

10 複数臓器に核内封入体を認めた鶏アデノウイルス血清型 8b による鶏封入体肝炎

上北地域県民局地域農林水産部十和田家畜保健衛生所

○米田 有希 小田 桐 千鶴 恵
荻野 倫子 渡辺 測子
豊澤 直子 中村 成宗

1 はじめに

鶏封入体肝炎 (IBH) はトリアデノウイルス (AAV) によって引き起こされ、病変は肝臓に主座する。肝臓では、腫大、退色、点状ないし斑状出血が認められるほか、肝細胞に核内封入体の形成がみられることが特徴である。

本県では 2010 年に血清型 8a による IBH が発生¹⁾し、2015 年には 1 型による筋胃びらんも確認²⁾されている。今回、肺の小動脈内や腎臓の尿細管上皮細胞などの複数臓器で血清型 8b による IBH を確認したため、その概要を報告する。

2 発生の経緯

(1) 農場概要

発生農場は同じ系列会社の肉養鶏 2 農場で、A 農場は 11 鶏舎に 107,480 羽、B 農場は 18 鶏舎に 128,650 羽を飼養している。この系列会社では 10 日齢時に伝染性気管支炎 (NB) ワクチンを使用しており、その他に B 農場は IBD の発生があったため、IBD ワクチンも 10 日齢で接種している。

(2) 発生状況

平成 31 年 2 月 25 日、11 日齢の死亡羽数が通常の約 4 倍に増加したとの通報があった。

同日農場に入り、A、B 農場各 10 羽の病性鑑定を実施した。なお、主な臨床症状は、沈鬱や羽毛逆立てであった。また、疫学的に両農場の死亡した鶏は同一ロットであった。

3 材料及び方法

(1) 病理組織学的検査

供試鶏は、解剖した 20 羽のうち、A 農場 5 羽及び B 農場 4 羽について臓器を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施した。

(2) 免疫組織化学的検査

No. 1 の肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、腺胃、筋胃、膵臓、十二指腸、回腸、盲腸、直腸、ファブリキウス嚢 (F 嚢) のパラフィン切片に対し、ウサギ抗アデノウイルス血清 (動衛研) を用いて免疫組織化学的検査 (免疫染色) を実施した。

(3) 電子顕微鏡検査

No.1 の肝臓のホルマリン固定材料から小片を切り出し、1%四塩化オスミウム溶液で再固定し、樹脂包埋した。その後、超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡で観察した。

(4) ウイルス学的検査

分離検査で発育鶏卵尿膜腔内接種を実施し、遺伝子検査で AAV、CAV、IBDV、伝染性気管支炎ウイルス (IBV) について PCR 法を行った。

また、遺伝子解析では PCR 産物をダイレクトシーケンス法にて塩基配列を解読した。

(5) 細菌学的検査

主要臓器を 5% 羊血液寒天培地に接種し、好気・嫌気培養を行った。

4 成績

(1) 病理解剖所見

供試した 9 羽全ての肝臓で、退色や点状出血が認められた。筋胃移行部の出血や腎臓腫大も少数認められたが、目立った著変はなかった。

(2) 病理組織学的所見

肝臓では図 1 に示す通り、肝細胞の空胞変性・壊死をびまん性に認めた。また、図 2 に示す通り、肝細胞の核内には Full 型の好塩基性から好酸性封入体の形成や、まれに CowdryA 型の好酸性核内封入体が認められた。

Full 型の核内封入体は肝臓の肝細胞、脾臓の腺房細胞、筋胃の腺上皮細胞に多く認められ、腎臓の尿細管上皮細胞、肺小動脈の内皮細胞、腺胃、十二指腸、回腸、盲腸、直腸の粘膜上皮細胞にも確認された。F 囊のリンパ濾胞内では図 3 に示した通り、リンパ球が顕著に減少し、リンパ濾胞が委縮していた。

