

## *Babesia gibsoni* 感染犬における 免疫抑制処置の影響

田村 孝\*・高橋清志\*\*・其田三夫\*\*  
小岩政照\*\*・長崎和信\*\*

Effect of some Immunosuppressive Treatments in Dogs  
Experimentally Infected with *Babesia gibsoni*

Takashi TAMURA\*, Kiyoshi TAKAHASHI\*\*, Mitsuo SONODA\*\*,  
Masateru KOIWA\*\* and Kazunobu NAGASAKI\*\*

(May, 1979)

犬に寄生する *Babesia gibsoni* に関する免疫学的研究は現在まではほとんど行なわれていない。しかし一般に *Babesia* 症の免疫は感染免疫 Premunity の性格をもち、ストレスなどのさまざまな誘因によって再発が起こるとされている<sup>2)</sup>。すなわち *Babesia* に一度感染すると、原虫が末梢血液から消失し臨床的に回復しても、一部の虫体が体内に潜在し、この状態で再感染に抵抗する。このような免疫がいかなる機序によって起こるかは全く不明である。本研究では、この機序の一端を明らかにする目的で *B. gibsoni* 実験感染犬に対し若干の免疫抑制処置を行ないその反応を観察した。

### 供試動物および試験方法

#### 1. 供試犬および免疫抑制方法

江別保健所の野犬抑留場から得た臨床および血液学的に異常のない雑種犬17頭を5群に分け、自然感染の起こらない環境下で飼育、実験に供した。すなわち、第1群(2頭)を無処置対照群とし、第2群(3頭)には再攻撃試験、第3群(4頭)には dexamethasone 投与、第4群(4頭)には cyclophosphamide 投与を、また第5群(4頭)には脾摘手術を

---

\* 現在 動物検疫所成田支所

Present address: Narita Branch, Animal Quarantine Service, 1-1, Goriyobokujo, Sanrizuka, Narita, Chiba, Japan.

\*\* 獣医学科、家畜内科学教室

Laboratory of Veterinary Internal Medicine, Department of Veterinary Medicine, The College of Dairying, Ebetsu, Hokkaido, Japan.

それぞれ実施した。第2群での再攻撃は第1回接種の50日後に同数の原虫を接種して行った。第3群の2頭は接種前第4日から接種後第5日までの計10日間、他の2頭には接種後第50あるいは第65日から5日間 dexamethasone を 0.4 mg/kg ずつ筋肉内注射した。第4群の2頭には接種前第4日から接種後第5日までの計10日間、また他の2頭は第65日から5日間 cyclophosphamide 1.7 mg/kg ずつ静脈内に投与した。第5群の2頭については接種前第14日に、他の2頭については接種第50日に脾摘手術を行なった。なおこれらの全実験犬に対して *B. gibsoni* 感染赤血球  $10^7$  個/kg を静脈内に接種した。

## 2. 観察方法

接種前および接種後は3日の間隔で50～80日間観察を行ない、赤血球容積(毛細管法)と寄生率(赤血球1,000個中の原虫含有赤血球を%に換算)を調べるとともに抗体価の推移をみた。抗体価の測定は間接蛍光抗体法で行ない、抗原には *B. gibsoni* 感染赤血球塗抹を冷アセトンで10分間固定、0.01 M の PBS (pH 7.2) で15分間洗浄したものを用いた。反応時間は一次および二次反応とも30分間とした。被検血清は非働化しないまま、また陰性対照として接種前の血清を用いた。

## 試験成績

1. 第1群 (Fig. 1): 原虫は接種後第8日から検出され、第21～25日の間に5～8%の寄生率に達し、以後漸減し第45日以降は2%以下となった。赤血球容積(PCV)は原虫の

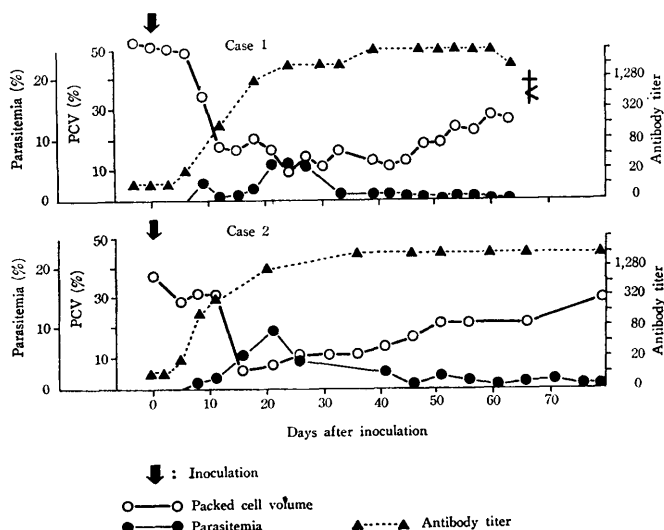


Fig. 1. Changes of packed cell volume, parasitemia and antibody titer (Control).

