

犬の免疫介在性溶血性貧血における 血漿 α_1 -酸性糖蛋白測定の有用性

森田泰典[†] 森田佳子

愛知県 開業 (森田動物病院: 〒478-0022 知多市大興寺字長根67-4)

(2009年4月20日受付・2010年3月5日受理)

要 約

免疫介在性溶血性貧血 (IMHA) と診断した9例の犬を供試して、血漿中の α_1 -酸性糖蛋白 (α_1 -AG) 値およびC-反応性蛋白 (CRP) 値を経時的に測定し、その予後判定の有用性について検討した。 α_1 -AG 値およびCRP 値はプレドニゾロン等の免疫抑制剤投与により回復した6症例では速やかに低下し基準値に復した。予後不良であった3症例では、CRP 値は測定値に一定の方向性が認められなかったが、 α_1 -AG 値は治療後においても低下が認められなかった。これら成績から犬のIMHAの予後判定には、治療後の α_1 -AG 値の変化が有用であると示唆された。

——キーワード: α_1 -酸性糖蛋白, 犬免疫介在性溶血性貧血, C-反応性蛋白。

----- 日獣会誌 63, 543~547 (2010)

免疫介在性溶血性貧血 (IMHA) は犬において最も一般的な免疫介在性血液疾患である。IMHAの診断は血管内溶血や黄疸などの溶血, 赤血球の自己凝集, 球状赤血球の増加, 抗グロブリン試験 (クームス試験) 陽性等の所見に基づいて行われる [1-4]。IMHAの犬の死亡率は29~70%といわれ [3-5], 赤血球の自己凝集が認められる症例の初期治療における死亡率は有意に高いと報告されている [1]。しかし, 犬のIMHAの予後判定に対する情報は少ない。今回, IMHAと診断した9例の犬について, 急性相蛋白である α_1 -酸性糖蛋白 (α_1 -AG) およびC-反応性蛋白 (CRP) を経時的に測定し, 病状および治療経過の把握, ならびに予後判定における有用性を検討した。

材料および方法

材料: 2003年11月より2009年3月の間に当院に来院し, IMHAと診断された犬9例を供試した。すなわち, 来院患犬のうち, 血球容積 (PCV) が35%以下で, 血管内溶血または黄疸などの明白な溶血所見に加え, 赤血球の自己凝集もしくは顕著な球状赤血球増多症の所見が得られた症例をIMHAと診断とした [1, 3, 4]。また他の臨床検査により基礎疾患を持った症例は除外した。

症例: 症例の年齢は3~14歳で, 品種としてはシェットランド・シープドッグ, ウェルッシュ・コーギー,

シーザー, ミニチュア・ダックスフンド, チワワが各1例および雑種4例であった。これらのうち赤血球の自己凝集を認めた症例が5例, 非凝集の症例が4例であった。また血管内溶血は8例で認められ, 血管外溶血は1例であった (表1)。

方法: 血漿中の α_1 -AG は一元放射免疫拡散法による測定キット (イヌ α_1 -AG プレート, メタボリックエコシステム研究所株, 宮城) により供試し, CRP はレーザー免疫比濁法による犬CRP測定装置 (Laser CRP2, 株アローズ社, 大阪) を用いておのおの測定した。健康成犬79頭の α_1 -AG 値 ($302 \pm 74 \mu\text{g/ml}$, 平均値 \pm 標準偏差: $M \pm SD$) から, その上限値を $500 \mu\text{g/ml}$ と定めた [6]。CRP は健康成犬207頭の95%が含まれるCRP 値が 0.95mg/dl であり, $M \pm SD$ が $0.16 \pm 0.38 \text{mg/dl}$ であったので, その上限値を 1.0mg/dl と定めて [7], 各成分の上限値未満を正常基準値とみなした。血漿 α_1 -AG 濃度および血漿CRP濃度の群間比較には student の *t* 検定を用い, 危険率5%未満を有意とした。

