

牛の腸粘膜の死後の形態学的変化

誌名	農林水産省家畜衛生試験場研究報告
ISSN	03882403
著者名	小林,勝 播谷,亮 成田,實 森脇,正
発行元	農林水産省家畜衛生試験場
巻/号	90号
掲載ページ	p. 17-23
発行年月	1987年3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



牛の腸粘膜の死後の形態学的変化

小林 勝¹ 播谷 亮² 成田 實²
森脇 正³

(昭和60年12月6日受付)

約2か月齢の健康子牛3頭を用いて腸粘膜の死後変化について検索を行った。生前に局部麻酔を行って外科的に採材した腸の組織では、いずれの例にも変化は認められなかった。しかし、放血殺直後に採材した組織では、小腸の上皮と粘膜固有層の間に空隙が形成され、絨毛先端部の上皮は剝離していた。結腸でも表層の一部の上皮が剝離しているのが観察された。これらの変化は放血後の放置時間とともに増強し、死後2時間の小腸では絨毛のほとんどの上皮がはがれ粘膜固有層が露出していた。結腸でも変化は高度であり、表面の大部分の上皮が剝離していた。小腸の変化は前部のほうが後部よりも強い傾向が見られた。

腸の死後変化は極めて早く起こることが報告されている。^{1,2,4,9-11)} この死後変化と病変とを区別することは、病理学的検索を行う上で極めて重要である。また、細菌やウイルスを病原学的に証明する場合にも、死後変化は無視できない現象である。腸の疾病の病原体を検索しようとする場合、死後変化が起こり、病原体が存在していたはずの上皮細胞が剝離してしまった後の組織を検査するのは、無意味なことである。

腸の死後変化についての記載は、Badawy¹⁾が羊で、死後変化は非常に早く始まるので組織検査にあたっては注意が必要であることを述べたのが最初である。その後、Fell²⁾が羊・ウサギ・ラットで、また、Thorpe³⁾とCross⁴⁾が豚と同様の報告をした。一方、牛については、Peason⁹⁾が健康な牛と感染牛を用い、麻酔下で放血開始後30分までの材料について死後変化の差異を比較検討した報告があるのみである。この報告では試験に使用した牛は健康牛1頭、感染牛1頭の計2頭で、採材の時間が放血開始後1~30分と短かった。これに対し、実際の解剖や採材はもっと時間が経過してから行われる場合が多い。

この研究は、実際に解剖開始から採材までにかかる

約2時間を想定し、その間の牛の腸の死後変化を経時的に正確に把握するために実施した。

材料と方法

臨床的に健康な、約2か月齢の子牛3頭を用いた。塩酸リドカイン注射液(キシロカイン注射液1%・藤沢薬品工業KK)で局所麻酔を行った後、右側腹壁を切開し、消化管を体外に取り出した。そして、No.1牛とNo.2牛では小腸前部、後部及び結腸を、No.3牛では小腸前部と後部を、それぞれループ状に結紮したうえでループの中央を切り離して採材し(正確な採材部位は表1に示した)、切り開いて0.1M 磷酸緩衝液(PBS)で軽く洗浄した後、10%中性磷酸緩衝ホルマリン液で固定した。その直後、頸動脈より放血を開始し、10分ないし20分後に死亡を確認してから、死後の材料として麻酔下で切り取った部位に隣接した腸を採材した。この際、切断や結紮等の組織への影響を除外するため断端は切除し、残りを固定までプラスチック

Table 1. Location of intestinal segments examined

Calf No.	Length of small intestine	Distance from pylorus	
		Cranial part	Caudal part
No. 1	13.5m	4.0m	13.3m
No. 2	11.6m	2.0m	11.0m
No. 3	11.0m	5.4m	6.4m

- 1 Masaru Kobayashi: 農林水産省家畜衛生試験場研究第一部(現在、同場総合診断研究部、〒305 茨城県筑波郡谷田町観音台 3-1-1)
- 2 Makoto Haritani & Minoru Narita: 同場研究第三部(現在、同場総合診断研究部)
- 3 Masashi Moriwaki: 同上(現在、National Animal Health and Production Institute, Kasetsart University Campus, Bangkok, Bangkok, Thailand)

