

獣医神経病学会 脳脊髄液検査のガイドライン Ver.1

獣医神経病学会研究部会

現在、獣医療域においても、中枢神経疾患を診断する上で CT や MRI による高度画像診断が普及しつつある。しかし、これらの画像診断を駆使しても診断が行えない症例や炎症等を疑い鑑別を行いたい時には、脳脊髄液(CSF)の分析が有効なことがある。CSF 検査は、神経疾患を診断するための重要な検査のひとつであり、一般的な検査と対比するのならば、CSF 検査は「血液検査」に位置する検査と言える。CSF 検査は、特殊な機器を必要としないために、いずれの診療施設においても行うことが可能である。しかし、獣医療域では、CSF 検査を行って「何が」、「どこまで」診断可能であるのかに関する情報が少なく、全身麻酔が必要なことや合併症の危険性があるという理由から、ほとんどの施設で行われていないのが現状である。また、CSF 検査を行う施設によって検査方法や項目が異なるという問題点も存在している。そこで、獣医神経病学会では、CSF 検査の方法を画一化させ、施設間における比較を可能にするために、ガイドラインを策定した。本ガイドラインが日常の診療、そして学会発表や論文投稿の参考になることを期待している。

大槽穿刺(cisternal puncture)による CSF の採取法

【準備するもの】

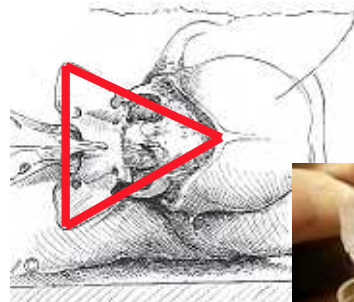
- ① 皮膚の消毒液(アルコール、グルコン酸クロルヘキシジン、ポピドンヨード等)
- ② 滅菌グローブ
- ③ スパイナル針(20-23G)
- ④ 滅菌チューブ
± 滅菌ドレープ



【麻酔】必ず気管挿管を行い、全身麻酔下で行う。アセプロマジンやケタミンといった脳神経疾患時に合併症を誘発する恐れのある前投与薬や麻酔薬はなるべく避ける。

【推奨する脳脊髄液の採取方法】

- ① 右利きの者が検査を行う時には、動物を**右側臥位**に保定する。この時、頸部を腹側へ**約 90° 屈曲**させ、**口吻が机と平行**となるように助手に保定させる。
:補助呼吸か人工呼吸下で行うことを推奨する
- ② 穿刺部位の毛刈りを十分にいき、ポピドンヨードまたクロルヘキシジンとアルコールで皮膚を**外科的に消毒**する。
- ③ 検査を行う者は滅菌グローブを装着しドレープをかける。
- ④ **外後頭隆起と左右環椎翼で形成される三角形の重心**を目印としてスパイナル針(20-23G)を挿入する。
:使用するランドマークには他の方法もある
- ⑤ 皮膚を貫いたらスパイナル針の内針を抜き、深部へとゆっくりと針を進めていく。熟練すると横靭帯や硬膜を貫く感覚がわかる。スパイナル針のハブの部分にCSF が流入してきたら、針を進めるのを止めて固定する。
- ⑥ 自然滴下で採取する:**安全な採取量**; <0.2ml/kg
- ⑦ 採取された CSF は滅菌チューブに入れる。



【注意事項】採取時には、スパイナル針にシリンジを装着して吸引してはならない。急激に脳脊髄液を抜くと、血液が混入したり、小脳ヘルニアを引き起こし死亡したりすることがある。

トラブルシューティング

トラブル	回避方法
途中で出が悪くなった	→ 針を回転させる。針を引く
出血した	→ 一度針を抜いてから、5分ほど待ち、もう一度行う
勢いよく抜けすぎる	→ 検査を中止する

CSF 検査の禁忌事項

以下の6点に該当するときにはCSF検査を控えるべきである。

- ① 全身麻酔のリスクが高い
- ② 頭蓋内圧の著しく亢進している動物
- ③ 激しい膿皮症、フレグモーネが穿刺部位部に存在する動物
- ④ 出血性素因や凝固異常のある動物
- ⑤ 脊髄造影検査後

※脳ヘルニアを起こす確率は大槽穿刺と腰椎穿刺では差がない。

※犬と猫では、猫の方がやや脳ヘルニアのリスクが高い。

※頭蓋内圧が高い時には、過換気気味に呼吸を調節する。

※穿刺部位周囲の奇形および腫瘍が疑われる場合は、画像診断で確認の上、検査を行うべきか否かの判断を慎重に行う。

※造影剤の影響は、イオヘキソールであれば最大で7日まで続くことが報告されている。

CSF で検査可能な項目

採取されるCSFには限りがあるので、診断に必要な項目から検査を行う。少なくとも、**色調、細胞数、細胞の種類、蛋白質濃度**の測定から行う。次いで、犬ジステンパーウイルス(CDV)感染症や壊死性脳炎の診断を行いたい時には、CDV抗体値や抗GFAP抗体の検査を行う。CSFの量に余裕がある時には、比重、Pandy testなどの一般性状試験を追加する。また、下右表に示した生化学検査を行うと、炎症などの疾患で高値を認めることがある。近年では、神経特異的エノラーゼ(NSE)やミエリン塩基性蛋白(MBP)などの特殊項目を測定することにより、神経細胞や髄鞘の異常を推測することも可能となっている。疾患特異性の低い項目もあるので、必要な項目を選んで検査を行う。

