

家畜の血液凝固障害に関する研究
—— 抗ピロプラズマ剤投与のウシ血液性状に及ぼす影響 ——

林 隆敏*・山根乙彦*・瀧口和生*・松田和義*・迫 悟*

昭和52年8月31日受付

Effects of the Administration of 8-amino-quinoline on the Blood
Coagulability in Grazing Cattle Affected with *Theileria*

Takatoshi HAYASHI,* Otohiko YAMANE,* Kazuo TAKIGUCHI,*
Kazuyoshi MATSUDA* and Satoru SAKO*

Of twelve grazing cattle affected with *Theileria surgenti*, eight animals received intramuscularly one dose of pamaquine (4 ml) and four animals didn't receive any dose. The examination of physical properties and blood coagulabilities were performed on the cattle during a 20 day period.

The animals which had received pamaquine exhibited a moderate prolongation of whole blood clotting time (approximately 25 minutes), a decrease in platelet adhesiveness (below 10 %) and a depression in clot retraction (below 20 %). The TEG of the animals which had received pamaquine exhibited a prolongation in r and k values. It showed an increase in amplitude. These changes mentioned above continued for 5-10 days after the administration of the pamaquine. From these findings, it is probable that the administration of pamaquine to grazing cattle affected with *Theileria surgenti* causes blood coagulation disorders.

Since all the animals which received pamaquine showed an increase in blood fibrinogen level and GOT activity 3 to 5 days after the injection, it is supposed that an intramuscular administration of the drug caused an inflammation or degeneration of the tissue in the injected area.

緒 言

ウシの小型ピロプラズマ症の予防・治療剤としては、従来より8-アミノキノリン製剤が広く利用されている。^{10-13, 17-20, 26)}本剤は *in vitro* で血球膜の変性,^{3, 4)} 血小板機能の低下を来す¹⁵⁾ことが知られている。また、血球はその形成する膜に異常がある場合には容易に崩壊・溶血が起り得る。²⁴⁾一方、小型ピロプラズマ症にみられる貧血は、大球性・高色素性を特徴とし溶血性貧血であろうとされており、^{23, 31)} また、罹患牛の血球抵抗が低下する²³⁾こともみとめられてい

る。従って本症に本剤を投与した場合は、小型ピロプラズマ原虫による血球自体の障害に薬剤の影響が加わるため、投与牛の血液性状の変化は一層増強されるものと考えられる。

著者らは放牧中の小型ピロプラズマ感染牛に対して、本剤を投与しその血液性状に及ぼす影響について検討を加えた。

実験材料及び方法

鳥取県大山県営牧場の放牧牛を供試した。該放牧牛は、

* 鳥取大学農学部獣医学科家畜内科学研究室

Department of Veterinary Science, Faculty of Agriculture, Tottori University

入牧3ヶ月前に小型ピロプラズマ感染牛の血液接種を受け感染が成立し、1976年4月に放牧された12~19ヶ月令のホルスタイン種・雌牛である。同年6月に放牧牛180頭の中より無作為に12例を選び実験に供した。供試牛の小型ピロプラズマ寄生率は42~217% (平均88%)であった。供試牛12例のうち4例を対照として、8例に8-アミノキノリン製剤 (油性20%パマキン注: 1ml中パマキン塩基 200mg含有) 4mlを臀部筋肉に1回注射した。供試牛は他の牛と同様に放牧を実施した。

パマキン投与牛及び対照牛にたいして投与前、投与1日、3日、5日、10日及び20日後に下記の検査を実施した。即ち、体温・脈拍等一般状態の観察、赤血球数 (Thoma-Zeiss法)、血球容積 (Microhematocrit法)、血色素量 (Cyan-methemoglobin法)、赤血球平均恒数 (MCV, MCHC, MCH)の算出、血小板数 (Rees-Eekers法)、白血球数 (Thoma-Zeiss法)、血清トランスアミナーゼ活性値 (Reitman-Frankel法)、血漿フィブリノゲン値 (Tyrosin法)、全血凝固時間 (Lee-White法)、血餅収縮能 (MacFarlane法)、血小板粘着能 (Glass-filter田中法) 及びThrombelastograph (全血, Hellige社製) を実施し、血漿フィブリノゲン値のほかはいずれも現地で測定を行った。

