

牛ヘモプラズマと小型ピロプラズマの干渉現象

田川 道人^{1,2)} 猪熊 壽¹⁾

1) 帯広畜産大学臨床獣医学研究部門

2) 岐阜大学大学院連合獣医学研究科

〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11

Tel/Fax:0155-49-5370

E-mail: inokuma@obihiro.ac.jp

ヘモプラズマ(図1)とは、赤血球表面に寄生するマイコプラズマの総称であり、感染により宿主に溶血性貧血を呈する [Messick : 2004]。ヘモプラズマは、以前 *Eperythrozoon* と呼ばれリケッチアに分類されていたが、現在は *Mycoplasma* に再分類されており、牛の感染種には *M. wenyonii* および '*Candidatus M. haemobos*' の2種が報告されている [Tagawa, et al. : 2008]。小型ピロプラズマとは、赤血球内に寄生するタイレリア原虫 (*Theileria orientalis*) であり、感染した牛は概ね不顕性感染となるが、放牧や妊娠、分娩を契機に貧血や発熱を引き起こす [Gubbels, et al. : 2000]。

一般に、複数の病原体が一個体に混合感染した場合、その病原性は相加される。しかしながら、赤血球に寄生する病原体では別の赤血球寄生病原体の増殖を抑制する現象が報告されており、この現象は“干

渉現象”と呼ばれている。干渉現象の概念は非常に古くから知られており、Footeらは脾臓摘出子牛に *Anaplasma marginale* 感染血液を接種した際、*Eperythrozoon* (現：ヘモプラズマ) 血症が発現し、*Anaplasma* の増殖が抑制されたことを報告した [Foote, et al. : 1957]。*Anaplasma* と *Eperythrozoon* 間、*Eperythrozoon* と *Babesia bigemina* 間にも同様の現象が認められ [Hadani, et al. : 1982 ; Hoyte. : 1961]、さらに、*T. orientalis* キャリア牛に *A. marginale* を実験感染した場合、*T. orientalis* 非キャリア牛と比較し、*A. marginale* の寄生度と貧血発症率の低下が示されている [Gale, et al. : 1997]。また、*T. orientalis* 感染牛においても *Babesia bovis* および *Anaplasma centrale* の増殖抑制が知られている [Stewart, et al. : 1990]。

牛ヘモプラズマと小型ピロプラズマは国内に広く蔓延しており [Ota, et al. : 2009; Tagawa, et al. : 2012]、日本国内でも *T. orientalis* と *Eperythrozoon* 間の干渉現象が報告されている [Ishihara. : 1962]。しかし、この両病原体間にみられた干渉現象は、脾臓摘出子牛を用いた感染実験によるものであり、これまで野外での自然感染例における混合感染時の病原性は評価されていない。

最近Tagawaらは、放牧牛にみられたヘモプラズマと小型ピロプラズマの干渉現象を観察している [Tagawa, et al. : 2013]。材料は、道東の2放牧地(A、B)に飼養されるホルスタイン育成牛で、放牧前に各牧野の100頭程度から採血を行い、血液塗抹の観

