九州で発生した鶏封入体肝炎の疫学

山田進二* 上川慎一* 内布洋一* 香月伸彦* 松尾和夫*

福田輝俊* 木下 且** 島松亀久雄***

(昭和 52 年 6 月 7 日受付)

Epizootiology of Avian Inclusion Body Hepatitis Found in Kyushu

SHINJI YAMADA et al. (Chemo-Serotherapeutic Institute, Inc., Kumamoto, et al.)

SUMMARY

In Fukuoka Prefecture inclusion body hepatitis (IBH) broke out exclusively among chicks originated from Hatchery R. It became under control when no chicks were introduced from this hatchery. Then it broke out among chicks derived from a flock of breeding hens in Area S of Saga Prefecture. These hens presented no changes in the rate of laying, fertilized eggs, or hatchability of eggs, as compared with others of the same breed. They were positive

for adenovirus antibody (AA) and negative for antibody against the virus of disease of the bursa of Fabricius (AF). The chicks originated from them were positive for AA and AF in flocks involved in the outbreak, and positive or negative for AA and negative for AF in flocks free from IBH.

It was clarified that chicks originated from breeding hens possessing no AF suffered from IBH when infected with the two viruses mentioned above.

鶏封入体肝炎 (IBH と略す) は 1963 年 HELMBOLDT and FRAZIER⁶⁾ によりはじめて記載されたが、その後世界各地で報告^{1-4,9,11-13,16,17,23)} され、本病の病原はアデノウイルスであることが見出された。しかし分離されたアデノウイルスは実験的に IBH の好発日齢のひなを発病させることができず^{2,13)}、介卵感染の有無が論じられた。最近疫学的研究の結果、鶏伝染性ファブリキウス嚢病 (F 嚢病と略す) の抗体のない種鶏由来ひなで IBH の発生していることが明らかにされ¹³⁾、また実験的にも F 嚢病ウイルスの感染と IBH の発病には関係のあることが報告³⁾ された。

わが国において IBH の発生が報告^{5,8,10,14,15,20,22)} されるようになってきた。

著者ら²⁰⁾ はすでに IBH 発生例からアデノウイルスを分離し、その病原的意義について検討しているが、今回は IBH の発生状況を疫学的に検討したので、その成績を報告する。

材料および方法

ウイルス：アデノウイルスは 1974 年福岡県で発生した IBH から分離した FI-74 株、また F 嚢病ウイルスは家畜衛生試験場鶏病支場から分与をうけた J₁ 株を用

* 化学及血清療法研究所 (熊本市清水町大窪 668)

** 福岡県筑後家畜保健衛生所 (福岡県筑後市大字和泉九郎地山)

*** 佐賀県中部家畜保健衛生所 (佐賀市高木瀬町高木二本杉)

いた。

細胞培養：1～7 日齢の SPF ひなの腎を Youngner の方法²⁴⁾ に準じて培養した。増殖用培地は YLE に牛血清 10%、ペニシリン 100 ug/ml およびストレプトマイシン 100 ug/ml を加えたものを、また維持培地には牛血清を 2% に減じたものを使用した。

アデノウイルス抗原：鶏腎細胞 (CK と略す) にウイルス 10^{4.5} T_{ICD} 50/シャーレを接種し 24～48 時間目に上清を捨て、pH 7.2 の磷酸緩衝液 (以下 PBS と略す) で細胞を 3 回洗浄した。シャーレに 0.2 ml の PBS を加えて細胞層をかきとり、これを超音波処理し 3,000 rpm で 15 分間遠心沈殿した上清を抗原とした。

F 嚢病抗原：SPF ひな 6 週齢のものに経口的に F 嚢病ウイルス J₁ 株の 10^{3.0} EID 50/羽を接種し 4 日目に殺処分し、ファブリキウス嚢を採取する。このファブリキウス嚢を PBS で 50% 乳剤とする。凍結融解を 3 回くり返し、7,000 rpm 20 分間遠心沈殿し、その上清を抗原とした。

