

沖縄県の豚熱野外症例における病理学的解析

奥村 尚子¹⁾ 高木和香子²⁾

1)家畜衛生試験場 2)畜産課

【はじめに】2018 年9月に国内で 26 年ぶりに発生した豚熱は、野生イノシシや豚で継続的に発生し、本県では 2020 年1月から3月までに 7 農場で発生が確認された。県内分離株は 2019 年 1 月岐阜イノシシ由来株と最も近縁とされ[1], 2018 年以降の国内流行株からの派生株であった。国内流行している CSF ウイルス(CSFV)株(JPN/1/2018 株)は、感染実験の結果、高病原性の ALD 株と比較して病原性が低く、中等度病原性とされる[2]が、野外症例の病理学的検索は不十分である。今回、本県 CSF 事例を病理組織学的に解析したので概要を報告する。

【材料と方法】ウイルス学的検査により豚熱患者と確定した 7 農場 13 頭の臓器を用いて、2方法で解析を行った。方法1:病理解剖で採材したホルマリン固定済み臓器についてヘマトキシリンエオジン染色(HE 染色)を実施し、鏡検した。また、扁桃、脾臓、腎臓について抗 CSFV モノクローナル抗体 (Animal Health and Veterinary Laboratories Agency, clone WH303)を用いた免疫組織化学的染色(IHC)を実施した。IHC の抗原賦活化処理と一次抗体希釈濃度は、条件検討を行った上、クエン酸バッファー(pH6.0)の加熱処理時間 1 分、冷却なし、一次抗体は使用する2から4日前に 100 倍希釈した。方法2:方法1の結果をもとに、HE 標本は病変の程度に応じて、IHC 標本は陽性細胞の分布や量に応じて図 1 の基準を元にスコア化[2-4]した。防疫指針[5]に記載のある 1~11 の特定症状について、解剖豚もしくは同居豚に該当した症状数を評価した。解剖豚の特定症状として1.耳翼、下腹部、四肢等の紫斑 2.斃死。同居豚群も含めた特定症状として、3.40℃以上の発熱、元気消失、食欲減退、パイルアップ 4.下痢、便秘 5.結膜炎、目やに 6.歩行困難、後肢麻痺、けいれん 7.ひね豚(削瘦、被毛粗剛、発育不良) 8.異常産の発生 9.皮下出血、皮膚紅斑、天然孔からの出血、血便 10.突然死 11.白血球数の減少(10,000 個/μl未満)を評価した。本県野外症例のスコア結果を、解剖豚の臓器別、日齢別、症状数別、既報の感染実験結果と比較した。スコア比較を行うため、既報の感染

実験例[2,3,6,7]のうちスコア化されていない扁桃、脾臓、腎臓の病変について図1の基準を元にスコアを設定した。

HE	0	1	2	3
扁桃	所見なし	リンパ球の減少	出血・リンパ細胞壊死	陰窩壊死
脾臓	所見なし	限局性の出血・リンパ球の枯渇	出血・リンパ細胞壊死	梗塞構造の消失
腎臓	所見なし	限局性の出血・間質性腎炎	多発性出血・間質性腎炎	梗塞壊死
HE: リンパ球の壊死、組織の出血、病変の局在				
IHC	0	1	2	3
扁桃	陰性	限局性の扁桃上皮・マクロファージ・リンパ球	多発性の扁桃上皮・マクロファージ・リンパ球	2・血管内皮
脾臓	陰性	限局性の白脾髄マクロファージ・リンパ球	多発性の白脾髄マクロファージ・リンパ球	2・血管内皮
腎臓	陰性	限局性の尿細管上皮	多発性の尿細管上皮	2・血管内皮
IHC: 陽性細胞数、種類、局在				

図 1 スコア基準

【結果】農場概要と認められた特定症状について図2に記す。検体1から5は育成期の個体で、検体6から13は肥育期の個体であった。方法1:最も多い所見は、扁桃のリンパ球減少(92.3%), 脾臓の出血や白脾髄領域の減少(84.6%), 腎臓間質へのリンパ球やマクロファージの浸潤(69.2%)であった。また検索症例数は少ないが、リンパ節の血液吸収やリンパ球減少(7/7, 100%), 回腸パイエル板のリンパ球減少(4/5, 80%), 脳血管周囲(4/5, 80%)や肝臓グリソン鞘周囲へのリンパ球浸潤(7/7, 100%), 化膿性気管支肺炎(7/8, 87.5%)や肺のリンパ管拡張(6/8, 75%)なども確認された。方法2:スコア化結果と組織写真を図3から9に記す。臓器別では、HE 標本における中等度以上の病変の出現率は脾臓、腎臓、扁桃の順に高く、IHC では扁桃、脾臓、腎臓の順に陽性細胞が多くみられた(図 10)。日齢別では、育成豚(30 から 60 日齢)の方が、肥育豚に比べてスコアが高かった。複数の特定症状が確認された個体ほど病変がより重度かつ IHC における陽性細胞数も多く広範囲にみられ、スコアが高かった(図 11)。既報の CSFV 4 株を用いた感染実験の結果との比較(図 12)では、本県症例の 14 というスコア合計は、中等度病原性株(Wingene