成 績

初診時のPCV 値は赤血球自己凝集陽性の症例では11~20% ($17.2 \pm 3.8\%$), 凝集陰性の症例では14~34% ($24 \pm 10.5\%$) を示した。総ビリルビン濃度は自己凝集陽性の症例で $0.9 \sim 7.5 \text{mg/dl}$ ($4.1 \pm 2.6 \text{mg/dl}$), 凝集

[†] 連絡責任者: 森田泰典 (森田動物病院)

〒478-0022 知多市大興寺字長根67-4

☎0562-56-1710 FAX 0562-56-1769

E-mail: morita-vet@mti.biglobe.ne.jp

表1 症例の初診時における検査成績と治療

症例番号	犬種	性別	年齢(歳)	体重(Kg)	溶血所見	自己血球凝集	PCV (%)	T-Bil (mg/dl)	治療	予後
1	雑種	雄	9	7.9	血管内溶血	+	16	2.5	PDN, CPM	良好
2	雑種	雄	9	6.5	血管内溶血	+	20	0.9	PDN, CsA	良好
3	チワワ	雌	4	3.6	血管内溶血	+	11	3.7	PDN, AZ 第1病日輸血	良好
4	シェットランド・シープドッグ	雄	14	4.7	血管内溶血	-	34	0.8	PDN, CsA	良好
5	ウエルッシュ・コーギー	雌	10	10.1	血管内溶血	-	32	1.1	PDN	良好
6	雑種	雄	10	14	血管内溶血	-	14	6.9	PDN	良好
7	シーズー	雌	8	6.9	黄疸	-	16	0.8	PDN, CPM	第13病日死亡
8	ミニチュア・ダックスフンド	雌	6	6.5	血管内溶血	+	20	7.5	PDN, CsA 人免疫グロブリン 第2病日輸血	第3病日死亡
9	雑種	雌	3	22.3	血管内溶血	+	19	5.9	PDN, AZ	第4病日死亡

PDN: プレドニゾロン CPM: シクロホスファミド CsA: シクロスポリン AZ: アザチオプリン +: 陽性 -: 陰性

表2 各症例における免疫抑制剤の投与量および投与間隔

症例番号	免疫抑制剤	投与量および投与間隔
1	PDN	第1~8病日: 4 mg/kg, 第9~19病日: 3 mg/kg, 以後漸減
	CPM	第1病日より50 mg/m ² で隔日投与, 7回
2	PDN	第1~5病日: 4 mg/kg, 第6~12病日: 3 mg/kg, 以後漸減
	CsA	第1病日: 9 mg/kg, 第2病日以降: 5 mg/kg
3	PDN	第1~6病日: 4 mg/kg, 第7~14病日: 3 mg/kg, 以後漸減
	AZ	第1~18病日: 2 mg/kg, 以後2 mg/kgを隔日
4	PDN	第1~6病日: 4 mg/kg, 第7~14病日: 3 mg/kg, 以後漸減
	CsA	第7~16病日: 5 mg/kg, 以後5 mg/kgを隔日
5	PDN	第1~5病日: 4 mg/kg, 第6~15病日: 3 mg/kg, 以後漸減
6	PDN	第1~6病日: 4 mg/kg, 第7~17病日: 3 mg/kg, 以後漸減
7	PDN	第1~6病日: 4 mg/kg, 第7病日以降: 3 mg/kg
	CPM	第7病日より50 mg/m ² で隔日投与
8	PDN	第1病日: 4 mg/kg, 第2~3病日: 5 mg/kg
	CsA	第1病日: 5 mg/kg, 第2~3病日: 8 mg/kg
	人免疫グロブリン	第2病日: 2.5g/頭, 点滴静注
9	PDN	第1~4病日: 4 mg/kg
	AZ	第1~4病日: 2 mg/kg

