

# オウム嘴羽病とパチェコ氏病を併発した セキセイインコの1例及び感染実験

佐藤美奈子 佐々木 淳 倉持 好 萩野朋子 御領政信†

岩手大学農学部 (〒020-8550 盛岡市上田3-18-8)

(2010年11月22日受付・2011年3月16日受理)

## 要 約

約1歳齢、雌のセキセイインコに全身の顕著な脱羽と、重度の発育不良が認められた。羽軸では出血、炎症性細胞浸潤、羽上皮細胞変性・壊死、好塩基性の細胞質内及び核内封入体が認められた。羽軸を用いた従来のORF V1領域に対するPCR法では陰性、ORF C1領域に対するPCR法では陽性を示した。また、肝細胞内には好酸性のヘルペスウイルスに特徴的な核内封入体も認められた。さらに症例の羽軸の組織乳剤を使用した接種実験により、変異型オウム嘴羽病ウイルスの感染が成立することが確認された。これらのことから本症例は変異型ウイルスによるオウム嘴羽病が基礎疾患となり、パチェコ氏病との混合感染症により症状が重篤化したものと考えられた。

——キーワード：混合感染、セキセイインコ、パチェコ氏病、PCR法、オウム嘴羽病。

----- 日獣会誌 64, 635～639 (2011)

オウム嘴羽病 (psittacine beak and feather disease : PBF) はオウム・インコ類の羽及び嘴に壊死性病変を起こすウイルス感染症であり、*Circoviridae*に属するPBFウイルス (PBFV) を原因とする [1-3]。近年、わが国ではセキセイインコ (*Melopsittacus undulatus*) における変異型PBFVの存在が報告されており [4]、変異型ウイルスに起因した本症の蔓延が懸念されている。しかし、変異型ウイルスの鳥種による感受性や臨床症状、予後などの相違は現在までほとんど解明されていない。

今回、変異型PBFV及びパチェコ氏病ウイルスとの混合感染を示したセキセイインコ1例に遭遇し、病理学的に検索するとともに、セキセイインコ、オカメインコ (*Nymphicus hollandicus*) を用いて変異型ウイルスによるPBFの感染実験を試みた。

## 材料及び方法

**症例：**症例は約1歳齢、雌のセキセイインコで、半年前から見られるようになった脱羽が、本学動物病院への来院時には顕著となっており、重度の発育不良も呈していた。PBFを疑い、PBFV特異的塩基配列を検出するため、ウイルスゲノムのORF V1遺伝子領域 (5'-

TGGTACAAGGAGGACTGTGAC-3' (878-898) 及び5'-CCAGCACTTAATAAACACTCAG-3' (1224-1245)) で設定されたプライマーを用いたPCR法 [1] (PCR-A法) と、ウイルスゲノムのORF C1遺伝子領域 (5'-TTGGGTCCTCCTTGTAGTGGGATC-3' (1376-1399) 及び5'-CAGACGCCGTTTCTCAACCAATAG-3' (1870-1847)) で設定されたプライマーを用いたPCR法 [4] (PCR-B法) をそれぞれ行った。症例は予後不良と判断され、炭酸ガスによる安楽殺後、剖検を行った。

病理解剖時に採材した全身諸臓器は、10%ホルマリン液にて固定後、定法に従いパラフィン切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE染色) を行い、鏡検した。肝細胞における核内封入体の形態観察を目的として肝臓を戻し電顕法によりエポキシ樹脂に包埋、超薄切片作製後、酢酸ウラニル・クエン酸鉛による二重染色を行い、透過型電子顕微鏡 (H-800, (株)日立ハイテクノロジーズ, 東京) にて観察した。

**感染実験：**PBFV陰性の約4週齢のセキセイインコ5羽及び約4カ月齢のオカメインコ5羽に、症例の皮膚及び羽から作製した10%組織乳剤を0.2mlずつ胸筋内に接種した。定期的に羽を採材し、PCR法による病因

† 連絡責任者：御領政信 (岩手大学農学部獣医病理学研究室)

〒020-8550 盛岡市上田3-18-8 ☎019-621-6217 FAX 019-621-6274 E-mail : goryo@iwate-u.ac.jp

