

総説

成鶏における後期マレック病に関する病理学的研究

生澤充隆^{1), 2)} 佐々木淳²⁾ 御領政信²⁾

要約

マレック病 (MD) はマレック病ウイルス感染に起因する神経症状とTリンパ球の腫瘍性増殖を主徴とする疾患である。一般的にMDは若齢鶏 (4-20週齢) の疾患と考えられてきたが、近年40週齢を越えるような成鶏群におけるMDの発生がみられ、このような成鶏でのMDが増加しているとの報告もなされている。本研究では通常の若齢鶏のMDに対して、このような成鶏におけるMDを“late MD (後期マレック病)”と定義した。成鶏におけるlate MDの発症は、経済的損失も大きく養鶏産業上重要な疾病となっているが、これまでMDには年齢抵抗性が知られており、ワクチン接種による防除が行われてきたことから成鶏に関するlate MD発症に関する研究報告はほとんどなされておらず、その発症には不明な点が多い。そこで本研究では、野外例のlate MDの病理組織学的検索、成鶏におけるMD感受性および実験的なlate MDの再現に関して検討した。その結果、成鶏における腫瘍形成とウイルス複製の相関および年齢抵抗性とウイルス抑制との相関が示唆された。また、P2系SPF鶏はlate MD検索に有用であることが判明した。本研究で得られた病理組織学的知見は、成鶏におけるlate MD発症を解明する上で有用な情報となりうると考えられる。

キーワード：後期マレック病，成鶏，年齢抵抗性，病理組織学的検索，PCR

マレック病ウイルス (MDV) は、ヘルペスウイルス科、アルファヘルペスウイルス亜科に属し、長らく属名は未確定であったが、近年Mardivirus属に分類され、以前は血清型1型とされた腫瘍原性株はGallid herpesvirus 2に分類された [1]。MDVは強い細胞随伴性を有し、リンパ球指向性であり感染性の遊離型ウイルスは羽包上皮のみで産生されフケとともに環境中

へ排出される [2]。

マレック病 (MD) は、Gallid herpesvirus 2に属するMDV感染に起因する神経症状とTリンパ球の腫瘍性増殖を主徴とする疾患である [3-5]。一般的に若齢鶏 (4-20週齢) の疾患と考えられてきたが [2, 6]、近年40週齢を越えるような成鶏群におけるMDの発生がみられ、このような成鶏でのMDが増加しているとの報

¹⁾ 岐阜大学連合大学院獣医学研究科病態獣医学連合講座

²⁾ 岩大支会 岩手大学農学部獣医学課程獣医病理学研究室

告もなされている [6-9]. 本研究では通常の若齢鶏のMDに対して, このような成鶏におけるMDを“late MD (後期マレック病)”と定義した. これまでMDには年齢抵抗性が知られており [3, 10, 11], また, ワクチン接種による防除が行われてきた [12-14]ことから成鶏に関するlate MD発症に関する研究報告はほとんどなされておらず, その発症には不明な点が多い.

成鶏におけるlate MDを実験的に検討する際には①自然発生例との比較, ②事前のワクチン接種歴や野外株への暴露歴, ③MDVの接種日齢, ④若齢鶏との病変の比較などを考慮する必要がある. 過去の成鶏におけるMDに関する研究では, 発症率などの記載はあるが, 詳細な病理組織学的検索や自然発生例との比較は実施されていない. ワクチン接種歴のある成鶏では, MDVに高い抵抗性を示すとされるが, 感染実験における病理学的検索は少なく, 発症例の詳細な検索はなされていない. また, 過去の実験では12-22週齢での接種実験が主で [10, 11, 15, 16], 野外における成鶏の発症日齢と比較すると大きな隔たりがあり, 成鶏におけるMD感受性は未だ不明である. そのため, より野外例に近い状態での実験系が必要となってくる. 成鶏ではワクチン接種歴や恒常的なMDVへの暴露から若鶏でのMDとは異なる免疫応答, 発症機序が考えられるため, 野外例のlate MDの病理組織学的検索, 成鶏におけるMD感受性および実験的なlate MDの再現に関して検討した.

材料および方法

実験鶏

実験 1 : 死亡率の増加が認められた別々の養鶏場より本学病理学研究室へと病性鑑定目的で送付された20検体 (100-403日齢) を用いた.

実験 2 および 3 : 当研究室にて維持しているMD感受性系統であるP2系SPF鶏および, MD抵抗性系統のワクチン接種済みコマーシャルライン成鶏 (HVTおよびCVI988接種) を用い

た.

MDV : Virulent strainであるKS株を用いた. この株は, 多くの実験で用いられているJM株と同等の病原性を有する, 本邦で分離された株である [17, 18]. ウイルス接種材料は3,000 PFU/0.1ml/羽に調製した.

実験設定

実験 1 : 本学病理学研究室に送付された, 腫瘍性疾患の疑われた鶏20検体 (100-403日齢, Nos. 1-20) を実験に用いた. 送付された材料の肉眼的, 病理組織学的検索を実施し, 肝臓・腎臓・卵巣に関しては免疫組織化学的染色を行い, MDとリンパ球性白血病 (LL) の鑑別を実施した.

実験 2 : 50週齢のP2系SPF鶏20羽 (Nos. S1-S20) と74週齢のMDワクチン接種済みのコマーシャルライン鶏15羽 (Nos. C1-C15) にMDV (0.1ml/羽 i.m.) を接種し, ウイルスを接種後3, 6週目に各群5羽ずつ剖検を実施, 内臓諸臓器, 末梢神経および皮膚を採材した. 試験期間中は各個体の一般状態を観察し, 死亡, 瀕死の個体は随時剖検に供し同様の採材を行った. 試験期間は接種後10週までとし, 試験終了時に生残した個体は剖検に供し同様の採材を行った.

