

山羊における実験的低Ca血症に関する研究

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
巻/号	3212
掲載ページ	p. 685-689
発行年月	1979年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ま と め

埼玉県浦和市三室にあるサギのコロニーで 1975 年から 78 年の間にみられた大量の落鳥および死亡例について細菌学的検査を行なったところ、次のような成績をえた。

1) 死亡サギおよび落鳥サギから高率に *S. typhimurium* が検出され、細菌学的ならびに病理学的所見から、本事例はサギのサルモネラ感染症と診断した。

2) 分離した *S. typhimurium* は同一生物型を示し、人を取りまく環境から検出されるものとは異なることから、このコロニー内で種属間の感染症を起こしたものと推察した。

3) 排菌サギに対するクロラムフェニコールの治療効果が期待できるが、完全な除菌および再感染の点でその防除は困難であると思われる。

本調査にあたり、ご協力をいただいた埼玉県環境部自

然保護課、放射線医学研究所 山極順二氏、開業獣医師 池谷奉文氏および三室のコロニー管理者 武中 尚氏に感謝します。

文 献

- 1) 浅木正義, 岡 千晶, 佐藤儀平: *Jap. J. vet. Sci.*, 38, 521~522 (1976).
- 2) DUGUID, J.P., ANDERSON, E.S., ALFREDSON, G.A. & OLD, D.C.: *J. Med. Microbiol.*, 8, 149~166 (1975).
- 3) FADDOUL, G.P. & FELLOWS, G.W.: *Avian Disease*, 10, 377~381 (1965) 89~94 (1966).
- 4) 石山俊次, 上田 泰, 桑原章吾, 小酒井 望, 古屋 暁一, 紺野昌俊, 藤井良和: *Chemotherapy*, 16, 98~99 (1968).
- 5) PETRAK, M.L.: *Disease of Cageand Aviary Bird*, 357~372, Philadelphia, Lea & Febiger (1969).
- 6) 佐藤儀平, 石黒直隆, 浅木正義, 岡 千晶, 河西 勉, 井上風己: *Jap. J. vet. Sci.*, 39, 609~617 (1977).

山羊における実験的低 Ca 血症に関する研究

姜 正 夫* 本 好 茂 一**

(昭和 54 年 9 月 21 日受理)

Studies on Experimental Hypocalcemia in Goats

CHUNG BOO KANG and SHIGEKATSU MOTOYOSHI (Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113 and Nippon Veterinary and Zootechnical College, Musashino, Tokyo 180)

SUMMARY

Experimental hypocalcemia was induced in normal goats by intravenous administration with various concentrations of Na₂-EDTA solution.

1. Progressive depression of reflexes and body temperature, paresis, and cardiac arrest were observed in two groups administered with 4% and 8% EDTA, respectively. They were not observed within 240 minutes after administration with 2, 2.5, or 3%

EDTA.

2. The tissue calcium concentration was lower in all the goats which died after EDTA administration than in the normal one.

3. The tissue calcium concentration became much lower in the cerebral cortex than in the rectus femoris muscle after EDTA administration.

緒 言

細胞外液、とくに血中 Ca 濃度はその恒常性維持機構により一定した範囲内に保たれている。

生体においてカルシウムイオン (Ca⁺⁺) は組織細胞の

種々の生理的機能を調節する因子として重要な役割をはたしている。家畜における種々の低 Ca 血症のように血中濃度の著しい低下をきたしている状態では組織内 Ca の動態にも変動をもたらすことが十分考えられる。

低 Ca 血症の成因に関する研究は多方面から数多くなされている^{2,5,7,10-14}) が、その典型的症状の発現機序に関する研究はきわめて少ない^{3,8})。

* 東京大学農学部 (東京都文京区弥生1-1-1)

** 日本獣医畜産大学 (東京都武蔵野市境南町1-7-1)

Ethylendiaminetetraacetate はヒトの副甲状腺機能検査法に用いられており、血清カルシウムイオンと速やかに結合し、これを低下させるのでこの作用を利用して、山羊に対して実験的に低Ca血症を作製し、低Ca血症に対応して発現する一連の生体反応を組織内Ca変動と併せて検索した結果、二、三の知見を得たので報告する。

