ミンクに発生したオーエスキー病

鍋谷政広¹⁾ 荻野博明¹⁾ 中林 大¹⁾ 渡辺大成¹⁾

村山仁一¹⁾ 石井清衛²⁾ 星野範雄²⁾

1) 新潟県中央家畜保健衛生所 (西蒲原郡西川町旗屋 686, 〒959-04)

2) 新潟県下越家畜保健衛生所 (新発田市東新町 1-5-23, 〒957)

(平成 2 年 8 月 30 日受付・平成 3 年 2 月 22 日受理)

An Outbreak of Aujeszky's Disease in Minks

MASAHIRO NABEYA*, HIROAKI OGINO, DAI NAKABAYASHI, TAISEI WATANABE, ZINICHI MURAYAMA, SEIEI ISHII and NORIO HOSINO (* Chuo Livestock Hygiene Service Center, Niigata Prefecture, Nishikanbara, Niigata 959-04)

SUMMARY

In December 1989, eight adult minks died suddenly on a 232-head mink farm in Niigata Prefecture. Six animals were necropsied, but no characteristic gross lesions were observed in any of them. Histopathologically, necrotic foci with intranuclear inclusion bodies in the degenerated nerve cells and neuroglial cells were found in the medulla oblongata of all cases. Neuronophagia, microgliosis and intranuclear inclusion bodies in nerve cells were observed in the trigeminal ganglia of two cases. In these same cases, intranuclear inclusion bodies were observed in the epithelial cells of the tonsil. Suid herpesvirus 1 (Aujeszky's disease virus: ADV) antigen was identified in lesions of the medulla oblongata, trigeminal ganglia and tonsil by an immunoperoxidase technique. Viral agents were isolated from the brain. These isolates were identified as ADV by a neutralization test and an immunofluorescence technique. Cleavage patterns of DNA of the isolates by *Bam*HI were similar to those of the Yamagata S-81 strain of ADV. A serologic survey on serum samples collected from the feeder swine of fattening farms in the same area using an enzyme-linked immunosorbent assay showed that none of them had ADV antibodies. The affected minks received rations containing swine offal deriurel from the Kanto area where AD is widespread, suggesting that the offal is the source of the infection.

—Key Words: Aujeszky's disease, mink, suid herpesvirus 1.

-----J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 44, 587~590 (1991)

要 約

1989 年 12 月、新潟県内のミンク飼養農場において繁殖用ミンク 232 頭中 8 頭が急性経過で死亡し、6 頭について病性鑑定を実施した。剖検で著変は認められなかったが、組織学的には延髄で神経細胞およびグリア細胞に好酸性核内封入体を伴った壊死巣が観察された。また、三叉神経節では神経細胞における核内封入体の形成、神経食現象およびミクログリアの集簇、扁桃では粘膜上皮における核内封入体の形成がみられた。酵素抗体法により、これら病変部に一致して豚ヘルペスウイルス 1 (オーエスキー病ウイルス: ADV) 抗原が検出された。脳から ADV が分離され、その性状は従来わが国で分離されているウイルス株と同様であった。発生農場周辺の養豚場には ADV 抗体陽性豚は認められなかったが、ミンクの飼料として ADV 汚染地域由来の豚の生臓器が給与されており、これが感染源と思われる。

—キーワード: オーエスキー病, ミンク, 豚ヘルペスウイルス 1.

豚ヘルペスウイルス 1 (オーエスキー病ウイルス: ADV) の宿主域はきわめて広く、自然宿主である豚以外に野生動物を含む多種類の哺乳類と鳥類に感染する。豚以外の動物における自然発生例では、ほとんどが豚からの感染であることが知られている¹⁾。

わが国においては、1981 年に豚のオーエスキー病

(AD)²⁾ が初めて報告されて以来、年々発生数が増加しており、関東地方の養豚地帯では常在化の傾向が認められている。このような状況下で、ADV 汚染地域においては豚以外の動物にも AD が発生するに至り、1985 年に牛³⁾、1985 年および 1986 年に犬^{4,7)}での発生例が報告されている。

今回、著者らは新潟県内において発生したミンクの急死例を検索し AD であることを確認した。ミンクの AD はわが国では初発生であり、また、AD 清浄地域での発生であることから感染経路についての疫学調査を行った。

