採卵鶏における骨髓球腫症の発生例

真壁朝光*¹⁾ 長 茂*¹⁾ 大根田 智*²⁾ 関屋幸男*³⁾

(昭和 63 年 10 月 21 日受理)

Outbreak of Myelocytomatosis in a Layer Breeding Flock in Tochigi Prefecture
TOMOMITSU MAKABE (Tochigi Livestock Hygiene Service Center, Prefecture of
Tochigi, Tochigi 328), SIGERU CHO, SATOSI ONEDA and YUKIO SEKIYA

SUMMARY

In 1987, 200 of 4000 108-day-old chickens demonstrated general weakness, paleness of the comb, emaciation and paralysis; 86 eventually died. Eight chickens from the flock were examined etiologically and pathologically. Severe anemia was observed in four of five chickens by hematological examination. At necropsy, hepatic and splenic enlargements were observed in all chickens, and discoloration of the femoral bone marrow in three of the five chickens was macroscopically observed. Avian leukosis virus of group A was isolated from two of three chickens tested. Histopathological examination revealed that proliferation of neoplastic myelocytes containing an enlarged nucleus and eosinophilic granules the liver, spleen, lung and stomach. Marked proliferation of myelocytes was observed in femoral bone marrow of two chickens examined.

From these findings, this disease was diagnosed as myelocytomatosis.

要 約

1987 年 9 月、採卵養鶏場で 108 日齢雛 4,000 羽中、約 200 羽が貧血、沈うつ、消瘦、肉冠の退色および脚弱を呈し、そのうち 86 羽が死亡した。これら発病鶏 8 羽について病性鑑定を行った結果、血液所見はヘマトクリット値が 15~20% で、赤血球数は 120~150 万/mm³ であった。ウイルス学的検査では 2 羽から A 亜群鶏白血病ウイルスが分離された。剖検所見では、肝臓はほとんどが腫大し、脾臓は全例とも正常鶏のほぼ 2~3 倍に腫大していた。また、大腿骨骨髓は 3 例がやや退色していた。いっぽう、組織所見では骨髓球と思われる好酸性顆粒球が、肝臓においては実質間に腫瘍性に増殖し、脾臓、胃、肺等の主要臓器や消化器においてはび漫性に浸潤していた。さらに、骨髓では骨髓球の過形成が顕著であった。

以上の所見から本症は骨髓球腫症と診断された。

鶏白血病群のうちリンパ性白血病は野外で最も多発し、経済的な被害をもたらすが、その他の骨髓系、赤芽球系の白血病の自然発生は散発的でまれであるといわれている。骨髓系の白血病のわが国における発生報告はあまりみあたらない。今回、県下の一養鶏場で産卵開始前の雛 4,000 羽中約 200 羽で発生した、貧血および脚弱を主徴とした症例について病理学的ならびに微生物学的検査を行った結果、骨髓球腫症と診断したのでその概要を報告する。

1. 材料および方法

1) 被 検 血 清

病性鑑定を依頼された病鶏 8 羽 (9 月 25 日 5 羽, 10 月 5 日 3 羽) と対照鶏 3 羽 (血液学的検査に用いた) について翼下静脈から採血し、分離した血清を供試した。血清は分離後、-20℃ で凍結保存し検査に用いた。

2) 血 液 学 的 検 査

ヘマトクリット (Ht) 値は毛細管法で測定した。赤血球数はデュルケル・チュルク型の計算盤で数えた。

3) 病 原 学 的 検 査

細菌学的検査は、剖検後、採取した諸臓器を血液寒天培地および DHL 寒天培地に塗抹し好気培養法で行った。

ウイルス学的検査は、第 2 回目 (10 月 5 日) の 3 羽

*¹⁾ 栃木県栃木家畜保健衛生所 (栃木市箱森町 22-27)

*²⁾ 栃木県家畜衛生研究所 (宇都宮市戸祭町 2634)

*³⁾ (株)ゲンコーポレーション・バイオ製薬事業部栃木ラボラトリー (栃木県今市市小倉 82-1)

