

馬伝染性貧血における血清蛋白質の電気泳動分析所見と
末梢血のリンパ様細胞の電子顕微鏡的観察

田村 俊二・清水 祥夫・小山石好宏

高橋 良平・大石 秀夫

(帯広畜産大学薬理学教室)

山下 忠幸

(帯広畜産大学解剖学教室)

1976年5月31日受理

Electrophoretical Findings of Serum Proteins and Electron Microscopic
Observation of Lymphoid Cells in Peripheral
Blood of Equine Infectious Anemia

Shunji TAMURA*, Yoshio SHIMIZU*, Yoshihiro KOYAMAISHI*, Ryohei
TAKAHASHI*, Hideo OH-ISHI* and Tadayuki YAMASHITA**

I 緒 言

わが国における馬伝染性貧血（伝貧と略記）陽性馬の数は、末梢血の担鉄細胞検出を主とする診断法によって淘汰されてきた結果、年々減少の傾向にあり、その患畜摘発率は昭和48年の0.23%に比べ、49年では0.09%と激減している。しかし、この検査法の的中診断率は、おおよそ64.0~69.0%とされ、とくに、慢性に経過した伝貧馬においては担鉄細胞の検出率はわずかに10%ぐらいで、この検査でのがれた伝貧馬が、時として、再燃などで感染源になり集団発生に発展する危険性があり、すでに、各地の競馬場の競走馬に時を同じくして多数の伝貧馬の集団発生があり、何れも殺処分された事例を見る時に現行の担鉄細胞検出による診断法の適用のみでは防疫の完璧を期すことは至難である。したがって、早急に診断法を改善し、適確な診断法にもとづき、「検査・淘汰」方式を防疫の基本として、本病の防圧に資することは極めて重要である。昭和45年以来、馬白血球、さらには、E. Dermis 細胞および馬腎細胞の感染培養液よりすぐれたウィルス抗原が得られるようになり、これを用いた寒天ゲル内沈降反応が伝貧診断法として世界各国で実施されるようになり、わが国でも野外応用試験で、その特異性が明らかにされたので、担鉄細胞検出との比較試験で、すぐれた診断的価値が認められた。とく

* Department of Veterinary Pharmacology, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido, Japan.

** Department of Veterinary Anatomy, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido, Japan.

に、担鉄細胞陰性の慢性伝賃馬でも終始寒天ゲル内沈降反応陽性を示し、その血液ないし臓器乳剤の健康馬への馬体接種試験で、長期間にわたりウイルスを保有していることが確認された。今回、私どもは、23才の高齢のサラブレッドで過去3カ年の定期検診で、いずれも担鉄細胞陰性であったが、寒天ゲル内沈降反応は陽性を示したので、1974年4月以降、本学に係留し、337日の長期間にわたり視察する機会を得た。その間、無熱に経過、担鉄細胞は全く検出されず、寒天ゲル内沈降反応は陽性を示し、肝臓穿刺による組織学的検査で慢性型伝賃と診断されたのである。そこで、当該馬の血液を健康馬に接種し、ついで、感染発症後の血液を継代して、健康馬に接種したところ、現在、387日の経過で3回の発熱を反復し、感染が成立した。感染発症後、担鉄細胞が末梢血液中に多数出現していたが、接種後、186日以降消失し、かなり長期間、全く検出されていない。しかし、この時点で、末梢血から蒐集した白血球の電子顕微鏡的観察で、small lymphoid cell (小型リンパ様細胞、 \emptyset 細胞と略記)と推察される大きさ8~10 μ の円形細胞が多数確認されたので、とくに、これらの細胞の電子顕微鏡像を中心に、血清蛋白質の電気泳動分析所見と関連させて検索したので、その成績を報告する。

II 材料および方法

1 23歳のサラブレッド (No. 28) の血液を出発材料としたが、当該馬は繁殖牝馬として9頭を出産し、内3頭は生後まもなく伝賃と診断され、母馬は担鉄細胞陰性ながら要注意馬として観察し、3カ年にわたる定期検診で現行診断基準にてらし、伝賃真症と診断されるに至らず、1974年4月以降、本学に係留視察した。その間無熱に経過し、かなりの頻度で検索した末梢血液中の担鉄細胞は全く陰性であったが、寒天ゲル内沈降反応は終始陽性を示した。その新鮮血液 (全血および脱線血各100ml) を健康馬の静脈内および皮下にそれぞれ接種した。

2 被接種馬は2歳のブルトン種、牝馬 (No. 30) で、感染発症後の初回熱発時 (39.3C) の血清1mlを4歳のポニー種、牡馬 (No. 31) の皮下に接種したが、54日の経過で発症せず、再度、初回熱発極期 (40.5C) の血清を同量皮下に接種し、感染を成立させた。

3 その感染発症後の慢性に経過した時点、すなわち、接種後311日目、担鉄細胞は完全に消失していた時期の新鮮血液50mlを6歳の和種、牝馬 (No. 32) の静脈内に接種した。

4 血清蛋白質のアガロースゲル電気泳動分析像: Seakem agarose を8% $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ に0.2%の割合で溶解した緩衝液 (pH 8.5) 中にて、あらかじめ10分間の予備泳動 (75V, 40mA) を行い、300Vの定電圧、120~130mAの電流で40分間電気泳動分析を実施した。分離後の分画は Spectrophor-I (Bausch & Lomb) で205 μm の紫外吸収により測定し、濃度比を算出した。

5 血清蛋白質の超遠心分析像: 分析用超遠心機 (Beckman Spinco) を用い、ペロナール緩衝液 (pH 8.6, μ 0.1) に血清を2g/dlの割合に稀釈し、52,000 rpm, 20C, 80分間超遠心分析を行った。Schlieren 光学系により超遠心分析像を写真撮影後、濃度比を算出した。

6 ℓ 細胞の電子顕微鏡像：加 EDTA 血漿から赤血球を除き、速かに白血球を集め、1% オスミツク酸 (Milloning 醋酸・ペロナール緩衝液, pH 7.3) 固定により、型のごとく Epon 812 に包埋後、600~900Å の超薄切片を作成、ウラン・鉛重染色を施し、電子顕微鏡 (JEM E-7) にて観察した。

Ⅲ 結 果

1 23歳のサラブレッドで長期間無熱に経過し、担鉄細胞の出現が全くなく、肝穿刺所見で極めて平穏な慢性型伝貧像 (Plate I, a·b) を呈し、寒天ゲル内沈降反応は終始陽性を示した。血清蛋白質所見は Albumin (Alb. と略記) 25.5%, α_1 -globulin (globulin を glob. と略記) 7.0% α_2 -glob. 10.0%, β -glob. 23.5%, γ -glob. 34.0% で、超遠心分析像では 3.5S 48%, 7S 48.1% 19S 3.9% を示し、 γ -glob. の増加が認められた。このような自然感染慢性伝貧馬の全血および脱線血各 100ml を健康馬 (No. 30) の静脈内、頸側皮下にそれぞれ接種して、感染発症後の経過を長期間にわたり視察した (Fig. 1)。その結果、接種後 13 日目に初回熱発があり 39.1~39.3C の軽度の発熱が持続した。さらに、15 日目に 40C をこえる発熱があり、37 日目に発熱を回復し、5 日間継続した。その後、54, 73, 93, 95, 110, 162, 189 日と発熱を繰り返したが、54 日目の 40.5C (3 日間継続) を除いて 39.1~39.3C で何れも軽微なものであった。そこで、189 日目の発熱後、ほとんど無熱に経過したので、302 日目にクロモマイシン A3 サクシネート “トヨマイシン” 10mg およびデキサメサゾン “コルソン P” 10mg を 10 日間持続して投与、さらにコルソン P を単独投与したところ、40.1C の高度の熱発をきたし、重篤な症状を呈した。その時点、すなわち、接種後 318 日目に殺処分した。担鉄細胞は初回熱発と同時に出現し、熱分利後は 3~18 個 (白血球 1 万個当り) と常時検出され、55 日目には 87 個の多数の出現があり、担鉄小型リンパ様細胞が過半を占めた。25 日目の肝穿刺所見では細網内皮系の軽度の活性化、類洞内に小円形細胞の軽度の浸潤と小結節の形成があり、グリソン氏鞘にも所により小円形細胞の浸潤が認められ、慢性型伝貧の組織像を示した。一方、寒天ゲル内沈降反応は 22 日目に漸く標準陽性血清との間に沈降線が先端屈曲として観察され、完全に独立した沈降線の形成は 29 日目であった。それ以降、終始継続して陽性を示した。アガロースゲル電気泳動分析 (Table 1) で当初 Alb. 25.5%, α_1 -glob. 8.5%, α_2 -glob. 15.0%, β -glob. 32.5%, γ -glob. 18.5% であったが、接種後 55 日目の担鉄細胞が異常に増加した時期でも Alb. 20.0%, α_1 -glob. 9.5%, α_2 -glob. 12.0%, β -glob. 39.0%, γ -glob. 19.5% で、Alb. の減少と β -glob. の増加をきたしたが、 γ -glob. には 76 日目までほとんど変化がなかった。その後、 γ -glob. は暫時増加し、300 日目で 36.0% の濃度比を示した。この時期に前記の抗腫瘍薬を投与したところ、9 日目に軽度の発熱 (39.2C), 11 日目に 39.5C, さらに、16 日目に 40.1C と高度の熱発を見た。 γ -glob. は減少の傾向を示し、13 日目の所見は Alb. 33.5%, α_1 -glob. 9.0%, α_2 -glob. 8.5%, β -glob. 22.0%, γ -glob. 27.0% で、 γ -glob. の著し