材料および方法

供試材料

1989 年 12 月 20 日から 12 月 29 日にかけて死亡したミンク、雄 1 頭 (No. 1, 6 歳) と雌 5 頭 (No. 2～6, 8 カ月齢) の計 6 頭を供試し、病理学的検査、細菌学的検査およびウイルス学的検査を行った。発生後約 1 カ月後に採取した同群のミンク血清 5 例については ADV 抗体の有無を調べた。また、飼料用として冷凍庫で貯蔵されていた豚の肺、肝臓および脾臓を各 5 検体採取し、ウイルス分離を行った。さらに、発生地域内の養豚場からと畜場へ出荷された豚の血清を 5 回にわたり延べ 15 戸 99 頭から採取し ADV に対する抗体検査を行った。

病理学的検査

供試ミンク 5 頭 (No. 1～5) について剖検を行い各臓器を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定、パラフィン包埋の後、薄切してヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施し鏡検した。また、パラフィン切片について、ADV 山形 S 81 株免疫血清 (2,048 倍希釈) を一次血清とし、市販のキット (Vector Laboratories 社) を用いた酵素抗体法 (Avidin-biotin peroxidase complex method: ABC 法)⁵⁾により ADV 抗原の検出を試みた。

細菌学的検査

4 頭 (No. 1,2,3,6) のミンクの各臓器を 7% 羊血液加寒天培地、DHL 寒天培地および CW 寒天培地に直接接種し、好気培養、10% 炭酸ガス培養およびスチールウール法による嫌気培養を行った。

ウイルス学的検査

ミンク 4 頭 (No. 1,2,3,6) の脳、肺、肝臓および脾臓、飼料用の豚臓器をゲントマイシン添加イーグル MEM で 10 倍乳剤とし、3,000 rpm 10 分間遠心した上清をウイルス分離材料とした。ウイルス分離にはローラチューブに培養した CPK 細胞 (豚腎臓由来継代細胞) 培養を用い、ウイルス分離材料 0.1 ml を接種し 37℃ で回転培養を行った。細胞変性の認められた細胞培養について塗抹標本作製しアセトンで室温 10 分間固定後、ADV 蛍光標識抗体 (微生物化学研究所製) を用いて 37℃ 60 分間染色による蛍光抗体法 (直接法) を行い、分離ウイルスを同定した。さらに、分離ウイルス 3 株について、山形 S 81 株免疫血清による中和試験および制限酵素 BamHI によるウイルス DNA の解析⁶⁾を行った。

また、ADV に対する抗体検査は、発生群のミンクについては AD 診断用ラテックス凝集反応キット (Viral Antigens 社製) を用い、発生地域の飼養豚については

AD 診断用固相酵素免疫測定法キット (日生研製) を用いて行った。

成 績

発 生 状 況

発生が認められたミンク飼養農場は新潟県北蒲原郡 S 町の海岸松林の中に位置し、近隣に畜産農家は存在しない。本農場は木造平屋建ての簡易畜舎 4 棟からなり、そのうち 2 棟に繁殖用ミンク 232 頭 (雄 31 頭、雌 201 頭) が単飼ケージで飼育されていた。他の 1 棟には銀キツネ 9 頭が飼育されていた。なお、発生当時、毛皮用ミンクは出荷済みで残りの 1 棟は空舎であった。

1989 年 12 月 20 日、それまで異常のみられなかった繁殖用ミンク 4 頭 (雌) が急死し、翌 21 日にも 3 頭 (雄 1, 雌 2)、さらに 12 月 29 日に 1 頭 (雌) の計 8 頭 (3.4%) が死亡した。畜舎別では、1 棟が 208 頭中 7 頭 (3.4%)、他の 1 棟が 24 頭中 1 頭 (4.2%) の発生であり、死亡ミンクのケージに位置的な差よりは認められなかった。

臨床症状としては異常な所見は観察されていないが、死亡ミンクのケージには前日に給与した飼料が残存していた。また、発見時の死体の状況として歯をむき出していたものが 4 例、ケージに咬みついていたものが 1 例みられた。なお、その他のミンクには異常は認められなかった。

病理学的検査成績

剖検では、外表部に脱毛や創傷等の異常は認められなかった。内部検査でも著変は認められなかったが、全例の肝臓、脾臓および腎臓が暗赤色を呈し脆弱化していた。また、消化管はガスの貯留により膨満していた。

