

乳牛の分娩前後における
低カルシウム血症の病態
に関する研究

一九五〇年

岐阜大学大学院
畜産学系研究科

山岸 英夫

乳牛の分娩前後における 低カルシウム血症の病態 に関する研究

山 岸 則 夫

目 次

緒 言	1
第I章 乳牛の低Ca血症に関する文献的展望	5
1. 分娩性低Ca血症の原因、とくにCa制御ホルモンの観点から	6
2. 分娩性低Ca血症の臨床症状および発現機序	7
3. Ca剤による治療後も起立不能が存続する低Ca血症乳牛 (ダウンナー牛) について	10
第II章 死産の転帰を辿る低Ca血症乳牛に関する病理学的 研究	14
1. はじめに	15
2. 症 例	15
1) 臨床所見の概要	15
2) 治療成績の概要	18
3) 血液検査所見の概要	18
3. 病理学的検索の方法	18
4. 病理学的成績	20
1) 肉眼的所見	20
2) 組織学的所見	22
5. 考 察	24
6. 小 括	30

第III章 心筋病変を有する低Ca血症乳牛の発生状況、ビタミンEの 動態ならびにCa代謝に関する研究	31
1. はじめに	32
2. 材料および方法	32
1) 分娩後疾病事故の発生状況に関する調査	32
2) 乳熱症例に関する臨床観察ならびに病理学的検索	33
3) 採血ならびに血液の処理	33
4) 血液一般検査、血清生化学的検査ならびに血漿 α -TOC濃度 の測定	36
5) 乳熱症例における血漿Ca、無機リン(iP)、マグネシウム(Mg) ならびにCa制御ホルモン濃度の測定	36
6) 血液検査成績の解析	38
3. 成績	39
1) 分娩後疾病事故の発生状況	39
2) 各乳熱症例の臨床概要	39
3) 血液検査成績	43
a) 各牧場の分娩後事故牛群と乳熱症例群における分娩前血 液検査所見の比較	43
b) 各乳熱症例における分娩前および第1病日の血液検査所 見	43
c) 乳熱症例におけるCa代謝	45
(i) 血漿Ca濃度の推移	45
(ii) 血漿iP濃度の推移	50
(iii) 血漿Mg濃度の推移	50

(iv) 血漿 iPTH濃度の推移	50
(v) 血漿 1,25-(OH) ₂ D濃度の推移	53
(vi) 血漿 25-OHD濃度の推移	53
4) 剖検症例の病理学的所見	53
4. 考 察	57
5. 小 括	62

第IV章 心筋病変を有する低Ca血症乳牛における心筋の組織学的所見

見	64
1. はじめに	65
2. 症 例	65
1) 臨床経過の概要	65
2) 血液検査所見の概要	67
3. 病理学的検索の方法	69
1) 肉眼的および組織学的検索	69
2) 透過型電子顕微鏡による検索	69
4. 成 績	70
1) 肉眼的および組織学的所見	70
2) 透過型電子顕微鏡所見	74
5. 考 察	79
5. 小 括	84

第V章 心筋病変を有する低Ca血症乳牛における臨床経過中の臨床

所見、血液検査成績ならびに心電図検査所見の特徴	85
1. はじめに	86

2. 材料および方法	86
1) 供試牛	86
2) 症例概要の聴取、臨床観察ならびに採血	88
3) 血液検査項目および測定方法	88
4) 心電図の記録ならびに各成分の測定方法	89
5) 成績の解析方法	90
3. 成績	90
1) 症例の概要	90
2) 臨床症状	92
3) 血液検査所見	92
4) 心電図検査所見	96
4. 考察	100
5. 小括	108
第VI章 山羊の実験的低Ca血症に関する研究	110
1. はじめに	111
2. 実験A: 血液透析による低Ca血症誘発の試み	112
1) 材料および方法	112
a) 供試動物および実験概要	113
b) 血液透析の方法	113
c) 透析液の組成	114
d) 臨床観察	114
e) 採血方法	114
f) 血液生化学的検査	117
g) 統計処理	117

2) 成績	117
a) 臨床症状の変化	117
b) 血液生化学的所見	118
3) 考察	132
3. 実験B: 低Ca血症が心臓へ及ぼす影響	135
1) 材料および方法	135
a) 供試動物	135
b) 血液透析方法	137
c) 透析液の組成	137
d) 臨床観察	137
e) 採血および血液生化学的検査の方法	139
(i) 採血方法	139
(ii) 血漿Ca ⁺⁺ およびCa濃度の測定	139
(iii) 血漿CKおよびLDH活性値と各isoenzymeの分離および測定	139
(iv) 山羊の主要臓器中CKおよびLDH活性値の測定とisoenzymeの分離	140
f) 心電図記録および測定方法	141
g) 心臓の組織学的検索	141
h) 各測定成績の評価方法	142
2) 成績	142
a) 臨床症状の変化	142
b) 血液生化学的所見	144
(i) 血漿Ca ⁺⁺ およびCa濃度の推移	144
(ii) 血漿CKおよびLDH活性値の推移	147

(iii) 血漿中のCKおよびLDHの各isoenzyme活性値の変動	149
c) 心電図所見	149
d) 心臓の組織学的所見	153
e) 山羊の各臓器中CKおよびLDH活性値とisoenzymeパターン	153
3) 考 察	156
4. 小 括	163
総 括	166
謝 辞	173
引用文献	175

この書は、日本の経済発展と社会変革の歴史を、戦後から現代まで、詳しく解説している。戦後の日本は、経済的成長を遂げ、社会も大きく変化した。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。

緒 言

本書は、戦後の日本社会の発展と変革の歴史を、戦後から現代まで、詳しく解説している。戦後の日本は、経済的成長を遂げ、社会も大きく変化した。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。

戦後の日本は、経済的成長を遂げ、社会も大きく変化した。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。この変化は、戦後の日本社会に大きな影響を与えた。

乳牛の分娩性低カルシウム (Ca) 血症 (parturient hypocalcemia) は分娩や泌乳に伴う急激な血中 Ca 濃度の低下に起因して発現する代表的な代謝性疾患であり、乳熱 (milk fever) および産褥麻痺 (parturient paresis) の類義語として扱われている。その症状は弛緩麻痺を特徴とする神経筋障害や意識低下などを主徴として起立不能に陥るものである^(84, 99, 104, 143)。その発生率は分娩乳牛の約 3-9% であり、とくに高産歴・高泌乳能力を有する乳牛で多発する傾向がある^(2, 42, 49, 68, 107)。本症に対する治療法は塩化 Ca、グルコン酸 Ca またはポログルコン酸 Ca などの静脈内投与が広く行われているが、5-15% の症例では Ca 剤による治療後も起立不能が存続する^(8, 32, 51)。

Ca 剤による治療後も起立不能が存続する低 Ca 血症乳牛の状態は、海外では downer cow syndrome (ダウナー牛症候群)^(8, 68)、わが国では産前産後起立不能症^(52, 118)と呼ばれ、死廃率の高い疾病 (症候群) として重視されてきた。昭和 56 年度～平成 8 年度までの家畜共済統計表⁽⁹⁷⁾を参照すると、わが国における産前産後起立不能症の死廃頭数は常に共済加入乳牛における総死廃頭数の 1 割以上を占めており、死廃頭数被害率は徐々に増加する傾向にある (図 1)。

一般に、分娩性低 Ca 血症の乳牛が Ca 剤の治療によっても起立できない要因として、①毒素産性細菌による乳房炎や子宮炎、②難産に伴う骨盤臓器や神経の損傷、ならびに③起立行動時の肢 (趾) の滑走による骨格筋や腱の断裂もしくは股関節脱臼などが挙げられている^(17, 121)。さらに、このような併発症を伴わない症例の中には、起立不能の持続により後躯領域の神経と骨格筋が虚血に陥ることに

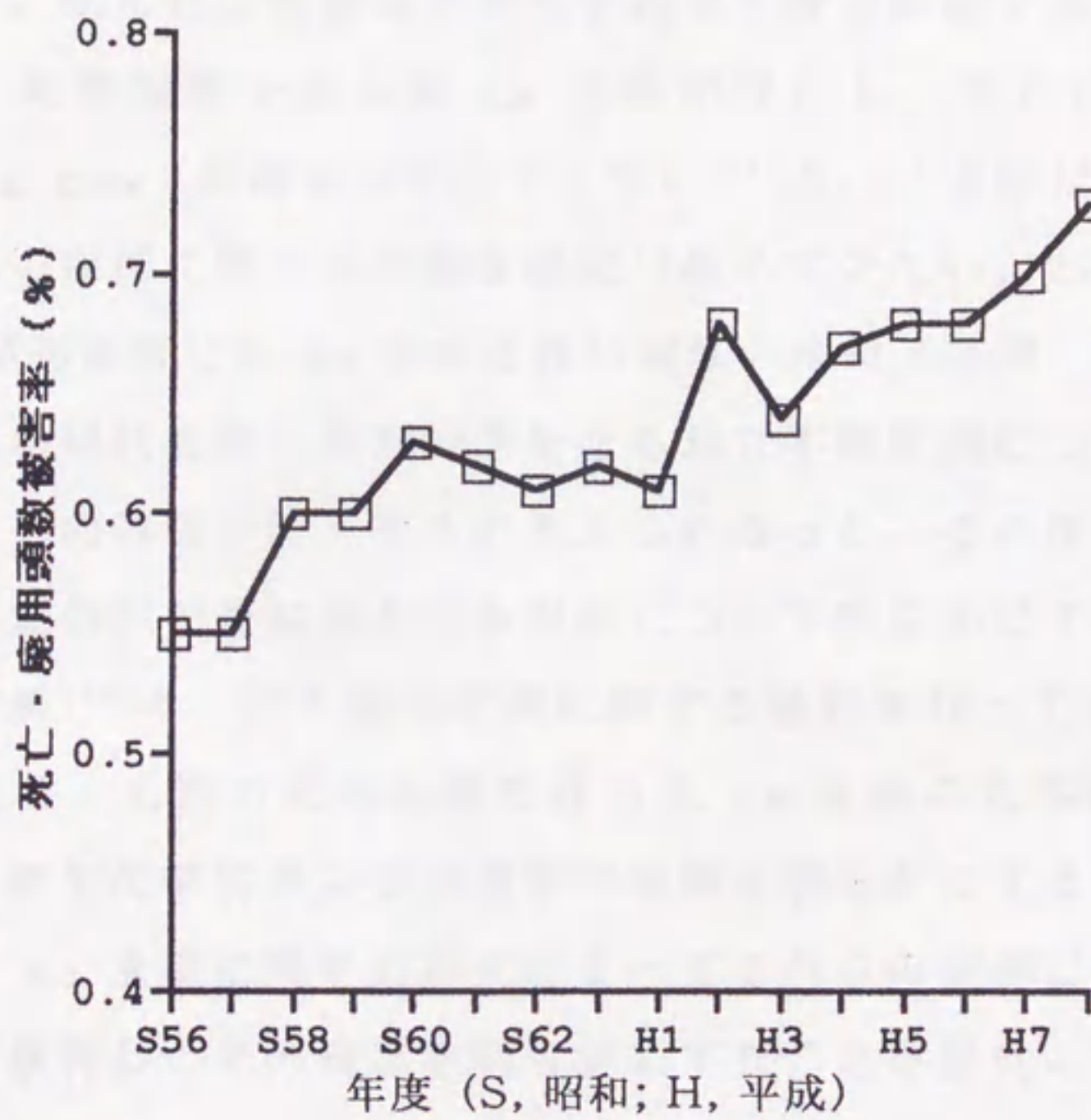


図1. 乳牛における産前産後の起立不能症の死亡・廃用頭数被害率
 [文献(96)から抜粋]

よってさらに起立不能を持続させることが要因になると言われている⁽¹⁷⁾。この後躯領域の虚血性障害に起因して起立不能状態が持続する症例では、伏臥状態である以外に深刻な臨床症状は認められず、その外観から creeper cow (這う牛)⁽⁶⁴⁾または alert downer cow (機敏性ダウンナー牛)^(33, 121)と呼ばれてきた。

一方、明らかな併発症を伴わず起立不能が持続する症例の中には横臥し死産転帰を辿る低 Ca 血症が存在し、それは non-alert downer cow (非機敏性ダウンナー牛)^(17, 37, 121)と呼ばれているが、これらの症例に関する詳細な研究は極めて少ない。わが国では、小岩⁽⁷⁴⁾が初診時に低 Ca 血症を伴い横臥、呻吟・苦悶、頻脈および呼吸困難の症状を発し死産転帰を辿る起立不能症例について報告して以来、その存在が広く知られるようになった。その後、我々はこのような症例が死産転帰を辿る要因について明らかにする目的で、小岩の症例⁽⁷⁴⁾の一部や類似症例に関する検討を行ってきた⁽¹³⁹⁻¹⁴¹⁾。本研究は、上述の死産転帰を辿る低 Ca 血症の乳牛に関する臨床的、血液生化学的および病理学的特徴を明らかにするとともに、実験的低 Ca 血症に関する研究によってこれらの症例における病態について検討し、その病因を明らかにすることを目的として行ったものである。

第 I 章

乳牛の低 Ca 血症に関する文献的展望

1. 分娩性低 Ca 血症の原因、とくに Ca 制御ホルモンの観点から

1925年に Little and Wright⁽⁸³⁾が無発熱性の起立不能性疾患である乳熱もしくは産褥麻痺の病因が分娩前後に起こる低 Ca 血症であることを初めて立証して以来、乳熱や産褥麻痺に関する研究の多くは、低 Ca 血症の発現機序や病態生理の解明を指向してきたと言える。

乳牛では分娩前後に生じる生体内での Ca の流入 (Ca の腸管からの吸収および骨からの再吸収) と流出 (初乳中への Ca の流出) の著しい不均衡の結果として血中 Ca 濃度が減少し易いと言われている^(2, 92, 93, 142)。生体には Ca 恒常性を維持し血中 Ca 濃度のさらなる低下を防ぐ機構が存在し、その主要な働きを司る内分泌ホルモンが、上皮小体ホルモン (PTH) ならびに 1,25-dihydroxyvitamin D [$1,25-(OH)_2D$] である⁽⁶¹⁾。血中の PTH 濃度は血中 Ca 濃度の低下に呼応して上昇し、腎臓での Ca の再吸収や骨からの Ca 動員を促進する。また、PTH は腎臓の 1α -hydroxylase を活性化させて 25-hydroxyvitamin D から $1,25-(OH)_2D$ への変換を促進し、 $1,25-(OH)_2D$ は腸管での Ca 吸収や骨からの Ca 動員を促進する。

1960年代までは、分娩性低 Ca 血症の原因は上皮小体機能不全と言われ、PTH の分泌不全により血中 Ca 濃度が重度に低下すると考えられていた⁽⁵⁴⁾。1960年代後半になって乳牛の上皮小体の組織形態学的研究が行われるようになると、分娩性低 Ca 血症乳牛の上皮小体は活性化の状態にあるとして上皮小体不全説に異議が唱えられ始めた⁽¹³⁾。1970年代に入ると、 $1,25-(OH)_2D$ の生成不全にも原因が求められるようになってきた⁽⁶⁰⁾。しかし、1970年代後半には乳牛の血中 PTH および $1,25-(OH)_2D$ 濃度の測定が可能になり、分娩

性低 Ca 血症乳牛におけるそれらの濃度は非罹患乳牛と同等かそれ以上に上昇していることが明らかにされたため、分娩性低 Ca 血症の発生原因としての内分泌ホルモン分泌もしくは生成不全説は否定されるに至った^(57, 60, 62)。

近年では、 $1,25-(OH)_2D$ の反応遅延^(41, 44, 45)や腸管、腎臓および骨などの PTH および $1,25-(OH)_2D$ に対する標的器官自体での反応性の低下⁽¹⁴²⁾が重度低 Ca 血症の発現に関与することが示唆され始めている。また、これらの内分泌ホルモンに対する標的器官の反応性の低下は給餌飼料中の陽イオン含量の増加に伴って増強され、とくにカリウムを多く含む飼料での飼養は分娩前後乳牛の内分泌ホルモンによる Ca 恒常性の維持に悪影響を与えることが示唆されている⁽⁴¹⁾。

一方、Hollis ら⁽⁵⁷⁾は分娩性低 Ca 血症乳牛では分娩前後の血中エストロジェン濃度が正常分娩牛に比べ有意に高値を示すことを指摘し、エストロジェンによる骨での Ca 再吸収の抑制も低 Ca 血症の発現には無視できない要因であると報告している。

2. 分娩性低 Ca 血症の臨床症状および発現機序

血中 Ca 濃度が 7.5 mg/dl 以下に低下した乳牛において、いわゆる“乳熱症状”が発現するとされ、成書では以下に示すような3段階 (Stage I から III) の血中 Ca 濃度によって臨床症状が分類されている^(104, 143)。血中 Ca 濃度が $7.5 \sim 5.5 \text{ mg/dl}$ の範囲 (Stage I) であれば、罹患牛は起立可能で骨格筋の痙攣、運動失調 (例えば、すり足での踰踉)、不安、興奮、神経過敏および食欲不振などの症状を示し、頭や耳を振り動かす (head bobbing ならびに ear

twitching)といった行動も見られるようになる。この時の体温、心拍数ならびに呼吸数にはあまり大きな変化は見られない。次いで血中 Ca 濃度が 6.5~3.5 mg/dl に減少 (Stage II) すると、乳牛は伏臥し起立不能となり、元気消失、意識の低下、食欲廃絶、鼻鏡の乾燥、体温の低下、心音の減弱、心拍数の増数および消化管運動の停滞などの症状を伴い、頭頸部を体幹へ引き寄せ屈曲させるという様な乳熱特有の姿勢を呈すものもある。さらに血中 Ca 濃度が 2 mg/dl 前後まで低下 (Stage III) すれば、乳牛は意識を消失し昏睡状態に陥り、骨格筋は完全に弛緩・麻痺し、伏臥状態を維持できず横臥する。症例によっては 120 回/分以上の心拍数を示すものもあり、心音および脈圧ともに著しく減弱する。罹患牛が Ca 剤による治療もないまま放置されれば、末梢循環不全のため死亡すると言われている。なお、低マグネシウム血症を併発している症例ではテタニーと知覚過敏症状が顕著に認められ、低リン血症が共存する症例では Ca 剤の治療に対する反応が鈍く起立不能状態が持続しやすいとされている。

周知の如く、Ca は生体において神経や筋の興奮性、筋の収縮と弛緩、細胞膜の透過性、血液凝固ならびに内分泌ホルモンと神経伝達物質の放出に密接に関与し、細胞や組織・器官の生理的機能を調節する因子として重要な役割を果たす。したがって、分娩性低 Ca 血症乳牛の臨床症状は、血中 Ca 濃度の低下によって数々の生体機能の障害を反映したものと考えられる。例えば、分娩性低 Ca 血症乳牛において認められる骨格筋の痙攣、弛緩ならびに麻痺といった一連の特徴的な臨床症状は、骨格筋のみならず骨格筋の運動を統合する神経系機能の障害にも依存すると考えられている。Kowalczyk

and Mayer⁽⁷⁵⁾は分娩性低Ca血症乳牛における骨格筋（半腱様筋）の組織内Ca濃度の低下は正常分娩乳牛と同程度であるが、組織内ナトリウム量の増加とカリウム量の低下が顕著であることを報告している。したがって、分娩性低Ca血症乳牛の骨格筋には筋収縮を行うのに充分量のCaが存在するが、血中Ca濃度の低下によって細胞膜での閾値の低下と透過性の亢進が起こり、初期には骨格筋が過剰に興奮し、さらに血中Ca濃度が低下すれば骨格筋の弛緩・麻痺が発現すると報告した。一方、Bowenら⁽⁷⁶⁾は腓骨神経に電気刺激を与えて運動単位電位(motor unit potential; MUP)を記録したところ、分娩性低Ca血症の乳牛ではMUPは明らかに減弱するがCa剤の投与によって正常電位に回復することを報告し、分娩性低Ca血症の乳牛で特徴的に認められる骨格筋の痙攣、弛緩ならびに麻痺といった一連の臨床症状の発現には、低Ca血症による神経-筋間興奮伝達の抑制作用も大きく関与していることを示唆した。さらに、姜と本好⁽⁷²⁾はCaキレート剤溶液の持続的静脈内投与により実験的に低Ca血症を誘発した山羊において各主要臓器の組織内Ca濃度はいずれも低下することを報告した。また、彼らは大脳皮質では骨格筋や他の臓器よりもはるかに早く組織内Ca濃度の低下が始まることに着目し、低Ca血症の初期において中枢神経系機能が障害されることも一連の臨床症状の発現には無視できない要因であることを指摘している。

分娩性低Ca血症乳牛では心音の減弱と脈圧の低下といった心機能の低下を反映した臨床症状も特徴的である。心筋の興奮・収縮連関は骨格筋と同様に細胞内貯蔵カルシウムイオン(Ca⁺⁺)によって伝達されるが、その制御は骨格筋とは異なり細胞外からのCa⁺⁺流入に

依存している。したがって、分娩性低 Ca 血症乳牛における心機能の低下には細胞外液 Ca の減少による直接的影響も受け易いと考えられる。乳牛の実験的低 Ca 血症において、心拍出量、1 回拍出量および平均動脈血圧は減少し、一方頸静脈血圧、右心房圧、右心室圧、肺動脈血圧および肺血管抵抗が上昇すること^(5, 20)や、血漿量も減少すること⁽¹⁸⁾が示されており、これらが分娩性低 Ca 血症乳牛における心循環機能低下の要因と考えられている。

また、近年になって実験的低 Ca 血症の乳牛や羊における血液ガス分析が行われるようになり、低 Ca 血症による動脈血 pH、二酸化炭素分圧、重炭酸イオン濃度および base excess の上昇、動脈血酸素分圧の減少ならびに静脈血酸素分圧の上昇が明らかにされた⁽⁴⁾。このような低 Ca 血症による血液ガスの変化は、肺における循環血流量の低下に伴う血中への酸素取り込み量の減少や末梢組織における血流量と代謝速度の低下に伴う酸素消費の減少を反映した所見と考えられている^(4, 114)。

3. Ca 剤による治療後も起立不能が存続する低 Ca 血症乳牛（ダウンナー牛）について

ダウンナー牛症候群は広義には起立不能に陥った乳牛の病的状態を示すものであり、その発生要因として分娩性低 Ca 血症をはじめ分娩麻痺、大腸菌性乳房炎もしくは骨折、脱臼など多くの疾患の関与が挙げられる^(2, 17, 33, 104, 118)。しかし、疫学的研究において分娩性低 Ca 血症がダウンナー牛症候群の最も主要な危険因子であることは明らかであり⁽¹⁶⁾、Ca 剤による治療後も起立できない分娩性低 Ca 血症乳牛を狭義的にダウンナー牛と呼称することが慣習となってきた

(8, 17, 33, 69, 92-94, 121)。

緒言で述べた通り、分娩性低 Ca 血症乳牛がダウンナー牛へと移行する一般的な要因として、難産、乳房炎ならびに起立行動時の肢の滑走による運動器損傷などの併発が挙げられている。一方、このような併発症を伴わない症例では、起立不能時の自らの重い体重負荷によって後躯領域が圧迫を受け神経や骨格筋が虚血に陥ることが起立不能をさらに持続する要因であると指摘されている^(17, 32, 33, 66, 121)。Cox⁽¹⁷⁾は、併発症を有さないダウンナー牛では、後躯領域の虚血性障害に起因して起立不能が持続しており、起立不能であること以外に深刻な臨床症状は見られないと報告している。しかし、実際の臨床症例では、起立不能以外にも重篤な臨床症状を発し死産の転帰を辿るものも報告されている。

スウェーデンの Jönsson and Pehrson⁽⁶⁹⁾は臨床症状から乳熱と診断し 2 回の Ca 剤による治療後も起立不能が存続した乳牛について調査を行ったところ、約 8% の症例が心障害症状 (myocardosis) を発現したと報告している。彼らは、大量の Ca 剤をくり返し投与した症例が心障害症状を発現するとし、Ca 剤の過剰ならびに頻回投与が心障害症状の発現に関与したことを推察した。しかし、Hallgren⁽⁵¹⁾による同様の調査では、Ca 剤による治療を行わなかった分娩性低 Ca 血症乳牛でも心障害症状を発現することが報告されており、心障害症状の発現に Ca 剤の投与以外の要因が関与したことが推察される。

ノルウェーの Waage⁽¹³⁴⁾は臨床的に分娩性低 Ca 血症と診断され Ca 剤による治療を受けた乳牛 1097 頭に発現した臨床症状と予後との関連性について検討し、初診時に食欲廃絶、横臥、昏睡、痙攣、発

汗、脈圧の低下、不整脈、頻脈または徐脈ならびに 39℃以上の体温を示す症例では、Ca 剤による治療後も起立不能が存続し易いことを指摘した。さらに、初診時に横臥、昏睡、痙攣、不整脈および心拍数と体温の上昇を呈する症例では死亡率が高いことも指摘している。

オーストラリアの Fenwick ら⁽³⁷⁾は非機敏性ダウンナー牛 (non-alert downer cow) に関する研究を行い、これらの乳牛は低 Ca 血症とともに横臥、呻吟および粘液便排泄などの症状を呈し、Ca 剤投与による治療後も臨床状態の改善はなく、剖検後の肉眼的病変も有さないまま死亡することを報告した。また、彼らは症例の血液生化学的特徴として低 Ca 血症以外に赤血球中カリウム (eK) 濃度の低下を指摘し、これを症例が死亡転帰を辿る要因であると推察した。しかし、Fenwick⁽³⁴⁾が 138 頭の分娩性低 Ca 血症乳牛の eK 濃度について検討したところ、横臥、呻吟および粘液便排泄などの症状や死亡転帰との関連性は見出されなかった。さらに、Fenwick and Daniel⁽³⁵⁾は低 eK 濃度の乳牛を用いて低 Ca 血症の誘発実験を試みたが非機敏性ダウンナー牛の再現には至らず、これらの症例が死亡転帰を辿る要因は依然不明である。

わが国では、1994 年の小岩⁽⁷⁴⁾の報告によって、分娩前後に起立不能となり、初診時より呻吟・苦悶、高度の頻脈ならびに発作性の呼吸困難症状を呈して死産転帰を辿る低 Ca 血症乳牛の存在が広く知られるようになった。これらの症例の多くは年齢 6 歳以上で分娩後 1 日以内に症状の発現がみられ、発症後 2~3 日程度で死産の転帰を迎える。また、これらの症例では乳房炎や産褥熱などの炎症性疾患の併発を伴わなくとも発熱するものが多く、血中 Ca 濃度は一

一般的な乳熱の症例に比べ著しく低下されている。その後、小岩らはさらに症例を重ね、1996年には計23症例の臨床所見と治療の成績について再度報告している⁽⁷⁷⁾。

第 II 章

死産の転帰を辿る低 Ca 血症乳牛に関する 病理学的研究

1. はじめに

長年、北海道を中心に、明瞭な併発症を伴わず、分娩前後に重篤な臨床症状を呈して起立不能に陥り数日以内で死亡する低Ca血症症例の発生が臨床獣医師の中で指摘されていた。小岩らはこれらの症例について調査したところ、症例は年齢4~10歳の高泌乳牛で、分娩当日から翌日にかけて突然の頻脈、呼吸速拍、著しい呼吸困難などの症状を呈して苦悶し起立不能となり、平均2~3日の間で治療に反応せず死亡することを報告した^(74, 77)。本章では、このような低Ca血症の症例が死亡の転帰を辿る要因を明らかにすることを目的として、小岩ら^(74, 77)が報告した症例の一部を含む計13例について病理学的検索を実施した。

2. 症 例

症例は、1989年8月から1992年4月までの間に北海道石狩管内および岩手県盛岡市周辺地域の11酪農家において飼養されていたホルスタイン種乳牛13頭（症例II-1~13）である（表1）。これらの乳牛は、分娩後1週間以内または分娩予定日の14日前に起立不能の稟告で専属獣医師の診察を受けたものである。

1) 臨床所見の概要

初診時には、いずれの症例も頭部を前方へ伸展させ横臥、呻吟・苦悶、呼吸困難の症状を呈し（図2）、頻脈（100~160回/分）、呼吸速拍（60~120回/分）、白色泡沫の流涎および眼球の陥凹を認めた。また、体温の上昇（39.1~40.5℃）を9例（症例II-1~3、5、6、9および11~13）に認め、2例（症例II-1および6）では分

表1. 症例の臨床概要

症例 No.	症例 ID	牧場 ID	年齢 (歳)	産次	分娩後 発症日数	臨床経過 日数	Ca剤投与による 治療の有無	Ca剤以外の薬物 による治療	転帰
II-1	71-03	Mo	7.9	5	0*	1	No	DO	死亡
II-2	28-98	Ma	6.3	4	1	1	No	AT	死亡
II-3	26-78	Yo	6.8	4	-14	1	Yes	DO	死亡
II-4	29-93	Ma	5.1	3	4	1	No	DO	安楽殺
II-5	71-31	Fu	5.3	3	7	2	Yes	DO	死亡
II-6	29-52	Ha	10.6	8	0*	2	Yes	DO, AT	安楽殺
II-7	30-25	Ta	6.4	4	0	3	Yes	No	死亡
II-8	30-27	Mo	8.0	5	0	4	Yes	No	死亡
II-9	29-98	Ma	8.7	6	0	4	No	DO	安楽殺
II-10	689	T	7.6	5	2	5	Yes	No	安楽殺
II-11	87-35	Ys	7.9	5	0	1	No	No	死亡
II-12	79-98	Yo	7.9	5	2	2	Yes	DO	死亡
II-13	73-11	Sa	5.7	3	5	6	No	DO	死亡
Mean			7.2	4.1	0.6	2.5			
SD			1.6	1.3	5.1	1.7			

Yes: あり, No: なし, DO: ドーパミン製剤, AT: 抗血液凝固剤, Mean: 平均, SD: 標準偏差.

* 発症直後に帝王切開術実施.



図2. 横臥、呻吟・苦悶し、白色泡沫を流涎する症例II-10（第4病日）.

娩時に横臥、呻吟・苦悶、呼吸困難などの症状を発現したため帝王切開を行った。

2) 治療成績の概要

症例 13 例中 7 例（症例 II-3、5～8、10 および 12）に対して、Ca 製剤（25% ボログルコン酸 Ca 注射液 500 ml）の静脈内投与が臨床経過中 1 日 1 回、第 1～4 病日に行われた（表 1）。また、塩酸ドパミン製剤の投与は 8 例（症例 II-1、3～6、9、12 および 13）に、抗血液凝固剤としてヘパリン製剤もしくはメシル酸ガベキサート製剤が 2 例（症例 II-2 および 6）に投与された。しかし、いずれの症例もこれらの治療に対する臨床状態の改善は認められず、発症後 2.5 ± 1.7 日で死亡もしくは安楽殺の転帰を辿った。

3) 血液検査所見の概要

初診時の血液検査所見では、低 Ca 血症 (3.6 ± 1.3 mg/dl) と低リン血症 (2.9 ± 1.0 mg/dl) が全例に共通して認められた（表 2）。第 2 病日の血液検査を 3 例（症例 II-6、9 および 10）に行ったところ、2 例（症例 II-8 および 11）では血清 Ca 濃度は 7.2 mg/dl 以上の値まで上昇していたが、1 例（症例 II-12）では初診時と同様に極度の低 Ca 血症 (3.6 mg/dl) を示していた。

3. 病理学的検索の方法

症例 13 例のうち 10 例（症例 II-1～10）について病理解剖を行った。そのうち 4 例（症例 II-4、6、9 および 10）は麻酔下で放血殺し、他の 6 例（症例 II-1～3、5、7、8 および 11～13）は臨床経過

表2. 初診時の血液検査所見

	略号	単位	平均 ± 標準偏差	n=
血液一般所見				
白血球数	WBC	$\times 10^2 / \mu\text{l}$	117.0 ± 30.0	10
ハマトクリット	HT	%	39.7 ± 4.6	10
血清生化学所見				
カルシウム	Ca	mg/dl	3.6 ± 1.3	13
無機リン	iP	mg/dl	2.9 ± 1.0	13
マグネシウム	Mg	mg/dl	2.1 ± 0.4	9
グルコース	GLU	mg/dl	144.3 ± 64.1	11
総コレステロール	TCHO	mg/dl	74.9 ± 20.1	12
遊離脂肪酸	FFA	$\mu\text{Eq/l}$	909.5 ± 339.9	10
尿素態窒素	BUN	mg / dl	16.1 ± 4.2	8
総タンパク	TP	g/dl	7.5 ± 0.6	8
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	AST	U/l	78.5 ± 58.8	10
乳酸脱水素酵素	LDH	U/l	4054 ± 2036	7

中に死亡した症例であった。

病理組織学的検索は、剖検した 10 例（症例 II-1~10）の各種臓器について行うとともに、臨床経過中に死亡し臨床獣医師により主要臓器が搬入された 3 例（症例 II-11~13）の計 13 症例について行った。なお、全症例において、心臓から少なくとも 6ヶ所以上の部位（洞房結節部、両心房・心室壁、心室中隔部）の心筋を採材し病理組織学的検索に供した。採材された組織片は 10%ホルマリン溶液にて固定し、アルコールにて脱水後パラフィンに包埋した。薄切したパラフィン切片には hematoxylin and eosin (HE) 染色を施し、光学顕微鏡により観察した。また、心筋組織のパラフィン切片標本では Masson's trichrome (MTC) 染色、elastica van Gieson (EVG) 染色ならびに phosphotungstic acid hematoxylin (PTAH) 染色も必要に応じて実施した。

4. 病理学的成績

1) 肉眼的所見

剖検した 10 例（症例 II-1~10）の体重は 600~754 kg であり、栄養状態は良好で皮下ならびに腹腔内に豊富な脂肪組織が認められた。また、全症例において、起立不能に起因したとみられる褥創や臀部および大腿領域における骨格筋の巣状変性・壊死巣が認められた。しかし、その他の骨格筋や横隔膜において肉眼的な著変は認められなかった。

心臓において心筋は明らかに弛緩していた（図 3）。10 例中 3 例（症例 II-6、8 および 9）では両心室の、4 例（症例 II-1~3 および 7）では右心室の軽度拡張が認められた。5 例（症例 3~7）の心

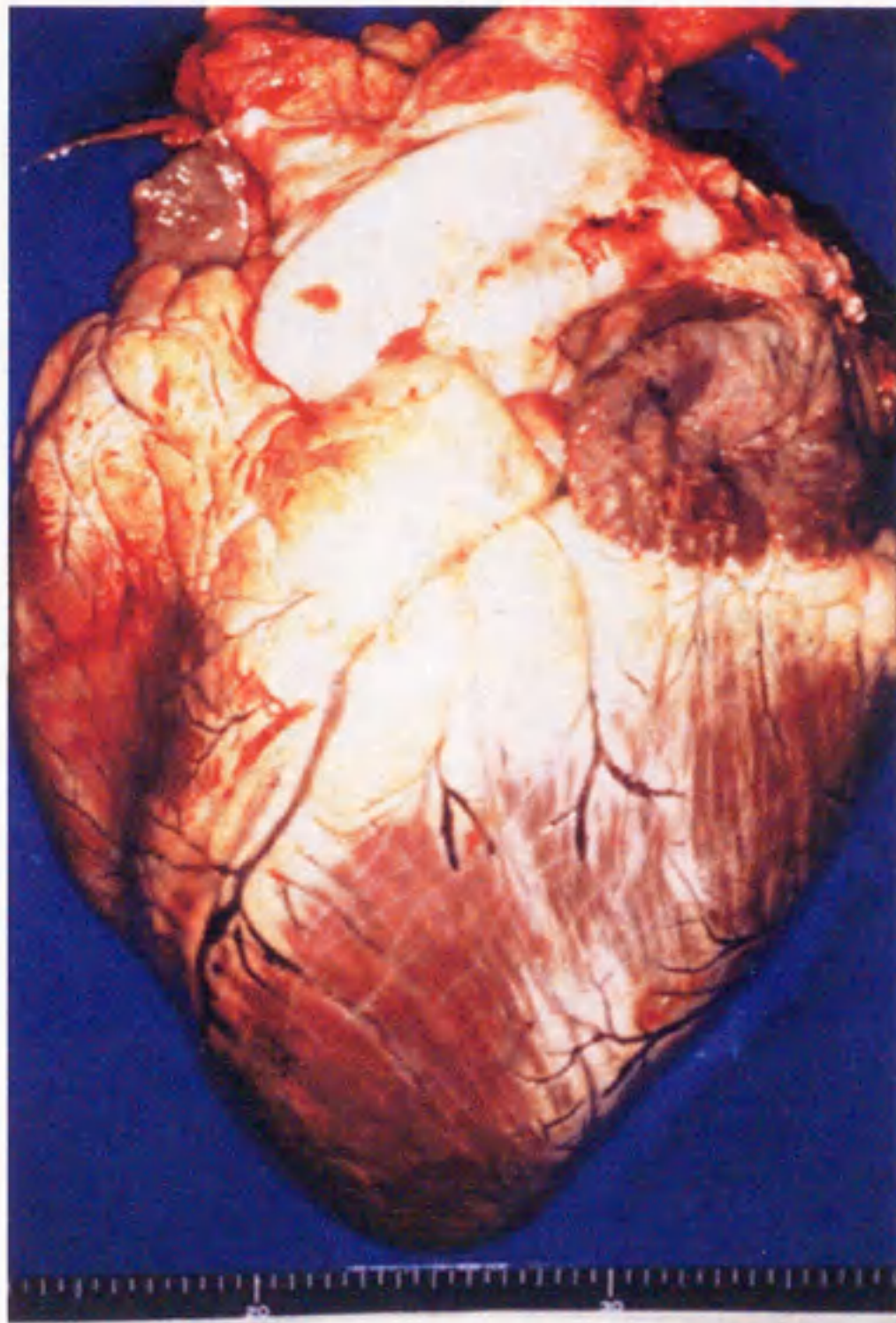


図3. 心筋が弛緩した心臓（症例II-2）.

筋において微小な淡黄褐色巣が散在し、2例（症例 II-4 および 6）では直径約 2~10 mm の壁在血栓が左心室の心内膜表面や腱索に付着して認められた。また、5例（症例 II-3、4、7、9 および 10）では心嚢水は明らかに増量し線維素の滲出を伴っていた。剖検した 10 例の心臓では、冠状動脈などに肉眼的な著変は認められなかった。

全ての症例において肝臓は腫大し、淡黄褐色を呈していた。2例（症例 II-6 および 9）の腎臓において貧血性梗塞巣が、4例（症例 II-1、3 および 5）では間質性腎炎が認められた。症例 II-3 では肺水腫が、症例 II-10 では化膿性気管支肺炎が認められた。胎盤停滞は症例 II-7 および 9 に、第四胃の変位と潰瘍は症例 II-3 および 5 に認められた。いっぽう、脳ならびに脊髄に肉眼的な著変は認められなかった。

2) 組織学的所見

病理組織学的検索を行った 13 例に共通し最も特徴的であった所見は、心筋における巣状壊死巣の散在であった。心筋壊死は心筋細胞筋形質の硝子化および顆粒・塊状化・断片化を示し、核は濃縮、崩壊、融解あるいは消失の各変化を示す病変像によって特徴づけられていた。この病巣は不整形であったが、限界は比較的明瞭で限局性・孤在性の病変として散在していた。特に高頻度に認められた部位は左右心房ならびに左心室領域の心筋であり、心内膜炎や心外膜炎を併発したり心内膜下や心外膜下に限局する性質のものではなかった。また、病巣は臨床経過と呼応し、病変には経過の推移が認められた（表 3）。すなわち、発症後の生存日数が 2 日以内の症例では心筋壊死巣への細胞浸潤は好中球が主体であり、心筋間質における

表3. 各症例の心筋における病理組織学的所見 (発症後生存日数に従って症例を配列)

症例 No.	発症後 生存日数	分娩後 生存日数	心筋壊死	細胞浸潤		線維化
				好中球	単球	
II-11	1	1	+	+	-	-
II-1	1	1	+	+	-	-
II-2	1	2	+	+	-	+
II-3	1	Prepartum**	+	-	+	+
II-4	1	5	+	-	+	+
II-12	2	4	+	-	-	-
II-5	2	9	+	+	-	-
II-6	2	2	+	-	+	+
II-7	3	3	+	-	+	+
II-8	4	4	+	-	+	+
II-9	4	4	+	-	+	+
II-10	5	7	+	-	+	+
II-13	6	11	+	-	+	+

* +, あり; -, なし.

** Prepartum: 分娩予定日14日前に発症.

軽度で幼若な線維化を認める症例もあった(図4)。これに対し、生存日数が3日以上 of 症例では心筋壊死巣における細胞浸潤はマクロファージなどの単核細胞が主体となり心筋間質への線維化も高度となる傾向があった(図5)。また、2例(症例II-4および6)で心内膜表面に壁在血栓の付着が認められたが、心筋層内の血管に動脈性塞栓および静脈性塞栓はいずれの症例においても認められなかった。2例(症例II-4および10)の心筋において小動脈壁のフィブリノイド変性が認められた。洞房結節やプルキンエ線維に著変は認められなかった。

いずれの症例の肝臓においても、肝細胞の脂肪変性や混濁腫脹が認められた。また、2例(症例II-6および10)の肝臓では巣状壊死が認められた。巣状性非化膿性間質性腎炎は4例(症例II-1、3、5および10)に、腎梗塞病巣は3例(症例II-4、6および9)に認められた。肺動脈の栓塞は2例(症例II-6および9)に、化膿性気管支肺炎は1例(症例II-10)に認められた。横隔膜、臀部および大腿部領域を除く骨格筋、脳や脊髄においては特に著変は認められなかった。

5. 考 察

北海道および岩手県内より収集した類似症例13例は、分娩前後に低Ca血症を伴い、突然の頻脈、呼吸速拍および呼吸困難症状を発現して呻吟・苦悶し横臥することが臨床的特徴であった。一方、乳牛において産前産後に低Ca血症を主徴とし起立不能を呈する疾患として乳熱があり、罹患牛は骨格筋の弛緩麻痺や意識低下などの症状を呈するとされている^(99, 104, 107, 143)。小岩ら^(74, 77)の報告では、本

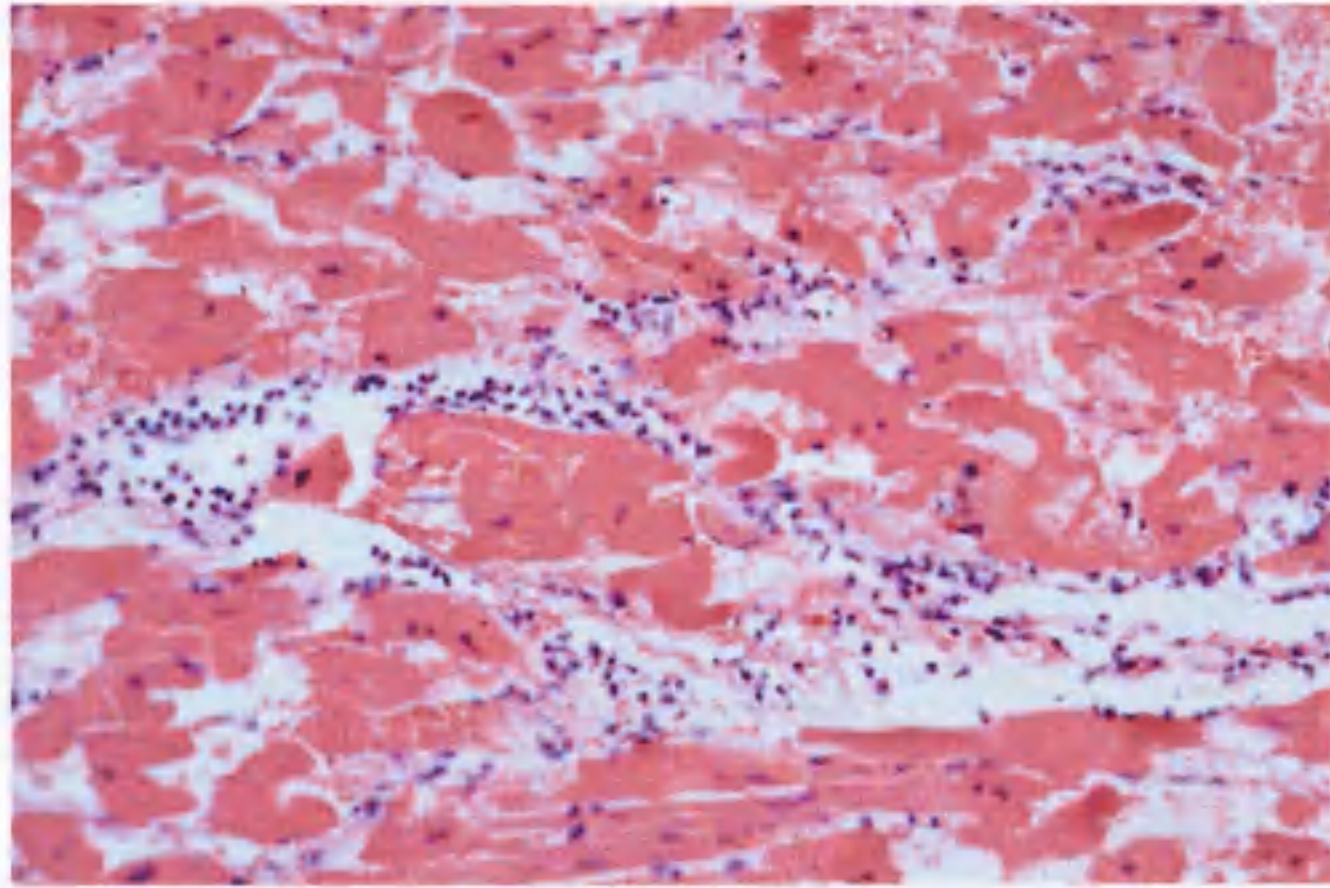


図4. 好中球の浸潤を伴う心筋壊死巣. 症例II-2, 左心室, HE染色, x150.

