

本邦におけるネコのウイルス性鼻気管炎

ヘルペスウイルスの分離と病理像

誌名	日本獣医学雑誌 = The Japanese journal of veterinary science
ISSN	00215295
著者名	土井,邦雄 小島,明広 稲見,芳治 八十島,昭 大川,仁
発行元	日本獣医学会
巻/号	37巻3号
巻号補足	
掲載ページ	p. 281-292
発行年月	1975年6月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Feline Viral Rhinotracheitis in Japan—Isolation of Herpes Type Virus and Pathologic Picture

Kunio DOI, Akihiro KOJIMA, Yoshiharu INAMI, Akira YASOSHIMA
and Hitoshi OKAWA

Pharmacological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.,
Kawagishi, Toda-shi, Saitama 335

(Received for publication November 28, 1974)

Abstract. Observation was carried out on 23 domestic cats involved in an outbreak of feline viral rhinotracheitis in a cat-breeding colony. The disease was highly contagious and exclusively characterized by acute signs of the involvement of the upper respiratory tract with marked emaciation. In the virological study, cytopathogenic agents were isolated in feline kidney monolayer culture from nasal and throat swabs of most infected animals. All the isolates exhibited essentially the same cytopathogenic characteristics. Physicochemical and biological studies on one representative isolate revealed that the isolate had many characteristics in common with the viruses of the herpesvirus group, especially with the causal agent of feline viral rhinotracheitis.

Pathological changes were found mainly in the mucous membranes of the upper respiratory tract, conjunctiva and mouth. In these areas, degeneration was found together with formation of intranuclear inclusion bodies in the mucous epithelia. The epithelia often underwent desquamation, which resulted in destruction of the epithelial layer. At the same time, marked inflammatory exudation occurred in the lamina propria mucosae, accompanied by edematous swelling and cellular reaction. Degeneration of the turbinate cartilage and destruction of the turbinate bone were also seen in some cases. Intranuclear inclusion bodies were mostly amphophilic and occupied almost the whole area of the markedly swollen nucleus without any clear halo. Some of them were acidophilic and surrounded by a distinct, wide halo.

本邦におけるネコのウイルス性鼻気管炎

—ヘルペスウイルスの分離と病理像

土井邦雄・小島明広・稲見芳治・八十島 昭・大川 仁
田辺製薬株式会社薬理研究所

ネコのウイルス性鼻気管炎 (Feline viral rhinotracheitis, FVR) については, Crandell and Maurer [4] が 1958 年に初めて報告して以来, おもにアメリカ合衆国において実験的研究が行なわれ, 病原ウイルスの性状や病理像が明らかにされている [3, 5, 8-10, 13, 16]. 一方, 本症の自然感染例の病理に関する報告 [2, 12, 14] は比較的数少なく, ことに集団発生例についてのそれは稀である [22]. 本邦においては, 佐々木ら

[21] および板倉ら [11] が本症の自然感染例について, ウイルス学的および病理学的検索を行なったが, そのほかには一二の症例報告 [17] があるに過ぎない.

我々は1974年4月下旬から5月上旬にかけて, あるネコ飼育舎において呼吸器症状を主徴とする一流行性疾患の集団発生に遭遇した. 罹病ネコについて臨床観察, ウイルス学的および病理学的検索を行ない, 問題となった疾病はネコのウイルス性鼻気管炎であると診断

した。この論文では、ウイルス学および病理学的検索成績の概要を述べる。

材料および方法

1. 発生状況

観察を行なったネコ飼育舎は、一般的衛生管理が行き届いた動物舎である。1974年4月下旬には、数カ月前に外部から購入し、健康状態の記録を行っていたネコ18頭が収容されていた。新たに外部から購入したネコ12頭を、4月25日に収容した。

異常に気付いたのは4月28日で、少数のものに元氣消失および食欲不振が認められた。次いで、これらのネコには、4月30日ごろにくしゃみ、漿液性または膿性の鼻汁の流出、および多量の眼脂の流出、および炎症性滲出物の眼・鼻または口周囲への付着などの症状が加わった。このような症状を呈するネコの数は急激に増え、5月6日ごろには削瘦が著しく、瀕死の状態に陥るものが多かった。

5月6日から10日までの間に、この飼育舎に収容されていたネコ全例を殺処分した。殺処分および病理解剖に先立って血液検査を行なったところ、ほとんど全例に好中球性の白血球数の増加 ($17,000 \sim 46,800/\text{mm}^3$) が認められ、約半数例は $3 \times 10^4/\text{mm}^3$ 以上の高値を示した (Table 2)。末梢血には、その他特記すべき変化を認めなかった。

2. 検索した動物

前項に記載した集団発生から得たネコ23頭 (6カ月令2頭および成畜21頭) について、検索を行なった (Table 2)。これらはいずれも発病後約10日で瀕死の状態になったもので、ネブタール麻酔を行ない放血殺し、剖検に付した。

