

鉄欠乏性及び免疫介在性の複合的病因を疑う小球性 低色素性貧血を呈したカニクイザルの1例

岩野将仁[†] 真鍋由恵 吉田翔太 真鍋 洋 一ツ町知明
四宮充普 鈴木 智 別枝和彦

大鵬薬品工業(株) 安全性研究所 (〒771-0194 徳島市川内町平石夷野 224-2)

(2019年6月17日受付・2019年11月11日受理)

要 約

非臨床安全性試験で汎用されているカニクイザルにおいて、発生頻度の低い小球性低色素性貧血が認められ、併せて赤血球凝集像及び球状赤血球といった免疫介在性を示唆する所見を認める症例に遭遇した。初期治療にて経口鉄剤の投与を行ったものの、球状赤血球及び赤血球凝集像は消失せず、治療休止後に貧血の再発が認められた。その後、経口鉄剤及び免疫抑制剤の併用投与が奏功したため、本症例はカニクイザルにはまれな小球性低色素性貧血で、かつ貧血の機序として、鉄欠乏性及び免疫介在性が複合的に関与した希少な症例と考えられた。

——キーワード：カニクイザル，小球性低色素性貧血，免疫介在性。

-----日獣会誌 73, 310～314 (2020)

鉄欠乏性貧血は、鉄の欠乏によりヘモグロビン合成が障害されるため、再生像に乏しい貧血を呈する病態である [1, 2]。所見としてセントラルペーラーの拡大や断片化等の赤血球の形態異常が認められるのが特徴で、継続的な鉄剤の経口投与による治療が行われる。

一方、免疫介在性溶血性貧血 (IMHA) は、何らかの原因により血球表面の自己抗原または薬物、微生物抗原に対する抗体が産生されることにより、赤血球の破壊が起こる疾患である [1]。所見として赤血球凝集像や球状赤血球が認められるのが特徴で、その治療としてはプレドニゾン投与などの免疫抑制療法の実施が一般的である [2]。

医薬品非臨床試験にて汎用されるカニクイザルでは、貧血の約90%が外傷や感染症に起因する正球性または大球性貧血であり、鉄欠乏性貧血をはじめとする小球性貧血は10%程度と非常に少ない [3]。また、その発生機序については、単一の基礎疾患や病態に起因することがほとんどであり、複数の機序が同時に示唆された症例報告は、われわれが知る限りない。

今回、当施設において小球性低色素性貧血を呈したカニクイザルの1例で、鉄欠乏性を示唆する所見と同時に免疫介在性を示唆する所見を認めるまれな症例に遭遇し

たため、報告する。

症 例

対象動物：3歳齢で入荷された中国産の雄性カニクイザルで、固型飼料 (CMK-2, 日本クレア(株), 東京) の制限給餌, 自由摂水環境にて単飼育されていた。入荷時の獣医学的, 血液学的, 血液化学的及び微生物学的検査に異常は認められず, 入荷以後も日常的な一般状態の観察及び定期検査 (年1回以上) に, 特記すべき異常は認められなかった。

臨床症状及び処置：4歳齢時, 赤血球数 (RBC), ヘモグロビン濃度 (Hb), ヘマトクリット値 (Hct), 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球血色素濃度 (MCHC), 平均赤血球血色素量 (MCH) 及びアルブミン値 (ALB) の低下, セントラルペーラーの拡大した赤血球が認められた (当該日を第1病日と定義, 以下病日にて表記) (表: 初期診断時, 図1: 病期1)。これら小球性低色素性貧血の所見に加え, 網状赤血球数 (Ret), グロブリン値の増加及び赤血球凝集像を認め, 少数であるが球状赤血球も確認された (図2)。以上の所見から, 主な病因は鉄欠乏と初期診断し, 第14病日より, 溶性ピロリン酸第二鉄 (インクレミンシロップ5%, アルフレッサ

[†] 連絡責任者：岩野将仁 (大鵬薬品工業(株) 研究本部安全性研究所)