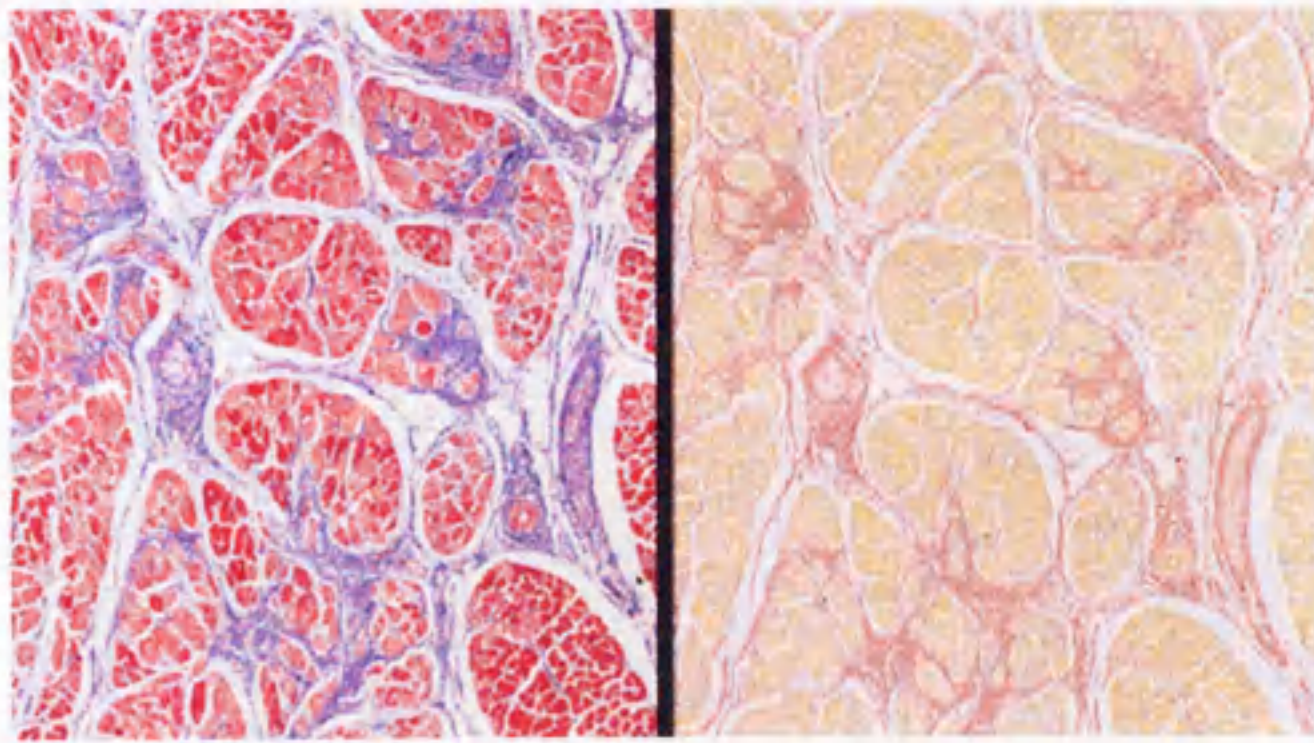


図5. 心筋間質における線維化巣の散在. 症例II-10, 右心房. 左: MTC染色, x25, 右:EVG染色, x25.

章の症例のような臨床症状を示し死産の転帰を辿る症例では、彼らが日常診療で遭遇した典型的な乳熱罹患牛よりも低 Ca 血症の程度が著しく、乳房炎や産褥熱などの炎症性疾患を併発しなくとも体温の上昇、心拍数ならびに呼吸数の増加および呼吸困難の症状を呈することを指摘し、これらの点が乳熱との相違点であると述べている。

本章の症例では初診時の血中 Ca 濃度は 3.6 ± 1.3 mg/dl であり、著しい低値を示した。これまでの乳熱に関する報告では、これと同程度の血中 Ca 濃度の低下を示す罹患牛は、体温、脈圧および意識の低下、昏睡、頻脈などの臨床症状を示し、Ca 剤による治療を施さなければ、数時間以内に死に至るとされている^(99, 104, 107, 143)。また、乳熱に関する一般的見解では低 Ca 血症による特異的病理所見はないと言われている^(99, 104, 143)。事実、分娩後に低 Ca 血症を示し死亡した症例の病理学的検索によっても、その死亡原因は明らかにされていない^(37, 87)。一方、乳牛の実験的研究では血中 Ca 濃度の低下に伴って循環血漿量、心拍出量および平均動脈血圧は低下し^(5, 20)、頸静脈血圧、右心房・心室圧、肺動脈血圧および肺血管抵抗は上昇する^(5, 18, 20)。したがって、重度低 Ca 血症の乳熱罹患牛での急死要因は全身性の循環不全であると考えられている^(99, 104, 143)。

本章で剖検を行った 10 例のうち 5 例の心筋において肉眼的な微小淡黄褐色巣の散在を認め、さらに組織学的検索を行った 13 例全ての心筋において壊死性病変の散在を認めた。一方、Jönsson and Pehrson⁽⁶⁹⁾は、臨床症状から乳熱と診断し 2 回以上の Ca 剤による治療後も起立不能であった乳牛をダウン牛と定義し、129 頭の症例について病理学的な調査を行った。彼らは上記の定義は低 Ca 血症以外の原因による起立不能の疾患も包括することを指摘しながらも、

約半数の症例において左心室乳頭筋に組織学的な心筋細胞の“重度の変性”を認めたと報告した。彼らは、この心筋の“変性”はきわめて急性の変化であり分娩後か発症後に形成されたことは間違いのないとして、Ca剤の反復的な投与が原因であると推察した。しかし、彼らの論文にはこの心筋の“変性”についてそれ以上の詳細な所見の記述はなく、この変化が心筋細胞にとって可逆的な変化であったのかそれとも本章の症例のような不可逆的変化（壊死性変化）として理解されるのかについての言及もなかった。ところで、Ca剤の投与による実験的高Ca血症の誘発牛において、徐脈、心室性期外収縮、房室解離などの心電図学的異常が発現することも報告されている^(79, 84)。In vitroの研究では、Ca無含有液で心臓を灌流すると心筋の収縮性が低下し、再びCa含有液で灌流すると細胞内のCaオーバロードが起こり、心筋細胞は不可逆的にその電気的および機能的活動を消失すること（Caパラドクス）が明らかにされている^(111, 143)。さらに、低Ca血症により冠循環血流量が減少し心筋が虚血に近い状態に陥っているところに、Ca剤の投与後の血中Ca濃度の上昇によって冠循環血流量が急激に増加すれば、心筋壊死が惹起されるといった現象（虚血・再灌流障害）⁽³⁹⁾が起こり易いことも想像できる。したがって、乳熱治療におけるCa剤の投与要領の如何によっては心筋にCaパラドクスや虚血・再灌流障害といった現象を引き起こす可能性を否定できない。しかし、本章においてCa剤による治療を受けたのは13例中7例であり、全ての症例において同様の心筋の壊死性病変を認めたことから、Ca剤による治療の影響は今回の心筋病変形成には無関係と考えられた。

心筋に壊死性病変を形成する要因は多様であり、今回の病理学的

所見のみから原因を追求することは容易ではない。しかし、心筋壊死を誘発する一般的要因としては、以下のようなものを考察することができる。虚血性の心筋壊死は血栓塞栓性疾患や血管炎などを伴う疾患において併発しやすいと言われる⁽¹⁰⁹⁾。本章の症例では13例中4例において心筋の壁在血栓と肺栓塞（症例II-4、6および9）もしくは心筋層内小動脈のフィブリノイド変性（症例II-4および10）などが認められ、これらの症例では虚血性の要因が関与したことも推察された。栄養性の要因として、子牛では、ビタミンEとセレンウムの欠乏症である白筋症で骨格筋と心筋の変性が起こることが知られている^(109, 126)。乳牛のような成畜において心筋病変の形成はあまり知られていないが、今後、本章のような症例においてもこれらの微量栄養素に関する生化学的検討を行う必要があると考えられる。一方、今回の心筋病変は心筋壊死とその周辺的心筋間質における細胞浸潤の併発であって、その形態的特徴から心筋炎を考慮する必要もあると考えられる。一般に心筋炎の原因は感染性（ウイルス性、細菌性など）と非感染性（化学的、物理的）に大別される。とくに、妊娠と分娩に伴って心筋のウイルス感受性が高まり⁽³⁰⁾、分娩後に心不全に陥った妊婦の血中において抗心筋細胞膜抗体や抗心筋抗体が増加する^(76, 106)との報告があることから、今後、心筋炎についても検討する余地があると言える。

以上のごとく、本章の成績のみからは心筋病変の成り立ちおよびその原因の特定は困難であるが、心筋病変は発症後1~2日の症例では好中球の浸潤を伴う急性壊死性変化を呈し、生存日数が3日以上

の症例では単核細胞の浸潤と間質の線維化を伴っていた。すなわち、これらの病変は発症後生存日数の延長に伴って陳旧化する傾向を有

しており、本章の症例において心筋の壊死性病変は発症時もしくはその前後に形成されたものと推察された。また、全ての症例が妊娠、分娩、泌乳ならびに低 Ca 血症などの事象を共有しており、これらが心筋の壊死性病変の形成に関係したことも推測される。

ところで、乳牛における特発性の心筋疾患として拡張型心筋症が知られている。拡張型心筋症の発症年齢は 2~4 歳で、罹患牛は約 1 カ月の慢性臨床経過を辿り、その発生には遺伝的関連性が報告されている^(3, 119)。また、拡張型心筋症では本章の症例でみられるような発作性の呼吸困難の症状を初発症状とするのではなく、拡張型心筋症に特徴的である頸静脈の怒張や冷性浮腫ならびに肝臓の重度うっ血などの慢性循環不全の症状は本症例では認められなかった^(74, 77)。さらに、拡張型心筋症における心筋病変は慢性の変性変化であると言われ、空胞化を伴う肥大および萎縮した心筋細胞の混在と極度の線維化が特徴であるとの点^(3, 109, 119)で本章の症例とは異なっている。

以上、分娩前後の乳牛が横臥し、呻吟・苦悶、頻脈、呼吸速拍および呼吸困難の症状を呈し低 Ca 血症に陥り死廃の転帰を辿る症例の共通した病理学的所見に心筋の壊死性病変が散在することが明らかとなり、本所見が重篤な臨床症状の発現と死廃の転帰に関与していると考えられた。

6. 小 括

長年、臨床獣医師の間で、分娩前後に重篤な臨床症状を呈して起立不能に陥り数日以内で死亡する低 Ca 血症乳牛の発生が指摘されていたことから、類似症例 13 例を収集し病理学的検索を行った。こ

これらの症例では、分娩前後に低 Ca 血症を伴い、突然の頻脈、呼吸速拍および呼吸困難の症状を発現して呻吟・苦悶し横臥することが臨床的特徴であった。

剖検を行った 10 例のうち 5 例の心筋において微小淡黄褐色巣の散在を肉眼的に認め、さらに組織学的検索を行った 13 例全ての症例において心筋の壊死性病変の散在を認めた。心筋病変の組織学的特徴として、発症後 1~2 日の症例では好中球の浸潤を伴う急性壊死性変化を呈し、生存日数が 3 日以上の場合では単核細胞の浸潤と心筋間質の線維化を伴っていた。したがって、これらの病変は発症後生存日数の延長に伴って陳旧化する傾向を有しており、心筋の壊死性変化は発症時前後に形成されたものと推察された。

以上の成績から、これらの死亡経過を辿る低 Ca 血症乳牛の心臓において心筋の壊死性病変が散在することが明らかとなり、重篤な臨床症状の発現と死産の転帰に関与している可能性が示唆された。

第III章

心筋病変を有する低Ca血症乳牛の発生状況、 ビタミンEの動態ならびにCa代謝に関する研究

1. はじめに

前章において、分娩前後に横臥し、呻吟・苦悶、頻脈、呼吸速拍および呼吸困難の症状を呈して死産の転帰を辿る低Ca血症の乳牛では、心筋に壊死性病変が散在することを明らかにした。しかし、前章では上記のような特徴的な臨床症状を呈した症例のみを研究の対象としたため、実際の臨床現場にて乳熱に対する治療を受けた乳牛における心筋病変を有する症例の発生状況を知ることはできなかった。そこで、本章では1年間にわたり2牧場における分娩後疾病事故、特に初診時に乳熱と臨床診断されCa剤による治療を受けた乳牛（乳熱症例）の発生状況と転帰について調査し、死産の転帰を辿った乳熱症例には病理学的検索を行った。また、乳熱症例における発症前後のCa代謝およびビタミンEの動態についても血液生化学的に検討した。

2. 材料および方法

1) 分娩後疾病事故の発生状況に関する調査

岩手県盛岡市周辺地域の2牧場（牧場TおよびK）において、1994年6月から1995年5月までの1年間に分娩した年齢3歳以上の経産乳牛273頭を対象として調査した。牧場Tはフリーストール、牧場Kはスタンション飼養形式の牧場であった。牧場Tでは、乾乳牛は分娩予定日の約1カ月前から1ストール内に集められ、そこで分娩した後、分娩後1週間以内に泌乳牛群のストール内へ移された。牧場Kの乳牛は分娩予定日の約1カ月前から単房内で個別に管理され、そこで分娩した後、搾乳牛として分娩後1週間以内に再びスタンションに繋留された。両牧場における分娩頭数、分娩牛の平均年齢ならびに平

均産次数は表4に示した通りである。

分娩後疾病の発生状況を調査するために、専属獣医師の診療記録をもとに、分娩後1カ月以内の疾病事故の発生頭数、臨床診断名および転帰について整理するとともに、各疾病事故ごとの平均年齢と産次数を求めた。

2) 乳熱症例に関する臨床観察ならびに病理学的検索

両牧場において調査期間中に分娩後起立不能に陥り、専属獣医師により乳熱と臨床診断され治療を受けた乳牛（乳熱症例）6頭（症例III-1～6）について終診時まで毎日臨床観察を行った（表5）。また、乳熱症例6例のうち2例（症例III-5および6）は廃用もしくは死亡の転帰を辿ったため、前章と同様の要領にて病理学的検索を実施した。

3) 採血ならびに血液の処理

273頭の分娩乳牛のうち198頭について分娩予定日2週間前にEDTA加、ヘパリン加ならびに血清分離剤加真空採血管を用いて頸静脈もしくは尾静脈から採血を行った。

症例III-1～6における臨床経過中の採血は頸静脈より行った。これらの症例における臨床経過中の採血時期は、症例III-1では第1病日（初診時）、症例III-2～4では第1および2病日、症例III-5では第1～3および5病日、症例III-6では第1-3病日であった。なお、症例がCa剤の投与を受ける場合には、その投与直前に採血を行った。

EDTA加ならびに血清分離剤加真空採血管の血液材料を用いて直ちに血液一般検査と血清生化学的検査を実施した。ヘパリン加真空採

表4. 1994年6月～1995年5月までの分娩牛

	牧場T	牧場K
分娩頭数	169	104
平均年齢(歳)*	4.8 ± 1.7	5.9 ± 1.7
平均産次数*	3.6 ± 1.6	4.3 ± 1.6

*平均±標準偏差

表5. 乳熱症例6例の概要

症例 No.	症例 ID	牧場 ID	年齢 (歳)	産次	分娩後 発症日数	臨床経過 日数	臨床診断	転帰
III-1	1090	T	3.9	3	4	1	乳熱	治療後起立
III-2	720	T	7.7	6	1	1	乳熱	治療後起立
III-3	734	T	8.1	6	1	1	乳熱	治療後起立
III-4	1517	K	5.3	4	1	1	乳熱	治療後起立
III-5	1560	K	5.7	4	1	5	乳熱	安楽殺
III-6	1433	K	7.2	5	0	3	乳熱	死亡

血管の血液材料は血漿を遠心分離後、血漿中の無機濃度、Ca制御ホルモン濃度ならびに α -トコフェロール(α -TOC)濃度の測定時まで -20°C にて凍結保存した。

4) 血液一般検査、血清生化学的検査ならびに血漿 α -TOC濃度の測定

分娩牛198頭における分娩予定日2週間前ならびに症例III-1~6における第1病日の血液材料を用いて、以下の測定を行った。血液一般検査として、自動血球計算装置(Sysmex Microcellcounter F-800、東亜医用電子株式会社、兵庫)を用いて白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)ならびに血小板数(PLT)を測定するとともに、マイクロヘマトクリット法によりヘマトクリット値(Ht)を求めた。血清生化学的検査は、血液自動分析装置(Analyzer Super Z818、エム・シー・メディカル、東京)を用いて、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、クレアチンキナーゼ(CK)、乳酸脱水素酵素(LDH)、遊離脂肪酸(FFA)、総コレステロール(TCHO)、トリグリセライド(TG)、尿素窒素(BUN)、総ビリルビン(TBIL)、グルコース(GLU)、総タンパク(TP)ならびにアルブミン(ALB)の各項目について表6に示した方法にて測定した。血漿 α -TOC濃度は、阿部らの方法⁽¹⁾に準じ高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した。

5) 乳熱症例における血漿Ca、無機リン(iP)、マグネシウム(Mg)ならびにCa制御ホルモン濃度の測定

乳熱症例6例(症例III-1~6)における分娩予定日2週間および臨床経過中の血漿を用いて、以下の検査を実施した。血漿Caおよび

表6. 血液検査項目ならびに測定方法

項 目	略 号	測 定 方 法
アスパラギン酸		
アミノトランスフェラーゼ	AST	MDH-UVレート法
クレアチンキナーゼ	CK	クレアチンリン酸基質法
乳酸脱水素酵素	LDH	ピルビン酸基質-UV法
遊離脂肪酸	FFA	ACS-ACO酵素法
総コレステロール	TCHO	コレステロールオキシダーゼ法
トリグリセライド	TG	遊離グリセロール消去酵素法
尿素窒素	BUN	ウリアーゼ・GLDH法
総ビリルビン	TBIL	安定化ジアルコウム塩法
グルコース	GLU	ヘキサキナーゼ・G6-PDH法
総タンパク	TP	ビウレット法
アルブミン	ALB	BCG法

Mg濃度の測定はPybus⁽¹⁰¹⁾の方法に準じて行った。血漿iP濃度はChenら⁽¹⁴⁾の方法に準じ測定した。血漿上皮小体ホルモン(intact parathyroid hormone; iPTH)濃度は、Goffら^(43, 44)の方法を参考として、two-site immunoradiometric assay法の市販測定キット(Parathyroid Hormone IRMA Kit, Incstar Co., USA)を用いて測定した。血漿1,25-dihydroxyvitamin D [1,25-(OH)₂D]濃度はReinhardtら⁽¹⁰⁸⁾の方法に準じ radioreceptorassay法により測定した。血漿25-hydroxyvitamin D(25-OHD)濃度の測定はProszynskaら⁽¹⁰¹⁾の方法に準じて行った。

6) 血液検査成績の解析

多くの分娩牛において分娩予定日は実際の分娩日とは異なっていたことから、分娩予定日2週間前に採血した198頭の血液材料のうち実際に分娩前1週間以前に採血された182頭の測定結果を分娩前血液検査成績として採用した。これらの分娩前血液検査成績から、各牧場ごとに、分娩後1カ月以内に疾病事故のなかった分娩牛(分娩後無事故牛群)と乳熱症例6例(乳熱症例群)の各検査項目の平均値と標準偏差を求め、t検定を行って両群を比較した。危険率が5%未満の場合に有意差があるものと判断した。さらに、症例III-1~6において各症例ごとに分娩前ならびに第1病日の血液検査成績について比較するととともに、乳熱症例6例(症例III-1~6)における分娩前ならびに臨床経過中の血漿Ca、iP、MgならびにCa制御ホルモン濃度の推移について検討した。

3. 成 績

1) 分娩後疾病事故の発生状況

分娩後1カ月以内の疾病事故発生頭数は、牧場Tでは分娩牛169頭中21頭ならびに牧場Kでは分娩牛104頭中20頭であった(表7)。このうち乳熱と臨床診断され治療を受けた症例は両牧場とも3頭ずつの計6頭であり、ケトーシスおよび胎盤停滞・産褥熱に次いで発生が多かった。また、両牧場における乳熱症例の平均年齢(6.3±1.6歳)と産次数(4.7±1.2産)は、分娩後1カ月以内に無事故であった乳牛や他の疾病事故を発生した乳牛の中で最も高い値であった(表8)。

2) 各乳熱症例の臨床概要

各症例の概要は表5に示した通りである。乳熱症例6例(症例III-1~6)の年齢は3.2~7.9歳、産次数は3~6産、分娩後発症日数は1~4日であった。乳熱症例6例のうち4例(症例III-1~4)はいずれも1回のCa剤による治療(25%ボログルコン酸Ca注射液400~500mlの静脈内投与)によって起立したが、残る2例(症例III-5および6)では、Ca剤による治療後も臨床状態は改善されず死廃の転帰を辿った。

症例III-1は分娩後4日目に横臥し軟便を排泄したが、体温は38.3℃、心拍数は80回/分および呼吸数16回/分で、乳房炎などの併発症は認められなかった。本症例はCa剤による治療後直ちに起立し採食を開始するようになり、第1病日で終診となった。

症例III-2は分娩翌日にふらつきながら歩行するとの稟告で往診依頼があった。初診時の症例では起立意欲は旺盛ながら、四肢の硬

表7. 分娩後1カ月以内の疾病事故発生状況

	牧場T	牧場K	計
分娩頭数	169	104	273
各疾病事故の発生頭数			
乳熱	3	3	6
ケトーシス	5	13	18
胎盤停滞・産褥熱	10	2	12
第四胃変位	2	1	3
急性乳房炎	1	1	2
総疾病事故発生頭数	21	20	41

表8. 牧場TおよびKにおける乳牛の各分娩後疾病事故別の年齢と産次数（平均±標準偏差）

	頭数	年齢（歳）	産次数
無事故	132	5.2 ± 1.8	3.9 ± 1.6
乳熱	6	6.3 ± 1.6	4.7 ± 1.2
ケトーシス	18	5.8 ± 1.4	3.9 ± 1.3
胎盤停滞・産褥熱	12	5.6 ± 2.5	4.2 ± 2.1
第四胃変位	3	5.5 ± 0.8	4.0 ± 1.0
急性乳房炎	2	4.4 ± 1.4	3.0 ± 1.4

直と筋肉の震戦を伴い起立困難な状態であった。体温は38.5℃および呼吸数は48回/分で、心音の減弱と頻脈(108/min)が認められたが、乳房炎などの併発症はみられなかった。本症例は第1病日にCa剤による治療の直後に起立し、第2病日は臨床状態が良好であったため治療を施さなかった。

症例III-3は分娩翌日朝に頭部を前方に伸展させ横臥しているところを畜主に発見された。初診時の体温は37.8℃、心拍数は84回/分および呼吸数は16回/分で、乳房炎などの併発症も認められなかった。本症例も第1病日にCa剤による治療の直後に起立したが、午後にはふらつきながら歩行していたため2度目のCa剤による治療を行った。第2病日には臨床状態は良好であったため治療を施さなかった。

症例III-4は分娩翌日より起立意欲は旺盛ながら、両後肢の麻痺(ナックル)のため起立困難な状態であった。初診時の体温は38.6℃、心拍数は88回/分および呼吸数は24回/分で、乳房炎などの併発症は認められなかった。本症例は第1病日のCa剤による治療後約7時間で起立し、第2病日は臨床状態が良好であったため治療を施さなかった。

症例III-5は分娩翌日に元気消失、食欲廃絶および後躯の脱力を伴い頭部を前方へ放置し伏臥していた。体温は38.8℃、心拍数90回/分および呼吸数は20回/分であったが、皮温の低下、心音の減弱および顕著な眼球陥凹を認め、呼吸困難症状(開口呼吸)も呈していた。本症例では乳房炎などの併発は認められなかったため、第1および2病日にCa剤の投与を行い、さらに3病日以降では5%ブドウ糖液やリンゲル液による輸液を行った。しかし、臨床状態は好転せ

ず、第4病日以降では体温が上昇（39.5℃）し心音も強勢となった。第5病日に予後不良と判断し、安楽殺の後剖検に供した。

症例III-6は分娩前日に起立不能予防の目的でビタミンD₃製剤 (Duphafrol D₃-1000, Duphar Co., Amsterdam, Netherlands) の筋肉内投与を受けていた。本症例は胎児娩出直前に横臥した。体温は39.2℃および心拍数は100回/分で、乳房炎などの併発症は認められなかったが、頭部を前方へ伸展させ呻吟・苦悶し、呼吸速拍（60回/分）と呼吸困難（開口呼吸）症状を呈していた。Ca剤の投与を行ったところ間もなく伏臥し1仔を娩出した。第2病日には伏臥していたが明らかな呼吸困難の症状を呈し、Ca剤の投与後も臨床症状の改善はみられなかった。第3病日になって乳房炎を併発し、第4病日の朝、死亡しているところを畜主に発見され剖検された。

3) 血液検査成績

a) 各牧場の分娩後無事故牛群と乳熱症例群における分娩前血液検査所見の比較

各牧場の分娩後無事故牛群と乳熱症例群における分娩前血液検査所見成績を表9に示した。牧場Tにおいて、乳熱症例群の血清TCHO濃度と血漿 α -TOC濃度は分娩後無事故牛群の値に比べ有意な低値を示したが ($P < 0.05$)、その他の検査項目では有意な差はみられなかった。いっぽう、牧場Kではいずれの検査項目においても両群に有意差は認められなかった。

b) 各乳熱症例における分娩前および第1病日の血液検査所見

表9. 分娩後無事故牛群と乳熱症例群における分娩前血液検査成績 (平均±標準偏差)

		牧場T		牧場K	
		分娩後無事故牛群	乳熱症例群	分娩後無事故牛群	乳熱症例群
WBC	$\times 10^2/\mu\text{l}$	85.5 ± 103.7 (n=73)	74.3 ± 34.5 (n=3)	76.2 ± 12.6 (n=61)	71.0 ± 10.5 (n=3)
RBC	$\times 10^4/\mu\text{l}$	700.1 ± 105.3 (n=73)	658.7 ± 66.1 (n=3)	667.2 ± 82.6 (n=61)	624.0 ± 57.8 (n=3)
PLT	$\times 10^4/\mu\text{l}$	35.4 ± 8.6 (n=68)	39.5 ± 9.1 (n=3)	39.8 ± 8.9 (n=61)	40.0 ± 8.1 (n=3)
Ht	%	33.1 ± 2.9 (n=73)	34.0 ± 2.0 (n=3)	33.0 ± 3.1 (n=61)	33.0 ± 1.0 (n=3)
AST	U/l	60.4 ± 51.3 (n=87)	65.0 ± 33.7 (n=3)	48.8 ± 9.4 (n=69)	40.7 ± 7.4 (n=3)
CK	U/l	99.5 ± 101.2 (n=74)	113.0 ± 103.2 (n=2)	72.1 ± 30.0 (n=61)	62.5 ± 2.1 (n=2)
LDH	U/l	1903.2 ± 460.0 (n=86)	1613.3 ± 214.3 (n=3)	1593.0 ± 258.3 (n=65)	1525.0 ± 121.0 (n=3)
FFA	$\mu\text{Eq/l}$	334.8 ± 287.3 (n=82)	588.0 ± 746.9 (n=3)	223.7 ± 106.8 (n=63)	262.0 ± 112 (n=3)
TCHO	mg/dl	86.5 ± 20.5 (n=86)	61.0 ± 15.1* (n=3)	86.8 ± 21.5 (n=69)	73.7 ± 9.6 (n=3)
TG	mg/dl	20.2 ± 8.9 (n=87)	14.9 ± 6.8 (n=3)	17.1 ± 7.2 (n=67)	15.5 ± 3.5 (n=3)
BUN	mg/dl	8.7 ± 3.6 (n=87)	8.6 ± 2.9 (n=3)	12.7 ± 3.4 (n=69)	10.6 ± 3.2 (n=3)
TBil	mg/dl	0.5 ± 0.2 (n=87)	0.7 ± 0.7 (n=3)	0.4 ± 0.1 (n=68)	0.3 ± 0.1 (n=3)
Glu	mg/dl	61.1 ± 6.8 (n=87)	60.0 ± 4.6 (n=3)	60.6 ± 7.6 (n=69)	61.3 ± 2.1 (n=3)
TP	g/dl	6.9 ± 0.7 (n=87)	6.9 ± 0.3 (n=3)	6.8 ± 0.6 (n=69)	6.5 ± 0.2 (n=3)
ALB	g/dl	3.4 ± 0.3 (n=84)	3.4 ± 0.3 (n=3)	3.3 ± 0.2 (n=65)	3.1 ± 0.4 (n=3)
α -TOC	$\mu\text{g/dl}$	211.7 ± 65.6 (n=85)	129.3 ± 9.5* (n=3)	264.9 ± 93.2 (n=60)	189.4 ± 45.7 (n=3)

* 同牧場の分娩後無事故牛と比較して有意差あり ($p < 0.05$).

各症例における分娩前および第1病日の血液検査成績をそれぞれ表10および11に示した。乳熱症例の分娩前の血液検査成績において、症例III-1のWBC、ASTおよびCK、症例III-2のFFAおよびTBILならびに症例III-4および5の α -TOCの各測定値は他の乳熱症例での値に比較して高く、症例III-2のTGでは低い傾向が認められた。第1病日のWBC、AST、CK、LDH、FFA、TBILならびにGLUの各測定値は、いずれの乳熱症例においても分娩前の値より軽度から重度の増加を示した。特に、症例III-1、5および6におけるCK、症例III-2、3、5および6におけるFFAならびに症例III-3および6におけるGLUの測定値は他の症例よりも著しく増加していた。各乳熱症例におけるTCHOおよびTGの第1病日での測定値は、分娩前の成績に比べいずれも一様に低下していた。第1病日の症例III-3ではRBC、HTおよびBUNの測定値が他の乳熱症例と比較して明らかに増加していた。乳熱症例の第1病日における血漿 α -TOC濃度は、症例III-1~3で増加傾向を、症例III-4~6で低下する傾向を示した。また、症例III-5および6の血漿 α -TOC濃度は、他の4例の乳熱症例よりも低値であった。

c) 乳熱症例におけるCa代謝

乳熱症例6例における分娩前ならびに臨床経過中の血漿Ca、iP、Mg、PTH、 $1,25-(OH)_2D$ および25-OHD濃度を表12に示した。

(i) 血漿Ca濃度の推移

分娩前の血漿Ca濃度は、症例III-1~6において8.1-10.8 mg/dlの範囲内であった(図6)。症例III-1における第1病日の血

表10. 症例III-1~7における分娩前血液検査成績

	III-1	III-2	III-3	III-4	III-5	III-6	
WBC	x10 ² /μl	105	37	81	81	72	60
RBC	x10 ⁴ /μl	588	669	719	685	570	617
PLT	x10 ⁴ /μl	36.6	49.7	32.3	48.7	38.5	32.7
HT	%	34	32	36	34	32	33
AST	U/l	103	53	39	38	49	35
CK	U/l	186	40	ND	61	64	ND
LDH	U/l	1858	1523	1459	1548	1633	1394
FFA	μEq/l	134	1450	180	140	361	285
TCHO	mg/dl	78	56	49	72	84	65
TG	mg/dl	14.8	8.2	21.7	15.1	19.3	12.0
BUN	mg/dl	5.4	10.9	9.4	13.8	10.7	7.4
TBIL	mg/dl	0.2	1.5	0.3	0.4	0.3	0.3
GLU	mg/dl	61	64	55	59	62	63
TP	g/dl	6.6	7.2	6.8	6.4	6.5	6.7
ALB	g/dl	3.2	3.7	3.4	2.7	3.4	3.3
α-TOC	μg/dl	131.1	137.7	119.0	191.7	233.9	142.5

ND: 測定せず.

表11. 症例III-1~7における第1病日の血液検査成績

	III-1	III-2	III-3	III-4	III-5	III-6	
WBC	x10 ² /μl	121	156	228	170	136	142
RBC	x10 ⁴ /μl	656	667	803	786	585	723
PLT	x10 ⁴ /μl	36.9	56.4	34.0	42.3	35.9	40.6
Ht	%	30	35	48	38	28	39
AST	U/l	198	87	98	55	105	108
CK	U/l	1021	265	121	102	1202	1623
LDH	U/l	2308	1959	1819	1556	2093	2523
FFA	μEq/l	954	2141	2945	836	1099	1945
TCHO	mg/dl	61	32	38	44	53	39
TG	mg/dl	2.8	1.0	3.0	0.4	1.3	4.6
BUN	mg/dl	9.9	13.6	26.3	16.0	14.3	7.9
TBil	mg/dl	0.7	1.5	1.9	1.0	0.9	0.9
Glu	mg/dl	71	82	187	48	ND	122
TP	g/dl	6.0	7.0	7.5	5.9	5.8	7.4
ALB	g/dl	2.7	3.8	3.8	2.9	3.1	3.4
α-TOC	μg/dl	139.4	271.7	181.7	130.2	93.4	85.1

ND: 測定せず.

表12. 乳熱症例6例における分娩前および臨床経過中の血漿無機ならびにCa制御ホルモン濃度

症例	項目	単位	分娩前	1病日	2病日	3病日	5病日
III-1	Ca	mg/dl	10.2	8.2			
	iP	mg/dl	5.3	2.0			
	Mg	mg/dl	2.1	2.3			
	iPTH	pg/ml	<5.0*	8.0			
	1,25-(OH) ₂ D	pg/ml	38.7	38.3			
	25-OHD	ng/ml	46.8	39.8			
III-2	Ca	mg/dl	8.4	5.4	6.9		
	iP	mg/dl	7.7	1.8	4.3		
	Mg	mg/dl	1.4	1.0	1.0		
	iPTH	pg/ml	<5.0*	59.5	17.7		
	1,25-(OH) ₂ D	pg/ml	53.9	164.4	86.4		
	25-OHD	ng/ml	45.7	76.1	66.8		
III-3	Ca	mg/dl	10.2	4.2	7.5		
	iP	mg/dl	6.2	3.2	6.9		
	Mg	mg/dl	2.1	2.4	2.0		
	iPTH	pg/ml	<5.0*	33.7	47.1		
	1,25-(OH) ₂ D	pg/ml	40.2	326.1	200.0		
	25-OHD	ng/ml	71.7	83.8	70.2		
III-4	Ca	mg/dl	8.1	5.7	8.4		
	iP	mg/dl	4.4	2.8	5.2		
	Mg	mg/dl	1.8	1.4	1.6		
	iPTH	pg/ml	<5.0*	5.7	<5.0*		
	1,25-(OH) ₂ D	pg/ml	55.8	207.9	110.2		
	25-OHD	ng/ml	68.1	57.4	63.6		
III-5	Ca	mg/dl	10.1	5.2	5.9	8.4	9.0
	iP	mg/dl	6.3	2.9	2.0	6.5	5.6
	Mg	mg/dl	1.9	1.1	1.5	1.4	1.2
	iPTH	pg/ml	<5.0*	6.1	63.7	<5.0*	<5.0*
	1,25-(OH) ₂ D	pg/ml	88.4	217.8	218.3	176.4	33.0
	25-OHD	ng/ml	48.2	65.1	74.1	55.9	66.6
III-6	Ca	mg/dl	10.8	5.8	6.9	10.8	
	iP	mg/dl	6.9	1.2	1.4	6.5	
	Mg	mg/dl	2.3	2.0	2.2	2.0	
	iPTH	pg/ml	42.8	90.4	132.2	79.4	
	1,25-(OH) ₂ D	pg/ml	20.0	161.9	96.2	78.2	
	25-OHD	ng/ml	52.8	75.2	103.1	131.7	

* 測定限界以下.

- 症例III-1 —□— 症例III-4
- 症例III-2 —■— 症例III-5
- △— 症例III-3 —●— 症例III-6

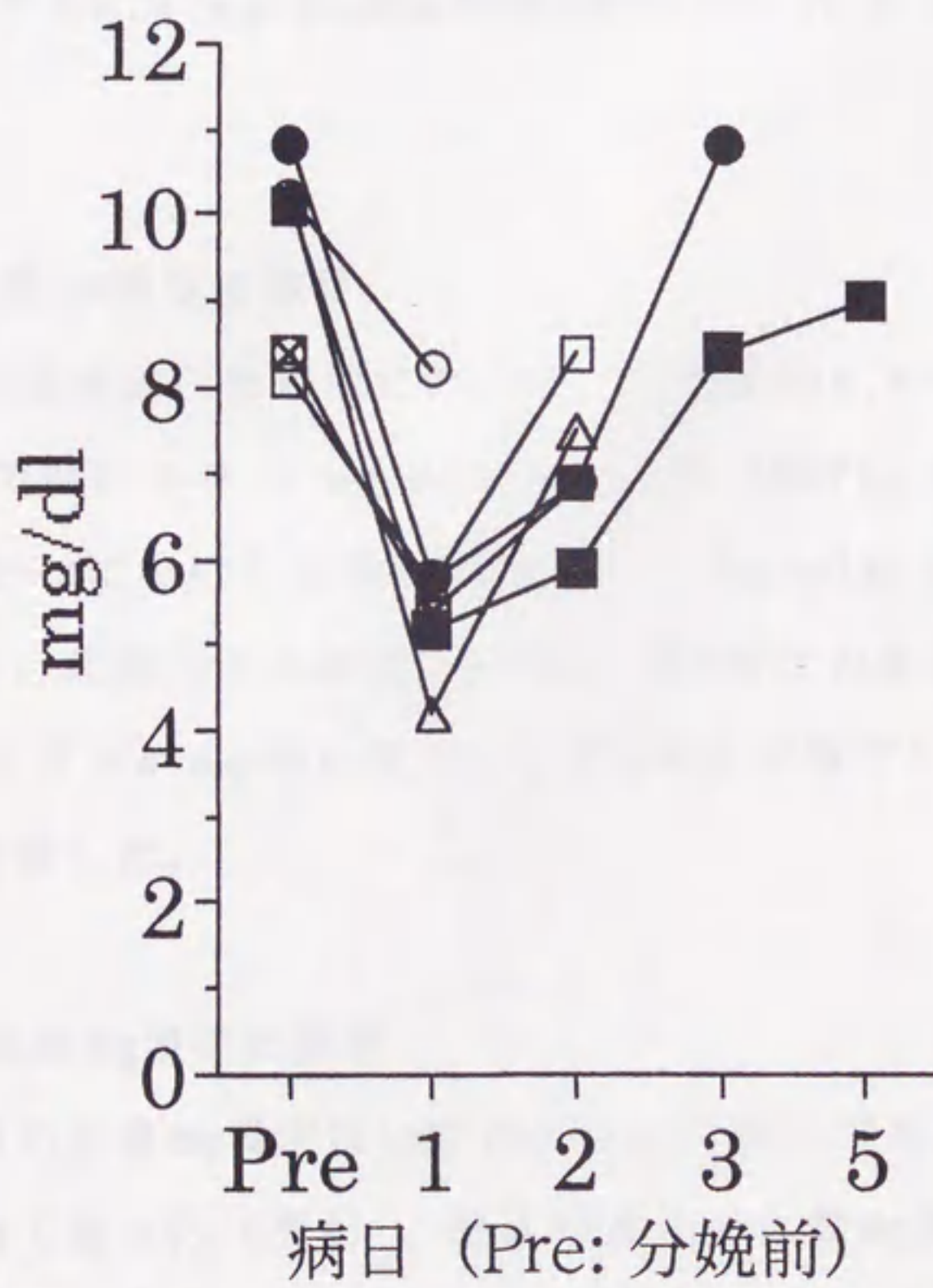


図6. 乳熱症例6例における血漿Ca濃度の推移.

漿Ca濃度は8.2 mg/dlで、その減少程度は分娩前の値に比べ軽微なものであった。症例III-2~4における血漿Ca濃度は第1病日で4.2-5.8 mg/dlまで減少し、第2病日では6.9-8.5 mg/dlの値に上昇した。症例III-5および6における血漿Ca濃度は、第1病日でそれぞれ5.2および5.8 mg/dlであった。症例III-5では、血漿Ca濃度は第2病日で5.9 mg/dlであったが、第3病日以降では8.4 mg/dl以上の値まで上昇した。症例III-6における血漿Ca濃度は、第2病日では6.9 mg/dlおよび第3病日では10.8 mg/dlの値まで上昇した。

(ii) 血漿iP濃度の推移

血漿iP濃度は、全症例において、分娩前の4.4-7.7 mg/dlから第1病日では1.2-2.9 mg/dlに減少した(図7)。第2病日では、症例III-2~4における血漿iP濃度は4.3 mg/dl以上の値へと回復した。一方、症例III-5および6では、第2病日の血漿iP濃度は低値(2.0および1.4 mg/dl)を示し、第3病日以降で5.6 mg/dl以上の値まで回復した。

(iii) 血漿Mg濃度の推移

分娩前の血漿Mg濃度はいずれの症例においても1.4~2.3 mg/dlの範囲内であった(図8)。臨床経過中の血漿Mg濃度は、症例III-1、3、4および6では分娩前の値と大差はなかったが、症例III-2および5では軽度に低い値で推移した。

(iv) 血漿iPTH濃度の推移

- 症例III-1 □ 症例III-4
- ⊠ 症例III-2 ■ 症例III-5
- △ 症例III-3 ● 症例III-6

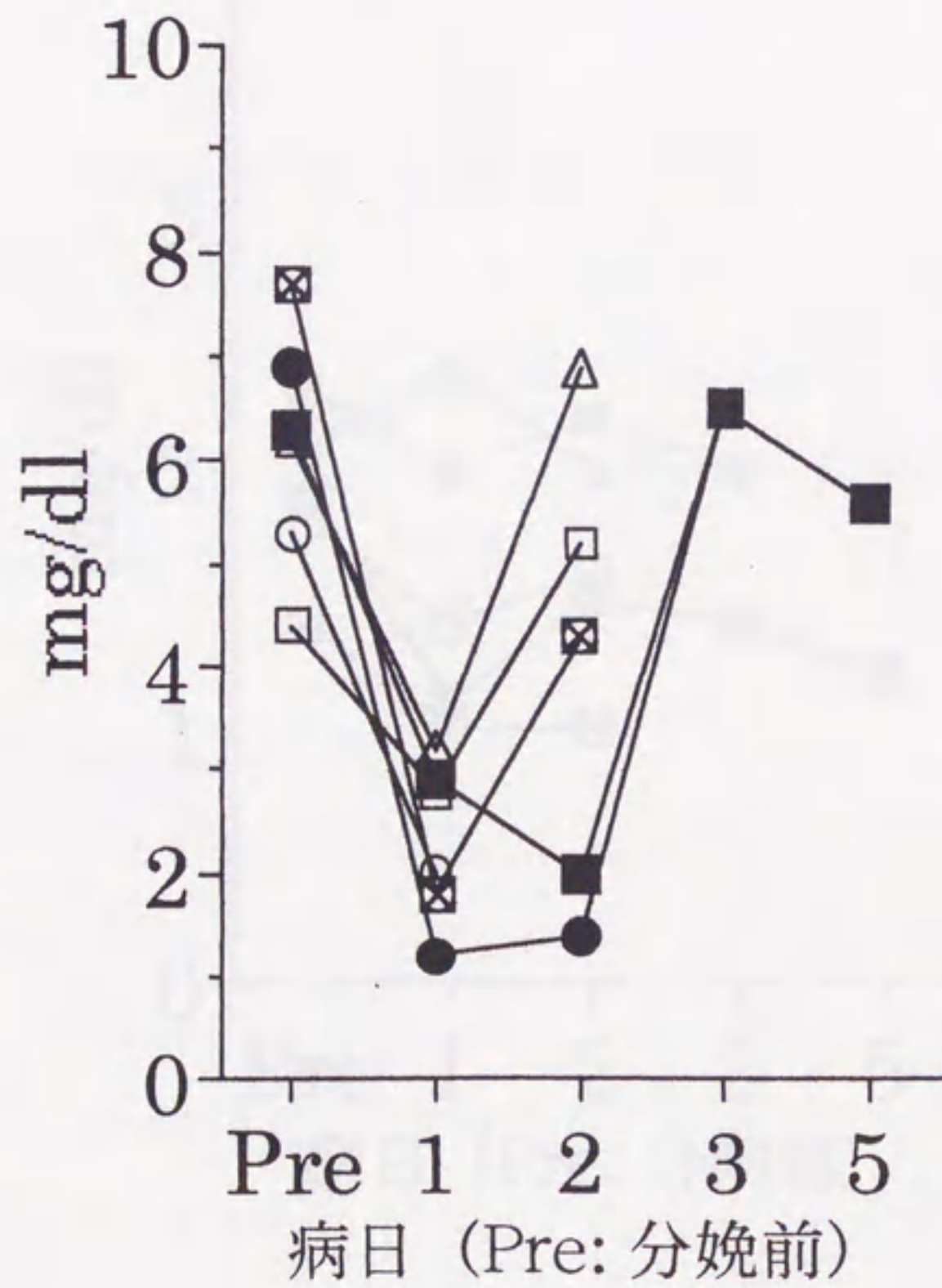


図7. 乳熱症例6例における血漿iP濃度の推移.

