

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：11201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23780289

研究課題名（和文）ブロイラーにおける脊椎膿瘍発生メカニズムの解明と気嚢システムの関与

研究課題名（英文）Pathological study of thoracic spinal abscess in broiler chickens.

## 研究代表者

佐々木 淳 (SASAKI JUN)

岩手大学・農学部・助教

研究者番号：60389682

研究成果の概要（和文）：本研究より、ブロイラーの野外例では2週齢時にはすでに脊椎膿瘍を発病している個体が存在することが判明した。多くの病鶏では第六胸椎の関節部に出血を伴う亀裂が生じており、本症の初発病変と考えられた。病変部より大腸菌群や *Salmonella* *Infantis* などのサルモネラ属菌が分離された。2週齢前後では胸椎の椎体に気嚢がみられないことから、本症の感染経路は経気道感染よりも血行性感染が強く疑われた。

研究成果の概要（英文）：This study demonstrated that broiler chicks with paresis and lameness had already outbreaks of thoracic spinal abscess at 2 weeks age. Most chicks with symptoms showed clefts and hemorrhages at articular cartilage. These findings suggested that early stage of this disease. *Escherichia coli* and *Salmonella* *Infantis* were isolated from spinal lesion. Hematogenous transmission route was strongly suspected rather than respiratory tract infection.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

## 研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、基礎獣医学・基礎畜産学

キーワード：ブロイラー、第六胸椎、脊椎膿瘍、骨髄炎、関節炎、脚麻痺、気嚢、CT

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 平成4年度より食鳥検査制度が実施されるようになって以来、病鶏の排除は食鳥処理場において公的に行われている。しかし最近では、脚弱・脚麻痺や削瘦などを示す明らかな病鶏については、各ブロイラー生産農場が出荷前に自主的に淘汰・廃棄するようになってきている。したがって、これら自主淘汰鶏の中にどのような疾患が発生しているかに関し

ては厚生労働省が公表している疾病統計データに現れないため、農場レベルにおいて潜在している疾病の実態は不明である。

(2) そこで、われわれは岩手県内におけるブロイラー生産農場で脚弱・脚麻痺や削瘦を理由に自主淘汰された鶏を病理学的に検索し、脊椎症と診断された41/67症例(61%)の内、約1/3(11/41例、27%)の脊椎病変部において膿瘍が形成されていたことを明らかにし

た。従来、ブロイラーが脚弱・脚麻痺を示す主な疾患は、第六胸椎の変位が脊髄を直接的に圧迫・障害する非感染性疾患である脊椎すべり症と考えられていたが、われわれが検索した症例では、脊椎の椎体に形成された膿瘍の波及によって脊髄病変が発生していたことから、本症は脊椎すべり症とは全く異なる病態であることが判明した。さらに、別の3カ所の農場を同様に検索したところ、脊椎症の高率な発生が認められ(59/84例、70%)、膿瘍形成はそれらのおよそ半数(27/59例、46%)にも及んでいた。

(3) これまでの研究成果より、病変部には複数種の細菌塊とともに、一部の個体ではわずかに気嚢が侵入していることが病理組織学的に確認された。さらに脊椎膿瘍病変部を細菌学的に検査すると、*Salmonella* 属菌、大腸菌、黄色ブドウ球菌など多種の病原菌が分離された。膿瘍は脊椎以外の他の臓器・組織では全く認められないため、脊椎膿瘍の感染経路として気嚢が関与している可能性が疑われた。しかしながら、ブロイラーでは特に第六胸椎における気嚢の存在が解剖学的に明らかでないため、本症の発生メカニズム解明にはブロイラーの主に胸椎における気嚢システムの分布・局在の探索が必須である。

## 2. 研究の目的

### (1) ブロイラーにおける脊椎膿瘍発生メカニズムの解明：

われわれはこれまで岩手県内における自主廃棄鶏を研究してきたが、脊椎膿瘍の発生メカニズムは不明のままであり、海外でも類似病変の発生報告はわずかしかない。本症の診断基準を構築し、脊椎すべり症とは異なる発生メカニズムであることを明らかにするために、ブロイラー農場に協力を要請し、脚弱・脚麻痺・削瘦を示す自主淘汰鶏を収集する。本症の発生状況を調査するとともに、これまで収集してきた症例と病理学的な比較を行うなど、本症の病理学的特徴を明確にし、疾病診断のための基準を構築していく。また、これまでの研究では、脊椎膿瘍病変部において病理組織学的に多くの細菌塊が認められ、さらに多種多数の菌株が分離されているため、本研究でも同様に脊椎膿瘍病変部から菌分離を試みる。

