

放牧牛のソテツ中毒に関する研究

沖縄県における発生状況, 生物化学および病理学的検索

小林 昭・田寺謙次郎・八木史郎・河野猪三郎*

坂本 司**・安田宣紘*

(生物化学及び栄養化学研究室・*家畜病理学研究室)

昭和58年8月10日受理

Studies on Poisoning of Grazing Cattle due to Ingestion of *Cycad, Cycas revoluta* Thunb.

Incidence of Cycad-Poisoning of Cattle in Okinawa Prefecture,
Biochemical and Pathological Findings

Akira KOBAYASHI, Kenjiro TADERA, Fumio YAGI, Isaburo KONO*,

Tsukasa SAKAMOTO** and Nobuhiro YASUDA*

(Laboratory of Biochemistry and Nutritional Chemistry,

*Laboratory of Veterinary Pathology)

緒 論

1975年頃から沖縄県における放牧牛, 主として黒毛和牛に運動障害がみいだされ, 重症牛では後軀麻痺, 起立不能となり, 廃用となるものが多発した. 同様な症状を呈する牛は, その後同県下の離島の数カ所に, さらに鹿児島県の離島にも相ついで報告され, 食糧基地として畜産の発展をめざす両県にとって重大な問題を提起した. 沖縄県家畜衛生試験場等の関係者は, 諸般の調査の結果, 本症状がこの地方に自生するソテツの葉を放牧牛が採食したための中毒であると推論した. この種の症状の牛は, 往年中央アメリカの諸国や, オーストラリアの放牧牛にも多数の発生がみられ, 臨床的, 病理学的研究が行われているが, ソテツ葉中の原因物質, あるいはソテツの有毒配糖体 cycasin との因果関係などについては, なお未解決である. 本研究では本病の本態を解明するため, 発生状況, 発生牧場牛の血液および組織の生物化学的分析ならびに病牛の病理学的検査を行った.

材 料 と 方 法

1. 現地調査

1979年1月, 1981年7月, 1982年6月, それぞれ沖縄県下の伊平屋島, 水納島および黒島において, 現地における発生状況, ソテツの自生状態等を調査した. また, 病牛を現地において病理解剖し, 発生牧場の牛の血液を採集, 各臓器とともにもちかえり, 血液および組織の生物化学的分析ならびに病理組織学的検索に供した. 血液成分の分析法は結果と考察の項に記した.

2. 発症牛の検査

1982年9月重症の病牛2頭を黒島から本学に移送し, 2~3カ月にわたり, 臨床的観察と血液の生物化学的分析を行った. 各組織の分析法は後述した.

3. 病理組織学的検査

各臓器は肉眼的検索ののち, 常法によりホルマリン固定, パラフィン包埋し, H-E, アザン, ワンギーソン, ワイゲルト, PAS および LFB などの各種染色を行った.

結 果 と 考 察

1. ソテツの毒性ならびに発症例に関する従来の研究

ソテツは, かつて中生代に地球上に繁茂した古い植物で, シダ類と被子植物との中間の進化段階に位置する裸子植物のひとつである. 分類学的には9属100種のソテツが, 広く熱帯および亜熱帯地域に分布してい

本論文の一部は, 第7回動物・植物・微生物毒素に関する国際会議 (オーストラリア・1982) および第94回日本獣医学会 (鳥取・1982) で発表した. また, 本研究の一部は, 文部省科学研究費 (課題番号 56480044) の補助を受けた.

** 岩手大学農学部 Faculty of Agriculture, Iwate University

るが、わが国のものは *Cycas revoluta* Thunb. 1 種のみで、九州南端から奄美、沖縄の南西諸島に自生している。

この植物の毒性については、Whiting¹⁶⁾ のすぐれた総説があり、ヒトの中毒、有毒成分の化学的研究を含め、1960 年代までの文献が網羅されている。家畜のソテツ中毒は、古くから知られ、牧畜関係者にとって重大な経済問題であった。数千頭の牛や綿羊が被害を受け、ソテツを除去する費用と困難さの故に、広大な牧野を放棄せざるをえなかった。これらはドミニカ、プエルトリコ、メキシコ等の中央アメリカにも多発したが、オーストラリアにおける記録をたどると、最初の報告では 1879～1884 年に、ニューサウスウェルス州で 200 頭の家畜が失われている。その後の散発を経て、1900 年には 900 頭のうち 400 頭が斃死し、1930 年にはピークに達している。いずれもソテツの葉ないし新芽を採食したためとみられ、急性の胃腸障害と後軀麻痺が観察されている。綿羊が完熟種子を採食し、6000 頭のうち 2200 頭が斃死した記録がある。