容器に密閉，室温保存した。固定は麻酔下のほか，死亡時，死後30分，死後1時間及び死後2時間に行った。

固定後，通常のごとくパラフィン切片を作成し光学顕微鏡（光顕）で観察を行った。また，更に，オスミウム酸で再固定し，アルコール脱水，臨界点乾燥後，金スパッタコーティングを行い走査型電子顕微鏡（走査電顕）で観察した。

結 果

1. No.1 牛の所見

腹壁に局所麻酔を施して生体から切り離した組織では，小腸前部，後部及び結腸のいずれでも，粘膜固有層の表面は健全な一層の上皮で覆われ，絨毛の先端においても上皮の剝離は全く認められなかった（図1, 3, 5）。走査電顕で観察すると，小腸の前部では表面に多くの浅いしわが観察されたが，いずれの部位でも上皮の剝離は見られなかった（図2, 4, 6）。

死亡直後に採材した組織では，小腸前部で絨毛先端の上皮の剝離が観察された。上皮と粘膜固有層の間に空隙ができ，絨毛先端の上皮がまるで人が帽子を脱ぐようにすっぽり粘膜固有層から取れ，その部位では固有層が露出していた（図7, 8）。小腸後部ではほとんど変化は認められなかった（図9, 10）。結腸では表面の上皮の剝離が観察され，上皮は1個ずつ，あるいは数個単位で剝離していた（図11：矢印，図12）。

死後30分の組織では上述の変化が増強し，小腸後部でも，一部の上皮が1個2個と剝離していた。まれに上皮と粘膜固有層の間に空隙が形成されていた。

死後1時間の組織では変化は更に著しく，小腸前部では，絨毛先端部の1/2から1/4のほとんどの上皮は剝離して，粘膜固有層が露出していた（図13, 14）。小腸後部では，絨毛の上皮と粘膜固有層の間に空隙ができ，上皮が数個まつまりリボン状になって剝離していく像が光顕により観察された（図15：矢印）。また，走査電顕では，絨毛先端部は深いしわを伴って形状不整となり，随所に粘膜剝離が認められた（図16）。結腸でも上皮の剝離は高度になり，至る所で粘膜固有層が露出していた（図17, 18）。

死後2時間の小腸前部では絨毛の上皮はすべて剝離していた。

なお，全期間を通じ，小腸や結腸の剝離した上皮や剝離部に隣接した上皮には，細胞の萎縮や核濃縮などの変性性の変化は認められなかった。また，露出した

粘膜固有層にも融解・液化などの変化は見られなかった。腸腺でも上皮の剝離は観察されなかった。

2. No.2 牛の所見

No.1 牛とほとんど同じような変化が見られたが，その程度はNo.1 牛よりもやや軽度であった。小腸前部と後部を比較すると，やはり前部のほうの変化が強かった。結腸ではNo.1 牛と同様の高度の上皮の剝離が認められた。

3. No.3 牛の所見

No.1 牛と同じような変化が認められたが，その程度はNo.1 牛よりも強かった。

考 察

今回の成績から，牛の腸では放血が終わった時点で既に死後変化が始まっており，この変化が時間の経過とともに徐々に増強していくことが分かった。この結果はこれまで報告されたものと同様であった。Peason⁹⁾ はコンベンショナルな牛で頸動脈放血開始後3分にして早くも変化が始まったと述べている。我々が検索した牛でも放血殺直後既に死後変化が認められた。しかし，死後変化の程度には個体差があった。Peason⁹⁾ や Cross²⁾ は病原体を感染させた動物のほうが生後変化が早く始まるとし，Fell¹⁰⁾ は大腿骨を骨折させたラットでは変化が早く見られると述べている。すなわち，個体が受けている感作の程度により，死後変化の程度にも差がでるものと考えられ，今回の実験例の間で見られた死後変化の程度の個体差は，各個体が受けた感作の違いの反映とも受け取ることができる。また，臓器の保存について，Thorpe¹¹⁾ は臓器を死体から切り離して体外に取り出したほうが，死体そのままより死後変化は緩やかであると述べている。実際の解剖では，死亡直後に臓器を死体から切り離すことをしないで，死後若干経過した時点で切り離すのが通常であるから，その場合の死後変化は，今回の結果よりももっと急速に進行するものと考えられる。

