

【短 報】 産業動物

脳脊髄液ハプトグロビンが高値を示した ホルスタイン種育成牛の脳幹部脳炎の1症例

安樂みずき^{1)*} 川上 侑記^{1)**} 長濱 光朗²⁾
渡邊 謙一¹⁾ 堀内 雅之¹⁾ 古林与志安¹⁾ 猪熊 壽^{1)***}

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NOSAI (〒089-1182 帯広市川西町基線59番地28)

*現所属: NOSAI山形 (〒994-8511 山形県天童市小関1333)

**現所属: 北海道大学大学院獣医学研究院 (〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目)

***現所属: 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

18カ月齢、雌のホルスタイン種育成牛が露舌と嚥下障害を呈した。閉口障害と眼瞼下垂もみられたため、脳神経または脳幹部の異常を疑った。脳脊髄液 (CSF) は無色透明で細胞数も少なかった。病理解剖では肉眼的な著変はみられなかったが、病理組織学的検査では、脳幹部 (中脳・橋・延髄) に大小の壊死巣が散在し、同部では脱髄や軸索変性、脂肪顆粒細胞の出現が認められ、脳幹部脳炎と診断された。病変分布からリステリア感染症を疑ったが、菌体は認められなかった。CSF中のハプトグロビン、S100カルシウム結合蛋白質B (S100B) および神経特異的エノラーゼ (Neuron specific enolase: NSE) を測定したところ、いずれも健常牛よりも高値を呈した。CSF中のハプトグロビンは、S100BおよびNSEと同様、神経傷害マーカーとして利用可能と考えられた。

キーワード: 脳幹部脳炎、ホルスタイン種、脳脊髄液中ハプトグロビン

-----北獣会誌 66, 195~198 (2022)

嚥下困難は、口腔内や舌の外傷や潰瘍、食道内異物、食道周辺の腫瘍形成などの疾患が原因であることが多いが、舌、咀嚼筋、咽頭や食道の機能を司る脳神経の異常によって生じる可能性がある^[1]。CTやMRIといった高度医療機器を利用することが困難な大型産業動物では、原因となる中枢神経の傷害を証明するためには病理学的解析が必須であるが、必ずしもすべての症例で病理解剖が実施できるとは限らない。このため、中枢神経系の傷害程度を表すための各種バイオマーカーの利用が検討されている^[2-5]。今回、病理学的検索結果からリステリア症による嚥下困難を疑ったホルスタイン種育成牛において、脳脊髄液 (cerebrospinal fluid: CSF) 中のハプトグロビン (haptoglobin: HPG) 濃度が高値を呈した症例に遭遇し、CSF中 HPG測定 の臨床的意義を考察した

ので、その概要を報告する。

症 例

症例は18カ月齢、雌のホルスタイン種育成牛で、元気消失、食欲不振を主訴として十勝NOSAI北西部家畜診療センター獣医師の診察を受けた。初診時、露舌を認めたが、胃腸運動微弱、かつ直腸検査で硬固な第一胃を触診したため、第一胃食滞を疑い、パラスチミン (動物用パラスチミン: 日本全薬工業、福島) の10 ml im、高張食塩液 (高張食塩V注射液: 日本全薬工業) の2 l iv、および硫酸カナマイシン (注射用硫酸カナマイシン明治: Meiji Seika ファルマ、東京) の20 ml imを投与した。その後、第6病日まで治療を継続したが、臨床徴候は緩和しなかったため、第7病日に予後不良と判定され

