

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05034

研究課題名(和文) 子牛神経疾患の生前診断と予後判定を目指した神経障害マーカーの網羅的検索

研究課題名(英文) Comprehensive search for neuropathy markers for prenatal diagnosis and prognosis of neurological diseases in calves

研究代表者

猪熊 壽 (Inokuma, Hisashi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授

研究者番号：70263803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は牛神経疾患のバイオマーカーを検索し、その臨床的意義を明らかにすることを目的に実施された。各種神経疾患の脳脊髄液におけるS100B、ニューロン特異的エノラーゼおよびリン酸化ニューロフィラメント重鎖を定量化したところ、神経疾患では対照より高値を示したが、特異性と感度も低く、これらの臨床応用は難しいと考えられた。疾患特異的または神経傷害の新しいマーカーを検索した。脳脊髄液中 Neospora caninum 抗体は、子牛のネオスポラ症の特異的診断マーカーとなることがわかった。プロテオーム解析を用いた網羅的解析により、脳脊髄液中ハプトグロビンが髄膜脳炎等の診断マーカーになることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

牛をはじめとする産業動物の臨床現場ではCTやMRI等の高度医療機器の利用が困難であり、多くの神経疾患は診断がつかないまま廃用または死の転帰をたどっており、臨床獣医学上データの蓄積が進んでいない分野である。本研究の成果はそのような産業動物臨床現場において、各種神経疾患の病態を把握し、より正確な診断を提供するものであり、臨床獣医学の進展に寄与するものである。また、研究成果は疾患症例のより正確な診断と予後判定を可能にすることを通じて、獣医学のみならず畜産経営上の改善に貢献することができるという点から社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to search biomarkers for bovine neurological diseases and clarify their clinical significance. Quantification of S100B, neuron specific enolase and phosphorylated neurofilament heavy chain in serum or cerebrospinal fluid of various neurological diseases showed that neurological diseases showed higher values than controls. However, low specificity and sensitivity were also found, thus it was thought that clinical application of these markers would be difficult. New biomarkers for disease-specific or nerve injury were surveyed. Antibody against Neospora caninum in cerebrospinal fluid was found to be a specific diagnostic marker for neosporosis of calves. As a result of comprehensive search by using proteome analysis, it was suggested that haptoglobin in cerebrospinal fluid could be a diagnostic marker for meningoencephalitis or similar diseases.

研究分野：臨床獣医学

キーワード：牛 神経疾患 診断 脳脊髄液 バイオマーカー 予後判定

1. 研究開始当初の背景

(1) 子牛の神経疾患のうち、大脳皮質壊死症、脳炎・髄膜炎、低酸素脳症など一部の疾患は早期治療により治癒するが、脳腫瘍・膿瘍等予後不良な疾患も多いことから、臨床現場での迅速で正確な診断と予後判定が重要である。しかし、牛の臨床現場では CT・MRI・脳波解析等の高度医療機器は利用できず、神経学的検査、血液および血液生化学検査等の一般的な検査しか実施できないのが現状であり、神経傷害の程度と病態を正確に反映し、生前診断と予後判定に有用な方法の開発が必要である。

(2) 研究代表者は北海道十勝地方の臨床獣医師と共同で牛の難診断疾患症例の病態解析を行ってきたが、臨床的に診断困難な疾患として神経疾患が多いことがわかっている。また産業動物獣医療においては、体液中の特異タンパク質または遺伝子発現が診断と予後判定に極めて有効であることを報告してきた。このような経験から、牛の神経疾患であっても生前の病態解析と確定診断データを蓄積することに加え、体液中タンパク質と遺伝子発現を詳細に解析すれば、症例の病態を正確に反映し、生前診断と予後判定に有用な神経傷害マーカーを見いだせると考えるに至った。

2. 研究の目的

本研究では、生前診断が困難なため大学への病性鑑定依頼が多い子牛の神経疾患を対象に、その体液を材料として神経傷害マーカーの検索と臨床的意義を明らかにし、ひいては生前診断法と予後判定法を確立することが目的である。

(1) 既知神経傷害マーカーの有用性の検討：神経傷害マーカーとして医学領域でも有望視されている S100B, neuron specific enolase (NSE)、リン酸化ニューロフィラメント重鎖(pNF-H)について、牛の各種神経疾患症例への応用を試み、臨床診断における有用性を明らかにすることを目的とした。

