

茨城県における豚サイトメガロウイルス病の発生事例

赤上 正 貴 (茨城県県北家畜保健衛生所)

Akagami, M. (2006). Porcine cytomegalovirus infection in Ibaraki Prefecture.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 49, 39-43

はじめに

1955年英国の Done が、鼻炎を伴った豚の鼻甲介粘膜腺上皮細胞に大型好塩基性核内封入体が形成されているのを発見し封入体鼻炎として報告した。その後、分離されたウイルスがヒトやマウスのサイトメガロウイルスに類似していたことから、原因体は豚サイトメガロウイルス (PCMV) と命名され、現在では豚サイトメガロウイルス病と呼ばれている。

日本でも1972年に初めて封入体鼻炎の病理学的な報告があり、1985年に初めて PCMV が分離されている。1981年の全国的な PCMV 浸潤調査では肥育豚の98.4%が抗体陽性であった。日本でも養豚界に広く常在化しているウイルスで不顕性かつ持続感染しているが、ストレス軽減や十分な初乳給与といった適切な飼養管理により発症することは少ない病気である。

今回、茨城県内で認められた典型的な封入体鼻炎の発生事例の他に、神経症状を主徴とする PCMV に因るものと思われる非化膿性脳炎が2例認められた。これらの症例について病理学的に検討したのでその概要を報告する。

I 哺乳豚に発生した封入体鼻炎

○ 発生状況

平成15年1月頃より母豚120頭の一貫経営農家で、生後2週齢の哺乳豚で、くしゃみ、鼻づまり、腹式呼吸等の呼吸器症状が認められ、死亡する豚もいた。回復しても食欲不振と発育不良に陥った。

発症は SPF 農場から導入した母豚の哺乳豚からで、その後自家産母豚の子でも発症が認められた。1腹当たり3～4頭で約10腹に症状が認められた。

○ 材料及び方法

1. 材 料

呼吸器症状が認められた3週齢の哺乳豚2頭及び2週齢時に発症した後、回復した6週齢の離乳豚2頭である。

2. 方 法

全身臓器について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従いパラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE) を施した。

なお、鼻甲介及び腎臓について PCMV に対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検査を施した。

脳、扁桃、脾臓、腎臓、副腎を材料として CPK 細胞を用いてウイルス分離を実施した。

なお、脳、扁桃、脾臓、腎臓、副腎、肺、肝臓について PCMV の特異遺伝子検出 (PCR 検査) を実施した。また、肺については PRRS の PCR 検査を実施した。

○ 結 果

1. 剖検所見

外貌所見では、3週齢2頭の鼻孔が固形物により閉塞もしくは狭窄していた。

剖検所見では、3週齢1頭の腎臓に針尖大の出血が認められた。

2. 病理学的検索

HE 染色標本では、2週齢の哺乳豚に鼻粘膜腺上皮細胞、尿管上皮細胞及び唾液腺上皮細胞に大型好塩基性核内封入体が認められた (図1)。鼻甲介鼻粘膜上皮は一部が脱落して好中球が浸潤し、固有層には重度リンパ球浸潤が認められた。腎臓では核内封入体と関連した非化膿性間質性腎炎が認められた。

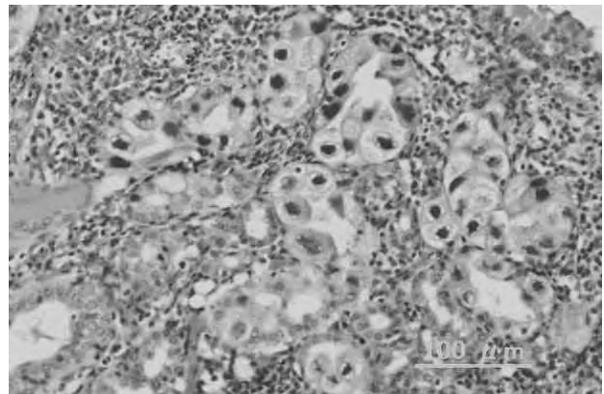


図1 鼻粘膜腺上皮の大型好塩基性核内封入体

小脳、中脳及び延髄の脳幹部では限局的な非化膿性髄膜脳炎が認められた。

6週齢の離乳豚では鼻粘膜腺上皮細胞にわずかながら好塩基性核内封入体が認められた。また、非化膿性間質性腎炎は極軽度であった。鼻粘膜固有層にはリンパ球浸潤は認められたが、鼻粘膜上皮の脱落はみられなかった。

