

Lawsonia intracellularis によると考えられる豚の 肉芽腫性小腸炎及び腸間膜リンパ節炎

星野 稔[†] 福島恵美子 大村和代 阿部博美 星野勇矢

新潟市食肉衛生検査所 (〒950-2125 新潟市西区中野小屋 1631)

(2014年5月28日受付・2014年9月24日受理)

要 約

Lawsonia intracellularis (LI) による豚の肉芽腫性腸炎には、豚サーコウイルス2型 (PCV2) の関与が示唆されてきた。今回、肉眼的に小腸炎が認められた肥育豚 (6カ月齢) 23頭の腸及び腸間膜リンパ節を病理組織学的に検索した。上皮過形成及び杯細胞減数を主たる特徴とする増殖性腸炎 (PPE) と同様の組織病変と、さらに固有層及びパイエル板における肉芽腫性炎が、空腸から回腸にかけて観察された。PPE様病変は小腸上部に顕著である一方、肉芽腫性病変は小腸下部で優位であった。さらに、小腸上部の上皮細胞内にはしばしば鍍銀陽性桿菌が観察された。肉芽腫性炎は腸間膜リンパ節でも観察された。PCR検索では23検体中21検体の腸管で、また、リンパ節では9検体に、LIの存在が示された。しかしながら、PCV2は免疫染色ではいずれの検体でも検出されなかった。今回の小腸炎はLIを原因とすることが示唆されたが、肉芽腫性病変におけるPCV2の関与は証明されなかった。

——キーワード：肉芽腫性小腸炎, *Lawsonia intracellularis*, 豚。

-----日獣会誌 68, 73~76 (2015)

Lawsonia intracellularis (LI) による豚の増殖性腸炎 (PPE) は主に回腸末端で認められ、ときに結腸や空腸にまで波及する [1, 2]。同病変は粘膜の肥厚を特徴とし腸腺腫症 (PIA), 増殖性出血性腸炎 (PHE), 壊死性腸炎などの形態を示すが、慢性化すると肉芽腫性炎となり腸間膜リンパ節にも肉芽腫性病変を形成する [3-5]。このLIによる肉芽腫性腸炎ないしリンパ節炎では、豚サーコウイルス2型 (PCV2) が同時に検出される例もあることから [4, 6], これらの混合感染とする見方がある。一方、これらの微生物による疾病は、それぞれ区別すべきとの考えもある [5, 6]。今回、我々は1農場の肥育豚に発生した小腸炎及び腸間膜リンパ節炎について病理組織学的検査を行い、それらが回腸から空腸及び腸間膜リンパ節まで波及したLIによる慢性炎を示唆する結果を得た。これらの病変に対するPCV2の関与についても調べた。

2カ月間のと畜検査に供された1農場の肥育豚 (6カ月齢) 640頭中、肉眼的に小腸炎が認められた39頭のうち23頭の腸病変部及びその近傍の腸間膜リンパ

節を採取した。各材料は10%緩衝ホルマリン液で固定し、定法にしたがってパラフィン標本作製し、ヘマトキシリン・エオジン (HE), ワーチン・スタリー (WS), チール・ネルゼン (ZN) 染色を施し、さらにPCV2カプシド抗体 (ウサギポリクローナル, GeneTex, U.S.A.) を用いた免疫染色を行い鏡検した。また、上記23頭のうち17頭 (症例1~8, 10, 12~15, 17~20) の小腸病変部掻き取り粘膜約1g, 及び同17頭の腸間膜リンパ節を表面焼烙後約1g細切し、それぞれ9mlの滅菌生理食塩水に入れて攪拌混合し遠心分離した後、その上清を用いてLIを標的にしたリアルタイムPCR検査 [7] を行った。残りの6頭 (症例9, 11, 16, 21~23) の小腸及び腸間膜リンパ節は、上記の病理組織検査用に作製したパラフィン標本をそれぞれ10 μ mに切り出したもの3枚からDNA抽出剤 (TaKaRa DEXPAT, タカラバイオ株, 滋賀) を用いてDNAを抽出し、同様にPCR検査を行った。