(2) 新規神経傷害マーカーあるいは疾患特異的マーカーの検索：脳脊髄液中の新規神経傷害マーカーを網羅的に検索することにより、脳脊髄液中の疾患特異的な新規神経傷害マーカーを見いだすことを目的とした。また、疾患特異的マーカーとして抗ネオスポラ抗体の臨床的意義を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 既知神経傷害マーカーの特異性および感度の検討

既知神経傷害マーカーとして S100B、NSE および pNF-H に着目し、各種神経疾患および非神経疾患症例の脳脊髄液を用いて定量解析を行った。また、脳脊髄液の生化学性状についても検討を行った。

S100B：神経疾患 28 症例および非神経疾患 7 症例および臨床的に健康な牛 5 症例の血清と脳脊髄液を用いて S100B を定量した。方法は Kojima(2015)により実施した。

NSE：神経疾患 89 症例の血清 74 検体と脳脊髄液 89 検体、神経症状のない 46 頭の血清 36 検体と CSF45 検体、および健常子牛 9 頭から血清 9 検体と CSF9 検体について、ELISA 法 (Human Neuron Specific Enolase ELISA Kit:Immunospec、USA) により NSE 濃度を測定し比較検討した。

pNF-H：神経疾患 68 症例、神経症状のない 19 頭および健常子牛 5 頭の脳脊髄液について、ELISA 法 (Phosphorylated Neuro-filament H Human ELISA Kit : BioVendor、Czech) により pNF 濃度を測定し、比較検討した。

(2) 新規神経傷害マーカーの検索

抗ネオスポラ抗体：神経症状を呈し病理学的にネオスポラ症 (*Neospora caninum* 感染症) と確定診

断された 2 頭の血清と脳脊髄液，また，対照として神経症状を呈するがネオスポラ未検出の 73 頭（神経疾患群）、神経症状のない 53 頭（非神経疾患群）、健常子牛 20 頭（対照群）から血清 146 検体と CSF108 検体を供した。ネオスポラ表面蛋白 NcSAG1 の組換えタンパク質を抗原とした ELISA（rNcSAG1-ELISA）を用いて、血清および脳脊髄液中の *N. caninum* に対する抗体価を測定した（Hiasa 2012）。

プロテオーム解析を利用した脳脊髄液中タンパク質の網羅的解析：髄膜炎および小脳皮質変性症の脳脊髄液を対象に、二次元電気泳動法を用いたプロテオーム解析を実施し、疾患特異的タンパク質を網羅的に解析した。また特異的タンパク質スポットについては、染色したゲルを切り出し後、徳島大学へ委託し質量分析を行った。Trypsin によりタンパク質を消化した後、その溶液を nano LC-MS/MS (SCIEX 社) を用いて分析した。得られたデータについては NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) で Mascot 検索 (Matrix Science 社) を行い、タンパク質を同定した。

- a. 髄膜炎：炎症性脳疾患に罹患した牛の脳脊髄液を材料に二次元電気泳動を用いて脳脊髄液タンパク質を解析した。神経症状を主訴に搬入された牛のうち、病理学的検索により炎症性脳疾患と診断された 7 症例の生前に採取した脳脊髄液を用いた。7 症例の内訳は伝染性血栓塞栓性髄膜脳炎 2 症例、髄膜炎 2 症例および脳幹部に限局した脳炎 3 症例であった。また、健常子牛 4 頭の脳脊髄液を対照とした。脳脊髄液は二次元電気泳動後に銀染色を用いてスポットを検出し、疾患ごとにその分布を比較検討した。
- b. 小脳皮質変性症：病理学的に小脳皮質変性症と診断された牛 3 例の脳脊髄液を材料にスポット分布を健常牛と比較検討した。
- c. 神経疾患症例におけるハプトグロビンの定量：神経症状を呈した疾患牛 72 頭（神経疾患群）及び神経症状がみられなかった各種疾患牛 48 頭（非神経疾患群）の脳脊髄液を材料とした。これらの牛は全て病理解剖により確定診断されており、神経疾患内訳は感染・炎症 22，奇形・先天性 25，変性性 13，腫瘍 4，外傷・血管性 4，明瞭な形態変化のない不明疾患 4 であった。ハプトグロビンは牛ハプトグロビン ELISA 測定キット（Bovine Haptoglobin, ELISA KIT、Immunology Consultants Lab. Inc. USA）を用いて測定した。