### (2) 第六胸椎を中心としたブロイラー気嚢システムの探索と感染経路の検討：

ブロイラーにおける脊椎膿瘍の発生メカニズムには気嚢の関与が疑われているが、

ブロイラーでは特に第六胸椎の椎体に気嚢が延伸・分布しているかどうか未解明のため、ブロイラーの脊椎に存在する気嚢の有無を明らかにし、膿瘍病変との関連を検討する。主に第六胸椎を中心とした脊椎気嚢の探索により、経気道感染の可能性について検証する。

## 3. 研究の方法

### (1) 自主淘汰鶏の実態調査：

すでに研究協力体制が構築されている岩手県内のブロイラー生産農場に依頼し、自主的に淘汰された鶏のうち、脚弱・脚麻痺・削瘦などを示す症例を収集する。それぞれの臨床的な症状発現の特徴や程度を比較・検討する。

### (2) 脊椎膿瘍の病理学および細菌学的探索：

収集した自主淘汰鶏の病理解剖を行い、脊椎膿瘍の有無を病理学的に探索する。脊椎膿瘍のほとんどは内臓を摘出したのみでは見極めることが困難なため、第六胸椎を中心に脊椎を正中矢状断面で割断する。肉眼的に膿瘍形成の有無を確認したのちに、病理組織標本作製し、組織学的に病変部を探索する。病理学的探索では特に、病変の規模と局在、脊髄へ及ぼす影響の程度について詳細に探索する。さらに病変部における原因菌の形態学的特徴と局在を明らかにし、病変内における気嚢の有無・分布について精査することにより、病変、原因菌および気嚢とのマッチングを行う。病理解剖時には、組織サンプルの収集とともに、膿瘍病変部より細菌分離を試みる。さらに、病理組織学的に見出された細菌の形態学的特徴と分離菌株が一致するかどうか精査する。

### (3) ブロイラー脊椎における気嚢分布・局在の探索：

われわれはすでにX線CT画像診断システムを用いた予備実験を実施し、P2系白色レグホン種SPF成鶏の胸椎における気嚢の局在を確認している。そのデータをもとに、脚弱・脚麻痺・削瘦を示すブロイラー自主淘汰鶏のCT検査を行い、特に脊椎膿瘍が形成される第六胸椎の椎体を中心に気嚢の分布・局在を探索する。CTの3次元画像解析により、ブロイラーの気嚢を3次元的に描出し、その分布・局在を明らかにする。

#### 4. 研究成果

(1) 初年度は、ブロイラーにおける脊椎膿瘍の発生状況を把握することを目的として、岩手県内における一般のブロイラーインテグレーターに脚弱（図1）や脚麻痺を示す症例の提供を依頼し、本症の発生状況を病理学的・細菌学的に検索した。本症は主に第六胸椎に形成された膿瘍（図2、3）、つまり病理組織学的に壊死性化膿性肉芽腫性骨髓炎・関節炎によって胸髄が圧迫を受けることにより、脚弱や脚麻痺などの臨床症状が発現することがあらためて明らかとなった。

さらに、これまでの検索では50日齢前後の出荷直前の症例のみを検索対象としていたが、今回の検索ではおよそ2週齢から検討しはじめ、その時点ですでに膿瘍の初期病変と考えられる病変を有する症例が見出された。いっぽう、多くの野外例では、脊椎膿瘍の有無にかかわらず第五、六、七胸椎の関節軟骨部位において、関節軟骨層の出血を伴う離断性病変（図4）が認められ、一部の症例では細菌塊（図5）を伴うものもみられた。以上の結果より、本症は2週齢前後から発生することが示され、病変の初発部位としては関節軟骨部における離断性病変の可能性が示唆された。



