

9. 管内繁殖牛飼養農場において確認された胆管癌の症例報告

八重山家畜保健衛生所
 ○松本 航平 泉 里奈
 高桑 悠子
 家畜衛生試験場
 奥村 尚子

【はじめに】胆管癌は胆管上皮細胞由来の悪性腫瘍で、悪性腫瘍は一般的に加齢により発生率が上昇する疾病である。牛は繁殖母牛でも多くは10歳齢前後で廃用となり、牛本来の寿命に対して若齢の内に処理されるため、悪性腫瘍の発生率は低い。また、胆管癌は特徴的な臨床症状が認められないことがあり、十分な検査が行われず、と畜検査時に確認される例などが多く、詳細な報告が少ない疾病です。今回、八重山管内の肉用牛繁殖農場において母牛での胆管癌の症例が確認されたため、報告する。

【発生農場及び概要】発生農場は管内の肉用牛繁殖農場で、母牛70頭規模の農場。患畜は2012年9月22日生まれの8歳8ヶ月齢の黒毛和種の母牛で、2021年5月27日に活力低下などの症状が見られたため、診療獣医師による治療が行われた。6月1日に41度の発熱、粘膜に黄疸が現れ、便と尿がそれぞれ茶色・濃い橙色に変化し、6月8日に家保に血液検査依頼があった。6月11日に診療獣医師が予後不良と判断し、原因究明のため、家保に解剖検査の依頼があり、同日、鑑定殺後に、解剖検査を実施した(図1)。

発生農場	
・肉用牛繁殖農場	
・飼養規模：母牛70頭、育成牛53頭、子牛8頭(合計131頭)	
発生概要	
患畜：黒毛和種	2012.9.22生(8歳8ヶ月) 雌
2021年5月27日	初診 T 38.7°C、活力低下、ルーメン動弱、軟便、子宮肥厚・波動感無し
5月31日	T 40.0°C、呼吸促進
6月1日	T 41.2°C、食欲廃絶、粘膜黄疸、茶色軟便、橙色濃尿
6月8日	家保に血液検査依頼
6月11日	予後不良と判断し、家保にて鑑定殺後に解剖検査実施

図1

【検査内容】(1)血液・生化学検査、(2)解剖検査を実施し、採材した主要6臓器について(3)細菌学的検査を実施し、(4)病理組織検査を実施した。

【検査結果】(1)血液・生化学検査(図2)血液検査の結果では白血球数の増加と血小板数の減少が確認され、血液生化学検査ではGOT、GGT、T-Bil、LDH、BUN、CRE、P及びMgの増加とALB、GLU、T-CHOの低下が確認された。診療獣医師による尿検査ではビリルビンが確認された。血液・生化学検査の結果からは全体的に肝臓の異常を疑う所見が多く見られた。

(1) 血液・生化学検査 (6月8日実施)									
【血液検査】					【血液生化学検査】				
項目	WBC	RBC	HGB	Ht	MCV	MCH	MCHC	PLT	
単位	$\times 10^3/\mu\text{L}$	$\times 10^6/\mu\text{L}$	g/dl	%	fL	pg	g/dL	$\times 10^3/\mu\text{L}$	
値	286	750	13.2	35.9	47.9	17.6	36.8	11.2	
正常値	100	791	10.7	36.8	47	13.5	29.1	35.8	
【血液塗抹検査】									
項目	Baso	Eos	Meta	Stab	Seg	Lym	Mono	異型Ly	
値	0	0	0	0	57	22	5	16	
正常値	まれ	9	0	1	27	58	4	0	
尿検査 (6月6日実施)									
項目	pH	潜血	ケトン	ビリルビン	蛋白質	糖			
値	8.5	-	-	+++	-	-			

図2

(2)剖検所見 皮下・筋肉では全身性の黄疸、水腫様変性が認められ、腹腔は腹膜炎により、肝臓・腹腔壁との強固な癒着が認められ、腹腔内には黄色の腹水が貯留していることが確認された(図3)。