- 症例III-1 □ 症例III-4
- ⊠ 症例III-2 ■ 症例III-5
- △ 症例III-3 ● 症例III-6

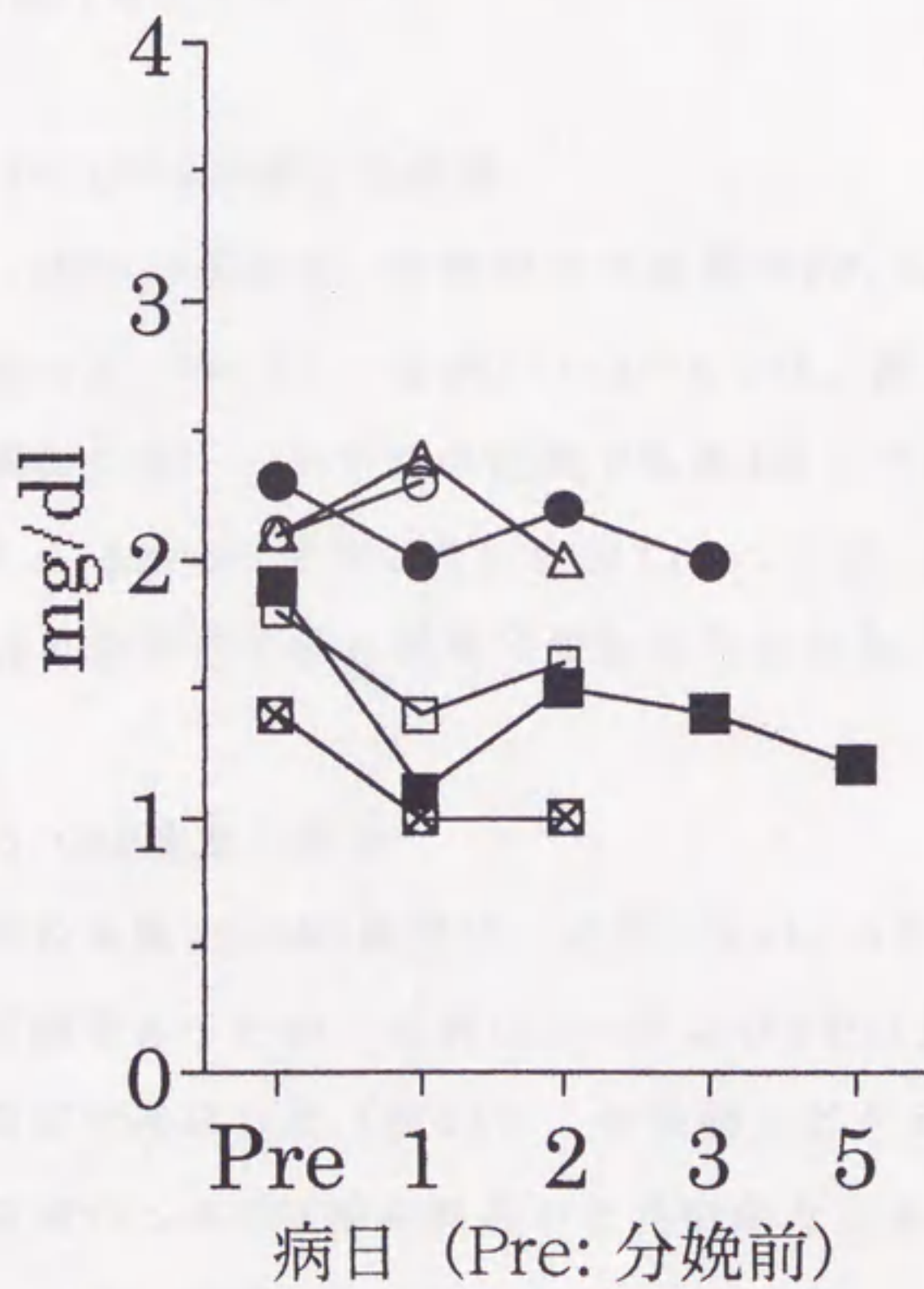


図8. 乳熱症例6例における血漿Mg濃度の推移.

分娩前の血漿iPTH濃度は、症例III-1~5では5.0 pg/ml以下の値を示したが、症例III-6では42.8 pg/mlであった(図9)。発症後に血漿iPTH濃度の上昇は次の4例でみられた。症例III-2では、第1病日に一過性のピーク(59.5 pg/ml)を示した。症例III-3では、第2病日まで継続的な上昇がみられた(第2病日では47.1 pg/ml)。症例III-5では、第2病日に一過性の上昇(63.7 pg/ml)が認められた。症例III-6では終始高値で推移し第2病日で最大値(132.2 pg/ml)を示した。

(v) 血漿1,25-(OH)₂D濃度の推移

血漿1,25-(OH)₂D濃度は、分娩前の全症例で20.0-88.4 pg/mlの範囲内であった(図10)。症例III-2~6では、臨床経過中の値は分娩前の値より高く、いずれの症例でも第1病日で最大値(161.9-326.1 pg/ml)を示した。症例III-1では、第1病日の血漿1,25-(OH)₂Dは分娩前の値と同等で変化はなかった。

(vi) 血漿25-OHD濃度の推移

臨床経過中の血漿25-OHD濃度は、症例III-1、3および4では分娩前の値と同様であったが、症例III-2および5では分娩前の値よりわずかに高値で推移した(図11)。分娩前にビタミンD₃製剤の投与を受けた症例III-6では臨床経過中に持続的な上昇を示し、他の症例の値より高値で推移した。

4) 剖検症例の病理学的所見

症例III-5における剖検所見として、心筋の弛緩が顕著であり、

- 症例III-1 —□— 症例III-4
- ⊠— 症例III-2 —■— 症例III-5
- △— 症例III-3 —●— 症例III-6

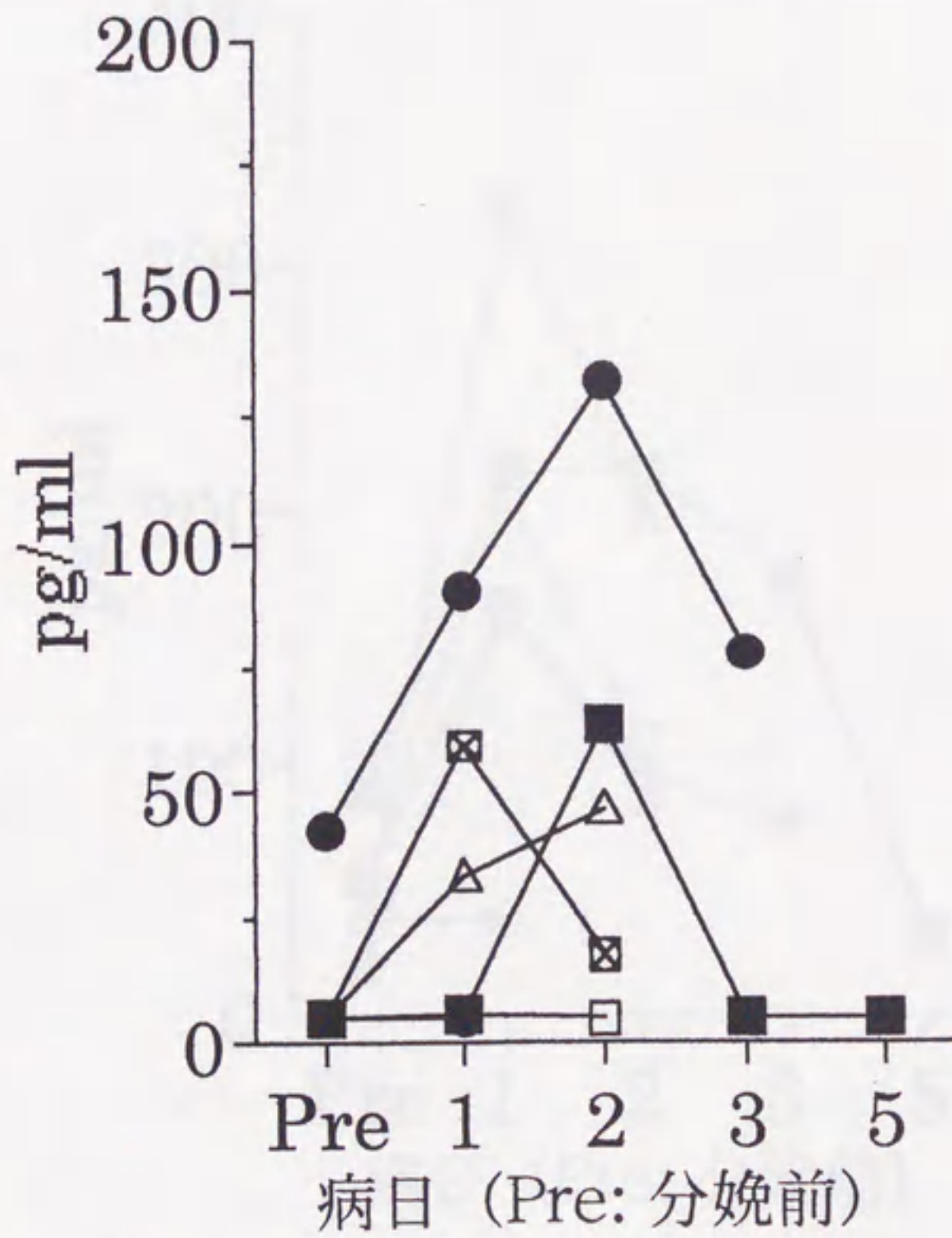


図9. 乳熱症例6例における血漿iPTH濃度の推移.

- 症例III-1 —□— 症例III-4
- 症例III-2 —■— 症例III-5
- △— 症例III-3 —●— 症例III-6

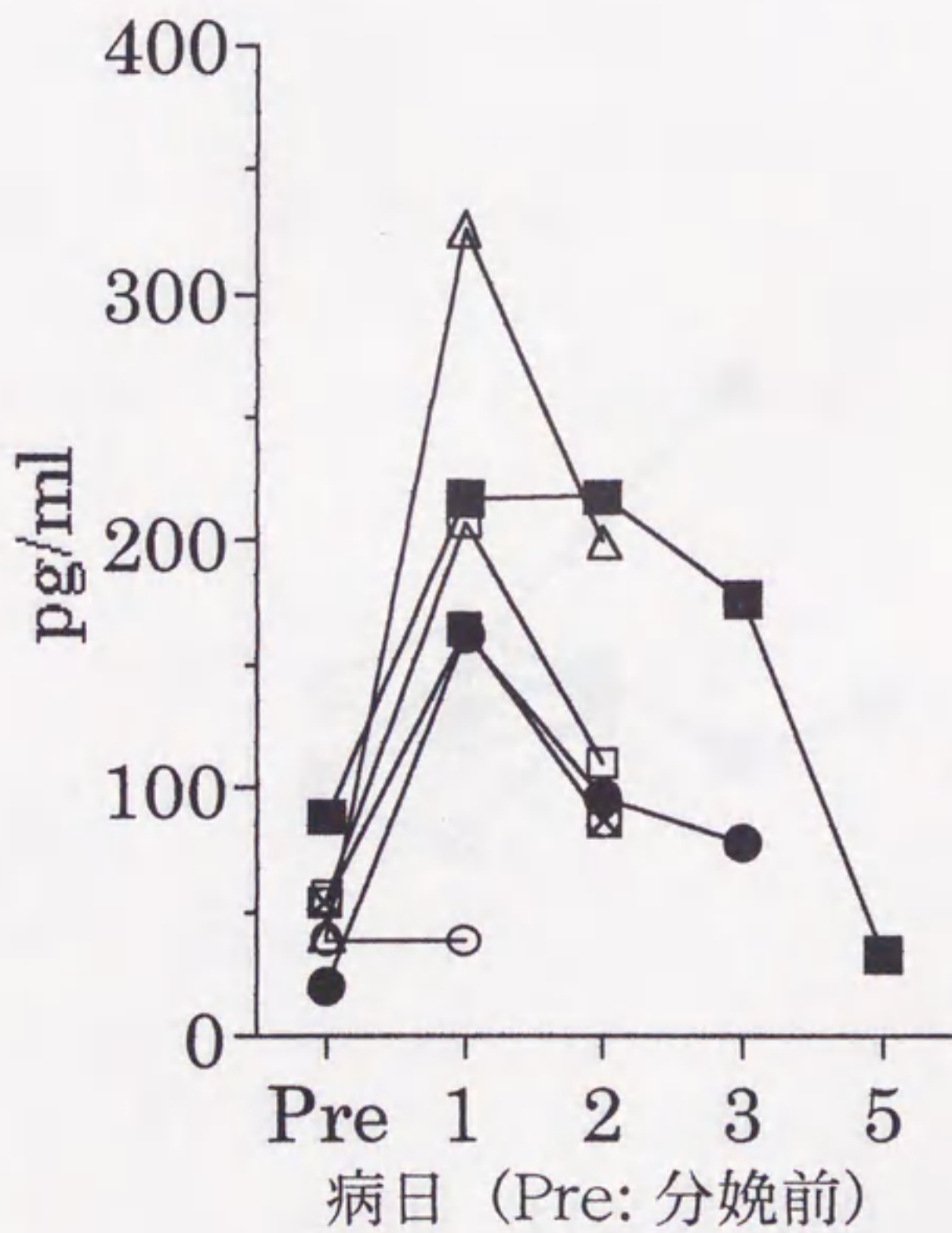


図10. 乳熱症例6例における血漿1,25-(OH)₂D濃度の推移.

- 症例III-1 —□— 症例III-4
- 症例III-2 —■— 症例III-5
- △— 症例III-3 —●— 症例III-6

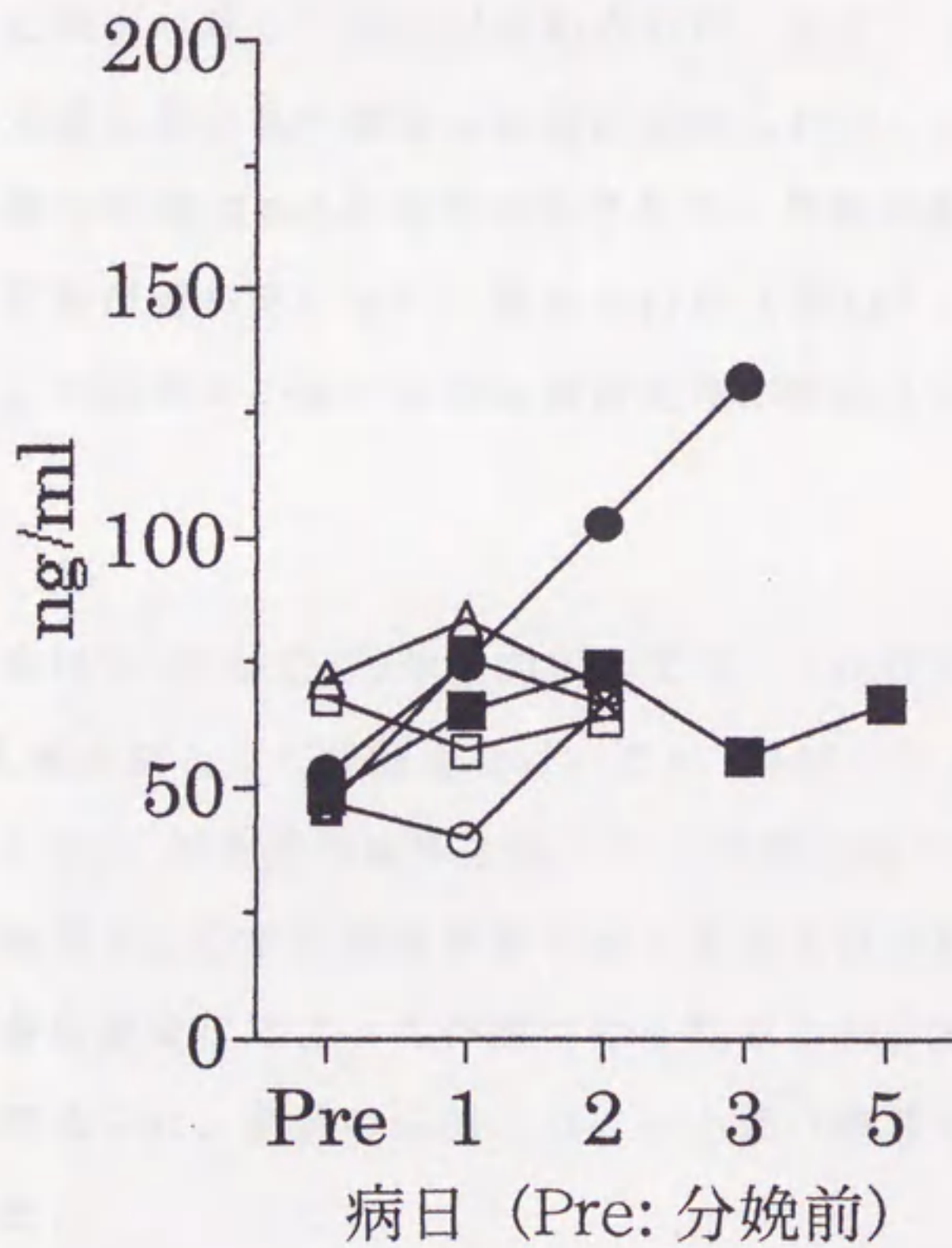


図11. 乳熱症例6例における血漿25-OHD濃度の推移.

肝臓は淡黄褐色を呈し腫大していた。組織学的には、心筋細胞筋形質の硝子化および顆粒・塊状化・断片化と顕著な核変化によって特徴づけられる心筋の限局性壊死巣が左心室遊離壁や心室中隔の心室心筋に散在して認められた（図12）。これらの心筋壊死巣は、軽度の単核細胞の浸潤を伴っていた。肝臓の組織学的所見として軽度の小葉中心性の脂肪変性が認められた。

症例III-6における剖検所見として、出血性壊死性乳房炎、肺のうっ血、脾臓の腫大と泥状化、肝臓の腫大と黄褐色化、後産停滞および胸水と腹水の著しい増加が認められた。また、本症例の心臓では心筋の弛緩と右心室の顕著な拡張が認められた。心筋壊死巣の組織学的特徴は症例III-5とほぼ同様であり、単核細胞の浸潤を伴う巣状の病変巣が両心房において認められた（図13）。肝臓の組織学的所見として軽度の小葉中心性の脂肪変性が認められた。

4. 考 察

本章における2牧場での1年間の調査では、273頭の分娩乳牛のうち6例が乳熱症例として治療を受け、これら6例のうち2例（症例III-5および6）が死廃の転帰を辿った。死廃転帰を辿った2症例の病理学的検索では心筋細胞筋形質の硝子化および顆粒・塊状化・断片化と顕著な核変化によって特徴づけられる心筋の限局性壊死巣が散在して認められ、前章の症例における心筋の病理組織的特徴と類似していた。

今回、分娩前1週間以前に採血された血液材料を用いて分娩後無事故牛群と乳熱症例群の血液検査成績について比較したところ、牧場Tの乳熱症例群における血清TCHO濃度および血漿 α -TOC濃度は分

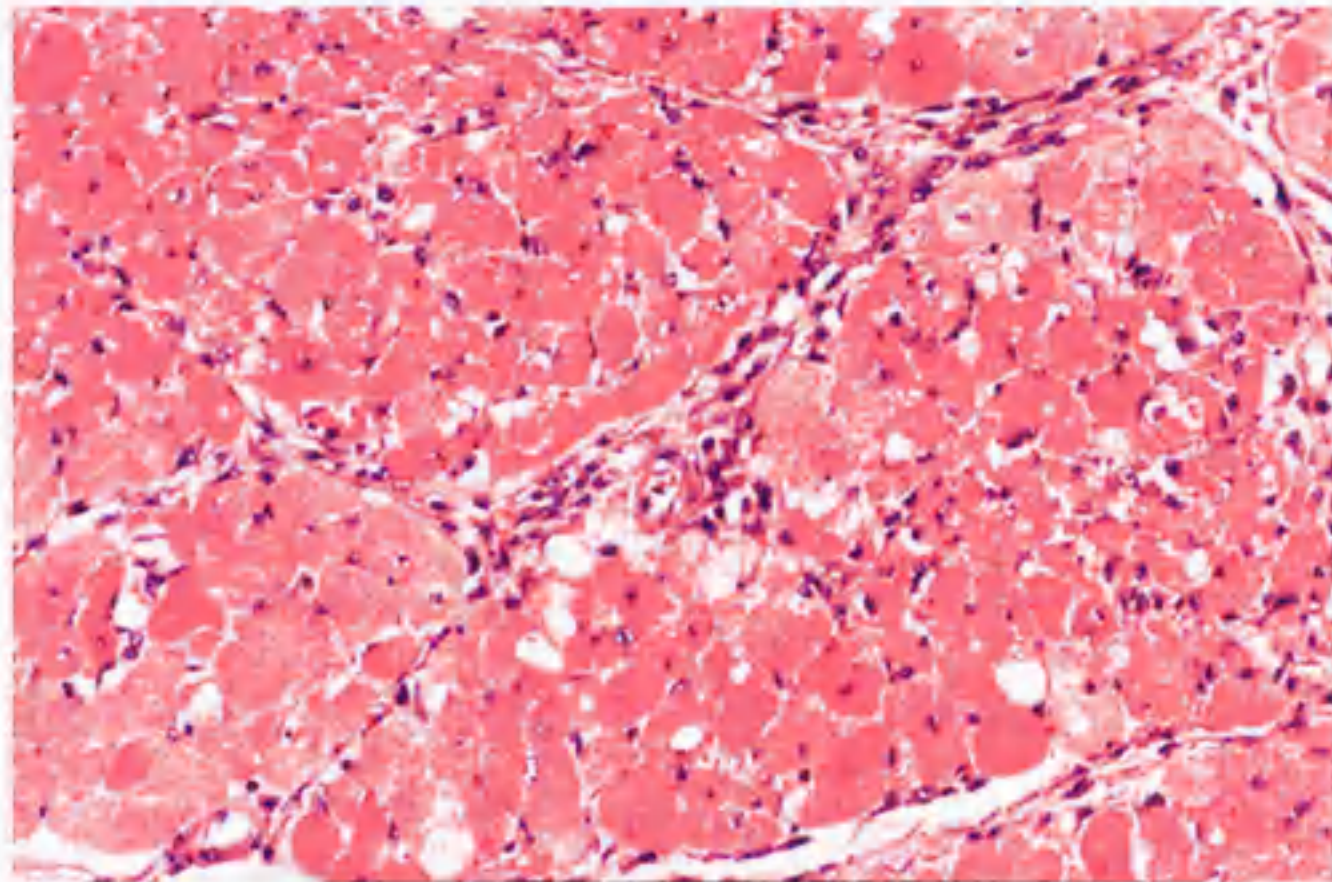


図12. 単核細胞の浸潤を伴う心筋壊死巣. 症例III-5, 左心室. HE染色, x198.

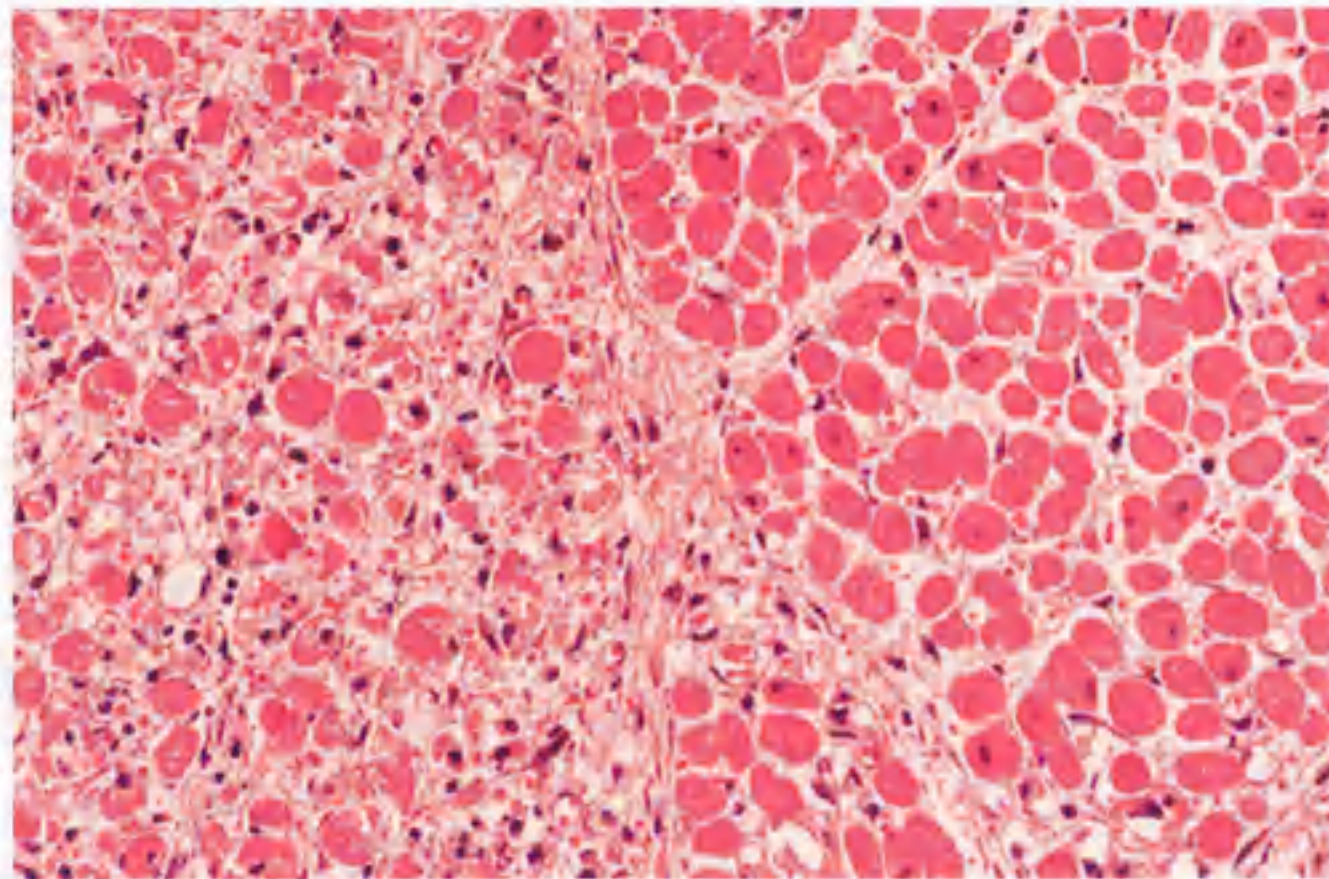


図13. 心筋間質における単核細胞の浸潤を伴う心筋壊死巣. 症例III-6, 左心房. HE染色, x198.

娩後無事故牛群に比べ有意な低値を示した。血中では、 α -TOCはコレステロールなどの脂質とともにVLDLおよびLDLなどのリポタンパク質により運搬されており⁽⁹⁶⁾、乳牛での研究において血漿 α -TOC濃度は血漿TCHO濃度と正の相関関係を有することが明らかにされている⁽¹³⁶⁾。本章の調査では、乾乳期間中の乳牛における飼料中ビタミンE含量や飼料摂取状況は調査されていないが、牧場Tの乳熱症例群における血漿 α -TOC濃度の低下には、乾乳期間中の飼料摂取不足や肝機能低下を反映した血清TCHO濃度の低下に随伴したものと考えられた。一方、牧場Kではいずれの測定項目においても有意差は検出されなかったことから、乳熱症例群では分娩前に血清TCHO濃度および血漿 α -TOC濃度が低下する傾向を示すが、必ずしも乳熱の発症に特異的関連性を有するとは考えられなかった。

乳熱症例における分娩前血液検査所見を検討したところ、WBC、AST、CK、TG、FFA、TBILもしくは α -TOCなどの血中濃度は各症例ごとに異なり、Ca剤による治療後起立した4例（症例III-1~4）と死産転帰を辿った2例（症例III-5および6）の比較において明らかな差異は認められなかった。しかし、第1病日の血液検査成績において、症例III-5および6の血漿 α -TOC濃度は分娩前の値（233.9および142.5 μ g/dl）より明らかに低下（93.4および85.1 μ g/dl）し、症例III-1~4における第1病日の値（130.2~271.7 μ g/dl）よりも低い値を示した。分娩前後の乳牛において、血漿 α -TOC濃度は分娩直後から分娩後1週間にかけて低値で推移することが知られている^(47, 137, 138)。Goff and Stable⁽⁴⁷⁾の正常分娩乳牛に関する研究では、分娩後1日の血漿 α -TOC濃度（71.5 \pm 10.1 μ g/dl）は分娩前1週間の約53%の値であったことが報告されてい

る。このような急激な血漿 α -TOC濃度の低下は初乳中への大量の α -TOCの流出に起因すると考えられおり^(47, 55, 137, 138)、本章の症例 III-5および6では他の乳熱症例（症例 III-1~4）に比べて初乳への α -TOCの流出が顕著であったため、血漿 α -TOC濃度の低下が顕著であったと推察された。

ところで、ビタミンE、すなわち α -TOCの慢性欠乏症として幼若動物では白筋症が知られている^(103, 109, 126)。白筋症では、細胞膜の不飽和脂肪酸に対して過酸化防止作用や活性酸素などのフリーラジカルに対して抗酸化作用を発揮するビタミンEの欠乏によって、細胞膜で不飽和脂肪酸の酸化や過酸化が起こり、骨格筋、心筋、肝臓、腎臓および脈管系などが傷害される^(127, 128)。生理的にも血中 α -TOC濃度が急減し易い分娩前後の乳牛において、若齢動物における白筋症のように心筋に変性性病変が形成されるか否かは定かでない。しかし、本章の症例 III-5および6における分娩時の血漿 α -TOC濃度はGoff and Stable⁽⁴⁷⁾が報告した正常分娩乳牛の分娩時の濃度よりはるかに高い値であったことから、今回の症例において分娩時の血漿 α -TOC濃度の低下が心筋病変の形成に特異的な影響を及ぼしたとは考えにくい。むしろ、ビタミンEの筋肉内投与による前処置が薬物誘発性の心筋傷害を予防するとの報告もある^(130, 131)。したがって、本症例における心筋病変の形成に際して、分娩に伴う急激な生体内 α -TOCの減少によって心筋の細胞膜における抗酸化および抗フリーラジカル作用が低下し、その結果として細胞膜の保護機構が減退したので、心筋を傷害する要因に対して心筋細胞を保護しきれなかったとの可能性が推測される。

前章において、心筋病変を有し死産の転帰を辿った症例では、初

診時に重度の低Ca血症 (3.6 ± 1.3 mg/dl) を呈していた。小岩ら^(74, 77)も、このような死産転帰を辿る症例では、典型的な乳熱罹患牛よりも低Ca血症の程度が著しいことを指摘している。しかし、本章の症例III-5および6において初診時の血漿Ca濃度は5.2および5.8 mg/dlであり、血漿Ca濃度の低下が軽度であった症例III-1 (8.2 mg/dl) を除けば、Ca剤による治療後起立した症例III-2~4 ($4.2 \sim 5.7$ mg/dl) と同等以上の血漿Ca濃度を示した。第2病日において、症例III-2~4の血漿Ca濃度が $6.9 \sim 8.4$ mg/dlであったのに対し、症例III-6の血漿Ca濃度は 6.9 mg/dlで症例III-2~4とほぼ同程度であったが、症例III-5では 5.9 mg/dlであり低Ca血症からの回復が他の症例に比べ遅延していたかに見えた。近年、乳熱罹患牛における低Ca血症の回復遅延の要因として $1,25-(OH)_2D$ の反応遅延を有する症例の存在が報告されているが⁽⁴⁴⁾、症例III-5における臨床経過中の血漿 $1,25-(OH)_2D$ 濃度は症例III-2~4および6と同様に推移し、本症例において血漿 $1,25-(OH)_2D$ 濃度の反応遅延は認められなかった。症例III-5において、第1病日では血漿PTH濃度のわずかな上昇に対し血漿 $1,25-(OH)_2D$ 濃度の顕著な上昇が認められたが、第2病日では血漿PTH濃度はさらに著しい上昇を示した。一般に、 $1,25-(OH)_2D$ による腸管からのCa吸収には24時間を要すると言われている⁽⁹⁵⁾。したがって、症例III-5における第2病日での血漿PTH濃度の急増は第1病日以来の $1,25-(OH)_2D$ によるCa吸収能の低下を反映したとも考えられ、一部の乳熱履歴牛で報告されているように⁽¹⁴¹⁾、 $1,25-(OH)_2D$ に対する標的器官の反応性が低下していた可能性が示唆された。

乳熱症例6例において初診時の血漿iP濃度は、いずれも同程度の

顕著な低下を示した。第2病日において、症例III-2~4の血漿iP濃度は正常範囲濃度に回復していたが、症例III-5および6では第2病日にも明らかな低リン血症が認められた。一般に、リンは筋収縮に関与する重要な構成要素の一つとされており、乳熱罹患牛における低リン血症の持続はCa剤による治療後も起立不能を存続させる要因と指摘されている^(21, 86)。しかし、Caによる治療後も起立不能が存続する乳熱罹患牛において低リン血症が持続する理由は未だ明らかではない。上皮小体ホルモンは、乳牛において腎と唾液からのリン排泄を増加させ血漿iP濃度を減少させる作用を有することから^(59, 88)、本章の症例において持続する低リン血症と上皮小体ホルモンの関連性について検討する必要があることも考えられる。本章の症例III-5では低リン血症が起こった翌日に血漿iPTH濃度は極めて高い値を示し、症例III-6では他の症例に比較して終始明らかに高い血漿iPTH濃度での推移を示した。しかし、症例III-3のように第2病日に血漿iP濃度が正常範囲に回復しても血漿iPTH濃度は上昇していた例もあり、症例III-5および6における低リン血症の持続に直接上皮小体ホルモンが関与しているとは考えられなかった。死廃転帰を辿った症例III-5および6において低リン血症が持続した要因については、今後さらに検討する必要がある。

5. 小 括

1年間にわたり2牧場で乳熱の発生調査を行ったところ、分娩牛273頭のうち6例が乳熱として治療を受け（乳熱症例）、これら6例の乳熱症例のうち2例が死廃の転帰を辿った。死廃の転帰を辿った2例の心臓の病理組織学的検索において、前章の症例と同様の心筋の

壊死性病変が認められた。

分娩前1週間以前の血液検査成績を、各牧場ごとに分娩後無事故牛群（分娩後1カ月以内に疾病事故のなかった分娩牛182頭）と乳熱症例群（乳熱症例6例）とについて比較したところ、1牧場の乳熱症例群において血清総TCHO値と血漿 α -TOC濃度が有意な低値を示した。また、各乳熱症例の初診時（第1病日）の血液検査成績について検討したところ、死産転帰を辿った2例の血漿 α -TOC濃度はCa剤による治療後起立した4例よりも低い値を示した。したがって、死産の転帰を辿った2例の心筋病変の形成に際して、分娩に伴う急激な生体内 α -TOCの減少により細胞膜の保護機構が減退したため、心筋を傷害する要因に対して心筋細胞を保護しきれなかったとの可能性が推測された。前章の症例では、初診時に重度の低Ca血症を呈していた。しかし、本章では、死産転帰を辿った2例の乳熱症例における第1病日の低Caおよび低iP血症の程度は、Ca剤による治療後起立した4例と同程度であった。

第 IV 章

心筋病変を有する低 Ca 血症乳牛における 心筋の組織学的所見

1. はじめに

第 II および III 章において、分娩前後に低 Ca 血症を伴い苦悶、頻脈および呼吸困難などの臨床症状を呈し死産の転帰を辿る起立不能乳牛について臨床的、血液生化学的ならびに病理学的検討を行った。その結果、心筋の急性壊死性病変の存在が死産転帰を辿る主要な要因であり、妊娠と分娩、そして分娩に伴う急激な低 Ca 血症が心筋病変の形成に関与した可能性が推察された。しかし、心筋の壊死性病変の形成機序ならびにその臨床的意義については不明確なままである。したがって、本章ではこれらの点を明らかにする目的で、類似症例 3 例の心筋について光学顕微鏡と透過型電子顕微鏡による観察を行った。

2. 症 例

症例は、1995年12月から1996年6月まで岩手県の3酪農家において飼養されていたホルスタイン乳牛3頭(症例IV-1~3)である(表13)。これらは、分娩後に突然横臥し、呻吟・苦悶するとの稟告で専属獣医師へ診療が依頼され、Ca剤による治療(25%ボログルコン酸Ca注射液500mlをリンゲル注射液および5%ブドウ糖注射液2000~3000mlと混合し静脈内投与)が施された。

1) 臨床経過の概要

症例IV-1は分娩翌日に発症し、泡沫性流涎、呼吸速拍(60/min)、頻脈(128/min)および発熱(40.0℃)などの症状を示した。心音の聴診では心音の減弱と明らかな不整脈が聴取された。Ca剤の投与により体温は正常に復したが、第2病日になっても頻脈、不整脈および

表13. 供試症例の概要

症例 No.	症例 ID	牧場 ID	年齢 (歳)	産次	分娩後発症日数	臨床経過日数	転帰
IV-1	MAT	Im	3.8	3	1	4	安楽殺
IV-2	TOR	Ht	5.5	4	0	4	安楽殺
IV-3	IGI	Hk	5.6	3	0	3	安楽殺

呼吸困難の症状は改善されず、心電図検査では心房細動が認められた。第2病日にもCa剤の投与を行ったが臨床症状の改善が認められないので、第4病日に廃用とし剖検を行った。

症例IV-2は早朝の胎児娩出直後に発症し、第1病日には眼球の陥凹、泡沫性流涎、開口呼吸、頻脈(130/min)および心音の減弱が認められた。本症例は初診後11時間後に2度目のCa剤による治療を受けたが、臨床症状の改善はなく、第4病日に廃用とし剖検を行った。

症例IV-3では分娩直後に発症し、発熱(40.3度)、呼吸速拍(88/min)および頻脈(120/min)などの臨床症状とともに子宮脱が認められた。本症例では直ちに子宮を整復し抗生物質を全身投与するとともに、Ca剤による治療を施した。第2病日には体温と呼吸数は減少したが、頻脈および開口呼吸が認められた。第2病日にも抗生物質の全身投与とCa剤による治療を施したが臨床症状の改善が認められないので、第3病日に廃用とし剖検を行った。

2) 血液検査所見の概要

各症例における第1病日および廃用時(第3もしくは4病日)の血液検査所見を表14に示した。いずれの症例においても第1病日に顕著な低Ca血症(2.8-5.1 mg/dl)が認められたが、廃用時にはほぼ正常範囲に回復していた。症例IV-1および2では第1病日に低リン血症(1.5-2.3 mg/dl)が認められたが、廃用時には正常範囲まで回復した。症例IV-3の廃用時には明らかな高リン血症(11.5 mg/dl)と高窒素血症(49.6 mg/dl)が認められた。血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、乳酸脱水素酵素(LDH)およびクレアチンキナーゼ(CK)活性値は、いずれの症例においても第1病

表14. 各症例における初診時および終診時の血液検査所見

項 目	略号	単 位	症例IV-1		症例IV-2		症例IV-3	
			第1病日	第4病日	第1病日	第4病日	第1病日	第3病日
白血球数	WBC	$\times 10^2 / \mu l$	144	82	ND	52	156	36
赤血球数	RBC	$\times 10^4 / \mu l$	699	880	ND	858	863	863
ハマトクリット値	Ht	%	42	49	ND	42	43	45
アスパラギン酸 アミノトランスフェラーゼ	AST	U/l	840	3254	251	2241	145	1658
クレアチンキナーゼ	CK	U/l	1705	25140	5654	5208	ND	4459
乳酸脱水素酵素	LDH	U/l	7162	33570	7074	14247	2380	30900
総タンパク	TP	g/dl	6.6	6.7	6.9	6.5	ND	7.6
尿素窒素	BUN	mg/dl	11.0	14.9	12.0	12.3	13.0	49.6
カルシウム	Ca	mg/dl	3.4	9.8	2.8	8.3	5.1	7.9
無機リン	iP	mg/dl	2.3	6.1	1.5	6.9	4.3	11.5
マグネシウム	Mg	mg/dl	1.8	1.7	2.5	1.5	ND	ND

ND: 測定せず.

日で高く、廃用時にはさらに増加した。

3. 病理学的検索の方法

1) 肉眼的および組織学的検索

症例は安楽殺の後剖検され、光学顕微鏡による観察に供するため種々の臓器が採材された。特に、心臓では洞房結節、房室結節およびヒス束の領域も含む両心房および両心室ならびに心室中隔の計80ヶ所以上の部位から心筋材料を採材した。これらの材料について、10%リン酸緩衝ホルマリン液にて固定後、パラフィン切片を作製し、hematoxylin and eosin (HE)染色を施した。また、一部の心筋切片についてはHeidenhain's iron hematoxylin (HIH)染色を施すとともに、rabbit anti-myoglobin serum (Zymed laboratories, Inc., CA., USA) による免疫組織化学(ABC法)を行った。

2) 透過型電子顕微鏡による検索

剖検時に各症例の心臓から両心房および心室壁ならびに心室中隔心筋の一部を採材し、それぞれを約1mm角のブロックにトリミング後、2% glutaraldehydeと2.5% paraformaldehydeの混合溶液(pH7.4)にて固定した。その後、心筋ブロックを1% osmium tetroxide溶液にて再び固定し、アルコールでの脱水とpropylene oxideでの置換後 epoxy樹脂に包埋した。厚切り標本には azure II-toluidine blue染色を施し、電子顕微鏡で観察する心筋ブロックを選択するために光学顕微鏡にて観察した。超薄切片には uranyl acetateと lead citrateによる染色を施し、透過型電子

顕微鏡（日立 H-800）により観察した。

4. 成 績

1) 肉眼的および組織学的所見

剖検時の症例は、いずれも皮下および腹腔内に脂肪組織が豊富に認められた。また、いずれの症例でも起立不能に起因した体幹皮下の褥創や後肢骨格筋の変性巣が認められた。

いずれの症例においても、心筋は弛緩しており、淡黄褐色を呈する微小褪色巣が両心房および心尖部に近い領域の心室中隔心筋に散在していた。症例 IV-2 および 3 において、心嚢水は増量し線維素の滲出も認められた。光学顕微鏡では心筋壊死巣は心臓全域に散在し、特に両心房および左心室心筋においてより高頻度に出現する傾向があった。これらの病変巣は、数個の心筋細胞が壊死状態に陥っただけの微小のものから幾十個かの心筋細胞からなる壊死巣に至るまで大小さまざまな様相を呈し、多くの病変巣では単核細胞の浸潤を伴っていた（図 14）。症例 IV-1 では、左心房における広範囲な心筋壊死巣も認められた。壊死心筋細胞は HE 染色では核濃縮と好酸性に強く染まる細胞質を有しており、anti-myoglobin serum による免疫組織化学では陽性反応を示さなかった（図 15）。HIE 染色では壊死心筋細胞は暗黒色に濃染したが、それとは別に、紡錘状もしくは糸状の形態を示し筋細線維の走行・配列の異常を示す心筋細胞も特に両心房の心筋において散発していた（図 16）。また、全症例の両心房において巣状の心筋間質の粗密な線維化と単核細胞の浸潤も観察された（図 17 および 18）。洞房結節、房室結節、プルキンエ線維、冠状動脈およびその他の主要な血管系に著変は認められなかつ

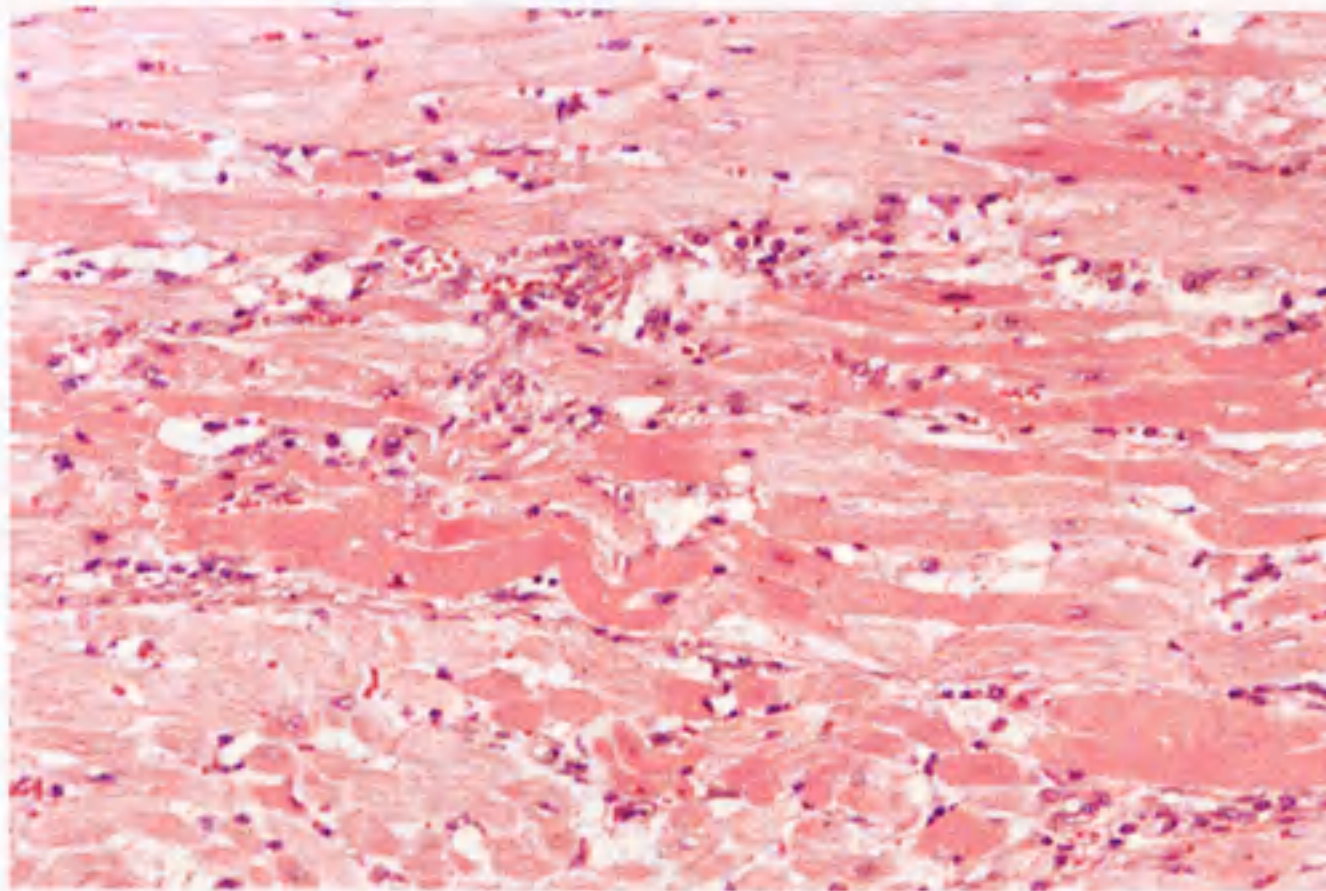


図14. 単核細胞の浸潤を伴う壊死心筋細胞の散在. 症例IV-1, 左心室.
HE染色, x150.

