

## サイカシン投与山羊における第一胃内容物の揮発性脂肪酸の動態 ——サイカシン投与法に対する一考察——

長野慶一郎・井上 良一\*・加藤あずさ\*\*

(家畜生理学研究室)

平成5年8月10日 受理

### On the Fluctuation of Volatile Fatty Acids in the Rumen-Contents of Goats administered Cycasin —— Discussion on the Cycasin administering Method ——

Keiichiro NAGANO, Ryouichi INOUE\* and Azusa KATO\*\*

(Laboratory of Veterinary Physiology)

#### 緒 言

ソテツ葉あるいは、その有毒配糖体であるサイカシンは、反芻動物の第一胃の炭水化物代謝機構に対し、抑制的作用が存在することを前報で報告した<sup>5,6)</sup>。しかし、これらの実験は、経鼻的投与あるいは第一胃内容物採取<sup>6)</sup>と、rumen fistulaからの投与ならびに内容物採取<sup>5)</sup>、という異なった方法で行なった。すでに明らかなように、第一胃内は嫌気的な状態で消化作用が行なわれている。この点から、rumen fistulaからの操作時、すなわち、サイカシン投与時あるいは第一胃内容物採取時に第一胃内を外気に暴露することが考えられる、そこで、これら一連の操作が及ぼす影響の存在の有無を検索する目的で、一つにはカテーテルを介した経鼻的方法と、一つには rumen fistula 経路による方法との間に、相違があるかどうかを、同時期に二つのモデルについて検討した。両者共、第一胃内容物中揮発性脂肪酸(以下、VFAsと略称する)の動態を gas chromatographyにより分析すると共に、併せて、臨床学的観察、血液学的、血液生化学的検査ならびに病理解剖学的観察を行なった。

#### 材 料 と 方 法

##### 1. 供試山羊

実験には、鹿児島市平川動物公園から導入したトカラ系雑種の雄3頭と、島原市田浦牧場から導入したザーネン系雑種の雄1頭の計4頭を使用した。実験は2群に分け、実験1には、トカラ系雑種、体重37.0kgをサイカシン投与例(以下、投与例No.1と略す)、ザーネン系雑種、体重55.0kgを対照例(以下、対照例No.1と略す)とした。また、実験2には、トカラ系雑種、体重32.0kgをサイカシン投与例(以下、投与例No.2と略す)に、同種、体重31.0kgを対照例(以下、対照例No.2と略す)に使用した。

いずれも、実験開始前に糞便検査を行なった結果、若干の消化管内寄生虫が認められたので、駆虫剤リペコール<sup>®</sup>L(塩酸レバミゾール散、日本レダリー株式会社)を、0.075g/B.W.の割合で経口投与により駆虫を行ない、Mac Masterによる糞便検査で陰性になったことを確認した後、実験に供した。供試山羊は本学附属農場動物飼育棟の個別ケージに収容して飼育した。

##### 2. 飼 料

全例ともサイカシン投与開始16日前から、アルファルファペレット20g/kgB.W.、ビートパルプ6g/kgB.W.、肉用牛繁殖用配合飼料6g/kgB.W.を混合したものを、1日1回午前8時30分に給与した。なお、ビートパルプは、予め少量の水に浸漬し、軟化したものを給与した。飲水は、自由とした。

\*宮崎県農業共済組合連合会, 宮崎市宮脇町118  
Miyazaki Prefectural Federation of Agricultural Mutual Relief Association, 118, Miyawaki-cho, Miyazaki 880

\*\*動物検疫所, 横浜市磯子区原町11-1  
Animal Quaranting Service, 11-1, Hara-machi, Isogo-ku, Yokohama 235

### 3. サイカシン投与法

使用したサイカシンは、本学農学部生物化学及び栄養化学教室において、*Cycas revoluta* Thunb. の種子より、分画、精製された結晶を使用した。サイカシンは、投与直前に結晶を蒸留水に溶解し、2.53 mg/kg B. W. を 1 mg/ml 水溶液としたものを、1日1回午前8時に、実験1では、カテーテルによる経鼻投与法により、実験2では rumen fistula から第一胃内に直接投与した。なお、実験1において、カテーテル挿入時の騒擾を防ぐために、外鼻孔に少量のキシロカイン®ゼリー（粘滑・表面麻酔剤、藤沢薬品株式会社）を塗布した。投与期間は91日間、総投与量は、実験1では8848mg、実験2では、7448mgであった。対照例 No. 1 と No. 2 には、投与例と同量の蒸留水を投与した。

### 4. rumen fistula 装着

実験2における rumen fistula 装着は、投与例 No. 2 ではサイカシン投与開始の63日前、対照例 No. 2 では50日前に、左側季肋骨後部に装着した<sup>4)</sup>。なお、サイカシン投与は、術創面が治癒して、fistula の装着が安定し、動物の状態が術前に復したことを確認した後に、投与実験を開始した。

### 5. 臨床学的観察

毎朝、元気、食欲の有無ならびに運動障害の発現などの観察を行なった。

### 6. 血液学的及び血液生化学的検査

採血は、給餌前に体重測定を行なった後、左外頸静脈から採血し被検材料とした。採血は、サイカシン投与前2回、投与開始後は約1週間間隔で13週まで行なった。

血液学的検査として、赤血球 (RBC)、白血球 (WBC) は、Thoma-Zeiss 計算盤を用いて測定した。ヘマトクリット値 (PCV) は、毛細管法で、血清総蛋白 (TP) は、アタゴ血清蛋白屈折 N 型 (株式会社アタゴ、東京) を用いて測定した。