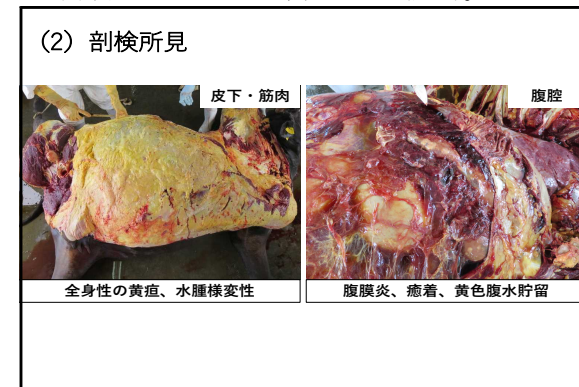


図3

肝臓は、全体に多数の白色腫瘍が確認され、腫大し、最長で73cmとなっていた。また、肝臓の辺縁では一

部退色が確認された。胆管では胆管内に直径8 cm 大の腫瘍が確認された(図4)。

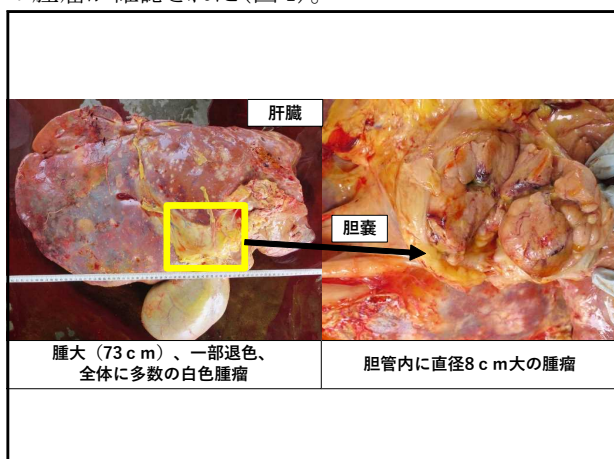


図4

肝臓の断面は全体が赤褐色で、胆管から肝実質まで広範囲に多数の白色腫瘍が認められた。胆嚢では粘膜面に多数のイボ状腫瘍が認められた(図5)。

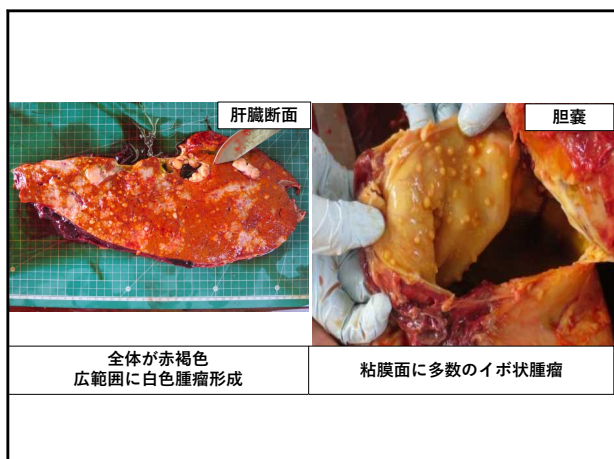


図5

肺門リンパ節は 16cm 大に腫大し、内部に腫瘍が形成されていた。肺は左右の前葉から中葉にかけて充血が

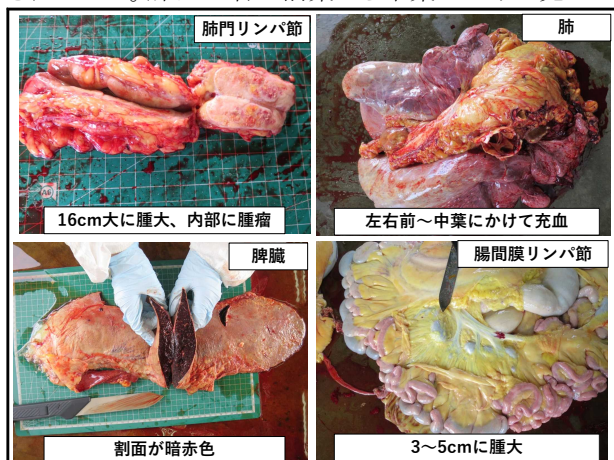


図6

認められた。脾臓の断面は暗赤色であった。腸間膜リンパ節は3から5 cm に腫大していた(図6)。

(3)細菌学的検査では肺から *Pantoea* spp1、*E.coli*1、*Aerococcus viridans*1、*Pseudomonas putida*、肝から *E.coli*1、*E.coli*2が分離された。その他の臓器では有意菌は分離されなかった。病理所見で肝臓や肺に化膿性病変に乏しい所見が得られていることから、今回の症例では細菌は病変の形成に関与しておらず、消化管からの流入や免疫力低下による日和見感染をおこしたものと推察した。

(4)病理組織検査は脳、心、肺、肺門リンパ節、肝臓、胆嚢、脾臓、前胃、腺胃、小腸、腸間膜リンパ節、盲腸、膀胱を材料とし、ヘマトキシリン・エオジン染色と免疫組織化学染色として抗ケラチン/サイトケラチン抗体染色(以下 AE 1,AE 3)を実施した(図7)。

(4) 病理組織検査

材料：脳、心、肺(右前、左前、左後)、肺門Ly、肝、胆嚢、胆嚢内腫瘍、脾、前胃、腺胃、小腸、腸間膜Ly、盲腸、膀胱

染色：ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE)

免疫組織化学染色：抗ケラチン/サイトケラチン抗体 (AE1,AE3)
⇒上皮細胞を特異的に染色

図7

肝臓の低倍率像では腫瘍細胞の結合組織を伴う浸潤増殖像が確認され、肝臓構造残存部では肝細胞は確認されるが肝小葉の構造が不明瞭であった(図8)。

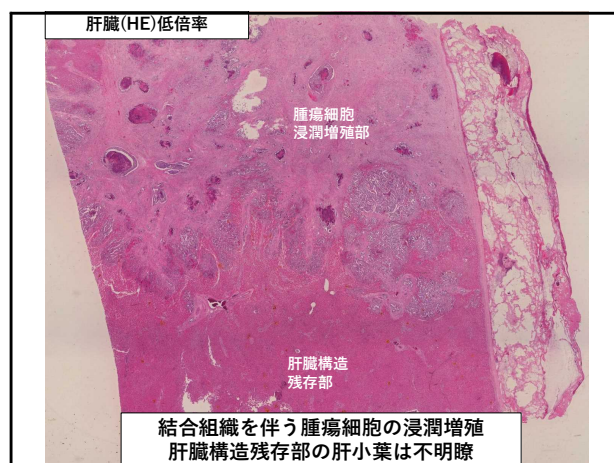


図8

肝臓の腫瘍細胞浸潤増殖部と肝臓構造残存部の境界面の中倍率像では、腫瘍細胞が豊富な結合組織を伴いながら管腔形成状・乳頭状・巣状に浸潤増殖しており、一部で出血・壊死像が認められた(図9)。

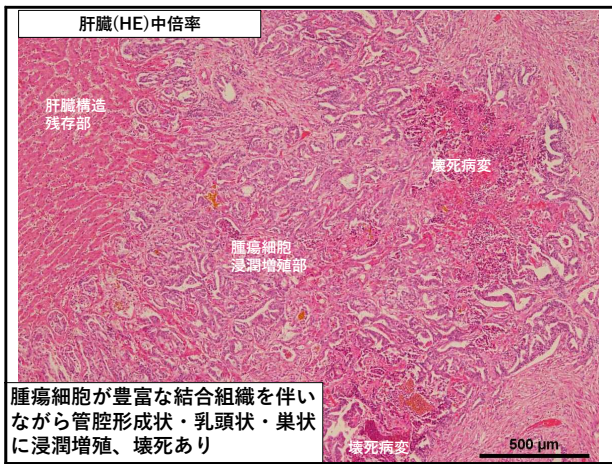


図9

肝臓の腫瘍細胞増殖部の高倍率像では、腫瘍細胞が円柱形から立方体で、核の大小不同があり、複数の核小体を保有し、1視野で3つの有糸分裂像が確認され、高い有糸分裂活性があることが確認された(図10)。

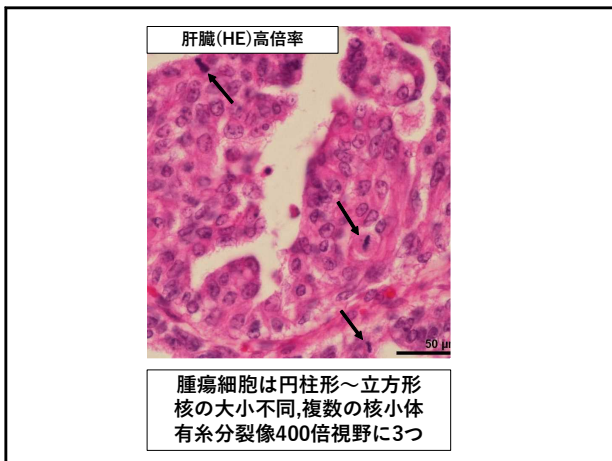


図10

この他、肝臓全体で胆汁のうっ滞が確認されました。このことから、肝細胞から胆汁が細胆管へ運ばれていないことが確認された(図11)。

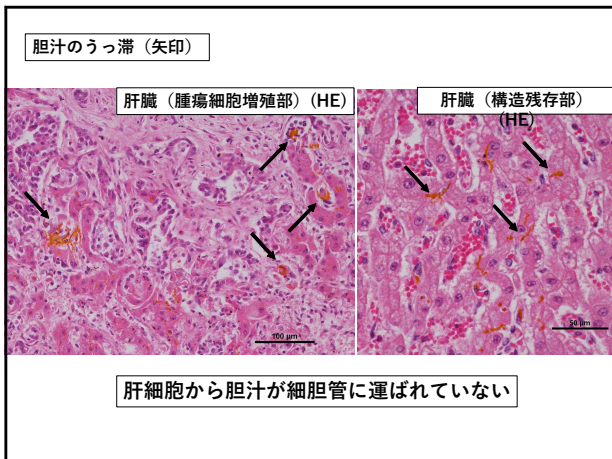


図11

AE 1,AE 3で染色した肝臓構造残存部の標本で、グリ

ソン鞘において、3つ組構造以外に多数の管腔が形成されていることから、細胆管反応による胆管の増生が確認された。このことから、残存部においても腫瘍による影響が及んでおり、正常に機能していないことが確認された(図12)。