図1 脚弱を示す病鶏



図2 腫大した第六胸椎



図3 第五・第六胸椎関節部に主座して化膿性病変がみられる（図2の正中矢状断面）

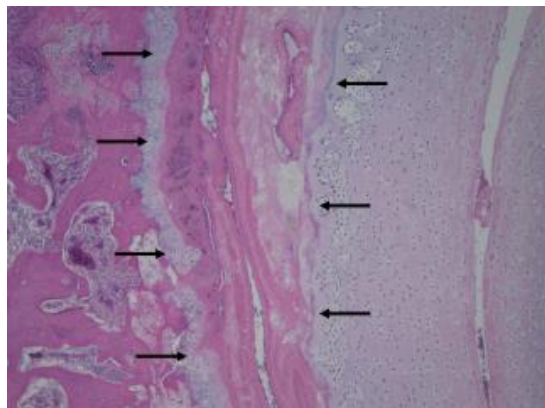


図4 第六胸椎関節軟骨の出血・離断（矢印）

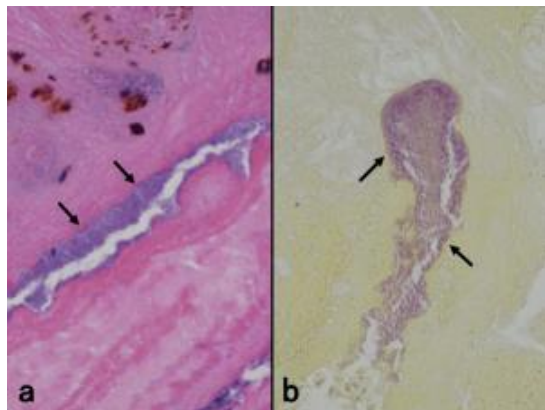


図5 病変部における多数の細菌塊（矢印、a：HE染色、b：グラム染色）

病変部の細菌検査により、従来も報告されている大腸菌群の他に、多くの症例からサルモネラ属菌が分離され、それらは血清型別により *Salmonella* *Infantis* と同定された (表1)。この結果は、本症の起病菌がヒトの食中毒起病菌と同一であることを示し、食の安全・安心を確保する観点から、本症の疾病コントロールが重要であることが示された。

表1 脊椎膿瘍病変部における細菌学的検索結果

群	鶏No	分離菌
A	14	大腸菌群
	16	大腸菌群
	19	大腸菌群
B	3	<i>Salmonella</i> <i>Infantis</i> (0:7H:r1,5)
	11	<i>Salmonella</i> <i>Infantis</i> (0:7H:r1,5)
	14	<i>Salmonella</i> <i>Infantis</i> (0:7H:r1,5)
	17	<i>Salmonella</i> <i>Infantis</i> (0:7H:r1,5)

(2) 前年度の研究成果より、ブロイラーにおける脊椎膿瘍は2週齢前後より発生することが明らかとなったが、原因菌が第六胸椎に至る感染経路は特定できなかった。本症の感染経路としては血行性感染の他、鳥類特有の器官である気嚢を介した経気道感染の可能性も疑われている。しかし、現在の本邦で多く飼養されているブロイラー種における気嚢の解剖学的知見は乏しく、あらためて正常構造を把握する必要があることから、最終年度ではCTを用いた3D画像解析によるブロイラーの気嚢構造探索と病理学的検索を実施した。実験にはブロイラー農場で出荷直前に自主廃棄された44~52日齢のブロイラー (A群) と、初生で導入し74日齢まで飼育したブロイラー (B群)、成鶏のP2系白色レグホン種 (C群) を用いた。全ての症例は炭酸ガスにて安楽殺後、小動物用気管チューブを気管に挿管し、空気をおよそ100ml程度注入してからCT撮影を行った。いずれの症例もCT撮影後に剖検し、定法に従って病理学的検索を行った。CT撮影により得られたデータは、OsiriXを用いて解析をした。

今回検索したほとんどのブロイラーの頸椎椎体では空気とほぼ同様の CT 値を示す領域が認められたことから含気骨であることが示されたが、10週より若齢のブロイラーでは第六胸椎における含気構造は確認されなかった (表2、図6)。

表2 椎体への気嚢の侵入状況

群	日齢	C11	C12	C13	C14	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	仙椎
A	44	○	○	○									
	44	○	○	○	○	○	○						
	44	○	○	○	○	○	○	○					
	44	○	○	○			○						
	50	○	○	○	○	○	○						△
	50	○	○	○			○						
	50	○	○	○	○	○							
	51	○	○	○			○						△
B	51	○	○	○			○						
	51	○	○	○			○						
	51	○	○	○			○						
	52	○	○	○			○						
C	52	○	○	○	○								
	52	○	○	○									
	52	○	○	○									
	52	○	○	○									
成鶏	70	○	○	○	○	○	○						
	70	○	○	○	○	○	○						

○ : 含気骨  
△ : 棘突起のみ含気骨

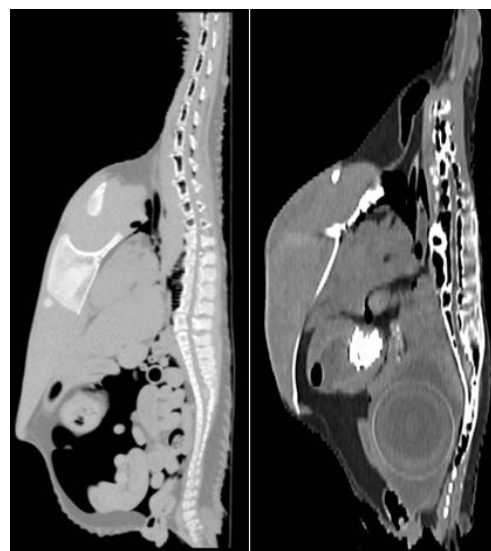


図6 実験鶏のCTによる正中矢状断面 (左: A群、右: C群)

