

## 【短 報】 産業動物

# 脳脊髄液中神経特異的エノラーゼおよびリン酸化ニューロフィラメント重鎖濃度が高値を示した大脳皮質壊死症育成牛の1症例

川上 侑記<sup>1)</sup> 上坂 花鈴<sup>2)</sup> 轉馬 創<sup>1)</sup> 長濱 光朗<sup>3)</sup>  
青木 亮太<sup>3)</sup> 渡邊 謙一<sup>1)</sup> 堀内 雅之<sup>1)</sup> 古林与志安<sup>1)</sup> 猪熊 壽<sup>4)</sup>

1) 帯広畜産大学獣医学研究部門 (〒080-8555 帯広市稲田町西2線11)

2) 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 (〒501-1193 岐阜市柳戸1番1)

3) 十勝農業共済組合 (〒089-1182 帯広市川西町基線59番地28)

4) 東京大学大学院農学生命科学研究科動物医療センター (〒113-8658 東京都文京区弥生1-1-1)

## 要 約

黒毛和種育成牛（雄、4カ月齢）が起立困難を主訴に受診した。初診時、食欲不振、威嚇瞬目反応の消失を認めた。抗菌薬、ビタミンB1製剤、ビタミンAおよびE製剤を投与したところ、翌日には起立可能となったが、食欲不振と盲目が継続し、牛房内の壁に頻繁に衝突した。病理解剖では大脳皮質頭頂葉および側頭葉の断面の一部に黄変化がみられ、組織学的検査により後頭葉を中心として広範に大脳皮質層状壊死を認め、大脳皮質壊死症と診断された。脳脊髄液中の神経特異的エノラーゼ (Neuron specific enolase : NSE) およびリン酸化ニューロフィラメント重鎖 (Phosphorylated neurofilament heavy chain : pNF-H) 濃度を測定したところ、それぞれ10.2 ng/mlと231.7 ng/mlで、非神経疾患子牛5頭の中央値0.3 ng/mlおよび1.5 ng/mlに比べて高値を示した。このことから、脳脊髄液中pNF-HおよびNSE濃度は大脳皮質壊死症において神経傷害程度の指標となる可能性が示唆された。

キーワード：黒毛和種、大脳皮質壊死、神経特異的エノラーゼ (Neuron specific enolase : NSE)

リン酸化ニューロフィラメント重鎖 (Phosphorylated neurofilament heavy chain : pNF-H)

-----北獣会誌 64, 102~105 (2020)

大脳皮質壊死症は主として若齢の肥育牛にみられる神経疾患であり、消化管内におけるチアミン生合成低下あるいはチアミン分解酵素増加によるチアミン欠乏が主な原因と考えられている<sup>[1]</sup>。大脳皮質壊死症の診断には病理学的検査が必要であり<sup>[2]</sup>、生前の確定診断は困難である。今回、病理学的に大脳皮質壊死症と診断された黒毛和種育成牛で、脳脊髄液 (cerebrospinal fluid : CSF) 中の神経特異的エノラーゼ (Neuron specific enolase : NSE) 濃度およびリン酸化ニューロフィラメント重鎖 (Phosphorylated neurofilament heavy chain : pNF-H) 濃度が高値を示した症例を経験したので、その概要を報告する。

## 症 例

症例は黒毛和種、雄、4カ月齢で突然の起立困難を主訴に受診した（第1病日）。初診時、食欲不振および威嚇瞬目反応の消失を認め、脳炎、大脳皮質壊死症、白筋症またはビタミンA欠乏を疑い、生理食塩液の輸液に加え、オキシテトラサイクリン (OTC注10%「フジタ」：フジタ製薬、東京；20 ml 静脈内)、フルスルチアミン製剤（アニビタン500注射液：ナガセ医薬品、兵庫；30 ml 静脈内）、セレン・ビタミンE製剤（イーエスイー：共立製薬、東京；2 ml 筋肉内）およびビタミンAD<sub>3</sub>E製剤（デュファフラルーフォルテ：ゾエティス、東京；

連絡責任者：猪熊 壽 東京大学大学院農学生命科学研究科 動物医療センター

〒113-8658 東京都文京区弥生1-1-1

TEL : 03-5841-5421 FAX : 03-5841-8012 E-mail : ainokuma@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

2.4 ml/筋肉内)を投与した。第2病日には活力が向上し自力起立可能となったものの盲目が継続した。症例には第4病日まで継続してオキシテトラサイクリンおよびフルスルチアミンを投与されたが、食欲、飲水欲および盲目症状が回復しなかったため、第5病日に病性鑑定のため帯広畜産大学に搬入された。