正常犬における各項目の参考値(文献)		正常犬における各項目の参考値(ドライケム※)	
検査項目	参考値	検査項目	参考値
色調	無色透明	LDH	6.2 - 16.3 mU/mL
細胞数	0 - 5 / μ L	AST	3.4 - 26.3 mU/mL
細胞の種類	小単核球優位	CK	0 - 69.7 mU/mL
蛋白濃度	<25 mg/dL (腰椎: <45 mg/dL)	GLU	34 - 140.9 mg/dL
Pandy test	—	Cl ⁻	122.3 - 134.7 mEq/L
比重	1.004 - 1.006	Ca ²⁺	2.5 - 3.7 mEq/L
pH	7.3-7.4	Albumin	10-20 mg/dL (文献値)
細菌培養	—	NSE	3.9 - 21.8 ng/mL
脳脊髄液圧	<1.4 cmH ₂ O	MBP	0 - 1.3 ng/mL

ビーグル犬(n=30)における検討: 枝村(第14回獣医神経病研究会抄録集より) ※ドライケム(富士ドライケム: 富士フィルム社製)

理想的な検査のながれ

推奨する検査項目

- ① 色調:院内(0 μ L)
- ② 細胞数:院内(50 μ L)
- ③ 細胞の種類:院内(200-300 μ L)
- ④ 蛋白濃度:【微量測定】外注(500 μ L)
【Pandy test】院内(50 μ L)

特殊検査項目

- ① CDV、FCoV 抗体価:外注(100-500 μ L)
 - ② 抗 GFAP 抗体:外注(200 μ L)
 - ③ NSE:外注(300 μ L)
 - ④ MBP:外注(600 μ L)
- ※その他:オレキシン、HVA など

その他の一般性状の検査項目

- ① 比重:院内(50 μ L)
- ② pH:院内(50 μ L)
- ③ 細菌培養:外注(100 μ L)

その他の生化学検査項目

- ① LDH:ドライケム(10 μ L)
- ② AST:ドライケム(10 μ L)
- ③ CK:ドライケム(10 μ L)
- ④ Glu:ドライケム(10 μ L)
- ⑤ Cl⁻:ドライケム(30 μ L)
- ⑥ Ca²⁺:ドライケム(10 μ L)
- ⑦ Albumin:外注(500 μ L)

ドライケム(富士ドライケム・富士フィルム社製)

【注意事項】 CSF の細胞数と細胞の種類は、採取後 30 分以内に行うことが望ましい。CSF は、蛋白濃度が低く、白血球が急速に破壊されるため各種検査項目に影響する。

脳脊髄液検査表

検査日時 _____ / _____ / _____

ID _____
 患者名 _____ 品種 _____ 年齢 _____ y _____ m 性別 M・F ()

症状

刺入時の末梢血液の混入 (有・無)

一般性状

項目	検査結果	参考値	解釈
色調	透明・その他()	無色透明	【キサントクロミ-】陳急性出血
蛋白濃度	mg/dL	<25 mg/dL	【高値】脳炎、脳腫瘍、出血、血液混入
Pandy test	-・+・++・+++	-	【白濁】脳炎、脳腫瘍、出血、血液混入
比重		1.004-1.006	【高値】脳炎など多量の蛋白を含む時
pH		7.3-7.4	【高・低値】全身の酸塩基平衡を反映
細菌	+・- 培養 有・無	-	【陽性】細菌感染

細胞数および種類

細胞数:	WBC / μ L	RBC / μ L	ヘモグロビン -・+
細胞の種類	単核球主体・好中球主体・好酸球主体 M= % N= % Ly= % Eo= % Bas= %		

生化学および特殊項目

項目	検査結果	参考値	解釈
LDH	mU/mL	6.2 - 16.3	【高値】脳炎、リンパ腫、転移性腫瘍
AST	mU/mL	3.4 - 26.3	【高値】化膿性脳炎、CDV 脳炎、壊死性脳炎
CK	mU/mL	0 - 69.7	【高値】圧迫性病変、脳炎
Glucose	mg/dL	30 - 140.9	【低値】ウイルス性脳炎、細菌性脳炎
血漿中 Glucose _____ mg/dL		CSF/血清比 _____ %	
Cl ⁻	mEq/L	122.3 - 134.7	【低値】脳炎、髄膜炎、予後と関連
Ca ²⁺	mEq/L	2.5 - 3.7	【低値】甲状腺機能低下症、低栄養
Albumin	mg/dL	10 - 20	【高値】脳脊髄液関門の破綻: 脳腫瘍

特殊項目

項目	検査結果	参考値	解釈
NSE	ng/mL	3.9 - 21.8	【高値】壊死性脳炎、脳炎、脳出血、脳腫瘍
MBP	mU/mL	0 - 1.3	【高値】CDV 脳炎、脱髄性疾患、出血性病変
S-100			【高値】脳外傷、脳腫瘍、虚血性脳障害
HVA	mU/mL	98.2 \pm 12.4	【高値】精神疾患、分離不安症(ヒト)

CDV 抗体	血清: CSF:
--------	-------------

FIP 抗体	血清: CSF:
--------	-------------

抗 GFAP 抗体	-・+
-----------	-----

CSF の一般性状検査法とその測定意義

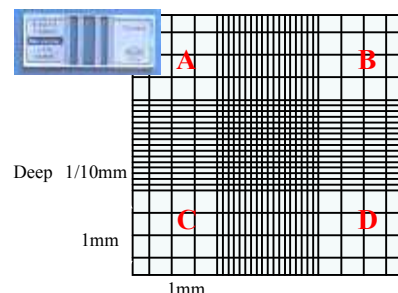
① 色調

【方法】採取直後に肉眼で観察する。血様の CSF が採取された時には、穿刺時の混入と鑑別する。

参考値	異常
水様無色透明	黄色(キサントクロミー): 脳実質または髄膜の出血(10h~15days) : 重度の黄疸、CSF の高度の蛋白濃度上昇 赤色: 新鮮出血、血液の混入(赤血球が変形していない) 白濁: >500/ μ L の白血球の存在