実験材料および方法

1. 供試動物

実験に供した山羊は表1に示した計17頭(雌6,雄11)の成熟在来種山羊である。これは本学附属牧場で生産され、入手後1週間以上にわたる観察でとくに運動器系に異常が認められなかったものである。

飼育期間中の飼料としては、ヘイキューブと配合飼料が主体でとくにCa剤の給与は行っていない。

表1 供試動物, Ca 検体採取部位および死亡時間

山羊 No.	体重 (kg)	性	EDTA (%)	検体採取			死亡時間 (分)
				血漿	死後組織	生検組織	
1	19	雌	2	○			—
2	28	〃	2.5	○			—
3	30	〃	3	○			—
4	17	〃	4	○			147
5	13	雄	4	○	○		210
6	17	〃	4	○			180
7	23	雌	4	○	○	○*	120
8	50	雄	4	○	○		435
9	63	〃	4	○	○		636
10	14	〃	8	○			39
11	14	〃	8	○	○		24
12	14	〃	8	○	○		26
13	17	〃	8	○	○		28
14	29	雌	8	○	○		90
15	43	雄	8	○	○	○**	45
16	19	〃	8	○	○	○**	56
17	58	〃		○	○		—

○*...大腿直筋 ○**...大腿直筋と大脳皮質
死後組織の採取部位は表2に示す

2. Na₂-EDTA (Disodium-ethylenediaminetetra-aceticacid) 溶液作製およびその注入

Na₂-EDTA (以下 EDTA と略す) 粉末を5%ブドウ糖液に溶解させ、それぞれ2, 2.5, 3, 4および8%溶液とし滅菌して用いた。その注入は1分間1mlの一定した量で原則として心停止に至るまでである。ただし、3%以下では約4時間までの注入である。

3. 可検材料

血漿: EDTA 注入前と注入後は心停止まで4%以下では原則として15分, 8%では5分間隔で約3mlずつ採血し血漿分離した。

脊髄液: 4%注入群中4例(Nos 4~7)と8%中5例(Nos 11~15)の計9例については斃死時の1回だけであるが, No. 7と14の2例は注入前と斃死時の2回にかけ腰椎穿刺により約1mlずつ採取した。

組織: EDTA 注入による斃死直後、ただちに解体して検体を採取した4%注入群中4例(Nos 5, 7~9), 8%中6例(Nos 11~16)の計10例である。

対照としては放血による殺後直ちに採取したもの(No. 17)を用いた。採取した組織は大脳皮質, 小脳皮質, 腎臓皮質, 心臓, 肝臓および骨格筋である。骨格筋は大腿直筋と腓腹筋である。4%注入群中1例(No. 7)は注入直前と注入後60分, 90分および120分(斃死直後)の4回にわたり大腿直筋から, 8%注入群中2例(Nos 15, 16)も同じく注入直前と注入後30分および斃死直後の3回外科的処置により同時に大脳皮質と大腿直筋からの経時的採取を行なった。筋肉からは約1mg, 大脳皮質からは約200mg大である。

4. カルシウム(Ca)濃度の測定

血中Ca: キレートCaおよび非キレートCaの和を便宜上血漿総Caといい、TRUDEAU and FREIER¹³⁾の方法の変法で日立208型原子吸光度計を用いて測定した(以下原子吸光法と略す)。

いっぽう、非キレートCa(以下血漿Caと略す)はGITELMANらの方法^{4,6)}(以下OCPC法と略す)にしたがって日立139型分光光度計を用いて測定した。

脊髄液中Ca: 斃死後あるいは殺後ただちに採取した材料は表面の血液を可及的完全に除き、各組織ともほぼ一定の部位で約30~100mgの検体を採取し、あらかじめ脱鉄処理した石英試験管に入れ湿重量を計った後、105°Cの定温乾燥器内に24時間乾燥させ、3回以上その重量を計ってその差が0.1%以下になったときの重量を乾燥重量とした。ついで、550°Cの電気爐に入れて完全に灰火させたのち、0.5mlの濃塩酸で溶出させてからSrCl₂とNa₂-EDTAの同量混合液で希釈し、この検体中のCa量を原子吸光法で測定して乾燥重量kg当たりの量(mM)に換算したものを組織濃度として表わした。

