

### 1 3 . 進行性の運動失調を呈した新生子牛のネオスポラ症

大分家畜保健衛生所

○病鑑 首藤 洋三、病鑑 山田美那子、病鑑 佐藤 亘

#### 【はじめに】

牛のネオスポラ症は、主要症状である流死産の報告は数多くあるが、生後の症例および病態については、国内ではほとんど報告がない(7), (9), (10)。今回、進行性の運動失調を呈した新生子牛に、多数の*Neospora caninum*(N.C)抗原と重度な病変が確認され、ネオスポラ症と診断し、疫学調査および過去の症例との病態比較を行い、本症例の発症要因を考察したので報告する。

#### 【発生状況】

発生農場は、成牛65頭を飼養する黒毛和種繁殖農場で、飼養形態はスタンションにて、妊娠母牛は放牧という飼養形態であった。2009年8月、自家産の子牛1頭が、出生時より起立不能、介助による哺乳は可能であったのが、日齢とともに哺乳能力が低下し、18日齢で嚙下困難となり、四肢の伸張と呼吸器症状を呈したため、予後不良と判断し、病性鑑定を実施した。

#### 【材料および方法】

##### 1) 病性鑑定

鑑定殺による病理解剖を行い、病理組織学的検査は主要臓器、中枢神経系、骨格筋および消化管を材料として、H-E染色と抗N.C山羊血清(VMRD)を用いた免疫組織化学染色(IHC)を実施し、トキソプラズマについても併用して抗*Toxoplasma gondii*ウサギ血清(quartet)を用いてIHCを行った。寄生虫検査は大腦を材料として、Neste-PCRによるネオスポラ遺伝子検索、母子血清を用いて間接蛍光抗体法(IFA)による抗体検査を実施した。ウイルス学的検査も大腦を用いて、PCRおよびRT-PCRによる牛ヘルペスウイルス1型(BHV-1)、牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)、オルソブニヤウイルス属シンプ血清群ウイルス(Simbu)、チュウザンウイルス(CHUV)、イバラキウイルス(IBAV)の各ウイルス遺伝子検索と、MDBK細胞、BFM細胞、HmLu-1細胞、BHK21細胞の各感受性細胞を用いたウイルス分離を実施した。ウイルス抗体検査は母子血清を用いて、BHV-1、BVDV、Simbu、CHUV、IBAVについては中和試験、ブルータングウイルスについてはゲル内沈降反応による抗体検査を行った。細菌学的検査は、主要臓器および脳について5%馬血液寒天培地、DHL寒天培地を用いて常法により菌分離を実施した。

##### 2) 浸潤状況調査

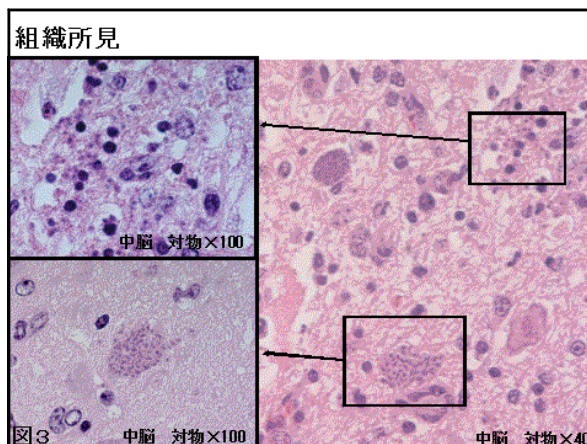
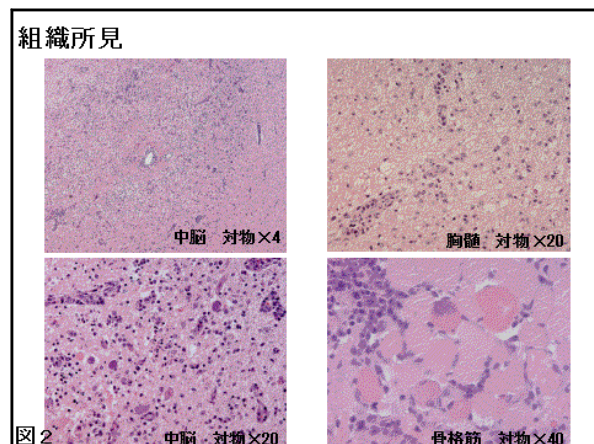
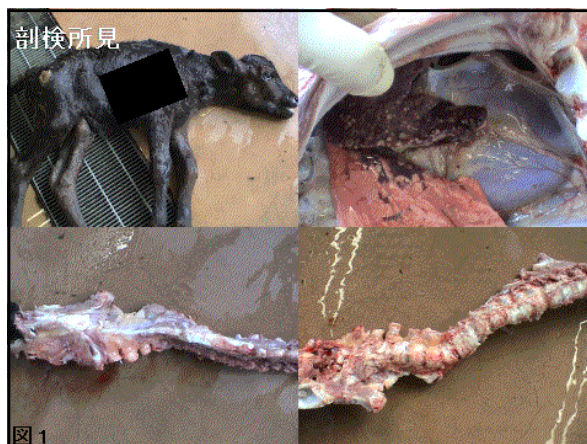
疫学調査では、農場内のN.C浸潤状況把握による清浄化対策と、本症例の感染経路