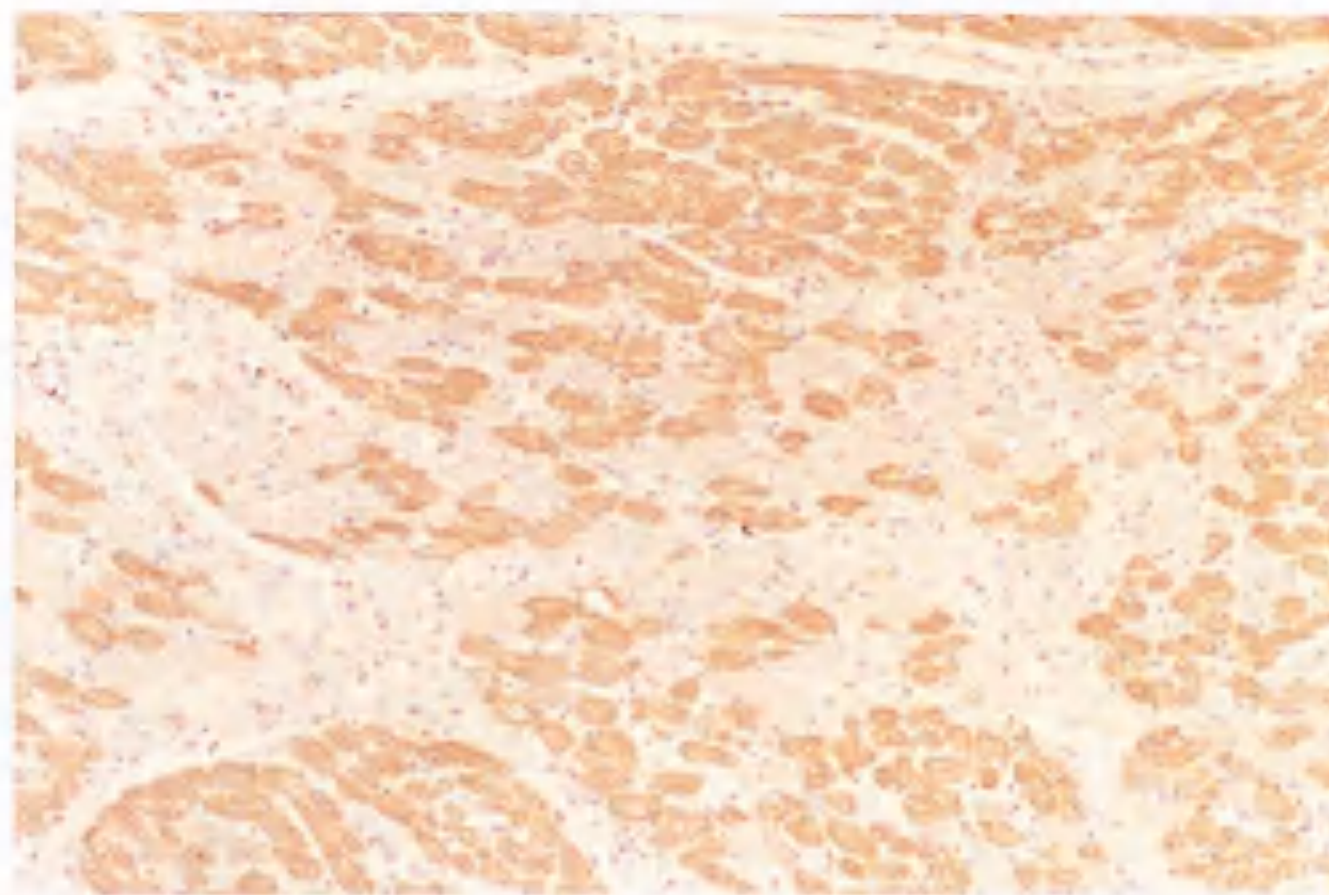


図15. 壊死心筋細胞の散在. 壊死心筋細胞は染色されていない. 症例
IV-1, 右心房. Anti-myoglobin serumによるABC法, x99.

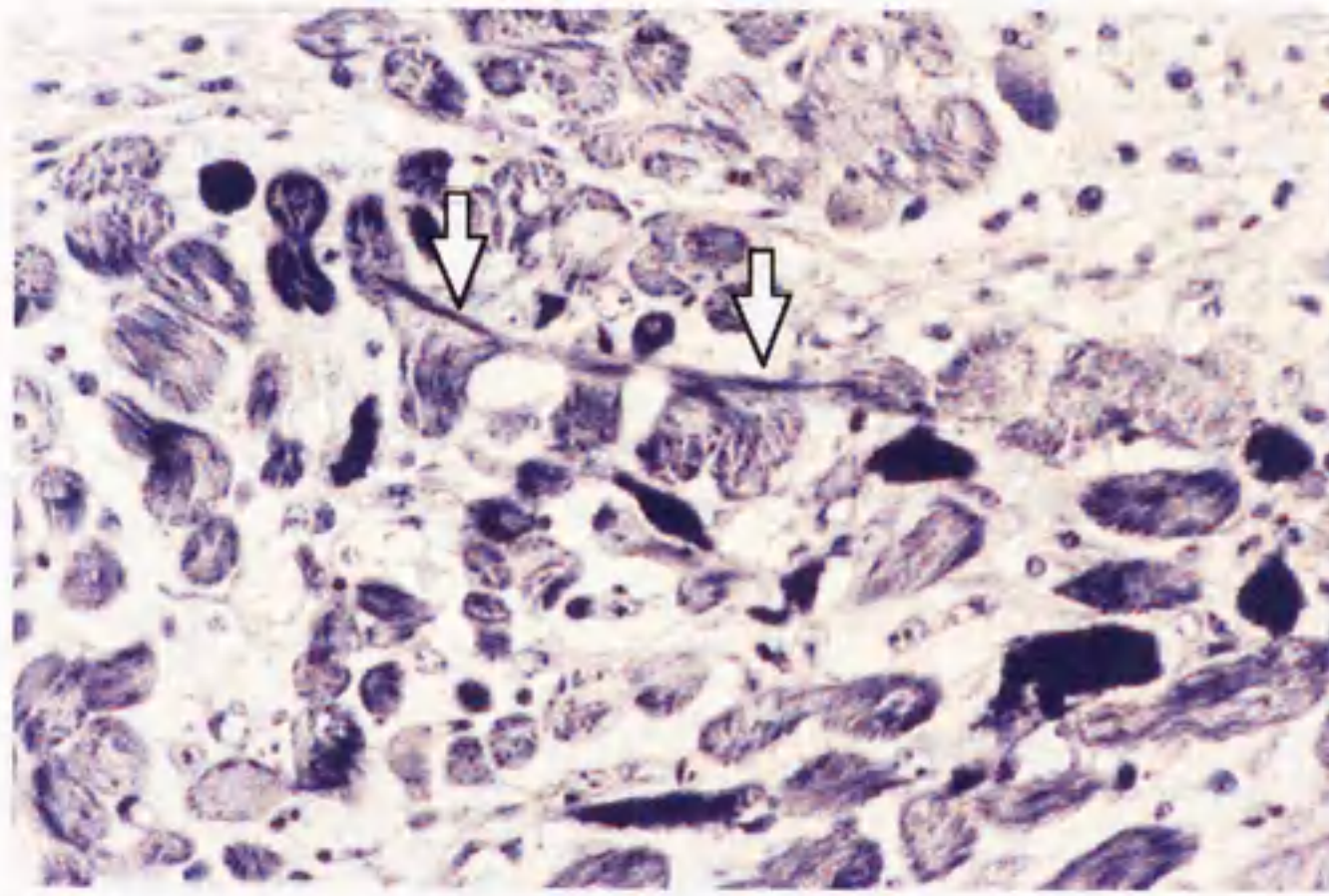


図16. 壊死心筋細胞の散在（暗黒色に濃染）と筋細線維の走行・配列の異常を示す心筋細胞（白矢印）. 症例IV-1, 右心房. HIE染色, x300.

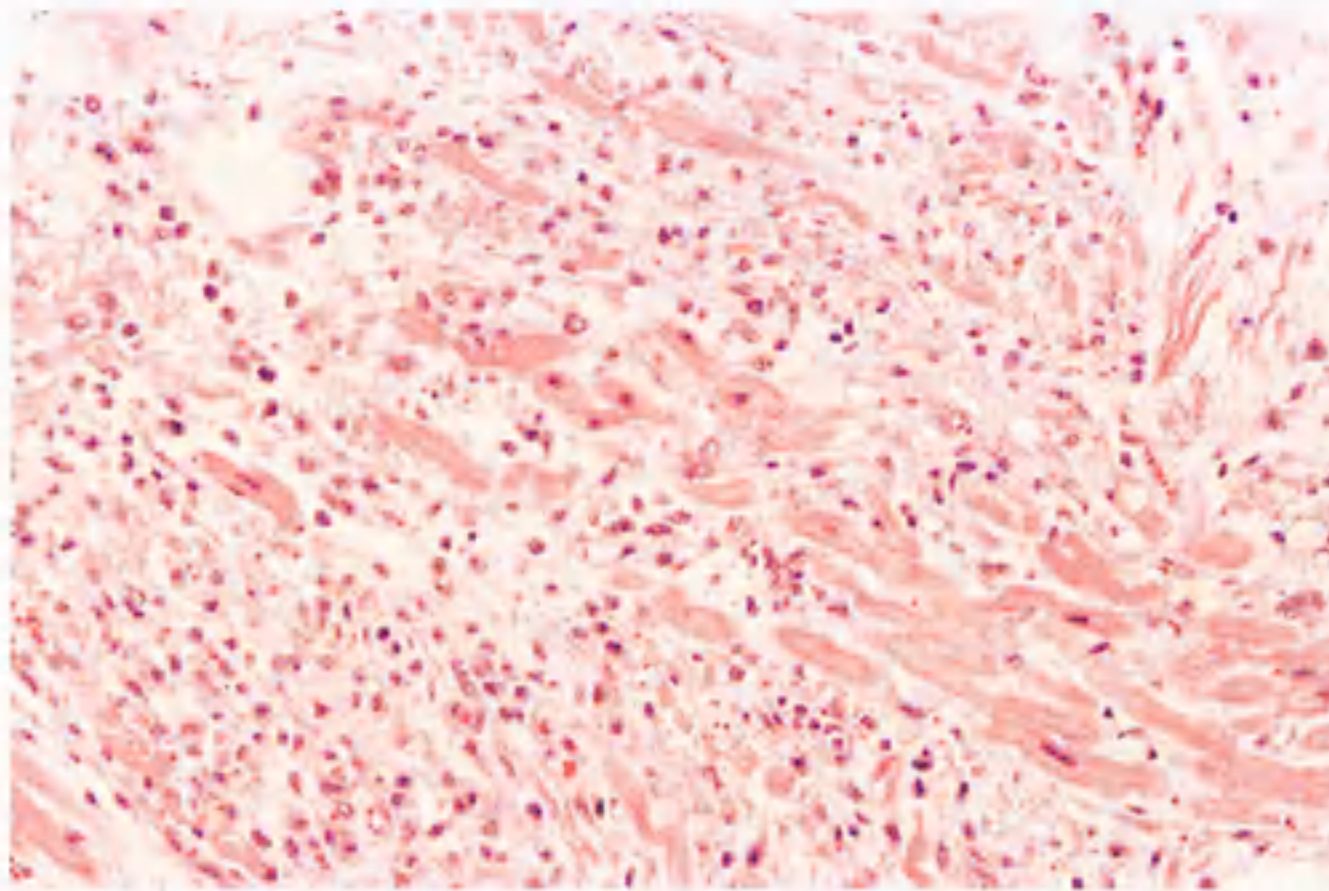


図17. 心筋間質における粗密な線維化と単核細胞の浸潤を伴う心筋壊死巣. 症例IV-2, 右心房. HE染色, x150.

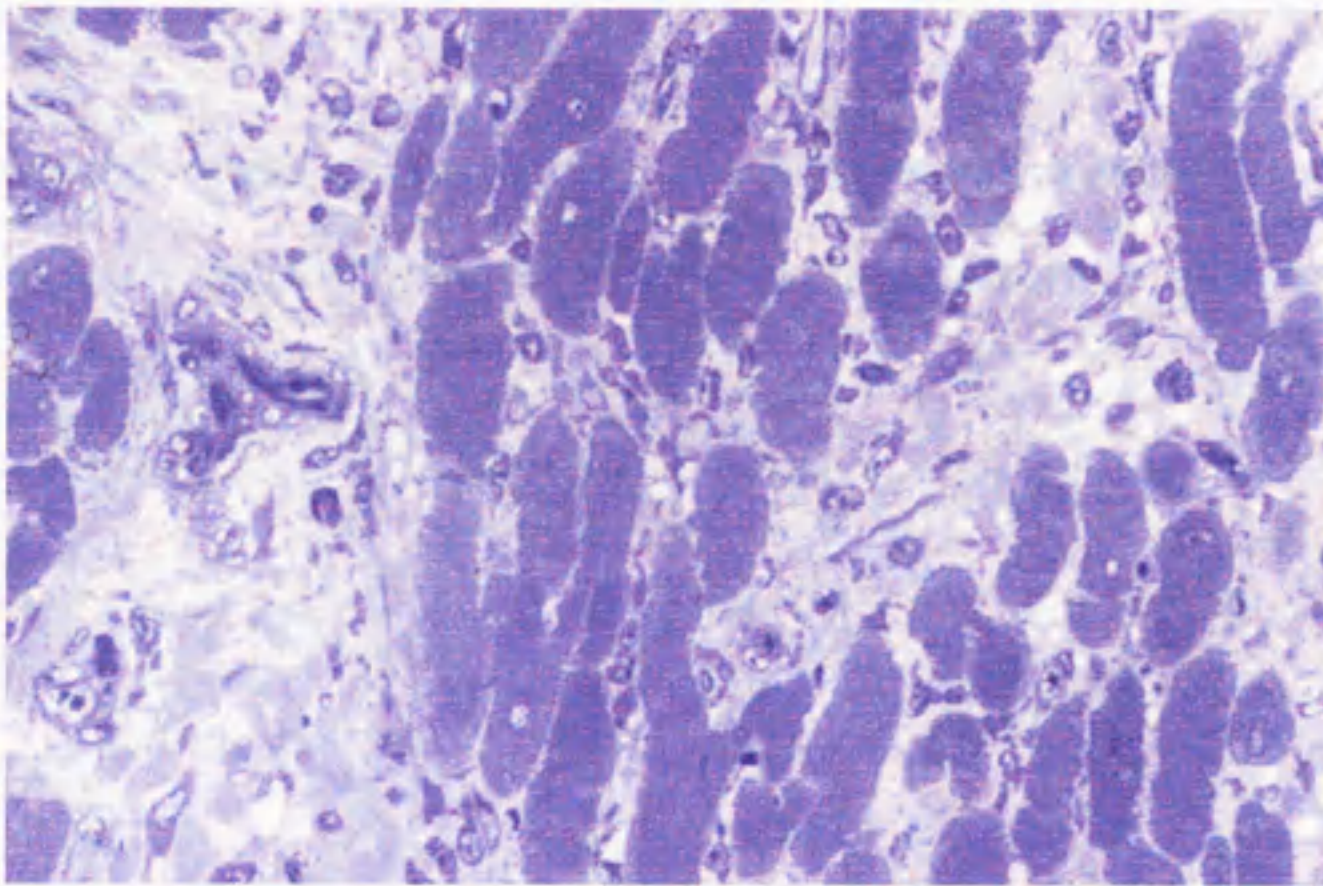


図18. 心筋間質の粗密な線維化と単核細胞の浸潤. 症例IV-2, 左心房. Azure II-toluidine blue染色, Epoxy樹脂切片, x300.

た。

その他の主要臓器において、肝臓はいずれの症例でも黄褐色で腫大し、光学顕微鏡下では肝細胞の水腫性もしくは脂肪変性が観察された。また、いずれの症例においても剖検時には肺の気管および気管支内に多量の白色泡沫が認められた。その他の所見として、症例 IV-2 では巣状性の化膿性気管支肺炎および胎盤停滯が認められた。症例 IV-3 の腎臓では急性貧血性梗塞が両側性に多発して認められ、脾臓は軽度に軟泥化し、子宮は内腔に少量の灰褐色の悪露を有し弛緩していた。

2) 透過型電子顕微鏡所見

壊死心筋細胞ではその細胞構造は崩壊し、筋原線維の断裂、消失もしくは過収縮、ミトコンドリアの腫大ならびに小胞体の拡張などが観察された(図 19)。また、周辺的心筋間質ではマクロファージの浸潤や線維素の滲出も認められ、マクロファージにより貪食される壊死心筋細胞もしばしば観察された(図 20)。壊死心筋細胞に隣接する非壊死心筋細胞では小胞体の軽度の拡張も観察されたが、筋原線維ならびにミトコンドリアには著変はみられなかった。

一方、厚切り標本の光学顕微鏡下での観察において一見して正常な心筋細胞において、数個の筋節にわたる筋細線維の粗しょう化(図 21)、Z 帯の断裂や塊状化(図 22)などの異常、さらに筋細線維の直交・交錯(図 23 および 24)や錯綜(図 25)より成る超微細構造変化が認められた。このような超微細構造変化は心筋細胞の筋鞘付近(辺縁部)に多く観察され、とくに心房の心筋細胞においていっそう高頻度に認められる傾向があった。さらに、心房では超微細構造

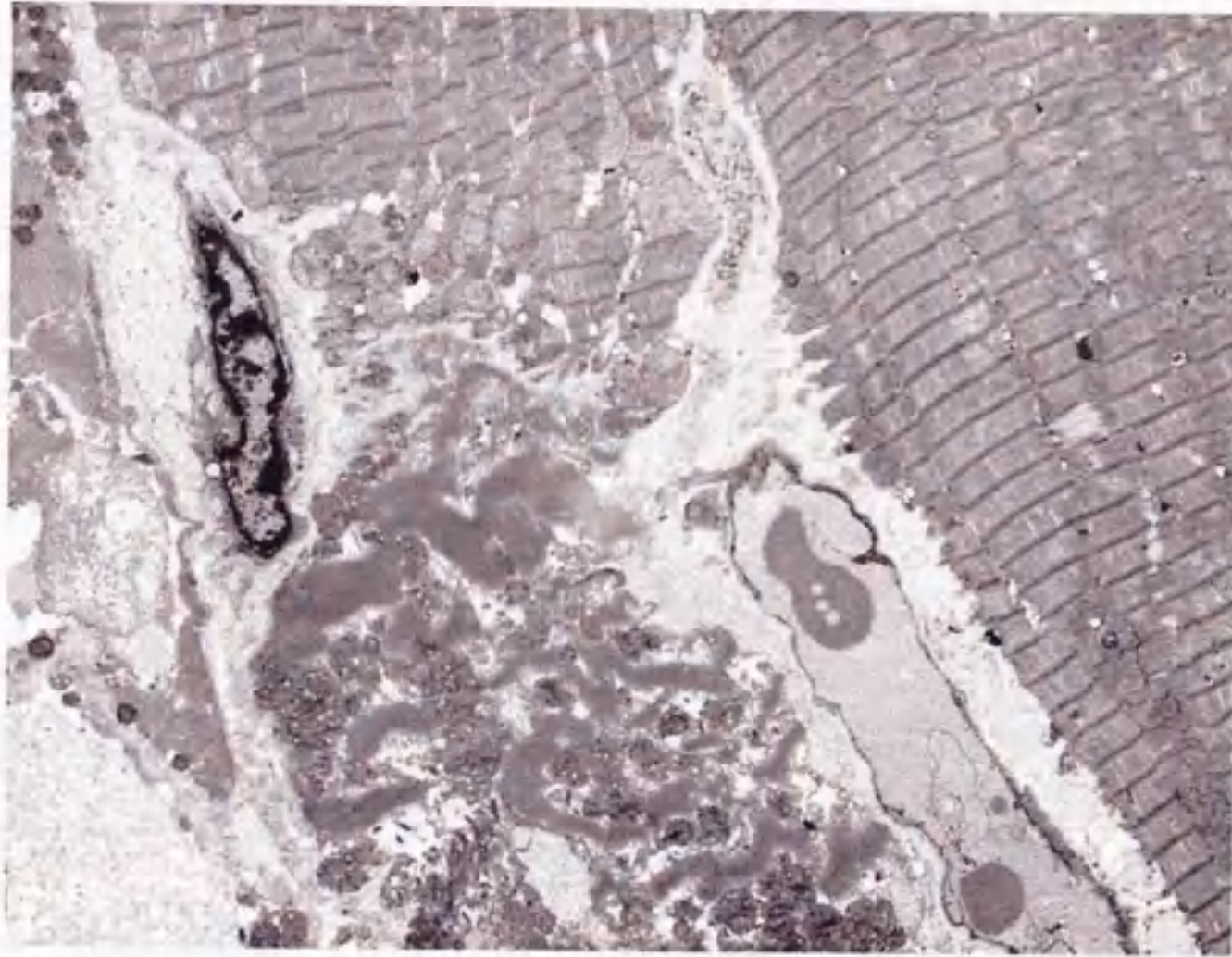


図19. 壊死心筋細胞（写真中央下方）. 筋細線維は断裂し過収縮を呈する. 症例IV-2, 左心室. x2333.

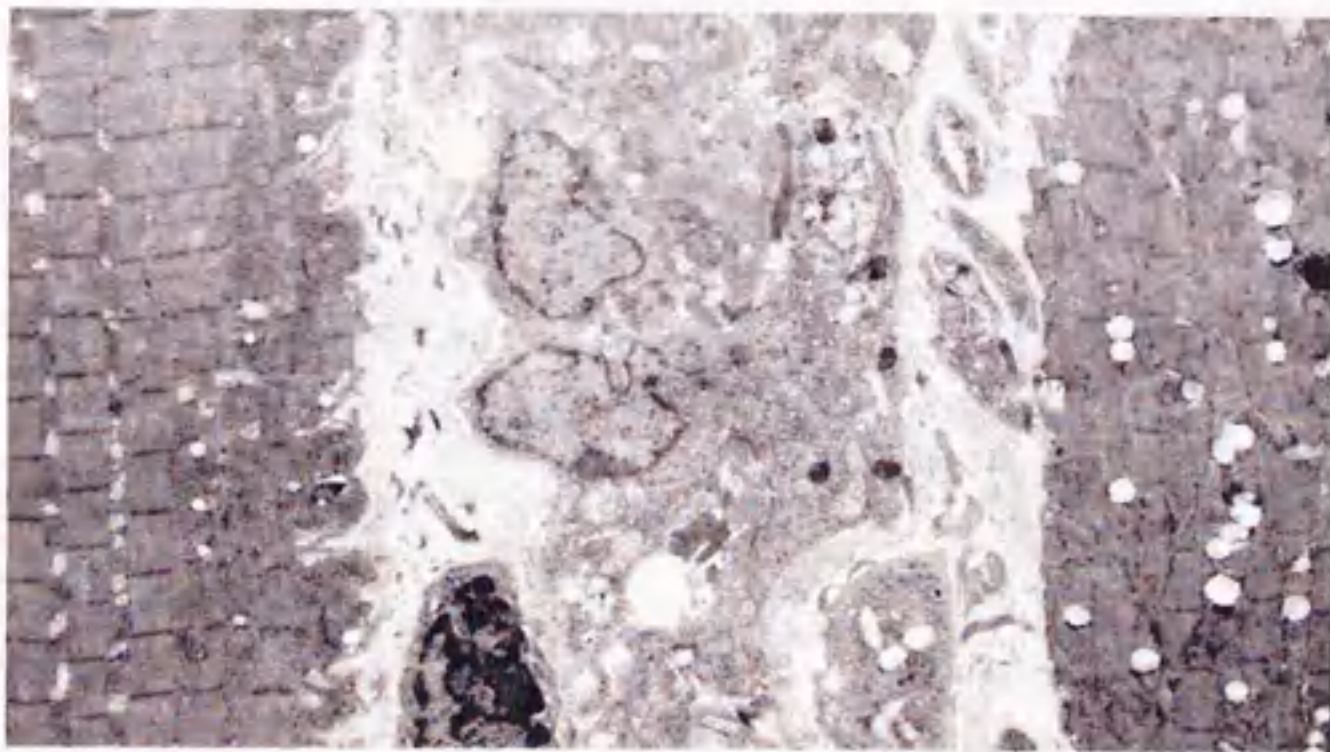


図20. マクロファージにより貪食される壊死心筋細胞. 隣接する心筋細胞（写真右）では小胞体の拡張が認められる. 症例IV-3, 心室中隔. x3584.

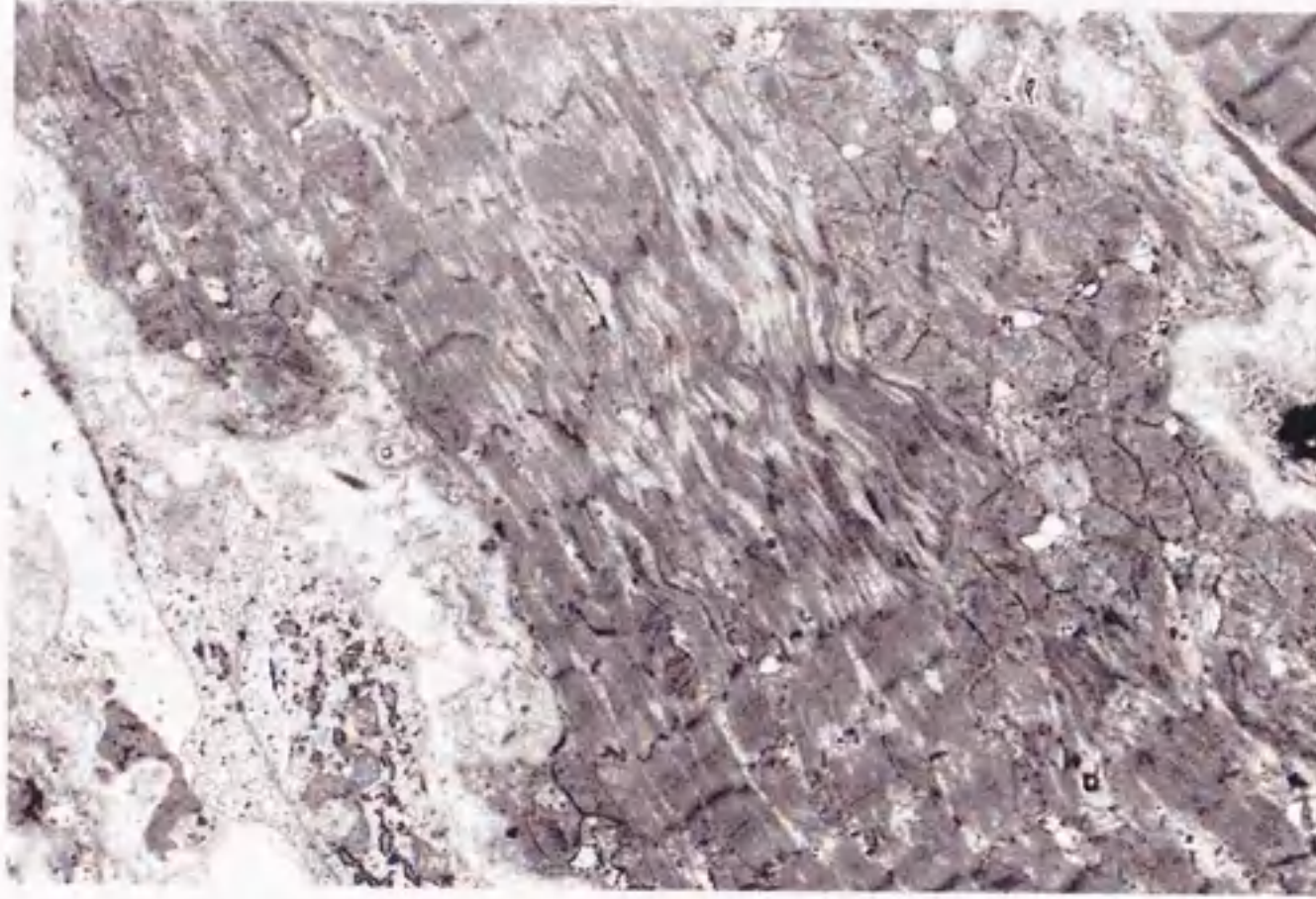


図21. 筋細線維の粗しょう化. Z帯の断裂も認められる. 症例IV-1, 左心室. x48.5.

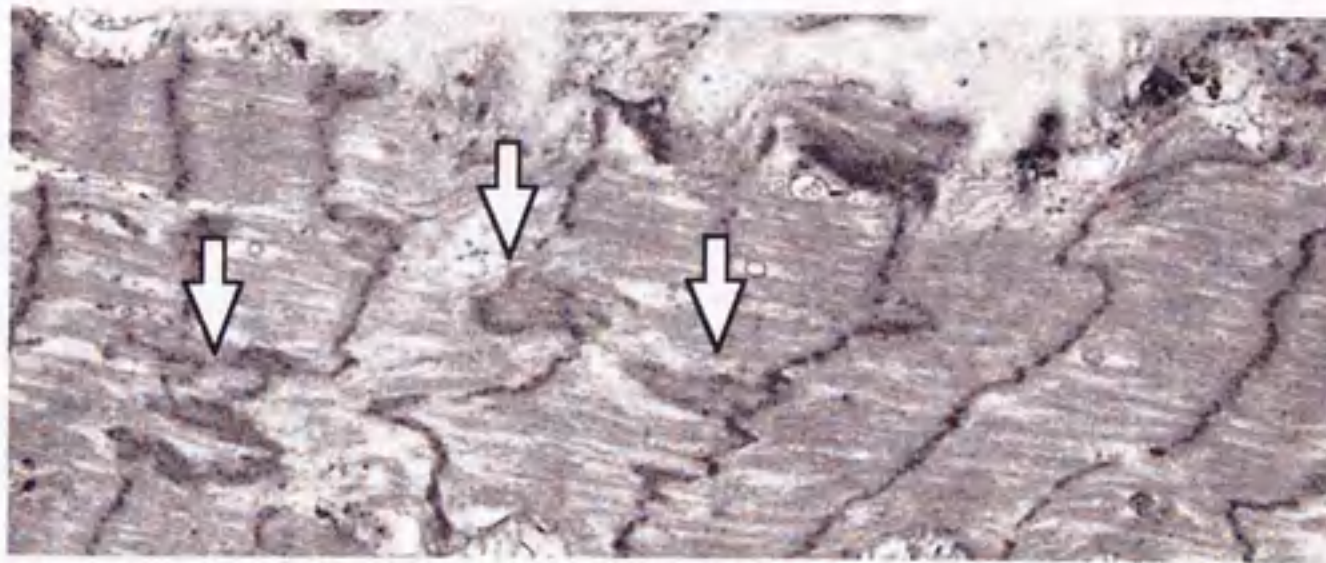


図22. Z帯の塊状化 (白矢印). 症例IV-1, 左心室. x10000.



図23. 筋細線維の直交・交錯. 写真の左右へ走行する筋細線維の縦断面とこれと垂直方向に筋鞘下を走行する筋細線維の横断面（白矢印）が同時に認められる. 症例IV-1, 左心房. x14533.

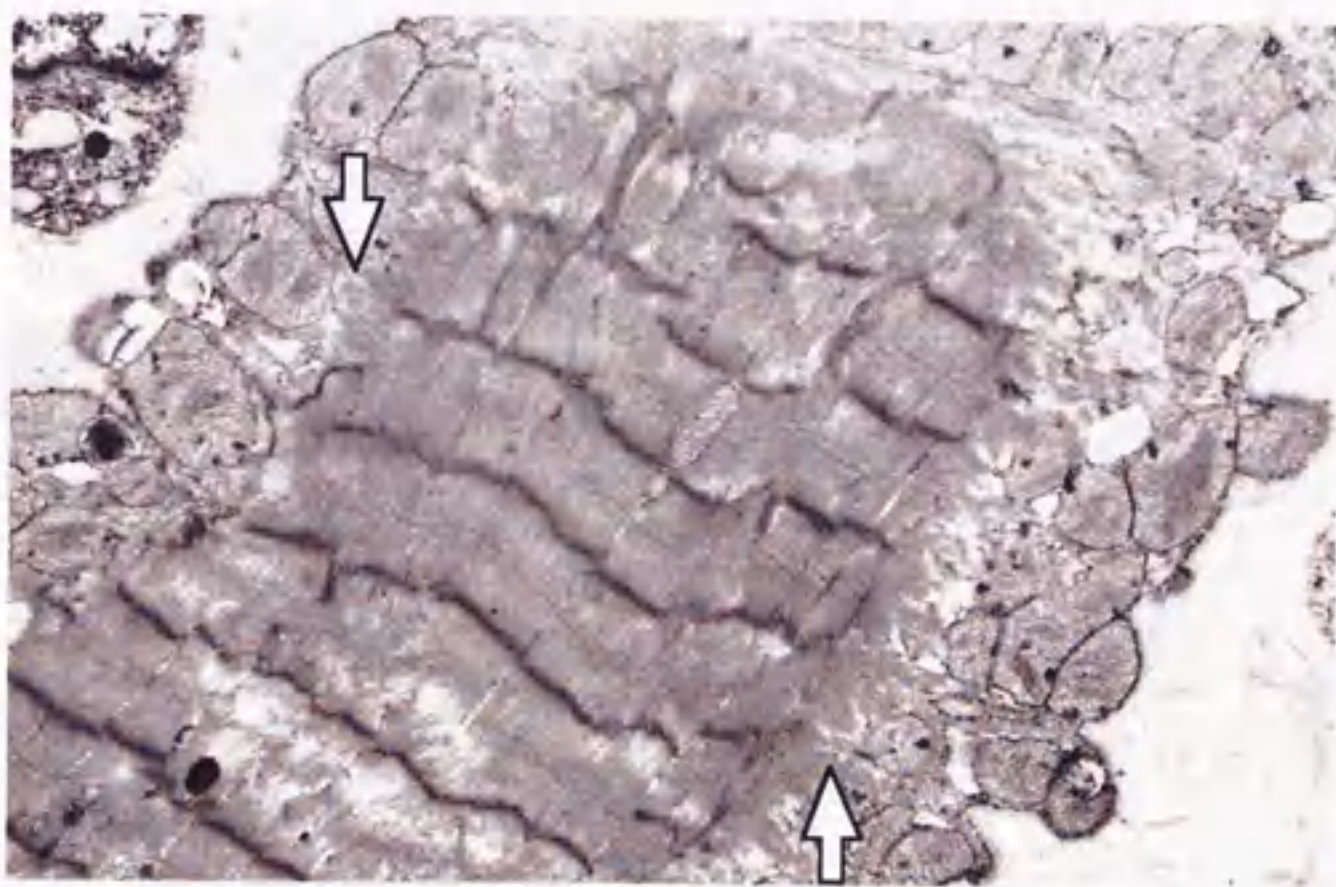


図24. 筋細線維の直交・交錯. 細胞辺縁において、写真上下へ走行する筋細線維に対して垂直方向へ放射状に走行する筋細線維（白矢印）が認められる. 症例IV-2, 左心房. x7047.

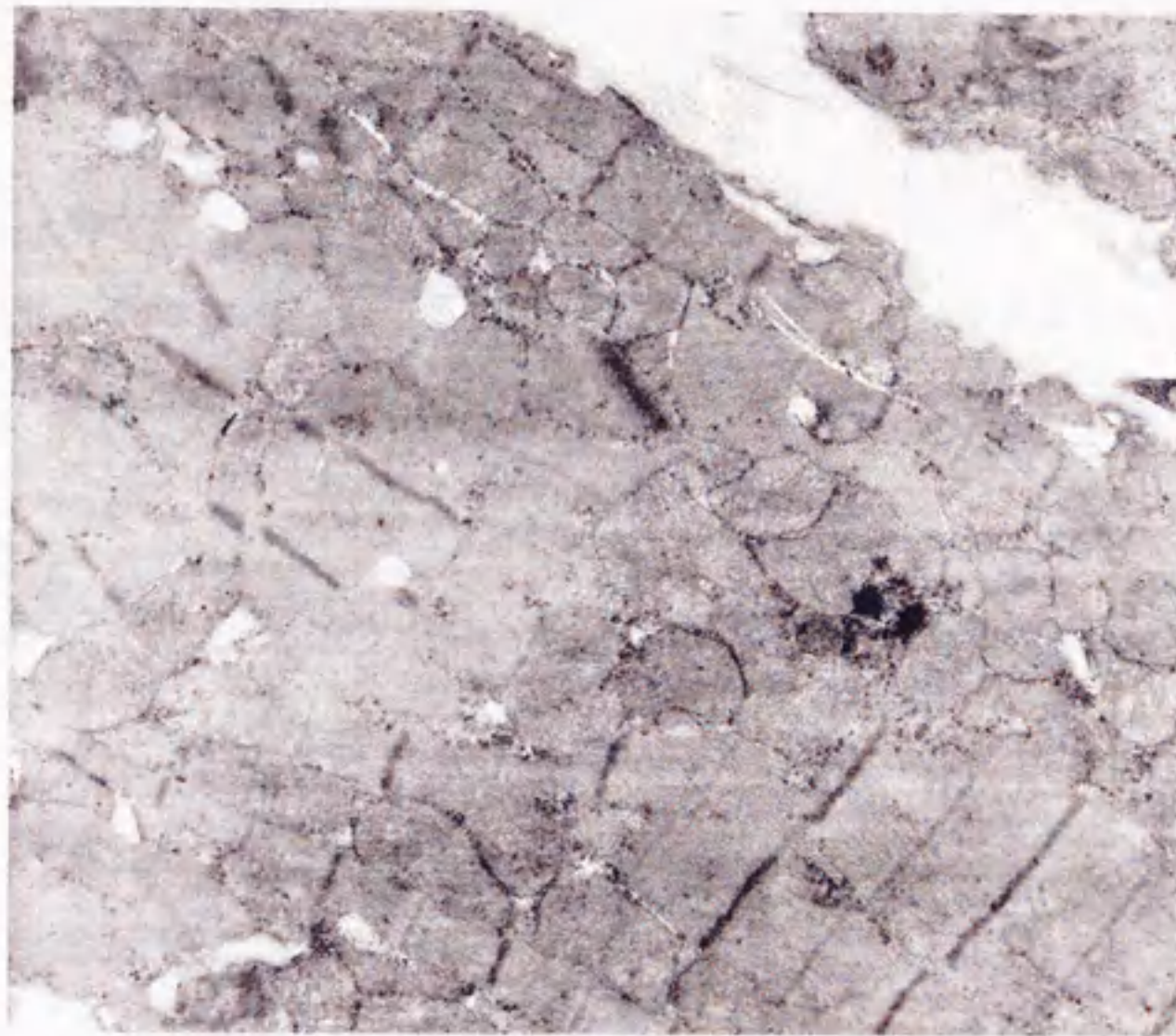


図25. 筋細線維の錯綜走行. 写真左部分における筋細線維は上下方向に走行するが、写真右部分における筋細線維は左右方向に走行する. 症例IV-3, 心室中隔. x9346.

変化を伴う心筋細胞の近隣の心筋間質において膠原線維の増生も多く認められた。

5. 考 察

本章の症例における主要な臨床症状は、横臥、呼吸速拍、呼吸困難ならびに頻脈などであり、これらの症状は第 II および III 章の症例と一致していた。本章の症例において特徴的な病理学的所見は心臓全域にわたって散在する多発性の急性壊死病変であり、これらは数個の心筋細胞が壊死状態に陥っただけの微少なものから十数個の心筋細胞からなる壊死巣に至る大きなものまでさまざまな様相を呈していた。また、電子顕微鏡観察において、心筋細胞の崩壊やマクロファージを主体とする単核細胞の浸潤を特徴とする急性心筋壊死が観察された。このような病理学的所見も、第 II および III 章の症例における心臓の光学顕微鏡所見と一致するものと考えられた。

一方、本章では症例の心臓において新たな心筋の超微細構造の変化が明らかになった。すなわち、光学顕微鏡では一見して正常な心筋細胞において、筋細線維の粗しょう化、Z 帯の異常および筋細線維の直交・交錯・錯綜が認められた。このような心筋細胞における超微細構造変化と同様の所見は、下記に挙げる如く、種々の心疾患においても報告されている。筋細線維の粗しょう化や Z 帯の異常は、ヒトおよびネコの肥大型心筋症^(38, 65, 86, 129)、ヒトの拡張型心筋症⁽⁶⁵⁾、ヒトの左房室弁・大動脈弁疾患^(113, 125)ならびに人工的に肺動脈狭窄を作出した実験的慢性心不全犬⁽⁷⁾において報告されている。筋細線維の直交・交錯・錯綜は、ヒトの肥大型および拡張型心筋症^(38, 65)やネコの肥大型心筋症⁽¹²⁹⁾において報告されている。これらの心筋

細胞における超微細構造の変化は哺乳類胎児における心筋収縮単位 (contractile cardiac units) の発生過程で認められる変化であるとの見解から、上述の心疾患においては、生存する心筋細胞が心機能を維持するために筋細線維の筋節 (sarcomere) を再構築した代償的現象として考えられている^(7, 38, 86, 113)。また、これらの生存する心筋細胞における超微細構造の変化は、上述の如く、原発性心筋疾患や容量もしくは圧負荷を被るさまざまな心疾患において認められることから、特定の心疾患に特異的な変化ではなく、心機能が持続的に減弱した状態を反映した所見と考えられている。一方、イヌを用いた冠状動脈結紮の実験では、結紮後1週間で梗塞域周辺の生存している心筋細胞で本症例と同様のZ帯の異常が認められ、4週間後には筋細線維は錯綜すると報告されている⁽²⁹⁾。したがって、本症例における生存する心筋細胞での超微細構造の変化は、少なくとも分娩末期の約1カ月間にわたり症例の心機能が減退した状態にあったことを示唆する所見と考えられた。

このような長期にわたる心機能減退を明らかにするには今後の検討が必要であるが、文献的にはいくつかの要因を仮説として考察する必要がある。まず、第一に、乳牛においても良く知られている拡張型心筋症について検討する必要があるが、拡張型心筋症と本研究の症例との相違点については第II章で既に考察した。すなわち、拡張型心筋症の罹患牛は年齢が通常2~4歳と若く、浮腫、頸静脈努脹、肝うっ血などの典型的な慢性心不全症状が特徴的であるとの点が本研究の症例とは異なっていた^(3, 119)。さらに、拡張型心筋症罹患乳牛における心筋の電子顕微鏡所見として、ミトコンドリアの膨化、筋細線維の断裂と粗しょう化およびZ帯の断裂が報告されているが

(119)、本章の症例で認められたような筋細線維の直交・交錯・錯綜といった顕著な配列・走行異常は乳牛の拡張型心筋症では報告されていない。一方、ヒトでは妊娠や分娩に関連して起こる拡張型心筋症の一種として産褥期心筋症(peripartum cardiomyopathy)が知られており、典型的症例では妊娠最終月に臨床症状が発現すると言われている(24, 58, 76, 80, 90, 91, 98)。産褥期心筋症における心筋の電子顕微鏡所見として、心筋細胞内グリコーゲン顆粒の増数、ミトコンドリアの腫大と増数、筋形質内の特異な線維状の微細構造物の存在が報告されている(64, 112, 132)。しかし、産褥期心筋症においても、本章の症例で認められたような筋細線維の直交・交錯・錯綜を示す所見は報告されていない。

もう1つの仮説として、妊娠に伴う循環血液量の増大をあげることができる。ヒトでは妊娠に伴って循環血液量が30~100%も生理的に増量し、心筋線維の伸展性と1回拍出量の増加によって心拍出量も増加することが指摘されている(110)。一方、Takemuraら(123)は乳牛を用いて心房壁の伸展刺激によって心筋細胞から放出されるホルモンである心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)の血漿中濃度について検討したところ、血漿ANP濃度は泌乳や妊娠に伴って顕著に増加することを報告した。したがって、乳牛では泌乳と妊娠という生理的現象が循環血液量の増大を招き、容量負荷によって心房壁を伸展させると考えられている(124)。乳牛は毎年定期的に泌乳と妊娠を繰り返すことが宿命として課せられており、高産歴および高泌乳能力を有する乳牛では心臓への容量負荷も多大であろうと推察される。Starlingの容量-圧曲線において、心室は生理的限界を越えて過度に伸展されると心収縮期圧が減少し心収縮機能も低下することが示

されている⁽¹¹⁶⁾。今後、本症例における分娩前の持続的な心機能減弱の要因として、泌乳・妊娠に伴う心臓への過度の容量負荷について追求する必要があると考えられる。

本章の症例ではいずれも第1病日に明らかな低Ca血症を示しており、廃用時（第3もしくは4病日）には正常範囲濃度の近くまで回復していた。症例IV-1および2では第1病日に低リン血症を認めたが、廃用時（第4病日）には正常濃度に復していた。しかし、症例IV-3では廃用時（第3病日）に高リン血症と高窒素血症を認め、これらは剖検後の腎臓の急性貧血性梗塞や脾臓の軟泥化といった肉眼的所見に象徴される敗血症を反映した血液検査所見と考えられた。分娩後起立不能乳牛に関する研究では、乳牛が起立不能状態の存続によって敗血症、エンドトキセミアおよび脱水などを併発しショック状態に陥れば、高リン血症と高窒素血症を伴い易いことが指摘されている⁽¹⁵⁾。本症例においては、分娩時の子宮脱の併発が敗血症の原因となり、高リン血症と高窒素血症の要因になったと考えられた。

分娩後起立不能乳牛における血清AST、LDHおよびCK活性値の増加は、起立不能に伴う骨格筋の圧迫損傷を反映する指標と考えられている^(8, 17, 121, 134)。本章の症例ではこれらの活性値は第1病日から高く、廃用時（第3もしくは4病日）にはさらに増加した。しかし、これらの活性値の上昇が本章の症例における心筋損傷をも反映した所見であったか否かについては、今後の検討が必要である。

心筋細胞における興奮-収縮連関には、細胞外Caが重要な働きを有することが知られている⁽³⁰⁾。すなわち、心筋細胞では細胞外Caの細胞内への流入により細胞内でのCa放出が惹起され筋収縮が起こる機構が備わっており（Ca誘発性Ca遊離、Ca-induced Ca-

release)、細胞外 Ca 濃度の増減が筋収縮の強さに直接的影響を与えることも知られている。イヌを用いた実験的研究では、低 Ca 血症で心室駆出機能が減弱することが報告されており⁽²⁷⁾、ウシおよびヒツジを用いた低 Ca 血症の実験では、心拍出量、1 回拍出量、動脈血圧ならびに各種臓器における血流量の明らかな低下が報告されている^(5,19)。したがって、低 Ca 血症の動物では、血中 Ca 濃度の低下による影響を受けて心臓の収縮機能と全身臓器への血流循環が減弱するものと考えられる。

