

パラコート中毒罹患犬の肺組織傷害発生におけるフリーラジカルの関与および肺組織のリモデリング

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者名	福永,尚輝 森田,剛仁 澤田,倍美 西田,幸司 島田,章則
発行元	日本獣医師会
巻/号	57巻12号
巻号補足	
掲載ページ	p. 799-801
発行年月	2004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



パラコート中毒罹患犬の肺組織傷害発生におけるフリーラジカルの関与および肺組織のリモデリング

福永尚輝¹⁾ 森田剛仁^{1)†} 澤田倍美¹⁾ 西田幸司²⁾ 島田章則¹⁾

1) 鳥取大学農学部 (〒680-8553 鳥取市湖山町南4-101)

2) 大阪府 開業 (〒580-0016 松原市上田5-10-11)

(2004年5月27日受付・2004年8月3日受理)

要 約

嘔吐および呼吸不全を呈し数日で死亡した犬2例について臨床および病理学的に検索した結果、パラコート中毒と診断された。組織学的に肺胞腔における出血と水腫、肺胞壁のび慢性線維化、ならびに硝子膜形成が認められた。細気管支上皮細胞および細気管支周囲の肺胞領域の上皮細胞の顕著な増生が認められ、これらの細胞には連続性が認められた。免疫組織学的にこれらの細胞はともにサイトケラチン陽性を示した。また、肺胞上皮細胞の核には酸化的ストレス傷害の指標としてよく使用されている8-OHdG陽性像が認められた。以上より、パラコート中毒の肺組織傷害にはフリーラジカル産生に基づく酸化的傷害が深く関与していること、傷害が特に肺胞上皮細胞において強く引き起こされた場合、細気管支上皮細胞が肺胞組織傷害の修復に重要な役割を果たすことが示された。

——キーワード：犬，肺，パラコート中毒。

----- 日獣会誌 57, 799～801 (2004)

パラコート (1, 1'-dimethyl-4, 4'-bipyridinium) (以下、PQ) は非常に強力な除草剤であり、人および動物における中毒の発生が世界中で報告されている [4, 5, 9]。現在のところ、本中毒に対する有効な治療法は確立されていない。PQは経口摂取された後、消化管より血液中に吸収され、多臓器傷害を引き起こす。多量に摂取した場合、数時間の内にショック状態に陥り死に至る。摂取量が少量の場合急死には至らないが、特に肺組織では能動輸送により高濃度にPQが分布し、かつ長時間滞留するため重篤な傷害を引き起こす [5, 9]。PQによる組織傷害の機序としては、PQが体内へ吸収されるとフリーラジカルが産生され酸化的傷害によって細胞膜およびDNAが損傷されることによると考えられている [4, 5, 9]。

これまで、犬のPQ中毒による肺組織傷害に対して肺胞Ⅱ型上皮が修復に関与していると推測されている [3]。いっぽう、猿のPQ投与実験例において重度の肺胞組織傷害およびリモデリングとしての細気管支上皮細胞の細気管支外への増生が報告されている [1, 8]。本邦において犬の自然例のPQ中毒による肺組織傷害の病理発生ならびに修復性変化に関する報告はない。今回PQ中毒と診断された犬2例の肺に関して組織傷害機序および修復

性変化に注目し詳細に検討した。

材 料 お よ び 方 法

症例1は犬、雑種、雌、3歳6カ月齢で、PQ摂取後緑色嘔吐を呈し、3日後の初診時に食欲低下、うめき、努力性呼吸、頻脈および急性腎不全を呈した。4日後より食欲廃絶、血便、のちタール状便を呈し、7日後呼吸困難が悪化し死亡した。症例2は犬、雑種、雌、3歳齢で、PQ摂取後に褐色嘔吐、食欲低下、呼吸促進および努力性呼吸を呈した。翌日、食欲廃絶、水様褐色下痢を呈し、3日後呼吸困難が悪化し死亡した。両例とも尿の定性分析 (簡易定性分析法) によりPQが検出された。死亡後病理解剖を行い、定法により全身諸臓器を10%中性緩衝ホルマリン固定液にて固定、パラフィン切片作製後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を行い鏡検した。さらに、抗8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) 抗体^{a)} [10] および抗サイトケラチン抗体^{b)}を用いた標的ストレプトアビジン・ビオチン (LSAB法) による免疫組織学的検索を行った。対照例として3歳齢および4歳齢の正常犬の肺を使用した。

a) N45.1, 日本老化制御研究所, 静岡。

b) AE1/AE3, DAKO, U.S.A.

