

県内酪農家における Bovine Neonatal Pancytopenia の一症例

県央家畜保健衛生所

山本 英子 近内 将記

矢島 真紀子 小嶋 信雄

はじめに

Bovine Neonatal Pancytopenia (以下、BNP) は、生後4週齢未満の子牛で骨髓低形成、白血球減少、血小板減少及び多発性出血を特徴とする致死的な疾病であり、2006年頃からヨーロッパを中心に世界的に発生報告されている⁷。BNPの発生は品種及び性別に関連性はなく、発生機序は完全に解明されていないが、子牛のMHCクラスI (以下、MHC I) 抗体を含む初乳の摂取が原因と考えられている^{3) 5) 6) 10)}。今回、県内酪農家において、県内初のBNPの発生があったので報告する。

臨床経過

2020年8月、2週間早産した子牛が、哺乳意欲に乏しく、15日齢で発熱及び軟便を呈したため、アンピシリンで2日間治療した。翌日には状態は改善したが、17日齢で再度発熱、元気消失及び血液を混じた唾液を認め、エンロフロキサシンで治療したが、18日齢に死亡したため、病性鑑定に供された。また、子牛には初乳及び人工乳を給与していた。

死亡前日に実施した血液検査では、赤血球数 $5.09 \times 10^6 / \mu\text{l}$ 、白血球数 $110 / \mu\text{l}$ 、血小板数 $10,000 / \mu\text{l}$ 及びヘマトクリット値 19% であり、血清を用いたBVD抗原ELISA検査は陰性であった。

材料と検査方法

1 材料

日齢は18日齢で、品種はホルスタイン種、性別は雌であった。

2 検査方法

(1) 細菌学的検査

肺、肝臓、脾臓、腎臓、扁桃及び脳について、羊血液寒天培地を用い、37°C48 時間、好気及び微好気培養、DHL寒天培地を用い、37°C24 時間、好気培養を実施した。また、空腸及び結腸内容物について、ESⅡ寒天培地を用い、37°C24 時間、好気培養、羊血液寒天培地及びCW寒天培地を用いて、37°C48 時間、嫌気培養を実施した。

(2) ウイルス学的検査

肺、肝臓、脾臓、腎臓、脳、脊髄、リンパ節（肺門、腸間膜）の乳剤及び気管粘膜拭い液について、Hmlu-1 細胞及びVero細胞を用いたウイルス分離（3代継代）を実施した。

(3) 遺伝子学的検査

肺、肝臓、脾臓、腎臓及び脳の乳剤について、PCR 法により、ペスチウイルス特異遺伝子検索を実施した。

(4) 病理組織学的検査

心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、脊髄、リンパ節（肺門、浅頸、下顎、腸間膜、内腸骨、腸骨下、鼠経）、胸腺、胃、膵臓、腸管、脳、脊髄、扁桃及び咽頭喉頭について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、定法に従いパラフィン包埋、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。さらに、肺についてPAS反応を実施した。

結果

1 外貌・剖検所見

体重は35kgで、可視粘膜の蒼白、血液の凝固不全、針先大～大豆大の多発性出血、骨髓の膠様変化、小型の胸腺、肺の一部に暗赤色調病変、気管支粘膜の肥厚、扁桃及び咽頭喉頭の灰色化、小腸に血餅充満、消化管に茶褐色～暗赤色調液状物貯留、肝臓及び腎臓の退色が認められた。（写真1～5）