Table 1. Changes in serum proteins in the horse No. 30 experimentally infected with EIA

Days after Inoculation	TP(%)	Albumin (%)	Globulins (%)				Sid.*	ID**
			α_1	α_2	β	γ		
0	7.4	25.5	8.5	15.0	32.5	18.5	0.0	—
13	7.4	24.0	9.0	11.0	39.5	16.5	0.8	—
14	7.4	22.5	9.5	12.0	38.5	17.5	3.3	—
17	7.2	23.0	9.5	12.5	37.5	17.5	3.6	—
18	7.0	22.5	9.5	12.0	36.0	20.0	3.0	—
20	7.2	22.5	8.5	14.0	35.5	19.5	8.9	—
24	7.4	21.5	10.0	11.5	37.5	19.5	8.0	+
29	7.2	21.5	9.5	11.0	39.0	19.0		+
34	7.3	21.5	9.5	11.0	40.5	17.5		
36	7.0	22.0	10.0	12.0	38.5	17.5	3.5	+
42	7.0	21.0	9.0	12.5	38.5	19.0	18.0	+
50	7.2	21.5	10.0	11.5	40.0	17.0		+
55	7.2	20.0	9.5	12.0	39.0	19.5	87.0	+
60	7.2	20.5	10.0	11.5	37.5	20.5	4.8	+
70	7.3	22.0	8.0	12.0	41.0	17.0	1.8	+
76	7.2	20.5	9.0	11.5	38.5	20.5	1.9	+
83	7.0	20.0	8.0	14.5	34.5	23.0	2.2	+
99	7.0	21.5	9.0	12.5	32.0	25.0	3.5	+
100	7.0	21.0	9.0	11.0	33.0	26.0		
106	6.8	21.5	9.0	16.5	29.0	26.0	2.2	
122	7.0	22.5	10.0	11.0	30.5	26.0	27.6	
124	7.0	22.5	10.5	11.0	31.0	24.0		
161	6.2	24.0	10.5	13.5	27.0	25.0		
175	6.4	22.5	11.0	12.0	28.0	26.5		
177	7.0	25.0	5.0	10.0	28.5	31.5		
213	7.6	25.0	6.0	10.0	28.0	31.0	6.0	
236	6.9	26.5	5.0	9.5	26.0	33.0		
242		25.0	6.5	10.0	26.0	32.5		
246	6.9	24.5	7.0	10.0	27.0	31.0		
249	6.8	24.5	6.5	9.0	28.5	31.5	5.0	
272	7.2	23.0	6.0	9.0	28.0	34.0		
277	7.2	24.5	5.5	9.0	26.5	34.5	6.0	
280	7.0	24.5	5.5	9.5	26.0	34.5		
281	7.0	25.0	5.0	9.5	26.5	34.0		
300	7.4	27.0	4.5	10.5	22.0	36.0	16.0	

Sid.* Siderocytes/ 10^4 leucocytes

ID** Immunodiffusion test

い減少をきたした (Table 2)。なお、担鉄細胞は完全に消失するには至らず、投与期間、1個 (白血球1万個当り) まで減少した。以上のように、担鉄細胞陰性でありながら、寒天ゲル内沈降反応は終始陽性を示し、組織所見でも極めて平静な慢性型伝貨が確認された自然感染伝貨馬の大量の血液を健康馬に接種したところ、極めて早い時期に発熱があり、担鉄小型リンパ様細

Table 2. Changes in serum proteins in the horse No. 30 experimentally infected with EIA after administration of Chromomycin A3 succinate and Dexamethasone

Days after inoculation	TP(%)	Albumin (%)	Globulins (%)				sid.*	ID**
			α_1	α_2	β	γ		
302	6.9	26.0	6.0	8.5	24.0	35.5	7.1	
303	7.9	25.5	6.0	9.0	23.0	36.5	6.0	+
304	7.9	25.5	7.0	8.0	24.0	35.5	7.0	
305	7.8	26.0	8.5	8.0	23.5	34.0	5.0	
306	7.9	28.5	7.5	9.5	24.5	30.0	1.0	
307	7.5	29.0	8.0	9.5	24.5	29.0	1.4	
308	7.3	28.0	8.0	9.0	24.5	30.5	3.9	
309	6.8	30.5	9.0	8.0	21.5	31.0	3.9	
310	6.6	29.0	8.0	9.0	24.0	30.0	4.5	
311	6.9	33.0	8.5	8.0	21.0	29.5	2.0	
312	6.8	31.5	8.0	8.5	21.5	30.5	2.0	
313	6.6	29.5	9.5	9.0	22.5	29.5	7.0	
314	6.4	30.0	10.0	8.5	22.0	29.5	2.0	+
315	6.0	33.5	9.0	8.5	22.0	27.0	3.0	
317	6.0	31.0	8.5	8.0	21.0	31.5		
318	6.3	31.0	9.0	9.0	21.0	30.0	20.0	

Sid.* Siderocytes/10⁴ leucocytes ID** Immunodiffusion test

胞の出現および寒天ゲル内沈降反応陽性を示し、肝穿刺所見も慢性型伝貧像を呈し、伝貧感染を肯定する十分な所見を得た。

2 さらに、この感染馬の初回熱発時（接種後13日目、39.3C）の血清1mlを健康馬（No. 31）の頸側皮下に接種したが、発熱は全くなく、55日目の肝穿刺所見では伝貧病変を確認できず、担鉄細胞、寒天ゲル内沈降反応ともに陰性であったので、再度、40.5Cの高度の発熱をきたした接種後16日目の血清を1ml同様皮下に接種した。その結果、36日目に40.2Cの熱発があり、3日間継続した。その後、97および172日目に発熱を回復し、感染が成立し、現在（1976年5月30日）、387日の慢性経過をとっている（Fig. 2）。担鉄細胞は37日目に出現し、最高49個（白血球1万個当り）を数え、多数の担鉄小型リンパ様細胞が出現した。寒天ゲル内沈降反応は52日目にして漸く陽性を示したが、以来、陽性を持続している。39日目の肝穿刺所見すでに θ 細胞数の慢性型伝貧像が確認されている（Plate I, c. d）。さて、3回目の発熱後（接種後174日目）、現在213日以上無熱に経過しているが、このような慢性伝貧馬では主として担鉄小型リンパ様細胞が末梢血液中に多数検出されるはずであるが、本例は接種後186日以降、204日以上にわたり、全く検出されていない。この時期は病毒接種後、実に387日目である。このように末梢血液中の担鉄細胞が消失し、かなり長期間持続していることは極めて稀で、さきの23歳のサラブレッドの自然感染例と同様な経過をとるものと考えられる。そこで、光学顕微鏡的観察で担鉄細胞が検出されていないこの時点で、末梢血から蒐集した白血球の電子顕微鏡によ