結論として、本章の症例では分娩前から持続的な心機能の減弱を潜在的素因として有しており、低 Ca 血症の発現に伴って心筋の急性壊死性病変が形成されたと推察された。さらに、心筋における壊死性病変の形成によって、既に低下していた全身の循環動態は低 Ca 血症によりいっそう抑制されたものと考えられた。すなわち、妊娠などに起因し心臓への過度の容量負荷と心筋線維の伸展により心機能が潜在的に減弱した乳牛では、低 Ca 血症の発現に伴ってさらに循環動態が抑制されることにより心筋に急性の壊死性病変が形成され、臨床的にも心循環不全の症状を呈した起立不能に陥ったものと推察された。

6. 小 括

横臥、呻吟・苦悶、頻脈、呼吸困難などの重篤な臨床症状を呈し死産の転帰を迎える分娩後低 Ca 血症乳牛の心筋における急性壊死性病変の形成機序ならびに臨床的意義については不明確な点が多い。本章では、これらの点を明らかにする目的で、類似症例 3 例の心筋を光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いて詳細に観察した。

症例はいずれも分娩後に横臥、呻吟・苦悶、頻脈、呼吸困難などの症状を発し、第3もしくは4病日に剖検された。初診時の血液生化学的検査では、いずれの症例においても低Ca血症(2.8~5.1 mg/dl)が認められた。

心臓の組織学的検索では、いずれの症例においても心臓全域にわたり心筋の急性壊死性病変が散在していた。電子顕微鏡による検索において、壊死心筋細胞ではその細胞構造は崩壊し、筋細線維の断裂、消失もしくは過収縮、ミトコンドリアの腫大ならびに小胞体の拡張などが観察された。また、壊死心筋細胞の周辺の心筋間質ではマクロファージが浸潤し、貪食される壊死心筋細胞も観察された。一方、光学顕微鏡による観察で一見して正常な心筋細胞においても、筋細線維の粗しょう化、Z帯の異常および筋細線維の錯綜などの超微細構造的変化が認められた。

このような一見正常な心筋細胞における筋細線維の超微細構造的変化は、数週間以上にわたり持続した心機能の減弱化を反映した所見と考えられている。したがって、本章における症例では、少なくとも妊娠末期に継続的な心機能の減弱を潜在的に有していたものと考えられた。すなわち、重篤な臨床症状を発し死産の転帰を辿る分娩後低Ca血症乳牛において、妊娠期間中の持続的な心機能減弱が潜在的素因となり、低Ca血症の発現に伴って心筋に壊死性病変が形成されたと考えられた。

第 V 章

心筋病変を有する低 Ca 血症乳牛における 臨床経過中の臨床所見、血液検査成績ならびに 心電図検査所見の特徴

1. はじめに

第 II～IV 章の各章では、分娩前後に起立不能となり、呻吟・苦悶、頻脈、呼吸困難などの症状を呈して死産の転帰を辿る低 Ca 血症乳牛の病理学的特徴と発生状況について検討してきた。その結果、全症例の心筋に急性の壊死性病変が散在することを見出し、これが症例を死産の転帰に導く要因となり得たことを示唆した。しかし、これらの症例では初診時の低 Ca 血症が特徴的な血液生化学的所見であったが、分娩性低 Ca 血症（乳熱、産褥麻痺、分娩性起立不能症）との臨床上的相違点については明確ではなかった。そこで、本章では低 Ca 血症を呈し起立不能後死亡もしくは予後不良となり病理組織学的に心筋の壊死性病変を認めた症例（心筋病変症例）と低 Ca 血症を呈し起立不能後 Ca 剤の治療により起立した症例（乳熱症例）の臨床経過中の臨床所見、血液検査成績ならびに心電図所見について比較した。

2. 材料および方法

1) 供試牛

供試牛は 1994 年 3 月から 1996 年 7 月までの間に岩手県雫石町ならびに岩手町の 6 酪農家にて飼養されていたホルスタイン種乳牛 11 例であり（表 15）、いずれも分娩後起立不能との稟告で専属獣医師の診療を受けたものである。そのうち、心筋病変症例は 5 例（心筋病変症例群）であり、残る 6 例が乳熱症例（乳熱症例群）であった。心筋病変症例群の 5 例中 4 例は臨床症状の改善がみられないため第 5 病日以内に廃用となり、残り 1 例も臨床症状の改善がないまま急性乳房炎を併発し第 4 病日に急死した。これら 5 例について病理学的

表15. 供試症例

症例 No.	症例 ID	牧場 ID	年齢 (歳)	産次	分娩後発症日数	臨床経過日数	転帰	臨床経過中の 併発症
乳熱症例群								
V-1	1550	K	6.0	3	0	2	起立	-
V-2	1517	K	5.3	4	1	1	起立	-
V-3	734	T	8.1	6	1	1	起立	-
V-4	1090	T	3.9	3	5	1	起立	-
V-5	720	T	7.7	6	1	1	起立	-
V-6	44	Ms	5.6	3	1	1	起立	第四胃変位
心筋病変症例群								
V-7	1560	K	5.5	4	1	5	安楽殺	-
V-8	1443	K	7.2	5	0	4	死亡	壊死性乳房炎
V-9	MAS	Im	3.8	3	1	4	安楽殺	-
V-10	TOR	Ht	5.5	4	0	4	安楽殺	-
V-11	IGI	Hk	5.6	3	0	3	安楽殺	子宮脱

検索を行ったところ、心筋の巣状壊死性病変が認められた。また、乳熱症例の症例 V-6 は起立（治癒）後の第四胃変位を罹患し、心筋病変症例の症例 V-11 は初診時に子宮脱を併発した。なお、乳熱症例の 6 例中 5 例（症例 V-1～5）と心筋病変症例 5 例（症例 V-7～11）は、第 III および IV 章で供試した症例である。

2) 症例概要の聴取、臨床観察ならびに採血

各症例群の年齢、産次、起立不能発現から初診までの経過時間および治療内容などに関する臨床概要については畜主への聞き取りと専属獣医師の診療記録をもとに整理した。臨床経過中の臨床観察ならびに採血の初診後の時間は各症例で若干異なることから、乳熱症例群では初診時および第 2 病日（初診後 25.5 ± 3.0 時間）、心筋病変症例群では初診時、第 2 病日（初診後 21.5 ± 4.2 時間）および終診日（初診後 64.6 ± 21.9 時間、廃用症例では剖検直前ならびに死亡症例では死亡前日）の成績について整理した。頸静脈より EDTA 加、ヘパリン加ならびに血清分離剤加真空採血管を用いて採血後、血液材料を冷蔵下で 3 時間以内に本学まで搬入し血液検査を実施した。しかし、各酪農家は本学から遠距離に位置し症例によっては継続的な臨床観察を行うこともあったことから、3 時間以内での血液材料の搬入が不可能な場合もあった。このような場合には、あらかじめ各酪農家の近くの診療所で分離した血清および血漿を冷蔵下で本学まで搬入し、一部の生化学検査のみを実施した。

3) 血液検査項目および測定方法

血液一般検査として、RBC、WBC および Ht を第 III 章と同様の方

法にて測定した。血清生化学的検査として、AST、CK、LDH、FFA、TCHO、TG、BUN、TBIL、TPの各項目を第III章と同様の方法にて測定した。血清 γ -グルタミントランスフェラーゼ(GGT)活性値は、1-グルタミル-p-ニトロアニリド基質法にて測定した。血漿生化学検査として、Ca、Mg、iPおよび α -TOCの濃度は第III章と同様の方法にて測定した。血漿イオン化Ca(Ca^{++})、ナトリウム(Na^+)ならびにカリウム(K^+)濃度は、血液ガス分析装置(288 Blood Gas System, Ciba-Corning Diagnostic Ltd., UK)を用いてイオン電極法にて測定した。

4) 心電図の記録ならびに各成分の測定方法

心筋病変症例3例(症例V-9~11)について第2病日ならびに剖検直前に心電図検査を行った。第2病日における心電図検査は採血および治療の直前に行った。さらに、乳熱症例1例(症例V-6)の第1病日においても、Ca剤による治療後6時間に採血するとともに心電図検査を行った。心電図の記録はA-B誘導法により行い、記録条件は1mV = 1cm、50 mm/secで実施した。電極にはクリップ電極を用い、クリップには電気伝導を改善するために70%アルコールを塗布した。

心電図の測定は、P波(P振幅)、QRS波(QRS振幅)、T波(T振幅)の各棘波の大きさ、P波(P時間)およびQRS(QRS時間)の持続時間、ならびにPR間隔、QoT間隔およびQT間隔について行い、それぞれ連続する6拍の平均値を求めた。また、心拍数の違いによるQoTおよびQT間隔を補正するために、Bazett⁽⁶⁾の式を用いてQoTcおよびQTcを求めた。

いっぽう、分娩後1週間以内に疾病事故の発生がなかった乳牛(分娩後無事故牛)7例についても分娩後1週間に心電図検査を行い、心電図の各成分について測定し比較の参考として用いた。さらに、DeRoth⁽²⁵⁾が報告した健康乳牛におけるA-B誘導法の心電図記録による各成分の測定成績も参考として用いた。

5) 成績の解析方法

結果を評価するにあたり、心筋病変症例群と乳熱症例群の概要に関する比較には各項目について平均値(Mean)と標準偏差(SD)を求めt検定を行った。両症例群の初診までの起立不能持続時間の比較にはMann-Whitney U検定を行った。両症例群の各時期の血液検査成績の比較には各項目についてMeanならびにSDを求めるとともに、一元配置の分散分析とTurkeyの多重比較を行った。ただし、血漿 α -TOC濃度はどちらの症例群においても初診時のみの測定であったので、t検定を用いて比較した。いずれの統計処理においても、危険率が5%未満の場合に有意差があるものと判断した。

3. 成績

1) 症例の概要

表16に示す如く、乳熱症例群ならびに心筋病変症例群の年齢(約6歳)、産次(約4産)および起立不能の分娩後の発症日数(2日以内)は同程度であった。乳熱症例群の6例中5例は初回治療後10時間以内に起立し、そのうち2例は第2病日での診療を必要としなかった。これに対して、心筋病変症例群では第3~5病日になっても起立することはなく、臨床経過日数も乳熱症例群に比べ有意に延長し

表16. 乳熱症例群ならびに心筋病変症例群における臨床概要

	乳熱症例群 n=6	心筋病変症例群 n=5
年齢 (歳)	6.1 ± 1.6	5.5 ± 1.2
産次	4.2 ± 1.5	3.8 ± 0.8
分娩後発症日数	1.5 ± 1.8	0.4 ± 0.5
治療日数	1.2 ± 0.4	4.0 ± 0.7***
初回治療から起立までの時間	8.8 ± 11.0	-
第1病日中のCa剤による治療回数	1.3 ± 0.5	1.4 ± 0.5
Ca剤による総治療回数	1.5 ± 0.5	2.2 ± 0.4*
第1病日中の総Ca投与量(g)	11.7 ± 6.8	16.2 ± 6.4
臨床経過中の総Ca投与量(g)	12.4 ± 6.8	25.2 ± 3.9**

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

た。第1病日は両群ともにボログルコン酸Ca製剤の静脈内投与を主体とした治療を施したが、その治療回数ならびにCaの総投与量は同程度であった。また、第2病日においてCa剤による治療を受けたのは、乳熱症例群では1例、心筋病変症例群では4例であった。したがって、心筋病変症例群における臨床経過中のCa剤による総治療回数とCaの総投与量は乳熱症例群に比べ有意に高い値であった。表17に各症例が起立不能となってから初回治療が行われるまでの時間を示したが、両症例群の間に有意差はなかった。

2) 臨床症状

表18に示す通り、心筋病変症例群では初診時に5例が食欲廃絶で呻吟・苦悶し、4例が横臥し開口呼吸と鼻孔・口腔からの白色泡沫性流涎の噴・流出を特徴とする呼吸困難の症状と39℃以上の直腸温度を示した。また、3例が高度の頻脈（心拍数120回/分以上）を示し、2例が呼吸速拍（呼吸数60回/分以上）を示した。初診時の乳熱症例群において食欲廃絶を示すものは6例中3例で、上記のような心筋病変症例群に多く見られた臨床症状を示したものは多くとも2例までであり、高度の頻脈と呼吸速拍を示す症例はなかった。第2病日には乳熱症例群の症状はすべての症例で明らかに改善していたが、心筋病変症例群では第2病日以降も4もしくは5例の症例が食欲廃絶と呼吸困難症状を示し、2もしくは3例が横臥、呻吟・苦悶、高度の頻脈を呈した。

3) 血液検査所見

血液一般検査（表19）において、初診時の乳熱症例群と心筋病変

表17. 初診時治療前の推定起立不能持続時間

起立不能の持続時間	乳熱症例群 (頭数)	心筋病変症例群 (頭数)
1時間未満	1	2
1時間以上3時間未満	0	2
3時間以上6時間未満	1	0
6時間以上12時間未満	4	1

表18. 乳熱症例群ならびに心筋病変症例群における臨床症状

	乳熱症例群		心筋病変症例群		
	初診時 n=6 頭数	第2病日 n=4 頭数	初診時 n=5 頭数	第2病日 n=5 頭数	終診時 n=5 頭数
食欲:					
正常	1	2	0	0	0
減少	2	2	0	0	0
廃絶	3	0	5	5	5

姿勢:					
起立	0	3	0	0	0
伏臥	4	1	1	2	3
横臥	2	0	4	3	2

意識・態度:					
正常	2	4	0	0	0
過敏・興奮	1	0	0	0	0
沈鬱	2	0	0	2	2
呻吟・苦悶	1	0	5	3	3

発汗:					
なし	5	4	5	5	5
あり	1	0	0	0	0

心音性状:					
正常	3	4	3	3	4
減弱	3	0	2	2	1

心拍リズム:					
規則的	6	4	3	4	4
不規則	0	0	2	1	1

呼吸性状:					
正常	6	4	1	1	0
呼吸困難	0	0	4	4	5

直腸温度 (°C):					
37.6-38.9	5	3	1	3	4
39.0-39.9	1	1	2	2	1
≥40.0	0	0	2	0	0

心拍数(/min):					
80-99	3	4	1	2	2
100-119	2	0	1	1	1
120≤	0	0	3	2	2
NR	1	-	-	-	-

呼吸数(/min):					
10-40	4	4	2	1	3
41-60	1	0	1	4	2
>60	0	0	2	0	0
NR	1	-	-	-	-

NR: カルテ記載もれ.

表19. 血液一般検査成績

単位	乳熱症例群		心筋病変症例群			統計学的 有意差	
	初診時 (a)	第2病日 (b)	初診時 (c)	第2病日 (d)	終診時 (e)		
WBC $\times 10^2/\mu l$	Mean	168.8	101.0	145.3	132.7	54.2	a>e** c>e*
	SD	44.6	46.3	10.1	51.5	16.9	
	n	4	4	3	3	5	
RBC $\times 10^4/\mu l$	Mean	728.0	697.3	715.7	703.7	817.4	NS
	SD	77.2	50.8	139.7	105.6	68.9	
	n	4	4	3	3	5	
Ht %	Mean	38.6	37.3	37.7	37.7	43.0	NS
	SD	6.8	2.9	8.4	7.1	5.9	
	n	5	4	3	3	4	

*p<0.05, **p<0.01, NS:有意差なし.

症例群の WBC は終診時の心筋病変症例群の値に比べ有意に高値を示した。両症例群の RBC ならびに Ht には著変はみられなかった。血清生化学的検査（表 20）では、AST 活性値ならびに TBIL 濃度に有意差が認められた。すなわち、心筋病変症例群の終診時の AST 活性値は心筋病変症例群ならびに乳熱症例群の各初診時および第 2 病日の値に比べ有意に高値であった。心筋病変症例群の終診時の TBIL 濃度は、初診時の値より有意に高値を示した。心筋病変症例群の CK および LDH 活性値は乳熱症例群に比べ高値で臨床経過中に増加する傾向を示した。その他の血清生化学的検査項目では両症例群ともに同様の値を示し、有意な変動は示されなかった。血漿生化学的検査（表 21）では、乳熱症例群ならびに心筋病変症例群における初診時の Ca 濃度はどちらも同程度に低値を示し、第 2 病日以降では両症例群ともに有意に上昇しほぼ正常値に復した。初診時および第 2 病日での両症例群の iP 濃度には有意差はみられなかったが、心筋病変症例群の終診時では乳熱症例群ならびに心筋病変症例群の初診時に比較して有意に高値を示した。その他の血漿生化学的検査項目において両症例群ともに有意な変動はみられなかった。

4) 心電図検査所見

心筋病変症例 3 例（症例 V-9~11）の心電図を図 V-26~28 に示した。症例 V-9 の第 2 病日では高度の頻脈とともに、RR 間隔の明らかな不整、P 波の欠如および f 波の出現が認められ心房細動と診断された（図 26）。終診時（第 4 病日）では RR 間隔はほぼ一定であったが、いっそう高度の頻脈を呈し、P 波の欠如と f 波の出現が認められた。症例 V-10 の第 2 病日および終診時（第 4 病日）では洞性頻脈

表20. 血清生化学的検査成績

項目	単位		乳熱症例群		心筋病変症例群			統計学的 有意差
			初診時 (a)	第2病日 (b)	初診時 (c)	第2病日 (d)	終診時 (e)	
AST	U/l	Mean	109.5	102.3	289.8	1376.0	2036.8	a<e** b<e**
		SD	61.8	11.4	313.2	1351.1	816.3	c<e**
		n	4	4	5	4	5	
CK	U/l	Mean	377.3	671.5	2546.0	4405.3	9089.8	NS
		SD	435.3	456.2	2083.7	2186.6	9040.4	
		n	4	4	4	4	5	
LDH	U/l	Mean	1910.5	2190.3	4246.4	19635.3	19307.8	NS
		SD	313.3	367.1	2626.2	24623.5	12055.0	
		n	4	4	5	3	5	
GGT	U/l	Mean	17.7	14.5	25.3	33.3	42.5	NS
		SD	4.8	4.5	18.9	34.9	41.5	
		n	4	4	4	4	5	
FFA	μEq/l	Mean	1719.0	1776.8	1440.0	1310.5	1477.4	NS
		SD	1007.6	742.2	446.2	185.8	604.5	
		n	4	4	3	4	5	
TCHO	mg/dl	Mean	43.8	43.0	67.6	59.3	65.0	NS
		SD	12.5	17.1	21.8	12.9	12.4	
		n	4	4	5	4	5	
TG	mg/dl	Mean	1.8	1.8	10.9	5.7	7.6	NS
		SD	1.3	1.1	16.1	6.5	4.4	
		n	4	4	4	3	4	
UN	mg/dl	Mean	16.5	13.9	11.6	23.7	18.9	NS
		SD	7.0	5.7	2.4	18.1	17.6	
		n	4	4	5	4	5	
TBIL	mg/dl	Mean	1.3	1.3	0.7	1.0	1.9	c<e*
		SD	0.5	0.4	0.2	0.6	0.8	
		n	4	4	5	4	5	
TP	g/dl	Mean	6.6	6.5	6.7	6.8	6.9	NS
		SD	0.7	0.3	0.7	0.6	0.5	
		n	5	4	4	3	5	

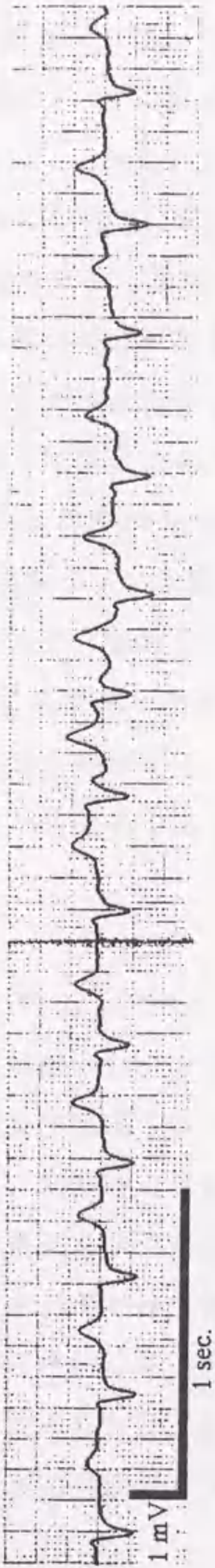
*p<0.05, **p<0.01, NS:有意差なし.

表21. 血漿生化学的検査成績

単位			乳熱症例群		心筋病変症例群			統計学的 有意差
			初診時 (a)	第2病日 (b)	初診時 (c)	第2病日 (d)	終診時 (e)	
Ca	mg/dl	Mean	5.3	8.2	4.5	7.6	9.2	a<e** b>c*
		SD	1.7	1.3	1.3	2.0	1.2	c<d* c<e***
		n	6	4	5	4	5	
iP	mg/dl	Mean	2.0	4.9	2.4	5.2	7.3	a<e** c<e**
		SD	0.9	1.6	1.2	3.5	2.4	
		n	6	4	5	4	4	
Mg	mg/dl	Mean	2.1	1.8	1.9	1.7	1.6	NS
		SD	0.8	0.6	0.6	0.2	0.3	
		n	6	4	4	3	4	
Ca ⁺⁺	mmol/l	Mean	0.74	1.01	ND	ND	1.00	NS
		SD	0.25	0.14			0.15	
		n	4	3			3	
Na ⁺	mmol/l	Mean	144.9	140.5	ND	ND	143.6	NS
		SD	1.6	5.9			0.72	
		n	4	3			3	
K ⁺	mmol/l	Mean	3.67	4.25	ND	ND	3.62	NS
		SD	0.25	0.36			0.67	
		n	4	3			3	
α-TOC	μg/dl	Mean	166.3	ND	102.3	ND	ND	NS
		SD	64.7		21.8			
		n	5		4			

ND:測定せず, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, NS:有意差なし.

A: 第2病日 (心拍数: 約153回/分)



B: 終診時 (心拍数: 約165回)



図26. 症例V-9の心電図

を示し、終診時にはP波がT波の一部に重なる所見が認められた(図27)。症例V-11の第2病日および終診時(第3病日)においても洞性頻脈を示し、P波がT波の一部に重なる所見が認められた(図28)。

各症例の心電図における各成分の測定成績は表22に示した。乳熱症例の症例V-6における成績は、分娩後無事故牛やDeRoth⁽²⁵⁾の報告した健康牛における成績の範囲内であった。心筋病変症例の3例では、PおよびQRS振幅は症例V-6や分娩後無事故牛ならびに健康牛に比較して高い傾向があり、終診時ではいっそう明らかであった。症例V-9および10の第2病日および終診時ではQoT間隔およびQoTcは短縮していたが、症例V-11の第2病日ではQoTcは延長していた。また、症例V-9においてQTcの延長が認められた。

表23に症例V-6および9~11における心電図検査時の血漿Ca濃度を示した。症例V-11の第2病日では血漿Ca濃度は他の症例に比べて明らかに低値であった。

4. 考察

Waage⁽¹³⁴⁾は分娩性低Ca血症乳牛における臨床症状は多様であるとの臨床経験から、分娩性低Ca血症と診断されCa剤による治療を受けた起立不能乳牛約1,000例の臨床症状と転帰について検討した。その結果、初診時より横臥、昏睡、痙攣、頻脈、39℃以上の体温ならびに不整脈を示す症例では死産率が高いことを指摘した。本章の心筋病変症例群では食欲廃絶と呻吟・苦悶が5例中5例に、横臥、呼吸困難の症状ならびに39℃以上の直腸温度が4例に、高度の頻脈は3例に認められた。第2病日以降も、4もしくは5例の症例が食欲廃絶と呼吸困難症状を示し、2もしくは3例が横臥、呻吟・苦悶、高

A: 第2病日 (心拍数: 約135回/分)



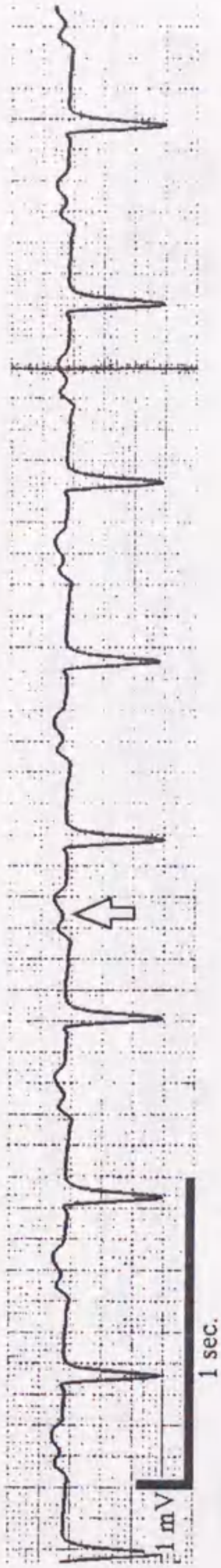
B: 終診時 (心拍数: 約147回/分)



↑: P波とT波の重なり.

図27. 症例V-10の心電図

A: 第2病日 (心拍数: 約105回/分)



B: 終診時 (心拍数: 約118回/分)



↑: P波とT波の重なり.

図28. 症例V-11の心電図

表22. 乳熱症例 (症例V-6) および心筋病変症例 (症例V-9~11) における心電図の測定成績

項目	単位	症例V-6		症例V-9		症例V-10		症例V-11		健康牛 (n=32) ⁽²⁵⁾					
		第1病日	第2病日	第2病日	終診時	第2病日	終診時	第2病日	終診時	最大値	平均値	最小値	最大値	平均値	最小値
P振幅	(mV)	0.14	ND	ND	ND	0.28	0.23	0.22	0.26	0.20	0.16	0.10	0.16	0.11	0
QRS振幅	(mV)	1.02	0.56	1.46	1.40	0.91	1.40	1.57	1.83	0.70	0.96	1.15	0.35	0.74	1.12
T振幅	(mV)	0.72	0.35	0.67	0.95	0.51	0.95	0.20	0.44	0.50	0.41	0.30	1.00	0.45	0.08
P時間	(sec)	0.10	ND	ND	ND	0.10	ND	ND	ND	0.12	0.11	0.08	0.15	0.10	0.08
PQ間隔	(sec)	0.20	ND	ND	ND	0.17	ND	ND	ND	0.25	0.22	0.19	0.25	0.20	0.16
QRS時間	(sec)	0.10	0.10	0.11	0.10	0.09	0.10	0.11	0.11	0.12	0.10	0.10	0.12	0.11	0.09
QoT間隔	(sec)	0.25	0.20	0.15	0.18	0.17	0.18	0.29	0.24	0.30	0.27	0.24	0.42	0.37	0.40
QT間隔	(sec)	0.38	0.29	0.29	ND	0.27	ND	ND	ND	0.42	0.37	0.34	0.46	0.40	0.32
QoTc		0.30	0.31	0.25	0.27	0.25	0.27	0.38	0.33	0.33	0.31	0.28			
QTc		0.46	0.47	0.47	ND	0.41	ND	ND	ND	0.46	0.44	0.39			

ND: 測定できず.

表23. 乳熱症例(症例V-6) および心筋病変症例 (症例V-9~11) における 心電図検査時の血漿Ca濃度

項目	単位	症例V-6		症例V-9		症例V-10		症例V-11	
		第1病日*	第2病日	第1病日	第2病日	第1病日	第2病日	第1病日	第2病日
Ca	mg/dl	7.0	8.7	9.8	9.5	8.3	5.9	7.9	7.9

*: Ca 剤の投与後5時間.

度の頻脈を呈した。これらの臨床症状は Waage⁽¹³⁴⁾が指摘した死産率の高い分娩性低 Ca 血症の症例における症状と一致し、Waage⁽¹³⁴⁾が報告した症例の中には本章の心筋病変症例と同様の症例も存在していたことが推察される。

乳牛の分娩性低 Ca 血症では血中 Ca 濃度の低下に伴って臨床症状も重度となるので^(87,103)、当初は、心筋病変症例群の血漿 Ca 濃度は乳熱症例群に比べ低値であると推測していた。しかし、本研究では初診時の心筋病変症例群と乳熱症例群における血漿 Ca 濃度およびその他の無機物濃度には有意差は認められず、第 2 病日以降も心筋病変症例群の血漿 Ca 濃度は乳熱症例群と同程度の値に回復した。したがって、心筋病変症例群でみられた重篤な臨床症状と死産の転帰には、血漿 Ca 濃度の低下ばかりでなく心筋の壊死性病変による影響も関与していたと考えられた。

本研究の心筋病変症例群と乳熱症例群における年齢（約 6 歳）、産次（約 4 産）ならびに分娩後発症日数（2 日以内）には差はなく、これまでの分娩性低 Ca 血症乳牛に関する報告の所見と一致していた⁽¹⁰³⁾。起立不能となってから初回治療が行われるまでの経過時間、第 1 病日中の Ca 剤による治療回数および Ca 投与量においても、両症例群ともに同程度であった。一般に、分娩性低 Ca 血症により起立不能となってから初回治療が行われるまでの経過時間が長いほど、起立不能状態が存続し易いとされている⁽³²⁾。これは、長時間の起立不能状態により後駆の骨格筋へ二次的な虚血性障害が生じるためとされ⁽⁶⁹⁾、その後の予後判断には血清 CK および LDH 活性値の上昇が指標とされる⁽¹³³⁾。本研究の心筋病変症例群における初診時の血清 CK および LDH 活性値の平均値は乳熱症例群の平均値より高く、臨床

経過に伴って上昇する傾向を示した。しかし、心筋病変症例群では SD も大きく、両症例群間および臨床経過中には有意差は検出されなかった。心筋病変症例群における血清 CK および LDH 活性値が予後判断の指標となり得るか否かについては、今後さらに症例を増やして検討する必要がある。

小岩ら^(74,77)は血液検査成績と剖検所見から、心筋病変症例において脂肪肝や肝機能低下が存在することを指摘した。血清 AST 活性値は肝臓および骨格筋双方の損傷時に上昇することが知られている。本研究では、心筋病変症例群の終診時における血清 AST 活性値は TBIL 濃度とともに初診時よりも有意に上昇しており、肝機能の低下を反映した所見と考えられた。しかし、初診時において心筋病変症例群ならびに乳熱症例群の両測定値には有意差は認められなかった。また、本研究の心筋病変症例の初診時において血清 FFA 値は高値で血清 TCHO 値は低値を示したが、乳熱症例群においてもそれぞれ同程度の値を示した（表 V-6）。したがって、心筋病変症例における肝機能低下は、Jönsson and Perhson⁽⁶⁹⁾ および Waage⁽¹³³⁾ が Ca 剤の治療後も起立不能状態が持続した分娩性低 Ca 血症乳牛について記述した如く、起立不能状態によるストレスや食欲低下に起因して二次的に発現したものと考えられた。

第 III 章において、心筋病変症例 2 例における初診時の血漿 α -TOC 濃度は乳熱症例 4 例に比べ低値を示すことが指摘された。しかし、本章において症例数を増やし検討したところ、初診時における心筋病変症例群（5 例）と乳熱症例群（6 例）の血漿 α -TOC 濃度に有意差は認められなかった。したがって、心筋病変症例における血漿 α -TOC 濃度の低下が心筋病変形成の特異的原因であった可能性

は低いと考えられる。むしろ、第 III 章で考察した如く、分娩に伴う急激な生体内 α -TOC の減少により、不飽和脂肪酸の過酸化作用の過程で生じる活性酸素を捕捉して安定化させる抗酸化作用や脂質の過酸化防止を通じて生体膜の安定化を図る細胞膜の保護機能⁽⁹⁶⁾が減退し、心筋を傷害する要因に対して心筋細胞を保護しきれなかったという間接的関与が推察された。

小岩ら^(74,77)は、心筋病変症例では心電図学的診断として臨床症状の発生初期の症例に高度の洞性頻脈が、末期の症例に房室解離や心房細動が認められると報告している。本章の心筋病変症例では心電図検査において心拍数は高度に増加し、P および QRS 振幅も増大する傾向を示した。心電図学的には、洞性頻脈が 3 例中 2 例（症例 V-10 および 11）に、心房細動が 1 例（症例 V-9）に認められた。一般に、心房細動の発生原因としては心房に器質的な病変のあるもの（原発性）、心室および弁膜に異常があるもの（継発性）および心臓に器質的な障害を伴わないもの（機能的）に分けることができる⁽¹²²⁾。乳牛での心房細動は消化器疾患に併発して発生し易いと報告されており、多くの場合、消化器障害に伴う迷走神経性反射が心房細動の発生原因とされている^(10, 85, 120, 122)。本章の症例 V-9 における心臓の病理組織学的検索では（第 IV 章の症例 IV-1）、心臓全域に巣状の急性心筋壊死が認められ、とくに左心房において広範囲な壊死性病変巣が存在していた。したがって、本症例における心房細動の発生には、心房心筋における広領域の壊死性変化が原発性原因として関与した可能性も十分に考えられた。ところで、症例 V-11 の第 2 病日において QTc は明らかに延長しており、この時の血漿 Ca 濃度は 5.9 mg/dl と他の症例の心電図検査時の値に比べ低値であった。こ

の所見は、血中 Ca 濃度の低下に伴い QoT および QT 間隔 (QoTc および QTc) は延長するとの乳牛に関する心電図学的研究の成績と一致していた^(19, 22, 84, 88)。

本章において、心筋病変症例の臨床経過中の症状は乳熱症例に比較して重篤であり、食欲廃絶、横臥、呻吟・苦悶、開口呼吸と泡沫性流涎を特徴とした呼吸困難症状、高度頻脈ならびに呼吸速拍が特徴的所見として示された。血液生化学的検査では、発症後日数の経過に伴い血清 AST 活性値と TBIL 濃度が上昇する以外に、両者間に明らかな相違点は見出されなかった。心電図検査所見では、心筋病変症例において心拍数の高度の増数がみられ、洞性頻脈もしくは心房細動が確認された。以上の成績より、心筋病変症例における臨床状態が乳熱症例よりも重篤である要因として、低 Ca 血症だけでなく、心臓における急性壊死性病変の関与が改めて示唆された。

5. 小括

本章では、分娩後に横臥・死亡経過を辿り病理組織学的に心筋の壊死性病変を有する低 Ca 血症乳牛 (心筋病変症例) 5 例と分娩後に低 Ca 血症を呈し起立不能後 Ca 剤の治療により起立した症例 (乳熱症例) 6 例の臨床経過中の臨床所見、血液検査成績ならびに心電図検査所見について比較した。

心筋病変症例の臨床症状は乳熱症例に比較して重篤であり、食欲廃絶、横臥、呻吟・苦悶、開口呼吸と泡沫性流涎を特徴とした呼吸困難の症状、高度頻脈ならびに呼吸速拍が特徴的であった。また、これらの臨床症状は Ca 剤の治療後も多くの心筋病変症例で存続していた。血液生化学的検査では、発症後日数の経過に伴い血清 AST

活性値と TBIL 濃度が上昇する以外に、両者間に明らかな相違点は見
出されなかった。とくに、血漿 Ca 濃度の推移においても初診時の心
筋病変症例は乳熱症例と同程度の低値を示し、Ca 剤による治療後は
どちらもほぼ正常範囲内の値に復していた。心電図検査所見では、
心筋病変症例において心拍数の高度の増数がみられ、洞性頻脈もし
くは心房細動が確認された。以上の成績より、心筋病変症例におけ
る臨床症状が乳熱症例よりも重篤である要因として、低 Ca 血症の影
響だけでなく、心臓における急性壊死性病変の関与が示唆された。

1. はじめに

本研究の第 II～V 章において、分娩前後に起立不能となり呻吟・苦悶、頻脈および呼吸困難の症状を呈し死産経過を辿る低 Ca 血症の乳牛の発生状況、臨床概要および病理学的特徴について検討してきた。これらの乳牛では妊娠期間中より潜在的に心機能が減弱しており、低 Ca 血症を契機として心筋の急性壊死性病変が形成され、死産の転帰を辿ると推察された。すなわち、分娩前に潜在的に心機能の低下を有する乳牛では、分娩時の低 Ca 血症の影響を受けて心筋に壊死性病変を生じ易く、心機能不全に陥る可能性も考えられた。一般に、乳牛の分娩性低 Ca 血症では心音の減弱と脈圧の低下といった心循環機能の低下を疑う臨床症状の発現が知られている。乳牛の実験的低 Ca 血症の研究では、心拍出量、1 回拍出量減少および平均動脈血圧は減少し、頸静脈血圧、右心房圧、右心室圧、肺動脈血圧および肺血管抵抗は上昇することが報告されている^(5, 20)。したがって、本研究の対象となった死産の転帰を辿る低 Ca 血症乳牛において心筋に壊死性病変が形成された機序を理解するためには、低 Ca 血症が心臓へ及ぼす影響について検討する必要があると考えられる。そこで、本章では牛と同様の反芻動物である山羊を用いて、実験的低 Ca 血症を誘発し、低 Ca 血症が心臓へ及ぼす影響について血液生化学的、心電図学的ならびに組織学的側面から検討することにした。

ところで、牛などの反芻動物における低 Ca 血症の誘発方法として、2 価の金属イオンと結合する性質を有するキレート剤、disodium ethylenediaminetetraacetic acid (Na_2EDTA) の静脈内投与が広く応用されてきた^(35, 36, 100, 105, 117)。しかし、一部の研究において Na_2EDTA 投与中もしくは投与終了後に動物が死亡することが報告

されており、 Na_2EDTA による毒性作用が原因として疑われている^(35, 105)。実際に、 Na_2EDTA による毒性作用として、腎障害、腸管粘膜の充血、肝臓の変性ならびに血栓性静脈炎などの発生が知られている^(26, 28, 40, 81)。本章の実験に際しては、このような毒性作用の発現は極力避ける必要がある。

一方、血液透析は、人医界において慢性腎不全患者の延命・維持の治療法として広く普及している。本法では血液と透析液は半透膜を境に接し、血液および透析液の溶解成分は分子量が充分小さければ自由に往き来することができるため、血中尿素態窒素の除去や電解質異常の改善に応用されている。したがって、 Ca を含まない透析液の使用により低 Ca 血症を誘発することが可能と考えられる。

Darsinosら⁽²³⁾は、イソプロテレノールによる心毒性が低 Ca 血症により抑制されることを明らかにする目的で、犬を用いて Ca を含まない透析液での血液透析により低 Ca 血症を誘発し、80分間で血中 Ca 濃度が半減したと報告している。

反芻動物における低 Ca 血症の実験モデルとしての血液透析の方法は未だ確立されていないことから、本章では、まず実験Aとして、山羊で血液透析により実験的低 Ca 血症を誘発し血液生化学的評価を行った。次いで、実験Bでは、実験Aにおける血液透析の方法と成績を参考に再び20時間にわたる血液透析によって低 Ca 血症を誘発し、低 Ca 血症が心臓へ及ぼす影響について血液生化学的、心電図学的ならびに組織学的に検討した。

2. 実験A:血液透析法による低 Ca 血症誘発の試み

1) 材料および方法

a) 供試動物および実験概要

供試動物として年齢 2~4 歳、体重 34~47 kg のザーネン種山羊成雌 4 頭 (Goat 1~4) を用いた。これらの山羊は実験前 1 カ月より市販のアルファルファ乾草を給餌し単房内で飼養した。いずれの動物も実験前の臨床観察、心電図検査および血液一般検査において著変は認められなかった。

供試山羊に対して、血液透析のブラッドアクセスとして左頸動脈および左頸静脈内へ直径 14G のカテーテル (Anthon Catheter II-1470P, 東レ, 東京) を 10cm の長さでそれぞれ挿入し、静脈血採血用に直径 18G のカテーテル (Anthon Catheter II-1835P, 東レ, 東京) を右頸静脈内へ 5cm 挿入した。カテーテルは、実験終了時まで、閉塞防止の目的でヘパリン加生理食塩液 (ヘパリン濃度 10 単位/ml) にて 1 日 1 回洗浄・充てんした。

透析開始 2 日前から透析終了翌日まで、供試動物を木製ケージ内に入れ実験に供した。血液透析は、各供試山羊ともカテーテル挿入後 10 日目および 20 日目の 2 回実施した。1 回目には Ca を含有する透析液 (Ca 透析液) による血液透析 (Ca HD) を行ない、これを対照試験とした。2 回目には Ca のみを含有しない透析液 (Ca-free 透析液) による血液透析 (Ca-free HD) を行ない、これを低 Ca 血症誘発試験とした。なお、両試験とも血液透析の時間は 6 時間とした。

b) 血液透析の方法

血液透析には透析面積 0.8cm^2 のダイアライザー (Mera Crystal S・SP 0.8H, 泉工医科工業, 東京) を使用し、専用のチューブにて供試動物にあらかじめ左総頸動脈および左頸静脈内に挿入されてい

たカテーテルと接続した。透析中の血液流量は血液循環ポンプ(Mera Dialife S-7, 泉工医科工業, 東京)を用いて 3 ml/体重 kg/min で維持した。透析液は 100 l 用意し、透析液供給装置(Mera Dialife S-11, 泉工医科工業, 東京)を用いて透析液温度 38℃、流量 500 ml/min で透析回路内を循環させた。図 29 に血液透析回路の模式図を示した。

c) 透析液の組成

Ca 透析液の組成 (mmol/l) は、NaCl:105.00、KCl:4.00、MgCl-6H₂O:1.00、CH₃COONa-3H₂O:12.00、NaHCO₃:25.00、C₆H₁₂O₆:3.50 および CaCl₂:1.25 であり、逆浸透圧水を用いて作製した。Ca-free 透析液は Ca 透析液の CaCl₂のみを含まない溶液であり、他の組成は Ca 透析液と同様であった。表 24 に、双方の透析液において算出される電解質イオン濃度を示した。透析液は、実験直前に 5N HCl を用いて pH7.2~7.4 の範囲内に調整した。この時の透析液の浸透圧は 274~286 mOsm/kg であった。

d) 臨床観察

透析開始直前(0時間)から開始後6時間までの1時間毎に臨床観察を行なった。観察項目は、体温(水銀体温計による直腸温度)、心拍数(心電図により算出)、呼吸数(胸・腹壁の1分間の運動回数)、聴診による心音の減弱の有無、姿勢の状態、沈うつ(沈うつ)の発現、震戦の発現、各種反射の有無(眼瞼、瞳孔、肛門)などである。

e) 採血方法

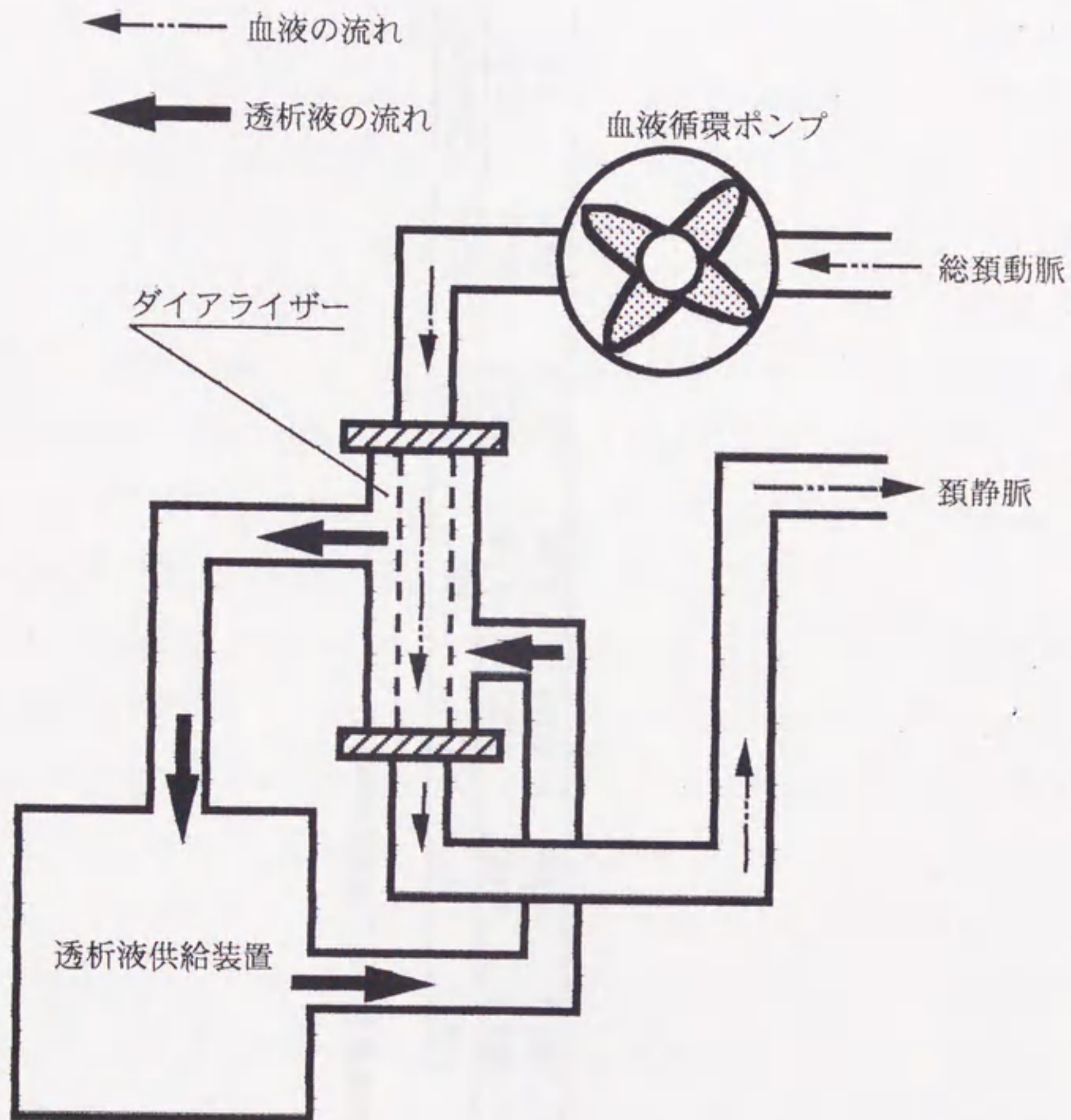


図29. 血液透析回路の模式図

表24. 透析液の電解質イオン濃度(mmol/l)

	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	CH ₃ COO ⁻
Ca透析液	142.0	4.00	1.25	1.00	113.5	25.0	12.0
Ca-free透析液	142.0	4.00	0.00	1.00	111.0	25.0	12.0

