X線 CT を用いたブロイラーにみられる脊椎膿瘍の感染経路の検討

岡村泰彦 御領政信

岩手大学農学部 (〒 020-8550 盛岡市上田 3-18-8)

(2013年11月18日受付·2014年6月16日受理)

要 約

ブロイラーでみられる脊椎膿瘍の感染経路を解明する目的で、鶏の脊椎に分布する気嚢を探索した. 岩手県内の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12 例(A 群)と、初生で導入し74 日齢まで飼育したブロイラー2 例(B 群)、成鶏の P2 系白色レグホン種 2 例(C 群)を用いて、X 線 CT 検査及び病理学的検索を行った。 A 群と B 群では、頸椎から第三胸椎までの椎体が含気骨を呈しており、第四胸椎以降では含気領域は認められなかった。 C 群では頸椎から仙椎までほとんどの椎体で含気領域が認められた。 A 群でみられた脊椎膿瘍の症例では、CT 検査によっておもに第六胸椎の椎体構造の破壊がみられ、それらは肉眼的及び病理組織学的検索でも確認されたが、いずれも第六胸椎の椎体に含気領域は認められなかった。 これらの検索結果より、本症の感染経路は気嚢を介した経気道感染の可能性は低いことが示唆された。 ——キーワード:気嚢、ブロイラー、CT、感染経路、脊椎膿瘍。

鳥類特有の器官である気嚢は水禽類をはじめとする空を飛ぶ鳥類では体腔内や筋間、骨などに広く分布していることが知られており、孵化後から成長とともに延伸・拡大して筋肉・内臓間、骨質中に至るまで入り込み、呼吸気の交換に大きく関与することが知られている[1-3]. 鶏の脊椎に分布する気嚢は、頸椎と連続する頸気嚢、腰椎や仙椎と連続する腹気嚢が知られているが[2,3]、胸椎、特に第六胸椎との連続性は明らかにされておらず、近年、本邦で多く飼養されているブロイラー種の椎骨における気嚢分布の詳細も不明のままである.

ブロイラーに発生する脊椎症の一つとして、われわれは脚弱、脚麻痺や発育不良などの臨床症状を示すブロイラーの脊椎膿瘍を報告してきた [4-6]. 本症は第六胸椎に主座し、椎体の腫大や変形、前後の椎体同士の癒合などをきたし、脊髄を背側へ圧迫・障害することにより脚弱または脚麻痺を引き起こす。病理組織学的には、グラム陽性球菌やグラム陰性短桿菌などを伴った壊死性化膿性肉芽腫性炎症が特徴である。原因学的には、黄色ブドウ球菌、大腸菌群や Salmonella 属菌 [4-7] などの人の食中毒起因菌や、海外では Enterococcus 属菌 [8-11] の関与も報告されている。これらの原因菌が第六

胸椎に到達する経路としては、血行性やリンパ行性、さらに気囊を介した経気道感染の可能性が考えられている [12] が、病原菌の感染経路を含め本症の病理発生メカニズムについては不明な点が多い.

そこで本研究では、ブロイラーでみられる脊椎膿瘍の 感染経路として気嚢を介した経気道感染の可能性を検討 する目的で、X線 CT を用いて野外のブロイラー、74日 齢のブロイラー及び白色レグホン種の成鶏におけるおも に脊椎に分布する気嚢の局在を探索したので、その概 要を報告する.

材料及び方法

試供鶏:岩手県内のブロイラー農場で出荷直前に脚弱、脚麻痺、発育不良などのため自主廃棄された44~52日齢のコマーシャルブロイラー12例(A群)、初生で導入し74日齢まで当研究室にて飼育したコマーシャルブロイラー2例(B群)、当研究室で自家繁殖させた成鶏のP2系白色レグホン種2例(C群、およそ200日齢)を用いた。すべての症例は炭酸ガスにて安楽殺後にCT撮影を行った。剖検時、第五から第七胸椎についてはブレードを用いて正中矢状に沿って割断した。なお、

[†] 連絡責任者:佐々木 淳 (岩手大学農学部獣医病理学研究室)