血液生化学的検査の項目は、血清中グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミラーゼ (GOT)、血清中  $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)、血清中アルカリ性フォスファターゼ (ALP)、血清中クレアチンフォスファターゼ (CPK)、血清中乳酸脱水素酵素 (LDH)、血清中総ビリルビン (TB) ならびに全血を用いて血色素量 (Hb) を、RABA-SUPER ユニキット (中外製薬株式会社、東京) により測定した。A/G は、セルロース・アセテート膜法によった。

### 7. 第一胃内容物の採取

採取は、実験1は、給餌後8時間30分の午後5時に、立位で、カテーテルの一端を外鼻孔から第一胃まで挿入し、他の一端は、注射筒とカテーテルの間にエルレンマイヤーコルベンをつけた装置で、吸引採取した。実験2では、自製のポンプを用いて、立位で、rumen fistula から吸引採取した。

### 8. pH の測定

第一胃内容物は、採取後ただちに3,000rpm で10分間遠心分離し、上清を、pH 計 (電気化学計器株式会社、GMP 10K 型) で測定後、密封容器に入れ、 $-20^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存した。

### 9. VFAs 分析法

以下、VFAs の構成成分を、酢酸は  $\text{C}_2$ 、プロピオン酸は  $\text{C}_3$ 、正酪酸は  $n\text{-C}_4$ 、イソ吉草酸は  $i\text{-C}_5$  と略記する。

#### (1) 注入試料調製

試料を解凍した後の方法は、内部標準法<sup>9)</sup> によって行なった。

#### (2) gas chromatography の諸条件

gas chromatograph は、島津 GC-12-A 型 (株式会社島津製作所、京都) を使用した。column は、内径3.2mm、長さ2.6m の coil 状 glass column、充填剤は、FFAP (10%) +  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (1%) 被覆 chromosorb W (AW) を使用した。carrier gas は  $\text{N}_2$  で、流速は 50ml/min、 $\text{H}_2$  及び空気流量は、それぞれ 35ml/min、0.5ml/min とした。column 恒温槽温度ならびに検出器温度は  $150^{\circ}\text{C}$ 、試料注入量は  $2\ \mu\text{l}$  とした。なお、chart speed は 10mm/min、range 10M $\Omega$ 、attenuation は  $8 \times 0.01\text{V}$  であった。

#### (3) gas chromatogram の定性と定量

得られた gas chromatogram は、予め記録した標準混液<sup>9)</sup> によって同定し、同時にそれぞれの peak 面積を、gas chromatograph 用 data 処理装置 (株式会社島津製作所、島津 data 処理装置 chromatopac C-R3A、京都) で測定した。算出された濃度の単位は mg/dl であり、測定結果は、各実験群の投与例と対照例及び実験1と2の投与例と対照例との間で、差の検定を行なった。

### 10. 病理解剖学的検査

実験に用いた山羊は、投与実験終了後、ただちに病理解剖を行ない、肉眼的観察を行なった。

## 結 果

## 1. 臨床学的観察

実験1において、投与例 No. 1では、投与開始後33日目まで、採食は低下し、体重は33日目までは $35.7 \pm 2.3$ kgで推移し、33日目に最低値を示した。その後、食欲は回復し、体重は、43日目以降は $34.1 \pm 1.4$ kgを示した。投与例 No. 2は、33日目までは、 $30.8 \pm 1.5$ kgで推移し、43日目以降は、 $27.8 \pm 0.8$ kgを示した。実験2においては、投与後14日目から食欲が減退し、削瘦が目立ち始めた。経日的に沈鬱状態を呈するようになり、音などの外部からの刺激に対し反応を示さず、終日うずくまった状態が続いた。また、運動を嫌い、牽引により前肢がもつれ、転倒する場合がみられた。46日目以降、徐々に食欲が回復し始め、やや回復した様子が観察された。体重は、前述した状態を示しながら推移し、33日目以前と43日目以降との間には有意な減少を示した。両投与例に、自然死をみることはなかった。

## 2. 血液学的及び血液生化学的検査

血液学的検査において、RBCでは、実験1で、投与例 No. 1が対照例 No. 1に比べて減少し、投与例

Table 1. Changes of body weight in cycasin administered and control goats (kg)

D* <sup>6</sup>	1 * <sup>1</sup>	2 * <sup>2</sup>	3 * <sup>3</sup>	4 * <sup>4</sup>
-8* <sup>5</sup>	33.5	52.0	30.0	27.5
-1* <sup>5</sup>	37.0	52.0	32.0	31.0
6	39.0	60.5	33.5	34.0
14	35.5	57.0	31.0	31.5
21	34.0	56.0	30.5	31.5
28	38.5	60.0	28.5	31.5
33	32.5	56.0	30.5	33.0
43	34.0	56.0	27.5	33.5
49	34.0	57.0	28.0	32.5
56	33.0	59.5	28.5	33.0
63	33.5	59.5	28.0	32.5
70	32.5	59.0	27.5	32.0
77	33.0	57.0	26.0	31.5
84	35.5	58.5	28.0	33.5
91	37.0	61.0	29.0	33.5

\*<sup>1</sup> Cycasin administered goat (administered No. 1).

\*<sup>2</sup> Control goat the same as above (Control No. 1).

\*<sup>3</sup> Cycasin administered goat (administered No. 2).

\*<sup>4</sup> Control goat the same as above (Control No. 2).

\*<sup>5</sup> Days before cycasin or aquara diestillata administered.

