

内毒素血症に関与したウマの疝痛における腸間膜動脈の形態学的研究

日高修平¹⁾・植田弘美²⁾・保坂善真²⁾・竹花一成²⁾

Morphology of mesenteric arteries in horse having endotoxemia-related colic

Shuhei HIDAHA¹⁾, Hiromi UEDA²⁾, Yoshinao HOSAKA²⁾ and Kazushige TAKEHANA²⁾
(Accepted 22 July 2008)

緒言

内毒素血症とは内毒素により発症する疾病であって、抑鬱、発熱、低血圧、凝固機構の不適切な活性化、ショックなどの症状が認められる。その原因物質であるエンドトキシンはグラム陰性菌の細胞壁の構成成分であって、菌体の破壊によって生体中に放出される。ウマでは疝痛を含む胃腸疾患または敗血症において血漿中から頻りに検出され⁹⁾、また、ウマの内毒素血症は自発的に起こりうる胃腸疾患とグラム陰性菌感染の結果であると考えられている^{5,6,11,19)}。

疝痛は腹部の疼痛を伴うウマの疾病において認められ、ウマは他の動物と比較して、解剖学および機能的にも消化管において疝痛を起こしやすい要因を持っている¹⁴⁾。その要因として、胃噴門部の括約筋が発達しているため嘔吐が困難であること、胃の容量が体格の割に小さいこと、小腸（空腸）が広範な腸間膜によって体壁の背側に吊るされていること、大腸の一部が体壁に固定されていないこと、盲腸の回腸口、結腸の骨盤曲および膨大部など消化管の太さが部位により著しく異なり、腸内容物が停滞しやすいこと、馬の腸管に分布する末梢神経が鋭敏であることなどが挙げられる。一般的にはウマの疝痛は胃潰瘍、腸捻転など胃や腸の消化管疾患に罹患した際に発現され、我が国ではウマの生産地において年間発生率18.6%、死亡率0.7%、死亡廃用事故中の27.7%を占めている⁸⁾。疝痛を引き起こす疾患には、過食疝、便秘疝、風気疝、変位疝、痙攣疝、および寄生疝などがあり、その中でも臨床上特に問題となっているのは嵌頓、絞扼、捻転および重積などに

よる変位疝であって、エンドトキシンとの関連も指摘されている⁹⁾。また、ウマにおいて最大の血管床である腸間膜循環系でエンドトキシンが血液中に放出されると、腸間膜血管の痙攣や動脈の壊死が生じて腸運動や血流の障害となり疝痛の前駆的発症要因になることが報告されている^{17,18)}。しかし、それらの発症要因とエンドトキシンとの関連性に関しては未だ不明な点が多く、その解明が急がれるところである。

そこで本研究では、エンドトキシンが腸間膜血管中に放出される際にみられる血管病変に着目し、内毒素血症を発症し疝痛を伴ったウマの動脈病変の組織像についてエンドトキシンが及ぼす作用と関連させ検討した。

材料および方法

本研究で使用した透過型電子顕微鏡用試料は北里大学獣医学部教授、及川正明先生より提供されたものであり、以下の方法で作製された。

1. 材料

供試動物として8頭のウマ（サラブレッド種）が用いられた。それらの中から健康で臨床検査において異常がなく、また、剖検した際、腸間膜に肉眼的な病変等のない4頭のウマより腸間膜中の動脈が採取され、対照群とされた。一方、臨床検査において内毒素血症を疑い、剖検では腸間膜に多数の点状または斑状出血を認め、疝痛を伴った4頭のウマより腸間膜中の動脈が採取され、発症群とされた。採取されたすべての組織片は10%ホルマリン液にて固定された。

¹⁾ 軽種馬育成調教センター（2007年度酪農学園大学獣医学部獣医学科卒業）
Blood Horse Training Center, 141 Nishisya, Uraikawa, Hokkaido 057-0171

