

原 著

## Phytohemagglutininおよび大腸菌接種鶏における 脚部脈管周囲リンパ節の病理組織学的検索

古宮久美, 御領政信, 佐々木 淳, 岡田幸助

### 要 約

P 2 系白色レグホン種の成鶏に, Phytohemagglutinin (PHA) および鶏頭部腫脹症候群病変から単離された大腸菌を抗原刺激剤として中足趾球部に接種した. 2 日, 1 週, 2 週目に計画剖検し, 大腿部, 下腿部脈管, 脛部以下の全部位およびリンパ系器官 (胸腺, 脾臓, ファブリキウス囊, 盲腸扁桃) を採材し, 病理組織学的に検索した.

接種部位はPHA接種群で約 2 日, 大腸菌接種群で 3 ~ 4 日にわたり, 腫脹, 熱感が認められ, 加えて大腸菌接種群では高度の充血が認められた. 中足趾球部の腫脹は大腸菌接種群でより高度であった. 組織学的検索では, PHA 投与後 1 週目の膝付近脈管周囲組織において, 特徴的な大型管状構造物が多数認められた. 管壁内には細網線維からなる網工が著しく発達し, 内部には多量の形質細胞, リンパ球が巣状あるいはシート状に多数存在しており, 胚中心形成も認められた. 管内壁には大型細胞が単層 ~ 重層に配列し上皮様に縁取っていた. 大腸菌接種群でも同様の構造物は接種 1 週, 2 週で認められたが少数であった. リンパ節の数, 大きさ, 所在を免疫反応の強さとして評価するために, 独自に作成した 5 段階の半定量的評価システムを用いて評価したところ, PHA 接種群では全期間にわたり接種側で高得点を示した. 大腸菌接種群も接種側で高得点を示したが, 得点は PHA 群の 1 / 5 にとどまり, 全体的に低い傾向を示した. また, PHA 接種群では大型管状構造物が認められた 1 週目をもっとも高い得点を示したのに対し, 大腸菌接種群の得点は 2 週目まで緩やかに上昇し続けた.

キーワード: 鶏, 大腸菌, 趾球, リンパ節, phytohemagglutinin

### 緒 言

鳥類におけるリンパ節は, 水禽類を除いては存在しないとされている [1]. 現在, 鶏 (*Gallus Gallus Domesticus*) のリンパ装置として一般的に認識されているのは, 常在するものとして脾臓, 胸腺, ファブリキウス (F) 囊,

盲腸扁桃, 必要に応じて局所に出現する異所性リンパ組織 (ectopic lymphoid tissue) である [2].

鶏のリンパ節に関する研究は少なく, Manabe [3, 4], Kihara と Naito [5], Kondo ら [6-8] の研究により, 鶏の大腿部リンパ

管壁内に壁内リンパ節様結節があることが明らかにされている。「壁内リンパ節様結節」は水禽類に存在する頸胸リンパ節と区別するために作られた用語である。その後、Biggs [9] が組織学的に鶏のリンパ節を研究し、いわゆる壁内リンパ節様結節は鶏においては常在するリンパ装置であり、リンパ球増多症が局所に出現したのではないことを明らかにした。GoodとFinstad [10] は初めて免疫学的な観察を行い、抗原注入後に壁内リンパ節様結節が腫大し、明瞭なリンパ中心が見られることを報告した。McCorkleら [11] の研究では、抗原注入部位について言及し、静脈内に投与するよりも趾球部の結合組織内に注入する方がリンパ節は鋭敏に反応し、腫大することを報告している。OlahとGlick [12] は、形態学的に鶏の壁内リンパ節様結節はリンパ管に沿って長いビーズ状に認められ、周囲は被膜によって被包化されており内部にはリンパ洞が存在していることを報告している。電子顕微鏡による詳細な組織学的検索を行った結果壁内リンパ節様結節の内、①発達した被膜、②明瞭な胚中心、③リンパ洞構造の3つを持っていれば、組織学にリンパ節と定義できるとし、鶏に見られる壁内リンパ節様構造はリンパ節であると明言している。

現在までの鶏のリンパ節に関する研究は、Phytohemagglutinin (PHA) を接種し、それに対するリンパ節の反応を見るものが主であり、病原体接種に対するリンパ節の反応の観察は行われていない。PHAはTリンパ球のDNA合成のトリガーとして用いられる薬剤で、red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* 和名：アインゲン) に多量に含まれる生理活性物質である。T細胞のDNAに作用し、分裂促進作用が知られている他、赤血球の凝集、細胞膜の透過性、細胞の代謝を変える働きがある。