肉眼所見：23頭中20頭 (症例1~20) の小腸病変は小腸下部の広範囲にみられたが、回腸末端に病変は認め

[†] 連絡責任者：星野 稔 (新潟市食肉衛生検査所)

〒950-2125 新潟市西区中野小屋 1631

☎ 025-261-2600 FAX 025-261-0565

E-mail : m.hoshino12@city.niigata.lg.jp

表 小腸及び腸間膜リンパ節の主な組織所見と *Lawsonia intracellularis* 検出状況

症 例	組織所見					<i>Lawsonia intracellularis</i>	
	小 腸	リンパ節	小腸	小腸	リンパ節	WS 染色	PCR
No.	性 腸 部位	上皮過形成	杯細胞減数	肉芽腫性炎	肉芽腫性炎		
1	・ 空腸	○	○			○	● ●
2	・ 空腸	○	○		○	○	● n.d.
3	・ 空腸	○	○			○	● n.d.
4	雌 空腸	○	○		○	○	● n.d.
5	雄 空腸	○	○			○	● n.d.
6	・ 空腸	○	○			○	● n.d.
7	雌 空腸	○	○			○	● n.d.
8	雄 空腸	○	○		○	○	● ●
9	・ 空腸	○	○			○	n.d. ◎
10	雌 空腸	○	○		○	△	● n.d.
11	・ 空腸	○	○	○	○	n.d.	◎ n.d.
12	雌 回腸	○	○		○	○	● n.d.
13	雄 回腸	○	○			○	● ●
14	・ 回腸	○	○	○		△	● n.d.
15	雄 回腸	○	○	○		△	● ●
16	・ 回腸	△				△	◎ ◎
17	・ 回腸	△				△	● n.d.
18	雌 回腸	△		○	○	△	● ●
19	雌 回腸			○	○	n.d.	● n.d.
20	・ 回腸				○	n.d.	● n.d.
21	雄 回腸末端			○		n.d.	n.d. n.d.
22	雄 回腸末端			○		n.d.	◎ ◎
23	雄 回腸末端			○		n.d.	◎ ◎

○：認める △：一部で認める n.d.：検出なし
 ●：検出（生材料） ◎：検出（パラフィン標本）
 WS：ワーチン・スタリー

られなかった。これら 20 例の腸管は拡張し腸間膜附着部に充血及び水腫状を呈していた。同粘膜は軽度～重度に肥厚、皺壁を形成し、表面は偽膜に覆われていた。一方、回腸末端に病変が局限したもの（盲腸接続部から 10～20cm 程）が 3 例（症例 21～23）あり、腸壁は肥厚狭窄して硬度を増し、腸間膜附着部が水腫状を呈していた。全 23 例で、腸間膜リンパ節は腫大し、2 例で割面に粟粒大の白色結節が認められた（症例 11 及び 19）。

組織所見：回腸末端に病変が局限していない小腸 20 例（症例 1～20）では、粘膜下層にパイエル板を欠く標本 11 例（症例 1～11）及びそれを有する標本 9 例（症例 12～20）があり、以下前者を空腸、後者を回腸として比較検討した。

空腸と回腸の区別なく 20 例すべてで腸管腔に面した粘膜上皮は壊死し、線維素及び壊死細胞による偽膜形成もみられた。絨毛は短縮傾向を示し、陰窩内に壊死細胞塊を容れていた。粘膜固有層ないし粘膜下層には、ほと

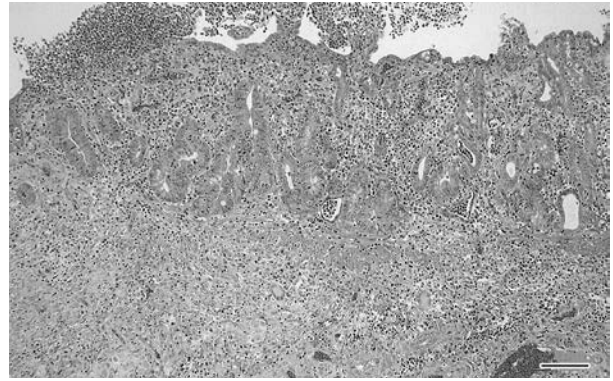


図 1 空腸（症例 11）

粘膜下層から固有層にかけて線維組織が増生し、その中に類上皮細胞、多核巨細胞及びマクロファージが浸潤していた。絨毛は萎縮し、絨毛を覆っていた多くの粘膜上皮は消失しており、線維素及び壊死細胞による偽膜形成もみられた。
 (HE 染色 Bar=100 μm)