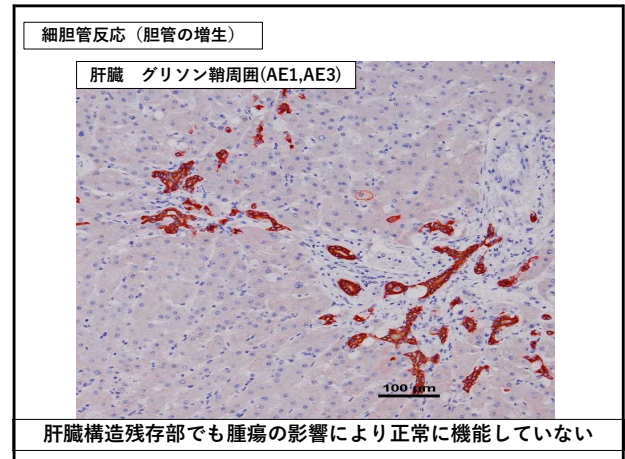


図12

AE 1,AE 3で染色した腫瘍細胞増殖部の標本では腫瘍細胞がサイトケラチン陽性であることが確認され、腫瘍細胞が上皮細胞由来であることが確認されました(図13)。

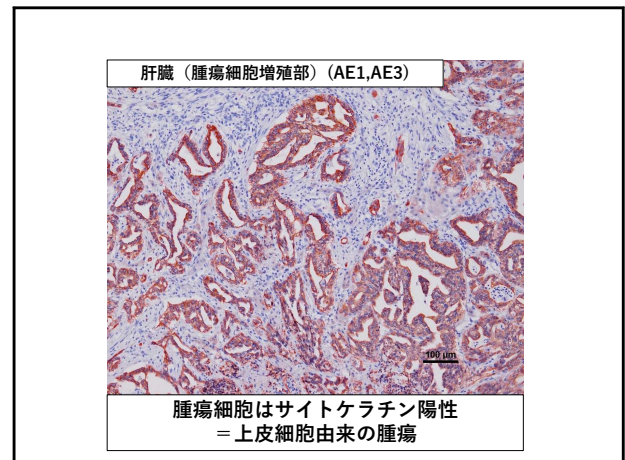


図13

肺門リンパ節の標本でも肝臓と同様に、腫瘍細胞が管腔形成状・乳頭状・巣状に結合組織を伴い浸潤増殖し、一部で壊死・出血像が認められた。また、AE1,AE

3染色標本で腫瘍細胞が上皮細胞由来であることが確認された(図14)。

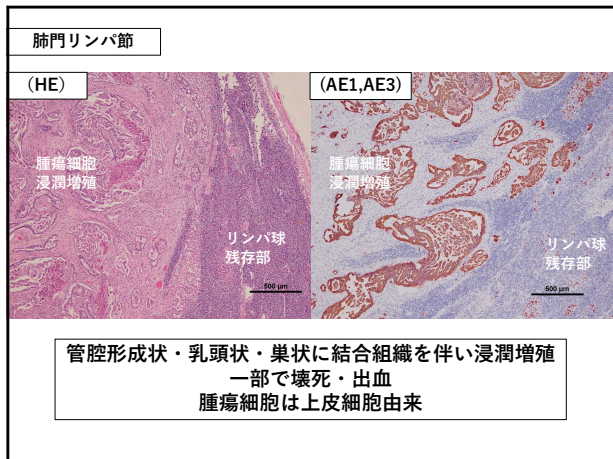


図14

中脳の標本では、リポフスチンの沈着が認められた。その他の臓器については、肺に転移巣が認められ、脾臓・第3胃の漿膜面に腫瘍細胞が認められた。これらの腫瘍細胞についても AE 1,AE 3で上皮細胞由来腫瘍細胞であることが確認された(図15)。

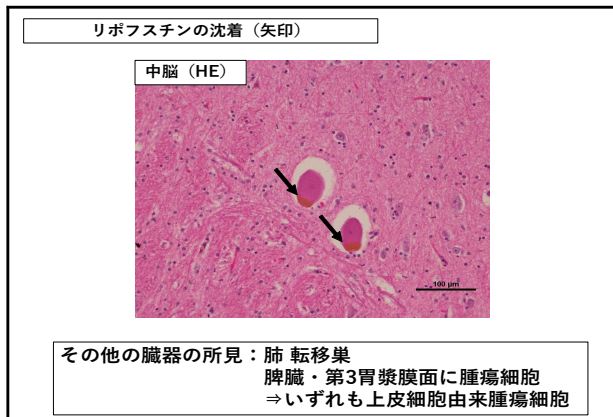


図15

【まとめ】病理組織検査で確認された腫瘍について、悪性度の判定を行い、豊富な結合組織を伴い浸潤増殖をしている点、腫瘍細胞の細胞異型が中程度である点、構造異型が高い点、壊死・出血像が見られる点、有糸分裂活性が高い点、肺・肺門リンパ節などに転移が見られる点から、悪性度は高いと判断し、肝臓原発の腺上皮細胞由来の腫瘍、胆管癌と診断した(図16)。

まとめ

病理所見

- ・腫瘍細胞は腺上皮細胞由来
- ・豊富な結合組織を伴い浸潤増殖
- ・腫瘍細胞は円柱形～立方体で、核の大小不同、複数の核小体(細胞異型中程度)
- ・管腔形成状、乳頭状、巣状に増殖(構造異型高)
- ・増殖部内部で壊死や出血
- ・有糸分裂像が400倍視野で3つ確認(有糸分裂活性高)
- ・肝臓以外に腫瘍細胞が転移

⇒悪性度が高い腺上皮細胞由来の腫瘍

胆管癌と診断

図16

【考察】今回、8歳8ヶ月齢の母牛について、胆管癌と診断をした。過去の胆管癌の症例では、黄疸が認められた症例は少なく、黄疸が認められた症例でも、総胆管起始部付近の肝実質に形成された腫瘤による総胆管の外部圧迫による黄疸と推察された症例であった。一方で、本症例では、黄疸が認められると共に、総胆管の内腔に腫瘍が形成されているという特徴が認められた。黄疸には発生機序により、溶血性・肝細胞性・閉塞性の3種類の黄疸があるが、本症例では病理組織検査の結果から、腫瘤による閉塞性黄疸と肝小葉の構造が崩壊したことによる肝細胞性黄疸の2種類が同時に発生しているものと推察された。また、完全閉塞により胆汁が腸管内に出されていない場合、便の色調は薄くなるが、本症例では茶色の便が確認されていることから、胆汁の一部が腸管内に流出していたと考えられ、腫瘤による閉塞は不完全であったと推察された(図17)。

考察

- ・本症例の特徴：黄疸が認められ、総胆管内部に腫瘤を形成
⇒過去の症例報告では黄疸が認められた事例は少なく、黄疸が認められた事例は、肝実質内の腫瘤による総胆管の圧迫による閉塞性黄疸の症例
- ・総胆管の内部に腫瘤があり、肝小葉構造は不明瞭
⇒閉塞性黄疸と肝細胞性黄疸が同時に発生
- ・完全閉塞による黄疸では便は薄くなるが本症例は茶色
⇒胆汁の一部は腸管内に流出しており、腫瘤による閉塞は不完全

図17

肺や肺門リンパ節・脾臓・第3胃など肝臓以外の臓器においても腫瘍細胞が認められたことから、これらは転移したものと推察された。胆管癌の転移の好発部位は肝実質内、リンパ節、腹膜、肺に転移しやすいとの報

告があり、今回の症例でも、肺とリンパ節は実質内に腫瘍細胞があり、脾臓と第3胃は漿膜面に存在していることから、腹膜からの播種であると考えられ、報告と同様に好発部位での転移であったことが確認された。中脳で確認されたリポフスチンの沈着については、肝機能の長期にわたる機能低下で認められる消耗性色素の沈着であることから、症状が認められる以前から胆管癌により肝機能の低下が継続していたことが推察された。今回の症例は、黄疸や総胆管内部に腫瘤が形成されるなど特徴的な所見が多く見られたが、発生時期や胆石・胆管炎などのその他の疾病が関与しているのかなど不明な点が多く、今後も知見を重ねていく必要があると考える。また、黄疸が見られた場合、多くは肝炎やレプトスピラ症などの疾患を疑い治療を行うが、今後は発生数は少ないが胆管癌などの腫瘍性の可能性についても考慮し、鑑別を行う必要があると考える(図18)。