OlahとGlick [12] の研究では、PHA接種後48時間にわたり観察しているが、実際の感染に対する生体反応では、一般的に細胞性免疫が作用し始めるのに10日～2週間は必要であるとされている。これまで、PHAに対する変化は48時間以降観察されてはならず、免疫反応による

形態上の変化はまだ観察されていない可能性がある。

本研究の目的は、抗原刺激剤であるPHAに対するリンパ節の反応を経時的に観察すること、同時に、病原体である大腸菌に対する反応を観察し、PHAの結果と比較・考察することである。

## 材料および方法

### 1. 実験鶏

当研究室にて維持しているP2系白色レグホン種の成鶏を用いた。無処置対照として1羽、PHA接種群6羽、大腸菌接種群6羽の3群を設定した。

### 2. PHA接種実験

PHAはSIGMAから入手した。これを150  $\mu$ g/羽 (0.1ml) に調製し、5羽の右足趾球部皮下に接種した。左足は対照区とした。観察期間は接種後2日 (2羽)、1週間 (2羽)、2週間 (2羽) の3群を設定した。剖検で胸腺、脾臓、ファブリキウス嚢 (F嚢、残存していたもののみ)、左右大腿部から膝部の脈管を含む周囲組織および脛部以下の脚を採材した。

### 3. 大腸菌接種実験

接種した大腸菌は、プロイラー鶏頭腫脹症候群 (SHS) 病変から単離された株 [13] で、液体窒素にて保存していたものを使用した。菌は室温にて溶解後、ブレインハートインフュージョンブイヨン培地 (栄研) にて37°C、8時間好気下で培養した。得られた菌液を $10^9$  CFU/羽 (0.5ml)、6羽の右足趾球部皮下に接種した。左足はコントロール区とした。観察期間は接種後2日 (2羽)、1週 (2羽)、2週 (2羽) の3群を設定した。観察期間中に死亡したものについては随時剖検、生残鶏は観察期間終了後にすべて剖検した。観察期間中に死亡したものについては胸腺、脾臓、F嚢 (残存していたもののみ)、左右大腿部から脛部の脈管を含む周囲組織および脛部以下の脚に加え肝臓、腎臓、心臓、肺も合わせて採材した。

### 4. 病理組織学的検索

すべての臓器材料は、10%ホルマリン固定、定法に従いパラフィン包埋ブロックを作製した。

これを4  $\mu$ m厚に薄切した後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検索した。

大腿部血管については2枚のガラス板の間にはさんだ状態で固定し、基部、中間部、および末梢部の3カ所に分け、それぞれのパラフィン包埋ブロックを作製した。このブロックから60  $\mu$ mおきに計6枚、4  $\mu$ m厚の薄切片を採取した。脛部血管についても同様の手法で固定、包埋及び薄切を行った。

脛部以下の脚については10%ギ酸ホルマリン液を用いて固定・脱灰した。脛上部、脛下部、距骨上部、距骨下部、足根、趾球部および指の各部位について定法に従いパラフィン包埋ブロックを作製、4  $\mu$ m厚に薄切した。

大腿部血管、脛部血管および脛部以下の脚は、すべての標本にHE染色を施した。また、特殊染色として、鍍銀染色 (渡辺法)、マッソン・トリクローム (MT) 染色を行った。

## 5. 免疫組織化学的検索

特徴的な病変の認められた標本については免疫組織化学的検索を行った。

一次抗体としてウサギ抗Factor VIII抗体 (ZYMED LABORATORIES, INC.) およびウサギ抗CYTOKERATIN抗体 (ZYMED LABORATORIES, INC.) を用いた。

パラフィン包埋ブロックより4  $\mu$ m厚の薄切片を作製し、シランコーティングしたスライドガラスに伸展した。免疫組織化学的染色は市販のavidin-biotin-peroxydase complex (ABC) 染色キット (Vectastain Elite ABC KIT) を用い、ABC法にて行った。対比染色としてヘマトキシリン染色を施し、脱水、透徹、封入後、光学顕微鏡にて病理組織学的に検索した。

## 6. リンパ節の評価法

リンパ節の存在部位および大きさは、今回作成した以下の基準にしたがって半定量的に評価した。Grade 1~Grade 5の5段階で点数化し総合評価 (得点) とした。

評価には、OLYMPUS BX41光学顕微鏡、接眼レンズはWH10 $\times$ /22、対物レンズ40倍はOLYMPUS Plan 4 $\times$ /0.10、100倍はOLYMPUS

