

オウム嘴羽病ウイルス接種オカメインコ幼雛 における病理学的研究

永瀬千佳 御領政信[†] 岡田幸助

岩手大学農学部 (〒020-8550 盛岡市上田3-18-8)

(2004年12月24日受付・2005年3月2日受理)

要 約

23日齢のオカメインコの4羽にオウム嘴羽病ウイルス (PBFVDV) に感染した羽および皮膚乳剤を接種 (0.5ml/羽) し, 1羽を無処置対照とした。接種群では接種後3週目から脱羽, 異常羽毛などがみられるようになった。剖検では, 胸腺は接種後1週目に軽度萎縮が, 接種後4週目に重度萎縮が認められた。接種後1週目の組織学的検索では羽髄に軽度の偽好酸球浸潤が認められ, 接種後4週目では時として好塩基性細胞質内封入体を持つ大食細胞の浸潤が重度に認められた。羽上皮細胞には好酸性核内封入体が見られた。胸腺およびファブリキウス嚢では接種後1週目には顕著な星空像が, 接種後4週目には皮質の菲薄化が認められた。PCR法では接種後1週目, 4週目ともにPBFVDV特異的塩基配列が増幅され368bpのバンドとして検出された。対照群では一貫してPBFVDV特異的塩基配列は検出されなかった。

—キーワード: オカメインコ, PCR法, オウム嘴羽病。

日獣会誌 58, 547~550 (2005)

オウム嘴羽病 (Psittacine beak and feather disease: PBFVD) は, 1970年代にオーストラリアで初めて報告されて以来, 世界各国で発生がみられ, 羽および嘴に壊死性病変を起こす感染症である [2-6, 8, 9]。病因はCircoviridaeに属するオウム嘴羽病ウイルス (PBFVDV) とされている [2, 6, 7]。発病した鳥は著しく外観を損ない, 致死性の経過をたどるため繁殖家や愛鳥家の間では深刻な問題となっている。セキセイインコを用いた感染実験を行ってきたが, セキセイインコではウイルスを接種しても発症しない例もみられ, また, 接種後15週目には全例においてPCR法によるPBFVD特異的塩基配列を検出できなくなった [4]。今回, PBFVDの実験系を確立するためにインコ類であるセキセイインコよりも感受性が高いと思われるオウム類に属するオカメインコ (*Nymphicus hollandicus*) の幼雛を用いて感染実験を行った。

材料および方法

オカメインコ5羽を繁殖農場より購入し, 表1に示すとおり1羽を無処置対照, 4羽を接種群とした。接種群は23日齢に大腿部筋肉内にPBFVD罹患コキサカオウムの皮膚および羽から作製した20%乳剤 [4] を0.5mlずつ接種し, 接種前, 接種後1週目および1カ月目に羽を

採取して組織学的検索を行った。接種群は接種後1週目に2羽, 4週目に2羽, 対照は4週目に剖検し, 全身諸臓器を採材, 病理組織学的検索および羽を用いた病因学的検索を行った。採材した羽はブアン固定, その他の組織・臓器は10%ホルマリン固定を行い, 常法に従い脱水・透徹, パラフィン包埋した。4 μ mに薄切し, ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE染色) 標本を作製し鏡検した。

PBFVDV特異的塩基配列を検出するため, Poly-

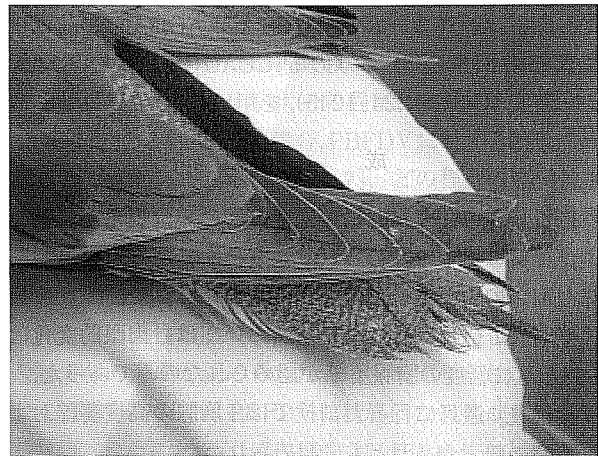


図1 接種群No. 4, 接種後3週目。尾羽は途中で折れている。

[†] 連絡責任者: 御領政信 (岩手大学農学部獣医学科獣医病理学研究室)

