

9 県内で発生した高病原性鳥インフルエンザで認められた 病理組織学的所見の鳥種間の比較

中央家畜保健衛生所

○松本 裕治・森谷 翠・小池 絵理子

I はじめに

高病原性鳥インフルエンザ (HPAI) は伝染力が強く高致死性を有する感染症¹⁾である。HPAI ウイルス (HPAIV) のウイルス株による組織親和性や、ウイルスに対する鳥の品種による感受性の違いで病態が異なると報告^{2, 3, 4)}されている。

本県では令和 3、4 年度で 5 例の HPAI 発生が確認された。(表 1) この 5 例のうち、令和 3 年度の鶏、令和 4 年度のおひる (アイガモ) 及びうずら各 1 例について病理組織学的検査を実施したところ、鳥種により異なる病理組織学的所見を得たので、その概要を報告する。

表 1 埼玉県での HPAI 発生 (令和 3、4 年度)

鳥種	発生年月	病理組織学的検査
鶏	令和3年12月	○
鶏	令和4年12月	
鶏	令和4年12月	
おひる (アイガモ)	令和5年1月	○
うずら	令和5年2月	○

II 発生概要

上記 3 例について農場概要 (鳥種、飼養品種、家きん舎構造、飼養形態、飼養羽数) を表 2 にまとめた。

鶏 (ボリスブラウン)、アイガモ (チェリバレー)、うずら (フランスウズラ) で死亡羽数増加の通報があり、それぞれ家畜防疫員が高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針³⁾ (以下、指針) に則り、死亡鶏 11 羽及び生鶏 2 羽を用いて A 型インフルエンザの簡易検査を実施したところ、陽性反応が認められた。

表 2 農場概要

飼養品種	家きん舎構造	飼養形態	飼養羽数
ボリスブラウン ジュリア	開放鶏舎	ケージ	17,000羽
チェリバレー	開放家きん舎	平飼い	2,000羽
フランスウズラ ニホンウズラ	セミウィンドレス	ケージ	149,000羽

III 材料及び方法

1 材料

3例に共通して、生体2羽 (No. 1、2) と死体5羽 (No. 3～7) をウイルス学的検査及び病理組織学的検査に供した。生体2羽と同居家きん3羽 (No. 8～10) の血清を鶏とアイガモでELISA法、うずらでゲル内沈降反応による抗体検査に供した。(表3)

表3 検体一覧

検体No.	生死	血清	解剖	備考
1	生	○	○	
2	生	○	○	
3	死	△	○	
4	死	△	○	
5	死	△	○	
6	死	△	○	
7	死	△	○	
8	生	○	△	同居家きん
9	生	○	△	同居家きん
10	生	○	△	同居家きん

2 方法

(1) 病理学的検査

No. 1～7を剖検し、肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、脳等を採材した。採材した各臓器は10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定した。固定した組織はパラフィンワックスに包埋し、厚さ1.5 μ mで薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施した。

さらに、鶏 (No. 2)、アイガモ (No. 1、5)、うずら (No. 5、6) について、マウス抗インフルエンザA抗体 (NP) (HYB-340-05、Statens Serum Institut社) を用いたA型インフルエンザウイルス (IAV) に対する免疫組織化学的検査 (IHC) を国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 (以下、動衛研) に依頼した。

(2) ウイルス学的検査

気管スワブの乳剤を材料として、遺伝子検査 (コンベンショナル PCR、リアルタイム PCR) を実施した。

気管スワブの乳剤を材料として、指針⁵⁾に記載された方法でウイルス分離を実施した。採取した尿膜腔液について、鶏血球を用いたHA試験を実施した。HA試験陽性となった検体について、動衛研にシーケンス解析を依頼した

その他、抗体検査は鶏とアイガモで血清を材料に市販キット

(IDEXXインフルエンザAエリーザキット、アイデックスラボラトリーズ株式会社) を用いたELISA法、うずらで血清を材料にA型インフルエンザウイルスのヌクレオカプシド (NP) 抗原とマトリックス (M) 抗原に対する抗体を標的としたゲル内沈降反応を実施した。

IV 検査成績

1 病理学的検査

(1) 剖検

脾臓では、白色斑の散在がアイガモ 5/7 羽 (No. 1、2、5～7)、うずら 2/7 羽 (No. 4、5) で認められ、また、鶏冠のチアノーゼが鶏 2/7 羽 (No. 4、6) で認められた。(表 4)

表 4 剖検所見

病変	鶏	アイガモ	うずら
脾臓 針先大白色斑散在	-	No. 1、2、5～7	No. 4、5
鶏冠 チアノーゼ	No. 4、6	-	-

-: 著変なし

(2) 病理組織学的検査及び IHC

病理組織学的検査を実施し、病変のみられた臓器をそれぞれまとめた。

①心臓

鶏で心筋の壊死が全羽でみられ、壊死巣にはリンパ球及びマクロファージが浸潤していた。同様の壊死は心臓全体で多発性に認められた。IHC では壊死巣に一致して心筋細胞の核及び細胞質で IAV 抗原が認められた (図 1)。

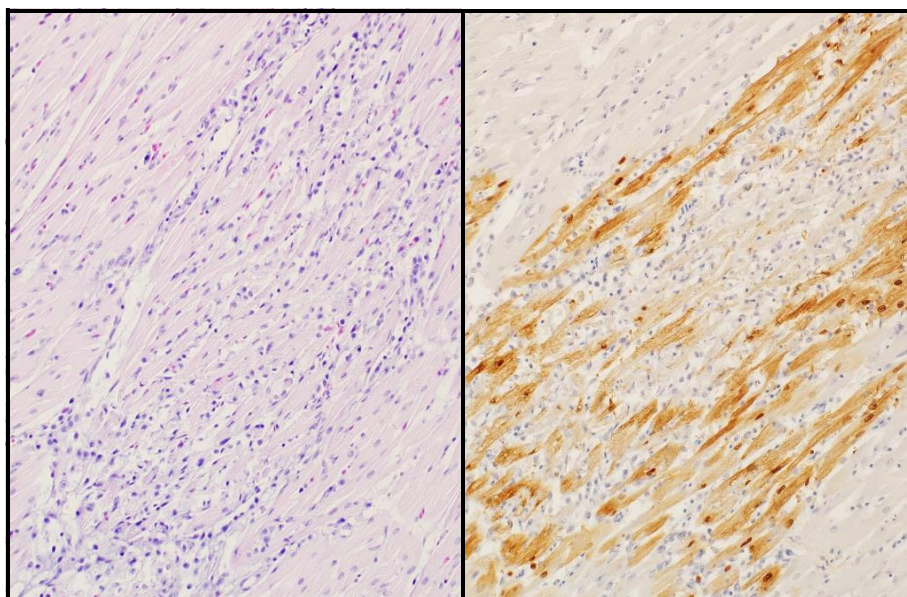


図 1 心臓 左: HE 染色、右: IHC (左 HE 染色の連続切片)

茶褐色部分: IAV 抗原

②脾臓

うずらでは全羽で血管内皮細胞の腫大が認められた。IHC では血管内皮細胞に一致して IAV 抗原が認められた (図 2)。また、血管内皮細胞の IAV 抗原は脾臓を含む全身諸臓器で認められた。