表1 実験鶏の臨床症状及び主な病変

群	日齢	症例 No.	性別	体重 (kg)	臨床症状	主な病変
A	44	1	雄	0.9	脚弱	発育不良(重度), 関節炎
		2	雌	1.5	脚麻痺	脊椎すべり症,発育不良
		3	雌	1.7	脚麻痺	脊椎すべり症,発育不良
		4	雌	2.3	脚弱	著変認められず
	51	5	雌	1.4	脚麻痺	脊椎膿瘍,発育不良
		6	雌	1.7	脚麻痺	脊椎すべり症, 発育不良
		7	雌	1.8	脚弱	脊椎すべり症,大腸菌症, 発育不良
		8	雄	1.8	脚麻痺	脊椎膿瘍, 発育不良
	52	9	雄	1.6	脚麻痺	脊椎すべり症、発育不良
		10	雄	2.1	常	著変認められず
		11	雌	2.3	常	脊椎すべり症
		12	雄	2.3	脚麻痺	大腿骨骨頭炎(右側), 下腿骨骨炎(右側)
B	74	13	雄	3.2	常	脊椎すべり症 (軽度)
В		14	雌	3.3	常	著変認められず
	200	15	雌	_	常	著変認められず
C		16	雌	_	常	著変認められず

本実験は岩手大学動物実験委員会の承認を得て行った (承認番号 A201152).

CT 撮影:実験鶏は安楽殺後に小動物用気管チューブを気管内に挿管し、酸素を気道内圧が $20 \mathrm{cmH}_2\mathrm{O}$ を超えない程度に注入してから CT 撮影を行った。撮像には4列マルチスライスへリカル CT (Asteion TSX-021B、東芝メディカルシステムズ㈱、栃木)を用い、管電圧120kV、管電流 $50 \mathrm{kA}$ 、撮影スライス厚は $1.0 \mathrm{mm}$ に設定した。CT 撮影により得られたデータは、医用画像解析アプリケーション OsiriX (v.5.0.2 $32 \mathrm{-bit}$, Advanced Open-Source PACS workstation, DICOM viewer, GNU General Public License)を用いて気嚢構造の探索を行った。また、椎骨に分布する含気領域と体腔内における気嚢との連続性の有無を検討するため、画像から一定の領域を選択する手法であるリージョングローイングを実施した。

病理組織学的検査:採材した胸椎などの骨組織は10% ギ酸ホルマリン液にて脱灰・固定後、常法に従いパラフィン包埋ブロックを作製した、パラフィン包埋ブロックは 4μ m に薄切した後、ヘマトキシリン・エオジン(HE) 染色を施し、光学顕微鏡にて病理組織学的に検索した。気嚢上皮細胞と脈管系組織を鑑別し、脊椎における気嚢の局在を明らかにするため、パラフィン包埋薄切標本を脱パラフィン後、市販の免疫染色キット(ダコLSAB+キット/HRPユニバーサル、DAKO、Denmark)を用いて常法に従いLabeled Strept Avidin-Biotin 法を実施した。一次抗体にはAE3(100 倍、Progen Biotechnik、Germany)、Vimentin(50 倍希釈、DAKO、

表2 実験鶏の脊椎における含気骨の分布

群	日齢	症例 No.	頸		椎		胸椎						41.44	
			C11	C12	C13	C14	T1	T2	Т3	T4	Т5	Т6	T7	仙椎
A	44	1	(a	0	0			0						
		2	\circ	\bigcirc	\bigcirc	\bigcirc	\bigcirc	\bigcirc						
		3	\bigcirc	\circ	\circ									
		4	\circ	\bigcirc	\bigcirc	\circ	\circ	\bigcirc	\bigcirc					
	51	5 ^b	0	0	0									
		6	\circ	\bigcirc	\bigcirc									
		7	\circ	\bigcirc	\bigcirc			\bigcirc						
		8 ^b	0	0	0	0								
	52	9	0	0	0			0						
		10	\circ	\bigcirc	\bigcirc	\bigcirc		\bigcirc						
		11	\circ	\bigcirc	\bigcirc			\bigcirc					\triangle	
		12	\circ	0	0			0						
В	74	13	0	0	0	0	0	0						
		14	\circ	\bigcirc	\bigcirc	\circ	\circ	\bigcirc						
С	200	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		16	\circ	\circ	\circ	\circ	0	\circ	\bigcirc	\bigcirc	\circ	\circ	\bigcirc	\circ