実験成績

体温・脈拍数:

供試牛12例のパマキン投与前における体温及び脈拍数の平均値並びに標準偏差は、それぞれ $39.1 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$, $85.3 \pm 9.0/\text{min}$ (m±s.d.) であった。症状としては可視粘膜がいずれも貧血を呈しているほかは著変は認められなかった。パマキン投与後の変化については、体温 39.5°C 以

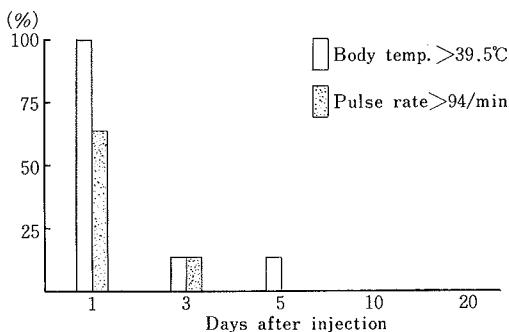


Fig. 1 Changes in body temperature and pulse rate in grazing cattle injected with pamaquine.

上、脈拍数 $94/\text{min}$ 以上を異常値とした。体温はパマキン投与1日後に全例 (8例) に上昇 ($39.7\sim 40.9^{\circ}\text{C}$) が、脈拍数は5例に増数 ($96\sim 104/\text{min}$) がみられた。3日後には体温及び脈拍数の異常を呈したものはそれぞれ1例に減少した。5日後には体温異常が1例のみで、脈拍異常は認められなかった。10日及び20日後には全例正常に復した (Fig. 1)。食欲その他の一般状態に著変は認められなかった。

血液性状:

供試牛12例のパマキン投与前における赤血球数、血球容積及び血色素量の平均値並びに標準偏差は、それぞれ $210 \pm 61.3 \times 10^4/\text{mm}^3$, $16.6 \pm 3.4\%$, $5.5 \pm 1.2\text{g}/\text{dl}$ (m±s.d.) で貧血が著明であった。パマキン投与後におけるこれらの変化は、投与前の値を100%として対照牛及び投与牛の成績を指数で表わし検討した (Fig. 2)。パマ

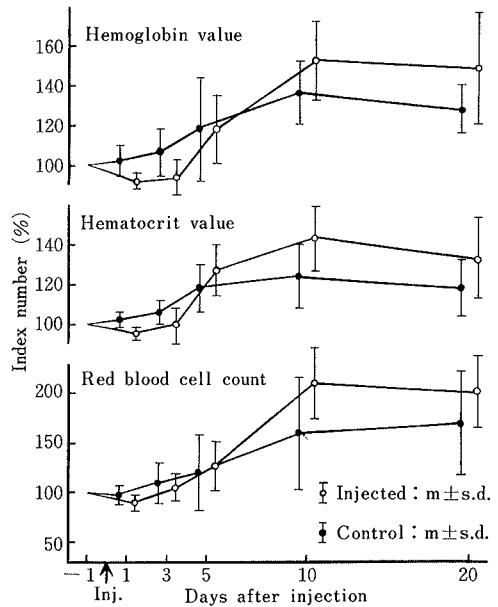


Fig. 2 Changes in RBC, Ht and Hb in grazing cattle injected with pamaquine.

キン投与10日後より赤血球数、血球容積及び血色素量はいずれも増加を示し、貧血の改善がみられた。赤血球平均恒数はFig. 3に示したように、パマキン投与10日後よりMCV及びMCHの減少、MCHCの増加がみられ貧血の改善が窺われた。また、これらの恒数からは溶血を疑う所見は得られなかった。

白血球数及び血小板数のパマキン投与前における12例

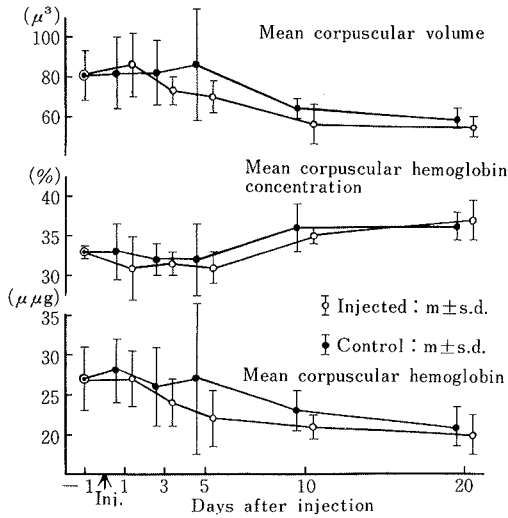


Fig. 3 Changes in mean corpuscular constants in grazing cattle injected with pamaquine.

