

## 実験的犬バベシア感染犬の血液細胞学的研究

河野猪三郎・三森龍之\*・坂本 司・安田宣絵

(家畜病理学研究室)

昭和54年8月18日 受理

### Hematological Studies on the Dogs Experimentally Infected with *Babesia gibsoni*

Isaburo KONO, Tatsuyuki MIMORI, Tsukasa SAKAMOTO  
and Nobuhiro YASUDA

(Laboratory of Veterinary Pathology)

#### 緒 言

近年わが国の犬族の間で、住血原虫である *Babesia gibsoni* によって引き起こされる犬バベシア症の流行が各地でみられている。特に原虫の媒介動物であるフタトゲチマダニ (*Haemaphysalis longicornis*) との接觸頻度が高い獣犬では重要な疾病の一つである。本病の主な症状は重度な貧血と脾腫であり、すでに多くの実験例および自然発症例について報告がなされている<sup>3,6,9)</sup>。しかし貧血の機序については未解決な点が多く残されている。そこで著者等は貧血機序の解明の一環として実験感染犬において、赤血球の動向、原虫数の変化を観察し、さらに血中に出現する担鉄細胞に着目し、貧血と担鉄細胞出現との関連を検討した。血中担鉄細胞の研究は石井<sup>4)</sup>が馬伝染性貧血の診断法として紹介して以来、馬における担鉄細胞に関する多数の研究がなされてきた<sup>1,8,18)</sup>。一方牛ピロプラズマ症における担鉄細胞の役割については Sonoda の牛タイレリア症の末梢血液における報告<sup>12)</sup>があるに過ぎない。犬バベシア病においては担鉄細胞についての報告はなされていない。

今回、実験的に *Babesia gibsoni* を犬に感染させ経日的に血管別血液中の担鉄細胞数及び細胞の種類を調べるとともに臓器内の担鉄細胞についても検査したところ興味ある所見が得られたので、これらの成績を報告する。

#### 材料と方法

実験犬として、月齢7~8カ月の雑犬12頭（雄4頭、

雌8頭）を用いた。これらは隔離状態で飼育し、かつ実験前に腸管内寄生虫の駆虫を行なった。12頭のうち9頭に原虫接種を行ない残り3頭を対照群とした。

原虫は自然発症したビーグル犬より分離したもので、摘脾犬で増殖させたものを用いた。感染は原虫3×10<sup>8</sup>を含むヘパリン加血液を各犬の橈側皮静脈内接種によって行なった。接種後3日毎に橈側皮静脈から採血し、赤血球数、ヘマトクリット値、白血球数および白血球の分画像を調べた。

流血中の担鉄細胞を検査するために末梢血液としては橈側皮静脈から3日毎にヘパリンを加えて採血した。血液約5mlを小試験管に取り、3,000 rpm、5分間遠心し、白血球層をスライドグラスに塗り、メタノール固定後、鉄染色のためベルリン青反応を行ない核染色としてカルミンで24時間染色した。こうして白血球10,000個当たりの出現担鉄細胞数をかぞえた。担鉄細胞の種類については Sakamoto の分類に従い<sup>10)</sup>、細胞の輪廓や核などの形態を指標とし、担鉄大型喰細胞 (large siderophagocyte)、担鉄小型喰細胞 (Small siderophagocyte)、担鉄小型リンパ様細胞 (Small siderophagous lymphoid cell)、担鉄好中球 (Siderophagous neutrophilic leucocyte)、担鉄單球 (Siderophagous monocyte) の5種類に分類した。

接種後4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25および31日目に夫々No. 1~9の犬から1頭ずつ血管別血液の採血を行なった。まずケタラール50（塩酸ケタミン）を30mg/kg筋肉内注射して全身麻酔を行ない、開腹、開胸後、脾静脈、門脈、後大静脈、肺動脈、前大静脈、大動脈、腎静脈および橈側皮静脈の8カ所の血管からヘパリンを加えて採血し、担鉄細胞を前記の方法で検索した。

組織における担鉄細胞検査は、血管別血液採血後、

\* 熊本大学医学部寄生虫病学教室、熊本市本荘2丁目2-1  
Department of Parasitic Diseases, Kumamoto University  
School of Medicine, 2-2-1 Honjo, Kumamoto.

