

【短 報】 産業動物

脳脊髄液中の神経傷害マーカーが高値を示した
化膿性脳炎のホルスタイン種子牛の1症例

上坂 花鈴¹⁾ 入江 遙¹⁾ 辻村 歩美²⁾ 渡邊 謙一¹⁾ 堀内 雅之¹⁾
古林与志安¹⁾ 猪熊 壽³⁾

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) 十勝農業共済組合 (〒089-1182 帯広市川西町基線59番地28)

3) 東京大学大学院農業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

3カ月齢のホルスタイン種雌子牛が、肺胞音粗励を伴う意識混濁および左右前肢伸張の神経症状を呈した。神経学的検査では左右眼球の威嚇瞬き反応、角膜反射および眼瞼反射の減弱ないし消失が認められた。脳脊髄液 (CSF) は無色透明で圧の亢進は認められなかった。病理解剖では膿瘍形成を伴う重篤な化膿性肺炎がみられたが、中枢神経系の肉眼病変は認められなかった。しかし、組織学的検査では脳幹部を中心に広範に微小グリア結節、微小膿瘍および巣状壊死、囲管性細胞浸潤が認められ化膿性脳炎と診断された。CSF中の神経傷害マーカーとして神経特異的エノラーゼ (NSE)、リン酸化ニューロフィラメント重鎖 (pNF-H) およびS100カルシウム結合タンパク質B (S100B) を測定したところ、いずれも健常子牛より高値を示した。CSF中の複数の神経傷害マーカーの測定は牛の神経疾患の病態把握および予後判定に有用と思われた。

キーワード：化膿性脳炎、ホルスタイン種、神経特異的エノラーゼ (NSE)

リン酸化ニューロフィラメント重鎖 (pNF-H)、S100カルシウム結合タンパク質B (S100B)

-----北獣会誌 64, 245~248 (2020)

牛の主な炎症性脳疾患として脳炎、髄膜炎、髄膜脳炎などがあるが、いずれも広範な脳の部位に傷害が及ぶと重篤な神経症状を呈し予後は不良となる^[1,2]。これら疾患の診断は臨床症状から疑えるが、産業動物領域では高度画像診断装置の臨床現場での利用が困難であり、確定診断や予後判定も難しいため、診断的治療を行うことがほとんどである。一方、細菌性髄膜脳炎では、脳脊髄液 (cerebrospinal fluid: CSF) 中の炎症細胞の検出、あるいは原因細菌の分離検出により診断が確定することがある^[1,3]。しかし、脳炎の中でも膿瘍形成を代表とする化膿性脳炎症例では炎症領域が限局的であり、CSF性状に変化がみられず、診断の手がかりが得られないことも多い^[2,3]。今回、化膿性脳炎により神経症状を呈したホルスタイン種子牛において、CSF性状および肉眼病理所見に異常がみられなかったが、神経傷害マーカーが

高値を示した症例に遭遇したのでその概要を報告する。

症 例

症例は3カ月齢のホルスタイン種雌子牛で、肺胞音粗励を主訴に十勝NOSAIの診療所を受診した。肺炎を疑ってフロルフェニコール (フロロコール200注射液: 共立製薬、東京) による抗菌治療を行ったが、第2病日には横臥して四肢伸張し、意識混濁となった。体温は38.5℃と発熱はみられなかったが、脳炎または髄膜炎を疑い、抗生物質としてオキシテトラサイクリン (OTC注10%「フジタ」: フジタ製薬、東京) に加えて、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)、解熱鎮痛剤 (ネオアス注射液: 東亜薬品、東京) およびステロイド (デキサメサゾン注KS: 共立製薬) を投与したが症状は改善されなかった。第3病日

連絡責任者: 猪熊 壽 東京大学大学院農業生命科学研究科 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@gecc.u-tokyo.ac.jp