\*<sup>6</sup> Days of experiment.

No. 2 との対比でも同様であった。WBC では実験1と実験2で、それぞれの対照例に比して減少したが、実験1と実験2の投与例間には差は認められなかった。PCVは、実験2で投与例2が対照例2より減少し、この傾向は投与例1と投与例2の間でもみられ、投与例2の減少傾向が認められた。血液生化学的検査では、Hbは、投与例 No. 2が対照例 No. 2に比して減少し、TPは、実験1では投与例 No. 1より多く、実験2では逆に少なく推移した。ただし、投与例 No. 1と投与例 No. 2との間には差がなかった。血清蛋白分画では、アルブミン分画の減少、グロブリン分画の増加により、実験1でA/Gの減少が認められた。TPは、投与例1で対照例1より増加し、GOTは、実験1、実験2共に投与後21日目から上昇値を示した。また、LDHも、実験1、実験2において高い値を現わした。γ-GTPも高い数値を示し、投与例 No. 2は、対照例 No. 2に比し有意に多かった。ALPは、投与例 No. 2において極めて低い値で推移したが、投与例 No. 1との対比では差を認めなかった。

## 3. 第一胃内容物のVFAs

## (1) VFAs 分画の種類

両実験法のサイカシン投与前および対照例には、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、n-C<sub>4</sub>、i-C<sub>5</sub>が検出されたが、サイカシン投与後も、4分画のすべてが検出された。Table 4, 5, 6に示されるように、投与例、対照例ともにC<sub>2</sub>分画が高い比率を占め、以下、C<sub>3</sub>>n-C<sub>4</sub>>i-C<sub>5</sub>の順序であった。

## (2) VFAs の総濃度

実験1においては、投与例では投与21日目に4.22 mg/dlと低下し、33日目には逆に13.91mg/dlと高濃度を示し、以後は実験終了まで10mg/dl前後で推移した。対照例 No. 1では9.45±0.85mg/dlと小さな変動経過を示し、両者の間には有意の差を認めなかった。実験2においては、33日目に一過性の上昇、43日目に低下、49日目に増加し、その後は増減を繰り返した。これに対し、対照例 No. 2では、投与例の変動時に逆の経過を示し、56日目以降は、投与例 No. 2とほぼ類似の増減を示した。両者間には、有意な差を認めなかった。

## (3) 分画別VFAs量

投与例1の各VFAs濃度の平均値±S. D.は、C<sub>2</sub>で6.65±1.42mg/dl、C<sub>3</sub>で1.79±0.44mg/dl、n-C<sub>4</sub>で0.86±0.29mg/dl、i-C<sub>5</sub>で0.21±0.10mg/dlであった。これに対し、対照例1ではC<sub>2</sub>が6.48±0.64mg/

Table 2. Clinical and biochemical examination on the blood of cycasin administered and control goats

