延髄の迷走神経背側核における神経網の空胞変性を伴う成牛の鉛中毒の1例

高橋真紀^{1)†} 清宮幸男¹⁾ 浅野 隆¹⁾ 田村 貴¹⁾
久保正法²⁾ 木村久美子²⁾ 播谷 亮²⁾

- 1) 岩手県盛岡家畜保健衛生所 (〒020-0173 岩手郡滝沢村滝沢字砂込390-5)
2) 独立行政法人農業技術研究機構動物衛生研究所プリオン病研究センター
(〒305-0856 つくば市観音台3-1-5)

(2002年11月5日受付・2003年1月23日受理)

要 約

2001年10月に間代性痙攣、斜頸、視力障害などの神経症状を呈した9歳齢の黒毛和種雌牛を、発病6日後に病理学的、生化学的および病原学的に検索した。剖検により大脳皮質領域に黄白色巣が認められた。組織学的に、大脳皮質領域の多発性巣状ないし層状壊死、延髄の迷走神経背側核に局限する神経網の空胞変性、および抗酸性核内封入体を伴う腎症が観察された。肝臓および腎皮質の乾組織中の鉛濃度は、それぞれ51.2および122.3ppmであった。ELISA、ウェスタンブロットおよび免疫組織化学的検査法により、延髄門領域から異常プリオン蛋白質は検出されなかった。得られた成績から、検索例を鉛中毒と診断した。観察された延髄病変は牛海綿状脳症とは関連せず、鉛中毒と関連する変化であると考えられた。鉛の摂取源として、検索例の繋留用に用いられていた鉛製ワイヤーを軸とする漁網用ロープが示唆された。——キーワード：牛、迷走神経背側核、鉛中毒。

----- 日獣会誌 56, 249～252 (2003)

家畜の鉛中毒は牛 [2, 5, 15] および犬 [10, 20, 22] にしばしば認められる。牛例の病変は大脳皮質領域における多発性巣状ないし層状の壊死により特徴づけられ [3, 9, 12, 13]、比較的高い頻度で近位曲尿細管上皮細胞における抗酸性核内封入体を伴う [3, 12, 14, 16]。本症における大脳外套以外の中樞神経系病変を記載している報告 [3, 4, 23] は少なく、牛例ではChristianら [3] が罹病期間が比較的に長い症例において、大脳外套に加えて視床脳、視床下部、延髄および近位脊髄にも病変がみられ、延髄では幾つかの神経核に神経細胞の変性および神経網の空胞変性が存在したことを述べるに留まっている。この延髄病変は牛海綿状脳症 (BSE) のそれ [7, 17, 18] と類似することから、本症において延髄に病変が観察された際は同病との鑑別が必要となる。

この報告では、鉛中毒と診断された成牛1例の病理学的、生化学的および病原学的検査成績を述べるとともに、当該例に観察された延髄病変とBSE例のそれとの相違について検討した。

材 料 お よ び 方 法

発生は黒毛和種雌牛6頭および同子牛4頭を飼養する岩手県内の1農場において、9歳齢の雌牛1頭に認められた。当該牛は2001年10月17日に下痢および食欲不振を、翌日には流涎とともに間代性痙攣、耳介のれん縮、痛覚の鈍麻および頭を牛舎の壁に押しつける動作より成る神経症状を示した。発熱はなく、音、光および触診への過敏な反応は観察されなかった。19日に右側への斜頸、20日に視力障害をそれぞれ併発した。22日には起立不能に陥り、発病6日後の23日に剖検に供された。当該牛は線状の鉛を塩化ビニール線維で被覆する漁網用ロープにより繋留されていた。

血液検査：発病2日後の10月18日に頸静脈より採取した血液を用いて、常法に従い赤血球数および同容積値を測定した。また、血液塗沫標本の作成後ギムザ染色を施し、赤血球像を形態学的に観察した。

病理学的検査：剖検を行うとともに、全身諸臓器から得た検査材料を10%緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE)

† 連絡責任者：高橋真紀 (岩手県盛岡家畜保健衛生所)