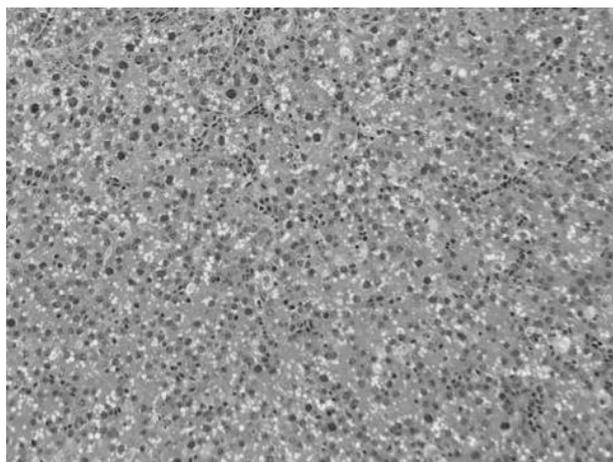


図 1 肝臓でみられた肝細胞の空胞変性・壊死

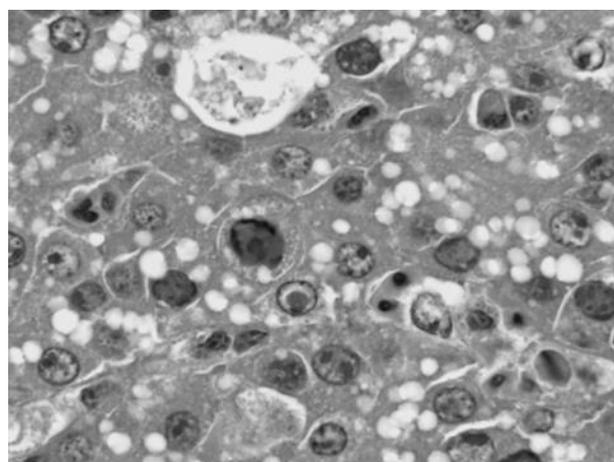


図 2 肝細胞内の Full 型核内封入と CowdryA 型核内封入体

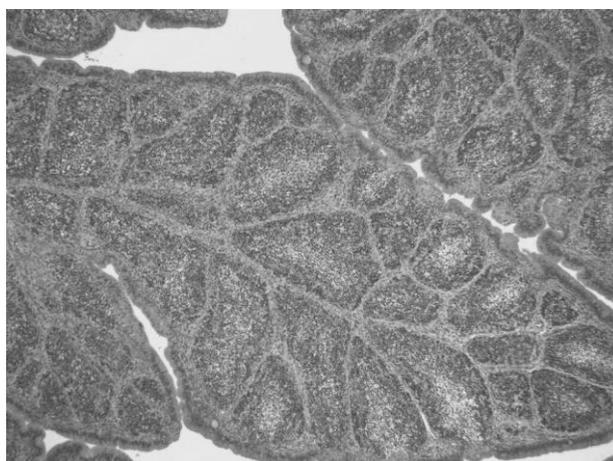


図 3 F 囊でみられたリンパ濾胞内のリンパ球の減少、結合組織の増生

(3) 免疫組織化学的所見

図4にNo.1の鶏の肺小動脈、図5に腎臓、図6に回腸のFu11型核内封入体を示している。免疫組織化学的所見ではこれらに陽性反応を認めた。その他、肝臓、脾臓、腺胃、筋胃、膵臓、十二指腸でも陽性反応を認めた。なおF囊は陰性であった。

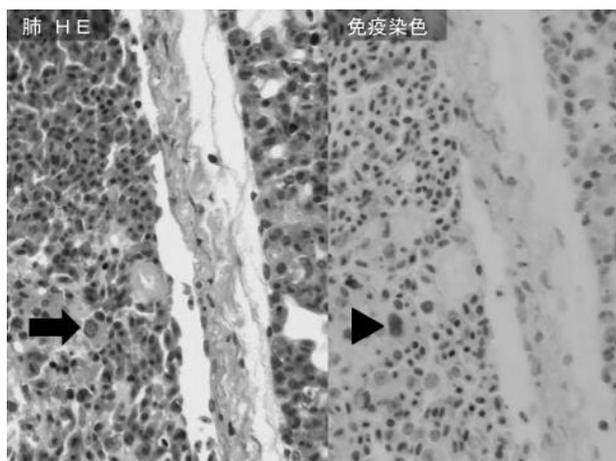


図4 肺の小動脈内における陽性反応
(矢印: Fu11型核内封入体 矢頭: 免疫染色陽性反応)

