

## ブロイラーひなの卵黄囊上皮細胞に感染性を示す トリアデノウイルス感染症

福岡寛之・佐々木 淳・岡田幸助・川崎武志<sup>1)</sup>・御領政信<sup>†</sup>

岩手大学農学部獣医病理学研究室, 〒020-8550 盛岡市上田 3-18-8

<sup>1)</sup> 人と鳥の健康研究所, 〒099-3119 北海道網走市鱒浦 2-7-1

### 要 約

死亡率の上昇とともに剖検時に肝臓の腫大・退色および大きな卵黄囊の遺残が認められた 16 日齢ブロイラーひなにおいて、病理組織学的に封入体肝炎の他に卵黄囊上皮細胞に好塩基性核内封入体が形成されていた。死亡鶏の凍結肝臓より作製した肝乳剤を鶏腎細胞に接種したところ、好塩基性核内封入体を形成するウイルス (8754 株, 8755 株) が分離され、3 代継代したのち、Line-M 系由来の SPF 初生ひなを用いて再現実験を行った。接種後 6 日目で全ひなが死亡し、肉眼的に肝臓では腫大・脆弱化および点状出血が認められた。病理組織学的に肝臓、卵黄囊、脾臓、十二指腸粘膜上皮細胞において核内封入体の形成が認められた。肝臓の電子顕微鏡観察では、肝細胞の核内に直径約 70~80 nm の結晶状配列をするウイルス粒子がみられ、8754 株に対する鶏血清を用いた間接蛍光抗体法では、肝臓および卵黄囊に形成された核内封入体に一致して黄緑色の蛍光が観察された。以上の所見より、卵黄囊上皮細胞がトリアデノウイルスの標的細胞となりえることが初めて証明された。

キーワード：トリアデノウイルス、封入体肝炎、卵黄囊

### 結 言

封入体肝炎 inclusion body hepatitis (IBH) は主に 3~7 週齢のブロイラーに発生する致死率 10~30% の急性感染症である<sup>1)</sup>。肉眼的には肝臓の腫大、脆弱化および点状出血が認められ、病理組織学的には肝臓における核内封入体の形成を伴う壊死性肝炎を特徴とする<sup>1)</sup>。病変部からはトリアデノウイルスが分離され、接種実験により野外発生例と類似した肝臓病変が再現されるものの、再現実験は容易ではなく、伝染性ファブリキウス囊病ウイルスや鶏貧血ウイルスなどに起因する免疫抑制あるいは様々な病原体との混合感染がアデノウイルスの病原性を強めるという報告もある<sup>4,5,7,22)</sup>。

アデノウイルスは 2 本鎖直鎖状の DNA ウィルスであり、カプシドは正二十面体をした直径 70~90 nm の球形粒子で、エンベロープは有していない<sup>1)</sup>。トリアデノウイルスはその抗原性や遺伝子構造の特徴からグループ I、II および III に大別される。グループ I トリアデノウイルスでは IBH の他に筋胃びらん<sup>2,17-19)</sup> や心膜水腫症候

群<sup>1,3,6,8,13-15)</sup> および壊死性脾炎<sup>16,20,23)</sup> といった多様な病態が報告されており、このほかにも産卵低下、増体抑制および呼吸器症状の一因としても考えられている<sup>1)</sup>。近年では、3 週齢以下の若齢のブロイラーにおけるトリアデノウイルス感染の報告が散見されている<sup>2,7,10,21)</sup>。

今回、野外のある若齢ブロイラー鶏群における封入体肝炎発症例において、卵黄囊上皮細胞における核内封入体形成のみられる症例に遭遇し、病理学的に検索を行うとともにウイルスの分離・同定を行い、さらに分離ウイルスを用いた再現実験を行った。

### 材 料 と 方 法

#### 1. 野外例の病歴

同一孵化場からひなを導入していた養鶏場 A、B において 1~2 週齢鶏ひなの死亡率が最大で約 0.05% まで上昇し、剖検時には肝臓の腫大・退色と大きな遺残した卵黄囊が認められた。A 養鶏場の死亡鶏ひな 1 羽 (16 日齢) の諸臓器パラフィンブロックからヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色標本を作製し、組織学的に検索した。B 養鶏場の死亡鶏ひな 2 羽の凍結肝臓はウイルス分離材料として用いた。