5. その他

PCV(%), 反射(対光, 角膜, 眼瞼および肛門)機能検査, また臨床症状の発現などの観察を同時に行なった。

結果

1. EDTA 溶液注入時における臨床症状

2, 2.5 および3%濃度の注入では大差なくほとんどが注入後約90分で7mg/100ml前後に低下し、呼吸数の増加, 各種反射の減弱や体温の低下などが現われたが、その後の症状の進行は徐々にあって起立不能のような重

篤な症状は示さなかった。この場合の血漿 Ca 濃度の低下は非常に緩慢で 4 mg/100ml 以上にとどまっていた。

4%では個体により若干の違いはあったが、5~6mg/100 ml で前述した軽い低 Ca 血症の症状が現われてきた。3~4mg/100 ml では後軀の脱力をきたし坐り込むようになってきた。この時点では対光反射をはじめ各種反射の減弱が明らかであり、体温は注入前に比べ 1℃前後低くなっていたが、肛門反射は他の反射に比べやや抵抗性を示した。2 mg/100 ml 以下では横臥姿勢に陥り各種反射もほとんど消失し、それから間代性痙攣を発生し心停止に至った。

8%では2例を除き注入後 40 分以内で心停止に至ったが、症状の発現は、7 mg/100 ml 前後で注入後約10分以内であった。その後の症状の進行と血漿 Ca 濃度の低下は急激で、両者の関連性は4%注入群に示されたほど明らかではなかった。心停止まで 56 分と 90 分を要した2例は4%注入群に近い反応を示した。

2. EDTA 溶液注入時における血中 Ca 濃度

図1に示したように、3%以下、4%および8%注入時の血漿 Ca 濃度の低下のパターンは異なっていた。

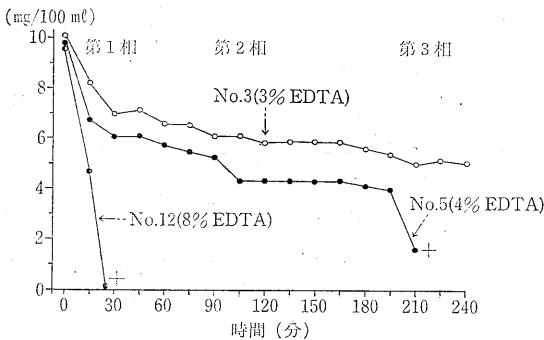


図1 EDTA 溶液濃度差による血漿 Ca 濃度の変化

すなわち、3%では30分までは血清 Ca は急減し、その後はゆるやかに 6 mg/100 ml くらいまで下降したが、240 分でも起立不能には至らなかった。4%では注入後30分前後の間にみられた急激ではほぼ直線的な低下(第1相)、それから同じ量の注入にもかかわらず緩慢な低下(第2相)、その後再び急激な低下を示し(第3相)、死の転機をとる時期が明らかであった(図2)。