る観察で、 ϕ 細胞と推察される大きさ8~10 μ の円形細胞が確認された。すなわち、正常な小型リンパ球は紐状の粗面小胞体(r-ER)をごく少数保有するのに比べ、嚢状に拡張するr-ERが局在性によく発達した ϕ 細胞(Plate II)の多数と、さらに、広い細胞質領域に極めて拡張し、あたかも運河状を呈し、低電子密度の内容を入れるr-ERが占めるもの(Plate III)、ならびに、核陥凹部側の広い領域に形質細胞のラッセル小体に近似の構造をもつ ϕ 細胞(Plate IV)の少数が観察された。これからの細胞は、さきに、山下ら²⁾が報告した慢性伝貧馬(No. 8)の末梢血で検出した ϕ 細胞(Plate V)のように、径8~10 μ の類円形で核は偏在性、細胞質はフリーのリボゾームに富み、不規則嚢状に拡張したr-ERが細胞質全域に発達し、ゴルジ野はやや広く、2~3層のゴルジ膜と多くの小胞からなっており、微細構造の比較から形質細胞とは明確に区別されるものである。このことから、光学顕微鏡下で担鉄細胞が検出されない時点でも、電子顕微鏡でとらえられた ϕ 細胞の数々は正常なリンパ球および形質細胞とは全く異質な細胞であり、定型的な ϕ 細胞とはやや趣きを異にし、蛋白産生・分泌機能はいささか劣るものの超微形態的には同一範疇に属する腫瘍性細胞と推察される。この時期、すなわち、接種後236日目の血清蛋白質分画濃度比は γ -glob. 30.0%を示し、わずかに増加する程度で、一時、34.0~35.5%と増加の傾向を示した接種後88~149日目の所見に比べ、かなりの減少をきたしたものと言える。その後の経過で、257日以降は接種前に比べ、 γ -glob. も他の分画にもほとんど変化がなく、濃度比28.0%前後を示した。また、超遠心分析像でも、わずかに19S成分の増加が見られる程度である。

3 このように、無熱に経過した伝貧馬(No. 31)の接種後306日目の血液50mlを健康馬(No. 32)の静脈内に接種したところ、15日目に初回熱発があり、2日間持続した。その後、軽度な発熱があったが、40日目に至り、40Cの高度の熱発を見た(Fig. 3)。担鉄細胞は17日目より出現し、暫時増加して、64日目には最高116個(白血球1万個当り)を数え、担鉄小型リンパ様細胞が42.0%を占めるに至った。寒天ゲル内沈降反応は26日目より陽性を示し、現在、接種後81日の経過で視察中であるが、伝貧感染は成立した。血清蛋白質分画濃度比は48日目より γ -glob. が増加し、35.0%を示し、超遠心分析像でも75日目の所見で、7S成分の増加が見られた。以上のように、サラブレッドおよびその継代接種馬(No. 31)で、たとえ、担鉄細胞陰性といえども、寒天ゲル内沈降反応陽性馬ではウイルス保有が馬体接種試験で明らかにされた。このことは、福永ら³⁾が3例の接種実験例について、また、農林省畜産局衛生課主催の馬伝染性貧血診断基準検討会(1975)の席上で、中島らが担鉄細胞陰性、沈降抗体陽性例の馬体接種試験で、15例の接種材料中、10例にウイルスが証明されたと報告している。

IV 考 察

中島³⁾および中島ら⁴⁾は in vitro で伝貧ウイルスを感染させた培養細胞の超薄切片のウイル

ス増殖像を電子顕微鏡的に観察した。すなわち、細胞表面から出芽様式により粒子が成熟していく過程を見、RNA ウイルスでありながら、その増殖初期に DNA 合成を必要とするとしている。しかも、ウイルス粒子内に RNA 依存 DNA 合成酵素の存在が明らかにされ、この酵素を含有しているウイルスのほとんどが RNA 腫瘍ウイルスに限られており、ウイルス感染による *in vitro* の培養細胞の腫瘍化に強い関心を示している。RNA 依存 DNA 合成酵素により、ウイルス RNA は DNA に転写され、これが感染細胞のクロマチンの一部に保有される可能性を示唆し、ウイルス増殖の初期に DNA 依存の時期があるとしている。このように、伝貧ウイルスの生物学的、形態学および理化学的性状から、白血病ウイルスにきわめて類似した性質をもっているもので、馬の細胞核内に遺伝子として組み込まれ、ウイルス感染を契機に異なった抗原型として出現するという推論とともに、伝貧において増殖する形質細胞あるいはリンパ細胞とウイルスとの関連に興味を示している。

さて、山極ら⁹⁾は伝貧本態論で、伝貧ウイルスは急性型、亜急性型および再燃型病変において、実質変性を起こし、さらに、重要な病変として、亜急性型でみる L 細胞増数および慢性型ならびに再燃型に現われる ℓ 細胞の増数で、ウイルス感染がもたらす繁殖性病変として、リンパ節髄索にその主座をもって増殖した細胞は固有のリンパ球をしのぎ、リンパ洞内にいき、これがリンパの流れを介して循環系に入り、流血により全身の臓器にも運ばれ、主として、小型リンパ様細胞 (ℓ 細胞) が末梢血にも出現するとしている。いわゆるリンパ様細胞は大型 (L 細胞) および小型 (ℓ 細胞) に分類し、これらの細胞はリンパ球とは区別されるべきものとしている。さらに、山極⁹⁾は獣医病理学特論において、これらの細胞に電子顕微鏡的考察を加え、末梢血の L 細胞 ($10\sim 13\mu$) および ℓ 細胞 ($8\sim 10\mu$) は母組織であるリンパ節に増殖するリンパ様細胞と大きさの差こそあれ、微細構造上、全く一致するものとしている。すなわち、細胞質はリボゾームに富み、不規則囊状に拡張した粗面小胞体が発達し、ゴルジ野は正常なリンパ球に比べ広く、2~3層のゴルジ膜と、多くの小胞からなっている。このことから、粗面小胞体の発達きわめて顕著、細胞質全体に充滿し、扁平囊状、層状配列をとる形質細胞とは明らかに異なっている。また、坂本が光学顕微鏡下でとらえた小型担鉄細胞は、山極・大島により“small lymphoid cell”と記載されたものと形態的に一致するとし、全身リンパ節を基地として、 ℓ 細胞由来の担鉄小型リンパ様細胞が胸管をへて流血中に出現するもので、慢性型伝貧の末梢血液中に証明される担鉄細胞の大部分を占めるものとし、他の担鉄細胞、すなわち、担鉄単球、担鉄好中球、小担鉄球、大担鉄球などと明らかに区別されうるものとした。また、この担鉄小型リンパ様細胞は小西・一条によって、位相差顕微鏡像としてとらえられ、さらに、山下・上田は、電子顕微鏡下で、 ℓ 細胞内に、単位膜と思われる限界膜をもち、その中に 120 \AA 大の unit particle よりなる顆粒塊を容れるものと、さらに、一層の膜で囲まれた小体に 100 \AA 以下の微細顆粒を含み、結晶状配列を示すことから、フェリチン顆粒塊であると、担鉄小型

リンパ様細胞を識別している。このように、リンパ節髄索を主要母組織として、増殖した lymphoid cell が末梢血液中にもまぎれもなく流出し、電子顕微鏡、位相差顕微鏡、さらに、光学顕微鏡下で、伝貧に特徴的な細胞として、その実態がとらえられたことから、伝貧の本質は白血病性なりとしている。