<p>考察</p> <ul style="list-style-type: none">• 肺門リンパ節・肺・脾臓・第3胃に腫瘍細胞が転移 ⇒胆管癌の転移好発部位• 中脳でリポフスチン（消耗性色素）沈着が認められた ⇒長期にわたり胆管癌により肝機能が低下したことで出現• 黄疸が認められる際には、胆管癌など腫瘍による可能性を考慮する必要がある
--

図 18

10. 豚熱発生時に摘発された BVDV 持続感染を疑う豚の一症例

家畜衛生試験場

○銘苅 裕二 石井 圭子 ほか

中央家畜保健衛生所

荒木 美穂

八重山家畜保健衛生所

高木和香子

【はじめに】

牛ウイルス性下痢(BVD)は牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)により感染し、豚熱ウイルス(CSFV)と同じフラビウイルス科ペスチウイルス属のウイルスで、BVDV1～3型の3つの遺伝子型に大きく分類される。さらにBVDV1型は少なくとも20の亜型に分類される。牛に感染すると急性感染では一過性の発熱や下痢、呼吸器症状、流死産などの症状を示し、持続感染牛(PI牛)では発育不良や慢性下痢、肺炎などに罹患しやすいという特徴がある。一方、豚に感染するとほとんどの個体が不顕性感染を起こし、妊娠豚では繁殖障害を起こす。牛ではBVDVに対して免疫寛容となるため抗体が産生されず、ウイルスの排泄が一生続くPI牛が問題となっているが、豚での報告はない。

また、BVDVはCSFVと同じペスチウイルス属であるため、抗体検査(ELISAや中和試験)や抗原検査(FAやペスチウイルスRT-PCR)で交差反応を示す。ペスチウイルスRT-PCRではBVDVとCSFVの両方を検出するため、陽性の場合には制限酵素 *Bgl*I や *Pst*I を用いたRFLP法により識別するが、最終的に確定する場合は遺伝子解析が必要となる(図1)。

2020年1月、本県で豚熱(CSF)が発生し、特定家畜伝染病防疫指針に基づき沖縄本島中部地域の10戸12,381頭が防疫措置対象となった。発生状況確認検査が発生農場から半径10km圏内で実施される中、BVDV持続感染を疑う豚が摘発されたので、その症例を報告する。

【農場概要および発生状況】

当該農場はうるま市に位置する一貫経営の養豚場で、飼養頭数は155頭(種雌豚35頭、種雄豚20頭、子豚50頭、肥育豚50頭)である。1月13日にCSF発生状況確認検査を実施したところ、30頭中3頭のELISA陽性を確認したが、遺伝子検査は全て陰性だった。1月16日にELISA検査陽性に伴う再立入・再検査(病性鑑定①)を実施したが、発熱、呼吸器症状、重度の発育不

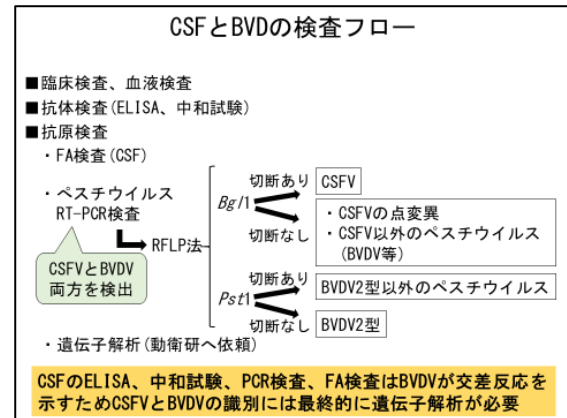


図1 CSFとBVDの検査フロー

農場概要および発生状況	
【当該農場】	沖縄県うるま市一貫経営の養豚場
【飼養頭数】	155頭(種雌豚35頭 種雄豚20頭 子豚50頭 肥育豚50頭)
【発生状況】	
1月13日	CSF発生状況確認検査 血液を採材(30頭) CSF-ELISA(+)3頭を確認
1月16日	CSF-ELISA(+)に伴う再立入 血液を採材(26頭)
病性鑑定①	異常豚(80日齢)確認→発熱、呼吸促進、重度の発育不良
1月17日	病性鑑定①の結果を受けて再立入 血液を採材(30頭)
病性鑑定②	異常豚(80日齢)2頭解剖

図2 農場概要および発生状況

良等を示す80日齢の異常豚を確認したので、詳細な検査を行うため1月17日に異常豚2頭の解剖と同居豚について病性鑑定②を実施した(図2)。

【病性鑑定①:材料および方法】

26頭のEDTA加血液と血清を用いて以下に示すとおりの方法で各種検査を行った。

- 1.白血球数測定(1万個/ μ l以下を陽性):EDTA加血液を用いて実施した。
- 2.遺伝子検査:血清を用いてペスチウイルスRT-PCRを実施した。陽性の場合、制限酵素 *Bgl*I を用いてRFLP法を実施した。

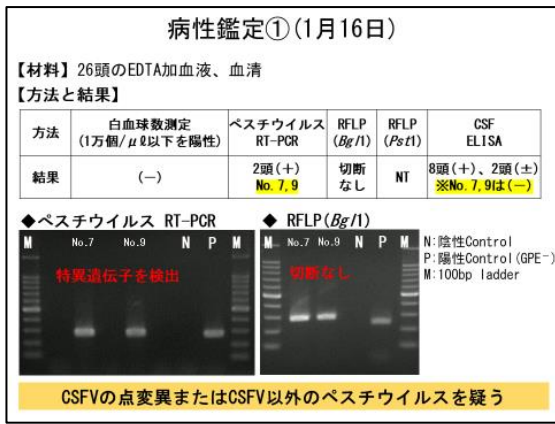


図 3 病性鑑定①の材料、方法および結果



図 4 病性鑑定②の材料、方法および結果

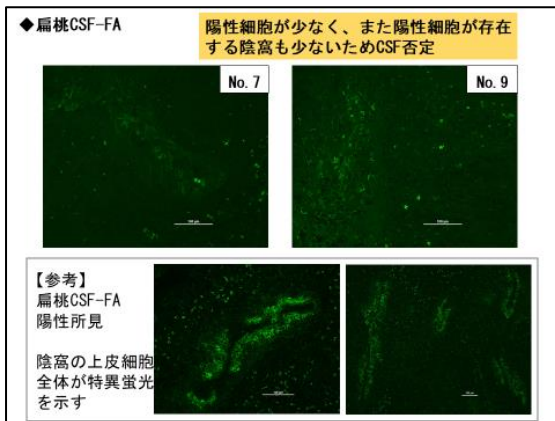


図 5 病性鑑定②の扁桃 CSF-FA 結果

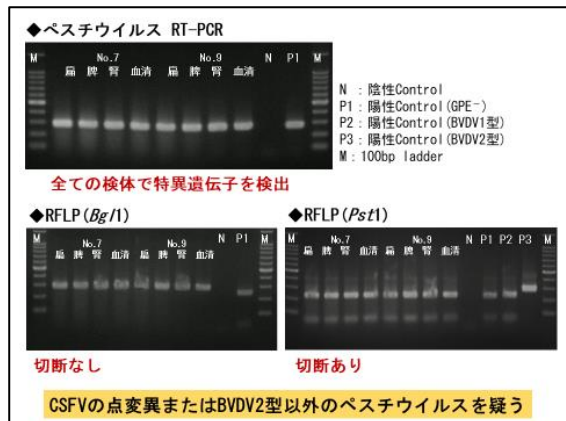


図 6 病性鑑定②の遺伝子検査結果

3.抗体検査:血清を用いてCSF-ELISAを実施した。

【病性鑑定①:結果】

- 白血球数測定:全て陰性であった。
- 遺伝子検査:発育不良の個体 No.7 と No.9 の EDTA 加血液からペステウイルス遺伝子を検出したが、RFLP 法では切断されなかった。
- 抗体検査:8 頭の陽性および 2 頭の疑陽性が確認されたが、個体 No.7 と No.9 は陰性であった(図 3)。

