

肉用子牛で発生した牛丘疹性口内炎

県央家畜保健衛生所

平野 幸子 近内 将記

佐藤 真貴子 後藤 裕克

英 俊征 小嶋 信雄

はじめに

牛丘疹性口内炎はポックスウイルス科、コルドポックスウイルス亜科、パラポックスウイルス（以下PPV）属に分類される牛丘疹性口内炎ウイルス（以下BPSV）の感染により発症する。牛丘疹性口内炎は接触により伝播し、主に口唇、歯齦、口腔、舌などに発赤丘疹や結節を形成する疾病で、まれに膿疱、潰瘍まで進行する。病変は局所性で全身症状や死亡は稀である。初期症状が口蹄疫に類似していることから鑑別が重要な疾病である¹⁾²⁾。家畜伝染病予防法で届出伝染病に指定されており、毎年、全国的に発生が報告されている³⁾。今回、管内の肉用子牛で牛丘疹性口内炎の症例を確認したのでその概要について報告する。

発症牛の概要と発生経過

発症牛は、肉用牛肥育農場（黒毛和種約100頭飼養）で飼養されていた4カ月齢の黒毛和種で、2021年4月13日に県内酪農家から導入され、他4頭の子牛とともに群飼されていた。4月25日から元気消失し、抗生剤により治療、5月3日に起立不能となり、発熱、腹腔内ガス貯留がみられ、口唇及び舌に丘疹を認めたため、管理獣医師から検診依頼があった。口唇及び舌の表裏以外に病変を認めず、流涎もなく、同居牛に同様の症状がないことから口蹄疫を否定した。管理獣医師が予後不良と判断し安楽殺後、病性鑑定に供した。

材料と方法

1 材料

当該牛について剖検を実施し、脳、舌、食道、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、胃、腸管、膵臓、骨髄、リンパ節を採取し、各種検査に供した。

2 方法

(1) 病理組織学的検査

採材した材料について 10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従いパラフィン切片を製作し、ヘマトキシリン・エオジン（以下HE）染色を実施した。また、舌と食道について、PPVの免疫組織化学的検査及び電子顕微鏡検査を農研機構 動物衛生研究部門（以下動衛研）に依頼した。

(2) ウイルス学的検査

ア 遺伝子学的検査

舌及び食道の丘疹部の乳剤を用いて、猪島らの方法⁴⁾によりPPV-PCR検査を実施し、PCR産物について、*Xmn* I、*Pfl* MI 及び *Drd* I の3種の制限酵素処理（*Xmn* IはBPSV、*Pfl* MIは偽牛痘ウイルス、*Drd* Iは伝染性膿疱性皮膚炎ウイルスをそれぞれ分類）を行い、切断パターンによりPPVを分類した。

イ ウイルス分離

舌及び食道丘疹部の乳剤を用いて、BT細胞、MDBK細胞に接種し、脳、脊髄、肺、脾臓及び腎臓の乳剤を用いて、MDBK細胞及びVer o KY5細胞に接種し、それぞれ7日間3代継代（37℃、5%CO₂）の静置培養を実施し、細胞変性効果（以下CPE）の有無を確認した。

ウ 抗体検査

血清について、寒天ゲル内沈降反応を実施した。

エ 遺伝子解析

舌及び食道乳剤から検出されたPCR産物とウイルス分離培養上清から検出されたPCR産物について、ダイレクトシーケンスと分子系統樹解析を動衛研に依頼した。

(3) 細菌学的検査

脳、肝臓、腎臓、脾臓、肺、舌丘疹部、脊髄液スワブについて、常法に従いβ-NAD血液寒天培地及びDHL寒天培地を用いて好気条件下で37℃、24時間、β-NAD血液寒天培地を用いて、CO₂10%条件下で37℃、48時間培養した。