さて、伝貧ウイルスはその生物学的、理化学的、形態学的性状から白血病ウイルス類似のものであり、病理組織学的本態論からLおよび ϕ 細胞の増数はウイルス感染がもたらす繁殖病変であり、白血病性の病であるとしている。今回、私どもは接種伝貧馬のその経過中、担鉄細胞が全く検出されない時期においても電子顕微鏡の観察で、定型的 ϕ 細胞とは若干趣きを異にするも、微細構造上、全く同一のリンパ様細胞として他の細胞から区別されて、多数の細胞を確認しえた。慢性伝貧の本質として ϕ 細胞の繁殖病変を指摘した病理学的総合所見を思い合わせる時、本症例こそ、まぎれもなく ϕ 細胞性の白血病性疾患の感深きものであると言える。しかして、その1例の伝貧馬では、感染初期にかけて一時増加していた γ -glob.もその時点では全く増加が見当らず、超遠心分析像の7S成分もほぼ正常で、免疫グロブリンの同定はしていないが、多数の ϕ 細胞が末梢血に出現するといえども、体液性免疫を思わせる所見は極めて軽微なものと言えよう。いみじくも山極は伝貧免疫について、急性、亜急性、再燃型病変において、重要病変として実質変性をあげているが、そのかわりにおいて自己免疫を否定^すはないが、組織免疫の面から見るかぎり、抗体産生者として形質細胞の増殖は無視されてよいと論じ、免疫反応は一応微弱な事象に属すると結んでいる。このことから、私どもは伝貧病変を血清蛋白の動向の面からとらえ、増数した ϕ 細胞の蛋白産生・分泌は形質細胞のようなdynamicなものでなく、本症例のように複雑感染発症をとまわらない慢性型伝貧として推移するかぎり、 γ -glob.増減の消長はウイルス感染後の病勢の推移を意味するにすぎないのかも知れない。再び、ウイルス学的見解から、中島は伝貧において時期と型により形質細胞あるいはリンパ細胞の増殖があり、これらとウイルスとの関係に強い関心を示しているが、私どもは少なくとも慢性型では、特徴的に増数する lymphoid cell に焦点に合わせたい。

一方、野外伝貧材料で、寒天ゲル内沈降反応と担鉄細胞出現とにかなりの相違を示し、とくに、寒天ゲル内沈降反応陽性例数167頭に対し、担鉄細胞陽性例数は26頭で、一致した百分率はわずか15.6%にすぎないとしている（昭和46年～49年度に家畜衛生試験場の調査成績²⁾）。もちろん、この成績は1回みの抽出試験結果によるものであるが、慢性伝貧馬における担鉄細胞の検出がいかに至難であるかを指摘している。このように、光学顕微鏡的には担鉄細胞として観察されえないにしても、たとえその時期のいかんにかかわらず、電子顕微鏡下では特徴的に増数する lymphoid cell を識別してとらえるもので、慢性伝貧における本細胞の出現の意義は大きい。

V 結 語

担鉄細胞陰性、寒天ゲル内沈降反応陽性を示した伝貧馬の血液を健康馬に接種し、感染発症後の血液をさらに、健康馬に接種した。その結果、36日目に発熱があり、387日の経過において、3回の発熱を反復し、感染が成立した。39日目の肝穿刺所見で慢性型伝貧像が確認された。担鉄細胞は37日目に出現し、最高49個（白血球1万個当り）を数え、担鉄小型リンパ様細胞が過半を占めた。寒天ゲル内沈降反応は52日目に陽性になった。なお、3回目の発熱後、213日以上にわたり無熱に経過し、末梢血の担鉄細胞は204日以上も消失している。現在、接種後387日目で典型的な慢性経過をとっている。このように、光学顕微鏡下で担鉄細胞が全く検出されない時点において、末梢血から蒐集した白血球の電子顕微鏡的観察で、lymphoid cellと解される大きさ8~10 μ の円形細胞が確認された。すなわち、正常な小型リンパ球は紐状の粗面小胞体(r-ER)をごく少数しか保有しないのに比べ、この細胞は嚢状に拡張したr-ERが局在性によく発達している。このようなlymphoid cellが多数出現し、さらにr-ERが広い細胞質領域に極めてよく拡張し、低電子密度の内容を入れた細胞と核陥凹部側の広い領域に形質細胞のラッセル小体に近似の構造をもつlymphoid cellが少数観察された。これらの細胞は、さきに、慢性伝貧馬の末梢血で検出した定型的なlymphoid cellと類似のものである。すなわち、その細胞は類円形で大きさ8~12 μ 、核は偏在性で、細胞質はフリーのリボゾームに富み、不規則嚢状に拡張したr-ERが細胞質全域に発達し、ゴルジ野は正常なリンパ球に比べ広く、2~3層のゴルジ膜と、多くの小胞からなっている。これらの性状は形質細胞とは明らかに異なっている。このように、慢性伝貧馬の末梢血に多数のlymphoid cellが検出されたが、定型的なlymphoid cellとは蛋白産生・分泌機能はやや劣るが、超微形態的には同一範疇に属するものと推察される。この時期の血清蛋白分画濃度比はAlb. 26.0%, α_1 -glob. 9.5%, α_2 -glob. 11%.0, β -glob. 25.5%, γ -glob. 28.0%で、感染後において、一時増加していた γ -glob.は減少した。超遠心分析像は3.5S 65.4%, 7S 29.92%, 19S 4.68%で、19S成分の僅かな増加が見られたのみである。

以上のように、接種伝貧馬において、担鉄細胞が全く出現しない時期でも電子顕微鏡的観察で、末梢血に多数のlymphoid cellが確認された。これらの細胞はリンパ節髄索に増殖するlymphoid cell (大きさ10~13 μ) と大きさの差こそあれ、同一のものと解され、細胞学的に見て、伝貧はまぎれもなく ℓ 細胞性の白血病群に属するものと考えられる。

文 献

- 1) 福永昌夫・田淵英一・平沢 澄・秋山 緯 (1974): 寒天ゲル内沈降反応による野外の軽種馬における馬伝染性貧血の調査成績と本反応陽性馬血液の馬体接種試験。日鏡研報, 11, 28~34.
- 2) 中島英男 (1975): 寒天ゲル内沈降反応による馬伝染性貧血の診断。家畜衛試年報, 16, 149~156.
- 3) 中島英男 (1976): 白血病ウイルスに似た馬伝染性貧血の病原体, 化学と生物, 14, 48~50.

- 4) 中島英男・杉浦健夫・牛見忠蔵 (1975) : 馬伝染性貧血ウイルスに認められた RNA 依存 DNA 合成酵素について。第80回日本獣医学会口頭発表。
- 5) 山極三郎・小野 威 (1968) : 伝染性貧血馬の病理学的研究 (第17報) 伝貧の本態について, 馬伝染性貧血に関する研究報告, 3, 123~181.
- 6) 山極三郎 (1975) : 獣医病理学特論, 東京, 文永堂, 15~25.
- 7) 山下忠幸・上田 晃 (1976) : 慢性伝貧馬におけるL細胞の電子顕微鏡的観察。日獣誌 (学会号), 29, 180~182.

Summary

This study was made to elucidate fundamental nature of chronic equine infectious anemia (EIA) using two horses, infected artificially with chronic EIA. The results obtained as follows.

No siderocytes were detected in the peripheral blood of No. 28 horse and the immunodiffusion test of the blood was positive. The blood from No. 28 horse, infected with chronic EIA inoculated into No. 30, a healthy horse. The same procedure was applied to No. 31 healthy horse, using the blood from No. 30 horse infected with EIA.