PDN: プレドニゾロン CPM: シクロホスファミド
CsA: シクロスポリン AZ: アザチオプリン

陰性の症例で0.8~6.9mg/dl (2.4 ± 3.0mg/dl)であった。PCV値および総ビリルビン濃度とも凝集陽性群と陰性群の間に有意差は認められなかった。各症例への免疫抑制処置の目的でプレドニゾロン (PDN: プレドニゾロン注射液タムラ, 田村製薬(株), 東京およびプレドニゾロン錠タケダ, 武田薬品工業(株), 大阪), シクロホスファミド (CPM: エンドキサンP錠および注射用エンドキサン, いずれも塩野義製薬(株), 大阪), シクロスポリン (CsA: アトピカカプセル, ノバルティスアニマルヘルス(株), 東京), アザチオプリン (AZ: イムラン錠, グラクソ・スミスクライン(株), 東京)を用いた。9症例のうち6例は回復したが3例は第3~13病日の間に死亡した。免疫抑制剤として, すべての症例で初診時からPDN 4mg/kgを投与した。予後良好な6例のうち自己血球凝集陽性の症例1~3には, 初診時からそれぞれCPM, CsA, AZを併用し, 凝集陰性の症例4では第7病日よりCsAを併用した。同じく凝集陰性の症例5および6ではPDNを単独投与した。予後不良例のうち, 自己凝集陰性の症例7では第7病日よりCPMを併用し, 凝集陽性の症例8ではCsAを, 症例9ではAZを初診時から併用したが, それぞれ第13病日, 3病日, 4病日に死亡した(表1)。各症例における免疫抑制剤の投与量および投与間隔は, 経時的な血液検査所見に基づき調整した(表2)。

血漿 α_1 -AG値: 初診時の血漿 α_1 -AG値は700~1,580 μ g/mlであり, 全例において高値を示した。自己血球凝集が陰性であった4例の α_1 -AG値は700~1,320 μ g/ml (1,127 ± 288 μ g/ml)を示したのに対し, 凝集陽性の5例は1,140~1,580 μ g/ml (1,374 ± 189 μ g/ml)で, 有意差は認められなかったが高値を示す傾向

