

短 報

羊 の ロウ バ イ 中 毒 疑 い 事 例

春 山 優 唯[†]

埼玉県中央家畜保健衛生所（〒331-0821 さいたま市北区別所町 107-1）

（2019年7月12日受付・2019年11月1日受理）

要 約

2016年8月、放牧中の羊2頭（コリデール種、4歳、雌）が起立不能、強直性痙攣、呼吸促迫を呈し、血液検査でAST、ALP、CPK、GGT及びLDHの顕著な上昇、総ビリルビン濃度の増加、低Ca血症を認めた。鑑定殺を実施したところ、2頭ともに胃内容濾過物に黒色種子片が散見され、種子は遺伝子検査でロウバイ（*Chimonanthus praecox*）と同定された。また、発症前日に台風が通過したため、放牧地内には多数のロウバイの種子が落下していた。ロウバイの種子等にはアルカロイドの一種であるカリカンチンが含まれ、動物が摂取するとGABA阻害作用により神経症状を呈するとされている。以上より、本例は国内で初めて発生した、羊のロウバイの種子の摂取による中毒事例と考えられた。——キーワード：羊、強直性痙攣、ロウバイ。

-----日獣会誌 73, 249～252 (2020)

ロウバイ（*Chimonanthus praecox*）はロウバイ科ロウバイ属落葉低木種であり、初冬から春にかけて芳香のある花を咲かせる。日本には江戸時代初期に渡来し、以降さまざまな掛け合わせが行われ、品種改良が進んでいる。国内では、おもに観賞用として、農園や庭園などに栽植されている。ロウバイは、偽果と呼ばれる実の中に5～20個の種子を内包しており、種子や葉には、アルカロイドの一種であるカリカンチンが含まれることが知られている [1]。動物がカリカンチンを摂取すると、中枢神経の抑制性神経伝達物質であるGABAの放出が阻害され、ドパミンの放出量が増えることで、強直性痙攣や呼吸促迫を呈する [1]。

今回、羊が神経症状を呈し、ロウバイの実を摂取したことが原因と疑われたため、その概要を報告する。

症例概要と臨床症状

コリデール種の羊13頭（雄2頭、雌11頭）を放牧している牧場において、2016年8月30日夕方、雌の羊1頭（No. 1：2012年5月28日生まれ、自家産、未経産）が横臥し呼吸促迫を呈しており、さらに同じ場所で放牧していた別の雌の羊1頭（No. 2：2012年6月2日生まれ、自家産、未経産）が歩行困難、起立不能となった（図1）。2頭ともに強直性痙攣を呈していたが、外傷はなく、

音刺激には反応した。天然孔からの出血はみられなかった。食欲及び糞便性状は正常であったが、神経症状が継続していたため、翌日予後不良と判断し、2頭の鑑定殺を実施した。なお、発症羊にワクチン接種歴はなく、飼料は放牧地内に自生している植物を自由採食させており、不定期に乾パンを給与していた。

材料及び方法

病理組織学的検索：発症羊を剖検し、肝臓、脾臓、腎



図1 No. 1羊の外貌

[†] 連絡責任者：春山優唯（埼玉県中央家畜保健衛生所）

〒331-0821 さいたま市北区別所町 107-1

☎ 048-663-3071 FAX 048-666-8731

E-mail : haruyama.yui@pref.saitama.lg.jp



図2 No. 2 羊の第一胃内容物中の種子



図3 放牧地内に落下していた偽果及び種子

臓、心臓、肺、脳、脊髄、消化管、リンパ節及び膀胱を採材した。各臓器を10%中性緩衝ホルマリン液にて固定し、定法に従いパラフィン包埋ブロックを作成後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検索した。

種子の同定: 剖検時、第一胃内容物に含まれていた黒色種子 (図2) と、立入時放牧地内に落下していた種子 (図3) の形態学的比較を埼玉県立自然の博物館に依頼した。また、第一胃内容物の種子を同定するため、民間検査機関 (ビジョンバイオ株, 福岡) にPCR法による遺伝子検査を依頼した。遺伝子検査は、*rbcL* 遺伝子を標的とし、以下のプライマーを用いた。さらに、放牧地周辺に植栽されていたロウバイについて、経時的に枝葉及び花の形態を観察し、種を同定した。

