

牛におけるサイカシンの影響に関する実験的研究

安田宣紘・大石弘司*¹・福山昭治*²・清水 孜・

河野猪三郎・田寺謙次郎*³・八木史郎*³

(家畜病理学研究室・*³生物化学及び栄養化学研究室)

昭和61年8月7日 受理

Experimental Studies on Effects of Cycasin on Calves

Nobuhiro YASUDA, Koji OOISHI*¹, Shoji FUKUYAMA*², Tsutomu SHIMIZU,
Isaburo KONO, Kenjiro TADERA*³ and Fumio YAGI*³

(Laboratory of Veterinary Pathology, *³Laboratory of Biochemistry and Nutritional Chemistry)

緒 言

著者らは、沖縄県下の離島の放牧牛にみられる後軀運動障害、後軀麻痺、角鞘の脱落などの症状を主徴とする疾患が、ソテツの葉を摂食することによって発症する中毒性疾患であることを実験的に確認し、また病牛にみられる特徴的変状が、かつて中米、オーストラリアで報告されたソテツ中毒牛の病変と一致することを明らかにした^{10,11,23,24}。家畜にソテツを摂食させると非可逆性の運動麻痺を引き起こすことが知られており、ソテツの神経毒については以前から興味を持たれていたが、ヒトにおいてソテツ食の習慣を持つグアム島のチャモロ族に筋萎縮性側索硬化症 (ALS) が多発するとの報告¹²)に端を発し、ALS とソテツ毒との因果関係が注目され、種々の調査研究がなされるに至った。この過程でソテツに発癌性が見出され¹⁴)、発癌因子の本体がサイカシンさらにはそのアグリコン MAM であることが明らかにされた¹⁵)。以後ソテツの発癌性に関して多くの研究がなされているが、ソテツの神経毒性に関する問題は未解決のまま今日に至っている。

著者らは、ソテツ葉中の神経毒性物質を解明するため、サイカシンを含まない葉の粉末、葉中のアルコール可溶性成分および高分子物質画分などの標品を調整し、マウス、ラット、モルモット、ウズラなどの実験動物に投与する実験を試みたが、未だ神経毒性物質を特定するに至っていない (未発表)。

サイカシンに関する多くの報告では、肝毒性や発癌性のみが明らかにされており、神経毒性については否定的なものが多い。著者らもモルモットを用いて検討したが、神経毒性を示唆するような結果は得られなかった¹³)。Hirono ら⁶)によって新生児マウス、ハムスターに小脳障害を来すことが見出されて以来、新生児ラット、ウサギ、フェレット、イヌ、ネコでも同様な報告がなされており^{3,9,21,22})、未熟な動物の小脳外顆粒層の壊死や小脳低形成症などの変化をもたらすことが知られているが、これはサイカシンのアルキル化剤としての特性による組織形成期における細胞増殖障害とみるべきで純粋な神経障害とは言えない。

牛のソテツ中毒においては、臨床のおよび病理学的に明らかに神経毒性を認めるが、サイカシンが及ぼす影響については全く知られていない。著者らは山羊に対する影響を検討したが、サイカシンは山羊においても強い肝毒性を示し、急性中毒症では肝障害に基づく二次的な脳障害を認めたが、慢性中毒症の山羊は起立困難や後肢のふらつきなどの運動障害を呈し、脊髄には軸索の膨化、消失と脱髓というソテツ中毒牛の変状に類似する病変が認められたので、これらの神経病変形成にサイカシンがどこまで関与しているのかを明確にする必要にせまられた。そこで今回は牛にサイカシンを投与し、とくに神経系に及ぼす影響について、臨床的、血液生化学的検査ならびに病理学的検査を試みた。

材 料 と 方 法

実験には2頭の牛を使用し、学内の牛舎にて飼育した。第1例は鹿児島市小山田町産のホルスタイン種、雄、5ヵ月齢、体重120kgで、第2例は鹿児島県日置郡産の黒毛和種、雌、12ヵ月齢、体重136kgで実験に

*1 農林水産省動物医薬品検査所・東京都国分寺市戸倉1-15-1
National Veterinary Assay Laboratory, 1-15-1,
Tokura, Kokubunji, Tokyo

*2 宮崎県農業共済組合連合会・宮崎市高洲町280
Miyazaki Agricultural Mutual Benefit Association,
280, Takasu-cho, Miyazaki

供され、第1例は1985年4月23日から、第2例は同年5月11日から投与を開始した。これらの供試牛は共に発育状態はやや悪かったが、実験に先立ち寄生虫は駆除され、また一般的臨床検査および血液生化学的検査においてもとくに異常を認めない健康なものであった。飼料は乾草、切り藁に市販の配合飼料、圧扁麦、大豆、ふすまを混ぜ、1日に2回与えた。また晴天時には草地に繋留し自由に採食させた。