3. ウイルス学的検索

剖検に先立ち、放血殺した個体の鼻から咽頭に滅菌綿棒を挿入して、滲出物を採取し、呼吸器系ウイルスの分離を目標に病原検索を実施した。さらに、無作為的に選り出した7例につき、腎臓細胞の直接培養によるウイルス分離を試みた。

a. ウイルス分離

鼻および咽頭ぬぐい液は、少量のイーグル MEM 培地に懸濁し、ペニシリン 500 u/ml とストレプトマイシン 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を加えて、3000 rpm で15分間遠心した。この遠心上清をウイルス分離の材料とした。培養細胞には健康な子ネコの腎細胞を用いた。培養液として、子牛血清を5%、トリプトース・ホスフェー

ト・ブロス を10%の割合に含むイーグル MEM 培地を用いた。

ウイルス接種には、培養3または4日目の、完全なシートの形成されたネコ腎細胞の単層培養を用いた。接種に際しては、培養シャーレから培養液を除き、被検材料 0.2 ml を接種した。接種後、60分間吸着し、新しい培養液を加えて、炭酸ガス培養をした。毎日、細胞変性効果 (CPE) の観察を行ない、同時に細胞培養からカバーグラスを取り出し、ブアン固定とヘマトキシリン・エオジン複染色を施して鏡検した。

腎臓細胞の直接培養によるウイルス分離試験の場合には、初代腎細胞の単層細胞シートが形成された後、咽頭材料接種試験と同様に、毎日 CPE の観察と染色標本の鏡検を行なった。さらに、可能な限りめくら継代を実施した。観察期間は、短い例でめくら継代2代を含み41日間、長い例でめくら継代7代を含む70日間である。

b. ウイルス性状の検索

ネコ腎培養細胞における CPE の出現を指標として、下に述べるような項目と方法で、分離した病原体の性状を検索した。

ウイルスの定量: ネコ腎細胞の試験管培養を用いた。被検材料を維持液で10倍段階希釈し、各希釈につき3本の試験管を用いた。接種後、4日目まで毎日 CPE の出現状況を観察し、Reed and Muench の方法により TCID₅₀/0.1 ml を求めた。

核酸型の決定: DNA 合成阻害剤であるデオキシウリジンのハロゲン誘導体を用いる方法で行なった [20]。

5-ヨード-2'-デオキシウリジン (IUDR) および 5-ブロム-2'-デオキシウリジン (BUDR) を、 10^{-4} モルの濃度を含む培養液で培養し、CPE の観察によって、ウイルス増殖の有無を調べた。

エーテル感受性: Andrews and Horstman [1] の方法に準じ、ウイルス液にエーテルを20%の割合に加え、4°C に18時間置いた。

クロロホルム感受性: Feldman and Wang [6] の方法で検討した。ウイルス液に10%の割合でクロロホルムを加え、室温に15分置いた。

酸安定性: Hamparian ら [7] の方法に従い、ウイルス液を pH 3.0 の酸性条件にして、室温に3時間置いた。

汎過試験: 孔径の異なる数種類の膜フィルターで、

ウイルスの透過性を検討した。膜フィルターには市販のミリポアフィルターを使用し、平均孔径 450, 200 および 100 m μ の 3 種類について実施した。膜フィルターの前処理は、Ver and Melnick [23] の方法に従った。

熱安定性: ウイルス液をアンプルに封入し、各種の温水に一定時間浸漬した。加熱処理後ただちに冷却し、内容液のウイルス量を測定した。加熱条件は 37°C 30 分, 37°C 24 時間, 45°C 30 分, 56°C 30 分, 60°C 30 分, 70°C 30 分とした。

4. 病理学的検索

剖検後ただちに各個体から組織片を採取し、10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。一部の材料については、同時にブアン液による固定も行った。パラフィン切片には、すべてヘマトキシリン・エオジン複染色を施し、必要に応じて Gomori の one step trichrome 染色, Lillie の過沃素酸シッフ染色, あるいは Feulgen 反応も行った。

結 果

1. ウイルス学的検索成績

a. ウイルス分離成績

検査した 23 例中, 21 例の鼻および咽頭材料から,

類似した CPE を示す病原体が分離された。腎細胞の直接培養によるウイルス分離の試みにおいては、いずれの例においても、CPE の出現を認めなかった。なお、腎の直接培養を行なった 7 例は、いずれも鼻および咽頭材料から、CPE を示す病原体が分離されたものである。

b. 分離ウイルスの性状

(1) 生物学的性状: 分離ウイルスは、いずれもネコ腎細胞に接種後 24~48 時間で、巣状の細胞の円形化および脱落を主体とする CPE を発現した (Fig. 1)。CPE は時間の経過とともに周囲の細胞に拡がり、72 時間後には細胞シートのほぼ全域に、CPE がみられるようになり、細胞シートの剝離が起こった。このような CPE を起こした培養細胞のヘマトキシリン・エオジン複染色標本では、接種後 24 時間以内に、Cowdry の A 型に属する封入体、すなわちおおむね好酸性で明暈形成を伴い、核のほぼ全域を占める封入体の形成が認められた (Fig. 2)。CPE の増強と平行して、封入体の数が増加した。21 例から分離されたウイルスは、上に述べたような CPE の発現状況を示した。

