

小型ピロプラズマ人工感染牛における臨床および血液性状 の変化

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	高橋, 清志 安田, 純夫 村上, 大蔵
巻/号	26巻6号
掲載ページ	p. 279-284
発行年月	1973年6月

小型ピロプラズマ人工感染牛における臨床および血液性状の変化

高橋清志* 安田純夫** 村上大蔵***

(昭和 47 年 7 月 5 日受付)

Clinical and Hematological Changes in Cattle Experimentally Infected with Small-Sized Piroplasma

KIYOSHI TAKAHASHI, *Y. YASUDA and **D. MURAKAMI

(Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido, *Kitasato University and **Iwate University)

SUMMARY

Two male calves were inoculated subcutaneously with 10 ml of blood infected with small-sized piroplasma and examined for clinical and hematological changes for 129 days after inoculation. As a result, there was an almost parallel relationship between the severity of anemia and the number of parasitizing protozoa, both of which reached a maximum level 50~70 days after infection. The anemia was accompanied by hyperchromic macrocythemia. The bone marrow began to show an enhanced function

of producing cells of the erythrocytic series in the early stage of anemia. The enhanced function persisted in the convalescent stage after the erythrocyte count returned to normal. The ratio of myeloid to erythroid cells reflected these changes well. Erythrocytes were reduced in resistance and serum lipid phosphorus decreased in amount. These changes seemed to be related to the mechanism of hemolysis. A marked increase in serum gamma globulin was observed in the recovery stage of infection.

ピロプラズマ (以下ピロと略称) 症における血液学的研究は形態学および生化学的に多くの報告がある。しかしピロによる貧血の分類および溶血機序などに関して不明の点が少なくない。また、血液学的検索は末梢血液のみが対象とされ、骨髓液に関する研究はきわめて少ない。

これらの点を明らかにする目的で著者らはピロ人工感染牛について臨床症状、血液および骨髓液の変化を継続的に観察した。

実験動物および実験方法

供試牛はホルスタイン種の雄子牛 2 頭で、No. 1 は 4 カ月齢、No. 5 は 5 カ月齢のものであり、去勢手術を施した後ピロを人工感染させ昭和 41 年 1 月 7 日から 5 月 16 日までの 129 日間実験に供した。人工感染はピロ寄生血液 (小型ピロ卍, 大型ピロ-) 10 ml を皮下接種し、臨床症状、原虫、血液および骨髓液の変化を観察した。

血液、骨髓液および原虫の検査は以下の方法で実施した。赤血球数および白血球数: THOMA ZEISS 法, Ht 値: WINUROBE 法, Hb 量: cyanmet hemoglobin 法, 赤血球抵抗: 低張食塩液法, 血液および骨髓液塗抹標本の染色: ギムザ染色, 血清総蛋白質量: 日立屈折計, 血清蛋白質の分画: セルローズアセテート膜による電気泳動法, 血清無機およびリポイド燐: Aminonaphthsl Sulfo-

nic Acib 法。

実験成績

1. 原虫の消長 人工感染に使用した感染牛血液に大型ピロの寄生は確認されなかった。また、人工感染された 2 頭にも大型ピロは骨髓液および末梢血のいずれへも出現しなかった。末梢血中の小型ピロの消長は図 1 および図 2 に示した。小型ピロの末梢血中への出現は No. 1 で接種後 14 日、No. 2 では 13 日目であり、以後漸増した。最高寄生数は No. 1 で 59 日目の 54 個 (赤血球 1,000 個に寄生する原虫数)、No. 2 で 52 日目の 56 個であった。小型ピロの型は原虫が流血中に多数出現している時期にコマ状ないし柳葉状のもの比率が高く、寄生数が減少するにつれて楕円形、球形のもの比率が増加した。図 3 は骨髓液と末梢血における小型ピロ寄生数の比較を示したものである。両者における原虫の出現時期および数に差はなかった。