サイカシンは投与直前に秤量した結晶を蒸留水に溶解し、注射筒を用いて経口的に投与した。投与量は前回行った山羊に対する投与量を参考とし、5 mg/kg/day を基準量と定め、急性中毒死をさけるため経時的に行った肝機能検査の値を主な指標として、投与回数および投与量を調整しながら断続的に投与した。臨床的検査は1日2回給餌前に健康状態を観察し、さらに歩行運動をさせ異常な歩様、動作の出現の有無を検査した。血液生化学的検査は投与開始1週間前より7日間隔で採血した血液と、投与中、臨床的に変調のみられた時の肝機能の検査のため採血した血液について実施した。GOT, GPT, γ -GTP, LDH, Al-p, BUN, ChE, total bilirubin はユニットを用い RaBA-SUPER システム（中外製薬株式会社製）で、T.P. は屈折蛋白計で、また血清蛋白分画はセルローズアセテート膜電気泳動法でそれぞれ測定した。

供試牛は第1例が実験開始60日目に衰弱死亡したため、また第2例は54日目に衰弱顕著となったため予後不良とみなし頸動脈からの放血により安楽死させ、それぞれ剖検した。各臓器は肉眼的観察の後、10%緩衝ホルマリン水で固定し、パラフィン包埋、H-E, PAS, azan, elastica Van Gieson, Sudan III などの各染色を施した。脳は Fig. 1 に示す部位から、また脊髄は各脊髄神経起始部から組織標本を作成し、H-E 染色の他に LFB, Sudan III, Cajal, PTAH, Holzer, Gallocyanine, Bodian などの特殊染色を行い鏡検した。

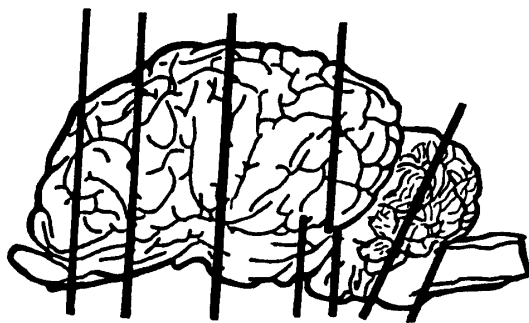


Fig. 1. Section level of encephalon.

結 果

1. サイカシンの投与量と臨床的所見

第1例の日用投与量は、1日目から7日目までが5 mg/kg, 19日目から37日目が3 mg/kg, 44日目から59日目が2.5 mg/kgで、総投与量は16.01 g となり、投与回数は42回で実験60日目に斃死した。牛は投与開始後6日目から体温の上昇がみられ、8日目には元気消失し起立を嫌うようになったので、投与を休止した。19日目にやや元気をとりもどしたので投与を再開したが、38日目から再び元気消失し、起立歩行を嫌い舎内に頭部を下げたまま佇立するようになったため、43日目まで休止した。44日目より再度投与を開始したが、状態は悪化し、59日目には起立不能となり体温の上昇、呼吸促進、振戦などの症状を示し、昏睡状態に陥り翌日斃死した。観察期間中38日目に衰弱によると思われる後軀のふらつきがみられたが、ソテツ中毒牛に見られるような後軀運動障害は全く認められなかった。

第2例の日用投与量は1日目から14日目までと36日目から43日目までが5 mg/kg, 26日目から35日目までと44日目から52日目までが3 mg/kgの割合で投与した。投与回数は40回で、総投与量は21.67 g となった。牛は10日目頃から食欲減退、元気消失がみられ、状態が悪化したので、投与を一時中止した。状態がやや回復した26日目から投与を再開したが、35日目頃より、再び元気食欲消失し、削瘦が顕著となり、衰弱のため歩様蹢躅となった。50日目には動作緩慢となり、食欲も廃絶し起立困難となった。次第に状態が悪化してきたため、54日目に頸動脈放血により安楽死させた。観察期間中神経症状は発現しなかった。

2. 血液検査成績

血液の検査結果は Tables 1, 2 に示す通りであるが、第1例においては Ht 値の減少と赤血球の減少が明らかにみられ、末期的な白血球の増加もみられた。第2例は実験開始時から Ht 値、赤血球数が低く、白血球数も高値に終始した。血清においては、2頭とも投与と関連して GOT 値、LDH 値の著明な上昇がみられた。Al-p 値は第1例では42日目、第2例では24日目にピークを持つ顕著な増加を示した。 γ -GTP 値は42日目をピークとして著しい上昇を示した。ChE 値は第1例で投与初期に減少を認めたが、2例とも漸次上昇がみられ、中期以後は高値を維持した。Total bilirubin 値も中期以降に上昇を示し、末期には顕著に上昇した。実験後半期においてアルブミンの減少と γ -グロブリンの増加が顕著にみられ、A/G 比の低下