死後変化の起こり方について，これまでの報告^{1, 4, 9-11)} では，まず上皮と粘膜固有層の間に，粘膜固有層の収縮によって空隙が形成され，上皮と粘膜固有層の結合が緩くなって，上皮が数個まつまりリボン状に剝離していくと述べられている。我々の今回の成績でも，上皮下の空隙形成からリボン状・帽子状の上皮の剝離に至る像が観察された。しかし，そのほかに，空隙の形成なしに上皮が1個，2個と少しずつ離れてい

く像も見られ、特に結腸では、ほとんどがこのようなかたがれ方であった。上皮の剝離には以上のような2つの方式があるものと思われた。

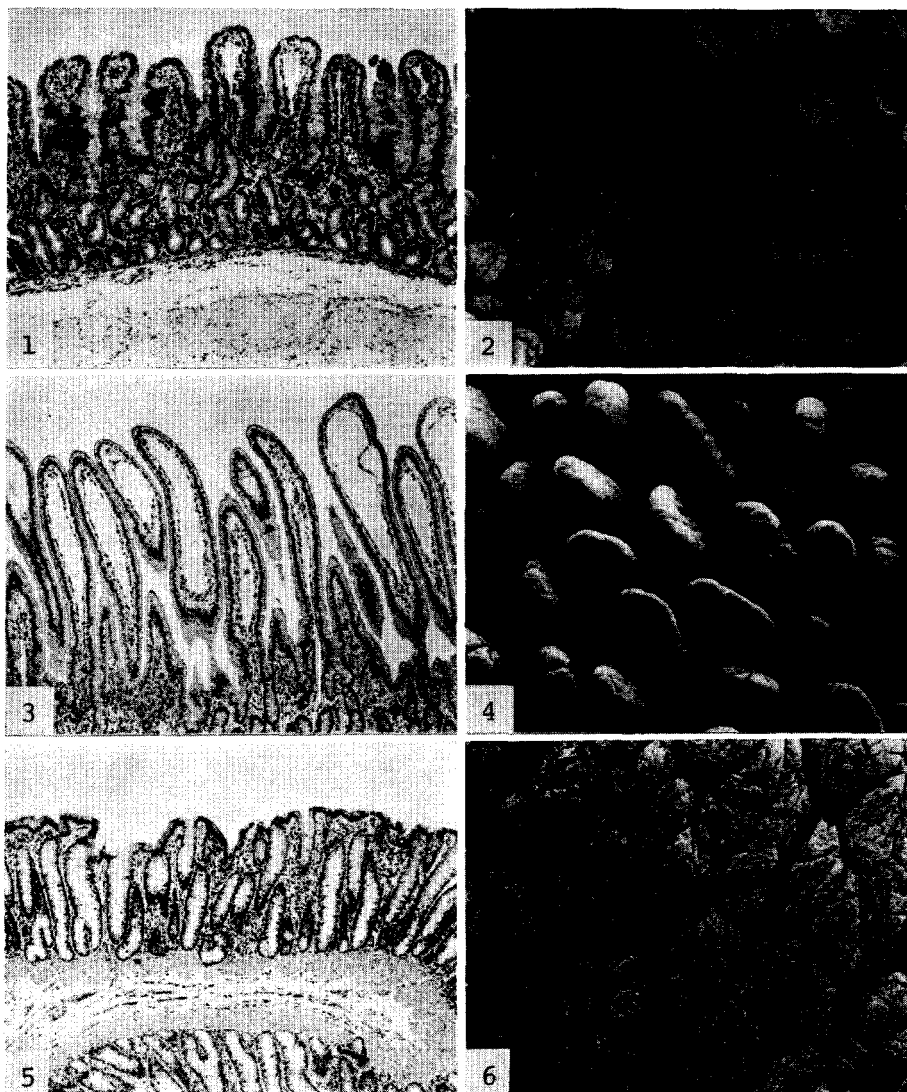
腸の死後変化と病変との差異について、Thorpeら¹¹⁾はその区別が難しいと述べている。Mebusら⁶⁾、Morinら⁷⁾及び Doughri⁹⁾は牛の下痢の腸の組織観察において、絨毛先端の上皮の剝離や上皮下の空隙の形成を病変とみなした。これに対し、Peasonら⁹⁾は、大腸菌やロタウイルスを感染させた子牛でも、麻酔下で採材すればこのような変化は認められないことから、これは死後変化であるとした。今回の我々の成績はPeasonら⁹⁾の考えを支持するものであった。したがって死後採材した組織では、剝離した上皮や剝離部に隣接した上皮に変性変化が見られず、また、粘膜固有層に融解や細胞浸潤を認めない場合は、上皮の剝離や上皮下の空隙の形成は死後の変化と考えたほうがよいと思われた。