の平均値並びに標準偏差は、それぞれ $107.4 \pm 38.5 \times 10^2 / \text{mm}^3$, $27.8 \pm 5.4 \times 10^4 / \text{mm}^3$ ($m \pm s.d.$)であった。パマキン投与後の変化については対照牛及び投与牛のいずれにおいても、一定の傾向は認められなかった。

GOT及びGPT活性値のパマキン投与前における12例の平均値並びに標準偏差は、それぞれ 41 ± 25.0 , 17 ± 7.4 Karmen 単位 ($m \pm s.d.$)であった。パマキン投与後GOTが上昇する傾向がみられた(Fig. 4)が、GPTには

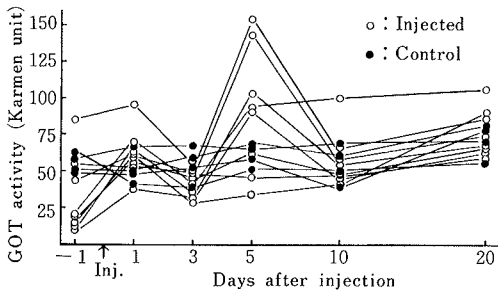


Fig. 4 Changes in GOT activity in grazing cattle injected with pamaquine.

変化がみられなかった。

血漿フィブリノゲン値のパマキン投与前における12例の平均値並びに標準偏差は、 $588 \pm 90.9 \text{mg/dl}$ ($m \pm s.d.$)であった。投与例は3~5日後に全例増量を示したが、10日後には全例がほぼ前値に復した。対照例ではいずれ

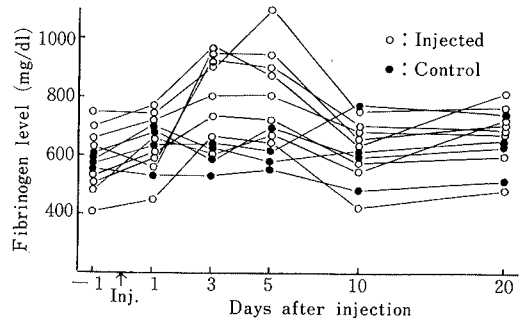


Fig. 5 Changes in plasma fibrinogen levels in grazing cattle injected with pamaquine.

も著変をみとめなかった。

凝血学的性状：

全血凝固時間のパマキン投与前における12例の平均値並びに標準偏差は、 $14 \pm 3 \text{min}$ ($m \pm s.d.$)であった。投与1日後より延長する傾向がみられ、3~5日後にpeakを示した。3例では20日後においても延長がみられた。しかし、その程度は軽度(約25分)であった。

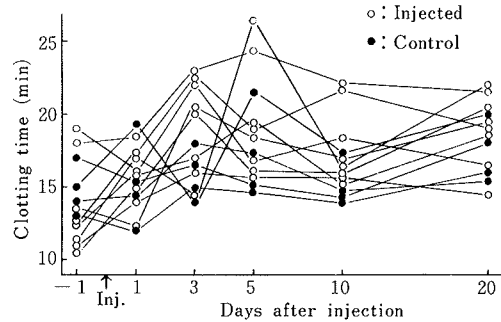


Fig. 6 Changes in whole blood clotting times in grazing cattle injected with pamaquine.

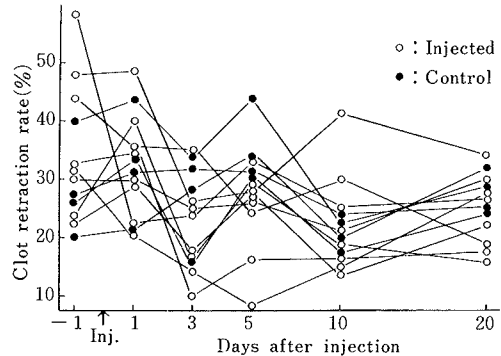


Fig. 7 Changes in clot retraction rate in grazing cattle injected with pamaquine.