4．研究の成果

(1) 既知神経傷害マーカーの特異性および感度の検討

S100B：牛の脳脊髄液中 S100B の臨床的意義については、既に Kojima ら (2015) が、その有用性を報告しているため、今回は血清中 S100B に限定してその臨床的意義を検討した。神経疾患群の血清 S100B 値の中央値 (0.69 ng / ml) は、臨床的に健康な牛の血清 S100B 値 (0.09 ng / ml) よりも有意に高く、血清 S100B が牛の神経疾患症例における神経損傷の指標となる可能性が示唆された。しかしながら、血清 S100B と脳脊髄液 S100B の相関は低く、臨床的応用にあたってはその原因を検討する必要があると思われた。

NSE：神経疾患群の脳脊髄 NSE 濃度中央値 1.445ng/ml は、非神経疾患群の中央値 1.329ng/ml と比べて有意差はみられなかった。ただし、脳脊髄 NSE 濃度が高値の症例は神経に組織学的変化を有する傾向があった。また、対照群の NSE 濃度からカットオフ値を定めるところ、カットオフ値よりも高値を示した検体は、神経疾患群脳脊髄液で 25%，非神経疾患群 CSF で 5% であった。牛の脳脊髄液 NSE 濃度は神経損傷の指標となりうるものの、その特異性に問題があり、臨床的応用は困難であることが考えられた。なお血清 NSE 濃度も神経疾患群 0.894ng/ml と非神経疾患群 0.965 ng/ml の間に有意差はみられなかった。血清 NSE 濃度は炎症性疾患を伴う症例で高値を示す

傾向があり、神経損傷への特異性は低かった。臨床応用にあたっては、さらに感度や特異性の向上が不可欠と考えられる。

リン酸化ニューロフィラメント重鎖(pNF-H)：神経疾患群の脳脊髄液 pNF-H 濃度中央値 2316.8 pg/ml は対照群の中央値 382.1 pg/ml に比べて有意に高値を示した。疾患別内訳は感染・炎症 7105.3 pg/ml, 奇形・先天性 569.9 pg/ml, 変性性 1366.9 pg/ml, 外傷性 10189.4 pg/ml, 代謝性 5859.0 pg/ml, 不明 9995.2 pg/ml であり、脳脊髄液 pNF-H は牛の神経細胞傷害を示唆するマーカーとして有用と考えられた。ただし、神経疾患症例であっても高値を示さないものもあり、実際の臨床応用にあたってはその感度が問題になると思われた。

(2) 新規神経傷害マーカーの検索

抗ネオスポラ抗体：ネオスポラ症子牛 2 頭の血清ネオスポラ抗体価は 0.82 と 1.70、また脳脊髄液中の抗体価は 0.87 と 0.71 であった。一方、神経疾患群、非神経疾患群および対照群の血清ネオスポラ抗体価(平均値)は、それぞれ 0.06、0.02、0.01、また脳脊髄液中のネオスポラ抗体価は 3 群いずれも 0.00 であった(図 1)。神経症状を呈する子牛の血清および脳脊髄液のネオスポラ抗体価測定はネオスポラ症臨床診断に有用と考えられた。神経疾患群と非神経疾患群の中にも比較的高い血清抗体価を有する子牛がみられたことから、移行抗体の影響を考慮する必要性が考えられた。なお、脳脊髄液中のネオスポラ抗体価が高値を示す個体はなく、ネオスポラ症診断における脳脊髄液中抗体価の特異性は高いと思われた。