放血殺し、臓器を10%ホルマリンで固定した後、薄切りし、ベルリン青反応を行ない、カルミンで核染色をした後、検索した。判定は、担鉄細胞もしくはヘモジデリン顆粒が全く出現していないもの（-）、少数出現しているもの（+）、やや多く出現しているもの（++）、多数出現しているもの（+++）とした。

原虫については、末梢および血管別血液において赤血球1,000個当たりの数を調べた。

## 結 果

橈側皮静脈から採血の赤血球数は、原虫接種後3日目より減少し始め、 $2 \times 10^6 \sim 4 \times 10^6$  個/mm<sup>3</sup>となり24日目までその状態が継続した。No. 9ではそれ以後やや増加の傾向を示した。ヘマトクリット値も赤血球数の変化とほぼ同様の変化を示した(Figs. 1, 2)。赤

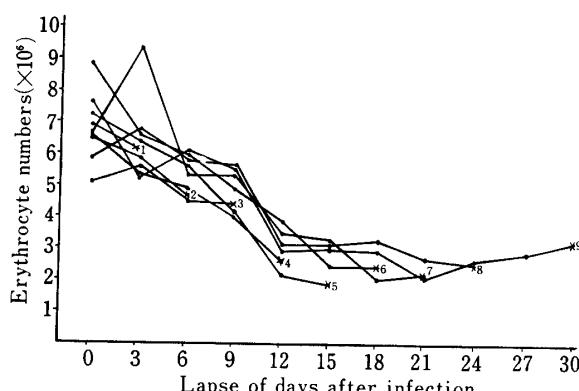


Fig. 1. Erythrocytes count (number of erythrocytes per 1 mm<sup>3</sup> peripheral blood) of the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni* during the course of infection. The numbers attached to the solid-line indicate the number of dog examined.

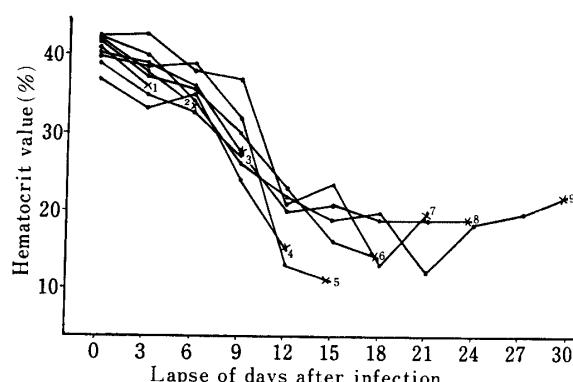


Fig. 2. Hematocrit value in % of the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni* during the course of infection.

血球像は15日目頃より赤血球の大小不同、多染性赤血球、赤芽球の出現が認められ、この傾向は次第に顕著となった。白血球数の変化は著明ではなかったが、分画像において、15日目から21日目にかけてリンパ球の割合が多くなった。体温は原虫接種1日後に一過性の上昇がみられ、その後39°C前後の微熱が持続した。脾腫は6日目以後、全例にみられ触診可能になり、感染犬は憔悴し食欲は激減した。

橈側皮静脈内の担鉄細胞は、接種後13日目以前では、No. 4, 7に1～2個出現したにすぎなかつたが、15日目には5例中4例に出現し、18, 21日目に多数の出現が認められた。No. 9ではそれ以後減少した(Table 1)。

Table 1. Number of siderocytes per 10<sup>4</sup> leucocytes in the peripheral blood taken from the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*.

Dog No.	Lapse of days after injection									
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27
1	0	0								
2	0	0	0							
3	0	0	0	0						
4	0	0	0	1	2					
5	0	0	0	0	0	1				
6	0	0	0	0	0	0	0	11		
7	0	0	1	0	0	4	3	2		
8	0	0	0	0	0	1	9	5	3	
9	0	0	0	0	0	2	5	6	2	1