Table 1. Blood analysis and fractionation of plasma protein by electrophoresis

Calf No.	Day of Experiment	RBC ($\times 10^4 / \mu l$)	WBC ($/ \mu l$)	Ht (%)	p-T. P. (g/dl)	Alb. (%)	Glob.			A/G
							α (%)	β (%)	γ (%)	
1	0	1131	6300	40	6.2	57.9	15.9	13.1	13.1	1.38
	7	1028	5000	40	5.6	63.5	15.6	10.9	10.0	1.74
	14	1094	5480	39	6.0	60.6	16.4	11.5	11.5	1.54
	22	1178	5500	38	6.0	59.3	16.5	12.1	12.1	1.46
	34	1063	6000	39	6.0	55.4	17.5	11.8	15.3	1.24
	42	906	6000	31	5.6	39.4	17.4	14.0	29.2	0.65
	47	954	7000	27	5.3	46.9	15.1	15.5	22.5	0.88
	54	782	7800	27	5.5	45.7	15.2	14.1	25.0	0.84
	60	888	13000	30	6.7	44.0	15.6	11.4	29.0	0.79
2	0	890	19113	28	5.6	48.3	16.4	12.2	23.1	0.93
	8	897	20020	29	6.1	48.0	16.2	14.1	21.7	0.92
	16	931	20725	31	6.4	45.4	16.4	12.6	13.6	0.83
	24	909	21351	30	7.2	54.5	16.1	11.1	18.3	1.20
	36	894	25930	29	6.3	36.9	16.9	15.7	30.5	0.58
	43	858	27771	28	6.1	33.7	15.9	16.3	34.1	0.51
	50	910	33708	29	6.8	33.6	15.3	16.2	34.9	0.51
	54	828	42948	29	6.0	34.3	14.0	15.3	36.4	0.52

Table 2. Enzyme activities and concentration of various substances in the serum

Calf No.	Day of Experiment	GOT (K-U)	GPT (K-U)	γ -GTP (IU/L)	Al-p (KA-U)	ChE (IU/L)	Bilirubin (mg/dl)	LDH (IU/L)	BUN (mg/dl)
1	0	47.90	21.37	16.33	14.39	254.5	0.51	1554	6.40
	7	84.20	24.00	21.30	14.10	196.2	0.13	2147	6.34
	14	117.00	22.40	54.84	27.94	240.0	0.67	3123	5.53
	22	101.40	21.02	92.83	26.07	275.8	0.39	2557	6.26
	34	80.74	28.79	160.00	45.02	312.7	1.46	2041	5.11
	42	79.91	19.84	255.20	52.56	319.4	1.27	1994	6.36
	47	134.00	23.59	146.90	26.17	305.0	-----	2543	4.14
	54	89.54	28.47	138.80	17.81	369.4	1.54	2355	4.33
	60	217.70	27.39	119.40	23.76	305.5	4.12	3460	10.98
2	0	34.36	22.03	11.28	9.52	193.2	0.25	1146	12.57
	8	89.48	29.66	15.71	11.88	184.2	0.36	1901	10.40
	16	166.30	28.67	47.19	27.00	273.4	1.02	2556	5.70
	24	122.30	27.67	145.70	42.55	381.7	1.40	2267	2.08
	36	66.42	27.53	175.90	33.56	338.5	1.71	1522	5.55
	43	63.62	25.42	165.90	29.85	329.6	3.85	1403	4.84
	50	106.20	31.11	142.50	30.14	379.5	-----	1676	7.35
	54	171.40	35.70	100.70	25.05	320.0	10.00	3465	8.87

をきたした。GPT, BUN には顕著な変化は認められなかった。

3. 病理解剖学的所見

剖検時体重は第1例が124kg, 第2例が125kgで, 実験開始時と比較して, 前者は4kgの増加, 後者は11kgの減少を示した。ともに削瘦し, 被毛光沢なく粗剛で栄養状態が悪かった。可視粘膜は第1例では蒼白, 第2例は黄疸色が強く水腫性であった。第1例は腹部膨満し, 両体側に褥瘡を認めた。2例とも皮下および腹腔内の脂肪組織は膠様化が顕著であった。第1例では