〒771-0194 徳島市川内町平石夷野 224-2

☎ 088-665-5866 FAX 088-665-5692

E-mail : m-iwano@taiho.co.jp

表 免疫抑制療法が著効するまでの病期ごとの血液・生化学的検査所見

	背景値	初期診断時 (病期 1)	経口鉄剤治療後 (病期 2)	貧血再発時 (病期 3)	免疫抑制療法後 (病期 4)
RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	4.6~5.7	4.5	6.0	2.2	6.8
Hb (g/dl)	11.1~14.2	8.0	9.8	3.6	14.8
Hct (%)	32.0~41.0	29.8	36.6	12.1	48.8
MCV (fl)	63.9~76.3	66.6	61.2	54.1	72.0
MCH (pg)	22.0~26.7	18.0	16.3	16.1	21.9
MCHC (g/dl)	32.2~36.5	27.0	26.7	29.7	30.4
Ret ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	0.6~92.6	279.6	205.9	185.4	55.5
ALB (g/dl)	3.3~4.7	1.6	2.4	1.1	2.8
Glob (g/dl)	2.5~4.5	5.3	5.4	7.1	4.2

RBC：赤血球数，Hb：ヘモグロビン濃度，Hct：ヘマトクリット値，MCV：平均赤血球容積，MCH：平均赤血球色素量，MCHC：平均赤血球色素濃度，Ret：網状赤血球数，ALB：血中アルブミン値，Glob：血中グロブリン値

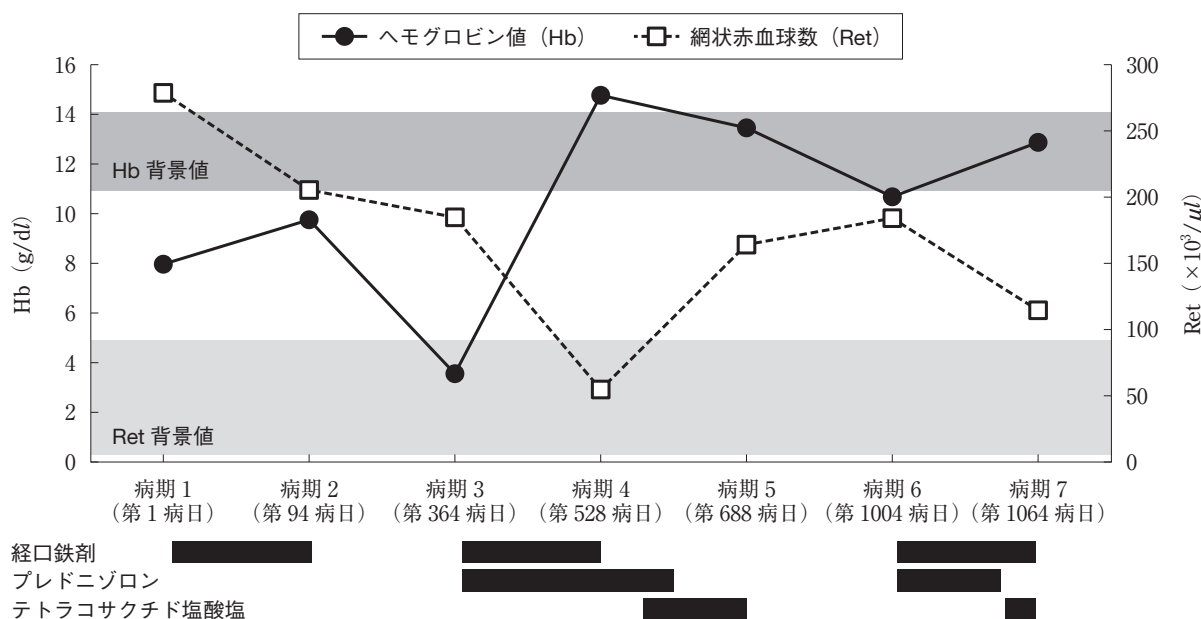


図1 各種治療によるヘモグロビン値及び網状赤血球数の変動

ファーマ(株，大阪，以下，経口鉄剤)の連日混餌投与(150mg/日)を開始した。

第94病日，赤血球の大小不同，赤血球凝集像及び少数の球状赤血球は認められていたものの，RBC及びHctに改善傾向が確認されたため，これらの治療を休止し，経過観察を行った(表：経口鉄剤治療後，図1：病期2)。