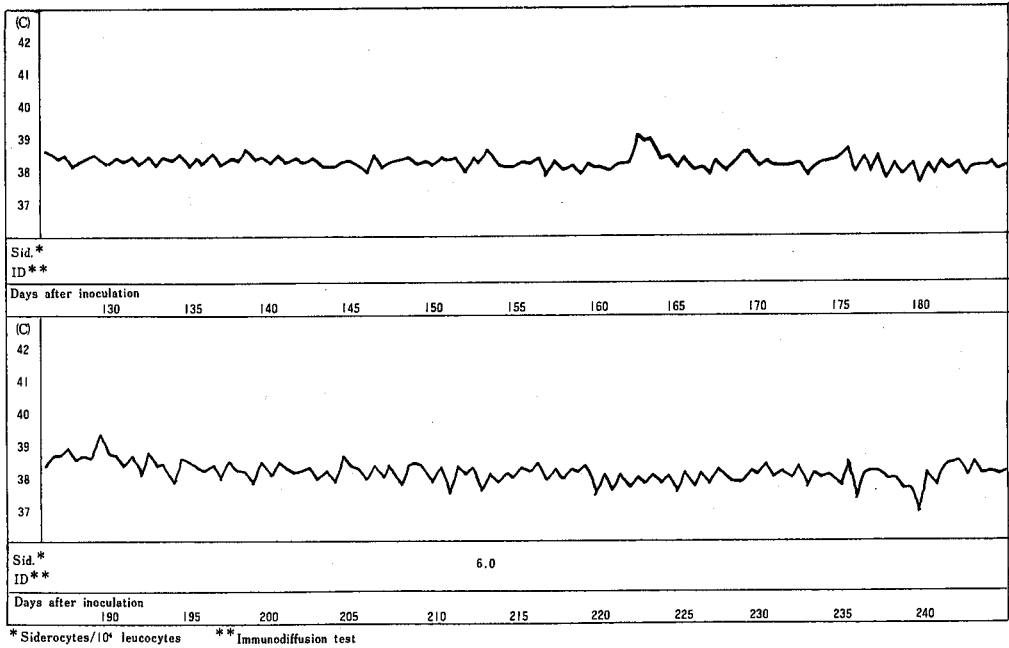
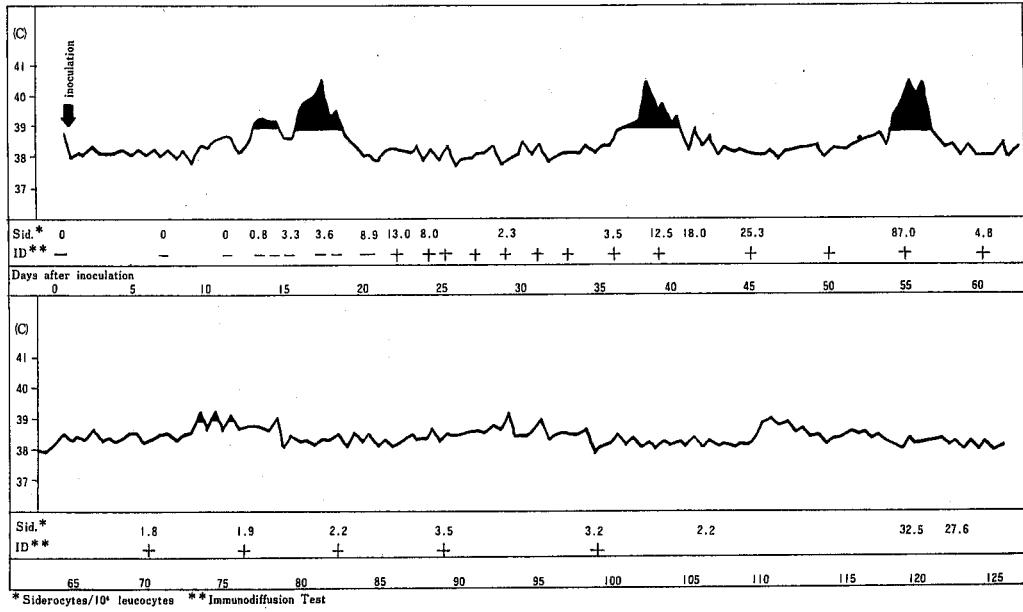
No. 31 horse showed the first signs of pyrexia in 36 days and three times in the course of 387 days after inoculation. This together with the findings of histopathological liver biopsy in 39 days suggests that No. 31 horse was infected with EIA. As regards No. 31 horse, the immunodiffusion test turned positive in 52 days and siderocytes, together with a number of lymphoid cells, were detected in 37 days, their maximal number amounting to 49 per 10,000 leucocytes. No. 31 horse did not show symptoms of pyrexia over a long period of 213 days since last pyrexia and siderocytes in the peripheral blood disappeared after 183 days, indicating that No. 31 horse was infected with typical chronic EIA.

Leucocytes were collected from the peripheral blood in which no siderocytes were detectable under an electron microscope. Small round cells were occasionally found. Most of them included locally developed, and vesicularly swelling rough surfaced endoplasmic reticulum (r-ER) (Plate II).

Cells containing extremely expanded r-ER of low electron density were rarely observed (Plate III). A small number of cells having a structure similar to Russel body around the concave part of the nucleus were also observed (Plate IV). These cells were clearly distinguishable from lymphocytes and plasma cells by their ultra fine structure and grouped into a category of small lymphoid cells (ℓ -cell).

The percentages of Albumin, α_1 -globulin (glob.), α_2 -glob., β -glob. and γ -glob. in serum protein were 26.0, 9.5, 11.0, 25.5, and 28.0, respectively. γ -Glob. which increased slightly at the early stage of infection, decreased 277 days after inoculation. Ultracentrifugation showed that the percentages of 3.5, 7, 19s in serum protein were 65.40, 29.92, and 4.68, respectively. These cells were considered to be the same as ℓ -cells propagating in the cortex of lymph nodes, except that the cells differed in size.

Viewing the results obtained in this study, chronic type EIA is considered to be leukemic leukosis of θ -cells.