黄色透明の腹水約100 ml を認め, 第2例は腹腔脂肪に黄疸色を認めた。肝臓は, 第1例は1850 g, 第2例は1660 g とともに強固であった。前者は灰褐色, 後者は褪褐色, 断面は2例とも小葉像不明瞭で第1例は表面と同色で血量乏しく, 第2例は赤色と黄褐色の斑紋が混在していた。胆嚢は, 第1例では壁の肥厚と粘膜下出血が顕著で胆汁は緑褐色粘濁不透明であった。第2例は胆嚢壁の水腫性肥厚と緑色粘濁タール胆汁を認めた。腎臓は, 第1例で黄褐色やや固く, 断面には皮質髓質にわたる粟粒大のシストの散在を認め, 第

2例では茶褐色でやや固く、表面に径1～3mmの陥凹部が散在していた。2例とも包膜の剝離は容易で、3層の境界は明瞭であった。脾臓は、第1例が赤褐色硬固で臓側面に斑状出血部を認め、第2例は灰赤色を呈し、表面皺襞多く弾性があった。剖面は2例とも血量乏しく、脾材明瞭、濾胞不明瞭であった。肺は第1例で両側の、第2例で右側の収縮不全があり、前者は各葉辺縁部に肺炎がみられ、気管支内に多量の白色泡沫を認めたが、後者では表面剖面とも著変を認めなかった。心臓は2例とも心嚢水の増量、心冠脂肪組織の膠様化、心外膜下および心内膜下に点状または斑状の出血を認めたが、概して第1例の方が第2例より重度であった。胃は2例とも第四胃粘膜の水腫がみられ、第1例では糜爛、第2例では多数の牛捻転胃虫 *Mecistocirrus digitatus* の寄生を認めた。第1例では腸間膜に点状出血が散発し、結腸には広範な点状出血を認め、その後半部に大豆大の糜爛が散在していた。第2例の腸には著変は認めなかった。第1例の副腎では皮髄境界部に小出血巣を認めた。第2例の舌に潰瘍を認めた。股骨骨髓は2例とも脂肪髄であった。脳脊髄では2例とも肉眼的変状に乏しく、脊髄や大きな神経枝周囲の脂肪組織は膠様化し、第1例の両側の坐骨神経周囲と第2例の坐骨神経や正中神経の起始部と両側の下腿骨付近の坐骨神経枝などに点状出血がみられた。その他の臓器には著変を認めなかった。

以上を要約すると、2例とも栄養不良（膠様化・水腫）と肝硬化が顕著で、第1例では出血傾向が、第2例では黄疸が特徴である。

4. 病理組織学的所見

肝臓は2例とも中心静脈周囲、Glisson氏鞘、類洞周囲の線維性結合織の増生が著しく、中心静脈や門脈、類洞などは内腔の狭小化をきたし、小胆管の増生が顕著であった。増生結合織の介在によって肝細胞索は乱れ、肝細胞が単離し、不規則な索状、島状配列を呈した。肝小葉の萎縮も顕著であったが、第2例では類洞に鬱血をみる部分がかかり存在し、そこでは結合織の増生はやや軽度であった。肝細胞や核の大小不同も顕著で、とくに大きな核を有する肝細胞もしばしば認められた（いわゆる megalocytosis）。肝細胞の変性壊死は顕著でなかったが、第1例で軽度の中心性脂肪化を認めた。大食細胞を主とするヘモジデリン沈着が第1例で顕著であり、第2例では胆栓形成が著明であった。小葉間胆管上皮の重層化傾向や多数の杯細胞が第1例でみられた。腎臓は軽度ながら2例ともネフロン