ソテツ葉を牛に投与して、中毒症の実験的再現性を検討した研究は、オーストラリアの Hall らの報告^{1,2)} がある。14 例の実験において投与量、期間はかなりまちまちであるが、葉の採集から投与までの間に、日数が経過し、乾燥したものでは、毒性の損失があり、中毒症状は発現しないとしている。後軀麻痺の典型的な症状を発現させるには、相当量の葉を長期間にわたって投与する必要がある。18 カ月齢、体重 650 lb の去勢牛の 1 例では 100 日間にわたり計 154 lb の葉を投与し、86 日目に軽度の運動失調を、100 日で症状進行し、運動麻痺をきたしている。これらの症状はいずれも不可逆的で、重症例では斃死している。

ソテツの有毒成分として、西田ら¹⁰⁾ がはじめて単離した cycasin は、methylazoxymethyl- β -D-glucoside なる配糖体である。このものは注射で投与したときは毒性を発現せず、経口投与では急性中毒して斃死することから、配糖体の形では毒性を発現せず、腸管内微生物の β -グルコシダーゼによって加水分解され、遊離したアグリコン、methylazoxymethanol (MAM) が作用するものと考えられた¹¹⁾。

その後アメリカでとりあげられたソテツに関する研究は、グアム島のチャモロ族住民の間に多発する筋萎縮性側索硬化症 amyotrophic lateral sclerosis (ALS) と、ソテツ食との関連性の疑いに端を発している。住民はソテツの毒性を充分知悉しており、水洗除毒した種子を食用としているが、ALS と家畜にみられるソテ

ツ中毒の神経症状との類似性に着目したものであった。しかし、この研究において、除毒しないソテツ種子は、実験動物に ALS を誘発せずに、発癌性がみいだされるにおよび、多大の関心を集めることになった⁸⁾。発癌因子の本体は cycasin、さらにそのアグリコン MAM にはかならない。MAM は小林らが cycasin の酵素による加水分解物から単離し、また、安定なその誘導体を調製してそれらの毒性を証明した⁷⁾。これらを用いた発癌に関する研究は、多数報告されている。ソテツに基因する神経症状については、その後 cycasin ないしアセチル MAM を注射したラットの新生児に、小脳症をきたすことがみいだされ、これにも多くの研究があるが、ALS との直接の関連性を証明するには至っていない。以上の経過やその間の文献については、第 6 回ソテツ会議の記録に記載されている¹⁴⁾。

オーストラリアにおける最近の家畜のソテツ中毒に関する研究では Hooper らの報告があり、少数ではあるが発生はみられる^{5,6,15)}。最近、Louw らは南アフリカのソテツ種子について、水抽出液の高分子物質画分がモルモットに神経症状をきたすことを報告している⁹⁾。

以上のようにソテツの毒性については、発癌性や小脳症発現に関して多くの研究がなされてきたにもかかわらず、神経症状発現に関しては、なお未解決の問題を残している。これらの背景に立ち、本研究では、今回、沖縄県下に発生したソテツ中毒牛の発生状況、血液および組織の生物化学的分析、病理学的検索を行った。

2. 発症例の現地調査

1975 年以降 1982 年まで、発症の報告のあった各島の位置を Fig. 1 に、また、発生数を Table 1 に示した。

1) 伊平屋島

1979 年 1 月、小林が沖縄県畜産課、家畜衛生試験場、北部家畜保健衛生所、畜産試験場、ほか関係者の合同現地調査に同行、現地の状況を視察し、また、供与された各種資料について調査した成績は次のとおりである。

病牛の最初の発見から原因究明までの経過は次のように要約される。1975 年頃から伊平屋村の村営牧場において牛の奇病が発生した。その後、他の島においても放牧牛に限って総計 60 数頭に発生し、その原因について畜産技術者間で、伝染病、寄生虫病、中毒、代謝障害等の疑いが論議された。各機関の共同調査研究の結果判明した事実は、1. 特定の放牧場にのみ発生