Ach 10 $\times$ /0.25を用いた。

Grade 1: 脂肪織の間などに孤在性に存在する、あるいはリンパ管と関連があっても40倍視野ではリンパ節と判別できず、100倍視野では判別できるもの

Grade 2: 長径が40倍視野の1/7未満だが、リンパ管に近いあるいは関連のあるもので40倍視野でリンパ節と判別できるもの

Grade 3: 長径が40倍視野の1/7以上、1/3未満でリンパ管と関連性のあるもの。あるいは部分的に大型のリンパ管周囲にリンパ球が集簇したもの

Grade 4: 長径が40倍視野の1/3以上、あるいは大型のリンパ管周囲はほぼ全周にリンパ球が集簇したもの

Grade 5: 長径が40倍視野の2/3以上、あるいは1/3以上で内部に明瞭なリンパ洞やリンパ中心を認めるもの

## 成 績

### 1. 無処置対照個体

肉眼所見では著変は認められなかった。また、病理組織学的成績でも著変は認められなかった。

### 2. PHA接種実験

#### 1) 肉眼所見

全羽においてPHA接種後、接種側趾球部の腫脹、熱感が認められた。熱感は2日目までにすべて消失したが、腫脹は全観察期間を通して残存した。PHA投与後、2週間観察した鶏の内1羽の大腿部脈管壁に、約3 $\times$ 1mm大の白色を呈する小結節が認められた。その他著変は認められなかった。

#### 2) 病理組織学的成績

##### (1) 2日経過群

接種側大腿脈管周囲組織において、リンパ管壁内のリンパ節が軽度増数しており、非常に大きなものも多数認められた (写真1)。対照側では接種側に比べてリンパ節は少なく、大きさも接種側に比べると小型であった。リンパ球集簇巣の存在する部位は、接種側、対照側ともに基部では少なく、中間部、末梢部に多い傾向が見られた。脛部以下の組織には、著変は認め

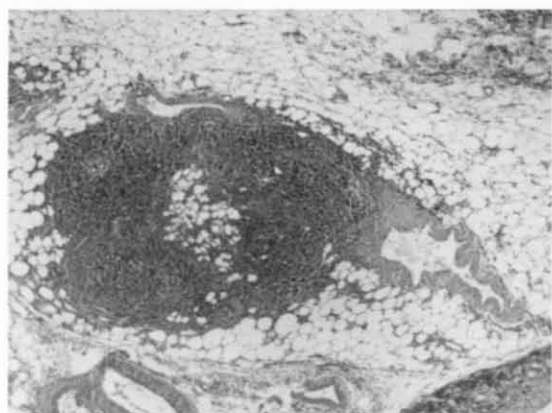


写真1. PHA接種群 2日経過No.2  
接種側 (HE染色、低拡大)

大腿部脈管周囲組織に認められた大型のリンパ節。リンパ管壁内で著しく発達しており、リンパ洞、不明瞭だが胚中心も認められる。

られなかった。

## (2) 1週経過群

接種側大腿脈管周囲組織の基部、中間部ではリンパ管壁内のリンパ節が対照側に比べて減少していた。末梢部において、非常に大型の管状構造物の形成が多数認められた(写真2)。外周を多量の膠原線維束で被包されており、内壁は絨毛状に管腔に向かって突出していた。腫大した内皮細胞様の細胞が管腔の内面を縁取っており、上皮様の構造を形成していた。管腔構造物の管壁に相当する部分には多量の線維芽細胞と微細な線維が存在し、線維間にシート状あるいは巣状に形質細胞、リンパ球、マクロファージが多数浸潤していた。非常に明瞭な胚中心が多数認められた(写真3)。

脛部以下の組織では、接種側の脛上部、脛下部、足根部及び趾球部においてリンパ管壁の肥厚、壁内および周囲脂肪織への線維芽細胞、マクロファージの浸潤が認められた。対照側でも同様の変化は認められたがごく軽度であった。

## (3) 2週経過群

接種側大腿脈管周囲組織では、基部で軽度、中間部および末梢部で高度にリンパ節の増数および大型化が観察された。PHA投与後1週目で見られた大型の管腔構造物は認められなかった。

脛部以下の組織では、趾球部において、軽度のリンパ管壁の肥厚、線維芽細胞、マクロファ-

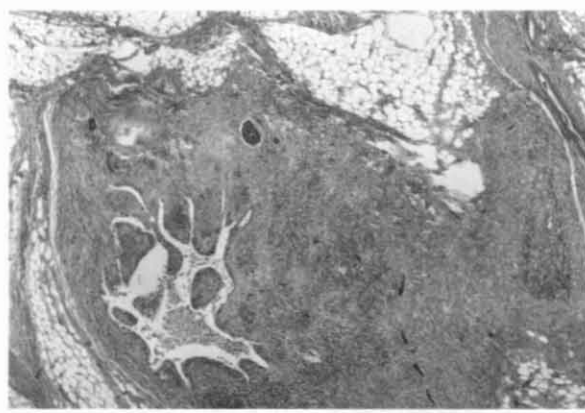


写真2. PHA接種群 1週経過No.1  
接種側 (HE染色、低拡大)

