

《研究論文》

## 採卵鶏での実験的誘導換羽における鰓後腺の形態学的変化の観察

北島克好<sup>1</sup>・上塚浩司<sup>2</sup>・中島弘美<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東京農工大学大学院連合農学研究科 (茨城大学), 稲敷郡阿見町中央 300-0393

<sup>2</sup> 茨城大学農学部, 茨城県稲敷郡阿見町中央 300-0393

採卵鶏の産卵期に誘導された換羽とその後の再産卵期における鰓後腺の組織学的変化は明らかではない。そこで本研究では、産卵後期の65週齢の採卵鶏に誘導換羽を実施して、開始前から終了直後および終了2週間後までの鰓後腺を組織学的および免疫組織化学的に観察した。誘導換羽は体重減少率の目標値を20%に設定して低カルシウム (Ca) のフスマを7日間、その後高Caの成鶏用配合飼料を14日間給与した。本研究の誘導換羽後の体重減少率は、18%前後であった。再産卵までの期間は短く、卵殻厚や骨髄骨の面積割合も誘導換羽の開始前のレベルにまで回復する傾向にあったことから、本研究の誘導換羽は穏やかな誘導換羽であったと考えられた。血清Ca濃度は、誘導換羽の終了直後が他の時点より有意に低値であった。血清カルシトニン (CT) 濃度は、誘導換羽の終了直後やや低下したが、終了1週間後では開始前とほぼ同レベルまで回復した。鰓後腺の組織像について、誘導換羽の終了直後の嚢胞は小型から中型の嚢胞が開始前に比べて増加し、間質領域の割合が有意に増加した。終了2週間後の嚢胞は大きく発達し、嚢胞上皮細胞の一部は立方状や多列状であった。鰓後腺実質領域に占めるCT陽性細胞分布領域の割合は、開始前に比べて終了直後では減少して有意に低値を示し、終了2週間後では増加して開始前に近い値であった。以上のことから、誘導換羽によって鰓後腺は、CT陽性細胞分布領域を縮小および拡大することにより、CTによるCa恒常性を調節していることが示された。

キーワード：カルシトニン、誘導換羽、鰓後腺

### 緒 言

ニワトリ (*Gallus domesticus*) は加齢とともに産卵能力が低下するため、養鶏業では2-3年齢で淘汰し若鶏と入れ替えるのが普通である (今井, 2003)。そこで、わが国の鶏卵生産農場では卵質向上や採卵期間延長を目的として産卵後期に栄養制限をかけることにより体重を減少させて換羽を誘導し、卵管の再生をはかる誘導換羽を動物愛護に配慮しながら実施している。その一例として、フスマを主体とした低エネルギーで低カルシウム (Ca) の飼料を使用した誘導換羽の報告がある (箕浦ら, 2005)。誘導換羽による卵管の再生については、産卵停止後の卵管は退縮して未熟な発達段階の構造を示し、換羽後に産卵が開始すると卵管の古い腺細胞を新しい腺細胞に置換えられて卵管組織が再構築され、機能が改善されることが報告されている (Heryanto *et al.*, 1997a; 1997b)。

ニワトリ産卵期の鰓後腺の組織形態像については、6ヵ月齢 (Kameda 1984, Ito *et al.*, 1986), 25~60週齢 (Hodges 1970, 1979; Chan 1978) および2~3年齢 (Dudly 1942) が報告されている。

しかし、鰓後腺の産卵期全体を通じた組織像の変化についての報告は見当たらないことから、我々は経時的に初産卵鶏、産卵ピーク鶏、誘導換羽前鶏および産卵鶏 (103-104週齢) での変化を組織形態学的に観察した (北島ら, 2023)。

一方、低Ca飼料を給与した鰓後腺の変化について、幼雛に低Ca (0.3%), 標準Ca (1.0%) および高Ca (3.0%) とレベルの異なる3種類の飼料を2週間給与した実験では、低Ca飼料給与群の鰓後腺の脱脂乾燥重量が高Ca飼料給与群に比べて有意に軽く、鰓後腺の代謝活性も有意に低かった (Mueller *et al.*, 1970)。また、幼雛に低Ca (<0.1%) および高Ca (1.3%) の飼料を4週間給与した実験では、低Ca飼料区の鰓後腺は肉眼的な大きさが高Ca飼料区に比べて小さく、2週目以降から徐々に萎縮し、嚢胞の異状な発達やCT分泌細胞の顕著な減少が組織学的に観察された (Eliam-Cisse *et al.*, 1993)。しかし、産卵期の成鶏におけるCa制御による誘導換羽とその後の再産卵の開始に伴う鰓後腺の組織変化についての報告は見当たらない。そこで本研究では、採卵鶏 (65週齢) を使用し、実験的に低Caのフスマ単体を給与する誘導換羽を実施して、誘導換羽の開始前、終了直後および終了2週間後での鰓後腺の組織変化とカルシトニン (CT) 陽性細胞の分布を組織学的および免疫組織化学的に観察した。

### 材 料 と 方 法

#### 1. 供試動物および動物実験

供試鶏は、誘導換羽直前の65週齢のジュリアライトの雌を20羽 (有限会社つくばファーム 石岡市から分与) 導入した。導入

2023年1月26日受付, 2023年8月10日受理  
連絡者: 北島克好  
〒300-0393 稲敷郡阿見町中央3丁目21番1号  
茨城大学農学部内 連合農学研究科  
Tel: 代表 029-887-1261 (内 888-8575)  
Fax: 代表 029-888-8525  
E-mail: s22381s@st.go.tuat.ac.jp

後3日後に7羽(開始前)、誘導換羽終了日に6羽(終了直後)および誘導換羽終了2週間後に7羽(終了2週間後)を経時的に安楽死させて材料を採取した。誘導換羽は、導入後6日間馴致を行って産卵を確認した後に、換羽を誘起するため低Caのフスマ(分析値:0.07%Ca)を1羽当たり50g/日として計7日間与えた。誘導換羽期間中の体重減少率は、箕浦ら(2005)の報告を参考に20%程度を目標とした。誘導換羽期間後は、高Caの成鶏用配合飼料(分析値:3.9%Ca;東日本くみあい飼料(株))を1羽当たり120g/日与えた。フスマと成鶏用配合飼料の総Ca分析値は、Inductively Coupled Plasma 発光分析法にてアジレント ICP 発光分光分析装置725-ESおよび735-ES(アジレント テクノロジー社, 米国)を使用して測定した(一般財団法人日本食品分析センター)。フスマの給与量は成鶏用配合飼料の高とほぼ同じになるように設定した。飼養期間中(5月上旬~6月上旬)は、開放鶏舎の単飼ケージで飼養し、給餌は午前7時に1回給与し、飲水は自由摂取とし、照明時間は自然日長とした。換羽の状況は、給餌時にケージ床下の敷料(毎日交換)に落下した羽根(脱羽)の状況を観察して評価した。体重は、開始前、終了直後、終了1週間後および2週間後の給餌前(午前6時30分)に測定した。

材料採材のため、給餌2時間後にニワトリを頸椎脱臼で安楽死させた後、卵巣は大きさ別の卵胞数、他の臓器は異常の有無を肉眼で観察し、鰓後腺および脛骨を採材した。鰓後腺は総頸動脈に沿って甲状腺および上皮小体を一体として摘出した。脛骨は骨幹中央部を横断面で切断した。採取した材料は、室温で10%中性緩衝ホルマリン(NBF)液に浸漬し、振盪固定した。血清Ca濃度および血清CT濃度の経時的推移を調査するため血液は開始前、終了直後、終了1週間および2週間後の給餌前に翼下の浅尺骨皮静脈から採血を行い、遠心分離後の血清は-25℃で凍結保存し、測定時に融解して使用した。本研究における動物実験は茨城大学実験動物委員会の承認を得て実施した(承認番号18100)。

## 2. 産卵および卵殻厚の測定

産卵は午前7時から翌日午前7時まで(24時間)を当日卵として個体別に記録し、卵は冷蔵保存した。冷蔵保存した卵は赤道部から卵殻小片を採り、卵殻膜を除去した後、ダイヤルシクネスゲージ(ダイヤルゲージ7360, 株式会社ミットヨ, 川崎市)で3点を測定し、その値の平均値を卵殻厚として記録した。

## 3. 卵巣および卵形成部位の肉眼観察

卵巣は、卵胞の最大幅径を $\geq 2\text{cm}$ 、 $1\sim 2\text{cm}$ ( $\geq 1\text{cm}$ )、 $0.3\sim 1\text{cm}$ ( $\geq 0.3\text{cm}$ )の3段階に分けて個数を調査した。