(No. 6, 7, 8) の病鶏から採取した諸臓器およびリンパ球について行った。

ペニシリン 100 U/ml およびストレプトマイシン 100 $\mu\text{g/ml}$ を加えたラクトアルブミン水解物加 Earle's (LE) 培地で 10% 乳剤とし、その遠心上清 0.2 ml を鶏胎児線維芽細胞 (CEF) に接種し、5 日間隔で 3 代継代した。その培養上清について鶏白血病ウイルス特異抗原 (g^s) の証明を COFAL テストを用い、また A, B 両亜群ウイルスの検出を RIF テストを用いて行った。いっぽう、培養細胞について細網内皮症ウイルス (REV)-T 株に対する蛍光色素標識血清を用い、直接法により REV の抗原証明を行った。

4) ゲル内沈降反応

反応には、バイオ製薬栃木ラボで製造した、トリアデノウイルス (AAV)、伝染性ファブリキウス嚢病 (IBD)、マレック病 (MD)、トリレオウイルス (ARV) および REV 抗原を用いた。寒天ゲルは、M/15 の Na_2HPO_4 および KH_2PO_4 を含むリン酸緩衝液 (pH 7.4) に NaCl 8% および Bactoagar (Difco) を 1% になるように加えて溶解し、pH 7.4 に修正した後 5 ml をスライドガラス上に流して凝固させて作成した。その寒天上に直径 3 mm の孔を、また、これを中心として 6 mm の間隔で 3 mm の孔 6 個をあけ、中心の孔には抗原を、周辺部の孔には血清を、それぞれ 1 滴注入し、室温で 2 日間反応を行った。

5) 病理組織学的検査

剖検後、諸臓器を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋の後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色して鏡検した。また、肝臓、骨髓については固定後の凍結切片をベンチジンをを用いたペルオキシンダーゼ染色して観察した。

2. 成績

1) 発生状況の概要

1987 年、栃木県下の採卵養鶏場で 108 日齢のハイライン W36 種、4,000 羽の一鶏群に、9 月 10 日頃から貧血、沈うつ、消瘦、肉冠の退色がみられ、9 月 25 日のピーク時には病鶏のほとんどがうずくまって起立不能を呈した。約 200 羽の発病鶏のうち、86 羽が死亡したため、マレック病が疑われ、家畜保健衛生所に病性鑑定を依頼された。

なお、当養鶏場は飼養羽数約 25,000 羽で飼育方法は開放鶏舎、ケージ飼育で、オールイン・オールアウト方式をとっていた。

当該鶏群ではマレック病ワクチンは初生時ふ化場で接種され、導入後の育成期間中にニューカッスル病 (ND)、伝染性気管支炎、鶏痘および伝染性コリザのワクチンが接種された。成鶏になってからは ND ワクチンが定期

表 1 血液学的検査成績

検体 No.	Ht (%)	赤血球数 ($\times 10^4/\text{mm}^3$)
病 鶏		
1	15	120
2	23	150
3	32	300
4	21	130
5	18	125
平 均	21.8 $\pm$ 6.5	165.0 $\pm$ 76.3
対照鶏		
9	35	350
10	36	367
11	38	380
平 均	36.3 $\pm$ 1.5	365.7 $\pm$ 15.0

表 2 菌分離成績

臓器	各検体からの検出菌量				
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
脳	—	—	—	—	—
心臓	—	—	—	—	—
肺	<i>E. coli</i> +	—	<i>E. coli</i> +	<i>E. coli</i> ++	—
肝臓	<i>E. coli</i> +	—	<i>E. coli</i> +	—	<i>E. coli</i> +
脾臓	—	—	—	—	—
腎臓	—	—	—	—	—

注) —: 分離されず +: コロニー数 1~10
++: コロニー数 11~20

的に接種され、各種の予防接種がプログラムどおりに行われ、良好な衛生環境下で飼育されており、過去とくに病歴はなかった。

2) 血液学的検査所見

成績を表 1 に示した。Ht 値は、No. 1, 2, 4 および 5 の病鶏で低い値 (15~23%) を示したが、No. 3 では 32% と高い値であった。これら病鶏の平均値は 21.8 $\pm$ 6.5% であった。それに対し対照鶏 (No. 9, 10, 11) は 36.3 $\pm$ 1.5% であった。赤血球数についても同様な傾向であった。

3) 病原学的検査所見

細菌学的検査では表 2 に示したとおり、肺、肝臓から大腸菌が分離されたのみで、とくに有意の細菌は分離されなかった。

ウイルス学的検査では表 3 に示したとおり、10 月 5 日の採取材料で No. 6, 7 から A 亜群鶏白血病ウイルスが、No. 8 からは細網内皮症ウイルスがそれぞれ分離された。いっぽう、ゲル内沈降反応による抗体検査陽性数は IBD 7/8, MDV 5/8, ARV 2/8, REV 7/8 であった。