死後変化は小腸前部で特に目立つと諸研究者が記載しているが、^{1,2,9-11)}我々の成績もほぼそれを裏付けるものであった。また、大腸の死後の変化は遅いとされていたが、¹¹⁾今回の成績ではかなり早期に結腸の上皮の剝離が始まることが分かった。

腸の死後変化について最初に報告したBadawyら¹⁾は、腸や腸内容についての研究を行う場合は麻酔下で採材して検索すべきであると述べている。今回の我々の成績も全くこれを支持するものであった。したがって、麻酔下で採材を行わなかった場合は、組織が必ず死後変化による影響を受けていることを念頭に置いて検査を進めなければならない。

引用文献

- 1) Badawy, A.M., Campbell, R.M., Cuthbertson, D.P. & Fell, B.F.: Changes in the intestinal mucosa of the sheep following death by human killer. *Nature (Lond.)* 12, 756-757 (1957).
- 2) Cross, R.F. & Kohler, E.M.: Autolytic changes in the digestive system of germfree, *Escherichia coli* monocontaminated, and conventional baby pig. *Can. J. Comp. Med.* 33, 108-112 (1969).
- 3) Doughri, A.M. & Storz, J.: Light and ultrastructural pathologic changes in intestinal coronavirus infection of newborn calves. *Zentralbl. Veterinaermed., B.* 24, 367-385 (1977).
- 4) Fell, B.F.: Cell shedding in the epithelium of the intestinal mucosa: fact and artefact. *J. Pathol. Bacteriol.* 81, 251-254 (1961).
- 5) McNulty, M.S., Allan, G.M. & McFerran, J.B.: Isolation of a cytopathic calf rotavirus. *Res. Vet. Sci.* 21, 114-115 (1976).
- 6) Mebus, C.A., Stair, E.L., Underdahl, N.R. & Twiehaus, M.J.: Pathology of neonatal calf diarrhea induced by a Reo-like virus. *Vet. Pathol.* 8, 490-505 (1971).
- 7) Morin, M., Lamothe, P., Gagnon, A. & Malo, R.: A case of viral neonatal calf diarrhea in a Quebec dairy herd. *Can. J. Comp. Med.* 38, 236-242 (1974).
- 8) Peason, G.R. McNulty, M.S. & Logan, E.F.: Pathological changes in the small intestine of neonatal calves naturally infected with Reo-like virus (Rotavirus). *Vet. Rec.* 27, 454-458 (1978).
- 9) Peason, G.R. & Logan, E.F.: The rate of development of postmortem artefact in the small intestine of neonatal calves. *Br. J. Exp. Pathol.* 59, 178-182 (1978).
- 10) Peason, G.R. & Logan, E.F.: Scanning electron microscopy of early postmortem artefact in the small intestine of a neonatal calf. *Br. J. Exp. Pathol.* 59, 499-503 (1978).
- 11) Thorpe, E. & Thomlinson, J.R.: Autolysis and post-mortem bacteriological changes in the alimentary tract of the pig. *J. Pathol. Bacteriol.* 93, 601-610 (1967).



Animal No. 1. Samples were collected under local anesthesia.

Fig. 1. Cranial part of the small intestine showing villi with intact epithelium contiguous to the lamina propria. Hematoxylin eosin (HE) staining, $\times 40$.