a ○:含気骨あり, △:棘突起のみ含気骨

b 脊椎膿瘍症例

Denmark), Rabbit Anti-Factor W Related Antigen (100 倍希釈, Invitrogen, U.S.A.), Mouse Anti-Actin-Smooth muscle (α-SMA) (Ready-to-use, Invitrogen, U.S.A.) を用いた.

成 績

臨床症状: A 群では、脚弱が 3 例、脚麻痺が 7 例で認められた。また、それらの症例のほとんどは体重が 2.0kg 以下であり、発育不良に該当した。B 群及び C 群では、歩様等に著変は認められなかった(表 1).

X線CT検査結果: A 群と B 群では頸椎から最長で第 三胸椎まで含気骨を認めたが、C 群では頸椎から仙椎ま でのほとんどの椎体が含気骨を呈していた(表 2). B 群の第十三頸椎の軸状断面では、椎骨のほぼ全域が含気 骨を呈しており、さらに肋骨脊椎部の基部も空気と同様 の CT 値を示した(図 1).

B群の頸部、胸腔及び腹腔における空気と同等の CT 値 (-1000HU) を示す領域についてリージョングローイングを実施すると、肺と気嚢の一部が描出され、腹部の軸状断では臓器間における気嚢の局在が認められた.しかし、冠状断、軸状断、矢状断のいずれにおいても、脊椎椎体の含気領域と各臓器間に分布する気嚢との連続性は確認できなかった. A群及び C 群についても、B 群と同様であった.

A群の2例では、第六胸椎を中心として、椎体の正常構造の破壊が認められ、脊椎膿瘍の可能性が示唆された(図2a). A群の6例では、第六胸椎が前方へ傾斜し、脊髄を圧迫している像がみられた。このことからこれら

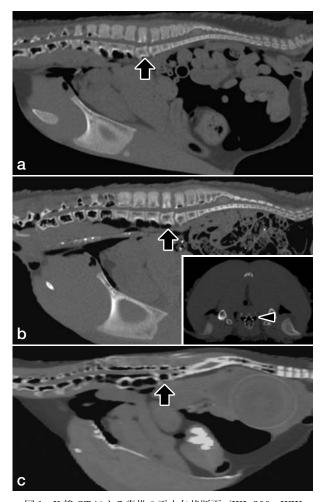


図 1 X線 CT による脊椎の正中矢状断面 (WL 300, WW 1500)

- a: A 群 (No. 10), 第二胸椎の一部と第十四頸椎より 頭側は含気骨を呈している.
- b:B群(No.14), 第二胸椎より頭側は含気骨を呈している. 挿入図は第十三頸椎部の軸状断面. 椎骨とともに肋骨脊椎部の基部(矢頭)も含気骨を示している.
- c: C 群 (No. 16), 頸・胸・仙椎のほとんどが含気 骨を呈している。 いずれも矢印は第六胸椎を示している。

の症例は脊髄すべり症と考えられた(図 3a). なお, 脊椎病変が疑われたこれらのすべての症例では, 第六胸椎に含気領域は認められなかった.

肉眼所見:いずれの実験群でも、体腔内では透明な薄膜構造を示す腹気嚢や後胸気嚢は肉眼的に認められたが、それらの気嚢と脊椎との連続性は確認できなかった。病理学的にA群では脊椎症が8例で認められ、そのうち脊椎膿瘍は2例、脊椎すべり症は6例であった。

脊椎膿瘍の症例では、第五・第六胸椎または第六・第 七胸椎の関節部を中心として黄色膿瘍病変が形成され、 脊髄の上方への圧迫が認められた(図 2b)。肉眼的に脊 椎膿瘍の割面では、黄褐色の壊死巣や暗赤色の出血巣な