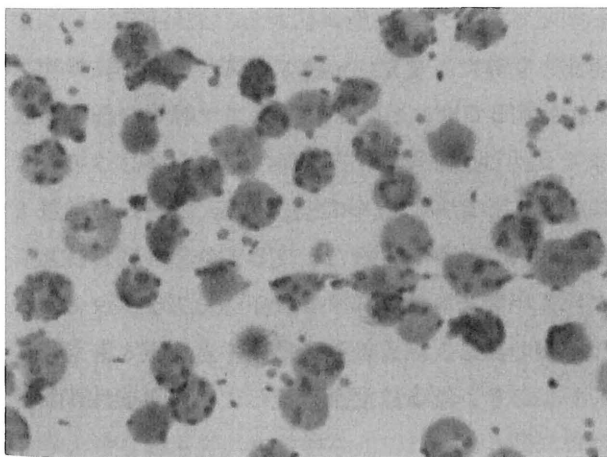


図1 赤血球表面および血漿中に浮遊するヘモプラズマ病原体。

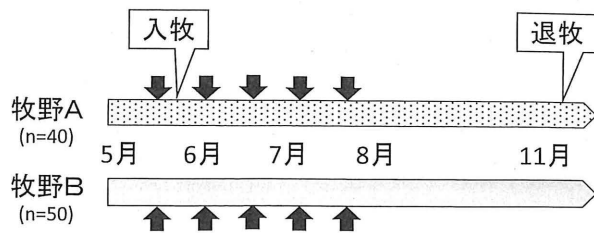


図2 各牧野での経時採血 (矢印)。両牧野とも5月から7月にかけて、2週間間隔で行われた。

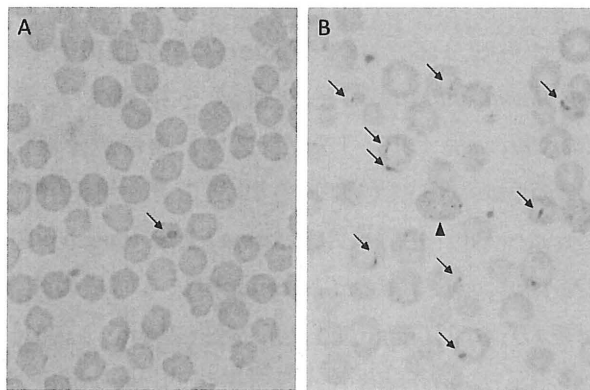


図3 小型ピロプラズマ感染血液塗抹 (矢印: 小型ピロプラズマ。A: 寄生度+, B: 寄生度++++)。Bでは赤血球の大小不同や菲薄化、好塩基性斑点 (矢頭) が観察される。

察およびPCR検査により小型ピロプラズマが陰性であった牧野Aの40頭、牧野Bの50頭を抽出、2011年の入牧時5月から7月の間、約2週間間隔で計5回の経時採血を行った(図2)。なお、両牧野は毎年400頭前後が放牧されており、以前より小型ピロプラズマの発症例が散発、その蔓延が危惧されている放牧地であった。末梢血液はPCVを測定後、血液塗抹標本をメタノール固定し、ギムザ染色を行った。残りの末梢血液からの病原体検索は、ヘモプラズマはDirect PCR法、小型ピロプラズマはPCR法により実施した [Ota, et al. : 2009; Tagawa, et al. : 2012]。血液塗抹標本中の小型ピロプラズマ寄生度は、石原法に従い光学顕微鏡下で強拡大(1,000倍視野)で鏡検し、各視野に寄生赤血球が10個以上を++++、各視野に1個~10個未満を+++、10視野に1個以上を++、10視野に1個未満を+、未検出を

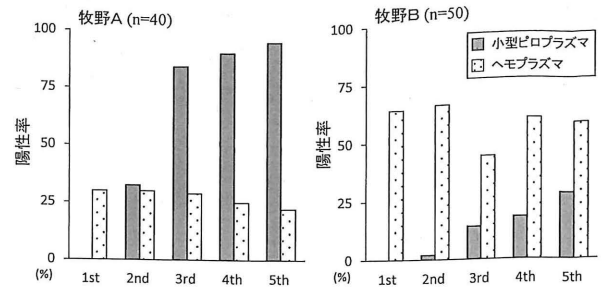


図4 各牧野における小型ピロプラズマ、ヘモプラズマ陽性率の推移。

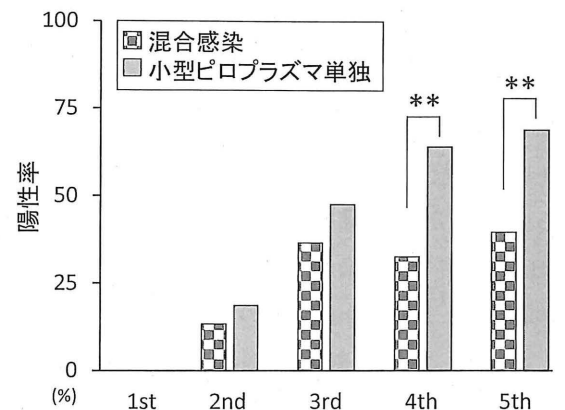


図5 両牧野における小型ピロプラズマとヘモプラズマの混合感染と小型ピロプラズマ単独感染の陽性率の推移。4、5回目採血において混合感染は有意に低下した (**: $P < 0.01$)