ゲル内沈降反応：反応用寒天は M/15 の Na₂HPO₄ および KH₂PO₄ で作成した pH 7.4 の PBS で、これに NaCl 8.0% および Bact agar (Difco 製) を 1% になるように加えて溶解し、pH は 7.4 に修正した。反応はスライドグラス上で行ない、上記寒天液を溶解した後 5 ml をスライドグラス上に流して凝固させた。その後直径 3.0 mm の穴をあけ、これを中心に 6.0 mm の間隔になるように 3.0 mm の穴をあけた。中心に抗原を、周辺部に血清を 1 滴滴下し、37℃ で反応が行なわれた。

判定は3日目に行ない、沈降線の出現したものは陽性、認められないものは陰性とした。なお試験ごとに陰性と陽性の対照血清をおいた。

IBHの診断法：発生は35～70日齢時で、臨床的に突然の死亡数の増加、元気消失、被毛逆立、食欲減退、下痢、貧血、黄疸などの症状が観察されたときIBHと診断した。剖検では皮下および筋肉内出血、肝の脆弱化、脂肪化、腫脹および出血、腎の退色、腫脹および出血、ファブリキウス囊の萎縮、骨髄の脂肪化などがみられた。組織学的には肝の変性、出血、肝細胞核内に好酸および好塩基性の封入体の形成、間質の円形細胞の集簇、胆管上皮細胞の腫大・増殖、脾では汚胞の変性および硝子様化などであった。

成 績

1. 福岡県下での発生と疫学的観察

福岡県下のM地区はブロイラー飼育地で、各地からブロイラーひなを導入し飼育していた。1974年2～5月に数種類の系統のひなを飼育している農場において、特定の導入ひなにのみIBHが発生した。導入ひなはRふ化場由来ひなであったので、Rふ化場由来ひなの配布先の発生状況について調査を行なった。Rふ化場からのひなの配布農場は45カ所で、それらの農場におけるIBHの発生状況は表1に示すとおりで、45農場中18農場(40.0%)、群別では94群中23群(24.5%)に本症が発生した。また配布農場における配布回数別発生状況をみると10、13、18および33の農場のように3回以上配布されているIBHが発生しなかった農場、あるいは1～3回配布ですべて発生した5、29、31および32の農場が認められた。本症の死亡淘汰率は2～24%で、この地域全体としては約100,000羽導入し、このうち約10,000羽に発病があった。

Rふ化場は直営の農場に飼育されている3群の種鶏から種卵を集め、ふ化後M地区の農場に配布されていた。IBHの発生した期間ひなは39回ふ化され、1回のふ化で1～5カ所の農場に配布を行ない、IBHの発生は1回のふ化ひなを1カ所にのみ配布された場合では11回中1回、2カ所に配布された場合では10回中4回、3カ所配布された場合では11回中8回、4カ所に配布された場合では5回中3回、および5カ所に配布された場合では2回中2回認められた。このような成績からRふ化場由来ひなの配布を中止したところ、この地区においてIBHの発生は認められなくなった。

2. 佐賀県下での発生と疫学的観察

佐賀県下のS地区において1975年2～6月にブロイラーにIBHが発生した。前項で述べたごとく、この地区におけるIBHも特定の1種鶏農場由来ひなに発生していることが確認された。そこでこの農場において1976

表1 Rふ化場由来ひなのIBHの発生状況

農場番号	ひな配布回数	発生回数	発生群の死亡率 ¹⁾ (%)
1	4	2	5, 5
2	3	1	23
3	2	0	
4	2	1	14
5	3	3	3, 24, 4
6, 7, 8	2, 3, 3	0	
9	6	1	13
10, 11	4, 2	0	
12	2	1	18
13, 14	3, 2	0	
15	3	1	16
16	2	1	2
17	3	2	17, 20
18	3	0	
19	2	1	10
20, 21	2, 2	0	
22	2	1	10
23	2	1	6
24	2	1	5
25	2	1	10
26, 27	2, 2	0	
28	3	1	3
29	2	2	11, 6
30	2	0	
31	1	1	6
32	1	1	8
33	3	0	
34～45	12 (各1回)	0	
計 45	94	23	