搬入時、体温39.5℃、心拍数96回/分、呼吸数66回/分、被毛光沢は良好で、意識清明、自力起立および歩行可能で活力もみられた。しかし、入院牛房内では旋回して落ち着かず、頻繁に柵や壁に衝突した(図1)。視診では、両側眼球には異常を認めず、頭部外傷もなかった。神経学的検査では、左右の威嚇瞬目反応が消失していた。血液検査では赤血球数が増加していた。血液生化学検査では血清総蛋白濃度の低下、AST、ALP、CPKおよびLDHの上昇を認めた(表1)。

表1 血液および血液生化学検査(第5病日)

|          |                    |                    |           |
|----------|--------------------|--------------------|-----------|
| RBC      | 1.247×104/ $\mu$ l | AST                | 168 U/l   |
| Hb       | 12.6 g/dl          | CPK                | 560 U/l   |
| PCV      | 40%                | LDH                | 1,720 U/l |
| Platelet | 124.3×104/ $\mu$ l | TP                 | 5.8 g/dl  |
| WBC      | 8,300/ $\mu$ l     | Albumin            | 3.3 g/dl  |
| Sta      | 0                  | $\alpha$ -globulin | 0.8 g/dl  |
| Seg      | 2,473              | $\beta$ -globulin  | 0.7 g/dl  |
| Lym      | 4,946              | $\gamma$ -globulin | 1.0 g/dl  |
| Mon      | 249                | A/G                | 1.32      |
| Eos      | 249                |                    |           |



図1. 第5病日の歩様  
歩行可能であったが、頻繁に壁に衝突する様子がみられた

## 脳脊髄液検査

腰仙椎間隙の穿刺によりCSFを採取したところ、色調は無色透明で白血球数は検出限界未満(<100/ $\mu$ l)であり、異常を認めなかった。CSF中のNSEおよびpNF-H濃度をそれぞれNSE ELISAキット(Human Neuron Specific Enolase ELISA Kit:Immunospec, USA)<sup>[3]</sup>およびpNF-H ELISAキット(Phosphorylated Neurofilament H Human ELISA Kit:BioVendor, Czech)を用いて測定した。なお、対象として神経症状を認めない臨床健康なホルスタイン種(健常牛)子牛5頭のCSFを用いた。CSF中のNSE濃度は健常牛の中央値1.5 ng/mlに対し、症例では231.7 ng/ml、またpNF-H濃度は健常後肢では中央値0.3 ng/mlに対し10.2 ng/mlであった。

## 病理所見

第7病日に病理解剖を実施した。大脳では肉眼的に脳回が腫脹しており軽度の水腫を認めた(図2)。大脳断面では大脳皮質頭頂葉および側頭葉の一部に巣状の黄変化がみられた(図3)。大脳以外の小脳、脳幹部、眼球、視神経および視交叉に著変は認められなかった。組織検査では広範な領域で大脳皮質の層状壊死を認め、特に後頭葉領域で神経細胞壊死が顕著で、多くは乏血性変化を呈しており(図4)、症例は大脳皮質壊死症と診断された。眼球、視神経および視交叉に異常は認めなかった。