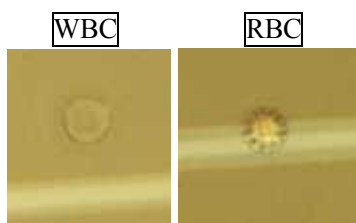
② 細胞数

【方法】CSF 中の細胞数を計測する時には、血球計算盤を用いる。細胞数の計測は、採取後なるべく早く(採取 30 分以内)行う。通常は、CSF に含まれている細胞数は少ないため、希釈しなくてもよい。細胞数の計測は、Fuchs-Rosenthal 計算盤や Neubauer 計算盤などを用いる。右図は Neubauer 計算盤を用いたときの計算法を示した。



【計算方法】 $(A+B+C+D) \div 4 \times 10 = \text{細胞数}(\text{mm}^3) = (\mu\text{L})$

【注意事項】細胞数は白血球数とほぼ同じ意味であり、通常は赤血球を数えない。CSF 中には赤血球が存在しないため、その存在は混入を意味することが多い。血液の混入がある時は、犬では赤血球 500 個で 1 個、猫では赤血球 100 個で 1 個の白血球を引いて計算する。



参考値	高値
犬: 0-5/ μ L 猫: 0-3/ μ L	脳炎、脊髄炎、髄膜炎、出血、壊死、リンパ腫

③ 細胞の種類の評価

CSF は、蛋白含有量が低いため細胞が破壊されやすい。通常の遠心器で遠心すると細胞が破壊され観察が困難となる。そのため、右図で示す自然沈降法を用いて沈渣を作成する方法が有用である。また、近年では Cytospin などの細胞診用の遠心器も活用できるようになり、これらの使用も推奨する。



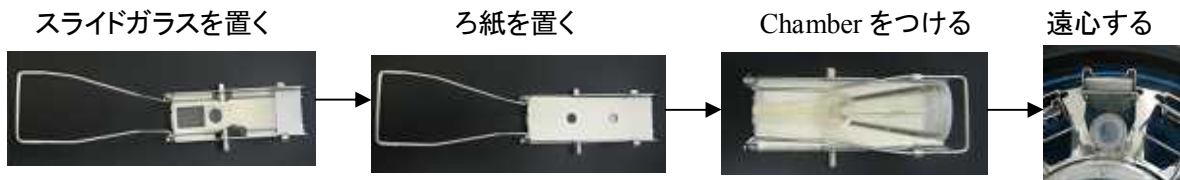
【自然沈降法】

- ① スライドガラスに 3mL または 5mL のシリンジをカットして静置する。この時、CSF が漏れないようにシリンジの底に白色ワセリンを塗る。
- ② 注射器を用いて、CSF を 0.3~0.5mL 注入する。
- ③ 埃や落下細菌が混入しないように、蓋をして 25~30 分間静置させる。
- ④ 沈渣終了後に上清を回収し、直ちに風乾し染色する。上清は、他の検査に再利用可能。
- ⑤ Wright-Giemsa 染色を行う。※血液の染色時よりも短い時間(約半分)で染色する。



【集細胞遠心法】※最も理想的な方法

- ① Cytocrip[®] Slide Clip を開く
- ② スライドガラスを装着する。
- ③ 専用のろ紙をスライドガラスの上に置く。
- ④ Cytocrip[®] Slide Clip を閉じる。
- ⑤ 100 μ L の CSF を Sample Chamber に入れる。
- ⑥ 750rpm(64G)で 5 分間遠心する。
- ⑦ 遠心が終了したら、スライドガラスを取り出し Wright-Giemsa 染色を行う。



【サイトフェージ(Cytospin の簡易型)を用いた方法】

推奨する遠心速度:1000rpm (約 55G)



【細胞を保存しておくためのコツ】

✓11%の自己血清を添加すると 48 時間まで冷蔵保存可能
→ 保存は完全ではなく他の性状検査ができないので注意!



【正常】



小単核球

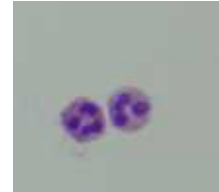
【異常】



マクロファージ

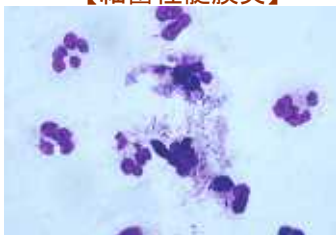


好中球



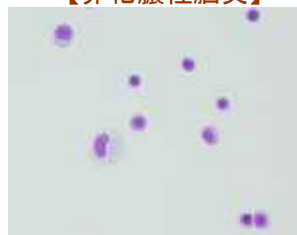
好酸球

【細菌性髄膜炎】



多数の好中球を認める

【非化膿性脳炎】



単核球の増多

【リンパ腫】



異型巨大リンパ球

【各種疾患の特徴】

- ① ウイルス性疾患、肉芽腫性髄膜脳炎(GME): 大単核球の増多
- ② 全身性振せん症候群: 軽度の単核球優位の増多
- ③ 壊死性脳炎: 小単核球優位の増多
- ④ 細菌感染、ステロイド反応性髄膜炎、犬疼痛症候群、FIP: 好中球優位の増多
- ⑤ 寄生虫感染、クリプトコッカス感染、プロトテカ症: 好酸球の増多