採血は0時間と透析開始後1~6時間までの1時間毎とし、ヘパリン添加シリンジを用いて採取した。採取血液の一部は直ちに血漿Caイオン(Ca^{++})、ナトリウムイオン(Na^+)、カリウムイオン(K^+)および重炭酸イオン(HCO_3^-)濃度の測定に供し、残りを遠心(3,000rpm, 15分)して血漿を分離した。血漿は測定時まで -20°C で凍結保存し、Ca、iP、Mgおよびクロールイオン(Cl^-)濃度の測定に供した。

f) 血液生化学的検査

血漿 Ca^{++} 、 Na^+ 、 K^+ および HCO_3^- 濃度は、第V章で使用した血液ガス分析装置を用いて測定した。血漿Ca、MgおよびiP濃度は第III章と同様の方法にて測定した。血漿 Cl^- 濃度は、クロライドメーター(C-80A, 常光, 東京)を用いて測定した。

g) 統計処理

Ca HDおよびCa-free HDにおける各測定項目について、各測定時間ごとに平均値(Mean)および標準偏差(SD)を求めた。それぞれの透析方法における各測定項目の経時的変動は、一元配置分散分析の反復測定法により検定した。有意な変動のあった場合には、透析開始前の値と開始後各時間の値をTurkeyの多重比較法により比較した。なお、有意水準が $p < 0.05$ の場合に有意差があるものと判断した。

2) 成績

a) 臨床症状の変化

Ca HDにより発現した臨床症状として、起立姿勢の動揺、意識の沈鬱ならびに全身の震戦がそれぞれ4例中1例に認められた(表

25)。これらの症状は、透析期間中の1または2時間のみに認められる一過性のものであった。Ca-free HDでは4例中3例の山羊で起立姿勢の動揺がみられ、そのうち1例で寝起きの反復動作を示した(表26)。また、Ca-free HDの全ての山羊で心音の減弱、意識の沈鬱および全身の震戦が血液透析期間中の2時間以上にわたって観察された。瞳孔反射の減弱および皮温の低下はそれぞれ1例ずつに認められた。体温および心拍数は、Ca HDおよびCa-free HDともに透析開始後1時間に最大値を示す傾向があったが、これらの変動には有意性はみられなかった(表27および28)。呼吸数において大きな変動はみられなかった(表29)。

b) 血液生化学的所見

Ca HDおよびCa-free HDにおいて有意な変動を示した血液生化学的項目は、血漿Ca⁺⁺、Ca、iP、MgおよびHCO₃⁻濃度であり、血漿Na⁺、Cl⁻およびK⁺濃度では有意な変動はみられなかった(表30~37)。Ca-free HDにおける血漿Ca⁺⁺およびCa濃度は、透析開始後1時間から有意に急激な減少を示し(0.87 ± 0.06 mmol/dlおよび7.0 ± 0.3 mg/dl)、その後徐々に減少を続け、透析開始後6時間には透析開始前の6割程度の値を示した(0.69 ± 0.12 mg/dlおよび5.9 ± 0.5 mg/dl)。Ca-free HDにおける血漿iP濃度は、透析開始後2時間以降で有意な低値を示し3 mg/dl前後の値で推移した。血漿Mg濃度は、Ca HDおよびCa-free HDの双方において有意な増加がみられた。すなわち、Ca HDおよびCa-free HDの血漿Mg濃度は透析開始前では1.9 ± 0.4および2.2 ± 0.6 mg/dlであったのに対し、Ca HDでは透析開始後2~6時間において2.6 mg/dl前

表25. 各供試山羊におけるCa HD期間中の臨床症状

	Ca HD開始後時間						
	0	1	2	3	4	5	6
Goat 1							
心音の減弱	0	0	0	0	0	0	0
起立の姿勢	0	0	0	0	0	0	0
意識の沈鬱	0	0	0	0	0	0	0
震戦の発現	0	0	0	0	0	0	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0
Goat 2							
心音の減弱	0	0	0	0	0	0	0
起立の姿勢	0	0	0	0	0	0	0
意識の沈鬱	0	0	0	0	1	0	1
震戦の発現	0	0	0	0	0	0	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0
Goat 3							
心音の減弱	0	0	0	0	0	0	0
起立の姿勢	0	0	1	0	0	0	0
意識の沈鬱	0	0	0	0	0	0	0
震戦の発現	0	1	1	0	0	0	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0
Goat 4							
心音の減弱	0	0	0	0	0	0	0
起立の姿勢	0	0	0	0	0	0	0
意識の沈鬱	0	0	0	0	0	0	0
震戦の発現	0	0	0	0	0	0	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0

心音の減弱 : 0:正常, 1:減弱
 起立の姿勢 : 0:駐立, 1:動揺, 2:寝起き反復
 意識の沈鬱 : 0:正常, 1:沈鬱
 震戦の発現 : 0:なし, 1:発現
 各種反射の有無 : 0:正常, 1:減弱
 皮温の低下 : 0:正常, 1:低下

表26. 各供試山羊におけるCa-free HD期間中の臨床症状

Hours after HD	Ca HD開始後時間						
	0	1	2	3	4	5	6
Goat 1							
心音の減弱	0	0	1	1	1	1	1
起立の姿勢	0	0	0	0	0	0	0
意識の沈鬱	0	0	1	1	1	1	1
震戦の発現	0	1	1	0	1	1	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0
Goat 2							
心音の減弱	0	0	0	0	1	1	1
起立の姿勢	0	0	0	0	1	1	2
意識の沈鬱	0	1	1	1	1	1	1
震戦の発現	0	1	0	0	0	0	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	1	1
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0
Goat 3							
心音の減弱	0	0	0	0	0	1	1
起立の姿勢	0	0	0	0	0	0	0
意識の沈鬱	0	0	0	1	1	1	1
震戦の発現	0	1	0	0	0	1	1
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	1	1	0	0	0
Goat 4							
心音の減弱	0	0	0	1	1	1	1
起立の姿勢	0	0	0	1	1	1	1
意識の沈鬱	0	0	1	1	1	1	1
震戦の発現	0	1	1	1	0	0	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0

心音の減弱 : 0:正常, 1:減弱
 起立の姿勢 : 0:駐立, 1:動揺, 2:寝起き反復
 意識の沈鬱 : 0:正常, 1:沈鬱
 震戦の発現 : 0:なし, 1:発現
 各種反射の有無 : 0:正常, 1:減弱
 皮温の低下 : 0:正常, 1:低下

表27. 血液透析開始前後の体温 (°C) の推移

		血液透析開始後時間						
		0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>								
Goat1		39.1	39.2	39.2	39.2	39.0	38.9	38.7
Goat2		39.5	41.6	40.7	39.8	39.4	39.2	39.5
Goat3		38.7	39.1	39.8	39.6	39.4	39.5	39.1
Goat4		38.8	39.1	38.8	39.0	39.0	39.3	39.0
Mean		39.0	39.8	39.6	39.4	39.2	39.2	39.1
SD		0.4	1.2	0.8	0.4	0.2	0.3	0.3
<i>Ca-free HD</i>								
Goat1		38.6	38.9	38.8	38.8	38.6	38.8	38.9
Goat2		39.8	41.1	40.8	40.5	39.9	39.2	38.7
Goat3		39.3	40.1	40.3	40.5	39.6	39.1	39.3
Goat4		39.2	39.5	40.1	38.5	38.2	38.7	38.5
Mean		39.2	39.9	40.0	39.6	39.1	39.0	38.9
SD		0.5	0.9	0.9	1.1	0.8	0.2	0.3

表28. 血液透析開始前後の心拍数 (回/分) の推移

		血液透析開始後時間						
		0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>								
Goat1		87.0	120.0	107.1	120.0	130.4	120.0	122.4
Goat2		109.1	133.3	153.8	153.8	153.8	153.8	153.8
Goat3		133.3	166.7	130.4	139.5	133.3	136.4	142.9
Goat4		96.8	150.0	115.4	125.0	122.4	93.8	130.4
Mean		106.6	142.5	126.7	134.6	135.0	126.0	137.4
SD		20.0	20.3	20.5	15.3	13.4	25.5	13.8
<i>Ca-free HD</i>								
Goat1		130.4	136.4	125.0	115.4	130.4	117.6	105.3
Goat2		136.4	166.7	153.8	139.5	125.0	111.1	136.4
Goat3		90.9	105.3	120.0	125.0	130.4	133.3	133.3
Goat4		80.0	136.4	120.0	120.0	111.1	111.1	115.4
Mean		109.4	136.2	129.7	125.0	124.2	118.3	122.6
SD		28.1	25.1	16.2	10.4	9.1	10.5	14.8

表29. 血液透析開始前後の呼吸数 (回/分) の推移

	血液透析開始後時間						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>							
Goat1	36	28	32	36	20	24	24
Goat2	24	28	28	24	28	24	28
Goat3	20	24	20	20	24	20	24
Goat4	28	24	24	24	32	32	20
Mean	27.0	26.0	26.0	26.0	26.0	25.0	24.0
SD	6.8	2.3	5.2	6.9	5.2	5.0	3.3
<i>Ca-free HD</i>							
Goat1	24	24	20	24	20	24	20
Goat2	20	32	20	20	20	20	16
Goat3	24	28	28	20	20	20	20
Goat4	36	36	30	32	28	24	28
Mean	26.0	30.0	24.5	24.0	22.0	22.0	21.0
SD	6.9	5.2	5.3	5.7	4.0	2.3	5.0

表30. 血液透析開始前後の血漿Ca⁺⁺濃度 (mmol/l)の推移

		血液透析開始後時間						
		0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>								
Goat1	1.19	1.18	1.18	1.18	1.13	1.14	1.19	1.17
Goat2	1.12	1.08	1.10	1.09	1.08	1.12	1.12	1.11
Goat3	1.23	1.14	1.14	1.16	1.12	1.18	1.18	1.20
Goat4	1.06	1.01	1.06	1.04	1.06	1.03	1.03	0.98
Mean	1.15	1.10	1.12	1.11	1.10	1.13	1.12	1.12
SD	0.08	0.07	0.05	0.05	0.04	0.07	0.07	0.10
<i>Ca-free HD</i>								
Goat1	1.18	0.86	0.76	0.79	0.72	0.81	0.86	0.86
Goat2	1.12	0.86	0.76	0.66	0.64	0.65	0.61	0.61
Goat3	1.19	0.94	0.89	0.79	0.74	0.68	0.67	0.67
Goat4	1.05	0.81	0.72	0.65	0.65	0.62	0.61	0.61
Mean	1.14	0.87***	0.78***	0.72***	0.69***	0.69***	0.69***	0.69***
SD	0.06	0.05	0.07	0.08	0.05	0.08	0.08	0.12

0時間の値と比べ有意差あり; ***p<0.001.

表31. 血液透析開始前後の血漿Ca濃度 (mg/dl)の推移

		血液透析開始後時間						
		0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>								
Goat1	9.1	9.2	10.0	9.6	9.5	9.6	9.6	9.2
Goat2	9.3	8.7	9.0	8.8	8.9	8.9	8.9	9.1
Goat3	9.4	8.7	8.4	8.4	8.5	8.5	8.5	8.7
Goat4	8.3	8.0	8.1	8.1	8.1	8.1	8.0	8.1
Mean	9.0	8.7	8.9	8.7	8.8	8.8	8.8	8.8
SD	0.5	0.5	0.8	0.7	0.6	0.7	0.7	0.5
<i>Ca-free HD</i>								
Goat1	10.1	6.8	6.1	6.2	6.1	6.1	6.1	6.6
Goat2	9.0	6.9	6.4	6.2	6.7	6.4	6.4	5.9
Goat3	9.6	7.4	6.8	6.6	6.3	5.8	5.8	5.5
Goat4	8.1	6.7	5.9	5.7	5.5	5.4	5.4	5.4
Mean	9.2	7.0***	6.3***	6.2***	6.2***	5.9***	5.9***	5.9***
SD	0.9	0.3	0.4	0.4	0.5	0.4	0.4	0.5

0時間の値と比べ有意差あり;***p<0.001.

表32. 血液透析開始前後の血漿iP濃度 (mg/dl)の推移

		血液透析開始後時間						
		0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>								
Goat1		6.7	5.4	6.0	6.0	6.1	5.7	5.6
Goat2		3.7	3.4	2.9	3.3	3.5	3.4	3.1
Goat3		4.1	4.7	4.7	4.2	4.3	4.1	3.1
Goat4		4.4	4.3	3.8	3.8	3.9	4.0	4.0
Mean		4.7	4.5	4.4	4.3	4.5	4.3	4.0
SD		1.3	0.8	1.3	1.2	1.1	1.0	1.2
<i>Ca-free HD</i>								
Goat1		8.6	5.7	4.4	4.0	3.7	3.8	3.8
Goat2		3.2	3.1	2.2	2.0	1.5	1.7	1.7
Goat3		4.7	4.8	3.3	3.5	3.0	3.9	3.7
Goat4		5.8	4.6	3.3	2.4	2.4	2.6	3.1
Mean		5.6	4.6	3.3**	3.0***	2.7***	3.0***	3.1***
SD		2.3	1.1	0.9	0.9	0.9	1.0	1.0

0時間の値と比べ有意差あり; **p<0.01, ***p<0.001.

表33. 血液透析開始前後の血漿Mg濃度 (mg/dl)の推移

	血液透析開始後時間						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>							
Goat1	1.7	2.2	2.6	2.6	2.7	2.8	2.6
Goat2	1.7	1.8	2.7	2.7	2.8	2.8	2.5
Goat3	2.5	2.7	2.6	2.8	2.8	2.9	2.8
Goat4	1.7	2.0	2.2	2.3	2.5	2.4	2.5
Mean	1.9	2.2	2.5**	2.6***	2.7***	2.7***	2.6***
SD	0.4	0.4	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1
<i>Ca-free HD</i>							
Goat1	1.6	2.1	2.4	2.6	2.7	2.5	2.6
Goat2	1.9	2.1	2.4	2.8	3.0	3.3	3.4
Goat3	2.9	2.7	2.8	2.9	3.1	3.0	3.0
Goat4	2.3	2.6	2.7	2.9	3.0	3.1	3.3
Mean	2.2	2.4	2.6	2.8*	3.0**	3.0**	3.1***
SD	0.6	0.3	0.2	0.1	0.2	0.3	0.4

0時間の値と比べ有意差あり; *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

表34. 血液透析開始前後の血漿Na⁺濃度 (mmol/l)の推移

		血液透析開始後時間						
		0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>								
Goat1		140.3	143.1	139.4	138.6	139.5	140.0	138.8
Goat2		143.8	142.0	141.2	142.9	143.7	146.7	146.1
Goat3		140.1	136.5	135.3	135.3	137.4	138.8	141.2
Goat4		143.3	139.6	139.6	139.3	139.2	135.5	135.6
Mean		141.9	140.3	138.9	139.0	140.0	140.3	140.4
SD		1.9	2.9	2.5	3.1	2.7	4.7	4.4
<i>Ca-free HD</i>								
Goat1		136.4	135.0	138.5	138.7	137.9	138.1	137.8
Goat2		140.5	141.5	135.5	139.2	139.6	141.6	142.2
Goat3		139.3	141.5	140.9	139.5	139.1	138.9	137.0
Goat4		141.5	142.8	140.7	140.7	140.0	139.0	139.0
Mean		139.4	140.2	138.9	139.5	139.2	139.4	139.0
SD		2.2	3.5	2.5	0.9	0.9	1.5	2.3

表35. 血液透析開始前後の血漿Cl⁻濃度 (mEq/l)の推移

	血液透析開始後時間						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>							
Goat1	114.8	110.0	108.5	103.6	109.3	108.3	107.8
Goat2	106.8	104.6	105.0	108.7	104.9	107.1	104.2
Goat3	115.8	111.9	110.7	104.2	101.7	107.8	115.1
Goat4	107.0	109.2	108.0	108.4	107.3	111.2	107.7
Mean	111.1	108.9	108.1	106.2	105.8	108.6	108.7
SD	4.9	3.1	2.3	2.7	3.3	1.8	4.6
<i>Ca-free HD</i>							
Goat1	108.0	113.8	114.2	112.3	109.1	109.2	112.1
Goat2	105.0	106.1	105.2	102.5	106.9	106.5	109.2
Goat3	113.9	113.0	111.4	113.4	109.2	107.1	107.2
Goat4	107.3	103.8	106.9	108.0	105.1	104.1	103.3
Mean	108.6	109.2	109.4	109.1	107.6	106.7	108.0
SD	3.8	5.0	4.1	4.9	2.0	2.1	3.7

表36. 血液透析開始前後の血漿K⁺濃度 (mmol/l)の推移

	血液透析開始後時間						
	0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>							
Goat1	4.57	4.23	4.47	4.51	4.41	4.59	4.34
Goat2	3.63	3.87	3.41	3.65	3.48	3.86	3.91
Goat3	4.99	4.84	4.75	4.11	4.51	4.53	4.16
Goat4	4.91	5.60	4.74	5.24	5.36	5.82	6.03
Mean	4.53	4.64	4.34	4.38	4.44	4.70	4.61
SD	0.62	0.76	0.64	0.67	0.77	0.82	0.96
<i>Ca-free HD</i>							
Goat1	4.56	3.96	3.51	3.31	3.19	3.10	3.27
Goat2	3.17	4.10	3.18	3.46	2.96	3.21	3.24
Goat3	4.75	4.54	3.47	3.67	3.88	5.18	4.26
Goat4	4.44	4.82	3.82	3.48	3.88	3.83	4.09
Mean	4.23	4.36	3.50	3.48	3.48	3.83	3.72
SD	0.72	0.40	0.26	0.15	0.47	0.96	0.54

表37. 血液透析開始前後の血漿HCO₃⁻濃度 (mmol/l)の推移

		血液透析開始後時間						
		0	1	2	3	4	5	6
<i>Ca HD</i>								
	Goat1	23.4	27.4	26.5	29.3	28.3	27.9	26.4
	Goat2	32.8	29.4	31.6	32.3	32.6	33.8	33.9
	Goat3	24.1	26.5	26.3	27.9	28.6	26.1	26.0
	Goat4	26.9	28.3	27.2	25.4	27.7	28.9	29.8
	Mean	26.8	27.9	27.9	28.7	29.3	29.2	29.0
	SD	4.3	1.2	2.5	2.9	2.2	3.3	3.7
<i>Ca-free HD</i>								
	Goat1	25.3	26.4	25.9	26.0	26.7	27.3	26.3
	Goat2	27.8	26.7	27.5	30.5	31.4	29.7	28.8
	Goat3	22.9	25.1	25.2	28.0	28.7	30.1	29.8
	Goat4	27.4	26.5	27.7	26.6	27.2	29.6	28.9
	Mean	25.9	26.2	26.6	27.8	28.5	29.2*	28.5
	SD	2.3	0.7	1.2	2.0	2.1	1.3	1.5

0時間の値と比べ有意差あり; *p<0.05.

後、Ca-free HD では透析開始後 3~6 時間において 3 mg/dl 前後の値で推移した。Ca-free HD における血漿 HCO₃⁻濃度は、透析開始後 5 時間において有意な高値を示した (29.2 ± 1.3 mmol/l)。

3) 考 察

本実験では、反芻動物における低 Ca 血症の実験モデル作成を目的として山羊に血液透析を行い、その有用性について検討した。山羊の低 Ca 血症の臨床症状は乳熱牛におけるそれと類似し、初期では異常歩行、筋震戦、脚の痙攣が起こり、続いて起立不能となるが、乳牛と比べて起立不能となる割合は少ないと言われている⁽¹⁰⁴⁾。姜⁽⁷¹⁾は 4% Na₂EDTA 溶液を投与した実験的低 Ca 血症の山羊において、血漿 Ca 濃度 6 mg/dl 前後で不安症状などの軽い症状が発現し、4 mg/dl 以下で姿勢崩壊、対光反射、眼瞼反射、角膜反射ならびに肛門反射の減弱ならびに体温の低下がみられ、2 mg/dl 以下では完全に起立不能となり、間代性痙攣を起こし心停止に至ったと報告した。

本章の実験 A において、Ca-free HD のみで血漿 Ca⁺⁺および Ca 濃度は有意に低下し低 Ca 血症の誘発が可能であった。Ca-free HD の期間中に持続的に認められた症状として、心音の減弱、意識の沈鬱、全身の震戦ならびに寝起きの反復、皮温の低下などがみられた。これらの症状は乳牛における乳熱⁽¹⁰⁴⁾あるいは実験的低 Ca 血症^(35, 71, 100, 105, 117)で報告されてきた症状と同様であり、Ca-free HD による血漿 Ca 濃度の低下に伴って生じ得た症状と考えられた。しかし、一過性の全身の震戦、起立姿勢の動揺および沈鬱などの症状は、低 Ca 血症が誘発されない Ca HD を行った山羊の一部でも認められた。ヒトの血液透析患者では、悪心、嘔吐、頭痛、精神的混乱、筋の痙

攣といったいわゆる不均衡症候群^(48, 63, 73)の発現が報告されており、急激に行われる不適切な除水や血液中の電解質のアンバランスなどが原因であると推察されている。今回の Ca HD を施した山羊で認められた一過性の症状も、ヒトの血液透析患者において指摘されている不均衡症候群と同様の現象であると考えられた。

姜⁽⁷¹⁾が山羊に Na₂EDTA 溶液を投与して誘発した実験的低 Ca 血症では、5 mg/dl 前後の血漿 Ca 濃度が 1~3 時間持続した後、血漿 Ca 濃度は再び低下し、2 mg/dl 以下で山羊は死亡した。しかし、本実験の Ca-free HD では透析開始後 1 時間に血漿 Ca⁺⁺および Ca 濃度が 0.87 mmol/l および 7.0 mg/dl まで低下し、その後徐々に下降を続けたが、透析開始後 6 時間で最低値の 0.69 mmol/l および 5.9 mg/dl まで低下する程度であった。生体の血中 Ca 濃度は、主に Ca の腸管や骨からの吸収および腎臓での排泄を調節する上皮小体ホルモン、1,25-dihydroxyvitamin D およびカルシトニンなどの Ca 制御ホルモンの作用により、その恒常性が維持されることが知られている⁽⁵⁹⁾。本実験の Ca-free HD において透析期間中の山羊の Ca 恒常性の機構は十分に機能していたと考えられ、Ca-free HD によってさらに重度の低 Ca 血症を誘発させるには、生体の Ca 恒常性を越えて Ca の除去が可能な血液透析の方法を検討する必要があると考えられた。実際的には、循環血液量や透析液量を増量することなどが考えられる。

乳熱あるいは低 Ca 血症の自然例において、血中 iP 濃度は低下することが報告されている^(99, 104)。この血中 iP 濃度の低下は、初乳中への喪失、分娩前後の不十分なリン摂取、骨からのリン動員不全あるいは低 Ca 血症に伴う血中 PTH 濃度の上昇によるリンの尿中への

排泄によって生じると考えられている^(99, 104)。Na₂EDTA 溶液の静脈内投与による実験的低 Ca 血症の研究においても、自然例と同様に血中 iP 濃度が低下することが報告されている^(36, 100)。本実験では Ca-free HD においてのみ低リン血症が認められ、透析開始後 2~6 時間で血漿 iP 濃度は有意に低下した。したがって、Ca-free HD においても、低 Ca 血症の自然例や Na₂EDTA 溶液による実験的低 Ca 血症の場合と同様に、血漿 Ca 濃度の低下に伴って低リン血症が発現することが確認された。

血中 Mg 濃度は、乳熱あるいは低 Ca 血症の自然例において上昇する傾向があると報告されている^(53, 99, 104)。血中 Mg 濃度が上昇する詳細な機序は不明だが、陽陰イオンバランスを維持するための補償機構や低 Ca 血症による腎血流量の減少に伴って腎を介しての Mg 排泄が減少することに起因するなどの説が挙げられている⁽⁹⁹⁾。一方、実験的低 Ca 血症の研究において、血漿 Mg 濃度は上昇するという成績⁽³⁶⁾と影響を受けないという成績⁽¹⁰⁰⁾の双方が報告されている。本実験では、Ca-free HD と Ca HD の双方においてそれぞれ透析開始後 3~6 時間および 2~6 時間に血漿 Mg 濃度は同程度に有意な増加を示した。したがって、本実験における血漿 Mg 濃度の上昇は、透析液中の Mg 含有濃度が血中濃度を上回ったために生じたと推察され、透析液中の Mg 含有濃度を下げる必要があったと考えられた。

本実験では、低 Ca 血症が誘発された Ca-free HD において、血漿 HCO₃⁻濃度は透析開始後 5 時間で一過性の有意な増加を示した。近年の乳牛の実験的低 Ca 血症に関する研究においても、血中 HCO₃⁻濃度は血液 pH、血中二酸化炭素分圧および base excess とともに増加し、血中 Ca 濃度の低下に伴って代謝性アルカローシスが発現するこ

とが報告されている^(4, 114)。この代謝性アルカローシスの発現機序は明確ではないが、低 Ca 血症による肺での酸素取り込み量の低下と末梢組織における酸素消費量の減少を反映した所見と考えられている^(4, 114)。また、本実験では、Ca-free 透析液は Ca 透析液から酸性化剤の性質を有する CaCl_2 を取り除いた液であったので、このことが低 Ca 血症時の代謝性アルカローシスの発現に関係したことも考えられる。

本実験では、山羊に Ca HD と Ca-free HD の 2 種類の血液透析を行い、低 Ca 血症の誘発を試みた。その結果、Ca-free HD では血漿 Ca^{++} および Ca 濃度は有意に低下し、その臨床症状は低 Ca 血症の自然例および実験例での所見と同様であった。したがって、Ca を含まない透析液による血液透析である Ca-free HD は、山羊における実験的低 Ca 血症の誘発方法として有用であると結論された。しかし、血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の推移と関連なく、血液透析自体に起因したと思われる一過性の症状の発現や血中 Mg 濃度の上昇といった現象が生じたため、透析方法と透析液の組成についてさらに改善する必要があると考えられた。

3. 実験 B: 低 Ca 血症が心臓へ及ぼす影響

1) 材料および方法

a) 供試動物

実験 B では、新たに、年齢 3~4 歳、体重 32~47 kg のザーネン種山羊成雌 4 頭 (表 38) を供試し、実験 A と同様に血液透析開始前 1 カ月より市販のアルファルファ乾草を給餌し単房内で飼養した。いずれの山羊も実験前の臨床観察、心電図検査および血液一般検査に

表38. 供試山羊の概要

山羊ID	年齢 (歳)	体重(kg)	血液透析の種類
Cont	4	41	Ca HD
Exp 1	4	47	Ca-free HD
Exp 2	3	32	Ca-free HD
Exp 3	3	32	Ca-free HD

において著変は認められなかった。供試動物は、透析開始 2 日前より木製ケージ内へ移動し飼養した。血液透析開始 12 時間前の供試動物には、血液透析のブラッドアクセスとして左頸動脈および左頸静脈内へ実験 A で使用したものと同型のカテーテルを約 10cm の長さで近位側に向けて挿入した。静脈血採血用に実験 A で使用したものと同型のカテーテルを約 5cm の長さで近位側に向けて挿入した。1 頭の山羊 (Cont) に対照試験として 20 時間にわたる Ca HD を行い、残り 3 頭の山羊 (Exp 1~3) に 20 時間の Ca-free HD を行い低 Ca 血症を誘発した。

b) 血液透析方法

血液透析の方法の詳細は、実験 A とほぼ同様である。ただし、本実験における血液透析中の血液流量と透析液量は実験 A より増加し、それぞれ 4 ml/体重 kg/min および 200 l とした。

c) 透析液の組成

実験 B で用いた Ca 透析液の組成 (mmol/l) は、NaCl:105.00、KCl:4.00、MgCl-6H₂O:0.90、CH₃COONa-3H₂O:13.00、NaHCO₃:24.00、C₆H₁₂O₆:3.50 および CaCl₂:1.25 である。Ca-free 透析液は Ca HD の透析液に CaCl₂ のみを含まない溶液であり、他の組成は Ca 透析と同様であった。表 39 に、双方の透析液において算出される電解質イオン濃度を示した。使用直前までの透析液の処理方法は実験 A と同様である。

d) 臨床観察

表39. 透析液の電解質イオン濃度(mmol/l)

	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	CH ₃ COO ⁻
Ca透析液	142.0	4.00	1.25	0.90	113.3	24.0	13.0
Ca-free透析液	142.0	4.00	0.00	0.90	110.8	24.0	13.0

臨床観察は、透析開始直前（0時間）から開始後20時間までの2時間毎に行った。臨床観察の項目は実験Aと同様である。

e) 採血および血液生化学的検査の方法

(i) 採血方法

採血は、0時間と透析開始後2～20時間までの2時間毎に行った。血液材料の採取は、実験Aと同様に左総頸静脈に留置してあるカテーテルから行った。

(ii) 血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の測定

血漿中の Ca^{++} および Ca 濃度の測定は、実験Aにおける測定と同様の方法で行った。

(iii) 血漿 CK および LDH 活性値と各 isoenzyme の分離・測定

血漿 CK および LDH 活性値の測定は、第III章で示した方法と同様である。血漿 CK および LDH isoenzyme の測定は、0、10 および 20 時間に採取した血液材料について行った。血漿 CK isoenzyme の分離には、トリス・バルビタール緩衝液 (Extra HR buffer, Helena Laboratories, USA) に浸したセルロース・アセテート (セ・ア) 膜 (Titan III Iso-Flur, Helena Laboratories, USA) を使用した。セ・ア膜に血漿を約 0.5-2 μ l 塗布し、4℃、300V で10分間電気泳動した。泳動後のセ・ア膜の全面に CK 用蛍光発色試薬

(Titan N-CK, Helena Laboratories, USA) を塗布し、37℃で25分間反応させた。その後、セ・ア膜をヘアドライヤーにて乾燥させ、Computer Soft EZ Scan Version 1.52 (Helena Laboratories,

Texas, USA)を用いて励起波長 366nm で蛍光測定した。血漿 LDH isoenzyme の分離には、上記トリス・バルピタール緩衝液に浸したセ・ア膜 (Titan III Lipo, Helena Laboratories, USA) を使用した。セ・ア膜に血漿を約 0.5-2 μ l 塗布し、4 $^{\circ}$ C、180V で 25 分間電気泳動した。泳動後のセ・ア膜の全面に LDH 用発色試薬 (Titan LDH isoenzyme reagent, Helena Laboratories, USA) を塗布し、37 $^{\circ}$ C で 25 分間反応させた。次いで、セ・ア膜を反応停止液である 5% 酢酸液に 10 分間浸漬した後、余分な酢酸液を除去し、直ちに Computer Soft EZ Scan Version 1.52 にて励起波長 570 nm で測定した。

iv) 山羊の主要臓器中 CK および LDH 活性値と isoenzyme の分離

山羊の主要臓器中の CK および LDH isoenzyme のパターンを知る目的で、新たに、臨床観察、心電図記録および血液一般検査において著変を認めなかった山羊 2 頭 (年齢 1 歳, 雄雌各 1 頭) を用いて臓器中 CK および LDH isoenzyme について検討した。山羊をペントバルピタール 25 mg/kg の静脈内投与後に放血殺し、直ちに心臓、肝臓、脾臓、腎臓、肺および大腿四頭筋の一部を摘出した。約 1g の各臓器の組織片に上述のトリス・バルピタール緩衝液を約 10ml 添加した。次いで、解剖鋏でこれらの臓器を細片化し、ホモジナイザーを用いて氷水温中で組織を破壊後、4 $^{\circ}$ C、13000rpm で 30 分間遠心した。得られた遠心上清から CK および LDH 活性値を測定するとともに、280 (A_{280}) および 260 (A_{260}) nm の吸光度を求め上清中のタンパク質量を算出した ($\text{タンパク質量 g/l} = 1.45 A_{280} - 0.74 A_{260}$)⁽⁵⁰⁾。各臓器中における CK および LDH 活性値はホモジネート液中の

タンパク質 1g 当たりの活性値として示した。さらに、上記ホモジネート液上清中の CK および LDH 活性値をトリス塩酸緩衝液で約 100~300 U に調整し電気泳動用試料として用いた^(56, 70)。各臓器中の CK および LDH isoenzyme 分離のための以後の手順は、血漿 CK および LDH の isoenzyme の分離方法と同様である。なお、CK-isoenzyme の分離は心臓と大腿四頭筋についてのみ、LDH-isoenzyme の分離は上記の全ての臓器について行った。

f) 心電図記録および測定方法

0 時間と透析開始後 2~20 時間までの 2 時間毎に、約 1 分間の心電図記録を行った。心電図の記録は A-B 誘導法により行い、記録条件は 1mV = 1cm、25 または 50 mm/sec で実施した。電極にはクリップ電極を用い、クリップには電気伝導を改善するために 70% アルコールを塗布した。

心電図の測定は、P 波 (P 振幅)、QRS 波 (QRS 振幅) および T 波 (T 振幅) の各棘波の振幅の大きさと PR 間隔、QoT 間隔および QT 間隔について行い、それぞれ連続する 6 拍の平均値を求めた。また、心拍数の違いによる QoT および QT 間隔の変動を補正するために、Bazett⁽⁶⁾ の式を用いて QoTc および QTc を求めた。

g) 心臓の組織学的検索

透析開始後 20 時間で血液透析を終了し、供試山羊にペントバルビタール 25 mg/kg の静脈内注射による全身麻酔を施し放血殺した。放血殺後すみやかに心臓を摘出し、心室に数箇所を横断切断面を入れ、10% 中性緩衝ホルマリン溶液に 24 時間浸漬した。その後、心臓

の心室領域を心尖から心底まで4等分に横断し、心底側より光学顕微鏡観察ができるような適度の厚さに心筋組織片をトリミングし、再び10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定した。両心房は4等分に縦断し、洞下室間溝側より観察できるよう心筋組織片をトリミングした。その後、定法に従いパラフィン切片を作製し、HE染色ならびに hematoxylin-basic fuchsin-picric acid (HBFP) 染色⁽⁸²⁾を施した。

h) 測定成績の評価方法

各供試山羊における透析期間中の体温、呼吸数、心拍数、血液生化学的所見ならびに心電図の各成分の測定成績などの数値は個体ごとに多少異なっていた。したがって、各個体における血液透析期間中の測定成績は、0時間（透析開始直前）の値に対する増減値として示し、その推移を比較・検討した。

2) 成績

a) 臨床症状の変化

各供試山羊における透析期間中の臨床症状の概要を表40に示した。Ca HDを行った山羊 Cont において透析開始後16時間に一過性の沈鬱が認められたが、それ以外の臨床症状に著変は現れなかった。Ca-free HDを行った山羊 Exp 1 および 2 では、はじめに意識の沈鬱が現れ、次いで起立姿勢の動揺、心音ならびに肛門反射の減弱などが発現した。さらに、一過性もしくは間欠的な全身の震戦も認められた。山羊 Exp 3 では山羊 Exp 1 および 2 よりもさらに重篤な臨床症状を呈した。すなわち、Ca-free HD 開始後2時間以降より意

表40. 各供試山羊における透析期間中の臨床症状

	透析開始後時間										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
山羊Cont											
心音の減弱	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
起立の姿勢	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
意識の沈鬱・昏睡	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
震戦の発現	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
山羊Exp 1											
心音の減弱	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0
起立の姿勢	0	0	0	2	1	1	1	1	1	1	1
意識の沈鬱・昏睡	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
震戦の発現	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
皮温の低下	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
山羊Exp 2											
心音の減弱	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
起立の姿勢	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
意識の沈鬱・昏睡	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
震戦の発現	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肛門反射の有無	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
皮温の低下	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
山羊Exp 3											
心音の減弱	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
起立の姿勢	0	2	2	2	2	2	3	3	2	1	1
意識の沈鬱・昏睡	0	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1
震戦の発現	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
眼瞼反射の有無	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
瞳孔反射の有無	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
肛門反射の有無	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
皮温の低下	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1

心音の減弱：0:正常, 1:減弱
 起立の姿勢：0:駐立, 1:動揺, 2:寝起き反復, 3:座臥・起立不能
 意識の沈鬱・昏睡：0:正常, 1:沈鬱, 2:昏睡
 震戦の発現：0:なし, 1:発現
 各種反射の有無：0:正常, 1:減弱
 皮温の低下：0:正常, 1:低下

識の沈鬱と寝起きの反復を示すようになり、心音の減弱、全身の震戦および皮温の低下も同時に発現した。また、透析開始後8時間からは各種反射も減弱し、12-16時間の間で一過性に座臥し起立不能となった。

図30に各供試山羊における透析期間中の体温、心拍数および呼吸数の推移を示した。山羊Contの体温は0時間の値(39.0℃)の1℃以内の範囲で増減したが、山羊Exp1および2では0時間の値(38.7および39.4℃)より1℃以上高い体温で推移する傾向を示し、血液透析の終盤では40℃以上の高体温を示した。山羊Exp3では終始0時間の値(39.1℃)より1~2℃低い体温で推移する傾向があった。心拍数は、Ca HDを行った山羊Contでは0時間の値(90.9回/分)の-10~+20回/分の範囲内で増減したが、Ca-free HDを行った山羊Exp1~3では0時間の値(104.3、106.2および112.1回/分)より20回/分以上高い心拍数で推移した。特に、山羊Exp2では透析開始後4時間以降で40回/分以上も増加し150回/分以上の頻脈を呈した。山羊Contにおける呼吸数は0時間の値(16回/分)と同等か4~8回/分増加し、山羊Exp1~3においては0時間の値(24、28および20回/分)と同等か4~12回/分の不規則な増減を示した。いずれの供試山羊においても、呼吸数は16~38回/分であり正常範囲内での変動であった。

b) 血液生化学的所見

(i) 血漿Ca⁺⁺およびCa濃度の推移

血液透析開始後の血漿Ca⁺⁺およびCa濃度の推移は、各供試山羊ごとに一致した変動様式を示した(図31)。すなわち、Ca HDを行っ

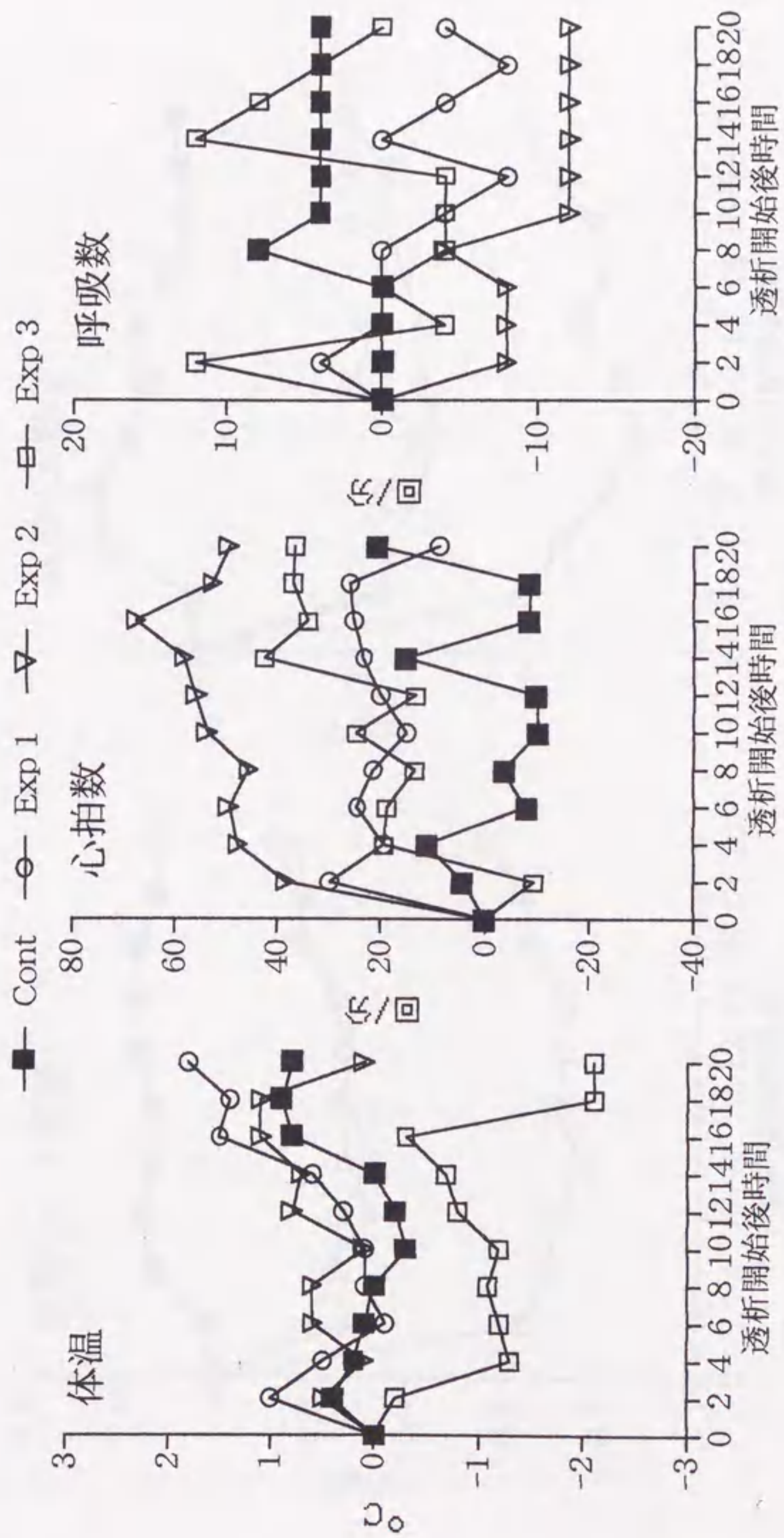


図30. 各供試山羊における透析開始後の体温、心拍数および呼吸数の推移（0時間の値に対する増減値）。

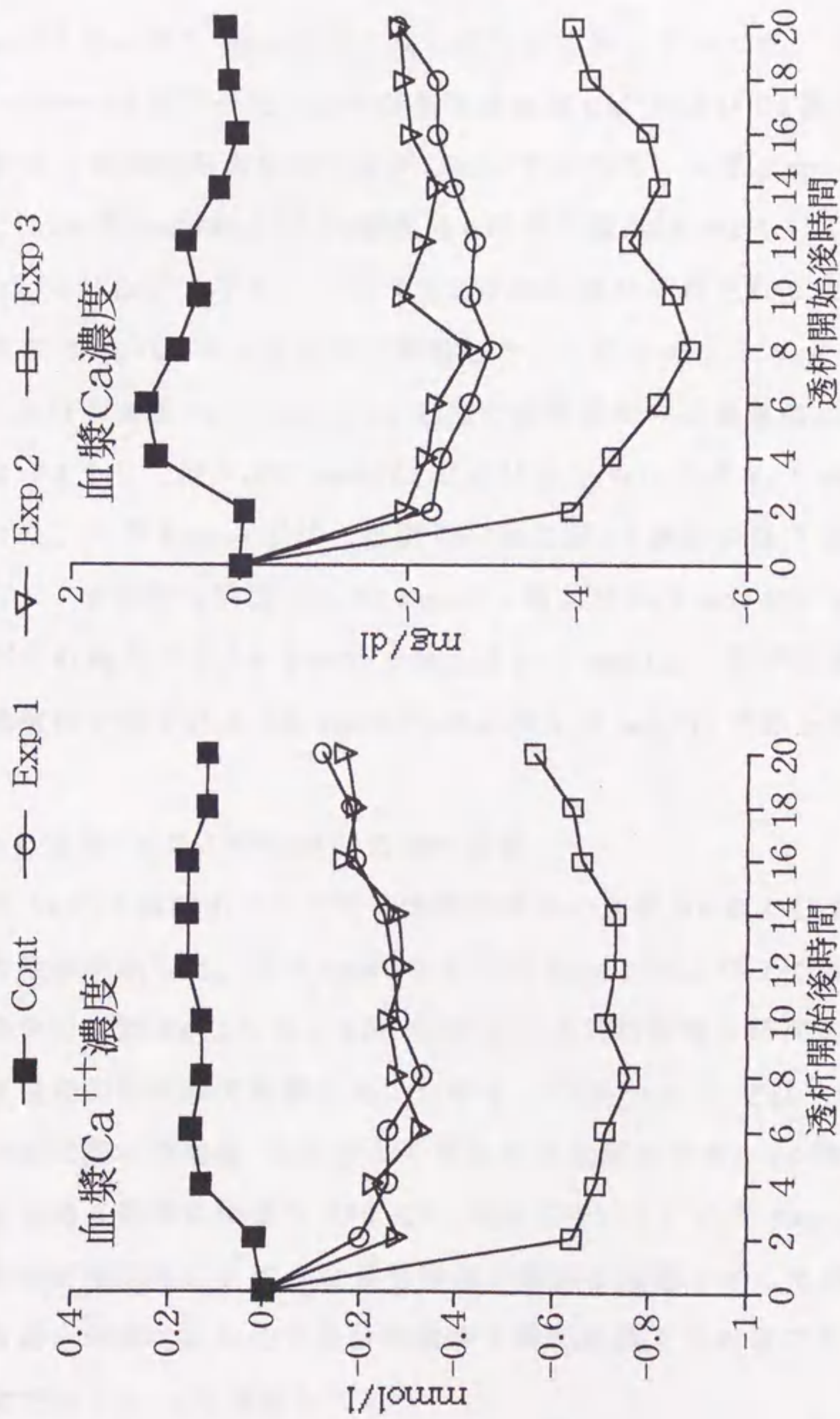


図31. 各供試山羊における透析開始後の血漿Ca⁺⁺およびCa濃度の推移 (0時間の値に対する増減値) .