写真1 外貌

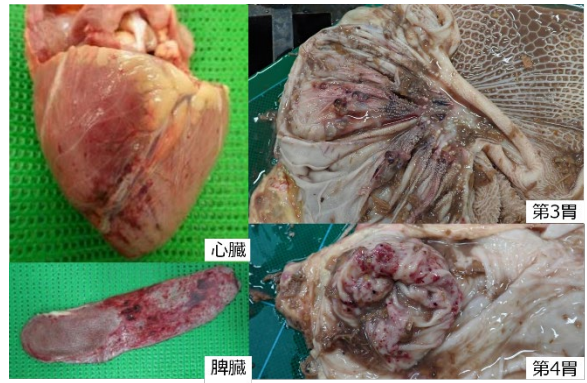


写真2 多発性出血

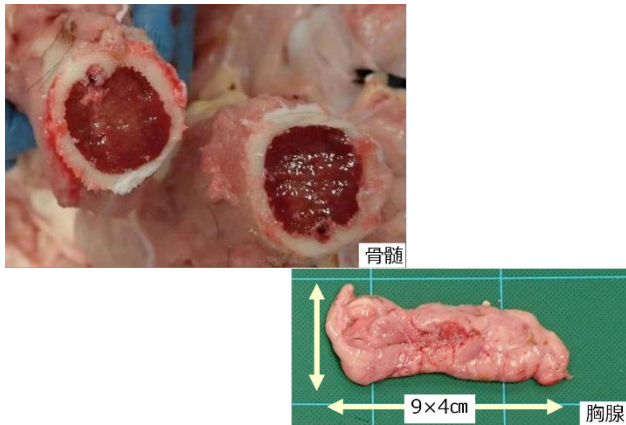


写真3 骨髓の膠様変化、小型の胸腺

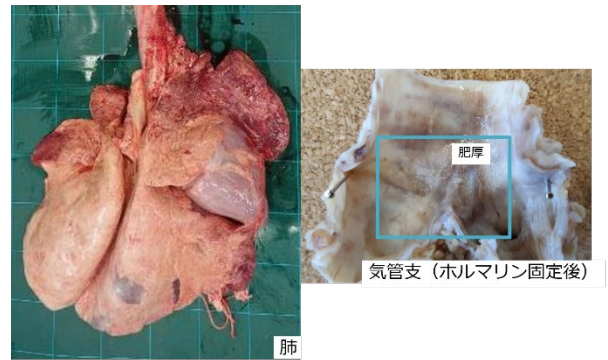


写真4 肺の暗赤色調病変、気管支粘膜の肥厚

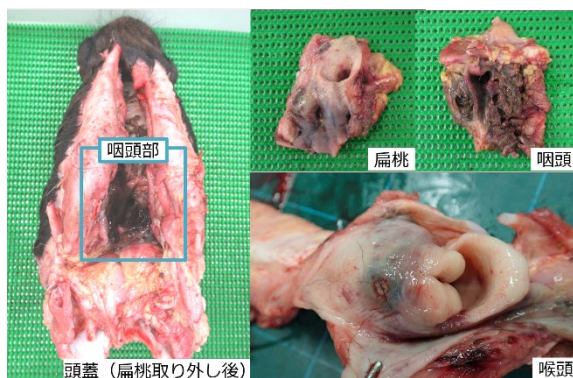


写真5 扁桃・咽頭喉頭の灰色化

2 細菌学的検査

好気及び微好気培養下で各臓器から有意な菌は分離されなかった。また、嫌気培養下で結腸内容物からグラム陽性小桿菌、空腸内容物からグラム陽性中桿菌が分離された。形態学及びCW寒天培地での不明瞭な乳光反応より、分離菌は *Clostridium perfringens* を否定した。

3 ウイルス学的検査

各臓器から、CPEを示すウイルスは分離されなかった。

4 遺伝子学的検査

各臓器から、ペスチウイルス特異遺伝子は検出されなかった。

5 病理組織学的検査

骨髄では造血細胞の高度の減数及び脂肪細胞による置換が認められ、重度の骨髄低形成であった。(写真 6) 脾臓では動脈周囲のリンパ球の減少、胸腺では皮質リンパ球の減少がみられるなどリンパ組織の萎縮が認められた。(写真 7) 心内膜及び心外膜、脾臓の被膜、消化管の漿膜及び粘膜など全身性の多発性出血が認められた。(写真 8) 肺では気管支に炎症性退廃物の貯留、気管支間質の壊死、真菌塞栓、肺泡に赤血球、線維素、炎症細胞及び真菌の貯留が認められた。(写真 9) 真菌の菌糸は比較的均一な太さで、隔壁を有し、Y 字状の分岐がみられ、アスペルギルス様の形態を示していた。扁桃及び咽頭喉頭では広範な出血・壊死巣及び細菌塞栓が認められた。(写真 10)

