

【はじめに】

令和4年12月5日に県内養鶏場でH5N1亜型高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）が発生した。今回、病性鑑定に供されたHPAI罹患鶏について病理学的検索を行い、病変形成機序やウイルス抗原の分布状況について考察した。

【材料と方法】

HPAI発生時、リアルタイムPCR検査において13羽中6羽で気管、クロアカスワブからHPAIウイルス（HPAIV）特異遺伝子が検出された。本試験では、このうち5羽を対象とした。対象鶏の全身臓器を採材し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、パラフィン包埋ブロックを作成して、定法に従いヘマトキシリン・エオジン（HE）染色及びマウス抗インフルエンザAウイルスMタンパク質モノクローナル抗体（AbD serotec社）を用いた免疫組織化学染色（免疫染色）を実施した。

【結果】

HE染色では、肝臓、脾臓、膵臓、気管粘膜固有層における巣状壊死、食道やそ嚢における上皮の微小壊死、脳におけるグリア結節形成、卵巣における髄質や卵胞膜細胞の壊死が認められた（図1、2）。また、全羽で全身の血管内皮細胞の腫大や軽度の卵タンパクを伴う卵嚢性漿膜炎が認められた（図3）。

免疫染色では、壊死性病変や血管内皮細胞、マクロファージ、卵管上皮細胞で陽性反応が認められた（図1）特に、卵管子宮部の内容物や卵嚢性漿膜炎に一致して多数の陽性反応が確認された（図2）。さらに、HE染色では病変が認められなかった心筋細胞や腎臓の尿細管上皮細胞にも陽性反応が認められた。各臓器の組織所見を表1、免疫染色結果を表2に示す。

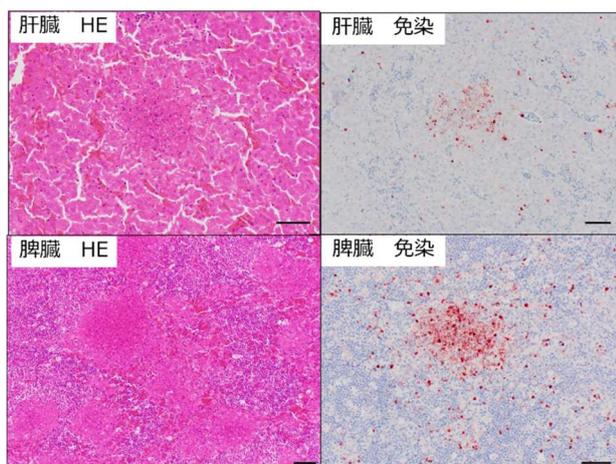


図1 肝臓および脾臓における病変
(Bar=50 μ m)

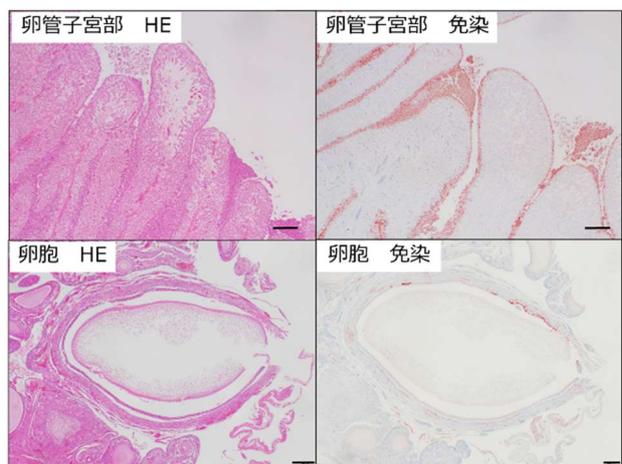


図2 卵管および卵巣における病変
(Bar=200 μ m)

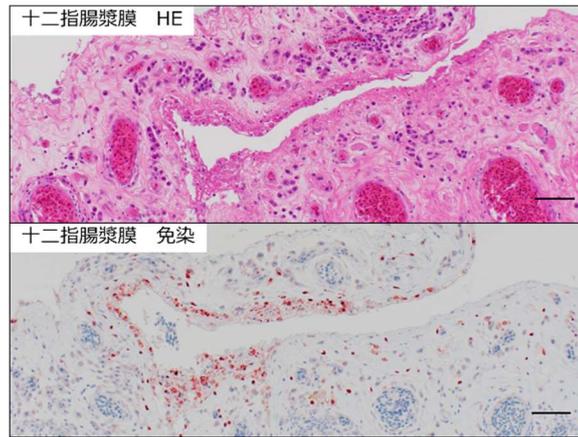


図3 卵墜性漿膜炎 (Bar=50 μ m)