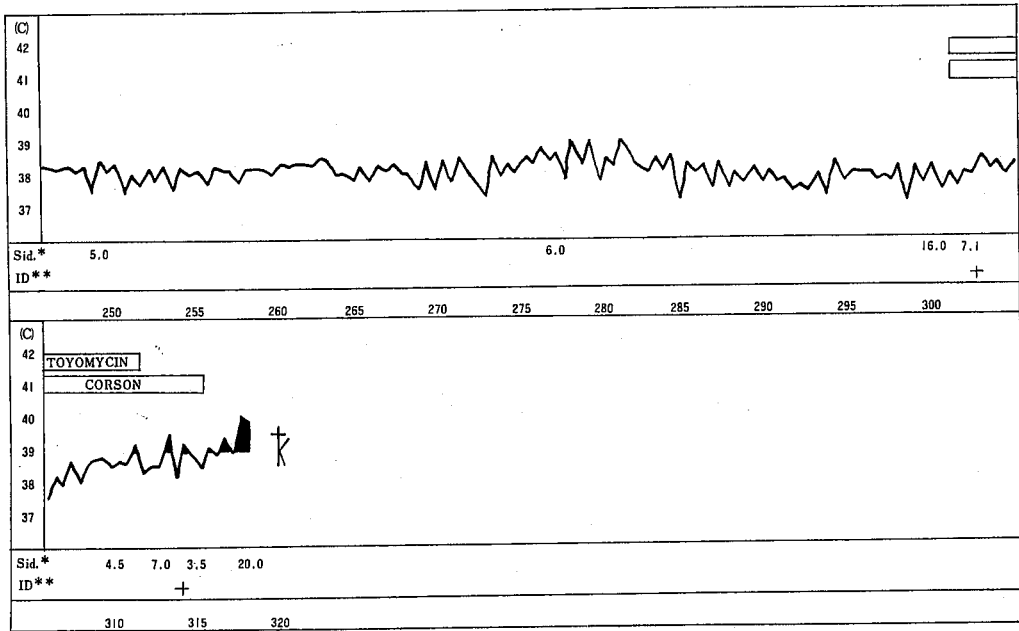
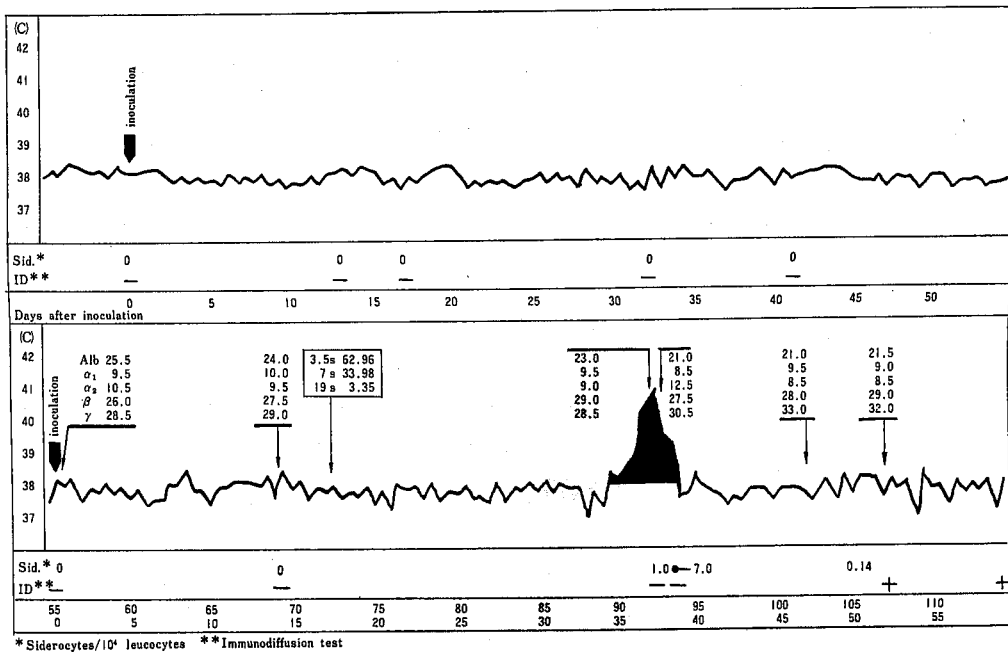
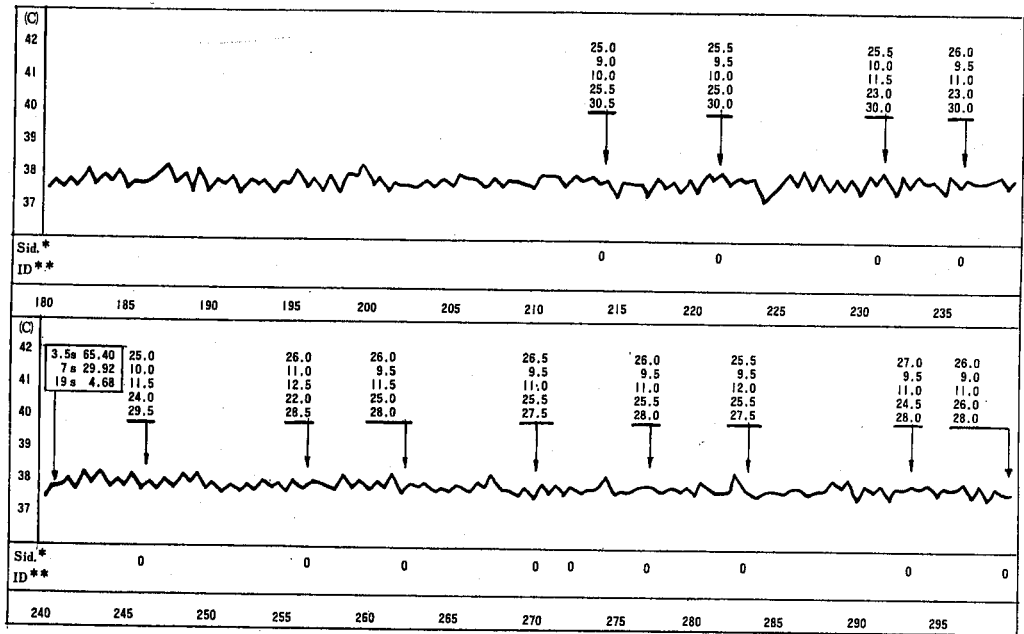
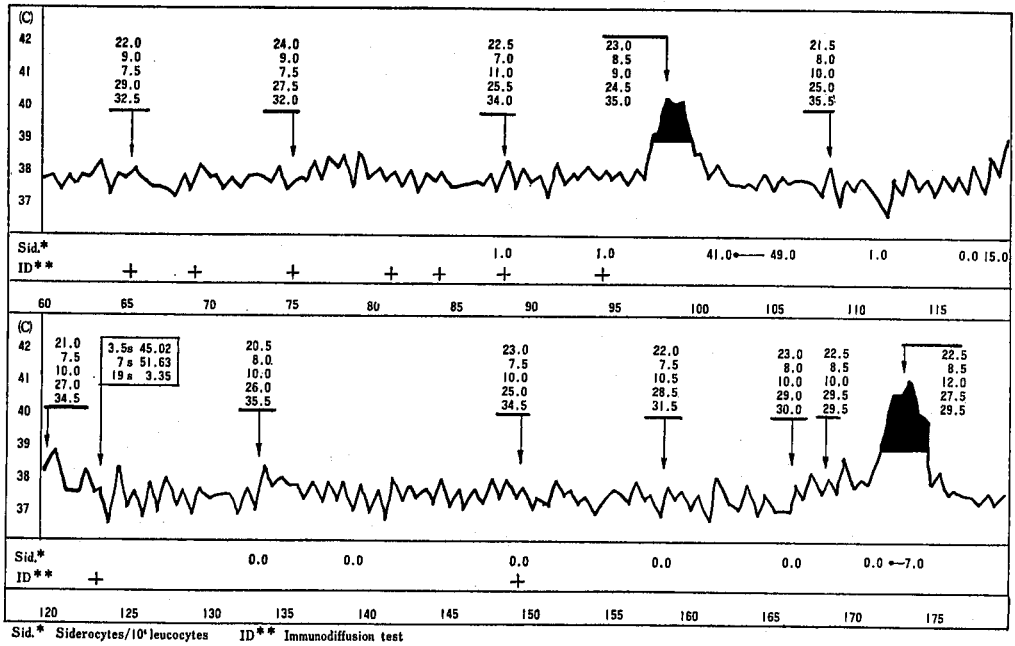


Fig. 1. Body temperature and number of siderocytes per 10^4 leucocytes in the horse No.30 experimentally infected with EIA



* Siderocytes/ 10^4 leucocytes ** Immunodiffusion test



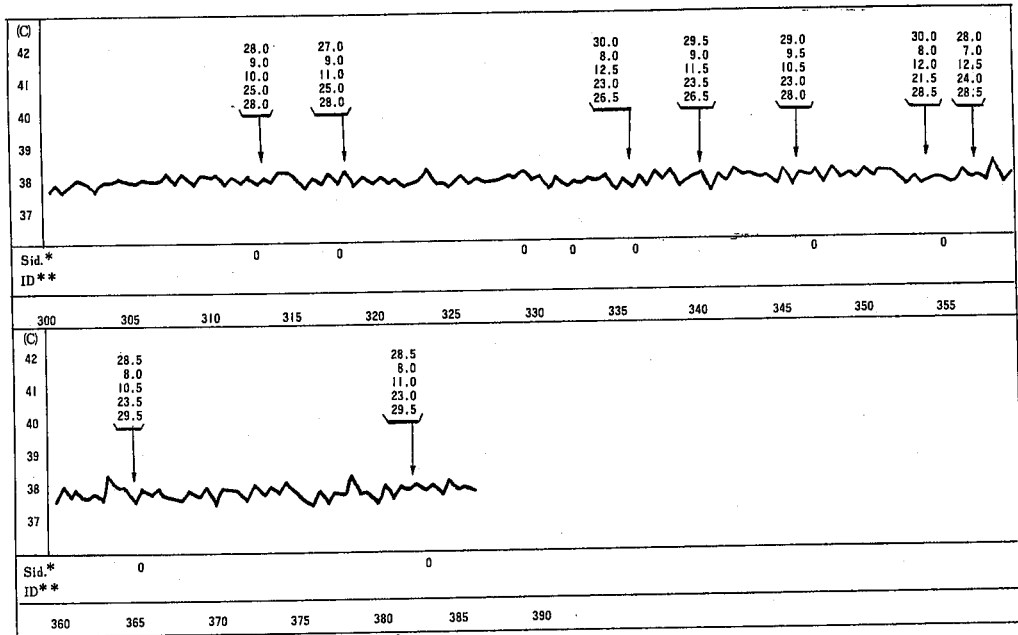


Fig. 2. Body temperature, number of siderocytes per 10^4 leucocytes and changes in serum proteins in the horse No.31 experimentally infected with EIA