D*6	PCV (%)	RBC (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	WBC (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	GOT (K-U)	γ-GTP (IU/L)	ALP (KA-U)	TB (mg/dl)	LDH (LD-U)	TP (g/dl)	Hb (g/dl)	CPK (IU/L)	A/G
1*1												
-8*5	34.0	1593	9.1	57.5	45.9	5.3	0.47	452.9	8.2	12.66	90.6	0.93
-1*5	32.5	1508	11.6	54.0	30.5	4.7	0.35	410.9	7.5	11.30	116.1	1.06
6	34.0	1538	7.2	52.5	43.9	3.6	0.17	305.9	7.3	11.26	91.8	1.18
14	33.0	1576	9.0	74.5	41.8	2.9	0.41	464.4	7.4	12.14	70.8	1.04
21	39.8	1702	5.9	238.2	50.3	4.8	0.31	703.6	8.0	17.05	94.9	1.03
28	43.8	1791	9.4	275.8	75.4	5.8	0.60	924.7	7.6	16.86	71.0	0.97
33	40.5	1984	9.8	240.8	100.9	7.3	0.63	1005.0	7.4	13.10	97.1	0.92
43	40.5	1709	9.8	208.4	137.5	11.0	0.31	1008.0	7.6	18.25	152.2	0.31
49	38.5	1562	14.9	130.4	99.5	9.1	1.15	649.1	8.0	17.80	51.5	1.15
56	34.5	1679	10.2	151.6	75.6	10.0	1.01	704.0	7.7	11.79	97.5	1.01
63	36.0	1695	11.2	162.8	121.5	10.8	0.32	783.1	7.8	15.01	110.9	0.32
70	35.5	1454	12.0	91.5	73.1	9.3	1.19	619.4	8.0	12.18	69.1	0.92
77	36.5	1459	11.6	102.3	91.6	11.9	0.96	635.0	8.4	16.36	105.0	0.91
84	31.5	1446	9.2	95.3	83.6	16.3	0.80	606.3	7.6	14.77	114.8	0.99
91	37.0	1596	10.7	100.6	65.1	10.9	1.10	707.5	8.5	15.60	281.7	0.82
2*2												
-8*5	34.3	1960	-*7	57.0	59.1	8.5	0.48	501.8	7.3	12.51	233.8	1.37
-1*5	38.0	2440	7.4	53.9	59.8	3.8	0.60	555.3	7.6	13.19	114.2	1.37
6	35.3	2083	7.5	93.2	71.2	8.8	0.13	434.1	7.2	12.15	162.0	1.40
14	34.0	1944	7.6	52.1	50.5	9.4	0.53	439.2	6.6	28.65	100.3	1.44
21	36.3	2048	6.0	44.1	49.4	6.2	0.16	369.7	7.3	12.41	109.3	1.19
28	35.8	1970	7.0	45.9	60.6	6.7	0.17	358.9	7.1	12.29	81.3	1.21
33	32.5	1878	7.8	47.9	63.6	6.8	0.84	366.5	7.0	11.89	66.4	1.24
43	36.0	2167	7.8	66.1	97.3	10.5	0.48	462.9	7.2	17.20	124.6	1.29
49	35.8	2357	10.4	65.7	89.5	9.6	0.90	457.1	7.3	15.22	128.1	1.19
56	32.0	2134	6.1	50.5	66.9	8.4	0.52	370.6	6.6	11.00	99.9	1.48
63	35.0	1921	7.4	79.7	81.2	8.4	0.15	432.2	7.0	15.19	120.7	1.39
70	34.0	1888	6.3	48.8	57.6	7.3	0.85	424.3	7.2	10.95	96.3	1.51
77	34.0	1857	7.0	86.6	90.6	8.6	0.24	527.7	7.0	14.32	117.2	1.33
84	33.0	2174	8.8	68.7	86.6	12.7	0.38	488.1	7.1	15.95	90.7	1.33
91	38.0	2054	6.3	69.0	90.5	12.7	0.83	579.7	7.0	17.58	119.4	1.45
3*3												
-8*5	31.3	1602	6.1	73.1	69.5	4.5	0.68	461.4	7.0	11.50	124.3	1.35
-1*5	36.0	1827	7.0	67.2	64.1	4.0	0.11	481.5	7.4	11.40	111.4	1.45
6	36.3	1332	7.3	57.8	59.9	2.9	0.79	391.6	7.1	12.40	84.5	1.36
14	35.0	1590	6.6	110.5	60.5	2.9	0.36	499.6	7.3	14.00	82.9	1.26
21	40.0	1861	9.6	384.5	102.7	3.3	0.61	1096.0	7.5	11.80	113.8	1.01
28	40.5	1779	11.4	504.6	142.1	2.7	0.81	1525.0	7.5	15.00	77.6	1.03
33	36.0	1856	9.5	385.4	209.6	4.1	1.06	1550.0	7.4	12.40	85.5	0.93
43	33.0	1278	12.8	398.6	219.1	5.2	2.38	2662.0	6.7	15.40	122.0	0.83
49	30.0	1262	11.5	217.5	84.3	3.2	0.91	675.7	6.6	10.30	118.3	0.61
56	28.5	1390	12.5	130.7	99.2	2.5	0.71	486.0	8.0	9.00	51.8	0.62
63	27.0	1122	11.1	75.3	75.7	2.2	0.73	399.8	8.0	9.50	73.2	0.50
70	24.0	1207	11.6	73.0	60.8	2.5	1.20	598.7	9.3	12.30	150.9	0.47
77	24.0	1299	8.5	80.1	62.9	4.0	0.51	533.8	9.0	10.20	67.3	0.50
84	22.5	921	7.8	71.1	62.4	4.5	0.37	598.9	8.9	10.80	61.4	0.58
91	23.5	1382	9.6	82.4	54.7	4.1	0.04	660.8	8.7	11.30	130.1	0.61
4*4												
-8*5	31.3	1421	9.5	44.3	45.3	4.5	0.50	383.7	8.7	10.90	53.4	0.86
-1*5	35.0	1527	7.4	48.6	42.0	4.0	0.19	426.3	8.2	10.90	64.9	1.00
6	39.3	1491	7.6	47.6	46.8	2.9	0.41	418.2	8.7	12.60	79.5	1.03
14	39.0	1621	9.6	45.7	44.0	2.9	0.43	371.7	8.8	12.30	57.4	1.14
21	36.8	1649	9.5	60.3	23.6	3.3	0.71	463.2	8.6	11.20	84.1	1.18
28	37.0	1447	8.4	54.8	42.3	2.7	0.16	310.2	8.5	11.40	63.7	0.84
33	35.0	1521	9.0	71.1	49.3	4.1	0.43	378.4	8.2	28.50	108.8	0.88
43	34.8	1367	9.6	76.4	61.7	5.2	0.49	442.9	8.1	15.10	103.0	0.96
49	38.0	1495	11.2	64.4	46.9	3.2	0.63	395.2	8.6	11.40	109.2	1.05
56	37.5	1606	8.5	63.3	50.2	2.5	1.26	394.2	8.0	12.30	115.7	1.22
63	42.0	1842	6.6	91.3	45.6	2.2	0.71	397.8	8.3	12.80	101.9	1.13
70	40.0	1456	5.6	75.4	48.6	2.5	0.89	457.9	8.2	11.40	168.5	1.23
77	39.5	1602	5.5	96.5	68.0	4.0	0.32	414.2	7.8	14.00	106.3	1.31
84	41.5	1839	9.0	90.5	57.8	4.5	2.50	495.8	8.2	17.60	106.9	1.16
91	38.8	1663	8.2	111.3	70.3	4.1	0.34	499.6	7.6	17.60	176.4	1.50

\*1.\*2.\*3.\*4.\*5.\*6. The same as Table 1.

\*\* Not tested.