PCMV に対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検査を実施したところ、鼻粘膜腺上皮及び尿管上皮に形成された核内封入体に一致して陽性反応が認められた (図2)。

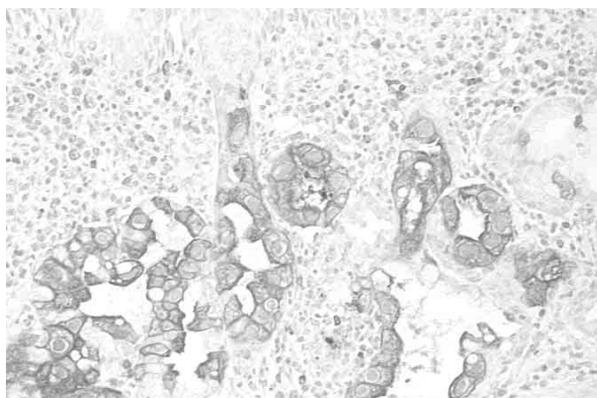


図2 抗 PCMV 血清で陽性を示す鼻粘膜腺上皮

3. 病原検索

各臓器からウイルスは分離されなかった。

PCR 検査により、全頭から PCMV の特異遺伝子が検出された (表1)。しかし、PRRS については特異遺伝子は検出されなかった。

表1 PCMV の PCR 検査結果

臓器	No.1	No.2	No.3	No.4
	3週齢		6週齢	
脳	+	-	-	-
肝臓	+	+	-	-
扁桃	+	+	+	+
腎臓	+	+	+	+
脾臓	+	+	+	+
肺	+	+	+	+

※ +: 遺伝子検出、 -: 検出されず

II 離乳豚の脳灰白質に認められた層状脳軟化

○ 発生状況

母豚13頭の一貫経営農家で、平成12年晩秋頃から離乳後7～10日の離乳豚が、斜頸、歩様蹠踉、旋回

運動、振戦などの突発的な神経症状を示すようになった。

同腹豚のうち約半数が死亡し、平成13年3月の病性鑑定実施までに40頭が死亡した。抗生物質 (塩酸リンコマイシン、カナマイシン、アンピシリン) 投与による治療で好転することはなかった。

母豚については、毎年オーエスキー病 (AD) 及び日本脳炎のワクチン接種を行っていた。

○ 材料及び方法

1. 材料

神経症状が認められた35日齢の離乳豚3頭である。

2. 方法

全身臓器について、10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従いパラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE) を施した。

なお、脳及び腎臓について PCMV に対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検査を施した。

脳、扁桃、脾臓、腎臓、副腎を材料として CPK 細胞を用いてウイルス分離を実施した。

なお、脳、扁桃、腎臓、について PCMV 及び豚サーコウイルス2型 (PCV2) の PCR 検査を実施した。

○ 結果

1. 剖検所見

各臓器に著変は認められなかった。

2. 病理学的検索

大脳では、灰白質の外顆粒層から内錐体層にかけて重度の層状脳軟化が認められ、分子層は残存していた (図3)。軟化巣には、脂肪顆粒細胞の浸潤、グリア細胞の増生、囲管性細胞浸潤が認められた。極稀に、軟化巣周囲の神経細胞に好塩基性核内封入体が認められた (図4)。残存する灰白質は限局的に空胞化しており、大脳白質及び脳幹部には著変が認められなかった。個体によっては、大脳皮質中層においてグリア結節及び囲管性細胞浸潤からなる層状非化膿性灰白質脳炎が認められるものもあったが、核内封入体は認められなかった。

腎臓尿管及び扁桃陰窩上皮に好塩基性あるいは好酸性核内封入体が多数形成されていた。

PCMV に対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検査を実施したところ、大脳病変部周囲のグリア細胞、マクロファージ及び神経細胞の細胞質で陽性反応が認められた。腎臓では尿管上皮