4) 病理学的検査所見

(1) 剖検所見: 表 4 に示したとおり、肝臓は No. 2 を除いてやや腫大し、No. 4 では退色していた。脾臓は 5 例とも正常鶏のほぼ 2~3 倍と顕著に腫大していた。大腿骨髄は No. 1, 3, 5 においてやや退色していた。

表3 ウイルス学的検査成績

検体 No.	寒天ゲル内沈降反応					ウイルス分離	
	AAV	IBDV	MDV	ARV	REV	ALV	REV
1	—	+	+	—	+	NT	NT
2	—	+	+	—	+	//	//
3	—	+	+	+	+	//	//
4	—	+	+	—	+	//	//
5	—	+	+	—	+	//	//
6	+	+	—	+	+	+	—
7	—	+	—	—	+	+	—
8	—	—	—	—	—	—	+

注) AAV: トリアデノウイルス IBDV: 伝染性フ
 ァブリキウス囊病ウイルス MDV: マレック病
 ウイルス ARV: トリレオウイルス REV:
 細網内皮症ウイルス ALV: A 亜群鶏白血病ウ
 イルス NT: 検査せず

表4 剖検所見

検体 No.	肝臓	脾臓	肺	骨髓
1	腫大	腫大	OB	やや退色
2	OB	腫大	灰褐色・腫大	OB
3	やや腫大	腫大	OB	やや退色
4	退色・腫大	腫大	OB	OB
5	やや腫大	腫大	OB	やや退色

注) OB: 著変を認めず

表5 病理組織学的検査成績

臓器	組織変化	各検体における病変の程度				
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
肝臓	好酸性顆粒球増生	++	++	+++	++	++
	円形細胞増生	+	+	+	+	+
脾臓	好酸性顆粒球浸潤	+	++	++	+	++
	細網細胞活性化	++	+	+	+	—
	白脾髄に小壊死巣	+	+	+	+	+
腎臓	好酸性顆粒球浸潤	+	++	++	+	++
	肺	+	+	+	+	++
盲腸扁桃	好酸性顆粒球浸潤	+	++	++	NT	NT
	胸腺	++	+	++	+	+
F囊	皮質細胞減数	++	+	++	+	+
	ろ胞の腫大活性化	++	+	++	NT	NT
骨髓	好酸性顆粒球増生	++	NT	NT	++	NT

注) —: 病変を認めず ++~+++ : 病変の程度(軽度
 ~重度) NT: 検査せず

(2) 組織学的検査所見: 成績を表5に示した。検索した5例ともに、肝臓ではすべてのグリソン鞘で好酸性顆粒球の増殖が高度で、一部類洞にも数個程度の細胞の集簇が見られた(写真1)。顆粒球は、核が分葉するものも少数あったが、ほとんどは淡明で大きな円形または楕円形を呈していた。細胞質内にはほぼ正円形の大小のエオジン好性、ペルオキシダーゼ陽性の顆粒を粗または密に入れていた(写真2)。また、腎臓では間質に局限して同

写真1 肝グリソン鞘における好酸性顆粒球の増殖 (HE 染色 ×100)

写真2 顆粒は淡黄褐色でやや大きく染まっている。肝臓の凍結切片を用いたペルオキシダーゼ染色。油浸拡大(×500)

写真3 骨髓における好酸性顆粒球のび漫性増殖 (HE 染色 ×200)

様の顆粒球が浸潤、集簇していた。大腿骨髓の検索は2例について行われたが、いずれも脂肪織の占める比率がやや乏しく、ほとんどの実質は旺盛に増殖した顆粒球で満たされていた。顆粒球の形態は肝臓、腎臓に見られたものと同様であった(写真3)。好酸性顆粒球は、脾臓の赤脾髄、肺胞壁および腺胃から盲腸にかけた消化管固有層等でもび漫性に浸潤して認められたが、これらの部位における浸潤細胞は、前記同様の形態を示すもののほかに、多分葉核を有し、紡錘形顆粒を密に入れたものも多

数混じていた。その他の変化として、胸腺の皮質細胞の減数や、脾臓の白脾髄における小壊死巣の形成が、程度の差はあったが全例で観察された。なお、末梢神経系に著変は認めなかった。