定期検査時(第364病日)に，初期診断時よりも重篤なRBC，Hb，Hct，MCV，MCH及びALBの低値が認められ，MCHCも依然として低値を示していた。加えて，網状赤血球数，血小板数及びグロブリンの高値，セントラルペーラーが拡大した赤血球の増加，赤血球の大小不同，赤血球凝集像及び少数の球状赤血球が認められた(表：貧血再発時，図1：病期3)。その他，限局性の脱毛，散発的な嘔吐が認められた。この時点において

本症例でみられた所見は，鉄欠乏性貧血の所見に類似していたが，赤血球の再生を示唆する所見があり，典型的な鉄欠乏性貧血とは相違があった。したがって，貧血の原因として鉄欠乏以外の原因も関与している可能性が疑われたため，まず初めに除外診断による発生機序の絞り込みを実施した。再生性貧血には失血性貧血，免疫介在性溶血性貧血(IMHA)，感染症，中毒等が含まれる[1, 2]。

本症例は，外傷等も含めて一般状態の異常はなく，入荷時検疫検査で重篤な感染症に関しては否定していた。また，微生物及び媒介昆虫のコントロールがなされた飼育環境であり血液塗抹標本による検査で原虫が確認されなかったこと薬剤投与歴及び飼料の分析結果から，出血性，感染性(*Plasmodium* sp.感染症[4])及び中毒性貧血についてそれぞれ否定した。