病理組織所見を表 1 に示した。延髄では、5 例に共通して好中球およびミクログリアの浸潤を伴った壊死巣が散在性に認められた (写真 1-A)。壊死巣周辺部では変

表 1 病理組織学的検査成績

所 見	個 体 No.				
	1	2	3	4	5
延 髄	壊 死 巣	○	○	○	◎
	核内封入体	○		○	◎
	囲管性細胞浸潤	○		○	◎
三叉神 経 節	ミクログリア集簇				○
	食神経現象	NT	NT	NT	○
	核内封入体				○
扁桃	核内封入体	NT	NT	NT	○
	粘膜固有層に細胞浸潤				◎
脾 臓	巣状壊死				○

注) ○: 所見を認める ◎: 重度の所見を認める
NT: 検査せず

写真 1-A: No. 5 の延髄の壊死果で、好中球およびミクログリアの浸潤を認める (HE 染色 ×200).

写真 2: 扁桃の粘膜上皮細胞に核内封入体を認める (矢印) (HE 染色 ×400).

性した神経細胞およびグリア細胞に好酸性あるいは弱両染色性の核内封入体が観察されたほか、好中球およびリンパ球からなる囲管性細胞浸潤が観察された。検査した 2 例の三叉神経節ではいずれも神経細胞における核内封入体の形成、神経食現象およびミクログリアの集簇が観察された。扁桃では粘膜上皮に核内封入体の形成がみられ (写真 2)、同部位の粘膜固有層には好中球、リンパ球の浸潤が認められた。その他の臓器では 1 例の脾臓の白脾髄に巣状壊死が認められた。

酵素抗体法による ADV 抗原検出の結果を表 2 に示した。ADV 抗原は延髄、三叉神経節および扁桃の病変部に検出された。すなわち、延髄では壊死部および周辺部の神経細胞およびグリア細胞 (写真 1-B)、三叉神経節では神経細胞、扁桃では上皮細胞の細胞質に ADV 抗原が検出された。

細菌学的検査成績

供試ミンク 4 頭の各実質臓器から有意な細菌は分離されなかった。

ウイルス学的検査成績

供試ミンク 4 頭全例の脳から、培養後 2～3 日で CPK 細胞培養に円形化の細胞変性を示すウイルスが 4

表 2 ABC 法による ADV 抗原検出

個体 No.	ADV 抗原			
	大 脳	延 髄	三叉神経節	扁桃
1	—	+	NT	NT
2	—	—	NT	NT
3	—	+	NT	NT
4	—	+	+	+
5	—	+	+	+

注) +: ADV 抗原陽性 —: ADV 抗原陰性
NT: 検査せず

写真 1-B: 同部位において、神経細胞が褐色に染まり、ADV 抗原陽性を示す (ABC 法 ×200).

株分離された。しかし、肺、肝臓および脾臓からのウイルス分離は陰性であった。分離された 4 株のウイルスは蛍光抗体法により ADV と同定された。さらに山形 S 81 株免疫血清を用いた中和試験では、同株に対する中和抗体価 64 倍に対し分離株に対しては 32～64 倍の中和抗体価を示した。また、制限酵素 *Bam*HI により、ウイルス DNA の切断型を分析した結果、分離株は山形 S 81 株と同様な切断型を示した。

本病終息後に得た同群のミンク血清 5 例はいずれも ADV 抗体陰性であった。

疫学的検査成績

給 与 飼 料: 発生農場では、飼料として魚類 (20%)、豚の肺 (20%)、豚の肝臓 (8%)、豚の脾臓 (10%)、鶏の雄ヒナ (30%) のいずれも生材料をミンチミキサーにかけた後、これにミンク用配合飼料 (12%) およびビタミン剤等を添加し攪拌機で攪拌したものを、1 日 1 頭当たり約 200 g を給与していた。豚の臓器のうち脾臓は県内のと畜場から購入していたが、肺および肝臓は県外の業者を介して茨城県の 3 カ所のと畜場から入手していた。この県外産の臓器は毎月 1 回、1,000 kg ずつ冷凍状態で搬入され、農場においても冷凍庫内で貯蔵され毎日必要量のみ解凍して飼料に配合されていた。これらの冷凍貯蔵されていた豚の臓器からウイルス分離を試みたがウイルスは分離されなかった。