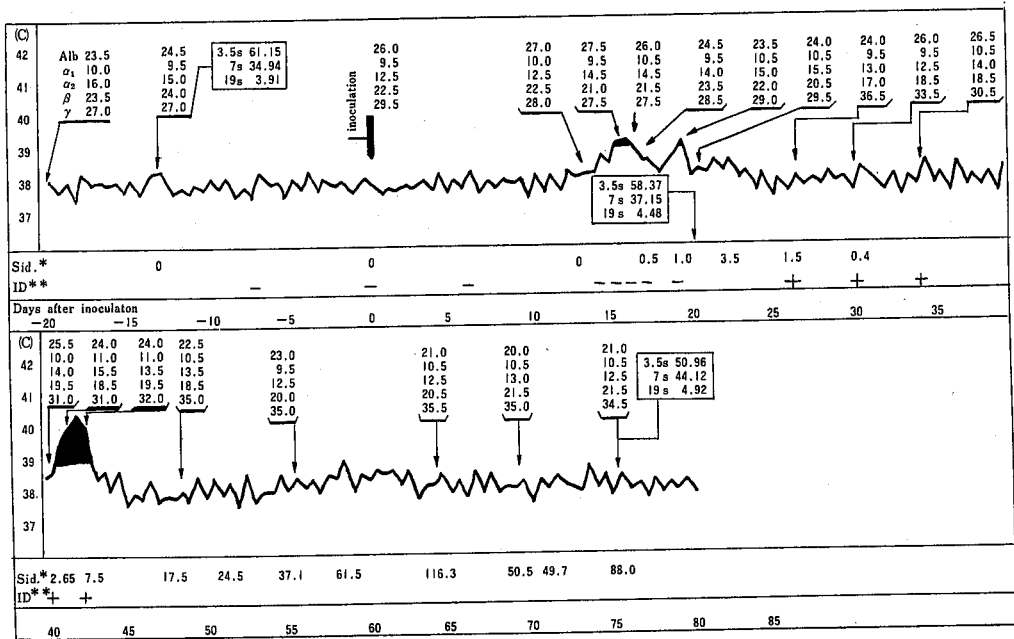


Fig. 3. Body temperature, number of siderocytes per 10^4 leucocytes and changes in serum proteins in the horse No.32 experimentally infected with EIA

Explanation of plate

Plate I

- Fig. a. Liver biopsy of No. 28 horse, stained with Haematoxylin Eosin (HE). $\times 110$.
 Fig. b. A part of Fig. a. $\times 220$.
 Fig. c. Liver biopsy of No. 31 horse, stained with HE, 39 days after inoculation.
 Cellular elements increased at the periportal areas. $\times 80$.
 Fig. d. A part of Fig. c. $\times 220$.

Plate II

- Fig. a. The micrograph of a ϱ -cell obtained from the peripheral blood of No. 31 horse, infected with chronic EIA.
 Most ϱ -cells observed were almost the same as that shown in this micrograph. $\times 13,500$.
 Fig. b. This is a micrograph of a higher magnification of the Golgi area in the same cell as in Fig. a. $\times 28,000$.

Plate III

- Fig. a. Micrograph of a ϱ -cell found rarely in the peripheral blood of No. 31 horse. $\times 11,000$.
 Fig. b. Higher magnification of a part of the same cell as in Fig. a. $\times 22,000$.

Plate IV

- Fig. a. The micrograph of another ϱ -cell found rarely in the peripheral blood of No. 31 horse. $\times 11,000$.
 Fig. b. This micrograph is a higher magnification of the right part of the same cell as in Fig. a. $\times 22,000$.

Plate V

- Fig. a. The micrograph of a typical ϱ -cell obtained from the peripheral blood of No. 8 horse. $\times 11,000$.
 Fig. b. This micrograph is a higher magnification of a part of Fig. a.
 Many free ribosomes were from polysome. $\times 27,000$.

Plate I

TAMURA, S. *et al.*

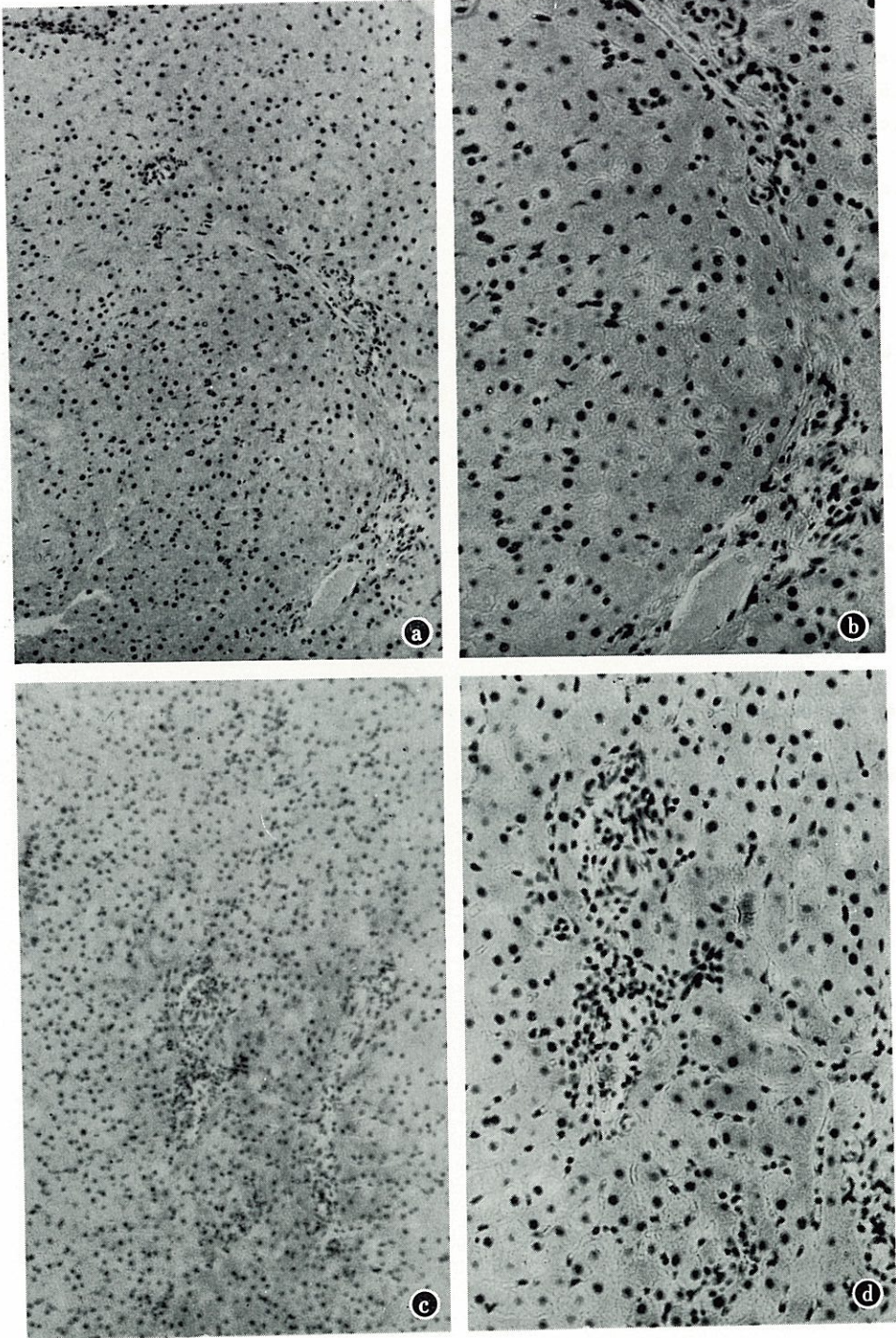
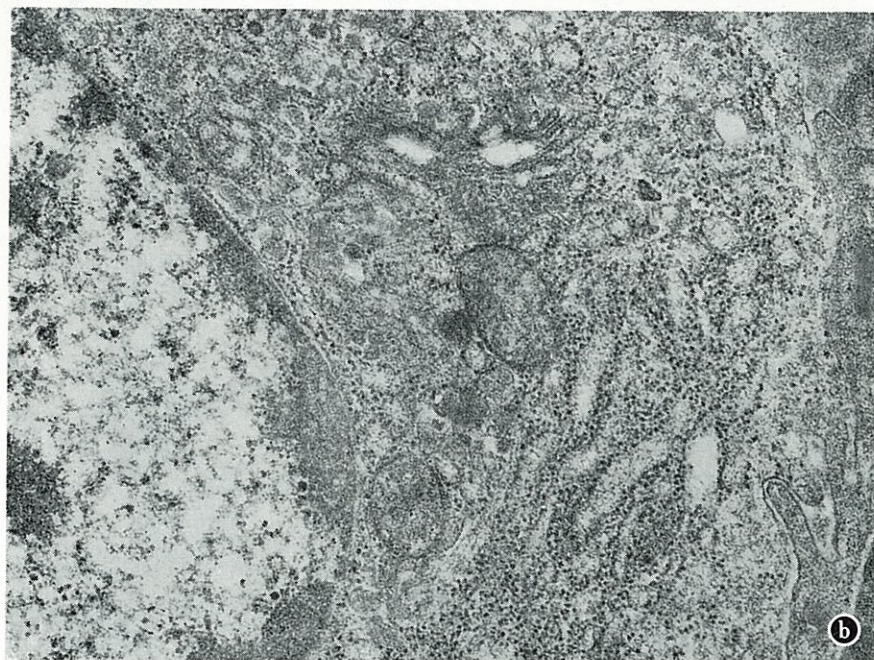
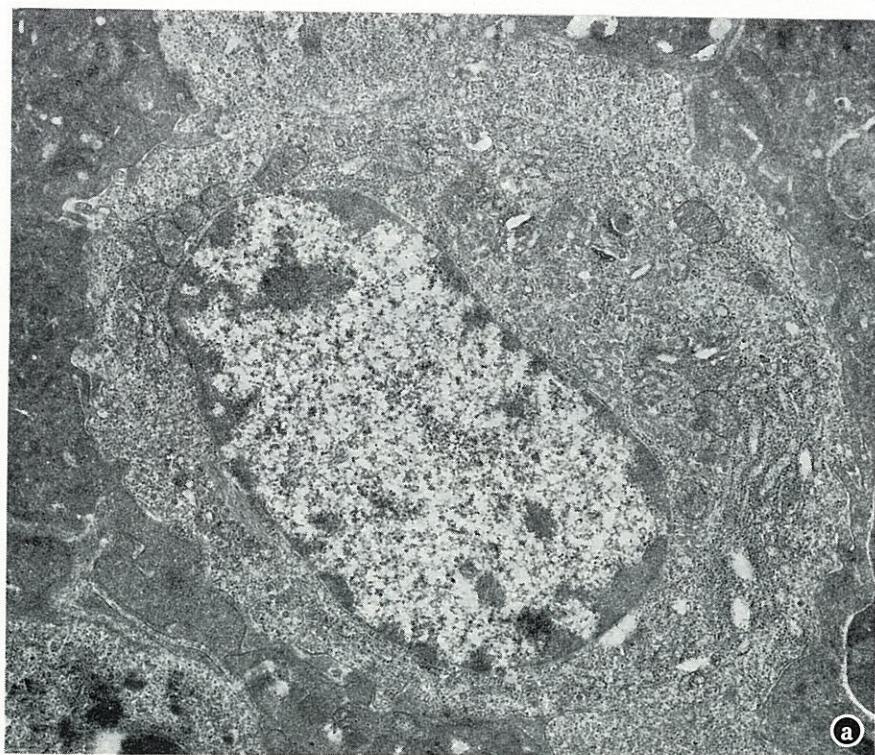