## 4. 脛骨の組織標本作成および骨髓骨の面積の測定

脛骨は10%NBF液に浸漬し、振盪固定した骨幹中央部を横断面で3~4mm厚に切り出し、再度10%NBF液に5日間室温で再固定した。脱灰は水洗した材料を5℃のブランクリュクロ液(塩化アルミニウム70g, 蟻酸85ml, 塩酸50ml/1000ml)中に7日間静置した。その後24時間5%硫酸ナトリウム液で中和し、水洗を約2時間行った。組織標本は常法に従いパラフィン包埋をして5~7 $\mu\text{m}$ に薄切した切片をスライドガラスに貼付け、ヘマトキシリン・エオジン染色(Hematoxylin and Eosin:H.E染色)を行った。

骨髓骨の面積は、脛骨の骨幹中央の横状断面髓腔内で皮質骨に

内接する250,000 $\mu\text{m}^2$ を選択し、H.E染色で皮質骨より薄い桃色に染まる領域を骨髓骨の面積として顕微鏡用デジタルマイクロスコープ(Moticam 3, 株式会社島津理化, 東京)を装着した光学顕微鏡(BX50, オリパス株式会社, 東京)および画像解析ソフト(Motic Images Plus2.1S, 株式会社島津理化, 東京)を用いて倍率40倍で測定した。計測結果は計測した面積全体に占める骨髓骨の面積の割合を評価値とした。

## 5. 血清Ca濃度および血清CT濃度の測定

給餌前に採血した凍結保存血清を測定時に融解して用いた。

血清Ca濃度は、ホスフォリパーゼD(PLD)を用いた酵素法(アキュラスオートCaII, 株式会社シノテスト, 東京)を使用して日立7180型自動分析装置で測定した(オリエンタル酵母工業株式会社生物化学研究所長浜ライフサイエンスラボラトリー)。

血清CT濃度は、Enzyme-Linked Immno Sorbent Assay(ELISA)法(製品番号CSB-E12014Ch, Chicken Calcitonin(CT)ELISA Kit, Wuhan Huamei Biotech Co., Ltd(Former Cusabio LLC), China)にてマルチマイクロプレートリーダー(Flex Station 3 Molecular Devices, San Jose, USA)で測定した。

## 6. 組織形態学的分析

### (1) 組織切片の作製

組織標本は、10%NBF液に浸漬し、振盪固定した鰓後腺を常法に従いパラフィン包埋をして5~7 $\mu\text{m}$ で薄切した連続切片をスライドガラスに貼付け、一般染色および免疫組織化学染色(免疫染色)を実施した。一般染色は、H.E染色およびマッソントリクローム染色(Masson Trichrome:MT染色)を行った。抗CTの免疫染色は、ヒストファインSAB-PO(R)キット(ニチレイバイオサイエンス, 東京)を使用し、一次抗体として抗ニワトリCTポリクローナルウサギ抗体(製品コードPAA689Ga01, CLOUD-CLONE CORP USA, USA)の300倍希釈溶液を4℃で一晩反応させた。抗体希釈液(製品コード番号S0809, Dako North America Inc, USA)を陰性対照として一次抗体の代わりに使用した。二次抗体以降はヒストファインキットの使用説明書に従った。発色は、ヒストファインDAB基質キット(ニチレイバイオサイエンス, 東京)で調整したDAB溶液を室温で10分反応させた。その後、マイヤーのヘマトキシリン染色液で40秒間対比染色をして、水洗、脱水透徹後に封入(MOUNT-QUICK, 大道産業株式会社, 東京)し、光学顕微鏡で観察した。鰓後腺実質の腺上皮細胞および嚢胞上皮細胞について、各上皮細胞の細胞質が茶褐色に染色された細胞をCT陽性細胞として判定した(図1)。

### (2) 鰓後腺の組織形態学的観察および測定

誘導前の4羽、終了直後の3羽および終了2週間後の4羽から鰓後腺を採材し、実質の腺上皮細胞、嚢胞、嚢胞上皮細胞および支持組織の間質について組織学的に形態を観察した。嚢胞内腔径のサイズおよび間質領域面積は顕微鏡用デジタルマイクロスコープ(Moticam 3)を装着した光学顕微鏡(BX50)および画像解析ソフト(Motic Images Plus 2.1S)を用いて計測をした。

嚢胞内腔径の大きさ別の嚢胞個数と割合について、嚢胞内腔径の大きさ別の分類はMchelucciら,(1961)およびHodges,(1970)の報告を参考にした。本研究では、長軸100 $\mu\text{m}$ 、短軸30 $\mu\text{m}$ を

中型として、その前後を4段階（小型： $<30\mu\text{m}$ ，中型： $30\mu\text{m}$ ～ $100\mu\text{m}$ ，大型： $100\mu\text{m}$ ～ $300\mu\text{m}$ ，極大型： $>300\mu\text{m}$ ）に設定して大きさ別に分類した。囊胞の多くは間質結合組織間に独立して歪んだ円形もしくは楕円状を示しているため、集簇した囊胞や不定形な形状の囊胞は隣接する囊胞と間質結合組織で区分されているかを基準として最大長の内腔径を測定した。大きさ別分類は、各採材時の囊胞内径大きさ別毎の囊胞平均数を求め、さらに大きさ別毎の囊胞数を囊胞総数で除して算出した割合をパーセントで表示した。

囊胞上皮細胞の形状は、囊胞毎に囊胞内腔を一部もしくは全体を覆った上皮について扁平状、立方状および多列状の3つに分類した。形状別分類は、各採材時点の形状別毎の囊胞平均数を求め、さらに形状別毎の囊胞数を囊胞総数で除して算出した割合をパーセントで表示した。

### (3) 鰓後腺の間質および実質領域面積の測定と占有割合

間質領域面積は、鰓後腺  $100,000\mu\text{m}^2$ （囊胞内腔、上皮小体、頰動脈小体、リンパ球を除く）に対して、MT染色で青色に染色された部分の面積を間質領域面積として計測し、 $100,000\mu\text{m}^2$ で除して間質領域割合を算出しパーセントで表示した。実質領域面積は、 $100,000\mu\text{m}^2$ から間質領域面積を除いた面積として計測し、 $100,000\mu\text{m}^2$ で除して実質領域割合を算出しパーセントで表示した。

### (4) 鰓後腺の免疫染色によるCT陽性細胞率の算出

CT陽性細胞率は、光学顕微鏡（倍率200倍）で鰓後腺実質の腺上皮細胞を数えた1,000個に対して、CT陽性細胞として数えた数を1,000個で除してパーセントで表示した。

### (5) 鰓後腺実質領域に占めるCT陽性細胞分布領域の割合

CT陽性細胞の分布する領域が鰓後腺実質領域に占める割合の増減を経時的に比較するため、上記の(3)の実質領域の割合にCT細胞陽性率を乗じて算出しパーセントで表示した。

## 7. 統計処理

測定値は平均値±標準偏差を表し、分析にはEXCEL2016

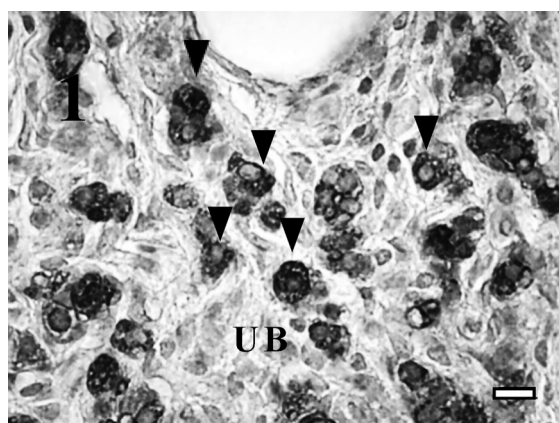


図1. 鰓後腺実質の腺上皮細胞のCT陽性細胞抗CT免疫染色。Bar=10 $\mu\text{m}$ 。採卵鶏65週齢（鰓後腺右側）。CT陽性細胞は細胞質が茶褐色に染色された（黒矢頭）。

(MS社、米国) IBM SPSS Statistics 24.0 (IBM社、米国) を用いて Tukey HSD 検定を実施した。それぞれの有意確率P値は0.05未満 ( $P<0.05$ ) を有意差ありと判定した。

## 結 果

### 1. 体重の推移

平均体重について、終了直後は開始前、終了1週間後および終了2週間後に比べて有意に低かった ( $P<0.05$ )。開始前に対する終了直後の平均体重の減少率は、17.9%であった。終了2週間後の平均体重は、開始前の99.1%まで回復した（開始前  $1,519\pm 105\text{g}$  ( $n=20$ )，終了直後  $1,246\pm 95\text{g}$  ( $n=13$ )，終了1週間後  $1,440\pm 114\text{g}$  ( $n=7$ )，終了2週間後  $1,506\pm 103\text{g}$  ( $n=7$ )) (図2)。