実験 3 : P2系SPF鶏14週齢8羽 (Nos. P1-P8), 96週齢5羽 (Nos. A1-A5) にMDV (0.1ml/羽 i.m.) を接種した. ウイルス接種後1週間ごとに羽包上皮の採材を実施した. 試験期間は接種後15週までとし, その他, 観察・採材などは実験2に準じた.

病理組織学的検査 : 全ての臓器材料は, 10%ホルマリン固定後, 定法に従いパラフィン包埋ブロックを作製後, 4 μ m厚に薄切した後, ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施し, 光学顕微鏡にて病理組織学的に検索した. 腫瘍性病変の評価に関しては, 今回作成した以下の基準に従って評価した; - 病変なし, + 少数の腫瘍細胞の集簇巣が認められるもの, 2+ やや広範に腫瘍細胞の集簇巣が認められるもの,

3+ ほぼ全域にわたって腫瘍細胞の増殖が認められるもの。

末梢神経および皮膚病変に関しては、腫瘍性病変と炎症性病変に関して以下の基準に従って評価した；腫瘍性病変：- 病変なし，+ 血管周囲における少数のリンパ様細胞の集簇巣，2+ やや広範なリンパ様細胞の集積，3+ 瀰漫性のリンパ様細胞の集積，4+ 本来の組織構築が認められないほどのリンパ様細胞の増殖。炎症性病変：- 病変なし，+ ごく少数の炎症性細胞が散見される，2+ 少数の炎症性細胞の集簇巣が認められる，3+ 広範にわたり炎症性細胞の浸潤が認められる，4+ ほぼ全域にわたる炎症性細胞の強い浸潤が認められる。

免疫組織化学的検査：肝臓，脾臓，卵巣のホルマリン固定材料を定法に従いパラフィン包埋ブロックを作製後，4 μ m厚に薄切した後，抗Avian leukosis virus (ALV) 抗体 (polyclonal Rabbit anti ALV gp85 and p27. 動物衛生研究所塚本博士より分与) を用い，MDとLLの

鑑別を目的として免疫組織化学的染色を実施した。免疫組織化学的染色は市販のlabeled streptavidin biotin (LSAB) 法染色キット (DAKO, Glostrup, Denmark) を用い，LSAB法にて行った。ヘマトキシリンによる対比染色後，脱水，透徹，封入を行い光学顕微鏡にて病理組織学的に検索した。

Polymerase chain reactionによるMDV遺伝子の検出：定法 [19, 20] に従い羽包上皮よりtotal DNAを抽出後，MDV特異的な*meq* 遺伝子 [20] を標的としたPCR法を実施した。

結 果

高日齢の野外成鶏におけるMDの検索 (実験1)

肉眼所見：全例で内臓諸臓器に白色結節の形成が認められた。Nos. 1-3, 5において肉眼的な坐骨神経の腫大が認められた。

病理組織学的所見：病理組織学的所見は表1に要約してある。その組織学的特徴から14/20がMD，5/20がLL，1/20が骨髄性白血病 (ML)

表1 高日齢の野外成鶏における腫瘍性病変

No.	日齢	肝	脾	腎	心	肺	坐骨神経	組織診断
1	100	+ ^{a)}	-	-	-	-	2+	MD ^{b)}
2	100	+	+	3+	3+	+	2+	MD
3	105	2+	2+	+	3+	NR	2+	MD
4	112	2+	2+	+	2+	-	-	MD
5	112	2+	+	+	+	2+	3+	MD
6	112	-	+	-	-	-	-	MD
7	112	3+	2+	2+	+	2+	-	MD
8	159	3+	2+	2+	+	2+	-	MD
9	159	2+	-	2+	-	-	-	MD
10	159	-	2+	-	-	-	-	MD
11	159	+	2+	2+	3+	3+	-	MD
12	159	3+	-	-	+	-	-	MD
13	248	3+	3+	3+	NR	NR	-	LL
14	253	3+	3+	3+	NR	NR	-	LL
15	269	+	+	+	-	+	-	MD
16	269	3+	+	3+	+	2+	+	MD
17	277	3+	3+	3+	NR	NR	-	LL
18	310	3+	3+	3+	NR	NR	-	LL
19	312	2+	3+	2+	NR	NR	-	ML
20	403	3+	NR	3+	NR	NR	-	LL

a) - 病変なし；+ 少数の腫瘍細胞の集簇巣；2+ やや広範な腫瘍細胞の集簇巣；3+ ほぼ全域にわたる腫瘍細胞の増殖；NR 記録なし。

b) MD マレック病；LL リンパ性白血病；ML 骨髄性白血病。

と診断された。MDとされたNos. 1-12, 15および16では大小不同を示すリンパ様細胞の増殖が認められた (図1)。Nos. 1-3, 5および16では坐骨神経においてリンパ様細胞の浸潤・増殖が認められた。MDと診断された他の個体の坐骨神経には著変は認められなかった。LLとされたNos. 13, 14, 17, 18および20では比較的大型均一なリンパ芽球様細胞の腫瘍性増殖が認められた。これらの個体では末梢神経に著変は認められなかった。MLと診断された1例 (No. 19) では種々の程度に分化した骨髓球様細胞の腫瘍性増殖が認められ、また、この個体では卵巣において卵巣癌も認められた。

