

Synthesis of C-reactive protein (CRP) and α_1 -acid
glycoprotein (α_1 -AG) as indicators of acute
inflammation in young and adult dogs

麻布大学大学院環境保健学研究科
環境保健科学専攻生体防御学

林 繁利

Synthesis of C-reactive protein (CRP) and α_1 -acid glycoprotein (α_1 -AG) as indicators of acute inflammation in young and adult dogs

幼齡犬および成犬における急性炎症の指標としての C-反応性蛋白(CRP) ならびに α_1 - 酸性糖蛋白(α_1 -AG)の産生能

林 繁利

はじめに

イヌにおいても C-反応性蛋白 (CRP) および α_1 -酸性糖蛋白 (α_1 -AG) が急性期蛋白としての性状を有していることが知られてきた。しかし、炎症の種類・程度あるいはイヌの成長過程と急性期蛋白の産生能とについては、不明な点が多い。イヌは医薬品の安全性試験に用いられる重要な実験動物であり、それらの知見を得ることは、医薬品の安全性試験の精度向上に貢献できるものと考えられる。

著者は、実験用ビーグル犬に *Bordetella bronchiseptica* 接種によって惹起させた肺炎の過程における CRP 濃度の変動および *B. bronchiseptica* に対する抗体の炎症刺激に対する作用を調べた。さらに、幼齢犬および成犬における炎症刺激に対する CRP と α_1 -AG 産生能についても検討した。その実験成績の概要について述べるとおおよそ次のとおりである。

I. *B. bronchiseptica* 接種犬の血清 CRP 濃度および免疫応答

1. 材料および方法

B. bronchiseptica L-414 株 (I 相菌) は 5% 牛血清を含むトリプチケースソイ寒天を用いて 37°C 下で 20 時間培養後、10% トリプチケースソイブロスを含む滅菌生理食塩液に 10^9 個/ml に浮遊した。この *B. bronchiseptica* は実験犬への接種および間接蛍光抗体法 (IFA) 用スライド抗原の調製に用いた。

実験には 10 頭 (雌雄各 5 頭) の体重 9-10 kg の健康なビーグル犬を用いた。実験犬は $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 10\%$ に制御されたアイソレーターで飼育した。これらの実験犬は、対照犬 2 頭、*B. bronchiseptica* 接種犬 4 頭および *B. bronchiseptica* 接種後 1 日当たり 2 mg/kg のプレドニゾロンを 5 日間皮下投与した実験犬 4 頭の 3 グループに分けた。X 線観察下で全身麻酔を施した実験犬に気管支末端までカテーテルを挿入し、それを介して、対照犬には 5 ml の滅菌生理食塩液を、他の 2 グループの実験犬には 1×10^9 個の *B. bronchiseptica* の生菌 5 ml をそれぞれ接種した。グループ 1 には *B. bronchiseptica* の初回接種 42 日後に、グループ 2 には 35 日後に同様の術式で *B. bronchiseptica* を再接種した。血液は *B. bronchiseptica* 接種後 2 週間はほぼ毎日および *B. bronchiseptica* 再接種の翌日に、血液、CRP 濃度および IFA 価をモニターするために採取した。加えて、再接種の翌日に分泌液中の IFA 価をモニターするために、気管分泌液を採取し、食塩加リン酸緩衝液中に気管分泌液を抽出した。

白血球数は自動分析機で、CRP 濃度はサンドイッチ ELISA によってそれぞれ測定した。成績の統計処理には *t* 検定を用い、有意差 ($p < 0.05$) を求めた。

2. 結果および考察

B. bronchiseptica 接種前の実験犬の CRP 濃度は、 $6.8 \sim 21.9 \mu\text{g/ml}$ と低値であった。初回接種 1 日後の CRP 濃度は、グループ 1 では $385.0 \sim 720.0 \mu\text{g/ml}$ (平均 $478 \mu\text{g/ml}$) に、グループ 2 では $372.0 \sim 649.0 \mu\text{g/ml}$ (平均 $551 \mu\text{g/ml}$) に著しく増加した。滅菌生理食塩液で処理した対照犬では CRP が全く増加しなかった。CRP は 8 頭中 7 頭の実験犬が、