† 連絡責任者：森田剛仁 (鳥取大学農学部獣医学科獣医病理学教室)

〒680-8553 鳥取市湖山町南4-101 ☎・FAX 0857-31-5424

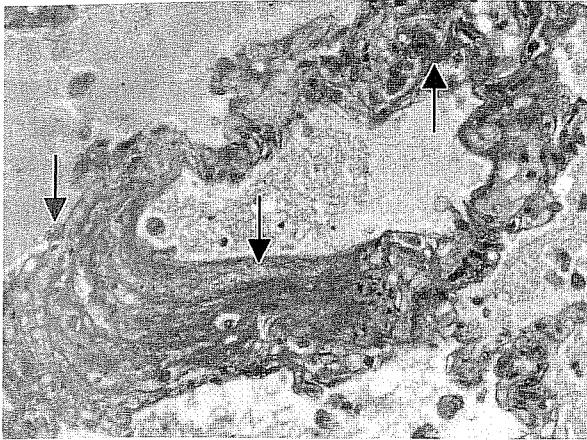


図1 病理組織所見. 肺胞上皮の表面を覆うように硝子膜の形成 (矢印) が認められる. 症例2. (HE 染色 × 380)

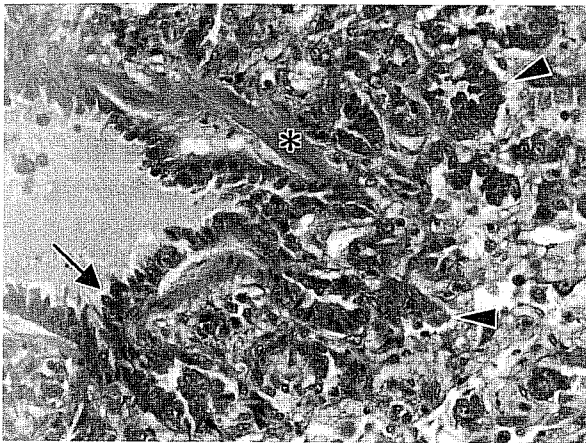


図2 病理組織所見. 細気管支上皮細胞 (矢印) および細気管支周囲における上皮細胞 (矢頭) の腫大および増生が認められる.
*は細気管支平滑筋. 症例2. (HE 染色 × 380)

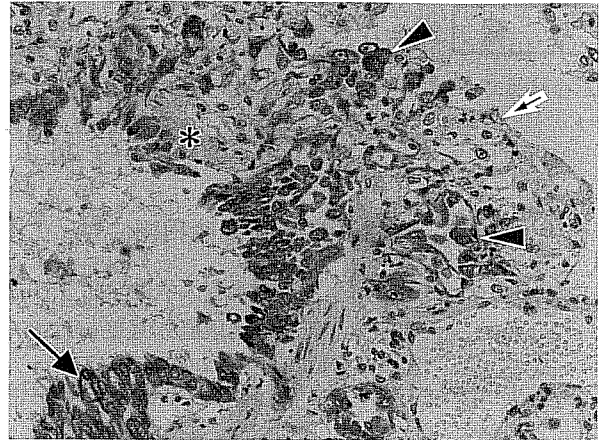


図3 病理組織所見. 細気管支上皮細胞 (矢印) ならびに細気管支周囲に増生した細胞 (矢頭) にサイトケラチン陽性像が認められる.
*は細気管支平滑筋. 小矢印は既存の肺胞組織. 症例1. (抗サイトケラチン免疫染色 × 380)