図1. 大学搬入時（第4病日）
症例は右下横臥で左右前肢の伸張と後躯の震顫を呈した



図2. 症例には左眼の腹側斜視のほか、左右眼球の威嚇瞬き反応、角膜反射および眼瞼反射が減弱ないし消失していた
(L) 左眼の腹側斜視 (R) 右眼の角膜反射消失



図3. 後頭窩からの脳脊髄液採取
脳脊髄液は無色透明で圧の亢進はみられなかった

には意識混濁のまま四肢を突っ張り痙攣するてんかん様発作がときおりみられた。症例は第4病日に予後不良と判断され、病性鑑定のため帯広畜産大学に搬入された。

大学搬入時、症例は右下横臥で左右前肢の伸張と後躯の震顫が認められた（図1）。意識は混濁し、体温38.0

表1 血液および血液生化学検査（第4病日）

RBC	1,460×10 ⁴ /μl	AST	168 U/l
Hb	17.0 g/dl	CPK	560 U/l
PCV	53.7%	LDH	1,720 U/l
Platelet	86.5×10 ⁴ /μl	TP	9.1 g/dl
WBC	18,200/μl	Albumin	2.9 g/dl
Sta	0	α-Globulin	1.3 g/dl
Seg	10,556	β-Globulin	1.2 g/dl
Lym	7,098	γ-Globulin	3.8 g/dl
Mon	546	A/G	0.47
Eos	0		

℃、心拍数68回/分、呼吸数56回/分で脱水が顕著であった。肺胞音粗朧で、流涎、両眼結膜充血および膿性鼻汁がみられた。数日前に除角処置を実施したとのことで、左右角根部は湿潤で出血がみられた。神経学的検査では左眼の腹側斜視が認められたほか、左右眼球の威嚇瞬き反応、角膜反射および眼瞼反射が減弱ないし消失していた（図2）。前肢では緊張が強く脊髓反射を評価できなかったが、後肢の脊髓反射に異常は認められなかった。

後頭窩から採取したCSFの性状は、無色透明で圧の亢進は認められず（図3）、細胞数は100/μl未満、比重1.006であった。CSF中の神経傷害マーカーとして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）およびS100カルシウム結合タンパク質B（S100B）を測定した。NSEとpNF-Hの測定には市販のELISAキット（それぞれ、Human Neuron Specific Enolase ELISA Kit：Immuno-spec、USA、およびPhosphorylated Neurofilament H Human ELISA Kit：BioVendor、Czech）を用いた。また、S100Bの測定はKojimaらの報告^[4]に準じて確立したELISA法で測定した。症例CSF中のNSEは6.00 ng/ml（対照9頭平均1.68 ng/ml）、pNF-Hは10.2 ng/ml（対照5頭平均0.3 ng/ml）、およびS100Bは1.40 ng/ml（対照9頭0.24 ng/ml）で、いずれも対照に比較して高値を示した。

血液検査では赤血球系および白血球数の高値を認めた。分葉核好中球が10,556/μlと増加していたが桿状核好中球は認められなかった。血液生化学検査ではγ-Glb 3.8 g/dlの増加を伴ったTPの増加が認められ、A/Gは0.47であった（表1）。症例は第5病日には一般状態が一層悪化したため、安楽殺後に病理解剖を実施した。

病理所見および病原学的検査

病理解剖では脳には肉眼的変化がみられなかった (図4)。肺では右前葉、中葉および副葉が暗赤色無気肺を呈しており、胸壁に癒着していた。同部には直径0.5～4.0 cm大の膿瘍が散発性に認められた。さらに右肺前葉には20×12×5 cm大の緑白色クリーム状の膿汁を容れた大型の膿瘍が認められ、胸壁と重度に癒着していた。気管内部にも膿汁が認められた。

組織学的検査では脳幹部を中心に微小グリア結節、微小膿瘍および巣状壊死が散在しており、囲管性細胞浸潤も認められた (図5)。脳の組織学的病変は脳幹部のほか、中枢神経系全般に広範に認められた。