④ 蛋白濃度

CSF の総蛋白量は血漿蛋白量に比べ非常に少ないため定量を行いたい時は検査機関に依頼する。

【方法】尿試験紙による半定量もしくは外注による測定。※定量法が推奨されている。

参考値	高値
<25 mg/dL(腰椎:<45 mg/dL)	脳実質の炎症、脳腫瘍、脳膿瘍、出血、血液混入

⑤ Pandy test

髄液中の蛋白量を推測するための検査である。グロブリン反応とも呼ばれることがあるが、実際は 30mg/dL 以上の蛋白に反応して陽性となる。脳内ではアルブミンは産生されないため、出血や血液の混入が認められない時の蛋白値の上昇は、グロブリンの産生によるものとする。

- 【方法】
- 1) 時計皿にフェノール液を 2~3mL 滴下させる。
 - 2) 時計皿の辺縁から CSF を 1~2 滴静かに落とす。
 - 3) 3 分間静置させる。
 - 4) 接触部位の色調の変化を観察する。



陽性例

- 【判定】
- 色調の変化なし
 - + ほのかに白濁
 - ++ 明らかな白濁
 - +++ 乳状の白濁

参考値	白濁
-	脳実質の炎症、脳腫瘍、脳膿瘍、出血、血液混入

⑥ 比重

【方法】尿比重を測定する時と同様に屈折計を用いて測定する。

参考値	高値
1.004-1.006	脳炎など多量の蛋白を含有する時

⑦ pH

【方法】pH 試験紙または pH 測定装置で測定する。

参考値	高値または低値
7.3-7.4	全身のアシドーシスやアルカローシスと関連

⑧ 細菌

【方法】尿試験紙や細胞診で簡易検査が可能である。細菌性髄膜炎を疑う所見を得た時は、培養試験を行う。通常の培地で培養されることは少なく、チオグリコレート培地で 3~4 日間増菌させた後に培養を行うと培養に成功することが多い。犬では、コアグラージェ陽性ブドウ球菌(特に *S.intermedius*)による感染が最も一般的である。PCR による検査も有効である。

参考値	陽性
陰性	細菌性髄膜炎および脳炎、脳膿瘍

⑨ 脳脊髄液圧

【方法】スパイナル針の先端にマンメータを接続し、水柱圧を測定する。脳脊髄液圧が 200mmH₂O よりも高値を示す時は、CSF 採取時に小脳ヘルニアを引き起こす可能性があるため検査を中止する。また、CSF の滴下速度からも脳脊髄液圧は推定できるが、その判定には熟練を要する。CSF 検査時の脳脊髄液圧の測定は必須ではない。 $1.3 \times \text{cmH}_2\text{O} = \text{mmHg}$

参考値	高値
<1.4cm H ₂ O	水頭症、脳腫瘍、脳浮腫、脳出血、脳ヘルニア

CSF の生化学的検査とその測定意義

CSF の構成成分およびその変化を検査することは、種々の診断に役に立つ。なかでも、CSF 中の LDH、AST、CK、GLU、電解質(Na⁺、Cl⁻、Ca²⁺)などの測定は、神経疾患の診断の一助となることがある。これらの検査項目は、一般に市販されている血液生化学用の測定機器を利用して測定が可能であるため、その診断意義を解説する。

①乳酸脱水素酵素(LDH)

【臨床的意義】

LDH は組織障害時に逸脱する酵素で炎症時に上昇する傾向がある。CSF 中の LDH 値は、血中からの透過、脳組織からの流入、髄液中の細胞からの流出で増加すると考えられている。ヒトでは、CSF 中の LDH は血中の 5~10%と報告されている。特に、ヒトでは細菌性髄膜炎の 90%で増加するが、ウイルス性髄膜炎では 10%しか増加しないため、両者の鑑別に用いられている。しかし、犬での検討では、CDV 脳脊髄炎と細菌性髄膜炎の両者において高値を認める傾向が確認されている。したがって、犬においては、LDH 値の高値は炎症性疾患との関連性が高いものの、細菌性とウイルス性の両髄膜炎の鑑別は困難なことが多い。腫瘍性疾患では LDH 値の上昇をほとんど認めないが、例外的にリンパ腫と転移性腫瘍の時は上昇を認めることがある。

犬や猫においても、LDH アイソザイムの測定は可能で、診断に用いることができる。リンパ腫の症例では、血液で認められるパターンと同様に、CSF においても「手の指型パターン;(LDH2.3.4 の高値)」が認められることがある。

参考値	高値
6.2-16.3 mU/mL (ドライケム) (12-55mU/mL; Abate <i>et al.</i>)	細菌性脳炎、ウイルス性脳炎、髄膜炎、リンパ腫、転移性腫瘍

ドライケム(富士ドライケム:富士フィルム社製)

【正常アイソザイムパターン(犬)】

LDH-1	LDH-2	LDH-3	LDH-4	LDH-5
47.3±7.3	28.8 ± 3.6	13.7±2.6	4.8±2.0	9.0±7.8

(%) Mean±S.D. (n=30)

②アスパラギン酸アミノ転換酵素(AST)

【臨床的意義】

AST は、主に脳、肝、筋のミトコンドリアに分布している酵素である。特に、神経系の細胞にはミトコンドリアが多いため、その破壊や損傷により CSF 中の AST 値が上昇することが推測されている。Abate らは、CDV 脳炎時のみに AST 値が上昇するため、CDV 脳炎の鑑別に有効であると報告している。しかし、最近の検討では、AST 値の上昇は CDV 脳炎に限局せず、壊死性脳炎や MRI で脳実質の損傷が著しい脳炎においても AST 値が上昇する傾向があることが示されている。今後、さらなる検討が必要であると思われるが、脳炎の有無を診断する時には感度が高い可能性が指摘されている。

