

《解説・情報・資料》

鶏の飼養管理技術による疾病の防止と安全な鶏肉・鶏卵供給技術の開発および産業への普及

立 川 昌 子

岐阜県畜産研究所養鶏研究部, 岐阜県関市迫間 2672-1, 501-3924

はじめに

著者は「養鶏に関する技術開発による産業への貢献」の業績により 2001 年度の日本家禽学会技術賞を受賞するに浴した。本稿は受賞対象となった研究の概要を取りまとめたものである。著者は岐阜県の研究機関に在職し、県内外の養鶏産業に生起する課題を研究対象としている。そのため産業の変遷に伴い研究テーマが変わり体系的な研究になっていない。本稿では関連するテーマ別にまとめて記載した。

最初に、著者の研究の背景となった養鶏産業の変遷の概要と研究テーマの関連をたどると以下のものであった。1960 年代後半から急速に規模を拡大し続けてきた日本の養鶏産業は 1980 年代に入ると、従来の経験や技術だけでは対応しきれない多くの問題が生じ、新しい技術の開発と従来の技術の改善が必要になった。飼育密度が高い大型ブロイラー鶏舎における熱射病の発生は過去にない経験の例であり、熱射病の防止対策の開発が課題となった。課題解決のため、鶏舎への入気温度の低下、鶏舎内の風速の促進、飼育室への性別の収容などにより、実用的な対策で熱射病の発生防止を試みた（目加田ら, 1985, 川合ら, 1986; 立川ら, 1990）。

一方、従来の技術では対応が不十分となり、改善が求められたものに採卵鶏の断嘴があった。採卵鶏の悪癖（cannibalism）防止は古くからの課題で断嘴による防止がなされていたが、断嘴後にも嘴の成長が継続し、再断嘴が必要な個体が多く効果が不安定であった。単飼ケージの普及で悪癖発生は一旦低下したが、ケージ形状が単飼から群飼に変わったため発生が再び多くなり、より確実な効果を得られる技術に改善する必要性に迫られた。悪癖の発生とその後の経過を観察して（川合ら, 1987 a), 次いで断嘴した後の嘴の再成長の過程を経時的に組織学的に観察し、確実な効果を得て、技術の改善を図った（川合ら, 1990）。

また、従来の養鶏の研究課題は養鶏場における生産性の向上を対象としていたが、1990 年代になると食品としての安全な鶏卵・鶏肉の生産が重視されるに至った。1980 年代前半に行った市販鶏卵の産卵後経過日数の推定に関する研究（川合ら, 1985, 1987 b, 1988）はその前駆をなすものであった。その後実施した抗菌性物質を配合していない飼料によるブロイラーの育成（立川ら, 1999 b), 鶏体の微生物汚染の低下を目指したケージによる育成の実験（立川ら, 1999 a) は食品として安全な鶏肉生産を目的としたものであった。

さらに、現在では生産から加工、流通、消費まで一貫して食品は安全な品質であることが求められている。従って、研究対象も生産から消費までの広範囲な領域に広がり、安全な食品に視点を置いた研究が必要となっている。不特定多数の養鶏場と鶏卵の GP センターを往来する鶏卵輸送用プラスチックトレイの細菌汚染の実態を調査し、汚染の清浄化についての検討（立川ら, 2000 a, 2000 b) はその最初の成果である。

研究で得られた成果は主に日本家禽学会誌と鶏病研究会報に発表した。県の職員として研究成果の産業への反映も重要な職務と考え、養鶏雑誌などに成果を普及記事として書き改めて掲載し、一方で関係者との対話、講演などに積極的に参画し普及に努めている。

1. 飼育管理の改善による疾病の防止

1) ブロイラーの熱射病対策

飼育密度が高く大型のブロイラー鶏舎では夏季の高温に起因する熱射病の発生が多く、発育も低下するので実用的な対策の開発が急務とされた。熱射病の防止対策として鶏舎へ入気する気温の低下、鶏舎内の風速を高めることによる鶏の体熱の放散促進、体感温度の低下などが考えられ、高温による被害は雌より雄に大きいこと（脇・山田, 1984）も防止対策として考慮する必要がある。