【病性鑑定②:材料および方法】

病性鑑定①でペステウイルス遺伝子を検出した 2 頭を解剖に供し、得られた材料と、同居豚 30 頭の EDTA 加血液および血清を用いて以下に示すとりの方法で各種検査を行った。

- 白血球数測定(1 万個/ μ l 以下を陽性):同居豚の EDTA 加血液を用いて実施した。
- FA 検査:解剖豚 2 頭の扁桃を用いて CSFV の FA を実施した。
- 遺伝子検査:解剖豚 2 頭の扁桃、脾臓、腎臓、血清(病性鑑定①で採材)、同居豚の血清を用いてペステウイルス陽性の場合、制限酵素 *Bgl*I および *Pst*I を用いて RFLP 法を実施した。

4.抗体検査:同居豚の血清を用いてCSF-ELISAを実施した。

5.病理学的検査:解剖豚 2 頭について定法に従って実施した。

【病性鑑定②:結果】

- 白血球数測定:1 頭陽性であった。
- FA 検査:陽性細胞が散見されたが CSF は否定的であった(図 5)。
- 遺伝子検査:解剖豚 2 頭の扁桃、脾臓、腎臓、血清からペステウイルス遺伝子を検出し、RFLP 法は *Bgl*I で切断されず、*Pst*I で切断された。また、同居豚の血清からペステウイルス遺伝子は検出されなかった(図 6)。
- 抗体検査:3 頭の陽性が確認された。
- 病理学的検査:解剖豚 2 頭の共通所見として、化膿性気管支肺炎、腎異形成、脾臓の髄外造血、扁桃の陰窩膿瘍、免疫組織化学的染色(IHC)で肺胞腔内マクロファージが PRRSV 陽性であった(図 7)。

【遺伝子解析:材料および方法】

解剖豚 2 頭の扁桃由来 RNA を用いて、ペステウイルス 5' UTR 領域を標的とした RT-PCR 法およびダイ

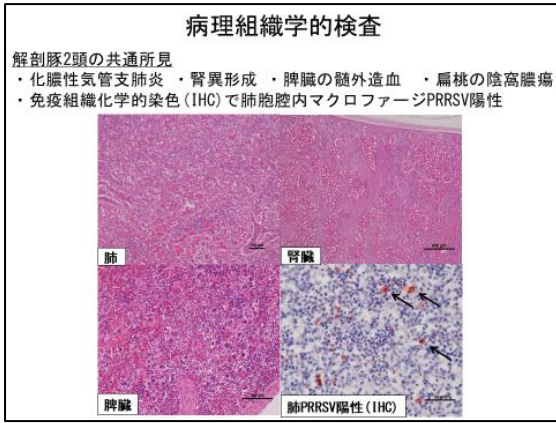


図7 病鑑②の病理組織学的検査結果

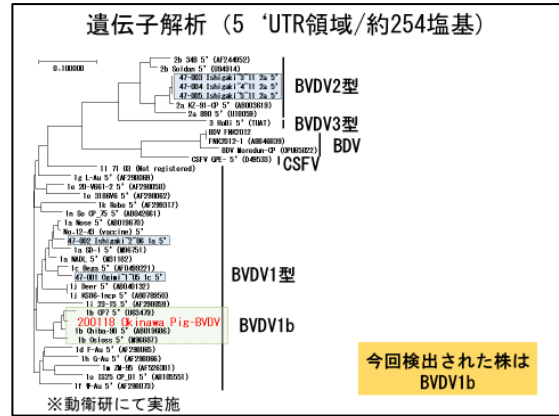


図8 遺伝子解析結果

CSFおよびBVD中和試験

No.	血清	ベスタチンPCR	CSF ELISA	CSFV抗体価		BVDV抗体価	
				1型	2型	1型	2型
2	-	+	+	2	64	4	
23	-	+	<2		64	4	
24	-	+	4	256	8		
1	-	+	<2		16	4	
2	-	+	<2		16	<2	
3	-	+	<2		16	4	
4	-	+	<2		2	<2	
5	-	+	<2		4	<2	
7	+	+	<2	<2	<2	<2	
8	-	+	<2	256	32		
9	+	+	<2	<2	<2	<2	
10	-	+	<2	256	8		
11	-	+	<2	512	4		
12	-	+	2	256	16		
19	-	+	2	64	4		
13	-	+	8	256	16		
17	-	+	2	256	32		
18	-	+	4	512	32		

【材料】発生状況確認検査や病性鑑定でELISA(+)または(±)の血清(計16頭)と解剖豚2頭の血清

【結果】解剖豚2頭の血清(No. 7, 9)はBVDV抗体(-)

同居豚はBVDV抗体を保有し、1型の方が高値(2~512倍)

本事例はBVDV1型 持続感染疑いと診断

(2週間後の検査未実施なので疑い)

同一豚房内で飼養

図9 CSF および BVD 中和試験

BVD関連農場(牛)の疫学調査

【調査時期】2021年12月

【対象農場の概要】

- 牛12頭(母牛8頭、育成牛2頭、子牛2頭)を飼養する肉用牛繁殖農場
- 豚のBVD発生農場に隣接し、飼養者は過去に農場間の往来あり
- 母牛はBVDワクチン未接種
- 数年前に母牛1頭を廃用

血清No.	BVDV抗体価	
	1型	2型
1	1024	64
2	<2	<2
3	4096	16
4	<2	<2
5	<2	<2
6	1024	32
7	<2	<2
8	<2	<2

【材料】母牛8頭の血清

【方法】ベスタチウイルスRT-PCR BVDVの中和試験

【結果】ベスタチウイルスRT-PCR(-) 3頭が抗体保有

現在は感染個体やPI牛はいないが、過去に農場へBVDVが侵入・廃用牛がPI牛かどうかは不明

図10 BVD 関連農場(牛)の疫学調査

レクトシーケンス法により遺伝子解析を実施した。

【遺伝子解析:結果】

ベスタチウイルス5'UTRの部分配列(約254bp)について系統樹解析を実施した結果、BVDV1-bであることが判明した(図8)。

【CSFV および BVDV の中和試験】

発生状況確認検査や病性鑑定①、②でCSF-ELISA陽性または疑陽性の血清16検体と解剖豚の血清2検体を用いてCSFVおよびBVDVの中和試験を実施したところ、解剖豚の血清はBVDV抗体陰性であった。また、その他の同居豚はBVDV抗体を保有し、中和抗体価はBVDV1型が高値であった(図9)。