2. 臨床所見 体温は図 1, 2 に示すように原虫の増殖により貧血が認められたにもかかわらず大きな変化はなかった。脈拍数は全期間を通じて 60~70 であり、呼吸数も 10~20 で著変はなかった。可視粘膜は図 1, 2 に示すとおり、赤血球の減少に平行して貧血所見が出現し、それよりやや遅れて黄疸が出現した。黄疸は赤血球数が増加の傾向にある時点においてもすみやかに消退しなかった。その他貧血時には被毛粗剛、元気食欲の減退、鼻鏡乾燥、眼瞼、第 1 胃運動の減退、軽度の心音分裂、不整脈および頸静脈搏動の亢進が認められたが、臨

* 酪農学園大学 (北海道江別市西野幌 582)

** 北里大学畜産学部 (青森県十和田市大字三本木)

*** 岩手大学農学部 (盛岡市上田 3-18-8)

小型ピロプラズマ人工感染牛における臨床および血液性状の変化

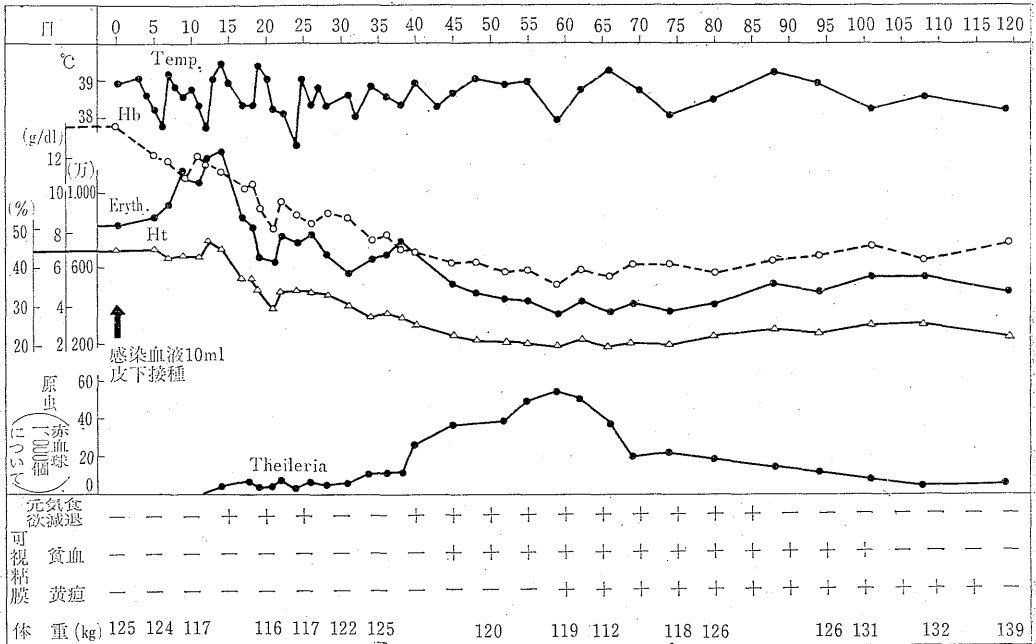


図1 ピロプラズマ人工感染牛の所見 (No.1)