種類については、経日の変化は認められず、全経過を通して担鉄単球が最も多く、次いで担鉄小型リンパ様細胞、担鉄好中球の順で出現した。担鉄大型喰細胞は15日目に1個出現しただけで担鉄小型喰細胞は全く認められなかった(Table 2)。血管別血液の担鉄細胞は、まずNo. 1, 2(感染4～7日目)の脾静脈にそれぞれ3, 5個出現し、No. 3(感染10日目)では脾静脈に201個と多数出現した。これに対して他の血管血液には0～2個という少數しか認められなかった。No. 4, 5, 6(感染13～19日目)では脾静脈に30個前後出現し、次いで肺動脈、門脈に多く出現した。他の血管血液にも出現率は10個以下ではあるが認められるようになった。感染22～25日目に相当するNo. 7, 8ではさらに脾静脈に多数の担鉄細胞が出現した。No. 9(感染31日目)では脾静脈に61個出現し、他の血管血液には少なかった。全経過を通して担鉄細胞の最も多くみられるのは脾静脈で、次いで肺動脈、門脈の順であった(Table 3)。次ぎに細胞の種類からみると、経日の

Table 2. Siderocytes, its subpopulation and number, found in the peripheral blood taken from the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*

Siderocyte	Lapse of days after infection										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Total number of siderocytes in the $10^4$ leucocytes from all the examined dogs	0 per $9 \times 10^4$	0 per $9 \times 10^4$	1* per $8 \times 10^4$	1 per $7 \times 10^4$	2 per $6 \times 10^4$	8 per $5 \times 10^4$	28 per $4 \times 10^4$	13 per $3 \times 10^4$	5 per $2 \times 10^4$	1 per $1 \times 10^4$	1 per $1 \times 10^4$
Large siderophagocyte	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Small siderophagocyte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Small siderophagous lymphoid cell	0	0	0	1	0	4	5	5	3	1	0
Siderophagous neutrophilic leucocyte	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0	1
Siderophagous monocyte	0	0	1	0	2	2	22	6	2	0	0

\* One siderocyte found in the 8(number of dogs examined)  $\times 10$  leucocytes

Table 3. Number of siderocytes per  $10^4$  leucocytes in the blood of various blood vessels taken from the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni* and the control

Blood vessels	Dog No. (Infected)									(Control)		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3
Splenic vein	3	5	201	27	31	28	142	120	61	0	0	0
Portal vein	0	0	2	3	1	11	14	4	0	0	0	0
Posterior vena cava	0	0	1	1	0	3	0	0	0	0	0	0
Pulmonary artery	0	0	2	6	3	25	6	10	1	0	0	0
Anterior vena cava	0	0	1	2	0	8	8	2	1	0	0	0
Renal vein	0	0	1	1	3	2	2	0	6	0	0	0
Aorta	0	0	0	0	0	6	8	6	0	0	0	0
Cephalic vein	0	0	0	2	1	7	4	3	1	0	0	0
Total	3	5	208	42	39	90	184	135	70	0	0	0

な変化はなく、全経過を通じた合計でみると、担鉄大型喰細胞、担鉄小型喰細胞は脾静脈に最も多く出現し、門脈にわずかに出現した。しかし他の血管血液にはほとんど出現しなかった。担鉄小型リンパ様細胞、担鉄好中球も脾静脈に多く出現したが他の血管血液にもわずかではあるが常にみられた。担鉄単球は種々の血管からの血液に高率に出現するのが認められた (Table 4)。すなわち、担鉄細胞は末梢血管血液に現われる以前からすでに脾静脈に出現しておりその数も最も多い。細胞別にみると担鉄大型喰細胞、担鉄小型喰細胞は脾

静脈、門脈に多く、担鉄単球、担鉄小型リンパ様細胞は脾静脈以外の各種の血管にもほぼ均等に出現していた。

各臓器における担鉄細胞所見は、脾臓では感染初期より認められるが、この時期の担鉄細胞は髓索内に瀰漫性に認められ、次第に増加するにつれて脾洞に配列した状態となり静脈内にも多数出現し始めた。脾臓よりやや遅れて肝臓の類洞内に担鉄細胞が目立つようになり、それとともにヘモジデリンを貪喰したクッパー細胞が増加した。顕著な例では肝細胞内にもヘモジデ

Table 4. Siderocytes, its subpopulation and number, found in the blood of various blood vessels taken from 9 dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni* at the autopsy