出現と同時に減少しはじめ、急激に低下し原虫寄生率のピークで8~10%となり、以後徐々に上昇の傾向を示した。抗体の産生は接種後第5~6日からみられ、以後急激に上昇し第36~39日で2,560~5,120倍の値に達し、観察期間中その値を持続した。

2. 第2群 (Fig. 2): Fig. 2は3頭の平均値を示したもので、接種後第50日までの変化は寄生率がやや低かった点以外第1群と同じ傾向であった。第50日に原虫の再攻撃を行なったが、原虫寄生率、PCV および抗体価には大きな変化がなかった。

3. 第3群 (Fig. 3 および Fig. 4): Fig. 3 は接種前後に dexamethasone を投与した2例の結果である。対照に比べて明らかに原虫の寄生率が高く、症例1では第17日に28.4%

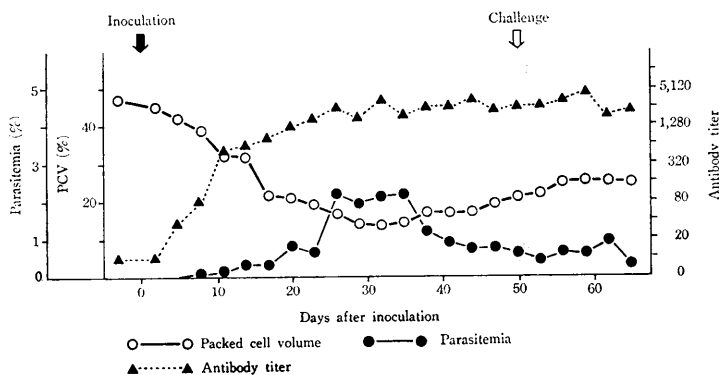


Fig. 2. Response to challenge inoculation.

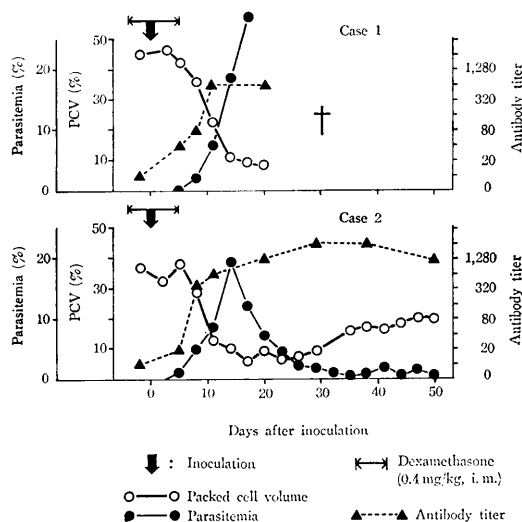


Fig. 3. Changes of packed cell volume, parasitemia and antibody titer in dogs treated with dexamethasone.

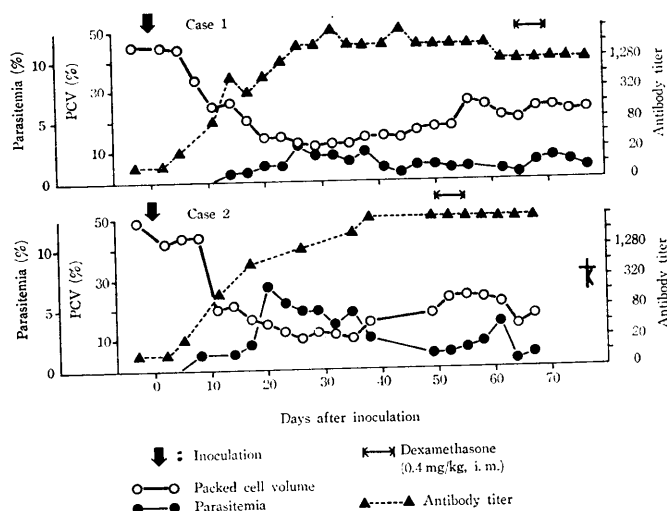


Fig. 4. Changes of packed cell volume, parasitemia and antibody titer in dogs treated with dexamethasone.