結果

1 剖検所見

外貌は口唇及び舌の表裏に丘疹を認め、蹄やその他の部位に病変はなく、水疱、潰瘍、びらんといった口蹄疫に特徴的な病変は確認されなかった（写真 1）。剖検所見では、舌から食道にかけて、約 1 cm 大の丘疹がみられた（写真 2）。また、肺は、全葉暗赤色から黒色調を呈し、左肺前葉前部及び後部の肺葉が癒着し、気管内腔には泡沫液が貯留していた。その他臓器に著変は認められなかった（写真 3）。

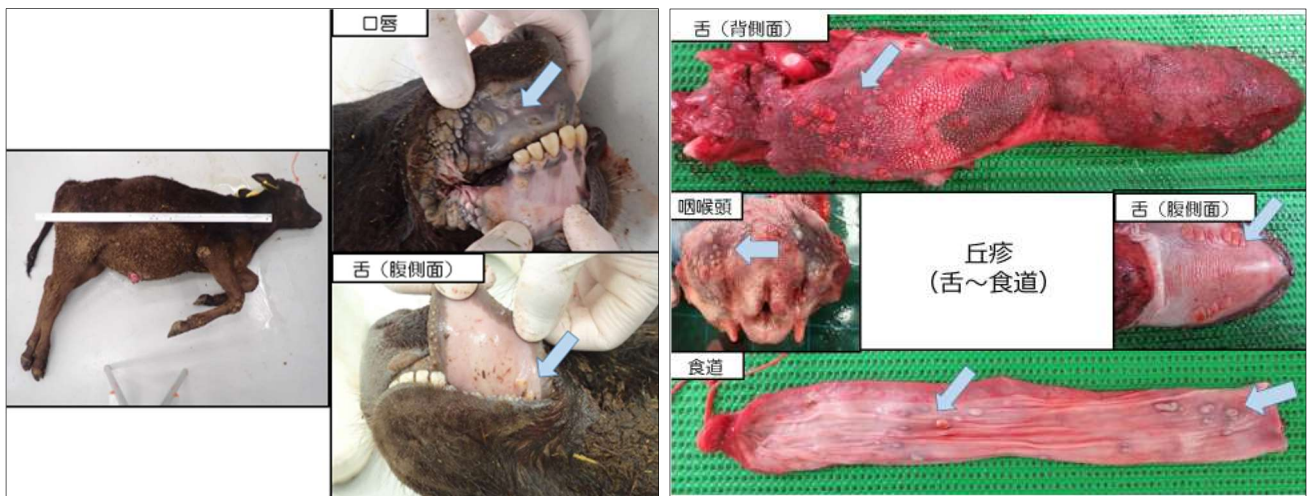


写真 1 外貌

写真 2 舌、咽喉頭及び食道の丘疹

2 病理組織学的検査

舌は、丘疹部に限局して粘膜が高度に肥厚し（写真 4）、粘膜の肥厚部を拡大すると、上皮細胞の増生及び風船様変性がみられ、細胞質内には複数の好酸性大型封入体ないし小型封入体の形成が認められた（写真 5）。咽頭および食道の丘疹部においても同様の所見がみられた。これらの病変部の抗 P P V 家兔血清を用いた免疫染色では、陽性抗原が検出された。また、電子顕微鏡検査により、病変部に P P V に特徴的な約 250nm のコー

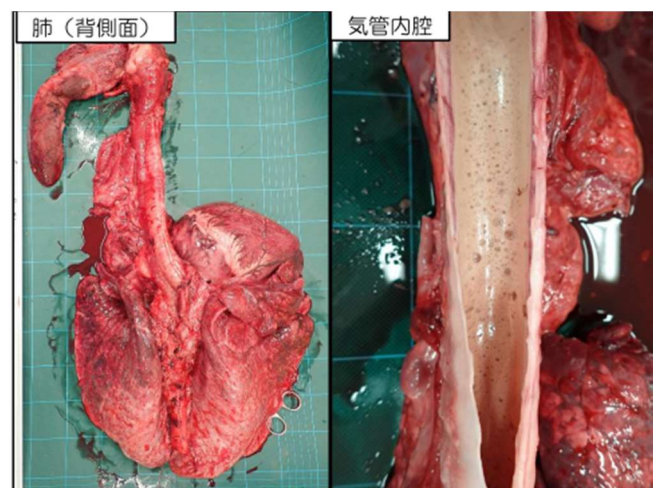


写真 3 肺及び気管内腔

ヒー豆様の形態をしたウイルス粒子と約 150nm の未熟と思われるウイルス粒子が確認された（写真 6）。一方、肺では、気管支から肺胞にかけて燕麦様細胞を含む炎症性退廃物を容れ、小葉間結合