### 2. 誘導換羽による羽毛の脱落状況

誘導換羽期間中の脱羽はみられなかったが、誘導換羽の終了から3日後に7羽中3羽に脱羽がみられ、終了1週間後から2週間後にかけて脱羽がピークとなり全ての鶏で観察された。しかし、羽毛の脱落部位は鶏体表の部分的脱落にとどまった。

### 3. 産卵と卵殻厚の推移

産卵停止は誘導換羽の開始3日目から7日目までに全羽で停止した。産卵再開は終了1週間後から2週間後までに7羽中1羽を除き産卵があり、平均休産卵日数は  $10.8\pm 1.3$  日であった。

卵殻厚について、終了直後では、開始前に比較して  $0.050\text{mm}$  薄かった。終了2週間後では、終了直後に比べて  $0.053\text{mm}$  厚くなった。終了直後と開始前および終了2週間後との間に有意な差が認められた（開始前： $0.382\pm 0.028\text{mm}$ ，終了直後： $0.342\pm 0.023\text{mm}$ ，終了2週間後  $0.395\pm 0.015\text{mm}$ ）(表1)。

### 4. 卵巣の卵胞および卵管の卵形成部位（卵位）の肉眼観察

肉眼で観察した各群の卵巣・卵管に異常な病的変化はなかった。終了直後の卵巣に発育卵胞はみられず、 $0.3\sim 1\text{mm}$  径の卵胞が大多数を占めていた。終了直後の卵管では退縮が認められた

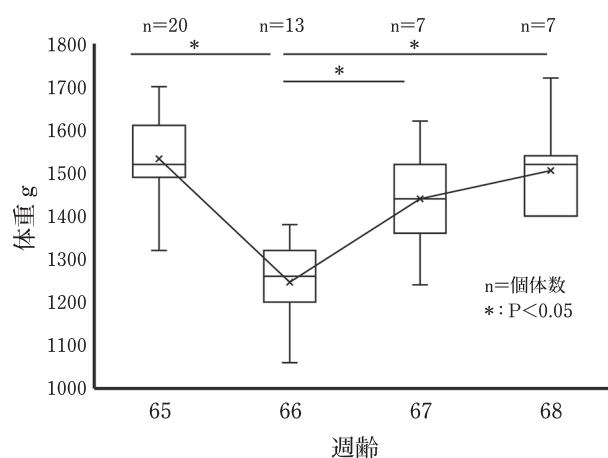


図2. 体重の推移

平均体重±標準偏差 (n=個体数)，誘導換羽の開始前65週齢  $1,519\pm 105\text{g}$  ( $n=20$ )，終了直後66週齢  $1,246\pm 95\text{g}$  ( $n=13$ )，終了1週間後67週齢  $1,440\pm 114\text{g}$  ( $n=7$ )，終了2週間後68週齢  $1,506\pm 103\text{g}$  ( $n=7$ )，×：平均値 \*： $P<0.05$ 。



(図3)。

### 5. 脛骨における骨髓骨の面積割合

脛骨骨髓における骨髓骨が占める面積割合について、終了直後は開始前の42.6%まで縮小を示し、有意な差が認められた。しかし、個体間のばらつきは大きく、平均値の変動係数を算出(標準偏差/平均値)すると終了直後の0.30に対して開始前で0.17および終了2週間後で0.09であった。終了2週間後は開始前の75.4%まで回復し、終了直後に比べて有意に高値を示した(開始前33.3±5.5%, 終了直後14.2±4.2%, 終了2週間後25.1±2.3%) (図4)(表1)。

### 6. 血清Ca濃度および血清CT濃度の測定

血清Ca濃度の平均値について、終了直後は他の時点に比べて有意(P<0.05)に低値を示した。その後、終了1週間後に急上昇して最高値となり、終了2週間後に低下して開始前と同程度の水準となった(開始前29.3±3.3mg/dl, 終了直後10.8±0.6mg/dl, 終了1週間後33.7±9.9mg/dl, 終了2週間後28.0±5.1mg/dl) (表2)。

表 1. 卵殻厚および骨髓骨の面積割合

週齢	n	卵殻厚 <sup>1)</sup> (mm)	骨髓骨の <sup>2)</sup> 面積割合 (%)
誘導前	65 19/7 <sup>3)</sup>	0.382±0.028 <sup>a4)</sup>	33.3±5.5 <sup>a</sup>
終了直後	66 13/6	0.342±0.023 <sup>b</sup>	14.2±4.2 <sup>c</sup>
終了2週間後	68 6/7	0.395±0.015 <sup>a</sup>	25.1±2.3 <sup>b</sup>

n=個体数 平均値±標準偏差。

- 1) 誘導換羽期間で産卵停止直前の卵(軟卵, 破卵を除く)。
- 2) 脛骨の骨幹中央の横断像において皮質骨に内接する骨髓骨250,000μm<sup>2</sup>を選択し、その領域に占める骨髓骨の面積の割合を%で示す。
- 3) n=卵殻厚測定の個体数/骨髓骨の面積測定の個体数
- 4) <sup>abc</sup> 異符号間に有意差あり(P<0.05)。

血清CT濃度は、終了直後で開始前より低値を示し、終了1週間後で開始前と同レベルに上昇し、終了2週間後で有意な低値まで低下した(開始前158.1±25.7pg/ml, 終了直後130.4±25.6pg/ml, 終了1週間後155.5±34.6pg/ml, 終了2週間後92.7±14.7pg/ml) (表2)。

### 7. 鰓後腺の組織形態学的観察

鰓後腺の嚢胞を含む組織像の観察は、開始前(n=4), 終了直後(n=3)および終了2週間後(n=4)について行った。

#### (1) 嚢胞内腔径の大きさ別分類と構成割合および形状

開始前では、嚢胞平均数は9.0±7.0個で、大きさは極大型が0.5±0.5個みられ(図5A), 中型が5.8±4.4個で嚢胞総数の61.1%を占めて最も多かった。終了直後では、嚢胞平均数は17.7±3.4個で開始前の約2倍程度に増加し、大きさは大型6.0±5.9個と中型9.3±1.7個を合わせて嚢胞総数の86.8%であった。嚢胞の形状は歪んだ円状で不定形なものが多くみられた(図5B)。終了2週間後では、嚢胞平均数は10.3±7.5個で、大きさは極大型で0.5±0.5個と大型で3.8±4.5個にみられ、合わせて嚢胞総数の41.5%であった。その形状は終了直後よりもさらに複雑な形状を呈した(図5C)(表3)。

#### (2) 嚢胞上皮細胞の形状別分類と構成割合

開始前では、扁平状の嚢胞上皮で覆われた嚢胞平均数は8.5±7.4個で(図5A, 5Aa), 嚢胞総数の94.4%を占めて最も高かった。終了直後では、小~中型の嚢胞に立方状の嚢胞上皮に覆われた嚢胞平均数は1.7±1.7個で、嚢胞総数の9.5%であった(図5B, 5Ba)。終了2週間後では、立方状や一部に多列状の嚢胞上皮細胞に覆われた嚢胞は小~中型に加えて大型嚢胞にもみられ(図5C, 5Ca), 嚢胞平均数は立方状1.3±0.8個および多列状0.5±0.9個で、立方状と多列状で嚢胞総数の17.1%であった(表4)。