に形成された核内封入体に一致して陽性反応が認められた。

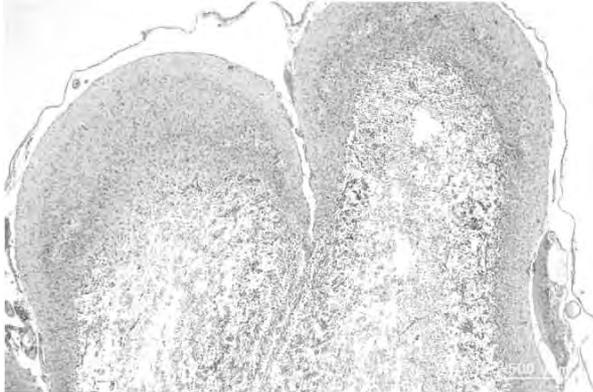


図3 大脳灰白質の重度層状脳軟化

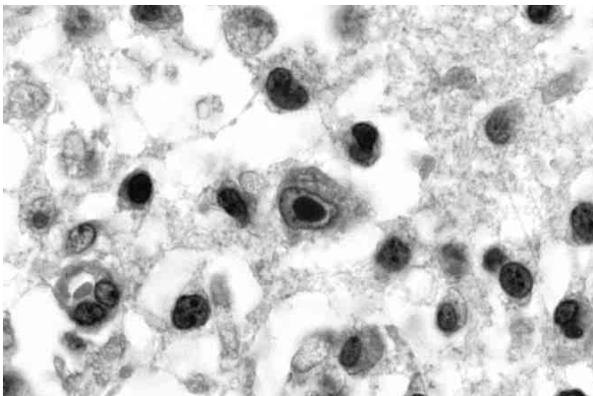


図4 神経細胞に形成された好塩基性核内封入体

3. 病原検索

2頭の扁桃から豚エンテロウイルスが分離された。

PCMVのPCR検査では、全頭の脳、腎臓、扁桃から特異遺伝子が検出された。また、脳、腎臓、扁桃についてPCV2のPCR検査を実施したが、特異遺伝子は検出されなかった。

ラテックス凝集反応によりAD抗体検出を行ったが全頭陰性であった。

III 離乳豚の大脳皮質に認められた層状灰白質脳炎

○ 発生状況

母豚80頭の一貫経営農家で、平成17年2月22、23日生まれの2腹19頭が、3月25日に離乳、その5日後に振戦及び起立困難の突発的な神経症状を呈した。同様の症状が3月上旬にも離乳豚で発生しており、発症豚3頭中2頭が死亡、1頭は耐過し歩行可能だったが著しい発育不良であった。

母豚については、毎年AD及び豚コレラのワクチン接種を行っていた。

○ 材料及び方法

1. 材料

神経症状が認められた35～36日齢の離乳豚3頭及び発症後約2週間が経過した約50日齢の耐過豚1頭の合計4頭である。

2. 方法

全身臓器について、10%中性緩衝ホルマリン液中で固定後、定法に従いパラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色(HE)を施した。

なお、脳についてPCMVに対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検査を施した。

脳、扁桃、脾臓、腎臓、副腎を材料としてCPK細胞を用いてウイルス分離を実施した。

なお、脳、扁桃、脾臓、腎臓、肺についてPCMV、PRRS及びPCV2のPCR検査を実施した。

○ 結果

1. 剖検所見

発症直後の3頭は、耳介、鼻鏡、下腹部にチアノーゼが認められ、耐過豚については殆ど発育していなかった。

発症直後の3頭では、腎臓髓質部に点状出血が散在していた。

2. 病理学的検索

発症直後の検体では、大脳皮質中層の帯状空胞化、神経細胞の変性壊死、囲管性細胞浸潤、軽度非化膿性髄膜炎が認められた。また、3頭中1頭の鼻粘膜上皮細胞に好塩基性核内封入体が確認された。

耐過豚については、大脳皮質中層における多発性グリア結節及び囲管性細胞浸潤が層状に認められ(図5)、脳溝には脂肪顆粒細胞が浸潤していた。グリア結節内あるいは周囲の神経細胞に形成されるCowdryA型及びB型の大型好塩基性核内封入体が



図5 大脳皮質中層の層状グリア結節性灰白質脳炎

散在していた(図6)。この核内封入体はフォイルゲン反応陽性だった。PCMV に対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織化学的検査を実施したところ、核内封入体形成細胞の細胞質に陽性反応が認められた(図7)。大脳白質及び脳幹部には著変が認められなかった。