(2) 理化学的性状: 分離されたウイルスから一株 (T19-1 株) を選び、理化学的性状を検討した。得ら

Table 1. Summarized physicochemical properties of the T 19-1 isolate

Properties	Treatment	Titer*
Nucleic acid type	IUDR, 10 ⁻⁴ M/ml	1.5
	BUDR, ,,	1.5
	None	5.2
Ether and chloroform sensitivity	20% ether, 4°C, 18 hr	<1.0
	None	5.5
	10% chloroform, 20°C, 15 min	<1.0
Acid lability	None	5.2
	pH 3.0, 20°C, 3 hr	<1.0
	pH 7.0, ,, ,,	5.5
Size	Before filtration	4.7
	450 nm ,,	4.7
	200 nm ,,	4.7
	100 nm ,,	<1.0
Heat stability	Control	5.5
	37°C, 30 min	5.5
	37°C, 24 hr	4.2
	45°C, 30 min	4.2
	56°C, ,,	<1.0
60°C, ,,	<1.0	

Remarks.

*: Infective titer (log TCID₅₀/0.1 ml).

れた成績は、まとめて Table 1 に示した。

核酸型：培養液中に IUDR または BUDR を 10^{-4} モルの濃度に加えると、ウイルスの増殖は抑制された。Table 1 に示すように、いずれの場合も、対照と比較して、 $3.7 \log_{10}$ TCID₅₀/0.1 ml (以下 $3.7 \log$ と略す) の力価減少を示した。従って、分離ウイルスは DNA 型の核酸を持つと推察された。

エーテルおよびクロロホルム感受性：分離ウイルスは、エーテルおよびクロロホルム処理により、力価がほとんど消失し、対照と比べて $4.2 \log$ 以上の差を示した。

酸安定性：pH 3.0 の酸性条件では、分離ウイルスは完全に失活し、 $4.5 \log$ 以上の力価減少が見られた。有機溶剤に感受性があり、酸性条件に不安定な性状は、分離ウイルスがエンベロープを持つことを示唆するものである。

河過試験：ウイルス液を孔径の異なる膜フィルターで河過し、ウイルス粒子の大きさを推定した。平均孔径 $450 \mu\text{m}$ と $200 \mu\text{m}$ のフィルターを通過したウイルス液では、力価の減少はみられなかったが、 $100 \mu\text{m}$ のフィルター河過液では、力価が消失した。この成績から、分離ウイルスの直径は、 $100 \mu\text{m}$ から $200 \mu\text{m}$ の間の大きさと推定された。

熱安定性：分離ウイルスは、 37°C 30 分の加熱処理では力価の低下を示さなかったが、 37°C 24 時間および 45°C 30 分の処理で、 $1.3 \log$ の力価減少が認められた。 56°C 30 分、 60°C 30 分、 70°C 30 分の加熱

処理では、力価が消失した。従って、分離ウイルスは加熱処理に比較的不安定な性質を持つと判断された。

上に述べた分離ウイルスの理化学的性状は、Ham-parian et al. [7] の分類法におけるヘルペスウイルスの性状と一致するものである。

2. 病理学的検索成績

a. 病理解剖学的所見

眼瞼結膜の潮紅および水腫、上部気道とくに鼻粘膜および気道粘膜の充血および水腫性肥厚が、多くの例で観察された。一部の例では、黄白色の粘稠な滲出物による鼻腔の閉塞、副鼻腔の蓄膿、鼻甲介の変形、鼻粘膜および気管粘膜における白濁した粘稠な滲出物の蓄積、あるいは偽膜の付着などが観察された。肺は変化に乏しく、ごく少数の例で限局性の肺炎巣が認められたに過ぎない。

このほか肝実質の色調異常 (8 例)、一側性の角膜混濁 (1 例) 等が観察された。なお、5 例の子宮内に胎児が認められた。とくに 2 例のそれは出生間近と考えられた。母体を剖検した時点では、胎児はいずれも生きており、肉眼的にも異常を示さなかった。

b. 病理組織学的所見

Table 2 に示すように、病変はおもに上部気道粘膜、眼瞼結膜および口粘膜にみられた。これらの粘膜組織では、変化の強さや出現頻度には差があるが、特徴的な変化として、粘膜上皮細胞の核内封入体形成を伴う炎症性または壊死性の変化が指摘された。病変は一部の例の肺、リンパ系臓器および肝にもみられた。上記