2010 年 1 月 18 日受付

<sup>†</sup>連絡責任者：御領政信

鶏病研報 46 巻 3 号, 181~187 (2010)

## 2. 接種材料の調整

野外死亡例 2 羽の凍結肝臓材料は、ガラスホモゲナイザーにて 10% 肝乳剤を作製、その遠心上清 (3,000 rpm, 10 分間) を分離材料として用いた。

## 3. ウイルス分離方法

当研究室で維持している P2 系 SPF 鶏由来有精卵を孵化し、その初生ひなから腎臓を採材、鶏腎 (CK) 細胞を作製した。無菌的に採材した腎臓から細胞浮遊液を 10% 牛胎血清加イーグル MEM 培地で調整した後 ( $5 \times 10^5$  細胞/ml), 60 mm シャーレに入れ、37°C, 5% 炭酸ガス濃度環境下で培養した。72 時間後に遠心乳剤上清を CK 細胞に接種し、細胞変性効果 (CPE) が発現した 4 日から 6 日後に培養上清を採取した。2 症例の分離上清をそれぞれ 8754 株、8755 株と命名し、分離ウイルスのウイルス価を高めるため 3 代継代した。また、カバースリップ培養を行い、ウイルス接種後 4 日および 6 日後にカバースリップを回収し、ブアン固定後 HE 染色を施した。

ウイルス価を求めるために 3 代目ウイルスを 10 倍段階希釈後、0.1 ml ずつ CK 細胞に接種、CPE が発現したものを陽性とし、ウイルス価を測定したところ両株ともに  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/0.1 ml であった。

## 4. 感染実験

市販の SPF 有精卵 (Line-M 系、日生研) を購入し、研究室にて孵化した初生ひな 35 羽を用いた。3 代目 8754 株および 8755 株を 0.1 ml ( $10^5$  TCID<sub>50</sub>/0.1 ml) ずつ各 15 羽に大腿部筋肉内接種し、死亡したものを随時剖検した。未接種対照群 5 羽は 4 日目に 2 羽、6 日目に 3 羽ずつ剖検に供した。

## 5. 病理組織学的検索

感染実験群の主要臓器、卵黄囊およびファブリキウス嚢 (F 嚢) を採材後、10% ホルマリン液で固定し、定法に従いパラフィン包埋ブロックを作製した。感染実験群のパラフィン包埋ブロックと送付された野外例の肝臓、脾臓、腸管、卵黄囊、肺および心臓のパラフィン包埋ブロックをマイクロトームを用いて 4 μm に薄切し、HE 染色を施した。

## 6. 間接蛍光抗体法

8754 株を接種した SPF 初生ひなの肝臓と卵黄囊のパラフィン包埋ブロックおよびアセトン固定後の 8754 株接種 CK 細胞のカバースリップからトリアデノウイルス抗原の検出を行った。一次抗体には、10 日齢の SPF 鶏ひなに 8754 株を筋肉内接種し、2 週目に採取した血清を 10~100 倍に希釈して用いた。二次抗体には FITC 標識ウサギ抗鶏 IgG 血清 (ICN Pharmaceuticals, Inc., USA) を 100 倍希釈で用いた。

## 7. 電子顕微鏡的検索

感染実験にて採材したホルマリン固定後の肝臓組織から戻し電子顕微鏡観察を行った。ホルマリン固定材料を 1 mm 角に細切し、PBS で洗浄後、5% グルタルアルデヒドで前固定し、1% オスミウム酸で後固定した。定法に従い、エポン 821 で包埋し、ウルトラマイクロトームにて 100 nm の超薄切片を作製した。酢酸ウラニル・鉛の二重染色を施し、透過型電子顕微鏡 (H-800, 日立) にて観察した。