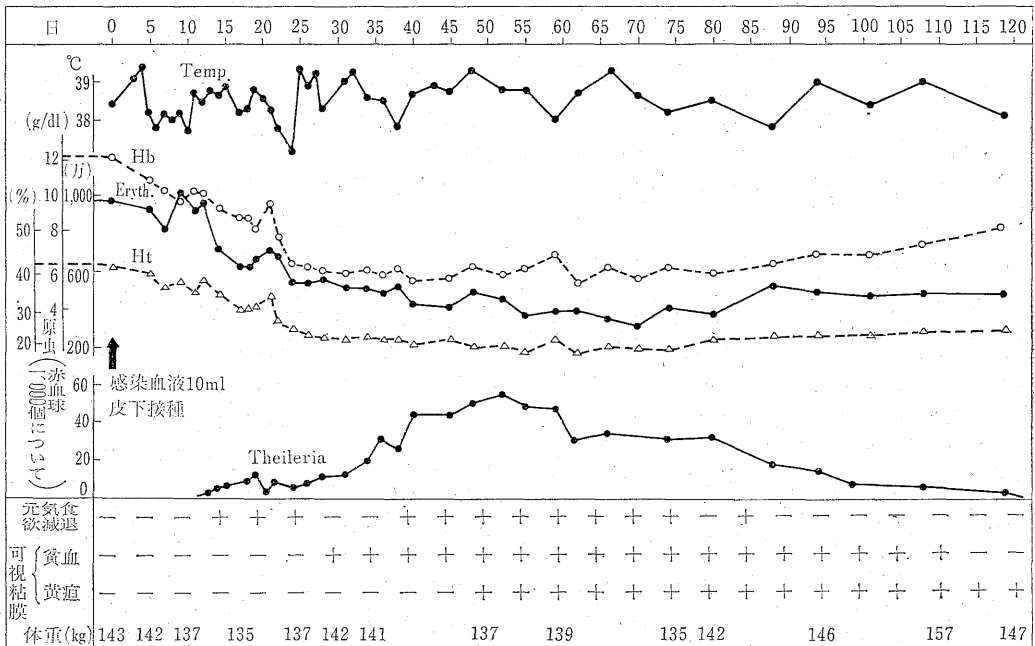


図2 ピロプラズマ人工感染牛の所見 (No.2)

床的に体表リンパ節の変化はなかった。体重は原虫増数時に増加が停止し、減数時にわずかながら増加の傾向が認められた。しかしこれは子牛の正常な発育に比較すればはるかに劣っていた。

3. 血液および骨髓液の変化

a) 赤血球系の変化 赤血球数の変動は図1および図2に示すように、原虫の末梢血中への出現と相前後して赤血球数の減少が始まり、その後原虫の増加に伴い減少

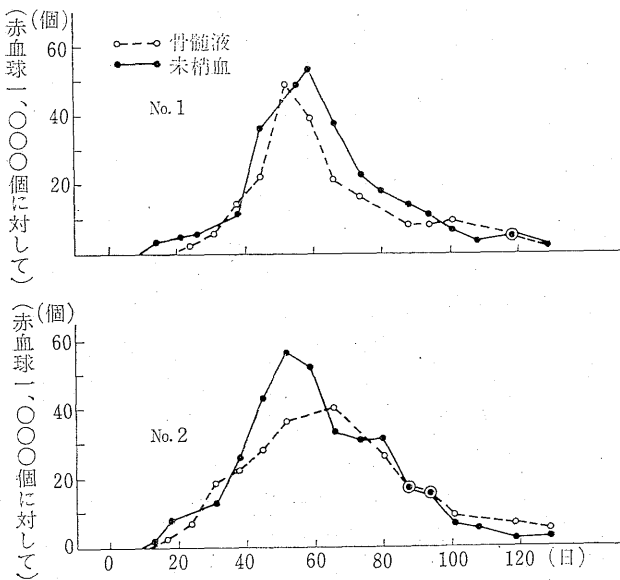


図3 ピロプラズマ人工感染牛の骨髓液と末梢血液中の原虫寄生数の比較

し、最低は No.1 で 59 日目の 351 万, No.2 は 70 日目の 303 万であり、以後原虫の減少に伴って増加した。

図4は No.1 および2の PRICE-JONES 曲線を示したものである。貧血時にこの曲線は右方に偏移し、しかも貧血が高度になるほどその程度は強くなった。

貧血時において No.1 および2の末梢血には赤血球大小不同症のみを認め、他の幼弱赤血球は認められなかった。これに反して骨髓液では貧血に伴い、多染性赤血球、有核赤血球および各種赤芽球が増数し、とくに正染性赤芽球が増数した。このような骨髓液の変化は赤血球数が正常値近くまで回復した時点においても改善されなかった。写真は貧血の回復期の骨髓所見を示したものである。

