

氏 名 (本籍)	RADEN HARRY SOEHARTONO (インドネシア共和国)
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博甲第98号
学 位 授 与 年 月 日	平成13年3月13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	Etiological Factors of Abomasal Disorders: Immunohistochemical Study on Abomasum of Dairy Cattle
審 査 委 員	主査 帯広畜産大学 教授 山 田 明 夫 副査 帯広畜産大学 教授 宮 原 和 郎 副査 岩 手 大 学 教 授 原 茂 雄 副査 東京農工大学 教授 山 根 義 久 副査 岐 阜 大 学 教 授 工 藤 忠 明

論 文 の 内 容 の 要 旨

乳牛に多発している第四胃変位の発生必要前提条件である第四胃の拡張を伴った第四胃 atony の発生原因のひとつとして、第四胃壁筋層神経（筋層間神経叢および内外筋層間神経）の減少に基づく第四胃収縮運動の低下が挙げられている。しかし、従来の神経染色法ではこれら神経系の分布およびその量的状態を詳細に観察できなかったことから、乳牛の第四胃変位の発生原因を胃壁在神経障害との関連から究明した研究は乏しい。近年、胃壁在神経系のうち消化管機能制御機構としてのペプチド含有神経系が注目され、これを明らかにするための各種免疫染色法が確立され、多くの臓器・組織神経系の検索に広く応用されている。

Raden Harry SOEHARTONO 君は、乳牛の第四胃疾患の発生原因を第四胃壁在神経障害との関連から明らかにする目的で、以下の乳牛第四胃の免疫組織化学的検索を行なった。

1. 乳牛の第四胃壁在神経の免疫組織化学的検索：

未だその詳細が不明である乳牛の第四胃壁在神経系分布状態を検索する目的で、第四胃疾患以外の疾患で屠殺された1歳と3歳の乳牛の第四胃壁在神経系を protein gene product (PGP) 9.5, neurofilament protein (NFP) および substance P (SP) 免疫染色法により観察した。その結果、第四胃壁の SP および NFP 神経が局在性に観察されたのに対し、PGP 9.5 神経は粘膜下神経叢・粘膜下層・筋層間神経叢および内外筋層で豊富に、かつ明瞭に観察できたことから、乳牛の第四胃壁在神経系の免疫組織化学的検索には、PGP 9.5 免疫染色法が有用

であることを明らかにした。また、第四胃疾患以外の疾病で屠殺された3歳の乳牛における第四胃壁筋層のPGP 9.5神経の発現頻度は、1歳の乳牛のそれに比べて胃壁全域で有意に減少していた。したがって、3歳の乳牛においてはすでに第四胃壁筋層神経の減少が潜在病変として胃壁全域に存在し、これに基づく第四胃の拡張を伴った atony（第四胃変位の発生必要前提条件）が発現していることを強く示唆した。

2. 第四胃疾患自然発生例における第四胃壁在神経の免疫組織化学的検索：

第四胃疾患例における第四胃壁筋層神経の分布・発現頻度を検索する目的で、第四胃変位例（左方変位例および右方変位例）および第四胃右方変位を伴った捻転例2例における第四胃壁筋層神経をPGP 9.5免疫染色法により観察し、第四胃疾患以外の疾病で屠殺されたControl例4例のそれと比較検討した。その結果、第四胃変位例における胃壁筋層神経の発現頻度は、Control例のそれに比べて明らかに粗であり、とくに捻転例での減少は顕著で、しかも、Control例では胃壁筋層神経の減少が胃壁全域で認められたのに対し、第四胃疾患例ではとくに胃底腺部での減少が顕著であった。この成績から、第四胃変位例および捻転例でみられた胃壁筋層神経の減少は、第四胃変位発生前に存在した神経の減少に本症発生時の胃壁伸展あるいは捻転に基づく神経損傷が重複した所見であると推察した。

