

学 位 論 文 要 約

氏 名 MOHAMED SABRY AHMED MOHAMED ALI

題 目 Histopathological Studies on the Co-infection with Chicken Anemia Virus and Marek's Disease Virus in Chickens

(鶏における鶏貧血ウイルスおよびマレック病ウイルスの重感染に関する病理組織学的研究)

鶏貧血ウイルス(CAV)およびマレック病ウイルス(MDV)は、どちらも世界中の至る所に存在する鶏の病原体である。これらのウイルスの単独または重感染は、養鶏業に大きな影響を与え、経済的な損失は多大である。CAVが日本で初めて確認されたのは1979年で、それ以来CAVは主に3週齢未満の鶏に疾患を引き起こすと考えられている。しかし、養鶏産業に与える影響は十分に明らかにされていない。一方、MDVは経済的に重要なウイルス誘発性腫瘍を家禽に引き起こし、食鳥処理場での高い廃棄率の原因となるさまざまな臓器のリンパ腫と関連している。CAVとMDVの重感染に関する研究は多くなされているが、重感染の病態については未だ不明な点が多い。本研究では、CAVとMDVの重感染が食鳥処理場のコマーシャルブロイラーで発生していることを明らかにし、これを実験的に検証した。また、CAVとMDVの病原性にシクロフォスファミド(Cy)による処置が与える影響を検索した。

第1章では、マレック病(MD)リンパ腫におけるCAV抗原と封入体の有無について調査した。62の臓器(脾臓49, 肝臓13)を岩手県の食鳥処理場の廃棄鶏より収集した。これらの臓器の表面には様々な大きさの結節が形成されており、罹患臓器を病理組織学的に検索した。肉眼的には検査した臓器の重量と病変構築は多様であり、断面では様々な大きさの結節が認められた。病理組織学的には腫瘍性リンパ様細胞の細胞形態に基づいて脾臓の76%(37/49)および肝臓の92%(12/13)はMDと診断された。罹患臓器におけるリンパ球浸潤パターンに基づき、これらの病変を多発性、融合性、瀰漫性に分類した。CAVの封入体は、2例の肝臓と9例の脾臓におけるMDリンパ腫の小型リンパ球および大型異型リンパ様細胞内に検出された。免疫組織化学検査では、これらリンパ様細胞はCAV抗原陽性となった。野外例のMDリンパ腫細胞内におけるCAV抗原の存在が確認されたのは初めてのことである。

第2章では、2週齢のSPF鶏におけるCAVとMDVの重感染について調べた。鶏42羽を無作為にCAV-MDV群、MDV群、CAV群および対照群の4群に分けた。MDVは1日齢時に、CAVは2週齢時に接種し3, 4, 5週齢で採材し、ヘマトクリット値の測定、病理組織学および免疫組織化学的検査を行った。死亡例や臨床症状はどの実験群にも認められなかった。組織学的にCAV-MDV群では、MDVまたはCAV群よりも重度の病変が胸腺、脾臓、ファブリキウス囊、盲腸扁桃、骨髄、坐骨神経、前胃、肝臓、腎臓、心臓および肺で認められた。CAVの好酸性核内封入体は皮膚を含む様々な組織のリンパ増殖性MD病変に一致して存在していたが、MDVの好塩基性核内封入体が検出されたのは羽包上皮細胞層のみであった。一方、CAV抗原に対する免疫組織化学的検査では、微細な顆粒状の陽性反応がCAV-MDV群においてCAV封入体を有する腫大したリンパ様細胞に認められ、羽包上皮細胞もCAV陽性を示し、羽包上皮にCAVが重感染する可能性が示唆された。

第3章では、CAVとMDVの病原性に対するCy処置の影響を調査した。1日齢雛92羽をCAV-Cy、MDV-Cy、CAV、MDV、Cyおよび対照群の6群に無作為に分けた。Cy処置群にはふ化直後から3日間、合計9mgのCyを大腿筋肉内に接種した。CAVとMDV接種群ではウイルスを3週齢時に接種し、4、5、6週齢時に採材を行った。実験群でヘマトクリット値に有意差は検出されなかったが、特にCy、CAV-CyおよびMDV-Cy群ではその他の身体的パラメーター、体重、脾臓およびファブリキウス囊の重量にその他の群との有意差が認められた。ファブリキウス囊において重度のリンパ球減少が認められたが、これらの病変は全ての群で5週齢までに回復した。しかし、CAV-Cy群は例外で、6週齢の鶏でも回復せずに病変が存続した。MDV群と比較した場合、Cy処置がMDVの病原性に与える影響は顕著で、MDV-Cy群では、リンパ増殖性病変への抑制が認められた。一方、CAV-Cy群ではシクロフォスファミドがCAVの病原性に与える影響は組織によって異なっていた。

結論として、本研究ではMD野外例のリンパ腫内にCAV抗原が存在することを明らかにした。MDVとCAVの実験的重感染によって、それぞれのウイルスの単独感染よりも病変が重度となること、また、MDVが増殖している羽包上皮内でもCAV抗原が検出されることが判明した。Cyを使用した実験により、免疫抑制によって病変が重度になることから、CAVとMDVの重感染は、MDV感染により免疫抑制状態がおこること、単独感染よりも病変が重度になることが示唆された。