Table 2. Explanation of materials and distribution of histopathological lesions

Animal No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Sex	♂	♀	♂	♀*	♀*	♀	♀	♂	♀	♂	♀*	♂	♂	♂	♀	♀*	♀*	♂	♀	♀	♀	♀	♂	
White blood cell count ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	468	243	N	318	230	187	272	326	304	212	193	230	240	323	301	216	383	419	368	298	171	180	203	
Virus isolation	+	+	N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Distribution of mucosal lesions	Nose	N	N	N	N	N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Larynx and trachea	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+
	Bronchus and bronchiolus	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	Conjunctiva	N	N	N	N	N	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+
	Mouth	N	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+

Remarks.

Two animals, Nos. 18 and 23, were 6 months old. The others were adult.

*: Pregnant.

N: Not examined.

の粘膜上皮細胞にみられた核内封入体については、後に一括して述べ、各組織の所見の項では、単に「封入体」と記載する。

上部気道粘膜（鼻、喉頭および気管）：変化の軽度な例では、鼻から気管に至る各部を通じ、上皮細胞の限局性の壊死や剥離が所々にみられた。その周辺では上皮細胞が一般に腫大し、少数の細胞は、封入体を形成していた。このような上皮細胞層に接した固有層には、軽度の好中球浸潤、水腫および充血がみられた。鼻粘膜では、上皮細胞層の変化とともに、軽度ながら甲介部における軟骨細胞の変性が注目された。

変化が進むと、上皮の壊死および脱落は、広範囲にわたって一層著明となった。粘膜の荒廃が著しく、ある場合には潰瘍を形成し、あるいは高度の滲出性変化とともに偽膜を形成する（Fig. 3）。残存している上皮細胞は一般に腫大し、しばしば封入体を含む（Fig. 4）が、少数の例では再生の像が観察され、粘膜層の多層化が認められた。

粘膜固有層は水腫性で幅を増し、同時に顕著な好中球浸潤と線維素の析出を伴っていた。他の少数例では、円形細胞の浸潤および間葉系細胞の軽度の増殖が固有層にみられ、その表面を再生した扁平な上皮細胞がおおっている像（Fig. 5）がみられた。

鼻腺や気管腺は腔が拡張し、腺の上皮細胞のあるものは封入体を形成し、壊死に陥り、脱落していた（Fig. 6）。粘膜固有層の血管は高度に拡張充盈し、しばしば血流静止の像を呈し、さらに、少数の例では血管壁が硝子様壊死に陥っていた。

鼻甲介では、上記の粘膜病変と同時に、甲介部の軟骨細胞の変性（Fig. 4）がみられた。まれには甲介骨の周囲に破骨細胞が出現し、骨組織の変性と活発な吸収像（Fig. 7）が認められ、甲介骨は菲薄となっていた。このような鼻甲介軟骨の変性および骨の解体の著しい例では、鼻甲介の変形がみられた。なお、軟骨細胞の変性は甲介部に限られ、気管では認められなかった。

上に述べた粘膜の変化は、上部気道の各部を通じ、質的に共通のものであった。同一個体において、鼻粘膜（鼻甲介を含む）の変化が、喉頭および気管のそれより著しい場合が多かった。

眼瞼結膜：眼瞼結膜 18 例を検索したが、8 例において、上部気道粘膜のそれに準じた変化（Fig. 8）がみられた。第三眼瞼軟骨には特記すべき変化を認めなかった。

口粘膜（舌、咽頭および口蓋扁桃）：約半数例の舌、咽頭および口蓋扁桃の粘膜に、上部気道粘膜や眼瞼結膜でみられたのとほぼ同じ性質を有する変化が認められた。ただしこれらの部位では、病変は巣状に限局することが多く、広範囲に拡がることはまれであった。

肺：5 例の気管支および細気管支の粘膜に、上部気道粘膜の変化とほぼ同じ性質を有する変化が認められた（Fig. 9）。そのうち 3 例では、炎症性変化がみられる気管支を中心として、周囲の肺胞には炎症性滲出、泡沫細胞の出現、または肺胞壁の円形細胞浸潤がみられ、巣状に無気肺化していた。また 1 例では、一部の気管支および細気管支の粘膜上皮細胞が著明に腫大増数していたが、他の部位では上皮細胞が変形し、扁平上皮細胞様の形態を示していた。以上述べたような炎症性病変と同時に、一般に肺組織には肺動脈枝の鬱血および血流静止が目立っていた。なお 1 例では、巣状の肺胞内出血がみられた。