〒020-8550 盛岡市上田3-18-8 ☎019-621-6217 FAX 019-621-6274

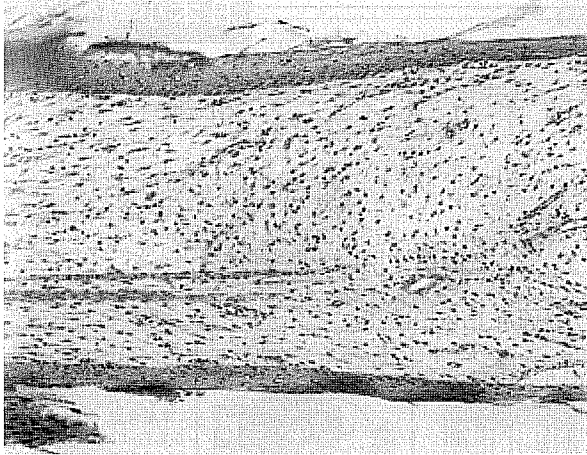


図2 接種群 No. 1, 羽 (HE 染色 × 120)
羽軸内には少数ではあるが炎症性細胞がみられる。

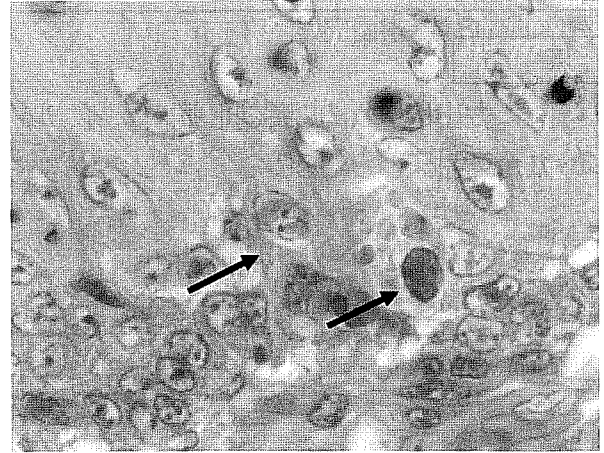


図4 接種群 No. 4, 羽 (HE 染色 × 1200)
羽上皮細胞に好酸性核内封入体 (矢印) が認められ、核小体は核膜に偏在している。

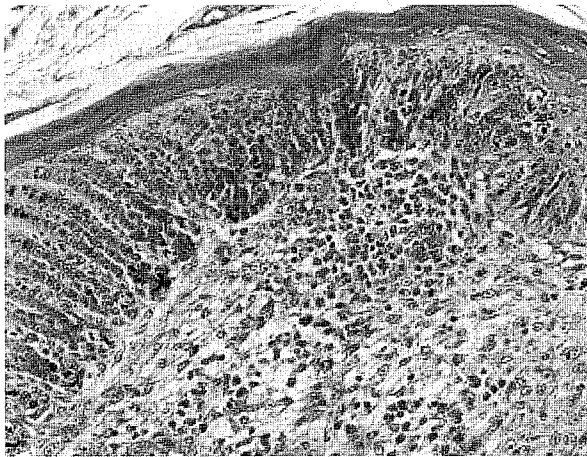


図3 接種群 No. 4, 羽 (HE 染色 × 240)
羽髄内には炎症性細胞の浸潤がみられ、出血、ヘモジデリン貪食細胞も認められる。

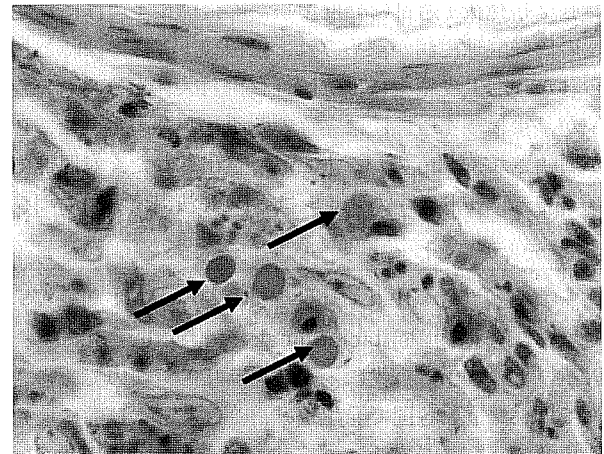


図5 接種群 No. 4, 羽 (HE 染色 × 1200)
マクロファージの細胞質内に好塩基性封入体 (矢印) が認められる。

merase chain reaction (PCR) 法を行った。DNA 精製キット^{a)}を用い、羽より DNA を抽出して template DNA とした。プライマーは 5'-TGGTACAAGGAGGACTGTGAC-3' (878-898) および 5'-CCAGCACTTAATAAA-CACT CAG-3' (1224-1245) を用いた [1]。

成 績

