養殖アユにみられた抗酸菌性全身性多発性 肉芽腫形成について

和田 新平^{*1}・早川 穰^{*1}・ウィナイ ルバンジョンディー^{*1}
畑井喜司雄^{*1}・窪田 三朗^{*1}・石井日出郎^{*2}

(1991 年 3 月 5 日受付)

Systemic, Multiple Granuloma Formation Caused by Acid-fast Bacteria in Cultured Ayu

Shinpei Wada^{*1}, Yutaka Hayakawa^{*1}, Winai Rhoobunjongde^{*1},
Kishio Hatai^{*1} Saburoh S. Kubota^{*1} and Hideo Ishii^{*2}

^{*1}*Division of Fish Diseases, Nippon Veterinary and Animal Science University,
Kyonan-cho 1-7-1, Musashino, Tokyo, Japan*

^{*2}*Tochigi Prefectural Fisheries Experiment Station,*

(Received March 5, 1991)

Histopathological studies were made on cultured ayu with systemic, multiple granuloma. Examined fish were collected from a farm in Tochigi Prefecture in 1989 and 1990. Macroscopically the disease was characterized by discoloration of the body, severely protruded eyes, and numerous small nodules on the surface of many organs as follows; liver, kidney, spleen, heart and intestine.

Histology showed that these nodules were granulomas composed of mononuclear cells and surrounded by the thin connective tissue. Granulomas were also found in gill filaments and trunk muscles. Gram-positive, selener, long rods were abundantly detected in the granulomas. Some of these long rods were also stained positively with Ziehl-Neelsen method for acid-fast bacteria and methenamine silver-nitrate stain (Grocott's variation).

From the results, the case of these fish was diagnosed as "systemic, multiple granuloma caused by acid-fast bacteria".

緒 言

1989 年および 1990 年に、栃木県下の A 養魚場で飼育中のアユに、異常遊泳した後に斃死する疾病が観察された。病理組織学的に検討した結果、これらの罹病魚は抗酸菌症であると判断されたので、その概要を報告する。

材料および方法

今回検査した病魚は、栃木県下の A 養魚場で 1989 年 5 月に採取したもの 4 尾 (以下症例 1 と呼称する) および 1990 年 4 月に採取したもの 3 尾 (以下症例 2 と呼

称する) である。両症例とも栃木県漁協で生産した種苗 (湖産ではない) を育成したものである。症例 1 の病魚 (平均体重約 30 g) は旋回遊泳し、時に池底に横臥するが刺激を加えると泳ぎだすという異常行動を示した。これに対して症例 2 の病魚 (平均体重約 20 g) は旋回遊泳を示さずに急死するというものであった。なお、症例 2 の病魚の腎臓よりブレインハートインヒュジョン寒天培地を用いて細菌分離を試みたが陰性であった。

これらの病魚は 10% リン酸緩衝ホルマリンで固定し、常法に従って 4~5 μ m のパラフィン切片とし、HE 染色、PAS 反応、ギムザ染色、グラム染色 (Hucker-Conn 変法)、グロコット染色、チール・ネルゼン染色、アザン・マロリー染色およびアルデヒドフクシン染色を施して顕微鏡観察に供した。また、ホルマリン固定標本より戻

^{*1} 日本獣医畜産大学

^{*2} 栃木県水産試験場

し電顕の手法によって腎臓の電顕標本を作製し、観察に供した。

結 果

剖検の結果、症例 1 のアユは肝臓表面に直径 2~3 mm 大の白色結節が散在しており、腎臓の腫大も観察された。症例 2 のアユは同様の白色結節が肝臓、腎臓、脾臓、消化管および心臓の各臓器の表面に密発しており (Fig. 1), より重篤な症状を呈していた。

組織学的観察の結果得られた所見は両症例ともに共通であったので、以下に一括して述べる。肉眼的に認められた白色結節は組織内に形成された大小様々な肉芽腫であることが確認された。これらの肉芽腫は腎臓間質、赤脾髄内 (Fig. 2), 肝類洞内と実質細胞間 (Fig. 3), 鰓弁中心静脈洞内と鰓薄板の間 (Fig. 4), 心室筋層内 (Fig. 5), 消化管の固有層から漿膜面までの部位、および軀幹筋線維鞘間に形成されており、その形成頻度は両症例とも腎臓および脾臓において高度であった。

両症例の諸臓器に形成されていた肉芽腫は未熟な類上皮細胞と思われる細胞が不規則に配列しているのが特徴的であり、成熟型の類上皮細胞肉芽腫のように細胞の同心円状配列は認められず、多核巨細胞も認められなかった (Fig. 6)。また、肉芽腫周囲は疎な膠原線維によって包囲され、形成初期段階と思われる肉芽腫周囲には 1 層の線維細胞および線維芽細胞と疎な弾性線維が認められた。