の系統的萎縮があり、第1例の方がやや強かった。第1例は皮質の近位尿細管にヘモジデリンの沈着が著明で、腎乳頭部に嚢胞形成を認め、第2例は遠位尿細管、ヘンレの係蹄、乳頭管などの内腔拡張と乳頭管の一部にPAS陽性物質の沈着および集合管上皮の空胞化を認めた。脾臓は第1例では濾胞の崩壊傾向が強く、第2例では濾胞は充実し褐色で、PAS陽性、鉄反応陰性色素を容する細胞を認め、脾柱に石灰化した部分が見られた。第1例のヘモジデリン沈着は顕著であった。2例とも髄外造血はみられなかった。肺は第1例で出血性化膿性肺炎部を認め、第2例では胞隔肥厚から無気肺化する部分が見られた。心臓は2例とも軽度の心筋変性を認め、第2例では心外膜下に石灰化を起した部位が存在した。膵臓は2例とも外分泌細胞が萎縮傾向を示し、膵島細胞は第2例で α 細胞が β 細胞より多かった。骨髄は第1例では巨核球が少なく、赤芽球系造血の低下も認められたのに対し、第2例は造血能の活性化した状態を示していた。脳脊髄は2例とも白質部に円形、長楕円形あるいは空隙状の大小多数の空胞が形成され海綿状態を示していた。そのほとんどが神経線維に隣接した膠組織に密発し、髄鞘内と思われる部位にも散見された。空胞はSudan III その他の特殊染色で染まるものは何も含まず、ほとんど空虚であったが、中にはグリア細胞や多形性の大きく淡明な裸核のみがみられるものもあった。この海綿状病変は脳脊髄の各部位にほぼ左右対称性に分布し、最も顕著な変化は延髄から中脳および小脳核にかけて存在した。終脳では灰白質と白質の境界部を脳回に沿って層状に分布し、内包部にも存在した。間脳にはほとんどみられず、内包と視床の移行部に散在してみられた。中脳では中間灰白層から深灰白層にかけて多くみられ、被蓋の網様体にも最も顕著であった。後丘では後丘核周囲の白質に分布し、脳橋においては、脳脊部網様体に密発しており、脳腹部には全く存在しなかった。延髄においても網様体に多くみられ、吻側で前小脳脚から小脳髓体の歯状核、中位核、室頂核に、尾側では灰白質背角と白質の境界部と、網様体に分布していた。脊髄においては全長にわたり灰白質の背角、側角、腹角に瀰漫性に存在し、上位胸髓より前方では網様体に多く、腰髄、仙髄では側角と側索、腹角と腹索の境界部に多くみられた。脊髄の病変は、部位によってそれぞれ程度が異なり、頸、腰、仙髄では強く現れ、胸髄では軽微なものであった。脳、脊髄とも神経細胞自体は概ね正常であったが、周囲に形成された空胞の圧迫により変形した神経細胞も散見された。第2例では赤核と三叉神経運動核の神経細胞内に空胞を認めるものがあった。

た。軸索は空胞の辺縁を迂曲しながら走行しているが、ほぼ正常な構造を保っていた。しかし空胞が密発した部位では走行が乱れ、膨化した軸索も認められた。病変部の神経膠組織には線維性の増生はみられなかったが、肥大した星状膠細胞の瀰漫性増殖や、終脳、中脳、脊髄では satellitosis が、また脊髄の灰白質には小出血巣が散見される部位もあった。末梢神経では神経線維自体にとくに変化はみられなかったが、坐骨神経周囲にヘモジデリンや赤血球を貧食した大食細胞の出現を伴った出血巣が認められた。

その他の臓器、組織にはサイカシの影響によると思われる変状は認められなかった。

考 察

サイカシの毒性については、種々の実験動物において数多くの研究報告があり、その肝毒性、発癌性の実態が明らかにされ、さらに幼若な動物に対しては脳障害を惹起せしめることも知られている。しかし、サイカシが家畜、とりわけ反芻動物に及ぼす影響に関しては、ソテツ中毒の本態を解明する上で多大な興味を示されているにもかかわらず、多量のサイカシの入手が困難なことも禍して未だ研究がなされていない。

今回は2頭の牛を用いてサイカシの及ぼす影響について実験的研究を行った。これらの牛は、実験期間中、臨床的に著明な肝機能障害を呈したが、神経症状は認められなかった。

サイカシ投与開始後から、GOT, LDH, Al-p, γ -GTP および total bilirubin などのそれぞれの値の上昇がみられ、また血清蛋白分画像では、アルブミンの減少、 γ -グロブリンの上昇もみられているが、これらの変化は著者らのモルモット、山羊における実験例とほぼ同様な所見であり、サイカシの肝臓への影響の結果と考えられる。しかし著者らが実験的にソテツ葉を投与し神経症状を発症させたソテツ中毒牛では、本実験に匹敵するサイカシを含有するソテツ葉を投与したにもかかわらず肝機能にほとんど異常を認めていない。これは中毒牛が摂食したソテツ葉中のサイカシが咀嚼、消化の段階でかなりの量が無毒化され、サイカシとして摂取された量が少なかったことが考えられる。

今回の牛の例では、第1例に軽度な貧血がみられたが、山羊におけるような著明な貧血傾向はみられなかった。しかし肝臓、腎臓などの組織にヘモジデリン沈着が認められていることから溶血状態が存在したことは明白であり、サイカシによる赤血球の破壊が