図 1 に示す片側入気の陰圧式ウインドウレス鶏舎を

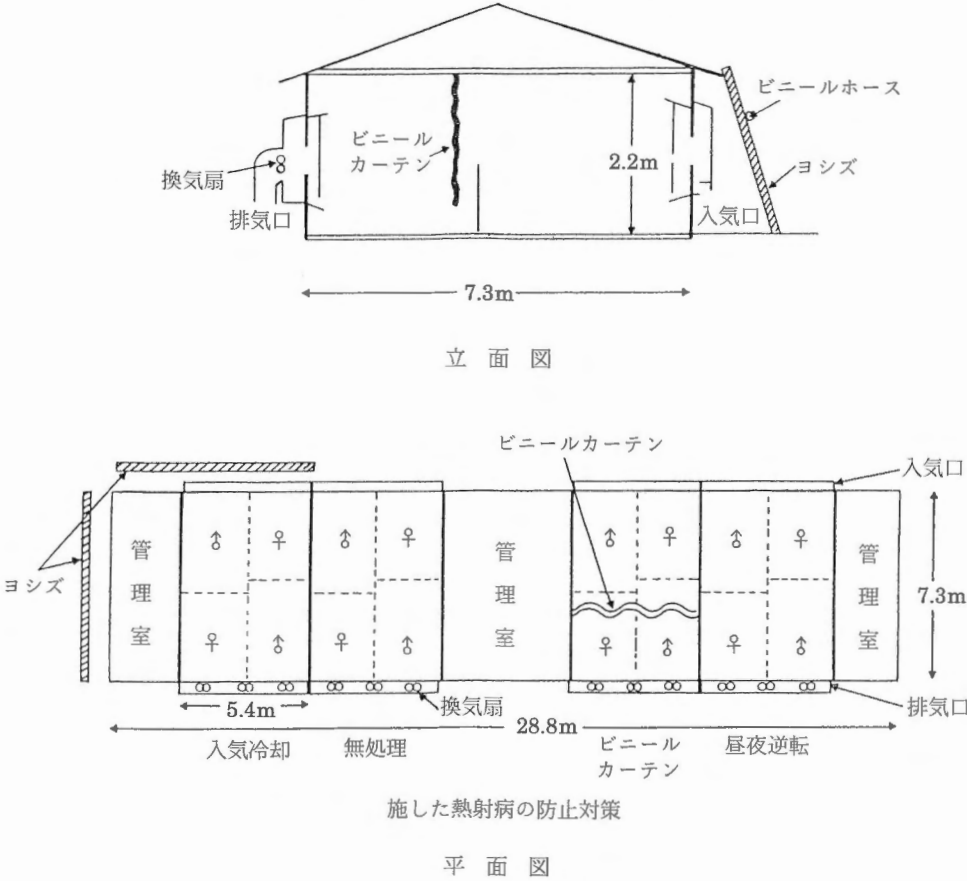


図 1. 熱射病発生の防止に供用したウインドウレス鶏舎と防止対策（川合ら，1986）

使って実験を行い、防止対策の開発に努めた（目加田ら，1985；川合ら，1986；立川ら，1990）。飼育室を入気側と排気側に 2 分し，供試ブロイラーを性別に分けて収容し，以下の処理を行って育成し熱射病の発生を調査した。鶏舎の入気側にヨシズを立てかけ，地上から 1.5 m の高さに小孔を開けたビニール・ホースを設置し，入気温度が 30℃ に達した時からその日の 18 時まで散水した。また，鶏舎内の風速を高めることで鶏体の熱放散を助長し，体感温度を低下させるのにビニール・カーテンの使用が有効であることが報告（上野ら，1982；太田ら，1982；小宮山ら，1984）されているので，鶏舎中央より排気側寄りに床面との間隙を 50 cm としたビニール・カーテンを天井から吊し，排気側飼育鶏への床面近くの風速を高める処置を施した。さらに，Kohne *et al.* の報告（1973）に準拠し，高温となる昼間を暗環境，気温が低下する夜間を点灯して明環境とした昼夜逆転の条件により摂食による熱産生を抑制し，それぞれの実験で熱射