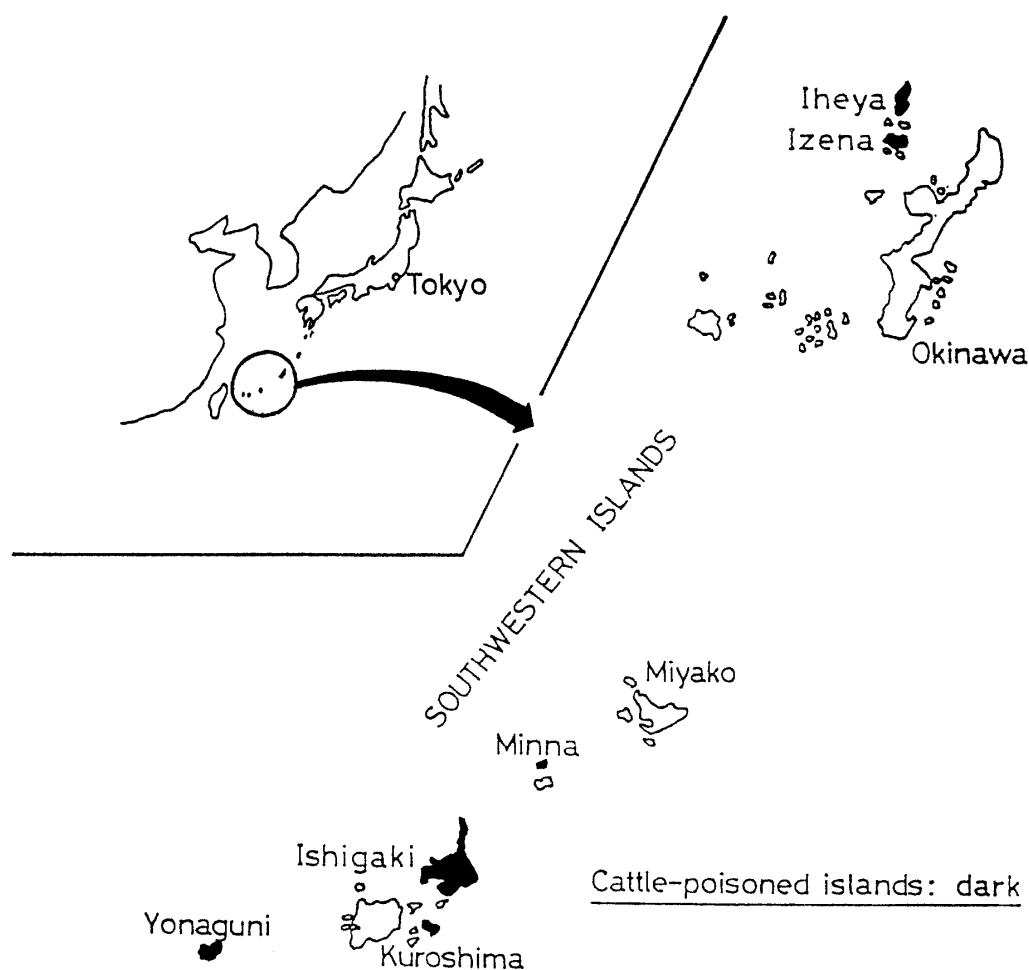


Fig. 1. Geographical distribution of the diseased cattle.

Table 1. Outbreaks of cycad-poisoning of cattle in Okinawa Prefecture

Year	Location	Number of cattle	
		Grazed*	Poisoned
1975	Iheyajima	61	33
	Izenajima	58	11
	Ishigakijima	50	4
1977	Kuroshima	3	3
	Yonagunijima	3	3
1981	Minnajima	112	5
1982	Kuroshima	1700	60

* Numbers in 1975–1977 and 1981 are those in individual ranch.

し、隣接の舎飼牛には発生がない。2. 発生時期は、5～6月に集中する傾向がある。3. 発生牧野に共通してソテツの葉が異常に採食されている、などであった。

ここで病因としてソテツの葉が注目され、文献によ

り、外国における従来の中毒例を知り、それらと同様な運動障害をきたす神経性疾患であることを確認した。現地で腰フラ病と名づけられたこの牛の奇病が、「牧野に自生するソテツの葉を牛が採食することによって発生する中毒症」とであると結論した。

伊平屋島の現地は1972年以降、5カ年計画の団体営草地開発整備事業で造成された、60haの急峻な傾斜地（傾斜20～40度、標高30～50m）で、5牧区にわかれ周年輪間制により60頭の牛を放牧している。草生はローズグラス、ネピアグラス、チガヤが主で、ほかにソテツ、ツバキ、マツ、アダンなどの雑木があり、概して草地基盤貧弱なため牛の栄養状態は悪い。可能なかぎり牛を集めて調査したが、歩行異常なものが多く、後軀麻痺、尿失禁を呈する重症牛も相当数みられた。とくに角の損傷が顕著で、正常な角度でない牛が多く、脱角したものが多かった。

牧野内のソテツの葉には、動物が食いちぎったあとが多くみられた。これらの葉は組織が極めて硬くなった成葉で、小動物による食痕ではなく、また、該当す

るような野生の大動物はここには生息しないことから、放牧牛によるものと推定できる。中毒症の発症が初夏に多いことは、ソテツの新芽が萌出する時期に相当し、組織の柔軟な新芽が食されやすいことは十分類推できるが、牧草の不足に際しては成葉をも食することを示している。隣接する私営の牧場では牧野、動物の管理は良好で、病牛はみられず、牧野内のソテツの葉はなんらの損傷もなかった。