²⁾ 酪農学園大学獣医学部獣医学科獣医解剖学教室
Department of Veterinary Anatomy, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, 582 Bunkyo-dai-Midorimachi, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

2. 方法

10%ホルマリン液にて固定された組織片は、3.0%グルタルアルデヒド溶液にて再度前固定が施され、次いで1%四酸化オスミウム溶液にて後固定が行われた。以下常法に従い、アルコール列にて脱水、置換、Quetol 812に樹脂包埋され、透過型電子顕微鏡用試料とされた。

及川先生より提供された電子顕微鏡用試料よりウルトラミクロトームにて約1 mm厚の厚切り切片を作製し、1.0%トルイジンブルー溶液にて染色を行い、光学顕微鏡にて動脈病変を検索した。さらに超薄切片を作製し、酢酸ウラニウムとクエン酸鉛により二重染色を施し、透過型電子顕微鏡にて動脈の血管壁に認められる病変箇所の詳細な検索を行った。

結 果

1. 対照群

腸間膜より採取した種々の動脈には、様々な大きさのものが観察され、それらの血管壁は内膜、中膜、外膜の3層より成っていた。内膜には血管内腔に突出した内皮細胞と内弾性板が明瞭に観察され、中膜は数層の平滑筋細胞より構成されており、それらは規則正しく配列していた。外膜は疎線維性結合組織

より成り、腸間膜の結合組織に移行していた(図1 A-D)。

2. 発症群

発症群で観察された多くの動脈は血管腔内に血液が充満し、血管が拡張した状態で観察された。動脈壁の一部では血管壁が破綻し、そこに血液が入り込み、出血状態になっている組織像も認められた。また、対照群と比較すると血管壁を内膜、中膜、外膜の3層に明瞭に区分することが困難であって、特に内皮細胞を明確に観察することが出来なかった。中膜では規則正しく配列した平滑筋細胞の他に、血管壁を破り浸潤したと思われる赤血球が多数観察された。外膜は対照群と同様に疎線維性結合組織より成り、中膜で認められたように赤血球は観察されなかった(図2 A-D)。それらの変性組織像を透過型電子顕微鏡で検索すると、内膜では幾つかの内皮細胞が血管壁より剥離した状態で認められ、そこから中膜へ流れ出る多数の赤血球や血漿成分などが観察された。中膜では赤血球、融解壊死した顆粒球などの血液細胞、空胞などが多数認められ、著しく変形し歪な形を呈した平滑筋細胞も認められた(図3 A, B)。