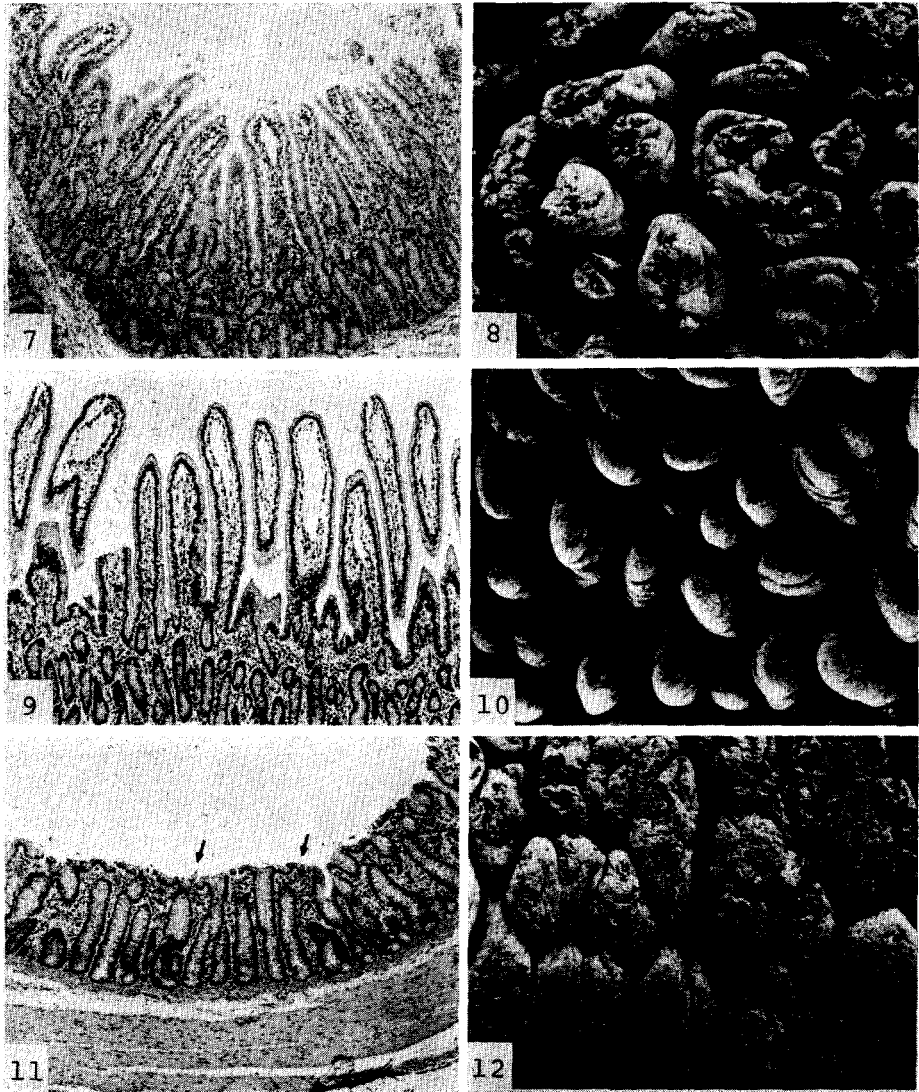
Fig. 2. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 1. Normal villi. $\times 100$.

Fig. 3. Caudal part of the small intestine showing villi with intact epithelium contiguous to the lamina propria. HE staining, $\times 40$.

Fig. 4. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 3. Normal villi. $\times 100$.

Fig. 5. Colon with intact surface epithelium. HE staining, $\times 40$.

Fig. 6. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 5. Normal surface. $\times 100$.



Animal No. 1. Samples were collected just after death.

Fig. 7. Cranial part of the small intestine. Subepithelial spaces and shedding of epithelium are observed at the top of villi. The remaining epithelium is intact. HE staining, $\times 40$.

