

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

上坂花鈴^{1,2)} 小山憲司^{1,2)} 堀内雅之^{1,3)}
古林与志安^{1,2,3)} 猪熊 壽^{1,2)†}

- 1) 帯広畜産大学獣医学研究部門
- 2) 岐阜大学大学院連合獣医学研究科
- 3) 帯広畜産大学グローバルアグロメディシン研究センター

(2017 年 12 月 3 日受付・2018 年 4 月 19 日受理)

要 約 6 日齢の黒毛和種雌子牛が、突然の後駆麻痺による起立不能を呈した。左後肢の膝蓋腱反射亢進、両後肢の前脛骨筋および腓腹筋反射減弱が認められ、胸髄から腰髄の脊髄損傷が疑われた。病理解剖では第 1 頸髄および第 3 腰髄から第 6 腰髄の硬膜下出血を認めた。組織学的検査では、第 3 腰髄以降の脊髄白質で散在性の軸索変性および脊髄灰白質で神経細胞体の色質融解を認めた。本症例の脳脊髄液中 Neuron-specific enolase (NSE) を ELISA 法により測定したところ、77.32 ng/ml であり、健常対照群 (N=9) の脳脊髄液中 NSE 濃度 (平均 ± SD : 1.68 ± 0.63 ng/ml) より高値を示した。牛の脳脊髄液中 NSE は神経細胞損傷を示すバイオマーカーになりうる可能性が考えられた。

——キーワード：牛、バイオマーカー、神経細胞損傷、neuron-specific enolase、後駆麻痺

.....産業動物臨床医誌 9(1): 12-15, 2018

1. はじめに

Neuron-specific enolase (NSE) は、神経細胞質および神経内分泌細胞に存在する解糖系酵素であり、神経細胞の損傷の程度を反映するバイオマーカーとして医学領域で有望視されている [1, 2]。ヒトでは脳炎、髄膜炎、脳梗塞、脳腫瘍および外傷等で、脳脊髄液中の NSE 濃度が上昇するが [3, 4]、牛の神経疾患における NSE については検討されたことがない。今回、後駆麻痺を呈した黒毛和種子牛で、病理組織学的検査で脊髄神経細胞に軸索変性および色質融解が認められた症例において、脳脊髄液中の NSE 濃度を測定したところ著しく高値であったので、その概要を報告する。

2. 症 例

症例は 6 日齢の黒毛和種雌子牛で、突然の起立不能および下痢を主訴に受診した。下痢に対し輸液、抗菌薬、解熱鎮痛薬および止瀉薬で治療を行った。第 2 病日には

下痢は良化したが、後駆麻痺を認めたため、抗菌薬およびデキサメサゾンで治療を行った。しかし良化せず、第 4 病日の血液検査では左方変位を伴う白血球増多が認められた。起立不能の状態が続き、第 9 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、症例は体温 41.6℃、心拍数 92 回/分、呼吸数 32 回/分で、意識清明で哺乳可能だった。しかし介助起立できず、両後肢は伸展しており、犬座姿勢となった (図 1)。体表に外傷はなく、背部圧痛および棘突起の異常は認めなかった。神経学的検査を行ったところ、左後肢の膝蓋腱反射亢進、両後肢の前脛骨筋および腓腹筋反射の減弱を認めた (表 1)。また、尾の脱力、肛門反射の減弱も認められた。前肢では神経学的異常は認められなかった。腰仙椎間から脳脊髄液を採取したところ、帯黄色で僅かに混濁していたが、細胞成分は含まれず、また採取時の圧の亢進も無かった。血液検査では白血球数 15,500/μl、血液生化学的検査では A/G 比 0.56 で、蛋白分画において α グロ

† 連絡責任者：猪熊 壽 (帯広畜産大学臨床獣医学研究部門 臨床獣医学分野)
〒 080-8555 帯広市稲田町西 2 線 11 ☎/FAX 0155-49-5370
E-mail : inokuma@obihiro.ac.jp



図1. 第9病日の症例外貌. 哺乳は可能だが, 後肢が伸展し, 犬座姿勢を呈した.

プリンの高値を認めた.