’93株)・高病原性株(ALD株とISS/60株)と低病原性株(JPN/1/2018株)の中間のスコアであった。県内分離株は国内流行株の派生ということを受け、本県症例と2018年の国内分離株の感染実験の結果を比較すると、野外症例である本県症例の方がスコアは高かった。

【考察】病変はCSFVの病態機序のとおり、リンパ組織や脾臓に多く形成されていた。高率にみられた所見として、リンパ組織のリンパ球減少・壊死、出血と肝臓、脳、腎臓の脈管周囲のリンパ球主体の細胞浸潤、脾臓や腎臓における小脈管壁の壊死・血管炎などであった。臓器別のスコア比較では、扁桃のHE病変は他の臓器に比べ軽度だが、IHCでの陽性細胞数は脾臓、腎臓に比べ多く、抗原検出に最も適していた。CSFVが体内へ侵入する際、まず扁桃陰窩上皮細胞へ感染し、一次複製が行われ全身へ広がり、リンパ球減少や血管内皮への傷害を引き起こす[8]。扁桃は感染初期から長期間CSFVが検出できると推察された。脾臓はHE、IHCともに中等度以上の病変を認める傾向があった。複数の特定症状がある場合や斃死個体では病変が強い傾向がみられた。肥育豚群に比べ、育成豚群(30-60日齢)の方が、病変は重度であり、愛知県の野外症例における解析結果と類似していた[4]。

既報の様々な病原性のCSFV4株を用いた感染実験とのスコア比較では、本県症例群は、中等度・高病原性と低病原性の中間のスコアであった。また、本県症例は脳における血管性リンパ球浸潤を認めたが、高病原性のALD株感染で見られた神経症状を伴う非化膿性脳炎[7]は認められなかった。これらのことから、本県で分離されたCSFVの病原性は低から中等度と考察した。さらに、国内流行株の感染実験と野外症例とのスコア比較では、野外症例である本県症例スコアが高かった。豚熱では免疫低下から呼吸器や消化管の二次感染のリスクが高まる[8]。病原体の検索は不十分だが、化膿性肺炎が87.5%に確認されており、本県症例においても、CSFV感染により免疫力が低下していることに加え、二次感染により病変が重篤化したと考えた。

国内発生	検体No.	経営形態	日齢	状態	摘発経緯	症状番号	症状数
52	1	肥育	60	生	異常豚	3,4,5,10	4
53	2	一貫	約30	死	発生状況検査	1,2,3,8,11	5
	3			生		3,4,11	3
54	4	一貫	50	生	発生状況検査	3,4,11	3
	5			生		3,4,11	3
55	6	肥育	不明	死	異常豚	1,2,6,7,10,11	6
	7			死		1,2,6,7,10,11	6
56	8	肥育	不明	生	異常豚	1,3,4,11	4
	9			生		3,11	2
57	10	肥育	不明	生	異常豚	3,11	2
	11			生		3,11	2
58	12	肥育	不明	生	重点監視農場/57例目に隣接	3	1
	13			生		7	1

図2 農場概要と特定症状

国内発生	検体No.	日齢	状態	扁桃		脾臓		腎臓	
				HE	IHC	HE	IHC	HE	IHC
52	1	60	生	1	2	1	2	2	1
53	2	約30	死	NT	NT	2	3	2	3
	3		生	1	2	1	2	0	1
54	4	50	生	1	3	1	3	1	2
	5		生	1	3	2	2	1	1
55	6	不明	死	NT	NT	2	2	2	3
	7		死	NT	NT	2	2	1	3
56	8	不明	生	0	2	2	1	2	2
	9		生	1	2	2	2	1	0
57	10	不明	生	1	2	3	3	1	1
	11		生	2	2	2	2	1	1
58	12	不明	生	1	1	1	0	0	0
	13		生	1	1	1	0	1	0