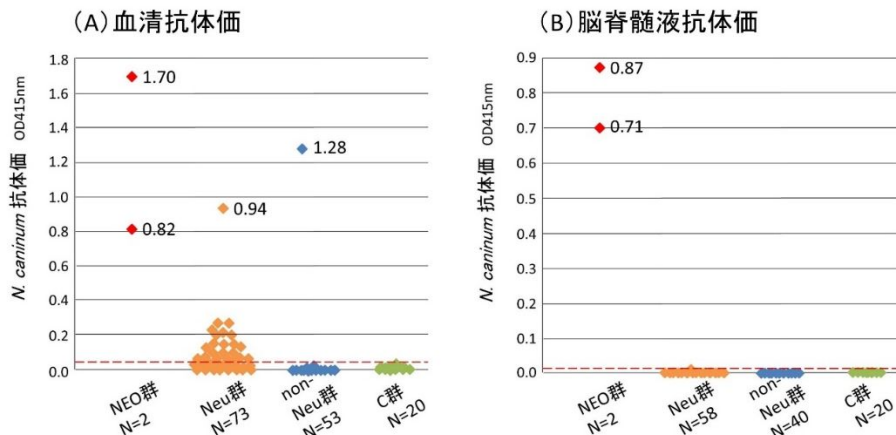


図 1 . 血清及び脳脊髄液中抗ネオスポラ抗体価 . NEO:ネオスポラ症症例、Neu 群 : ネオスポラ症以外の神経疾患群、non-Neu 群 : 非神経疾患群、C 群 : 健常対照群。

網羅的検索

- a) 髄膜炎：炎症性脳疾患牛 7 症例に共通して、pI 6-7、MW25-75 kDa の領域に健常子牛の脳脊髄液には認められない 19 カ所のスポットが認められた。また、伝染性血栓性髄膜炎では pI 5-9、MW25-75 kDa の領域、髄膜炎では pI 3-8、MW25-75 kDa の領域、脳幹部に局限した脳炎では pI 3-4 および pI 6-7、MW25-50 kDa の領域に、それぞれの疾患に特異的なスポットが複数存在した(図 2)。質量分析の結果、これらの特異的スポットのひとつはハプトグロビンであることが明らかとなった。神経疾患群のハプトグロビン濃度中央値 158.9 ng/ml は非神経疾患群中央値 82.2 ng/ml より有意に高値を示した。疾患別内訳は、感染・炎症 593.8 ng/ml, 外傷・血管性 344.8

ng/ml, 変性性 297.8 ng/ml, 腫瘍 88.1 ng/ml, 奇形先天性 67.1 ng/ml であり (図 3), 脳脊髄液ハプトグロビンは神経細胞傷害が重篤なほど高値で, 神経マーカーとして利用可能と思われた。

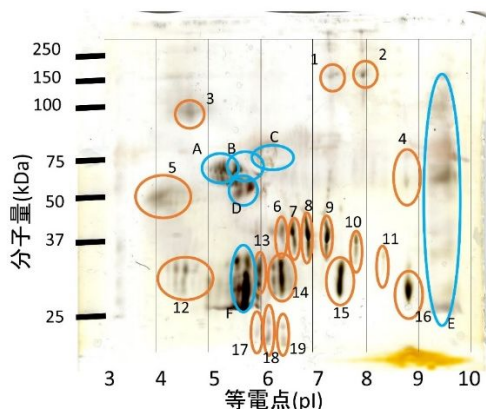


図 2 髄膜脳炎症例の脳脊髄液 2 次元電気泳動像。スポット A~F は対照群にもみられたが、スポット 1~19 は髄膜脳炎特異的に認められた。このうち、スポット 9 は質量分析の結果ハプトグロビンであることが明らかとなった。

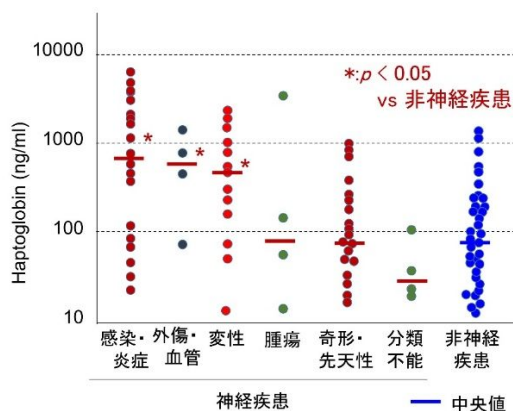


図 3 . 新規神経傷害マーカー候補としてのハプトグロビンの脳脊髄液中濃度。感染・炎症性、外傷・血管性および変性性疾患の脳脊髄液中ハプトグロビン濃度は非神経疾患に比較して有意に高値を示した。