肺膿瘍の細菌培養により *Proteus mirabilis* が分離された。

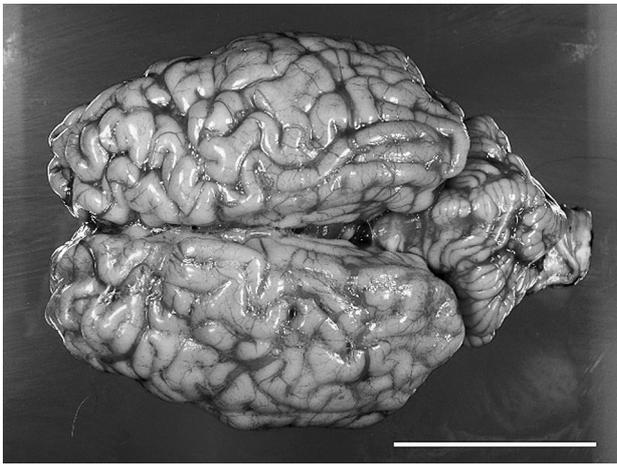


図4. 脳の外観に異常は見られなかった (Bar= 5 cm)

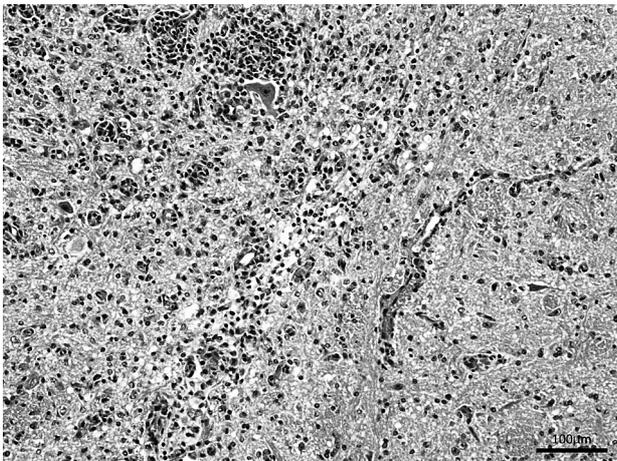


図5. 延髄の組織検査でみられた囲管性細胞浸潤 (bar= 100 μm)

考 察

本症例は3カ月齢時に肺胞音粗朧を伴う横臥、四肢伸張、意識混濁といった神経症状を呈し、病歴と症状、検査所見から細菌感染による脳炎を疑ったものの、CSF性状に異常を認めず、臨床的に診断できなかった。本症例の中枢神経病変は病理学的に化膿性脳炎と診断された。脳全体に炎症が広範に波及する髄膜炎や髄膜脳炎では臨床症状に加えてCSFに炎症像がみられることで診断が確定することがある^[1,3]。しかし、化膿性脳炎の中でも、膿瘍形成症例では炎症領域は脳実質の一部に限局的となり、CSF性状では診断に至らないこともある^[2,3]。本症例でもCSF性状は無色透明で、細胞数の増加もなく、また脳の肉眼病変では明らかではなかったが、組織所見では、脳幹部を中心に微小グリア結節、微小膿瘍および巣状壊死が脳全体に分布していたため、脳幹症状として横臥 (前庭系)、腹側斜視 (第III脳神経)、威嚇瞬き反応減弱 (第IIおよびIIV脳神経)、角膜反射減弱 (第VおよびVI脳神経)、眼瞼反射減弱 (第VおよびVII脳神経) が、小脳症状として横臥および左右前肢伸張が、また大脳症状として意識混濁が発現したと考えられた^[5,6]。

今回、病理解剖時に肉眼的病変がみられなかったため、脳病変の細菌検査は実施しなかったが、症状および脳幹部の微小膿瘍の存在からリステリア感染が疑われた。肉眼病変がない場合でも、限局性病変を想定して病理解剖時に微生物学的検査を試みるべきであったと思われる。感染経路としては、肺に重篤な化膿性炎症が存在したこと、および頭部に除角痕がみられたため、それらとの関係が考えられたが確定できなかった。