まで上昇し、第21日に死亡した。PCVは急激に減少しはじめ、第14日には11.5%に低下した。抗体は接種後第5日に初めて検出され、第20日には640倍まで上昇した。第2例は感染に耐過し、回復の経過を取ったが原虫は接種後第5日から末梢血中に出現し、第14日には最高の19.0%に達し、その後次第に減少した。PCVは急激に減少し、接種前36.5%のそれが第11日には13.5%となり、第17日には6.0%と最低値を示したが、その後漸次回復して、第50日には20%となった。抗体価は接種後第5日に20倍、その後上昇を続け第29日には2,560倍で観察期間中の最高値に達し、第50日には1,280倍を示した。

Fig. 4は回復期に dexamethasone を投与した2例で、症例1および2とも抗体価には変動がみられなかったが、軽度ながら寄生率は上昇傾向を示し、症例2ではPCVが1時的に減少した。

4. 第4群 (Figs. 5 と 6): この群の4例はいずれも感染後回復の経過をとって耐過した。接種前後に cyclophosphamide を投与した第1例では接種第1日よりPCVの減少が徐々に始まり、第28日には最低の10%となった。その後回復の傾向をとり、第50日には24.5%となった。原虫は接種第4日から末梢血中に検出され、第22日には観察期間中最高の7.1%に達し、その後減少したが、第49日でもなお4.7%の寄生率を示した。抗体価は接種後第4日に40倍、第37日には2,560倍と観察期間中の最高値を示した。本例における抗体価の上昇速度は、対照群のそれ(接種後第25~30日に2,560~5,120倍)に比べやや遅かった。第2例では、接種前45.0%のPCVが接種後第4日より減少し始め、第25日には9.0%と最低の値を示した。その後回復の傾向をとり第49日には31.0%まで達し

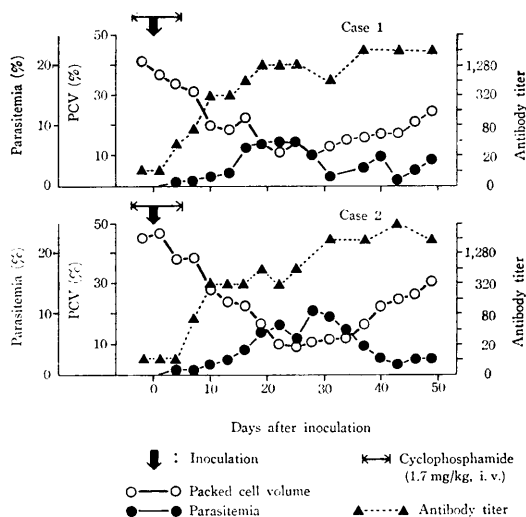


Fig. 5. Changes of packed cell volume, parasitemia and antibody titer in dogs treated with cyclophosphamide.

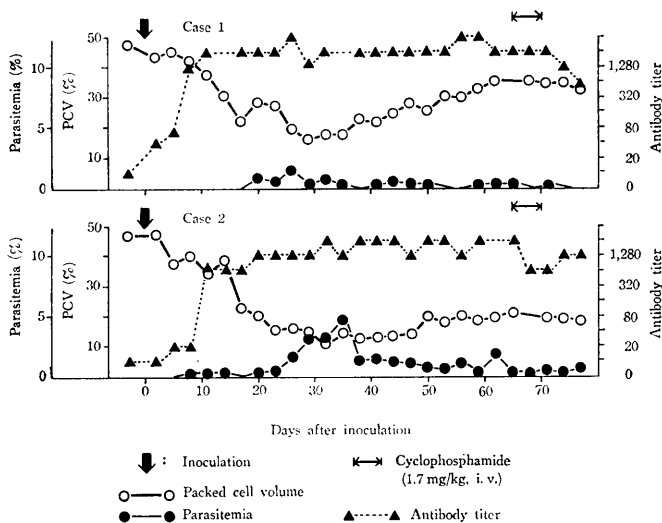
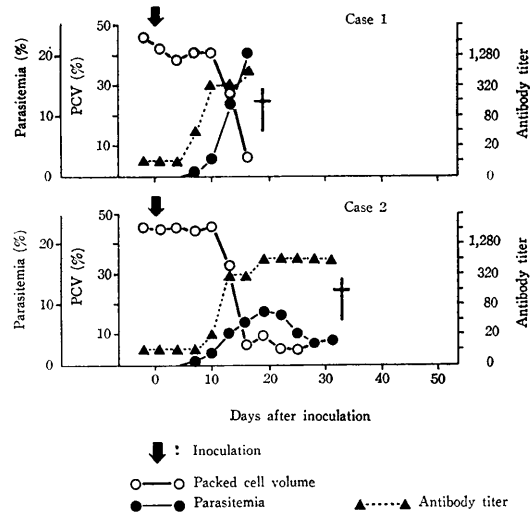