脾およびリンパ節：約 3 分の 1 例の脾では、汙胞の成熟リンパ球が減少し、汙胞全体が萎縮していた。赤色髄には種々な程度の鬱血と好中球の浸潤がみられた。リンパ節の変化は、脾のそれとほぼ同様であった。1 例（No. 14）では、汙胞および髄索に巣状壊死が多発していた。

肝：肝では一般に、門脈枝の鬱血または血流静止を示す例が多い。門脈枝、中心静脈または類洞腔に好中球が目立つ例があった。大多数の例で小葉中心性に種々な程度の肝細胞の脂肪浸潤がみられたが、とくに明瞭なものが 9 例あった。例によっては、脂肪浸潤と同時に、好酸性壊死に陥った肝細胞や、硝子体を有する肝細胞が小葉内に散見された。なお 1 例（No. 6）で、出血を伴う巣状壊死が、また他の 1 例（No. 22）で、主としてグリッソン鞘内にリンパ系細胞の強い浸潤が、それぞれ認められた。

脳：4 例の脳で、中ないし小口径血管の周囲および管壁における円形細胞の套状出現が注目された。一部の例では、グリア細胞の小集簇が散発的に認められた（Fig. 11）。このような変化の出現部位には、一定の傾向はみられず、大脳および小脳の軟膜、および白質と灰白質を含む実質に散在していた。ただ変化の程度は、大脳の下垂体を含む横断面でやや著しかった。また一般に脳においても、他の組織と同様に、鬱血および血流静止が認められた。

その他の臓器：巣状の心筋壊死（1 例）および高度

の間質性腎炎(1例)のほか、大多数の上記以外の臓器で、種々な程度の鬱血が認められた。

核内封入体の分布と形態: 核内封入体はすでに述べたように鼻、甲介、喉頭、気管、気管支、細気管支、眼瞼結膜、舌、咽頭および口蓋扁桃の粘膜上皮細胞、および粘膜腺の上皮細胞にみられた。とくに上部気道粘膜では、封入体は最もしばしば観察され、同時に炎症性病変も高頻度に認められた。

出現部位のいかんを問わず、封入体の形態学的特徴は共通していた。すなわち、封入体の認められる細胞は、一般に核および胞体が腫大しており、核壁の濃染を伴っていた。封入体は、ある細胞では腫大した核のほぼ全域を占め、核壁との間には明らかな明暈がなかった。またある細胞では、封入体はやや小さく、核のほぼ中央部に位置し、核壁との間に幅の広い明らかな明暈を有しているなど、種々な像を呈していた(Fig. 11)。前者は一般に HE 染色で淡両染性に、また Trichrome 染色で淡赤色に染まり、Feulgen 反応には弱陽性(Fig. 12)、PAS 染色には不染であった。後者は一般に HE 染色でエオジンに濃染し、Trichrome 染色では濃赤色を呈した。Feulgen 反応には陰性、まれに極めて弱い陽性で、PAS 染色には不染性であった。

胎児: 妊娠個体5例から得た胎児について行なった病理組織学的検索では、特記すべき変化は認められなかった。また胎盤からも、特記すべき所見は得られなかった。

考 察

あるネコ飼育舎において集団発生したネコのウイルス性鼻気管炎の23症例について、ウイルス学および病理学的検索を行なった。

臨床症状は全例にほぼ共通しており、鼻汁および眼脂の流出が目立った。この疾病は急速に蔓延し、食欲不振や衰弱などの全身症状も著しい。最初に異常に気付いてからはほぼ10日後に、飼育舎のネコのほとんど全例が瀕死の状態に陥った。このような疾病の流行は、このネコ飼育舎では以前に経験がなかった。一方たまたま新たに購入したネコを同一舎内に収容し、数日後に発症が始まったので、一見健康と思われた新規導入個体により、病原体が持ち込まれた可能性が大きい。

すでに Lindt その他 [15, 19] が指摘しているように、ネコの上部気道疾患の鑑別は、臨床症状のみでは困難である。そこで上に述べたような発生および臨床

所見から考えて、病原因子としてウイルスが介在する可能性が大きいと判断し、ウイルスの分離を試みた。その結果、臨床的にも、病理学的にも、共通して侵されている鼻および咽頭のぬぐい液から、同様な性状の細胞病原性を示す病原体が高率に分離された。

この病原体は、同一病例の腎からは分離されなかった。分離された病原体から一株(T19-1株)を選び、その理化学的および生物学的性状を調べた。その結果、このものがヘルペスウイルス群に属するウイルスであること、さらに Crandell and Maurer [4] らが記載しているウイルスと、種々な生物学的性状が一致していることが明らかとなった。

病理組織学的検索では、病変は上部気道、眼瞼および口の粘膜に主として観察された。これらの部位には、核内封入体の形成を伴う炎症性または壊死性の病変が、種々な程度の激しさおよび拡がりをもって認められた。とくに上部気道粘膜には、常に明らかな病変がみられた。このような病理像は、FVR の自然感染例 [2, 11, 12, 14] や実験感染例 [3, 5, 8-10, 13] についての従来の幾多の記載に、ほぼ準ずるものである。