B.bronchiseptica 接種 1 日後に、他の 1 頭は 2 日後に最高値を示し、その後いずれも速やかに減少した。*B.bronchiseptica* 再接種の 1 日後に CRP 濃度は増加したが、このときの CRP 濃度の増加は全ての実験犬において初回接種後よりも低値であった ($p < 0.05$)。

2 頭の対照犬では白血球数は変化を示さなかったが、グループ 1 および 2 では *B.bronchiseptica* 接種 1~3 日後にゆるやかに増加を示した。

2 頭の対照犬では全く X 線所見に異常が認められなかった。肺の X 線検査で、*B.bronchiseptica* 接種 1~2 日後に、すべての実験犬の左側中葉と左側前肺葉に肺胞浸潤の証拠が認められた。*B.bronchiseptica* 接種 3 日後にすべての実験犬で肺炎の障害像が著しく減少し、10 日後までに肺は X 線検査上ほとんど正常となった。

B.bronchiseptica に対する血清および気管分泌液の IFA 価は、接種前には、すべての実験犬が陰性であった。しかし、*B.bronchiseptica* に対する血清 IgM および IgG 抗体は、すべての実験犬で *B.bronchiseptica* 接種 5 日後から検出されたが、血清 IgA 抗体は検出されなかった。この IFA 価にはグループ 1 と 2 の実験犬の間に有意差は認められなかった。分泌液中の S-IgA および IgG の IFA 価は、*B.bronchiseptica* の再接種に続いて増加した。

人為的に惹起させた気管支肺炎によってすべての実験犬の血清 CRP 濃度が 23~95 倍に著しく増加したことは、気管支肺炎の病態を評価する指標として CRP が有用であることを示唆している。*B.bronchiseptica* 再接種後の CRP 濃度の増加が初回接種後のそれに比べて有意に低値を示した理由は、気管および気管支分泌液中の *B.bronchiseptica* に対する S-IgA および IgG 抗体が防御作用を示した結果、炎症刺激が減弱したためと考えられた。

抗炎症剤であるプレドニゾロンは、本実験で白血球数を増加させたが、CRP 濃度には影響を及ぼさず、血清中の IgG と IgM、気管分泌液中の IgG と S-IgA のいずれの応答をも抑制しなかった。

本実験で、CRP は白血球数よりもよりの確に炎症の過程を反映することが確認された。

II. 幼齢犬および成犬における CRP と α_1 -AG 産生能

1. 材料および方法

本実験には 17 頭の健康な実験用ビーグル犬および臨床例として 10 頭の家庭での飼育犬を用い、CRP および α_1 -AG の産生能を検討した。12 頭の 1、3 および 18 カ月齢の実験犬（雌雄各 6 頭）には体重 10 kg 当たり 1 ml のテレピン油を筋肉内へ、4 頭の 1 カ月齢の実験犬（雌雄各 2 頭）には 5×10^8 個の *Staphylococcus aureus* を皮下へそれぞれ注射した。残り 1 頭の実験犬では実験的に経皮的胃ろう造設術を実施した。臨床例では、2 頭の 1 カ月齢および 3 頭の 3 カ月齢の雑種犬に卵巣・子宮摘出術を施し、4 頭の 1 カ月齢のビーグル犬に生ウイルスワクチンを接種した。骨折した 1 頭の 3 カ月齢の雑種犬は、手術前より CRP および α_1 -AG の変動の検討に用いた。