Table 3. pH value in the rumen contents of cycasin administered and control goats

D* <sup>6</sup>	1* <sup>1</sup>	2* <sup>2</sup>	3* <sup>3</sup>	4* <sup>4</sup>
-8* <sup>5</sup>	6.98	6.85	5.77	6.57
-1* <sup>5</sup>	6.48	6.55	6.48	6.32
6	7.01	6.06	7.23	6.63
14	7.23	6.55	6.92	6.42
21	7.40	6.29	6.89	6.33
28	8.81	6.46	6.91	6.26
33	6.71	6.37	5.96	6.00
43	6.60	6.70	7.12	5.78
49	6.22	6.26	5.75	6.07
56	6.51	6.31	5.84	6.01
63	6.57	6.91	6.67	6.18
70	6.35	7.07	6.42	6.15
77	6.27	7.17	5.94	6.18
84	6.70	6.73	5.91	6.31
91	6.85	6.82	5.97	5.85

\*1.\*2.\*3.\*4.\*5.\*6. The same as Table 1.

dl, C<sub>3</sub>が1.85±0.25mg/dl, n-C<sub>4</sub>が0.82±0.29mg/dl, i-C<sub>5</sub>が0.20±0.12mg/dlであって、いずれも投与例と対照例に有意差は認められなかった。一方、投与例2においては、C<sub>2</sub>で7.61±1.69mg/dl, C<sub>3</sub>で1.99±0.60mg/dl, n-C<sub>4</sub>で1.29±0.43mg/dl, i-C<sub>5</sub>で0.35±0.12mg/dlであった。対照例2では、C<sub>2</sub>で8.47±1.49mg/dl, C<sub>3</sub>で2.77±0.67mg/dl, n-C<sub>4</sub>で0.12±0.18mg/dl, i-C<sub>5</sub>で0.25±0.09mg/dlであった。これらの測定値では、C<sub>2</sub>とn-C<sub>4</sub>では、投与例と対照例の間に有意差が認められず、C<sub>3</sub>とi-C<sub>5</sub>では有意差が認められた。

#### (4) 病理解剖学的観察

投与例 No. 1 では肝臓横隔面に径4 mm程度の白斑が散在し、腎臓は三層境界不明瞭で、やや腫脹が認められた。また、肺の気管支内に小管腔を有する新生物が認められた。

投与例 No. 2 では消瘦が著しく、栄養不良状態を呈していたが、可視粘膜は淡桃色を呈し、貧血、黄疸の症状は認められなかった。fistula 装着部では、第一胃と腹膜、腹筋が完全に癒着し、第一胃内容物の腹腔への漏出はなかったが、fistula の装着部周囲の皮膚に、装着により生じたと思われる化膿創が認められた。肝臓は、横隔膜面の包膜に広範な白色肥厚部が認められた他、特に顕著な変化は認められなかった。脾臓は、やや腫脹しており、脾柱、濾胞は不明瞭であった。その他の腹腔臓器には、特記すべき変状は認められなかった。胸腔臓器では、心臓は柔軟で心室内の血量は左右共に少量であり、大動脈

Table 4. Concentration of volatile fatty acids in the rumen contents of cycasin administered and control goats (mg/dl) (Test No. 1)

D* <sup>6</sup>	C <sub>2</sub> * <sup>8</sup>	C <sub>3</sub>	n-C <sub>4</sub>	i-C <sub>5</sub>	Total
1* <sup>1</sup>					
-8* <sup>5</sup>	6.30	1.70	0.71	0.07	8.78
-1* <sup>5</sup>	8.09	2.07	0.84	0.15	11.15
6	6.43	1.71	0.49	0.14	8.77
14	5.76	1.05	0.33	0.12	7.26
21	2.97	0.76	0.33	0.16	4.22
28	6.89	1.70	0.57	0.10	9.26
33	9.87	2.59	1.19	0.26	13.91
43	7.48	1.71	1.14	0.21	10.54
49	6.92	2.03	1.06	0.26	10.27
56	5.63	1.71	1.03	0.38	8.75
63	6.51	1.81	1.13	0.38	9.83
70	7.13	2.23	1.07	0.33	10.76
77	7.28	2.25	1.00	0.25	10.78
84	6.65	1.99	1.06	0.23	9.93
91	5.83	1.57	0.88	0.11	8.39
1* <sup>2</sup>					
-8* <sup>5</sup>	5.87	1.82	0.85	0.13	8.67
-1* <sup>5</sup>	6.27	1.47	0.91	0.43	9.08
6	7.16	2.01	0.55	0.14	9.86
14	6.70	1.83	0.52	0.03	9.08
21	6.15	1.63	0.61	0.05	8.44
28	6.97	2.08	0.89	0.05	9.99
33	6.73	1.74	0.66	0.17	9.30
43	7.65	1.72	1.07	0.16	10.60
49	5.74	1.70	0.89	0.27	8.60
56	6.28	2.43	0.99	0.22	9.92
63	7.15	2.19	1.18	0.37	10.89
70	6.41	1.65	0.97	0.29	9.32
77	6.15	1.62	1.16	0.34	9.27
84	5.06	1.76	0.89	0.11	7.82
91	6.96	2.15	1.21	0.30	10.62

\*1.\*2.\*5.\*6. The same as Table 1.

\*<sup>8</sup> C<sub>2</sub>: Acetic acid.C<sub>3</sub>: Propionic acid.n-C<sub>4</sub>: normal Butyric acid.i-C<sub>5</sub>: iso Valeric acid.

Total: Total volume of volatile fatty acid.