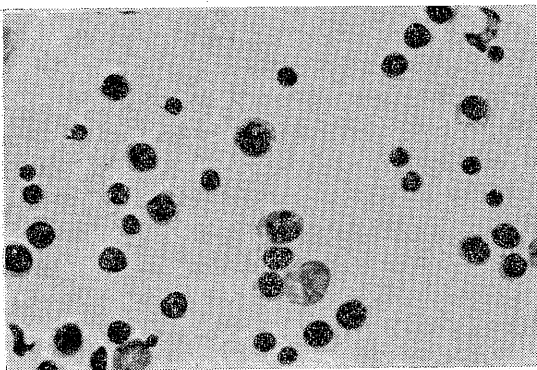


写真1

Hb 量および Ht 値の変化は図1および図2に示したように基本的には赤血球数と同様の変化であった。Hb 量, Ht 値および赤血球相互の関係を検討するために赤血球平均恒数を求め図5に示した。No.1 および2とも貧血時、平均赤血球色素量 (MCH) と平均赤血球容積 (MCV) は上昇した。しかし平均赤血球色素濃度は全期間を通じて大きな変化は認められなかった。

赤血球抵抗は図6に示すように原虫の増加に伴い低下した。No.1 および2とも全期間を通じて、肉眼的に血管内容血による色素血症は観察されなかった。

b) 白血球系の変化 白血球総数の変化は図7に示すように、原虫が感染してから末梢血中へ出現するまでの期間に軽度の減少があり、ついで原虫の増殖初期やや増加したが、それ以後は一定の傾向を認めなかった。白血球百分比では白血球総数の増加時に好中球が増加した以外大きな変化は認められなかった。骨髓液における白血球系細胞の変化は赤血球系に見られるような著明なものではなく、感染初期顆粒球系の細胞が軽度に増数したにすぎなかった。

c) 骨髓液の有核赤血球および赤芽球に対する顆粒球の比率 (M : E 比) 図8に示すように骨髓における顆粒球系細胞は感染初期に増加し、骨髓の赤血球系有核細胞は原虫の増加に伴う貧血時に増数した。その結果 M : E