3. 病理解剖および組織学的検査

第11病日に本症例の病理解剖を実施した. 外傷を示唆する所見は認められなかった. 第1頸髄および第3腰髄から第6腰髄の硬膜下に出血がみられた(図2). 脊髄の横断面では, 第1頸髄で暗褐色, 第1腰髄から第6腰髄で乳白色の変色がみられた(図3). 組織学的検査では, 第1頸髄に組織学的異常は認められなかった. 第3腰髄以降においては, 脊髄白質で散在性の軸索変性

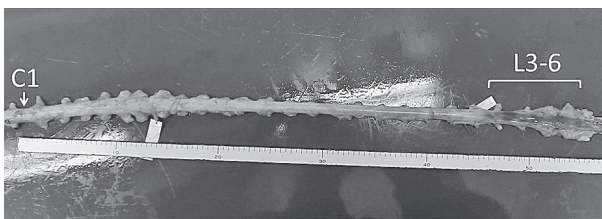


図2. 病理解剖時の脊髄外貌. 第1頸髄(C1)および第3腰髄(L3)から第6腰髄(L6)の硬膜内に出血がみられた.

表1. 症例の神経学的検査(第9病日)

	左	右
前肢		
橈側手根伸筋反射	++	++
二頭筋反射	++	++
三頭筋反射	++	++
前肢屈曲反射	++	++
後肢		
膝蓋腱反射	+++	++
前脛骨筋反射	+	+
腓腹筋反射	+	+
後肢屈曲反射	++	++
肛門反射	±	

±: とても弱い +: 弱い ++: 正常 +++: 亢進

(図4A)および脊髄灰白質で神経細胞体の色質融解(図4B)を認め, 第5腰髄以降では星状膠細胞が増加していた. また, 病変領域の硬膜内および周囲の小動脈において, 出血, 血栓およびフィブリノイド壊死が認められた.

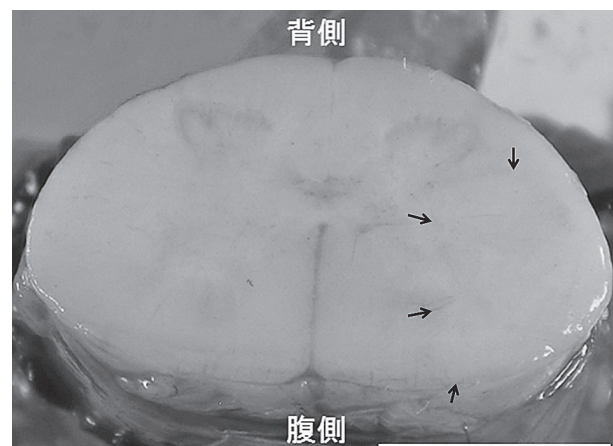


図3. 第5腰髄断面. 左側灰白質に乳白色の変色を認めた(矢印).

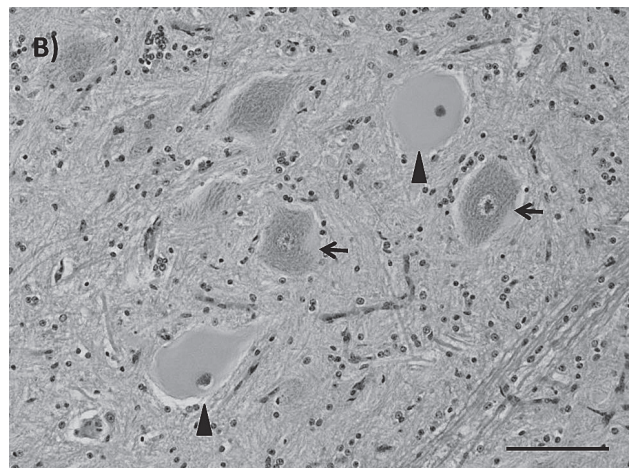
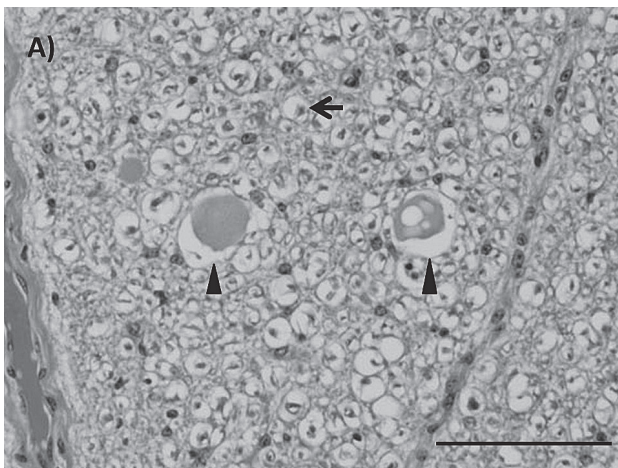