PCR プライマーの塩基配列

5'-CGTTACAAAGGACGATGCTACCACATCGAG-3'

5'-ATCACGTAGTAAATCAACAAAGCCTAAAGT-3'

細菌分離: 採材した肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、脳、腹水について、5%羊血液加寒天培地 (CO₂ 培養, 48時間) 及び DHL 寒天培地 (好気培養, 24時間) を用いて、細菌分離を実施した。

ウイルス分離及び遺伝子検査: 白血球及び赤血球の懸濁液、脳、脾臓の10%乳剤及び血清を接種材料とし、HmLu-1細胞を用いてウイルス分離 (5% CO₂ インキュベーター内7日間静置培養) を実施した。その他、白血球、肺、脳を材料とし、村上らの方法 (我が国における牛伝染性鼻気管炎の現行ワクチン株と野外ウイルス株を識別可能なPCR法, 日獣会誌, 63, 259-261 (2010) にて報告) を用いて牛伝染性鼻気管炎ウイルス (IBRV) の遺伝子検査を実施し、脾臓、脳、血清及び赤血球を材料とし、Ohashi ら [2] の方法を用いてイバラキウイルス及びチュウザンウイルスの遺伝子検査を実施した。また、血清を材料とし、国立感染症研究所病原体検出マニュアル (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html> 2013年8月版) に従い、日本脳炎ウイルス抗体検査 (HI

試験) を実施した。

血液検査: 鑑定殺時に腋窩動脈及び腋窩静脈を切開し、EDTA加血液及びプレーン血を採取し、プレーン血から血清を分離した。EDTA加血液は赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、フィブリノーゲン値、白血球百分比の測定に供した。血清は乾式臨床化学分析装置 (スポットケムD, アークレイ株, 京都) を用い、グルコース、総蛋白質、アルブミン、AST、LDH、ALP、 γ -GTP、総コレステロール、尿素窒素、CPK、クレアチニン、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール、マグネシウムの分析に供した。また、血糖測定器 (フリースタイルプレジジョンネオ, アボットジャパン同, 東京) を用い、 β -ヒドロキシ酪酸 (BHB) 濃度を測定した。

胃内容物検査: 第一胃内容物を目開き0.5mmのアルミ製メッシュで繰り返し濾過し、濾過物を観察した。

成 績

剖検及び病理組織学的検索: 剖検では、No. 2の第一胃内容に小豆大の黒色の種子の完全体が15個みられ、2頭の第一胃内容濾過物には黒色種子片が散見された。また、2頭ともに第四胃に緑色水様内容物の貯留がみられたが、その他の臓器に著変はみられなかった。病理組織学的検索では、軽度死後変化の他、有意な所見は得られなかった。

種子の同定: 第一胃内容物に含まれていた種子と放牧地内に落下していた種子は、いずれも長さ14~16mmの楕円形であり、背面及び腹面に細い1本の縦従条がみられたことから、形態学的に同一であると判断した。また、遺伝子検査で、第一胃内容物に含まれていた黒色種子は、ロウバイ (*Chimonanthus praecox*) との相同性が100%であった。放牧地周辺のロウバイは、枝葉の付き方、花被弁の色、大きさ及び付き方からソシンロウバイ (*Chimonanthus praecox* form. *concolor*) と同定した。

細菌分離: 2頭の脳から *Corynebacterium* 属菌及び

表 血液及び血清生化学検査結果

血 液 検 査			
測定項目	(単 位)	No. 1 羊	No. 2 羊
Ht 値	(%)	38	43 ↑
RBC	(個×10 ⁴ /mm ³)	995	725
WBC	(個/mm ³)	8,050	8,275
好酸球	(%)	0	0
好塩基球	(%)	0	0
好中球	(%)	68.5 ↑	67.5 ↑
桿状核	(%)	0	0
2分葉	(%)	0	0
3分葉	(%)	4.5	2.5
4分葉	(%)	12.5	9.5
過分葉	(%)	51.5 ↑	55.5 ↑
リンパ球	(%)	30.5 ↓	30.0 ↓
単 球	(%)	1	2.5