【BVDV 関連農場(牛)の疫学調査】

対象農場は牛12頭(母牛8頭、育成牛2頭、子牛2頭)を飼養する肉用牛繁殖農場で、豚のBVD発生農場に隣接し、飼養者は過去に農場間の往来があった。また、母牛へのBVDVワクチンは未接種であり、数年前に母牛1頭を廃用している。BVDVの抗原および抗体検査成績を調査するために、母牛8頭の血清を用いてベスタチウイルスRT-PCRおよびBVDVの中和試験を実施した。その結果、ベスタチウイルス遺伝子は検出されな

沖縄本島の豚におけるBVDV浸潤状況調査

【調査時期】2020年1~4月

【材料】血清66検体(18戸)
CSF発生時に採材した7,302検体(104戸)のうちCSF-ELISA(+)または(±)を示したものを
※最終的にCSFは否定

【方法】BVDVの中和試験

【結果】40検体(4戸)が抗体保有(抗体保有率0.9%)
BVDV1型:2~1024倍(GM値69.8)
BVDV2型:2倍未満~64倍(GM値6.8)

県内の一部の養豚場においてもBVDVが浸潤していることを確認

図11 沖縄本島の豚におけるBVDV浸潤状況調査

ったが3頭がBVDV抗体を保有していた(図10)。

【沖縄本島の豚におけるBVDV浸潤状況調査】

沖縄本島の豚におけるBVDV浸潤状況を把握するために、CSF発生に伴い採材した血清7,302検体の内、ELISA陽性および疑陽性を示し、CSFが否定された66検体についてBVDVの中和試験を実施した。その結果、40検体がBVDV抗体の保有が確認された(図11)。

【まとめと考察】

解剖豚の血清、扁桃、脾臓、腎臓からペスチウイルス遺伝子を検出し、遺伝子解析の結果、BVDV-1b だと判明した。また、解剖豚は BVDV 遺伝子陽性および抗体陰性のため、BVDV1 型持続感染疑いと診断した。同居豚は BVDV 遺伝子陰性であるが抗体を保有していたことから、解剖豚がウイルスを持続的に排出し、豚群が感染したと考えられた。

病理学的検査結果より、解剖豚 2 頭の共通所見として、化膿性気管支肺炎、腎異形成、脾臓の髄外造血、扁桃の陰窩膿瘍、IHC で肺胞腔内マクロファージが PRRSV 陽性であることが確認されたが、BVDV 持続感染豚の報告は無いため、今回の結果が特徴的所見かは不明であった。

BVDV 関連農場の疫学調査では、当該農場に隣接した肉用牛繁殖農場は BVDV ワクチン未接種農場であるが、3 頭の母牛において BVDV 抗体を保有し、母牛全頭においてペスチウイルス遺伝子の検出がなかったことから、現在は農場に感染個体や PI 牛はいないが、過去に農場へ BVDV の侵入があったことが確認された。また、廃用した母牛が PI 牛かは不明であった。これらのことから、当該農場の関係者が牛を飼養し、過去に農場間の往来があったことが当該農場へのウイルス侵入の一因と推察された。

病性鑑定および浸潤状況調査より、県内の養豚場で BVDV の侵入が確認されていることから、今後も CSF 検査時は BVDV 感染の可能性も念頭におき鑑別することが重要である(図 12)。

まとめと考察

- 解剖豚の血清・扁桃・脾臓・腎臓からペスチウイルス遺伝子を検出
→遺伝子解析の結果、BVDV1bと判明
- 解剖豚はBVDV遺伝子(+)・抗体(-)
→BVDV1型持続感染疑いと診断
- 同居豚はBVDV遺伝子(-)・抗体(+)
→解剖豚がウイルスを持続的に排出し豚群に感染したと推察
- BVDV持続感染豚の病態については報告がなく、今回の病理所見が特徴的なのか不明
- 当該農場の関係者が牛を飼養しており、過去の農場間の往来がウイルス侵入の一因と推察
- 病性鑑定および浸潤状況調査より県内の養豚場でBVDV侵入を確認
→CSF検査時はBVDV感染の可能性も念頭におき鑑別が重要

図 12 まとめと考察

11. 複数の採卵鶏農場で発生した尿石症

中家畜保健衛生所
 ○荒木 美穂
 家畜衛生試験場
 渡嘉敷 美波

鶏の尿石症は、尿酸塩などを含む結石が尿管や腎臓に貯留する疾病で、一般に成鶏で多く認められる。発症鶏群では死亡率が増加し、産卵率の低下がみられる。原因はさまざまで、多病因性の疾病とされ、飼料中の過剰なカルシウムや蛋白質、ビタミンA欠乏症、重炭酸ナトリウムによる治療、マイコトキシン、また感染性の要因では腎病原性の伝染性気管支炎 (IB) が原因となることもある。

今回、複数の採卵鶏農場で尿石症が発生し、病性鑑定を実施したのでその概要を報告する。

【発生概要】

令和2年2月頃から当家保管内の3農場で、同時期に同様の発生があった。稟告は成鶏舎に移動後150日齢頃から死亡羽数が増加、特にジュリアライトで顕著に増加するとのことであった。発症鶏の症状は、発育不良、鶏冠が小さく退色、活力低下し斃死するというものであった。

発生農場の概要と検査状況について表1に示す。3農場A、B、Cの合計9ロット62羽について、病性鑑定を実施した。3農場とも雛の導入元が同じであり、育成用及び成鶏用飼料は同一のものを給与していた。

表1

発生概要：各農場の検査状況

農場	鶏種*	飼養羽数	日齢	検体数	備考
A	JR	成鶏34,000	176	死体21生体4	BBでは死亡増加なし
	BB	育成12,500	132	死体5	
B	JR	成鶏28,000	292,391	死体3生体5	BBでは死亡増加なし
	BB	育成5,000	214,314	死体3生体5	
C	JR	成鶏23,000	314	死体1生体1	BBでは死亡増加なし
		育成5,000	265	死体1生体1	
	BB	209	死体1生体1		
		146	生体5		
		90	生体5		

雛導入元、育成用及び成鶏用飼料ともすべて同一

*JR：ジュリアライト BB：ポリスブラウン

対照として、発生農場と同一の飼料を給与していた3農場D、E、F、及び別の飼料を給与していた2農場G、Hについて、同様に病性鑑定を実施した。農場Dは成鶏用のみ別の飼料、農場E、Fは中すう用を給与した後、大すう用は給与せず成鶏用飼料へ移行していた。(表2)

表2

対照農場：参考検査

農場	鶏種	飼養羽数	日齢	検体数	給与飼料		
					幼中雛用	大雛用	成鶏用
D	JR	成鶏55,000	401	死体3	○	○	
	BB	育成18,000					
E	JR	成鶏8,000	217	死体3	○		○
		育成3,000					
F	JR	成鶏7,000	260	生体2	○		○
		育成3,000		400			
G	JR	成鶏70,000	191	生体2			
		育成20,000	244	生体2			
			307	生体2			
H	JR	成鶏95,000	401	死体3			

【材料と方法】

1. 病理解剖 死体及び生体について体重測定、病理解剖を行い、尿石の有無について確認した。
2. ウイルス及び細菌検査 腎臓、気管のIBV RT-PCR、70日齢育成成鶏のIBV抗体検査を実施した。また解剖鶏の主要6臓器について、羊血液寒天培地で37℃、好気培養を行った。
3. 病理組織検査 定法に基づきヘマトキシリンエオジン染色を実施し、一部検体の腎、気管及び卵管について抗IBV抗体による免疫組織化学的染色を実施した。
4. 生化学検査 血清の生化学検査はドライケミストリー法により実施した。また結石の成分同定は Hawk-Oser-Summerson 法の齋藤変法により実施した。
5. 聞き取り調査 給与飼料などの飼養状況、死亡羽数の推移について実施した。(表3)