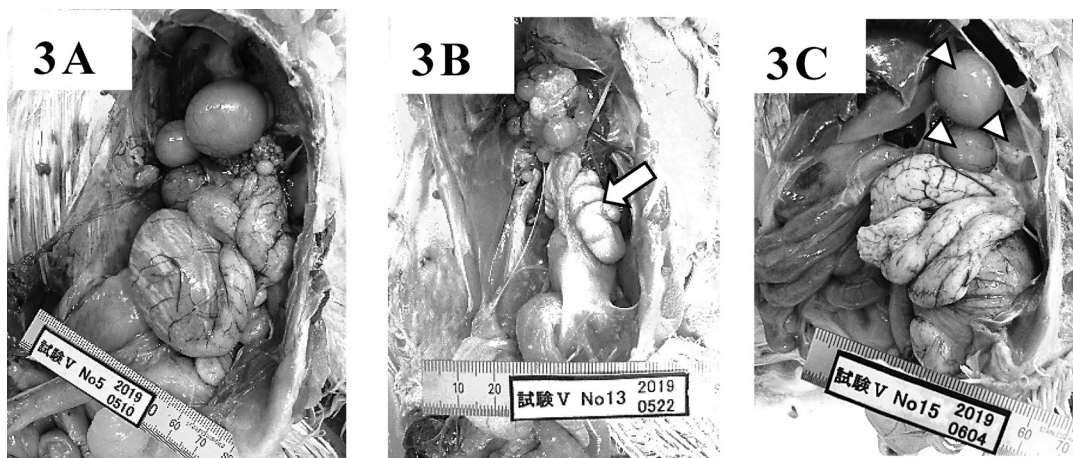


図 3. 卵巣および卵形成部位(卵位)の肉眼観察

3A: 開始前65週齢。3B: 終了直後66週齢。3C: 終了2週間後68週齢。

終了直後の卵巣は全て未成熟な卵胞で、卵管も誘導前に比べて退縮し卵管内に卵形成はなかった(白抜矢印)。一方、終了2週間後の卵巣は全羽に排卵前の成熟卵胞が3個以上(白矢頭)みられ、卵管にも卵形成があり、誘導前と同程度に卵管は膨大し再興されていた。

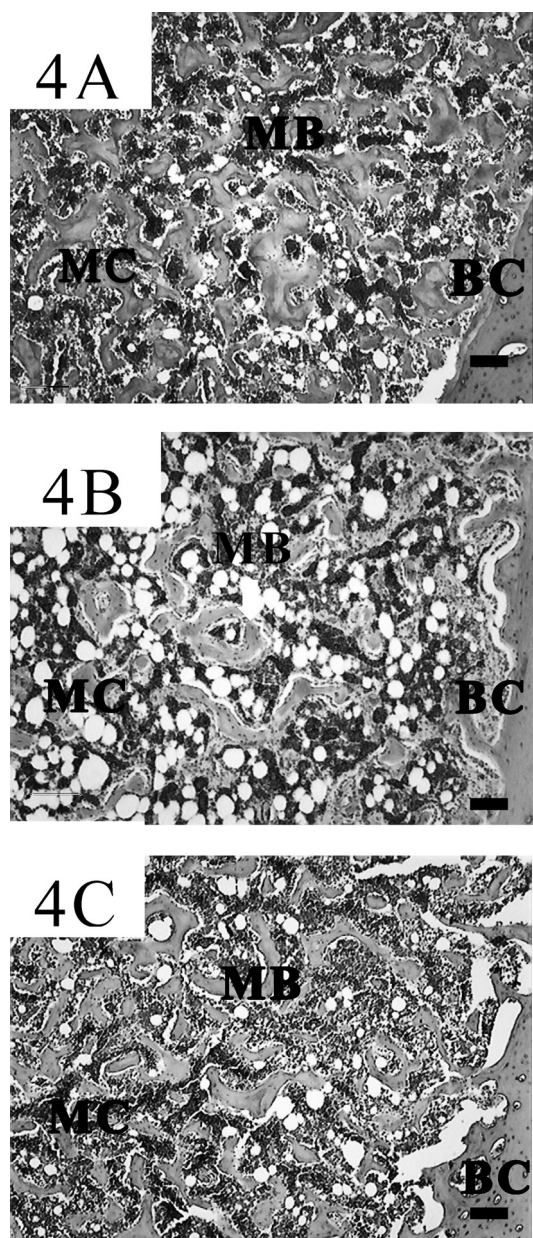


図 4. 脛骨骨髓骨の組織像 (4A, 4B, 4C) HE 染色. (4A, 4B, 4C) Bar=100  $\mu$ m. 4A: 開始前 65 週齢. 4B: 終了直後 66 週齢. 4C: 終了 2 週間後 68 週齢. MC: 骨髓腔. MB: 骨髓骨. BC: 皮質骨. 4A (骨髓骨の面積割合 31.1%): 開始前の平均は  $33.3 \pm 5.5\%$  であった. 4B (骨髓骨の面積割合 9.7%): 終了直後の平均は  $14.2 \pm 4.2\%$  で誘導前に比べて半分以下に減少していた. 4C (骨髓骨の面積割合 26.9%): 終了 2 週間後の平均は  $25.1 \pm 2.3\%$  で誘導前に比べて 75% までに回復していた.

### (3) 鰓後腺に占める間質領域の割合

鰓後腺の  $100,000 \mu\text{m}^2$  に占める間質領域面積の割合について、終了直後および終了 2 週間後は開始前に比べて間質領域の割合が

表 2. 血清 Ca および血清 CT 濃度

採血時期	週齢	n	血清 Ca 濃度 (mg/dl)	血清 CT 濃度 ( $\rho\text{g/ml}$ )
開始前	65	4/6 <sup>1)</sup>	$29.3 \pm 3.3$ <sup>a2)</sup>	$158.1 \pm 25.7$ <sup>a</sup>
終了直後	66	6	$10.8 \pm 0.6$ <sup>b</sup>	$130.4 \pm 25.6$ <sup>ab</sup>
終了 1 週間後	67	6	$33.7 \pm 9.9$ <sup>a</sup>	$155.5 \pm 34.6$ <sup>a</sup>
終了 2 週間後	68	6	$28.0 \pm 5.1$ <sup>a</sup>	$92.7 \pm 14.7$ <sup>b</sup>

n=個体数 平均値±標準偏差.

1) 誘導前の血清 Ca 濃度 (n=4), 血清 CT 濃度 (n=6) で測定.

2) <sup>ab</sup> 異符号間に有意差あり (P<0.05).

増加して有意な差が認められた (開始前  $17.3 \pm 2.1\%$ , 終了直後  $33.6 \pm 3.8\%$ , 終了 2 週間後  $26.5 \pm 1.0\%$ ) (表 5).

### 8. 鰓後腺の CT 陽性細胞の免疫組織的観察

鰓後腺の CT 陽性細胞分布状況について、開始前では、CT 陽性細胞は臓器辺縁から嚢胞や上皮小体周囲に向けて集簇していた (図 6A, 6Aa)。終了直後では、CT 陽性細胞は間質領域の拡大によって嚢胞や上皮小体周囲より臓器辺縁に向けて分布していた (図 6B, 6Ba)。終了 2 週間後では、CT 陽性細胞は嚢胞内腔径が拡大した嚢胞の周辺に集簇していた (図 6C, 6Ca, 6Cb)。なお、嚢胞の立方状および多列状の嚢胞上皮細胞や嚢胞内腔の内容物は免疫染色による陽性反応を示す像は確認されなかった。

鰓後腺実質の腺上皮細胞の CT 陽性細胞率について、終了 2 週間後は終了直後よりもやや高い傾向にあった (開始前  $31.6 \pm 2.5\%$ , 終了直後  $28.0 \pm 3.6\%$ , 終了 2 週間後  $33.5 \pm 4.0\%$ ) (表 6)。

鰓後腺実質領域に占める CT 陽性細胞分布領域の割合について、終了直後では開始前に比べて有意に低値を示し、終了 2 週間後では高くなる傾向 (P=0.06) があった (開始前  $26.2 \pm 2.7\%$ , 終了直後  $18.5 \pm 1.5\%$ , 終了 2 週間後  $24.6 \pm 2.0\%$ ) (表 6)。

## 考 察

本研究では、産卵中の採卵鶏 (65 週齢) に低 Ca のフスマを給与して換羽を誘導し、開始前、終了直後および終了 2 週間後の鰓後腺について組織形態学的変化を観察した。

誘導換羽は、産卵鶏に産卵を停止させ、卵管の退縮の時間を与えるため、産卵鶏が産卵のために再び刺激されるときに生産性能が向上するとしている (Webster, 2004)。強制換羽 (絶食 5 日間) の休産日数は春季で平均  $29.6 \pm 14.1$  日, 最短で 11 日との報告 (中沢ら, 1968, 1970) や、産卵鶏 (66 週齢) で絶食 (10 日間) とその後の非絶食 (低 Ca (0.38%) 飼料を 17 日間給与) による誘導換羽で脛骨石灰化の減少にもかかわらず卵殻厚が改善されていたとの報告がある (Mazzuco and Hester, 2005a; 2005b)。本研究では、誘導換羽による休産日数は  $10.8 \pm 1.3$  日で産卵が回復した。骨髓骨の面積割合は、終了直後に開始前の 1/2 以下に減少したが、終了 2 週間後では開始前の 3/4 まで回復したことが、卵殻厚についても開始前と比較して終了 2 週間後では差がない程度に回復していた。したがって、本研究の誘導換羽は卵管の退縮から産卵開始までの時間は短く、軽度の誘導換羽であったと考えられる。