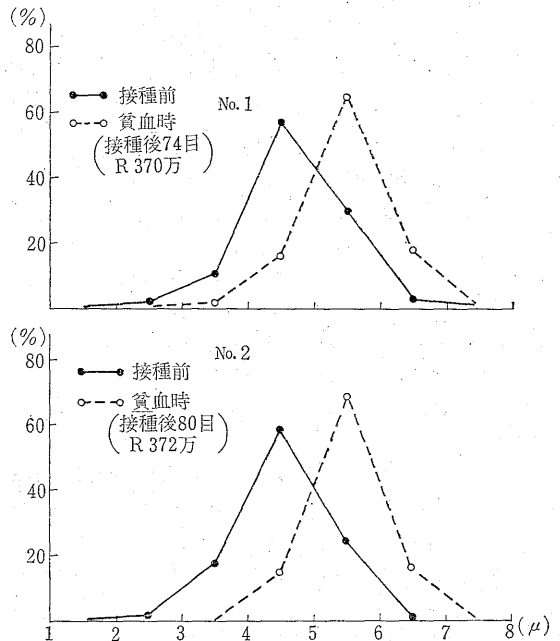


図4 ピロプラズマ人工感染牛の PRICE-JONES 曲線

小型ピロプラズマ人工感染牛における臨床および血液性状の変化

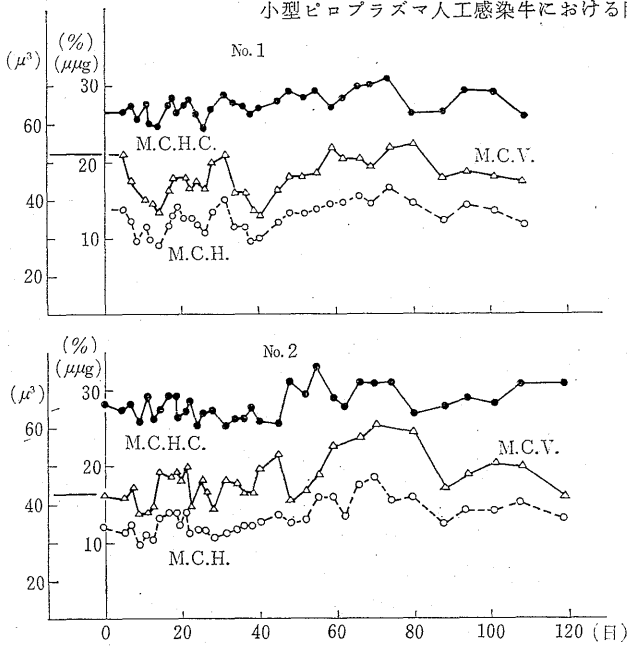


図5 ピロプラズマ人工感染牛の赤血球平均恒数の変動

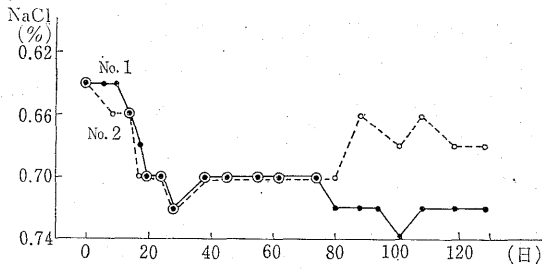


図6 ピロプラズマ人工感染牛の赤血球抵抗 (最小抵抗) の変動

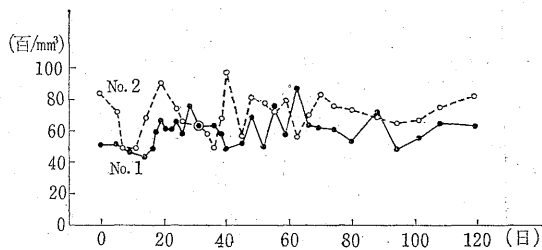


図7 ピロプラズマ人工感染牛の白血球総数の変動
比は感染初期上昇し、感染30日以後著明に低下した。

4. 血清蛋白質および血清リポイド燐の変化

血清蛋白質の変化は図9に示すとおりである。血清総蛋白質量は感染前 No.1 および2とも 6.0 g/dl であっ

たが、感染約40日後から増加しはじめ、100日前後で最高に達し、以後減少した。アルブミン量は原虫の寄生率の高かった40~80日目までの期間軽度の減少が認められた。α、β-グロブリン量は全期間を通じて著変はなかった。γ-グロブリン量は図9において斜線で示すように、感染後40日目まで変化はなかったが、それ以後は急激に増量しほぼ100日までこの傾向が続き、100日以後はわずかではあるが減少した。

血清リポイド燐の変動は図10に示すように原虫の消長と関連性が認められた。すなわち、リポイド燐は原虫の増加に伴って低下し、原虫が減少すると回復した。なお、血清無機燐の変動には一定の傾向を認めなかった。

考 察

石原ら⁴⁾は小型ピロの型をOからXの11の型に分類し、O、I型からX型へと変化してゆくと推察した。そして原虫の増数時にはI~III型(コマ状、柳葉状)が多く、原虫の寄生数が少ない時期に

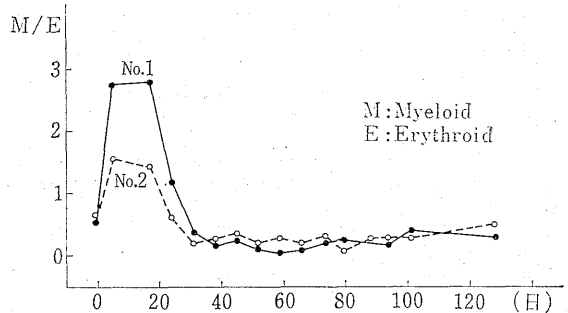


図8 ピロプラズマ人工感染牛のM:E比の変動

はIV~VI型(楕円形、球形)が多くなると述べている。本試験においても同様の傾向があり、小型ピロの牛体内における発育環と型との関係については今後さらに検討する必要がある。トリパノゾーマなどでは末梢血より骨髓および脾臓からの検出率が高いといわれている¹¹⁾。しかしながら小型ピロにおいて骨髓液中の原虫寄生率および型は末梢血液と比較して大きな差がなかった。したがって原虫検出を目的とした骨髓穿刺は無意味と考えられる。