3. 迷走神経切断子牛における第四胃のX線学的ならびに免疫組織化学的検索：

迷走神経切断が第四胃壁筋層神経に及ぼす影響を検索する目的で、胸部迷走神経のTotal vagotomyを行った1週齢子牛（神経切断例）の第四胃をX線撮影所見およびPGP 9.5免疫染色法で経時的に観察し、同週齢の非迷走神経切断子牛（Control例）と比較検討した。その結果、Control例における第四胃のX線撮影所見は、経時的に変化は認められなかったが、神経切断例では術後1日目に全例で第四胃 tonus 像、術後2週目に全例で拡張を伴った atony 像、4週目に4例中2例で食滯像（残り2例は重度の atony 像）が観察された。一方、第四胃壁筋層のPGP 9.5神経は、Control例ではその発現頻度に経時的変化は認められなかったが、神経切断例ではControl例に比べて術後2週目で胃体部大弯、4週目で幽門部小弯および幽門隆起で有意に減少していた。これらの成績から、第四胃変位の発生必要前提条件である拡張を伴った第四胃 atony は、第四胃壁筋層神経の減少に基づく第四胃収縮運動の低下がその発生原因のひとつであること、また、第四胃食滯は、幽門部胃壁筋層神経の減少に基づく機能性幽門狭窄（Hoflund syndrome typ III）がその発生原因のひとつであることを明らかにした。

4. 迷走神経切断子牛における第四胃内分泌細胞の免疫組織化学的検索：

迷走神経切断が第四胃内分泌細胞に及ぼす影響を検索する目的で、胸部迷走神経のTotal vagotomyを行った1週齢の子牛（神経切断群）を免疫組織化学的に経時的に検索し、同週齢の非神経切断子牛（Control例）と比較検討した。その結果、神経切断群における chromogranin, serotonin, somatostatin および gastrin 含有細胞の出現頻度は術後、Control例に比べて全般に減少したが、その程度は内分泌細胞の種類、存在部位、そして術後の経過によって異なっていたことから、迷走神経は、子牛の第四胃内分泌細胞の内在性調節機構に影響を与えていることを示唆した。

乳牛の第四胃変位の発生必要前提条件は、第四胃の拡張を伴った atony である。また、第四胃 atony は、第四胃壁筋層神経（筋層間神経叢および内外筋層間神経）の減少がその発生原因のひとつに挙げられているが、従来の神経染色法では胃壁筋層神経系の分布状態を詳細に検索することが困難であり、第四胃疾患の発生原因を第四胃壁在神経との関連から究明した研究は乏しい。近年、消化管機能制御機構としての胃壁在神経系のうちペプチド含有神経系の重要性が指摘され、これを明らかにするための各種免疫染色法が確立され、多くの臓器・組織の神経分布検索に汎用されている。本研究は、第四胃疾患の発生原因を第四胃壁在神経障害との関連から明らかにする目的で、以下の乳牛の第四胃を免疫組織化学的に検索した。

まず、未だその詳細が不明な乳牛の第四胃壁在神経の分布状態およびその発現頻度を protein gene product (PGP) 9.5, neurofilament protein (NFP) および substance P (SP) をマーカーとした免疫染色法により検索した。その結果、乳牛の第四胃壁在神経系の免疫組織化学的検索には PGP 9.5 免疫染色法が有用であることを明らかにした。また、第四胃疾患以外の疾病で屠殺された3歳の乳牛の第四胃壁筋層神経が1歳のそれに比べて胃壁全域で有意に減少していたことから、3歳の乳牛では第四胃の胃壁全域に筋層神経の減少が潜在病変として、すでに存在していることを強く示唆した。