3. 考 察

野外で発生するニワトリの白血病の大多数はリンパ性白血病である。発病は雄より雌に多くみられることは多くの研究者⁴⁾の示すところである。BURMESTER ら¹⁾は骨髓球の増多を伴う疾患、いわゆる骨髓球症 (Myelocytoma) は骨髓球腫症 (Myelocytomatosis) とも呼ばれ、鶏白血病ウイルスによって起こると述べている。一般的には骨髓球症は、骨髓球性白血病 (Myeloid leukosis), または骨髓芽球腫症 (Myeloblastosis) の中の一つの型と見なされており、その発生は主として成鶏に、まれに若齢鶏に散発的に発生すると述べられている²⁾。

今回の症例では、108 日齢雛の 1 鶏群 4,000 羽中約 200 羽が発病し、86 羽が死亡した。血液検査で Ht 値が平均値 21.8%, 赤血球数の平均値 165 万個/mm³ と低い値が得られ、顕著な貧血がみられた。石谷らは、高度の貧血を伴う鶏白血病に罹病した鶏の臓器乳剤を接種することによって骨髓性、赤芽球性の各白血病がみられたことから、これらの状態は同一の病原によってもたらされたものとみなしている。また、日原³⁾は急性白血病ウイルスに属するウイルスは、雛に接種するとともに骨髓系細胞の腫瘍化を短期間 (2~4 週) に引き起こし、雛をへい死させると報告している。今回の症例では発症ピーク時から 10 日を経過した材料から ALV が分離された。疾病の再現試験が行われていないために、本症と分離ウイルスについて病原学的に因果関係を立証するのは難しいが、病鶏はいずれも同一鶏群のものであることから、ALV が本病の原因になったものと推察される。いっぽう、ALV 以外に分離されたに REV ついては、小山⁶⁾、湯浅⁹⁾らは発育不全、羽毛の異常 (中抜け)、各部末梢神経の腫大、組織学的にはリンパ系組織の萎縮性変化、中枢神経の血管性細胞浸潤の原因となることを報告してい

る。

今回の症例では、これらの所見はほとんどみられなかった。さらにゲル内沈降抗体も陽性であったことから、REV は本症の直接の原因とは考えられなかった。

PURCHASE ら⁷⁾は骨髓球腫症では病変は骨組織表面に主としてみられ、肝臓では骨髓球が類洞に集積し、また塗抹標本における腫瘍細胞の細胞質の顆粒はメイグリンワルド・ギムザ (GM) 染色で鮮やかな赤色の球形顆粒として見られると述べている。柴谷ら⁸⁾も病理組織学的所見では、内臓諸器官に好酸性顆粒球の顕著な増殖を認め、末梢血液中に骨髓系細胞の出現が散見されたことを報告している。

今回、剖検所見では脾臓や肝臓の腫大と骨髓のほかには著変は見られず、組織学的には肝臓ではグリソン鞘を中心に、また骨髓では実質のほぼ全域で好酸性顆粒球が腫瘍性に増殖しており、他の内臓諸器官でも浸潤像を認めた。これらの組織学的所見は本症が骨髓球腫症であることを裏付けるものであった。

本稿のまとめにあたり、終始ご指導ならびにご校閲をいただいた山口大学農学部の中本春弥教授に深く感謝の意を表します。

引用文献

- 1) BURMESTER, B. R.: *ARS Report (USDA)*, 44, 4 (1967).
- 2) 堀内貞治: 鶏病図説, 堀内貞治, 川村 斉, 関令二編, 第 1 版, 87~103, 日本畜産振興会, 東京 (1969).
- 3) 日原 宏: 鶏病研報, 17, 1~15 (1981).
- 4) 日原 宏, 山本春弥: 鶏病診断, 堀内貞治編, 第 1 版 188~193, 家の光協会, 東京 (1982).
- 5) 石谷類造: 日獣学誌, 17, 125~131 (1955).
- 6) 小山弘之: 日獣会誌, 33, 51~53 (1980).
- 7) PURCHASE, H. G. and BURMESTER, B. R.: *Diseases of Poultry*, HOFSTAD, M. S. et al. Eds., 6th ed., 540~542, Iowa State University Press (1972).
- 8) 柴谷増博, 齊藤健光, 岩木典之: 鶏病研報, 19, 9~12 (1983).
- 9) 湯浅 襄: 日獣会誌, 33, 54~60 (1980).