

学位論文題名

Studies on the mechanism of anema induced
by *Babesia gibsoni* infection in dogs

(イヌの*Babesia gibsoni*感染症における貧血発現機序に関する研究)

学位論文内容の要旨

バベシア症においては、バベシア原虫の赤血球寄生率が低いにもかかわらず高度の貧血が発生するが、その機序については解明されていない。本研究では、イヌの*Babesia gibsoni*感染症における貧血の発現機序を検討した。*B. gibsoni* 原虫の赤血球内増殖を体外培養系を用いて検討した。イヌ成熟赤血球を*B. gibsoni*感染赤血球と混合してpacked cell volume (PCV) 10%で培養したところ、原虫寄生率は直線的に増加し8～9日目に4.0%に達した（培養開始時0.4%）。赤血球加齢と原虫増殖との関連を検討するために、瀉血により急性失血性貧血を呈しているイヌから調製した網状赤血球および成熟赤血球を、*B. gibsoni*感染赤血球と混合して培養した。網状赤血球培養系においてPCV 3%の条件で培養した場合、原虫寄生率の最高値は、8日目に34.1%に達した。一方、成熟赤血球培養系では5日目で3.6%であった。網状赤血球培養系を用いた場合、100日以上原虫の継代培養が可能であった。

*B. gibsoni*原虫の増殖にともない溶血が認められたため、培養にともなう赤血球の形態学および生化学的变化を検討したところ、網状赤血球培養系において赤血球の異常形態（奇形赤血球）が光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡下で観察された。また、赤血球のメトヘモグロビン濃度は、培養前の1.5%に対して6日目で

17.5%に増加した。同様に、培養上清中のマロンジアルデヒド濃度は1.47から4.74 μ Mに増加したことから、赤血球の酸化障害が示唆された。また、原虫増殖期に赤血球のグルコース消費および乳酸産生の増加傾向が認められた。

*B. gibsoni*感染耐過後に脾臓摘出により貧血を再発し、慢性貧血を持続しているイヌ（慢性感染貧血犬）の骨髄から採取したマクロファージ（骨髄マクロファージ）による自己、および非自己正常イヌ赤血球に対する貪食率は、それぞれ9.5、および9.9（%）であった。一方、非感染犬骨髄マクロファージによる貪食率はそれぞれ3.5、および2.9（%）であった。抗原虫薬であるdiminazene diacetateの投与により、慢性感染貧血犬の骨髄マクロファージによる赤血球貪食率は低下し、それとともにPCVの上昇が認められた。*B. gibsoni*の急性感染犬においても、慢性感染貧血犬と同様に、骨髄マクロファージによる赤血球貪食能の亢進が認められたが、この場合も自己および非自己正常赤血球に対する貪食率に差は認められなかった。さらに、非感染犬マクロファージは正常赤血球よりも、原虫とともに培養された赤血球を多く貪食した。

以上の成績より*B. gibsoni*感染犬においては、原虫の増殖にともない、原虫寄生赤血球のみならず非寄生赤血球までもが物理的および生化学的障害を受けること、その結果、そのような障害赤血球に対する宿主マクロファージの赤血球貪食能が亢進するために、原虫寄生率が低いにもかかわらず高度の貧血が発生するものと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 前 出 吉 光
副 査 教 授 橋 本 晃
副 査 教 授 小 沼 操
副 査 助 教 授 杉 本 千 尋

学 位 論 文 題 名

Studies on the mechanism of anema induced by *Babesia gibsoni* infection in dogs

(イヌの*Babesia gibsoni*感染症における貧血発現機序に関する研究)

バベシア症においては、バベシア原虫の赤血球寄生率が低いにもかかわらず、高度の貧血が発生するが、その機序については解明されていない。申請者は、イヌの*Babesia gibsoni* 感染症における貧血の発現機序を検討した。最初に*B. gibsoni* 原虫の体外培養法を検討し、イヌ網状赤血球を用いた同原虫の培養法を確立した。すなわち、瀉血により急性失血性貧血を呈しているイヌから調製した網状赤血球を、*B. gibsoni* 感染赤血球と混合してPacked cell volume (PCV) 3%, 37°Cの条件で培養した場合、赤血球への原虫寄生率は、8日目に34.1%に達した。この網状赤血球培養系を用いた場合、100日以上原虫の継代培養が可能であった。次に、*B. gibsoni* 培養にともなう赤血球の形態学および生化学的变化を検討したところ、赤血球の形態異常が光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡下で観察された。また、赤血球のメトヘモグロビン濃度は、培養前の1.5%に対して培養6日目で17.5%に、培養上清中のマロンジアルデヒド濃度は培養前の1.47 μ Mから培養6日目には4.74 μ Mにそれぞれ増加したことから、赤血球の酸化障害が示唆された。また、原虫増殖期に赤血球のグルコース消費量および乳酸産生量の増加傾向が認められた。

B. gibsoni 感染耐過後に脾臓摘出により貧血を再発し、慢性貧血を維持しているイヌ(慢性感染貧血犬)の骨髄から採取したマクロファージ(骨髄マクロファージ)による自己、および非自己正常イヌ赤血球の貪食率は、それぞれ9.5、および9.9(%)であった。一方、正常犬骨髄マクロファージによる赤血球貪食率は、それぞれ3.5、および2.9(%)であった。抗原虫薬であるdiminazene diacetateの投与により、慢性感染貧血犬の骨髄マクロファージによる赤血球貪食率は低下し、それとともにPCVの上昇が認められた。*B. gibsoni*の急性感染犬においても、慢性感染貧血犬と同様に、骨髄マクロファージによる赤血球貪食能の亢進が認められたが、この場合も自己および非自己正常赤血球に対する貪食率に差は認められなかった。さらに、非感染犬マクロファージは正常赤血球よりも、原虫とともに培養された赤血球を多く貪食した。

これらの成績から、申請者は*B. gibsoni* 感染犬においては、原虫の増殖にともない、原虫寄生赤血球のみならず非寄生赤血球にも物理的および生化学的障害が生じること、その結果、そのような障害赤血球に対する宿主マクロファージの赤血球貪食能が亢進するために、原虫寄生率が低いにもかかわらず高度の貧血が発生するものと推測した。

以上のように申請者は、バベシア症の貧血発生機序に関して重要な知見を提供した。よって、審査員一同は、村瀬敏之氏が博士(獣医学)の学位を受ける資格を有するものと認めた。