2) 水納島

1981年7月病牛発生の連絡があり、調査対象とした。水納島は多良間島の北方10kmにある平坦な小島で、住民のほとんどは経済的理由から多良間島に先年移住し、現在1家族のみが残留して、112頭の牛ならびに約200頭の山羊を飼養している。1981年5月頃から2頭の牛に腰のふらつき症状がみられた。同様な症状を呈する牛が3月頃からみられたが、2頭は斃死した。山羊には発症はみられなかった。牧野は約130haでソテツ、モクマオウ、アダン等が散在して群生している。ソテツの葉には食われた形跡があった。牧野の2/3以上はハマヒルガオにおおわれているが、牛はこれをほとんど採食しない。1/3程度にはチガヤ、スズメノヒエがあるが、地上部は食いつくされている。家畜の飲水は井戸によっているが塩度が高く、天水は十分でない。牛は一般に栄養不良であり、牧草地の早急な改良が必要である。2頭の患牛の運動障害は比較的軽微で、歩行時には顕著でないが、速歩になると腰がふらつき、転倒しやすく、起立に困難がみられた。これらの病牛の1頭を剖検した。

剖検所見：黒毛和牛、15ヵ月齢、雄、体格中等度、被毛やや粗剛、肛門周囲に水様便付着、可視粘膜やや

黄色を帯び、皮下脂肪は乏しい。胃内容中等量でモクマオウ、ハマヒルガオの葉片が少量存在し、小腸内容中等量、大腸便水分に富む。腸間膜リンパ節やや腫大し、剖面液状成分に富む。肝臓は黄褐色にして、やや腫大し、胸腔内胸水少量で、肺は淡桃色にして収縮良好。心臓の心内膜下出血、とくに左心室の心内膜下出血が顕著である。大動脈起始部はやや肥厚し、胸大動脈内面は粗造である。その他の臓器にはとくに異常は認められなかった。

以上、病理解剖の主要所見は、1.肝変性、2.心内膜下出血、3.大動脈起始部の水腫、4.大動脈中膜の石灰化、5.腸カタルなどであった。

病理組織学的所見：肝臓、肝細胞腫大し、中心静脈の拡張がみられ、また、ある部位においては小葉間結合組織が斑状に増殖し、中に腺腫様形成がみられた。心内膜下出血部は出血顕著で、出血部位の心筋の壊死がみられた。胃は軽度の局所性の粘膜壊死がみられ、小腸、大腸における粘膜下組織のリンパ節が腫大増殖している部位もみられた。粘膜の細胞浸潤は軽度であった。大動脈起始部中膜の水腫は顕著で、弾性線維の萎縮がみられ、胸部大動脈の中膜の石灰化が著しい。とくに注目すべき病変として、脊髄の背索部神経線維には、エオシンに好染する球状体、いわゆる spheroid body が、頸髄から胸髄にかけて認められた。

血液の生化学的検査：病牛を含めて健康牛の10頭の血液学的検査で、赤・白血球数、白血球百分率では病牛と健康牛との間には差異はみられなかった。血液の生化学的検査の成績は、Table 2に示したとおりで、GOT値がやや高い以外には、対照とした健康牛と比較して異常はみられなかった。

Table 2. Biochemical examinations on blood of cattle, Minnajima

Animal	GOT (KU)	GPT (KU)	CPK (IU)	ZTT (KU)	Al-p (KA-U)	BUN (mgN/ dl)	T.p. (g/dl)	Bili- rubin (mg/dl)	Chole- sterol (mg/dl)	Electrolytes (mgEq/l)			
										Mg	Ca	K	Na
No. 1	39.56	23.14	18.31	2.06	3.62	5.44	2.4	0.11	72.9	1.91	4.42	4.00	140
No. 2	77.12	25.57	25.49	3.76	10.25	8.21	5.3	—	167.4	2.11	4.42	4.03	140
No. 3	63.73	25.39	40.70	1.31	7.42	5.74	5.1	0.07	127.8	1.89	4.58	4.34	145
No. 4	71.98	34.10	39.17	6.15	3.13	11.96	6.7	—	119.0	1.97	4.47	4.90	138
No. 5	66.80	25.97	20.51	3.89	4.84	8.71	6.8	—	147.8	1.93	4.36	4.35	141
No. 6	54.57	24.48	38.57	3.52	2.25	8.18	6.2	0.17	120.9	1.93	4.58	3.24	144
No. 7	69.86	28.06	78.47	6.68	11.30	12.62	6.0	0.04	131.1	1.93	4.58	4.81	138
No. 8	48.07	23.01	33.35	5.20	5.04	7.73	6.8	—	127.7	2.15	4.79	4.22	140
No. 9	68.99	17.63	22.97	2.89	7.14	4.07	4.4	0.15	84.2	1.93	4.09	4.50	138
No.10	88.40	20.57	79.65	1.25	4.31	8.39	4.8	0.39	78.3	1.77	4.31	4.63	135

Animals Nos. 1-9 are healthy controls and No. 10 is poisoned.