また、ウイルス接種 CK 細胞の培養上清を 15,000 回転で 60 分間、超遠心し、その上清を再び 18,000 回転で 3 時間、さらにその沈渣を 18,000 回転で 90 分間の超遠心を行った。沈渣は蒸留水で希釈後、支持膜を張ったグリッドメッシュ上にのせ、リンタングステン酸による Negative 染色を施し、透過型電子顕微鏡で観察した。

## 成 績

### 1. 野外例の病理組織学的所見

肝細胞、脾臓腺房細胞、十二指腸粘膜上皮細胞および卵黄囊上皮細胞において、核の膨化および好塩基性を呈する核内封入体の形成が認められた。核内封入体はハローを形成するもの、顆粒状を呈するものおよび核全体を占めるものなど多様な形態が認められた。卵黄囊では封入体を有した剥離上皮が腔内に遊離している像が散見された。肝臓・脾臓実質および十二指腸粘膜には偽好酸球の浸潤および壊死巣がみられ、肝炎、脾炎、腸炎を呈していた。その他の所見として、肝臓では肝細胞細胞質の空胞化、卵黄囊では固有層における偽好酸球の浸潤お

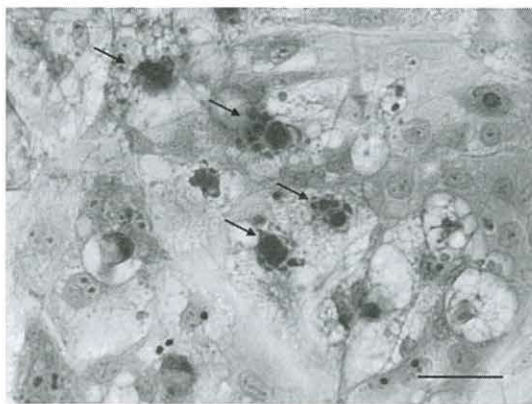


写真 1. ウイルス接種後 5 日目の CK 細胞。HE 染色、Bar=30 μm。  
CK 細胞の核内に好塩基性封入体の形成 (矢印) が認められる。封入体は顆粒状、ハローの形成がみられ、あるいは核全域は塩基性を呈している。

よび肉芽組織の増生が認められた。

## 2. ウイルス接種 CK 細胞の細胞学的所見

実体顕微鏡下において、分離ウイルス接種後 3 日目から CK 細胞の円形化が認められ、カバースリップの HE 染色標本では CK 細胞の核内に多数の好塩基性封入体が形成（写真 1）されていた。核内封入体はハロー形成、顆粒状もしくは核全体の好塩基性化といった多様な形態を呈していた。継代を重ねるにつれ、観察される封入体の数は増加した。

## 3. 分離ウイルスを用いた感染実験

8754 株および 8755 株接種群のひなは、ウイルス接種後 2 日目より沈うつ症状が認められ、3 日後からは座り込み姿勢が多くみられた。両鶏群は接種後 4 日目に最も死亡率が高く、6 日間ですべて死亡した（表 1）。

肉眼的に、肝臓では軽度から重度の出血病変を伴う腫大・脆弱化が認められた（写真 2）。ほぼ全例で脾臓の退色がみられたが、萎縮は認められなかった。卵黄囊の重量は、表 2 に示すように接種群および対照群ともに個体によりばらつきがみられた。

病理組織学的には肝臓、卵黄囊、脾臓、腸粘膜、脾臓および F 囊において病変が認められた。肝臓では、肝細胞における核内封入体の形成（写真 3）が広範に認められた。核が正常細胞の 2 倍ほどに膨化し、全体が好塩基性均一に染まる封入体が多く認められたが、ハロー形成および顆粒状を呈する封入体もしばしばみられた。偽好酸球やリンパ球といった炎症性細胞の浸潤は非常に軽微なものから中程度のものまで様々であり、肝細胞の弧在性壊死もしくは多発性の巣状壊死が認められた。細胞質が空胞状に変性した肝細胞は、両接種群の肝臓全域に認められた。うっ血は軽度から中程度に認められ、胆管の増生もみられた。