参考値	高値
3.4-26.3 mU/mL (ドライケム) (9-46 mU/mL; Abate <i>et al.</i>)	化膿性髄膜炎、CDV 脳炎、壊死性脳炎など多くの脳炎

ドライケム(富士ドライケム:富士フィルム社製)

③クレアチンキナーゼ(CK)

【臨床的意義】

CK は興奮性組織に存在し、エネルギーの産生に重要な酵素で中枢神経系にも多く存在する。サブユニットとして M(筋肉)型と B(脳)型がある。ヒトでは、CSF 中での CK 値の高値は、予後と関連が高いと報告されており、多くの検討が行われている。犬において MRI を用いた検討では、水頭症、

脊髄空洞症、環軸椎不安定症といった症例で、150 mU/mL 以上の著しい高値が認められた。したがって、犬においては、CSF 中の CK 値は圧迫性病変との関連が高い可能性が示唆されている。また、細菌性脳炎や壊死性脳炎などの脳炎時においても CK 値の軽度から中程度の高値(100～150mU/mL)が認められたことから、脳炎のマーカーとしても有用な可能性が指摘されている。しかし、犬においては、高値で予後が悪い例は無く、ヒトで報告されているような予後との関連性は不明確である。

CK-BB のアイソザイムの測定は、犬では確立していない。今後、アイソザイムパターンを測定することができたら、さらに診断価値が高まる可能性がある。

参考値	高値
0-69.7 mU/mL (ドライケム)	【著しい高値】椎間板ヘルニア、腫瘍、水頭症、環軸椎不安定症、くも膜嚢胞などの圧迫病変存在時 【高値】化膿性髄膜炎、CDV 脳炎、壊死性脳炎

ドライケム(富士ドライケム・富士フィルム社製)

④糖(GLU)

【臨床的意義】

犬の CSF 中の GLU 濃度は血糖の 60-80%であると報告されているが、CSF 中の GLU 値は血糖の変動に敏感であるため、血糖の測定結果と照らし合わせて評価する必要がある。したがって、CSF 中の GLU 値を評価する時には、血糖値も必ず測定して比較すべきである。ヒトでは、細菌性髄膜炎において著しい低値を示すと報告されており、MRI で炎症が認められた症例や、脳炎、脊髄炎、髄膜炎を疑った症例で測定されている。

犬では、急性化膿性炎症、CDV 脳脊髄炎、発作性疾患において CSF 中の GLU 値が低下すると報告されている。犬で MRI を用いた検討においても、過去の報告と同様に細菌性脳炎や CDV 脳脊髄炎で低値を認めている。犬では、ヒトでの報告と異なりウイルス性脳炎においても低値を示すことが示唆されている。また、壊死性脳炎でも低値を認めた症例もあり、犬では感染との関連性が低い可能性も指摘されている。これらをまとめると、CSF 中の GLU 値の測定は、犬においてはウイルス性脳炎(脊髄炎、髄膜炎)、細菌性脳炎(脊髄炎、髄膜炎)、壊死性脳炎などの炎症性疾患の診断に有効である。CSF 中の糖は、放置しておくくと速やかに解糖するので**速やかに測定**する。

参考値	低値
34-140.9 mg/dL (ドライケム) (50-105 mg/dL; Benjamin) 血糖の 60-80%	ウイルス性脳炎(脊髄炎、髄膜炎)、細菌性脳炎(脊髄炎、髄膜炎)、一部の壊死性脳炎

ドライケム(富士ドライケム・富士フィルム社製)

⑤クロール(Cl)

【臨床的意義】

CSF 中の Cl 濃度は、Donan の膜平衡に依存しており、血液中の約 1/3 高い値を示す。CSF 中の Cl 値は、血中の Cl 濃度に依存して増減するため、血液中の Cl 値の測定も行い相互評価することが推奨されている。CSF 中の Cl が血中よりも高値である理由は、CSF の蛋白濃度が血液よりも低いことと相関している。一般的に、炎症などの結果で CSF 中の蛋白濃度が上昇すると、CSF 中の Cl 濃度が低くなる。Cl 値は、ほとんどの髄膜炎で低値を示し、病勢の強さと一致すると考えられている。MRI を用いた犬での検討では、ほとんどの髄膜炎で 130meq/L 以下の低値を示し、その病勢の強さと一致していた。著しい低値を示した数例では数日以内に死亡したことから、脳炎の存在のみでなく予後判定のマーカーとしての計測意義が高いことが示唆されている。したがって、Cl 値の測定は、予後判定に有効であり、著しく低値の場合は予後不良の可能性がある。

参考値	低値
122.3-134.4 mEq/L (ドライケム) (131-138 mEq/L; Feldman)	脳炎、髄膜炎

ドライケム(富士ドライケム・富士フィルム社製)

⑦ カルシウム(Ca²⁺)

【臨床的意義】

血液中のCa²⁺濃度は、発作やテタニーなどに関連が深い。CSF中のCa²⁺濃度は、血液濃度と平行しており、CSFのみの測定はあまり意義がない。

参考値	低値
2.5-3.7 mEq/L (ドライケム)	甲状腺機能低下症、低栄養など

ドライケム(富士ドライケム:富士フィルム社製)