考察：心内膜下の出血，肝細胞変性は中毒を示唆している。大動脈起始部中膜の水腫変性と，肝臓間質の腺腫様形成は興味ある病変である。大動脈の中膜石灰化は，4～5才の牛には通常みられるが，15カ月齢で顕著な石灰化の病変は珍しく，なんらかの要因が中膜の変性壊死を発現させた結果と考えられる。脊髄にみられる spheroid body は，軸索が途中で切断され，その中枢側で軸索が反応性に膨化したものである。この病変について Hooper らは *Cycas media* の新葉の実験的投与，およびソテツ葉採食によると思われる野外例の，後軀運動障害牛の脊髄に同様な部位で認めており，これをソテツ中毒牛の特徴としてあげている³⁾。Spheroid body の認められた頸髄，胸髄の背索部は腰髄，仙髄から上行する神経線維走行路に一致している。したがって該部の病変は後軀の運動障害と関連があることが考えられる。

3) 黒島

黒島における牛の中毒は1978年頃から散発していたが，1982年2月頃よりとくに顕著となり，この年に多発した。放牧牛の総数は推定1700頭で60頭に発症し，うち確認されたものは45頭であった。牧野ならびに発症の状況は，上述の他の島での調査結果とはほぼ同様である。このように多数の牛に再び発症がみられたのは，牧場の造成と牛の過剰導入に理由づけられる。現状での放牧適正規模は約800頭と推算されている。牧野は樹高4～5mのソテツ群生地を，ブルドーザーで開墾造成したものであるが，土質が固い岩盤であったため，樹高の低いソテツを残し，牛の接近を容易にした。また，地下に残存した茎幹や塊根からその後再び新芽を萌出し，牛に採食されたことは注目すべきことである。

病牛の1頭の剖検所見は，次のとおりである。

剖検所見：黒毛和牛，15カ月齢，去勢雄，栄養状態不良，後軀蹠跄，腹水，心嚢水ともに著しく増量し，全身的に水腫性であった。肝臓はやや萎縮，腎臓は黄褐色，脾臓萎縮，肺は収縮良好，左後葉に母指頭大の結節があり，剖面に肺虫を認めた。心臓はやや柔軟，大動脈壁は菲薄化し，腹部大静脈肥厚して，両者はほぼ同等の厚さとなっていた。脾臓は多数の脾蛭を認めた。胃内容中等量にして，第4胃粘膜は水腫がみられ，数種類の胃虫が多数寄生しているのが認められた。坐骨神経ならびにその周辺是水腫顕著であるが，出血は認められなかった。腰部脊髄に多量の脊髄液が認められ，大脳側室には髄液を充たし，脳水腫に近い病変であった。角は先端折損し，基幹部出血壊死し，ぐらついていた。以上の病理解剖の主要所見は，1. 腹水，心嚢水増量，2. 腹部大静脈肥厚，3. 脳内水腫，4. 肝変性，5. 脾蛭症，6. 胃虫症であった。

病理組織学的所見：肝臓は肝細胞の腫大，中心静脈の拡張がみられ，腹部の後大静脈は平滑筋線維の増殖による肥厚が顕著である。脊髄における病変として，脊髄の正中背隔膜にそった薄束と側索辺縁部の神経線維の変性，壊死，fibrillary gliosis がみられた。

血液の生化学的検査：本学に移送した黒島の病牛2頭を含め9頭の血液学的検査を行ったが，赤・白血球数，白血球百分率では，健康牛との間には差異はみられなかった。血液の生化学的検査の成績はTable 3に示したとおりで，一般に病牛においてコリンエステラーゼ活性がやや低かった。

考察：組織学的には，血管病変，寄生虫性病変，肝病変，神経病変が主なるものであるが，臨床的所見との関連性では脊髄病変が注目される。Hall ら²⁾はオー

Table 3. Biochemical examinations on blood of cattle, Kuroshima

Animal	GOT (KU)	GPT (KU)	CPK (IU)	Al-p (KA-U)	BUN (mgN/ dl)	γ-GTP (KU)	ChE (IU)	Electrolytes (mgEq/l)			
								Mg	Ca	K	Na
No. 1	57.10	26.64	28.51	2.40	19.44	72.22	297.0	1.66	4.22	5.49	142.6
No. 2	68.85	25.70	17.33	2.69	14.29	30.43	205.8	1.35	4.20	5.77	152.1
No. 3	6.90	27.50	24.28	3.62	16.07	40.66	177.7	1.64	4.78	5.24	146.7
No. 4	61.66	25.90	22.82	1.82	12.04	28.05	134.4	1.11	3.22	4.23	117.2
No. 5	71.74	28.34	17.53	5.05	12.02	16.57	134.7	1.70	4.07	4.60	136.8
No. 6	72.16	28.19	19.34	3.48	19.05	50.11	134.0	1.28	5.15	4.48	144.2
No. 7	84.97	21.08	33.12	3.12	17.24	28.80	164.1	1.96	4.23	5.50	175.6
No. 8	53.01	20.21	94.39	5.15	11.23	—	170.9	2.00	4.84	4.45	138.3
No. 9	72.88	20.74	138.20	8.28	7.18	—	205.9	1.59	4.35	4.24	138.4

Animals Nos. 1-3 are healthy controls and Nos. 4-9 are poisoned.