の解明を目的として、72頭の飼養牛と、農場内で飼養していた犬1頭の血液を採取し、血清を用いたIFAによるN.C抗体検査を実施した。

### 【成績】

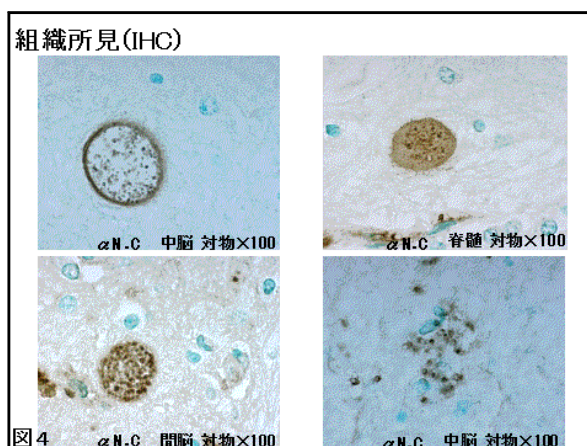
1) 剖検では、脊柱のS字状湾曲、右肺前葉の膿瘍形成を伴う肝変化が認められた(図1)。

病理組織学的検査では、大脳から脊髓の広範囲で、軟化巣の形成を伴う非化膿性脳脊髄炎が観察され、これら病巣内外にシスト、タキゾイトの集塊が多数認められた。骨格筋では、間質へのリンパ球の浸潤と骨格筋細胞の変性、壊死が認められ、壊死巣内ではタキゾイトの集塊が観察された(図2, 3)。



IHCでは、観察されたシスト、タキゾイトは陽性を示した(図4)。

寄生虫検査では、大脳よりN.C遺伝子が検出され、母子ともに抗体を保有していた。以上の検査成績から、本症例を「ネオスポラ症」と診断した。



2) 浸潤状況調査では、N.C抗体陽性牛が8頭確認された。この内、本症例の母牛および祖母にあたる2頭について陽性であることが判明した。その他3頭も3代にわたる血縁関係であり、また、畜舎にて飼養されていた犬はN.C抗体陰性であった。1996年生と1990年生の2頭については、現在妊娠中であることが確認されており、産子についてはN.C抗体検査を実施することとした。また、陽性牛の過去の産歴において、本症

