

腎炎を伴った病鶏から分離された鶏伝染性気管支炎ウイルスの性状

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	山中, 盛正 網本, 勝彦 平松, 計久
巻/号	41巻6号
掲載ページ	p. 416-420
発行年月	1988年6月

腎炎を伴った病鶏から分離された鶏伝染性気管支炎ウイルスの性状

山中盛正* 網本勝彦* 平松計久* 中井正久* 佐々木文存*

(昭和 63 年 3 月 18 日受理)

Some Characteristics of Infectious Bronchitis Virus Strains Isolated
from Chickens with Nephritis
MORIMASA YAMANAKA (Division of Microbiology, Kyoto Biken Laboratories,
Inc., Uji, Kyoto 611), KATSUHIKO AMIMOTO, KAZUHISA HIRAMATSU,
MASAHISA NAKAI and NORIMASA SASAKI

SUMMARY

Seven infectious bronchitis virus (IBV) isolates, obtained from kidneys after natural outbreaks of nephrosis-nephritis syndrome in Japan in 1986 and 1987, were examined for nephropathogenicity by eye- and nose-drop inoculation of day-old specific-pathogen-free (SPF) chicks or intravenous inoculation of four- to five-week-old chicks. Six of the 7 isolates were shown to cause nephritis lesions within 10 days of inoculation, similar to those of field cases, but there was a considerable variation in the incidence of kidney lesions among the strains.

By cross-neutralisation tests, these isolates were shown to be divided serologically into three different types. However, they were antigenically different from the three known IBV strains (M-41, A-5968 and Gray).

In these studies, there was a correlation between the serotype of the viruses, the district where the virus was isolated and the nephropathogenicity for SPF chicks.

要 約

1986年から1987年の間に認められた、各地の腎炎を呈する病鶏の腎より分離した鶏伝染性気管支炎 (IB) ウイルス 7 株の血清学的性状、および、SPF ヒナに対する病原性について比較検討した。

交差中和試験から、各分離株は 3 つの血清タイプに分けられたが、いずれも既知株である、M-41、A-5968 および Gray 株とは異なる血清タイプと考えられた。

発育鶏卵で 2～4 代継代した材料の初生ヒナ点眼・点鼻接種、あるいは 4～5 週齢ヒナ静脈内接種により、分離株 7 株中 6 株は、野外例と同様の腎病変の形成を認めたが、株により、その発現率には差異が認められた。

分離株の血清タイプ、および、分離地域とヒナの腎に対する病原性との間には関連性が認められた。

鶏伝染性気管支炎ウイルス (IBV) に感染したニワトリの中には、呼吸器症状あるいは産卵障害を示す以外に、腎炎を呈する例のあることが知られている^{3,7,11}。わが国においては、1971年に島倉と平井¹⁰が腎炎を主徴とした病鶏から IBV を分離したことを報告しており、さらに近年、とくにブロイラーを中心に、IBV の関与が確認されたニワトリの腎炎に関する報告も見られる^{4,5,12}。

著者らは、1986年から1987年にかけて各地のブロイラー養鶏場で発生の見られた激しい下痢と、腎の高度の腫脹を主徴とした症例について病性鑑定を行った。その結果、病鶏の腎から多数のウイルスが分離され、それらは

生物学的および血清学的諸性状から IBV と同定された。

本報では、分離された IBV 各株について行った既知株との生物学的および血清学的性状の比較、および、SPF ヒナに対する病原性の比較試験成績について報告する。

1. 材料および方法

1) IBV 株

臨床的に激しい下痢と斃死、剖検で腎の腫脹、組織学的に腎炎を呈していたヒナの腎より発育鶏卵を用いて分離し、IBV と同定されたウイルスのうち、代表的な 7 株 (2399, 2633, 2701, 2702・7K, 2738, 2878 および 2933 株) を用いた (表 1)。また、対照として既知の IBV 3 株 (M-41, A-5968 および Gray 株) を供試した。