た山羊 Cont における血漿 Ca^{++} および Ca 濃度はほぼ一定に推移し、0 時間の濃度 (0.88 mmol/l および 7.2 mg/dl) よりそれぞれ 0.16 mmol/l および 1 mg/dl ほど高い値を示す程度であった。一方、Ca-free HD を行った 3 頭の山羊では血漿 Ca^{++} および Ca 濃度は透析開始後 2 時間から明らかに減少した。すなわち、山羊 Exp 1 および 2 では、血漿 Ca^{++} および Ca 濃度は 0 時間の濃度 (1.02 もしくは 0.94 mmol/l および 8.7 もしくは 7.5 mg/dl) よりそれぞれ 0.2 mmol/l および 2 mg/dl 以上低い値で推移した。これらの山羊 Exp 1 および 2 における血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の透析期間中の最低値はそれぞれ 0.69 もしくは 0.61 mmol/l および 5.7 もしくは 4.7 mg/dl であった。山羊 Exp 3 では、血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の低下はさらに著しく、0 時間の濃度 (1.22 mmol/l および 9.1 mg/dl) に比べてそれぞれ最大で 0.76 mmol/l および 5.3 mg/dl の低下が認められ、最低値はそれぞれ 0.46 mmol/l および 3.8 mg/dl であった。

(ii) 血漿 CK および LDH 活性値の推移

図 32 に各供試山羊における透析期間中の血漿 CK および LDH 活性値の推移を示した。山羊 Cont ならびに Exp 1 および 2 では、透析期間中の血漿 ck ならびに LDH 活性値は透析開始後 0 時間の値とほぼ同程度の活性値で推移した。しかし、山羊 Exp 3 では、血漿 CK 活性値は透析開始後 12 時間より明らかな上昇を認め、20 時間では透析開始 0 時間の値より 930 U/l 増加していた。山羊 Exp 3 における透析期間中の血漿 LDH 活性値は不規則な推移を示したが、いずれの採血時間においても透析開始後 0 時間の値より高値であり、20 時間では 312 U/l 増加していた。

■— Cont ○— Exp 1 ▽— Exp 2 □— Exp 3

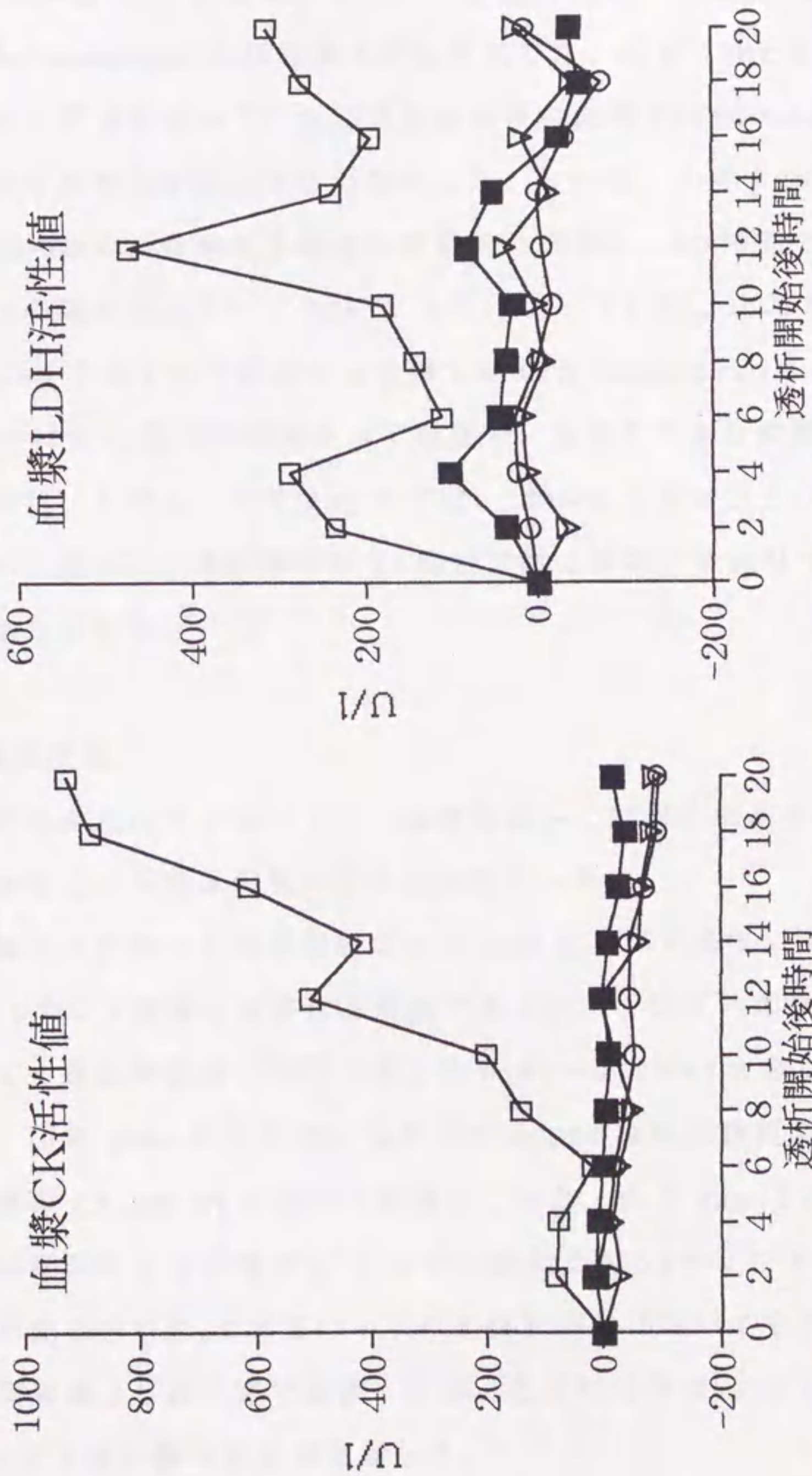


図32. 各供試山羊における透析開始後の血漿CKおよびLDH活性値の推移 (0時間の値に対する増減値)

(iii) 血漿中の CK および LDH の各 isoenzyme 活性値の変動

図 33 および 34 に各供試山羊における透析期間中の血漿 CK および LDH の各 isoenzyme の活性値の変動を示した。山羊 Cont ならびに Exp 1 および 2 において、血液透析開始後の血漿 CK-isoenzyme の各活性値に大きな変動はみられなかった。しかし、山羊 Exp 3 において、CK-MM の活性値が血液透析開始後に増加し、20 時間では透析開始後 0 時間の値に比べて 886.3 U/l 増加していた。山羊 Cont ならびに Exp 1 および 2 における血漿 LDH の各 isoenzyme の活性値は、30~40 U/l 程度の増減を示す程度で、あまり大きな変動はみられなかった。しかし、山羊 Exp 3 では、LDH-3,4 および 5 の 3 分画が明らかに増加し、透析開始後 20 時間では 0 時間の値より 100 U/l 前後増加していた。

c) 心電図所見

いずれの供試山羊においても、透析期間中に刺激生成異常や刺激伝導異常などの不整脈所見は認められなかった。

各供試山羊における透析期間中の P、QRS および T 振幅の推移は図 35 に示した。P 振幅の推移は不規則であったが、いずれの供試山羊においても透析開始後 0 時間の値より 0.01~0.09 mV 大きな値で推移した。山羊 Cont および Exp 1 における QRS 振幅は透析開始後 0 時間の値の ± 0.08 mV の範囲で増減していた。山羊 Exp 2 および 3 では QRS 振幅は大きく増加し、それぞれ最大で 0.53 および 0.58 sec の増加が認められた。T 振幅はいずれの供試山羊においても透析開始後 0 時間の値より高い値で推移したが、とくに山羊 Exp 3 では終始 0.5 mV 以上高い値での推移を示した。

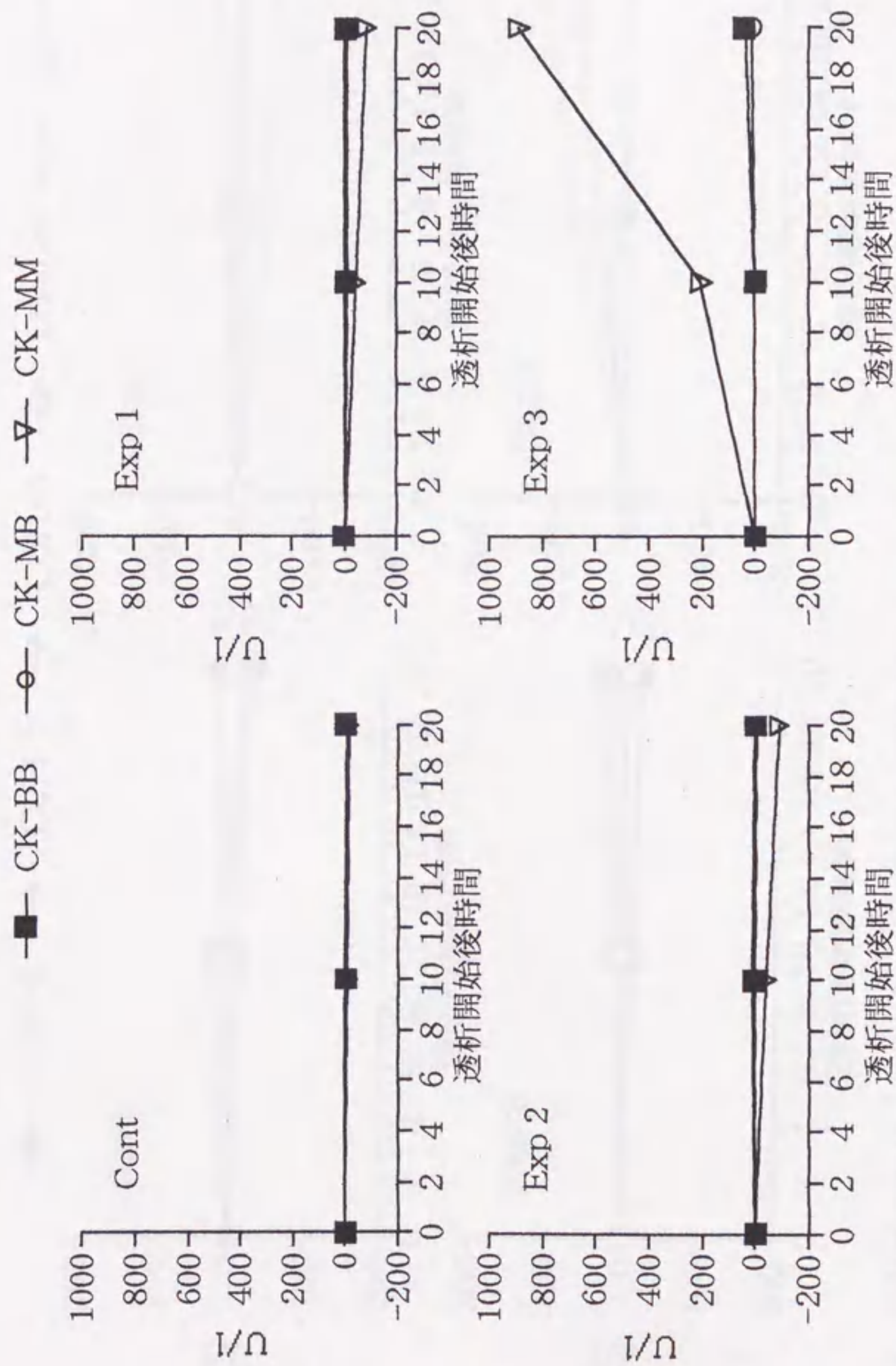


図33. 各供試山羊における透析開始後の血漿CK-isoenzymeの変化(0時間の値に対する増減値)。

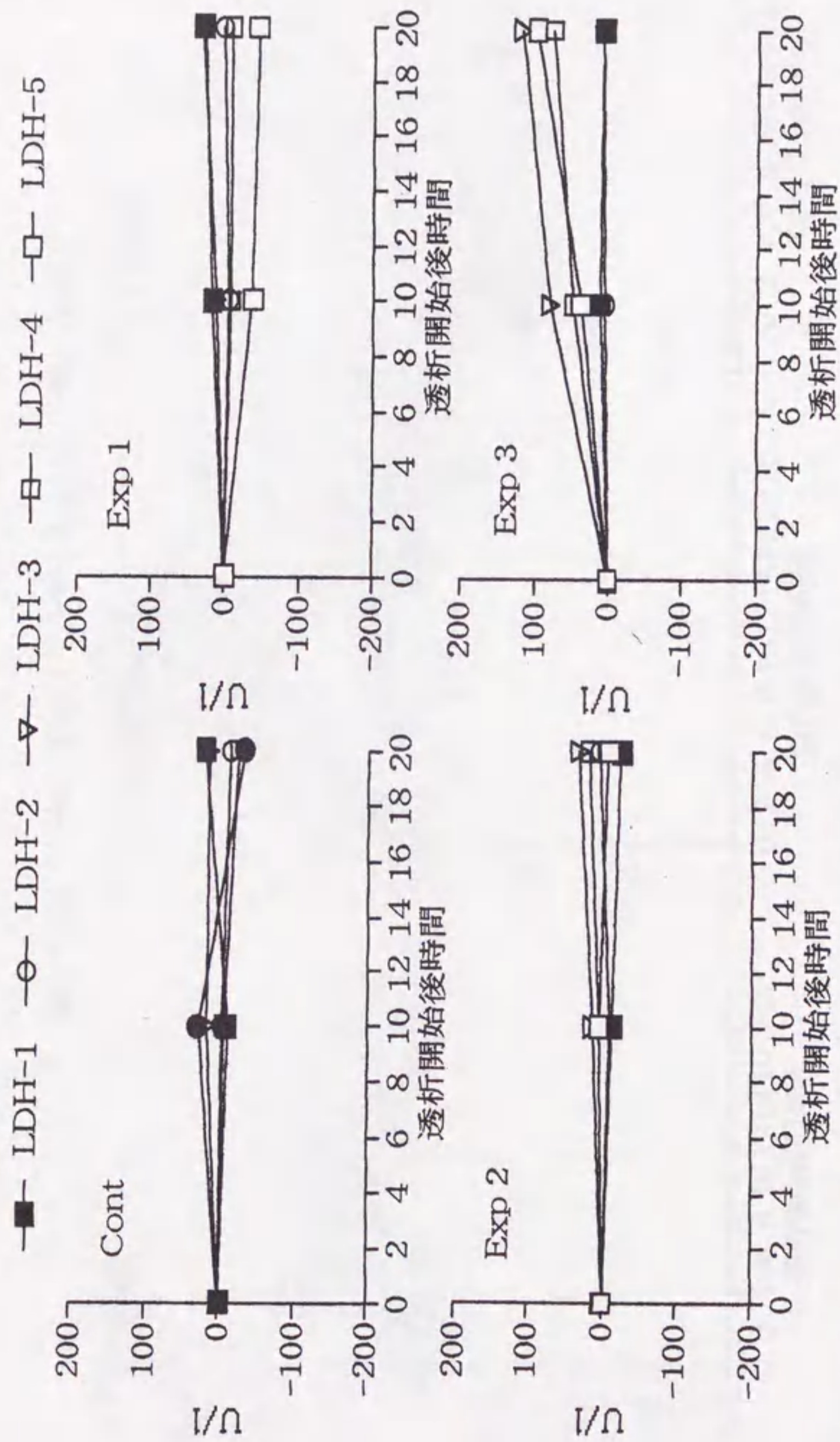


図34. 各供試山羊における透析開始後の血漿LDH-isoenzymeの変化 (0時間の値に対する増減値) .

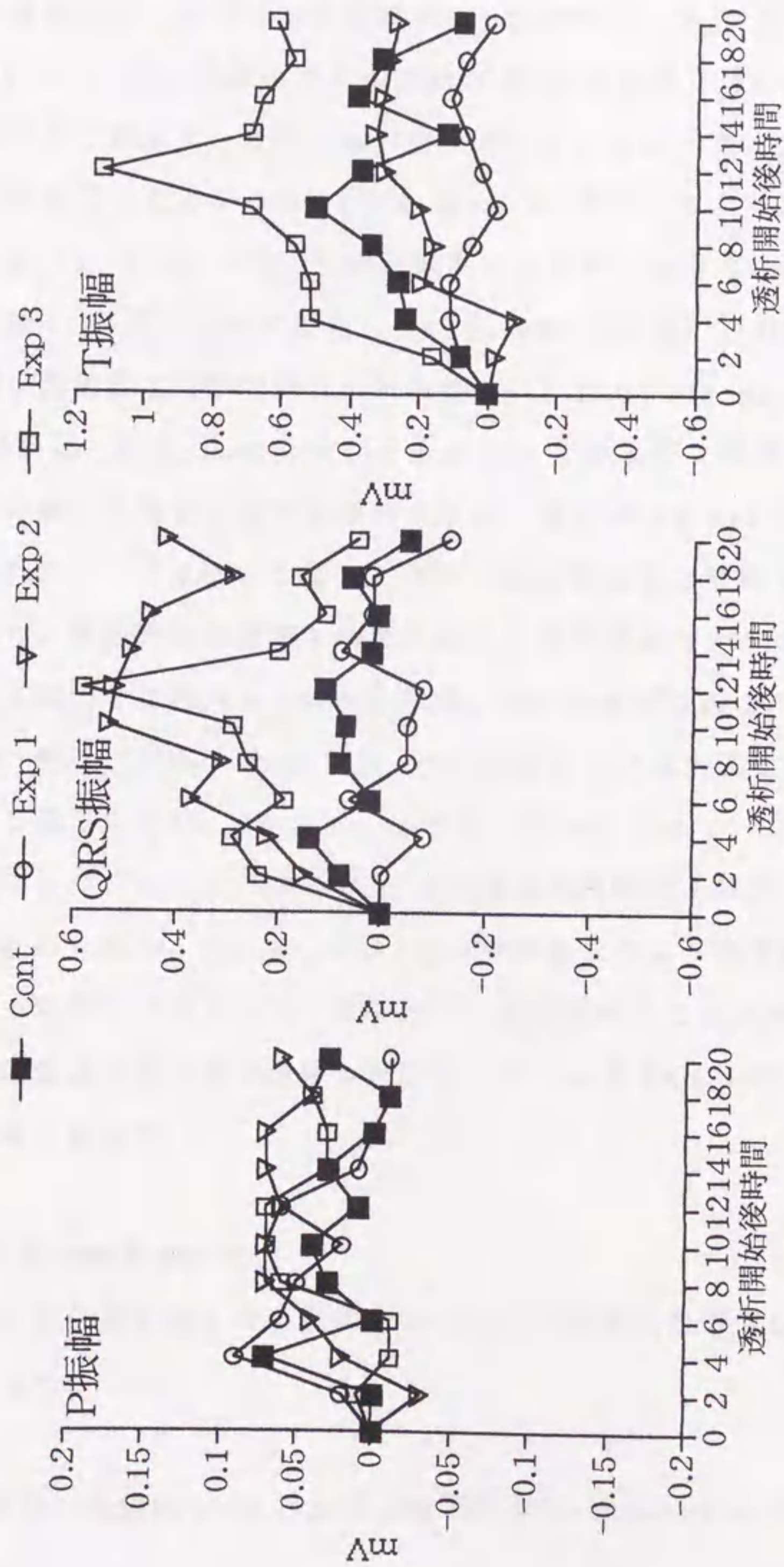


図35. 各供試山羊における透析開始後のP、QRSおよびT振幅の推移 (0時間の値に対する増減値) .

各供試山羊における透析期間中の PQ、QoT および QT 間隔の推移は図 36 に示した。供試山羊 4 頭における PQ 間隔は 0.03 sec までの増減を示す程度で、あまり大きな変動を示さなかった。QoT 間隔は、Ca HD を行った山羊 Cont と Ca-free HD を行った山羊 Exp 2 では最大 0.05~0.06 sec の短縮傾向を示したが、山羊 Exp 2 では透析開始後 10 時間で軽度に延長し (0.03 sec の延長)、山羊 Exp 3 では透析開始後 2 時間で明らかな延長を示した (0.08 sec の延長)。QT 間隔は、山羊 Cont ならびに山羊 Exp 1 および 2 で透析開始後 0 時間の値と同等か短縮する傾向を示し、最大 0.05 sec の短縮が認められた。山羊 Exp 3 では、QT 間隔は透析開始後 2 時間で 0.09 sec 延長し、終始透析開始後 0 時間の値より長い傾向を示した。

各供試山羊における QoTc ならびに QTc の成績は図 37 に示した。Ca HD を行った山羊 Cont では QoTc は明らかに透析開始後 0 時間の値より低下したが、Ca-free HD を行った山羊 Exp 1~3 では高い値で推移した。とくに、山羊 Exp 3 では透析開始後 2 時間で顕著な増加が認められた。QTc は、山羊 Cont ではあまり大きな変動はみられなかったが、山羊 Exp 1~3 において透析期間中では透析開始後 0 時間の値より高い値で推移した。とくに、山羊 Exp 3 における増加は顕著であった。

d) 心筋の組織学的所見

いずれの供試山羊の心臓においても、組織学的な著変は認められなかった。

e) 山羊の各臓器中 CK および LDH 活性値と isoenzyme パターン

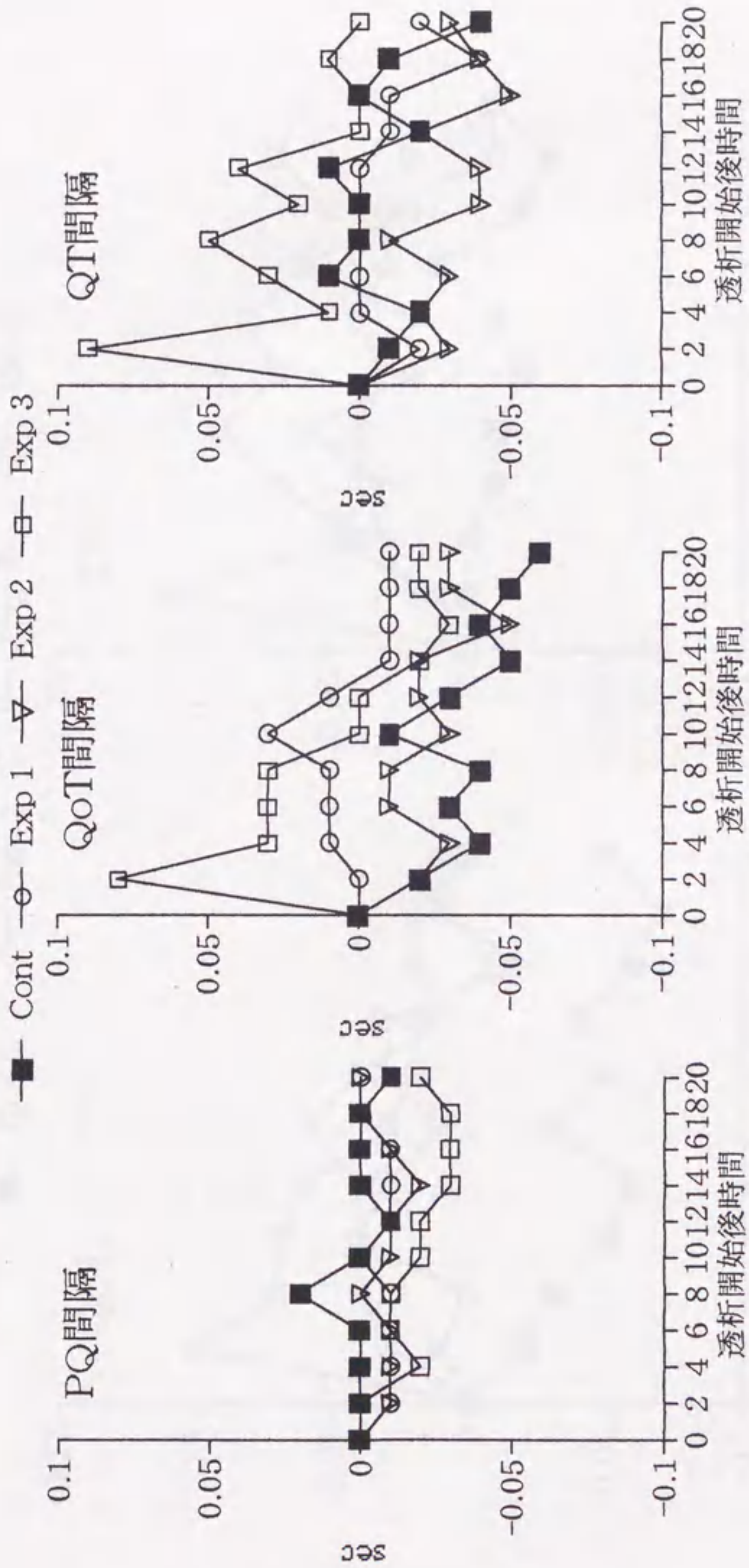


図36. 各供試山羊における透析開始後のPQ、QTおよびQT間隔の推移（0時間の値に対する増減値）。

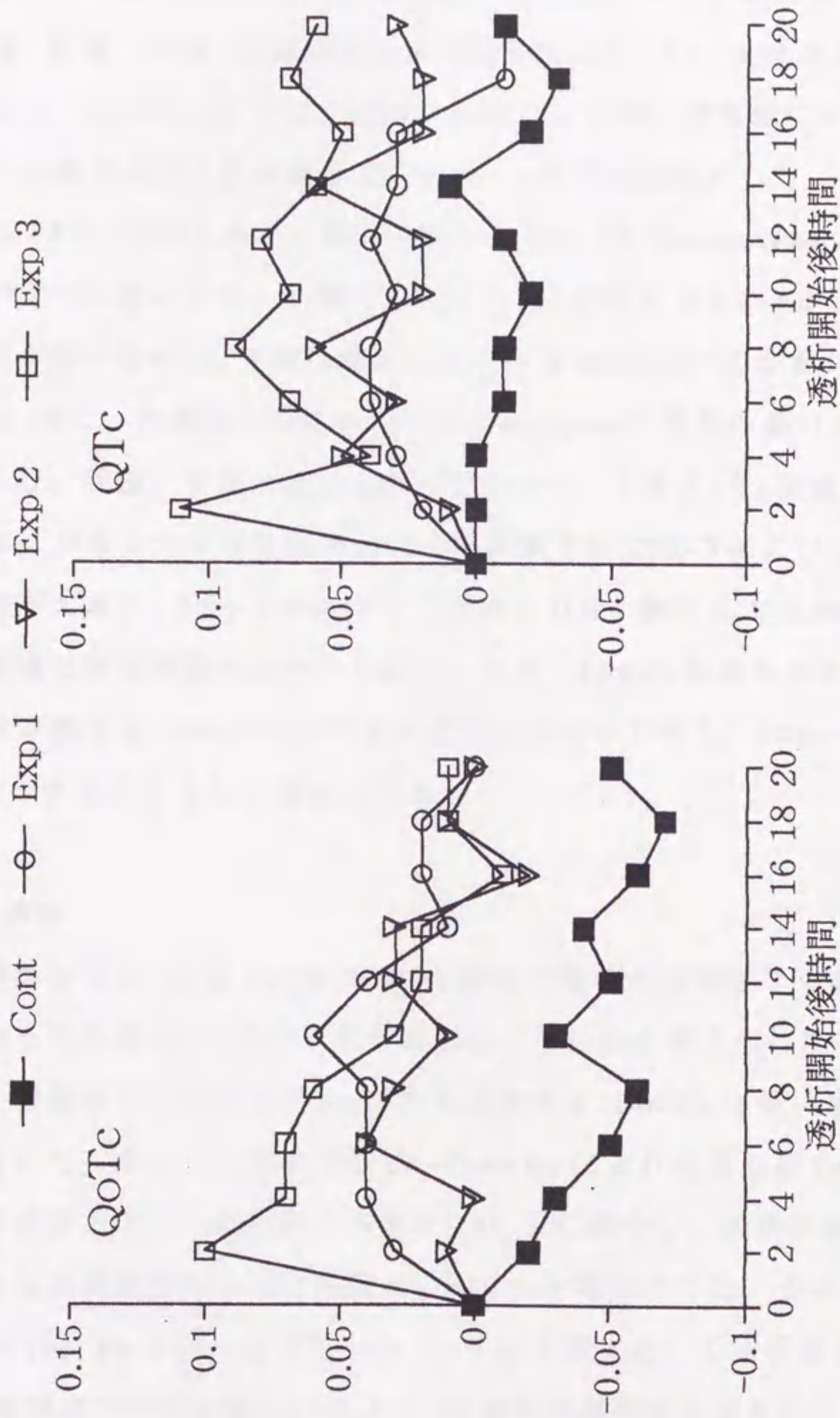


図37. 各供試山羊における透析開始後のQoTcおよびQTcの推移 (0時間の値に対する増減値) .

山羊 2 頭における各臓器のタンパク質 1g 当たりの CK および LDH 活性値は、表 41 に示した。心臓および大腿四頭筋における CK 活性値は、肝臓、脾臓、腎臓および肺の活性値の約 100~300 倍高い値を示した。LDH 活性値では、肝臓、脾臓および肺の活性値に比べ、腎臓、心臓および大腿四頭筋では約 3~6 倍高い値を示した。

図 38 に、心臓および大腿四頭筋における CK-isoenzyme の電気泳動パターンを示した。心臓では大きな MM 分画と小さな MB 分画の 2 分画が認められた。大腿四頭筋では大きな MM 分画のみが認められた。

図 39 に、各臓器における LDH-isoenzyme の電気泳動パターンを示した。肝臓、腎臓および心臓では LDH-1、2 および 3 が認められ、LDH-1 が最も大きな分画であった。脾臓では LDH-3 および 1 の順に分画が大きく、LDH-2 および 4 も認められた。肺の LDH-isoenzyme は脾臓とほぼ同様のパターンを示したが、LDH-5 も認められた。大腿四頭筋では LDH-4 および 5 が大部分を占めており、LDH-1 および 3 も小さな分画として認められた。

3) 考察

実験 A では、血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の推移とは関連なく血液透析によって血漿 Mg 濃度の上昇が引き起こされたと考えられたことから、実験 B では透析液中の Mg 含有濃度を 0.1 mmol/l 低い透析液を用意した。また、本実験では Ca-free HD により重度の低 Ca 血症を誘発するために、透析液の容量を 200 l に増やし、透析回路内を循環する血液流量も 4 ml/体重 kg/min へと増加させた。その結果、Ca-free HD を行った山羊 Exp 1~3 の 3 頭において透析開始後 2~20 時間までの間血漿 Ca^{++} および Ca 濃度は顕著な低値を示した。山

表41. 山羊2頭における各種臓器中CKおよびLDH活性値

	肝臓	脾臓	腎臓	心臓	肺	大腿四頭筋
CK活性値 (U/タンパク質1g):						
雄	2.6×10^3	1.2×10^3	1.2×10^3	158.8×10^3	1.7×10^3	377.3×10^3
雌	1.0×10^3	1.6×10^3	2.0×10^3	211.4×10^3	2.8×10^3	110.4×10^3
LDH活性値 (U/タンパク質1g):						
雄	1.2×10^3	0.7×10^3	6.6×10^3	12.9×10^3	2.6×10^3	9.5×10^3
雌	1.7×10^3	0.9×10^3	1.4×10^3	16.5×10^3	1.9×10^3	5.0×10^3

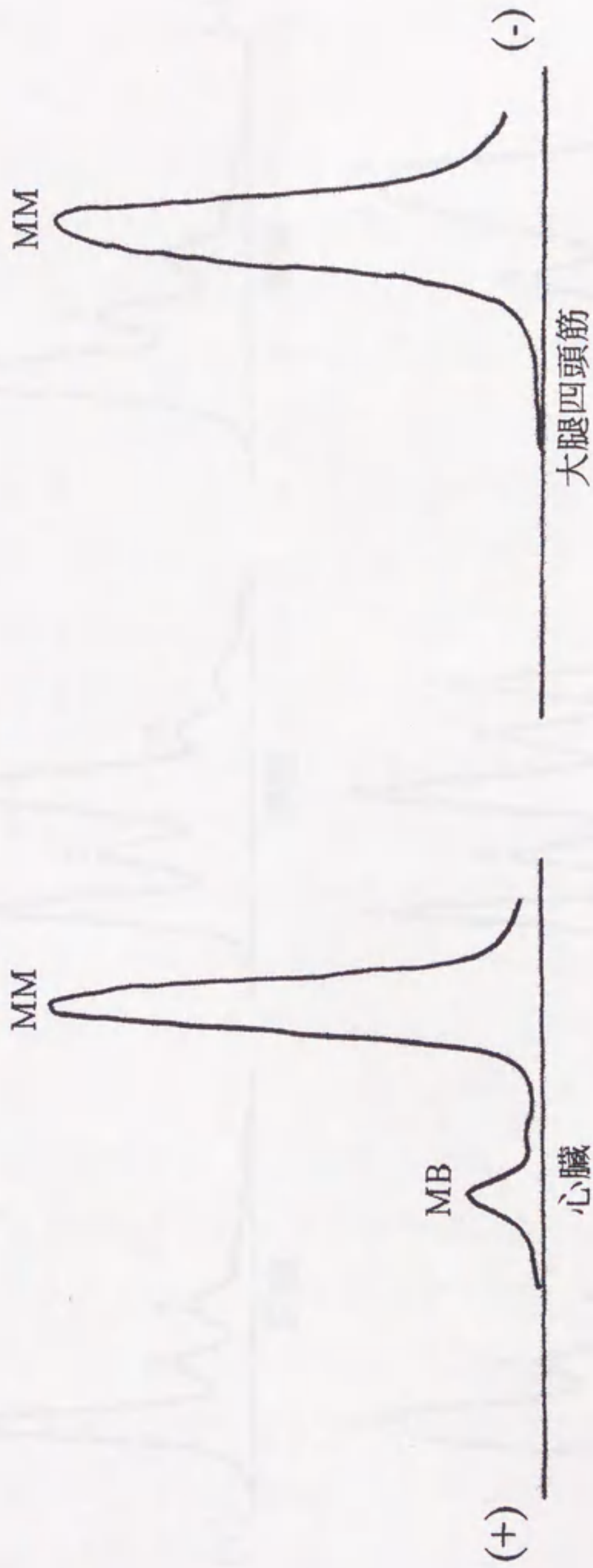


図38. 山羊の心臓および大腿四頭筋におけるCK-isoenzymeの電気泳動パターン

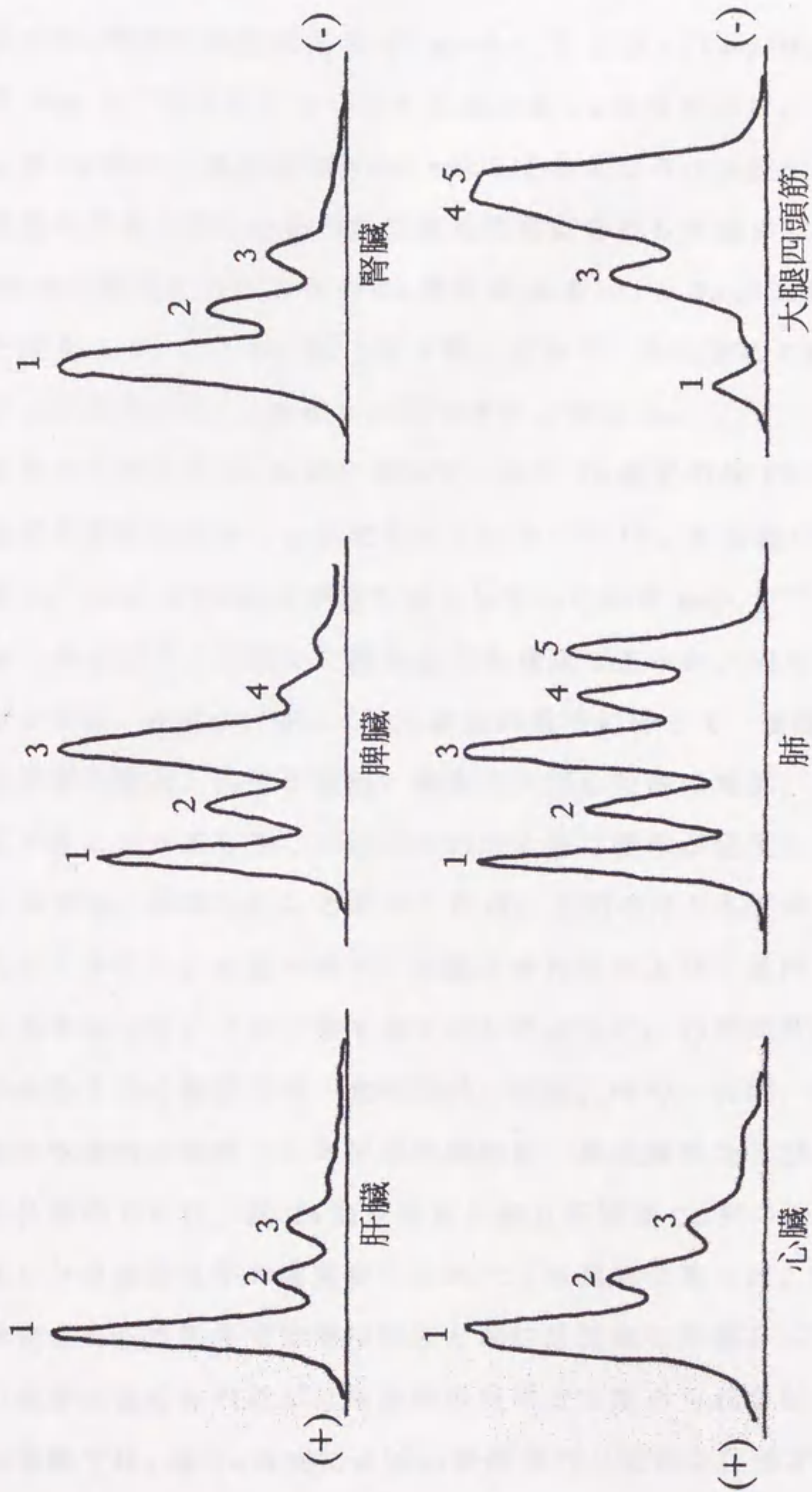


図39. 山羊の各臓器におけるLDH-isoenzymeの電気泳動パターン

羊 Exp 1 および 2 ではどちらも同程度の低 Ca 血症を示し、血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の最低値は 0.61 mmol/l および 4.7 mg/dl であった。山羊 Exp 3 ではそれよりさらに重度の低 Ca 血症を示し、血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の最低値は 0.46 mmol/l および 3.8 mg/dl であった。本研究の対象である心筋の急性壊死性病変を有し死廃の転帰を辿る低 Ca 血症乳牛における血中 Ca 濃度は $3.6 \pm 1.3 \text{ mg/dl}$ (第 II 章) または $5.3 \pm 1.7 \text{ mg/dl}$ (第 V 章) であり、本実験の Ca-free HD によって同等の低 Ca 血症を誘発できたと言える。

乳牛の分娩性低 Ca 血症において、血中 Ca 濃度の低下に伴って臨床症状も重篤化することが知られている^(104, 143)。本実験においても、血漿 Ca^{++} および Ca 濃度が最も低下していた山羊 Exp 3 では、山羊 Exp 1 および 2 と比較して臨床症状も重度であった。山羊 Exp 1 および 2 では、血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の低下に伴って、意識の沈鬱、起立姿勢の動揺、心音の減弱、体温および心拍数の増加、肛門反射の低下および一過性もしくは間欠的な全身の震戦が発現した。山羊 Exp 3 では、体温はむしろ低下したが、上記のほとんどの症状が認められ、さらに、皮温の低下、寝起きの反復および一過性ながら座臥状態を示した。一方、第 V 章で示したように、心筋病変を有し死廃の転帰を辿る症例では、食欲廃絶、横臥、呻吟・苦悶、開口呼吸と泡沫性流涎を特徴とした呼吸困難症状、高度頻脈ならびに呼吸速拍が特徴的であり、低 Ca 血症を呈し起立不能後 Ca 剤の治療により起立した分娩後乳牛の臨床症状と比べても重篤であった。特に、心筋病変を有した乳牛では開口呼吸と泡沫性流涎を特徴とした呼吸困難の症状が認められたが、本実験の山羊では認められなかった。

本実験では、低 Ca 血症による心筋損傷の可能性を評価するために、

血漿 CK および LDH 活性値とその isoenzyme について測定した。CK は最も臓器特異性の高い臨床酵素として知られ、獣医臨床においても心筋や骨格筋疾患などの診断上の指標としてしばしば用いられている。LDH も獣医臨床で最も広く活用されている臨床酵素の一つであるが、多くの臓器に広く分布するため、単独での血液定量では臓器特異的な損傷の検出には適さないとされている。しかし、CK や LDH における isoenzyme の定量は、臨床酵素学の特異性と感度を高めるために併用する価値があり、とくに医学領域では心筋梗塞の診断と予後判定において高い評価を受けている⁽⁷⁸⁾。本実験では、最も重度の低 Ca 血症を示した山羊 Exp 3 において血漿 CK および LDH 活性値の明らかな増加が認められた。この山羊における血漿 CK および LDH の isoenzyme を測定したところ、CK では CK-MM の単一的な顕著な増加が、LDH では LDH-3、4 および 5 の 3 分画の明らかな増加が認められた。ところで、本実験で山羊の各臓器のタンパク質 1g 当たりの CK および LDH 活性値を測定したところ、心筋および骨格筋（大腿四頭筋）における CK 活性値は肝臓、脾臓、腎臓および肺における活性値の数百倍を示し、LDH 活性値は腎臓、心臓および骨格筋において幾分高い値を示した。臓器中 CK-isoenzyme パターンを観察したところ、心筋では CK-MB および MM の 2 分画が認められたが、骨格筋では CK-MM の 1 分画のみが認められた。LDH-isoenzyme は心筋では LDH-1, 2 および 3 が認められたが、骨格筋では LDH-4 および 5 が大部分を占めるパターンを示した。したがって、山羊 Exp 3 における血漿 CK および LDH 活性値の増加は、骨格筋からの逸脱を反映したものと考えられ、心筋が傷害された可能性を肯定するものとは言えなかった。骨格筋から CK ならびに LDH が逸脱した要因としては、低

Ca血症によって生じる細胞膜透過性の亢進⁽⁷⁵⁾や透析期間中に顕著にみられた全身の震戦などの影響が推定される。

ヒトの心電図学的研究において、血中Ca濃度とQT間隔についての関連性を指摘した報告は多い^(11, 12, 115, 135)。QT間隔は心室の電氣的興奮の開始から回復の終了までの時間を示すものであるが、血中Ca濃度が増減するに伴ってST部分は短縮もしくは延長する一方、QRSおよびT波は比較的正常に保たれると言われている^(11, 135)。乳牛における心電図学的研究においても、血中Ca濃度のQT間隔への影響を指摘した報告は多く、低Ca血症に伴ってQoTcならびにQTcが延長することが明らかにされている^(18, 22, 84, 88)。本実験では、Ca-free HDにより低Ca血症を誘発した山羊Exp 1~3ではQTcおよびQT間隔は延長する傾向を示し、低Ca血症乳牛における見解と一致していた。

乳熱に関する一般的見解として、低Ca血症により特異的病変は形成されないので、病理学的所見から乳熱との確定診断は成し得ないと言われている^(99, 104, 143)。本実験においても、山羊の心筋の組織学的検索を行ったが、低Ca血症に起因した異常所見は認められなかった。ところで、Ca⁺⁺はその重要な生理的機能として細胞膜透過性の保持作用（膜安定化作用）を有しているので、低Ca血症では必然的に細胞膜透過性の亢進が起こり、Na⁺、K⁺、Ca⁺⁺などの無機イオンに対する細胞膜の選択的透過性が変化すると考えられている⁽⁷¹⁾。また、Kowalczyk and Mayer⁽⁷⁵⁾は、乳熱牛の骨格筋では、血漿Ca濃度の低下に伴う細胞膜透過性の変化によって、細胞内へのNa⁺の流入とK⁺の流出（細胞膜性興奮）が起こり易いと報告している。心筋細胞は骨格筋細胞と同様に膜興奮性細胞であるので⁽⁷¹⁾、低Ca血症動物に

おける心筋でも細胞膜透過性の亢進は起こり得ると考えられる。したがって、低 Ca 血症動物の心筋細胞は、直接に不可逆的傷害を被らないとしても、膜安定化作用が低下した極めて不安定な状態に陥ると考えられる。このような点を、本研究の対象となった死産の転帰を辿る低 Ca 血症の乳牛に当てはめて考察すれば、心筋の急性壊死性病変の形成機序に関して以下のような事項が推察される。すなわち、本研究において死産転帰を辿った乳牛では、分娩前からの持続的な心機能の減弱（心臓への過度の容量負荷や心筋線維の伸展など）を潜在的素因として有するため、分娩に伴う低 Ca 血症（乳熱）の発症によって心循環機能の低下はいっそう著しいものとなったと考えられる。さらに、低 Ca 血症の発現により膜安定化作用を失った心筋細胞は心循環血液量の低下や低酸素状態などにより不可逆的に傷害され易いので、心筋に壊死性病変が形成されたとの仮説も建てられる。

4. 小括

本章では、牛と同様の反芻動物である山羊を用いて、血液透析により実験的低 Ca 血症を誘発し、低 Ca 血症が心臓へ及ぼす影響について血液生化学的、心電図学的ならびに組織学的側面から検討することを目的とした。しかし、反芻動物における低 Ca 血症の実験モデルとしての血液透析の方法は未だ確立されていないことから、まず、実験 A では 6 時間の血液透析による実験的低 Ca 血症について評価を行った。次いで、実験 B では 20 時間にわたる血液透析によって低 Ca 血症を誘発し、低 Ca 血症が心臓へ及ぼす影響について検討した。

実験 A では、4 頭の山羊を用いて 2 種類の透析液による血液透析を行った。最初に、Ca を含有する透析液による血液透析 (Ca HD) を行

ない、これを対照試験とした。次いで、Caのみを含有しない透析液による血液透析(Ca-free HD)を行ない、これを低Ca血症誘発試験とした。その結果、Ca HDでは血漿Ca⁺⁺およびCa濃度に変化は生じなかったが、Ca-free HDでは透析開始後1~6時間まで有意な低値(透析開始後6時間における血漿Ca⁺⁺およびCa濃度は0.69 mmol/lおよび5.9 mg/dl)を示し、その臨床症状は低Ca血症の自然例および実験例での所見と同様であった。したがって、Ca-free HDは、山羊における実験的低Ca血症の誘発方法として有用であると考えられた。しかし、血漿Ca⁺⁺およびCa濃度の推移と関連なく、血液透析自体に起因したと思われる一過性の症状の発現や血中Mg濃度の上昇といった現象が生じたため、透析方法と透析液の組成について改善する必要があると考えられた。