表3

材料と方法

1. 病理解剖 死体・生体（発症鶏）
体重測定、尿石の有無について確認
2. ウイルス及び細菌検査 IBV RT-PCR(primer:IBV-S1/IBV-S2)/腎、気管
育成鶏（70日齢）IBV抗体検査（中和）
細菌分離培養（血液寒天培地、好気、1day）/主要6臓器
3. 病理組織検査 ヘマトキシリンエオジン染色
一部で免疫組織化学的染色（抗IBV抗体）/腎、気管、卵管
4. 生化学検査 ドライケミストリー法/血清
Hawk-Oser-Summerson法の齋藤変法/生材結石
5. 聞き取り調査 給与飼料など飼養状況、死亡羽数

【結果】

1. 病理解剖(図1) 死体及び生体の多くの個体で、尿管の拡張、尿管内の結石・塞栓、腎臓の萎縮・消失または代償性腫大がみられ、卵巣は未発達であった。一部の個体では肝臓や腸間膜、心臓への石灰沈着がみられた。

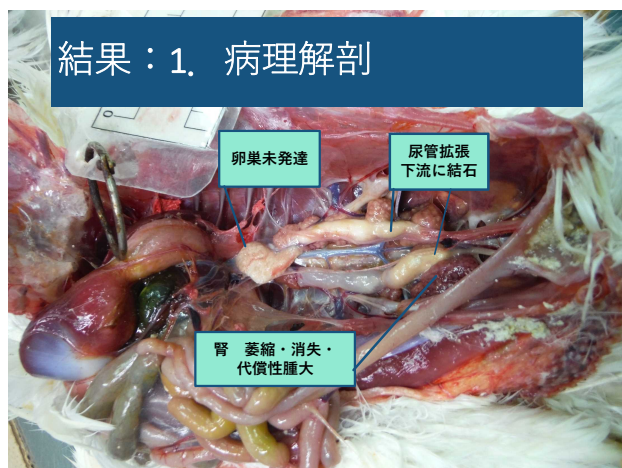


図1

発生農場3戸では62羽中53羽、同一飼料給与農場3戸では9羽中8羽で尿石症が確認された。一方、別飼料給与農場2戸では、尿石症が確認されたのは9羽中1羽であった。また、発生農場及び同一飼料給与農場のほぼすべての個体で、日齢に応じた体重に発育しておらず、推奨体重を下回っていた。(図2)

結果：1. 病理解剖

- 尿結石を確認
発生農場3戸 53/62
同一飼料3戸 8/9
別飼料2戸 1/9

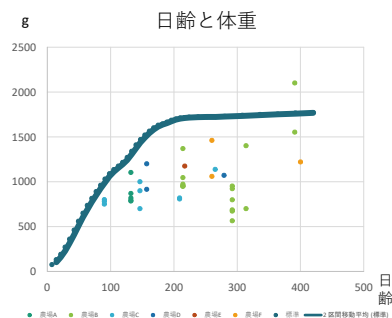


図2

- 削瘦、低体重

2. ウイルス及び細菌検査 ウイルス検査では、すべての農場でIBV RT-PCR陰性であった。農場A、Cの70日齢育成鶏のIBV抗体検査では、抗体価は低値であり、野外感染は確認されなかった。また、細菌検査では、主要臓器から有意菌分離陰性であった。(表4)

表4

結果：2. ウイルス及び細菌検査

- IBV RT-PCR陰性
- IBV抗体検査(70日齢) (農場A,C)
50日齢までの野外感染なし

農場	日齢	IB			
		ON	C78	MI	S95
A	70	1.5	1.0	<0.5	<0.5
C	70	1.5	<0.5	<0.5	<0.5

(日生研実施)

- 細菌検査 有意菌分離陰性

3. 病理組織検査 (図2) (左上)腎臓に針状結晶物が放射状に沈着する痛風結節がみられ、尿細管は拡張し管腔内に好酸性物質の貯留、間質への炎症細胞浸潤がみられた。(右上)尿管や集合管が拡張し、管腔内に結石が確認された。(左下)心臓では、心外膜の水腫、尿酸塩沈着がみられ、心筋間にリンパ球の浸潤がみられた。(右下)脾臓で痛風結節がみられた個体が少数確認された。

表5に病理組織所見をまとめた。90日齢の育成鶏で尿細管上皮の変性、石灰沈着が確認された。また、抗IBV抗体を用いた免疫組織化学的染色は陰性であった。

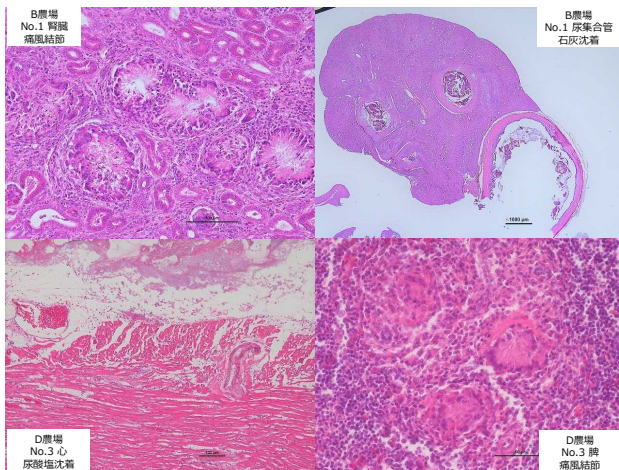


図2

表5

結果：3. 病理組織検査

- 腎尿細管、集合管、尿管腔内や上皮に好塩基性物や針状結晶物の沈着、炎症細胞浸潤
- 尿管径の拡張、尿管腔内に好酸性の泡沫状物の貯留、間質の線維化
- 糸球体の腫大
- 全身性尿酸塩沈着症（内臓痛風）
- 90日齢で尿管上皮の変性・石灰沈着**
- 抗IBV抗体 免疫組織化学的染色
気管、腎臓、卵管など **陰性**

4. 生化学検査 血清生化学検査では、尿石症の際変動があるとされる、尿酸、カルシウム、リンを検査項目に選び、各農場各ロットの平均値を示した。(表6)

カルシウムとリンは概ね正常値の範囲内であったが、尿酸値で基準値を超える値が認められた(13.93~38.62mg/dl以上)。

表6

結果：4. 生化学検査

血清生化学検査 平均値：発症鶏

農場	鶏種	羽数	日齢	UA	Ca mg/dl	IP	結石 (%)
B	JR	5	214	38.62	14.3	5.7	100
		5	292	18.12	16.98	2.32	100
	JR	3	90	4.47	10.23	6.27	0
		3	146	13.93	12.17	3.97	67
C	JR	1	209	20≦	13.6	3.4	100
		1	265	10.6	13.7	1.5	100
		1	314	20≦	20≦	3	100
	BB	2	90	3.05	10.9	7.2	0
		2	146	4.1	12.15	3.8	0
	F	JR	2	260	14.25	16.5	3.4
産卵期基準値*				3.71-8.1	14.61-43.0	3.2-11.78	

* 鶏病研究会報52巻第4号

尿石成分の同定について、Hawk-Oser Summerson法齋藤変法により実施したところ、尿酸と判定した。しかしながら、同一検体について試験を繰り返し行ったところ、粉末の一部分について、フィブリンと判定され、尿路結石成分はフィブリンを含む尿酸と同定された。(表7)