接種後 3 週目より羽根の脱落および異常羽毛が尾羽および翼羽において認められるようになった (図 1)。脱落した羽根の羽軸内には出血の跡が認められた。

接種後 1 週目に行った剖検においては、肉眼的変化は 2 例ともに軽度の胸腺萎縮が認められたのみであった。

接種後 4 週目に行った剖検では、胸腺の高度萎縮および脾臓の腫大が 2 羽ともに認められた。

無処置対照の羽の羽髄、羽上皮細胞などに異常は認められなかった。接種群では全羽で接種後 1 週目の羽の羽

髄内に軽度の偽好酸球をはじめとする炎症性細胞の浸潤が認められたが、封入体は観察されなかった (図 2)。

接種後 4 週目の羽では全羽に大食細胞をはじめとし偽好酸球、リンパ球、形質細胞の浸潤が軽重さまざまな程度で認められた (図 3)。2 羽 (Nos. 3, 4) の羽上皮細胞には好酸性核内封入体 (図 4) の形成がみられ、羽髄大食細胞には塩基性細胞質内封入体 (図 5) が観察された。

接種後 1 週目の胸腺 (図 6) では皮質領域に、ファブリキウス嚢 (図 7) では髓質領域に星空像が認められたが、大食細胞の浸潤は軽度で、封入体の形成はみられなかった。

接種後 4 週目の胸腺およびファブリキウス嚢では皮質領域の菲薄化 (図 8) が認められた。

接種後 1 週目および 4 週目に行った PCR 法では、PBFDV の特異的塩基配列が増幅され、368bp のバンドとして検出された。いっぽう、未接種対照群では、

a) Wizard Genomic DNA Purification Kit, Promega Inc., U.S.A.