Fig. 6. Changes of packed cell volume, parasitemia and antibody titer in dogs treated with cyclophosphamide.

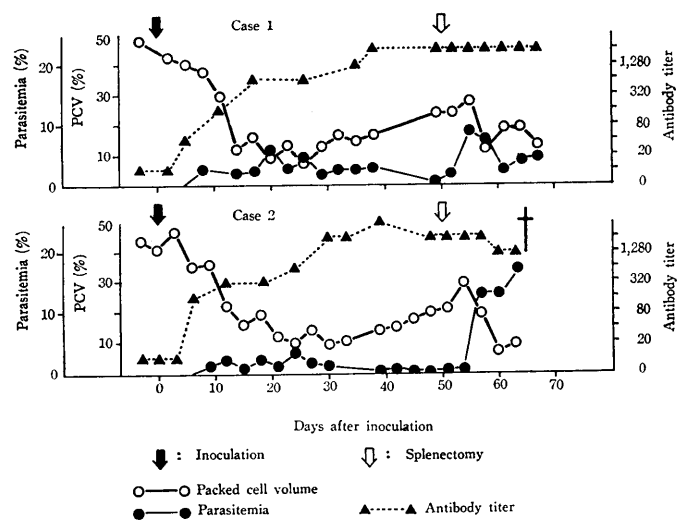
た。原虫は接種後第4日で末梢血中に0.7%検出され、その後、増加して第28日には10.7%と最高の寄生率を示した後、漸減の傾向をとった。抗体価は接種後第7日に80倍、その後上昇して第43日に最高値の5,120倍に達した。すなわち本例での抗体価の上昇速度は対照群のそれ(接種後第25~30日に2,560~5,120倍)に比べ遅かったが、原虫寄生率には差がなかった。接種後第65日から cyclophosphamide を5日間投与された2例では、原虫の

寄生率と PCV に変化はみられなかったが、抗体価は 2〜3 管低下した (Fig. 6)。

5. 第 5 群 (Figs. 7 と 8): 接種前に脾摘手術を受けた 2 例のうち、第 1 例は接種後第 17 日、第 2 例は第 33 日に死亡した。第 1 例では接種前 46.5% であった PCV は、接種後第 10 日には 41.0% でその減少は軽度であったが、その後急激に減少し第 16 日には 6.0%



\* Splenectomy was done 14 days before inoculation  
**Fig. 7.** Changes of packed cell volume, parasitemia and antibody titer in dogs splenectomized\*.



**Fig. 8.** Changes of packed cell volume, parasitemia and antibody titer in dogs splenectomized after inoculation.

となって、第 17 日に死亡した。末梢血中への原虫の出現は、接種後第 7 日 (0.2%) からみられたが、第 10 日に 12.6%、第 16 日に 20.4% と急激に増加し、対照のそれに比べ、急速かつ高い寄生率であった。抗体価は接種後第 7 日に 40 倍で検出され、その後漸増し第 16 日に 640 倍となった。第 2 例の PCV は前例とおおむね同様に接種後第 10 日までは著しい変動はなく、その後急激に減少し、第 16 日には 7.0% となり、その後は 10% 以下の値で推移した。原虫は第 7 日 (0.6%) から検出され、第 19 日には 9.0% と観察期間中の最高の寄生率を示した後減少したが、この寄生率の上昇は対照犬のそれに比べ急速であった。抗体は接種後第 10 日に初めて 20 倍、その後上昇し第 19 日に 640 倍に達した。その後はこの値で推移しさらに上昇の傾向はみられず対照犬のそれ (2,560~5,120 倍) に比べ低かった。接種後第 50 日に脾摘された 2 例では、抗体価に著変はなかったが、原虫寄生率の急激な上昇とともに、30% 前後であった PCV が約 10% ないしそれ以下になる重篤な再発をみ、1 例は脾摘 13 日後に死亡した。