表1 実験に用いた鳥の日齢、接種条件、観察期間及び臨床あるいは組織所見

鳥 No.	接種日齢	接種部位	接種量	観察期間	臨床／組織所見
セキセイインコ					
1	4週齢	胸筋内	0.2 ml	4週間	尾羽の脱落，羽軸内出血
2	4週齢	胸筋内	0.2 ml	4週間	著変認めず
3	4週齢	胸筋内	0.2 ml	26週間	著変認めず
4	4週齢	胸筋内	0.2 ml	26週間	接種後25週目に死亡
5	4週齢	胸筋内	0.2 ml	26週間	著変認めず
オカメインコ					
1	4カ月齢	胸筋内	0.2 ml	4週間	著変認めず
2	4カ月齢	胸筋内	0.2 ml	4週間	著変認めず
3	4カ月齢	胸筋内	0.2 ml	26週間	羽髄に軽度出血
4	4カ月齢	胸筋内	0.2 ml	26週間	著変認めず
5	4カ月齢	胸筋内	0.2 ml	26週間	著変認めず



図1 症例の剖検前全身像。腹部の羽の脱落が著しく，皮膚が露出している。  
挿入図：形成不全の認められる症例の羽。

学的検索を行いながら経過観察した。接種後4週目に各群2羽ずつ剖検した。その後もPCR法による病因学的検索を続けるとともに，シクロホスファミド (Cy) を接種後12週に12mg/kg，接種後23週及び24週に24mg/kg胸筋内に投与した。死亡鳥は随時，生残鳥は接種後26週に剖検し，病理組織学的に検索した(表1)。なお，実験は岩手大学動物実験委員会の承認を得て実施され，鳥は炭酸ガス殺後に剖検に供した。

### 成 績

**症例：**来院時，脱羽は全身で顕著に認められ，皮膚が露出していた(図1)。残った羽毛はよじれ，よれ，折れなどの形成異常を呈していた。脱羽部には短い棍棒状の異常な羽毛も観察され，重度の発育不良を呈していた。剖検では胸腺及びファブリキウス嚢が著しく萎縮していたが，その他の臓器に著変は認められなかった。

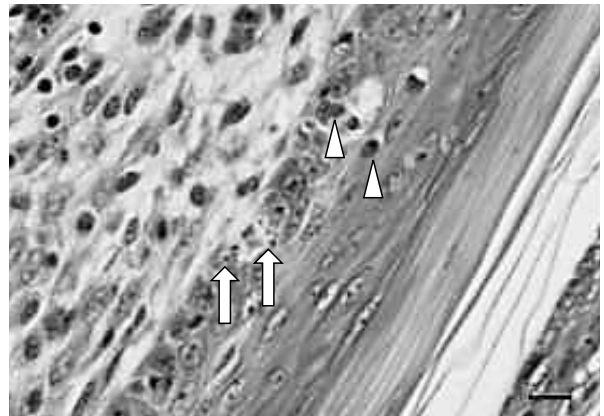


図2 羽上皮細胞 (HE染色 Bar = 10μm)  
好塩基性の細胞質内封入体 (矢印) やアポトーシス小体 (矢頭) が認められる。

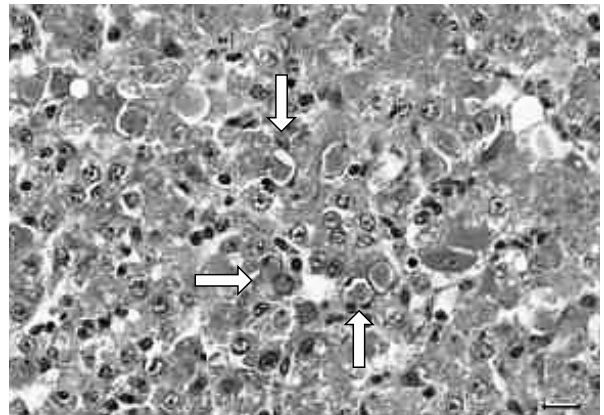


図3 肝臓 (HE染色 Bar = 10μm)  
肝細胞に好酸性核内封入体 (矢印) が多数みられる。

病理組織学的検査では羽髄に出血，細胞退廃物，マクロファージ，偽好酸球，リンパ球の浸潤が認められた。羽上皮細胞には好塩基性の細胞質内及び核内封入体が見られ，アポトーシスに陥った細胞や変性した細胞(図2)も多く認められた。肝臓では，肝細胞において好酸性核内封入体が多数観察された。これらは羽上皮細胞で認められた封入体とは異なり，封入体の周囲にハローの形成を伴うCowdry A型の封入体が多く，時としてFull型の封入体も観察された。また，封入体を含む肝細胞はしばしば合胞体を形成していた(図3)。電子顕微鏡検査では光学顕微鏡で認められた肝細胞の核内封入体に一致して束状の細線維がみられたものの，明瞭なウイルス粒子は確認されなかった(図4)。その他，胸腺とファブリキウス嚢では，重度のリンパ球減少が認められた。