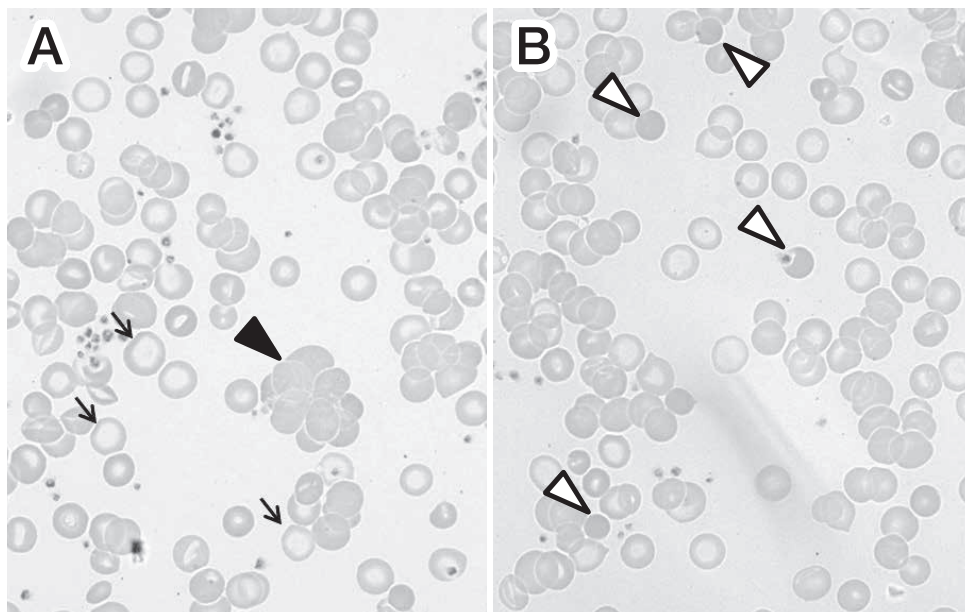


図2 治療開始直前の血液塗抹像（第14病日）

A：赤血球凝集像（黒矢頭）及びセントラルペーラーの拡大（矢印）が認められた。

B：球状赤血球（白矢頭）が認められた。

貧血再発時（第364病日）にも同様の所見が認められた。

よって、残る病態としてIMHAが考えられた。IMHAでは赤血球の再生像に加えて、血液塗抹標本上で球状赤血球の出現や赤血球凝集像が認められ、血小板の増加がみられる場合もあるとされており、本症例と一致していた。また、グロブリン値の高値も抗原刺激による抗体産生を示唆していると考えられた。また、IMHAの特徴とされる赤血球凝集像及び少数ではあるが球状赤血球の出現といった所見が認められた。よって、その時点では、再生性の所見を示す要因として、免疫介在性の機序がもっとも疑われると判断した。そこで、経口鉄剤投与と並行して、免疫抑制療法を開始することとした。第375病日より、経口鉄剤投与に加えて、小動物臨床でのIMHAの治療を参考に注射用プレドニゾンコハク酸エステルナトリウム（水溶性プレドニン10mg、塩野義製薬㈱、大阪、以下、プレドニゾン）の筋肉内投与（2mg/kg）[5]を、5日間連続投与後2日間休薬（以下、5投2休）のレジメンで継続投与した。

第528病日、治療前に低値であったRBC、Hb及びHct、高値であった網状赤血球及び血中グロブリン値は、いずれも正常値に復し、赤血球凝集像等の異常所見も認められなかった（表：免疫抑制療法後、図1：病期4）。したがって、経口鉄剤治療だけでは完全に改善しなかった貧血が、免疫抑制療法の併用によって寛解したと判断し、経口鉄剤投与の休止及びプレドニゾンの漸減を開始した。

プレドニゾンの減量と並行して、副腎に直接作用してホルモン分泌を促す持続性合成ACTH製剤であるテ

トラコサクチド酢酸塩（コートロシンZ筋注0.5mg、第一三共㈱、東京）の筋肉内投与（0.2mg/日、隔日投与）への切り替えを順次行った[6]。第688病日の検査において、貧血の再発が認められなかったため、全ての治療を終了した（図1：病期5）。

第1004病日、摂餌量の低下及び頻回の嘔吐、Hbの軽度低下（図1：病期6）、血中グロブリン値の増加及び赤血球凝集像が認められたため、プレドニゾンの筋肉内投与（2mg/kg、5投2休）、経口鉄剤投与（150mg/日、3投4休）を再開した。その後、第1024病日より、プレドニゾンを3投4休に減量、第1045病日より投与休止し、テトラコサクチド酢酸塩の筋肉内投与（0.2mg/日、3投4休）に切り替えた。

第1064病日、一般状態に異常は認められず、血液学的検査の値も正常範囲内に回復した（図1：病期7）。その後、同様の処置により、一般状態の悪化を伴うことなく維持でき、貧血の再発はなかった。

考 察

一般的に鉄欠乏性貧血は、鉄の貯蔵量減少、鉄要求量の増加、消化管からの吸収障害等に起因して発症するとされている[2]。本症例は小球性低色素性貧血所見を示したが、鉄欠乏の原因を示唆する一般状態の異常は認められず、通常鉄欠乏性貧血では認められない種々の赤血球再生所見などの矛盾点が複数認められた。加えて、血清鉄の定量的評価を実施しなかったため、鉄欠乏性貧血と断定することはできなかった。しかしながら、臨床検