〒020-0173 岩手県滝沢村滝沢字砂込390-5 ☎019-688-4111 FAX 019-688-4012

図1 大脳外套前頭葉，神経網の疎鬆化，変性した神経細胞の散在，ならびに内皮細胞の腫大および増数を伴う毛細血管の増生が観察される（HE 染色 ×150）。

図2 大脳外套側頭葉，神経網の疎鬆化，血管および神経細胞周囲の拡張ならびに神経細胞の乏血性変化が認められる（HE 染色 ×150）。

染色を施し鏡検した。中枢神経系組織にはルクソール・ファースト・ブルー（LFB）およびボディアン，腎組織にはチール・ニールセン（ZN）の各染色も施した。

鉛濃度の測定：剖検時に採取され，ホルマリン固定された肝臓および腎皮質の試料を1昼夜乾燥させた後，重量を測定した。これらを湿式灰化後 dithizone 法により抽出し，原子吸光法により測定した。

異常プリオン蛋白質の検出：剖検時に得た延髄の門領域を用いて，ELISA およびウエスタンブロット（WB）を Hayashi ら [6] の，免疫組織化学的染色（IHC）を Kimura ら [7] の各方法により実施した。すなわち，ELISA は市販キット^{a)}，WB は一次血清として抗プリオン蛋白質モノクローナル抗体 6H4^{b)}，また，IHC は市販キット^{c)} および一次血清として抗プリオン蛋白質ポリクローナル抗体 Ab. Mo-VI [21] をそれぞれ用いた。

成 績

血液検査成績：赤血球数および同容積値はそれぞれ $737 \times 10^4/\mu\text{l}$ および 43.4% であり，塗沫標本上に異常な赤血球は認められなかった。

病理学的検査成績：剖検により，肝臓および腎臓の腫大とともに脳髄膜のうっ血が観察された。肺の両側前葉に数個の母指頭大の暗赤色巣が存在した。ホルマリン固定後の大脳外套の前頭断面上，皮質領域に黄白色巣が散在した。

組織学的に，大脳皮質領域に多数の巣状あるいは層状の壊死巣が観察された。壊死巣は大脳外套のいずれの前頭断面上にも存在したが，前頭葉および後頭葉において，より広範囲の領域に認められた。壊死巣は神経網の疎鬆化，血管および神経細胞周囲の拡張，アストロサイトの腫大，神経細胞の変性，内皮細胞の腫大および増数を伴う毛細血管の増生ならびにマクロファージの囲管性浸潤より成り，神経構築は崩壊していた。

傷害を受けた神経細胞の核は濃縮，崩壊および融解を示し，細胞質は好酸性を増し，萎縮して角のある輪郭を有した（図1）。少数の神経細胞の細胞質は著しく萎縮し，狭小な三角形状の外形を呈した（図2）。病巣内にはこれらの変性した神経細胞とともに，正常な形態を有する，かなりの数の神経細胞が混在した。しばしば，神経網の疎鬆化が皮質領域に隣接する髄質領域に波及していた。

髄膜にはうっ血およびマクロファージを伴う軽度なリンパ球浸潤が存在した。大脳外套以外の中樞神経系組織では，視床核の内側核および内側膝状体核に神経細胞の変性がみられ，内側核では膨化した軸索と思われる好酸性および嗜銀性を有する球状小体も散在した。変性した神経細胞の形態は大脳皮質領域のそれと同様であった。延髄の迷走神経背側核に，海綿状を呈する神経網の疎鬆化が観察された。影響を受けた神経網には，比較的明瞭な境界を有し，さまざまな大きさの卵円形ないし球状の空胞が多数存在し，アストロサイトの腫大を伴っていた（図3）。同神経核内の神経細胞は正常な形態を示し，細胞質内に空胞もみられなかった。延髄の他の神経核に病変は認められなかった。

他の臓器では，抗酸性核内封入体を伴う腎症がみられた。腎臓の近位曲尿細管上皮細胞は混濁腫脹を呈し，腫大および壁の濃染を示す核内には1から数個のZN染色で陽性の封入体が観察された（図4）。また，肝臓において壊死巣の散在ならびに肝細胞の混濁腫脹がみられた。

a) Plateria-BSE detection kit, Bio-Rad, France.

b) Prionics, Switzerland.

