

生後感染アカバネ病を発症した8カ月齢子牛における 神経組織の病理学のおよび免疫組織化学的検討

中谷英嗣^{1)†} 真鍋幸穂¹⁾ 大谷研文¹⁾ 田中省吾²⁾ 山川 睦²⁾

1) 山口県中部家畜保健衛生所 (〒754-0897 山口市嘉川671-5)

2) 独農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所九州支所 (〒891-0105 鹿児島市中山町2702)

(2009年5月27日受付・2010年6月1日受理)

要 約

アカバネウイルス (AKAV) が分離され、生後感染アカバネ病と診断された8カ月齢黒毛和種牛1例の神経系組織の病変分布やその程度、AKAV抗原分布を検索した。リンパ球主体の囲管性細胞浸潤やグリア結節、グリオーシスなどの非化膿性脳脊髄炎像はおもに脳幹部でみられ、大脳では灰白質よりも白質や脳室周囲に、脊髄では灰白質に著明で、腰～仙髄では白質にまでみられた。AKAV抗原は、おもに脳幹部、脊髄腹索や腹根の神経細胞体やその突起、灰白質血管周囲のグリア細胞や大脳髄膜の浸潤マクロファージに認められた。骨格筋の末梢神経周囲の浸潤マクロファージにもウイルス抗原が検出されたが、筋線維に病変は認められなかった。以上の所見から、生後感染アカバネ病におけるウイルス感染部位は、脳幹部や脊髄の神経細胞と神経線維が主体であることが示唆された。

——キーワード：非化膿性脳脊髄炎，生後感染アカバネ病，ウイルス抗原。

----- 日獣会誌 63, 781～784 (2010)

生後感染アカバネ病では、子牛や育成牛などに振戦、運動失調、起立不能、過敏症などの神経症状がみられ [1-6]、その特徴的な病変は、中枢神経系 (CNS) における非化膿性炎である [1-3, 5, 7]。これまで脳幹部や脊髄からアカバネウイルス (AKAV) 抗原 [1-3, 8, 9] やAKAV特異遺伝子 [1, 2, 7] を検出した生後感染症例の報告はあるが、AKAVが分離された中枢神経系における病変形成とウイルス抗原の分布に関する報告はない。

今回、過去に大脳からIriki株 [5] ならびに2006年流行株 [1, 2] と同系統のAKAVが分離され、生後感染アカバネ病と診断された8カ月齢の黒毛和種雄子牛 [10] のCNS病変とAKAV抗原の分布および程度を詳細に検索した。

材 料 お よ び 方 法

病理学的検査：中枢神経系組織、主要臓器および中殿筋について常法に従い病理組織学的検査を実施した。

CNS病変の分布図：病理組織学的に正常な牛のCNS冠状断像をスキヤニングし、デジタル画像として取り込

んだ。これに当該子牛のHE染色標本より得られた病変の分布を解剖学的な所定部位 (13カ所) [11] ごとに記した。グリア結節やグリオーシスは点で、囲管性細胞浸潤は短太線でそれぞれプロットし、病変の程度について (軽重) は顕微鏡視野内に占める病変域を基に軽度、中等度および重度の三段階で表現した。灰白質および白質の境界は長細線で示した。

免疫組織化学的検査：神経組織および骨格筋 (中殿筋) について抗AKAV家兎免疫血清 (独動物衛生研究所九州支所より供与) を用い、免疫組織化学的 (IHC) 染色 (SAB法) を実施した。

成 績

病理学的特徴および病変・AKAV抗原分布：肉眼的な著変はみられなかったが、病理組織学的に非化膿性脳脊髄炎が観察された。大脳、脳幹部、小脳および脊髄ではリンパ球主体の囲管性細胞浸潤やグリア結節、グリオーシスが認められ、間脳および中脳では変性・壊死した神経細胞にグリア細胞の集簇と神経食現象が認められた

† 連絡責任者：中谷英嗣 (山口県中部家畜保健衛生所病性鑑定室)