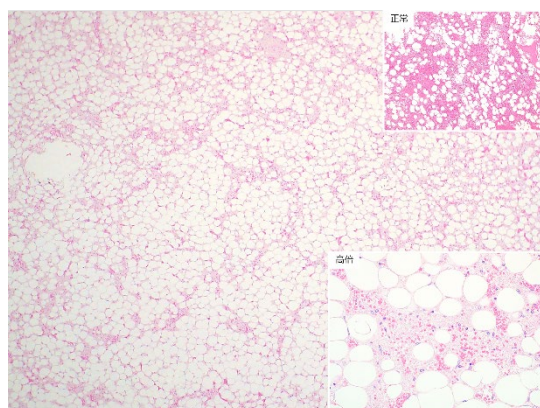


写真 6 骨髄低形成

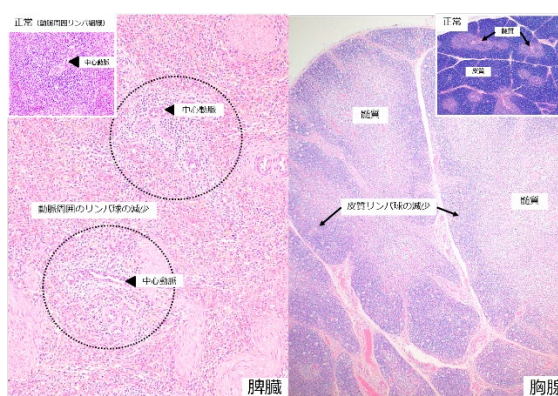


写真 7 リンパ組織の萎縮

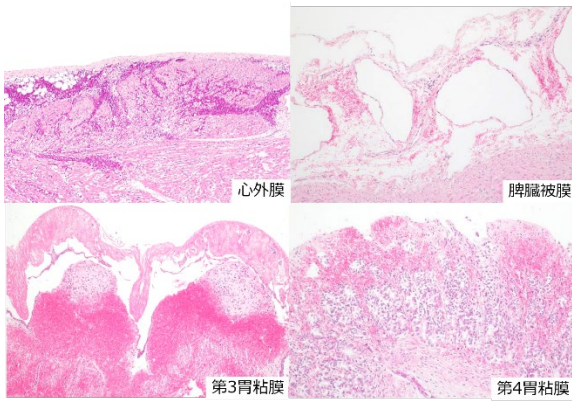


写真 8 多発性出血

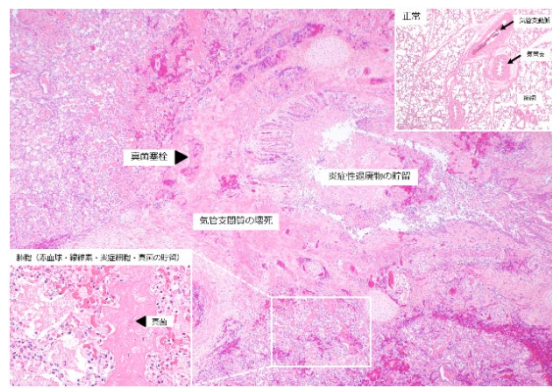


写真 9 真菌性気管支肺炎

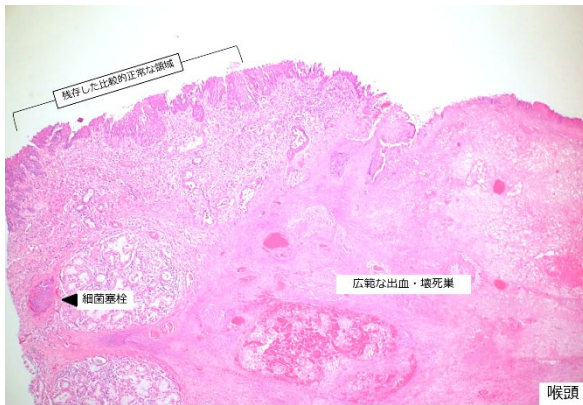


写真 10 壊死性喉頭炎

まとめ及び考察

県内酪農家で、2週間早産した子牛が3日間の抗生剤治療後18日齢に死亡したため、病性鑑定に供された。死亡前日の血液検査では白血球数及び血小板数が低値を示した。剖検では血液の凝固不全、針先大～大豆大の全身性の多発性出血、骨髄の膠様変化、小型の胸腺、扁桃及び咽頭喉頭の灰色化、肺の一部に暗赤色調病変等を認めた。病理組織検査では、骨髄低形成、リンパ組織の萎縮、多発性出血、アスペルギルス様真菌の塞栓を伴う真菌性気管支肺炎、細菌塞栓を伴う壊死性扁桃炎及び咽頭喉頭炎を認めた。病原検索では、有意な病原体は検出及び分離されなかった。本症例はBNPの血液学的及び病理学的特徴と一致しており、BNP、細菌感染症及び真菌感染症と診断した。本症例は白血球及び血小板減少並びに重度の骨髄低形成が生じ、血小板減少によって血液凝固不全及び多発性