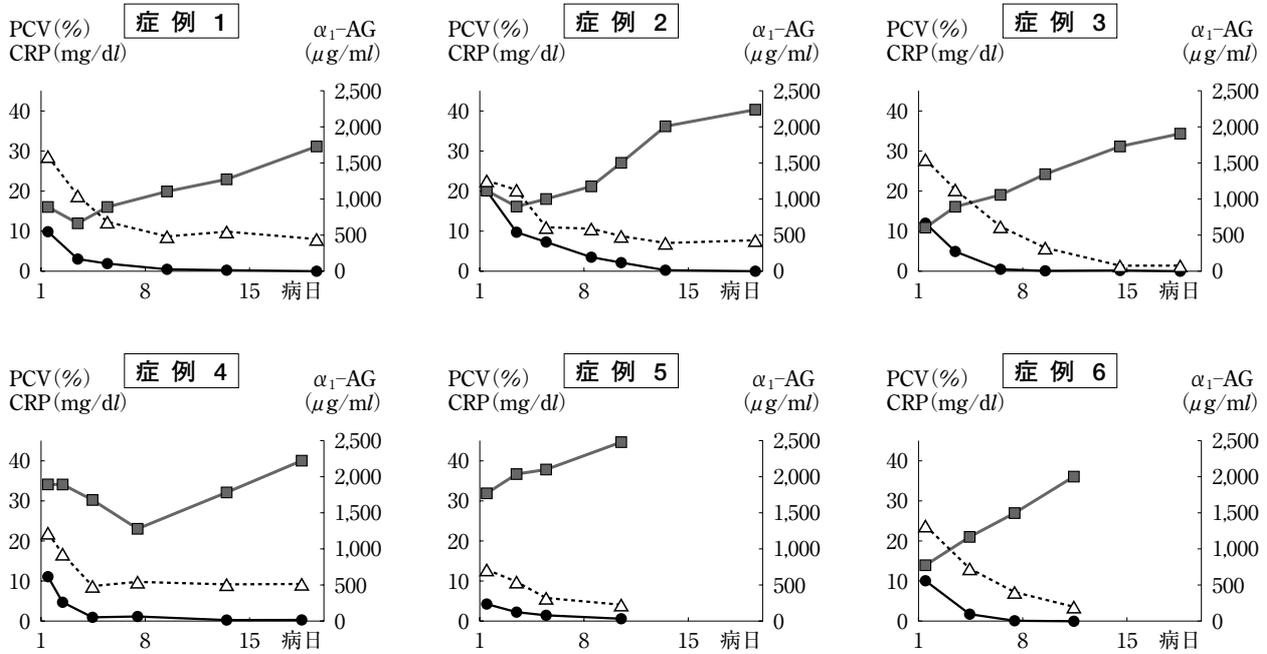


図1 回復例におけるPCV値、血漿 α_1 -AGおよびCRP値の推移
症例1～3は赤血球自己凝集陽性、症例4～6凝集陰性。 ■ PCV △ α_1 -AG ● CRP

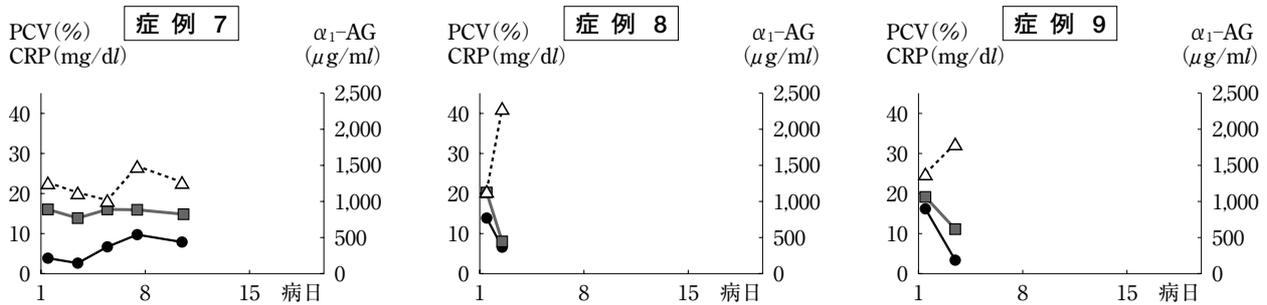


図2 死亡例におけるPCV値、血漿 α_1 -AGおよびCRP値の推移
症例7は赤血球自己凝集陰性、症例7および8は凝集陽性。 ■ PCV △ α_1 -AG ● CRP

があった。予後良好であった6例の α_1 -AG値は、早期に基準値域内に回復した。しかし予後不良であった症例7では治療開始後も1,000 μ g/ml以下に低下することなく、高値が持続した。また症例8では初診時の1,140 μ g/mlが第2病日には2,280 μ g/mlに、症例9では初診時の1,370 μ g/mlが第3病日には1,790 μ g/mlにおおの上昇を示した。

血漿CRP値：初診時の血漿CRP値は3.9～20mg/dlであり、全例において中等度ないし著しい高値を示した。自己血球凝集が陰性であった4例のCRP値が3.9～11.0mg/dl (7.2 \pm 3.8mg/dl)を示したのに対し、凝集陽性の5例では9.8～20mg/dl (14.4 \pm 3.9mg/dl)と有意に高い値を示した ($P < 0.05$)。予後良好であった6例のCRP値は第2～4病日の間に全例が低下を示した。予後不良であった3例のCRP値は症例7では異常値が持続した。しかし第3病日に死亡した症例8では初診時

の14mg/dlが第2病日には6mg/dlに低下した。第4病日に死亡した症例9では初診時の16mg/dlが第3病日3.5mg/dlと顕著に低下した (図1, 2)。

考 察

IMHAにおけるCRP値は著者らの成績と同様に上昇することが報告されている [7, 8] が、CRP値による予後の予測は困難と報告されている [9]。IMHA犬の α_1 -AG値が増加することは知られているが [10]、予後との視点から検討した報告はない。

本研究の症例では、治療に対して早期に寛解を示した6症例の α_1 -AG値およびCRP値は速やかに低下し、基準値域に復した。IMHA犬における α_1 -AGおよびCRPの上昇は、貧血による低酸素症や血栓塞栓症に起因する組織壊死が起こることや [11]、抗原抗体反応による赤血球破壊により炎症性サイトカインが放出されるためと

推察された [4].