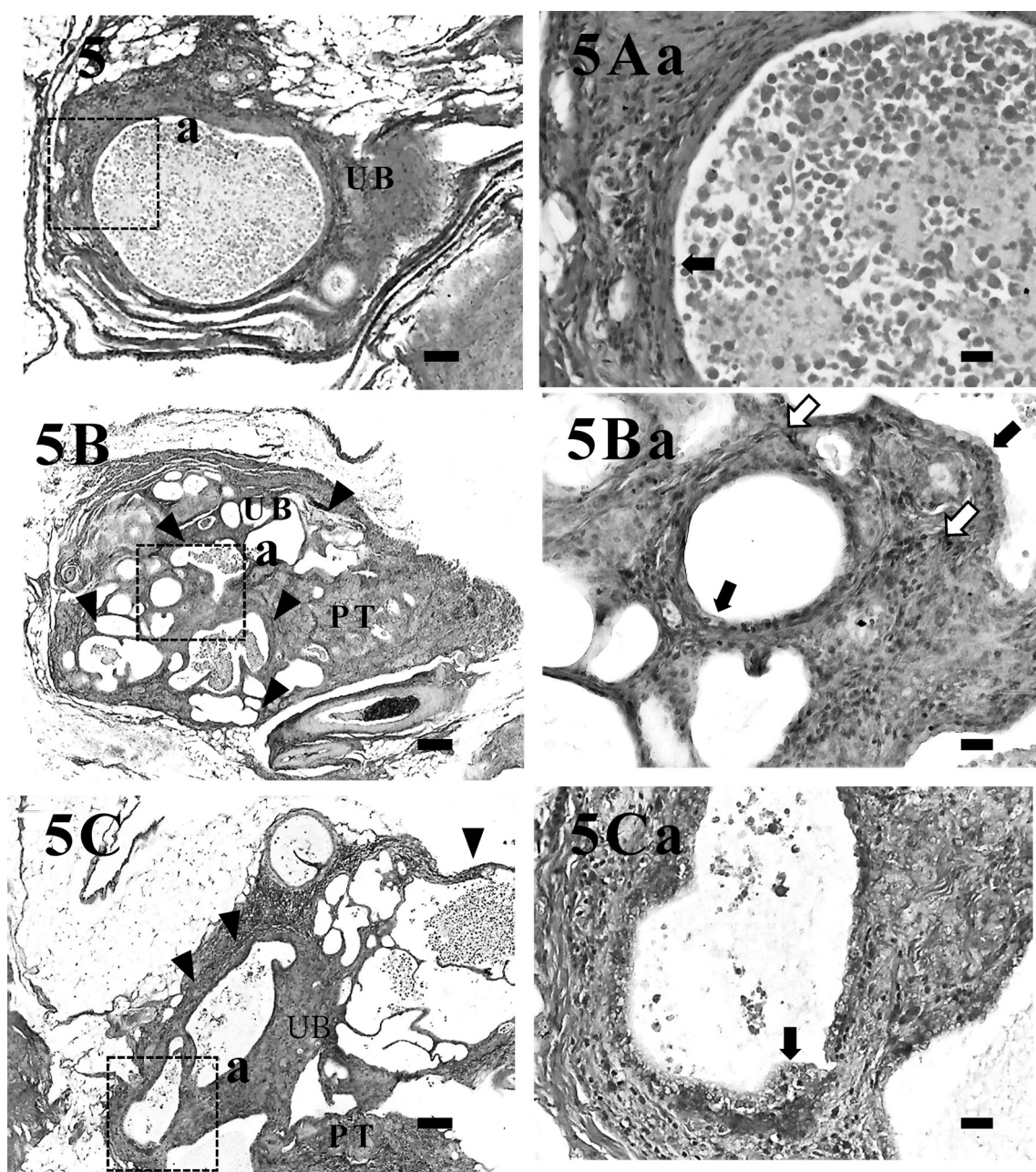


図 5. 鰓後腺の組織形態学的観察

(5A, 5B, 5C) HE 染色.

(5A, 5B, 5C) Bar=100  $\mu\text{m}$ . (5Aa, 5Ba, 5Ca) Bar=50  $\mu\text{m}$ .

5A, 5Aa: 開始前 65 週齢 (鰓後腺右側). 5B, 5Ba: 終了直後 66 週齢 (鰓後腺左側). 5C, 5Ca: 終了 2 週間後 68 週齢 (鰓後腺左側).

UB: 鰓後腺. PT: 上皮小体.

5A: 開始前の極大型嚢胞は嚢胞内径径が 700  $\mu\text{m}$  を超して鰓後腺全体を占める. 5Aa: 5A の破線四角で囲まれた部位 a の拡大; 嚢胞内腔を扁平な嚢胞上皮細胞が覆う (矢印). 5B: 終了直後の嚢胞は風船が萎んだような不定形な中～小型が多数を占めていた (矢頭). 5Ba: 5B の破線四角で囲まれた部位 a の拡大; 一部の小～中型の嚢胞上皮細胞が立方状に変化していた (矢印). その周囲に結合組織は増生し間質領域は拡大している (白抜矢印). 5C: 終了 2 週間後の嚢胞は終了直後の歪んだ円状の不定形な形状の嚢胞が大きく膨らんだような大中型～大型の嚢胞がみられた (矢頭). 5Ca: 5C の破線四角で囲まれた部位 a の拡大; 嚢胞内腔に貯留物を含んだ嚢胞内を覆う上皮細胞が立方状や多列状 (矢印) を示す大中～超大型嚢胞が他の群に比べて多かった.

表 3. 嚢胞内径径の大きさ別分類と構成割合および形状

週齢	n	嚢胞総数	嚢胞平均数	嚢胞内径径大きさ別の嚢胞平均数と割合 <sup>1)</sup>				合計	
				極大型 (>300 $\mu\text{m}$ · >300 $\mu\text{m}$ )	大型 (100~300 $\mu\text{m}$ · 100~300 $\mu\text{m}$ )	中型 (30~100 $\mu\text{m}$ · 30~100 $\mu\text{m}$ )	小型 (<30 $\mu\text{m}$ · <30 $\mu\text{m}$ )		
開始前	65	4	36	9.0 $\pm$ 7.0	0.5 $\pm$ 0.5 <sup>2)</sup> 5.6% <sup>3)</sup>	1.8 $\pm$ 3.0 19.4%	5.8 $\pm$ 4.4 61.1%	1.3 $\pm$ 1.1 13.9%	100.0%
終了直後	66	3	53	17.7 $\pm$ 3.4	0.0 $\pm$ 0.0 0.0%	6.0 $\pm$ 5.9 34.0%	9.3 $\pm$ 1.7 52.8%	2.3 $\pm$ 1.7 13.2%	100.0%
終了2週間後	68	4	41	10.3 $\pm$ 7.5	0.5 $\pm$ 0.5 4.9%	3.8 $\pm$ 4.5 36.6%	5.0 $\pm$ 3.5 48.8%	1.0 $\pm$ 1.2 9.7%	100.0%

n=個体数 平均値 $\pm$ 標準偏差。

- 1) 嚢胞内径径サイズは嚢胞の最大幅を長軸径とし、それと直角に交わる最大幅を短軸径として測定した。
- 2) 採材時点の鰓後腺の嚢胞内径径サイズ別毎の嚢胞平均数。
- 3) 採材時点の鰓後腺の嚢胞内径径サイズ別毎の嚢胞総数に対する割合 (%)。

表 4. 嚢胞上皮細胞の形状別の嚢胞数と構成割合

週齢	n	嚢胞総数	嚢胞平均数	嚢胞上皮細胞形状別の嚢胞平均数と割合			合計	
				扁平状	立方状	多列状		
開始前	65	4	36	9.0 $\pm$ 7.0	8.5 $\pm$ 7.4 <sup>1)</sup> 94.4% <sup>2)</sup>	0.5 $\pm$ 0.5 5.6%	0.0 $\pm$ 0.0 0.0%	100%
終了直後	66	3	53	17.7 $\pm$ 3.4	16.0 $\pm$ 4.3 90.5%	1.7 $\pm$ 1.7 9.5%	0.0 $\pm$ 0.0 0.0%	100%
終了2週間後	68	4	41	10.3 $\pm$ 7.5	8.5 $\pm$ 7.0 82.9%	1.3 $\pm$ 0.8 12.1%	0.5 $\pm$ 0.9 5.0%	100%

n=個体数 平均値 $\pm$ 標準偏差。

- 1) 採材時点の鰓後腺の嚢胞上皮細胞の形状別毎の嚢胞平均数。
- 2) 採材時点の鰓後腺の嚢胞上皮細胞の形状別毎の嚢胞総数に対する割合 (%)。

表 5. 鰓後腺に占める間質領域の割合

週齢	n	間質領域 (%) <sup>1)</sup>	
開始前	65	4	17.3 $\pm$ 2.1 <sup>b2)</sup>
終了直後	66	3	33.6 $\pm$ 3.8 <sup>a</sup>
終了2週間後	68	4	26.5 $\pm$ 1.0 <sup>ab</sup>

n=個体数 平均値 $\pm$ 標準偏差。

- 1) 鰓後腺 100,000  $\mu\text{m}^2$  (嚢胞内腔, 上皮小体, 頸動脈小体, 胸腺細胞集族群を除く) に占める間質領域面積の割合を%で示す。
- 2) <sup>ab</sup> 異符号間に有意差あり (P<0.05)。