卵黄囊では、卵黄囊上皮細胞に好塩基性核内封入体が

多数認められ、肝臓における封入体同様、多彩な形態がみられた（写真 4）。封入体を有する上皮細胞の中には脱落して腔に遊離しているものも多く認められたが、炎症反応はほとんど認められなかった。

脾臓では腺房細胞に好塩基性核内封入体の形成が多数認められ、広範な壊死および偽好酸球の浸潤が認められた。また、脾臓間質の線維化も認められた。

十二指腸粘膜上皮においても好塩基性核内封入体が認められた。粘膜上皮は壊死し、管腔に脱落しているものも多くみられた。粘膜固有層では炎症性細胞浸潤がしばしば認められた。

脾臓では、リンパ濾胞の消失、リンパ球の脱落、細網細胞の明瞭化およびマクロファージの顕著な浸潤が認め



写真 2. 8754 株接種後 3 日目の死亡鶏。  
開腹時、肝臓は腫大し、点状出血（矢印）が認められる。

表 1. 接種後の死亡羽数および臓器における組織病変

接種 ウイルス	接種後 日数	死亡羽数	肝臓 封入体	卵黄囊 封入体	脾臓 封入体	十二指腸粘膜 上皮 封入体	脾臓		F 囊 リンパ球脱落
							リンパ球脱落	MØ 浸潤	
8754 株	3 日	1	1/1	*	*	*	—	—	—
	4 日	9	9/9	9/9	9/9	8/8*	7/7*	7/7*	8/8*
	5 日	4	4/4	4/4	3/3*	3/3*	4/4	4/4	4/4
	6 日	1	1/1	1/1	*	*	1/1	1/1	1/1
8755 株	4 日	10	10/10	9/9*	8/8*	8/8*	10/10	10/10	9/9*
	5 日	3	3/3	2/2*	3/3	2/2*	3/3	3/3	1/1*
	6 日	2	2/2	*	*	*	2/2	2/2	1/1*

\*：死後変化が高度なため、封入体の存在が確認できない、—：無採材、MØ：マクロファージ



表 2. 感染実験群における死亡鶏の平均臓器重量および体重比

群	重量および比	4 日目	5 日目	6 日目
8754 株 接種群	体重 (g)	32.4±2.00*	33.1±2.66	27.9
	肝臓 (g)	2.08±0.18	2.5±0.22	2.5
	肝臓/体重	6.4%	7.6%	9.0%
	卵黄囊 (g)	0.9±0.01	0.85±0.24	0.20
	N 数**	N=9	N=4	N=1
8755 株 接種群	体重 (g)	34.5±2.23	31.1±1.46	30.55±3.04
	肝臓 (g)	2.02±0.28	2.23±0.06	2.55±0.35
	肝臓/体重	5.8%	7.2%	8.6%
	卵黄囊 (g)	1.66±1.01	1.03±0.31	0.7±0.14
	N 数	N=10	N=3	N=2
対照群	体重 (g)	43.3±3.39	—	52.7±3.46
	肝臓 (g)	1.95±0.35	—	2.67±0.56
	肝臓/体重	4.5%	—	5.3%
	卵黄囊 (g)	0.5±0.28	—	0.37±0.21
	N 数	N=2	—	N=3

\* 平均±標準偏差 \*\* N 数: 検査羽数

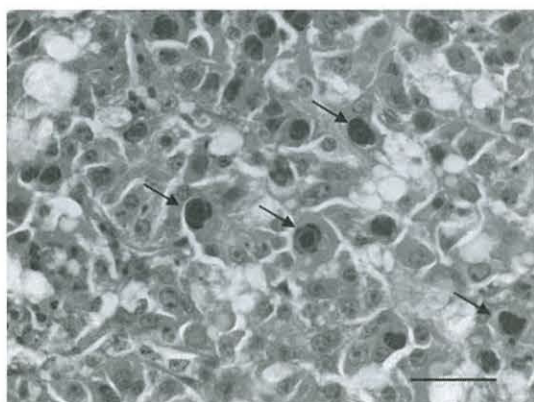


写真 3. 8754 株接種後 4 日目の肝臓。HE 染色, Bar=30μm。  
肝細胞の核は腫大し、核内に顆粒状、ハロー形成もしくは核全域が好塩基性に染まる封入体 (矢印) が認められる。周囲の肝細胞の細胞質は空胞状を呈している。