赤血球自己凝集が陽性なIMHA犬の死亡率は、その初期に有意に高いと報告され [1], 本成績における α_1 -AG値やCRP値も高い値を示したが、これは凝集陽性のIMHAは、より重度であり [4], 激しい赤血球の破壊や貧血による低酸素症が多臓器に強い傷害を惹起した [11] ことによるものと考えられた。しかし初診時の α_1 -AG値およびCRP値と予後には明らかな関連はみられなかった。予後良好例では治療により赤血球破壊や組織傷害が軽減することにより両蛋白の産生が低下したものと推察された。

血中 α_1 -AG値は犬のリンパ腫をはじめ [12, 13] 各種の腫瘍 [14], 外傷, 感染症など [15-18] 組織損傷が惹起される多くの疾患で上昇すると報告されている。本研究では、IMHA犬のうち基礎疾患を持った症例を除外して α_1 -AG値およびCRP値を測定したが、続発性の症例では基礎疾患によりこれらの値は影響されると予想されるため、それを考慮した測定値の評価が必要と考えられた。

予後不良症例のうち、第3~4病日に死亡した症例8および9では病状が悪化したにも関わらず、CRP値は速やかに低下したことから、IMHAの予後の評価へのCRP値の意義は、Griebischら [9] の報告と同様に低いものと判断された。

いっぽう、血漿 α_1 -AG値は、病状が回復した全症例で基準範囲内へ回復したが、予後不良であった全症例において低下が認められなかった。このことから、血漿 α_1 -AG値の経時的な測定がIMHA犬の予後判定に有用である可能性が示唆された。

IMHA症例が予後不良となるまでは、初診から1週前後の期間に多いと報告されていることから [1, 9], その生存には、初期治療の成否が大きく影響すると考えられる。著者らは本研究の成績から、 α_1 -AGによるモニタリングは、初診から10日前後までの間に、2~3日の間隔で実施し、治療方針を決めるのが望ましいと考えられた。

免疫抑制剤の投与による α_1 -AG値およびCRP値への影響に関する報告は見当たらない。本報告では各症例で同様な治療薬剤が使用されているにもかかわらず α_1 -AG値およびCRP値の変動が異なっていることから、治療薬の影響は少なく、病態の変化を反映した可能性が高いと考えられた。

以上、本研究において、著者らはIMHAにおける α_1 -AGの経時的変化の検索は、病状の把握および予後の判定に有用なマーカーとなる可能性を示唆するものと思われた。