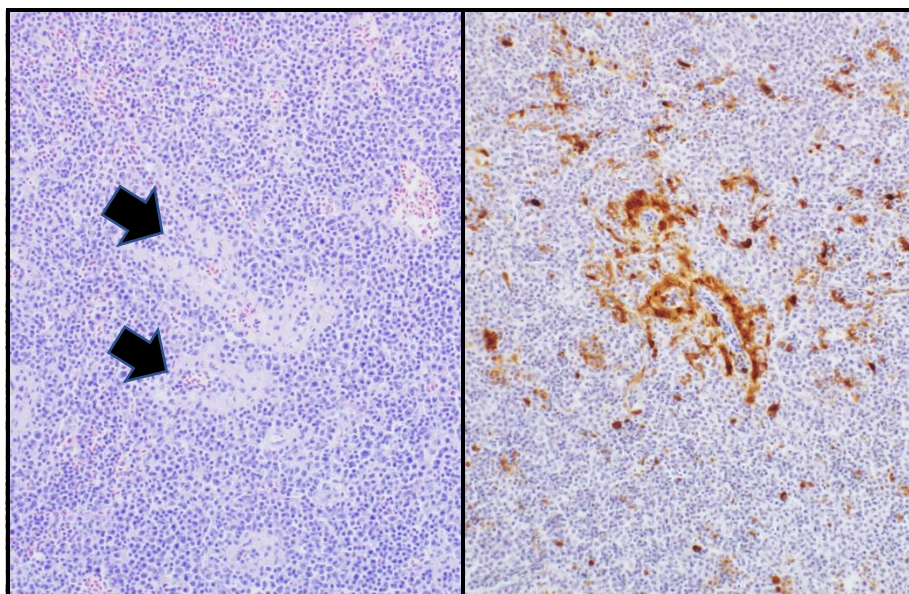


図2 脾臓 左：HE 染色、右：IHC (左 HE 染色の連続切片)

矢印：血管内皮細胞腫大 茶褐色部分：IAV 抗原

③脾臓

アイガモでは 3/7 羽 (No. 3~5)、うずらでは 1/7 羽 (No. 5) で巣状壊死が認められた。アイガモでは壊死巣が散在性、うずらでは脾臓全体で 1 か所のみみられた。IHC ではアイガモ、うずら共壊死巣一致して IAV 抗原が認められた (図 3)。また、IAV 抗原が認められた壊死巣の細胞はアイガモでは外分泌線細胞と同定されたが、うずらでは細胞の同定は困難だった。

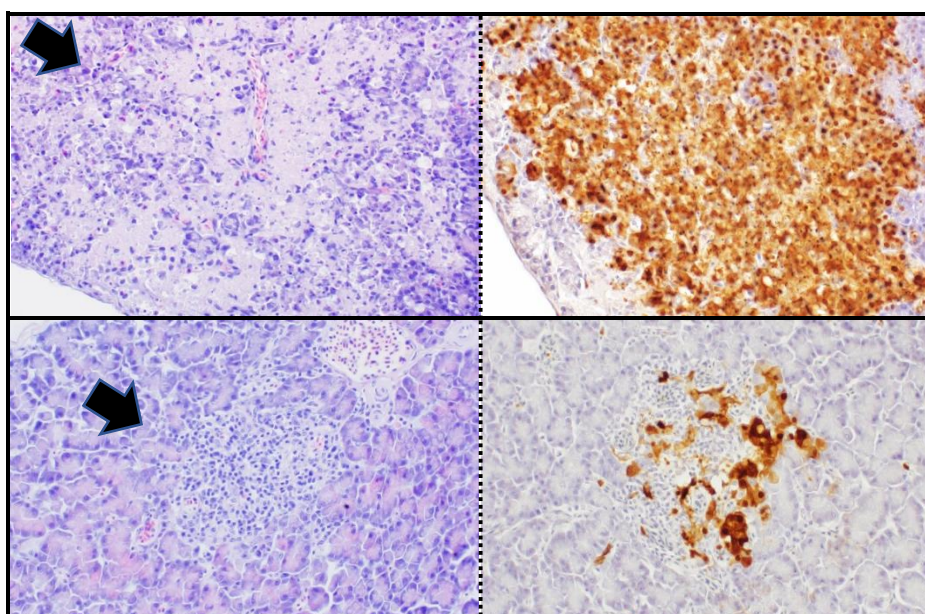


図3 脾臓 左列：HE 染色、右列：IHC (左 HE 染色の連続切片)

上段：アイガモ、下段：うずら

矢印：壊死巣 茶褐色部分：IAV 抗原

④脳

鶏、アイガモ共に大脳の血管周囲にリンパ球を主体とする囲管性細胞浸潤及び髄膜へのリンパ球浸潤が認められた。IHC では鶏とアイガモでびまん性に脳の神経細胞、グリア細胞、髄膜細胞で IAV 抗原が認められた。うずらでは大脳で病変は認められなかったが、大脳の神経細胞の一部で IAV 抗原が認められた (図 4)。