血清 Ca および CT 濃度について、血中 Ca 濃度が上がると CT 分泌も上昇し、血中 CT 濃度は食餌性 Ca レベルに相関する (Dacke *et al.*, 2015)。また、CT の働きは血中 Ca 濃度を低下させる Ca 恒常性の維持と卵殻形成に伴う Ca 需要増大に対応して脛骨 (皮質骨, 海綿骨および骨髄骨) の破骨細胞による骨吸収を抑制する機能を有するとの報告がある (菅原, 1984; 杉山, 2005 ;

Bar, 2008 ; Dacke *et al.*, 2015)。本研究において、血清 Ca 濃度では、誘導換羽の開始前に比べて終了直後は 1/3 程度に低下したが、終了直後の血清 CT 濃度では、開始前に比べて有意な低下は示さなかった。低 Ca (0.3%) 飼料を給与した幼雛では、1 週目に血漿 CT 濃度の劇的な減少を示したが、鰓後腺から抽出された CT 含有量の減少は 2 週目以降からであったとの報告がある (Eliam-Cisse *et al.*, 1993)。産卵期はヒナと異なり Ca を蓄積した骨髄骨が Ca 代謝に関与することから、誘導換羽開始から産卵停止まで日数 (3 日~7 日間) や誘導終了直後の骨髄骨の面積割合は減少するが個体間の差が大きかったことから、鰓後腺の CT 含有量の個体差が血清 CT 濃度に影響したことが推測される。終了 1 週間後では、血清 Ca 濃度の急上昇とともに血清 CT 濃度も開始前と同レベルに上昇し、その翌日から産卵が再開した。誘導換羽後の血清 CT 濃度の高まりは、高 Ca の成鶏用配合飼料の再給与による急激な血中 Ca 濃度の上昇と再産卵の卵殻形成にともなう Ca 需要の高まりと考えられる。

間質領域の変化について、ニワトリでは加齢とともに鰓後腺の嚢胞の数が増加し、間質に疎性結合組織が増してくる (Hodges,



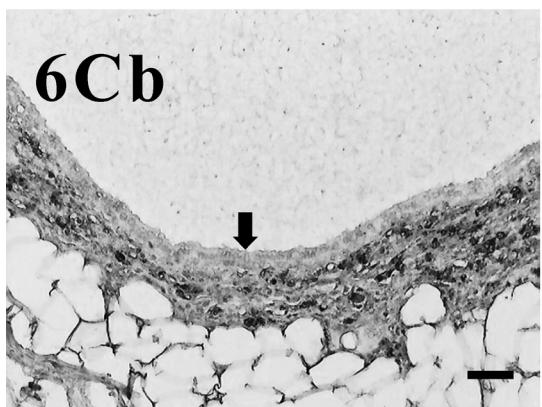
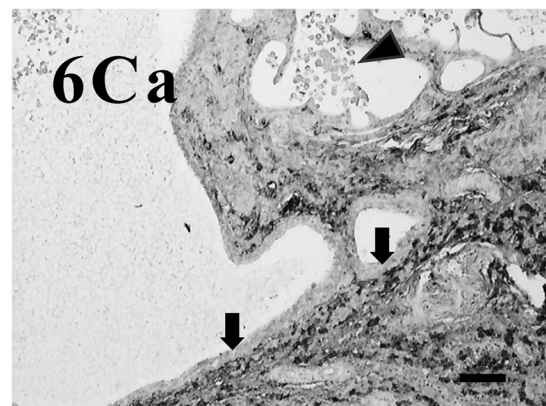
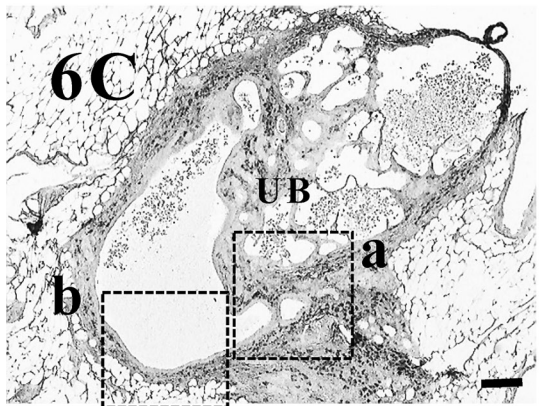
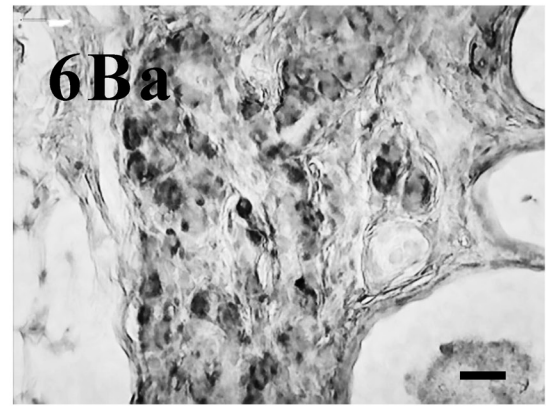
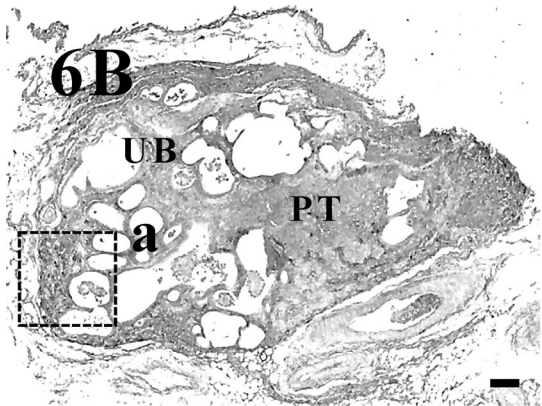
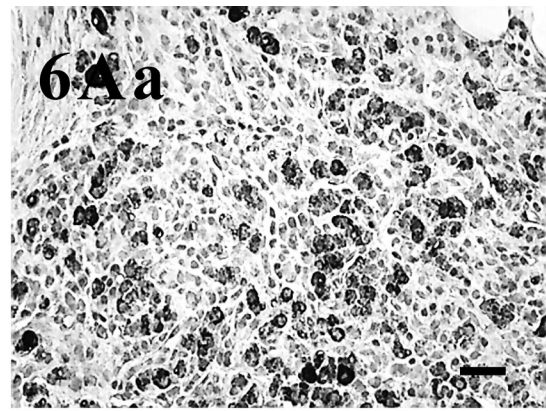
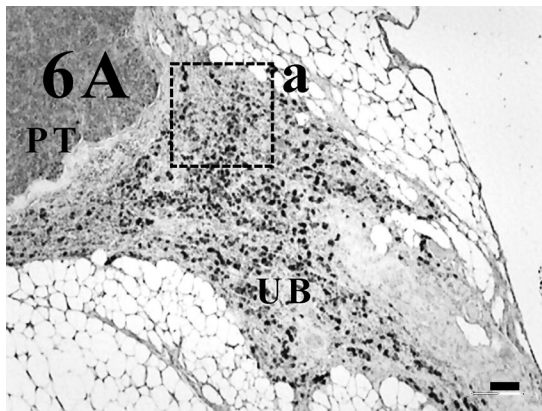