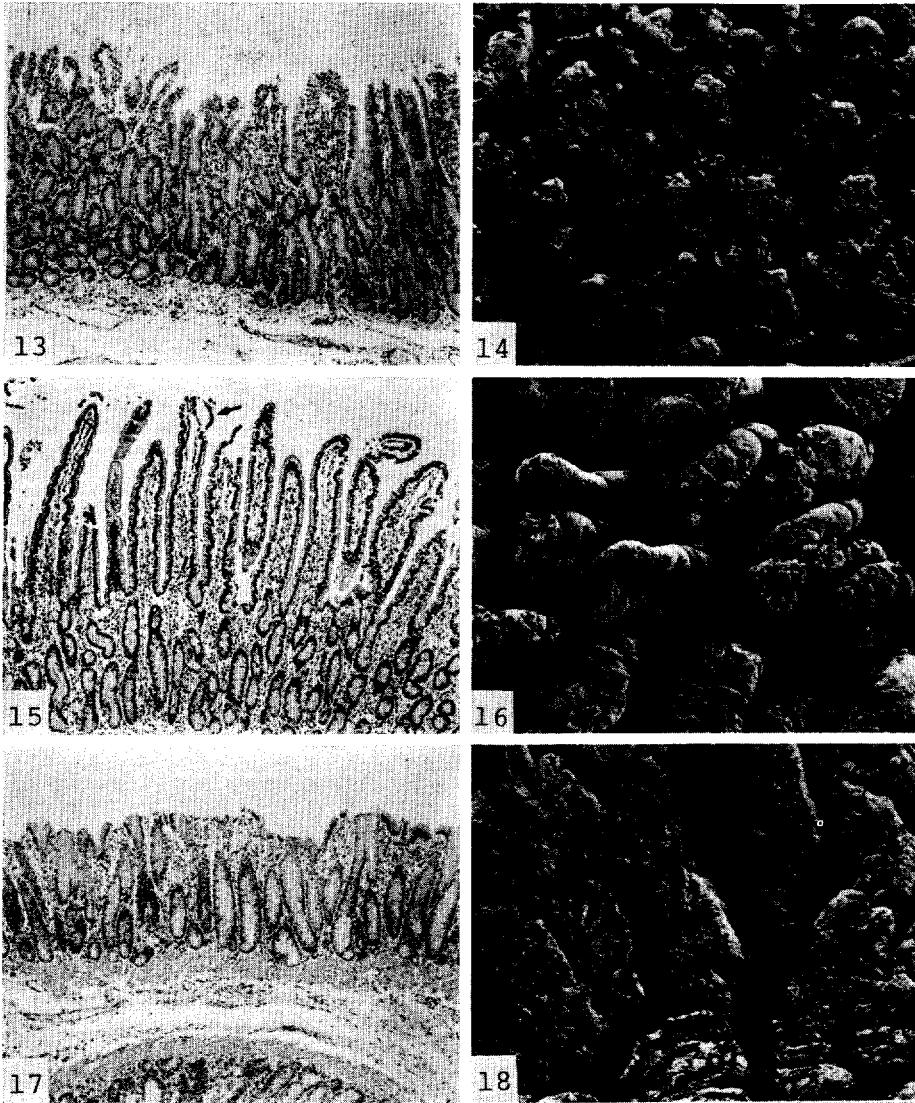
Fig. 8. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 7. Tops of villi are denuded. $\times 100$.

Fig. 9. Caudal part of the small intestine. Almost normal. HE staining, $\times 40$.

Fig. 10. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 9. Almost normal. $\times 100$.

Fig. 11. Colon. Some epithelial cells are shed independently from one another (arrow). HE staining, $\times 40$.

Fig. 12. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 11. Shedding of epithelium is obvious. $\times 100$.



Animal No. 1. Samples were collected 1 hour after death.

Fig. 13. Cranial part of the small intestine. All villi are denuded. HE staining, $\times 40$.

Fig. 14. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 13. Denudation of villi is severe. $\times 100$.

Fig. 15. Caudal part of the small intestine. Subepithelial spaces are observed. Many epithelial cells are shed, looking like short ribbons (arrow). HE staining, $\times 40$.

Fig. 16. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 15. Shedding of epithelium is observed. Villi change in shape with many furrows. $\times 100$.

Fig. 17. Colon. Severe shedding of surface epithelium is observed. HE staining, $\times 40$.

Fig. 18. Scanning electron micrograph of adjacent part of Fig. 17. Almost all surface epithelial cells are shed out and the lamina propria is exposed to the intestinal lumen. $\times 100$.

SUMMARY

Development of Postmortem Changes
in the Intestinal Mucosa of CalvesMasaru KOBAYASHI¹, Makoto HARITANI¹, Minoru NARITA¹,
and Masashi MORIWAKI²

1 *National Institute of Animal Health, 1-1, Kannondai 3-chome, Yatabe-machi,
Tsukuba-gun, Ibaraki-ken, 305 Japan.*

2 *The Same Institute (Present address : National Animal Health and Production
Institute, Kasetsart University Campus, Bangkhen, Bangkok, Thailand)*

The development of postmortem artefact was investigated in the mucosa of the small intestine and colon of 3 healthy calves approximately 2 months old. Samples collected by surgical operation under local anesthesia revealed no changes. In samples harvested just after death by exsanguination, however, the development of small subepithelial spaces and the shedding of the epithelium were observed at the top of villi in the small intestine. Shedding of the surface epithelium was also detected in the colon. A postmortem artefact developed in the course of time. Two hours after death a large number of villi of the small intestine were denuded and the lamina propria was exposed. Marked shedding of the epithelium was also observed in the colon. The postmortem artefact was severer in the cranial part than in the caudal part of the small intestine.