c) ヒストファイン シンプルステイン Max-PO (R) キット，
（株）ニチレイ，東京。

図3 延髄迷走神経背側核。神経網に、比較的明瞭な境界を有する卵円形ないし球状の空胞が多数存在する (HE 染色 ×100)。

図4 腎臓の近位曲尿細管。腫大および核壁濃染を示す上皮細胞の核内に、球状の抗酸性封入体(矢頭)が観察される (ZN 染色 ×600)。

肝臓および腎皮質の鉛濃度：肝臓および腎皮質の乾組織中の鉛濃度は、それぞれ51.2および122.3ppmであった。

異常プリオン蛋白質の検出：各検査法において、異常プリオン蛋白質は検出されなかった。

考 察

間代性痙攣、斜頸、視力障害などの神経症状を示した9歳齢の黒毛和種雌牛を病理学および生化学的に検索した。神経細胞の変性、神経網の疎鬆化ならびにアストロサイトおよび毛細血管内皮細胞の腫大により特徴づけられる大脳皮質領域の多発性巣状ないし層状壊死ならびに抗酸性核内封入体を伴う腎症が観察され、肝臓および腎臓に高濃度の鉛が存在した。以上の検査成績から、検索例を鉛中毒と診断した。鉛の摂取源として、検索例の繋留用に用いられていた鉛製ワイヤーを軸とする漁網用

ロープが示唆された。

鉛の存在は赤血球のヘモグロビン合成を障害するとともに、緩徐な経過で赤血球の生存期間を短縮させる[22]。この機転により、慢性の鉛中毒例[3, 22]に有核、網状等の未成熟赤血球の末梢血への出現を伴う貧血が認められる。発病当初に実施した検索例の血液検査において、貧血を示唆する成績は得られなかった。この結果は、検索例が亜急性の経過で瀕死期を迎えた事実あるいは発病当初に検索したことと関連するかも知れない。

本症の中枢神経系病変は罹病期間により急性、亜急性および慢性の3病期に分類される[3]。急性期の血管透過性障害[8, 11]および乏血[23]により形成された水腫性変化および神経細胞の変性より成る病巣は、病期の進行に伴い、拡大および重篤化し、毛細血管の増生およびマクロファージの浸潤が顕著になる。病期がさらに進んだ例では軟化がみられる[3, 23]。

検索例の大脳皮質領域に観察された壊死巣は、毛細血管の増生およびマクロファージの浸潤を伴っていたが、軟化にはいたっていないことから、亜急性の変化と考えられた。

検索例の延髄において、迷走神経背側核に局限する神経網の空胞変性が観察された。異常プリオン蛋白質を検出するための各検査により陰性の結果が得られたことから、当該病変とBSEとの関連は否定された。BSE例の延髄に存在する神経網の空胞変性は、迷走神経背側核とともに孤束核および三叉神経脊髄路核にも好発する[7, 17, 18]。迷走神経背側核に局限した検索例の延髄病変は、病変分布においてもBSE例のそれと相違していた。

Christianら[3]は罹病期間が17日あるいは32日の鉛中毒の牛2例において、延髄にも病変が存在したことを報告している。すなわち、両例の迷走神経背側核に神経網の空胞変性および神経細胞の中心性色質融解を、また、1例の楔状束核に神経網の空胞変性を観察した。検索例の延髄病変は、神経細胞の変性を欠くものの、Christianら[3]のそれに類似しており、鉛中毒と関連する変化と思われた。罹病期間が6日間であった検索例の延髄に病変が存在した事実は、鉛中毒における延髄病変は発病後比較的早期に形成され得ることを示唆するように思われた。

組織学的に観察される中枢神経系組織の空胞変性は、電子顕微鏡学的に細胞内、細胞外あるいは髄鞘内における組織液の貯留に分類される[1]。鉛中毒例に観察される空胞の多くは、電子顕微鏡学的に細胞外における組織液の貯留[8]を、また、BSE例の空胞の多くは神経突起内における組織液の貯留[19]をそれぞれ反映する。電子顕微鏡学的検索を行っていないものの、検索例の迷走神経背側核に観察された空胞の多くは、鉛中毒と関連する変化と考えられることから、神経突起間における組