ストラリアにおけるソテツ, *Bowenia serrulata*, *Macrozamia lucida* の実験的投与牛およびソテツ葉を採食した野外例で、後軀蹠跲の症状を認め、脊髓病変として頸髄の正中背中隔にそった薄束と側索辺縁に変性した軸索を検出し、本病の主病変としているが、今回の病牛も類似した病変である。本病変はソテツ葉採食による特徴的所見と考えられ、水納島の病牛にみられた spheroid body と同様に該部は腰髄、仙髄から上行する神経線維走行路に一致していることから、該部の病変は後軀運動障害と関連のあることは明白であろう。

3. 生物化学的試験

1) 血清

水納島および黒島において、採集した病牛ならびに対照とした健康牛の血清について、グルコースとタンパク質を定量した。分析にはシノテスト社のグルコメッサー試薬、ならびに Lowry の変法³⁾ をそれぞれ適用した。結果は Table 4 に示したとおりで、健康牛に比較して顕著な差はみられなかった。

Table 4. Glucose and protein in sera of cattle

Animal	Location	Glucose	Protein
		mg/100 ml	mg/100 ml
Healthy	Minnajima	31.4	8.6
		35.2	6.6
	Kuroshima	28.7	7.5
		30.9	7.5
		31.6	7.6
Poisoned	Minnajima	97.7	6.5
	Kuroshima	32.2	9.0
		38.9	9.8
		43.0	7.7

Glucose was determined by Glucomesser reagent, Shino-Test Co., and protein by the modified Lowry's method (3).

血清中の遊離アミノ酸については、波多野の方法⁴⁾に従って分析した。すなわち、血清 2ml に 1% ピクリン酸溶液 10ml を加え、遠心分離して除タンパクしたのち、上澄液 10ml を Dowex 2×8 (Cl⁻型) カラムにとおし、0.02 N HCl による溶出液を濃縮した。pH を約 8 として室温に 4 時間放置後、HCl で pH 2 とし、pH 2.2 の緩衝液で 5ml として、その 1ml を分析に供した。結果は Table 5 に示したとおりで、参考とした文献値と比較しても、健康牛、病牛ともにとくに差を認めえなかった。

Table 5. Free amino acids in sera of cattle

Animal	Healthy		Poisoned		Lit.*2
Location*1	M	K	M	K	
Lys	8.7	8.2	12.9	8.2	6.5
His	2.7	3.1	3.5	2.4	3.2
Arg	7.1	3.5	2.9	7.2	6.8
Asp	0.3	1.3	0.1	0.7	1.9
Thr	7.3	5.9	1.2	12.1	4.4
Ser	6.5	4.2	3.6	5.8	5.3
Glu	7.3	5.6	11.9	5.9	7.8
Pro	3.7	3.6	5.1	1.9	3.0
Gly	10.0	11.2	9.0	20.9	19.7
Ala	12.3	13.3	21.7	11.0	11.0
1/2 Cys	0.2	trace	0.8	trace	1.6
Val	19.0	13.8	13.9	8.7	9.9
Met	0.7	1.2	0.7	1.2	1.4
Ile	4.0	7.1	3.0	3.5	5.8
Leu	4.9	10.0	5.3	5.9	7.0
Tyr	2.4	3.0	1.9	2.3	2.3
Phe	2.9	5.0	2.5	2.3	2.4
HyPro	trace	trace	trace	trace	—
Total*3	229.4	217.9	203.3	171.9	119.9

Expressed as molar % of each amino acid per total ones. *1M, Minnajima; K, Kuroshima. *2 J.H. Peters *et al.*, Comp. Biochem. Physiol., **39B**, 639 (1971), 16 hr after fasting. *3 μ mol/100 ml.

2) 硬タンパク質

本病の特徴として、角の損傷、脱角がみられる。それとの関連性を検討するため、2,3の硬タンパク質のアミノ酸組成を分析した。試料は、黒島から移送した病牛の剖検の際に採集した。健康牛の対照試料としては、本学飼養牛の健康牛のものを採集し、試料とした。

角の基部から皮下の白色部分を採取した。結合組織、アキレス腱ならびに大動脈のエラスチンの、それぞれの酸加水分解物についてえたアミノ酸組成を、1000 残基当りモル数で計算した結果は、Table 6 に示した。エラスチンは O'Dell ら¹²⁾の方法に従って調製した。新鮮重量 4.4g の試料を、ワーリングブレンダーおよびテフロンホモゲナイザーを用いて、0.9% NaCl 溶液とともに磨砕した。10,000 rpm で 10 分間遠心分離し、沈澱を NaCl 溶液、アセトン、エーテルで順次洗浄遠沈したのち、0.1 N NaOH 65ml と 100°C で 1 時間処理した。さらに NaOH, アセトン, エーテルで洗浄、乾燥して白色の標品 620mg をえた。