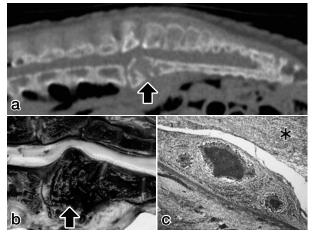


図2 A群 (No.8), 脊椎膿瘍

- a, b: 第六及び第七胸椎の椎体(矢印)の構造が破壊されている.
- c: 多発性肉芽腫などによって同部位の脊髄(*)は 著しく圧迫されている. (HE 染色)

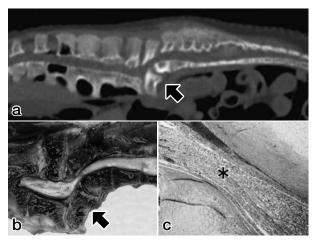


図3 A群 (No.7), 重度の脊椎すべり症

- a, b:第六胸椎(矢印)が屹立してその後縁で胸髄を 圧迫している.
- c: 同部位の脊髄(*) は著しく圧迫されている. (HE 染色)

どが混在して認められた.

脊椎すべり症では、脊椎の正中矢状断面において、第 六胸椎が前方へ傾斜し、椎体の後縁で脊髄を圧迫してい た(図3b). 傾斜の程度は、軽度のものから重度のもの までさまざまであった. B 群の1例で軽度に脊椎すべり 症がみられた以外に、B 群のもう1例と C 群には肉眼 的に著変は認められなかった.

その他、A群では関節炎、大腿骨骨頭炎、下腿骨骨炎、大腸菌症などもみられたが、脊椎膿瘍との併発例は認められなかった。B群及びC群では、肉眼的に著変は認められなかった(表 1).

病理組織学的所見:いずれの実験群でも, 気嚢は単層

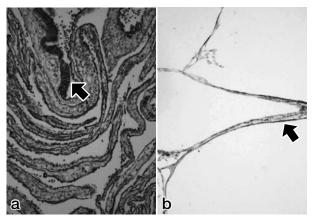


図4 B群 (No. 14)

- a:腹気囊
- b:胸椎の椎体内における気嚢. いずれも AE3 抗体に 陽性を示している(矢印).(免疫組織化学的染色)

の上皮細胞とわずかな線維性間質成分により構成され、腹気囊の一部では立方から円柱上皮の形態も認められた. 腹気囊でみられる気嚢上皮細胞と比較して, 頸椎などの椎骨内における気嚢はより扁平な形状を示す傾向にあった(図4).

脊椎膿瘍と診断された症例では、既存の椎体構造が破壊され、細菌塊を伴う広範な壊死巣や偽好酸球、類上皮細胞、多核巨細胞からなる壊死性化膿性肉芽腫性病変が認められた(図 2c). 一部では肉芽組織の形成や線維化などもみられた、病変形成のため第五、第六胸椎あるいは第六、第七胸椎のそれぞれの関節部は不明瞭であった.

脊椎すべり症と診断された症例では、第五から第七胸椎の関節軟骨部における出血や好酸性滲出物を伴う亀裂、関節軟骨の変形、軟骨下骨組織における出血などが認められた。椎体により圧迫された部位の脊髄は狭窄してみられ、重度の症例では白質変性や軸索膨化、灰白質における出血やグリオーシスなどが認められた(図3c)。

免疫組織化学的染色結果: それぞれの実験群でみられた腹気嚢及び脊椎の椎体内における気嚢上皮は、AE3 に陽性を示し(図 4)、Vimentin、Factor \mathbb{W} 、 α -SMA には陰性であった.