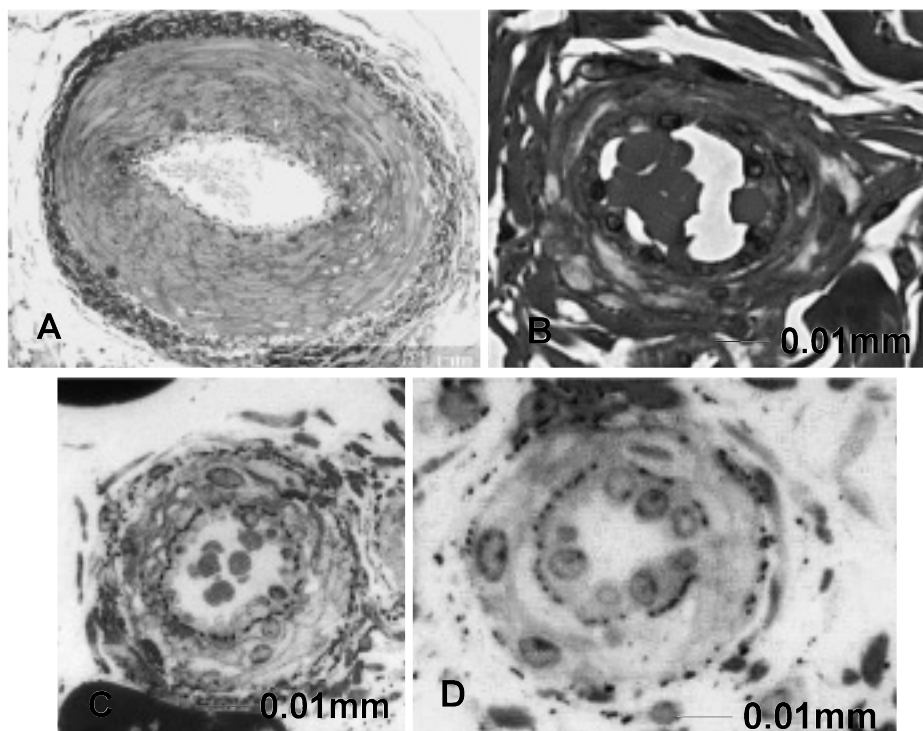


図1. 対照群における動脈の光学顕微鏡像

図AからDは各々の個体より得られた腸間膜動脈の光学顕微鏡像を示す。どの動脈の内膜でも内皮細胞と内弾性膜が観察され、中膜では平滑筋細胞が規則正しく配列していた。外膜は疎線維性結合組織で構成されていた。

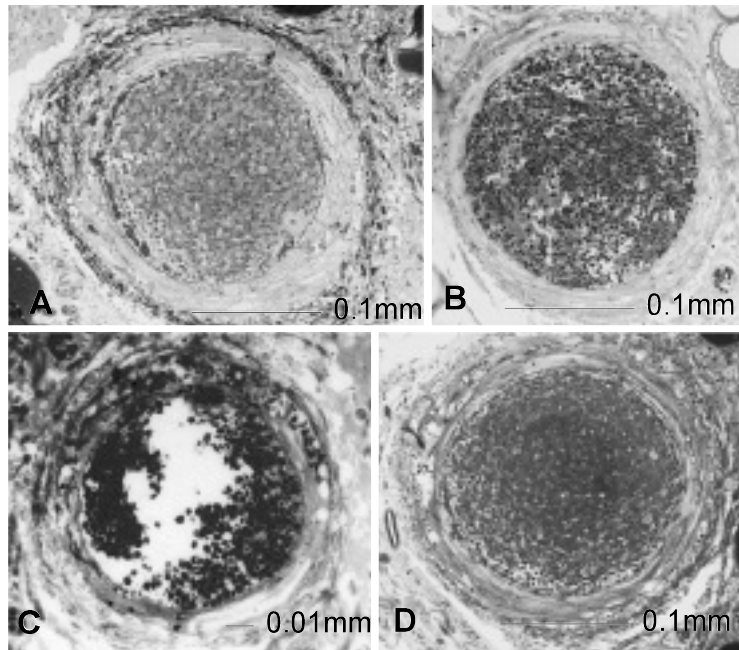


図2. 発症群における動脈の光学顕微鏡像

図AからDは各々の個体より得られた腸間膜動脈の光学顕微鏡像を示す。どの動脈の腔内にも血液が充満し、血管が拡張していた。それらの中には、血管壁を破り浸潤した赤血球などが中膜において観察されたものも認められた。