大腿部末梢脈管周囲組織において認められた大型管状構造物。

ジおよび形質細胞が壁内に中等量浸潤しているのが認められ、これは先述のPHA接種1週目の大腿部脈管周囲に見られた変化に類似していた。対照側でも同様の変化は認められたが軽度であった。

## 3. 大腸菌接種実験

### 1) 肉眼所見

全羽において、大腸菌液接種後、3~4日間にわたって接種側趾球部から脛下部に至る腫脹、熱感が認められた。接種部位の腫脹は全観察期間にわたって存在した。

接種翌日に1羽が斃死した。本例では肉眼的に胸腺の強い出血、皮下、心膜、肝臓漿膜、卵巣表面漿膜に多数の点状出血が認められた。右側腹気嚢には血様膠原物が貯留していた。また、接種部位である趾球部から脛下部に至る強い鬱血、腫脹が認められた。総排泄腔内には水様の下痢便を容れていた。

1羽は2日目に瀕死期剖検した。本例は接種日に軽度の元気消失を示したのち、翌日から発熱、沈鬱、閉眼の症状を示した。本例では肝臓表面における多数の緑色斑点、心外膜における多量の黄白色滲出物の沈着、胸腺の萎縮がみられ、総排泄腔には黄白色の下痢便を容れていた。接種部位である趾球部から距骨周囲にいたる強い鬱血および腫脹が認められた。脛部の脈管において、静脈に沿って存在するリンパ管内あるいは管壁に黄白色の滲出物が付着していた。

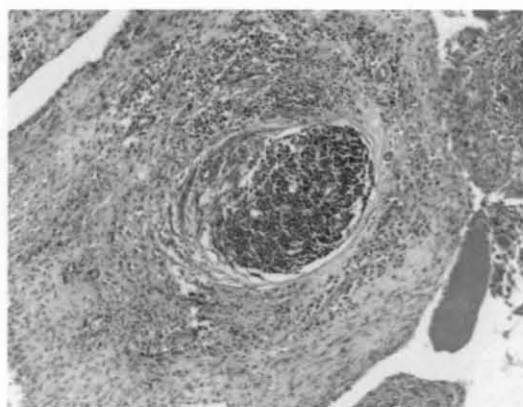


写真3. PHA接種群 1週経過No.1  
接種側 (HE染色、中拡大)

大腿部の末梢において認められた大型管状構造物のうち、管壁には明瞭な胚中心が存在する。

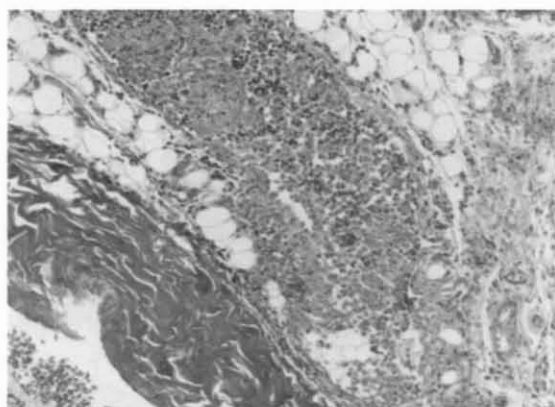


写真4. 大腸菌接種群 2日経過個体(瀕死期剖検)  
接種側 (HE染色、中拡大)

大腿部脈管周囲組織において広範に見られたリンパ管への偽好酸球浸潤。

計画剖検まで生残した鶏についても、ほぼすべての個体で一時的に削瘦、沈鬱、産卵停止などの症状を示した。

1週経過群でも接種側趾球部に腫脹が認められた。割するに多量の黄白色膿汁を含んでいた。心外膜にごく少量の滲出物が付着していた。その他著変は認められなかった。

2週経過群においても接種足趾球部に大きな腫脹が残存していた。割するに少量の透明粘液を含んでいた。その他著変は認められなかった。

## 2) 病理組織学的成績

### (1) 1日経過斃死例

接種側、対照側の大腿血管周囲組織ではいずれにおいてもリンパ節はほとんど認められなかった。ほぼすべての血管内に多数の細菌が認められた。正常ならばリンパ節が見られそうなリンパ管内壁の突出部、壁内の空間には多量の偽好酸球あるいは赤血球が充満していた。