んどの例で好酸球、リンパ球及び形質細胞が浸潤しており、好中球が浸潤しているものもあった。

空腸及び回腸の比較では（表）、核分裂像を伴った陰窩上皮細胞の過形成及び杯細胞の減数が、空腸では 11 例すべてで観察され、回腸では 4/9 例で認められた。また、部分的に上皮の過形成がみられるが杯細胞の減数は認められないものが回腸で 3/9 例あった。また、空腸 1 例（症例 11）及び回腸 4 例（症例 14, 15, 18 及び 19）で、粘膜固有層やパイエル板内及びその周囲に類上皮細胞、多核巨細胞及びマクロファージの浸潤による肉芽腫性病変が観察された。特に症例 14 のパイエル板には、核片を貪食したマクロファージ及び多核巨細胞の浸潤、及び症例 15 のパイエル板には血管増生が認められた。また、症例 11 では、粘膜下層から粘膜固有層にかけて高度の線維化及び粘膜の消失が認められた（図 1）。

病変が回腸末端に局限した例（症例 21～23）では、粘膜は軽度～重度の壊死を呈していた。3 例とも固有層及び一部のパイエル板に類上皮細胞及び多核巨細胞が浸潤していた。特に症例 21 では陰窩はパイエル板内へと伸長し、その周囲に類上皮細胞及び多核巨細胞が集簇していた。

WS 染色では、空腸 11 例のうち 9 例（症例 1～9）で上皮細胞内に多数の、また、1 例（症例 10）で少数の鍍銀陽性桿菌が確認されたが、1 例（症例 11）では検出されなかった。一方、回腸 9 例では 2 例（症例 12 及び 13）に多数の、5 例（症例 14～18）でわずかに同様の桿菌が確認され、2 例（症例 19 及び 20）で検出されなかった。また、回腸末端の 3 例（症例 21～23）では桿菌は確認されなかった。肉芽腫性病変を形成した 8 例（症例 11, 14, 15, 18, 19, 21～23）のうち 3 例（症

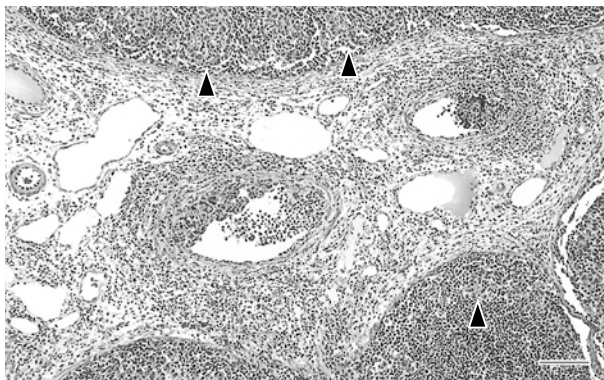


図2 腸間膜リンパ節 (症例4)

梁柱の脈管内には、線維素、好酸球、リンパ球及びマクロファージが認められた。また、リンパ洞にはマクロファージが浸潤していた (矢頭)。

(HE染色 Bar=100 μ m)

例14, 15及び18)ではWS染色陽性桿菌は上皮細胞の一部に認められたが、高度な線維化を伴った症例11を含む他の5例では確認されなかった(表)。

腸間膜リンパ節23例中3例(症例15, 21及び23)で実質における巣状壊死が認められた。23例のほとんどで梁柱、リンパ洞及び濾胞周縁組織において軽～重度の好酸球浸潤がみられ、そのうちの15例では好酸球とともに軽度あるいは重度の好中球浸潤が認められた。また、主に梁柱に沿ったリンパ洞に線維素、好酸球、リンパ球、類上皮細胞、多核巨細胞及びマクロファージが浸潤し、肉芽腫性病変を形成したものが9例あった(表)。このうち5例(症例4, 8, 11, 12及び18)では梁柱内あるいは被膜表面の脈管内に同様の細胞が認められ(図2)、症例11では線維素、壊死細胞及びマクロファージの集塊による脈管の栓塞やリンパ節実質における化膿性肉芽腫が広範囲に認められた。なお、肉芽腫性病変が認められた9例中3例(症例11, 18及び19)でのみ小腸の肉芽腫性病変がみられたが、他の6例(症例2, 4, 8, 10, 12及び20)では認められなかった(表)。