あったことがうかがえる。山羊を用いた実験でも経験したが、第2例のように初めから貧血を呈する動物はサイカシによる貧血は現れないようである。

病理学的には2例とも肝臓の病変が極めて顕著であった。肉眼的には萎縮、硬化さらには線維化もみられており、組織学的には肝細胞索の乱れ、肝細胞の単離、変性、megalocytosis、ヘモジデリン沈着、結合組織の増生、小胆管の増生などの変状が認められている。これらの病変は、著者らのサイカシ投与のモルモットや山羊の例においても観察されており、また西田ら¹⁶⁾のマウス、モルモット、Fukunishi¹⁾、林⁵⁾、佐藤ら¹⁸⁾、Zedeck ら²⁵⁾のラット、Sieber ら¹⁹⁾のサルなどを用いた実験においてもほぼ類似の変状がみられている。これらに類似する病変は、ソテツ葉を与えた Hall ら⁴⁾の牛や Hooper ら⁷⁾の緬羊、ソテツの実を与えた Gardiner²⁾の緬羊、Laqueur ら¹⁴⁾や Spatz²⁰⁾のモルモットなどの実験的ソテツ中毒においても報告されており、ソテツ中毒における肝臓病変はソテツに含まれるサイカシに起因する病変が主体をなしていることを示唆している。

今回の実験から、牛に対するサイカシの肝毒性は、体重当たりの投与量を基準として単純に比較しても山羊よりかなり強く、牛はサイカシに対して感受性の高い動物であることが判明した。このことは肝臓病変に乏しい慢性のソテツ中毒牛では何らかの不活性化作用によりサイカシの実際の摂取量が少なかったことを示唆するものでないかと推測される。

腎臓にみられた近位尿細管を主体とする尿細管上皮細胞の変性像は、前回のモルモット、山羊の場合にみられたものや、他の実験動物において報告されている所見^{5,17)}と同様で、サイカシによる影響と考えられるが、腎臓に対しては肝臓におけるほど顕著な毒性を示さないようである。ソテツ中毒においても、著者らの実験的発症牛や、他の実験例または自然例として報告されている牛や緬羊の腎臓にも重度な変状は観察されていない。

中枢神経系における変状は Hooper のいう“海綿状変性”の所見に一致するものとみなしたが、このような変化は pyrrolizidine alkaloid 中毒、アフラトキシン中毒、慢性銅中毒、重症肝臓症などにおいても観察され、肝障害との関連から肝性脳症の一形態であり、高アンモニア血症に起因するものと考えられている⁸⁾。今回の例においても臨床的および血液生化学的所見から中枢神経系の変状は肝障害に随伴して発生したと考えられる。血中のアンモニア濃度の測定は行っていない

いので脳の変状と高アンモニア血症との関連性については推論の域を出ないが、今回の牛の肝病変の程度や Hooper らの実験結果^{7,8)}などから高アンモニア血症の状態にあったことが十分考えられる。

海綿状変性は著者らのサイカシン大量投与山羊においても観察されているが、脊髄において少数ながら軸索の膨化がみられた点で今回の例とはやや異なる。この軸索の変化が高アンモニア血症に起因するものか、サイカシンの直接的な影響によるものかは今後の検討課題である。

少量サイカシンの長期間投与における山羊の脊髄病変と牛のソテツ中毒が似ていることがこの牛におけるサイカシン中毒の研究の出発点であったが、今回の結果は牛が予想外にサイカシンに対する感受性が高く、山羊の慢性中毒の場合よりも激しい肝毒性を現したため、肝性脳症しか観察できなかった。さらに低投与量による慢性中毒症における中枢神経の変化を検討する必要がある。

要 約

2頭の牛にサイカシン2.5mg/kg～5mg/kgを肝機能検査を指標に断続的に経口投与し、臨床的、血液学的、血液生化学的および病理学的検査を行った。総投与量は第1例が59日間で42回投与し、16.01g。第2例が52日間で40回投与し、21.67gとなった。2例とも元気、食欲の減退あるいは消失がみられ、増体重の低下や減少を認めた。しかし、ソテツ中毒牛にみられるような中枢神経系の障害に起因すると思われる運動障害は認められなかった。

血液学的には、第1例においてHt値、赤血球数の減少傾向が認められた。また、血液生化学的には、2例ともGOT、Al-p、 γ -GTP、LDH、total bilirubinの上昇、アルブミンの減少、 γ -グロブリンの増加およびA/G比の低下がみられた。

病理解剖学的には、第1例に貧血と出血傾向、第2例に黄疸を認めた。両例とも肝臓は褪色し、萎縮硬化著明で、病理組織学的には線維増殖が著明で、中心静脈や類洞は狭窄し、肝細胞索の乱れ、肝細胞の単離、また、肝細胞ならびに核の大小不同(megalocytosis)、小胆管増生が認められ、第2例では胆栓の形成が認められた。第1例にクッパー細胞、肝細胞、近位尿管上皮および脾臓にヘモジデリンの沈着が顕著であった。第1例の骨髄には赤芽球系、血小板系の造血能低下を認めた。両側とも中枢神経系には肉眼的に異常を認めなかったが、組織学的には両側とも広汎な海綿状変性