考 察

気囊は多量の空気を入れる薄膜構造を示す鳥類特有の器官の一つであり、組織学的に内面は気管支粘膜上皮細胞からの延長となる気囊上皮細胞で内張され、わずかな結合組織を挟んで外面は漿膜によっておおわれている[2]. 今回の検索では、コマーシャルブロイラー及び白色レグホン種のいずれの鶏でも、X線CTを用いた画像解析により体腔内や脊椎椎体などにおいて空気と同程度

のCT値を示す領域が認められたことから、それらの領域は気嚢あるいは含気骨であることが確認された。一方、画像解析によって肺と胸部及び腹部に局在する気嚢との連続性を描出することはできたが、頸椎、胸椎などの脊椎と気嚢との連続部を形態学的に明らかにすることはできなかった。したがって、脊椎と気嚢との連続部はX線CTの検出限界以下の大きさであることがその一因として示唆された。鶏が有する気嚢のうち、頸気嚢は気管及び食道の背位にあって脊柱に沿って位置しており、頸椎の横突起を抜けて椎間孔をくぐった後に脊柱管へ侵入し、脊髄上憩室として脊髄背部を後走して胸椎部に到達する[2]. X線CT検査では描出不能であったものの、頸及び胸椎の脊椎に侵入する気嚢は脊髄上憩室と連続している可能性が疑われた。

今回の実験で用いた C 群の P2 系成鶏では頸椎から仙椎までのほとんどが含気骨であったが、A 群のような50 日齢程度のコマーシャルブロイラーでは頸椎や第二胸椎辺りまでが含気骨を呈していた。鳥類では成長とともに気嚢が骨へ延伸することが知られており [1-3]、品種は異なるものの今回の X 線 CT 画像解析結果からも鶏の気嚢は成長とともに椎骨へ侵入していくことが示唆された。

コマーシャルブロイラーの野外例を用いた X線 CTの画像解析では、第六胸椎の変位や椎体の正常構造の破壊などの所見が確認されたことからそれぞれ脊椎膿瘍や脊椎すべり症と診断し、それらの症例は肉眼的及び組織学的検索によって確定診断された。しかしながら、いずれの症例でも X線 CT 検査では空気と同程度の CT 値を示す領域は第六胸椎の椎体に認められず、それらの症例では肉眼的及び組織学的にも含気骨の局在は認められなかった。ブロイラーでみられる脊椎膿瘍の感染経路の一つとしては血行性感染の他に気嚢を介した経気道感染が考えられているが [12]、今回の検索結果より、気嚢を介した経気道感染の可能性は低いことが示された。

Martin ら [13] は、Enterococcus cecorum を用いて経口接種、静脈内接種及び気囊内接種の三つの感染経路による本症の再現実験を行い、経口接種及び静脈内接種によって本症の再現がなされたものの、気囊を介した経気道感染では本症の再現は認められなかったことを報告している。今回のわれわれの検索結果でもブロイラーにおける第六胸椎の椎体には気囊の分布は認められておらず、Martin らの報告とは矛盾しなかった。一方、現在までのところ本邦において E. cecorum による本症の発生は報告されていないことから、今後は本症野外例の病変部から分離された菌株を用いた再現実験を行う必要があると考えられた。

ブロイラーの胸椎に特異的にみられる疾病には, 従来 から報告されている脊椎すべり症があり, 主な臨床症状 の脚弱・脚麻痺は脊椎膿瘍発症鶏とほとんど同一のため両者を臨床的に鑑別することは困難である。脊椎すべり症では第六胸椎の前方への傾斜・変位によって脊髄が圧迫されるが、変位した第六胸椎に脊椎膿瘍と同様の壊死性、化膿性病変を伴うこともある [14]. 一方, これまで報告されている脊椎膿瘍のほとんどの症例では、第六胸椎に主座する壊死性化膿性肉芽腫性病変によって第六胸椎が腫大・変形し、脊髄を圧迫しており [4-6], 多くの症例では第六胸椎の変位を示していないことから、脊椎膿瘍と脊椎すべり症の病理発生は異なるものと考えられた.