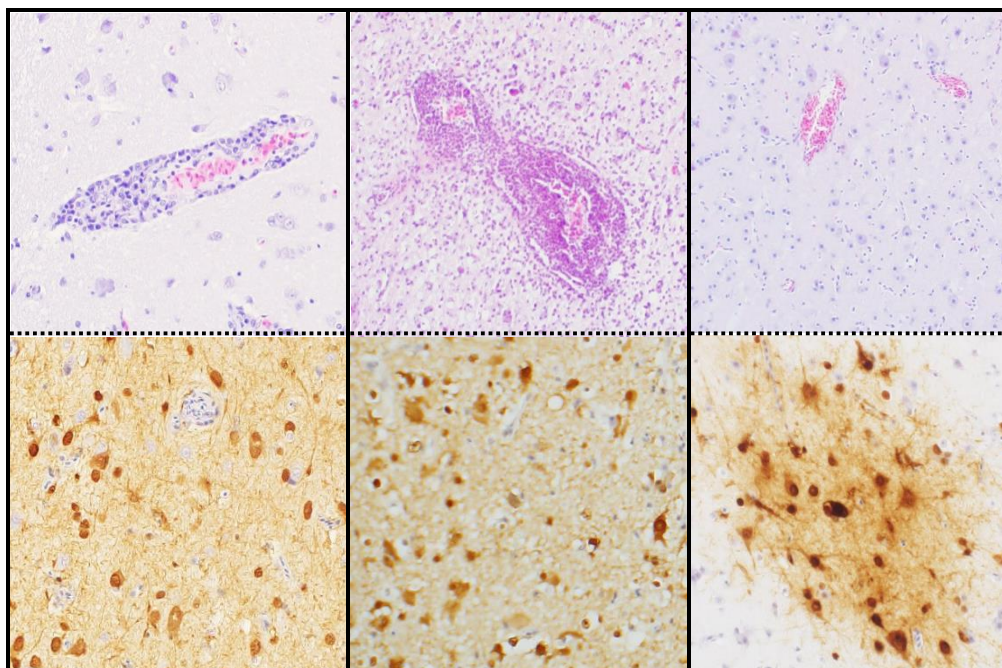


図 4 脳 左列：鶏、中央列：アイガモ、右列：うずら
上段：HE 染色、下段：IHC (上段 HE 染色の連続切片)
茶褐色部分：IAV 抗原

2 ウイルス学的検査

ウイルス分離検査では全例で、分離初代でウイルスが分離された。

ウイルス遺伝子検査では、コンベンショナル PCR、リアルタイム PCR 共に全例で H5 亜型の IAV 特異遺伝子が検出され、動衛研で実施されたシーケンス解析の結果、H5N1 亜型の HPAI と同定された。

抗体検査では、鶏で 2/5 羽 (No. 1、9)、アイガモで全羽陽性、うずらで全羽陰性だった。

V まとめと考察

病理組織学的検査では、鶏は全羽の心臓で多発性壊死性心筋炎、アイガモは全羽の大脳で非化膿性髄膜脳炎が認められた。うずらでは、全羽の脾臓で血管内皮細胞腫大、No. 5 の膀胱で巣状壊死が認められたが、その他の著変は認められなかった。(表 5)

表 5 病理組織学的検査まとめ

部位	組織所見	鶏	アイガモ	うずら
心臓	心筋細胞壊死	No. 1~7	-	-
	壊死部 リンパ球、マクロファージ浸潤			
脾臓	巣状壊死	No. 3~7	-	-
	血管内皮細胞腫大	-	-	No. 1~7
膵臓	巣状壊死	-	No. 3~5	No. 5
脳	巣状壊死	No. 3~7	-	-
	血管周囲 リンパ球浸潤	No. 2, 4, 6	No. 1~7	-
脳(髄膜)	リンパ球浸潤	No. 1~7	No. 1~7	-

-: 著変なし

IHC では、鶏で心臓の壊死部、脳の神経細胞、髄膜、アイガモは脳の神経細胞、髄膜細胞、膵臓の壊死部、うずらは全身諸臓器の血管内皮細胞、血管内の白血球及び赤血球、腹腔内臓器漿膜面、脳の神経細胞の一部で IAV 抗原が認められた。(表 6)