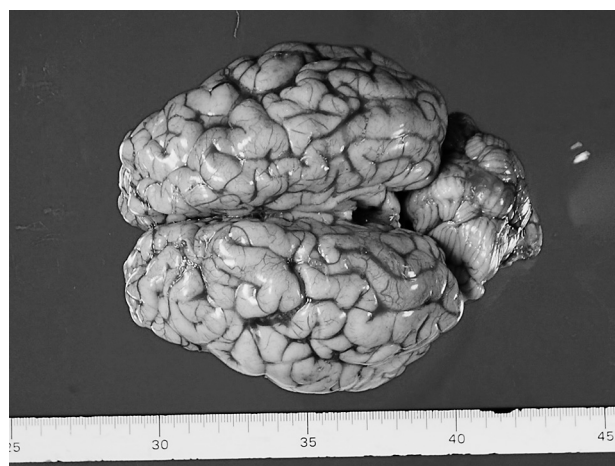


図2. 脳の外観  
脳回が腫脹していた以外は明らかな異常を認めなかった

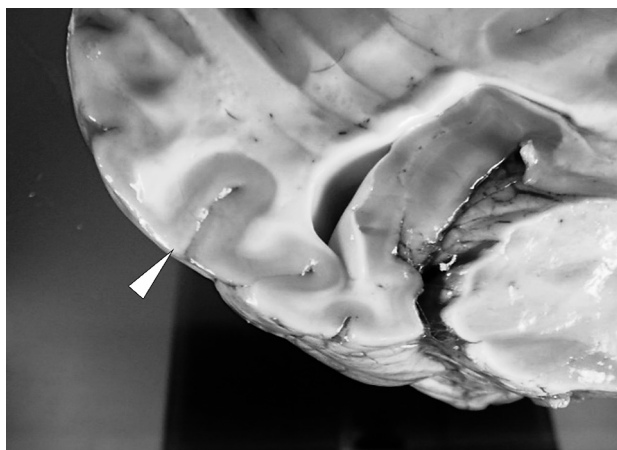


図 3. 脳横断面頭側観  
大脳皮質側頭葉の黄変化 (矢頭)

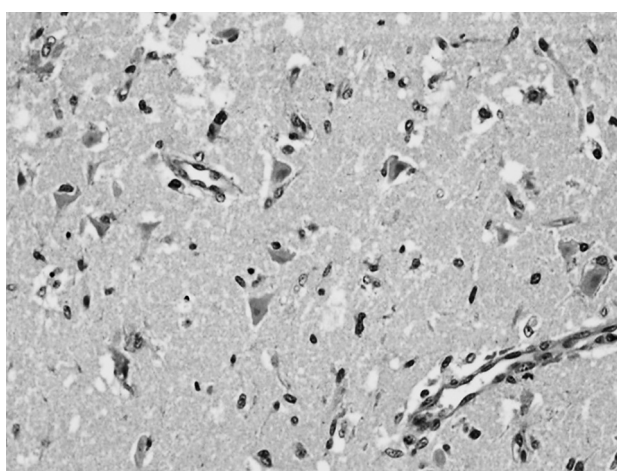


図 4. 大脳皮質後頭葉の組織像  
乏血性変化を呈する神経細胞が多数認められる

## 考 察

本症例の生前診断として、全身症状を認めたこと、眼球異常がなかったこと、左右威嚇瞬目反応消失を認めたことから、責任病変部位は脳と推察された。また、CSF性状に異常がなかったことから、感染性疾患は否定的であり、臨床症状を考慮すると大脳皮質壊死症、ビタミンA欠乏症、中毒、血管障害性疾患が考えられた。疫学的にはビタミンA欠乏症と中毒は否定的であったが、生前の確定診断には至らなかった。症例は最終的に病理学検査により大脳皮質壊死症と診断された。症例には脳以外には病変を認めなかったことから、神経症状は大脳皮質壊死症に起因するものと考えられた。特に、盲目は後頭葉の病変に起因すると推察された。

大脳皮質壊死症は、早期のチアミン投与により症状が改善しうる疾患であるが、しばしば後遺症が残る盲目を呈する<sup>[2]</sup>。また、神経症状を呈する症例では、初診時

にチアミン製剤だけでなく、抗菌薬やステロイド製剤が同時に投与されることが多く、治癒した場合でも真の原因が不明となりやすい。本症例でもチアミン製剤に加えて、抗菌薬、ビタミンAおよびE製剤が投与されている。

本症例では神経傷害マーカーの大脳皮質壊死症への応用可能性を検討するために、CSF中NSEおよびpNF-H濃度を測定した。本症例のCSF中NSEおよびpNF-H濃度はいずれも健常牛に比べて著しい高値を示した。NSEは神経細胞および神経内分泌細胞の細胞質特異的に存在する解糖系酵素であり、神経傷害マーカーとして、医学領域では脳炎、髄膜炎、外傷性脳損傷、脳梗塞において、また、伴侶動物獣医学領域では髄膜脳炎においてCSF中NSE濃度が上昇する<sup>[4-8]</sup>。牛では脊髄の神経細胞変性症例においてCSF中NSE濃度が上昇したと報告されている<sup>[3]</sup>。一方、pNF-Hは神経細胞の細胞骨格形成タンパク質の1つで、神経細胞の軸索に最も豊富に存在し軸索傷害によりCSFに漏出する<sup>[9]</sup>。pNF-Hは蛋白質分解酵素に抵抗性であることから、医学領域では筋萎縮性側索硬化症の診断および予後、および外傷性脊髄損傷の重症度の指標として応用されている<sup>[9-11]</sup>。また、pNF-Hは伴侶動物領域においても胸腰椎椎間板ヘルニアの重症度マーカーとして活用されている<sup>[12]</sup>。いずれの神経傷害マーカー物質も、神経細胞傷害に伴ってCSF中に漏出することから<sup>[13,14]</sup>、本症例のCSF中NSEおよびpNF-H濃度の上昇は大脳皮質神経細胞の傷害を反映したものと考えられ、新たな神経細胞傷害マーカーとしての有用性を示唆するものである。なお、NSEとpNF-Hはどちらも動物種による分子構造上の差が少なく、免疫組織学的検査では抗ヒト抗体が用いられており、今回用いたELISAによる牛材料の測定にも問題はない<sup>[3,15]</sup>。今後、NSEとpNF-Hの臨床応用にあたっては、特異性や重症度との関連を検討する必要がある。