図4. 第5腰髄の組織学的検査所見. A) 正常(矢印)に比べて膨化した軸索-軸索変性(矢頭)がみられる. B) 正常な神経細胞体(矢印)に比べ, 色質融解した神経細胞体は膨化し, ニッスル小体が消失している(矢頭).

4. NSE 濃度の測定

本症例および対照群として健常子牛9頭（8日齢～1カ月齢，中央値12日齢）から採取した脳脊髄液および血清を測定に供した。キットNSE ELISA (IMMUNOSPEC, USA) を用いたELISA法によりNSE濃度を測定したところ，本症例の脳脊髄液中NSE濃度は77.32 ng/ml，血清中NSE濃度は1.92 ng/mlだった。一方，健常対照群の脳脊髄液中NSE濃度の平均±SDは1.68 ± 0.63 ng/ml，血清中NSE濃度の平均±SDは0.67 ± 0.23 ng/mlだった（図5）。

5. 考察

6日齢時に突然後肢麻痺を呈し，病理組織学的に第3腰椎以降の脊髄において変性性病変を認めた子牛の症例において，脳脊髄液中および血清NSE測定の有用性を検討した。本症例は後肢麻痺を呈し，神経学的検査では膝蓋腱反射が亢進，前脛骨筋反射・腓腹筋反射・肛門反射が減弱し，尾は脱力していたことから，生前は第3胸髄以降の病変が疑われた。突然起立不能を呈したことから，左方変位を伴う白血球増多およびαグロブリンの増加といった急性炎症像があったことから，経過は急性で，外傷性や血管性の脊髄病変が考えられた。本症例の脳脊髄液は帯黄色で混濁していたものの，細胞成分は含まれず，生前に病態を明らかにすることはできなかった。

病理解剖において，第1頸髄および第3腰椎から第6腰椎の硬膜下に出血が認められた。病理組織学的には，第1頸髄では異常を認めず，第3腰椎以降では脊髄白質で散在性の軸索変性および脊髄灰白質で神経細胞体の色質融解を認めた。病理組織所見より，後肢麻痺を引き起こした責任病変は第3腰椎以降であり，第1頸髄硬膜下出血は臨床症状に関与しないと考えられた。また，病変部周囲の骨格や筋には異常を認めず，その病変を引き起こした原因および病態は不明であった。

今回測定したNSEは，解糖系に関与する酵素であり [1]，神経細胞質および神経内分泌細胞に多く局在する [2]。神経の損傷により，NSEは容易に細胞間スペースおよび脳脊髄液中に漏出する [4]。実験的にラットの脊髄に外傷を加えると，脳脊髄液中NSE濃度は外傷2時間後から上昇し始め，6時間後にピークを迎え，24時間後も高濃度を維持し続ける [5]。さらに，脊髄損傷の程度が重度であるほど，脳脊髄液中NSE濃度は高値を示す [5]。また，医学領域においては，脳炎，髄膜炎，脳梗塞，外傷等で脳脊髄液中NSE濃度は上昇し [3, 4]，症状の重症度および予後とも関連する [3, 4]。脳脊髄液中NSE濃度の高値は神経細胞損傷を示唆し，予後判定にも有用であると考えられている。