脛部以下の足では接種側趾球部の疎性結合組織内において多量の細菌塊とそれに対する強い炎症細胞の浸潤、充血が認められた。対照側ではごく少量の形質細胞が疎性結合組織内に散在していた。その他の部位では著変は認められなかった。

### (2) 2日経過例

接種側、対照側大腿脈管周囲組織では、斃死例に比べるとわずかに多いリンパ節が認められた。多くの血管内、リンパ管内に多数の偽好酸

球の浸潤が認められた(写真4)。本症例では非常に多くの偽好酸球が浸潤しており、その間にごく少数のリンパ球が存在している像が認められた。一部の切片において、PHA接種1週経過群に認められた管状構造物に類似する構造がわずかながら認められた。

脛部血管においてはリンパ管壁内リンパ節の肥大および増数、および壁内リンパ節部分に多量の偽好酸球が浸潤している像が認められ、これは肉眼所見で認められた白色結節と一致するものであった。

脛部以下の足では接種側趾球部において、壁が高度に肥厚し、疎性結合組織内に多量のリンパ球、形質細胞、マクロファージ、線維芽細胞が管壁内に存在する管状構造物が認められた。管内壁は上皮様に見える細胞により縁取られていた。対照側同部位では充血、鬱血および軽度炎症細胞の浸潤が認められたが上記の構造物に類するものは認められなかった。

### (3) 1週経過群

No.1において、接種側大腿脈管周囲組織では、対照側よりもリンパ節が多数認められた。対照側でもごく少数のリンパ節が認められたが、正常に比べるとその数は少なく、節内に見られるリンパ球の数も減数していた。一部の切片において、PHA接種1週経過群に認められた管状構造物に類似する構造が認められた(写真5)。

No.2では、接種側、対照側大腿脈管周囲組織

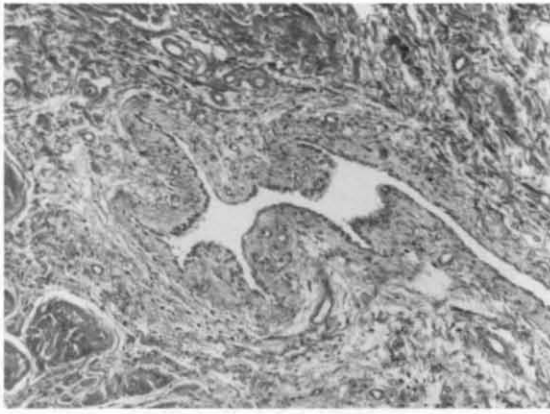


写真5. 大腸菌接種群 1週経過No1  
接種側 (HE染色、中拡大)

大腿部において認められた管状構造物。内皮細胞が上皮様に腫大している。

において、リンパ節が正常に近い数にまで回復していた。本症例ではNo1よりも大型でリンパ球密度の高いリンパ節が多数認められた。

いずれの個体でも、脛部脈管周囲に多量のリンパ節が存在し、多量の形質細胞、少量の偽好酸球がリンパ管壁内に集簇している像が認められた。1あるいは2日経過群に比べてリンパ球の集簇密度は高くなっていった。

脛部以下の足では、対照側において軽度の炎症細胞浸潤が認められた。

#### (4) 2週経過群

本群では、接種側、対照側のリンパ球集簇巣の数、大きさについて、大きな差は見られなかった。いずれの側でも脛部脈管周囲組織に多量のリンパ球集簇巣が存在し、内部にはリンパ球多数と少数の偽好酸球が散在していた。一部の脛血管周囲組織において、PHA接種1週経過群に認められた管状構造物に類似する構造が見られたが非常に小さいものであった。

脛部以下の足では、接種側趾球部において菌塊、肉芽腫性炎症および肉芽組織が認められた。

#### 4. 特殊染色による検索

各群から得られた標本に、渡辺鍍銀法およびMT染色を施し、詳細に検索した。

##### 1) PHA接種実験

###### (1) 2日経過群

鍍銀法にて接種側リンパ管周囲に見られた壁内リンパ節を観察した。リンパ管壁が肥厚し、

その内部には好銀性の細網線維が網工を形成し、内部には多量のリンパ球が存在していた。大型のものでは、明瞭な内皮細胞を持つリンパ洞の形成も認められた。リンパ球集簇巣の像は他群でもほぼ同様であった。本群では明瞭な胚中心を持つものは認められなかった。

###### (2) 1週経過群

鍍銀法にて接種側大腿部脈管末梢部に認められた大型管状構造物を検索した。赤紫色を呈する膠原線維束に沿って、多量の細網線維網工が存在し、内部には多量のリンパ球、マクロファージ、形質細胞が認められた。細網線維網工の表面には大型で円形の細胞が配列し、単層、あるいは重層上皮様を呈していた。細網線維網工内には、明瞭な内皮を持つリンパ洞様の構造物、少量の膠原線維からなる壁を持つ小血管が認められた。