小腸及び腸間膜リンパ節は23検体すべてでPCV2に対する免疫染色陰性であり、また、ZN染色陽性菌も認められなかった。LIを標的にしたPCR検査では小腸21/23検体(生材料17/17, パラフィン標本4/6)で陽性、腸間膜リンパ節は9/23検体(生材料5/17, パラフィン標本4/6)で陽性を示した(表)。

LIを原因とするPPEでは、まずLIが感染後、杯細胞の減少とともに上皮の過形成が引き起こされ、腺腫様の状態(PIA)となり、さらに病変が進行すると他の細菌の二次感染などにより粘膜は壊死に陥り増殖性出血性腸炎(PHE)の状態に移行する。また、経過の長い症例では肉芽腫性病変の形成がみられ、過形成性上皮が消失することもあるという[3]。今回、小腸のすべての症

例では壊死性炎がみられたが、これは上記PHEを示唆するものと考えられる。

今回検討した23例中20例では、肉眼的にPPEの特徴とされる粘膜の肥厚と皺壁形成はみられたが[1]、PPEの好発部位である回腸末端に病変が認められなかった。また、PPEの組織学的特徴である陰窩における上皮過形成及び杯細胞の減数は[1-3]、空腸11例すべて及び回腸4例で確認されたが、他の回腸5例及び回腸末端では、上皮過形成は限局的であるか、ほとんど認められなかった。すなわち、PPEの初期所見は空腸から回腸末端へと下行するにつれて減少する傾向がみられた。逆に回腸及び回腸末端では肉芽腫性病変を形成する傾向がみられた。

小腸上皮細胞内にWS染色陽性桿菌が認められたものが23例中17例あった。同桿菌は高度の線維化を伴う肉芽腫性病変を示した症例11を除き、上皮過形成のみられた空腸及び回腸で認められ、同桿菌が過形成性上皮の形成に関与していることが示唆された。しかし、肉芽腫性病変のある回腸及び回腸末端では、一部の上皮細胞にのみ認められるか、あるいはまったく認められず、慢性化した病変ではLIが排除された可能性がある。なお、PCR検査では21例で腸粘膜からLI陽性の結果が得られたことから、WS染色陽性桿菌はLIであることが示唆された。

腸間膜リンパ節では23例中9例で、主に輸入リンパ管及び中心槽と考えられる梁柱中の脈管[8]内やリンパ洞に類上皮細胞、多核巨細胞及びマクロファージが浸潤し、あるいは化膿性肉芽腫性病変を形成している例(症例11)も認められた。表で示したように、これらの肉芽腫性病変は空腸及び回腸近傍のリンパ節でほとんど差なく観察されたのに対して、小腸でみられた肉芽腫性病変のほとんどが回腸でみられた。この差異の原因は不明であるが、病変のあった小腸部を支配している腸間膜リンパ節の採取が確実に行われなかった可能性もある。また、PCRでLIが検出されたリンパ節9例中、肉芽腫性病変が認められたものは2例のみであった。すなわち、肉芽腫性病変を形成したもののほどLIの検出が困難であったと考える。

ところで、LIによる肉芽腫性小腸炎及び腸間膜リンパ節炎にはPCV2の関与が示唆されているが[4, 6]、PCV2が関与しない例も報告されている[5]。PCV2関連腸炎及びリンパ節炎の病変はリンパ小節内のリンパ球の減少、類上皮細胞及び多核巨細胞の浸潤、及び組織球細胞質内封入体の出現を特徴とする[9]。今回、回腸及び回腸末端近傍の腸間膜リンパ節3例(症例15, 21及び23)で実質における巣状の壊死巣が認められたが、他の20例同様いずれも免疫染色でPCV2の存在は証明されなかった。