Siderocytes	Blood vessels							
	Splenic vein	Portal vein	Posterior vena cava	Pulmonary artery	Anterior vena cava	Renal vein	Aorta	Cephalic vein
Total number of siderocytes (per $9 \times 10^4$ leucocytes)	618	35	5	53	22	15	20	18
Large siderophagocyte	310	6	0	0	1	0	0	0
Small siderophagocyte	63	3	0	5	0	0	0	1
Small siderophagous lymphoid cell	27	4	2	11	6	3	4	2
Siderophagous neutrophilic leucocyte	19	0	0	1	2	2	2	3
Siderophagous monocyte	199	22	3	36	13	10	14	12

Table 5. Berliner blue reactions, indicative of the siderocytes and/or hemosiderins, shown in the various organs of the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*

Organs	Dog No. (Infected)									(Control)		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3
Spleen	+	*	#	#	#	#	#	#	+	+	-	-
Liver	+	+	#	+	#	#	#	#	+	+	-	-
Kidneys	-	+	+	-	#	+	#	#	+	-	-	-
Bone marrow	#	#	+	#	#	#	#	#	+	-	-	-
Lungs	-	+	+	+	#	+	#	#	+	-	-	-
Lymph nodes	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

\* Siderocytes and/or hemosiderin (-, negative; +, rare; #, medium; ##, abundant)

Table 6. Number of parasites per  $10^3$  erythrocytes in the peripheral blood taken from the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*.

Dog No.	Lapse of days after infection										
	0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
1	0	1									
2	0	0	2								
3	0	0	4	34							
4	0	0	1	27	34						
5	0	0	1	11	37	28					
6	0	0	1	13	30	54	58				
7	0	0	2	4	21	61	23	62			
8	0	0	3	4	14	20	31	21	35		
9	0	0	1	9	33	35	49	35	57	20	22

リン顆粒の沈着が認められた。これに次いで腎尿細管上皮細胞内および尿細管腔内にヘモジデリン顆粒の沈着が認められた (Table 5).

Table 7. Number of parasites per  $10^3$  erythrocytes in the blood of various vessels taken from the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni* at autopsy.

Blood vessels	Dog No.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Splenic vein	1	15	38	47	22	45	47	13	12
Portal vein	0	16	41	42	12	42	56	21	9
Posterior vena cava	0	14	28	41	12	36	55	22	14
Pulmonary artery	2	11	30	47	12	41	43	17	11
Anterior vena cava	3	8	24	40	11	38	46	18	15
Renal vein	0	24	27	42	5	48	43	25	11
Aorta	1	9	38	51	14	40	44	25	11
Cephalic vein	0	11	27	37	15	48	49	24	12
Total	7	108	253	347	103	338	383	165	95

次に原虫数は、末梢血液と内臓血管血液の間には有意な差はみられなかった (Tables 6, 7)。組織内の原虫では、1赤血球内に 8, 16, 32 個とロゼット状に寄生しているのが脾臓、骨髓、肝臓に認められ、特に脾臓内の赤血球には多数認められた。

### 考 察

臨床所見および赤血球数、ヘマトクリット値における貧血状態や脾腫については、従来の報告<sup>2,3,6)</sup>と一致し、典型的な *Babesia gibsoni* の感染経過が認められた。