- a) 小脳皮質変性症：病理学的に小脳皮質変性症と診断された牛 3 例の脳脊髄液を材料にスポット分布を健常牛と比較検討したところ、本症罹患牛 3 例では対照よりも多くのスポットが検出された。3 症例に共通して pI 5-6, MW 75 kDa 付近に複数のスポットが確認され、これらは疾患特異的診断マーカー候補になると思われた。今後、タンパク質の質量分析を行い、標的となるタンパク質の同定を実施する必要がある。

< 引用文献 >

- Kojima, Y. Chiba, S., Horiuchi, N., Kobayashi, Y., Inokuma, H. Evaluation of S100B in cerebrospinal fluid as a potential biomarker for neurological diseases in calves. J. Vet. Med. Sci. 77: 605-607 (2015)
- Hiasa, J., Kohara, J., Nishimura, M., Xuan, X., Tokimitsu, H. and Nishikawa, Y. ELISAs based on rNcGRA7 and rNc-SAG1 antigens as an indicator of Neospora caninum activation. Vet. Parasitol. 187: 379-385 (2012)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Koyama, K., Kangawa, A., Fukumoto, N., Watanabe, K., Horiuchi, N., Ozawa, T., Inokuma, H., Kobayashi, Y.	4. 巻 80
2. 論文標題 Histopathological study of polioencephalomalacia in neonatal calves and application of neuronal and axonal degeneration marker.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1116-1124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1292/jvms.18-0143	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Anraku, M., Tanaka, Y., Koyama, K., Watanabe, K., Horiuchi, N., Kobayashi, Y., Inokuma, H. .	4. 巻 27
2. 論文標題 Clinical case of aortic thromboembolism with hind limb paralysis in a Japanese Black calf	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Comapative Clinical patholgy	6. 最初と最後の頁 1093-1095
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1007/s00580-018-2741-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Yusuke, Toyotome Takahito, Inokuma Hisashi, Watanabe Ken-ichi, Kobayashi Yoshiyasu, Horiuchi Noriyuki	4. 巻 184
2. 論文標題 Rhino cerebral Zygomycosis Due to a Lichtheimia ramosa Infection in a Calf: Neural Spread Through the Olfactory Nerves	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mycopathologia	6. 最初と最後の頁 141 ~ 146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1007/s11046-018-0296-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 上坂花鈴、小山憲司、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽. .	4. 巻 9
2. 論文標題 脳脊髄液中Neuron-specific enolaseが高値を示した後躯麻痺黒毛和種子牛の1症例	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 産業動物臨床医学雑誌	6. 最初と最後の頁 12-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.4190/jjlac.9.12	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 安樂みずき、上坂花鈴、藤井沙希子、小山憲司、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽.	4. 巻 72
2. 論文標題 交雑種子牛に発生した小脳皮質変性症の1症例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 101-103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.12935/jvma.72.154	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 川上侑記、上坂花鈴、田中佑典、増田祥太郎、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽	4. 巻 63
2. 論文標題 旋回と斜視を呈したホルスタイン種育成牛にみられた巨大脳膿瘍	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 北海道獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 69-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 村田英花、中郡翔太郎、橋元直也、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、都築 直、猪熊 壽.	4. 巻 10
2. 論文標題 椎体周囲膿瘍による腰椎病的骨折のホルスタイン種育成牛にみられた後躯麻痺の1症例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 産業動物臨床医学雑誌	6. 最初と最後の頁 22-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.4190/jjlac.10.22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 森山 咲、千葉汐莉、上坂花鈴、串間宏充、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽.	4. 巻 10
2. 論文標題 先天性門脈体循環シャントにより肝性脳症を呈したホルスタイン種子牛の1症例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 産業動物臨床医学雑誌	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.4190/jjlac.10.73	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uesaka, K., Koyama, K., Horiuchi, N., Kobayashi, Y., Nishikawa, Y., Inokuma, H.	4. 巻 80