周辺養豚場: 発生農場から半径約 3 km 以内にある養

豚場について調査を行ったが、飼養豚に異常は認められなかった。また、1989年12月から1990年1月にかけて5回にわたりこれらの養豚場からと畜場へ出荷された豚延べ15戸99頭についてADVに対する抗体検査を行ったが、全例陰性であった。

考 察

ミンクにおけるADの発生は、1958年以降、ソ連およびヨーロッパ諸国で報告されている^{1,6,10)}が、わが国ではこれまで確認されていなかった。著者らは、1989年12月、新潟県内の1農場におけるミンクの急死例に遭遇し、検索の結果、本症例をADと診断した。

豚以外の動物がADVに感染した場合、激しい搔痒あるいは神経症状を呈し、急性経過で死の転機をとることが知られている^{2,4,8)}。ミンクでは、自然感染例および実験感染例のいずれも、食欲不振、沈うつ、昏睡を示し、時に神経性興奮、痙れん、搔痒、流涎等を呈し発症後24時間以内に死亡することが報告されている^{1,3,6,10)}。今回の症例では臨床症状を観察できなかったが、前日まで異常のみられなかったものが翌朝死体で発見されており、急性経過で死亡したことが推察された。なお、搔痒を示唆する体表の異常はみられなかった。

病理組織学的には、扁桃、三叉神経節および延髄に壊死巣や核内封入体が認められ、病変部にADV抗原が検出された。これらの所見はウイルスが初感染部位の扁桃から三叉神経を介して延髄に到達したことを示唆しており、これまでに報告されている豚²⁾、牛⁸⁾および犬^{4,7)}の症例と同様であった。

新潟県はこれまでADの清浄地とされており、本症例の発生時においても周辺養豚場にADV侵入の形跡は認められなかった。しかし、発生農場では飼料としてADV汚染地域由来の豚の生臓器を給与していた。また、ミンクから分離されたADVは、従来わが国で豚から分離されているウイルスと同一のDNA切断型⁹⁾を示した。

これらのことから、本症例の感染源としてADVに感染した豚の臓器が疑われ、いわゆるfood-borne infectionと考えられた。なお、発生状況および終息後の抗体検査結果から水平感染および不顕性感染を示唆する成績は得られなかった。その後、発生群は自主的に淘汰された。

本症例の経験をつうじて、ADVの汚染が進むにつれて豚以外の感受性動物にも発生の機会が増大していること、また、主な感染源として指摘されている不顕性感染豚の導入以外にも多様な感染経路が存在し、本病の防疫対策上注意が必要と思われる。

稿を終わるにあたり、ウイルスの性状検査についてご指導いただいた農林水産省家畜衛生試験場研究第二部ウイルス第2研究室清水実嗣室長、酵素抗体法を実施していただいた同場総合診断研究部病理診断研究室播谷亮技官に対し深謝いたします。

引用文献

- 1) CHRISTODOULOU T., TSIROYIANNIS E., PAPADOPOULOS O., et al.: *Cornell Vet.*, 60, 65~73 (1970).
- 2) 福所秋雄, 清水実嗣, 久保正法, ほか: 家畜衛生試験場研究報告, 82, 5~11 (1981).
- 3) GOTO H., GORHAM J. R. and HAGEN K. W.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 30, 257~263 (1968).
- 4) HARA M., SHIMIZU T., FUKUYAMA M., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49, 645~649 (1987).
- 5) 播谷 亮: 家畜診療, 300, 39~48 (1988).
- 6) KIMMAN T. G. and VAN OIRSCHOT J. T.: *Vet. Pathol.*, 23, 303~309 (1986).
- 7) MATSUOKA T.: *Bull. Nippon Vet. Zootech. Coll.*, 38, 170~171 (1989).
- 8) MATSUOKA T., IJIMA Y., SAKURAI K., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49, 507~510 (1987).
- 9) NISHIMORI T., IMADA T., SAKURAI M., et al.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49, 365~367 (1987).
- 10) RINALDI A., CERUIO G. and FRITTOLE M.: *Vet. Ital.*, 16, 404~412 (1965).
- 11) 清水悠紀臣: 山口獣医学雑誌, 11, 1~16 (1984).