病変の軽度な例および激しい例を通覧すると、これらの粘膜病変においては、粘膜上皮細胞の封入体形成があり、これに続く退行性変化が粘膜上皮層を破壊し、それに伴い、固有層に広範囲にわたって滲出性現象が起こる過程が観察された。従って病変の成立に際し、粘膜に感染するウイルスには、一次的な病原因子としての意義が与えられるべきであると考えられる。

封入体の形態や染色性に関しては、Crandell and Maurer [4] 以来報告されている封入体、すなわち核のほぼ中央に位置し、核壁との間に明瞭な明暈を伴う好酸性の封入体のほか、各部を通じて目立ったものは、むしろ著明に腫大した核のほぼ全域を占め、明暈の形成が判然としない淡両染性の封入体であった。このように、明暈の有無や染色性に関して異なった性質を示す2種の封入体が見られた。それらの中には、また多くの移行型が観察された。一般にヘルペス型ウイルスによる封入体形成の場合に知られているように、この場合も、個々の細胞における封入体の形態の差は、それらの細胞の感染時期の差に基づくものと考えられる。

Bistner [2] は Feline herpesvirus (FHV) 感染ネコの角膜上皮細胞で、large basophilic intranuclear inclusion body と呼ぶ封入体の存在を報告している。

この封入体は、われわれが認めた淡両染色性封入体に相応する可能性がある。また板倉ら [11] は、本症の上部気道粘膜上皮細胞で好酸性の核内および細胞質内封入体を、さらに肺組織の電子顕微鏡的観察で、ヘルペス型ウイルスの特徴を示す粒子を認めた。今回のわれわれの観察では、細胞質内封入体は認められていない。

われわれが扱った材料は、すべて発症後の経過が約 10 日間という短かさであったにもかかわらず、少数の例で、上部気道粘膜にすでに増殖性または再生性的変化が起こっていた。また少数の例で、粘膜の炎症性変化の進展が著しく、ジフテリー性偽膜の形成や、粘膜固有層の高度の炎症性水腫が観察された。細菌学的検索は行なっていないが、このような例では、気道感染としての性格から、二次的な感染が起こっていた可能性が大きい。

鼻甲介では、上述の粘膜の変化とともに、少数の例で、Crandell ら [5] や Hoover ら [8] の報告にみられるような甲介骨の骨解体像が認められた。同時に甲介軟骨細胞の変性も観察された。骨解体はほとんど常に粘膜における高度の病変を伴っていたが、軟骨の変性が粘膜の変化が軽度な例にもみられたことは、興味深い。

甲介軟骨や甲介骨の病変の病理発生と関連して、Hoover ら [10] が幼若ネコに FHV を静脈内接種し、甲介骨だけでなく、成長期にある長骨にも、封入体形成と変性性病変を起こさせたことは注目される。かれらは FHV 感染に伴う骨病変の病理発生には、必ずしも粘膜の病変が先行する必要はなく、骨新生部におけるウイルス感染と血管内皮の崩壊が、重要な役割を果たすであろうと考えた。われわれの材料では、甲介骨および軟骨の退行性病変と関連した封入体の形成は認められなかった。いずれにしてもこれらの部位の病変を、粘膜からの病変の波及に基づくものと単純に結論することはできないと考えられる。

肺では気管支や細気管支の粘膜に、上部気道粘膜のそれと同様な変化が指摘された。本病では一般に肺の病変は、上部気道のそれに比べて出現頻度が低い [2, 5, 8] とされている。今回の観察においても、肺における病変は軽度で、出現頻度も低かった。

肺病変の病理発生に関しては、それが FHV の感染による一次的な変化であるか、あるいは二次的な細菌感染によるものか、論議のあるところである [16]。われわれの検索例でも、また Hoover ら [8] の無菌ネコ

を使った実験感染例でも、気管支または細気管支の粘膜上皮細胞には、上部気道の粘膜上皮細胞にみられたものと同じ核内封入体の形成があった。このことから、気管支または細気管支の粘膜が、FHV の侵襲点の一つとなり得ることは、疑問の余地がないと考えられる。

その他の臓器の病変として注目されたものに、中枢神経系の血管および血管周囲性細胞浸潤がある。今回の材料のうち 4 例において、限局性かつ散発性に、中枢神経系の各部に血管とその周囲における円形細胞の集簇を認めた。このような所見が、同時に観察された鬱血や血流静止と、どんな関係にあるのか、あるいは FHV 感染と原因的に関係を持っているのか、または単に偶発性の所見として扱うべきかについては、さらに検討を要するものと考えられる。このことに関連して Karpas and Routledge [13] が、実験感染例 1 例および自然感染例 2 例の脳から、FHV を分離したと報告しているのは興味深い、かれらは病変について論及していない。