病の発生について検討した。

上記の各実験の結果を雄雌別にまとめて表 1 に示す。熱射病の発生率のもとより，育成率，増体量などの育成成績は雄雌ともに入気側の飼育が排気側飼育よりも優れていた。暑さに弱い雄を入気側，雌を排気側に収容することで熱射病発生を低下させ，さらに入気冷却，ビニール・カーテンの吊り下げ，昼夜逆転などの処理を併用することで成績が向上することから，熱射病対策として入気側に雄を収容することを原則とし，入気冷却などの複数の処置を施すのが実用적であると考えられる。

2) 採卵鶏の悪癖防止対策

悪癖の発生には遺伝要因が関与していると経験的に言われているが，鶏の系統により発生に差のあることが観察されている（Hughes and Duncan, 1972）。1 ケージあたり 6 羽を収容した市販白色レグホーン 2 銘柄，各 480 羽について喧噪性，皮膚の露出程度および悪癖による被害鶏の発生率を調査したところ，喧噪性と皮膚の露出程

表 1. ブロイラーの熱射病防止対策の実施による発生防止と育成成績（3～9 週齢）
(川合ら, 1986)

熱射病防止対策		熱 射 病 発 生 率 (%)		育 成 率 (%)		増 体 重 (%)		飼 料 摂 取 量 (g)		飼 料 要 求 率	
		入気側	排気側	入気側	排気側	入気側	排気側	入気側	排気側	入気側	排気側
雄	無処理	6.4	17.3	90.5	76.5	2,223	1,601	5,549	4,467	2.50	2.79
	入気冷却	5.8	12.6	87.2	79.7	2,225	1,615	5,524	4,371	2.48	2.71
	ビニールカーテン	2.5	17.9	95.5	73.8	2,206	1,830	5,472	5,041	2.48	2.75
	昼夜逆転	5.1	9.0	91.6	83.3	2,163	1,725	5,482	4,650	2.53	2.70
	平 均	5.0 ^a	14.2 ^b	91.2 ^a	78.3 ^b	2,204 ^A	1,693 ^B	5,507 ^a	4,632 ^b	2.50 ^A	2.74 ^B
雌	無処理	0.0	9.0	96.3	87.1	1,898	1,522	5,064	4,189	2.67	2.75
	入気冷却	1.3	3.2	96.2	90.5	1,915	1,435	4,901	4,024	2.56	2.80
	ビニールカーテン	1.9	3.2	94.9	93.7	1,891	1,638	4,956	4,460	2.62	2.72
	昼夜逆転	1.3	2.5	96.6	94.9	1,865	1,549	4,979	4,238	2.67	2.74
	平 均	1.5	4.5	96.0	91.6	1,892 ^A	1,536 ^B	4,976 ^A	4,228 ^B	2.63 ^a	2.75 ^b

注) 肩文字異符号間に大文字は 1%, 小文字は 5% 水準で有意差がある。

度の高い銘柄は悪癖発生率が有意に高く、悪癖の発生は喧噪性に関連していることが知られ、また、皮膚の露出程度は鶏が相互につきあうことに起因していることが示唆された。次に、悪癖が発生する過程とその被害状態を観察した。放卵に際して反転した総排泄腔が修復しない状態の時に、他の鶏につつかれて出血するのが始まりで、つつきが繰り返されると腔壁に孔が開き、さらに小腸遊離部が体外につつき出される場合が多かった。体外に出た小腸遊離部にさらにつつきが継続されることで切断され、鶏は死亡するに至った(川合ら, 1987 a)。

従来、悪癖防止の実用的な防止には断嘴が有効とされ、断嘴に関して多数の報告がある。しかし、断嘴の実施日齢、切除する嘴の長さなどには必ずしも見解が一致していない(Gentle, 1986)。また、ある見解に従って断嘴をしても嘴が再成長し、再度断嘴をする事例も多い。断嘴により嘴の組織に障害を与え、再成長を不可能とすれば断嘴の目的は達成されるから、断嘴した嘴の組織の再成長過程を経時的に観察することで、確実に効果が得られる技術の開発が可能であると考え、実験を行った(川合ら, 1990)。

1 日齢の雛の上嘴には角質層を含む表皮、真皮、切歯骨、脂肪組織および粘液腺が観察された。切歯骨先端には多数の骨芽細胞が、切歯骨内部には骨質を吸収する破骨細胞が存在し、骨質の形成と吸収が同時になされながら、一定の方向性をもった結合組織性の骨形成がなされていた(図 2)。1 週齢の雛の上嘴を先端から 3 mm の位置で切断すると骨形成の顕著な領域が除去され、その後

の骨形成に方向性が失われたため再成長が抑制されていた。断嘴された鶏の 16 週齢の嘴の先端は丸みを帯びて下方に曲がり、図 3 に示すように方向性のない骨形成がなされ、嘴の再成長が阻止され確実な断嘴効果が得られた。

なお、この報告(川合ら, 1990)は和文で発表したのが、韓国で注目された模様で、著者の了承のもとで全文が韓国語に翻訳され雑誌に掲載された。

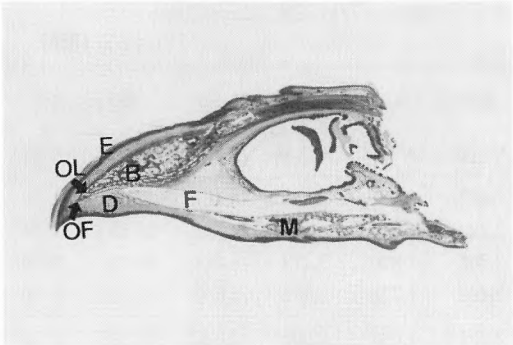
2. 食品として安全な鶏肉・鶏卵の生産と流通

1) ブロイラー鶏体の細菌汚染

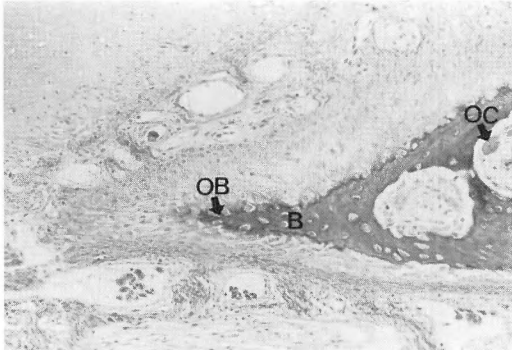
(1) 平飼いとケージ飼育による鶏体の細菌汚染の比較
鶏肉の細菌汚染の防止についての多くの提案(中村ら, 1994: 茶園, 1996: 佐藤, 1996: 遠藤, 1996)がなされているが、養鶏場における防止対策は期待したほどは進捗していない。

従来、ブロイラーは平飼いで育成され、鶏糞との接触で羽毛や皮膚の肉眼的な汚染が著しい。ケージにより育成すれば肉眼的な汚染のみでなく汚染細菌数も低下し、食品として望ましい生産であると考えられるので、平飼いとケージにより育成してブロイラーの細菌汚染を比較した(立川ら, 1999 a)。

羽毛の汚れの程度はケージ育成が著しく低く、皮膚 1 g 当たりの一般生菌数は 10^{3.1}~10^{5.1} の範囲にあった。これに対し、平飼いでは 10^{3.8}~10^{5.9} で、ケージ育成の細菌数が少なかった。大腸菌群数はケージ、平飼いの順に 0~10^{3.3}, 10^{2.8}~10^{4.4}, 黄色ブドウ球菌数は 0~10^{3.1}, 10^{3.4}~