## 考 察

Schindler ら<sup>8)</sup> は *Babesia* 症の液性抗体による感染防御あるいは発症防止について、犬の *B. canis* 感染で補体結合反応によって検出される抗体と感染防御能とは関連性がないと報告した。しかし Phillips<sup>3)</sup> は *B. rodhaini* を感染させたラットで免疫血清の投与が潜伏期を延長させたと報告し、Roberts ら<sup>6)</sup> も *B. rodhaini* 感染マウスに対する免疫血清の効果について検討し、Phillips のそれとほぼ同じ結果を得ている。また田村<sup>9)</sup> も *B. gibsoni* 感染犬に免疫血清を投与し PCV の減少および寄生率上昇の軽減がみられたと報告している。Rogers<sup>7)</sup> は *B. rodhaini* 感染時に血清中に寄生赤血球を貪食する phagocytes の活性を高める opsonin 抗体が出現し、これが感染防御に関与すると述べている。

今回の犬における *B. gibsoni* 感染試験では原虫の急激な増殖は同時に PCV の減少を招き、抗体価を上昇させた。しかも抗体価がほぼ最高値に達すると次第に原虫の寄生率が低下して、PCV も増加の傾向を示し、この時期に再攻撃しても全く反応が認められなかった。これらの所見は、液性抗体と parasitemia の抑制、あるいは再感染に対する抵抗性とある程度の関連を示唆するものといえる。しかし今回の実験では細胞性免疫についての検討を行なわなかったため再攻撃に対する抵抗性に液性あるいは細胞性免疫のいずれがより大きな役割を果しているかは速断できない。

Cyclophosphamide はアルキル化剤の 1 種で radiominetic な作用を持ち、DNA に作用して細胞分裂を抑制する。また、リンパ球中特に B-cell の反応を選択的に抑制する傾向があるといわれている<sup>10)</sup>。また本剤は抗体産生の primary response の時期に投与しても、

抗原接種後投与しても抗体産生抑制作用を示す<sup>1)</sup>。Cyclophosphamide を *B. gibsoni* 感染犬に投与した結果、抗体産生の primary response を抑制し、回復期に投与して抗体価の低減傾向を示したが、原虫の増殖性およびその結果として起こる貧血にはほとんど影響を与えなかった。これは cyclophosphamide の投与量および期間にもよると思われるが、少なくとも犬の *B. gibsoni* に対する染感防御機構を液性抗体の作用のみで説明することの困難なことを示している。

Dexamethasone の免疫抑制機序はリンパ球、特に胸腺リンパ球に対して“toxic”に作用し、lymphokine に対する macrophage の反応を減弱させ、リンパ球の lysosome 膜を“stabilizing”する結果 lysosomal enzyme の分泌を抑制し、抗原処理を減弱させる<sup>10)</sup>。このような作用機序により dexamethasone は液性抗体よりも細胞性免疫抑制に作用するといわれている<sup>1)</sup>。*B. gibsoni* 感染犬に dexamethasone を投与すると原虫の寄生率を著明に上昇させ、貧血を増強させたが、抗体の産生には著しい影響を与えなかった。すなわち *B. gibsoni* 感染犬の免疫は cyclophosphamide 投与に比べ、dexamethasone 投与により、より強く抑制されることが明らかとなった。これは *B. gibsoni* の免疫機構に細胞性免疫の関与を示唆するものといえる。

Phillips ら<sup>4)</sup>は *B. rodhaini* 感染ラットを用いた研究で赤血球内寄生原虫感染時の脾臓の役割として、抗体産生、寄生赤血球貪食による原虫排除および造血をあげている。Roberts<sup>5)</sup>は同じ *B. rodhaini* 感染の際に免疫ラットの脾細胞を投与することによって、免疫賦与を実証し、抗体産生細胞と貪食細胞を多数含有する脾臓はこの両者によって感染防御を発揮すると考えている。今回の *B. gibsoni* の実験において、脾摘を行なった後接種すると致死経過をとったこと、および回復期に脾摘すると再発が起こり、重篤な症状を呈したことから、液性抗体による opsonin 作用であれ、細胞性免疫による lymphokine の macrophage 活性化であれ最終的には脾臓などの RES 系細胞による貪食作用が本症の感染防御に最も重要な役割を演じているものと考えられる。