末梢血液中に出現する担鉄細胞の検出率は、馬伝染性貧血で 100% 近く、小型ビロプラズマ自然感染中で 50% 程である<sup>12)</sup>。本実験では、貧血極期では 100% の検出率であり、馬伝染性貧血と同様高率に出現することが明らかになった。その種類について馬伝染性貧血で、Sakamoto は末梢血中の担鉄細胞は内臓血中にくらべ少ないと述べた<sup>10,11)</sup>。赤崎らは単球、好中球に由来するものが主で、細網内皮系細胞に由来するものはわずかであるとしている<sup>1)</sup>。本実験でも担鉄単球、担鉄小型リンパ様細胞、担鉄好中球が主で、馬伝染性貧血の場合とほぼ同様の傾向であった。各種の血管血液を比較すると、脾静脈には感染初期から担鉄細胞の出現がみられている。まず脾臓で赤血球を貪喰した喰細胞が脾静脈に流れ出し、この頻度が高くなるにつれて、順次全身の血液中にも担鉄細胞が出現するようになるのであろう。ただし門脈を経た破壊赤血球は肝臓のクッパー細胞等に取り込まれるため後大静脈では減少し、また肺動脈では肺の毛細血管を通過する際栓塞が起こるためふたたび増加するものと考えられる。次に細胞を種類別にみると、担鉄大型喰細胞は脾静脈に多く出現したがこれは脾臓の細網内皮系細胞に由来するものと考えられる。この細胞は肺を経た血液にはほとんど認められず、おそらく肺の毛細血管でトラップされるためであろう。担鉄小型リンパ様細胞の起源について Sakamoto は全身のリンパ節由來のもので胸管を経て前大静脈へ流れ出るとみなしている<sup>11)</sup>。今回の実験からもこのような経路が考えられ、肺動脈、前大静脈に多く出現したものと考えられよう。担鉄単球は各種の血管血液に多数出現した。ところで単球は骨髓由来のものが主体であり、組織球は細網内皮系細胞由来であろうがこれらは形態的には鑑別するのは困難である。馬伝染性貧血において石井は単球は主に肝臓、脾臓の細胞に由来するとし<sup>4)</sup>、田淵も内臓血液の単球の増加を指摘している<sup>14)</sup>。本実験においても内臓血液に

おける担鉄単球には組織球がかなり含まれているものと考えねばならないであろう。

組織内における担鉄細胞およびヘモジデリン顆粒は血管内の担鉄細胞の動向とほぼ一致している。すなわち脾臓に感染初期から出現した担鉄細胞は組織から遊離し、脾洞へ集まり静脈へ流れ出し門脈を経て肝臓へ行きここで一部はクッパー細胞により処理されるものと考えられる。このような担鉄細胞の動向は、馬伝染性貧血の場合と極めて類似していた。

次ぎに原虫は Rao<sup>7)</sup>、石嶺<sup>5)</sup>が報告しているように脾臓内の赤血球でロゼット状に寄生していた。そこでこれらの原虫の数は 8, 16, 32 と 2<sup>n</sup> の形をとっていることから 2 分裂を繰り返すものと思われる。

以上のことから *Babesia gibsoni* 感染による脾臓は感染後間もなく主として細網内皮系細胞の増殖による脾腫がみられ、担鉄細胞の出現が最も早く、原虫の分裂増殖もみられることから血液細胞学的に貧血と大いに関連のある臓器と思われる。

### 要 約

*Babesia gibsoni* を実験感染させた犬における血液細胞学的研究を行ない次のような成績が得られた。

- 1) 赤血球数は原虫接種後 3 日目より減少し始め、2 週前後は接種前の約半数に減少し、貧血が進むにつれ、赤血球の大小不同、多染性赤血球、赤芽球の出現がみられた。
- 2) 原虫は接種後 6 日目頃より増加がみられ、2 ~ 3 週目が最も多くなる。原虫は骨髓、肝臓、特に脾臓内の赤血球中で急速に分裂増殖を起すものと思われた。
- 3) 末梢血中の担鉄細胞は感染 15 日目から高率に出現し、その主な構成細胞は担鉄単球、担鉄小型リンパ様細胞、担鉄好中球であった。
- 4) 血管別血中の担鉄細胞は脾静脈に最も多く出現し、次いで肺動脈、門脈の順で、細胞を種類別にみると担鉄大型喰細胞、担鉄小型喰細胞は脾静脈、門脈、肺動脈に多数出現し、担鉄単球は全ての血管に多数出現した。
- 5) 組織との関連では担鉄細胞は感染初期から脾臓に多く出現し、次いで肝臓に出現した。さらに貧血が重度になるにつれて腎臓の尿細管上皮細胞にもヘモジデリン顆粒の沈着が認められ、脾臓は *Babesia gibsoni* 感染に対し、血液細胞学的に貧血と大いに関連のある臓器である。