と判定した(図3) [Ota, et al. : 2009]。

その結果、ヘモプラズマは入牧前から陽性個体が確認され、陽性率は牧野Aでは30%、牧野Bでは60%前後で推移した。一方、ヘモプラズマが低い陽性率で推移した牧野Aでは、2回目採血以降急速に小型ピロプラズマ感染が拡大し、最終的に94.4%が陽性となった。また、ヘモプラズマが高率に検出された牧野Bでは、小型ピロプラズマ感染の増加は緩徐で5回目採血時でも28.0%に留まり、2つの牧野は相反する結果となった(図4)。両牧野の結果を合わせ統計解析を行ったところ、4、5回目採血において小型ピロプラズマおよびヘモプラズマの単独感染牛の数は、両者の混合感染牛と比較し有意に増加しており、両者は混合感染しにくい可能性が示された(図5)。

小型ピロプラズマ単独感染群、ヘモプラズマ単独

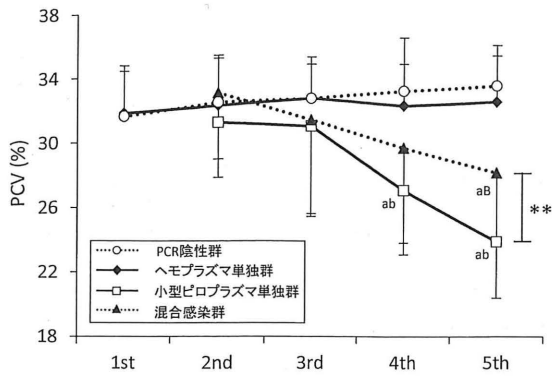


図6 両牧野におけるPCVの推移。(a: $P < 0.01$, vs PCR陰性群; b: $P < 0.01$, B: $P < 0.05$, vs ヘモプラズマ単独感染群; **: $P < 0.01$)

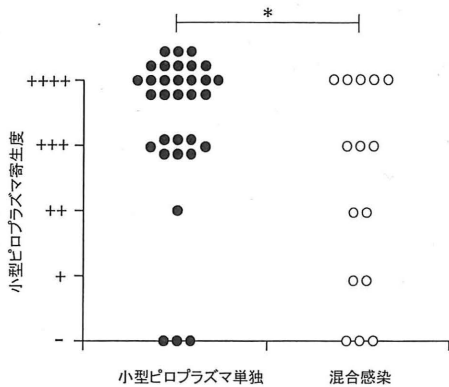


図7 小型ピロプラズマ単独感染およびヘモプラズマとの混合感染牛における小型ピロプラズマ寄生度の比較。(*: $P < 0.05$)

感染群、混合感染群および陰性群間でそれぞれのPCVを比較したところ、混合感染群のPCVは小型ピロプラズマ単独感染群と比較し有意に高値を示した(図6)。さらに小型ピロプラズマの寄生度を小型ピロプラズマ単独感染群と混合感染群で比較したところ、5回目採血時において小型ピロプラズマ単独感染群は有意に高い小型ピロプラズマ寄生度を示し、混合感染時には小型ピロプラズマによる貧血が重篤化しにくい可能性が示唆された(図7)。

以上の所見は、①小型ピロプラズマおよびヘモプラズマの単独感染と比較し、両者の混合感染が起こりにくいこと、②混合感染時には小型ピロプラズマの病原性が弱まり、貧血が軽度となること、③混合感染時の小型ピロプラズマ寄生度が低下することであり、すなわち野外の放牧牛における両病原体間の“干渉現象”の存在を示唆するものと思われた。