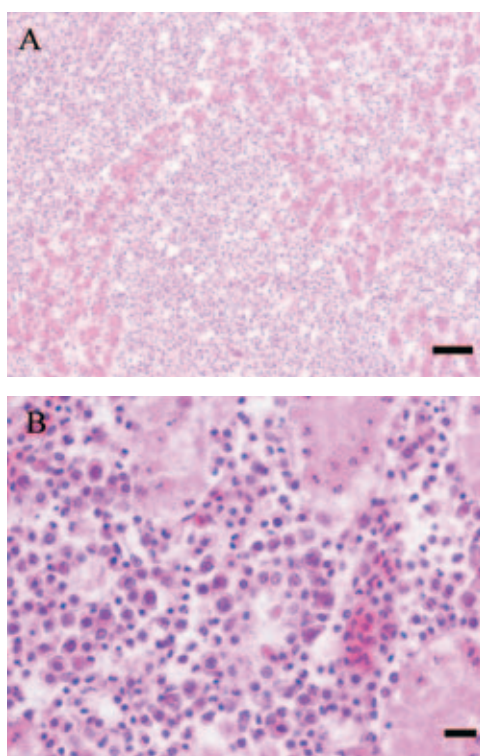


図1 高日齢成鶏のマレック病病変

A : No.16 (269日齢) の肝臓。広範な腫瘍細胞の増殖による肝細胞索の配列が乱れ、消失している。Bar = 50 μ m. HE染色。

B : No.16 (269日齢) の腎臓。大小不同のリンパ様細胞の腫瘍性増殖がみられる。Bar = 10 μ m. HE染色。

免疫組織化学的所見：組織学的にMDと診断された個体では全例で抗ALV抗体に陰性、LLおよびMLと診断された個体では全例で抗ALV抗体に陽性であった (図2)。

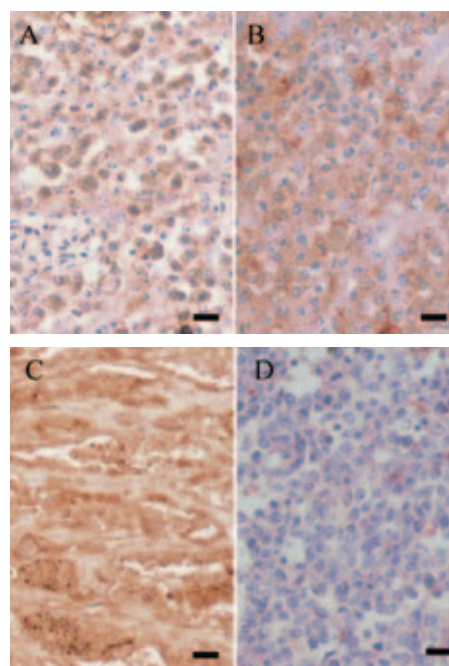


図2 抗ALV抗体を用いた免疫染色

A : No.20 (403日齢) の肝臓。肝細胞索に沿って増殖しているリンパ芽球様細胞がALV陽性を示している。Bar = 10 μ m。

B : No.19 (312日齢) の肝臓。類洞内で増殖している種々の程度に分化した骨髓球様の細胞がALV陽性を示している。Bar = 10 μ m。

C : No.19 (312日齢) の卵巣。卵巣癌の上皮性腫瘍細胞はALV陽性を示している。Bar = 50 μ m。

D : No.16 (269日齢) の肝臓。増殖している大小不同のリンパ様細胞はいずれもALV陰性を示している。Bar = 10 μ m。

成鶏におけるMDV感受性およびlate MDの実験的再現 (実験2)

臨床症状とMDリンパ腫の形成 (表2) : P2系接種群ではウイルス接種後3週目の剖検において1例 (No. S4) で内臓のリンパ腫が認められた。この個体ではMDの臨床症状は認められなかった。接種後6週目では3羽 (Nos. S8, S9およびS11) で臨床症状が認められ、1例 (No. S8) でリンパ腫形成が認められた。接種後54から66日目において5羽 (Nos. S12-S16) で顕著な臨床症状が認められ、3例 (Nos. S12, S13およびS15) でリンパ腫の形成が認められた。神経症状は10/20, リンパ腫は6/20で認められた。ウイルス接種後6週目以降に限ると、神経症状は10/14, リンパ腫は5/14で認められた。コマーシャルライン接種群では、試験期間を通

表2 KS株接種50週齢P2系SPF鶏における神経症状およびMDリンパ腫

DPI ^{a)}	No.	神経症状	臓器					
			肝臓	脾臓	腎臓	心臓	肺	胸腺
21 ^{d)}	S1	- ^{b)}	- ^{c)}	-	-	-	-	-
	S2	-	-	-	-	-	-	-
	S3	-	-	-	-	-	-	-
	S4	-	-	-	2+	-	-	-
	S5	-	-	-	-	-	-	-
24 ^{e)}	S6	-	-	-	-	-	-	-
	S7	-	-	-	-	-	-	-
42 ^{d)}	S8	+	-	-	3+	-	-	-
	S9	+	-	-	-	-	-	-
	S10	-	-	-	-	-	-	-
	S11	+	-	-	-	-	-	-
54 ^{e)}	S12	+	-	-	3+	3+	-	3+
56 ^{e)}	S13	+	-	-	-	-	2+	3+
	S14	+	-	-	-	-	-	-
66 ^{e)}	S15	+	3+	-	-	-	-	-
	S16	+	-	-	-	-	-	-
70 ^{d)}	S17	-	-	-	-	-	-	-
	S18	+	3+	-	3+	3+	2+	-
	S19	+	-	-	-	-	-	-
	S20	-	-	-	-	-	-	-

a) DPI=接種後日数.

b) - 著変なし; + 脚麻痺, 翼・頸の下垂.

c) - 病変なし; + 少数の腫瘍細胞の集簇巣; 2+ やや広範に腫瘍細胞の集簇巣;
3+ ほぼ全域にわたる腫瘍細胞の増殖.

d) 計画剖検.