* 微生物化学研究所 (京都府宇治市槇島町24-16)

表1 IBV ウイルス野外分離株の由来

鶏群	分離年月	場所	鶏種*	日齢	IBワクチン接種歴	腎からのIBV分離成績**	代表株名
1	'86.1	宮崎	B	58	+	1/3	2399
2	'86.6	宮崎	B	48	+	2/6	2633
3	'86.8	宮崎	B	58	+	1/1	2701
4	'86.8	徳島	B	29	-	5/5	2702・7K
5	'86.9	徳島	B	35	-	3/5	2738
6	'87.1	宮城	L	56	+	2/5	2878
7	'87.2	和歌山	B	52	+	2/5	2933

注) * B: ブロイラー L: レイヤー ** : 分離株数/検査例数

2) IBV 野外分離株の同定

分離株を发育鶏卵の尿膜腔内に接種後、鶏胚に対する病原性を検査するとともに、各株の感染尿膜腔液 (CAF) の濃縮抗原を作製し、抗 M-41 株血清との寒天ゲル内沈降 (AGP) 反応を行って、特異的な沈降線形成の有無を検査した。さらに、トリアデノ、トリレオ、伝染性 F 嚢病あるいはマレック病ウイルスに対する抗血清を使用し、同様に AGP 反応を実施した。また、鶏腎 (CK) 細胞における CPE 発現、ブラック形成、鶏赤血球凝集性の有無についても検討した。物理化学的性状については、CK 細胞を用い、常法に従い、5-ヨード-2'-デオキシウリジン (IUDR)、20% エーテル、あるいは 0.25% トリプシン処理における増殖性を調べた。

3) 发育鶏卵およびヒナ

当研究所で開発、維持している SPF 鶏群由来の、10 日齢发育鶏卵および初生あるいは 4~5 週齢のヒナを使用した。

4) 免疫血清

免疫血清は、4~5 週齢ヒナに、それぞれ各株の感染 CAF を点眼・点鼻接種し、さらに 2 週後に静脈内注射して、その 2 週後に全採血して作製した。

5) 中和試験

野外分離株間ならびに、既知 IBV 株間との交差中和試験は、发育鶏卵を用いてウイルス希釈法により行った。すなわち、SPGA 液 (0.2 M サッカロース、0.0038 M リン酸 1 カリウム、0.0072 M リン酸 2 カリウム、0.0049 M L-グルタミン酸ナトリウム、1% 牛血清アルブミン) で希釈した各株の感染 CAF の 10 倍階段希釈液に、5 倍希釈した免疫血清を等量混合し、37° で 60 分間感作後、その 0.1 ml を各希釈 5 個の 10 日齢发育鶏卵の尿膜腔内に接種、培養した。接種後 7 日間観察し、胚の死亡、发育不良、カーリングを指標に感染価 (EID₅₀) を算出し、ウイルス対照との差を中和価とした。

6) SPF ヒナに対する病原性

初生ヒナでは、各群 10 羽に 10^{5.2-6.3} EID₅₀/羽のウイルスを点眼・点鼻接種し、それぞれアイソレーター内

で 10 日間観察を行った。死亡例はそのつど、また生残例は接種後 10 日目に放血殺し、肉眼病変の観察および気管、腎の組織学的観察を行った。

4~5 週齢ヒナに対しては、各分離株について 10^{5.9-7.0} EID₅₀/羽をそれぞれ 10 羽に静脈内注射し、それぞれアイソレーター内で 10 日間観察した。10 日目に、初生ヒナの場合と同様に放血殺し、病変の観察を行うとともに腎からの

ウイルス回収試験も実施した。

7) ウイルス回収

腎を SPGA 液で 10% 乳剤とし、その遠心上清の 0.1 ml を 10 日齢发育鶏卵の尿膜腔内に接種した。接種後 7 日間培養し、前述した特異的病変の認められたものを IBV 陽性とした。

8) 病理組織学的検査

気管および腎を 10% ホルマリン水で固定後、常法どおりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。