本実験において中等度の貧血が認められたにもかかわらず、体温、脈拍および呼吸数などの臨床所見は変化しなかった。従来の報告¹⁰⁾においても、放牧時、高度原虫寄生にもかかわらず臨床的に異常を認めないばかりか発育も障害されないことが報告されている。これは、本病の

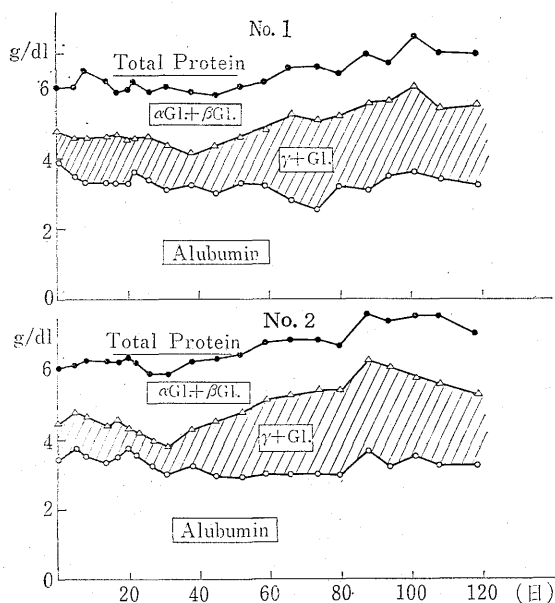


図9 ピロプラズマ人工感染牛の血清蛋白質の変動

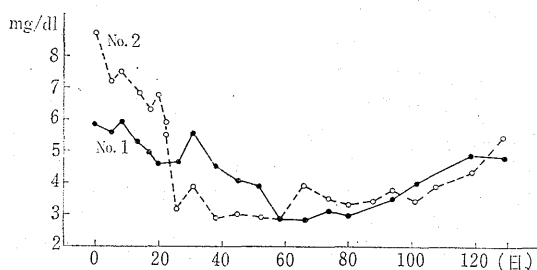


図10 ピロプラズマ人工感染牛の血清リポイド
 燐の変動

大きな特徴であり、発症にはさらにいくつかの因子が加わる必要がある。

しかし発症に関係する諸因子の解明は残された問題であり、今後は寄生虫側（感染数および牛体内での増殖）および宿主側（抗体の産生、各種ストレスとの関係）の両者について検討し、発病機序を明らかにする必要がある。

小型ピロによる貧血は溶血性貧血と考えられているがその詳細は明らかでない。小型ピロの貧血において PRICE-JONES 曲線が右偏することは石井ら⁵⁾、三宅ら⁸⁾によって報告され、著者らもこれらと一致する所見を得た。大部分の溶血性貧血は分類上大赤血球性、高色素性貧血であることが報告されている²⁾。吉川ら¹⁶⁾は栄養障害研究の一環として265頭の牛について検討し、赤血球数が500万前後を境にして、それ以下に減少すると平均赤血球容積、平均赤血球色素量および赤血球平均直径が著し

く増加し、貧血状態のもの多くは大赤血球性かつ高色素性であると報告している。しかし小型ピロによる貧血を赤血球の形態をもとに分類した報告は見当たらない。これを明確にする目的で、貧血に伴う赤血球の直径および赤血球平均恒数について検討した結果、PRICE-JONES 曲線の右偏、平均赤血球色素量および平均赤血球容積の増加が認められ、牛の小型ピロによる貧血は、その分類上大赤血球性、高色素性貧血であると考えられる。