CRP 濃度はサンドイッチ ELISA を、 α_1 -AG は濃度は SRID キットを用いてそれぞれ

定量した。成績の統計処理には t 検定を用い、有意差 ($p < 0.05$) を求めた。

2. 結果および考察

テレピン油を注射したすべての実験犬で、CRP 濃度が 2 日後に最大値を示した。これらの濃度は 1 カ月齢の幼犬では $146.6 \sim 201.2 \mu\text{g/ml}$ で接種前値の 12~15 倍の増加を示したが、3 カ月齢と 18 カ月齢の実験犬では、それぞれ $322.5 \sim 341.8$

$\mu\text{g/ml}$ (接種前値の 16~26 倍)、 $297.6 \sim 371.9 \mu\text{g/ml}$ (接種前値の 14~26 倍) であった。1 カ月齢犬と 3 カ月齢以上の実験犬との間の CRP 産生能には有意差 ($p < 0.05$) が認められた。

$\alpha_1 - \text{AG}$ はテレピン油注射の 4 日後にすべての実験犬が最大値を示した。これらの濃度は、1 カ月齢犬では $2,120 \sim 2,700 \mu\text{g/ml}$ (接種前値の 4~5 倍)、3 カ月齢犬では $2,170 \sim 2,680 \mu\text{g/ml}$ (接種前値の 5~8 倍)、18 カ月齢では、 $2,240 \sim 2,910 \mu\text{g/ml}$ (接種前値の 2~10 倍) であった。これらの実験犬においては、 $\alpha_1 - \text{AG}$ 濃度に有意差 ($p < 0.05$) が認められなかった。

S.aureus を接種した 1 カ月齢犬では、CRP および $\alpha_1 - \text{AG}$ とともに接種 1 日後に最大値を示した。しかし、これらの濃度は、CRP が $61.8 \sim 98.1 \mu\text{g/ml}$ 、 $\alpha_1 - \text{AG}$ が $318 \sim 760 \mu\text{g/ml}$ と低値であった。これは、*S.aureus* の炎症刺激が弱かったことに起因すると推察された。

生ウイルスワクチン接種犬では、CRP も $\alpha_1 - \text{AG}$ も増加を示さなかったが、イヌにおけるウイルス感染と急性期蛋白増加の関係についてはさらに検討が必要である。

卵巣・子宮摘出術例においては、CRP 濃度は 1 カ月齢犬では $90 \mu\text{g/ml}$ 、3 カ月齢犬では $105.8 \sim 199.0 \mu\text{g/ml}$ と手術の 1 日後に最大値を示し、その濃度は月齢を経るに従って高くなった。 $\alpha_1 - \text{AG}$ 濃度にはほとんど増加が認められなかった。経皮的胃ろう造設術を施した成犬では、1 日後に CRP 濃度が $343.4 \mu\text{g/ml}$ (術前値の 54 倍)、 $\alpha_1 - \text{AG}$ 濃度が $1,600 \mu\text{g/ml}$ (術前値の 8 倍) の最大値を示した。3 カ月齢の骨折の症例では、骨折の翌日に CRP 濃度が $131.3 \mu\text{g/ml}$ 、 $\alpha_1 - \text{AG}$ 濃度が $219 \mu\text{g/ml}$ で、骨折によって CRP が増加することが確認された。本症例では、手術の 1 日後に CRP が $262.6 \mu\text{g/ml}$ 、 $\alpha_1 - \text{AG}$ が $922 \mu\text{g/ml}$ に増加したのちに、漸次減少した。ピンを除去した翌日に、CRP と $\alpha_1 - \text{AG}$ の濃度はそれぞれ 4.4 倍、1.2 倍程度に増加した。

本実験の成績から、CRP 産生能は 1 カ月齢の幼齢犬では著しく弱く、成長に伴って産生能が高まり、ほぼ 3 カ月齢では成犬と同程度の産生能を有することが確認された。 $\alpha_1 - \text{AG}$ 産生能は、幼齢犬と成犬にほとんど差が認められなかったことから、CRP と $\alpha_1 - \text{AG}$ 産生に関わるサイトカインの種類が異なるものと考えられた。