じ臨床症状は認められなかったが, 試験期間終了時に1例(No. C4)でリンパ腫形成が認められた.

病理組織学的所見: P2系接種群において認められた所見は表3に要約してある. ウイルス接種後24, 54, 56, 66日目で死亡個体が見られ, リンパ腫形成は接種後21日目から認められた. その組織学的特徴は大小不同のリンパ様細胞の増殖であった. 末梢神経において接種後21日目ではリンパ様細胞の小集簇巣が認められた(図3A). 接種後42日目では炎症細胞の浸潤を伴ったリンパ様細胞の瀰漫性増殖がみられ, 種々の程度の神経線維間の水腫, 壊死, 脱髄病変が認められた(図3B). 接種後54から66日目ではリンパ様細胞がほぼ全域にわたって浸潤・増殖していた(図3C). 試験終了時, 内臓にリンパ腫の認められた1例で末梢神経においてもリンパ様細胞の腫瘍性増殖が認められた(図3D).

皮膚においては, 接種後21日目では腫瘍性および炎症性病変はわずかであったが, 羽包上皮

細胞において核内および細胞質内封入体が多く認められた. 接種後42日目では羽包上皮細胞における中程度の封入体形成および種々の程度のリンパ様細胞の腫瘍性増殖が羽包周辺において認められた. 接種後54および56日目では羽包上皮細胞における封入体は少数みられ, リンパ様細胞の強い増殖が認められた. 接種後66および70日目では封入体はほとんどみられず, 腫瘍性病変は1個体に内臓のリンパ腫が認められたのみであった.

コマーシャルライン系接種群では, 皮膚では接種後21日目においてのみ羽包上皮において少数の封入体が認められた. 末梢神経では接種後21から70日目において血管周囲における少数のリンパ球集簇が認められた他は, 著変は認められなかった. 試験終了時, 1例で肺および皮膚において大小不同を示すリンパ様細胞からなるリンパ腫が認められた. その他の個体では, MDV感染に起因すると考えられる変化は試験期間を通じ認められなかった.

表3 KS株接種50週齢P2系SPF鶏の末梢神経および皮膚の病理組織学的所見

DPI ^{a)}	No.	末梢神経		皮膚					
		腫瘍性病変	炎症性病変	羽 軸		羽 包			
				腫瘍性病変	炎症性病変	IB	腫瘍性病変	炎症性病変	
21 ^{c)}	S1	- ^{b)}	-	-	+	3+	-	+	
	S2	+	+	-	+	3+	2+	+	
	S3	+	+		NE	3+	-	-	
	S4	+	-	-	+	3+	-	-	
	S5	-	-	-	+	3+	-	-	
24 ^{d)}	S6	-	+		NE	-	-	+	
	S7	+	+	-	+	2+	-	2+	
42 ^{c)}	S8	+	2+		NE	-	-	-	
	S9	3+	2+	-	+	-	+	2+	
	S10	+	+	3+	ND	2+	-	2+	
	S11	2+	+	2+	+	2+	+	+	
54 ^{d)}	S12	2+	ND	3+	ND	2+	2+	+	
56 ^{d)}	S13	3+	ND	3+	ND	2+	4+	ND	
	S14	3+	ND	-	+	+	-	+	
66 ^{d)}	S15	4+	ND	-	+	-	-	+	
	S16	4+	ND	-	+	+	-	+	
70 ^{c)}	S17	-	-	-	-	-	-	-	
	S18	2+	+	4+	ND	+	3+	ND	
	S19	-	+	-	-	+	-	+	
	S20	-	+	-	-	-	-	2+	

a) DPI=接種後日数.

b) 腫瘍性病変：- 病変なし；+ 血管周囲における少数のリンパ様細胞の集簇；2+ やや広範なリンパ様細胞の集積；3+ 瀰漫性のリンパ様細胞の集積；4+ 本来の組織構築が認められないほどのリンパ様細胞の増殖.

炎症性病変：- 病変なし；+ ごく少数の炎症性細胞が散見；2+ 少数の炎症性細胞の集簇；3+ 広範にわたり炎症性細胞の浸潤；4+ ほぼ全域にわたる炎症性細胞の強い浸潤.

IB=封入体. 羽包上皮における封入体形成：- 著変なし；+ 少数；2+ 中等度；3+ 高度.

c) 計画剖検.

d) 状態悪化による死亡または安楽殺.