血 清 生 化 学 検 査			
測定項目	(単 位)	No. 1 羊	No. 2 羊
Glu	(mg/dl)	61	78
TP	(g/dl)	5.4 ↓	5.9
Alb	(IU/l)	3.1	3.7
ALP	(IU/l)	570 ↑	229 ↑
LDH	(IU/l)	>2,000 ↑	>2,000 ↑
T-Cho	(mg/dl)	81	88
AST	(IU/l)	590 ↑	>1,000 ↑
γ-GTP	(IU/l)	93 ↑	98 ↑
CPK	(U/l)	>2,000 ↑	>2,000 ↑
T-Bil	(mg/dl)	0.5 ↑	0.7 ↑
BUN	(mg/dl)	15	19
Cre	(mg/dl)	0.8	0.9
Ca	(mg/dl)	8.4 ↓	7.2 ↓
iP	(mg/dl)	4.3	6.4
Mg	(mg/dl)	2.6	2.5
Na	(mEq/l)	150	153
K	(mEq/l)	4.3	5
Cl	(mEq/l)	113	114
BHB	(mmol/l)	1.0	0.8

Staphylococcus 属菌が分離された。

ウイルス分離及び遺伝子検査：いずれの検体からもウイルスは分離されず、IBRV、イバラキウイルス、チュウザンウイルスのいずれの特異遺伝子も検出されなかった。日本脳炎ウイルス抗体検査は2頭ともHI抗体価は20倍未満であった。

血液検査：血液検査では、2頭ともに過分葉核好中球割合が増加していた。血清生化学検査ではALP、LDH、AST、γ-GTP、CPK、総ビリルビン濃度の上昇及び総蛋白質、カルシウム濃度の低下が認められた(表)。

考 察

今回、放牧していた羊が、強直性痙攣、呼吸促迫、起立不能を呈し、第一胃内容物中から黒色種子が検出され

た症例に遭遇した。発症羊の血液検査では、心筋、骨格筋を含む筋肉の傷害が示唆され、第一胃内容物中から検出された黒色種子は、放牧地周辺に植樹していたソシロウバイ (*Chimonanthus praecox* form. *concolor*) の種子と形態学的に同一であった。さらにこの種子は遺伝子学的検査でロウバイ (*Chimonanthus praecox*) と同定された。飼養者への聞き取り調査から、発症前日に台風が通過し、放牧地内には、周辺に植栽していたソシロウバイの実が多数落下していた。また、発症個体は、群の中でも社会的順位が高い2頭であり、日頃から率先して採食していたとのことであった。

細菌学的検査では、脳から *Corynebacterium* 属菌及び *Staphylococcus* 属菌が分離されたものの、病理組織学的検索において脳や他の臓器に著変はみられず、症状への関与は不明であった。実施したウイルス検査でも、いずれのウイルスも検出されなかった。その他、類症鑑別として腰麻痺、低Mg血症、ケトーシスがあるが、病理組織学的検索において指状糸状虫は確認されず、血清中Mg及びBHB濃度も正常値内であった(表)。

本症例では、カリカンチンの標準品が入手できず、生体材料から本物質の検出はできなかったが、検査結果及び疫学調査から、ロウバイ中毒を疑った。

海外では、動物がロウバイを経口摂取し、中毒症状を呈した事例がいくつか報告されている [3-6]。しかし、これらについても、詳細は記載されておらず、また、カリカンチンを検出したものの、濃度までは測定していない例も多い。動物実験では、マウス、ラット、ウサギに致死性や強い興奮作用を示すことが分かっており、半致死量 (LD₅₀) はそれぞれ順に、44mg/kg、17mg/kg、8mg/kgであった [1]。このことから、カリカンチンの作用は動物種による差が大きいことが窺える。また、ヤギで中毒症状を呈した例では、個々の体重等によって同じ動物種でも臨床症状が異なることが示唆されている [3]。羊でのロウバイ中毒の発生報告はこれまでになく、本症例が初めての報告となる。