出血が誘引され、白血球減少によって易感染状態となり、細菌感染症及び真菌感染症が引き起こされたと考えられる。また、細菌塞栓及び真菌塞栓が認められたことから、死因は敗血症性ショックと推察された。

BNPは2006年頃からヨーロッパを中心に世界的に発生が報告され始めた疾病である。BNPの発見当初は特定のワクチン接種との関連性が指摘されていたが、そのワクチンの販売中止以降も発生報告は続いており、原因物質の特定には至っていない^{4) 7) 8) 10)}。現在、BNPの病態は子牛のMHC Iに特異的な抗体の産生を誘導する何らかの物質を母牛が摂取することによって、母牛内でMHC I抗体が産生され、このMHC I抗体と子牛のMHC Iの表現型が一致する場合、子牛が初乳を介して

摂取したMHC I抗体が、循環中の白血球及び血小板、骨髄の造血幹細胞を順次破壊することによって、白血球及び血小板減少、骨髄低形成が引き起こされたと考えられている^{1) 5)}。(図1)

BNPと臨床的に類似した疾病にワラビ中毒及び虚弱子牛症候群(以下、WCS)が挙げられる。ワラビ中毒はワラビの過剰摂取により生じ、血液学的及び病理学的特徴はBNPと同様である¹¹⁾。本症例は飼養状況からワラビの摂取の可能性は低く、剖検時の胃内容にワラビを認めなかったため、ワラビ中毒を否定した。また、WCSは哺乳欲の減退、起立困難、低体重、易感染など臨床的に虚弱と診断される子牛の総称で、子宮内発育遅延、母牛の栄養障害、異常産関連ウイルスの感染など様々な要因で生じ、その原因は特定されていない¹²⁾。本症例は、哺乳欲の減退、低体重など臨床的に虚弱と診断されWCSに含まれるが、血液検査、病原学的検索及び病理学的検索を実施し、白血球及び血小板減少並びに骨髄低形成を認めたため、BNPと診断した。また、WCSと診断された症例の多くで、胸腺の低形成が確認されるが、本症例では認められなかった。日本におけるBNPの発生報告は2症例あり、いずれも4週齢未満で発生し、骨髄低形成、白血

Bovine Neonatal Pancytopeniaの病態生理

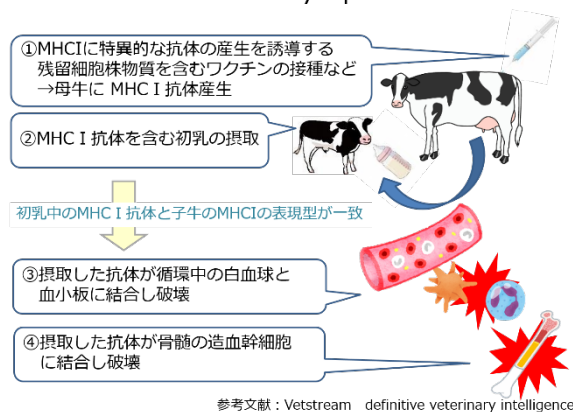


図1 BNPの病態生理

表1 本症例と国内BNP症例との比較

	本症例	北海道 2008	北海道 2007
品種	ホルスタイン種	黒毛和種	ホルスタイン種
日齢	18日齢	19日齢*	11日齢
骨髄低形成	○	○	○
白血球数(μℓ)	100	1,300	400
血小板数(μℓ)	10,000	57,000	13,000
赤血球数(μℓ)	5.09×10 ⁶	5.76×10 ⁶	1.94×10 ⁶
Ht値(%)	19	8	22.7
多発性出血	○	○	○

※鑑定殺

球減少、血小板減少及び多発性出血が認められた^{2) 9)}。また、ヘマトクリット値は2症例ともに低値を示したが、赤血球数は必ずしも低値を示さなかった。(表1)日本におけるBNPの症例報告数が少ないことは、WCSと臨床診断された4週齢未満の子牛の中にBNPが含まれていた可能性が考えられる。今後、虚弱ないし発育不良を呈した4週齢未満の子牛では血液検査で白血球及び血小板減少の確認をすること、その個体を病性鑑定に供する場合は骨髄の病理学的検査で骨髄低形成を確認することにより、潜在的に存在していたBNPを的確に診断することが可能になると考えられる。