表 6 IHC まとめ

部位	抗原分布	鶏	アイガモ	うずら
心臓	壊死部	+	-	-
膵臓	壊死部	-	+	+
脳	神経細胞	+	+	+
	髄膜細胞	+	+	-
血管内	内皮細胞	-	-	+
	赤血球・白血球	-	-	+
腹腔内諸臓器	臓器漿膜面	-	-	+

HPAIV は急性感染では血管内皮細胞、亜急性感染では諸臓器の実質細胞で複製されると報告⁶⁾されている。

鶏では 2/5 羽で抗体陽性であり、HPAIV は鶏に感染すると約 1 週間で心筋炎が出現するという報告⁷⁾があることから亜急性の経過であったと推察した。

アイガモでは全羽で抗体陽性だった。IHC では脳の神経細胞で IAV 抗原がみられたことから脳の神経細胞でウイルスが複製されていると考えられ、亜急性または慢性の経過を辿ったと推察した。また、水禽類では HPAIV は神経向性で、非化膿性髄膜脳炎が頻発所見^{8, 9)}とされている。

うずらでは全羽で抗体陰性であった。全身の血管内皮細胞で IAV 抗原がみられたことから血管内皮細胞でウイルスが複製されていると考えられ、急性の経過であったことが示唆された。また、血管内皮細胞の腫大は同部位でウイルスが複製されたことで生じたと推察した。

本県で発生した HPAI では、鳥種ごとに様々な病理組織学的所見が得られた。HPAIV はウイルス株の特性や鶏の品種により病態が異なる^{2, 3, 4)}ことから、鳥種により様々な病態がみられることに留意する必要がある。今後、一部未実施であった令和 4 年度の HPAI 事例の病理組織学的検査を実施予定である。また、近縁のウイルスが検出された他県の HPAI 事例の病理学的検査について情報を収集し、本県の事例と比較検討する等、病理学的知見を蓄積していきたいと考える。

VI 謝辞

発表に対するご助言を賜りました、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門動物衛生研究部門衛生管理研究領域 病理・生産病グループ 山本佑上級研究員に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) 伊藤壽啓 (2011) . 高病原性鳥インフルエンザ 明石博臣ら (編) 動物の感染症<第三版>, 近代出版, 203-204.
- 2) H. M. Acland et al. (1984) Lesions in Broiler and Layer Chickens in an Outbreak of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Infection. *Veterinary Pathology*. Volume 21, Issue 6, 564-569.
- 3) Raúl Sánchez-González et al. (2020). Pathobiology of the highly pathogenic avian influenza viruses H7N1 and H5N8 in different chicken breeds and role of Mx 2032 G/A polymorphism in infection outcome. *Veterinary Research*. 51, 113.
- 4) Aya Matsuu et al. (2016) Pathogenicity of Genetically Similar, H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Strains in Chicken and the Differences in Sensitivity among Different Chicken Breeds. *PLoS One*. 11 (4) , 10.1371.
- 5) 農林水産省消費・安全局動物衛生課 (2021) 高病原性鳥インフルエンザ及び低病原性鳥インフルエンザに関する特定家畜伝染病防疫指針.
(https://www.maff.go.jp/j/syuan/douei/katiku_yobo/k_bousi/attach/pdf/index-21.pdf)
- 6) Kateri Bertran et al. (2019). Pathobiology and innate immune responses of gallinaceous poultry to clade 2.3.4.4A H5Nx highly pathogenic avian influenza virus infection. *Vet Res*. 50, 89.
- 7) 谷口稔明 (1984) 家禽ペストの病理学的変化の特徴 鶏病研究会報 20 巻 3 号.
- 8) 山本佑 (2009) H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスによるアイガモの臍臓壊死 鶏病研究会報 45 巻 2 号.
- 9) Caroline Bröjer et al. (2009). Pathology of natural highly pathogenic avian influenza H5N1 infection in wild tufted ducks (*Aythya fuligula*). *J Vet Diagn Invest*, 21, 579-587.