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@g.ecc.u-tokyo.ac.jp



図1. 大学搬入時（第8病日）の外貌
常に舌が口腔から露出している



図2. 口腔内奥の様子

- (A) 開口器を用いて観察すると口腔の奥に食渣の存在が認められた
(B) 用手により未消化の食渣が回収された

て自家廃用となり、第8病日に帯広畜産大学に搬入された。搬入時、体温39.0℃、脈拍数72回/分、呼吸数24回/分で、食思は認められたが、舌が口腔から露出し、口も開いたままで採食が困難であった（図1）。開口器を用いて観察すると口腔の奥に食渣の存在が認められ、用手により未消化の食渣が回収された（図2）。飲水欲もみられたが、こぼす水の量が多く、流涎も顕著であった。左右眼瞼は下垂していたが、眼瞼反射、角膜反射、対光反射および威嚇瞬き反応は正常に認められた。斜視と眼振は認められなかった。脱水の徴候として眼球陥凹および皮膚テント延長が著明であり、また第一胃運動低下とタール様黒色便が認められた。血液検査では、ヘマトクリットとヘモグロビン濃度の低下が認められた（表1）。また、血液化学検査では、血液尿素窒素（BUN）、クレアチニンの高値、クレアチニンキナーゼ（CK）活性の高値が認められたが、炎症像は認められなかった（表1）。

CSFは無色透明で細胞数は10/μl未満であった。CSF

表1. 大学搬入時（第8病日）の血液および血液生化学検査所見

RBC (×10 ⁴ /μl)	670	AST (U/l)	53
Hb (g/dl)	11.3	GGT (U/l)	20
PCV (%)	29.7	LDH (U/l)	889
Platelet (×10 ³ /μl)	61.2	CK	468
WBC (/μl)	4,800	T.Cholesterol (mg/dl)	53
Seg (/μl)	1,872	BUN (mg/dl)	76.5
Lym (/μl)	2,496	Creatinin (mg/dl)	6.9
Mon (/μl)	288	Ca (mg/dl)	9.8
Eos (/μl)	144	P (mg/dl)	6.6
Total Protein (g/dl)	6.6	Na (mEq/l)	133
Albumin (g/dl)	3.0	Cl (mEq/l)	103
α-globulin (g/dl)	1.2	K (mEq/l)	3.0
β-globulin (g/dl)	0.9		
γ-globulin (g/dl)	1.5		
A/G	0.83		

中のHPG濃度をキット（Bovine Haptoglobin, ELISA KIT: Immunology Consultants Lab, Portland, U.S.A.）を用いて測定したところ 1052.3 ng/mlであった。神経徴候を呈さない健常子牛5頭から採取したCSFのHPG濃度はそれぞれ81.5、17.2、27.8、70.1、60.4 ng/mlであり、その平均値51.4 ng/mlに比較すると、本症例のCSF中HPG濃度は著しい高値であった。また、同時に神経傷害マーカーとして知られているS100カルシウム結合蛋白質B（S100B）^[2,3] および神経特異的エノラーゼ（Neuron specific enolase: NSE）^[3,4]を測定したところ、それぞれ738 ng/mlと5.4 ng/mlであり、いずれも健常牛の参考値（9頭平均 S100B: 0.24 ng/ml、NSE: 1.68 ng/ml）^[3]と比較して高値を呈した。

病理所見

本症例は第15病日に安楽死処置後、病理解剖を行った。主要臓器には著変を認めなかった。中枢神経系に明らかな病変は認められず、脳底部および脳幹部にも腫瘍や膿瘍などの圧迫性病変はみられなかった（図3）。消化管では、第四胃内部に小石などの異物とコーンサイレージ等の黒色有形の食渣が充満し、40×10×10 cm大に拡張していた。病理組織学的検査では、脳幹部（橋・延髄で中等度の変化）に大小の壊死巣が散在し、同部では脱髄や軸索変性、脂肪顆粒細胞の出現が認められた（図4）。同様の病変は中脳でも認められたが、変化は弱いものであった。細菌は確認できなかった。浸潤した炎症細胞の多くは単核炎症細胞で、少数の好中球も観察され、病理組織学的に脳炎と診断された。細菌培養などの病原学的検査は行わなかった。