〒754-0897 山口市嘉川671-5 ☎083-989-2517 FAX 083-989-2518

E-mail : nakatani.hidetsugu@pref.yamaguchi.lg.jp

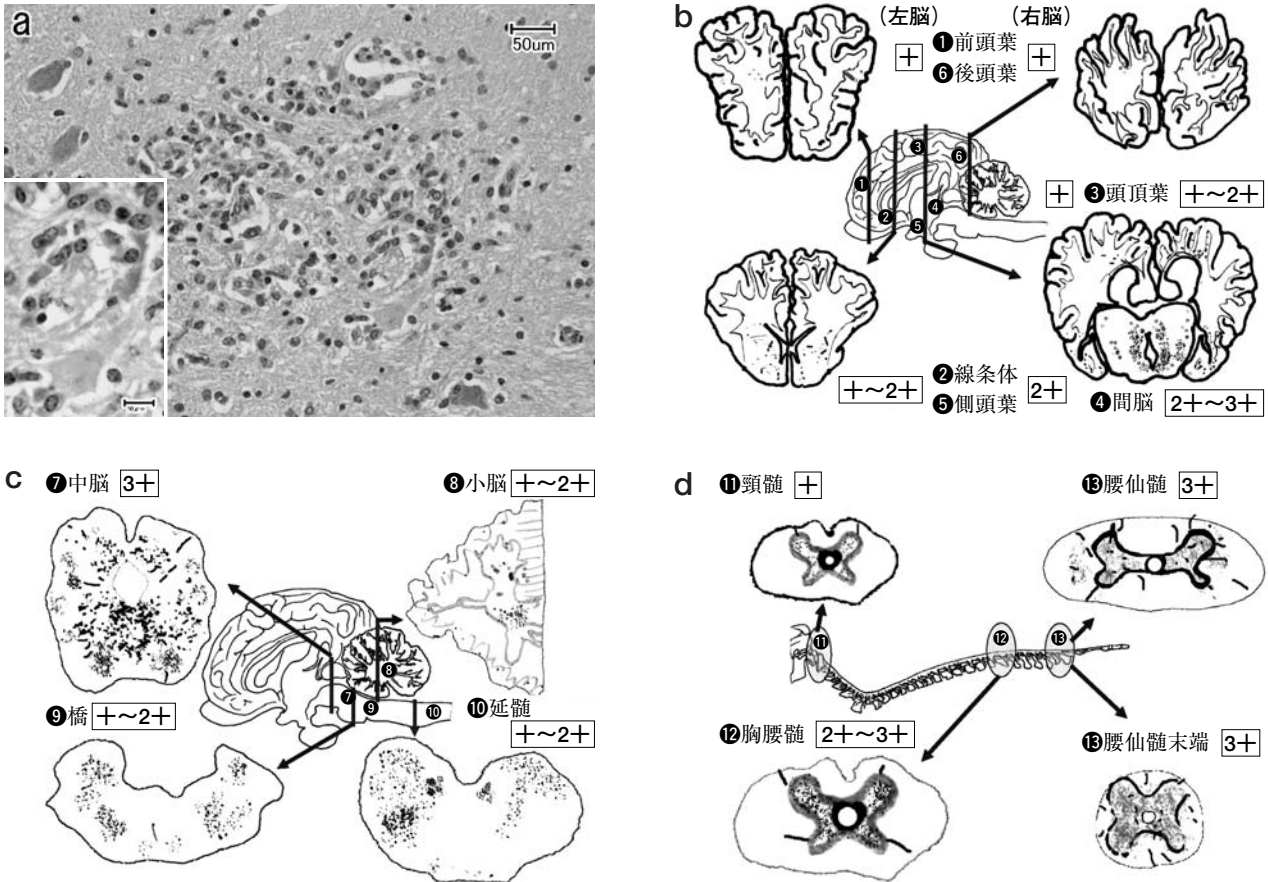


図1 中枢神経系組織にみられた病変および病変分布と程度
 a：間脳にみられた変性・壊死した神経細胞にグリア細胞の集簇と神経食現象（HE染色 Bar = 50µm）．挿入図（HE染色 Bar = 10µm）
 b～d：中枢神経系の病変分布・程度

(図1a)．大脳および小脳の一部髄膜にリンパ球の浸潤が、また、小脳プルキンエ細胞と脊髄灰白質神経細胞に変性や萎縮、さらに腰仙髄では腹索や腹根領域において軸索の腫大あるいは萎縮が認められた。なお、骨格筋および末梢神経に著変はみられなかった。