⑧ アルブミン

【臨床的意義】

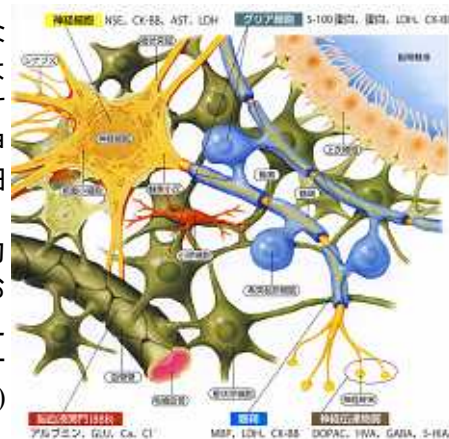
中枢神経でアルブミンは産生されないため、その上昇は脳血液関門(BBB)の破壊を示唆する。そのため、ヒトでは腫瘍などの診断に有効である。また、CSF中の抗体価が高い時には、アルブミン濃度を測定することにより、髄腔内での抗体の産生か血液からの漏出かを判断することも可能である。これらの点から、アルブミンの測定は臨床的価値が高いといえるが、残念ながら犬では標準化された検査法が確立していないため、正しい値を簡便に計測することができない。

参考値	高値
10-20 mg/dL; Sarjoner	脳腫瘍による BBB の破壊、出血、血液混入

CSFの特殊検査項目とその測定意義

神経細胞、グリア細胞、髄鞘といった細胞には、各々に特異的な酵素や神経伝達物質が含まれており、これらの細胞が損傷または破壊されると酵素や神経伝達物質が逸脱しCSF中の濃度が上昇する。したがって、医学領域ではそれぞれの細胞に特異的な酵素や神経伝達物質のCSF中での濃度の変化を計測することにより、どの細胞が損傷または破壊されているかを予測している。

医学領域では、神経細胞に特異的なマーカーとして神経特異的エノラーゼ(NSE)の測定が行われている。NSEについては、犬においても過去に報告されており、神経細胞の特異的なマーカーとなりえる可能性が指摘されている。医学領域では、グリア細胞のマーカーとしてS-100蛋白、髄鞘のマーカーとしてミエリン塩基性蛋白(MBP)も臨床応用されている。小動物臨床領域では、これらのマーカーの測定は行われていないが、ヒトの脱髄性疾患のモデルであるCDV脳炎でMBPの測定が報告されている。犬においても各種マーカーの測定意義が報告されており、動物医療にも応用されつつある。これらの測定は一般的には検査センターに依頼するが、動物での測定法は確立していないので解釈に注意する。



① 神経特異的エノラーゼ(NSE)

【臨床的意義】

NSEは解糖系の酵素であるエノラーゼのγサブユニットを持つアイソザイムで、神経組織に特異的に存在し、脳可溶性蛋白分画の約1%を占める。ヒトでは、神経細胞の損傷の程度とNSE値の相関性が研究されている。神経疾患におけるCSF中のNSE値の増加は、血管からの漏出、神経細胞からの逸脱、神経細胞での産生増加などが考えられている。犬では、原らが神経細胞の破壊のマーカーとしての有効性を報告している。犬においてMRIを用いた検討では、壊死性脳炎といった脳組織の損傷が著しい症例や進行性脊髄軟化症で高値を認めている。犬においてもNSEは神経細胞の破壊または損傷のマーカーとして極めて有効で、神経疾患のスクリーニング検査に用いることができる。一方で、炎症の種類や腫瘍との鑑別などは困難で疾患特異性は低いため、解釈には注意が必要である。

参考値	高値
3.9-21.8 ng/mL (江東微研) (<10 ng/mL: Hara <i>et al.</i>)	壊死性脳炎、進行性脊髄軟化症、細菌性脳炎、ウイルス性脳炎、脳出血、脳腫瘍

②ミエリン塩基性蛋白(MBP)

【臨床的意義】

MBP は、中枢神経の髄鞘に局在する特異的蛋白質で、正常の CSF 中ではほとんど認められない。ヒトでは、多発性硬化症、急性散在性脳脊髄炎などの脱髄性疾患で高値であることが報告されている。MBP は、髄鞘破壊とその進行度を示すマーカーとして期待されている。多発性硬化症などの脱髄性疾患のモデルとして CDV 脳炎が注目されており、CDV 脳炎と CSF 中の MBP 値との関連性について過去に多くの研究が行われている。MBP は、急性 CDV 脳炎では増加しないが、慢性 CDV 脳炎では増加するという報告がある。しかし、犬において MRI を用いた検討では、脳内出血、小脳出血、脊髄出血の症例においても高値を認めたので、犬では出血性病変が存在している時にも MBP 値が上昇する可能性が示唆されている。

参考値	高値
0-1.3 ng/mL (江東微研)	CDV 脳炎、出血性病変、重症脱髄性疾患

③S-100 蛋白

【臨床的意義】

S-100 蛋白は、主にグリア細胞に存在する蛋白で、ヒトではグリア細胞の障害時に S-100 蛋白が細胞外に漏出し CSF 中の濃度が増加すると報告されている。S-100 蛋白の半減期は 2 時間と短く、急性疾患とアストログリアの活性の指標として有効である。現在、犬では測定が行うことができないため、今後は測定系も含めてさらなる検討が必要である。

参考値	高値:ヒト
検討中	頭部外傷、虚血性脳障害、脳腫瘍、Creutzfeldt-Jakob 病

④ホモバニリン酸(HVA)

【臨床的意義】

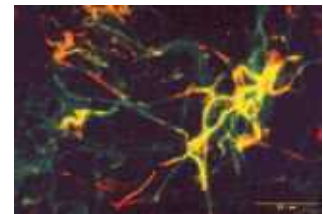
HVA は、ドパミンの最終産物であり、ヒトでは精神病患者で高値を認めると報告されている。犬においても分離不安症など精神疾患のマーカーとして注目されている。近年の検討では、分離不安の犬で高値が認められたが、臨床検体数が少ないため、今後さらなる検討が必要である。

参考値	高値
98.29 ± 12.42; Vaughn, DM.	分離不安症、精神障害?