植物による中毒症例では、生体材料から毒性物質を検出できない場合でも、疫学調査、臨床症状、病理組織学的検索と、胃内容物中に残存している植物の同定により、診断することが可能である。過去の症例報告でも、牛のオナモミ中毒の症例では胃内容物中のオナモミ種子の混在 [7]、牛のユズリハ中毒の症例では胃内容物中の植物残渣の同定 [8] により診断を下している。また、牛のワラビ中毒の症例では、消化管内に未消化のワラビを認めなかったものの、PCR検査で胃内容物中からワラビ遺伝子を検出し、ワラビの採食を確認している [9]。本症例では、胃内容物中の種子を遺伝子検査でロウバイと確認できたことから、ロウバイによる中毒である可能性が高いと判断した。

ロウバイは、鑑賞用として農園や庭園に植樹してあることが多いため、今後、放牧地や畜舎周辺に植樹しないこと、剪定枝などを家畜に与えないことを広く注意喚起する必要がある。

本症例の調査及び本稿の取りまとめにあたりご助言等賜った、埼玉県立自然の博物館自然担当 須田大樹学芸員、農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門病態研究領域山中典子生化学ユニット長に深謝する。

引用文献

- [1] Chebib M, Duke RK, Duke CC, Connor M, Mewett KN, Johnston GA : Convulsant actions of calycanthine, *Toxicol Appl Pharm*, 190, 58-64 (2003)
- [2] Ohashi S, Yoshida K, Yanase T, Kato T, Tsuda T : Simultaneous detection of bovine arboviruses using single-tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction, *J Virol Methods*, 120, 79-85 (2004)
- [3] Numan RW, Ackermann SS, Shelgen JS : Winter-

- sweet (*Chimonanthus praecox*) toxicity in four goats, *New Zeal Vet J*, 64, 179-181 (2016)
- [4] Caloni F, Cortinovis C, Rivolta M, Alonge S, Davanzo F : Plant poisoning in domestic animals: epidemiological data from an Italian survey (2000-2011), *Vet Rec*, 172, 580-584 (2013)
- [5] Burrows GE, Ronald JT : *Calycanthaceae Lindl, Toxic Plants of North America*, Burrows GE, et al eds, 2nd ed, 308-310, Wiley-Blackwell, New Jersey (2013)
- [6] Beasley V : Toxicants associated with stimulation or seizures, *Veterinary toxicology*, Beasley V eds, 82-83, International Veterinary Information Service, U.S.A. (1999)
- [7] 農林水産省消費安全局 : オナモミ中毒, 病性鑑定指針, 第4版, 475-476, 全国家畜衛生職員会 (2015)
- [8] 農林水産省消費安全局 : ユズリハ中毒, 病性鑑定指針, 第4版, 478, 全国家畜衛生職員会 (2015)
- [9] 神吉 武, 小桜利恵, 岡部千恵, 坪川 正 : PCR法を用いた消化管内容物からのワラビ遺伝子の検出, *日獣会誌*, 62, 457-459 (2009)

Case of Suspected Wintersweet (*Chimonanthus Praecox*) Toxicity in Corriedale Sheep

Yui HARUYAMA[†]

*Saitamaken Chuo Livestock Health Station, 107-1 Besshocho, Kitaku, Saitama, 331-0821, Japan

SUMMARY

In August 2016, two grazing sheep (Corydale, 4 years old, female) were unable to stand independently, presenting with symptoms of tonic-clonic seizure and dyspnea. The blood examination results showed a marked increase in AST, ALP, CPK, GGT and LDH, an increase in total bilirubin concentration, and hypocalcemia. In the necropsy, pieces of black seeds were observed in the filtrated rumen content, which were identified as wintersweet (*Chimonanthus praecox*) through genetic testing. Wintersweet seeds contain calikantin, a kind of alkaloid, and when consumed by animals, it causes nervous symptoms due to GABA inhibitory action. In addition, because a typhoon passed by the day before the onset of the symptoms, many wintersweet seeds had fallen into the pasture. Therefore, the case was considered to be toxicosis in sheep caused by the ingestion of wintersweet seeds, which was reported for the first time in Japan.

— Key words : sheep, tonic-clonic seizure, wintersweet.

[†] Correspondence to : Yui HARUYAMA (Saitamaken Chuo Livestock Health Station)

107-1 Besshocho, Kitaku, Saitama, 331-0821, Japan

TEL 048-663-3071 FAX 048-666-8731 E-mail : haruyama.yui@pref.saitama.lg.jp

—J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 73, 249 ~ 252 (2020)