血餅収縮能及び血小板粘着能のパマキン投与前における12例の平均値並びに標準偏差は、それぞれ $32.2 \pm 11.9\%$ 、 $40.3 \pm 8.9\%$ ($m \pm s.d.$)であった。血餅収縮能は投与3日後より低下する傾向がみられ、20%以下のものが3日後に4例、5日後に2例、10日後に4例、20日後に3例であった(Fig. 7)。血小板粘着能も3日後より低下の傾向がみられ、2例においては10%以下を示した。しかし、10日後には殆んど例がほぼ前値まで回復した(Fig. 8)。

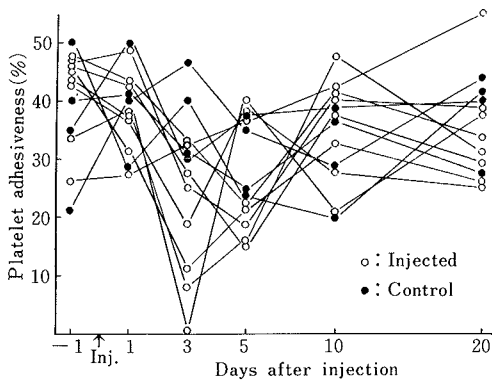


Fig. 8 Changes in platelet adhesiveness in grazing cattle injected with pamaquine.

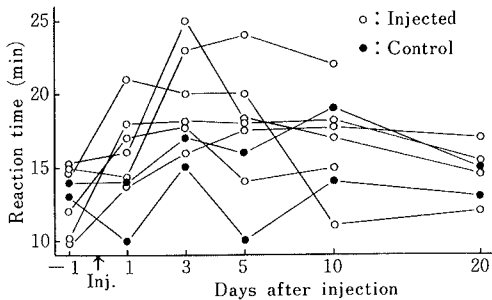


Fig. 9 Changes in thrombelastogram(r) in grazing cattle injected with pamaquine.

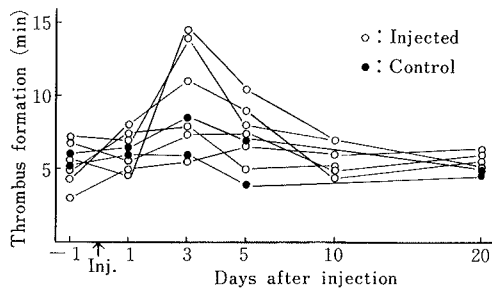


Fig. 10 Changes in thrombelastogram(k) in grazing cattle injected with pamaquine.

Thrombelastogram(TEGm) のパマキン投与前における8例の平均値並びに標準偏差は、 r ; $13.3 \pm 2.2\text{min}$ 、 k ; $5.4 \pm 1.3\text{min}$ 、 ma ; $73.6 \pm 3.0\text{mm}$ ($m \pm s.d.$)であった。 r は投与1~5日後に延長する傾向がみられ、10日後においても前値に復さないものがみられた(Fig. 9)。 k においても r とほぼ同様な傾向を示したが、10日後には殆んど前値に復した(Fig. 10)。 ma は1~5日後に増大する傾向がみられたが、 r と同様に10日後においても前値に復さないものがみられた (Fig. 11)。

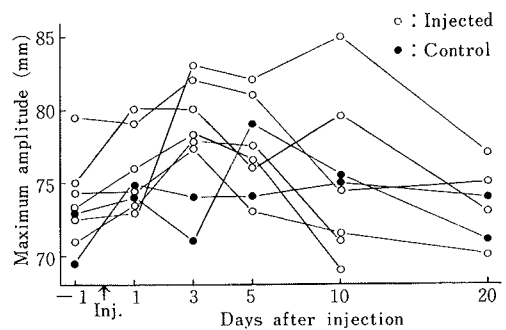


Fig. 11 Changes in thrombelastogram(ma) in grazing cattle injected with pamaquine.