CSF における壊死性脳炎の診断: 抗 GFAP 抗体

【臨床的意義】

近年、壊死性脳炎は、その発症機序に抗 GFAP 抗体が関与している可能性が報告されている。このような背景から、CSF 中の抗 GFAP 抗体の有無を検出することで、壊死性脳炎を診断する試みが行われている。壊死性脳炎の症例においては、CSF 中に抗 GFAP 抗体が検出されることがあり、その診断感度は 90%以上と報告されている。現在では、(株)モノリスで検査が可能となっている。



参考値	陽性
陰性	壊死性脳炎

CSF 検査での CDV 感染症の診断

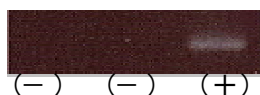
【CDV 抗体検査】

CDV 感染の診断には、血液中の CDV 抗体価の測定や抗原の検出が行われている。CDV の中枢神経への感染を証明するためには中枢神経組織内でのウイルスの検出が理想的であるが、実際の臨床現場では困難である。そのため、現実的には CSF 中の CDV 抗体値の測定を行い CDV 脳炎・脊髄炎を診断している。犬の CSF 中には、CDV 抗体は存在しないのが一般的である。したがって、CSF 中の CDV 抗体の存在をもって、CDV 脳炎・脊髄炎を強く疑うことができる。ただし、血液中の CDV 抗体価が高いときには注意が必要である。血液中の CDV 抗体価が高いときは、中枢神経に CDV の感染がなくても CSF 中に CDV 抗体が検出されてしまうことが報告されている。このような理由から、CDV 脳炎・脊髄炎を診断する時には、血液中の CDV 抗体も測定して必ず比較しなくてはならない。CSF 中の抗体価の上昇を把握するために、IgG 指数やアルブミン係数(下記)を参考にする方法もある⁶。さらに、移行抗体の残存やワクチン接種の時期を考慮に入れて総合的に判断するべきである。

$$\text{IgG 指数} = \frac{\text{CSF IgG} / \text{血清 IgG}}{\text{CSF アルブミン} / \text{血清アルブミン}} \quad \text{アルブミン係数} = \frac{\text{CSF アルブミン(mg/dL)}}{\text{血清アルブミン(g/dL)} \times 10}$$

【CDV 遺伝子検査:RT-PCR】

近年、RT-PCR 法により CDV ウイルスを検出する方法が行われている。この検査は感度が高く、診断を確定させるためには大変有効な検査であると考えられている。しかし、CSF 中の CDV 抗体価が明らかに高い値を示していた症例においても、RT-PCR 法で CSF から CDV が検出される症例は少ない。検査時期や CSF の検体量などさらに検討を行う必要がある。



国内で CDV 検査を行っている検査機関(例)

検査機関	検査項目	検体	検体量	方法
北里研究所コンパニオン アニマルラボラトリー	CDV 抗原	血清	1mL	PCR
マルピーライフテック	IgG 抗体	血清・血漿・CSF	0.1mL	IP 法
	中和抗体	血清・血漿・CSF	0.2mL	中和試験
	IgM 抗体	血清・血漿	0.1mL	ELISA
	抗原 遺伝子	血清・CSF 血清・CSF	0.2mL 0.2mL	ELISA RT-PCR
アドテック株式会社	CDV 抗原	血清・血漿	0.2mL	ELISA
	遺伝子	血清・血漿	0.2mL	RT-PCR
	IgM	血清・血漿	0.2mL	ELISA
	IgG	血清・血漿	0.2mL	ELISA
	PHA 抗体	血清・血漿	0.2mL	PHA 法
株式会社モノリス	CDV 抗原		0.3mL	—
	IgG	血清	0.3mL	高感度蛍光法
	IgM	血清	0.3mL	高感度蛍光法
IDEXX Laboratories	遺伝子	CSF	0.5mL	RT-PCR
		全血	0.2mL	RT-PCR
三菱化学メディエンス	遺伝子			PCR
	抗原			ELISA
	PHA 抗体	血清・血漿	0.2mL	PHA 法
	IgG・M	血清・血漿	0.2mL	ELISA

※各検査機関のパンフレットから抜粋

CSF 検査での FIP の診断

【FCoV 抗体検査】

猫の水頭症、発作を呈する髄膜脳炎、脊髄炎には猫伝染性腹膜炎(FIP)が関与していることが多いため、神経症状を呈する猫では FIP の診断および鑑別を行う。FIP は、猫コロナウイルス(FCoV)の感染と関連しており、FCoV が腸管内に持続感染している時に変異して FIP を引き起こすとされている。これらの神経症状が、FIP に起因するか否かを鑑別診断するのは極めて難しい。FIP で神経症状を呈する症例は、通常はドライ型であるために腹水など神経症状以外の臨床症状をほとんど認めない。したがって、抗体検査を行うことにより診断を進めていくことを推奨する。FCoV と FIP の原因となる変異した FCoV の構造は極めて類似しているため、FIP の診断を行う時には FCoV の抗体価を測定する。一般的に、FIP の猫では FCoV 抗体価が高くなる。しかし、FCoV に慢性感染していても FIP を発症していない症例の血液では、抗体価が高値となる。したがって、血液検体で抗体価が高いときには、結果の解釈に注意が必要である。