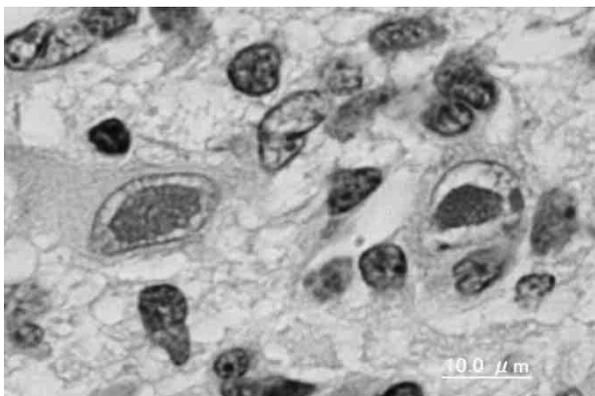


図6 神経細胞に形成される好塩基性核内封入体

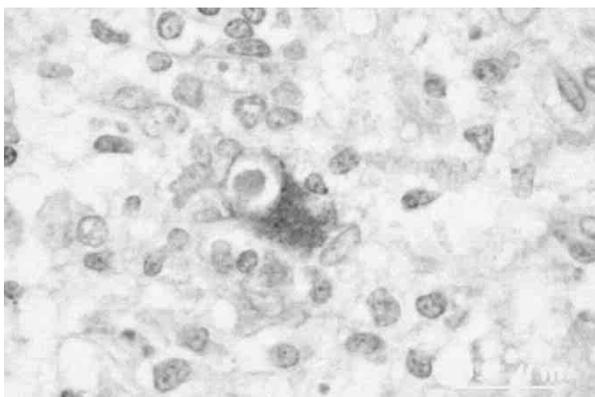


図7 抗 PCMV 血清で陽性を示す神経細胞

3. 病原検索

ウイルスは分離されなかった。

PCMV の PCR 検査では、発症直後の検体では、脾臓、腎臓、肺、扁桃のいずれかから特異遺伝子が検出された。また、耐過豚では脳、脾臓、腎臓、肺、扁桃全てから特異遺伝子が検出された(表2)。PCV2 については脾臓、腎臓、肺、扁桃及び PRRS については肺で PCR 検査を実施したが、特異遺伝子

表2 PCMV の PCR 検査結果

	No.1	No.2	No.3	No.4
脳	—	—	—	+
腎臓	+	—	+	+
肺	+	+	+	+
扁桃	—	+	—	+

※ +: 遺伝子検出、—: 検出されず

は検出されなかった。

AD ラテックス凝集反応では4頭中2頭で擬陽性となったが、ELISA 検査では全頭陰性だった(表3)。

PCV2 の抗体検査を実施したところ、4頭中1頭で陽性であった(表3)。

表3 抗体検査結果

	No.1	No.2	No.3	No.4
AD ラテックス凝集	—	±	±	—
AD-ELISA	—	—	—	—
PCV2	—	+	—	—

※+: 抗体検出、—: 検出されず、±: 擬陽性

考 察

症例 I については、初発が SPF 農場から導入した母豚から生まれた子豚であったことから、移行抗体を獲得できなかった哺乳豚が生後 PCMV に感染した可能性が高い。当時、複数の農場から同時期に母豚を導入したため、出産時期が重なったことが感染拡大の要因として考えられる。

PCMV の生後感染では、3 週齢までは全身感染を起こし、日齢が進むに連れて鼻粘膜腺などの上皮細胞に限局感染すると言われている。

3 週齢の哺乳豚では、ほぼ全身臓器で PCMV の特異遺伝子が検出され、うち1頭では脳でも陽性となった。また鼻甲介鼻粘膜の他に腎臓尿管や唾液腺上皮にも「フクロウの目」様の核内封入体が認められた。

一方、発症後に回復した6週齢の離乳豚では、鼻甲介鼻粘膜に僅かに封入体が認められる程度で、リンパ球浸潤などの炎症反応は弱く回復傾向にあった。しかし、封入体鼻炎を発症した個体は離乳後発育不良になるものが多く、生産性に与える影響は大きい。

通常の農場では、既存豚の多くが PCMV に不顕性感染しているため、SPF 豚を導入する際には、導入馴致対策及び分娩舎の衛生管理が非常に重要と思われた。

症例 II については発生当時、飼養管理に大きな変化はなかったが、秋から冬にかけて、約6割の母豚でその産子の約半数が離乳後7~10日の間に突発的な神経症状を呈して死亡した。発生は初産または2産目の子豚に集中していた。その間、哺乳豚に封入体鼻炎のような症状はみられなかった。