稿を終えるに臨み、御助言、御協力をいただいた鹿児島大学農学部家畜解剖学教室鈴木秀作助手ならびに熊本大学医学部寄生虫病学教室多田功教授に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 赤崎兼義・小島 瑞・山田英蔵・綿貫 勲：伝染性貧血馬末梢血内 Siderozyten の本態について。馬伝染性貧血に関する研究報告（家衛試），No. 1, 110-117 (1961)
- 2) Boulos, A. M. B., Ronald, W. M., Ibrahim, S. B.: Some observations on experimentally induced infection of dogs with *Babesia gibsoni*. *Am. J. Vet. Res.*, Vol. 36, No. 3, 293-296 (1975)
- 3) 原 行雄：イヌの *Babesia* 病に関する研究。山口大農学報告，22, 329-377 (1971)
- 4) 石井 進：臓器鉄ならびに担鉄細胞の組織学的所見。獣疫調査所研究報告，第19号，294-317 (1942)
- 5) 石嶺 毅・牧村 進・北沢作治郎・鈴木直義・福井正信・安達二郎：実験的犬ピロプラズマ感染に伴う血液一般性状の変化。日獣会誌，81回学会号，102 (1976)
- 6) 河野猪三郎・森裕子・本岡 覚・安田宣絵・坂本 純：実験的 *Babesia* 感染幼犬の病理所見について。第80回日本獣医学会講演要旨，69 (1975)
- 7) Rao, M. A. N.: *Piroplasma gibsoni* patton 1910.
- Ind. J. Med. Res., 14, 785-801 (1927)
- 8) 中尾喜久・高久史麿・小原基三・中島英男：伝貧症の担鉄細胞起源に関する知見補遺。馬伝染性貧血に関する研究報告（家衛試），No. 1, 77-81 (1961)
- 9) 野田亮二・野田周作・堀江牧夫・大西堂文・円入克介・鷲越美和・赤枝雅雄・平尾滋樹・高瀬一行・大河清二：生駒山系における犬ピロプラズマ症の感染試験。日獣会誌，22, 152-156 (1969)
- 10) Sakamoto, T.: Cytological studies on siderocytes in equine infectious anemia. I. Morphological studies on siderocytes. *Jap. J. Vet. Res.*, Vol. 8, No. 1, 12-31 (1960)
- 11) Sakamoto, T.: Cytological studies on siderocytes in equine infectious anemia. II. Systematic observations of siderocytes. *Jap. J. Vet. Res.*, Vol. 8, No. 2, 173-190 (1960)
- 12) Sonoda, M.: Sideroleukocytes in the peripheral blood of cows affected naturally with piroplasma of Theileria type. *Jap. J. Vet. Sci.*, 34, 179-182 (1972)
- 13) 田淵英一：伝染性貧血馬の体内的鉄の移行異常についての一考察。馬伝染性貧血に関する研究報告（家衛試），No. 3, 62-67 (1968)
- 14) 田淵英一・片山真彌・渡瀬弘：伝染性貧血馬の内臓血液の変化について。家衛試研究報告，38, 47-60 (1960)

## Summary

Hematological studies were undertaken in the dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*. The results obtained are as follows:

1. Erythrocyte number began to reduce on the 3rd day, reaching half of the initial level 2 weeks after infection. As the anemia advanced, erythrocytic anisocytosis, polychromatic erythrocytes and even erythroblasts appeared in the smears of peripheral blood.
2. Protozoa began to be increasing 6 days after infection, reaching the peak during the period between 2-3 weeks after infection. A rapid multiplication of the protozoa was assumed to have been occasioned with the erythrocytes in the bone marrow, liver and especially in spleen.
3. In the peripheral blood, 15 days after infection there appeared a lot of siderocytes which were composed of siderophagous monocytes, small siderophagous lymphoid cells and siderophagous neutrophilic leucocytes.
4. Among the various blood vessels, the siderocytes were frequently noted in the splenic vein, then in the pulmonary artery and in the portal vein. So far as cell-type is concerned, both large siderophagocytes and small siderophagocytes were observed exclusively in the splenic vein, portal vein and pulmonary artery, while siderophagous monocytes were observed spread widely in all the blood vessels.
5. Siderocytes appeared in the spleen from the early stage of infection, thereafter appearing in the liver, too. The severer was the anemia, the more hemosiderin granules were seen deposited in the endothelial cells of the renal tubules. The present study disclosed the relationship between the spleen and anemia during the infection course of *Babesia gibsoni* in dogs.