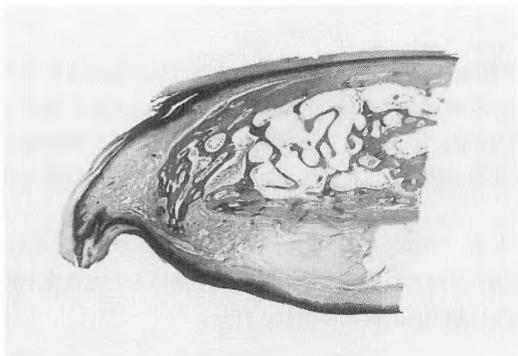


E : 表皮, D : 真皮, B : 切歯骨, F : 脂肪組織
M : 粘液腺, OF : 骨質形成, OL : 骨質吸収
×6.4

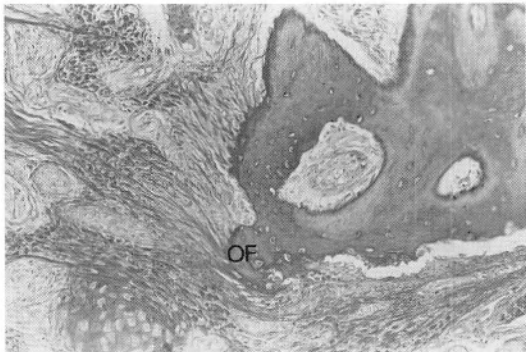


B : 切歯骨, OB : 骨芽細胞, OC : 破骨細胞
一定の方向性のある骨形成が認められる。
×160

図 2. 1 日齢の雛の上嘴組織像 (川合ら, 1990)



先端は丸みを帯びて曲がり, 再成長は
阻止された。 ×6.4



OF : 骨質形成
骨形成に方向性が認められない。×66

図 3. 1 週齢で断嘴した上嘴の 16 週齢における組織像 (川合ら, 1990)

$10^{4.1}$ の範囲にあり, いずれもケージ育成が少なかった。また, 細菌が検出された羽数を比べると一般生菌数に差はなく, 大腸菌群と黄色ブドウ球菌についてはケージ育成が有意に少なかった。皮膚の細菌汚染程度の低いブロイラーの生産には, 平飼いよりもケージ育成が有利であることが明らかになった。

(2) 抗菌性物質添加飼料と無添加飼料の給与によるブロイラーの育成

抗菌性物質の飼料添加は飼料安全法により規制され, 特定の抗菌性物質の添加が認められている。その添加量も法の規制をうけているが, 添加抗菌性物質による耐性菌の発現と食物連鎖による人の健康に及ぼす影響などの

危惧が指摘されている (吐山, 1981)。消費者としては抗菌性物質を添加しない飼料を給与して生産された鶏肉を望むと考えられるので, 無添加飼料でブロイラーを育成し, 添加飼料の場合と比較した (立川ら, 1999 b)。なお, 添加した抗菌性物質とその添加量は法の許容したものであった。

実験は 2 回実施したが, 2 回とも無添加飼料を給与すると添加飼料の場合より発育が劣り, 出荷体重は有意に劣った。飼料消費量も無添加飼料が少なかったため飼料要求率はほぼ同じであった。無添加飼料を給与しても疾病の発生が増加することではなく, 死亡率に差はなかった。羽毛と皮膚を汚染した一般生菌数, 大腸菌群数およ

び黄色ブドウ球菌数にも差がなかった。実施した実験では無添加飼料の給与では発育が劣ったが、より安全な鶏肉生産のためには無添加飼料の給与が望ましく、添加飼料給与の場合に劣らない成績を得られる育成技術の開発が課題である。

2) 安全な鶏卵の供給
(1) 市販卵の産卵後日数の推定

1980年代前半では市販卵は常温下で保管、流通するのが普通で、生産日や賞味期限の表示はなされていなかった。市販卵のうちには産卵後の経過日数が長く品質が低下し、食品として好ましくないものも含まれていたため、消費者から改善を求められた。そこで、常温における卵質の経時的変化を利用した平行線定量法による産卵後の経過日数の推定を検討した。

まず、産卵日時とその後の経過が明らかな卵質を測定し、卵質の経時的変化の指標として比重、ハウユニットが適切であることを明らかにした。卵質の経時的変化は季節により顕著な差があるので(田名部ら, 1975)、季節別に既知の産卵後の経過日数と上記の要因の回帰から得た標準線を利用した平行線定量法により、市販卵の産卵後経過日数を推定した(川合ら, 1985, 1987b)。次に、季節別の標準線に指標として卵の保存温度を加えることで、通年利用できる標準線を得た。これによりほぼ正確に産卵後日数の推定が可能であることも検証した(川合ら, 1988)。

この推定研究は産卵から消費までの日数が短く、生産日を表示している現在の市販卵については意義を失っているが、その当時の鶏卵の生産、流通、販売などの当事者に品質管理の重要性を認識させた。

(2) 鶏卵輸送用プラスチックトレイの汚染細菌の除去
生産された鶏卵をGPセンターに輸送するのに使われるプラスチックトレイは不特定多数の養鶏場とGPセンターの間を反復、往来している。トレイを繰り返して使用する場合は消毒の実施が指示(農林水産省畜産局衛生課, 1993)されているが、消毒されることなく反復使用される事例の多いことが報告(小沼・品川, 1994)されている。トレイの汚染は鶏病の伝播だけでなく、人畜共通伝染病の伝播により人の健康に危害を及ぼすことも危惧されるが、トレイの細菌汚染およびその清浄化に関する知見は少ない。

反復使用されているトレイを観察したところ、肉眼的な汚れが低いもの、塵埃などが付着した中等度のものおよび卵内容物や鶏糞が付着固化した高度のものに分けられ、汚染している一般生菌数と大腸菌群数を検出した結果でも肉眼的な汚れが低いものは少なく、高いものは多く(表2)、サルモネラが検出されたトレイもあった。ト

表 2. 鶏卵輸送用トレイの細菌汚染状態
(立川ら, 2000 a)

細菌を 検出した トレイの面	肉眼的な 汚れの 程度	検出細菌数	
		一般生菌	大腸菌群
表 面	低 度	10 ^{4.3±1.1C}	10 ^{3.9±1.1B}
	中等度	10 ^{6.8±0.3B}	10 ^{5.1±0.4A}
	高 度	10 ^{7.7±1.4A}	10 ^{5.8±0.4A}
裏 面	低 度	10 ^{4.0±1.6C}	10 ^{3.7±1.7B}
	中等度	10 ^{6.3±0.5B}	10 ^{4.6±0.5A}
	高 度	10 ^{7.6±0.4A}	10 ^{5.8±0.1A}

トレイ1枚当たりの細菌数、平均値±標準偏差
異なる肩文字を付した列内の平均値間に有意差
(p<0.01)がある。

レイを追跡調査したところ、汚れの低いものは使用の度に水洗消毒されていたが、高度のものは無処理のまま反復使用されていた(立川ら, 2000 a)。

汚れが高度のトレイを消毒液、酒精酢(立川ら, 2000 a)および加温水道水(立川ら, 2000 b)に浸漬し細菌の除去を検討した。塩素剤および逆性石鹼の500倍液に5分間浸漬すると一般生菌数の減少率は1/10^{1.0}~1/10^{1.7}、大腸菌群数では1/10^{1.3}~1/10^{2.0}の範囲にあった。トレイを80℃に加温した水道水に5分間浸漬すると熱により変形し、使用不能となるものが多く、75℃でも変形するトレイがあった。65℃では変形はみられなかったが、5~15分間の浸漬による減少率は一般生菌数が1/10^{2.1}~1/10^{3.1}、大腸菌群数が1/10^{1.5}~1/10^{2.1}の範囲にあった。酢酸濃度0.12%とした酒精酢に5分間、30分間、3および18時間浸漬による細菌の減少率は一般生菌数が1/10^{1.7}~1/10^{2.7}、大腸菌群数が1/10^{2.0}~1/10^{3.1}の範囲にあった。細菌数の減少率を比較すると、実験した範囲内では消毒液、加温水道水、酒精酢の間に大きな差はなかった。