¹⁾ 淘汰も含む

年に使用する種鶏候補鶏(K-4群)について、1975年末鶏日齢114日齢時から観察をはじめた。

K-4種鶏群の産卵率、受精率、ふ化率およびふ化したひなのIBHの発生状況は図1に示すとおりである。産卵率は196日齢時49.8%であったが、224日齢時には84.3%の最高となり以後次第に下降し、330日齢時には61.8%になった。また受精率は230～280日齢時には89.8～93.5%の範囲内に、またふ化率は260～300日齢時に80.6～90.5%の範囲内にあった。またK-4群由来ふ化ひなのIBHの発生状況が、ふ化をはじめた初回から47回目までのうち27ふ化群について検討された。IBHの発生したふ化群は3、5～7、12、21、32、34、36および39回目の13群(29.8%)であった。IBHが発生した13群の発病率は6.3～36.2%を示した。農場における配布回数とIBH発生の状況をみると、配布回数が3回あっても、全く発生しない農場、また2～4回配布して全回IBHが発生した農場とが認められ、配布先の農場によってかなりの差が認められ

図1 K-4 種鶏群の産卵率、受精率、およびふ化率とふ化ひなの IBH 発生状況

た。以上のごとく IBH の発生と種鶏の産卵率、受精率およびふ化率とは相関関係はなかった。

K-4 種鶏群について 114 日から 447 日齢時まで抗体の変動とふ化ひなの IBH の発生状況について関係があるかを検討した。その成績は図2に示すとおりである。アデノウイルスの抗体は 114 日齢時 45% の陽性率であったものが、146 日齢時には 100% に上昇し、その後急速に下降し、182 日齢以降は 20% ないしそれ以下となった。その後 447 日齢時に測定したところアデノウイルス抗体は 50% の陽性率を示した。いっぽう F 囊病ウイルスの抗体を測定したところ 114~271 日齢時まで陰性、さらに 447 日齢の測定においても陰性の成績が得られた。またアデノおよび F 囊病ウイルス抗体陽性率の変動と、IBH 発生の状況とはとくに相関関係は認められなかった。

つぎに配布先農場における K-4 群由来ひなのアデノおよび F 囊病ウイルスに対する抗体保有の状況が検討された。その成績は表2に示すとおりである。IBH の発生した5農場においては 40~54 日齢時に、また一部の

図2 K-4 種鶏群のアデノおよび伝染性ファブリキウス囊病ウイルス抗体の推移とふ化ひなの IBH 発生状況

ものでは 65 日齢時に再度抗体が、それぞれ 4~20 例のひなについて検討された。アデノウイルス抗体は初回検査で 10.5~50.0%，また 65 日齢時の 2 回目測定時には 68.4~75.0% の陽性率を示した。F 囊病ウイルス抗体は初回検査で 75.0~100.0% のものに、2 回目では 90.0~100.0% のものに検出された。いっぽう IBH の発生しなかった3群では 30~39 日齢時にはアデノウイルス抗体が陰性であったが、58~67 日齢時には3群中2群で抗体陽性となった。F 囊病ウイルス抗体は3群ともに陽転しなかった。

考 察

IBH 発生の疫学的検討についてはすでにいくつかの報告^{5,12,16)}がある。IBH は春から夏期に多く^{1,5,16)}、5 週齢前後から発生し、その死亡率は 7.0~30.0%^{2~6,9,16)}と報告されている。今回の福岡県例のものではさきの報告と同様の成績が得られた。

今回福岡県M地区で発生した IBH について疫学的に検討したところ、R 化場由来ひなに限定して発生がみられ、このふ化場からのひなの導入配布をとりやめたところ、この地区内での IBH の発生は終息した。このことから IBH は特定の種鶏群由来ひなに発生する病気であることがわかった。このことはすでに別の観点から観察された報告^{2,18)}と一致した。

佐賀県S地区で、ふ化ひなに IBH の発生を認めた種鶏について、種鶏としての能力を検討したところ、IBH に罹患したひな群がふ化した前後の産卵率、受精率およびふ化率は、この種鶏で得られている標準値とほとんどかわらず、とくに異常は認められなかった。またこの