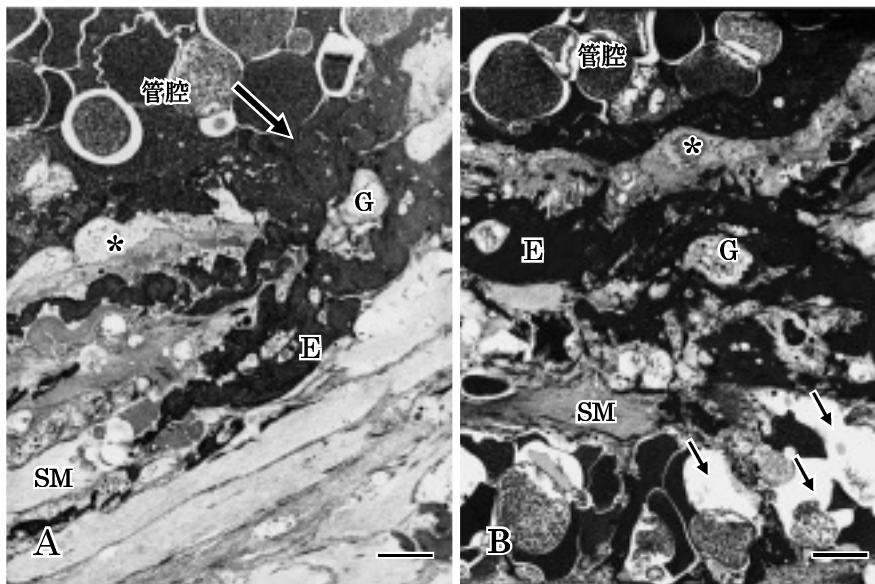


図3. 発症群における動脈の透過型電子顕微鏡像 Bar = 2µm

図A, Bは各々の個体より得られた腸間膜動脈の透過型電子顕微鏡像を示す。図Aの動脈では内皮細胞(*)が剥離している箇所(大矢印)が認められ、中膜へ赤血球(E)や血漿成分が流出していた。図Bの動脈では中膜において空胞(小矢印)や変形した平滑筋細胞(SM)、壊死した顆粒球(G)などが観察された。

考 察

臨床検査により内毒素血症が疑われたウマより採

取した腸間膜動脈において、内膜では剥離した内皮細胞やそこから中膜へ流れ出る多数の赤血球や血漿成分などが、中膜では赤血球、融解壊死した顆粒球

などの血液細胞，空胞などが多数認められ，変形し歪な形を呈した平滑筋細胞も観察された。これらはすでに報告されているウマ内毒素血症の血管病変と類似した組織像であって，本研究で検索した発症群のウマも内毒素血症を発症していたものと考えられる¹⁶⁻¹⁸⁾。また，及川らは内毒素血症を発症したウマの腸間膜血管の透徹標本において，頻繁に収縮と拡張を繰り返し数珠玉状を呈した動脈とうっ血のため拡張した静脈を見出し，血管壁の破綻は収縮したものよりも拡張したもので顕著に認められることを報告している^{17,18)}。本研究の発症群にて観察された動脈は，いずれも血管内腔に血液を満たし拡張していた。さらに動脈壁の一部が破綻し，そこへ血液が入り込み，出血状態にもなっており，及川らが観察した数珠玉状血管の拡張したものと同様の結果が得られた。

チフス菌培養濾液を家兎の皮内に注射し，24時間後，同じ濾液を静脈内に注射することによって，先の注射した部位の皮膚に出血性壊死を作製し得るとされ，これは Shwartzman 反応と呼ばれている²³⁾。この同様の反応はエンドトキシンによっても誘発されることが知られており¹⁻³⁾，反応の発現部位や疾患様態の違いにより局所性，臓器性，全身性の三つの型に分類されている^{4,7,12,13,20)}。本実験の発症群にて観察された動脈の組織像から，ウマの腸管においてもエンドトキシンにより臓器性 Shwartzman 反応が誘発されたものと考えられ，ウマの内毒素血症において Shwartzman 機序が疝痛の発生機軸あるいは増悪因子として作用している可能性が示唆された。さらに，エンドトキシンは好中球を集め，本来細菌や異物を分解無害化する酵素や活性酸素を細胞外へ放出させ，血管内皮を傷害し組織の壊死を引き起こすとされている^{10,15,21,22)}。本研究においてもエンドトキシンが好中球を活性化させ，腸間膜動脈の血管内皮を傷害し，さらには血管壁の破綻にまで至ったものと考えられた。