Plate II

TAMURA, S. *et al.*



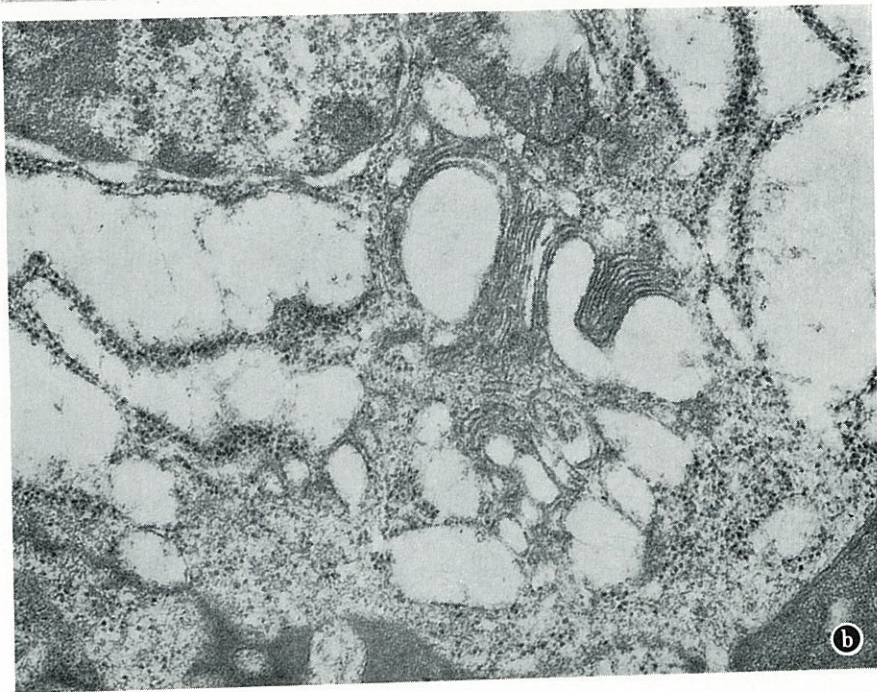
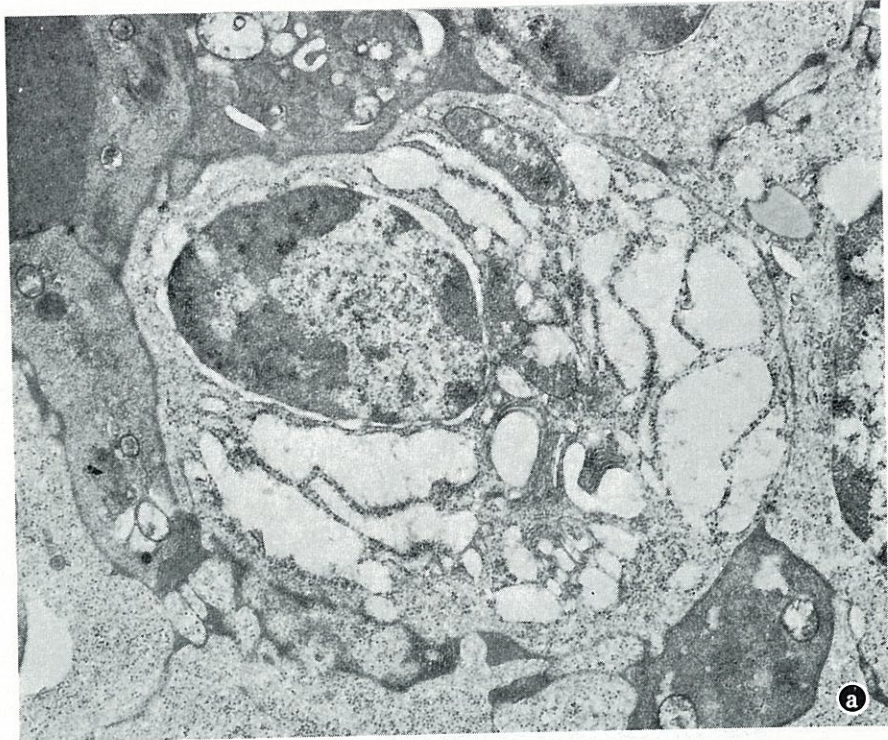


Plate IV

TAMURA, S. *et al.*