表2 配布ひなの IBH 発生とアデノおよび伝染性ファブリキウス囊病ウイルス抗体保有との関係

IBH の発生	検査日齢	抗体の種類	
		アデノウイルス	伝染性ファブリキウス囊病ウイルス
+	40	2/19 (10.5) ¹⁾	18/19 (94.7)
+	46	2/4 (50.0)	3/4 (75.0)
+	{ 54	5/20 (25.0)	18/20 (90.0)
	{ 65	13/19 (68.4)	19/19 (100.0)
+	{ 43	4/20 (20.0)	20/20 (100.0)
	{ 65	15/20 (75.0)	18/20 (90.0)
+	42	2/9 (22.2)	9/9 (100.0)
-	{ 39	0/20 (0)	0/20 (0)
	{ 67	5/20 (25.0)	0/20 (0)
-	{ 37	0/17 (0)	0/17 (0)
	{ 58	1/20 (5.0)	0/20 (0)
-	{ 30	0/50 (0)	0/50 (0)
	{ 70	0/50 (0)	0/50 (0)

¹⁾ 分母は供試数、分子は陽性数 () 内は陽性率

種鶏からふ化したひなのIBH発生は特定の時期に集中する傾向を認めていない。また種鶏のアデノウイルス抗体陽性率の動きも、とくにひなのIBHの発生と関係する成績は得られなかった。これらの成績は、ふ化ひなでIBHの発生した時期に、種鶏は正常で、種鶏として能力を保有していたことを示すものと考える。

最近種鶏のF囊病ウイルス抗体保有からIBHの発生¹⁸⁾を、またサイクロフォスママイドあるいはF囊病ウイルスの免疫抑制がアデノウイルスの病原性を増強するという点から³⁾、それぞれIBHの発生機作が報告された。著者らもIBHの発生とアデノおよびF囊病ウイルスとの関連を、K-4種鶏由来ひなについて、抗体の面から検討した。その結果IBH発生ひな群はアデノウイルス抗体と同時にF囊病ウイルス抗体も上昇しており、またアデノウイルス抗体のみ上昇したひな群あるいはF囊病ウイルス抗体の上昇を認めなかったひな群では、IBHの発生がなかった。このことはさきの報告^{3,18)}のようなIBHの発生にF囊病ウイルスの関与していることを示すものと考える。

今回の観察例において、福岡県例から種鶏に問題のあることが、また佐賀県例では種鶏ならびにひなの配布先の農場にも問題のあることがそれぞれわかった。またこのことはF囊病ウイルス抗体陰性の種鶏から生産されたひなが、配布先農場でアデノおよびF囊病ウイルスに感染して、はじめてIBHがおこることを示している。F囊病ウイルス抗体陰性種鶏由来のひながIBHをおこすことが疫学的に証明されていたが、このようなひなを生産した種鶏の、種鶏としての能力と配布先農場でのひなの抗体の働きについては、これまで検討されていなかった。今回の成績は種鶏についてはF囊病ウイルス抗体陰性という以外に、種鶏としての能力は正常であることを、また配布したひなについては血清疫学的にアデノおよびF囊病ウイルス感染の有無の点を検討し、実際野外において発生するIBHにF囊病ウイルスの関係していることを明らかにできた。

つぎに同一農場内のIBHの発生率は、福岡県例の配布先農場において33~100%とばらつき、また佐賀県例では0%か100%と明瞭に区別され、両者の間には差が認められた。これは福岡県例の種鶏群は3群あり、このうちの1群からのひなでIBHが発生した。このため問題の種鶏から配布されるひなの1/3はF囊病ウイルス抗体陰性であるが、2/3は抗体陽性のものであった。このためにIBHの発生率がばらついたものと考える。

さてこれまでのF囊病ウイルスの抗体分布調査^{7,20)}から、F囊病ウイルス抗体陰性鶏群はそれほど多いとは考えられないが、陰性種鶏からのひなが、F囊病ウイルス汚染農場で必ずIBHをおこしているものか、あるいはF囊病ウイルスの感染の時期によってIBHの発生率が

異なるものかなどの点は、今後詳細に検討する必要がある。

要 約

福岡および佐賀県下で発生したIBHについて疫学的検討を行ない、つぎのような成績が得られた。

- 1) 福岡県M地区のIBHはRふ化場由来ひなにのみ発生し、このふ化場からひなの導入を中止したところ、この地区のIBH発生は終息した。
- 2) 佐賀県S地区の1種鶏群からのひなでIBHが発生したが、種鶏の産卵率、受精率およびふ化率は、この鶏種の標準のものと差を認めなかった。
- 3) 佐賀県例の種鶏はアデノウイルス抗体陽性、F囊病ウイルス抗体陰性で、IBHの発生ひな群はアデノウイルス抗体陽性、F囊病ウイルス抗体陽性、また未発生ひな群はアデノウイルス抗体は陰性と陽性があったが、F囊病ウイルス抗体が陰性であった。
- 4) IBHはF囊病ウイルス抗体のない種鶏由来ひながアデノおよびF囊病ウイルスに感染しておこることがわかった。