表1 各臓器の組織所見

臓器	病変	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
肝臓	壊死	+	—	++	—	—
	線維素塊	+	+	++	—	+
脾臓	莢組織の壊死	+	+	+++	—	+++
腎臓		—	—	—	—	—
心臓		—	—	—	—	—
肺	気管支周囲 リンパ組織の壊死	—	—	+	—	—
脳	グリア結節	+	—	++	—	+++
気管	固有層のリンパ球浸潤	+	+	+	+	—
	固有層の壊死	—	—	+	—	—
	上皮細胞の壊死	—	—	+	—	++
膵臓	腺房上皮細胞の 空胞変性	+	+	++	—	++
食道・そ嚢	上皮層の壊死	+	+	++	—	+
	血管内皮の腫大	+	+	+	—	+
胃～結腸	卵墜性漿膜炎	+	+	+	—	+
卵巣	髄質の壊死	—	—	+	—	+
	卵胞膜層の壊死	—	—	+	—	+
卵管	子宮部上皮細胞の 壊死・剥離	—	++	++	—	+++

— : 病変なし、+ : 病変1か所以上、++ : 病変4か所以上、+++ : 病変10か所以上

表 2 各臓器の免疫染色結果

臓器	陽性部位	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
肝臓	壊死病変	—	—	+++	—	—
	血管内皮細胞	+	+	++	—	++
	クッパー細胞	+	+	++	—	++
脾臓	壊死病変	++	++	+++	—	+++
	マクロファージ	+	+	++	—	++
腎臓	尿管上皮細胞	+	+	++	—	++
	血管内皮細胞	+	+	+	—	+
心臓	心筋細胞	+	+	++	—	++
	血管内皮細胞	+	+	+	—	—
肺	壊死病変	—	—	+++	—	—
	二次気管支上皮細胞	+	—	—	—	+
	血管内皮細胞	+	+	+	—	++
	肺泡マクロファージ	+	+	+	—	++
脳	グリア結節	+	—	+++	—	+++
	血管内皮細胞	+	+	+	+	+
気管	固有層病変	—	—	++	—	—
	粘膜上皮細胞	+	—	+	—	++
	血管内皮細胞	+	—	+	—	+
膵臓	腺房上皮細胞の 空胞変性	++	+	+++	—	+++
食道・そ嚢	上皮層の壊死病変	++	++	+++	—	++
	血管内皮細胞	+	+	+	—	+
胃～結腸	漿膜炎部分	++	+	++	—	++
	血管内皮細胞	+	+	+	—	+
卵巣	髄質壊死病変	—	—	++	—	+++
	卵巣壊死病変	—	—	+++	—	+++
	血管内皮細胞	++	+	++	—	++
卵管	膨大部粘膜上皮	—	+	++	—	—
	子宮部粘膜上皮	++	+++	++	—	+++
	膣部腺粘膜上皮	—	—	—	—	+
	内容物 (内容物の所在)	—	++ (子宮部)	+++ (膨大部・子宮部)	—	+++ (子宮部～膣部)
	血管内皮細胞	++	+	++	—	++

—：陽性反応なし、+：陽性反応 30%未満、++：陽性反応 30%以上、+++：陽性反応 70%以上

【考察】

HPAI は中枢神経系を含む全身臓器の壊死病変を特徴とし[1]、免疫染色では、壊死性病変や全身の血管内皮細胞で陽性反応が認められる[2][3][4][5][6]。本県で発生した HPAI 罹患鶏においても同様の結果が得られ、HPAIV が血行性に全身へ到達、増殖し病変を形成したと考えられた。

心臓や腎臓では、明らかな病変が認められなかったものの、免疫染色で陽性反応が確認された。国内の採卵鶏における H5N1 亜型および H5N8 亜型 HPAI 症例[3][5]においても同様の結果を示しており、心臓や腎臓では HPAIV による病変を形成しにくい可能性が考えられた。一方で、野生オオハシカラスの H5N1 亜型 HPAIV 感染事例では限局性の心筋細胞の変性や腎尿細管上皮細胞の壊死がみられ[7]、また、野生ノスリの H5N8 亜型 HPAIV 感染事例では壊死性心筋炎が報告されている[8]。以上から、鳥種差や甚急性～慢性の経過の違いが当該臓器における病変形成に影響していると推察された。