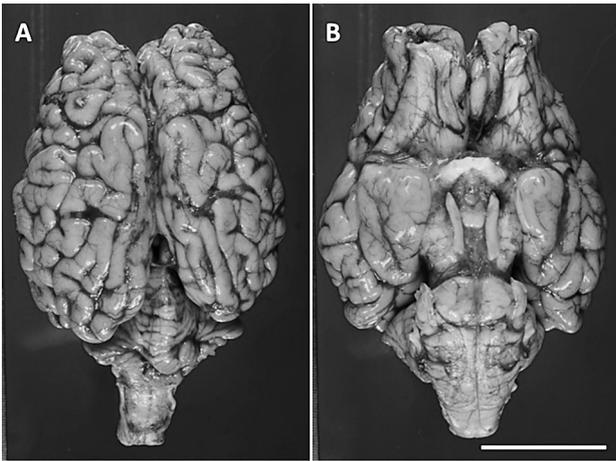


図3. 脳の肉眼所見
 脳の外観に明らかな病変は認められず、脳底部および脳幹部にも腫瘍や膿瘍などの圧迫性病変はみられなかった (A: 背側、B: 腹側、Bar= 5 cm)

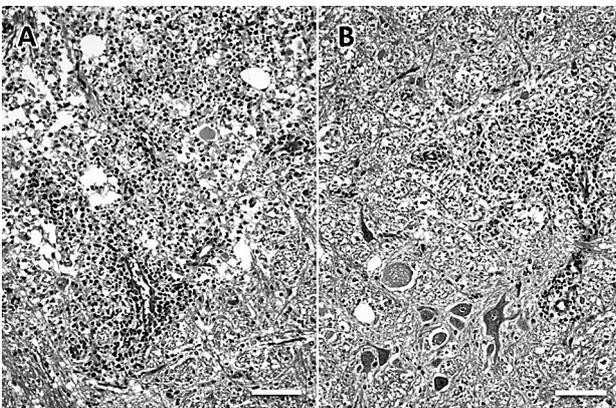


図4. 脳幹部の壊死巣
 壊死巣周辺の神経細胞には脱髄や軸索変性が認められる
 (A: 橋、B: 延髄、HE染色、×100、bar=100 μm)

考 察

本症例は嚥下困難を主な臨床徴候としていたが口腔内の創傷等は認められず、また眼瞼下垂や飲水困難もみられたため、生前には脳神経、特に三叉 (V)、顔面 (VII)、舌咽 (IX)、迷走 (X)、副 (XI) および舌下 (XII) 神経の異常を疑ったものである。また、臨床徴候の発現は急性ではなく、CSF性状が無色透明で細胞数も少なかったことから、髄膜脳炎や外傷性などの甚急性病変ではなく、膿瘍や腫瘍などの慢性進行性病変による脳神経や脳幹部の局所的圧迫が考えられた。病理解剖では肉眼的な中枢神経系の異常は認められなかったが、病理組織学的検査により脳幹部に散在する壊死巣が認められ、神経細胞の傷害も確認されたため、脳幹部を中心とした脳炎であると診断された。病変部である脳幹に中枢を持つ脳神経が傷害を受けたために、嚥下困難、露舌、眼瞼下垂な

どの臨床徴候が発現したと考えられた。また、初診時に認められた消化管運動の低下についても迷走神経傷害に由来する可能性があると考えられた。中脳・橋・延髄における散在性壊死巣という病変分布からは、リステリア症が最も疑われたが^[6,7]、組織学的検索で菌体が認められず、また肉眼病変がなかったことから細菌培養検査も実施していなかったため、原因の特定には至らなかった。

今回、CSFは無色透明であり肉眼的には異常を認めなかったが、HPGが健常牛に比較して高値を示した。HPGは急性相タンパクのひとつであり、微生物感染やストレスなどの刺激により主に肝臓で産生され血中に放出されるが^[8]、炎症部位のマクロファージや好酸球からも産生される^[9]。また、HPGは中枢神経系の反応性アストロサイトからも合成され^[10]、医学領域では血清炎症マーカーとしてのみならず、CSF中のバイオマーカーとしての研究も進んでいる^[11]。牛では子宮炎や乳房炎などで血清中HPGの上昇が報告され、血清炎症マーカーとして知られている^[12-14]。一方、CSF中にもHPGが存在することは知られているが^[15]、病態との関連は研究されていない。