なお、この農家は昔から養豚業を営んでいたが既に廃業している。

AD は大脳神経細胞に核内封入体を形成し神経症状

を呈する代表的疾病だが、全頭とも AD 抗体は検出されなかった。また、病理学的ウイルス学的に PCV2 感染も認められなかった。

組織所見から扁桃陰窩上皮及び腎臓尿管上皮に多数の好塩基性核内封入体が認められ、これらの臓器から PCMV 特異遺伝子が検出された。

また、極稀に脳軟化巣の神経細胞に好塩基性核内封入体が認められたこと、PCMV の免疫組織化学的検索で神経細胞の細胞質に陽性反応が認められたこと、全頭の脳から PCMV の特異遺伝子が検出されたことから、この症例の脳軟化と PCMV 感染との相関性が強く疑われた。しかし、大脳皮質の脳軟化あるいは層状灰白質脳炎と PCMV 感染との因果関係を示す明確な所見は得られなかった。

症例Ⅲの農家では、発生当時新たな豚舎を建設中で、発生は古い豚舎で認められた。

症例Ⅱと同様に、冬季に離乳後 1 週間以内の離乳豚が突発性の神経症状を呈し、続発した。

発症直後と発症後 2 週間が経過した離乳豚を病性鑑定したところ、発症直後では大脳に炎症反応は殆ど認められず、神経細胞の変性壊死、皮質中層の層状空胞化、軽度髄膜炎が認められる程度だった。1 頭では鼻甲介鼻粘膜上皮に PCMV 性核内封入体形成が確認された。

一方、耐過豚では、症例Ⅱに類似した大脳皮質中層の層状グリア結節性灰白質脳炎が認められ、好塩基性核内封入体はフォイルゲン反応陽性、封入体形成細胞は PCMV の免疫組織化学的検索で陽性を示した。また、この好塩基性核内封入体は多発するグリア結節に一致して認められる傾向にあった。

AD については移行抗体によるものと判断される偽陽性反応、PCV2 についても 4 頭中 1 頭に認められた抗体陽性はリンパ組織における PCR 検査で全頭陰性だったことから、移行抗体と思われた。PRRS についても肺から特異遺伝子は検出されなかった。

以上の結果に加え、AD、PCV2、PRRS 感染を疑う病変形成は認められなかったことから、PCMV 単独感染による大脳皮質中層の層状グリア結節性灰白質脳炎と判断された。

症例Ⅱ及び症例Ⅲでは、突発性の神経症状を呈した離乳直後の豚で大脳皮質中層に層状グリア結節性灰白質脳炎が認められた。これらの症例では、神経細胞に好塩基性核内封入体が形成され、抗 PCMV 血清で同細胞が陽性反応を示し、PCR により PCMV の特異遺伝

子が検出された。豚病の清書や文献では、PCMV 感染によって中枢神経系に囲管性細胞浸潤やグリア結節が形成され、神経膠細胞に核内封入体が形成されるという記載があり、AIDS 患者では中枢神経系にサイトメガロウイルス性白質脳炎がしばしば認められる。

哺乳豚での PCMV 感染試験で、接種後 5～19 日後にウイルス血症が認められたことから、哺乳時期に感染し、離乳間近にウイルス血症を起こし、離乳ストレスや環境ストレスが引き金となって血液脳関門をウイルスが通過した結果、離乳直後に発症に至ったと推測された。

今回の事例は、豚サイトメガロウイルスが封入体鼻炎だけでなく、単独で中枢神経系にグリア結節病変を形成し、離乳直後の子豚に神経症状を起こしうることを示す野外例ではないかと思われる。

参考文献

- 1) Done,J.T.(1955): An "inclusion body" rhinitis of pigs. Vet.Rec., 67:525-527.
- 2) Edington,N et al.(1988): Vet. Microbiol, 16(2): 189-193.
- 3) Harry,V.V.(1989): Brain.,112:245-268.
- 4) 川村齊.(1991): 豚サイトメガロウイルス感染症. 日獣会誌., 44:987-991.
- 5) Konno,S. et al. (1972): Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn) 12:89-94
- 6) Narita,M. et al.(1985): Am.Vet.Rec.,45:1506-1510.
- 7) 田口雅持ら.(1985): 封入体鼻炎罹患豚からの豚ヘルペスウイルス 2 (豚サイトメガロウイルス) の分離. 日獣会誌., 38:792-796.
- 8) Tajima,T.et al.(1993): J.Vet.Med.Sci., 55:421-424.
- 9) 田島朋子 (1999): 豚病学、柏崎守ら編、第四版、244-247、近代出版。
- 10) Yosikawa,T.,Hanada,T.(1977): Jpa.J.Vet.Sci.,39: 47-58