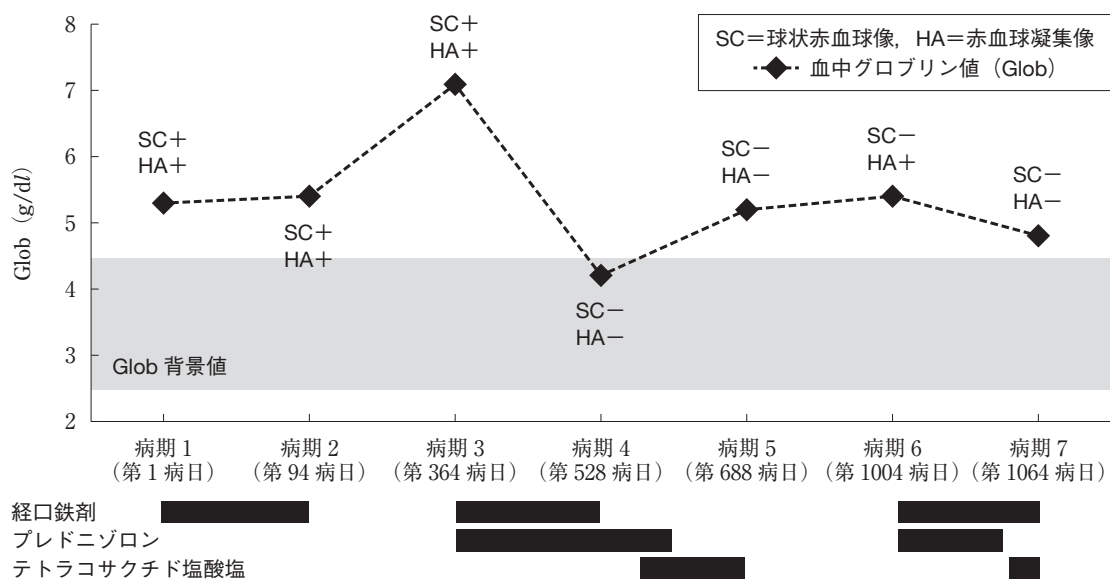


図3 免疫介在性を示唆する所見の推移

査所見に加えて、初期の経口鉄剤投与によって貧血改善が認められたことから、貧血の一因として鉄欠乏が関与していたことが示唆された。

一方、伴侶動物におけるIMHAの診断は、溶血を示唆する所見があり、かつ球状赤血球症、赤血球凝集及び直接クームス試験陽性のうち1つ以上の所見があること、そのうえで溶血性貧血を惹起する他の疾患を除外することで確定される [2, 7, 8]。本症例では球状赤血球は少数であったものの、赤血球凝集は顕著であり、IMHAの診断基準と一部一致していた。霊長類での実験的免疫介在性溶血性貧血の既報と比較すると、赤血球数、Hb、Ht及びALBの低下、網状赤血球、グロブリン値増加の点で本症例は一致していた [9, 10]。特にグロブリンの高値は抗体産生を反映している可能性が示唆され、免疫介在性を強く示唆する所見の一つと考えた。

一方で、溶血が明確ではなかった点と、既報のLDH、BUNの増加及び脾腫等の特徴的な変化が認められなかった点、小球性を呈していた点で本症例は一般的なIMHAとの相違が認められると考えられた [9, 10]。よって、本症例をIMHAと確定診断することはできなかったものの、再生性貧血を起こすと考えられる他疾患の除外、経口鉄剤投与のみで改善しなかった貧血症状、血中グロブリンの高値、赤血球凝集像及び少数の球状赤血球が免疫抑制療法によって改善したこと、治療休止によりこれらの所見が再発したことから、本症例の病因として免疫学的機序が少なからず関与していた可能性が高いと考えられた (図3)。

以上より、本症例は鉄欠乏及び免疫介在性機序の両者を示唆する所見や治療応答が認められ、これらが併発していた病態が考えられた。小球性低色素性貧血であるにもかかわらず再生を示唆する所見が認められるなど、

一般的に相反すると考えられる所見が混在していたのは、この複合的な病因によるものと考えられた。また、小球性低色素性貧血であった点、セントラルペーラーが拡大した赤血球の方が凝集した赤血球や球状赤血球よりもより顕著に認められた点など、免疫学的機序を示唆する所見と比較して、鉄欠乏を示唆する所見がより重度であったことから、貧血の主因は鉄欠乏性であり、そこに免疫介在性の機序が関与したと推察された。