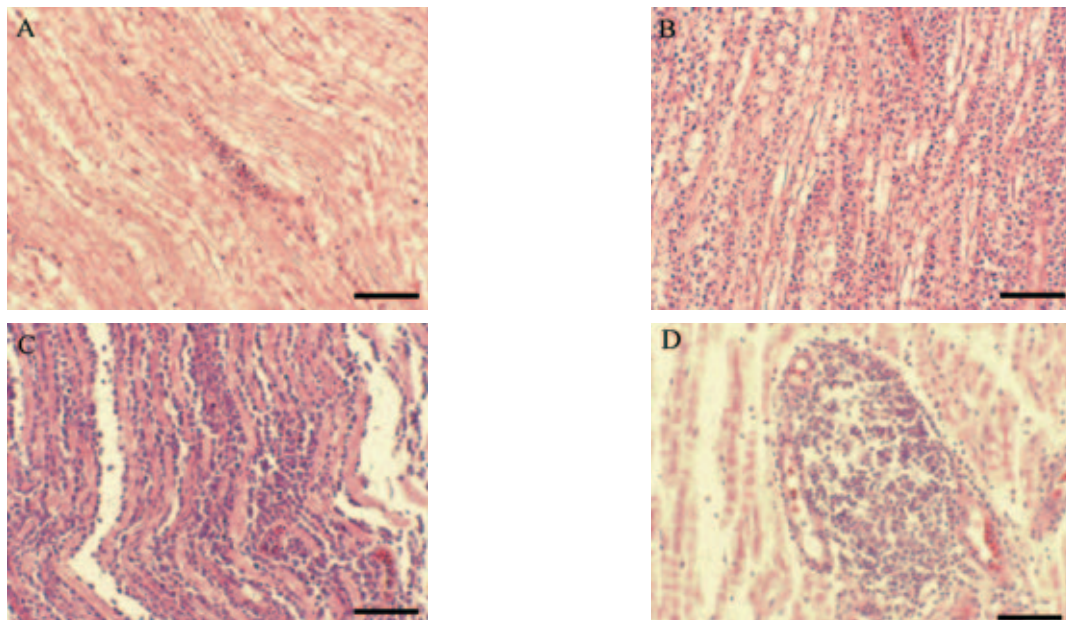


図3 KS株接種50週齢P2系SPF鶏の末梢神経

A：大小不同のリンパ様細胞の小集簇がみられる (No.S4, 接種後21日).

B：大小不同のリンパ様細胞のび慢性増殖およびリンパ球, 形質細胞, 偽好酸球およびマクロファージの浸潤からなる重度神経炎がみられる (No.S9, 接種後42日目).

C：神経線維間における大小不同のリンパ様細胞の高度のび慢性増殖がみられる (No.S13, 接種後56日目).

D：大小不同のリンパ様細胞の中等度増殖巣 がみられ, 炎症性病変は認められない (No.S18, 接種後70日).

いずれもHE染色. Bar = 50 μm.

late MD発症と羽包上皮におけるMDV複製に関する検索（実験3）

羽包上皮におけるMDV *meq* 遺伝子の検出：ウイルス接種前の羽包上皮の検索では、MDV *meq* 遺伝子は両鶏群において陰性であった。PCRによる検索結果は表4に要約してある。14週齢接種群では接種後14日目で全例が陽性を示した。5羽（Nos. R1-R5）は死亡または一般状態の悪化による安楽殺に至るまで経時的に*meq* 陽性が認められた。3羽（Nos. R6-R8）では14日から35日目まで一過性の陽性シグナルが得られたが、その後は試験終了にいたるまで陰性であった。96週齢接種群では接種21から28日目におい

て一部の個体で陽性シグナルが得られたが全体としては試験期間を通じ陽性シグナルは認められなかった。

臨床症状とMDリンパ腫の形成（表5）：14週齢接種群では接種後53から91日目において、5羽（Nos. R1-R5）が死亡または一般状態の悪化による安楽殺に供された。これら5羽のうち、3羽（Nos. R1, R3およびR5）では明らかな神経症状が認められ、全5例で内臓のリンパ腫形成が認められた。神経症状とリンパ腫形成はそれぞれ3/8および5/8であった。96週齢接種群では試験期間を通じ一般状態の悪化、神経症状およびリンパ腫形成は認められなかった。

表4 KS株接種14および96週齢P2系SPF鶏の羽包上皮におけるMDV *meq* 遺伝子の検出

Group	No.	接種後日数																
		0	7	14	21	28	35	42	49	53	56	63	70	77	84	91	98	105
14W	R1	-	-	+	+	+	+	+	+	+								
	R2	-	-	+	+	+	+	+	+	+								
	P3	-	-	+	+	+	+	-	+	NE	+	+	+	+				
	R4	-	-	+	+	+	+	+	+	NE	+	+	+	+				
	R5	-	-	+	+	-	+	+	+	NE	+	+	+	+	+	+		
	R6	-	-	+	+	-	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	-
	R7	-	-	+	+	+	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	-
	R8	-	-	+	+	+	+	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	-
96W	T1	-	-	-	-	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T2	-	-	-	+	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T3	-	-	-	-	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T4	-	-	-	+	-	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T5	-	-	-	-	+	-	-	NE	-	-	-	-	-	-	-	-	

+ PCR法にて陽性； - PCR法にて陰性； NE 検査実施せず。

表5 KS株接種14週齢P2系SPF鶏における神経症状およびMDリンパ腫

DPI ^{a)}	No.	神経症状	臓器						
			肝	脾	腎	心	肺	胸腺	
53	R1	+ ^{b)}	3+	3+	3+	3+	3+	-	
	R2	-	2+	2+	+	2+	-	-	
77	R3	+	2+	+	2+	2+	3+	-	
	R4	+	3+	3+	3+	3+	+	-	
91	R5	-	3+	2+	3+	+	3+	-	
	R6	-	-	-	-	-	-	-	
105	R7	-	-	-	-	-	-	-	
	R8	-	-	-	-	-	-	-	

a) DPI = 接種後日数。

b) - 著変なし；+ 脚麻痺，翼・頸の下垂。

c) - 病変なし；+ 少数の腫瘍細胞の集簇巣；2+ やや広範に腫瘍細胞の集簇巣；3+ ほぼ全域にわたる腫瘍細胞の増殖。

表 6 KS株接種14週齢P2系SPF鶏の末梢神経および皮膚の病理組織学的所見

DPI ^{a)}	No.	末梢神経				皮膚			
		腫瘍性病変	炎症性病変	羽軸		IB	羽包		
				腫瘍性病変	炎症性病変		腫瘍性病変	炎症性病変	
53	R1	3+ ^{b)}	2+			NE	+	-	+
	R2	3+	+	+	+		2+	-	+
77	R3	3+	2+			NE	-	-	
	R4	+	+	+	+		+	-	+
91	R5	3+	2+	+	+		+	-	+
	R6	-	+	-	+		-	-	+
105	R7	-	-	-	-		-	-	-
	R8	-	-			NE	-	-	

a) DPI = 接種後日数.