組織液の貯留を反映した変化と推察された。

引用文献

- [1] Adornato B, Lampert P : Acta Neuropathol (Berl), 19, 271-289 (1971)
- [2] Buck WB : J Am Vet Med Assoc, 156, 1468-1472 (1970)
- [3] Christian RG, Tryphonas L : Am J Vet Res, 32, 203-216 (1971)
- [4] Hamir AN, Sullivan ND, Handson PD : J Comp Pathol, 94, 215-231 (1984)
- [5] Harbourne JF, McCrea CT, Watkinson J : Vet Rec, 83, 515-517 (1968)
- [6] Hayashi H, Takata M, Kubo M, Kimura KM, Haritani M, Tsutsui T, Tagawa Y, Hayasaka S, Katayama M, Ando H, Yokoyama T : J Vet Med Sci, 印刷中
- [7] Kimura KM, Haritani M, Kubo M, Hayasaka S, Ikeda A : Vet Rec, 151, 328-330 (2002)
- [8] Lampert P, Garro F, Pentschew A : Brain Edema, Klatzo I et al eds, 207-222, Springer, New York (1967)
- [9] Little PB, Sorensen DK : J Am Vet Med Assoc, 155, 1892-1903 (1969)
- [10] McLeavey BJ : N Z Vet J, 25, 395-396 (1977)
- [11] Pentschew A : Acta Neuropathol, 5, 133-160 (1965)
- [12] Seimiya Y, Itoh H, Ohshima K : J Vet Med Sci, 53, 117-119 (1991)
- [13] 高橋牧子, 前田憲孝, 森田剛仁, 島田章則, 丸尾喜之, 野間 進, 川村孝治 : 日獣会誌, 55, 17-19 (2002)
- [14] Thomson RG : Can Vet J, 13, 88-89 (1972)
- [15] Todd JR : Vet Rec, 74, 116-118 (1962)
- [16] 上原修一, 北野良夫, 恒吉幸一, 藤原直躬, 長谷 学, 宮里俊光 : 日獣会誌, 41, 822-824 (1988)
- [17] Wells GAH, Hancock RD, Cooley WA, Richards MS, Higgins RJ, David GP : Vet Rec, 125, 521-524 (1989)
- [18] Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock RD, Jeffrey M, Dawson M, Bradley R : Vet Rec, 121, 419-420 (1987)
- [19] Wells GAH, Wilesmith JW : Brain Pathol, 5, 91-103 (1995)
- [20] Wilson MR, Lewis G : Vet Rec, 75, 787-791 (1963)
- [21] Yokoyama T, Kimura K, Tagawa Y, Yuasa N : Clin Diagn Lab Immunol, 2, 172-176 (1995)
- [22] Zook BC, Carpenter JL, Roberts RM : Am J Vet Res, 33, 891-902 (1972)
- [23] Zook BC : Vet Pathol, 9, 310-327 (1972)

Lead Poisoning with Neuropil Vacuolation at the Bovine Dorsal Vagus Nuclei

MaKi TAKAHASHI^{*†}, Yukio M SEIMIYA, Takashi ASANO, Takashi TAMURA,
Masanori KUBO, Kumiko M KIMURA, and Makoto HARITANI

^{*} Morioka Livestock Hygiene Service Center, 390-5 Sunagome, Takizawa-mura, Iwate-gun
020-0173, Japan

SUMMARY

In October 2001, a 9-year-old Japanese Black cow demonstrating such neurological abnormalities as clonic convulsion, torticollis, and blindness was subjected to pathological, biochemical, and pathogenic examinations 6 days after the emergence of the condition. Macroscopically, several yellowish lesions were observed in the cerebral cortex. Histological examination demonstrated focal or laminar areas of necrosis distributed through the cerebral cortex, neuropil vacuolation at the dorsal vagus nuclei in the medulla oblongata, and nephrosis with acid-fast intranuclear inclusions. On a dry-weight basis, the lead content of the liver was 51.2 ppm and that of the renal cortex 122.3 ppm. ELISA, Western blotting, and immunohistochemical techniques detected no abnormal prion-protein isoform from the obex region of the medulla oblongata. These findings suggest that the cow was affected by lead poisoning and that the changes in the medulla oblongata were associated with this poisoning and not with bovine spongiform encephalopathy. A fishing-net rope containing lead wire that had been used to retain the cow was suspected to be the source of the lead.

— Key words : cow, dorsal vagus nuclei, lead poisoning.

[†] Correspondence to : MaKi TAKAHASHI (Morioka Livestock Hygiene Service Center)
390-5 Sunagome, Takizawa-mura, Iwate-gun, 020-0173, Japan
TEL 019-688-4111 FAX 019-688-4012

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 56, 249 ~ 252 (2003)