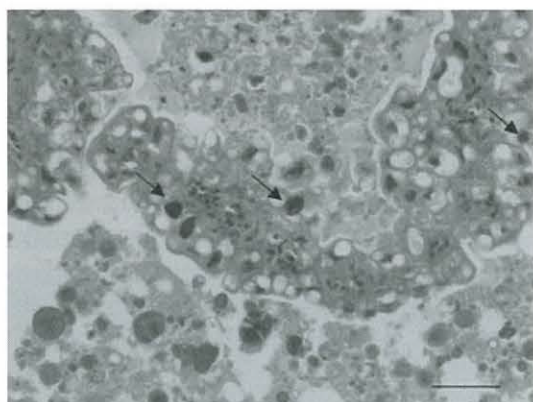


写真 4. 8754 株接種後 4 日目の卵黄囊。HE 染色, Bar=50μm。  
内腔に乳頭状に突出した卵黄囊上皮細胞の核内に好塩基性封入体の形成が認められる。

られた。F 囊では、濾胞の縮小、リンパ球の減少および壊死が認められた。その他の臓器では著変は認められなかった。

未接種対照群ではほとんど異常は認められなかった。

#### 4. 電子顕微鏡的検査

ホルマリン固定肝臓組織の戻し電子顕微鏡観察では、肝細胞の核内に結晶状に配列したウイルス粒子の集積と

高電子密度物質 (写真 5) が認められた。ウイルス粒子は、直径約 70~80 nm, 円形から六角形を呈し、コアとカプシド (写真 6) から形成されていた。コアの電子密度が低い未成熟な粒子から電子密度の高い成熟粒子が認められた。細胞質内にウイルス粒子の集積が認められる肝細胞もみられた。Negative 染色像では多角形を呈する約 70 nm のウイルス粒子が少数認められた。



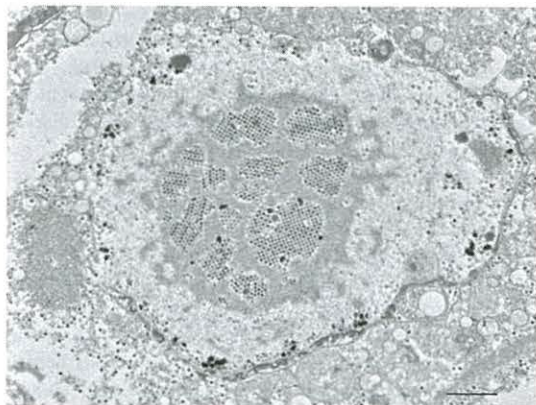


写真 5. 8754 株接種後 4 日目の肝臓の電子顕微鏡写真。酢酸ウラニル・鉛二重染色, Bar = 1,000 nm。  
肝細胞の核内に、結晶状配列をしたウイルス粒子の集積が認められる。

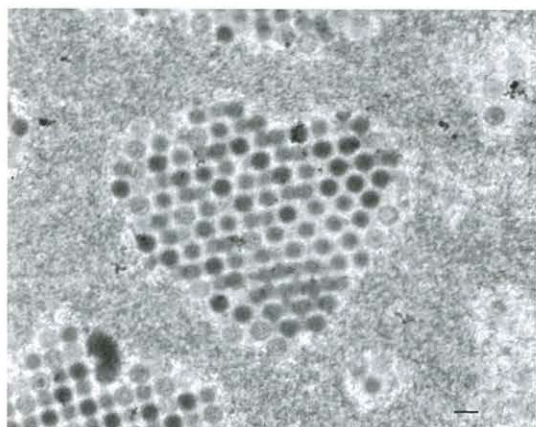


写真 6. 写真 16 の高倍像。酢酸ウラニル・鉛二重染色, Bar = 100 nm。  
円形から正六角形を呈した直径約 70~80 nm のウイルス粒子が結晶状に配列している。