8%注入では各種の変化がいずれも直線的な Ca 低下の反応が強く、3%以下では注入初期は急激な低下を示したが、その後は緩慢な低下にとどまっていた(図1)。

血漿総 Ca 濃度は全過程をつうじて若干の増減が見られ、末期には明らかに正常範囲以下の低値を示す例が見られた。

3. 脊髄液中の Ca 濃度

斃死直後の材料での OCPC 法では平均 4.6±0.5, 原

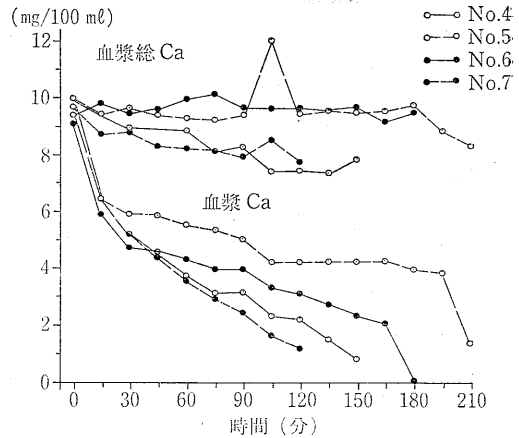


図2 4% EDTA 溶液注入時における血漿 Ca 濃度の変化

子吸光法では平均 5.0±0.5 mg/100 ml であった。同一個体についての EDTA 注入前と斃死直後においての変動は認められなかった。

4. 組織内 Ca 濃度

表2に示したように、正常では小脳皮質および腎臓皮質が高く、骨格筋、肝臓および心臓のほうが低値であった。EDTA 注入による斃死後の4%注入群中4例、8%注入群中6例についての結果(表2)は正常山羊に比べると各組織ごとに低下の程度は異なるが、両者とも低下を示しており、4%注入群がより著明であった。

表2 正常山羊および EDTA 注入による死後組織 Ca 濃度*

組 織	正常 (n=1)	4% (n=4)	8% (n=6)
大脳皮質	10.6	7.5±0.9	7.1±1.3
小脳皮質	88.8	68.7±10.0	80.0±11.6
心 臓	3.8	2.5±0.1	2.8±0.3
肝 臓	3.3	1.8±0.3	2.6±0.5
腎臓皮質	21.4	20.1±9.1	12.6±3.7
腓 腹 筋	3.4	2.8±0.2	2.9±0.2
大腿直筋	3.4	2.8±0.1	2.8±0.1

*mM/kg: 乾燥重量 n: 検体数

8%注入群中2例においての大腿直筋および大脳皮質における経時的変化は表3に示すとおりである。すなわち、大腿直筋では注入後30分までの間はほとんど変化がなく、その後かなりの低下を示したが、大脳皮質では注入後30分ですでに10%前後の明らかな低下を示しており、斃死直後の低下率も大腿直筋に比べやや大きかった(表3)。

4%注入群中1例(No. 7)の大腿直筋についての注入前、注入後60分、90分および120分(斃死直後)の経時的測定での濃度はそれぞれ 3.5, 3.5, 2.8, 2.6 で

表3 8%EDTA注入によるCa濃度の変化

山羊No.	時間(分)	大腿直筋*	大脳皮質*	血漿**
15	注入前	3.6(100)	9.0(100)	9.2
	30	3.6(100)	8.3(92)	3.2
	56***	3.2(89)	7.6(88)	1.4
16	注入前	3.3(100)	10.7(100)	7.7
	30	3.2(97)	9.4(89)	1.8
	45***	3.0(89)	9.3(88)	0

* mM/kg 乾燥重量 ** mg/100ml *** 斃死直後
() Ca 濃度の含有量を%として現わした

あって、そのときの血漿Ca濃度は9.7, 3.7, 2.5, 1.3 mg/100 ml であり、注入後60分の間には大腿直筋には変動が見られなく、末期になって明らかな低下を示し、8%注入群の大腿直筋での変化とまったく同様な傾向が示された。

考 察

山羊を用いて行なった実験で、血漿Ca濃度6mg/100 ml 前後で症状の発現があり、4 mg/100ml 以下で姿勢崩壊、2mg/100 ml 以下では完全な起立不能の状態に陥り、その後心停止という一連の経過がとくに4%注入群に共通して認められ、これは低Ca血症牛あるいは乳熱牛の血中濃度とはほぼ一致している^{9,10,13-17}。

山羊における血漿Ca濃度の変動パターンは、基本的には牛の実験例の報告¹⁰と同じく、3相に分けて考えることができよう。すなわち、注入初期の急激な低下を示す第1相は生体におけるCa恒常性維持機構が十分に作動する以前の純然たる血管内Caだけの反応による時期、同じ量のEDTA注入にもかかわらず、その低下が緩慢となる第2相は上記の機構が十分に作動している時期、そして再び急激な低下を示す第3相であるがその原因としては、血管外コンパートメント内の利用可能な移動性Caの潤渇が第1に考えているが、それには骨および消化管からの[Ca⁺⁺]の吸収の減少が要因と考えられる¹⁵⁻¹⁷。したがって、重篤な低Ca血症の症状を呈するには血管外からの[Ca⁺⁺]の流入量とキレートするのに匹敵するかまたはそれ以上のEDTA濃度の注入が必要であることがわかる。

4%およびそれ以下の低濃度注入では、血漿Ca濃度が6mg/100 ml 前後で症状の発現が示されたが8%注入群では7mg/100 ml 以上で症状の発現をみ、しかもその進行も急激であった。

このことは、血中Ca分画のうち生理的活性を有するものは[Ca⁺⁺]であり、生理的状态では非透析性蛋白結合Ca(Ca-prot)との間に一定のバランスを保っている。8%注入の場合、急激に多量の血中[Ca⁺⁺]がキレ

ートされるので両者の平衡関係がくずれて[Ca⁺⁺]の低下がより顕著となり見かけ上、血漿Ca濃度は若干高くても実際は[Ca⁺⁺]の低下が進んでいるため生ずるものか、または急激な血中濃度の低下に対しその恒常性維持機構が殆んど作働しないためにおこるショックも考えられる。

組織内Ca濃度は組織によって異なっているが、一般的には腎臓が高く、肝臓と骨格筋が低かったという報告がある^{1,6}。今回の実験結果もほぼ同様な傾向を示した。

EDTA注入により斃死した組織内濃度は対照山羊に比べ、いずれも低値を示しており、また組織によってその低下率が異なることからこの低下は単に細胞外液中の[Ca⁺⁺]濃度のみならず、細胞内液中の[Ca⁺⁺]の低下の可能性も大きい。

牛における泌乳初期には骨格筋Caの約12~15%に相当する量の低下が知られている¹⁷が、泌乳初期のように血中Ca濃度の急激な低下をとまなうときには、細胞外液Ca恒常性維持機構のコンパートメントの一部としての役割をはたしているものと考えられ、本実験にみられた骨格筋または他の組織内濃度の低下の意義も同様に解される。

4%および8%注入時の経時的測定による骨格筋内Ca濃度は4%注入例で60分、8%注入例で30分まで殆んど変動を示さず、比較的末期になって低下を示したが、前述の8%2例においての大脳皮質では注入後30分ですでに10%前後の低下を示し、末期における低下率も骨格筋よりやや大きかった。このことから、血中Ca濃度の著減に対する生体反応は神経組織のほうが筋組織よりも早い時点で起こることが認められた。すなわち、血漿Caの低下にとまなうと、中枢神経機能に分類される対光、角膜および眼瞼反射の漸進的な減弱、体温の低下、姿勢崩壊の様式、あるいは神経性の反応を裏づける間代性痙攣発作の出現などの臨床所見の推移ともよく符合するものであって、中枢神経細胞内における[Ca⁺⁺]の生化学的機序の解明を要する点が少なくないが、以上のことから低Ca血症時にとまなう症状の発現は中枢神経系の機能障害による可能性が大きいものと考えられる。

要 約

山羊に各種濃度のEDTA溶液注入による低Ca血症の発症実験を行なった結果、つぎのような成績が得られた。

- 1) 4%および8%EDTA溶液注入では、いずれも低Ca血症から起立不能および心停止までの経過をたどったが、8%注入群では4%注入群ほど血中Ca濃度と症状の進行は明らかではなかった。
- 2) 2%, 2.5%および3%EDTA溶液の約4時間注