食品である鶏卵に直接接するトレイの汚染細菌除去には消毒液よりも加温水道水、酒精酢が望ましいが、加温水道水は温度を高めるとプラスチックの材質に起因する変形が生じて実用性に劣る。酒精酢には食品の安全性を阻害する性質はなく抗菌作用も強いことから(Entani *et al.*, 1998)、トレイの清浄化には適していると考えられる。細菌の除去により適した酒精酢濃度と浸漬時間の解明が今後の課題である。

稿を終るに当たり受賞の栄を賜った日本家禽学会に深甚な謝意を表する。また、研究に協力して下さった岐阜県畜産研究所養鶏研究部の職員各位に感謝する。

引用文献

- 茶藨 明. 畜産・食品の微生物管理のための HACCP システム. 日本家禽学会誌, 33: 131-138. 1996.
- 遠藤秀紀. 養鶏分野における HACCP 方式の導入. 鶏病研究会報, 32: 119-124. 1996.
- Entani E, Asai M, Tsujihata S, Tsukamoto Y and Ohta M. Antibacterial Action of vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157: H7. Journal of Food Protection, 61: 953-959. 1998.
- Gentle MJ. Beak trimming in poultry. World's Poultry Science Journal, 42: 268-275. 1986.
- 吐山豊秋. 養鶏における医薬品使用とその規制. 鶏病研究会報, 17: 137-143. 1981.
- Hughes BO and Duncan IJH. The influence of strain and environmental factors upon feather pecking and cannibalism in fowls. British Poultry Science, 13: 525-547. 1972.
- 川合昌子・目加田博行・中島芳夫. 平行線定量法を応用した市販卵の産卵後日数の推定方法. 日本家禽学会誌, 22: 264-273. 1985.
- 川合昌子・山田義武・臼井秀義・桜井 進・中島芳夫. ウインドウレス鶏舎における熱射病対策について. 日本家禽学会誌, 23: 118-124. 1986.
- 川合昌子・梅田 勲・桜井 進・中島芳夫. 悪癖被害鶏の発生に関する観察及び鶏の銘柄にみられた発生率の差. 日本家禽学会誌, 24: 316-319. 1987 a.
- 川合昌子・山田義武・桜井 進・中島芳夫. 平行線定量法を応用した市販卵の産卵後日数の推定方法—夏季の標準線の再検討—. 日本家禽学会誌, 24: 369-371. 1987 b.
- 川合昌子・梅田 勲・桜井 進・平光正博. 市販卵の産卵後日数の推定方法. 日本家禽学会誌, 25: 375-382. 1988.
- 川合昌子・川口直彦・梅田 勲・目加田博行・桜井 進・平光正博. 断喙に伴う鶏の嘴の組織変化. 日本家禽学会誌, 27: 363-372. 1990.
- Kohne HJ, Boone MA and Jones JE. The effect of the survival time of Adult turkey hens under conditions of acute thermal stress. Poultry Science, 52: 1780-1783. 1973.
- 小宮山 恒・細川 明・仲沢 弘. ブロイラーのウインドウレス鶏舎に対する環境改善試験. 山梨県畜産試験場研究報告, 31: 102-111.
- 小沼博隆・品川邦汎. GP センターにおける殻付卵の微生物制御. 鶏病研究会報, 30: 79-86. 1994.
- 目加田博行・川合昌子・臼井秀義・中島芳夫. ブロイラーの熱射病に対する風速の効果と性による反応の違い. 日本家禽学会誌, 22: 90-96. 1985.
- 中村政幸・横関正直・坂 恒豊・品川邦汎・山本義雄・高橋和昭. 健全な鶏卵・鶏肉生産のための衛生管理戦略の展望. 日本家禽学会誌, 31: 201-208. 1994.
- 農林水産省畜産局衛生課. 採卵養鶏場におけるサルモネラ衛生対策指針. 1993.
- 太田正義・岡本俊弘. ブロイラー鶏舎における夏季の間歇送風およびビニールカーテンの効果について. 家畜の管理, 18: 23-24. 1982.
- 佐藤静夫. 安全な鶏卵の生産・流通をめぐる内外の情勢. 鶏病研究会報, 32: (増刊号) 1-8. 1996.
- 立川昌子. ブロイラーの熱射病対策. 鶏病研究会報, 26: 182-187. 1990.
- 立川昌子・早川 博・石川寿美代・横山郁代・山田義武. ケージで育成したブロイラーの羽毛と皮膚から検出された細菌数. 日本家禽学会誌, 36: 190-193. 1999 a.
- 立川昌子・早川 博・石川寿美代・横山郁代・山田義武. 抗菌性物質無添加飼料により育成したブロイラーの発育および羽毛と皮膚の汚染細菌数. 鶏病研究会報, 35: 97-101. 1999 b.
- 立川昌子・石川寿美代・梅田 勲・山田義武. 鶏卵輸送用プラスチックトレイの細菌汚染と酒精酢による汚染の除去. 日本家禽学会誌, 37: 310-316. 2000 a.
- 立川昌子・石川寿美代・梅田 勲・山田義武. 鶏卵輸送用プラスチックトレイを汚染した細菌の熱による除去. 日本家禽学会誌, 37: 317-320. 2000 b.
- 田名部雄一・中村孝雄・稲葉正美・高橋敏夫. 食卵の長期保存に関する研究 1. 鶏卵殻への流動パラフィン塗布の効果. 日本家禽学会誌, 7: 186-194. 1970.
- 上野満弘・花尾貞明・山下政道・岩本敏雄・諏訪一男. ブロイラーにおける夏季のビニール・カーテンの効果. 岡山県養鶏試験場研究報告, 24: 29-34. 1982.
- 脇 雅之・山田眞裕. ブロイラーの肝臓酵素の活性におよぼす高温環境の影響. 日本家禽学会誌, 21: 338. 1984.
- なお, 論文の著者名に川合昌子とあるのは, 著者の旧氏名である。