2. 論文標題 A clinical case of Neosporosis in a 4-week-old Holstein calf with acquired hind limbs paresis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 280-183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.17-0205.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 安樂みずき, 入江 遥, 下村圭一, 小山憲司, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 山田一孝, 猪熊 壽	4. 巻 70
2. 論文標題 重複脊髄症により後肢麻痺を呈したホルスタイン種子牛の1症例	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 獣医畜産新報	6. 最初と最後の頁 441-444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 上坂花鈴, 猪熊 壽, 堀内雅之, 古林与志安, 西川義文, 古岡秀文	4. 巻 16
2. 論文標題 ネオスポラ症子牛の血清及び脳脊髄液中に検出された抗Neospora caninum抗体	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本獣医寄生虫学会誌	6. 最初と最後の頁 18-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 猪熊 壽, 堀内雅之, 西川義文, 古林与志安	4. 巻 35(10)
2. 論文標題 ホルスタイン種子牛のネオスポラ症の1症例	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 臨床獣医	6. 最初と最後の頁 60-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 田仲真之, 滄木孝弘, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽.	4. 巻 61
2. 論文標題 後躯の動揺を主症状とした重複脊髄症のホルスタイン種肥育成牛の1症例	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 北海道獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 491-493
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 安樂みずき, 入江 遥, 下タ村圭一, 小山憲司, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 山田一孝, 猪熊 壽	4. 巻 70
2. 論文標題 重複脊髄症により後躯麻痺を呈したホルスタイン種子牛の1症例	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 獣医畜産新報	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 猪熊 壽, 吉本 薫, 田川道人, 古林与志安	4. 巻 60
2. 論文標題 ホルスタイン種育成牛に発生した脳膿瘍の1症例	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 北海道獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 576-579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 河野友美, 菊地智景, 鬼頭宗寛, 堀内雅之, 古林与志安, 山田一孝, 猪熊 壽	4. 巻 60
2. 論文標題 胸椎椎体膿瘍により後躯麻痺を呈したホルスタイン種子牛の1症例	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 北海道獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 525-528
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Abdelbaky, H. H., Nishimura, M., Shimoda, N., Hiasa, J., Fereig, R. M., Tokimitsu, H., Inokuma, H., Nishikawa, Y.	4. 巻 75
2. 論文標題 Evaluation of Neospora caninum serodiagnostic antigens for bovine neosporosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102045
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.parint.2019.102045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koyama, K., Fujita, R., Maezawa, M., Fukumoto, N., Horiuchi, N., Inokuma, H., Kobayashi, K.	4. 巻 78
2. 論文標題 Periventricular leukomalacia in a neonatal calf.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 The Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1175-1177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1292/jvms.16-0034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 川上侑記, 上坂花鈴, 轉馬 創, 長濱光朗, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽	4. 巻 64
2. 論文標題 脳脊髄液中神経特異的エノラーゼおよびリン酸化ニューロフィラメント重鎖濃度が高値を示した大脳皮質壊死症育成牛の1症例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 北海道獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 大久保咲希, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽	4. 巻 9
2. 論文標題 血栓塞栓症により後駆麻痺を呈した子牛4症例の臨床検査所見	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 家畜感染症学会誌	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上坂花鈴、中郡翔太郎、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽.
2. 発表標題 炎症性脳疾患牛における脳脊髄液タンパク質の二次元電気泳動解析
3. 学会等名 第161日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森山 咲、千葉汐莉、串間宏充、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽.