が認められた。その分布は、脳幹網様体、小脳核周囲に強く、終脳や脊髄の灰白質と白質の境界部および脊髄の灰白質にも認められた。

以上の結果から牛は予想以上にサイカシンに対して強い感受性を示し、強い肝障害に伴う肝性脳症を呈したものと思われる。サイカシンの直接的な神経毒性は今回観察されなかった。さらに低い投与量における検討が必要であろう。

文 献

- 1) Fukunishi, R. : Acute hepatic lesion induced by cycasin. *Acta Path. Jap.*, **23**, 639-646 (1973)
- 2) Gardiner, M. R. : Chronic ovine hepatitis following feeding of *Macrozamia reidleyi* nuts. *Aust. J. Agr. Res.*, **21**, 519-526 (1970)
- 3) Haddad, R. K., Rabe, A. and Dumas, R. : Comparison of effect of methylazoxymethanol acetate on brain development in different species. *Fed. Proc.*, **31**, 1520-1523 (1972)
- 4) Hall, W. T. K. and McGavin, M. D. : Clinical and neuropathological changes in the cattle eating the leaves of *Macrozamia lucida* or *Bowenia serrulata* (Family *Zamiaceae*). *Path. Vet.*, **5**, 26-34 (1968)
- 5) 林 敏男：ソテツ毒の発癌性に関する研究。ソテツ粗毒 cycasin の aglycone acetate の発癌性および発癌過程の電子顕微鏡的観察。鹿大医学誌, **22**, 406-456 (1970)
- 6) Hirono, I., Shibuya, C. and Hayashi, K. : Induction of a cerebellar disorder with cycasin in newborn mice and hamsters. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **131**, 539-599 (1967)
- 7) Hooper, P. T., Best, S. M. and Murray, D. R. : Hyperammonaemia and spongy degeneration of the brain in sheep affected with hepatic necrosis. *Res. Vet. Sci.*, **16**, 216-222 (1974)
- 8) Hooper, P. T. : Spongy degeneration in the central nervous system of domestic animals. *Acta Neuropath.*, **31**, 325-351 (1975)
- 9) Jones, M., Yang, M. and Mickelsen, O. : Effects of methylazoxymethanol glucoside and methylazoxymethanol acetate on the cerebellum of the postnatal Swiss albino mouse. *Fed. Proc.*, **31**, 1508-1511 (1972)
- 10) 小林 昭・田寺謙次郎・八木史郎・河野猪三郎・坂本司・安田宣紘：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。鹿大農学術報告, No. **34**, 119-129 (1984)
- 11) Kobayashi, A., Tadera, K., Yagi, F., Kono, I. and Yasuda, N. : Cattle poisoning due to ingestion of cycad leaves, neurotoxic effects causing paralysis in hindquarters. *Toxicol.*, **3**, 229-232 (1983)
- 12) Koerner, D. R. : Amyotrophic lateral sclerosis on Guam : a clinical study and review of the literature. *Ann. Int. Med.*, **37**, 1204-1220 (1952)
- 13) 河野猪三郎・武原栄造・清水 孜・安田宣紘・小林昭・田寺謙次郎・八木史郎：モルモットにおける cycasin の影響に関する実験的研究。鹿大農学術報告, No. **35**,