卵巣、卵管及び卵管内容物では、免疫染色で多数の陽性反応が認められた。中谷らの報告では、H5N1 亜型 HPAI の国内発生事例において卵胞の壊死がみられ、免疫染色では、卵管で HPAIV 抗原が多数検出されている[2]。また、H5N1 亜型 HPAIV 感染実験において感染鶏の産出卵から HPAIV が分離されており[9]、本症例でも発生農場で採材された軟卵から HPAIV が分離された。このことから、雌性生殖器では HPAIV が増殖しやすく、卵胞や卵管滲出物に HPAIV が多く含まれる可能性が示唆され、HPAI 症例では生殖器の検索の重要性が再確認された。一方、消化管粘膜や総排泄腔粘膜では病変形成に乏しく、免疫染色の陽性反応はほとんど認められなかった。リアルタイム PCR 検査ではクロアカスワブ中から HPAIV 特異遺伝子が検出されているが、これらは総排泄腔における感染に由来するものではなく、卵管滲出物由来である可能性が考えられた。

また、卵墜性漿膜炎に一致して、免疫染色で陽性反応が認められた。炎症に伴う血流量増加により HPAIV が血行性に病変部に到達したと推察されるが、卵巣や卵胞に多数のウイルス抗原が認められたことを踏まえると、卵墜により HPAIV を含む卵タンパクや卵胞由来成分が漿膜に付着することにより HPAIV が体腔へ拡散している可能性も考えられた。既報でも本事例と同様に HPAI 感染鶏で卵墜性漿膜炎が認められているが[6]、卵タンパクや卵胞内での HPAIV の動態は検索されておらず、今後さらなる調査が期待される。

気管・クロアカスワブを用いたリアルタイム PCR 検査結果との比較(表 3)では、ウイルス量が多いと推測される Ct 値の低い個体ほど重度かつ複数臓器に病変がみられ、免疫染色でも多数の陽性反応を示す傾向があった。一方で、既報では Ct 値と組織病変形成に明らかな相関は認められなかった[5]。この理由として、Ct 値はスワブを採材した鶏の生死や死後経過時間、採材方法等によって変動することが挙げられる。今後、気管・クロアカスワブの Ct 値と組織病変形成の相関については、より多くの検体を用いて検討する必要がある。

表 3 気管・クロアカスワブを用いた qPCR (CT 値) と病理検査結果との比較

			No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
ウイルス検査	H5	気管	21.99	25.49	18.74	35.35	17.99
		クロアカ	28.40	24.70	17.64	31.25	23.30
	M	気管	23.27	26.71	20.14	-	19.29
		クロアカ	29.13	26.31	19.60	33.65	24.95
病理検査	病変	++	+	+++	-	+++	
	免染	++	+	+++	-	+++	

【参考文献】

- [1] 鶏病研究会編, 2021. 家禽疾病学第二版. 32-35.
- [2] H. Nakatani, K. Nakamura, Y. Yamamoto, M. Yamada, Y. Yamamoto. 2005. Epidemiology, pathology, and immunohistochemistry of layer hens naturally affected with H5N1 highly pathogenic avian influenza in Japan. *Avian Disease*. 49(3):436-41.
- [3] 橋田明彦. 2016. 岡山県内で発生した高病原性鳥インフルエンザの病理学的解析. 平成 28 年度中国・四国鶏病技術研修会抄録.
- [4] 是枝輝紀, 別府成, 山崎嘉都夫, 田原則雄. 2011. 本県で発生した高病原性鳥インフルエンザの病理学的特徴について. 平成 23 年度鹿児島県家畜保健衛生業績発表会抄録.
- [5] 石原未希, 藤井晃太郎, 西井純. 2021. 県内養鶏場で発生した高病原性鳥インフルエンザの病理学的検索. 令和 3 年度富山県畜産関係業績集録:23-25
- [6] 高木翔矢. 2022. 鳥取県で発生した高病原性鳥インフルエンザ症例に関する病理学的検索. 第 41 回中国・四国地域病性鑑定協議会.
- [7] N. Tanimura, K. Tsukamoto, M. Okamatsu, M. Mase, T. Imada, K. Nakamura, M. Kubo, S. Yamaguchi, W. Irishio, M. Hayashi, T. Nakai, A. Yamauchi, M. Nishimura, K. Imai. 2006. Pathology of Fatal Highly Pathogenic H5N1 Avian Influenza Virus Infection in Large-billed Crows (*Corvus macrorhynchos*) during the 2004 Outbreak in Japan. *Veterinary Pathology*. 43(4):500-509
- [8] V. Caliendo, L. Leijten, M. W. G. van de Bildt, R. A. M. Fouchier, J. M. Rijks, T. Kuiken. 2022. Pathology and virology of natural highly pathogenic avian influenza H5N8 infection in wild Common buzzards (*Buteo buteo*). *Scientific Reports*. 12:920.
- [9] K. Bertran, K. Moresco, D. E. Swayne. 2015. Impact of vaccination on infection with Vietnam H5N1 high pathogenicity avian influenza virus in hens and the eggs they lay. *Vaccine*. 33(11):1324-1330