学 位 論 文 要 約

氏 名 MOHAMED SABRY AHMED MOHAMED ALI

題 目 Histopathological Studies on the Co-infection with Chicken Anemia Virus and Marek's Disease Virus in Chickens
(鶏における鶏貧血ウイルスおよびマレック病ウイルスの重感染に関する病理組織学的研究)

Both chicken anemia virus (CAV) and Marek's disease virus (MDV) cause ubiquitous worldwide disease of chickens. The single or the dual infection by these viruses has a great impact on poultry production and results in great economic losses. The first recognition of CAV was in Japan in 1979. Since this time, CAV considered as a pathogen that causes disease in chickens mainly before 3 weeks of age, but its true impact on the poultry industry has not yet fully evaluated. On the other hand, MDV considered to cause an economically important virus-induced neoplastic disease affecting poultry and to be associated with lymphomas in various organs, which cause the higher condemnation rate at slaughterhouses. Although there are many experiments investigating co-infection with CAV and MDV, its pathogenesis is still unclear. In this study, I revealed presence of the co-infection with CAV and MDV in the commercial broilers at slaughterhouses and experimentally reproduced the condition in the specific-pathogen free (SPF) chicks, and examined the effect of cyclophosphamide (Cy) treatment on the pathogenesis of CAV and MDV.

In the first chapter, I examined the existence of CAV antigen and inclusions within the Marek's disease (MD) lymphomas. Sixty-two organs, including 49 spleens and 13 livers, with different sized nodular formation on their surfaces collected from condemned broiler chickens at the slaughterhouses in Iwate prefecture, Japan. The affected organs were examined histopathologically. Grossly, the examined organs showed a variety in its weight and anatomical architecture; these organs showed variable sized nodules on cut surface. Histopathologically, 76% (37/49) of the examined spleens and 92% (12/13) of the examined livers were diagnosed as MD based on the pathological lesions and the cellular morphology of the neoplastic lymphoid cells. The lesions of MD were divided according to the pattern of lymphocytic proliferation in the affected organs into multifocal, coalesced and diffuse. CAV inclusion bodies were detected within the small and the bizarre lymphoid cells of MD lymphoma in 2 livers and 9 spleens. Immunohistochemically, both small and bizarre lymphoid cells showed a positive reaction for the presence of CAV antigens. The herein study documents the first report of the presence of CAV antigens within MD lymphoid cells in field cases.

In the second chapter, I experimentally produced the co-infection with CAV and MDV in 2-week-old SPF chicks. Forty-two chicks randomly divided into 4 groups; CAV-MDV group, MDV

group, CAV group and control group. The chicks in these infection groups were inoculated with MDV at one-day-old and /or CAV at 2-week-old. The samples were collected at 3, 4 and 5 weeks old. Measurement of hematocrit value and the histopathological and immunohistochemical examinations performed. No mortality or clinical sign was noticed in any of the experimental chicks. The histopathological lesions in the thymus, spleen, bursa of Fabricius, cecal tonsils, bone marrow, sciatic nerve, skin, proventriculus, liver, kidney, heart and lung were more severe in chicks of the CAV-MDV group among the infection groups. In this group, eosinophilic intranuclear inclusion bodies of CAV were detected in lymphoproliferative lesions of MDV of various tissues including skin, while the basophilic intranuclear inclusion bodies of MDV was detected only in the epithelium of feather follicles. The immunohistochemical examination for CAV antigen revealed fine small granular positive reaction against CAV antigen in the swollen lymphoid cells with CAV inclusions, and the epithelium of feather follicles affected with MDV, also, showed positive for this antigens. These findings suggested that co-infection with CAV and MDV may occur in the epithelium of feather follicles.

In the third chapter, I examined the impact of Cy treatment on the pathogenesis of CAV and MDV. Ninety-two one-day-old chicks were randomly divided into 6 groups; CAV-Cy, MDV-Cy, CAV, MDV, Cy and control group. The Cy treated groups were inoculated with the total amount of 9 mg of Cy intramuscularly into thigh muscle in the first three days directly after hatching. I inoculated CAV or MDV to chicks at 3-week-old and collected samples at 4, 5 and 6-week-old. No significant difference was detected in hematocrit value in the experimental groups, but significant differences were noticed in other physical parameters including weight of body, spleen, and bursa of Fabricius, particularly in the Cy, CAV-Cy and MDV-Cy groups when compared with other groups. The severe lymphocytic depletion in bursa of Fabricius was noticed, but these lesions recovered in all groups by 5-week-old, except for the CAV-Cy group in which the lesions persisted without recovery even in 6-week-old chicks. When compared with MDV group, the effect of Cy treatment on the pathogenesis of MDV was significant in MDV-Cy group in which chickens showed suppression on the lymphoproliferative lesions. In contrast, the effect of Cy on the CAV pathogenesis was variable depending on tissues.

In conclusion, this study revealed the presence of CAV antigen in MD lymphoma of field cases. It was determined that experimental co-infection of MDV and CAV induced more severe lesions than single infection with MDV or CAV, and that CAV antigen could be detected in the epithelial cells of the feather follicle with proliferating MDV. The experimental infection of MDV or CAV with Cy treatment induced more severe lesions than without Cy treatment by immunosuppression. These results suggest that pathological condition may be exacerbated by co-infection with CAV and MDV because MDV infection induces immunosuppression.