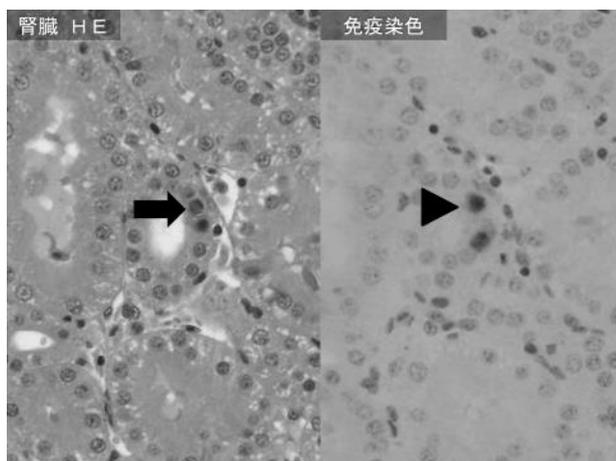


図5 腎臓の尿細管上皮細胞におけるFu11型核内封入体及び陽性反応

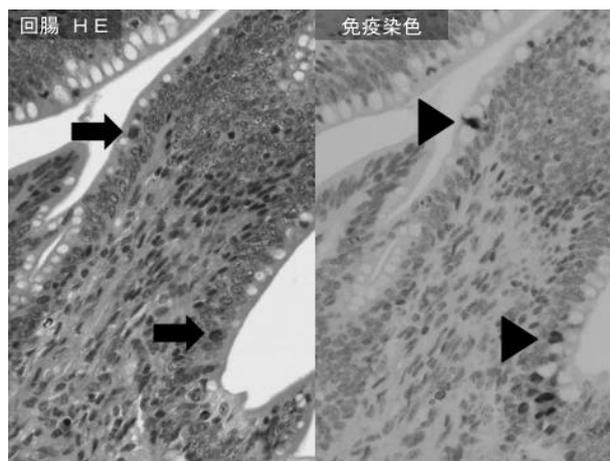


図6 回腸の粘膜上皮細胞内における陽性反応

(4) 電子顕微鏡所見

図7は、肝臓の電子顕微鏡所見を示した。肝臓に形成されたFu11型核内封入体に約70nmの六角形あるいは円形のアデノウイルス粒子が結晶状に配列していた。また、核が壊れているCowdryA型核内封入体にはウイルス粒子は認められなかった。

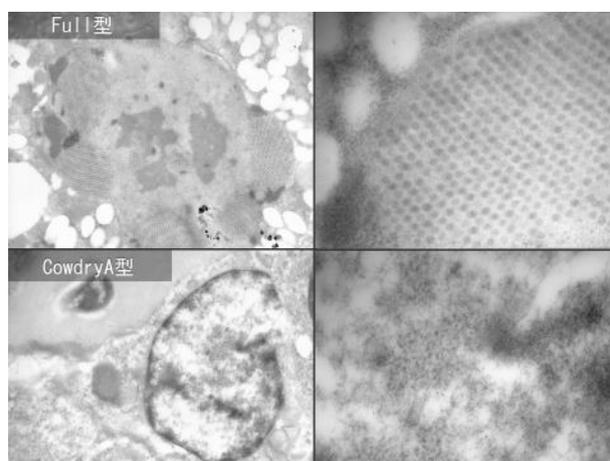


図7 肝細胞におけるFu11型核内封入体内に認められたアデノウイルス様粒子

(5) ウイルス学的検査

ウイルス分離検査で鳥インフルエンザウイルスとニューカッスル病ウイルスは否定された。

遺伝子検査で肝臓、筋胃から AAV 遺伝子を検出し、遺伝子解析で血清型 8b と決定した。

遺伝子系統樹を図 8 に示した。A 及び B 農場の株は遺伝子上血清型 8b の標準株 764 と同グループに分類され、2010 年に本県で発生した IBH とは異なった。