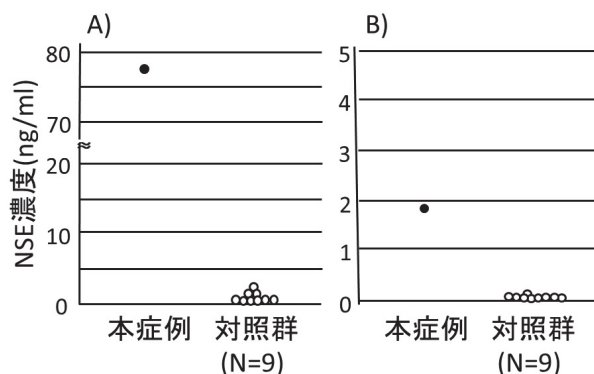


図5. 脳脊髄液および血清中のNSE濃度。A) 脳脊髄液中NSE濃度は，本症例77.32 ng/ml，健常対照群(N=9)の平均±SDは1.68 ± 0.63 ng/mlであった。B) 血清中NSE濃度は，本症例1.92 ng/ml，健常対照群(N=9)の平均±SDは0.67 ± 0.23 ng/mlであった。

本症例では脳脊髄液中NSE濃度は健常対照群よりも著しく高値を示した。病理組織学的検査で第3腰椎以降の脊髄に軸索変性および神経細胞体の色質融解を認めたことから，脳脊髄液中NSE高値は脊髄の神経細胞損傷を反映しているものと考えられ，牛においても脳脊髄液中NSEは神経細胞損傷を示すマーカーになりうると考えられた。一方，血清中NSE濃度は健常対照群より高値を示したものの，本症例と健常対照群との間に，脳脊髄液中NSEほど顕著な差はなかった。

今後，種々の症例を解析することにより，牛の脳脊髄液および血清中のNSEの臨床的意義および感度と特異性についてさらに検討する必要がある。

6. 引用文献

1. Fletcher L, et al.: Enolase isoenzymes. III. Chromatographic and immunological characteristics of rat brain enolase, *Biochim Biophys Acta*, 452, 245-252 (1976)
2. Marangos PJ, et al.: *J Neurochem*, 33, 319-329 (1979)
3. Lima JE, et al.: 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)
4. Selakovic V, et al.: 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)
5. Cao F, et al.: Elevation of neuron-specific enolase and S-100 beta protein level in experimental acute spinal cord injury, *J Clin Neurosci*, 15, 541-544 (2008)

Elevated neuron-specific enolase in the cerebrospinal fluid in a Japanese black calf with hindlimb paresis

K. Uesaka^{1,2)}, K. Koyama^{1,2)}, N. Horiuchi^{1,3)},
Y. Kobayashil^{2,3)}, H. Inokuma^{1,2)†}

1) *Department of Clinical Veterinary Medicine, Obihiro University of Agriculture
and Veterinary Medicine*

2) *United Graduate School of Veterinary Science, Gifu University*

3) *Research Center for Global Agromedicine Research Center, Obihiro University
of Agriculture and Veterinary Medicine*

ABSTRACT A 6-day-old female Japanese black calf presented with sudden hindlimb paresis. Spinal injury in the thoracic and/or lumbar vertebrae was suspected from exaggerated patellar reflex in the left hindlimb and diminished cranial tibial and gastrocnemius muscle reflexes in both hindlimbs. Necropsy revealed subdural hemorrhage at the first cervical vertebra and from the third lumbar vertebra to the sixth lumbar vertebra. Histologically, axonal degeneration and chromatolysis were observed below the third lumbar vertebrae. The neuron-specific enolase (NSE) concentration in the cerebrospinal fluid (CSF) was measured by an enzyme-linked immunosorbent assay and found to be 77.32 ng/ml. This value was higher than 1.68 ± 0.63 ng/ml (mean \pm SD) observed in healthy calves (N = 9). NSE in the CSF might be a useful biomarker for neuronal damage in cattle.

—**Key Words** : biomarker, cattle, neuron damage, neuron-specific enolase, hindlimb paresis

† *Correspondence to : Hisashi Inokuma (Department of Clinical Veterinary Medicine, Obihiro University
of Agriculture and Veterinary Medicine)*

Inada, Obihiro, Hokkaido 080-8555, Japan

TEL/FAX : +81-0155-49-5370 E-mail : inokuma@obihiro.ac.jp

.....Jpn. J. Large Anim. Clin. 9(1): 12-15, 2018