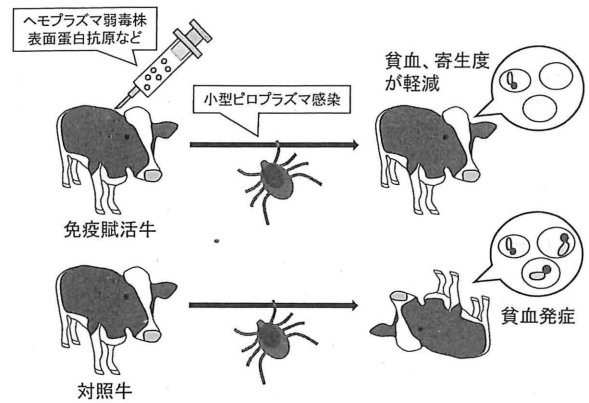


図8 ヘモプラズマワクチンによる小型ピロプラズマ発症抑制モデル。

干渉現象の機序については、一方の病原体に対する非特異的な免疫反応がもう一方の増殖をコントロールする免疫反応の交差性や、赤血球における共通のレセプターを介した感染が干渉現象を引き起こす要因となる可能性が示唆されているが [Hadani, et al. : 1982 ; Gale, et al. : 1997]、いずれの報告においても詳細な機序は明らかとなっておらず、今後、両病原体間に観察された干渉現象の機序を明らかにする必要があると思われた。また、今後の展望としてこの干渉現象を応用し、弱毒化したヘモプラズマやヘモプラズマ表面蛋白抗原をもとにヘモプラズマワクチンを作製し、放牧牛に小型ピロプラズマに対する抵抗性を持たせるなど(図8)、更なる検討が期待される。

引用文献

Foote LE, Levy HE, Torbert BJ, Oglesby WT. (1957) Interference between anaplasmosis and eperythrozoonosis in splenectomized cattle. Am. J. Vet. Res., 18 : 556-559.

Gale KR, Leatch G, Dimmock CM, Gartside MG. (1997) Increased resistance to Anaplasma marginale infection in cattle chronically infected with Theileria buffeli (syn. T. orientalis). Vet. Parasitol., 69 : 187-196.

Gubbels MJ, Hong Y, van der Weide M, Qi B, Nijman IJ, Guangyuan L, Jongejan F. (2000)

- Molecular characterisation of the *Theileria buffeli/orientalis* group. Int. J. Parasitol., 30 : 943-952.
- Hadani A, Guglielmone AA, Anziani OS, Tarablas H, Mangold A, Bermudez A, Castor JC, Gonzalez de Rios L. (1982) A case of apparent suppression of *Anaplasma marginale* infection by Eperythrozoonosis (*Eperythrozoon tejanodes*). Vet. Parasitol., 9 : 267-272.
- Hoyte HMD. (1961) Initial development of infections with *Babesia bigemina*. J. Protozool., 8: 462-466.
- Ishihara T. (1962) Eperythrozoonosis in cattle in Japan. Nat. Inst. Anim. Hlth Quart., 2 : 21-30.
- Messick JB. (2004) Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas) : a review and new insights into pathogenic potential. Vet. Clin. Pathol., 33 : 2-13.
- Ota N, Mizuno D, Kuboki N, Igarashi I, Nakamura Y, Yamashina H, Hanzaike T, Fujii K, Onoe S, Hata H, Kondo S, Matsui S, Koga M, Matsumoto K, Inokuma H, Yokoyama N. (2009) Epidemiological survey of *Theileria orientalis* infection in grazing cattle in the eastern part of Hokkaido, Japan. J. Vet. Med. Sci., 71 : 937-944.
- Stewart NP, de Vos AJ, Standfast NF. (1990) Concurrent infection with *Theileria buffeli* caused depression of parasitaemia in *Babesia bovis* and *Anaplasma centrale* infections in splenectomised calves but not in *B. bigemina* infections. Res. Vet. Sci., 49 : 346-348.
- Tagawa M, Matsumoto K, Inokuma H. (2008) Molecular detection of *Mycoplasma wenyonii* and 'Candidatus Mycoplasma haemobos' in cattle in Hokkaido, Japan. Vet. Microbiol., 132 : 177-180.
- Tagawa M, Ybañez AP, Matsumoto K, Yokoyama N, Inokuma H. (2012) Prevalence and risk factor analysis of bovine hemoplasma infection by direct PCR in eastern Hokkaido, Japan. J. Vet. Med. Sci., 74 : 1171-1176.
- Tagawa M, Ybañez AP, Matsumoto K, Yokoyama N, Inokuma H. (2013) Interference between *Theileria orientalis* and hemotropic *Mycoplasma* spp. (hemoplasmas) in grazing cattle. Vet. Parasitol., 195 : 165-168.