文 献

- 1) BICKFORD, A.A.: *Poult. Digest*, 31, 345~347 (1972).
- 2) FADLY, A.M. and WINTERFIELD, R.W.: *Avian Dis.*, 17, 182~193 (1973).
- 3) FADLY, A.M., WINTERFIELD, R.W. and OLANDER, H.J.: *Avian Dis.*, 20, 467~477 (1976).
- 4) GIORGETTI, G., BERTOCCHI, D. and FABRIS, G.: *Vet. ital.*, 23, 231~240 (1972) [*Vet. Bull. (Weybridge)* 42, 724, 1972].
- 5) 合田光照, 吉村昌吾, 小田切美晴: 第78回日獣学会講演要旨, 75 (1974).
- 6) HELMBOLDT, C.F. and FRAZIER, M.N.: *Avian Dis.*, 7, 446~450 (1963).
- 7) HIRAI, K., SHIMAKURA, S., CHANG, C., ADACHI, Y., KAWAMOTO, E., TAGUCHI, T., SUZUKI, Y., ITAKURA, C. and HUNAHASHI, F.: *Jap. J. Vet. Sci.*, 35, 105~113 (1973).
- 8) 平松計久, 中井正久, 山中純子, 佐々木文存: 第79回日獣学会講演要旨, 83 (1974).
- 9) HOWELL, J., McDONALD, D.W. and CHRISTIAN, R.G.: *Canad. Vet. J.*, 11, 99~101 (1970).
- 10) ITAKURA, C., YASUBA, M. and GOTO, M.: *Jap. J. Vet. Sci.*, 36, 329~340 (1974).
- 11) LAURSEN-JONES, A.A.: *Vet. Rec.*, 90, 166 (1972).
- 12) MACPHERSON, I., McDUGALL, J.S. and LAURSEN-JONES, A.P.: *Vet. Rec.*, 95, 286~289 (1974).
- 13) MANDELLI, G., RINALDI, A., CERIO, A. and CERVIO, G.: *Att. Soc. ital. Sci. Vet.*, 19, 779~783 (1965) [*Vet. Bull. (Weybridge)* 37, 55, 1965].
- 14) 中松正雄, 五藤精知, 森田迪夫, 板垣啓三郎, 坪倉 操, 増田光宏: 日獣学誌, 30 (学会号) 251 (1968).
- 15) OTSUKI, K., Tsubokura, M., YAMAMOTO, H., IMAMURA, M., SASAGAMI, Y., SAITO, H. and HOSOKAWA, D.: *Avian Dis.*, 20, 693~705 (1976).
- 16) PETTIT, J.R. and CARLSON H.C.: *Avian Dis.*, 16, 858~863 (1972).
- 17) ROSENBERGER, J.K., ECKROADE, R.J., KLOPPS, and KRAUSS,

W.C.: *Avian Dis.*, 18, 399~409 (1974). 18) ROSENBERGER, J.K., KLOPP, S., ECKROADE, R.J. and KRAUSS, W.C.: *Avian Dis.*, 19, 717~729 (1975). 19) WELLS, R. J. and HARRIGAN, K.: *Vet. Rec.*, 94, 481~482 (1974). 20) 山田進二, 内布洋一, 上川慎一, 池上敬之, 木下 且, 真鍋弥三郎: 第 79 回日獣学会講演要旨, 83 (1975).

21) 山田進二, 福田輝俊, 松尾和夫, 上川慎一, 香月伸彦: 第 83 回日獣学会講演要旨, 141 (1977). 22) 山口成夫, 川村 斉, 谷口稔明: 第 78 回日獣学会講演要旨, 74 (1974). 23) YOUNG, J.A., PARCELL, D.A. and KAWANAGH, P.J.: *Vet. Rec.*, 90, 72 (1972). 24) YOUNGNER, J.S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 85, 202~205 (1954).