一般に多くの臓器・組織で、鬱血および血流静止がみられ、血管腔では内皮細胞に接して好中球がしばしば認められた。このような全身の循環障害、あるいは末梢血における白血球増多のような所見は、上記の粘膜系の病変とともに、本症の全体像を理解する上で重要と考えられる。

今回の検索材料には妊娠個体が 5 例含まれていたが、Hoover and Griesemer [9] が報告しているような核内封入体形成を伴う胎盤および子宮内膜の病変は認められなかった。Bittle and Peckham [3] は、FHV の感染によって、胎児や新生児に肝実質の巣状壊死、およびその部の肝細胞に核内および細胞質内封入体の形成がみられることを報告している。これら研究者の所見は、胎生あるいは新生児期に、FHV により全身性感染が起こる可能性があることを示すものと考えられる。一般に妊娠期における母体および胎児に及ぼすウイルス感染の影響は、感染の時期により異なることが知られている。このような関係から、われわれの材料では胎児に病変が認められなかったのではないかと考えられる。

要 約

あるネコ飼育舎において集団発生したネコのウイルス性鼻気管炎の 23 症例について、ウイルス学および病理学的検索を行なった。ウイルス学的検索では、

ほぼ全例の鼻および咽頭のぬぐい液から、同様な性状の細胞病原性を示す病原体が分離された。

このうちの一株を選び、理化学的および生物学的性状を調べたところ、この病原体はヘルペスウイルス群のウイルスで、さらにネコのウイルス性鼻気管炎の病原ウイルスとして記載されているものと、その性状が一致した。

病理学的変化は上部気道、眼瞼および口の粘膜に主として観察された。これらの部位では、粘膜上皮細胞における封入体の形成、およびこれに続く退行性変化が、粘膜上皮層の破壊を招来し、これに伴って粘膜固有層に、広範囲にわたって滲出性現象が起こる過程が観察された。同時に、鼻甲介で甲介軟骨の変性および甲介骨の骨解体が認められた。

粘膜上皮および粘膜腺上皮に観察された核内封入体は、著明に腫大した核のほぼ全域を占め、明暈の形成が明らかでない淡染性のものが多く、核のほぼ中央に位置し、核壁との間に明瞭な明暈を伴う好酸性のものは、むしろ少なかった。

謝 辞

本研究は著者らの属する研究所の所長、阿部久二博士の援助、ならびに岡庭梓および佐久間貞重両博士の有益な助言に負うところ大である。また藤波不二雄および牛込繁雄両氏を始めとする研究室各位の助力に心から感謝する。

文 献

- [1] Andrews, S. H., and Horstmann, D. M. (1949). The susceptibility of viruses to ethyl ether. *J. gen. Microbiol.*, **3**, 290.
- [2] Bistner, S. I., Carlson, J. H., Shively, J. N., and Scott, F. W. (1971). Ocular manifestations of feline herpesvirus infection. *J. Amer. vet. med. Ass.*, **159**, 1223-1237.
- [3] Bittle, J. L., and Peckham, J. C. (1971). Comments: Genital infection induced by feline rhinotracheitis virus and effects on newborn kittens. *J. Amer. vet. med. Ass.*, **158**, 927-929.
- [4] Crandell, R. A., and Maurer, F. D. (1958). Isolation of a feline virus associated with intranuclear inclusion bodies. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, **25**, 1254-1261.
- [5] Crandell, R. A., Rehkemper, J. A., Niemann, W. H., Ganaway, J. R., and Maurer, F. D. (1961). Experimental feline viral rhinotracheitis. *J. Amer. vet. med. Ass.*, **138**, 191-196.
- [6] Feldman, H. A., and Wang, S. S. (1961). Sensitivity of various viruses to chloroform. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, **106**, 736.
- [7] Hamparian, V. V., Hilleman, M. R., and Ketler, A. (1963). Contributions to characterization and classification of animal viruses. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, **112**, 1040.
- [8] Hoover, E. A., Rohovsky, M. W., and Griesemer, R. A. (1970). Experimental feline viral rhinotracheitis in the germfree cat. *Amer. J. Path.*, **58**, 269-282.
- [9] Hoover, E. A., and Griesemer, R. A. (1971). Experimental feline herpesvirus infection in the pregnant cat. *Amer. J. Path.*, **65**, 173-188.
- [10] Hoover, E. A., and Griesemer, R. A. (1971). Bone lesions produced by feline herpesvirus. *Lab. Invest.*, **25**, 457-464.
- [11] 板倉智敏・五藤精知・橋本 晃・菅沼保治・岡田幸助・藤本 胖 (1972). 猫にみられたヘルペス型ウイルス感染による呼吸器系疾病の病理像について、日獣誌 (学会号), **34**, 112.
- [12] Johnson, R. H., and Thomas, R. G. (1966). Feline viral rhinotracheitis in Britain. *Vet. Rec.*, **79**, 188-190.
- [13] Karpas, A., and Routledge, J. K. (1968). Feline herpesvirus: Isolation and experimental studies. *Zbl. Vet.-Med.*, **15**, 599-606.
- [14] Lindt, S., Muhlethaler, E., und Bürki, F. (1965) Enzootischer, virusbedingter Katzenschnupfen in einem Tierheim. I. Klinik, Patho-Histologie, Ätiologie und Epizootiologie. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, **107**, 91-101.
- [15] Lindt, S. (1965). Zur Morphologie und Ätiologie der Erkrankungen des oberen Respirationstraktes bei Katzen. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, **107**, 196-203.
- [16] Love, D. N. (1971). Feline herpesvirus associated with interstitial pneumonia in a kitten. *Vet. Rec.*, **89**, 178-181.
- [17] 松尾豊治 (1966). 猫の疾病治験ならびに畸形について、獣医畜産新報, No. 436, 1335-1336.
- [18] Povey, R. C., and Johnson, R. H. (1967). Further observations on feline viral rhinotracheitis. *Vet. Rec.*, **81**, 686-689.
- [19] Panel of the Colloquium on Selected Feline Infectious Diseases (1971). *J. Amer. vet. med. Ass.*, **158**, 838-840.
- [20] Salzman, N. P. (1960). The rate of formation of vaccinia deoxyribonucleic acid and vaccinia virus. *Virology*, **10**, 150.
- [21] 佐々木文存・中井正久・岩本市蔵・上羽 修・小北 達・須磨 一郎 (1968). ネコのウイルス性鼻気管炎と思われる発症例について、日獣誌 (学会号), **30**, 120.