の内臓面は粗造であった。また、僧帽弁に透明な液を含む直径5 mm大のcystが認められた。肺は、右肺前葉に充実感があり、7 mm大の白色結節が認められ、陳旧な肺炎像を呈していた。脳脊髄液は、粘稠であった。骨髄は白色髄を呈していた。

なお、剖検時に、膀胱内残尿についてBMテスト8-II (Boehringer Mannheim Japan社)を用いて検査した処、細菌-, pH 8, 蛋白 30mg/dl, ビリル

Table 5. Concentration of volatile fatty acids in the rumen contents of cycasin administered and control goats (ml/dl) (Test No. 2)

D*6	C <sub>2</sub> **	C <sub>3</sub>	n-C <sub>4</sub>	i-C <sub>5</sub>	Total
2*3					
-8*5	7.71	2.04	1.48	0.54	11.77
-1*5	7.48	1.71	0.94	0.17	10.30
6	5.32	1.23	1.02	0.44	8.01
14	6.92	1.58	1.31	0.55	10.36
21	5.71	1.56	0.75	0.41	8.43
28	5.56	1.33	0.89	0.43	9.21
33	9.40	2.34	0.97	0.32	13.03
43	4.70	1.03	0.71	0.51	6.95
49	10.17	3.04	1.71	0.26	15.18
56	9.08	2.56	2.21	0.39	14.24
63	7.54	1.70	1.55	0.30	11.09
70	7.30	1.81	1.21	0.27	10.59
77	10.15	2.42	1.91	0.32	14.80
84	8.96	2.87	1.09	0.16	13.08
91	8.21	2.63	1.57	0.25	12.66
2**					
8*5	6.14	1.84	1.23	0.42	9.63
-1*5	8.16	2.21	0.94	0.15	11.46
6	6.66	2.06	1.10	0.36	10.18
14	6.91	2.25	0.82	0.38	10.36
21	6.71	2.17	0.89	0.29	10.06
28	7.99	2.47	0.88	0.35	11.69
33	8.63	3.02	1.14	0.28	13.07
43	10.67	3.94	1.36	0.28	16.25
49	8.61	3.05	1.22	0.22	13.10
56	9.94	3.05	1.37	0.23	14.59
63	7.90	2.68	1.11	0.17	11.86
70	7.72	2.04	1.08	0.16	11.00
77	10.50	3.28	1.07	0.12	14.97
84	10.62	3.85	1.44	0.18	16.09
91	10.38	3.69	1.18	0.16	15.41

\*3.\*4.\*5.\*6. The same as Table 1.

\*\* The same as Table 4.

ビン +, ブドウ糖 正常, 潜血 5-10個/ $\mu$ lであり, 特記すべき変状はなかった。

### 考 察

サイカシンの投与ならびに第一胃内容物採取を, 経鼻的方法と rumen fistula による二つの方法によって実施した。

血液学的ならびに血液生化学的検索の結果から, サイカシン投与21日目から43日目を極期とする肝機能障害が示唆された。山羊におけるサイカシンの肝毒性は, Shimizu ら<sup>8)</sup>により報告されている。また,

山羊の第一胃内容物中 VFAs に及ぼす影響については, 長野らがソテツ葉投与<sup>6)</sup>, ソテツ葉ならびにサイカシン投与<sup>5)</sup>を行ない, 報告している。今回は, 経鼻カテーテル投与と, rumen fistula からの投与の2方法を比較検討した。長野ら<sup>5)</sup>は, サイカシン投与により VFAs 総濃度の低下と, VFAs 総濃度と胃液 pH の負の相関の消失を示し, サイカシンによる第一胃内炭水化物代謝機構の抑制を示唆した。今回の実験によると, 両方法共に, 投与例 No. 1 と対照例 No. 1 との間, 投与例 No. 2 と対照例 No. 2 との間に差を認めなかったが, 総 VFAs 濃度に関しては, 投与例 No. 1 と投与例 No. 2 との間に有意の差を認めた。すなわち, VFAs 各分画濃度は対照例と対比して, 実験2の C<sub>3</sub>分画以外に差を認めなかったが, 肝機能障害とほぼ同じ時期に総濃度に若干の低下が認められた。その経日的変化の中で, 実験2のなかの C<sub>3</sub>分画が総濃度との間に強度の相関〔+0.938 (p<0.01)〕を示した。すなわち, 実験2での VFAs の総濃度の経過に影響を及ぼしているのは, C<sub>3</sub>分画によるものと考えられる。pH については (Table 3), 同一群内においても, 実験1と実験2の対比においても差を認めなかった。体重は, 対照例を除き各投与群間で減少の傾向を示した。血液学的検査では, 実験1で RBC の減少, WBC の上昇, 実験2では WBC の上昇, PCV の減少であった。血液生化学的検査では, 実験1では, TP の上昇, A/G の減少, TB の上昇, GOT の上昇, LDH の上昇であった。実験2では Hb の減少, TP の減少, GOT の上昇,  $\gamma$ -GTP の上昇, ALP の減少, LDH の上昇で, 肝機能障害が示唆された。これらの結果は, 先の報告<sup>5)</sup>とほぼ一致するが, WBC, PCV の減少については, 対照例 No. 2 のみが別の品種であったことにも影響されたものと思われる。このように, 肝機能障害を思わせる結果が現われたことにより, 今回使用した山羊の第一胃内微生物が, サイカシンを加水分解し, その分解産物である methylazoxymethanol (MAM) を生産したことが証明された<sup>1-3,7,10)</sup>。今回の実験では, サイカシンの一定量投与をカテーテルによる経鼻投与方法と, rumen fistula による直接投与方法について行ない, 投与方法による VFAs 産生量の差の有無を検索することが目的であった。投与は91日間継続したにもかかわらず, 重篤な症状の発現をみることなく, 肝機能障害の消退および VFAs の総濃度量の回復が認められた。前報<sup>5)</sup>の実験のようなサイカシンの毒性が発現しなかったことは, 使用