NT: 採材なし

図3 扁桃・脾臓・腎臓スコア結果

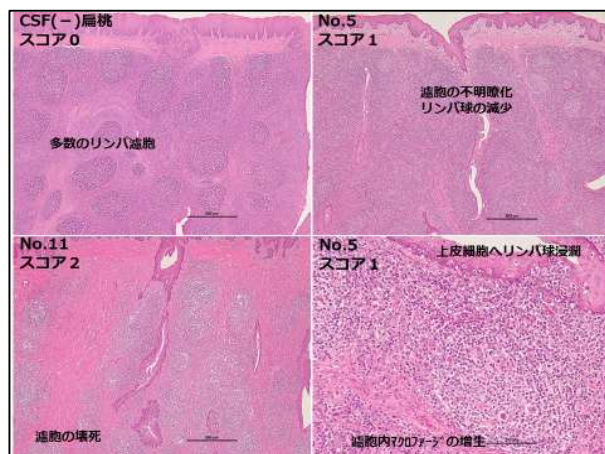


図4 扁桃 HE

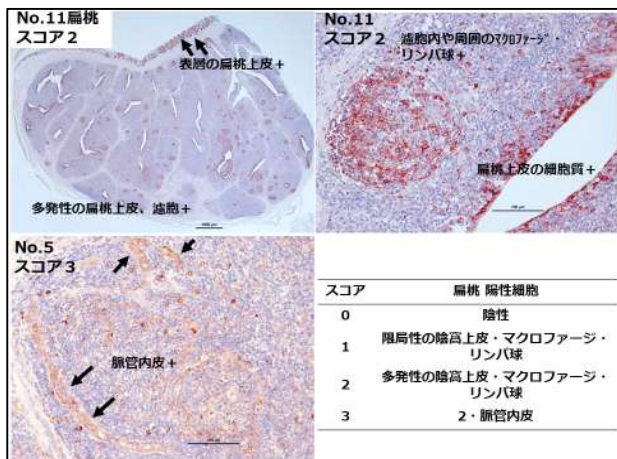


図5 扁桃 IHC

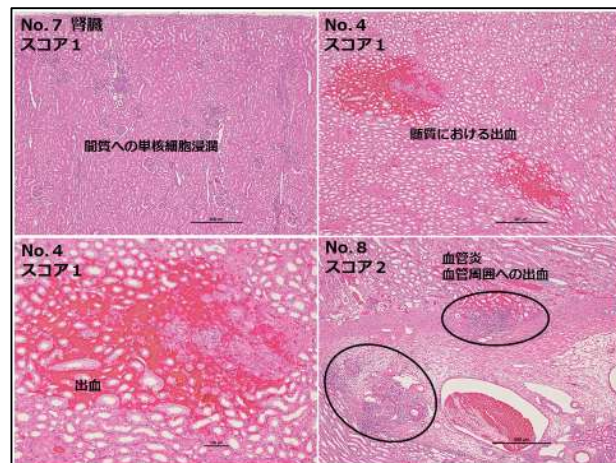


図8 腎臓 HE

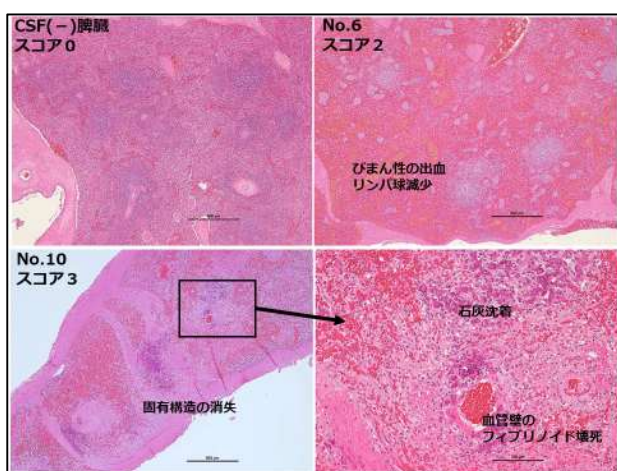


図6 脾臓 HE

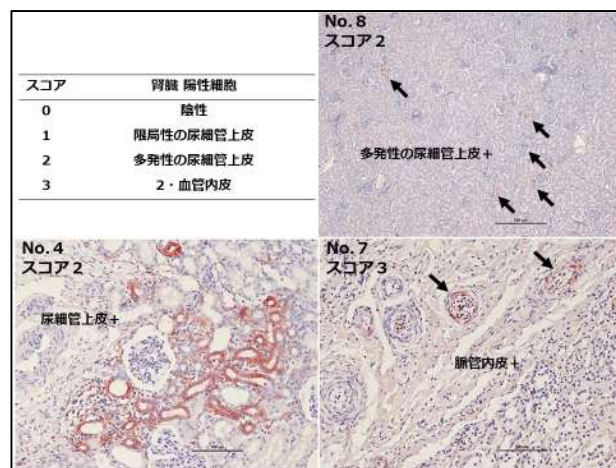


図9 腎臓 IHC

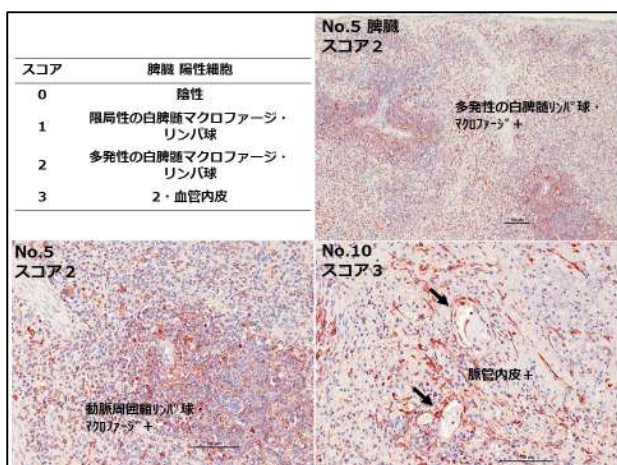


図7 脾臓 IHC

HE	頭数	スコア					数値:頭数 2-3	中等度以上の割合(%)
		0	1	2	3	2-3		
扁桃	10	1	8	1	0	1		10
脾臓	13	0	5	7	1	8		61.5
腎臓	13	2	7	4	0	4		30.8

◆ 中等度病変の検体数: 脾臓>腎臓>扁桃

IHC	頭数	スコア					数値:頭数 2-3	中等度以上の割合(%)
		0	1	2	3	2-3		
扁桃	10	0	2	6	2	8		80
脾臓	13	2	1	7	3	10		76.9
腎臓	13	3	5	2	3	5		38.5

◆ 陽性細胞が多く広範囲にみられる検体数: 扁桃>脾臓>腎臓

図10 臓器によるスコア比較

症状数	頭数	扁桃		脾臓		腎臓		スコア平均
		HE	IHC	HE	IHC	HE	IHC	
1-2	5	1.2	1.6	1.8	1.4	0.8	0.4	1.2
3-4	5	0.8	2.4	1.4	2	1.2	1.4	1.5
5-6	3	NT	NT	2	2.3	1.7	3	2.25
◆ 症状が多い方がスコア平均が高い								
数値:平均値								
日齢	頭数	扁桃		脾臓		腎臓		スコア合計
		HE	IHC	HE	IHC	HE	IHC	
育成	5	1	2.5	1.4	2.4	1.2	1.6	10.1
肥育	8	1	1.7	1.9	1.5	1.1	1.3	8.4
◆ スコア合計: 育成>肥育								
数値:平均値								

図11 臨床症状と日齢によるスコア比較

ウイルス株	頭数	扁桃		脾臓		腎臓		スコア合計
		HE	IHC	HE	IHC	HE	IHC	
本県症例 育成(30-60日齢) 52例目分離株	5	1	3	2	3	2	3	14
感染実験 低病原性 JPN/1/2018株	8	1	2	3	2	1	1	10
中等度病原性 Wingene'93株	25	3	3	2	3	2	3	16
高病原性 ALD株	4	3	3	3	3	2	1	15
ISS/60株	25	3	3	2	3	2	3	16