- [22] Spradbrow, P. B., Carlisle, C., and Watt, D. A. (1971). The association of a herpesvirus with generalised disease in a kitten. *Vet. Rec.*, **89**, 542-544.
- [23] Ver, B. A., Melnick, J. L., and Wallis, C. (1968). Efficient filtration and sizing of viruses with membrane filters. *J. Virol.*, **2**, 21.

Explanation of Figures

- Fig. 1. Secondary feline kidney cell culture infected with the T 19-1 isolate and showing swollen rounded cells, 1 day postinoculation. Unstained living culture. $\times 150$.
- Fig. 2. Intranuclear inclusion bodies in secondary feline kidney cell culture infected with the T 19-1 isolate, 2 days postinoculation. Hematoxylin and eosin (HE) staining, $\times 1,050$.
- Fig. 3. Longitudinal section of the trachea of Animal No. 17. The mucous membrane is swollen and edematous, and covered with a thick layer of inflammatory exudate and a pseudomembrane. HE staining, $\times 10.6$.
- Fig. 4. Turbinate of Animal No. 19. Destruction and thickening of the epithelial layer (upper left) are seen side by side. Leukocytic infiltration and degeneration of the turbinate cartilage (arrow) are also clearly seen. HE staining, $\times 150$.
- Fig. 5. Turbinate of Animal No. 12. The mucous membrane has lost its original structure and is covered with a single layer of flat squamous epithelial cells (arrow). Edematous lamina propria mucosae is infiltrated by round cells. Mesenchymal cells have increased. HE staining, $\times 300$.
- Fig. 6. Trachea of Animal No. 17. Epithelia of the mucous membrane and tracheal glands have similarly undergone necrosis. Severe infiltration of leukocytes and round cells is noticed. HE staining, $\times 150$.
- Fig. 7. Turbinate of Animal No. 8. Marked inflammatory exudation and osteolysis are seen in the turbinate. Osteoclasts and fragments of the turbinate bone (arrows) are scattered in the inflammatory exudate. HE staining, $\times 150$.
- Fig. 8. Conjunctiva of Animal No. 21. Marked edema and leukocytic infiltration are seen in the mucous membrane. HE staining, $\times 150$.
- Fig. 9. Bronchus of Animal No. 5. Circumscribed destruction of the mucosal epithelium. Some epithelial cells contain intranuclear inclusion bodies (arrows). HE staining, $\times 150$.
- Fig. 10. Brain of Animal No. 10. Vascular and perivascular infiltration with round cells and diffuse aggregation of glial cells (arrow). HE staining, $\times 150$.
- Fig. 11. High-power magnification of a part of Fig. 4. Intranuclear inclusion bodies (arrows) in swollen epithelial cells. Some of them are slightly amphophilic and occupy almost the whole area of the nucleus. Others are acidophilic with a clear halo. HE staining, $\times 600$.
- Fig. 12. Turbinate of Animal No. 12. Intranuclear inclusion body (arrow) is Feulgen-positive. Feulgen reaction, $\times 1,050$.