組織の肥厚及び胸膜に炎症性滲出物の付着を認め、化膿性気管支肺炎・胸膜肺炎を呈していた（写真7）。

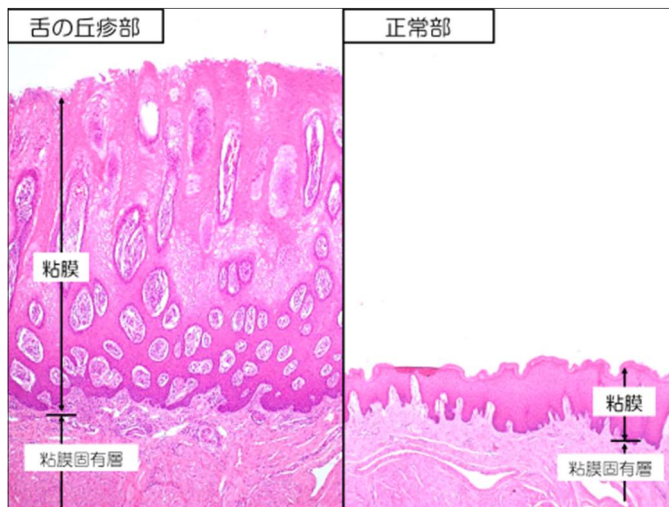


写真4 舌の丘疹部

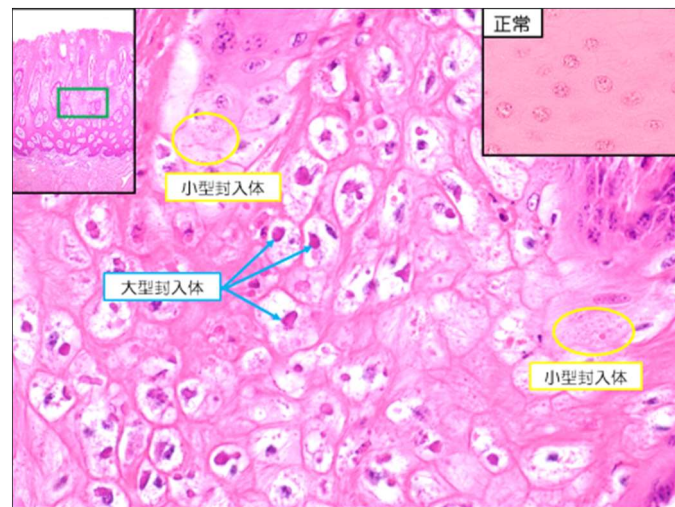


写真5 舌の丘疹部拡大像

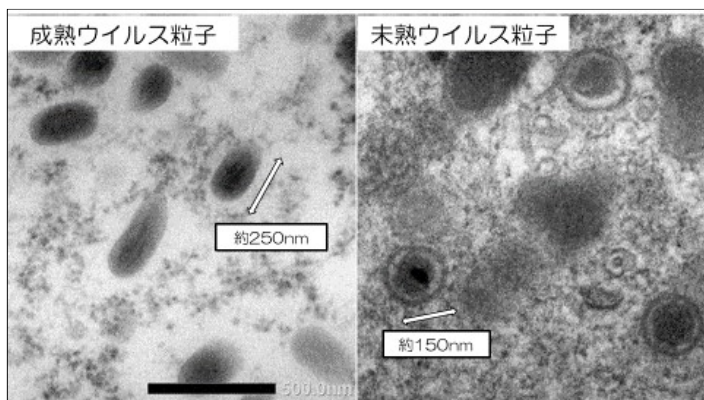


写真6 透過型電子顕微鏡像

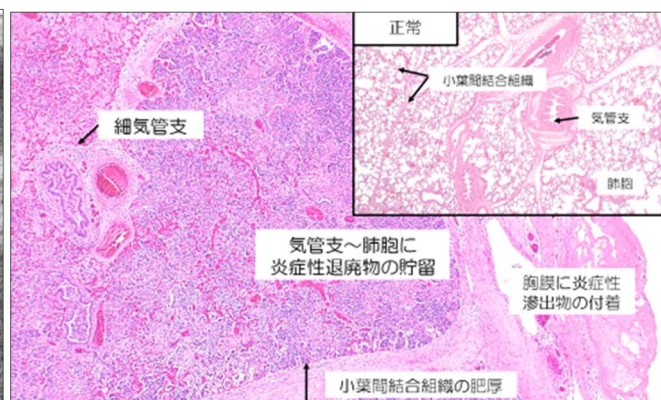


写真7 化膿性気管支肺炎・胸膜肺炎

3 ウイルス学的検査

(1) 遺伝子学的検査

舌及び食道の丘疹部において、PPV特異遺伝子が検出され、得られたPCR産物について、制限酵素処理を実施したところ、制限酵素 *Xmn* I で切断され、BPSVと分類した。

(2) ウイルス分離

舌丘疹部乳剤を接種したBT細胞において2代目7日目にCPEを確認し、HE染色にて培養細胞中の細胞質内封入体を確認した。その他の各種材料を接種した培養細胞にCPEは確認されなかった。

(3) 抗体検査

当該牛の血清を用いたゲル内沈降反応において、P P V 特異抗体陽性を確認した。

(4) 遺伝子解析

舌及び食道乳剤のPCR産物とウイルス分離培養上清のPCR産物について、B P S V 部分配列 (554bp) をダイレクトシーケンスにより解析し、GenBank®の登録配列と比較した結果、舌乳剤、食道乳剤由来の配列は既存の分離報告されたB P S V と 100%一致し、B P S V のクラスターに属した (図 1)。また、舌乳剤及び食道乳剤とウイルス分離培養上清から得られた遺伝子の配列は 100%一致し、分離されたウイルスはB P S V と確認された。