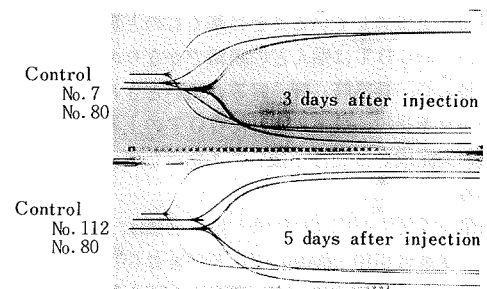


Fig. 12 Thrombelastograph after pamaquine injection.

考 察

ピロプラズマ発症牛に対して、抗ピロプラズマ剤による治療を行った場合には、牛体側にとってはプラスの効果がある反面、副作用が惹起する可能性も考えられる。ことに放牧牛のように放牧ストレスやピロプラズマ重感染に基く肝機能の低下、血液性状の変化等が既存する例では、マイナスの影響が一層強く出現するものと考えられる。しかし、このような観点よりなされた研究は今日殆んどなく、わずかに石原¹⁰⁾が8-アミノキノリン誘導体であるパマキン投与実験で、薬液の吸収不良、局所の腫

脹等の副作用の存在について述べているにすぎない。

今回のパマキン投与実験で一般状態の変化としては、投与翌日に体温の上昇が全例に、脈拍数の増加が5例(63%)に認められた。これらの変化はいずれも一過性で、その後速かに消失するので薬剤投与による反応熱と解してよいと思われるが、本剤の投与にあたり充分な配慮がなされなければならない。

8-アミノキノリン誘導体が抗タイレリア剤として実用化され、本剤が小型ピロプラズマ原虫に有効であることは、石井ら(1948)¹¹⁾により既に報告されている。今回の実験においても、パマキン投与10日後より赤血球数、血球容積及び血色素量に増加がみられ、その効果が確認された。一方、本原虫による貧血の形態は、大球性・高色素性であろうとされているが、^{7,23)}このことは今回の赤血球平均恒数からも推測することができる。また、これらの恒数からは本剤投与による溶血を疑うような所見は得られなかった。

血清トランスアミナーゼ活性値のウシにおける正常値を、島田ら(1975)²²⁾はGOT; 73.6±26.6, GPT; 22.1±8.0Karmen単位(m±s.d.)とし、ピロプラズマ症では低下がみられることを報告しているが、今回の成績では投与前値が少々低い。これは供試牛が、小型ピロプラズマ原虫に重感染していることに基くものと思われる。一方、ウシのGOTは殆んど組織でかなりの活性がみられ、特に心、骨格筋、肝、腎等が強いとされており、¹⁾今回のパマキン投与後にみられたGOTの上昇は注射局所組織の炎症或いは変性が強いことを示しているように思われる。

血漿フィブリノゲンのパマキン投与前値は、McSherryら¹⁶⁾の健康値(540~800mg/dl)及び著者ら²⁹⁾の報告した放牧牛における測定値(428~856mg/dl)と類似していたが、投与3~5日後には全例に増量がみられた。このフィブリノゲン値上昇の時期は、GOTの上昇と一致するところから本剤投与による影響と思われるが、両者の推移をみるとGOTよりもフィブリノゲンの方が鋭敏に反応するようで興味深い。

放牧牛における凝血学的検査成績は少ない。^{7,14,29)}ウシの全血凝固時間について、著者ら^{27,30)}はその値が日時により比較的変動し、正常値の上限はほぼ20分とみなすべきことを報告した。今回の成績をこれらの値と比較すると、パマキン投与後に延長する傾向がみられるので、今後は凝固因子或いは抗凝固因子増量の面から追求する必要がある。

ウシの血小板機能の測定成績は少なく、^{2,21)}わが国では著者ら^{7,8,28~30)}並びに吉岡ら^{32,33)}の報告があるにすぎない。今

回の成績では、パマキン投与前の血餅収縮能及び血小板粘着能は両者とも20%以上であったが、投与後は血小板数の著減がないに拘らずいずれも低下がみられた。この所見は血小板機能が減退することを示唆している。