次いで、第四胃疾患自然発生例（3歳）と第四胃疾患以外の疾病で屠殺された症例（Control 群、3歳）における第四胃壁筋層神経を PGP 9.5 免疫染色した。その結果、第四胃変位例の胃壁筋層の PGP 9.5 神経は、Control 群のそれに比べて明らかに粗であり、右方変位を伴った捻転例では顕著に減少し、しかも Control 群で壁筋層神経の減少が胃壁全域認められたのに対し、第四胃疾患例ではとくに胃底腺部での減少が顕著であった。したがって、第四胃疾患例自然発生例で観察された壁筋層神経の減少は、第四胃疾患発生前に存在した壁筋層神経の減少に第四胃疾患発生時の胃壁伸展に基づく神経損傷が重複した所見であることを推察した。

さらに、迷走神経切断が第四胃壁筋層神経に及ぼす影響を検索する目的で、胸部迷走神経全切断子牛（神経切断群）における第四胃の X 線学的ならびに免疫組織化学的所見を経時的に観察し、非神経切断子牛（Control 群）のそれと比較検討した。その結果、Control 群の第四胃の X 線撮影像では経時的变化は観察されなかったが、神経切断群では術後1日目に全例で第四胃 tonus 像、2週目に全例で拡張を伴った第四胃 atony 像、4週目に4例中2例で第四胃食滯像（他の2例は拡張を伴った atony 像）が観察された。一方、神経切断群の第四胃壁筋層における PGP 9.5 神経は、Control 群に比べて術後2週目に胃体部大弯、4週目に幽門部で有意に減少していた。これらの成績から、第四胃疾患の発生必要前提条件である第四胃の拡張を伴った atony あるいは第四胃食滯は、第四胃壁筋層神経の減少に基づく第四胃収縮運動低下あるいは機能性幽門狭窄が、その発生原因のひとつであることを明らかに

した。また、神経切断群における第四胃粘膜 gastrin, chromogranin, serotonin および somatostatin 含有細胞の出現頻度は術後、Control 群に比べて全般に減少し、その程度は内分泌細胞の種類、存在部位、術後経過で異なっていたことから、迷走神経は子牛の第四胃内分泌細胞の内在性調節機構に影響を与えるていることを示唆した。

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。

基礎となる学術論文

1. Raden Harry Soehartono, Haruo Yamada, Norio Yamagishi, Nobuo Kitamura and Kiyoshi Taguchi The effects of vagotomy on the abomasum in calves: Radiography and protein gene product 9.5 immunohistochemistry. The Journal of Veterinary Medical Science (in press).

既発表学術論文

1. Sabdi Hasan Aliambar, Rudy Bawolji and Raden Harry Soehartono (1992) Anestesi akupunktur untuk laparotomi flank serta aplikasinya untuk panen embrio pada transfer embrio sapi. Hemera Zoa (The Indonesia Journal of Veterinary Science) 75(3), 53-62
2. 田口 清, 佐川重信, 大谷昌之, 池滝 孝, Raden Harry Soehartono, 山田明夫 (2000) フリーストール牛舎飼養乳牛の蹄形状, 蹄底潜在病変形成および蹄病発生に及ぼす削蹄効果. 日本獣医師会雑誌 53(8): 503-507.
3. 田口 清, 佐川重信, 山岸則夫, Raden Harry Soehartono, 山田明夫 (2000) フリーストール牛舎飼養乳牛における後肢蹄外旋と蹄底潜在病変との関係. 日本獣医師会雑誌 53(10): 639-643.
4. 田口 清, Raden Harry Soehartono (2000) 非定型的な病状を示した乳牛の第四胃捻転. 臨床獣医 18: 82-85
5. 山田明夫, 山岸則夫, 李 仁炯, ラーデン・ハリー・スハルトノ, 田口 清, 大島茂幸 (2000) 子馬の喉嚢鼓脹症の1例. 動物臨床医学 9(3):155-158
6. Norio Yamagishi, Yoshiyasu Kobayashi, Akio Miyamoto, Raden Harry Soehartono, InHyung Lee, Kazurou Miyahara, Yoshihisa Naito and Haruo Yamada. Plasma atrial natriuretic peptide concentrations in hypocalcaemic cows. Veterinary Record (in press)