2. 成績

1) 野外分離株の生物学的および物理化学的性状

各分離株は、发育鶏卵尿膜腔内接種により 1~3 代継代後、胚に特徴的な病変 (死亡、发育不良、カーリング) を惹起し、また、CK 細胞では、小型の癒合性の CPE を示した。さらに数代継代後には、同細胞でブラックを形成した。CK 細胞における封入体形成、鶏赤血球に対する凝集性は陰性であった。トリプシン処理あるいは IUDR 存在下では増殖性に影響は認められなかったが、エーテル処理により感染価は低下した。各株の感染 CAF 濃縮抗原を使用した AGP 反応では、いずれも抗 M-41 株血清との間に共通の沈降線を形成した。いっぽう、トリアデノ、トリレオ、伝染性ファブリキウス嚢病あるいはマレック病ウイルスの各抗血清に対しては反応は認められなかった。

以上の結果より、分離株はいずれも IBV と同定し、各々の发育鶏卵 2~4 代継代感染 CAF を以下の試験に供した。

2) 野外分離株の抗原性

野外分離株および既知の IBV 株合計 10 株間における交差中和試験成績を表 2 に示した。野外分離株 2399、2633 および 2701 株間においては、それぞれ相互に高い中和価を示し、強い交差性が認められたが、他の株との交差性は低かった。また、2702・7K と 2738 株も相互に中和能が認められ、さらに、2933 株は 2702・7K 株と高

腎炎を伴った病鶏から分離された鶏伝染性気管支炎ウイルスの性状

表2 IB ウイルス株間の交差中和試験成績

ウイルス株	抗		血				清			
	2399	2633	2701	2702・7K	2738	2878	2933	M-41	A-5968	Gray
2399	4.20*	4.20	3.80	1.60	2.45	0.37	0.62	1.85	0.20	0.30
2633	5.30	4.05	4.00	2.05	1.82	0.80	2.15	1.10	1.00	1.10
2701	4.40	4.80	4.10	2.05	1.00	0.80	1.30	0.67	0.00	1.95
2702・7K	1.25	0.60	2.00	4.85	2.70	1.40	2.70	1.80	0.75	1.45
2738	0.75	1.10	1.35	5.50	4.05	1.05	1.95	0.70	0.50	1.80
2878	0.65	1.15	0.80	1.65	2.75	4.20	0.10	0.00	0.20	1.35
2933	0.65	0.75	0.80	3.95	0.50	0.70	4.45	0.58	0.00	1.20
M-41**	0.25	1.30	2.00	1.30	3.80	3.30	1.95	4.50	0.25	0.60
A-5968**	2.12	2.48	1.75	2.25	1.59	2.53	2.58	0.75	4.80	1.60
Gray**	2.40	3.20	1.20	3.20	2.10	2.05	1.50	1.10	1.25	4.50

注) *: 発育鶏卵を用いて測定したウイルス希釈法による中和価 **: 既知株

い交差性が認められた。いっぽう、2878株は他のいずれの株に対する抗血清とも反応性は弱かった。

既知株との中和試験では、いずれの野外分離株も、M-41, A-5968 および Gray 株抗血清に対して中和価は低く、これらの既知株との間にかかなり大きな抗原性の差が認められた。

3) 野外分離株の初生ヒナに対する病原性

成績を表3に示した。10日間の観察期間中、呼吸器症状は、いずれの株を接種した群でも70%以上のヒナにおいて観察された。ヒナの死亡は、2702・7K, 2878 および 2933 株接種群において、6日目以降に認められた。腎における肉眼的および組織学的病変は、2701 株を除く、いずれの株を接種した群においても観察されたが、その発現率には差が認められた。すなわち、2702・7K, 2738 および 2933 株接種鶏では50~77.8%, 2399, 2633 および 2878 株接種鶏では10~30%の発現率であった