通常は、CSF 中には FCoV 抗体がほとんど存在しないため、CSF 中の FCoV 抗体価の高値は FIP による神経症状と診断する。神経症状を呈する猫で、血液中の FCoV 抗体価の上昇が認められなくても、稀に CSF 中の FCoV 抗体価のみが上昇している症例もある。したがって、FIP を疑った時には、血液のみでなく、CSF 中の FCoV 抗体価の測定を行うことを推奨する。

国内で FCoV 検査を行っている検査機関(例)

検査機関	検査項目	検体	検体量	方法
マルピーライフテック	抗体 遺伝子	血清・血漿・CSF 血漿	0.1mL 0.3mL	ELISA PCR
アドテック株式会社	抗体	血清・血漿	0.2mL	IPA 法
株式会社モノリス	抗体	血清	0.2mL	IFA 法
IDEXX Laboratories	抗体	血清・血漿	0.2mL	
三菱化学メディエンス	抗体	血清・血漿	0.2mL	IPA 法

※各検査機関のパンフレットから抜粋

CSF におけるナルコレプシーの診断

【臨床的意義】

ナルコレプシーは、雑種、ドーベルマン、ラブラドル、プードル、ビーグル、ダックスフントなどにおいて自然発症することが報告されている。犬のナルコレプシーの臨床症状は、食事や遊びの時に突然床に崩れるといった、情動性脱力発作が主体である。現在、ナルコレプシーは、視床下部のヒポクレチン/オレキシンの神経伝達障害が原因とされている。ヒトでは、孤発性ナルコレプシーの症例で CSF 中のオレキシシン濃度を測定すると低値を認める。犬でも、同様の検討が行われている。正常犬の CSF 中のオレキシシン濃度は 250~300pg/ml で、孤発性ナルコレプシーの症例では 80 pg/ml 以下であったと報告されている。ナルコレプシーでは、MRI などの画像診断のみでは診断が不可能であるため、オレキシシン濃度の測定を組み合わせることにより確定診断が可能となる。

基準値	低値
250-300 pg/ml	ナルコレプシー: < 80pg/ml

CSF 検査の疾患鑑別早見表

	色調	比	Pandy	数	Pro	Alb	Cl	LDH	AST	CK	Glu	NSE	MBP
脳炎	透明	↑	+~+++	↑↑	↑↑	↑	↓	↑↑	↑	↑	↓	↑↑	↑
脳腫瘍	透明		-~+		↑	↑↑						↑	
出血	Xa 赤色	↑	+~+++	↑	↑	↑↑						↑↑	↑
奇形	透明									↑↑		↑	

参考文献

1. Oliver, E.J., Lorenz, M.D. and Kornegay, J.N. Handbook of Veterinary Neurology, W.B Saunders Co., Philadelphia, 1997.
2. Nelson, R.W., Couto, C.G.. Small Animal Internal Medicine, Mosby, St Louis, 1998.
3. Delahunta, A.D. Veterinary Neurology and Clinical Neurology. W.B.Saunders Co., Philadelphia, 1983.
4. 金井正光, 金井泉. 臨床検査法提要. 金原出版株式会社. 東京. 1998.
5. 小野憲一郎, 太田亨二, 鈴木直義. 獣医臨床病理学. 近代出版. 東京. 1998.
6. 徳力幹彦監訳. Dr. Bagley イヌとネコの臨床神経病. ファームプレス. 東京. 2008.
7. Vandeveld, M. and Spana, J.S. Cerebrospinal fluid cytology in canine neurologic disease. *Am. J. Vet. Res.* 38(11):1827-1831.1977.
8. Abate, O., Bollo, E., Lotti, D., and Bo, S. Cytological, immunological and biochemical cerebrospinal fluid investigations in selected central nervous system disorders of dogs. *J. Vet. Med. B*, 45:73-85. 1998.
9. Summers, B.A., Whitaker, J.N. and Appel, M.J. Demyelinating canine distemper encephalitis: measurement of myelin basic protein in cerebrospinal fluid. *J. Neuroimmunol.* 14(2):227-233. 1987.
10. 杵野謙次, 廣瀬善清, 祖父江元, 加藤兼房. 神経疾患マーカーとしての髄液中 NSE と S-100 蛋白質. *最新医学*.52(2):141-147.1977.
11. 原康, 多川政弘, 藤田道郎, 織間博光. 健常ビーグル犬における神経特異的エノラーゼ (Neuron Specific Enolase: NSE) の臓器別分布と犬の神経疾患における脳脊髄液中 NSE の測定の診断意義. *獣医神経病*. 5:3-14. 1998.
12. Vandeverde, M., Kristensen, F., Kristensen, B., Steck, A.J. and Kihm, U. Immunological and pathological findings in demyelinating encephalitis associated with canine distemper virus infection. *Acta. Neuropathol*, 56(1):1-8.1982.
13. Vaughn, D.M., Coleman, E., Simpson, S.T., Whitmer, B. and Satjawatcharaphong, C. A rostrocaudal gradient for neurotransmitter metabolites and a caudorostral gradient for protein in canine cerebrospinal fluid. *Am. J. Vet. Res.* 49(12):2134-2137.1988.
14. 齊藤弥代子. 脳脊髄液検査① 採取方法. *InfoVets.* 10(11):4-8. 2007.
15. 齊藤弥代子. 脳脊髄液検査② 一般検査と解釈. *InfoVets.* 10(11):8-12. 2007.
16. 枝村一弥. 脳脊髄液検査の特殊項目と解釈. *InfoVets.* 10(11):13-21. 2007.