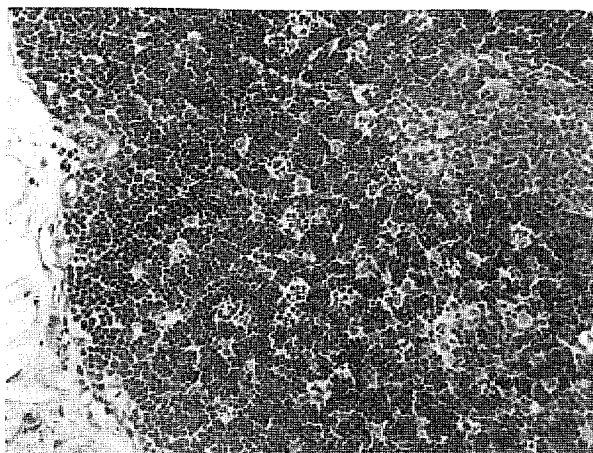


図6 接種群No. 1, 胸腺 (HE染色 ×240)
皮質のリンパ球が壊死, 脱落し星空像を呈している。



図8 接種群No. 4, 胸腺 (HE染色 ×240)
暗調の皮質部分が狭く, 皮質は非薄化している。

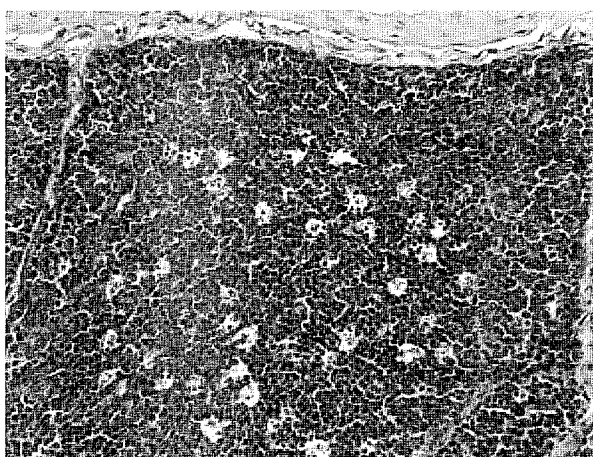


図7 接種群No. 1, ファブリキウス嚢 (HE染色 ×240)
髄質において壊死したリンパ球が点状に抜け落ち, 星空像を呈している。

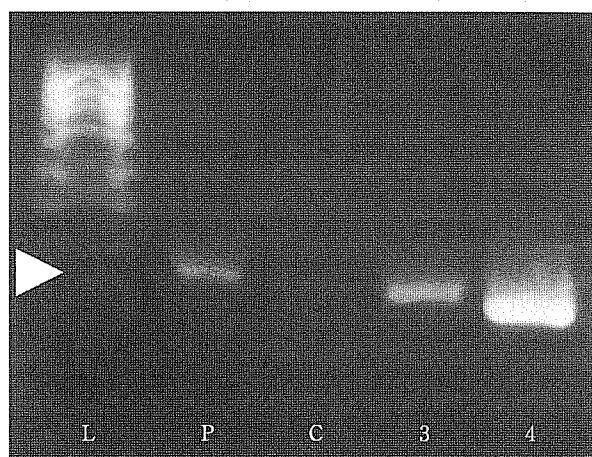


図9 接種4週後のPCR法成績
PBFVDV接種群の羽軸中のDNAよりPBFVDV特異的塩基配列が増幅され, 368bpのバンドが観察される。
L…サイズマーカー^{b)}, P…陽性対照, C…無処置対照
3, 4…PBFVDV接種群, ▶…368bp

表1 実験群の設定とPCR結果

鳥 No.	接種部位	接種量	観察期間	PCR成績		
				接種前	接種1週後	接種4週後
接種群	1 両側大腿部 筋肉内	0.5ml	1週	-	+	
	2 両側大腿部 筋肉内	0.5ml	1週	-	+	
	3 両側大腿部 筋肉内	0.5ml	4週	-	+	+
	4 両側大腿部 筋肉内	0.5ml	4週	-	+	+
対照			4週	-	-	-

PBFVDVの特異的塩基配列はまったく検出されなかった(表1, 図9)。

考 察

PBFVDVは特徴的な羽毛の形成不全を起こし, 羽上皮細

胞や単核食細胞系細胞にブドウの房状を呈する特徴的な好塩基性封入体を形成することが知られている[2, 3-7]。多くのオウムやインコがPBFVDVに対する感受性を有することが確認されているが, その程度は鳥種により異なる[2, 6, 7]。オカメインコの場合, PBFVDVに対する感受性があることは知られているが[2, 7], どの程度の感受性を有するかについては報告されていない。今回の実験では, 尾羽の脱落, 形成異常が認められ, 組織学的には羽髄内に大食細胞をはじめとした炎症細胞の浸潤および大食細胞内に好塩基性細胞質内封入体, 羽上皮細胞に好酸性核内封入体の形成が認められたこと, 病因学的検索において, 接種群の羽ではPBFVDVに特異的な塩基配列の増幅が確認されたことから, 感染は成立したものと考えられた。

PBFDは臨床症状から, 初生雛にみられる甚急性型, 新生綿羽が抜けた後の最初の羽毛発育時にみられる急性

型、換羽期ごとに発育羽毛の異常が進行性に出現する慢性型に分類される [2, 6, 7]。今回の実験の病型は、発症時期、肉眼、組織学的所見より急性型から慢性型に移行しつつあるPBFDであると思われた。急性型では発症後1~2週のうちに全身の羽毛が異常を呈し、死に至ることもあるが [2, 6, 7]、今回の実験では羽毛の病変は翼羽や尾羽にとどまっていた。

PBFD罹患鳥は健康鳥に比べて血清中のタンパク濃度が低く、電気泳動では γ -globulin分画の減少が認められ、血清学的に免疫抑制状態であることが報告されている [3]。しかし、本症例では、胸腺およびファブリキウス囊において皮質の菲薄化は認められたが、リンパ組織の細胞傷害の程度は軽いものであった。脾臓にも著変は認められず、免疫抑制状態には陥っていないのではないかと考えられた。羽毛の異常が翼羽と尾羽にとどまっていたこと、いまだ重篤な症状があらわれるほどの免疫抑制状態にはいたっていないことをあわせて考えると症状は軽微であったのではないかとと思われる。