###### (3) 2週経過群

鍍銀法にて接種側リンパ管周囲に見られたリンパ節の構造を観察した。本群では細網線維の網工が球状に途切れ、大型のリンパ球のみが巣状に集簇している胚中心構造を持つリンパ節が多数認められた。胚中心はリンパ管腔に近いところに多く形成される傾向があり、大きな集簇巣でもリンパ管腔が付近に見られないものには明瞭な胚中心は認められなかった。

接種後2週経過群の接種側趾球部において、PHA接種1週経過群大腿部に見られた大型管状構造物に類似した組織像は、MT染色では単層～重層した大型の上皮様細胞は赤色を呈した。

#### 2) 大腸菌接種実験

鍍銀法にて全群の代表切片について検索を行ったが、大腿部では管壁に細網線維の網工を持ったリンパ管はほとんど認められなかった。接種後1週経過群の脛部において、リンパ管壁内に中型の細網線維網工構造が認められた。しかし網工のみで内部にはリンパ球や形質細胞は認められなかった。

#### 5. 免疫組織化学的染色による検索

##### 1) Factor VIII

PHA接種1週経過群に見られた大型管状構造物内の上皮様細胞は、同一組織内に存在する

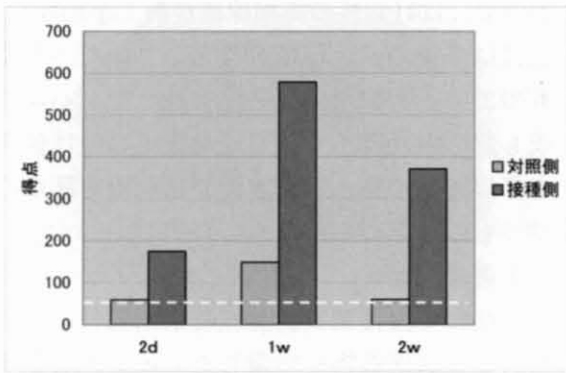


図1. PHA接種実験群リンパ節評価得点の推移  
(※図中の点線は無処置対照個体の得点)

血管内皮細胞とほぼ同様の染色性であったが、いずれも弱陽性であった。

## 2) サイトケラチン

鶏のF囊を陽性対照とした。陽性対照では弱陽性を示したが、大型管状構造物の上皮様細胞は陰性を示した。

## 6. リンパ節の評価

前述した評価法に従い、全群大腿部脈管周囲に見られたリンパ節の大きさと数を評価した。大腸菌接種群については脛部脈管周囲に見られたリンパ節の大きさと数についても評価し点数化した。

無処置対照個体では、左右の得点に有意な差は認められなかった。大腿近位より大腿遠位で得点は高い傾向を示した。脛部においても比較的高い得点を示した。

PHA接種群では、全実験区において接種側で高得点であった。接種後1週目で最も高得点となり、2週目で対照側においては2日目とほぼ同程度に低下した。接種側では2日目の2倍強の得点を維持していたが、ピークである1週目の60%程度に低下した。

PHA接種群の対照側と無処置対照個体を比較すると、PHA接種群は2日経過実験区で軽度、1週、2週経過実験区で個体によっては明らかな高得点を示していた(図1)。

大腸菌接種群でも、全実験区において接種側で高得点を示したが、PHA群に比べるとその得点は約1/5と全体的に低い傾向を示した(図2)。また、PHA接種群では1週目をピー

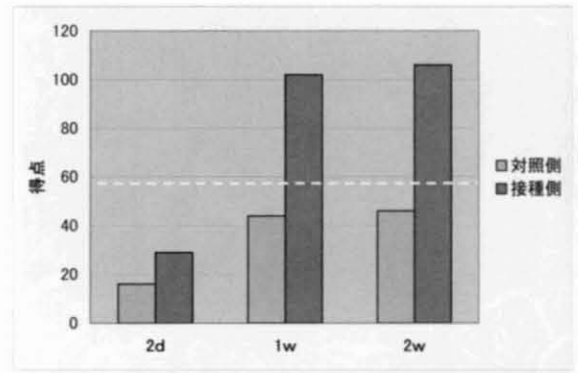


図2. 大腸菌接種実験群リンパ節評価得点の推移  
(※図中の点線は無処置対照個体の得点)