表 6. 鰓後腺の実質領域の割合, CT 陽性細胞率および実質内の CT 陽性細胞分布領域の割合

	週齢	n	A: 実質領域の割合 (%)	B: CT 陽性細胞率 (%)	C: 実質内の CT 陽性細胞 <sup>1)</sup> 分布領域の割合 (%)
開始前	65	4	82.7±2.1 <sup>a</sup>	31.6±2.5	26.2±2.7 <sup>2)</sup>
終了直後	66	3	66.4±3.8 <sup>b</sup>	28.0±3.6	18.5±1.5 <sup>b</sup>
終了2週間後	68	4	73.5±1.0 <sup>b</sup>	33.5±4.0	24.6±2.0 <sup>ab</sup>

n = 個体数 平均値±標準偏差。

- 1) 鰓後腺 100,000  $\mu\text{m}^2$  (嚢胞内腔, 上皮小体, 頸動脈小体, 神経束, 胸腺細集簇群を除く) から間質面積を除いた面積を実質領域とした割合に CT 陽性細胞率を乗じた数を CT 陽性細胞分布領域の割合とした ( $C=A \times B / 100$ )。
- 2) <sup>ab</sup> 異符号間に有意差あり ( $P < 0.05$ )。

1970; Kameda, 1984; Ito *et al.*, 1986)。低 Ca (0.3%), 標準 Ca (1.0%) および高 Ca (3.0%) とレベルの異なる 3 種類の飼料を給与した幼雛の鰓後腺の重量は, 低 Ca 飼料給与群が体重比で最も軽かったとの報告 (Mueller, 1970) や低 Ca 飼料 (<0.1%) を給与した幼雛では, 鰓後腺の萎縮と CT 内分泌細胞の顕著な減少がみられたとの報告がある (Eliam-Cisse *et al.*, 1993)。本研究では, 誘導終了直後の鰓後腺の間質領域の割合は開始前より平均で 1.73 倍に拡大していたが, 終了直後から 2 週後では 1.37 倍へと減少していた。一方, 終了直後の CT 陽性細胞分布領域の割合は開始前より平均で 0.71 倍に減少したが, 終了直後から 2 週後では 1.33 倍に拡大していた。このことから, 産卵鶏においても低 Ca のフスマの給与によって鰓後腺は実質領域の腺上皮細胞が減少して, 相対的に間質領域の割合が増加するのではないかと推測される。したがって, 鰓後腺は加齢による間質領域の増加に加えて, 誘導換羽が間質領域の割合を拡大する要因の一つあることが示唆された。

鰓後腺の CT 陽性細胞分布状況について, 幼雛に低 Ca (<0.1%) 飼料を持続的に給与した結果, 鰓後腺の CT 内分泌細胞は顕著な減少を示すが, 臓器辺縁に持続的に CT を分泌する細胞が常に含まれていたとの報告がある (Eliam-Cisse *et al.*, 1993)。本研究において, 開始前の CT 陽性細胞の分布は嚢胞や上皮小体周囲の臓器中央に向けて集簇し, 終了直後は臓器辺縁に分散して集簇していた。終了直後の鰓後腺では, 実質領域に占める CT 陽

性細胞分布領域の割合は開始前に比べて有意な低値を示した。このことから, 産卵鶏の鰓後腺においても誘導換羽による低 Ca 状態により実質領域内の CT 陽性細胞の割合は減少するが, 臓器辺縁に分布する腺上皮細胞では CT 分泌を継続していることが推測される。終了2週間後では, 鰓後腺の実質領域面積割合は増加するとともに CT 陽性細胞分布領域は終了直後の辺縁から臓器中央へ集簇し, 実質領域面積に占める割合も増加していた。終了1週間後の翌日から産卵が再開し, 卵巣および卵管は開始前の産卵状態までに回復していたことから, 終了2週間後の組織像は, 誘導換羽後の成鶏用配合飼料の再給与による産卵の回復にともなう Ca 需要の高まりに鰓後腺の CT 分泌機能が対応した組織像と考えられる。

鰓後腺の嚢胞の形状と嚢胞上皮細胞の形態について, 25-60 週齢の産卵鶏で嚢胞の形状, 構造および活動は多様であり多数の活発な嚢胞であったとの報告がある (Hodges, 1970)。産卵期の誘導換羽前鶏には極大型嚢胞が, 産卵鶏 (103~104 週齢) には嚢胞上皮細胞の変化や内腔に種々の内容物を含む小~中型嚢胞がみられ, このことを週齢が進んだ産卵鶏の特徴的な変化として報告した (北島ら, 2023)。本研究において, 終了直後では, 開始前に比べて嚢胞数は増加し, 歪んだ円状で不定形な嚢胞が出現した。終了2週間後では, 嚢胞数は減少するが, 終了直後に観察された不定形な嚢胞はさらに異様な形状に拡大したものがみられた。低 Ca 飼料 (<0.1%) を給与した幼雛では, 鰓後腺が徐々に萎縮し,

図 6. 鰓後腺の CT 陽性細胞の免疫組織学的観察

(6A, 6B, 6C) 抗 CT 染色。

(6A, 6B, 6C) Bar=100  $\mu\text{m}$ 。

(6Aa, 6Ba, 6Ca) Bar=20  $\mu\text{m}$ 。

(6Cb) Bar=50  $\mu\text{m}$ 。

6A: 開始前 65 週齢 (鰓後腺左側), 6B: 終了直後 66 週齢 (鰓後腺左側), 6C: 終了2週間後 68 週齢 (鰓後腺左側)。

UB: 鰓後腺, PT: 上皮小体。

6A, 6Aa (6A 黒破線囲み拡大, CT 陽性率 31.6±2.5%, CT 陽性細胞分布領域の割合 26.2±2.7%): 開始前の CT 陽性細胞の分布は, 鰓後腺辺縁部の散在から臓器中心に向けて密度を増した。6B, 6Ba (6B 黒破線囲み拡大, CT 陽性率 28.0±3.6%, CT 陽性細胞分布領域割合 18.5±1.5%): 終了直後の CT 陽性細胞率は開始前および終了2週間後に比べて有意な差はなかった。CT 陽性細胞の分布は不定形な中~大型嚢胞の増加臓器中心から辺縁部への集簇あるいは分散して実質領域ともに縮小していた。6C, 6Ca, 6Cb (6C 黒破線囲み拡大, CT 陽性率 33.5±4.0%, CT 陽性細胞分布領域の割合 24.6±2.0%): 終了2週間後の CT 陽性細胞の分布は, 貯留物を含んだ不定形の大~中型~極大型の嚢胞周囲を中心に集簇し, 間質領域が減少して実質領域も拡大していた。嚢胞を覆う上皮細胞 (6Cb 矢印) や内腔内の内容物 (6Ca 矢頭) に抗ニトリ CT ウサギ抗体を使用した免疫染色で陽性反応を認められなかった。

異常に発達した嚢胞を観察している (Eliam-Cisse *et al.*, 1993)。このことから、誘導換羽においても、産卵鶏の低 Ca 状態は嚢胞の形状に影響を与えるのではないかと考えられる。

嚢胞上皮細胞について、単層もしくは重層状の低い立方 (円柱) 状上皮 (Michelucci, 1961) や 30 週齢前後で扁平層状に加えて立方 (円柱) や多列状上皮もみられたとの報告がある (Chan, 1978; Kameda, 1984)。我々は、産卵期の初産卵鶏と産卵鶏 (103~104 週齢) の小~中型の嚢胞において、嚢胞内腔を覆う扁平な上皮細胞の一部あるいは全周がほぼ立方状に変化したことを観察し、嚢胞上皮細胞は生理的に活動的な細胞であることを報告した (北島ら, 2023)。本研究においても、終了直後には立方状、終了 2 週間後の嚢胞上皮細胞の一部に立方状や多列状の変化がみられた。このことは、誘導換羽でも同様に嚢胞上皮細胞は生理的に活動的な細胞であることを裏付けるものである。また、誘導換羽後の成鶏用配合飼料給与により再産卵に向けて卵管等の臓器の若返りで鰓後腺もより活動的になっていることが推察される。しかし、鰓後腺の生理機能に嚢胞の活動がどのような働きをしているのか不明である。嚢胞の形態と機能について、嚢胞上皮細胞が CT 産生に関与するのか、嚢胞内腔の内容物に CT が存在するののかについて多くの報告がある。嚢胞の機能について、嚢胞上皮の CT 産生能や嚢胞内腔に CT が含まれているのかについては否定的な見解があり、また、嚢胞上皮の構造から嚢胞内腔と嚢胞外とで流体輸送が何らかの形で役割を有する可能性を示唆するなど、明確な機能は確立されていない (Hodges, 1970, 1979; Chan, 1978, 1982; Treilhou-Lahille *et al.*, 1984)。一方、嚢胞上皮細胞や嚢胞に CT が含まれており、嚢胞上皮細胞は嚢胞のホロクリン分泌に寄与している (Isuler, 1973)、過剰または不要なホルモン産生物の貯蔵において部分的に役割を演じる可能性がある (Kameda, 1984; Ito *et al.*, 1986)。本研究では、免疫染色に抗ニワトリ CT ポリクローナルウサギ抗体を使用した嚢胞上皮細胞および内容物に陽性反応を確認できなかった。