## ま と め

*B. gibsoni* 感染赤血球を  $10^7/\text{kg}$  個静脈内に接種した 17 頭の雑種犬を、対照群、同数原虫再接種による再攻撃群、接種前後および回復期における dexamethasone 投与群、cyclophosphamide 投与群および脾摘手術群の 5 群に分け、*B. gibsoni* の寄生率、赤血球容積および抗体価の変化を比較し、次のような成績を得た。

1. 免疫抑制処置をしなかった対照群では全例死亡することなく、原虫寄生率の上昇に伴い赤血球容積が低下し、抗体価が上昇した。抗体価が最高値に達すると、原虫寄生率が



低下し、貧血も回復した。

2. 初回接種から第 50 日後の回復期に同数の原虫による再攻撃では、原虫寄生率、赤血球容積および抗体価に著変がなかった。

3. Dexamethasone を接種時および回復時に投与しても、抗体価に大きな影響を与えなかったが、原虫の寄生率が著明に上昇し、強度の貧血を示して 4 例中の 1 例が死亡した。

4. Cyclophosphamide の投与では、接種時投与により抗体価上昇の遅延、回復期投与では抗体価の低下が認められたが、全例死亡することなく原虫寄生率および赤血球容積は対照犬に比べて著変なかった。

5. 脾摘犬に接種した例では、全例が重篤な症状を呈し致死的な経過をとり、回復犬の脾摘により抗体価に大きな変化はなかったが再発が惹起され 2 例中 1 例が死亡した。

## 文 献

- 1) 畔柳武雄, 大高裕一, 松橋 直, 1974. 免疫抑制療法, 医学書院, 東京.
- 2) Levine, N. D., 1973 Protozoan parasites of domestic animals and man. pp. 317-346. Burgess publishing company, Minnesota.
- 3) Phillips, R. S., 1969 The protective activity of serum from immune rats against *Babesia rodhaini*. Parasitology, **59**: 357-364.
- 4) Phillips, R. S., 1969 The role of the spleen in relation to natural and acquired immunity to infections of *Babesia rodhaini* in the rat. Parasitology, **59**: 637-648.
- 5) Roberts, J. A., 1968 Adoptive transfer of immunity to *Babesia rodhaini* by spleen cells from immune rats. Aust. J. exp. Biol. Sci., **46**: 807-808.
- 6) Roberts, J. A., Kerr, J. P. and Tracey-Patt, P. D., 1972 Function of the spleen in controlling infection of *Babesia rodhaini* in micl. Int. J. Parasit., **2**: 217-226.
- 7) Rogers, R. J., 1974 Serum opsonins and the passive transfer of protection in *Babesia rodhaini* infection of rats. Int. J. Parasit., **4**: 197-201.
- 8) Schindler, R., Wokatch, R. and Schroder, G., 1966 Immunität and Serologische Reaction gegen *Babesia canis* bei Hunden nach Infection mit lebenden Parasiten und nach Immunisierung mit einem Löslichen Antigen. Z. Tropenmed. Parasit., **17**: 226-240.
- 9) 田村 孝 1977 *Babesia gibsoni* 実験感染犬における臨床所見と抗体との関係についての研究. 酪農学園大学紀要, **7**: 141.
- 10) Tizard, I., 1977 An introduction to veterinary immunology, pp. 553-554. Saunders company, Philadelphia.

## Summary

Seventeen mongrel dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni* were treated with challenge infection, namely with cyclophosphamide and dexamethasone injections and splenectomy.

All dogs of the control group which had not received immunosuppressive treatment recovered from temporal parasitemia and anemia when the antibody

titer reached a peak. No changes worthy of note were observed in parasitemia, packed cell volume and antibody titer by the challenge infection at the recovery stages. When dogs were treated with dexamethasone at an early and recovery stage, parasitemia and anemia increased and one out of four experimental dogs died because of extreme anemia. But no remarkable changes in antibody responses were seen during the dexamethasone treatment as compared with control. The antibody responses tended to be delayed by injection of cyclophosphamide in the early stages of infection and antibody titer decreased by injection in the recovery stage. No changes worthy of note were observed in parasitemia and packed cell volume in the both stages as compared with control. When splenectomized dogs were experimentally infected with *B. gibsoni*, the dogs died by severe parasitemia and anemia. Recurrence of babesiosis was observed in splenectomy of dogs in the recovery stages and one out of two experimental animals died. But no antibody titer fluctuations were seen by this treatment.

It seemed that the spleen might play an important role in the immune mechanism of dog infected with *B. gibsoni* and that cell mediated immunity might also be related to the protection of the infection.