表3 IBV 野外分離株の SPF 初生ヒナに対する病原性*

株名	発育鶏卵 継代数	接種 ウイルス量	接種 羽数	呼吸器症状 陽性羽数	死亡 羽数	腎病変陽性 羽数 (%)
2399	4	5.2**	10	7	0	2(20.0)
2633	2	6.0	10	8	0	1(10.0)
2701	3	5.5	10	10	0	0(0.0)
2702・7K	3	6.3	10	8	1	7(70.0)
2738	3	6.3	10	10	0	5(50.0)
2878	4	5.5	10	10	2	3(30.0)
2933	2	5.5	9	8	5	7(77.8)

注) *: 発育鶏卵感染 CAF 点眼, 点鼻接種10日間観察 **: log₁₀EID₅₀/羽

が、2701 株接種鶏では、腎病変は1例も認められなかった。病鶏の腎(病変)は、肉眼的には褐色あるいは黄色化を呈し、種々の程度に腫脹し、また、尿管は白色粘稠性の液状物を入れ膨化していた。組織学的には、尿管腔は変形、しばしば拡張し、上皮細胞の変性、壊死、脱落が観察された。また、間質には、リンパ球性細胞を主体とした細胞の浸潤および集簇巣が観察された(写真1, 2)。腎以外には、気管では組織学的に上皮細胞の変性、壊死、脱落および固有層への細胞浸潤がほとんどの

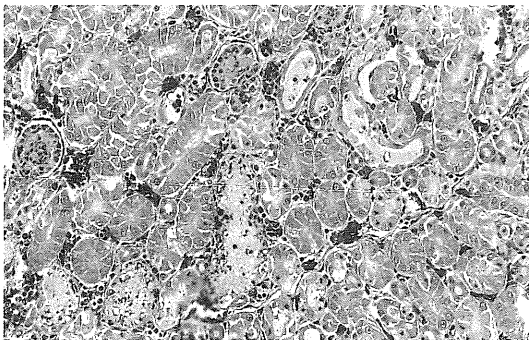


写真1 野外株(2933株)接種初生ヒナ(7日目死亡例の腎): 尿管上皮細胞の変性, 壊死, 脱落および管腔の変形を示す(HE染色 ×160)

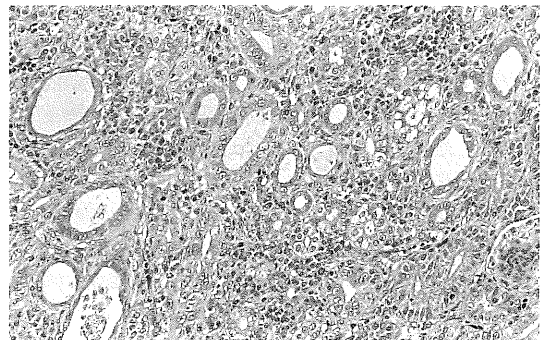


写真2 野外株(2702・7K株)接種初生ヒナ(10日目例の腎): 尿管上皮細胞の変性, 脱落, 管腔の変形, 間質への細胞浸潤を示す(HE染色 ×160)

例で認められ, また多くの例で, 後胸気嚢の混濁あるいは泡沫様物の付着が観察された。これらの病変は, 程度の差はあったが, 基本的には同一で, 株による病変の質的な差異は認められなかった。

4) 野外分離株の中雛に対する病原性

2701株を除く6株を用いて行った, 4~5週齢ヒナに対する病原性試験の成績を表4に示した。呼吸器症状の発現率に関しては, 初生ヒナに接種した場合のそれとほぼ同様の傾向であった。2702・7Kおよび2933株接種群で, それぞれ1羽ずつヒナが死亡し, これらのヒナには強い腎病変が認められた。各株接種鶏における腎病変の発現は, 2702・7K, 2738および2933株では40~60%, 2399, 2633および2878株ではそれぞれ10%と, 初生ヒナの場合とほぼ同様に株により病変の発現率に差が認められた。また, 病変も同様であった(写真3)。腎から接種ウイルスの回収を試みた結果, 2702・7K, 2738, 2878および2933株接種鶏では70%以上と高率に回収されたが, 2399および2633株接種鶏では20%以下と低率であった。