本症例は、非臨床安全性試験で汎用されるカニクイザルでは報告の少ない小球性低色素性貧血であり、さらに貧血の病因として鉄欠乏及び免疫介在性機序の複合的関与が示唆された希少な症例と考えられた。

引用文献

- [1] 石田卓夫：CBC：赤血球系の評価，伴侶動物の臨床病理学，第2版，58-77，緑書房，東京（2014）
- [2] 久末正晴，奥田 優，大和 修，亘 敏広，下田哲也，辻本 元，遠藤泰弘：血液・免疫系疾患，獣医内科学改訂版，辻本 元編，421-450，文永堂出版，東京（2011）
- [3] 齊藤直之：6.5 貧血，医科学研究資源としてのカニクイザル，霊長類医科学研究センター30年の集積，吉田高志他編，178-179，シュプリングー・ジャパン，東京（2006）
- [4] 片貝祐子：第9章 疾病，2.11 サルマラリア，医科学研究資源としてのカニクイザル，霊長類医科学研究センター30年の集積，吉田高志他編，160-161，シュプリングー・ジャパン，東京（2006）
- [5] 辻本 元：免疫介在性溶血性貧血，SA Medicine BOOKS 犬と猫の治療ガイド2015—私はこうしている，57-60，インターズー，東京（2015）
- [6] Johnson LR：Activation of the immune system and thrombosis，J Vet Intern Med，16，501-503（2002）
- [7] Balch A，Mackin A：Canine immune-mediated hemolytic anemia：Pathophysiology，clinical signs，and

- diagnosis, *Compendium*, 29, 217-225 (2007)
- [8] 森田泰典, 森田佳子: 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, *日獣会誌*, 63, 543-547 (2010)
- [9] Watanabe K, Watanabe R, Shioda A, Mizoguchi K, Sugimoto T, Terao K: Investigation of the mechanism of drug-induced autoimmune hemolytic anemia in cynomolgus monkeys elicited by a repeated-dose of a humanized monoclonal antibody drug, *J Toxicol Sci*, 28, 123-138 (2003)
- [10] Suzuki J, Gotoh S, Miwa N, Terao K, Nakayama H: Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) in an infant rhesus macaque (*Macaca mulatta*), *J Med Primatol*, 29, 88-94 (2000)

A Case of Microcytic Hypochromic Anemia Caused by Iron Deficiency and Immunological Mechanism as Complex Pathogenesis in a Cynomolgus Monkey

Masataka IWANO[†], Yoshie MANABE, Shota YOSHIDA, Hiroshi MANABE, Tomoaki HITOTSUMACHI, Mitsuhiro SHINOMIYA, Satoshi SUZUKI and Kazuhiko BESSHI

**Toxicology Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd., 224-2 Ebisuno, Hiraishi, Kawauchi-cho, Tokushima, 771-0194, Japan*

SUMMARY

We witnessed a case of microcytic hypochromic anemia, which was recognized as comparatively rare in cynomolgus monkeys. Immune-mediated findings, such as aggregation and spherocytosis of erythrocytes, were also observed. Initial medication with oral iron did not improve the aggregation and spherocytosis of erythrocytes, and recurrence of anemia after drug cessation was noted. Finally, we were able to manage this case with combination therapy consisting of oral iron and an immunosuppressant. This was considered to be a case of microcytic hypochromic anemia, which is rare in cynomolgus monkeys as laboratory animals, and in which it was considered that iron deficiency and immunological mechanisms are combined as pathogenesis of anemia.

— Key words : cynomolgus monkey, microcytic hypochromic anemia, immune-mediated.

[†] *Correspondence to : Masataka IWANO (Toxicology Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.)
224-2 Ebisuno, Hiraishi, Kawauchi-cho, Tokushima, 771-0194, Japan
TEL 088-665-5866 FAX 088-665-5692 E-mail : m-iwano@taiho.co.jp*

—*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 73, 310~314 (2020)