溶血性貧血には純粋に溶血の亢進によってのみ起こる溶血性貧血と、溶血の亢進と骨髓における造血能の低下との組み合わせによって起こる貧血とが考えられるが、小型ピロに伴う貧血は骨髓液の所見より前者であると考えられる。貧血時骨髓液には赤芽球、有核赤血球および多染性赤血球が著しく増加した。骨髓液に幼稚細胞が増加してもただちに骨髓機能亢進とは断定できず、その判定は末梢に動員可能な細胞が多いかどうかによるという²⁾。著者らの観察した myelogram において、末梢血に見られるような有核赤血球が多数出現したことから骨髓の機能亢進像であると考えられる。また、骨髓液における顆粒球系の細胞と赤血球系の有核細胞の比を求めることによって感染初期における白血球系細胞の増数、貧血時における赤芽球の増数を明確に表現することができた。したがってM:E比は小型ピロの代償性貧血に対する診断的意義が大であると考えられる。

貧血に伴う赤血球抵抗と血清リポイド燐の変化には関連性があるように思われる。平賀ら³⁾は乳牛の産褥性血色素尿（血）症において著明な赤血球抵抗の減弱および血清リポイド燐の低下を報じている。しかし小型ピロに起因する溶血機序は現在のところ明らかにされていない。よって本実験によって得られた血清リポイド燐濃度の低下と赤血球抵抗の減弱とを関係づけて若干の考察を試みたい。

貧血時には赤血球に対する機能的な要求が高まる。このような赤血球の生理的活性時には赤血球のリポイド燐は増加し、低下時には減少するという¹⁷⁾。したがって小型ピロ症においても機能的な面から考えるならば貧血時にリポイド燐は増加するはずであるが反対に減少の所見を得た。このことは原虫の持つ代謝と関連性があるものと考えられる。もちろんこの実験においては直接赤血球のリポイド燐は測定しておらず、その変化は論じられないが DIMOPOULLOS ら¹⁾は牛の血清燐脂質濃度と赤血球基質の燐脂質量との間に明らかな相関を認めている。いっぽう本実験で観察された赤血球抵抗の減弱と、生体内での溶血が直接結びつかないのは血色素血症が観察されなかったことから明らかである。小型ピロの牛体内での代謝に関する研究は全く見当たらないが DIMOPOULLOS ら¹⁾は *Anaplasma marginale* の増殖には赤血球内に存在する遊離した細胞内物質を利用し、これを消費し尽した時赤

血球膜の磷脂質を利用すると述べている。MANNら⁹⁾は *Anaplasma* の貧血の原因として赤血球に対する自己抗体の産生を指摘している。この報告によると感染によって物理化学的に変性された赤血球が抗原となり自己抗体が産生されると述べている。著者らの成績および以上の文献から小型ピロの溶血機序も *Anaplasma* と類似しており、まず、小型ピロに感染した赤血球は物理化学的に変性し、網内系に感受性を有するようになり喰食されるか、あるいは変性した赤血球に対する自己抗体が産生され、感染赤血球はその抗体の感作を受け、網内系に喰食されるものと推測される。

ピロ症における血清蛋白質の変化について POLSONら¹²⁾は *Babesia canis* に感染した犬で γ -グロブリンの増加を観察し、百瀬ら⁹⁾は大型ピロと小型ピロの混合感染牛で血清総蛋白質および γ -グロブリンの増加ならびにアルブミンと α -グロブリンの減少を報じている。照井ら¹⁴⁾もピロ感染牛で同様の所見を報告し、著者らの成績も同一結果であった。血清蛋白質の変化で注目すべきは γ -グロブリンの増加である。 γ -グロブリン増加の原因は主として肝疾患および感染症といわれている^{7,13)}。安田ら¹⁵⁾は小型ピロ症において γ -グロブリンの増加を観察するとともに特異的な抗体の存在を証明している。小型ピロ感染による γ -グロブリンの増加は、小型ピロに起因する免疫グロブリンの増加も含まれていると考えられる。

ま と め

雄子牛 2 頭に小型ピロプラズマ感染血液 10 ml を皮下接種し、接種後 129 日間臨床および血液性状の変化について観察した。

その結果原虫の寄生数と貧血はおおむね平行し、感染後 50~70 日の期間に両者とも最高に達した。小型ピロプラズマに起因する貧血は形態学的に高色素性大赤血球性貧血であった。骨髓では貧血の早期から赤血球系の生成機能が亢進し、回復期においては赤血球数が正常値に