Table 6. Amino acid composition of scleroproteins of cattle

Tissues	Connective, around horn-base				Achilles tendon			Aorta-elastin	
	Healthy		Poisoned		Healthy		Poisoned	Poisoned	Lit.* ³
	Animal* ¹		No. 8	No. 9			No. 8	No. 9	No. 9
			Left	Right* ²					
Lys	32	27	31	34	22	26	25	5	4
His	7	6	8	8	7	8	6	1	1
Arg	53	51	50	53	49	56	56	6	5
Asp	50	50	53	51	50	48	49	6	5
Thr	20	19	22	20	18	18	18	7	9
Ser	35	36	38	35	32	33	32	7	9
Glu	77	77	78	76	73	73	72	16	19
Pro	118	132	133	129	136	144	141	115	114
Gly	302	295	273	297	293	275	282	338	325
Ala	104	108	100	101	114	102	117	220	241
1/2 Cys	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace	trace
Val	28	26	28	25	25	36	23	143	135
Met	8	7	6	7	6	6	5	1	1
Ile	15	17	17	15	14	13	13	24	26
Leu	32	30	36	31	30	28	29	59	58
Tyr	9	6	9	6	5	6	5	9	10
Phe	16	15	17	15	16	14	16	29	26
HyLys	6	6	6	7	8	7	10	—	—
HyPro	88	92	95	90	102	107	101	14	12

Acid hydrolyzed tissue- or elastin-samples were analyzed, and expressed as mol numbers of each amino acid per 1000 residues. *¹Healthy cow is the one sampled on this campus. Poisoned are those transported from Kuroshima. *²The horn was fallen out.

*³ R.J. Block and K.W. Weiss ed., "Amino acid Handbook", p. 343, C.C. Thomas, Springfield (1956).

病牛 No. 9 の右側角基部の組織は、グリシン量がやや低いとみられるが、全般的にアミノ酸パターンには健康牛と病牛との間に顕著な差は認められなかった。エラスチンも従来の報告値とよく一致している。

角の損傷について Hall ら¹⁾ は、角根部の毛細血管の収縮による壊死と神経性栄養補給の欠損を推測した古い文献を引用しているが、外傷によるものであろうとしている。ラチローゲンにもとづく神経症状では、コラーゲンの架橋の損失や可溶化が知られている¹³⁾。本実験のアミノ酸分析では、この種の代謝異常を示唆するプロリン、ヒドロキシプロリン、ヒドロキシリジン量の変動は認められず、病牛の血清や硬タンパク質は、ほぼ正常とみなしうるものであった。角の基部が、脆弱化して強く固定されなくなり、外傷を受けやすくなる理由については、病気の初期、中期、末期の材料を採集し、各種研究手段による一層の検討が必要であろう。

要 約

1. 沖縄県の放牧黒毛和牛にみいだされた運動障害について調査した結果、それらの症状には軽重の差はあるが、いずれもかつて中米やオーストラリアで報告されたソテツ中毒の典型的な症状を示すものであった。すなわち、運動困難、後軀麻痺、角の障害ないし脱落である。現地の状況も牧草の不足によって、ソテツの葉を牛が採食したことを示している。

2. 病牛の病理組織学的検索において、特徴的病変が脊髄に認められた。水納島のそれにみられた spheroid body と、黒島の病牛の神経線維の変性、壊死、fibrillary gliosis である。頸髄、胸髄の白質部におけるこれらの病変は、腰髄、仙髄から上行する神経線維走行路の部位に位置しており、臨床的にみられた後軀の障害が、このような脊髄の病変に由来する神経症状であることを示している。

3. 血液の生化学的検査で病牛はコリンエステラーゼ活性値が低かった。血清中のグルコース、タンパク質および遊離アミノ酸を分析したが、健康牛と病牛の間にとくに差は認められなかった。

4. 非タンパク質構成アミノ酸による lathyrism 類似の中毒は、角の損傷とも関連してコラーゲン代謝の異常をきたすものと予想できる。病牛の血清と硬タンパク質の生物化学的検査では、lathyrism に類したアミノ酸代謝の異常はみいだされなかった。

謝辞 本研究に際して、沖縄県における中毒牛の発症に関する貴重な情報、資料を提供して頂き、また、現地調査に当って多大の便宜をはかり協力していただいた又吉栄忠氏をはじめ、沖縄県家畜衛生試験場、畜産課、家畜保健衛生所、関係の行政機関の方々に深甚な謝意を表する。

本研究にあたり、本学獣医学科田代哲之教授、坂本紘講師、出口栄三郎講師のご協力、ご助言に深謝する。また、各種の実験研究の遂行に協力いただいた農学研究科修士課程獣医学専攻生の尾崎史佳・上村亮三・筒井直行、農芸化学専攻生の小路稔徳の諸君に深謝する。