これらの病変は、前頭葉、頭頂葉、側頭葉および後頭葉のいずれも灰白質、白質領域に多く、さらに灰白質領域に比べて白質領域や脳室周囲に強く分布する傾向が認められた。線条体では内包に、間脳では視床脳および視床下部により多く分布し、左脳よりも右脳に比較的強くみられた(図1b)．脳幹部の病変はび漫性であったが、中脳の動眼神経核や赤核で特に顕著であった。橋ではおもに背側に分布し、延髄ではおもに左側神経核に強い傾向がみられた。小脳の灰白質や白質には軽-中等度に分布していた(図1c)．また、脊髄の病変はすべての検索部位の灰白質領域に観察され、特に脊髄円錐に近い部位ほど顕著で、白質領域や脊髄腹根にも及んでいた(図1d)．

AKAV 抗原は、主として神経細胞、軸索およびグリア細胞に検出された。病変分布と同様に左脳に比べ右脳で高率に検出され、大脳外套に比べて脳幹部および脊髄で

は、病変および抗原ともに顕著であり、特に側脳室周囲、中脳や胸・腰髄、腰・仙髄で顕著であった(表1、図2a)．

また、脊髄では頸髄から腰・仙髄の灰白質領域、腰・仙髄腹索領域の軸索および髄膜に開口した脊髄神経腹根の軸索にもウイルス抗原が検出された(図2b)．大脳髄膜および灰白質血管周囲に浸潤したマクロファージにも抗原が検出されたが、脳室上衣細胞や脈絡叢には検出されなかった。さらに骨格筋の筋線維には病変はみられなかったものの、筋上膜の末梢神経周囲に浸潤したマクロファージの細胞質内に陽性反応が認められた(図2c)．

考 察

過去にAKAVが分離された子牛を病理組織学的に検索したところ、非化膿性脳脊髄炎がCNSの広範囲に認められ、免疫組織化学的染色によりAKAV抗原が検出された。骨格筋に病変は確認されず、筋上膜内の末梢神経線維にはウイルス抗原は認められなかった。このことから、脳幹部や脊髄の神経細胞や神経線維におけるAKAV感染が脳脊髄炎や起立不能などの運動機能障害の

表1 中枢および末梢神経の病変の程度とAKAV抗原の局在

部 位	左 脳		右 脳	
	病変	抗原	病変	抗原
前頭葉	+	+	+	-
線条体	+~2+	-	2+	+
頭頂葉	+	NT	+~2+	NT
側頭葉	+~2+	+	2+	+~2+
後頭葉	+	NT	+	NT
間 脳	2+~3+	3+		
中 脳	3+	3+		
橋	+~2+	2+		
小 脳	+~2+	2+		
延 髄	+~2+	2+		
頸 髄	+	2+		
胸腰髄	2+~3+	2+		
腰仙髄	3+	3+		
骨格筋末梢 神経線維	-	+		

病変の程度	AKAV抗原の程度
- : 著変なし	- : 未検出
+ : 軽度の囲管性細胞浸潤	+ : 軽 度
2+ : 囲管性細胞浸潤, グリア結節	2+ : 中等度
3+ : 顕著な囲管性細胞浸潤, グリア結節 神経細胞の変性・壊死	3+ : 重 度
	NT : 検索せず

原因となることが明らかになった。

生後感染アカバネ病では、臨床的に著しい神経症状を呈するが、肉眼的に脳、脊髄、骨格筋およびその他の臓器に病変が観察されることは少なく [1-3, 6], 病理組織学的にCNSにおいてリンパ球やマクロファージを主体とする囲管性細胞浸潤やグリア結節, グリオーススあるいは神経食現象を特徴とする非化膿性脳脊髄炎が観察される [1-3, 5-7, 9]. 骨格筋では、筋線維の断裂や萎縮 [3, 6] が観察されることもある。本症例でも肉眼的に著変はみられず、組織学的には既報同様に脳幹部や脊髄を主体とするCNSに非化膿性炎がみられ、骨格筋に著変はみられなかった。

CNSにおける病変分布をデジタル画像を用いて解析することにより、病変を客観的かつ総合的に捉えることが可能となり、灰白質および白質領域での病変の程度および大脳におけるその左右差を比較して全体像を把握することができた。当該牛のCNS病変は脳幹部および脊髄末端に主座し、脳幹部の病変、あるいは脊髄全般の灰白質領域と腰・仙髄の白質領域、特に腹索に及ぶ著しい病変は、大脳灰白質から発せられた運動調節の弛緩命令を阻害し、起立不能を発症させたと推察された。

生後感染アカバネ病発症牛において、病変とAKAV抗原の程度を比較した報告は少ないが、Konoら [2] は、AKAV抗原が神経細胞の細胞質と軸索およびグリア細胞に認められ、抗原検出量は炎症の強い部位で増加傾