## 引用文献

- [1] 山岸則夫：栄養・代謝性傷害、獣医内科学 第2版 大動物編、209、文永堂出版 (2014)
- [2] Divers TJ, Lahunta AD: Neurologic Disease, Rebhun's Disease of Dairy Cattle, 3rd ed, 624-626, Elsevier, (2018)
- [3] 上坂花鈴、小山憲司、堀内雅之、古林与志安、猪熊壽：脳脊髄液中Neuron-specific enolaseが高値を示した後肢麻痺黒毛和種子牛の1症例、産業動物臨床医誌、9、12-15 (2018)
- [4] Hajduková L, Sobek O, Prchalová D, Bílková Z,



- Koudelková M, Lukášková J, Matuchová I: Biomarkers of brain damage; S100B and NSE concentrations in cerebrospinal fluid a normative study, *BioMed Res Int*, 2015, doi: org/10.1155/2015/379071 (2015)
- [5] Persson L, Hardemark HG, Gustafsson J, Rundstrom G, Hartvig M, Esscher T, Pahlman S: S-100 protein and neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and serum: markers of cell damage in human central nervous system, *Stroke*, 18, 911-918 (1987)
- [6] Lima JE, Takayanagi OM, Garcia LV, Leite JP: Use of neuron-specific enolase for assessing the severity and outcome in patients with neurological disorders, *Braz J Med Biol Res*, 37, 19-26 (2004)
- [7] Selakovic V, Raicevic R, Radenovic L: The increase of neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and plasma as a marker of neuronal damage in patients with acute brain infarction, *J Clin Neurosci*, 12, 542-547 (2005)
- [8] Nakamura K, Miyasho T, Nomura S, Yokota H, Nakade T: Proteome analysis of cerebrospinal fluid in healthy Beagles and canine encephalitis, *J Vet Med Sci*, 74, 751-756 (2012)
- [9] Ueno T, Ohori Y, Ito J, Hoshikawa S, Yamamoto S, Nakamura K, Tanaka S, Akai M, Tobimatsu Y, Ogata T: Hyperphosphorylated neurofilament NF-H as a biomarker of the efficacy of minocycline therapy for spinal cord injury, *Spinal Cord*, 49, 333-336 (2011)
- [10] Rossi D, Volanti P, Brambilla L, Collett T, Spataro R, Bella VL: CSF neurofilament proteins as diagnostic and prognostic biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis, *J Neurol*, 265, 510-521 (2018)
- [11] Hayakawa K, Okazaki R, Ishii K, Ueno T, Izawa N, Tanaka Y: Phosphorylated neurofilament subunit NF-H as a biomarker for evaluating the severity of spinal cord injury patients, a pilot study, *Spinal Cord*, 50, 493-496 (2012)
- [12] Mashita T, Kamishina H, Nakamoto Y, Akagi Y, nakanishi A, Harasaki Y, Ozawa T, Uemura T, Kobatake Y, Shimamura S, Kitamura N, Maeda S, Uzuka Y, Shaw G, Yasuda J: Combination of serum phosphorylated neurofilament heavy subunit and hyperintensity of intramedullary T2W on magnetic resonance imaging provides better prognostic value of canine thoracolumbar intervertebral disc herniation, *J Vet Med Sci*, 77, 433-438 (2015)
- [13] Singh A, Kumar V, Ali S, Mahdi AA, Srivastava RN: Phosphorylated neurofilament heavy: A potential blood biomarker to evaluate the severity of acute spinal cord injuries in adults, *Int J Crit Ill Inj Sci*, 7, 212-217 (2017)
- [14] Selakovic V, Raicevic R, Radenovic L: The increase of neuron-specific enolase in cerebrospinal fluid and plasma as a marker of neuronal damage in patients with acute brain infarction, *J Clin Neurosci*, 12, 542-547 (2005)
- [15] Lee VM, Carden MJ, Schlaepfer WW: Structural similarities and differences between neurofilament proteins from five different species as revealed using monoclonal antibodies. *J Neurosci*, 6, 2179-2186 (1986)