今回の症例では、CSF中のNSE、pNF-HおよびS100Bを測定した。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、医学および伴侶動物獣医学領域では脳炎、髄膜炎において^[7-9]、また牛では神経細胞変性症例においてCSF中NSE濃度の上昇が報告されている^[10]。pNF-Hは神経細胞の細胞骨格形成タンパク質で、神経細胞軸索傷害によりCSFに漏出し^[11-14]、牛の大脳皮質壊死症での高値が報告されている^[15]。さらに、S100Bはグリア細胞が分泌するカルシウム結合タンパク質で、神経細胞の傷害に伴うグリア細胞の活性化や崩壊に伴って濃度が増加し^[16-17]、牛では炎症性疾患や変性性疾患など組織傷害の認められる症例で高値を示す^[4]。本症例ではNSE、pNF-HおよびS100Bはいずれも健常牛に比べて高値を示しており、脳幹部を中心とした広範な化膿性脳炎による神経細胞およ

びグリア細胞の傷害を反映したものと考えられた。

牛の神経疾患の診断においては、MRIやCTなどの高度画像診断装置を臨床現場で用いることができず、生前診断および予後判定は困難であることが多い。今回実施したCSF中の神経傷害マーカーの測定は症例の病態把握および予後判定に有用と思われた。また、本症例のように複数の神経マーカーを組み合わせることで診断精度が上がることも期待される。今後、神経傷害マーカーの測定値と重症度や予後との関連を調べ、臨床的意義を明らかにする必要がある。

本研究の一部はJSPS科研費16H05034の助成を受けたものです。

引用文献

- [1] Mackay RJ, Van Metre DC: Meningitis (suppurative meningitis, bacterial meningitis), Large Animal Internal Medicine, Smith BP, 5th ed, 946-948, Mosby Elsevier, St. Louis (2015)
- [2] Mackay RJ, Van Metre DC: Brain abscess, Large Animal Internal Medicine, Smith BP, 5th ed, 948-949, Mosby Elsevier, St. Louis (2015)
- [3] Divers TJ, Lahunta AD: Neurologic Disease, Rebhun's Disease of Dairy Cattle, 3rd ed, 624-626, Elsevier Saunders, St. Louis (2018)
- [4] Kojima Y, Chiba S, Horiuchi N, Kobayashi Y, Inokuma H: Evaluation of S100B in cerebrospinal fluid as a potential biomarker for neurological diseases in calves. *J Vet Med Sci*, 77, 605-607 (2015)
- [5] Lorenz MD, Coates JR, Kent M: Ataxia of the head and the limbs, Handbook of Veterinary Neurology, 5th ed, 250-281, Elsevier Saunders, St. Louis (2011)
- [6] Lorenz MD, Coates JR, Kent M: Blindness, anisocoria, and abnormal eye movement, Handbook of Veterinary Neurology, 5th ed, 330-345, Elsevier Saunders, St. Louis (2011)
- [7] 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, *Bio-Med Res Intern*, 2015; 2015: 379071. doi: 10.1155/2015/379071. Epub 2015 Sep 1 (2015)
- [8] 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)
- [9] 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)
- [10] 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が高値を示した後軀麻痺黒毛和種子牛の1症例、*産業動物臨床医誌*、9、12-15 (2018)
- [11] 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)
- [12] 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)
- [13] 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)
- [14] 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, *Inter J Cri Ill Inj Sci*, 7, 212-217 (2017)
- [15] 川上侑記、上坂花鈴、轉馬 創、長濱光朗、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽: 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、*北獣会誌*、64、102-105 (2020)
- [16] Sakatani S, Seto-Ohshima A, shinohara Y, Yamamoto Y, Yamamoto H, Itohara S, Hirase H: Neuronal-activity-dependent release of S100B from astrocytes enhances kainate-induced gamma oscillations *in vivo*, *J Neurosci*, 28, 10928-10936 (2008)
- [17] Jon S, Antonio B: S100B in neuropathologic states-the CRP of the brain?, *J Neurosci Res*, 85, 1373-1380 (2007)