クに2週目では低下傾向を示したのに対し、本群では2週目においてもやや増加する傾向が見られた。

大腸菌接種群の脛部脈管周囲の得点は、個体によりばらつきはあるもの、全体としては大腿部とほぼ同様の傾向を示した。

大腸菌接種群の対照側と、無処置対照個体を比較すると、大腸菌接種群は1日斃死個体、2日経過個体で低得点であった。一方、1週、2週経過実験区の大腿部においてはほぼ同得点を示し、脛部においては、接種群がやや高い得点を示した。

## 考 察

今回見られたほとんどのリンパ節は、既存のリンパ管壁内に存在しているものであった。これらはさまざまな程度で細網線維の網工を伴いつつリンパ管壁内に結節状、あるいは全周にわたって存在していた。脂肪織内に孤立して存在しているように見えるものでも内部にはリンパ洞様構造を有するものが多く、このことは、これらの孤立しているリンパ節も、どこかではリンパ管との連続性があることを示唆している。脂肪織内に孤立して存在しているものをOlahとGlick [12] はリンパ球集簇 (lymphatic accumulation, LA) として区別しているが、今回の組織像から考えると、LAは切断面によってリンパ管との連絡のない部分を見ているものではないかと考えられる。

PHA 2週経過群の大腿部脈管周囲組織に肉眼的に認められた3×1mm大の白色小結節は、

リンパ節であったと推察される。肉眼的には認められなかったが、切片上ではこれとほぼ同程度の大きさのリンパ節が他にもいくつか確認された。PHA 2 日経過群で、接種側のリンパ節が増数・増量したことはPHAのリンパ球増殖刺激作用に反応したものであることは推察できる。中間部、末梢部に多数のリンパ節が見られることは既にOlahとGlick [12] が報告しているとおりである。この部位は脈管周囲に脂肪織が豊富で、既報でもリンパ節は脂肪組織と置換するように増殖すると報告されている。今回の結果はこの報告を支持するものであった。

脛部以下の骨を含む組織は脱灰後に切片を作製したため、リンパ球などの核の染色性が著しく低下し、詳細な検討はできなかったが、細菌感染などによる炎症は認められなかったことから、接種以外の感染による結果の攪乱はないと考えてよいだろう。

PHA 1 週経過群においては、非常に特徴的な大型の管状構造物が大腿部脈管中間部から末梢部にかけて多数認められた。この構造は壁内に多量の膠原線維とそれを縁取る細網線維を持ち、網工内には多量のリンパ球、形質細胞、マクロファージなどの集簇が認められた。この管状構造物は形態上、リンパ管に類似しているように思われたが、免疫組織化学染色では内面を縁取る上皮様の大型細胞が血管・リンパ管内皮細胞に特異性を示すFactor VIIIに対して弱陽性を示したことから、リンパ管であることの確証は得られなかった。同様の構造が接種側趾球部で認められ、これらは骨周囲に多く認められたことから滑膜である可能性も考えられたが、やはり今回の結果からは特定できなかった。この構造物の内面を縁取る上皮様の大型細胞はOlahとGlick [12] が観察したhairy macrophageに類似している。OlahとGlick [12] は、一部のリンパ洞の内皮に多量のhairy macrophageが接着し、洞内皮に凹凸が見られたと報告している。

PHA 2 週経過群においてはリンパ節はまだ多数認められるものの、1 週経過群で認められたような大型管状構造物はもはやほとんど認め

られず、対照側と同様のリンパ節のみであった。以上のことから、上記大型管状構造物の由来は不明ではあるが、リンパ球分裂刺激剤に対する反応の一環であると考えられる。

無処置対照個体と、PHA接種各実験区の対照側のリンパ節得点を比較すると、全実験区においてやや高い傾向は認められた。しかし、接種前から趾瘤を持っていたものも多かったため、PHAが全身に作用した結果である可能性は低いと思われる。

今回本実験では一羽あたり $10^9$ CFUの大腸菌を接種したが、接種後1日で1羽が斃死、もう1羽も2日目に瀕死期剖検となった。その他、計画剖検日まで生残した個体についても、消瘦、産卵停止、沈鬱などの症状を示したことから、全身性の大腸菌症を発症しており [14]、今回の接種量は局所の抗原刺激剤としては過剰であったと思われる。2日までに剖検した2例の剖検所見および各臓器の組織診断においても、心外膜や体腔内にフィブリン状物の付着、心臓などの遠隔臓器や全身血管に小桿菌が多数認められ、血中に多量の偽好酸球が認められるなど、全身性の敗血症を惹起していた。