実験Bでは、実験Aの透析液の組成を改善するとともに透析液量と血液循環流量を増加して、山羊1頭にCa HDを、3頭にCa-free HDを行った。その結果、Ca-free HDを行った山羊3頭における血漿Ca⁺⁺およびCa濃度は透析開始後2~20時間まで顕著な低値を示した。とくに、Ca-free HDを行った山羊のうち1頭(山羊Exp 3)では重度の低Ca血症(血漿Ca⁺⁺およびCa濃度の最低値は0.46 mmol/lおよび3.8 mg/dl)が持続した。透析期間中に血漿CKおよびLDH活性値の推移を検討したところ、最も重度の低Ca血症を示した山羊Exp 3においてこれらの活性値の上昇が認められた。さらに、山羊Exp 3における血漿CKおよびLDHのisoenzymeを測定したところ、CKではCK-MMのみの単一的な増加が、LDHではLDH-3、4および5の3分画の明らかな増加が認められた。そこで、健康山羊2例の心臓を含む各種臓器におけるCKおよびLDH-isoenzymeのパターンに

ついて検討したところ、山羊 Exp 3 において変動した血漿 CK および LDH-isoenzyme の分画は骨格筋における isoenzyme と一致し、血漿 CK および LDH 活性値の増加は骨格筋からの逸脱を反映したものと考えられた。血液透析期間中の心電図検査では、Ca-free HD により低 Ca 血症を誘発した山羊 3 頭において QoTc および QTc の延長が認められた。いずれの山羊においても、刺激生成異常や刺激伝導異常などの不整脈所見は心電図学的に認められなかった。血液透析終了後、各供試山羊の心臓について組織学的検索を行ったが、低 Ca 血症に起因した異常所見は認められなかった。

長年、北海道を中心とした臨床獣医師から、明瞭な併発症を伴わず、分娩前後に重篤な臨床症状を呈して起立不能に陥り数日以内で死亡する低Ca血症乳牛の発生のあることが指摘されていた。すなわち、これらの症例は年齢4~10歳の高泌乳牛で、分娩当日から翌日にかけて突然の頻脈、呼吸速拍、著しい呼吸困難などの症状を呈して起立不能となり、平均2~3日で死亡すると報告されている。しかし、これらの低Ca血症乳牛が死産の転帰を辿る原因や病態については未だ明らかにされていない。よって、本研究ではこれらの点を究明する目的で以下のような調査と研究を実施した。

1. 上述のような分娩前後に重篤な臨床症状を呈して起立不能に陥り数日以内で死亡する低Ca血症乳牛の発生が指摘されていたことから、類似症例13例を収集し病理学的検索を行った。これらの症例では、分娩前後に低Ca血症を伴い、突然の頻脈、呼吸速拍および呼吸困難症状を発現して呻吟・苦悶し横臥することが臨床的特徴であった。剖検した10例中5例の心筋において肉眼的な微小淡黄褐色巣の散在を認め、さらに組織学的検索を行った13例全ての症例において心筋の壊死性病変の散在を共通して認めた。その組織学的特徴は、発症後1~2日の症例では好中球の浸潤を伴う急性壊死性変化を呈し、生存日数が3日以上の場合では単核細胞の浸潤と間質の線維化を伴っていた。したがって、これらの病変は発症後生存日数の延長に伴って陳旧化すると考えられ、本症例の心筋の壊死性病変は臨床症状発現前後に形成されたものと推察された。これらの成績から、死産転帰を辿る低Ca血症乳牛では心筋の壊死性病変が共通して存在していることが明らかとなった。

2. 1年間にわたり2牧場で乳熱の発生調査を行ったところ、分娩牛273頭のうち6例が乳熱として治療を受け(乳熱症例)、これら6例の乳熱症例のうち2例が死産の転帰を辿った。その2例の心臓には、前述の症例と同様に心筋の壊死性病変が病理組織学的に認められた。分娩前1週間以前の血液検査成績を、各牧場ごとに分娩後無事故牛群(分娩後1カ月以内に疾病事故のなかった分娩牛182頭)と乳熱症例群(乳熱症例6例)について比較したところ、1牧場の乳熱症例群において血清総コレステロール(TCHO)値と血漿 α -トコフェロール(α -TOC)濃度が有意な低値を示した。また、各乳熱症例の初診時(第1病日)の血液検査成績の比較では、死産転帰を辿った2例の血漿 α -TOC濃度はCa剤による治療後起立した4例よりも低い値を示した。すなわち、死産の転帰を辿った2例の心筋病変の形成に際して、分娩に伴う急激な生体内 α -TOCの減少により細胞膜の保護機構が減退したため、心筋を傷害する要因に対して心筋細胞を保護しきれなかったとの可能性が推測された。Ca代謝に関する成績において、死産転帰を辿った2例の乳熱症例における第1病日の低Caおよび低iP血症の程度は、Ca剤による治療後起立した4例と同様であった。

3. 重篤な臨床症状を呈し死産の転帰を辿る分娩後低Ca血症乳牛の心筋における急性壊死性病変の形成機序ならびに臨床的意義を明らかにする目的で、類似症例3例の心筋について光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いて観察した。いずれの症例も分娩後に横臥、呻吟・苦悶、頻脈、呼吸困難などの症状を発し、第4病日以内に剖検された。初診時の血液生化学的検査では、3症例ともに低Ca血症

(2.8~5.1 mg/dl)が認められた。3例の光学顕微鏡による心臓の組織学的検索では、心臓全域にわたり心筋の急性壊死性病変が散在していた。電子顕微鏡による検索において、壊死心筋細胞ではその細胞構造は崩壊し、筋細線維の断裂、消失もしくは過収縮、ミトコンドリアの腫大ならびに小胞体の拡張などが観察された。また、壊死心筋細胞の周辺の間質ではマクロファージが浸潤し、貪食される壊死心筋細胞も観察された。一方、光学顕微鏡による観察で一見して正常な心筋細胞においても、筋細線維の粗しょう化、Z帯の異常および筋細線維の錯綜走行などの超微細構造的変化が認められた。このような生存する心筋細胞における筋細線維の超微細構造的変化は、数週間以上にわたり持続した心機能の減弱化を反映した所見と考えられている。したがって、これらの症例では、少なくとも妊娠末期に継続的な心機能の減弱を潜在的に有していたものと考えられた。すなわち、重篤な臨床症状を発し死産の転帰を辿る分娩後低Ca血症乳牛は、妊娠期間中持続的な心機能減弱を潜在的に有している中で分娩を迎え、その際に生理的に陥る低Ca血症の発現が心機能をさらに減弱させて心筋に急性壊死性病変を形成させ、それが心循環不全を加速させて重篤な臨床症状を発現して死産の転帰を辿るものと推察された。

4. 分娩後に横臥・死亡経過を辿り病理組織学的に心筋の壊死性病変を有する低Ca血症乳牛（心筋病変症例）と分娩後に低Ca血症を呈し起立不能後Ca剤の治療により起立した症例（乳熱症例）の臨床上の相違点を明らかにする目的で、それらの臨床所見と血液検査成績について比較した。心筋病変症例の臨床症状は乳熱症例に比較し

て重篤であり、食欲廃絶、横臥、呻吟・苦悶、開口呼吸と泡沫性流涎を特徴とした呼吸困難の症状、高度頻脈ならびに呼吸速拍が特徴的であった。これらの臨床症状は Ca 剤の治療後も多くの心筋病変症例で存続していた。血液生化学的検査では、発症後日数の経過に伴い血清 AST 活性値と TBIL 濃度が上昇する以外に、両者間に明らかな相違点は見出されなかった。とくに、血漿 Ca 濃度の推移においても初診時の心筋病変症例は乳熱症例と同程度の低値を示し、Ca 剤の治療後はどちらもほぼ正常範囲内の値に復していた。心電図検査所見では、心筋病変症例において心拍数の高度の増数がみられ、洞性頻脈もしくは心房細動が確認された。以上の成績より、心筋病変症例における臨床症状が乳熱症例よりも重篤となる最大の要因は、低 Ca 血症の影響だけでなく、心筋病変症例の心臓における急性の壊死性病変の関与が強く示唆された。

5. 低 Ca 血症が心臓へ及ぼす影響について血液生化学的、心電図学的ならびに組織学的側面から検討するために、山羊 4 頭を用いて 20 時間にわたる血液透析を行い低 Ca 血症を誘発させた。すなわち、4 頭中 3 頭には Ca のみを含有しない透析液による血液透析 (Ca-free HD) を行ない低 Ca 血症を誘発し、残り 1 頭には対照として Ca を含有する透析液による血液透析 (Ca HD) を行なった。Ca-free HD を行った 3 頭における血漿 Ca^{++} および Ca 濃度は透析開始後 2~20 時間まで顕著な低値を示した。とくに、Ca-free HD を行った 1 頭 (山羊 Exp 3) では重度の低 Ca 血症 (血漿 Ca^{++} および Ca 濃度の最低値は 0.46 mmol/l および 3.8 mg/dl) が持続した。透析期間中に血漿 CK および LDH 活性値の推移を検討したところ、最も重度の低 Ca 血

症を示した山羊 Exp 3 においてこれらの活性値の上昇が認められた。さらに、山羊 Exp 3 における血漿 CK および LDH の各 isoenzyme を測定したところ、CK では CK-MM のみの単一的な増加が、LDH では LDH-3、4 および 5 の 3 分画の明らかな増加が認められた。健康山羊 2 例の心臓を含む各種臓器における CK および LDH の isoenzyme パターンについて検討したところ、山羊 Exp 3 において変動した血漿 CK および LDH の isoenzyme 分画は骨格筋における isoenzyme と一致した。したがって、山羊 Exp 3 における血漿 CK および LDH 活性値の増加は骨格筋からの逸脱を反映したものと考えられた。血液透析期間中の心電図検査では、Ca-free HD により低 Ca 血症が誘発された 3 頭において QoTc および QTc の延長が認められた。いずれの山羊においても、刺激生成異常や刺激伝導異常などの不整脈所見は心電図学的に認められなかった。血液透析終了後、各供試山羊の心臓について組織学的検索を行ったが、低 Ca 血症に起因した異常所見は認められなかった。

以上より、本研究では分娩前後に横臥し、呻吟・苦悶、頻脈、呼吸速拍および呼吸困難の症状を呈して死亡経過を辿る低 Ca 血症乳牛では心筋の壊死性病変が共通して存在することを明らかにし、これが重篤な臨床症状の発現と死亡経過の転帰に関与していることを指摘した。また、これらの症例では分娩前から持続的な心機能の減弱を潜在的素因として有している中で分娩を迎えることによって、生理的に陥る低 Ca 血症が心筋の急性壊死性病変を形成させていると推察された。さらに、分娩前後の低 Ca 血症によって既に低下していた全身の循環動態は、心筋における壊死性病変の形成によりいっ

そう低下したものと考えられた。すなわち、妊娠などに起因した心臓への過度の容量負荷と心筋線維の伸展により心機能が潜在的に減弱した乳牛では、低 Ca 血症の発現に伴って心筋に急性壊死性病変が形成され、心循環不全の状態をいっそう加速させて重篤な臨床症状を発現させたと推察された。また、心筋病変の形成に際しては、分娩に伴う急激な生体内 α -TOC の減少による細胞膜の保護作用の低下や低 Ca 血症による細胞の膜安定化作用の喪失、低 Ca 血症時の心循環血液量の低下による低酸素状態などが相互に関与して心筋細胞を不可逆的に傷害させていることも示唆された。

本稿を終えるに臨み、御懇篤なるご指導を賜った岩手大学教授 内藤善久博士に心から拝謝し、本論文作成にあたり有益な御助言と御校閲を頂いた岐阜大学教授 佐々木榮英博士、東京農工大学教授 桐生啓治博士、岩手大学教授 谷口和之博士ならびに帯広畜産大学教授 山田明夫博士に深甚なる謝意を表します。また、本研究を行う最初の機会を与えて下さいました酪農学園大学助教授 岡田洋之博士ならびに助教授 小岩政照博士および北海道石狩 NOSAI 工藤克典先生、松尾直樹先生ならびに南保範先生、臨床症例の収集にご協力を賜りましたいわて総合動物病院院長 佐々木一弥先生、小岩井農牧株式会社 後藤太一博士ならびに川畑享子先生、電子顕微鏡観察のご指導を賜りました岩手大学助教授 小川和重博士、有益な御助言を賜りました岩手大学助教授 佐藤れえ子博士ならびに佐藤淳先生、アメリカ合衆国 National Animal Disease Center, J. P. Goff 博士およびオハイオ州立大学教授 S. E. Weisbrode 博士に深く感謝の意を表します。最後に、本研究の遂行にあたり多大なる御協力を頂いた岩手大学農学部家畜内科学教室、附属家畜病院ならびに家畜解剖学教室、酪農学園大学、北海道石狩 NOSAI、いわて総合動物病院、小岩井農牧株式会社の関係諸氏に深謝致します。

12. ...
13. ...
14. ...

引用文献

15. ...
16. ...
17. ...

- 1) 阿部皓一, 勝井五一郎 (1975) 血清中のトコフェロール同族体の高速液体クロマトグラフィーによる定量. *ビタミン* 49, 259-263.
- 2) Allen, W. M. and Davies, D. C. (1981) Milk fever, hypomagnesemia and the 'downer cow syndrome'. *Br. Vet. J.* 137, 435-441.
- 3) Baird, J. D. (1988) Dilated cardiomyopathy in Holstein cattle. Clinical and genetic aspects. In: Proceedings of the Sixth Annual Veterinary Medical Forum, Washington DC, May 26-29, pp. 175-177. American College of Veterinary Internal Medicine.
- 4) Barzanji, A. A. H. and Daniel, R. C. W. (1988) The effects of hypocalcaemia on blood gas and acid-base parameters in ruminants. *Br. Vet. J.* 144, 93-97.
- 5) Barzanji, A. A. H. and Daniel, R. C. W. (1988) Induced hypocalcaemia in ruminants: changes in some parameters of circulatory function. *Br. Vet. J.* 144, 229-235.
- 6) Bazett, H. C. (1918) An analysis of the time-relations of electrocardiograms. *Heart* 7, 353-370.
- 7) Bishop, S. P. and Cole, C. R. (1969) Ultrastructural changes in the canine myocardium

- with right ventricular hypertrophy and congestive heart failure. *Lab. Invest.* 20, 219-229.
- 8) Björsell, K.-A., Holtenius, P. and Jacobsson, S. O. (1969) Studies on parturient paresis with special reference to the downer cow syndrome. *Acta Vet. Scand.* 10, 36-43.
- 9) Bowen, J. M., Blackmon, D. M. and Heavner, J. E. (1970) Effect of magnesium ions on neuromuscular transmission in the horse, steer, and dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 157, 164-173.
- 10) Brightling, P. and Townsend, H. G. G. (1983) Atrial fibrillation in ten cows. *Can. Vet. J.* 24, 331-334.
- 11) Bronsky, D., Dubin, A., Kushner, D. S. and Waldstein, S. S. (1961) Calcium and the electrocardiogram. III. The relationship of the intervals of the electrocardiogram to the level of serum calcium. *Am. J. Cardiol.* 7, 840-843.
- 12) Bronsky, D., Dubin, A., Waldstein, S. S. and Kushner, D. S. (1961) Calcium and the electrocardiogram. II. The electrocardiographic manifestations of hyperparathyroidism and of marked hypercalcemia from various other etiologies. *Am. J. Cardiol.* 7, 833-839.

- 13) Capen, C. C. and Young, D. M. (1967) The ultrastructure of the parathyroid glands and thyroid parafollicular cells of cows with parturient paresis and hypocalcemia. *Lab. Invest.* 17, 717-737.
- 14) Chen, P. S., Jr., Toribara, T. Y. and Warner, H. W. (1956) Microdetermination of phosphorus. *Anal. Chem.* 28, 1756-1766.
- 15) Clark, R. G., Henderson, H. V., Hoggard, G. K., Ellison, R. S. and Young, B. J. (1987) The ability of biochemical and haematological tests to predict recovery in periparturient recumbent cows. *New Zealand Vet. J.* 35, 126-133.
- 16) Correa, M. T., Erb, H. N. and Scarlett, J. M. (1993) Risk factors for downer cow syndrome. *J. Dairy Sci.* 76, 3460-3463.
- 17) Cox, V. S. (1988) Nonsystemic causes of the downer cow syndrome. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 4, 413-433.
- 18) Daniel, R. C. W. (1979) Changes in bromosulphalein fractional clearance and plasma volume in induced hypocalcaemia in cow. *Br. Vet. J.* 135, 25-29.
- 19) Daniel, R. C. W., Hassan, A. A. and Marek, M. S. (1983) Further observations on the relationship

- between QTc of an electrocardiogram and plasma calcium levels in cows. *Br. Vet. J.* 139, 23-28.
- 20) Daniel, R. C. W. and Moodie, E. W. (1978) The effect of induced hypocalcaemia on the cardiac output and blood pressure of dairy cattle. *Res. Vet. Sci.* 24, 380-382.
- 21) Daniel, R. C. W. and Moodie, E. W. (1979) Induced hypocalcaemia in cows and sheep. I. Changes in plasma inorganic phosphorus levels. *Br. Vet. J.* 135, 440-451.
- 22) Daniel, R. C. W. and Moodie, E. W. (1979) Relationship between plasma calcium and QT interval of electrocardiogram in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 62, 1014-1018.
- 23) Darsinos, J. T., Karli, J. N., Stathaki, S. N., Ziroyannis, P. N., Pistevos, A. C., Levis, G. M. and Mouloupoulos, S. D. (1984) Effect of hypocalcemia on isoproterenol induced cardiotoxicity in dogs. *Angiology* 35, 152-162.
- 24) Demakis, J. G. and Rahimtoola, S. H. (1971) Peripartum cardiomyopathy. *Circulation* 44, 964-968.
- 25) DeRoth, L. (1980) Electrocardiographic parameters in the normal lactating Holstein cow. *Can. Vet. J.* 21, 271-277.

- 26) Doolan, P. D., Schwartz, S. L., Hayes, J. R., Mullen, J. C. and Cummings, N. B. (1967) An evaluation of the nephrotoxicity of ethylenediaminetetraacetate and diethylenetriaminepentaacetate in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 10, 481-500.
- 27) Drop, L. J., Geffin, G. A., O'Keefe, D. D., Newell, J. B., Jacobs, M. L., Fowler, B. N. and Daggett, W. M. (1981) Relation between ionized calcium concentration and ventricular pump performance in the dog under hemodynamically controlled conditions. *Am. J. Cardiol.* 47, 1041-1051.
- 28) Dudley, H. R., Ritcie, A. C., Schilling, A. and Baker, W. H. (1955) Pathologic changes associated with the use of sodium ethylene diamine tetra-acetate in the treatment of hypercalcemia. *New Engl. J. Med.* 252, 331-337.
- 29) Dusek, J., Rona, G. and Kahn, D. S. (1971) Healing process in the marginal zone of an experimental myocardial infarct. *Am. J. Pathol.* 62, 321-338.
- 30) Fabiato, A. (1983) Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am. J. Physiol.* 245, C1-C14.

- 31) Farber, P. A. and Glasgow, L. A. (1970) Viral myocarditis during pregnancy: encephalomyocarditis virus infection in mice. *Am. Heart J.* 80, 96-102.
- 32) Fenwick, D. C. (1969) Parturient paresis (milk fever) of cows: 1. The response to treatment and the effect of the duration of symptoms. *Aust. Vet. J.* 45, 111-113.
- 33) Fenwick, D. C. (1969) The downer cow syndrome. *Aust. Vet. J.* 45, 184-188.
- 34) Fenwick, D. C. (1983) Erythrocyte potassium concentrations in cows with milk fever. *Aust. Vet. J.* 60, 313-314.
- 35) Fenwick, D. C. and Daniel, R. C. W. (1990) A comparison between the main clinical signs of milk fever in cows with those of hypocalcemia induced by Na₂EDTA solution. *J. Vet. Med.* A37, 721-728.
- 36) Fenwick, D. C. and Daniel, R. C. W. (1992) The effect of hypocalcaemia due to a 4-hour infusion of Na₂EDTA solution on various blood and urine analytes in dairy cows and a comparison of these effects between cows with high and low erythrocyte potassium concentrations. *Br. Vet. J.* 148, 283-299.

- 37) Fenwick, D. C., Kelly, W. R. and Daniel, R. C. W. (1986) Definition of a non-alert downer cow syndrome and some case histories. *Vet. Rec.* 118, 124-128.
- 38) Ferrans, V. J., Morrow, A. G. and Roberts, W. C. (1972) Myocardial ultrastructure in idiopathic hypertrophic subaortic stenosis. *Circulation* 45, 769-792.
- 39) 藤原久義, 河合忠一. (1986) Reperfusionによる心筋壊死. *病理と臨床* 4, 710-717.
- 40) Fukuda, S., Hseih, Y. Y. and Chen, W. (1990) Toxicological study of DTPA as a drug. Toxicities of Ca-DTPA, Ca-EDTA and CBMIDA after intravenous injection in beagle dogs. *Hoken Butsuri* 25, 115-119.
- 41) Goff, J. P. and Horst, R. L. (1997) Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 176-186.
- 42) Goff, J. P., Horst, R. L. and Reinhardt, T. A. (1987) The pathophysiology and prevention of milk fever. *Vet. Med.* 82, 943-950.
- 43) Goff, J. P., Naito, Y., Kehrli, M. E., Jr., Hayes, P. and Daley, M. (1992) Physiologic effects of administration of interleukin 1 β in

- cows. *Am. J. Vet. Res.* 53, 1983-1987.
- 44) Goff, J. P., Reinhardt, T. A. and Horst, R. L.
(1989) Recurring hypocalcemia of bovine parturient paresis is associated with failure to produce 1,25-dihydroxyvitamin D. *Endocrinology* 125, 49-53.
- 45) Goff, J. P., Reinhardt, T. A. and Horst, R. L.
(1991) Enzyme and factors controlling vitamin D metabolism and action in normal and milk fever cows. *J. Dairy Sci.* 74, 4022-4032.
- 46) Goff, J. P., Reinhardt, T. A. and Horst, R. L.
(1995) Milk fever and dietary cation-anion balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78, 2388-2394.
- 47) Goff, J. P. and Stabel, J. R. (1990) Decreased plasma retinol, α -tocopherol, and zinc concentration during the periparturient period: effect of milk fever. *J. Dairy Sci.* 73, 3195-3199.
- 48) Graefe, U., Milutinovich, J. Follette, W. C., Vizzo, J. E., Babb, A. L. and Scribner, B. H.
(1978) Less dialysis-induced morbidity and vascular instability with bicarbonate in dialysate. *Ann. Intern. Med.* 88, 332-336.

- 49) Gröhn, Y., Saloniemä, H. and Syväjärvi, J.
(1986) An epidemiological and genetic study on registered disease in Finnish Ayrshire cattle. *Acta Vet. Scand.* 27, 209-222.
- 50) 萩原秀昭 (1994) 生体成分の検出・定量法. In: 堀尾武一 [ed.] 蛋白質・酵素の基礎実験法, 第2版, pp. 455-465, 南江堂, 東京.
- 51) Hallgren, W. (1955) Studies on parturient paresis in dairy cows. *Nord. Vet.-Med.* 7, 433-463.
- 52) 花ヶ前薫, 市川武雄, 木戸実, 石倉公昭, 岩倉勝宏, 芝田英一, 中野良宣, 近江嘉博, 真鍋伸男, 加納公雄, 村井義郎, 荒屋敷武, 稲垣清, 山田貢, 寺島猛, 藤井諄一, 大原富士雄, 小峰勉, 坂本喜子夫, 小玉軍司, 沼田直人, 石田博巳, 泉山良一, 小野寺純一, 寺西寛, 山田明, 東海林昌夫 (1975) 宗谷地区に発生したいわゆる乳牛の産前・産後起立不能症の調査研究. *北獣会誌* 19, 202-237.
- 53) Hayashi, T., Ono, H., Sato, K. and Miyake, Y.
(1979) Plasma levels of cortisol, free fatty acids, glucose and calcium in cows with milk fever. *Jap. J. Vet. Sci.* 41, 617-621.
- 54) Hibbs, J. W. (1950) Milk fever (parturient paresis) in dairy cows - a review. *J. Dairy Sci.* 33, 758-786.
- 55) Hilioglou, M. (1989) Mammary transfer of vitamin

- E in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72, 1067-1071.
- 56) 平間とも子 (1982) 乳酸脱水素酵素 (LDH). In: 谷本義文 [ed.] 実験動物の電気泳動法. pp. 21-31. 株式会社ヘレナ研究所, 埼玉.
- 57) Hollis, B. W., Draper, H. H., Burton, J. H. (1981) A hormonal assessment of bovine parturient paresis: evidence for a role of oestrogen. *J. Endocrinol.* 88, 161-171.
- 58) Homans, D. C. (1985). Peripartum cardiomyopathy. *New Engl. J. Med.* 312, 1432-1437.
- 59) Horst, R. L. (1986) Regulation of calcium and phosphorus homeostasis in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 69, 604-616.
- 60) Horst, R. L., Eisman, J. A., Jorgensen, N. A., DeLuca, H. F. (1977) Adequate response of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D to parturition in paretic (milk fever) dairy cows. *Science* 196, 662-663.
- 61) Horst, R. L., Goff, J. P. and Reinhardt, T. A. (1994) Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J. Dairy. Sci.* 77, 1936-1951.
- 62) Horst, R. L., Jorgensen, N. A., Deluca, H. F. (1978) Plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels in paretic dairy cows. *Am. J. Physiol.* E634-637.

- 63) Hunt, J. M., Chappell, T. R., Henrich, W. L. and Rubin, L. J. (1984) Gas exchange during dialysis: contrasting mechanisms contributing to comparable alterations with acetate and bicarbonate buffers. *Am. J. Med.* 77, 255-260.
- 64) 猪尾力 (1980) 産褥性心筋症. *臨床科学* 16, 54-59.
- 65) Izumi, T., Hattori, A., Higuma, N. and Tamura, K. (1978). Cardiac myofibril disorganization and Z band abnormalities in idiopathic cardiomyopathy. An electron microscope study. *Arch. Hist. Jap.* 41, 293-308.
- 66) Johnson, B. L. (1962) The creeper cow. *Mod. Vet. Pract.* 43, 36-39.
- 67) Johnson, B. L. (1967) Potassium and its role in parturient paresis. *J. Am. Vet. Med. Assn.* 151, 1681-1687.
- 68) Jonsson, G. and Simesen, M. G. (1973) Parturient paresis. A review. *Aust. Vet. J.* 49, 252-255.
- 69) Jönsson, G. and Pehrson, B. (1969) Studies on the downer syndrome in dairy cows. *Zbl. Vet.-Med.* A16, 757-784.
- 70) 海上智 (1982) クレアチンキナーゼ. In: 谷本義文 [ed.] 実験動物の電気泳動法. pp. 39-46. 株式会社ヘレナ研究所, 埼玉.
- 71) 姜正夫 (1979) 山羊における実験的低 Ca 血症時の Ca の動態と

- 筋電図および心電図に関する研究。東京大学農学部博士論文。
- 72) 姜正夫, 本好茂一 (1979) 山羊における実験的低Ca血症に関する研究。日獣会誌 32, 685-689.
- 73) Kennedy, A. C., Linton, A. L. and Eaton, J. C. (1964) Urea levels in cerebrospinal fluid after hemodialysis. *Lancet* 1, 410-411.
- 74) 小岩政照 (1994) 乳牛の産褥性心筋症について。家畜診療 375, 37-38.
- 75) Kowalczyk, D. F. and Mayer, G. P. (1972) Cation concentration in skeletal muscle of paretic and nonparetic cows. *Am. J. Vet. Res.* 33, 751-757.
- 76) Knobel, B., Melamud, E. and Kishon, Y. (1984) Peripartum cardiomyopathy. *Israel J. Med. Sci.* 20, 1061-1063.
- 77) 工藤克典, 小岩政照 (1996) 突然死の原因を探る - 乳牛の産褥期心不全 -。家畜診療 395, 25-30.
- 78) Kramer, J. W. (1989) 臨床酵素学。In: J. J. Kaneko [ed.] 獣医臨床生化学, 第四版 (久保周一郎, 友田勇 監訳, 1991), 近代出版, 東京。
- 79) Kwart, C. (1983) The effect of calcium infusion on the electrocardiogram of parturient paretic cows. *Br. Vet. J.* 139, 192-199.
- 80) Lampert, M. B. and Lang, R. M. (1995) Peripartum cardiomyopathy. *Am. Heart J.* 130, 860-870.
- 81) Levine (1965) Heavy metals and heavy metal-

- antagonists: heavy metal-antagonists. In:
Goodman, L. S. and A. Gilman [eds.] *The
Pharmacological Basis of Therapeutics* 3, pp.
929-942. The Macmillan Company, New York.
- 82) Lie, J. T., Holley, K. E., Kampa, W. R., Titus,
J. L. (1971) New histochemical method for
morphologic diagnosis of early stages of
myocardial ischemia. *Mayo Clinic Proceedings* 46,
319-327.
- 83) Little, W. L. and Wright, N. C. (1925) The
aetiology of milk fever in cattle. *Vet. Rec.* 5,
631-633.
- 84) Littledike, E. T., Glazier, D. and Cook, H. M.
(1976) Electrocardiographic changes after
induced hypercalcemia and hypocalcemia in
cattle: reversal of the induced arrhythmia with
atropine. *Am. J. Vet. Res.* 37, 383-388.
- 85) McGuirk, S. M., Muir, W. W., Sams, R. A. and
Rings, D. M. (1983) Atrial fibrillation in cows:
clinical findings and therapeutic
considerations. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 182,
1380-1386.
- 86) Maron, B. J., Ferrans, V. J. and Roberts, W. C.
(1975) Ultrastructural features of degenerated
cardiac muscle cell in patients with cardiac

- hypertrophy. *Am. J. Pathol.* 79, 387-434
- 87) Marr, A., Moodie, E. W. and Robertson, A. (1955) Some biochemical and clinical aspects of milk fever. *J. Comp. Pathol.* 65, 347-365.
- 88) 松尾直樹, 高橋清, 黒沢隆, 其田三夫 (1987) 牛の血清カルシウム濃度が心電図におよぼす影響. *日獣会誌* 40, 408-412.
- 89) Mayer, G. P., Marshak, R. R. and Kronfeld, D. S. (1969) Parathyroid effects on renal phosphorus excretion in the cow. *Am. J. Physiol.* 211, 1366-1370.
- 90) Melvin, K. R., Richardson, P. J., Olsen, E. G. J., Daly, K. and Jackson, G. (1982) Peripartum cardiomyopathy due to myocarditis. *New Engl. J. Med.* 307, 731-734.
- 91) Midei, M. G., DeMent, S. H., Feldman, A. M., Hutchins, G. M. and Baugham, K. L., (1990) Peripartum myocarditis and cardiomyopathy. *Circulation* 81, 922-928.
- 92) 内藤善久 (1985a) 乳牛の分娩性起立不能症 (Parturient paresis). *宮獣会報* 38, 109-116.
- 93) 内藤善久 (1985b) 乳牛の分娩性起立不能症 (Parturient paresis) - その2 -. *宮獣会報* 38, 168-181.
- 94) 内藤善久 (1989) 産前産後起立不能症の定義・病因・予防をめぐって - その1 -. *家畜診療* 308, 11-21.
- 95) Naito, Y., Goff, J. P., Horst, R. L. and

- Reinhardt, T. A. (1989) Effects to continuous administration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on plasma minerals and unoccupied colon mucosal 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor concentrations. *J. Dairy Sci.* 72, 2936-2941.
- 96) Newberne, P. M. and Conner, M. W. (1989) ビタミン.
In: J. J. Kaneko [ed.] 獣医臨床生化学, 第四版 (久保周一郎, 友田勇 監訳, 1991), pp. 797-834, 近代出版, 東京.
- 97) 農林水産省経済局保険管理課 編集 (1982-1997) 昭和 56 年度 ~平成 8 年度家畜共済統計表. 農林水産省経済局, 東京.
- 98) O'Connell, J. B., Costanzo-Nordin, M. R., Subramanian, R., Robinson, J. A., Wallis, D. E., Scanlon, P. J. and Gunnar, R. M. (1986) Peripartum cardiomyopathy: Clinical, hemodynamic, histologic and prognostic characteristics. *J. Am. Coll. Cardiol.* 8, 52-56.
- 99) Oetzel, G. R. (1988) Parturient paresis and hypocalcemia in ruminant livestock. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4, 351-364.
- 100) Payne, J. M. (1964) The responses of cows to experimentally induced hypocalcaemia. - Chronic experimental hypocalcaemia. *Vet. Rec.* 76, 77-80.
- 101) Proszynska, K., Lukaszewicz, J., Jarocewicz, N. and Lorec, R. S. (1985) Rapid method for

- measuring physiological concentration of 25-hydroxyvitamin D levels in blood serum. *Clin. Chem. Acta* 153, 85-92.
- 102) Pybus, J. (1969) Determination of calcium and magnesium in serum and urine by atomic absorption spectrophotometry. *Clin. Chem. Acta* 23, 309-317.
- 103) Radostits, O. M., Blood, D. C. and Gay, C. C. (1994) Diseases caused by nutritional deficiencies: selenium and/or vitamin E deficiencies. In: *Veterinary Medicine*, 8th ed., pp. 1408-1425. Baillière Tindall, London.
- 104) Radostits, O. M., Blood, D. C. and Gay, C. C. (1994) Metabolic diseases: parturient paresis (milk fever). In: *Veterinary Medicine*, 8th ed., pp. 1314-1328. Baillière Tindall, London.
- 105) Ramberg, C. F. Jr., Mayer, G. P., Kronfeld, D. S., Aurbach, G. D., Sherwood, L. M. and Potts, J. T. Jr. (1967) Plasma calcium and parathyroid hormone responses to EDTA infusion in the cow. *Am. J. Physiol.* 213, 878-882.
- 106) Rand, R. J., Jenkins, D. M. and Scott, D. G. (1975). Maternal cardiomyopathy of pregnancy causing stillbirth. *Br. J. Obst. Gynaecol.* 82, 172-175.

- 107) Reinhardt, T. A., Horst, R. L. and Goff, J. P.
(1988) Calcium, phosphorus, and magnesium
homeostasis in ruminants. *Vet. Clin. North Am.
Food Anim. Pract.* 4, 331-350.
- 108) Reinhardt, T. A., Horst, R. L., Orf, J. W. and
Hollis, B. W. (1984) A microassay for 1,25-
dihydroxyvitamin D not requiring high
performance liquid chromatography: application
to clinical studies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*
58, 91-98.
- 109) Robinson, W. F. and Maxie, M. G. (1993). The
cardiovascular system. In: K. V. F. Jubb, K. V.
F., Kennedy, P. C. and Palmer, N. [eds.]
Pathology of Domestic Animals, 4th ed., Vol. 3.,
pp. 1-100. Academic Press, San Diego,.
- 110) Rubler, S., Damani, P, M. and Pinto, E. R. (1977)
Cardiac size and performance during pregnancy
estimated with echocardiography. *Am. J. Cardiol.*
40, 534-540.
- 111) Ruigrok, T. J. C., Boink, A. B. T., Spies ,F.,
Blok, F. J., Maas, A. H. J. and Zimmerman, A. N.
E. (1978) Energy dependence of the calcium
paradox. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 10, 991-1002.
- 112) Sakakibara, S., Sekiguchi, M., Konno, S. and
Kusumoto, M. (1970) Idiopathic post-partum

- cardiomyopathy: report of a case with special reference to its ultrastructural changes in the myocardium as studied by endomyocardial biopsy. *Am. Heart J.* 80, 385-395.
- 113) Sætersdal, T. S., Myklebust, R., Skagseth, E. and Engedal, H. (1976) Ultrastructural studies on the growth of filaments and sarcomere in mechanically overloaded human hearts. *Virch. Arch. B: Cell Pathol.* 21, 91-112.
- 114) Setia, M. S., Singh, A., Kahlon, R. S. and Randhawa, S. S. (1996) Alteration in the systemic acid-base status and blood gas dynamics during progressive hypocalcaemia in cows calve. *Ind. J. Exp. Biol.* 34, 375-376.
- 115) Smith, J. J. and Kampine, J. P. (1984) 心臓の電気的特性. In: 循環の生理, 第2版 (松村準 監訳, 1989), pp.54-78, 医学書院, 東京.
- 116) Smith, J. J. and Kampine, J. P. (1984b) 心臓の収縮特性. In: 循環の生理, 第2版 (松村準 監訳, 1989), pp.79-97, 医学書院, 東京.
- 117) Smith, V. R. and Brown, W. H. (1963) Response of some blood constituents to infusions of disodium ethylenediamine tetraacetate in intact cattle. *J. Dairy Sci.* 46:223-226.
- 118) 其田三夫 (1975) 乳牛の起立不能症とその対策(1). 畜産の研究

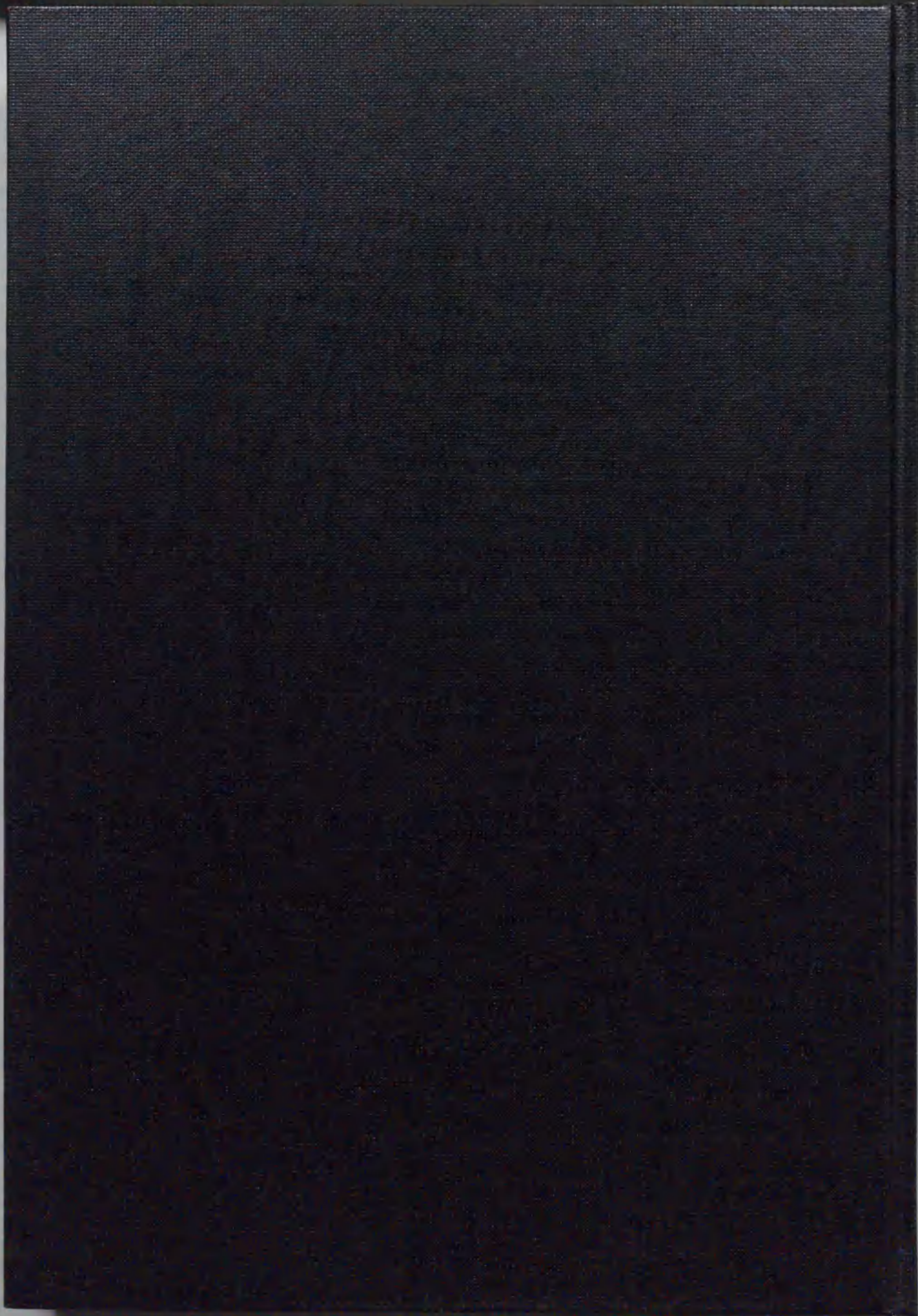
- 28, 23-28.
- 119) 其田三夫, 黒沢隆, 高橋清, 鈴木隆秀, 中出哲也, 松川清, 千早豊 (1984) 牛の特発性うっ血性心筋症に関する研究. 家畜診療 247, 3-11.
- 120) 相子正隆 (1986) 乳牛の心房細動症について. 臨床獣医 4, 36-45.
- 121) Stöber, S. and Dirksen, G. (1982) The recumbent cow: differential diagnosis and differential therapy. *Vet. Ann.* 22, 81-94.
- 122) 高橋清, 塩谷誠, 小岩政照, 其田三夫, 久保勝, 野村武, 平内邦夫 (1980) 乳牛にみられた心房細動の6症例. 日獣会誌 33, 11-16.
- 123) Takemura, N., Koyama, H., Sako, T., Ando, K., Uchino, T., Motoyoshi, S. and Marumo, F. (1989) Measurement of atrial peptide in bovine plasma and urine by radioimmunoassay. *Jap. J. Vet. Sci.* 51, 843-845.
- 124) 竹村直行, 本好茂一 (1994) 心房性ナトリウム利尿ペプチド. 獣畜新報 47, 119-124.
- 125) Thiedemann, K.-U. and Ferrans, V. J. (1977) Left atrial ultrastructure in mitral valvular disease. *Am. J. Pathol.* 89, 575-604.
- 126) Van Vleet, J. F. and Ferrans, V. J. (1986) Myocardial disease of animals. *Am. J. Pathol.* 124, 98-178.

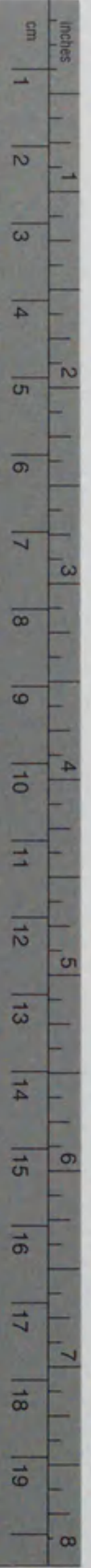
- 127) Van Vleet, J. F., Ferrans, V. J. and Ruth, G. R. (1977) Ultrastructural alterations in nutritional cardiomyopathy of selenium-vitamin E deficient swine. I. Fiber lesions. *Lab. Invest.* 37, 188-200.
- 128) Van Vleet, J. F., Ferrans, V. J. and Ruth, G. R. (1977) Ultrastructural alterations in nutritional cardiomyopathy of selenium-vitamin E deficient swine. II. Vascular lesions. *Lab. Invest.* 37, 201-211.
- 129) Van Vleet, J. F., Ferrans, V. J. and Weirich, W. E. (1980) Pathologic alterations in hypertrophic and congestive cardiomyopathy of cats. *Am. J. Vet. Res.* 41, 2037-2048.
- 130) Van Vleet, J. F., Greenwood, L., Ferrans, V. J. and Rebar, A. H. (1978) Effect of selenium-vitamin E on adriamycin-induced cardiomyopathy in rabbits. *Am. J. Vet. Res.* 39, 997-1010.
- 131) Van Vleet, J. F., Rebar, A. H., Ferrans, J. F. (1977) Acute cobalt and isopreterenol cardiotoxicity in swine: protection by selenium-vitamin E supplementation and potentiation by stress-susceptible phenotype. *Am. J. Vet. Res.* 38, 991-1002.
- 132) Veile, J.-C. (1984) Peripartum cardiomyopathy: a

- review. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 148, 805-818.
- 133) Waage, S. (1984) Milk fever in the cow - course of disease in relation to the serum activity of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, creatine kinase and gamma-glutamyltransferase. *Nord. Vet.-Med.* 36, 282-295.
- 134) Waage, S. (1984) The relationship between certain clinical characteristics and course of disease in milk fever in dairy cows. *Nord. Vet.-Med.* 36, 346-353.
- 135) Wagner, G. S. (1994) 種々の病態. In: マリオット臨床心電図 (松村準 監訳, 1995), pp. 154-173, 医学書院 MYW, 東京.
- 136) Weiss, W. P., Hogan, J. S., Smith, K. L., Todhunter, D. A. and Williams, S. N. (1992) Effect of supplementing periparturient cows with vitamin E on distribution of α -tocopherol in blood. *J. Dairy Sci.* 75, 3479-3485.
- 137) Weiss, W. P., Hogan, J. S., Smith, K. L. and Williams, S. N. (1994) Effect of dietary fat and vitamin E on α -tocopherol and β -carotene in blood of peripartum cows. *J. Dairy Sci.* 77, 1422-1429.
- 138) Weiss, W. P., Todhunter, D. A., Hogan, J. S. and

- Smith, K. L. (1990) Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73, 3187-3194.
- 139) Yamagishi, N. and Naito, Y. (1997) Calcium metabolism in hypocalcemic cows with myocardial lesion. *J. Vet. Med. Sci.* 59, 71-73.
- 140) Yamagishi, N., Ogawa, K. and Naito, Y. (1998) Pathological changes in the myocardium of hypocalcaemic parturient cows. *Vet. Rec.* 143 (in press).
- 141) Yamagishi, N., Okada, H., Koiwa, M., Kudo, K., Matsuo, N. and Naito, Y. (1995) Peripartum heart disease in cows. *J. Comp. Pathol.* 113, 373-382.
- 142) 山岸則夫, 大泉俊昭, 佐藤れえ子, 内藤善久 (1996) 乳熱病歴を有する乳牛の分娩前後における血漿中上皮小体ホルモンならびに 1,25-dihydroxyvitamin D 濃度の変動. *日獣会誌* 49, 724-728.
- 143) Yates, D. J. and Hunt, E. (1990) Disorder of calcium metabolism. In: Smith, B. P. [ed.] *Large Animal Internal Medicine*, pp. 1315-1322. C. V. Mosby Company, St. Louis.
- 144) Zimmerman, A. N. E. and Hüllsmann, W. C. (1966) Paradoxical influence of calcium ions on the permeability of the cell membrane of the isolated

rat heart. Nature 211, 646-647.





Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 **M** 8 9 10 11 12 13 14 15 **B** 17 18 19