入では、典型的な低 Ca 血症の発症には至らなかった。

3) EDTA 溶液注入による斃死後の組織内 Ca 濃度は、対照山羊に比べていずれも低値を示した。

4) 神経組織（大脳皮質）および筋組織（大腿直筋）における経時的分析では、前者のほうが後者より先に低下を示しており、しかもその低下率が大きいことが認められた。

以上のようなことから、低 Ca 血症にともなう症状の発現には、中枢神経系の機能障害により生ずる可能性があるものと推測される。

文 献

1) BIANCHI, C.P.: *Cell calcium*, London, England, Butterworth (1968).
 2) BODA, J.M. and COLE, H.H.: *J. Dai. Sci.*, 37, 360~372 (1954).
 3) BOWEN, J.M., BLACKMON, D.M. and HEAVNER, J.E.: *Amer. J. vet. Res.*, 31,831~839 (1970).
 4) CONNERTY, H.V. and BRIGGS, A.R.: *Amer. J. Clin. Path.*, 45,290~296 (1966).
 5) CURRY, D.L., BENNETT, L.L. and GRODSKY, G. M.: *Amer. J. Physiol.*, 214,174~177 (1968).
 6) GITELMAN, H.J.: *Anal. Biochem.*, 18,521~531 (1967).
 7) GITTES, R.F., TOVERUD, S.U. and COPPER, C.W.: *Endocrinol.*, 82, 83~90 (1968).
 8) KOWALCZYK, D.F. and MAYER, G.P.: *Amer. J.*

Vet. Res., 33,751~757 (1972).
 9) KRONFELD, D.S. and RAMBERG, C.F.: *Bovine Medicine & Surgery*, W.J. GIBBONS, E.J. CATCOTT, and J.F. SMITHCOBS, editors, pp. 382~394, Illinois, American Veterinary Publications (1970).
 10) LITTLE, W.L. and WRIGHT, N.C.: *Brit. J. Exp. Pathol.*, 6,129~134 (1925).
 11) LITLEDIKE, E.T., WHIPP, S.C., WITZEL, D.A. and BAETZ, A.L.: *Parturient Hypocalcemia*, J.J.B. ANDERSON, editor, pp. 165~176, New York, Academic Press (1970).
 12) NAYER, G.P., RAMBERG, C.F. and KRONFELD, D.S.: *J. Nutr.*, 92, 253~260 (1967).
 13) MAYER, G.P., RAMBERG, C.F., KRONFELD, D.S., BUCKLE, R.M., SHERWOOD, L.M., AURBACH, G. D. and POTTS, J.T.: *Amer. J. Vet. Res.*, 30,1587~1597 (1969).
 14) MOODIE, E.W. and ROBERTSON, A.: *Res. Vet. Sci.*, 3,470~484 (1962).
 15) PAYNE, J.M.: *Vet. Rec.*, 76,77~80 (1964).
 16) RAMBERG, C.F., MAYER, G.P., KRONFELD, D.S., AURBACH, G.D., SHERWOOD, L.M. and POTTS, J.T.: *Amer. J. Physiol.*, 213,878~882 (1967).
 17) SMITH, V.R. and BROWN, W.H.: *J. Dai. Sci.*, 46,223~226 (1963).
 18) TRUDEAU, D.L. and FREIER, E.F.: *Clin. Chemist.*, 13,101~114 (1967).

<海外文献要録>

初乳未摂取の新生仔牛における消化管大腸菌症の病理発生について

G.R. PEARSOR & E.F. LOGAN: *Vet. Rec.*, 105, 159~164 (1979).

7頭の新生仔牛に経口的に病原性の *E. coli* 0101K? (A) を接種し、剖検した。全例において細菌の小腸粘膜への付着が認められた。

接種後3時間では小腸末端に若干の菌がみられるにすぎないが、6~36時間では次第に菌の付着がみられるようになった。

病理変化は接種後6~12時間に発現し、絨毛は短縮し、肥厚し、上皮表面は不規則となることが判明した。下痢などの症状が発現する数時間前にすでに病原菌の定着がみられ、これは菌侵入後直ちに成立する。したがって、菌定着を防ぐためには初乳は菌が侵入する前に投与しておかなくてはならない。

||||||| 獣 医 師 募 集 |||||

1. 80%小動物, 20%大動物の診療. 将来一般小動物, 競走馬, 乳牛の専門医として独立意欲のあるもの, または当院にて永続勤務するもの.

2. 募集人員: 6名内(女子1名含む) ※履歴書, 写真, 獣医師登録番号を提出のこと.

3. 経験者, 見習獣医師, 国試再受験中を問わずファイトと誠意あるもの.

4. 給 与 等: 委細面談, 高給優遇

5. 勤 務 地: 東京・世田谷区・世田谷病院 渋谷区・渋谷病院

6. 連 絡 先: ドクター・オザワ動物病院 (〒157 東京都世田谷区給田3-27-10電話 (03) 308-6547(代))