b) 腫瘍性病変：- 病変なし；+ 血管周囲における少数のリンパ様細胞の集簇；2+ やや広範なリンパ様細胞の集積；3+ 瀰漫性のリンパ様細胞の集積；4+ 本来の組織構築が認められないほどのリンパ様細胞の増殖。
炎症性病変：- 病変なし；+ ごく少数の炎症性細胞が散見；2+ 少数の炎症性細胞の集簇；3+ 広範にわたり炎症性細胞の浸潤；4+ ほぼ全域にわたる炎症性細胞の強い浸潤。

IB = 封入体。羽包上皮における封入体形成：- 著変なし；+ 少数；2+ 中等度；3+ 高度。

NE = 検索せず。ND = 重度腫瘍性病変により診断不能。

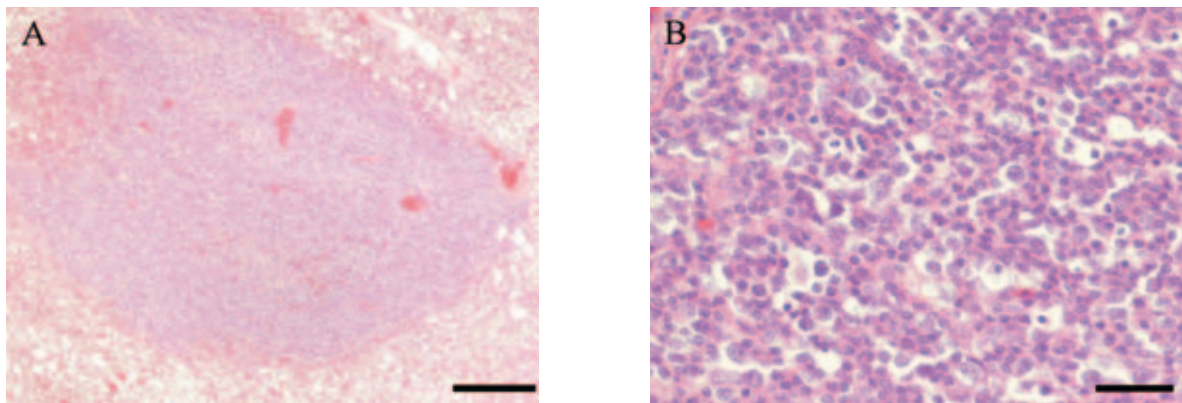


図 4 KS株接種74週齢ワクチン接種コマーシャルライン成鶏に認められた肺のリンパ腫

A：既存の組織を圧排するような周囲組織との境界明瞭な腫瘍を形成している。HE染色。Bar = 50 μm.

B：大小異なるリンパ様細胞の腫瘍性増殖がみられる。HE染色。Bar = 50 μm.

病理組織学的所見：14週齢接種群の検索結果は表 6 に要約してある。内臓諸臓器においては大小異なるリンパ様細胞からなるリンパ腫形成が接種後53から91日目にかけて認められた(図 4)。生残した 3 例においてはウイルス接種に起因する変化は認められなかった。末梢神経においては接種後53から91日目のNos. R1-R5において腫瘍性病変および炎症性病変が認められた。生残鶏においては、1 例 (No. R6) で軽度の炎症細胞浸潤が見られ、アポトーシスを起こしたリンパ球も少数認められたが、残りの 2 例 (Nos. R7およびR8) では著変はみられなかった。皮膚

においては接種後53から91日目のNos. R1-R5において羽包上皮における封入体形成がわずかに認められた。炎症性病変およびリンパ様細胞の増殖は軽度であった。96週齢接種群で内臓諸臓器、末梢神経および皮膚においてはウイルス接種に起因する変化は認められなかった。

考 察

実験 1 においては好発日齢を超えた高日齢でのMDが実際に野外で発生していることが示された。従来MDの好発日齢は 4 から20週とされ、好発日齢が25週齢以降であるLLとは大きく異

なる [2, 21]. 今回, 高日齢でMDを発症していた個体は, 組織学的には大小不同を示すリンパ様細胞の腫瘍性増殖であったが, 坐骨神経の腫大は認められなかった. これはウイルス株などの違いというよりも, 成鶏におけるMDの病変の観察時期に起因するのではないかと考えられた. また, 野外例の鑑別診断を実施することは発生状況を把握するためにも重要であると思われるが, 坐骨神経等の末梢神経の肉眼的腫大が認められなかったことからその際には組織学的検索が重要であることが示唆された.

実験2ではP2系成鶏においてMDの発症が認められ, 成鶏においても新規のMDVに対し一定の感受性を有することが示唆された. その腫瘍性病変は野外例と同様であり, late MDであると考えられ, その発症率も過去の報告と比較し高いものであった [10, 11, 15]. 内臓のリンパ腫形成と封入体形成を含む皮膚病変の形成とに一定の相関が認められたことから, 成鶏においても幼雛の報告 [22, 23] と同様に体内病変と皮膚病変との相関を有することが示唆された. しかしながら, 野外例とは異なり感染実験では末梢神経においても重度の病変が認められ, このことが宿主-ウイルス間の相互作用によるものなのか, 病変の観察時期の違いによるものなのかについては今後さらに検索をする必要があると思われる. 発症は接種後52日以降に多く見られ, これは接種後3ないし4週からMD病変の認められる初生雛の感染実験 [17, 18] と比較し発症時期が遅延していた. 病変形成と発症期間の遅れがどのような免疫応答によるものなのかを明らかにすることはlate MDの発症機構を明らかにする上で重要ではないかと思われる. コマーシャル鶏の1例で発症が認められたが, この個体は臨床状態も良好であり, 組織学的にはリンパ系組織に著変が見られなかったことから, 成鶏における発症が単純な免疫抑制のみに起因するのではないことが示唆された. また, 今回の実験ではこの発症が体内に潜伏感染

していたウイルスに起因するのか, 今回接種したウイルスに起因するのかは確定には至らなかった. 今後, 分子病理学的手法にて起因ウイルスの由来を特定することが求められる.