2. 発表標題 先天性門脈体循環シャントにより肝性脳症を呈したホルスタイン種子牛の1症例
3. 学会等名 平成30年度北海道地区三学会（産業動物獣医学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川上侑記、上坂花鈴、田中佑典、増田祥太郎、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽.
2. 発表標題 旋回と斜視を呈したホルスタイン種育成牛にみられた巨大脳膿瘍の1症例
3. 学会等名 平成30年度北海道地区三学会（産業動物獣医学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安樂みずき、田中佑典、片山享輔、小山憲司、渡邊謙一、堀内雅之、古林与志安、猪熊 壽
2. 発表標題 大動脈血栓塞栓症により後躯麻痺を呈した黒毛和種子牛の1症例
3. 学会等名 平成29年度北海道地区三学会（産業動物獣医学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上坂花鈴, 森川真子, 入江 遥, 辻村歩美, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 てんかん様発作を呈したホルスタイン種子牛にみられた脳炎の1症例
3. 学会等名 平成29年度北海道地区三学会 (産業動物獣医学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小山憲司, 寒川彰久, 福本奈津子, 渡邊謙一, 堀内雅之, 猪熊 壽, 古林与志安
2. 発表標題 新生子仮死の病態を有する子牛の脳病変とその同定方法に関する検討
3. 学会等名 第160日本獣医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤井沙希子, 小山憲司, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古岡秀文, 猪熊 壽, 古林与志安
2. 発表標題 子牛の小脳皮質変性症に関する免疫組織学的検討
3. 学会等名 第160日本獣医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上坂花鈴, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛の血清および脳脊髄液中のNeuron-specific enolaseの臨床的意義の検討
3. 学会等名 第160日本獣医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安樂みずき, 山崎康市, 田中佑典, 堀内雅之, 渡邊謙一, 古林与志安, 猪熊 壽.
2. 発表標題 髄膜脳脊髄炎のホルスタイン種子牛由来脳脊髄液の生化学的解析
3. 学会等名 第48回日本家畜臨床学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 猪熊 壽, 安樂みずき, 上坂花鈴, 藤井沙希子, 小山憲司, 古林与志安
2. 発表標題 交雑種子牛に発生した小脳皮質変性症の1症例
3. 学会等名 日本産業動物獣医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上坂花鈴, 西川義文, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛の血清および脳脊髄液中ネオスポラ抗体の診断的意義の検討
3. 学会等名 第159日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 上坂花鈴, 小山憲司, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 脳脊髄液中Neuron specific enolaseが高値を示した後躯麻痺黒毛和種子牛の1症例
3. 学会等名 第47回日本家畜臨床学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 猪熊 壽, 川上侑記, 上坂花鈴, 日浅 淳, 中郡翔太郎, 古林与志安
2. 発表標題 ホルスタイン種子牛に発生した小脳皮質変性症の1症例
3. 学会等名 令和元年度日本獣医師会学会年次大会・産業動物獣医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上坂花鈴, 安樂みずき, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛脳脊髄液ハプトグロビンの神経疾患診断マーカーとしての有用性評価
3. 学会等名 第162日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川上侑記, 上坂花鈴, 渡邊謙一, 堀内雅之, 松本高太郎, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛の脳脊髄液中リン酸化ニューロフィラメント重鎖濃度の臨床的意義の検討
3. 学会等名 第162日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上坂花鈴, 渡邊謙一, 堀内雅之, 松本高太郎, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 小脳皮質変性症罹患牛由来脳脊髄液タンパク質の二次元電気泳動解析
3. 学会等名 第162日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川上侑記, 轉馬 創, 吉田希央, 長濱光朗, 青木亮太, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 大脳皮質壊死症育成牛2症例の脳脊髄液中リン酸化ニューロフィラメント重鎖濃度の測定
3. 学会等名 令和元年度十勝獣医師会獣医学術研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村田芙花, 中郡翔太郎, 橋元直也, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 都築 直・猪熊 壽
2. 発表標題 腰部椎体膿瘍によって後肢麻痺を呈したホルスタイン種育成牛の1症例
3. 学会等名 平成30年度北海道地区三学会・産業動物獣医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大久保咲希, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛の後肢麻痺の原因としての血栓塞栓症とその臨床病理学的特徴
3. 学会等名 第161日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秋山奈緒, 上坂花鈴, 田中佑典, 日浅 淳, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 黒毛和種子牛にみられた髄芽腫の1症例
3. 学会等名 平成30年度十勝獣医師会獣医学術研究発表会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 コアカリ獣医内科学（産業動物臨床学）編集委員会	4. 発行年 2016年
2. 出版社 文永堂出版	5. 総ページ数 176
3. 書名 コアカリ 産業動物臨床学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	古林 与志安 (Kobayashi Yoshiyasu) (20301971)	帯広畜産大学・畜産学部・教授 (10105)	
研究協力者	堀内 雅之 (Horiuchi Noriyuki) (90635202)	帯広畜産大学・畜産学部・助教 (10105)	
研究協力者	渡邊 謙一 (Watanabe Ken-ichi) (10761702)	帯広畜産大学・畜産学部・助教 (10105)	