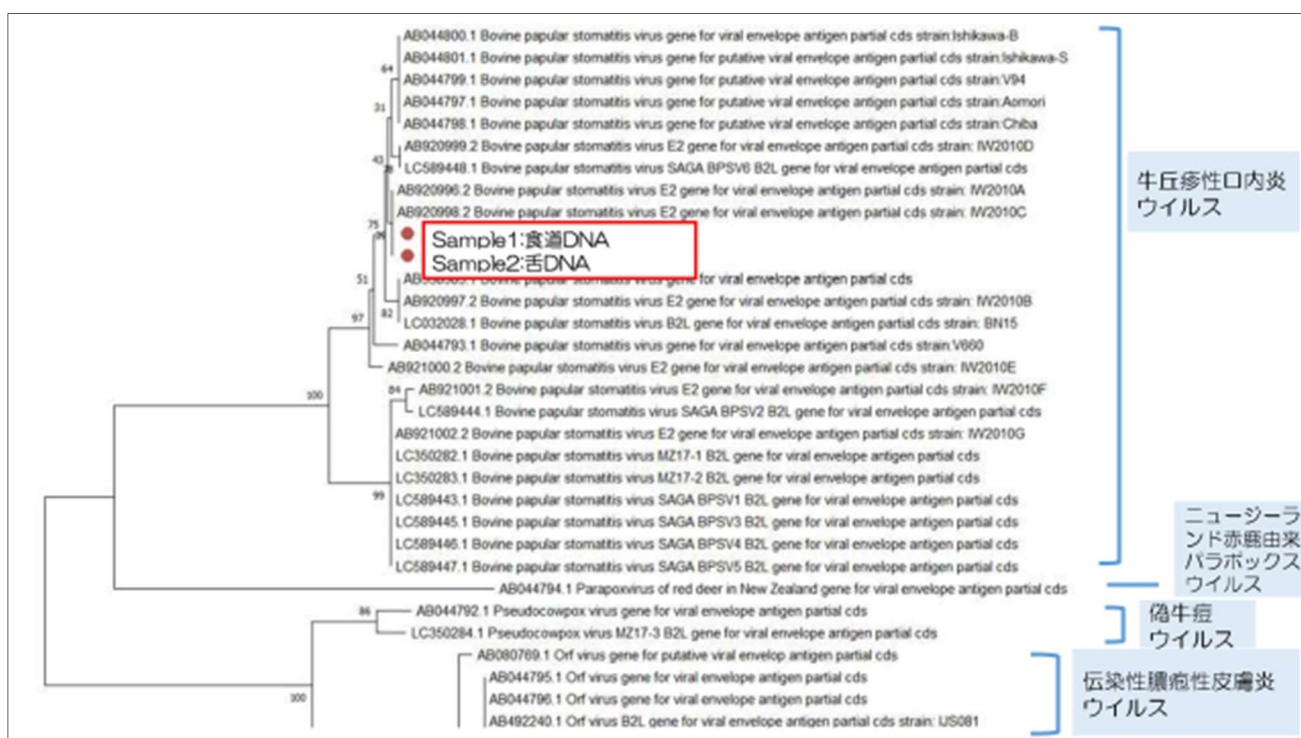


図 1 P P V の分子系統樹解析

4 細菌学的検査

いずれの検体からも有意な細菌は分離されなかった。

まとめ及び考察

本症例は、舌から食道にかけて約 1 cm 大の丘疹がみられ、舌は丘疹部に局限して粘膜が高度に肥厚し、上皮細胞の増生及び風船様変性がみられた。細胞質内には複数の好酸性大型封入体ないし小型封入体の形成が認められた。咽頭および食道の丘疹部においても同様の所見がみられた。これら病変部の抗 P P V 家兔血清を用いた免疫染色では、陽性抗原が検出された。また、電子顕微鏡検査

により P P V に特徴的なコーヒー豆様の形態をしたウイルス粒子が確認された。遺伝子学的検査では、舌及び食道丘疹部から P P V 特異遺伝子を検出し、舌丘疹部から B P S V を分離した。ゲル内沈降反応では P P V 特異抗体が確認された。以上のことから本症例は、牛丘疹性口内炎と診断した。

一方、肺は、全葉暗赤色から黒色調を呈し、左肺前葉前部及び後部の肺葉が癒着し、気管内腔には泡沫液が貯留していた。組織学的検査では、気管支から肺胞にかけて燕麦様細胞を含む炎症性退廃物を容れ、小葉間結合組織の肥厚及び胸膜に炎症性滲出物の付着を認め、化膿性気管支肺炎・胸膜肺炎を呈していた。一般的に牛丘疹性口内炎は、全身症状や死亡は稀と言われているが、本症例は予後不良であった。発症牛は導入後間もない若齢子牛であったことから、輸送ストレスなどにより肺炎を併発し、予後不良となったものと考ええる。

謝辞

最後に、遺伝子解析、免疫組織化学的検査及び電子顕微鏡検査の実施、ご助言を賜りました、農研機構 動物衛生研究部門 動物感染症研究領域 ウイルスグループ安藤清彦先生、衛生管理研究領域 病理・生産病グループ木村久美子先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) 動物の感染症 (第三版)、108、近代出版 (2006)
- 2) 病性鑑定マニュアル (第4版)、86-88
- 3) 農林水産省ホームページ「監視伝染病の発生状況」
- 4) Inoshima Y, Morooka A, Sentsui H: Detection and diagnosis of parapoxvirus by the polymerase chain reaction, *J Virol Methods*, 84, 201-208 (2000)