- 159-163 (1985)
- 14) Laqueur, G. L., Mickelsen, O., Whiting, M. G. and Kurland, L. T. : Carcinogenic properties of nuts from *Cycas circinalis* L. indigenous to Guam. *J. Nat. Cancer Inst.*, **31**, 919-951 (1963)
 - 15) Nishida, K., Kobayashi, A. and Nagahama, T. : Study on cycasin, a new toxic glycoside, of *Cycas revoluta* Thunb. Part I. Isolation and the structure of cycasin. *Bull. Agr. Chem. Soc. Jap.*, **19**, 77-83, (1955)
 - 16) 西田孝太郎・小林 昭・永浜伴紀・小島喜久男・山根実：日本産ソテツの一新有毒配糖体 cycasin に関する研究(第4報) cycasin の薬理. 生化学, **28**, 218-223 (1956)
 - 17) 佐藤八郎・林 敏男・柚木一雄：ソテツ配糖体 cycasin の発癌機構に関する研究, (第3報) cycad meal 投与発癌過程のラット及び腎の微細構造について. 鹿児島癌研究会年報, **2**, 66-76 (1970)
 - 18) 佐藤八郎・柚木一雄・林 敏男・福西 亮：Cycasin の発癌機構に関する研究, (第1報) 奄美大島産ソテツ *Cycas revoluta* 種子の発癌性について. 医学のあゆみ, **65**, 525-531 (1968)
 - 19) Sieber, S. M., Correa, P., Dalgard, D. W., McIntire, K. R. and Andamson, R. H. : Carcinogenicity and hepatotoxicity of cycasin and its aglycone methylazoxymethanol acetate in nonhuman primates. *J. Nat. Cancer Inst.*, **65**, 177-189 (1980)
 - 20) Spatz, M. : Carcinogenic effect of cycad meal in guinea pig. *Fed. Proc.*, **23**, 1884-1885 (1964)
 - 21) Spatz, M. : Hydrolysis of cycasin by β -D-glicosidase in skin of newborn rats. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **128**, 1005-1008 (1968)
 - 22) Spatz, M. and Laqueur, G. L. : Transplacental chemical induction of microencephaly in two strains of rats. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **129**, 705-710 (1968)
 - 23) 安田宣紘・河野猪三郎・清水 孜：牛の実験的ソテツ中毒に関する病理学的研究. 鹿大農学術報告, No. **35**, 171-178 (1985)
 - 24) 安田宣紘・河野猪三郎・清水 孜・小林 昭・田寺謙次郎・八木史郎：放牧牛のソテツ中毒に関する病理学的研究. 脊髄における病変とその分布について. 鹿大農学術報告, No. **34**, 131-137 (1984)
 - 25) Zedeck, M. S. and Sterberg, S. S. : Megalocytosis and other abnormalities expressed during proliferation in regenerating liver of rats treated with methylazoxymethanol acetate prior to partial hepatectomy. *Cancer Res.*, **35**, 2117-2122 (1975)

Summary

Two calves were orally administered with cycasin 2.5-5.0mg/kg/day; 42 times in 59 days for calf 1 and 40 times in 52 days for calf 2, the total dose being 16.01 g and 21.67 g, respectively. The toxin administration was withheld when serum GOT levels exceeded 100 K-U. The 2 calves showed depression, anorexia and decrease in weight gain but no such motor disturbances as seen in cycad-poisoned cattle were recognized. Hematocrit values and RBC counts were evidently decreased in calf 1, while calf 2 which was anemic from the start presented no obvious changes. In both calves were observed increases in levels of GOT, Al-p, γ -GTP, LDH, total bilirubin and serum γ -globulin as well as decreases in serum albumin and A/G ratio. Calf 1 died from weakening and calf 2 was killed at the moribund stage. At autopsy, anemia and hemorrhages were noticed in calf 1 and icterus was manifest in calf 2. Either of them had a pale, hard, shrunken liver, which revealed under microscopy marked increase in amount of fibrous connective tissue, stenosis of the central vein and sinusoids, derangement and shrinkage of the hepatic cell cords, irregularity of the size of hepatocytes and their nuclei and bile ductule proliferation. Bile thrombi were noted in calf 2. In calf 1 hemosiderosis was evident in the liver, kidney and spleen. The bone marrow in calf 1 showed depression in erythroid and platelet hemopoiesis. Brain and spinal cord of the 2 calves exhibited extensive status spongiosus in white matter, being severe in the reticular formation of the brain stem, around the cerebellar nuclei and adjacent to the gray matter both in the telencephalon and spinal cord.

These results indicated that calves were sensitive to cycasin beyond our expectation, showing severe liver cirrhosis that resulted in hepatic encephalopathy.

Explanation of photographs

- Photo. 1. A section of the liver, showing remarkable fibrous proliferation in the central and portal areas of the hepatic lobules and marked distortion of the lobular architecture. Calf 1. Azan stain.
- Photo. 2. Irregularity of the hepatic cell cords, proliferation of fibrous tissue and irregularity of the size of hepatocytes and their nuclei are to be observed. Calf 1. H-E stain.
- Photo. 3. The same section as Photo. 2. Newly formed bile ducts accompanying proliferation of fibrous tissue are to be seen. Calf 1. H-E stain.
- Photo. 4. The same section as Photo. 2. Stricture of the central vein and the sinusoidal capillary caused by proliferated fibrous tissue. Calf 1. H-E stain.
- Photo. 5. Mesencephalon, showing severity of spongy changes in the reticular formation of tegmentum. Calf 1. LFB-HE stain.
- Photo. 6. Pars dorsalis pontis, showing various-sized vacuoles in the reticular formation. Calf 1. LFB-HE stain.
- Photo. 7. Spinal cord at C-8, showing vacuolation in the left reticular formation. Calf 2. LFB-HE stain.
- Photo. 8. Mesencephalon, showing distortion of axones caused by vacuolation. Calf 2. Bodian stain.