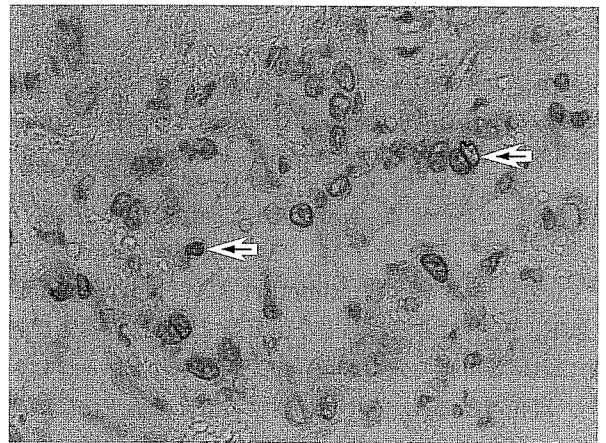


図4 病理組織所見. 傷害領域の肺胞上皮細胞の核に8-OHdG陽性像 (矢印) が認められる. 症例1. (抗8-OHdG免疫染色 × 760)

成 績

病理解剖所見: 両例ともに可視粘膜に著明なチアノーゼがみられた. 肺に広範な暗赤色無気肺巣がみられ, 気管支には全域にわたって赤色泡沫状物質の貯留が認められた. その他, 肝臓の軽度腫大, および腎臓の軽度混濁が認められた. 消化管粘膜に血様内容の付着が認められた.

病理組織所見: 両例の肺において, 肺胞壁における出血および水腫, 肺胞壁の肥厚および線維化が認められた. 時おり肺胞壁の崩壊, ならびに硝子膜形成 (図1), 細気管支上皮細胞および細気管支周囲の肺胞領域における上皮細胞の腫大・増生が認められた (図2). 細気管支上皮と細気管支周囲の肺胞領域に増生した上皮細胞とは明らかに連続する部分が認められた. また, 肺胞上皮細胞の増生が少数認められた. 以上の組織所見の程度は症例2が症例1に比し, より重度であった. 症例1では

広範な肺気腫がみられた. その他, 両例の腎臓における軽度出血およびうっ血, 軽度から高度の尿細管上皮の空胞変性および壊死, 肝臓における中等度うっ血および肝細胞の中等度空胞変性がみられた.

免疫組織化学的所見: 対照例の気管支および細気管支上皮細胞がサイトケラチンに強陽性を示し, 肺胞上皮細胞が陰性を呈した. 本例の気管支および細気管支上皮細胞ならびに細気管支周囲の肺胞領域に増生した細胞にサイトケラチン陽性像が認められた (図3). また, 本例の肺胞上皮細胞および気管支上皮細胞の核に8-OHdG陽性像が認められた (図4). 対照例の肺組織に8-OHdG陽性像は認められなかった.

考 察

PQ中毒による肺組織傷害における特徴として, PQ

摂取後短期間における肺胞壁の線維化、気管支上皮細胞の増生、および硝子膜の形成がある [1-3]。本例においても同様の組織像が認められた。今回、DNAの酸化傷の指標となる8-OHdG [10] に対する免疫組織化学的検索において、肺胞上皮細胞および気管支上皮細胞に8-OHdG陽性所見が認められた。このことより、PQに起因するフリーラジカル産生に基づく酸化傷が、本疾患における肺組織傷害に深く関与していると考えられ、その傷害は特に上皮細胞において強く引き起こされることが推察された。また、HE染色において、細気管支上皮細胞の増生とともに気管支周囲の肺胞領域に上皮細胞の増生が認められ、これらの細胞には連続性が認められた。抗サイトケラチン抗体を用いた免疫組織化学的検索において細気管支上皮細胞ならびに細気管支周囲に増生した細胞に陽性所見が得られたことより、細気管支周囲に増生した細胞は細気管支上皮細胞由来である可能性が高い。通常、肺胞上皮細胞が傷害を受けた場合にはⅡ型肺胞上皮細胞が増殖して修復を担うとされている [7]。しかしながら、本例のように肺胞上皮細胞が短期間に重度の傷害を受けた場合、細気管支上皮細胞が肺胞組織の修復に重要な役割を果たすと考えられた。同様の肺組織傷害および修復に関する所見は猿のPQ摂取実験例で示されているが [1, 8]、今回、初めて犬の自然例において確認することができた。