PBFDにおける症状の程度は、感染時期や鳥種、ウイルスの量などにより異なり、セキセイインコなどの小型インコではPBFDVに対する感受性が低く、この場合尾羽や風切羽など大きな羽から脱羽や形成異常などの病変が現れることが報告されている [10]。これは、今回の実験群の臨床症状と一致しているが、感受性の高い鳥種でも、感染時期によってはこのような症状を呈することが報告されている [2, 6, 7]。セキセイインコにおける実験では組織学的な病変が肉眼的な病変を有している

羽に限局し、肉眼的な病変がみられない部位では組織学的にも病変が認められなかったのに対し、今回の実験では肉眼的な病変がみられない大腿部の羽や頭部の羽にも封入体の形成や炎症細胞の浸潤などの病変がみられたことから、少なくともオカメインコのほうが感受性は高いのではないかと推察された。今後は長期観察を行い詳細に検討することが必要であろう。

引用文献

- [1] Bassami MR, Berryman D, Wilcox GE, Raidal SR : *Virology*, 249, 453-459 (1998)
- [2] Gerlach H : *Avian Medicine, Principles and Application*, Ritchie BW, et al eds, 862-948, Wingers Publishing, Florida (1994)
- [3] Jacobson ER, Clubb S, Simpson C, Walsh M, Lothrop Jr. CD, Gaskin J, Bauer J, Hines S, Kollias GV, Poulos P, Harrison G : *J Am Vet Med Assoc*, 189, 999-1005 (1986)
- [4] 中田朱美, 御領政信, 池田 学, 岡田幸助 : *日獣会誌*, 56, 459-463 (2003)
- [5] Pass DA, Perry RA : *Aust Vet J*, 61, 69-74 (1984)
- [6] Phalen DN : *Avian Medicine and Surgery*, Altman RB, et al eds, 281-322, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1997)
- [7] Ritchie BW : *Avian Viruses*, Ritchie BW, ed, 223-252, Wingers Publishing Inc, Lake Worth, Florida (1995)
- [8] Ritchie BW, Niagro FD, Latimer KS, Steffens WL, Pesti D, Ancona J, Lukert PD, *Am J Vet Res*, 52, 1804-1809 (1991)
- [9] 真田直子, 真田靖幸 : *日獣会誌*, 49, 551-555 (1996)
- [10] Wylie SL, Pass DA : *Avian Pathol*, 16, 269-281 (1987)

Histopathological Study of Cockatiels Inoculated with the Psittacine Beak and Feather Disease Virus

Chika NAGASE*, Masanobu GORYO† and Kosuke OKADA

* *Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8 Ueda, Morioka 020-8550, Japan*

SUMMARY

Four 23-day-old cockatiels (*Nymphicus hollandicus*) were inoculated with a homogenate of feathers and skin infected with the psittacine beak and feather disease virus (PBFDV; 0.5ml/bird). Another bird served as control. The inoculated birds molted and had dystrophic feathers in the third post-inoculation (pi) week. Necropsy revealed that thymuses were slightly atrophic in the first week pi and severely atrophic in the fourth week pi. In histological changes, mild heterophil infiltration was observed in the feather pulp in the first week pi. Severe macrophage infiltration with occasional basophilic intracytoplasmic inclusion bodies occurred in the fourth week pi. Eosinophilic intranuclear inclusion bodies were observed in feather epithelial cells. In the inoculated birds, the marked starry-sky phenomenon was observed in the thymus and bursa of Fabricius in the first week pi and cortical atrophy in the fourth week pi. In the first and fourth week pi, the PCR method revealed PBFDV-specific DNA products in feathers from all the inoculated birds but not in feathers from the control. — Key words : cockatiel, PCR method, psittacine beak and feather disease.

† *Correspondence to : Masanobu GORYO (Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Iwate University) 3-18-8 Ueda, Morioka 020-8550, Japan TEL 019-621-6217 FAX 019-621-6274*

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 58, 547 ~ 550 (2005)