PCR法検査において羽軸より抽出されたtemplate DNAは，PCR-A法による3回の検査ですべて陰性であったが，PCR-B法には陽性を示し，495bpのバンドとして観察された(図5)。

**感染実験：**接種後2週から3週目にかけて，セキセイ

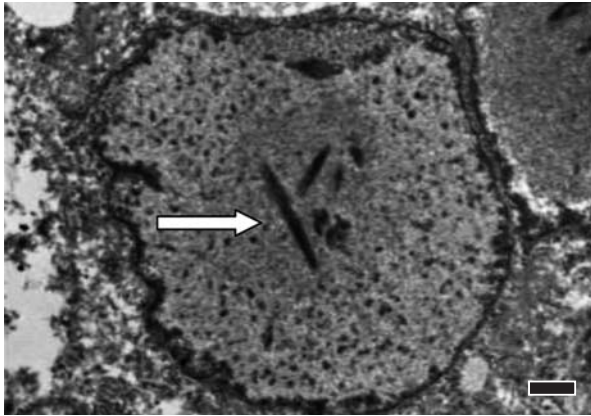


図4 症例の肝細胞，(酢酸ウラニルルクエン酸鉛二重染色 Bar = 1,500nm)  
病理組織学的に好酸性核内封入体がみられた細胞の封入体部位に一致して束状の細線維(矢印)がみられる。

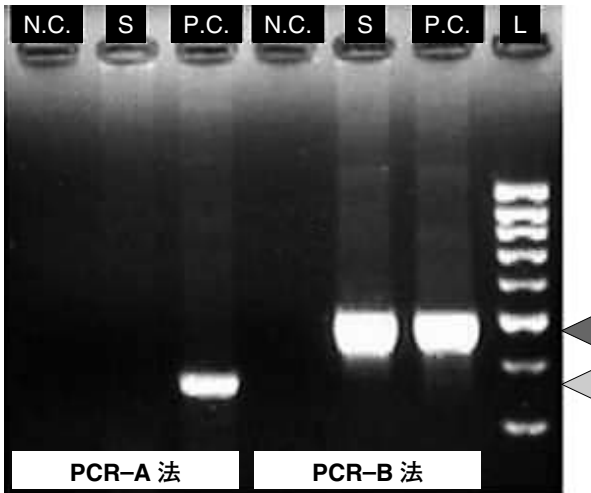


図5 症例(羽軸)のPCR法成績. PCR-A法には陰性を示したが，PCR-B法には陽性を示し，495bpのバンドが観察される。  
L…Stable 100bp DNA Ladder (SIGMA Genosys Japan社)  
N.C.…陰性対照 P.C.…陽性対照 S…症例  
▲ …495bp ▲ …368bp

インコ1羽でおもな尾羽の脱落が認められた。脱落した羽には羽軸の圧縮と出血が認められた。その他の個体では，尾羽が途中で折れる，羽軸が捻れる，羽が波立つなどの異常がときおり観察されたものの，羽の顕著な脱落は認められなかった(表1)。

接種後12週目のCy投与後は全例において著変は認められなかったが，接種後24及び25週目のCy投与後は，セキセイインコ，オカメインコのどちらにも食欲減退，嘔吐，下痢，沈鬱等の症状がみられ，セキセイインコ1羽が死亡した。それ以外の個体はその後症状が回復した。

接種後4週目に行った剖検では，肉眼的変化はほとん

表2 羽軸のPCR-B法成績

鳥	セキセイインコ					オカメインコ					
	No.	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
接種前	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1日後	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	
1週後	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	
2週後	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	
3週後	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4週後	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	
						剖検	剖検				
12週後*			-	-	-			-	-	-	
13週後			-	-	-			-	-	-	
14週後			+	+	+			+	+	+	
15週後			+	-	+			+	+	-	
⋮											
23週後*			-	-	-			-	-	-	
24週後*			+	-	-			-	-	-	
25週後			+	**	+			-	+	+	
26週後			+		+			+	+	+	

\*シクロホスファミド投与

\*\*死亡後の検査結果

ど認められなかった。接種後26週目に行った剖検では，セキセイインコ1羽及びオカメインコ2羽において，胸腺及びファブリキウス囊の萎縮が認められた。

接種後4週目に採取した臓器には，病理組織学的検査上の変化はほとんど認められなかった。接種後26週目では，オカメインコ1羽の羽髓に軽度の出血及び炎症性細胞の浸潤が認められた(表1)。