例以外にネオスポラの関与を疑う流産、異常産などは確認されなかった（図5）。

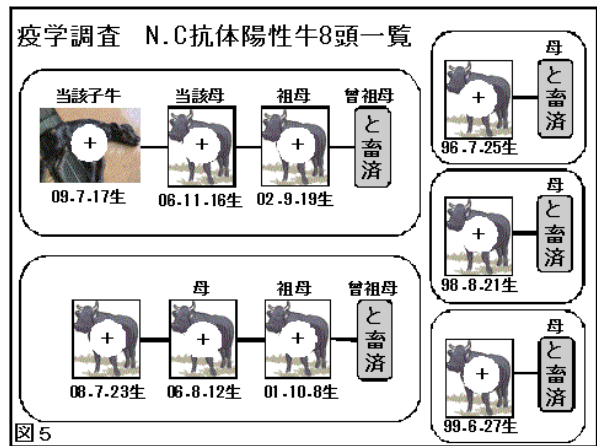


図5

【考察1（感染経路）】

病性鑑定成績および疫学調査より、農場の抗体陽性牛の多くが血縁関係にあり、当該母牛が抗体陽性で、子牛には体形異常が認められたことから、経胎盤感染の可能性が高いと考察した。水平感染については、終宿主であるイヌ科動物からの感染オーシスト摂取による成立以外に報告はなく、農場飼養犬の抗体は陰性であることと、生後に感染した牛自体には炎症や神経症状はないことから、本症例が生後感染である可能性は低いと考えられた。したがって、当該子牛は、抗体陽性母牛より胎盤感染後、体形異常を呈する先天感染牛として出生したものと考察した（図6）。

考察1（感染経路）

- ・ N.C抗体陽性牛の多くが血縁関係
  - ・ 母牛N.C抗体陽性、新生子牛は体形異常
- 経胎盤感染の可能性が高い
- ・ 農場で飼養していた犬はN.C抗体陰性
  - ・ 出生後に感染した牛自体に炎症や神経症状は無い
- 生後感染の可能性は低い
- 抗体陽性母牛より経胎盤感染後、先天感染牛として出生
- 本症例の特徴
- 生後に発症したネオスポラ症
  - 感染牛が出生後重篤化した症例は非常に稀有
  - 重度な病態（広範囲に多数の抗原と病変を確認）
- 過去の流産事例報告と比較しても極めて重度
- 過去の事例と病態を比較し、発症要因について考察

図6

【過去の症例との病態比較】

本症例は、生後の症例であることと、極めて多数の抗原と高度な炎症像が特徴的であることから、発症要因考察のため、過去県内で「ネオスポラ症」と診断された症例について、発生した胎齢別に、シスト・タキゾイドが認められたもの、非化膿性炎が観察された程度を組織ごとに比較した。結果、過去の5症例についてはすべて胎齢4～8カ月の流産事例であり、生後の事例は本症例のみであった。すべての症例に共通して大脳にシスト・タキゾイドと非化膿性炎が観察された。発生胎齢の進行に比例して、シスト・タキゾイドは中脳から脊髄へと中枢神経系の広範囲で認められるようになり、さらには骨格筋や心筋へと拡大し、同様に炎症の程度もより重度となる傾向が認められた。このことから、胎齢の進行したネオスポラ症ほど、多数の抗原と重度な病変を形成することが判明した（図7）。