以上のことより，ウマの内毒素血症では腸管において Shwartzman 反応による出血，壊死性の変化が生じる可能性があり，またエンドトキシンにより腸間膜中の動脈が破綻し，その破綻が広範囲に拡がれば微小循環障害となって腸管の運動が減退することも考えられ，これらのことが疝痛を引き起こす要因になるものと思われた。ウマの疝痛は生命をも奪う可能性があり，この疾患に罹患した患者に接する際には，Shwartzman 機序の関与あるいは微小循環障害を念頭に置き，診断，治療にあたるのが肝要であり，本研究は内毒素血症に対する基礎的知見を提

供するものと考えられる。

謝 辞

本研究の遂行にあたり，貴重な実験材料を提供いただいた北里大学獣医学部教授，及川正明先生に心より感謝いたします。

引用文献

1. 青木直人，加地利雄，森亘 1983. 急性壊死出血性胆嚢炎 (I) 実験的研究. pp. 39-48. 第4回エンドトキシン臨床研究会記録，羊土社，東京.
2. 青木直人，志賀淳治，森亘 1979. 担癌状態とシュワルツマン型肝細胞壊死. pp. 57-61. 第1回エンドトキシン臨床研究会記録，羊土社，東京.
3. 青山弘，菊池文史，森亘 1983. シュワルツマン機序による実験的副腎壊死に関する研究. pp. 23-36. 第4回エンドトキシン臨床研究会記録，羊土社，東京.
4. Apitz, K. 1935. A study of the generalized Shwartzman phenomenon. *J. Immunol.* 29: 255-266.
5. Burrows, G.E. 1981. Endotoxaemia in the horse. *Equine Vet. J.* 13: 89-94.
6. Fessler, J.F., Bottoms, G.D., Coppoc, G.L., Gimarc, S., Latshaw, H.S. and Noble, J.K. 1989. Plasma endotoxin concentrations in experimental and clinical equine subjects. *Equine Vet. J. Suppl.* 7: 4-28.
7. Good, R.A. and Thomas, L. 1952. Studies on the generalized Shwartzman reaction. The production of bilateral cortical necrosis of the kidneys by a single injection of bacterial toxin in rabbits previously treated with throttrast or trypan blue. *J. Exp. Med.* 96: 625-641.
8. Higuchi, T. 2006. A retrospective survey of equine acute abdomen in a breeding region of Japan based on agricultural mutual relief insurance. *J. Equine Sci.* 17: 17-22.
9. King, J.N. and Gerring, E.L. 1988. Detection of endotoxin in cases of equine colic. *Vet. Rec.* 123: 269-271.
10. 見上彪 2003. 獣医微生物学，文永堂出版，東京.
11. Moore, J.N., Garner, H.E., Shapland, J.E. and Schaub, R.G. 1981. Equine endotoxaemia. An insight into cause and treatment. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 179: 473-477.

12. Mori, W. 1981. The Shwartzman reaction: a review including clinical manifestation and proposal for a univisceral or single organ third type. *Histopathology* 5: 113-126.
13. Mori, W., Shiga, J. and Kato, A. 1979. Extensive hepatic cell necrosis produced by the Shwartzman mechanism. *Virch. Arch. A Path. Anat. Histol.* 382: 179-189.
14. 日本中央競馬会競走馬総合研究所 1996. 馬の医学書, チクサン出版社, 東京.
15. 日本獣医病理学会 2001. 動物病理学総論, 文永堂出版, 東京.
16. Oikawa, M., Masawa, N. and Yoshikawa, H. 2006. Mesenteric arterionecrosis in natural and experimental equine endotoxaemia. *J. Comp. Path.* 134: 47-55.
17. Oikawa, M. and Shiga, J. 2002. Equine endotoxaemia: pathomorphological aspects of endotoxin-induced damage in equine mesenteric arteries. *J. Vet. Med.* 49: 173-176.
18. Oikawa, M., Ueno, T. and Yoshikawa, H. 2004. Arterionecrosis of the equine mesentery in naturally occurring endotoxaemia. *J. Comp. Path.* 130: 75-79.
19. Oikawa, M. and Yamaoka, S. 2003. Clinical, hematological, and biochemical analysis of experimental endotoxaemia in thoroughbred horses. *J. Equine Sci.* 14: 5-12.
20. Sanarelli, G. 1924. De la pathog'enie du chol'era. *Ann. Int. Pasteur.* 38: 11-72.
21. 志賀淳治, 森亘 1979. DIC とシュワルツマン反応. *医学のあゆみ* 109 : 760-767.
22. Shiga, J. and Mori, W. 1985. A study on pulmonary hemorrhage experimentally produced by the Shwartzman mechanism in rabbits. Possible relationship to pulmonary hemorrhage in man. *Acta Pathol. Jpn.* 35: 849-861.
23. Shwartzman, G.. 1928. A new phenomenon of local skin reactivity to *B. typhosus* culture filtrate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 25: 560-561.