引 用 文 献

- [1] Hogg DA: The development of pneumatisation in the postcranial skeleton of the domestic fowl, J Anat, 139, 105-113 (1984)
- [2] 加藤嘉太郎,山内昭二:鶏の横隔膜および気嚢,新編家 畜比較解剖図説 下巻,新編第3版,42-43,養賢堂,東 京(2007)
- [3] 和栗秀一, 武藤顕一郎, 岡島泰夫, 梶原一人, 奥野秀樹, 貝森一夫, 吉岡重次郎: ニワトリの気嚢, とくに頸気嚢 の生後成長に関する実験的研究, 獣畜新報, 653, 1253-1256 (1975)
- [4] 木南藍子,御領政信,佐々木 淳,生澤充隆,岡田幸助: 淘汰ブロイラー鶏における脊椎膿瘍,日獣会誌,62, 289-293 (2009)
- [5] 木南藍子,御領政信,佐々木 淳,生澤充隆,岡田幸助: 一ブロイラー農場における廃棄鶏の病理,鶏病研報, 43,213-218 (2008)
- [6] 小笠原一憲,佐々木 淳,川崎武志,御領政信:Salmo-

- nella Infantis が関与したブロイラーの脊椎膿瘍,鶏病 研報、49、112-117(2013)
- [7] Barnes HJ, Nolan LK, Vaillancourt JP: Colibacillosis, Disease of Poultry, Saif YM, et al eds, 12th ed, 691-737, Blackwell Publishing, Iowa (2008)
- [8] Herdt PD, Defoort P, Steelant JV, Swam H, Tanghe L, Goethem SV, Vanrobaeys M: Enterococcus cecorum osteomyelitis and arthritis in broiler chickens, Vlaams Diergene Tijds, 78, 44-48 (2008)
- [9] Kolbjørnsen Ø, David B, Gilhuus M: Bacterial osteomyelitis in a 3-week-old broiler chicken associated with *Enterococcus hirae*, Vet Pathol, 48, 1134-1137 (2011)
- [10] Makarai M, Nemes C, Simon A, Ivanics E, Dudas Z, Fodor L, Robert G: Association of *Enterococcus cecorum* with vertebral osteomyelitis and spondylolisthesis in broiler parent chicks, Acta Vet Hung, 59, 11-21 (2011)
- [11] Margaret JS, Marina LB, Alexandru W, Rachel MO, Durda S: Arthritis and osteomyelitis associated with Enterococcus cecorum infection in broiler and broiler breeder chickens in Ontario, Canada, J Vet Diagn Invest, 22, 643-645 (2010)
- [12] 鶏病研究会:ブロイラー農場における自主淘汰鶏の実態, 鶏病研報, 46, 241-251 (2010)
- [13] Martin LT, Martin MP, Barnes HJ: Experimental reproduction of enterococcal spondylitis in male broiler breeder chickens, Avian Dis, 55, 273-278 (2011)
- [14] 前田 稔:骨の病気, カラーマニュアル 鳥の病気, 第 7版, 鶏病研究会編, 134-137, 鶏病研究会, つくば (2010)

Computed Tomographical Examination of Infectious Route of Thoracic Vertebral Abscesses in Broiler Chickens

Jun SASAKI † , Konomi TOZAWA, Kiyomasa WATANABE, Kazunori OGASAWARA, Yasuhiko OKAMURA and Masanobu GORYO

* Faculty of Agriculture, Iwate University, 3-18-8 Ueda, Morioka, 020-8550, Japan

SUMMARY

This study was conducted to reveal the infectious route of vertebral abscesses in broiler chickens. Twelve broiler chickens before shipment for meat inspection (Group A), two 74-day-old chickens (Group B) and two adult white leghorn chickens (Group C) were used. The air sacs of the chickens were examined using X-ray computed tomography (CT), and then the chickens were pathologically examined. Most of the vertebrae of group C showed pneumatization, while the pneumatization of groups A and B was restricted to between the cervical and third thoracic vertebrae. No pneumatization was recognized at the sixth thoracic vertebrae for groups A and B, although this vertebra was destroyed by vertebral abscesses, and this was confirmed by CT and pathological examinations. Therefore, it is suggested that the infectious route for the vertebral abscesses was unlikely to be through air sac infection. — Key words: air sac, broiler, CT, infectious route, vertebral abscess.

† Correspondence to: Jun SASAKI (Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agriculture, Iwate University) 3-18-8 Ueda, Morioka, 020-8550, Japan

TEL 019-621-6166 FAX 019-621-6274 E-mail: sasajun@iwate-u.ac.jp

— J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 67, 839 ~ 843 (2014)