いっぽう、グラム陽性の長桿菌が未熟な類上皮細胞様の細胞内および細胞間に認められた (Fig. 7)。これらの菌は分枝することではなく、さらにそれらの一部の菌はチール・ネルゼン染色 (3% 塩酸アルコールを用いて脱色した) およびグロコット染色に陽性を示し、殊にチール・ネルゼン染色では連珠状ないし虎の尾状に染色された。電顕的にこれらの長桿菌の直径は約 $0.5 \mu\text{m}$ であり、単核性細胞の内部に取り込まれているものも散見された (Fig. 8)。

考 察

イクチオホヌス症 (Miyazaki and Jo, 1985) 罹病アユは類似の白色結節を腹腔内臓器に形成し、その内部に多核球状体が認められることが特徴であるが、今回の症例には多核球状体を見出すことはできなかった。これに対して本症例の肉芽腫はその組織学的特徴から Adams (1983) の分類による成熟型肉芽腫ないしは未熟型類上皮細胞肉芽腫に相当するものと判断された。舟橋ら (1973)

はウグイおよびカワムツにみられた本症と類似の全身性多発性結節症を報告しているが、それらは比較的境界明瞭な間葉系細胞の集簇であり、肉芽腫周囲に結合組織がほとんど認められず、さらに組織内に細菌が検出されなかった点で本症例とは異なる組織学的特徴を有している。

肉芽腫内部に認められたグラム陽性の長桿菌はその染色性から抗酸菌であると考えられた。魚類の抗酸菌は Bataillon *et al.* (1997) がコイについて報告して以来、多くの魚種で存在することが知られており (Frerich and Roberts, 1989), 病理組織学的に中心部の乾酪化を伴う類上皮細胞肉芽腫を形成することが特徴であるとされている (森ら, 1986; Chinabut *et al.*, 1990)。しかしながら、本症例は成熟型肉芽腫ないし未熟型類上皮細胞肉芽腫の全身性かつ多発性の形成が特徴的であり、定形的な魚類の抗酸菌性肉芽腫病変とは異なった病理組織学的特徴を示した。本症例の病理組織学的特徴は宿主であるアユ、または感染していた抗酸菌の種類に起因するものなのかは不明であった。しかしながら、今回養殖アユにも抗酸菌が存在することが示唆されたことから、今後は本症をアユの疾病の類症鑑別項目に加える必要があると考える。

以上の点より、今回の 2 症例を病理組織学的に抗酸菌性全身性多発性肉芽腫形成と診断した。

要 約

1. 1989 年および 1990 年に栃木県下の一養魚場で飼育中のアユに原因不明の斃死がみられたので、病理組織学的に検査した。

2. 供試魚は肉眼的に大小様々な白色結節が肝臓、腎臓、脾臓、心臓、鰓弁、消化管および軀幹筋に多数形成されており、これらは組織学的に成熟型肉芽腫ないしは未熟型類上皮細胞性肉芽腫と判断された。

3. これらの肉芽腫内部には、グラム染色に陽性を示す長桿菌が認められた。これら長桿菌の一部はチール・ネルゼン染色およびグロコット染色にも陽性を示したことから、抗酸菌であると考えられた。電顕観察の結果、これら長桿菌の直径は約 $0.5 \mu\text{m}$ であった。

4. 以上の所見から、本症例を病理組織学的に抗酸菌性全身性多発性肉芽腫形成と診断した。

文 献

Adams, D. O. (1983): The biology of the granuloma. In "Pathology of granulomas" (ed. by

- H. L. Joachim). Raven Press, New York, pp. 1-20.
- Bataillon, E., L. Dubard and L. Terre (1897): Un nouveau type de tuberculose. *C.r. Seanc. Soc. Biol.*, **49**, 446-449.
- Chinabut, S., C. Limsuwan and P. Chanratchakool (1990): Mycobacteriosis in the snakehead, *Channa striatus* (Fowler). *J. Fish Dis.*, **13**, 531-535.
- Frerichs, G. N. and R. J. Roberts (1989): The bacteriology of teleosts. In "Fish pathology, 2nd edition" (ed. by R. J. Roberts). Bailliere Tindall, London, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto, pp. 315-317.
- 舟橋紀男・宮崎照雄・窪田三朗・富永正雄・塩瀬淳也 (1973): ウグイおよびカワムツの稚魚に発生した全身性多発性結節症. 魚病研究, **8**, 55-63.
- