

氏名（本籍）	山田学（愛知県）
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣医博甲第74号
学位授与年月日	平成12年3月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	帯広畜産大学
学位論文題目	牛のイヌサフラン中毒の病理学的研究
審査委員	主査 帯広畜産大学 教授 松井高峯 副査 帯広畜産大学 教授 山田純三 副査 岩手大学 教授 岡田幸助 副査 東京農工大学 教授 神田尚俊 副査 岐阜大学 教授 柵木利昭

論文の内容の要旨

激しい水様性下痢を主症状として6頭のホルスタイン成牛が発症後2日の経過で斃死した。病理解剖により前胃内容物に多数のイヌサフラン球根が認められ、飼料中に混入したイヌサフラン球根による中毒症が疑われた。しかしながら、死後変化が強く詳細な病理組織学的検索は不可能であった。

本研究では、牛のイヌサフラン中毒の病理発生を明らかにするため、牛およびマウス、モルモットを用いて本症の実験的研究を行った。本論文は5章より構成されている。

第1章では、11頭のホルスタイン子牛にイヌサフラン球根を投与し、イヌサフラン中毒の再現実験を実施し、詳細な病理組織学的所見を明らかにした。投与例では激しい水様下痢が認められ、経時的な安楽殺例を除き、全例死亡した。病理組織学的所見として、腸絨毛が極度に短縮するとともに、腸粘膜基底層の上皮細胞において核濃縮像、核崩壊像および有糸分裂像の増加が認められた。また全身のリンパ・造血組織等においてもリンパ球等に核濃縮像、核崩壊像が認められた。検索した肝臓、腎臓、胸骨骨髓よりコルヒチンが生化学的に検出された。

第2章では、牛の実験的イヌサフラン中毒において、腸粘膜細胞等において観察された細胞傷害にアポトーシスが関与することを、*in situ* DNA断片化の有無、および電子顕微鏡的に検索した。その結果、イヌサフラン中毒における細胞傷害はアポトーシスとしての核濃縮および核崩壊と、有糸分裂阻害という二つの細胞傷害機構があることを明らかにした。

第3章では、マウスとモルモットにイヌサフラン球根とコルヒチンの投与実験を行い、それぞれの感受性と毒性を比較検討した。その結果イヌサフラン球根とコルヒチン投与で

モルモットおよびマウスにおいて同一の病変が認められ、イヌサフラン中毒はコルヒチンに起因することを明らかにした。しかしながら、モルモットとマウスでは病態を異にしていた。モルモットでは牛のイヌサフラン中毒と同様に下痢と、腸絨毛の短縮が認められたが、マウスにおいては認められなかった。腸粘膜上皮細胞における核濃縮像、核崩壊像、分裂停止細胞の増加といった、牛のイヌサフラン中毒において認められた特徴的所見はモルモットおよびマウスの両者で認められた。モルモットとマウスにおける病態の差は消化管粘膜上皮細胞の排出機構の種差に起因しているものと思われた。

第4章では、コルヒチン投与モルモットとマウスの腸絨毛を電子顕微鏡的に検索して比較した。その結果、モルモット、マウスの両者において粘膜固有層に存在するマクロファージの細胞質突起が傷害を受けることが明らかにされた。モルモットとマウスにおけるコルヒチンの消化管毒性の種差は、腸上皮細胞の排出機構におけるマクロファージの生理的役割の違いに起因し、モルモットにおいては上皮細胞の脱落が促進され、マウスにおいては上皮細胞の脱落が阻害される事が示唆された。

第5章では、モルモットにおいて、コルヒチン投与後の腸粘膜上皮の傷害を経時的に検索し、腸絨毛短縮の詳細な病理発生を検討した。またコルヒチン投与後の腸粘膜上皮細胞の再生能力と、傷害を受けた細胞の動態を検索するため、BrdU 標識法を実施して検索した。モルモットにおける、コルヒチンによる腸絨毛の短縮は、前章でのマクロファージの傷害に加え、腸陰窩の細胞傷害と細胞再生能の傷害によって起こることを明らかにした。

以上の成果より、イヌサフラン中毒はイヌサフラン球根中に含まれるコルヒチンの作用によって生じる事を明らかにした。またコルヒチンの消化管粘膜への傷害は、上皮細胞への直接的な細胞傷害としてアポトーシスを誘導し、細胞増殖能の傷害として有糸分裂を阻害するとともにマクロファージの役割による上皮細胞排出機構の傷害が引き起こされる事を解明した。コルヒチンによって腸絨毛の短縮が起こる牛、モルモットでは急性致死性の下痢が認められ、腸絨毛短縮が起こらないマウスでは下痢が起こらなかった事より、イヌサフラン中毒における下痢の病理発生はコルヒチンの複数の細胞傷害機構に起因する腸絨毛の短縮とそれによって起こる消化吸収不良であることを明らかにした。

審 査 結 果 の 要 旨

激しい水様性下痢を主症状として6頭のホルスタイン成牛が発症後2日の経過で斃死した。病理解剖により前胃内容物に多数のイヌサフラン球根が認められ、飼料中に混入したイヌサフラン球根による中毒症が疑われた。しかしながら、死後変化が強く詳細な病理組織学的検索は不可能であった。

本研究では、牛のイヌサフラン中毒の病理発生を明らかにするため、牛およびマウス、モルモットを用いて本症の実験的研究を行った。本論文は5章より構成されている。

第1章では、11頭のホルスタイン子牛にイヌサフラン球根を投与し、イヌサフラン中毒の再現実験を実施し、詳細な病理組織学的所見を明らかにした。投与例では激しい水様下痢が認められ、経時的な安楽殺例を除き、全例死亡した。病理組織学的所見として、腸絨毛が極度に短縮するとともに、腸粘膜基底層の上皮細胞において核濃縮像、核崩壊像および有糸分裂像の増加が認められた。また全身のリンパ・造血組織等においてもリンパ球等

に核濃縮像、核崩壊像が認められた。検索した肝臓、腎臓、胸骨骨髓よりコルヒチンが生化学的に検出された。

第2章では、牛の実験的イヌサフラン中毒において、腸粘膜細胞等において観察された細胞傷害にアポトーシスが関与することを、*in situ* DNA 断片化の有無、および電子顕微鏡的に検索した。その結果、イヌサフラン中毒における細胞傷害はアポトーシスとしての核濃縮および核崩壊と、有糸分裂阻害という二つの細胞傷害機構があることを明らかにした。

第3章では、マウスとモルモットにイヌサフラン球根とコルヒチンの投与実験を行い、それぞれの感受性と毒性を比較検討した。その結果イヌサフラン球根とコルヒチン投与でモルモットおよびマウスにおいて同一の病変が認められ、イヌサフラン中毒はコルヒチンに起因することを明らかにした。しかしながら、モルモットとマウスでは病態を異にしていた。モルモットでは牛のイヌサフラン中毒と同様に下痢と、腸絨毛の短縮が認められたが、マウスにおいては認められなかった。腸粘膜上皮細胞における核濃縮像、核崩壊像、分裂停止細胞の増加といった、牛のイヌサフラン中毒において認められた特徴的所見はモルモットおよびマウスの両方で認められた。モルモットとマウスにおける病態の差は消化管粘膜上皮細胞の排出機構の種差に起因しているものと思われた。

第4章では、コルヒチン投与モルモットとマウスの腸絨毛を電子顕微鏡的に検索して比較した。その結果、モルモット、マウスの両者において粘膜固有層に存在するマクロファージの細胞質突起が傷害を受けることが明らかにされた。モルモットとマウスにおけるコルヒチンの消化管毒性の種差は、腸上皮細胞の排出機構におけるマクロファージの生理的役割の違いに起因し、モルモットにおいては上皮細胞の脱落が促進され、マウスにおいては上皮細胞の脱落が阻害される事が示唆された。

第5章では、モルモットにおいて、コルヒチン投与後の腸粘膜上皮の傷害を経時的に検索し、腸絨毛短縮の詳細な病理発生を検討した。またコルヒチン投与後の腸粘膜上皮細胞の再生能力と、傷害を受けた細胞の動態を検索するため、BrdU 標識法を実施して検索した。モルモットにおける、コルヒチンによる腸絨毛の短縮は、前章でのマクロファージの傷害に加え、腸陰窩の細胞傷害と細胞再生能の傷害によって起こることを明らかにした。

以上の成果より、イヌサフラン中毒はイヌサフラン球根中に含まれるコルヒチンの作用によって生じる事を明らかにした。またコルヒチンの消化管粘膜への傷害は、上皮細胞への直接的な細胞傷害としてアポトーシスを誘導し、細胞増殖能の傷害として有糸分裂を阻害するとともにマクロファージの役割による上皮細胞排出機構の傷害が引き起こされる事を解明した。コルヒチンによって腸絨毛の短縮が起こる牛、モルモットでは急性致死性の下痢が認められ、腸絨毛短縮が起こらないマウスでは下痢が起こらなかった事より、イヌサフラン中毒における下痢の病理発生はコルヒチンの複数の細胞傷害機構に起因する腸絨毛の短縮とそれによって起こる消化吸収不良であることを明らかにした。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

1. Histopathological study of experimental acute poisoning of cattle by Autumn Crocus (Colchicum autumnale L.)

Yamada, M., Nakagawa, M., Haritani, M., Kobayashi, M., Furuoka, H. and Matsui, T
Journal of Veterinary Medical Science 60 (8): 949 - 952, 1998

2. Supplementary report on experimental Autumn Crocus (Colchicum autumnale L.) poisoning in cattle : Morphological evidence of apoptosis

Yamada, M., Matsui, T., Kobayashi, Y., Furuoka, H., Haritani, M., Kobayashi, M. and Nakagawa, M.

Journal of Veterinary Medical Science 61 (7): 823 - 825, 1999