実験3では14週齢接種群で高率にマレック病の発症が認められた. 感染後7~13週目での発症は初生雛と比較すると実験2の50週齢接種群同様に発症時期が遅延する傾向がみられた. リンパ腫発症鶏では死亡時に至るまで経時的に羽包上皮でMDV *meq* の陽性シグナルが得られた. これはリンパ腫発症鶏では盛んなウイルス複製が行われていることを示しており, 実験2で示唆されたように成鶏においても幼雛 [24-27] と同様に羽包上皮でのウイルス複製と体内病変との相関が示された. また, 従来成鶏における年齢抵抗性は腫瘍の退縮によると考えられてきたが [11, 28], 今回の実験から非発症鶏では感染初期のウイルス複製が抑制されていることから成鶏においては感染初期のウイルス複製に対する何らかの免疫応答が惹起されている可能性が示唆された. 96週齢接種群では発症が認められず, 以前から知られていた年齢抵抗性が改めて確認された形となった.

幼雛時のワクチネーションの瑕疵によって有用な防御免疫を誘起出来ない場合には早い段階でMDを発症し, 死亡・淘汰される. 環境中のウイルスに暴露されることにより, 野外例の成鶏は一定の防御免疫が誘導された状態にあると考えられる. Late MDの発症機序には, 成鶏が新規の感染に感受性があり, 新規感染したウイルスがMDを惹起するというものである. しかし, この場合はワクチンによる免疫や年齢抵抗性を考慮しなくてはならない. 体内に潜伏感染していたMDVが何らかの環境要因により誘引または悪化させられることで成鶏でのMDが発症するというものである. ウイルスの強毒化によるワクチンブレイクも過去には認められたが, 現在vv+よりも強力な株の発生は報告されていないため, 主にこれら二点が考えられる.

コマーシャル鶏は通常ワクチン接種され、また環境中のMDVに暴露される。ワクチン接種とMDV感染によりウイルスは鶏の生涯にわたり存在するので、これらの仮説を区別するのは容易ではない。しかし、今回P2系成鶏でMDが認められたことから、免疫状態によっては成鶏においてもMDV感受性を有することが示された。ワクチン接種済みコマーシャル系成鶏においてもMDが認められたが、これが実験的接種に起因するのか否かについてはより詳細な検索を行う必要がある。

まとめとして、今回の実験ではlate MDの組織学的特徴は大小不同のリンパ様細胞の腫瘍性増殖であり好発日齢のMDと同様であることが示された。成鶏では幼雛と比較し発症が遅延すること、ウイルス複製とMD発症とに相関が認められたことから腫瘍退縮のみではなくウイルス複製を抑制する免疫応答が生じている可能性が示唆された。P2系鶏では過去の報告と比較し高率にMD発症が認められたことからlate MDの検索に有用なツールとなりうる可能性が示された。

引用文献

- [1] International Committee of Taxonomy of Viruses. Mardivirus, ICTVdB-The Universal Virus Database, Version 4, Buchen-Osmond C, ed, Columbia University, New York, USA (2006)
- [2] Okada K : Marek's Disease, Colour Manual Diseases of Birds, Japanese Society on Poultry Diseases ed, 26-29, Japan International Agricultural Council, Tokyo (1999)
- [3] Calnek BW : Pathogenesis of Marek's disease virus infection, Marek's Disease, Hirai K, ed, 25-56, Springer-Verlag, Berlin (2001)
- [4] Payne LN : Pathological responses to infection, Marek's Disease : An Evolving Problem, Davison F et al eds, 78-97, Elsevier Academic Press, London (2004)
- [5] Witter RL, Schat KA : Marek's Disease, DISEASES OF POULTRY, Saif YM, et al eds, 11th ed, 407-465, Iowa State University Press, Iowa (2003)
- [6] Witter RL : Protective efficacy of Marek's disease vaccines. Marek's Disease, Hirai K ed, 58-90, Springer-Verlag, Berlin (2001)
- [7] Kreager, KS : Marek's disease : clinical aspects and current field problems in layer chickens, Diagnosis and control of neoplastic disease of poultry, Fadly AM, et al eds, 23-26, American Association of Avian Pathologists Inc., Kennett Square (1997)
- [8] Lucio-Martinez B : Impact of vv Marek's disease on mortality and production in a multiple-age farm, Proceedings of the 48th Western Poultry Disease Conference, 55-56 Vancouver (1999)
- [9] Morrow C, Fehler F : Marek's disease : a worldwide problem, Marek's Disease : An Evolving Problem, Davison F et al eds, 49-61, Elsevier Academic Press, London (2004)
- [10] Calnek BW : Influence of age at exposure on the pathogenesis of Marek's disease, J Natl Cancer Inst, 51, 929-939 (1973)
- [11] Sharma JM, Witter RL, Burmerster BR : Pathogenesis of Marek's disease in old chickens : lesion regression as the basis for age-related resistance,