## 5. 間接蛍光抗体法

8754 株に対する鶏血清を用いた間接蛍光抗体法では、CK 細胞の核内に形成された封入体に一致して黄緑色を呈する陽性反応が認められた。同様に、8754 株接種鶏ひなでも肝細胞および卵黄嚢上皮細胞（写真 7）に形成された核内封入体に一致して、黄緑色を呈する陽性反応が認められた。

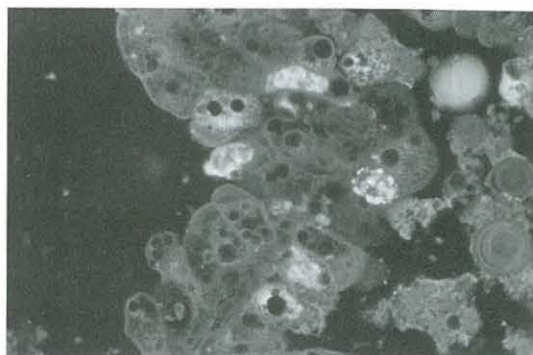


写真 7. 8754 株接種群の初生ひなの卵黄嚢組織。間接蛍光抗体法。  
卵黄嚢上皮細胞の核内に形成された封入体に一致して黄緑色の陽性反応が認められる。

## 考 察

今回検索した野外死亡例では、肝臓の出血と大きな遺残した卵黄嚢が特徴病変であり、組織学的に封入体肝炎および卵黄嚢、脾臓腺房細胞、腸粘膜上皮細胞における核内封入体の形成が認められた。これらの所見からトリアデノウイルス感染症と診断されるものであった。

分離ウイルスを用いた接種実験では、野外例と同様の病変が再現された。死亡率は接種後 4 日目でピークとなり、肉眼的に肝臓は腫大・脆弱化し、様々な程度でびまん性出血が認められ、トリアデノウイルス感染症の病態<sup>11)</sup>と一致していた。接種後 4 日目の両群と対照群の体重および肝臓/体重比の比較では、接種群において増体抑制と肝臓/体重比の増加がみられ、過去の報告と一致していた<sup>11)</sup>。感染実験で主に認められた病変は、封入体肝炎および壊死性封入体脾炎であり、その重症度からこれらの病変が死亡の主な原因と思われた。

培養上清の超遠心産物の Negative 染色ならびにホルマリン固定肝臓組織からの戻し電子顕微鏡観察では、形態学的にアデノウイルスと一致したウイルス粒子<sup>11)</sup>が認められた。

間接蛍光抗体法では、肝細胞および卵黄嚢上皮細胞の核内封入体に一致して黄緑色の陽性反応が認められ、これら封入体が同一の病原体によるものであることが示された。以上の結果から、本病原体はアデノウイルスであり、その病態はこれまでの報告文献<sup>11)</sup>とほぼ同様の様相であることが示された。また、卵黄嚢病変がトリアデノウイルス感染症の病変の 1 つであることが示された。

トリアデノウイルスは多臓器に親和性をもち、核内封

入体を形成することが知られている<sup>11)</sup>。検索した限り、肝細胞、脾臓腺房細胞、筋胃上皮細胞、腺胃腺細胞、腸粘膜上皮細胞、腎臓の尿管細胞、F 囊上皮性細胞、脾・盲腸扁桃リンパ濾胞の細胞、気管上皮細胞などにおいて核内封入体の形成が報告されている<sup>8,9,11,14)</sup>が、卵黄囊における封入体形成は現在までのところ報告がない。したがって、本研究で分離されたウイルス 2 株は、卵黄囊上皮細胞にも親和性を持つアデノウイルスであることが初めて示された。