PQはその強力な毒性ゆえ1986年以降は24%製剤の生産が中止となっており、本邦における中毒の報告は以前に比べ少なくなっている [4, 11]。しかしながら5%

のPQと他剤との合剤の生産は禁止されておらず、農耕地および非農耕地用除草剤として現在もなお全国で使用頻度が高い [6, 11]。そのため本邦では現在も年間数百人のPQ中毒による死者が報告されている [11]。人および動物において今後も同様の症例が発生する可能性があり、その管理、使用方法に対する注意が必要である。

引用文献

- [1] Fukuda Y, Ferrans VJ, Schoenberger CI, Rennard SI, Crystal RG : Am J Pathol, 118, 452-475 (1985)
- [2] Johnson RP, Huxtable CR : Vet Rec, 98, 189-191 (1976)
- [3] Kelly DF, Morgan DG, Darke PGG, Gibbs C, Pearson H, Weaver BMQ : J Comp Pathol, 88, 275-294 (1978)
- [4] 内藤裕史：中毒百科, 293-305, 南江堂, 東京 (2001)
- [5] 二本鋭雄, 島崎弘幸, 美濃 真：抗酸化物質, 247-253, 学会出版センター, 東京 (1994)
- [6] 農薬の手引, 630-631, 化学工業日報社, 東京 (2003)
- [7] 貫和敏博：呼吸器系の分子医学, 143-152, 羊土社, 東京 (1993)
- [8] 貫和敏博：呼吸器系の分子医学, 166-177, 羊土社, 東京 (1993)
- [9] 佐藤 洋：Toxicology Today, 249-256, 金芳堂, 京都 (1994)
- [10] Toyokuni S, Tanaka T, Hattori Y, Nishiyama Y, Yoshida A, Uchida K, Hiai H, Ochi H, Osawa T : Lab Invest, 76, 365-374 (1997)
- [11] 植村振作, 河村 宏, 辻万千子, 富田重行, 前田静夫：農薬毒性の事典, 140-142, 三省堂, 東京 (2002)

Histopathological Study of Paraquat Injury to Canine Lungs : the Role of Oxidative Stress in Pulmonary-tissue Damage and Its Structural Remodeling

Naoki FUKUNAGA*, Takehito MORITA†, Masumi SAWADA,
Kouji NISHIDA and Akinori SHIMADA

* Faculty of Agriculture, Tottori University, 4-101 Koyamacho-Minami, Tottori, 680-8553, Japan

SUMMARY

On the basis of clinical and pathological examinations, paraquat poisoning was diagnosed in the cases of two dogs that died after vomiting and respiratory insufficiency for several days. Histological examination revealed hemorrhage and edema in the alveoli, diffuse fibrosis of the alveolar walls, and formation of hyaline membranes in the lung. Extensively proliferating bronchiolar epithelial cells and epithelial cells in the alveolar area around the bronchioli were associated with cell-arrangement continuity. Immunohistochemically, the bronchiolar epithelial cells were positive for cytokeratin; and the alveolar epithelial-cell nuclei were positive for 8-OHdG, which is one of the most commonly used markers for evaluating oxidative stress. These findings suggest that, in cases of paraquat poisoning, pulmonary-tissue damage is induced by oxidative damage caused by free radicals and that bronchiolar epithelial cells play an important role in repairing pulmonary tissue when alveolar epithelial cells have been especially affected. — Key words : dog, lung, paraquat poisoning.

† Correspondence to : Takehito MORITA (Department of Veterinary Pathology, Tottori University)

4-101 Koyamacho-Minami, Tottori, 680-8553, Japan TEL · FAX 0857-31-5424

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 57, 799 ~ 801 (2004)