Table 6. Individual volatile fatty acid as percentage in the rumen contents of cycasin administered and control goats

D* <sup>6</sup>	1* <sup>1</sup>	C <sub>2</sub> * <sup>8</sup>	C <sub>3</sub>	n-C <sub>4</sub>	i-C <sub>5</sub>	1* <sup>2</sup>	C <sub>2</sub> * <sup>8</sup>	C <sub>3</sub>	n-C <sub>4</sub>	i-C <sub>5</sub>
-8* <sup>5</sup>		71.7	19.4	8.1	0.8		67.7	21.0	9.8	1.5
-1* <sup>5</sup>		72.6	18.6	7.5	1.3		69.1	16.2	10.0	4.7
6		73.3	19.5	5.6	1.6		72.6	20.4	5.6	1.4
14		79.3	14.5	4.5	1.7		73.8	20.2	5.7	0.3
21		70.4	18.0	7.8	3.8		72.9	19.3	7.2	0.6
28		74.3	18.4	6.2	1.1		69.8	20.8	8.9	0.5
33		70.9	18.6	8.6	1.9		72.4	18.7	7.1	1.8
43		71.0	16.2	10.8	2.0		72.2	16.2	10.1	1.5
49		67.4	19.8	10.3	2.5		66.8	19.8	10.3	3.1
56		64.4	19.5	11.8	4.3		63.3	24.5	10.0	2.2
63		66.2	18.4	11.5	3.9		65.7	20.1	10.8	3.4
70		66.3	20.7	9.2	3.1		68.8	17.7	10.4	3.1
77		67.5	20.9	9.3	2.3		66.3	17.5	12.5	3.7
84		67.0	20.0	10.7	2.3		64.7	22.5	11.4	1.4
91		69.5	18.7	10.5	1.3		65.6	20.2	11.4	2.8
D* <sup>6</sup>	2* <sup>3</sup>	C <sub>2</sub> * <sup>8</sup>	C <sub>3</sub>	n-C <sub>4</sub>	i-C <sub>5</sub>	2* <sup>4</sup>	C <sub>2</sub> * <sup>8</sup>	C <sub>3</sub>	n-C <sub>4</sub>	i-C <sub>5</sub>
-8* <sup>5</sup>		65.5	17.3	12.6	4.6		63.7	19.1	12.8	4.4
-1* <sup>5</sup>		72.6	16.6	9.1	1.7		71.2	19.3	8.2	1.3
6		66.4	15.4	12.7	5.5		65.4	20.2	10.8	3.6
14		66.8	15.3	12.6	5.3		66.7	21.7	7.9	3.7
21		67.7	18.5	8.9	4.9		66.7	21.6	8.8	2.9
28		67.7	16.2	10.9	5.2		68.3	21.2	7.5	3.0
33		72.1	17.9	7.5	2.5		66.0	23.1	8.7	2.2
43		67.6	14.8	10.3	7.4		65.6	24.3	8.4	1.7
49		67.0	20.0	11.3	1.7		65.8	23.3	9.3	1.7
56		63.8	17.9	15.5	2.8		68.2	20.9	9.4	1.6
63		67.8	15.4	14.1	2.7		66.5	22.6	9.4	1.5
70		69.0	10.3	11.4	2.6		70.2	18.5	9.9	1.4
77		68.6	16.4	12.9	2.1		69.2	22.6	7.4	0.9
84		68.6	21.9	8.3	1.3		66.0	23.9	9.0	1.1
91		64.8	20.8	12.4	2.0		67.3	23.9	7.7	1.1

\*1.\*2.\*3.\*4.\*5.\*6. The same as Table 1.

\*8 The same as Table 4.

した山羊の品種の相違,あるいは,サイカシン投与量などが,その原因として影響を及ぼしている,と考えられる。今回の結果から,当初目的とした rumen fistula からの一連の操作が,その VFAs 量がカテーテル法に比して有意に多かったことは,第一胃への直接法として利用できるものと考えたい。

### 要 約

ソテツの有毒配糖体サイカシンが,第一胃内容物中の揮発性脂肪酸(VFAs)産生におよぼす影響を,二種の投与方法を用いて検討した。すなわち,(1)カテーテルによる経鼻投与方法,(2)rumen fistula 経由投与方法である。得られた胃内容物は gas chromatography

により分析した。併せて,臨床学的,血液学的,血液生化学的及び病理解剖学的観察を行なった。使用した動物は4頭の山羊で,それぞれの方法に,投与例と対照例を組み合わせた。得られた結果は,つぎのように要約される。

1. サイカシンは,2.56mg/kgB. W./day を91日間連続して投与した。

2. 体重は,経日的に減少したが,実験後半には横這い状態となった。

3. 検出されたVFAsは,全例とも,酢酸(C<sub>2</sub>),プロピオン酸(C<sub>3</sub>),正酪酸(n-C<sub>4</sub>),イソ吉草酸(i-C<sub>5</sub>)の4分画であった。この中でC<sub>2</sub>が常に多く,実験1(6.65±1.42mg/dl),実験2(8.47±

1.49mg/dl) で、以下、C<sub>3</sub>, n-C<sub>4</sub>, i-C<sub>5</sub>の順であった。各実験例で、対照例との間に差があったのは、投与例2のC<sub>3</sub>分画とi-C<sub>5</sub>分画で、他の分画にはなかった。ただしVFAs総濃度は実験1と実験2の投与例との間に有意の差が認められ、実験2が多かった。また、投与例2のC<sub>3</sub>分画と総濃度との間には極めて強度の正の相関〔+0.938 (<0.01)〕があった。