引用文献

- 1) Aryan Assad, Barbara Amann, Annette Friedrich, Cornelia Annette Deeg: Immunophenotyping and characterization of BNP colostrum revealed pathogenic alloantibodies of IgG1 subclass with specificity to platelets, granulocytes and monocytes of all maturation stages, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Volume 147 Issues 1-2, 25-34 (2012)
- 2) Asuka SHIMADA, Tomoya ONOZATO, Eriko HOSHI, Yoshihiko TOGASHI, Motozumi MATSUI, Yoh-Ichi MIYAKE, Yoshiyasu KOBAYASHI, Hidefumi FURUOKA, Takane MATSUI, Naoki SASAKI, Mitsuo ISHII, Hisashi INOKUMA: Pancytopenia with Bleeding Tendency Associated with Bone Marrow Aplasia in a Holstein Calf, *J Vet Med Sci*, Dec; 69(12), 1317-1319 (2007)
- 3) B Pardon, L Steukers, J Dierick, R Ducatelle, V Saey, S Maes, G Vercauteren, K De Clercq, J Callens, K De Bleecker, P Deprez: Haemorrhagic diathesis in neonatal calves: an emerging syndrome in Europe, *Transbound Emerg Dis*, Jun; 57(3), 135-46 (2010)
- 4) Bryony A Jones, Carola Sauter-Louis, Joerg Henning, Alexander Stoll, Mirjam Nielsen, Gerdien Van Schaik, Anja Smolenaars, Matthijs Schouten, Ingrid den Uijl, Christine Fourichon, Raphael Guatteo, Aurélien Madouasse, Simon Nusinovic, Piet Deprez, Sarne De Vlieghe, Jozef Laureyns, Richard Booth, Jackie M Cardwell, Dirk U Pfeiffer: Calf-Level Factors Associated with Bovine Neonatal Pancytopenia-A Multi-Country Case-Control Study, *PLOS ONE*, Volume 8 Issues 12, e80619 (2013)
- 5) Charlotte R Bell, Mara S Rocchi, Mark P Dagleish, Eleonora Melzi, Keith T Ballingall, Maira Connelly, Morag G Kerr, Sandra F E Scholes, Kim Willoughby: Reproduction of bovine neonatal pancytopenia (BNP) by feeding pooled colostrum reveals variable alloantibody damage to

different haematopoietic lineages, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Volume 151 Issues 3-4, 303-314 (2013)

6) Eva C Kappe, Mohammad Yahya Halami, Benjamin Schade, Michaela Alex, Doris Hoffmann, Armin Gangl, Karsten Meyer, Wolfgang Dekant, Bernd-Andreas Schwarz, Reimar Johne, Johannes Buitkamp, Jens Böttcher, Hermann Müller : Bone marrow depletion with haemorrhagic diathesis in calves in Germany: Characterization of the disease and preliminary investigations on its aetiology, *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 123(1-2), 31-41 (2010)

7) Lindert Benedictus, Rutger D. Luteijn, Henny Otten, Robert Jan Lebbink, Peter J. S. van Kooten, Emmanuel J. H. J. Wiertz, Victor P. M. G. Rutten & Ad P. Koets : Pathogenicity of Bovine Neonatal Pancytopenia-associated vaccine-induced alloantibodies correlates with Major Histocompatibility Complex class I expression, *SCIENTIFIC REPORTS*, 5, 12748 (2015)

8) Max Bastian, Mark Holsteg, Heidrun Hanke-Robinson, Karin Duchow, Klaus Cussle : Bovine Neonatal Pancytopenia: is this alloimmune syndrome caused by vaccine-induced alloreactive antibodies?, *VACCINE*, 29(32), 5267-75 (2011)

9) Morito FUKUNAKA, Yumi TOYODA, Yoshiyasu KOBAYASHI, Hidefumi FURUOKA, Hisashi INOKUMA : Bone Marrow Aplasia with Pancytopenia and Hemorrhage in a Japanese Black Calf, *J. Vet. Med. Sci*, 72(12), 1655-1656 (2010)

10) Vetstream ホームページ

11) 全国家畜衛生職員会 : 農林水産省消費・安全局監修 病性鑑定マニュアル、第4版、594 (2016)

12) 小岩政照, 小形芳美, 岡本全弘, 津曲茂久, 木村信熙 : 子牛の科学、98-103、チクサン出版社 (2009)