文 献

- Hall, W.T.K.: Toxicity of the leaves of *Macrozamia* sp. for cattle. *Queensland J. Agric. Sci.*, **14**, 41-52 (1957)
- Hall, W.T.K. and McGavin, M.D.: Clinical and neuropathological changes in cattle eating the leaves of *Macrozamia lucida* or *Bowenia serrulata* (Family *Zamiaceae*). *Path. Vet.*, **5**, 26-34 (1968)
- Hartree, E.F.: Determination of protein. *Anal. Biochem.*, **48**, 422-427 (1972)
- Hatano, H.: Autoanalysis of amino acids. p. 78, Kagaku Dojin, Kyoto (1964)
- Hooper, P.T., Best, S.M. and Campbell, A.: Axonal dystrophy in the spinal cords of cattle consuming the cycad palm, *Cycas media*. *Australian Vet. J.*, **50**, 146-149 (1974)
- Hooper, P. T. : Cycad poisoning in Australia-etiology and pathology. in Keelee, R.F., Van Kampen, K.R. and James, L.F. (eds.), *Effects of poisonous plants on livestock*. p. 337-347, Academic Press Inc., New York (1978)
- Kobayashi, A. and Matsumoto, H.: Studies on methylazoxymethanol, the aglycone of cycasin. Isolation, biological and chemical properties. *Arch. Biochem. Biophys.*, **110**, 373-380 (1965)
- Laqueur, G.L., Mickelsen, O., Whiting, M.G. and Kurland, T.: Carcinogenic properties of nuts from *Cycas circinalis* L. indigenous to Guam. *J. Natl. Cancer Inst.*, **31**, 919-951 (1963)
- Louw, W.K.A. and Oelofsen, W.: Carcinogenic and neurotoxic components in the cycad *Encephalartos altensteinii* L. (Family *Zamiaceae*). *Toxicon*, **13**, 447-452 (1975)
- Nishida, K., Kobayashi, A. and Nagahama, T.: Studies on cycasin, a new toxic glycoside of *Cycas revoluta* Thunb. *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **19**, 77-84 (1955)
- Nishida, K., Kobayashi, A., Nagahama, T., Kojima, H. and Yamane, M.: Studies on cycasin, a new toxic glycoside of *Cycas revoluta* Thunb. Part 4. Pharmacology of cycasin. *J. Japanese Biochem. Soc.*, **28**, 218-223 (1956)
- O'Dell, B.L., Elsdon, D.F., Thomas, J., Partridge, S.M., Smith, R.H. and Palmer, R.: Inhibition of the biosynthesis of the cross-links in elastin by a lathyrogen. *Nature*, **209**, 401-402 (1966)
- Sarma, P.S. and Padmanaban, G.: Lathyrogens. in Liener, I.E. (ed.), *Toxic constituents of plant foodstuffs*. p. 267-291, Academic Press Inc., New York (1969)
- Sixth International Cycad Conference, *Fed. Proc.*, **31**, 1465-1546 (1972)
- Wesley-Smith, R.N.: Cycads and cattle in the northern territory. *J. Australian Inst. Agr. Sci.*, **233**-236 (1973)
- Whiting, M.G.: Toxicity of cycad. *Economic Botany*, **17**, 271-302 (1963)

Summary

Grazing cattle suffering from ataxia and paralysis in hindquarters and horn damage were found in some detached islands of Okinawa Prefecture. Clinical syndromes were the typical ones of cycad poisoning reported earlier in foreign countries. Ingestion of cycad leaves, *Cycas revoluta* Thunb., by cattle due to scarcity of green grass was proved by field surveys.

Histopathological examinations revealed characteristic lesions in the spinal cord: spheroid body in the cattle of Minnajima and demyelination and fibrillary gliosis in that of Kuroshima.

These lesions detected in the white matter of the cervical and thoracic cords were situated in the pathway of nerve fibers ascending from the lumbar and sacral cords. These lesions are assumed to be related with disturbed moving and paralysis in hindquarters.

The contents of various substances in the sera of the diseased cattle were of normal levels. The low activity of blood choline esterase was noticeable.

A lathyrogen was suspected as a causative agent of horn damage. Amino acid composition of scleroproteins of the diseased cattle were not characteristic of lathyrism poisoning and were taken as normal.

Explanation of photographs

- Photo. 1. An affected cow showing paralysis in hindquarters.
Photo. 2. The same cow as Phot. 1 with the right horn fallen out and the left one deformed.
Photo. 3. Cycad leaves, *Cycas revoluta* Thunb., with bitemarks on a grazing pasture in Theyajima.
Photo. 4. Cycad leaves with bitemarks on a grazing pasture in Kuroshima.
Photo. 5. Spheroid bodies in the dorsal white matter of the cervical spinal cord. Ox, Minnajima.
Photo. 6. Clear staining of fibrillary gliosis in the fasciculus gracilis at the cervical spinal cord. Cow, Kuroshima. LFB-H&E.
Photo. 7. Adenoma-like lesions of the liver. Ox, Minnajima. H-E.
Photo. 8. Thickened caudal vena cava by production of smooth muscle. Cow, Kuroshima. H-E.