技術講座

臨床血液化学検査の考え方(II)

II. 血 漿 蛋 白 質

1. 測 定 上 の 問 題 点

友 田 勇*

血漿蛋白質は、血漿固型成分の約 80% を占め、全身組織細胞の物質代謝に必要な諸種の物質、薬剤、あるいは物質代謝の結果生じた代謝産物の輸送担体としての作用をはじめ、血液緩衝能や凝固作用、体液浸透圧の維持、組織蛋白の合成、侵襲や傷害に対する防御作用など、生命の維持にとってきわめて重要な機能をもっている。

いっぽう、血漿蛋白は組織蛋白との間に動的平衡を保っているため、血漿蛋白の異常は組織細胞の代謝になんらかの影響を与え、反対に組織における病変は血漿蛋白の変動となって反映されるようになる。しかも、血漿蛋白は生体内の蛋白としては、その採取が最も簡単であり、その分析定量も容易な標本である。したがって、臨床血漿蛋白の検査は、疾患や障害時における病態生理学的背景を理解するうえで不可欠であると解されるほどに重視されている。

いうまでもなく、血漿蛋白は多数の異なる蛋白成分の集団であり²⁾、ヒトでは実に 80 数種の成分の存在が知られている。イヌでも、約 50 種におよぶ蛋白成分に分画されたという報告²²⁾がある。現在最も分離能の高い方法として、polyacrylamide gel electrophoresis と不連続緩衝液系 SDS polyacrylamide gel のスラブ電気泳動を組み合わせた 2 次元泳動法³¹⁾が知られているが、血漿蛋白の細分画化の手法として日常臨床検査室で行なわれるのは免疫電気泳動法であろう。参考までに、ヒト血漿蛋白について、主な蛋白成分とその生物学的性状の要点を

* 東京大学農学部 (東京都文京区弥生 1-1-1)

注) 一般に支持体電気泳動法では、血漿を用いると共に共存するフィブリノーゲンのため、 β , γ 分画の分離が悪くなるので、血清が用いられる。また、屈折計による総蛋白量の測定も血清を用いる方がより正確である。本文では、血漿と血清という語は、主として測定方法を斟酌して適宜使用したにすぎない。総論的な場では、血漿蛋白質は血清蛋白質と読みかえても一向に差支えない

表 1 に示した。

ところで、最も簡単な血漿蛋白の検査は、総蛋白量の測定であるが、実際の症例において血漿総蛋白量が異常値を示す頻度は必ずしも高くはなく、したがって総蛋白量の測定だけでは、それほど大きな診断的意義を見出すことができない²¹⁾。そこで、より重要な臨床的情報を得るために、いろいろな方法で血漿蛋白を分画し、その変動パターンを蛋白分画あるいは個々の蛋白成分レベルで検索する方式が行なわれているのである。現在、この臨床検査システムで最も常用されている分画法は、セルロースアセテート電気泳動法であり、また免疫電気泳動法、さらには特異抗血清による免疫学的定量法も組み入れつつある。

本文では、測定法など具体的なことは他書にゆずり、主として測定上の問題点について述べることにする。

1. 血清 (血漿) 総蛋白量^{12, 15, 18, 23, 30, 39, 41, 43)}

血清総蛋白量の測定法には、蛋白窒素量として測定する Kjeldahl 酸化法をはじめ、比濁法、呈色反応を利用した比色法 (ニンヒドリン法、ビウレット法、フォリン法) などの化学的方法と、比重法 (硫酸銅法)、屈折率法、紫外分光法といった物理的方法がある。これらのうち、Kjeldahl 法が標準的なものであるが、なにぶんにも試薬の調製や操作が比較的面倒で、多数の検体を測定する場合には多くの時間と労力を要するので、日常臨床検査には適さない。現在臨床検査法として繁用されるのは、比重法 (硫酸銅法)、屈折率法、ビウレット法、フォリン試薬による Lowry 法、あるいは紫外分光法などであろう。

とくにビウレット法¹²⁾と Lowry 法²³⁾は、使用する試薬は市販されており、希釈血清にただ試薬を加えて発色させ、その色調を比色定量するだけのきわめて簡単な操