卵黄囊は卵黄管で空腸と結合しており、孵化後もひなに栄養を供給する器官として体腔内に残る<sup>12)</sup>。遺残卵黄囊は孵化後約 10 日で卵黄囊壁もしくは消化管から血流へと吸収され、内腔が空になると癒痕組織に変化する<sup>12)</sup>。卵黄囊上皮細胞における封入体の存在はこれら正常機能を妨げ、栄養供給を阻害することで発育に影響を及ぼす一因となりうると思われ、今回の接種実験においても卵黄囊病変が体重減少に関与した可能性が考えられた。一方で、野外例でみられた卵黄囊遺残は封入体形成による吸収不良が原因と推測されたが、接種実験では卵黄囊重量の増加傾向はあるものの、ばらつきが大きく、ウイルス感染が必ずしも卵黄囊の遺残の原因になっているかどうかは確認できなかった。実験例ではあるが、初生ひなの卵黄囊重量は個体差が顕著であり、卵黄囊重量のみで吸収不良を評価するのは困難と思われた。

卵黄囊上皮細胞における封入体形成は全症例で認められたものの、その程度は個体によって様々であった。卵黄囊における封入体数が少ない鶏でも肝臓病変は比較的強いものであり、本ウイルスは IBH の 1 つの亜型である可能性が示唆された。卵黄囊はあまり検索されない器官であるが、卵黄囊病変の有無も今後は検索する必要があると思われた。また、過去に鶏から分離された各血清型におけるトリアデノウイルス感染症においても卵黄囊を採材し、今回認められた卵黄囊への親和性が特異的なものかを検索する必要があると思われた。

## 文 献

- 1) Abe, T. *et al.* : Histology, immunohistochemistry, and ultrastructure of hydropericardium syndrome in adult broiler breeders and broiler chicks. *Avian Dis.* 42, 606-612 (1998)
- 2) Abe, T. *et al.* : Gizzard erosion in broiler chicks by group I avian adenovirus. *Avian Dis.* 45, 234-239 (2001)
- 3) Afzal, M., Muneer, R. and Stein, G. : Studies on the aetiology of hydropericardium syndrome (Angara disease) in broilers. *Vet Rec.* 128, 591-593 (1991)
- 4) Bülow, V.V., Rudolph, R. and Fuchs, B. : Folgen der Doppelinfektion von Küken mit Adenovirus oder Reovirus und dem Erreger der aviären infektiösen Anämie (CCA). *J. Vet. Med. B.* 33, 717-726 (1986)
- 5) Fadly, A.M., Winterfield, R.W. and Olander, H.J. : Role of the bursa of Fabricius in the pathogenicity of inclusion body hepatitis and infectious bursal disease viruses. *Avian Dis.* 20, 467-477 (1976)
- 6) Goodwin, M.A. *et al.* : Multisystemic adenovirus infection in broiler chicks with hypoglycemia and spiking mortality. *Avian Dis.* 37, 625-627 (1993)
- 7) 御領政信 : 鶏貧血因子に起因した貧血症の自然例及び実験例の病理・超微形態学的変化について。鶏病研報 23 増刊号, 13-26 (1987)
- 8) Grimes, T.M., Fletcher, O.J. and Munnell, J.F. : Comparative study of experimental inclusion body hepatitis of chickens caused by two serotypes of avian adenovirus. *Vet. Pathol.* 15, 249-263 (1978)
- 9) Hoffmann, R. *et al.* : Lesions in chickens with spontaneous or experimental infectious hepato-myelopoietic disease (inclusion body hepatitis) in Germany. *Avian Dis.* 19, 224-236 (1975)
- 10) 伊藤裕子ら : 若齢肉用鶏群における鶏アデノウイルス感染による筋胃びらんの発生および再現実験。日獣会誌 60, 639-644 (2007)
- 11) McFerran, J.B., Adair, B.M. : Group I adenovirus infections. pp. 214-227. *In* : Diseases of Poultry, (Saif YM *et al* eds), 11th ed., Iowa state University Press, Iowa (2003)
- 12) McLelland, J. : Digestive system. pp. 60. *In* : A colour atlas of avian anatomy, Wolfe Publishing, England (1990)
- 13) Naeem, K. *et al.* : Immunosuppressive potential and pathogenicity of an avian adenovirus isolate involved in hydropericardium syndrome in broilers. *Avian Dis.* 39, 723-728 (1995)
- 14) Nakamura, K. *et al.* : Pathologic study of specific-pathogen-free chicks and hens inoculated with adenovirus isolated from hydropericardium syndrome. *Avian Dis.* 43, 414-423 (1999)
- 15) Nakamura, K. *et al.* : Induction of hydropericardium in one-day-old specific-pathogen-free chicks by adenoviruses from inclusion body hepatitis. *Avian Dis.* 44, 192-196 (2000)
- 16) Nakamura, K. *et al.* : Pancreatic necrosis and ventricular erosion in adenovirus-associated hydropericardium syndrome of broilers. *Vet. Pathol.* 39, 403-406 (2002)
- 17) Okuda, Y. *et al.* : Pathogenicity of serotype 8 fowl adenovirus isolated from gizzard erosions of slaughtered broiler chickens. *J. Vet. Med. Sci.* 66, 1561-1566 (2004)
- 18) Ono, M. *et al.* : Reproduction of adenoviral gizzard erosion by the horizontal transmission of fowl adenovirus serotype 1. *J. Vet. Med. Sci.* 69, 1005-1008 (2007)
- 19) Ono, M. *et al.* : Adenoviral gizzard erosion in commercial broiler chickens. *Vet. Pathol.* 40, 294-303 (2003)
- 20) 太田美奈子ら : ブロイラーにおけるトリアデノウイルスによる発育不良および脾臓萎縮を特徴とする封入体脾炎。鶏病研報 35, 76-80 (1999)
- 21) Pilkington, P. *et al.* : Adenovirus-induced inclusion