以上のことから、今回の小腸炎及び腸間膜リンパ節炎には LI の関与が示唆されたが、PCV2 の関与はないものと考えられた。

PCV2 陽性病理切片を供与していただいた新潟県中央家畜保健衛生所に感謝する。

引用文献

- [1] 久保正法, 石川弘道: 増殖性腸炎, 豚病診断カラーアトラス, 第1版, 83-87, ベネット, 東京 (2009)
- [2] Järveots T, Saar T, Leep E, Suuroja T, Lindjärv R, Nathues H, Sütt S, Põdersoo D: Porcine proliferative enteropathy in Estonian pig herds: histopathology and detection of *Lawsonia intracellularis* by PCR, Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 124, 65-70 (2011)
- [3] 長井信也, 小山智洋: 豚増殖性腸炎とその起因菌に関する最近の知見, 豚病会報, 46, 8-15 (2005)
- [4] Segalés J, Fernández-Salguero M, Fructuoso G, Quintana J, Rosell C, Pozo J, De Arriba ML, Rubio P, Domingo M: Granulomatous enteritis and lymphadenitis in Iberian pigs naturally infected with *Lawsonia intracellularis*, Vet Pathol, 38, 343-346 (2001)
- [5] Machuca MA, Cappuccio JA, Quiroga MA, Insarralde L, Cancer J, Arrospide S, Perfumo CJ: Granulomatous enteritis associated with porcine proliferative enteropathy, Braz J Vet Pathol, 5, 25-30 (2012)
- [6] Jensen TK, Vigre H, Svensmark B, Bille-Hansen V: Distinction between porcine circovirus type 2 enteritis and porcine proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis*, J Comp Pathol, 135, 176-182 (2006)
- [7] Watanaphansak S, Gebhart CJ, Anderson JM, Singer RS: Development of a polymerase chain reaction assay for quantification of *Lawsonia intracellularis*, J Vet Diagn Invest, 22, 598-602 (2010)
- [8] Hoshi N, Hashimoto Y, Kitagawa H, Kon Y, Kudo N: Histological and immunohistochemical studies on the architecture of lymph nodes in pig, Jpn J Vet Res, 48, 1097-1107 (1986)
- [9] Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Chae C: Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs, Can J Vet Res, 68, 218-221 (2004)

Granulomatous Enteritis and Mesenteric Lymphadenitis Presumably Caused by *Lawsonia intracellularis* in Pigs

Minoru HOSHINO[†], Emiko FUKUSHIMA, Kazuyo OMURA, Hiromi ABE
and Yuya HOSHINO

*Meat Inspection Office of Niigata City, 1631 Nakanokoya, Nishi-ku, Niigata City, 950-2125, Japan

SUMMARY

The involvement of porcine circovirus type 2 (PCV2) has been suggested in granulomatous enteritis caused by *Lawsonia intracellularis* (LI) in pigs. In this study, the small intestines and mesenteric lymph nodes of 23 finished pigs (6 months old) with gross lesions of enteritis were examined histopathologically. Histological lesions similar to those observed in porcine proliferative enteropathy (PPE) were characterized mainly by epithelial hyperplasia and a depletion of goblet cells; moreover, granulomatous inflammation in the laminae propria and Peyer's patches were observed from the jejunum to the ileum. The PPE-like lesions were marked in the upper regions of the small intestines, while the granulomatous lesions were more prominent in the lower regions. Furthermore, silver-stained bacilli were observed frequently in the epithelial cells of the upper intestinal regions. Granulomatous inflammation was also observed in the mesenteric lymph nodes. PCR testing revealed that LI was present in 21 of the 23 intestinal specimens, as well as in 9 of the lymph nodes. However, PCV2 could not be immunohistochemically detected in any of the specimens. The enteritis appeared to be caused by LI, but the involvement of PCV2 in the granulomatous lesions was not proved.

— Key words : granulomatous enteritis, *Lawsonia intracellularis*, pig.

[†] Correspondence to : Minoru HOSHINO (Meat Inspection Office of Niigata City)

1631 Nakanokoya, Nishi-ku, Niigata City, 950-2125, Japan

TEL 025-261-2600 FAX 025-261-0565 E-mail : m.hoshino12@city.niigata.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 68, 73~76 (2015)