回復したにもかかわらず機能亢進が持続していた。M (myeloid) : E (erythroid) 比はこれらの変化をよく反映していた。

赤血球抵抗の減弱と血清リポイド燐の減少が観察された。これらの所見は溶血の機序に関係するものと考えられた。感染の回復期に血清 γ -グロブリンの著明な増加が認められた。

終わりにのぞみ、この試験に有益な助言を賜った岩手大学三浦定夫教授、北里大学川村清市講師に感謝する。本論文の要旨は第 62 回日本獣医学会において講演した。

文 献

1) DIMOPOULLOS, G. T. & DAVID, M. B.: *Am. J. Vet. Res.*, 23, 813~820 (1962). 2) 長谷川弥人, 日野志郎: 臨床血液学, 東京, 医学書院 (1966). 3) 平賀即稔: 栄養生理研究会報告, 9, 63~90 (1965). 4) 石原忠雄, 石井 進: 家畜衛生試験場報告, 34, 121~134 (1958). 5) 石井 進, 石原忠雄: 日獣協会誌, 1, 1~5 (1943). 6) MANN, D.K. & RISTIC, M.: *Am. J. Vet. Res.*, 24, 703~708 (1963). 7) 梶宮富一, 富永喜久男: 内科, 15, 1075~1086 (1965). 8) 三宅 勝, 喜多貞雄, 岡崎 丞: 獣畜新報, 103, 55~57 (1953). 9) 百瀬澄雄, 牛見忠蔵, 石原忠雄: 日獣学誌 27, 484 (1965). 10) 農林省奥羽種畜牧場: 日獣会誌, 5, 184~186 (1960). 11) 板垣四郎: 家畜寄生虫病診療学, 東京, 文永堂 (1960). 12) POLSON, A. & MALHELBE, W.D.: *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 25, 13 (1952). 13) 高杉年雄: 内科, 15, 1031~1037 (1965). 14) 照井信一, 村上大蔵, 菅野 弘, 西川春雄, 小笠原成郎: 獣畜新報, 343, 8~13 (1963). 15) YASUDA, Y., MURAKAMI, D., KAWAMURA, S., YASUDA, Y.: *Jour. Fac. Agr. Iwate Univ.*, 7, 291~298 (1966). 16) 吉川平吉, 鷗計計夫, 宮田万司, 鈴木徳衛, 安原敏治, 渡辺 惇: 日獣会誌, 14, 162~165 (1961). 17) WILLIAMS, H.H., ERICKSON, B.N., MACY, I.G.: *Quart. Rev. Biol.*, 16, 80~89 (1941).

家畜衛生指導事業研修用テキスト最新版案内				日本獣医師会	
類 別	類別番号	表 題 名	執 筆 名	定 価	
一般衛生管理	I—1—5	家畜の経済衛生対策の進め方	林 茂昭 (畜産局衛生課)	150 円	
	II—4—4	動物用医薬品の一般知識	中曾博之 (畜産局衛生課)	150 円	
牛	II—5—2	肉用牛の繁殖衛生	山内 亮 (家畜衛試)	200 円	
一般衛生管理	II—7—7	畜産物生産段階におけるサルモネラ症の一般知識と対策	佐藤静夫 橋本和典 (家畜衛試)	250 円	
〃	II—8—8	環境汚染と畜産	米村寿男 (家畜衛試)	200 円	
〃	II—8—9	家畜ふん尿処理施設とその実際 ——豚ふん尿処理施設——	松下維浄 (中 畜)	150 円	
鶏	III—3—5	マレック病とその予防対策	椿原彦吉 (家畜衛試鶏病) 吉田 勲 (支場)	200 円	

[送料: 1 部 55 円 (畜産物生産段階におけるサルモネラ症の一般知識と対策は 1 部 70 円)
ただし 30 部以上一括送付の場合は送料本会負担]