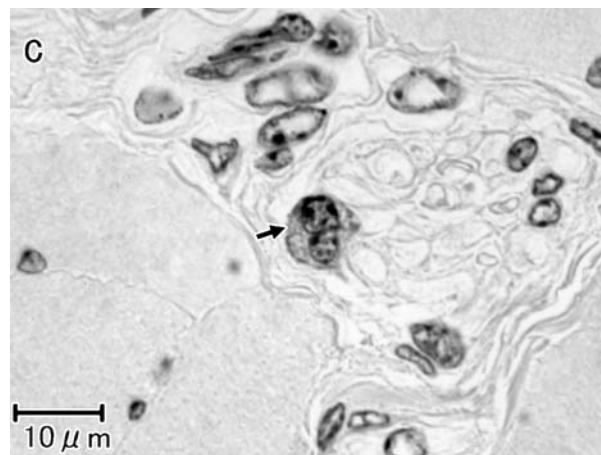
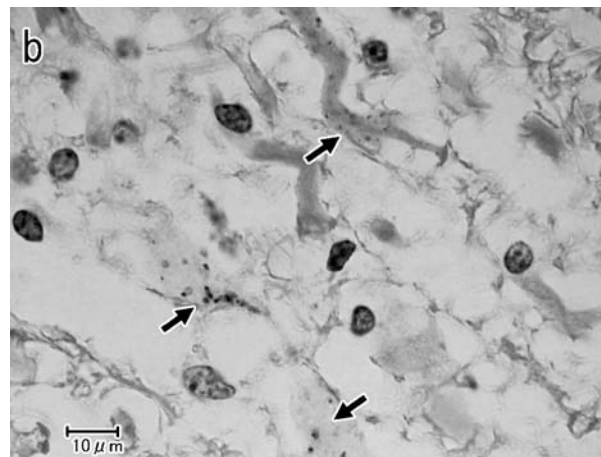
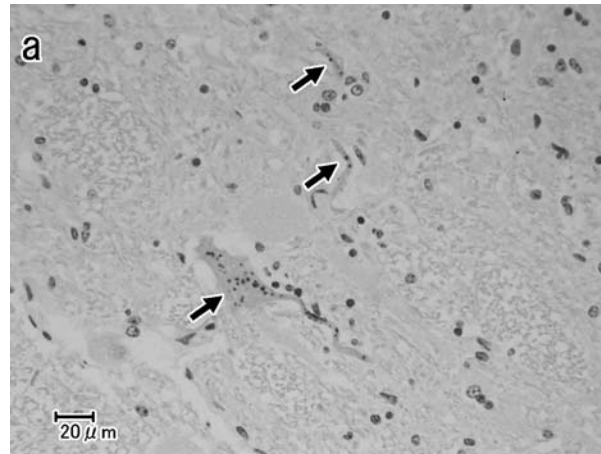


図2 中脳、腰・仙髄および末梢神経に検出されたAKAV抗原。

- a 延髄の神経細胞にAKAV抗原がみられる(矢印)(IHC染色 Bar = 20μm).
- b 腹索領域の神経軸索にAKAV抗原がみられる(矢印)(IHC染色 Bar = 10μm).
- c 筋上膜の末梢神経周囲に浸潤するマクロファージの細胞質内に顆粒状ないし均質に染まるAKAV抗原がみられる(矢印)(IHC染色 Bar = 10μm).

向を示すと報告している。また、Kamataら [7] も後躯麻痺を起こし、AKAV S 遺伝子と抗原が検出された牛の症例で胸髄から仙髄かけて病変が著しいことを記載している。これらの病理組織学および免疫組織化学的特徴は、本症例でも同様であった。このことは、生後感染例におけるウイルスの体内動態は、侵襲したウイルスがウイルス血症を惹起した後、神経細胞で増殖、さらに軸索を介して脊髄全域へ伝播するとともに腰・仙髄では腹索領域の神経軸索および髄膜に開口した脊髄神経腹根の軸索へ伝播したと推察され、下位運動ニューロンのAKAV感染による運動機能障害の発症機序に関与すると考えられた。