PCR法検査においてPCR-A法ではどの検査時点でも全例が陰性を示し，PCR-B法ではセキセイインコにおいて接種後1週目より4週目まで全例が陽性を示した。オカメインコでは3週目にすべて陽性を示したが，その他の週では一貫した結果が得られず(表2)，接種後5週目からはセキセイインコにおいても結果に一貫性が認められなくなり，接種後12週目には全例が陰性を示した。その週にCyを投与したところ，2週後にすべての個体が陽性を示したが，その後はふたたび一貫性のない結果が得られるようになった。接種後23週及び24週目にふたたびCyを投与したところ，その2週後に全例が陽性を示した。また，Cy投与後に死亡したセキセイインコの死亡時の羽を用いてPCR法を行ったところ，陽性を示した(表2)。

考 察

PBFDは特徴的な羽毛の形成不全を起こすことが知られており [1, 2, 5-7]，今回の症例においても全身の脱羽が顕著に認められ，棍棒状の異常羽毛が観察された。PBFDVは羽上皮細胞や腸上皮細胞などの上皮系細胞の他，単核食細胞系の細胞にブドウの房状を呈する特徴的な好塩基性封入体を形成することが報告されており [5,

8-10], 今回検索した自然発生例でも羽上皮細胞において核内及び細胞質内に好塩基性封入体が形成されていたことから, PBFVDと診断された. 本症例は臨床症状, 肉眼, 及び組織学的所見より慢性型のPBFVDであると推察された.

PCR-A法はPBFVDV遺伝子のORF V1及びORF C1にまたがった領域を複製するが, PCR-B法はORF C1領域を複製し, セキセイインコに認められる変異型ウイルスも含めて広く検出できることが知られている [11]. 本症例はPCR-A法には陰性を示したが, PCR-B法には陽性を示し, 変異型PBFVDVに感染していることが確認された.

一方, 本症例の肝細胞にはCowdry A型の好酸性核内封入体が多数観察され, 封入体を含む肝細胞の一部は合胞体を形成していた. これらの病理組織学的所見はパチェコ氏病ウイルスに関する従来の報告と一致していた [12, 13]. 電子顕微鏡による検索では, 核内封入体に一致して束状の細線維がみられたものの, ウイルス粒子は観察されなかった. しかしながら, 封入体の病理組織学的特徴及び肝臓のみにみられるという臓器特異性から, 本症例はパチェコ氏病ウイルスによる感染が強く示唆され, ウイルス粒子が認められなかったのは増殖期の極期を過ぎていたことが原因であると推測された. 過去の報告と同様に [5, 14], 本症例でも胸腺及びファブリキウス嚢の著しい萎縮が認められたことから, 免疫抑制の状態に陥っていたことが推察され, 肝細胞内に認められたこのウイルスは, PBFVDに起因する免疫抑制により二次感染したものと考えられた.

PBFVDは鳥種により臨床症状の発現様式が大きく異なり [1-3], セキセイインコなどでは, 翼部及び尾羽のみの脱落を示す個体が多い [11, 15]. しかしながら, 本症例ではほぼ全身の脱羽が顕著に認められ, 予後不良により安楽殺されるほど重症であった. これは変異型ウイルスにより重度のPBFVDが引き起こされた結果, 免疫機能が低下し, パチェコ氏病を併発したため, さらに症状が重篤化したと推察される.

感染実験では, 接種後3週目には全例がPCR-B法に陽性を示し, PBFVDVの感染は成立したものと考えられた. さらにセキセイインコ1羽において尾羽の脱落が認められたことから, 1例のみではあるが変異型ウイルスによるPBFVDも従来の報告と同様の病変形成過程を経る可能性が示唆された. しかし, この1例においても剖検時に著変は認められず, 典型的な症状の発現には至らなかった. その要因としては年齢による感受性の低下, PBFVDVに対する中和抗体の保有, 接種ウイルス乳剤に含まれるPBFVDVの量が少なかったことが考えられた. 今後はウイルス力価及び抗体価の測定についての検討が必要と思われる.

PCR法の結果が陰転した後にCyの投与によってほぼ全例が陽転したことから, 耐過した鳥の羽上皮細胞におけるウイルス量はPCR法での検出限界以下となるが, 免疫抑制状態下においていずれかの組織に潜っていたウイルスが再活性化されるのではないかと考えられた.

今後はこのような不顕性状態下におけるPBFVDVの局在に関する詳細の解明や, 変異型PBFVDVのゲノム解析の他, 感染実験による従来型PBFVDとの比較検討が望まれるところである.