Journal of Poultry Science Vol. 39 No. 1 和文抄録

研究報告

ニワトリ黄色小卵胞の顆粒層細胞の培養：培養法の確立

A.G. ヘルナンデス・J.M. バール

イリノイ大学農学部, アーバナ, IL, 米国

ニワトリの卵巣では、1日に1個の黄色小卵胞（SYF）が急速成長期に入り、数日後に排卵する。この時期の卵胞の細胞内で起こる変化を明らかにすることにより、急速成長期に入る卵胞の選択機構を明らかにできると考えられる。SYFから採取した顆粒層細胞を浮遊培養すると6時間以内にアポトーシスが起これると報告されている。この実験では、培養24時間後においてもSYFの顆粒層細胞が生存できる培養法を確立することを目的とした。SYFと最大卵胞から採取した顆粒層（それぞれGr-SYFとGr-F1）をコラーゲナーゼ（1.5 mg/ml）で15分間処理した。分離した顆粒層細胞（Gr-SYFは 1×10^6 個/500 μ l, Gr-F1は 2×10^5 個/500 μ l）を24ウェルプレートに移植して5% CO₂/95% O₂, 39°Cのインキュベータで培養、またはファルコンチューブに移植して37°Cのウォーターバスで培養した。培養時間は0, 6, 12, 及び24時間とした。卵胞膜組織片（直径8 mm）を1 mlの同じ培地で6時間または12時間培養した。培養6, 12, 24時間における細胞増殖（n=6）、DNA損傷度と膜透過性（n=4）をそれぞれcolorimetricアッセイ、ゲル電気泳動およびフローサイトメトリー法で調べた。平板培養ではGr-SYFは12時間と24時間で増殖したが、Gr-F1はどの時間でも増殖しなかった。DNA断片化は、浮遊培養12時間後のGr-SYFと培養6時間および12時間後の卵胞膜細胞で認められたが、平板培養したGr-SYFでは認められなかった。細胞膜透過性とDNA染色性（アポトーシスの指標）は浮遊培養したGr-SYFのみで増加した。これらのことから、急速成長期に入る前のSYFから分離した顆粒層細胞を培養する方法を示すことができた。

キーワード：ニワトリ、顆粒層細胞、培養系

(*Journal of Poultry Science* 39: 14-21, 2002)