引用文献

- [1] Weinkle TK, Center SA, Randolph JF, Warner KL, Barr SC, Erb HN : Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia in dogs : 151 cases (1993-2002), *J Am Vet Med Assoc*, 226, 1869-1880 (2005)
- [2] Miller E : CVT up date : Diagnosis and treatment of immune-mediated hemolytic anemia, *Kirk's current veterinary therapy XIII*, Bonagura JD ed, 427-434, WB Saunders Company, Philadelphia (2000)
- [3] Balch A, Mackin A : Canine immune-mediated hemolytic anemia : Pathophysiology, clinical signs, and diagnosis, *Compendium*, 29, 217-225 (2007)
- [4] Balch A, Mackin A : Canine immune-mediated hemolytic anemia : Treatment and prognosis, *Compendium*, 29, 230-238 (2007)
- [5] Shaw N, Harrell K : IMHA : Diagnosing and treating a complex disease, *Vet Med*, 103, 660-671 (2008)
- [6] Ohwada K, Tamura K : Usefulness of alpha 1 acid glycoprotein (α_1 -AG) values in screening pound dogs acquired from animal shelters for experimental use, *Exp Anim*, 42, 627-630 (1993)
- [7] 大西堂文, 猪熊 壽, 大野耕一, 添田晋吾, 野口主宏, 佐々木主計 : レーザー免疫比濁法による健康犬および疾患犬におけるC-反応性蛋白の測定, *日獣会誌*, 53, 595-601 (2000)
- [8] Caspi D, Snel FWJJ, Batt RM, Bennett D, Rutteman GR, Hartman EG, Baltz ML, Gruys E, Pepys MB : C-reactive protein in dogs, *Am J Vet Res*, 48, 919-921 (1987)
- [9] Griebisch C, Arndt G, Raila J, Schweigert FJ, Kohn B : C-reactive protein concentration in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia, *Vet Clin Pathol*, 38, 421-425 (2009)
- [10] Yuki M, Itoh H, Takase K : Serum α_1 -acid glycoprotein concentration in clinically healthy puppies and adult dogs and in dogs with various diseases, *Vet Clin Pathol*, 39, 65-71 (2010)
- [11] McManus PM, Craig LE : Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune-mediated hemolytic anemia : 34cases (1994-1999), *J Am Vet Med Assoc*, 218, 1308-1313 (2001)
- [12] Hahn KA, Freeman KP, Barnhill MA, Stephen EL : Serum α_1 -acid glycoprotein concentrations before and after relapse in dogs with lymphoma treated with doxorubicin, *J Am Vet Med Assoc*, 214, 1023-1025 (1999)
- [13] 石川勝行, 森田泰典, 和田 淳, 豊島博昭, 原晋一郎, 湯木正史 : リンパ腫の犬における血中 α_1 酸性糖蛋白の変動とその臨床的意義, *日獣会誌*, 59, 126-130 (2006)
- [14] Ogilvie GK, Walters LM, Greeley SG, Henkel SE, Salman MD : Concentration of α_1 -acid glycoprotein in dogs with malignant neoplasia, *J Am Vet Med Assoc*, 203, 1144-1146 (1993)
- [15] Yamasita K, Fujinaga T, Miyamoto T, Hagio M, Izumisawa Y, Kotani T : Canine acute phase response : Relationship between serum cytokine activity and

- acute phase protein in dogs, *J Vet Med Sci*, 56, 487-492 (1994)
- [16] Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez Subiela S : Acute phase proteins in dogs and cats : current knowledge and future perspectives, *Vet Clin Pathol*, 34, 85-99 (2005)
- [17] Hayashi S, Jinbo T, Iguchi K, Shimizu M, Shimada T, Nomura M, Ishida Y, Yamamoto S : A comparison of the concentrations of C-reactive protein and α_1 -acid glycoprotein in the serum of young and adult dogs with acute inflammation, *Vet Res Commun*, 25, 117-126 (2001)
- [18] Jain NC : 血漿蛋白, 異常蛋白血症, および免疫不全, 最新獣医血液学, 作野幸孝訳, 371-401, LLLセミナー, 鹿児島 (1996)

The Utility of α_1 -acid Glycoprotein Values in Canine Immune-Mediated Hemolytic Anemia

Yasunori MORITA*† and Yoshiko MORITA

* *Morita Animal Hospital, 67-4 Daikouji-Nagane, Chita, 478-0022, Japan*

SUMMARY

The plasma concentrations of two acute phase proteins, α_1 -acid glycoprotein (α_1 -AG) and C-reactive protein (CRP), were measured in nine dogs with immune-mediated hemolytic anemia (IMHA), to evaluate its usefulness in determining the prognosis. In six dogs achieving complete remissions through immunosuppressive treatments, α_1 -AG and CRP concentrations decreased into the normal range quickly. Of the three dogs that died despite treatment, CRP concentrations showed no clear pattern. On the other hand, α_1 -AG concentrations remained high in all dogs with poor prognosis. These findings suggest that the change in plasma α_1 -AG concentration after treatments could be a useful marker for evaluating the prognosis in dogs with IMHA, whereas the change in the plasma concentration of CRP does not predict the prognosis in certain dogs with IMHA.

—Key words : α_1 -acid glycoprotein, Canine immune-mediated hemolytic anemia, C-reactive protein.

† *Correspondence to : Yasunori MORITA (Morita Animal Hospital)*

67-4 Daikouji-Nagane, Chita, 478-0022, Japan

TEL 0562-56-1710 FAX 0562-56-1769 E-mail : morita-vet@mti.biglobe.ne.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc. , 63, 543 ~ 547 (2010)