これまで、牛における神経傷害マーカーとして、CSF中のS100B、NSB、リン酸化ニューロフィラメント重鎖が応用可能であることが報告されている^[1-5]。今回の症例でもCSF中のS100BとNSEは健常牛に比較して高値を呈しており、これらの結果は本症例の中枢神経の傷害程度の大きさを示唆するものである。また、今回の結果から、牛のCSF中HPGもS100BやNSEと同様に神経細胞傷害を鋭敏に反映することができることが考えられた。ただし、HPGは血清炎症マーカーとして知られているため、今後、神経疾患におけるCSF-HPGの特異性については、十分な検討が必要である。

本研究の一部はJSPS科研費16H05034の助成を受けた。

引用文献

[1] Lorenz MD, Coates JR, Kant M :Dysphagia, Handbook of Veterinary Neurology, 5th ed, 293-295, Elsevier Saunders, St. Louis (2011)
 [2] 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)
 [3] 上坂花鈴、入江 遥、辻村歩美、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽：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、北獣会誌、64、245-248 (2020)
- [4] 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が高値を示した後駆麻痺黒毛和種子牛の1症例、産動臨床医誌、9、12-15 (2018)
- [5] 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)
- [6] Divers TJ, de Lahunta A: Listeriosis, Rebhun's Diseases of Dairy Cattle, Peek SF, Divers TJ ed, 3rd ed, 614-619, Mosby Elsevier, St. Louis (2018)
- [7] Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grunberg W: Listeriosis, Veterinary Medicine 11th ed, 1331-1337, Elsevier, St. Louis (2017)
- [8] Zvi Burbea, Levy A P: Haptoglobin phenotypes, which one is better and when? Clin Lab, 52, 29-35 (2006)
- [9] Yang F, Ghio A J, Herbert DC, Weaker FJ, Walter CA, Coalson JJ: Pulmonary expression of the human haptoglobin gene, Am J Res Cell Mol Biol, 23, 277-282 (2000)
- [10] Lee MY, Kim SY, Choi JS, Lee IH, Choi YS, Jin JY, Park SJ, Sung KW, Chun MH, Kim IS: Upregulation of haptoglobin in reactive astrocytes after transient forebrain ischemia in rats, J Cere Br Flow Meta, 22, 1176-1180 (2002)
- [11] Conti A, Sanchez-Ruiz Y, Bachi A, Beretta L, Grandi E, Beltramo M, Alessio M: Proteome study of human cerebrospinal fluid following traumatic brain injury indicates fibrinogen degradation products as trauma-associated markers, J Neurotrauma, 21, 854-863 (2004)
- [12] Huzzey JM, Duffield TF, LeBlanc SJ, Veira DM, Weary DM, Von KAMAG: Haptoglobin as an early indicator of metritis, J Dai Sci, 92, 621-625 (2009)
- [13] Safi S, Khoshvaghti A, Jafarzadeh SR, Bolourchi M, Nowrouzian I: Acute phase proteins in the diagnosis of bovine subclinical mastitis, Vet Clin Pathol, 38, 471-476 (2009)
- [14] Smith BI, Johannes K, Lisa S: Serum haptoglobin concentrations in dairy cattle with lameness due to claw disorders, Vet J, 186, 162-165 (2010)
- [15] Filippo PAD, Lannes ST, Meireles MAD, Nogueira AFS, Ribeiro LMF, Graça FAS, Gloria LS: Acute phase proteins in serum and cerebrospinal fluid in healthy cattle; possible use for assessment of neurological diseases, Pesq Vet Bras, 38: 779-784 (2018)