頸部および体腔内では、空気とほぼ同様のCT値を示す領域がそれぞれ認められ、胸部領域について - 1000 ~ - 100 でリージョングロウイングを行うと、肺と気嚢の一部が描出された(図7)。腹部の軸状断では、腹腔臓器間における気嚢の局在が見られた。さらに同領域内をCT値1000に、領域外を - 1000に変更してボリュームレンダリングを実施したところ、肺および鎖骨間気嚢、前または後胸気嚢、腹気嚢の一部がそれぞれ描出された(図8)。しかし、脊椎椎体の含気領域とそれら気嚢との連続性は確認できなかった。今回検索したブロイラーでは主に頸椎や上部胸椎までが含気骨であり、これらの領域は鎖骨間、胸、腹気嚢などと連続していることが推察された。一方、ブロイラーの第六胸椎椎体では空気と同程度のCT値を示す領域は認められなかったことから、ブロイラーでみられる脊椎膿瘍の感染経路は、経気道感染よりも血行性感染が強く疑われた。

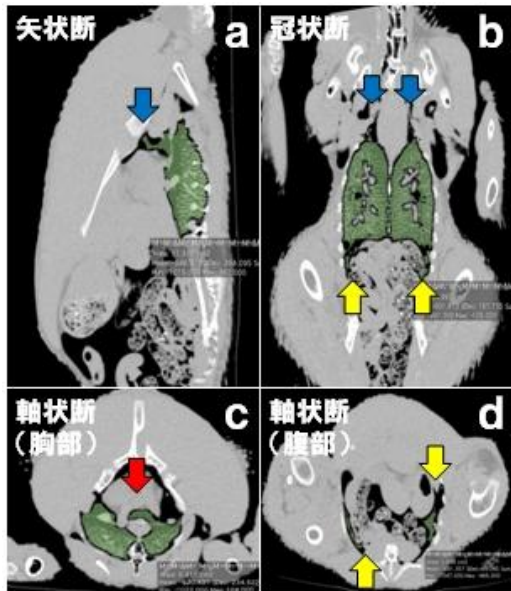


図7 胸部領域におけるリージョングロウイング像

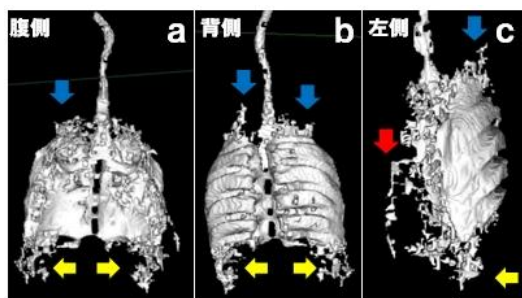


図8 B群の肺と気嚢の3Dボリュームレンダリング像

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ①小笠原一憲、佐々木淳、川崎武志、御領政信 *Salmonella Infantis* が関与したブロイラーの脊椎膿瘍、鶏病研究会報、査読有り、印刷中、2013年発行予定

[学会発表] (計4件)

- ①戸澤好美、佐々木淳、岡村泰彦、渡辺清正、小笠原一憲、御領政信、ブロイラーの脊椎疾患と気嚢構造のX線CT探索、第155回日本獣医学会学術集会、2013. 3. 30、東京大学(東京都)
- ②戸澤好美、佐々木淳、渡辺清正、小笠原一憲、御領政信、自主廃棄された若齢ブロイラーにみられる脊椎膿瘍の初発病変、平成24年度岩手県鶏病技術研修会、2013. 3. 7、水産会館(岩手県)
- ③渡辺清正、佐々木淳、御領政信、若齢ブロイラーでみられた脊椎膿瘍の病理学的特徴および脊椎における気嚢侵入時期の探索、第154回日本獣医学会学術集会、2012. 9. 14、岩手大学(岩手県)
- ④渡辺清正、佐々木淳、小笠原一憲、川崎武志、御領政信、自主廃棄されたブロイラーにみられる脊椎膿瘍の病理学的研究、平成23年度岩手県鶏病技術研修会、2012. 2. 27、水産会館(岩手県)

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 淳 (SASAKI JUN)

岩手大学・農学部・助教

研究者番号：60389682