) SCHUMMER, A. *et al.*: in "Lehrbuch der Anatomie der Haustiere" (NICKEL, R. *et al.* eds.). Vol. 3, pp. 566-577, Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg (1976).
- 8) DELLMAN, HORST-DIETER and BROWN, E.M.: in "Textbook of Veterinary Histology", pp. 486-489, Lea and Febiger, Philadelphia (1976).
- 9) STUM, J. E.: J. Am. Vet. Med. Ass., **151**, 1588-1598 (1976).

SUMMARY

Three-dimensional structures of the equine hoof were examined by means of a scanning electron microscope. Prior to the examination, small blocks of materials taken from various parts of the hoof were separated in epidermis and corium layer respectively, by maceration with 1% acetic acid or saturated barium hydroxide solution. The findings obtained were compared to the usual histological pictures. The following results were obtained.

1. The appearance of the papillae and laminae of the corium showed clearly under the scanning electron microscopy. The structure of the papillae was in principle the same over the entire corium of the hoof, but the coronary papillae were longer than those of the sole and the frog. The cellular elements surrounding the papillae became flat-formed and resulted in a fibrillar-form by the process of cornification.

2. The epidermal laminae and horn tubes of the epidermis also revealed clearly. The epidermal laminae of the wall run in parallel rows on the inside of the wall from the coronal groove to the ventral edge. They formed the secondary epidermal laminae. These epidermal laminae were interdigitated tightly with the corresponding epidermal laminae.

3. The corona, sole and frog epidermis had numerous horn tubes with the corresponding papillae. The entrance of the horn tubes showed as a funnel-shaped opening. The intertubular horns were a highly keratinized dense tissue. The thin layers of incompletely keratinized tissue run in layers in this horny matrix.

4. The epidermis of the frog was different from the one of the wall and the frog. It was composed of incompletely keratinized horn tubes and intertubular horns, which composed a network of elastic fibers. The junction of the wall and the sole at the white line was tightly connected by gross fibrous elements.

(Received April 28, 1979)