4. 第一胃内容物のpHには、いずれの組み合わせにおいても、差を認めなかった。

5. 血液生化学的検査において、共通的に差があったのは、GOT, LDHの上昇で、他の項目では一定していなかったが、肝臓機能障害が推測された。

6. 以上の結果から、今回実験に用いた二種類の投与法は、第一胃内炭水化物産生機構に、特に障害を起さなかったものと思われた。

**謝辞** 稿を終るに臨み、本研究の遂行に終始ご懇篤なご指導とご鞭撻を賜った鹿児島大学田寺謙次郎博士、八木史郎博士、清水 孜博士、安田宣紘博士、萬田正治博士、山口大学田浦保穂博士に深甚の謝意を表します。

#### 文 献

1) 安保佳一：代謝の生理，1. 炭水化物，津田恒之監修・柴田章夫編，新乳牛の科学，119-124，農山漁村文化協会，東京（1987）

- 2) Bergman, E. H.: Energy contribution of volatile fatty acid from the gastrointestinal tract in various species. *Physiology Reviews*, **40**, 567-590 (1990)
- 3) Bruce, L. A., Lobley, G. E. and Macrae, J. C.: Measurement of volatile fatty acid production rates in sheep given roughage. *Res. Vet. Sci.*, **42**, 47-52 (1985)
- 4) 五十嵐幸男：ルーメンの検査，中村良一・米村寿男・須藤恒二編，牛の臨床検査法，1-6-4-11，農山漁村文化協会，東京（1973）
- 5) 長野慶一郎・中原清一郎：ソテツ葉ならびにサイカシン投与山羊における第一胃内容物の揮発性脂肪酸の動態に関する研究。鹿大農学術報告，No. **40**, 55-78 (1990)
- 6) 長野慶一郎・廣瀬武久：ソテツ投与山羊における第一胃内容物の揮発性脂肪酸について。鹿大農学術報告，No. **39**, 134-138 (1989)
- 7) 押尾秀一：消化の生理，6. 消化産物の吸収，津田恒之監修・柴田章夫編，新乳牛の科学，81-92，農山漁村文化協会，東京（1987）
- 8) Shimizu, T., Yasuda, N., Kono, I., Yagi, F., Tadera, K. and Kobayashi, A.: Hepatic and spinal legion in goats chronically intoxicated with cycasin, *Jpn. J. Vet. Sci.*, **48**, 1291-1295 (1986)
- 9) 須藤恒二：ルーメンの検査，中村良一・米村寿男・須藤恒二編，牛の臨床検査法，1, 6-39-42，農山漁村文化協会，東京（1973）
- 10) Sutton, J. D. and Schiller, E.: Rate of production of volatile fatty acids in the rumen of milking cows. *Brit. J. Nutr.* **33**, 100A-101A (1974)

#### Summary

The present study was carried out in order to ascertain a few effects of the products on volatile fatty acids (VFAs) brought about by the continuous injections of cycasin as an alkylating agent in cycasin leaves. Administration was made by the following two sorts of method, namely, (1) nasal administration by the inserted catheter, (2) administration by the routed of rumen fistula. The fluctuation of VFAs in the rumen contents were analyzed by gas chromatography; a clinical observation, a blood pictorial assessment, a blood-biochemical examination and a pathologico-anatomic reference were carried out, simultaneously. Four adult goats were used in this experiment, and in the execution of respective methods, a combination of the administered goats and the control goats was adopted, respectively.

The results obtained are summarized as follows.

1. Cycasin was given 2.53mg/kg B. W./day for 91 days, successively.
2. Body-weight decreased with the lapse of every day, and the body itself withered to lie crowded sideways at the latter half of the experimental period.
3. VFAs were detected in the rumen contents of all the 4 goats. VFAs fractions were assorted in to the following 4 sorts of acid, namely, acetic acid (C<sub>2</sub>), propionic acid (C<sub>3</sub>), normal butyric acid (n-C<sub>4</sub>) and iso valeric acid (i-C<sub>5</sub>).

In all the VFAs, main amount was held by C<sub>2</sub>, as may be seen in the experiment 1 (6.65±1.42mg/dl), and in the experiment 2 (8.47±1.49mg/dl), which was constantly followed by C<sub>3</sub>, n-C<sub>4</sub> and i-C<sub>5</sub>. There were some differences between the control case and the respective experimental cases, for instance was noted both at the C<sub>3</sub> fraction of the administered case 2 and at the i-C<sub>5</sub> fraction; while in



the other fractions no difference was recognized at all.

However, in whole the VFAs concentrations, significant differences were recognized clearly between the test No. 1 and the test No. 2, the latter showing the greatest proportion.

Between the C<sub>3</sub> fraction of the administered case 2 and the whole of the VFAs concentrations there was a very strong positive correlationship. [+0.938 (<0.01)]

4. The pH values of the rumen contents in the goats showed no significant difference through all the combinations.

5. Blood-biochemically, a marked increasing was observed both in serum GOT and in serum LDH, while concerning the other items nothing common was noted, while a functional disorder in the liver was suspected .

6. The above-mentioned results showed that no typical consequence was indicated, which was for from the ones confirmed in the previous reports. And it was suggested that in the case when a goat belonging to the mongrel Tokara system was used, any administered volume of cycasin caused no hindrance to the investigation of the rumen metabolism carried out by the administering method i. e. the rumen fistula method.