3. 考 察

腎炎に関連するIBVの血清学的な検討をした報告は少ないが, HOPKINS⁶⁾の分類によれば, 腎炎型ウイルスとされるGrayおよびHolte株は同一血清型とされ, またAustralian-T株は別の血清型に分類されている。今回の成績から, わが国における腎炎に関連するIBVについても, 複数の血清型株の存在することが明らかとなった。これらの分離株は, 既知IBVのM-41, A-5968あるいはGray株とは異なる血清型のようなのであるが, 他の既知株との分類上の位置関係については, 今回は明らかにすることはできなかった。

SPFヒナへの接種試験で再現された肉眼的, 組織学的腎病変は, いずれの株を接種したヒナにおいても同様で, これらはAustralian-T株を用いた腎の病理学的変化の報告^{1,2,8)}とよく一致していた。最近, ALBASSAMら¹¹⁾は, 腎病変を示すとされるIBV4株(Holte, Gray, Italian(I-1731), Australian-T)を比較し, これら4株接種鶏の腎における病変形成に差が認められたことを報告している。今回, われわれの分離株を用いた病原性比較試験においても, ほぼ同一条件にもかかわらず, 株により腎病変の発現率は0~77.8%と差異が認められた。この傾向は, 初生ヒナでも中雛を用いた場合でも同様であった。

今回の試験成績から, 腎炎例由来の野外株の血清型と分離地域およびヒナに対する病原性との関係を整理する

表4 IBV野外分離株のSPF中雛に対する病原性*

株名	発育鶏卵 継代数	接種 ウイルス量	接種 羽数	呼吸器症状 陽性羽数	死亡 羽数	腎病変陽性 羽数(%)	腎からのウイルス 回収陽性羽数
2399	4	5.9**	10	5	0	1(10)	1
2633	2	6.7	10	8	0	1(10)	2
2702・7K	3	7.0	10	8	1	6(60)	8
2738	3	7.0	10	10	0	4(40)	8
2878	4	6.2	10	10	0	1(10)	7
2933	2	6.2	10	4	1	5(50)	7

注) *: SPF4~5週齢ヒナ, 発育鶏卵感染CAF静脈内接種, 10日間観察。
** : log₁₀EID₅₀/羽

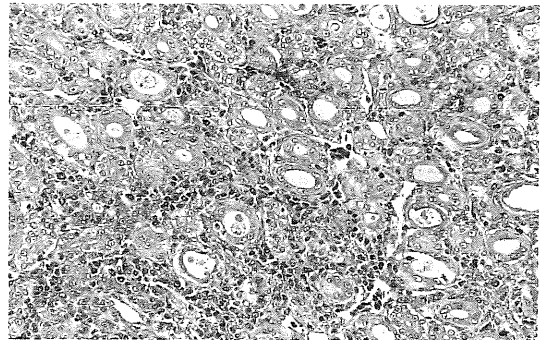


写真3 野外株(2702・7K株)接種中ヒナ(10日目例の腎): 尿細管の変形, 拡張および間質のリンパ球性細胞浸潤を示す(HE染色 ×160)

と, 同一血清型に属すると考えられる2399, 2633および2701株は, いずれも宮崎県下からの分離株で, また, これら3株のヒナに対する腎病変の発現率はいずれも低かった。さらに, 血清学的に別のグループに属すると考えられる2702・7K, 2738株は, いずれも徳島県由来の株であって, 両株ともヒナに腎病変を高率に発現させた。また, 高い腎病変発現率を認めた2933株は, 和歌山県由来の株であるが, 血清学的には病原性の強い徳島県由来の2702・7K株と交差が認められている。いっぽう, 宮城県由来の2878株は, 上記6株とは血清型は異なると考えられた。このように, 分離株の血清型と分離地域, さらに腎に対する病原性との間には関連性のあることが示された。