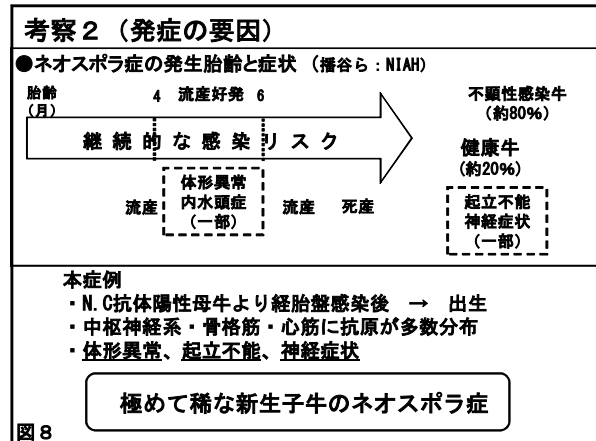
過去県内のネオスポラ症との病態比較

| 組織所見一覽 |          | N.C: シスト・タキゾイド<br>炎症: 非化膿性炎 |           |          |            |          |     |    |     |     |     |     |
|--------|----------|-----------------------------|-----------|----------|------------|----------|-----|----|-----|-----|-----|-----|
| 発生日    | 2007.3.6 | 2005.5.7                    | 2003.7.11 | 2003.8.5 | 2004.10.27 | 2009.8.4 |     |    |     |     |     |     |
| 状態     | 流産       | 流産                          | 流産        | 流産       | 流産         | 生存       |     |    |     |     |     |     |
| 胎齢     | 4カ月      | 5カ月                         | 5カ月       | 6カ月      | 8カ月        | 生後18日齢   |     |    |     |     |     |     |
|        | N.C      | 炎症                          | N.C       | 炎症       | N.C        | 炎症       | N.C | 炎症 | N.C | 炎症  | N.C | 炎症  |
| 大脳     | ++       | ++                          | +         | ++       | +          | ++       | +   | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 小脳     | -        | -                           | -         | -        | -          | -        | -   | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 中脳     | -        | -                           | -         | +        | ++         | +        | +   | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 橋      | -        | -                           | -         | NT       | NT         | NT       | NT  | -  | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 延髄     | -        | -                           | -         | NT       | NT         | NT       | NT  | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 脊髄     | -        | -                           | -         | +        | +          | +        | +   | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 骨格筋    | -        | -                           | -         | -        | +          | -        | ++  | +  | +   | ++  | +   | ++  |
| 心筋     | -        | -                           | -         | -        | -          | +        | ++  | -  | +   | +   | +   | +   |
| 心臓     | -        | -                           | -         | -        | -          | -        | -   | -  | -   | -   | -   | -   |
| 肝臓     | -        | -                           | -         | -        | -          | -        | -   | -  | -   | -   | -   | -   |
| 腎臓     | -        | -                           | -         | -        | -          | -        | -   | -  | -   | -   | -   | -   |

図7

## 【考察2（発症要因）】

播谷らの報告3), 4) によると、ネオスポラ感染胎子は受胎から妊娠期間を通して発症の危険に曝され、胎齢4～6か月齢を中心に、多くは8か月齢までに流産として娩出されている。この際、一部に体形異常や内水頭症も認められ、流産することなく出生した子牛も約80%は不顕性感染牛として出生し、ごく一部では起立不能、神経症状なども認められている。本症例は、体形異常が認められたことから、筋組織が形成される比較的早い段階で、ネオスポラによる障害があったものと考察した。その後も流死産につながる致死的ダメージに至らず、母牛からの感染を受け続けた結果、胎内にネオスポラが蓄積し、体型異常、高度な抗原分布、広範囲の病変形成を特徴とする産子として出生し、極めて稀なネオスポラ症に至ったと考察した（図8）。



## 【まとめ】

今回の事例で、胎齢の進行したネオスポラ症ほど、多数の抗原と重度な病変を形成することが判明した。このことから、胎齢の進行した症例ほど娩出される胎盤、後産には多量のシスト・タキゾイトが含まれることが考えられた。なかでもシストは環境抵抗性が強く、長期間の生存が可能という報告4)があり、シストが多量であればある程、農場内での高汚染源となり、水平感染のリスクは増大することが危惧される。以上のことから、胎齢の進行したネオスポラ症は、発生頻度は高くないものの、家畜衛生上極めて重要であることが示唆された。

現在、抗体陽性牛の計画的更新と産子抗体検査、水平感染防止対策を実施中である。

## 参考文献

- 1) J.P.Dubey, J.L.Carpenter, C.A.Speer et al : Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. : JAVMA 192 : 1269-1285(1988)
- 2) J.P.Dubey, G.Schares, L.M.Ortega-Mora : Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum* : Clinical Microbiol, 323-367(2007)
- 3) 播谷 亮 : ネオスポラ症による牛の流産 : 家畜診療399-33-35(1996)
- 4) 播谷 亮 : ネオスポーラ症とは(総説) : 臨床獣医Vol.12 No.10 17-24(1994)
- 5) Umemura,T., Shiruki,K., et al : *Neospora* in a dog : J. Vet med Sci., 54, 157-159 (1992)
- 6) Ogino,H., Watanebe,E., et al : Neosporosis in the aborted fetus and newborn calf : J. Comp Path. 107,231-237(1992)

- 7) 奥田ら : ネオスポーラ様原虫感染を伴った牛異常産の病理像 : 日獣会誌 45,833-836 (1992)
- 8) 奥田ら : ネオスポラ感染による牛流死産の胎齡別の病理学的検討 : 日獣会誌, 48,544-546(1995)
- 9) 奥田ら : ネオスポラ原虫による4週齡子牛の後軀麻痺 : 日獣会誌, 48,544-546(1995)
  
- 10) 丹治ら : 黒毛和種におけるネオスポーラ症の発生 : 臨床獣医Vol.12 No.10 32-34(1994)