

氏名（本（国）籍）	MOHAMED SABRY AHMED MOHAMED ALI (エジプト・アラブ共和国)
主指導教員氏名	岩手大学 教授 御領政信
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣医博甲第466号
学位授与年月日	平成28年9月26日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岩手大学
学位論文題目	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)
審査委員	主査 岩手大学 教授 落合謙爾 副査 帯広畜産大学 教授 古林与志安 副査 岩手大学 教授 御領政信 副査 東京農工大学 教授 渋谷淳 副査 岐阜大学 教授 柳井徳磨

学位論文の内容の要旨

鶏貧血ウイルス(CAV)およびマレック病ウイルス(MDV)は、鶏の重要な病原体であり、これらのウイルスの単独または重感染は、どちらのウイルスも免疫抑制を引き起こすことから、養鶏業に大きな影響を及ぼしている。CAVは1979年、日本で初めて発見された病原体で、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。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、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明らかにした。

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するために、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、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、瀰漫性に分類された。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抗原陽性を示し、野外例のMDリンパ腫細胞内におけるCAV抗原の存在を初めての明らかにした。

第2章では、2週齢のSPF鶏におけるCAVとMDVの重感染について検索、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、病理組織学的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、ファブリキウス嚢、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処置の影響を検索、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嚢の重量にその他の群との有意差が認められた。ファブリキウス嚢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。

本研究ではMD野外例のリンパ腫内のリンパ様細胞の核内に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、重感染する可能性を明らかにした。Cyを使用した実験では、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で、単独感染よりも病変が重度になることを明らかにした。

審査結果の要旨

実験的に鶏貧血ウイルス(CAV)とマレック病(MD)ウイルス(MDV)の重感染に関する研究は多くなされているものの、重感染の病態については未だ不明な点が多く、本論文では、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、岩手県の食鳥処理場の廃棄鶏より収集した62の臓器(脾臓49、肝臓13)についてMDリンパ腫におけるCAV抗原と封入体の有無を調査した。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、リンパ球浸潤パターンに基づき、これらの病変は多発性、融合性、瀰漫性に分類された。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。免疫組織化学的検査では、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 の重感染について検索、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、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、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が、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認められ、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、核内封入体を伴う羽包上皮細胞も CAV 陽性を示し、羽包上皮細胞に 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 処置の影響を検索、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、Cy 処置群にはふ化直後から 3 日間、合計 9 mg 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 週齢時に採材した。ファブリキウス嚢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 Cy 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。

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、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細胞内でも CAV 抗原が検出されることを明らかにした。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から、単独感染よりも病変が重度になることが示された。

以上について、審査委員会は全会一致で本論文を岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Persistence of chicken anemia virus antigen and inclusions in spontaneous cases of Marek's disease visceral lymphomas in broiler chickens at slaughterhouses
著 者 名 : Ahmed, M.S., Ono, H., Sasaki, J., Ochiai, K. and Goryo, M.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年月 : 78 (5) : 825-829, 2016

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Gastric duplication: proventricular cystic choristoma on the spleen of a broiler chicken
著 者 名 : Ahmed, M.S., Sasaki, J. and Goryo, M.
学術雑誌名 : Avian Diseases
巻・号・頁・発行年月 : 58 (3) : 495-498, 2014