◆ スコア比較 実験 中等度・高病原性CSFV株>本県症例群>実験 低病原性CSFV株								
◆ JPN/1/2018株 本県症例(野外症例)は感染実験に比べ組織病変が重度								

図12 感染実験結果との比較

【引用文献】

- [1]第 12 回拡大 CSF 疫学調査チーム検討会資料 (2020)
- [2]Kameyama K, Nishi T, Yamada M, Masujin K, Morioka K, Kokuho T, Fukai K : Experimental infection of pigs with a classical swine fever virus isolated in Japan for the first time in 26 years. The Journal of Veterinary Medical Science, 81, 1277-1284(2019)
- [3]山田学 : 令和元年度病性鑑定病理部門研修 講義資料(2019)
- [4]杉江健之助ら : 令和元年度 愛知県畜産技術業績発表会集録(2019)
- [5]豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針(2020)
- [6]Belák K, Koenen F, Vanderhallen H, Mittelholzer C, Feliziani F, De Mia G M, and Belák S : Comparative studies on the pathogenicity and tissue distribution of three virulence variants of classical swine fever virus, two field isolates and one vaccine strain, with special regard to immunohistochemical investigations. Acta Veterinaria Scandinavica, 50, 34(2008)
- [7]Narita M, Kawashima K, Kimura K, Mikami O,

Yamada S, and Sakoda Y : Comparative immune-histopathology in pigs infected with highly virulent or less virulent strains of hog cholera virus. Vet Pathol, 37, 402-408(2000)

[8] Blome S, Staubach C, Henke J, Carlson J, and Beer M : Classical Swine Fever - An updated review. Viruses, 9, 86(2017)