結果

分離検査 : AIV、NDV 陰性
 遺伝子検査 : 肝臓、筋胃から AAV 遺伝子検出
 遺伝子解析 : 血清型 全検体 8 b 型

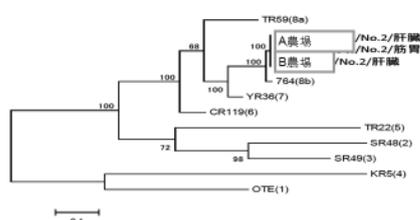


図 8 ウイルス学的検査結果

(6) 細菌学的検査

いずれの臓器からも有意菌は分離されなかった。

5 診断

供試した 9 羽について、核内封入体の分布状況を表 1 に示した。

B 農場より A 農場のほうが重度であり、肝臓が特に病変が強かった。検体数は少ないものの、脾臓や筋胃でも病変が強いものが混在していた。核内封入体以外の他の所見は、肝細胞の壊死、白脾髄のリンパ球の減少、赤脾髄の細網細胞の増生がすべての鶏で重度に認められた。また、A 農場の鶏で F 囊のリンパ濾胞で、リンパ球の減少や結合組織の増生が中程度認められた。

遺伝子検査と遺伝子解析により、血清型 8b の AAV 遺伝子を検出し、供試した 9 羽全ての

肝臓に核内封入体を認めたこと。また、電子顕微鏡検査で、肝細胞内 Full 型核内封入体内にアデノウイルス様粒子も確認されたことから、血清型 8b による IBH と診断した。

表 1 核内封入体を認めた臓器

核内封入体臓器	A農場					B農場			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
肝臓	+++	+	++	+++	+++	+	/	+++	++
肺	+	-	-	-	-	-	-	-	-
腎臓	+	+	+	-	+	+	-	-	-
脾臓	/	++	/	+++	/	/	/	++	+
腺胃	+	-	-	-	-	-	-	-	+
筋胃	+	+	++	++	+	++	++	++	+
十二指腸	/	+	/	+	/	/	/	+	+
回腸	+	+	+	+	+	+	+	+	+
盲腸	+	+	+	+	+	+	+	-	+
直腸	+	+	+	+	+	+	+	+	+

※ 重度+++ 中等度++ 軽度+ 陰性- 未検査斜線

6 考察

各臓器で Full 型核内封入体を確認し、電子顕微鏡検査で肝細胞内の Full 型核内封入体内にアデノウイルス様粒子を確認したことから、急性期と推定した。

雛の導入元が県外同一種鶏場の同一ロットで発生したことや、11 日齢と発症年齢も若かったことから、介卵感染が考えられた。また、腎臓の尿細管細胞や肺の小動脈内にも核内封入体を認めたことと、血清型 8b の IBH を認めたことは県内初の報告となる。なお、F 囊の委縮をみとめたが、ウイルスは検出されなかったため、IBDV や伝染性貧血ウイルスが関与しない単独感染による発生であったと考えられた。^{3) 4)}

予防対策として、鶏の免疫低下の状態を作らないことが大切であるため、一般衛生飼養管理の徹底が今後も重要であると考えられる。

稿を終えるにあたり種々の検査にご協力くださいました独立研究法人動物衛生研究所の三上上級研究員、山本主任研究員、青森家畜保健衛生所の病性鑑定課の皆様に深く深謝する。

参考文献

- 1) 佐藤尚人ら:種鶏場に発生した鶏封入体肝炎の一症例、平成 24 年度北海道・東北地区鶏病技術研修会抄録 (2012 年)
- 2) 水島亮ら:アデノウイルス性筋胃びらんを発症した若齢肉用鶏の肝臓にみられた多発性肉芽腫、平成 27 年度青森県業績発表会抄録 (2015 年)
- 3) 鶏病研究会:鶏アデノウイルス感染症の現状と対策、第 55 巻鶏病研究会報 (2019 年)
- 4) 鶏病研究会:種鶏の衛生対策－介卵感染性疾患を中心として－、第 51 巻鶏病研究会報 (2015 年)