Thrombelastographの家畜への応用は少なく、わが国では著者ら^{8,27)}の報告があるにすぎない。ヒトの血小板機能減退の場合にはrの正常ないし延長、kの延長、maの減少がみられ、⁵⁾血餅収縮能とmaは相関する²⁵⁾等の報告があるが、本実験では、上述のごとく血小板の機能減退が推測されるにも拘らずmaは増巾を示した。これは日比⁹⁾と深沢⁶⁾が述べているようにフィブリノゲンによる影響が、より強くmaに反映したためと思われる。

上述のごとく、パマキンを小型ピロプラズマ重感染牛に投与すると、全血凝固時間の延長、血小板粘着能及び血餅収縮能の低下を招くことが観察され、TEGmにおいてもこれを裏づける所見が得られた。これらの所見は本剤の投与がウシの血液凝固能に何らかの影響を与えることを示すものであり、該放牧場の放牧牛の可視粘膜にしばしば認められる小出血斑²⁹⁾との関連においても、今後さらに詳細な検討を要する。

ま と め

放牧中の小型ピロプラズマ重感染牛に対して、8-アミノキノリン製剤(油性パマキン注)を投与し、その血液性状とくに血液凝固能に及ぼす影響について検討した。

本剤投与により全血凝固時間が軽度延長し、Thrombelastographにおいても血液凝固遅延の傾向がみられた。また、血餅収縮能及び血小板粘着能の低下がみられるので、本剤は血小板機能の減退を招くものと考えられる。

投与後、血漿フィブリノゲン及びGOT活性値の上昇がみられたが、これらは投与後にみられた一過性の体温上昇並びに脈拍数の増加と共に、本剤投与による副作用と考えられた。