引用文献

- [1] 平田美樹, 後藤介俊, 池田省吾, 濱田忠子, 有川恵理, 藏蘭光輝, 梁瀬 徹, 山川 睦: 鹿児島県で発生した若齢牛の非化膿性脳脊髄炎, 日獣会誌, 61, 771-776 (2008)
- [2] Kono R, Hirata M, Kaji M, Goto Y, Ikeda S, Yanase T, Kato T, Tanaka S, Tsutsui T, Imada T, Yamakawa M: Bovine epizootic encephalomyelitis caused by Akabane virus in southern Japan, BMC Vet Res, 4, 20 (2008)
- [3] Lee JK, Park JS, Choi JH, Park BK, Lee BC, Hwang WS, Kim JH, Jean YH, Haritani M, Yoo HS, Kim DY: Encephalomyelitis associated with akabane virus infection in adult cows, Vet Pathol, 39, 269-273 (2002)
- [4] 山川 睦: アカバネウイルスによる牛の脳脊髄炎, 家畜診療, 56, 141-147 (2009)
- [5] Miyazato S, Miura Y, Hase M, Kubo M, Goto Y, Kono Y: Encephalitis of cattle caused by Iriki isolate, a new strain belonging to Akabane virus, Jpn J Vet Med Sci, 51, 128-136 (1989)
- [6] Liao YK, Lu YS, Goto Y, Inaba Y: The isolation of Akabane virus (Iriki strain) from calves in Taiwan, J Basic Microbiol, 36, 33-39 (1996)
- [7] Kamata H, Imai K, Maeda K, Nishimura T, Arita S, Tsuda T, Sato M: Encephalomyelitis of cattle caused by Akabane virus in southern Japan in 2006, J Comp Pathol, 140, 187-193 (2009)
- [8] Noda Y, Yokoyama H, Katsuki T, Kurashige S, Uchinuno Y, Narita M: Demonstration of Akabane virus antigen using immunohistochemistry in naturally infected newborn calves, Vet Pathol, 38, 216-218 (2001)
- [9] Uchida K, Murakami T, Sueyoshi M, Tsuda T, Inai K, Acorda JA, Yamaguchi R, Tateyama S: Detection of Akabane viral antigens in spontaneous lymphohistiocytic encephalomyelitis in cattle, J Vet Diagn Invest, 12, 518-524 (2000)
- [10] 大谷研文, 中谷英嗣: アカバネウイルスの生後感染による子牛の脳脊髄炎, 山口獣医学雑誌, 35, 1-6 (2008)
- [11] Budras KD, Habel RE: 牛の解剖アトラス, 日本獣医解剖学会監訳, 第1版, 50-57, チクサン出版社, 東京 (2005)

Histopathological and Immunohistochemical Findings in the Nerve Tissues of an 8-Month-Old Calf with Postnatal Akabane Disease

Hidetsugu NAKATANI^{*†}, Sachiko MANABE, Akifumi OHTANI, Shogo TANAKA and Makoto YAMAKAWA

** Yamaguchi Prefecture Chubu Livestock Hygiene Service Center, 671-5 Kagawa, Yamaguchi, 754-0897, Japan*

SUMMARY

The nerve tissues from a Japanese black 8-month-old calf diagnosed with postnatal Akabane disease based on the results of the Akabane virus (AKAV) isolation were examined histopathologically and immunohistochemically to investigate the distribution and degree of lesions and AKAV antigens. Lesions of nonsuppurative encephalomyelitis characterized by perivascular cuffs, glial nodules and gliosis were found mainly in the brain stem, and were principally localized in the cerebral and periventricular white matter rather than in the cerebral gray matter. Meanwhile, the lesions were observed most remarkably in the spinal gray matter, and they had extended to the white matter of the lumbar and sacral spinal cord. AKAV antigens were detected in the nerve cells and their processes of the brainstem, spinal ventral horn and root, and within the glial cells in the cerebral white matter and perivascular infiltrating macrophages in the meninges. Positive immunolabellings for AKAV were also detected in the infiltrating macrophages around the peripheral nerves in the skeletal muscles, while there were no significant lesions in the muscular fibers. These findings may indicate that the primary target of the postnatal AKAV infection are neurons and nerve fibers in the brainstem and spinal cord. — Key words : nonsuppurative encephalomyelitis, postnatal Akabane disease, viral antigen.

[†] Correspondence to : Hidetsugu NAKATANI (Yamaguchi Prefecture Chubu Livestock Hygiene Service Center)

671-5 Kagawa, Yamaguchi, 754-0897, Japan

TEL 083-989-2517 FAX 083-989-2518 E-mail : nakatani.hidetsugu@pref.yamaguchi.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 63, 781 ~ 784 (2010)