## 引用文献

- [1] Gerlach H : Viruses, Avian Medicine : Principles and Application, Ritche, BW, et al eds, 862-948, Wingers Publishing, Florida (1994)
- [2] Phalen DN : Viruses, Avian Medicine and Surgery, Altman RB, et al eds, 281-322, WB Saunders, Philadelphia (1997)
- [3] Ritchie BW : Circoviridae, Avian Viruses : Function and Control, Ritchie BW ed, 223-252, Weingers Publishing, Florida (1995)
- [4] Ogawa H, Yamaguchi T, Fukushi H : Duplex shuffle PCR for differential diagnosis of budgerigar fledgling disease and psittacine beak and feather disease, Microbiol. Immunol, 49, 227-237 (2005)
- [5] Jacobson ER, Clubb S, Simpson C, Walsh M, Lothrop Jr CD, Gaskin J, Bauer J, Hines S, Kollias GV, Poulos P, Harrison G : Feather and beak dystrophy and necrosis in cockatoos : Clinicopathologic evaluations, J Am Vet Med Assoc, 189, 999-1005 (1986)
- [6] Pass DA, Perry RA : The pathology of psittacine beak and feather disease, Aust Vet J, 61, 69-74 (1984)
- [7] Raidal SR, Cross GM : Acute necrotizing hepatitis caused by experimental infection with psittacine beak and feather disease virus, J Avian Med Surg, 9, 36-40 (1995)
- [8] Kiatipattanasakul-Banlunara W, Tantileartcharoen R, Katayama K, Suzuki K, Lekdumrogsak T, Nakayama H, Doi K : Psittacine beak and feather disease in three captive Sulphur-Crested Cockatoos (*Cacatua galerita*) in Thailand, J Vet Med Sci, 64, 527-529 (2002)
- [9] Latimer KS, Rakich PM, Steffens WL, Kitcher IM, Ritchie BW, Niagro FD, Lukert PD : A novel DNA virus associated with feather inclusions in psittacine beak and feather disease, Vet Pathol, 28, 300-304 (1991)
- [10] Ritchie BW, Niagro FD, Latimer KS, Steffens WL, Pesti D, Campagnoli RP, Lukert PD : Antibody response to and maternal immunity from an experimental psittacine beak and feather disease vaccine, Am J Vet Res, 53, 1512-1518 (1992)
- [11] 真田直子, 真田靖幸 : わが国におけるオウム嘴羽病の疫学調査, 日獣会誌, 60, 61-65 (2007)
- [12] Ritchie BW : Herpesviridae, Avian Viruses : Function and Control, Ritchie BW. ed, 171-222, Weingers Pub-

- lishing, Florida (1995)
- [13] Tsai SS, Park JH, Hirai K, Itakura C : Herpesvirus infection in psittacine birds in Japan, *Avian Pathol*, 22, 141-156 (1993)
- [14] Latimer KS, Rakich PM, Kircher IM, Ritchie BW, Niagro FD, Steffens III WL, Lukert PD : Extracutaneous viral inclusions in psittacine beak and feather disease, *J Vet Diagn Invest*, 2, 204-207 (1990)
- [15] Wylie SL, Pass DA : Experimental reproduction of psittacine beak and feather disease/French Molt, *Avian pathol*, 16, 269-281 (1987)

---

Complication of Psittacine Beak and Feather Disease and Pacheco's Disease  
in a Budgerigar and Experimental Reproduction of PBFV

Minako SATO\*, Jun SASAKI, Konomi KURAMOCHI, Tomoko OGINO  
and Masanobu GORYO†

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

SUMMARY

A 1-year-old, female budgerigar showed systemic molting and severe growth retardation. Hemorrhage and infiltration of inflammatory cells, degeneration and necrosis of feather epithelial cells, and basophilic intracytoplasmic and intranuclear inclusions in feather shafts were noted. By polymerase chain reaction (PCR) analysis to detect the Psittacine beak and feather disease (PBFV) virus, positive results were yielded when the analysis targeting ORF C1 was used, but not when the traditional PCR analysis targeting ORF V1. In addition, characteristic large eosinophilic intranuclear inclusions of psittacine herpesvirus were observed in hepatocytes. The transmissibility of the variant PBFV was recognized by experimental inoculation using an emulsion of shaft homogenates from the case bird. These results suggested that this bird developed PBFV from a variant PBFV virus as the underlying disease, and complications of Pacheco's disease made the clinical signs more severe. — Key words : co-infection, budgerigar, Pacheco's disease, PCR analysis, Psittacine beak and feather disease.

† *Correspondence to : Masanobu GORYO (Faculty of Agriculture, Iwate University)*

*Ueda 3-18-8, Morioka, 020-8550, Japan*

*TEL 019-621-6217 FAX 019-621-6274 E-mail : goryo@iwate-u.ac.jp*

*J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 64, 635 ~ 639 (2011)