本剤投与後の貧血の回復は顕著で、本剤の小型ピロプラズマ原虫に対する効果が確認された。なお、本剤投与による溶血を疑うような所見は得られなかった。

稿を終るに当たり、本実験に際し御援助をいただいた鳥取県畜産課並びに大山放牧場の関係各位に謝意を表します。

文 献

1) Cornelius, C. E., Bishop, J., Switzer, J., and

- Rhode, E. A. : Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. *Cornell vet.*, **49** 116 (1959)
- 2) Didisheim, P., Hattori, K., and Lewis, J.H. : Hematologic and coagulation studies in various animal species. *J. Lab. & Clin. Med.*, **53** 866 (1959)
- 3) Fujii, T., Sato, T., and Nakanishi, K. : *In vitro* shape changes of human erythrocyte membranes. *Physiol. Chem. & Physics*, **5** 423 (1973)
- 4) 藤井達三：形質膜と細胞の形，赤血球の変性を中心に。膜，**1** 82 (1976)
- 5) 福井定光：Thrombelastograph. 最新医学，**13** 502 (1958)
- 6) 深沢 英：Thrombelastographによる血液凝固の研究。日血会誌，**25** 44 (1962)
- 7) 林 隆敏・山根乙彦・迫 悟・平安名盛己・坂井三千治：放牧経過に伴う牛の血液性状並びに血液凝固能の変化について。鳥大農研報，**28** 55 (1976)
- 8) Hayashi, T., Yamane, O., Sakai, M., Itakura, C., and Goto, M. : Hematological and pathological observations of chronic furazolidone poisoning in calves. *Jap. J. vet. Sci.*, **38** 225 (1976)
- 9) 日比英世：Thrombelastographに関する研究（主として血栓栓塞症について）。日血会誌，**21** 95 (1958)
- 10) 石原忠雄：小型ピロプラズマ病に関する研究，治療薬としての8-アミノキノリン製剤の検討。日獣誌，**23** (学会号) 477 (1961)
- 11) 石井 進・石原忠雄：牛の小型ピロプラズマ病について。日獣協会誌，**1** 1 (1948)
- 12) 石井 進・石原忠雄：小型ピロプラズマを媒介するダニについて。日獣会誌，**4** 289 (1951)
- 13) 金矢正志・岡村牧恵・阿部敬一：牛の小型ピロプラズマ症の治療試験，ナフトエ酸パマキンの経口投与について。獣医学界，**76** 97 (1964)
- 14) 小作 実・岡本康孝・北川早苗・三宅慶一・三浦幸子・宮島園雄・長谷川篤彦・本好茂一・友田 勇・白井和哉：放牧時に多発する牛の疾病に関する研究，IV. 血小板，Fibrinogen，凝固時間，Prothrombin時間，Plasminogenの消長。日獣誌，**34** (学会号) 54 (1972)
- 15) Marcus, A. J., and Zucker, M. B. : *Physiology of blood platelets*. Grune and Stratton, New York (1965) p. 6 [吉川春寿，中尾喜久：血液の生化学。基礎と臨床，朝倉，東京 (1969) p. 474より引用]
- 16) McSherry, B. J., Harney, F.D., and de Groot, J. J. : Plasma fibrinogen levels in normal and sick cows. *Can. J. Comp. Med.*, **34** 191 (1970)
- 17) 農林省奥羽種畜牧場：初生牛の小型ピロプラズマ病自然感染例。日獣会誌，**4** 86 (1951)
- 18) 農林省奥羽種畜牧場：牛の小型ピロプラズマ病の臨床的観察。日獣会誌，**5** 184 (1952)
- 19) 及川誠一・安田純夫・滝本喜男・村上大蔵：牛の小型ピロプラズマ症に対するナフトエ酸パマキンの治療試験について。獣医学界，**76** 95 (1964)
- 20) 大野光男・多胡忠文：小型ピロプラズマの薬剤耐性ならびに耐性原虫による発病牛の治療試験。日獣会誌，**17** 612 (1964)
- 21) Osbaldiston, G. W., Stowe, E. C., and Griffith, P. R. : Blood coagulation. Comparative studies in dogs, cats, horses and cattle. *Br. vet. J.*, **126** 512 (1970)
- 22) 島田保昭・斉藤健光：牛の血清酵素の変動について，血清トランスアミナーゼ。日獣会誌，**28** 83 (1975)
- 23) 高橋清志・安田純夫・村上大蔵：小型ピロプラズマ人工感染牛における臨床および血液性状の変化。日獣会誌，**26** 279 (1973)
- 24) 高久史磨：血液疾患の生化学，南山堂，東京 (1973) pp. 80~88
- 25) 寺田秀夫：血餅収縮能。血液と脈管，**7** 544 (1976)
- 26) 八重樫正彦・成田亮一・向後定一：小型ピロプラズマ病に対するナフトエ酸パマキン20倍散投与小実験。日獣会誌，**20** 25 (1967)
- 27) Yamane, O., Hayashi, T., and Sako, S. : Studies on blood coagulation disorders in domestic animals. Thrombelastograms of normal cattle and cattle affected with bracken poisoning. *Jap. J. vet. Sci.*, **37** 577 (1975)
- 28) 山根乙彦・林 隆敏・迫 悟・板垣啓三郎・木原保・小山 実：牛の実験的ワラビ中毒症における出血性素因に関する研究，血液凝固不全について。日獣会誌，**28** 219 (1975)

- 29) 山根乙彦・林 隆敏・迫 悟・南 三郎・木原 保
・小山 実・武田憲三・立松清次郎・板垣啓三郎：
放牧牛の出血性疾患に関する研究，可視粘膜に出血
斑をもつ放牧牛の血液変化について．日獣会誌，**28**
516 (1975)
- 30) 山根乙彦・林 隆敏・迫 悟・木原 保・小山 実
・板垣啓三郎：牛の実験的ワラビ中毒症に関する研
究，中毒牛の臨床所見ならびに血液性状．鳥大農研
報，**27** 68 (1975)
- 31) 安田純夫・川村清市・奥村直尊・田山春実・樋口誠
一・高橋 正・木下泰博：牛小型ピロプラズマ病の
貧血の機序に関する基礎的研究．第77回日獣学会講
演要旨，84 (1974)
- 32) 吉岡 豊，福島竜博，内野富弥，中村良一：牛の血
液凝固に関する研究，1．健康乳牛の血液の凝固性．
獣畜新報，No. 593 629 (1973)
- 33) 吉岡 豊・福島竜博・内野富弥・中村良一・山口
勝・藤原 弘：牛の血液凝固に関する研究，2．肥
育牛の成長に伴う血液の凝固性．獣畜新報，No. 594
685 (1973)