要 約

ウマにおいて疝痛を伴った内毒素血症はしばしば発症する疾病であって、毒素によって腸間膜動脈には様々な程度の虚血、動脈の痙攣や壊死が引き起こされる。重篤な場合には、それらの臨床症状が疝痛の前駆的発症要因になることが報告されている。エンドトキシンが関与し疝痛を患ったウマでは、腸間膜の血管における障害はこれまでのところ大いに注目されてきている。そこで、この研究では内毒素血症を自然発症したサラブレッドにおいて、腸間膜動脈の障害を形態学的に検索した。この研究で得られた結果は、腸間膜にみられる血管の組織構造に対するエンドトキシンの効果をより良く理解できるものと思われる。試料は3.0%グルタルアルデヒド溶液に固定後、Quetol 812に包埋した。包埋した電顕試料より厚切り切片および超薄切片を作製し、前者には1%トルイジンブルー染色を施した後、光学顕微鏡を用いて、後者には酢酸ウラニウムとクエン酸鉛による二重染色を行った後、透過型電子顕微鏡にて詳細に検索した。発症群では動脈壁において血管内皮細胞の剝離、出血像、歪な形を呈した中膜平滑筋細胞や融解壊死した顆粒球などの血液細胞、空胞などが多数観察された。これらの結果は、すでに報告されているウマの内毒素血症の組織像と類似しており、また、エンドトキシンにより腸間膜中の動脈が損傷を受け、ウマの腸管において臓器性 Shwartzman 反応が起こったものと示唆された。

Summary

Endotoxemia in horse with colic has been detected frequently. The toxin being released from mesenteric arteries could produce a certain degree of tissue ischemia, arteriospasm and arterionecrosis. In severe cases, these clinical afflictions might progress to a prodromal colic symptom. Vascular lesions in the mesentery of horse having endotoxemia-related colic have drawn our attention thus far. Therefore, this study was performed to observe morphologic lesions of mesenteric arteries in Thoroughbreds having naturally occurring endotoxemia. The obtained results were believed to provide more understanding in the effects of endotoxin on vascular structures distributed in the mesentery. The samples were embedded in Epon after a post-fixation with 3.0% glutaraldehyde. The semithin sections were stained with 1% toluidine blue and examined by light microscopy. The ultrathin sections were double-stained with uranyl acetate and lead citrate and examined by transmission electron microscopy. It was quite apparent that the vascular

lesions found in these cases were strictly confined in their mesenteries. The lesions were consisted of mesenteric arteriolar necrosis, vascular rupture and endothelial dysfunction and disappearance. Believingly, these abnormalities would cause the loss of vascular permeable sthenia and allow the occurrences of both intramural and extramural infiltration of erythrocytes and neutrophilic debris, including plasma insudation. The morphology of the mesenteric arteriolar necrosis closely resembled that of Shwartzman reaction. Since major clinical afflictions and histopathological evidences were limited in the mesentery and abdominal viscera, explanation would be most reliable with Schwartzman reaction. Taking Shwartzman mechanism into consideration seems to allow us to efficiently cope with the treatment, diagnosis and prevention of colic prior to the occurrence of endotoxemia.