接種鶏の腎からのウイルス回収試験では, 2878株接種群以外は, 腎病変発現率とウイルス回収率の高さとの間に相関性が認められた。しかし, 2878株においては高いウイルス回収率であるにもかかわらず, 腎病変の発現率は低かった。回収ウイルス量の比較がなされていないため判断としないが, 株によっては腎からのウイルス回収性は, 必ずしも腎病変の発現にむすびつくとはかぎらないように思われた。

このように, 今回の分離株の中では, 腎に対する病原性に差異が認められたが, 病原性の強い株においても, 100

腎炎を伴った病鶏から分離された鶏伝染性気管支炎ウイルスの性状

%の発現率は示さなかった。腎病変の発現に影響を及ぼす要因の一つとして、RATANASETHAKUL と CUMMING⁹⁾ はオーストラリアで分離された腎炎に由来する IBV の病原性に関する試験の中で、接種ルートによる大きな差異は認められないが、寒冷感作により病原性が増強されることを述べている。それらの成績は、腎病変の発現を左右する要因として、ウイルス側の要因以外に、環境要因あるいは生体側の要因なども大きく影響する可能性を示すものであろう。IBVによる腎炎の予防を考えるうえで、これら病気の発生機構について、さらに検討を重ねる必要があるものと思われる。

引用文献

- 1) ALBASSAM, M. A., WINTERFIELD, R. W. and THACKER, H. L.: *Avian Dis.*, 30, 468~476 (1986).
- 2) CHONG, K. T. and APOSTOLOV, K.: *J. Comp.*

- Path.*, 92, 199~211 (1982).
- 3) CUMMING, R. B.: *Aust. Vet. J.*, 39, 145~147 (1963).
 - 4) 藤田 耕, 鶴飼重明, 内藤慎吾, ほか: 鶏病研報, 20, 63~68 (1984).
 - 5) GORYO, M., UMEMURA, T. and ITAKURA, C.: *Avian Pathol.*, 13, 191~200 (1984).
 - 6) HOPKINS, S. R.: *Avian Dis.*, 18, 231~239 (1974).
 - 7) MEULEMANS, G., CARLIER, M. C., GONZE, M., et al: *Vet. Rec.*, 120, 205~206 (1987).
 - 8) POHL, R.: *Avian Pathol.*, 3, 1~13 (1974).
 - 9) RATANASETHAKUL, C. and CUMMING, R. B.: *Aust. Vet. J.*, 60, 209~213 (1983).
 - 10) 鳥倉省吾, 平井克哉: 日獣誌, 33, 199~206 (1971).
 - 11) WINTERFIELD, R. W. and HITCHNER, S. B.: *Am. J. Vet. Res.*, 23, 1273~1279 (1962).
 - 12) 谷地田俊介, 青山茂美, 高橋直治, ほか: 鶏病研報, 20, 132~142 (1984).

明治の 動物用医薬品

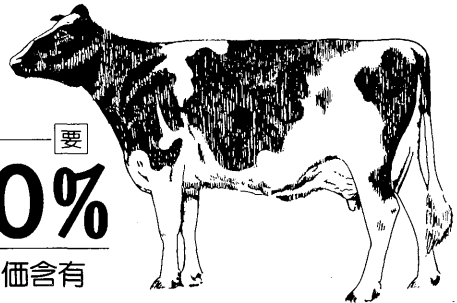
要: 要指示医薬品

牛の大腸菌性下痢・サルモネラ症に!
新系統の抗生物質 ホスホマイシン製剤

抗生物質経口投与剤

ホスミン細粒40%

●本剤1g中にホスホマイシンカルシウム400mg力価含有



特 長

1. 特異な構造と抗菌作用。
2. 広い抗菌力と殺菌的作用。
3. 他剤耐性菌にも有効。
4. 高い安全性と低い毒性。
5. 臓器・組織への高い移行。

★包装 1g×100分包



明治製薬株式会社
104東京都中央区京橋2-4-16