表7

結果：4. 生化学検査

Hawk-Oser Summerson法の齋藤変法

①	②	③	④	
結晶を白濁させ、炎を加す	結晶を水で洗った後、炎を加す	結晶の色が白色になる	結晶の色が赤くなる	尿酸性尿酸結石
				フィブリン
				システイン
				尿酸アンモニウム
				尿酸
				キサンチン



① ② ③ ④ ⑤
尿路結石成分は**フィブリン**を含む**尿酸**

5. 聞き取り調査 発生農場では死亡羽数が増加し始めた令和2年2月の3ヵ月前、令和元年11月に給与飼料の設計変更があったことが判明した。その後、令和2年5月にもう一度設計変更があった。表8は、幼すう用、中すう用、大すう用、成鶏前期用飼料の粗蛋白質(CP)含有率を示した。

平成29年5月設計の飼料と比較すると、令和元年11月の設計で大すう用のCP含量が14.5%から9.5%に減少していた。令和2年5月の設計でも11.0%であり、飼養管理ガイド等と比較すると、CPがかなり不足していると考えられた。

表8

結果：5. 聞き取り調査

死亡羽数増加前に、給与飼料の設計変更

給与時期	給与飼料				JR ガイド	BB ガイド	飼養標準	公定規格
	H29.5	R1.11	R2.5	*				
幼すう	19.5	19.0	19.0	20.0	18.3	19.0	18.5	
中すう	16.0	16.0	16.0	18.5	17.5	16.0	15.5	
大すう	14.5	9.5	11.0	14.5	16.0	13.0	12.5	
成鶏前期	15.5	14.5	14.5	18.5	17.0	15.5	14.5	
ブレイヤー				17.5	16.5			

* ゲンコーポレーション
ジュリアライト・ポリスブラウン 飼養管理ガイドより

そこで、令和2年5月設計の大すう用及び成鶏前期用飼料について飼料分析を行った。その結果、CPは大すう用で飼養標準の75%、成鶏前期用で飼養標準の95%と低値で、さらに当該飼料の表示票および公定規格よりも低いことが判明した。また、カルシウムは大すう用で飼養標準の180%、成鶏前期用で飼養標準の156%と高値であり、当該飼料の表示票および公定規格よりもかなり高いことが判明した。(表9)

表9

給与飼料成分分析

R2年5月大すう用、成鶏前期用飼料について分析 (%)

飼料区分	成分名	表示票	分析値	飼養標準	公定規格
大すう用	粗蛋白質 (CP)	11.0	9.8	13.0	12.5
	Ca	0.75	1.08	0.60	0.55
	P	0.50	0.36	0.30	0.45
成鶏前期用	粗蛋白質 (CP)	14.5	13.6	15.5	14.5
	Ca	2.6	4.75	3.33	2.7
	P	0.4	0.47	0.30	0.5

(十勝農業協同組合連合会農産化学研究所実施)

CP：飼養標準の75%、95% 表示票・公定規格より低い
Ca：飼養標準の180%、156% 表示票・公定規格よりかなり高い
P：ほぼ適正值

次に各農場の死亡率について調査した(図3)。発生農場A,B,Cでは、低CP飼料給与ロットで死亡率が増加していた。給与飼料を変更した後のロット(標準飼料給与ロット)では通常の死亡率に戻っていた。また同一飼料を給与していた農場Dについても、聞き取り調査の結果、低CP飼料給与ロットで、特にジュリアライトの死亡率が増加していたことが判明した。

結果：5. 聞き取り調査

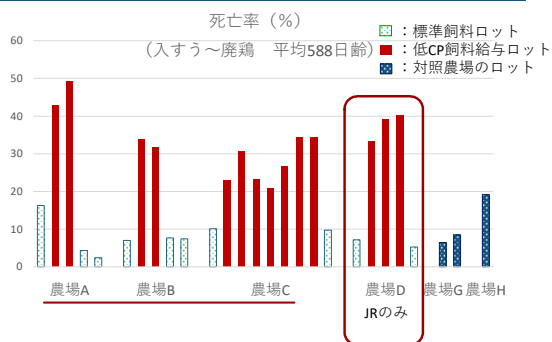


図3

6. 追加調査① 発生農場4戸(A、B、C、D)の発症ロット各1ロット、別飼料を給与する対照農場2戸(G、H)各1ロット、計6ロットについて、廃鶏出荷時に100羽ずつ病理解剖を実施し、尿石症の発生頻度を比較した。その結果、発症ロットのジュリアライトで結石陽性率が高く、ポリスブラウンでは低い陽性率であった。別飼料を給与していた対照農場G,Hでは陽性率は低く、発生農場と対照農場のジュリアライトでの結石陽性率は、発生農場で有意に高い結果となった(P値<0.05)。(表10)

表10

追加調査：廃鶏病理解剖

・発生農場及び対照農場の廃鶏 病理解剖

農場	鶏種	日齢	解剖羽数	結石陽性率(%)
A	JR	602	100	22
	JR		50	30
B	BB	567	50	0
	BB		50	0
C	JR	560	50	10
	BB		50	0
D	JR	567	50	8
	BB		50	2
対照農場				
G	JR	647	100	3
H	So*	714	100	0

発生農場：対照農場 (JR) 陽性率=18.4%：3% (P値<0.05) *So：ソニア

また、追加調査②として、廃鶏出荷時の食鳥検査結果について調査した。尿石症と関連する項目として、炎症が原因で全部廃棄となった個体数を調査項目とした。

その結果、農場A,B,Cで炎症による全部廃棄の発生率が高くなっていった(図4)。炎症と判断された個体の中に、尿管拡張・尿管結石の個体が含まれており、星印のロットについては、食鳥検査員によりこれらの病変が確認されている。

追加調査：食鳥検査

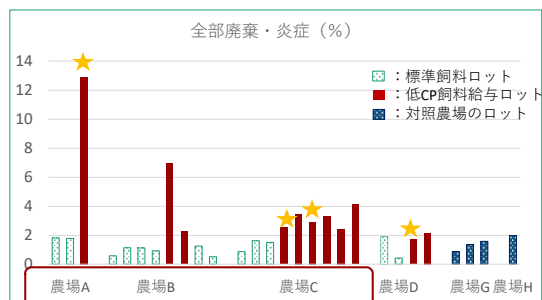


図4

【まとめ】

令和2年2月以降、同一飼料利用農場4戸で尿石症による死亡羽数が増加した。病性鑑定の結果、IB等感染性要因は検出されなかった。一方、飼料の設計変更に伴い発生したことがわかり、飼料分析の結果、大すう用飼料のCPの不足、大すう用・成鶏用飼料のCaの過剰が確認された。発生鶏群は、廃鶏時まで死亡率が高く、尿石症が高率に確認された。

【考察】

鶏の尿石症は複数の要因で発生すると考えられる。本症例は飼料の設計変更による大すう用飼料中の粗蛋白質(CP)の不足が要因となり、育成鶏の発育不良→繁殖機能が未発達なまま成鶏用飼料を給与開始→カルシウム過剰により尿石症を発症した、と考えられた。一方、大すう用飼料未給与の農場E、Fでも尿石症が確認されたこと、90日齢の育成鶏で尿石症の前駆症状と思われる病変が確認されたことから、幼すう用・中すう用飼料も尿石症発生の要因になった可能性が考えられた。

今回の尿石症は、同一飼料を給与した北部家保管内の農場でも発生しており、飼料が要因となる大規模な発生となった。このような被害を予防し、発生時には早急な原因究明ができるよう、飼料安全法に基づく飼料の栄養成分に関する検査の必要性を再確認した。