本研究の結果をまとめると、低 Ca のフスマを給与した誘導換羽の終了直後では、開始前に比べて体重と血清 Ca 濃度は急激に低下して産卵は停止し、鰓後腺の CT 陽性細胞の分布領域は臓器辺縁に集簇し、実質領域に占める割合が減少して間質領域割合が拡大した。不定形な形状の嚢胞と嚢胞数の増加もみられた。その後、高 Ca の成鶏用配合飼料を給与した終了 1 週間後で血清 Ca 濃度の上昇とともに血清 CT 濃度も開始前のレベルとなり、翌日から産卵が始まった。誘導換羽終了 2 週間後では、終了直後に比べて実質領域に占める CT 陽性細胞の割合は増加し、その分布領域は臓器辺縁から中央に向かって集簇していた。また、活動的な嚢胞もみられた。これらのことから、本研究の誘導換羽における鰓後腺の組織像について、北島ら (2023) が示した産卵期における鰓後腺の組織像の時間軸に重ねると、誘導換羽により産卵を停止し卵管が退縮した誘導直後の鰓後腺は産卵鶏 (103~104 週齢) の組織像により近く、誘導換羽後に産卵を再開し卵管が誘導開始前の産卵状態に回復した誘導換羽終了 2 週間後の鰓後腺は初産卵鶏の組織像により近い組織像を示していた。しかしながら、今回の論文では、誘導換羽のために、産卵鶏の標準飼料である成鶏用配合飼料からフスマに切り替え、また成鶏用配合飼料にもどしてい

るので、実際には Ca 以外にも、他の栄養成分も考慮すべきではあるが、今回は Ca についてのみ検討した内容である。他の栄養成分の影響については、さらなる研究が必要である。

これらの結果から、誘導換羽により産卵が停止した低 Ca 状態から産卵が再開し誘導換羽前に回復した状態において、鰓後腺は CT 陽性細胞分布領域の縮小および拡大することにより、CT の Ca 恒常性を調節していることが示された。

## 引用文献

- Bar A. Calcium homeostasis and vitamin D metabolism and expression in strongly calcifying laying birds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 151 : 477-490. 2008.
- Chan AS. Ultrastructure of the ultimobranchial follicles of the laying chicken. *Cell and Tissue Research*, 195 : 309-316. 1978.
- Dacke CG, Sugiyama T and Gay CV. The role of hormones in the regulation of bone turnover and eggshell calcification. In: *Sturkie's Avian Physiology Sixth Edition* (Scanes CG) : 549-574. ELISEVER, London. 2015.
- Dudley J. The development of the ultimobranchial body of the fowl, *Gallus domesticus*. *The American Journal of Anatomy*, 71 : 65-89. 1942.
- Eliam-Cisse M.C, Taboulet J, Bielakoff J, Lasmoles F, de Vernejoul M.C and Treilhou-Lahille F. Influence of calcium and vitamin D deficient diet on calcitonin gene expression in the ultimobranchial cells of the developing chicken. *General and Comparative Endocrinology*, 89 : 195-205. 1993.
- Heryanto B, Yoshimura B, Tamura T and Okamoto T. Involvement of apoptosis and lysosomal hydrolase activity in the oviducal regression during induced molting in chickens: A cytochemical study for end labeling of fragmented DNA and Acid Phosphatase. *Poultry Science*, 76 : 67-72. 1997a.
- Heryanto B, Yoshimura B and Tamura T. Cell proliferation in the process of oviducal tissue remodeling during induced molting in hens. *Poultry Science*, 76 : 1580-1586. 1997b.
- Hodges RD. The structure of the fowl's ultimobranchial gland. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique*, 10 : 255-279. 1970.
- 今井 清. ニワトリにおける卵生産過程とそのしくみ 日本鳥学会誌, 52 : 1-12. 2003.
- Isler H. Fine structure of the ultimobranchial body of the chick. *The Anatomical Record*, 177 : 441-459. 1973.
- Itou M, Kameda Y and Tagawa T. An ultrastructural study of the cysts in chicken reference to C-cell. *Cell and Tissue Research*, 246 : 39-44. 1986.
- 北島克好・上塚浩司・中島弘美. 採卵鶏の産卵期における鰓後腺の形態変化の経時的観察. 日本家禽学会誌, 60 : 11-19. 2023.
- Mazzuco H and P.Y Hester. The effect of an induced molt and a second cycle of lay on skeletal of white leghorns. *Poultry science*, 84 : 771-781. 2005a.
- Mazzuco H and P.Y Hester. The effect of an induced molt using a nonfasting program on bone mineralization of white leghorns. *Poultry science*, 84 : 1483-1490. 2005b.
- Michelucci S. Ricerche morfologiche e sperimentali sul corpo ultimobranchiale negli Ucelli (*Gallus domesticus*). *Folia Endocrinologica*, 14 : 865-883. 1961.
- 箕浦正人・大口秀司・伊藤裕和・野田賢治・加藤泰之. 採卵鶏における米ぬか又はふすま主体飼料を用いた絶食を伴わない誘導



- 換羽法. 愛知県農業総合試験場研究報告, 37: 173-179. 2005.
- Mueller GL, Anast CS and Breitenbach RP. Dietary Calcium and ultimobranchial body and parathyroid gland in the chicken. *American Journal physiology*, 218: 1718-172. 1970.
- 中沢 稔・古田賢治・北野良一. 強制換羽が産卵鶏におよぼす影響誘導前群. 春季に換羽を誘起した場合. *日本家禽学会誌*, 5: 131-135. 1968.
- 杉山稔恵. 総説 鳥類カルシウム代謝における骨髄骨の形成と吸収. *日本家禽学会誌*, 42: 197-208. 2005.
- 菅原道照. 産卵鶏における Ca 代謝. *日本畜産学会報*, 55: 1-12. 1984.
- Treilhou-Lahille F, Lasmoles F, Taboulet J, Barlet JP, Milhaud G and Moukhtar MS. Ultimobranchial gland of the domestic fowl: Two secretory cell types that produce calcitonin. *Cell tissue Research*, 235: 439-448. 1984.
- Webster A.B. Welfare implication of avian osteoporosis. *Poultry Science*, 83: 184-192. 2004.

## Observation of Morphological Changes in the Ultimobranchial Glands during the Molt Experimentally Induced in Layer Chicken

Katsuyoshi Kitajima<sup>1</sup>, Koji Uetsuka<sup>2</sup> and Hiromi Nakajima<sup>2</sup>

<sup>1</sup>United Graduate School of Agricultural Science, Tokyo University of Agricultural and Technology (Ibaraki University),  
3-21-1 Choume, Ami, Ibaraki 300-0393, Japan

<sup>2</sup>College of Agriculture Ibaraki University, 3-21-1 Choume, Ami, Ibaraki 300-0393, Japan

It is unknown how the ultimobranchial glands (UBG) in a layer chicken would change histologically during the molt induced in the egg-laying stage and the subsequent recovery. Therefore, we induced the molt in 65-week-old layer chickens, and then observed histological and immunohistochemical changes in UBG before the start, just after the finish and at 2-week later of the molt. For the molt that is expected to induce the decrease of 20% of the body weight, we fed the wheat bran that is low in calcium (Ca) for 7 days and then the compound feeds that is high in Ca for 14 days. Actually, after the molt, about 18% of the body weight was decreased. Because the egg-laying restarted soon after the finish of the molt and the eggshell thickness and the bone marrow formation were recovered to the level of preinitiation, the condition of the molt in this study was considered to be mild. The concentration of serum Ca was significantly lower than any other time point, and the concentration of serum calcitonin (CT) was a little lowered just after the finish than before the start, but almost recovered at 1-week later of the molt. Histologically, in the UBG, the number of the small to middle-sized cysts was increased, and the rate of interstitium was significantly increased. At 2-week later of the molt, the size of the cysts became larger, and the shape of a part of the epithelial cells of the cysts changed to cuboidal or pseudostratified. In the parenchyma of UBG, the rate of area in which CT-positive cells distributed was significantly decreased just after the finish and then almost recovered at 2-week later, comparing to before the start of the molt. As described above, taken together, it is shown in this study that UBG would regulate the Ca-homeostasis, induced by molt, changing the ratio of the number of the CT-positive cells distributed in parenchymal of UBG.

*(Japanese Journal of Poultry Science, 60 : J55-J66, 2023)*

**Key words** : calcitonin, induced molt, ultimobranchial glands