- Infect Immun, 8, 715-724 (1973)
- [12] Baaten BJ, Butter C, Davison TF : Study of host-pathogen interactions to identify sustainable vaccine strategies to Marek's disease, *Vet Immunopathol*, 100, 165-177 (2004)
- [13] Davison F, Kaiser P : Immunity to Marek's disease, *Marek's Disease : An Evolving Problem*, Davison F, et al eds, 126-141, Elsevier Academic Press, London (2004)
- [14] Morimura T, Ohashi K, Sugimoto C, Onuma M : Pathogenesis of Marek's disease (MD) and possible mechanisms of immunity induced by MD vaccine, *J Vet Med Sci*, 60, 1-8 (1998)
- [15] Anderson DP, Eidson CS, Richey DJ : Age susceptibility of chickens to Marek's disease. *Am, J Vet Res*, 32, 935-938 (1971)
- [16] Witter RL, Sharma JM, Solomon JJ, Champion LR : An age-related resistance of chickens to Marek's disease:some preliminary observations, *Avian Pathol*, 2, 43-54 (1973)
- [17] Goryo M, Tsukui M, Saijo K, Takeuchi J, Obata F, Fujikawa Y : Studies on avirulent Marek's disease virus (CVI988 strain), *English Summaries of the Studies on Poultry Disease in Japan*, 17-30, The Japanese Veterinary Poultry Association, Tsukuba (1980)
- [18] Saijo K, Takeuchi J, Goryo M, Tamura S, Obata F, Fujikawa Y : Biological characteristics of a virulent Marek's disease virus strain isolated from the affected chicken of the field flock. *In : English Summaries of the Studies on Poultry Disease in Japan*, 23-24, The Japanese Veterinary Poultry Association, Tsukuba (1980)
- [19] Davidson I, Borenshtain R : The feather tips of commercial chickens are a favorable source of DNA for the amplification of Marek's disease virus and avian leukosis virus, subgroup J, *Avian pathol*, 31, 237-240 (2002)
- [20] Murata S, Chang KS, Yamamoto Y, Okada T, Lee SI, Konnai S, Onuma M, Osa Y, Asakawa M, Ohashi K : Detection of the virulent Marek's disease virus genome from feather tips of wild geese in Japan and the far east region of Russia, *Arch Virol*, 152, 1523-1528 (2007)
- [21] Hihara H : *Lymphoid Leukosis, Colour Manual Diseases of Birds*, Japanese Society on Poultry Diseases ed, 30-33, Japan International Agricultural Council, Tokyo (1999)
- [22] Moriguchi R, Izawa H : Marek's disease in chickens : correlation of Marek's disease with nuclear-inclusion formation in feather-follicle epithelium. *Avian Dis*, 23, 547-554 (1979)
- [23] Moriguchi R, Fujimoto Y, Izawa H : Chronological observations of feather pulp lesions in chickens inoculated with Marek's disease virus, *Avian Dis*, 26, 375-388 (1982)
- [24] Gimeno IM, Cortes AL, Silva RF : Load of challenge Marek's disease virus DNA in blood as a criterion for early diagnosis of Marek's disease tumors. *Avian Dis*. 52, 203-208 (2008)
- [25] Islam AF, Walkden-Brown SW, Groves PJ, Underwood GJ : Kinetics

- of Marek's disease virus (MDV) infection in broiler chickens 1: effects of varying vaccination to challenge interval on vaccinal protection and load of MDV and herpesvirus turkey in the spleen and feather dander over time, *Avian Pathol*, 37, 225-235 (2009)
- [26] Islam AF, Walkden-Brown SW, Islam A, Underwood GJ, Groves PJ: Relationship between Marek's disease virus load in peripheral blood lymphocytes at various stages of infection and clinical Marek's disease in broiler chickens, *Avian Pathol*, 35, 42-48 (2006)
- [27] Kuhnlein U, Spencer JL, Chan M, Praslickova D, Linher K, Kulenlamp A, Ansah G: Relationship between Marek's disease and the time course of viral genome proliferation in feather tips. *Avian Dis*, 50, 173-178 (2006)
- [28] Baigent SJ, Davison F: Marek's disease virus, biology and life cycle, *Marek's Disease: An Evolving Problem*, Davison F, et al eds, 62-77, Elsevier Academic Press, London (2004)

文 献 抄 録

捕獲された原猿における自然発生性肝細胞癌

Zadrozny LM, Williams CV, Remick AK, and Cullen JM
(ノースカロライナ州立大学, 米国)
Vet Pathol, 47, 306-311 (2010)

自然発生性肝細胞癌は、原猿において比較よく知られた腫瘍として報告されてきたが、その発生機序は不明である。可能性のある発症メカニズムを調査するために、著者らは、過去10年間で剖検された原猿群の内、成猿すべてを再調査した。増殖性の肝臓病変が疑われたすべてについて詳細な組織学的評価が行われ、145例のキツネザルの内14例(9.7%)が肝細胞癌と診断された。罹患動物の年齢は、6~40歳の間であった。腫瘍はこの動物種にとって著しい侵襲性の発育パターンを示し、14例のうち7例では肺または縦隔への転移が明らかであった。31例(内9例が肝細胞癌を

発症した個体、22例が肝腫瘍を持たない同年齢のコントロール)について、肝臓の鉄濃度(他の微量金属も同様)と肝細胞癌発現との関係の評価のために調査が行われた。キツネザルの肝細胞癌と肝細胞癌のない肝臓における鉄、銅、またはモリブデン濃度に差は見られず、鉄は肝腫瘍形成の病理発生の重要な要素ではないことが示された。肝腫瘍を持つものと持たないものの22例の血清サンプルの分析は、B型肝炎ウイルスを含むヘパドナウイルス科による活動性感染の証拠を示していなかった。C型肝炎ウイルスとアフマトキシンB1は成因となる可能性があると考えられたが、病理組織学的な病変を欠いていたために除外された。結論として、肝細胞性腫瘍は捕獲性の原猿には比較よく知られているが以前から疑われた病因は疑わしいと思われる。

(岩手大学獣医病理学研究室)