その後、1週、2週後の実験区でもリンパ節内に偽好酸球が様々な程度で認められた。これらの実験区では全身性の敗血症は耐過したが、剖検時には陳旧な漿膜炎の痕跡が体腔各所に認められた。趾球部では多数の菌塊、それに対する強い炎症反応が認められたことから、全身性の敗血症に耐過し、炎症が沈静化したあとも大腸菌は趾球部の粗性結合組織内にとどまり続け、強い抗原刺激物となっていたことが推察される。リンパ節の評価得点では大腸菌接種群では2週目に入っても得点は緩やかに上昇している。これは趾球部から大腸菌が持続的に抗原刺激を与え続けていることを示唆している。

無処置対照個体と大腸菌接種群各実験区、対照側との評価得点の比較では、1日斃死個体、2日経過個体において顕著な低得点が認められた。これは、全身性の敗血症を反映している。また、1週、2週経過群では、対照側大腿部の得点には有意な差が認められない、あるいはわ



ずかな上昇が認められる程度であったが、脛部においては大腸菌接種群でやや高い得点が認められた。これについては、PHA接種群同様、接種前から趾瘤を持っていたことによる得点上昇が主原因であると思われるが、大腸菌接種に対する免疫反応である可能性、すなわち、初期の敗血症に耐過の後、免疫系が活性化し、全身性に壁内リンパ節が増加した結果が脛部のリンパ節得点の増加として反映されたのではないかと推察された。

今回、PHA接種群と大腸菌接種群のリンパ節得点は非常に大きな隔たりが見られた。原因としては、PHA接種群によりリンパ球の分裂活性が上昇したことと、大腸菌感染によるリンパ球の減少の相加が考えられる。鶏の大腸菌症による敗血症の結果、胸腺、F囊などのリンパ球が著しく減少することが知られているが、今回の大腸菌接種群でも胸腺での出血、皮質の萎縮や星空像が認められた。これらのことから、リンパ球、リンパ節の減少は敗血症およびそれに続発する全身性の漿膜炎の影響によるものと考えられた。

#### 引用文献

- [ 1 ] Berens D, Rautenfeld V, Baumel JJ : Systema Lymphaticum et spleen, 477-492, Handbook of Avian Anatomy, 2nd ed. Nuttall Ornithological Club, Cambridge, Massachusetts (1993)
- [ 2 ] Riddell C : Lymphoid system. 7-18, Avian Histopathology, First ed. The American Association of Avian Pathologists, Saskatoon, Saskatchewan, Canada (1987)
- [ 3 ] Manabe S : Untersuchung über das Vogellymphgefässsystem, 1. Über das Lymphgefässsystem der Ente, Kaibogaku Zasshi, 3, 119-131 (1930a)
- [ 4 ] Manabe S : Untersuchung über das Vogellymphgefässsystem, 2. Über den Bau und Entwicklung der Entenlymphknoten, Kaibogaku Zasshi, 3, 282-297 (1930b)
- [ 5 ] Kihara T, Naito E : Über den Einlagerungs- und Verbreitungsmodus des lymphatischen Gewebes im Lymphgefässsystem der Ente, Okajimas Folia Anatomica Jpn. 11, 405-413 (1933)
- [ 6 ] Kondo M : Die lymphatischen Gebilde im Lymphgefässsystem des Huhnes, Okajimas Folia Anatomica Jpn. 15, 309-325 (1937a)
- [ 7 ] Kondo M : Die lymphatische Gebilde im Lymphgefässsystem der verschiedenen Vogelarten, Okajimas Folia Anatomica Jpn. 15, 329-348 (1937b)
- [ 8 ] Kondo M : Die Entwicklung der Lymphknoten um Lymphgefässsystem des Huhnes, Okajimas Folia Anatomica Jpn. 15, 349-355 (1937c)
- [ 9 ] Biggs PM : The association of lymphoid tissue with the lymph vessels in the domestic chicken (*Gallus domesticus*), Acta. Anat. 29, 36-47 (1957)
- [10] Good RA, Finstad J : The phylogenetic development of immune responses and the germinal center system, 4-27, Germinal Centers in Immune Responses. (Cottier H., Odartchenko N, Schindler N, Congdon CC eds.), Springer, New York (1967)
- [11] McCorkle FM, Stinson RS, Olah I, Glick B : The chicken's femorallymph nodules, T and B cells and immune response. J. Immunol. 123, 667-669 (1979)
- [12] Olah I, Glick B : Avian lymph node. Light and electron microscopic study, Anat. Rec. 205, 287-299 (1983)
- [13] 石井映子, 御領政信, 菊地志津子, 岡田幸助 : プロイラー鶏頭部腫脹症候群の病変, 日獣会誌, 50, 214-219 (1997)
- [14] 中村菊保 : 大腸菌症 70-73, カラーマニュアル 鳥の病気 鶏病研究会編, 東京 (1995)