- body hepatitis in four-day-old broiler breeders. *Avian Dis.* 41, 472-474 (1997)
- 22) Rosenberger, J.K. *et al.* : The roles of the infectious bursal agent and several avian adenoviruses in the hemorrhagic-aplastic-anemia syndrome and gangrenous dermatitis. *Avian Dis.* 19, 717-729 (1975)
- 23) Tanimura, N. *et al.* : Necrotizing pancreatitis and gizzard erosion associated with adenovirus infection in chickens. *Avian Dis.* 37, 606-611 (1993)

## Avian Adenovirus Infection Associated with Yolk Sac Epithelium Inclusions in Broiler Chicks

Hiroyuki Fukuoka, Jun Sasaki, Kosuke Okada, Takeshi Kawasaki<sup>1)</sup>  
and Masanobu Goryo<sup>†</sup>

Iwate University, 3-18-8 Ueda Morioka-shi Iwate 020-8550

<sup>1)</sup> Research Office Concerning the Health of Humans and Birds,  
2-7-1 Masuura, Abashiri-shi, Hokkaido 099-3119

### Summary

In addition to inclusion body hepatitis, basophilic intranuclear inclusion bodies were histologically observed in the yolk sac epithelium of 16-day broiler chicks with increased mortality of chicken flocks. Two viruses (tentatively designated as strains 8754 and 8755) were isolated in a chicken kidney cell culture from the liver of affected chickens and passaged three times. One-day-old chicks derived from SPF Line-M were inoculated with strain 8754 or 8755 for reproduction of the disease. All chicks were dead within six days post inoculation, and their livers were swollen and fragile with petechial hemorrhages.

Histologically, intranuclear inclusion bodies were observed in the hepatocytes, yolk sac epithelium, pancreatic acinar cells, and enterocytes of the small intestine. Ultrastructurally, 70 to 80 nm diameter virus particles with crystalline arrays were observed in the swollen nucleus of hepatocytes. In an indirect fluorescent antibody test, yellow-green fluorescence corresponded with intranuclear inclusion bodies in hepatocytes and yolk sac epithelium. These results suggest that the yolk sac epithelium may be a target of avian adenovirus.

(J. Jpn. Soc. Poult. Dis., 46, 181-187, 2010)

**Key words** : avian adenovirus, inclusion hepatitis, yolk sac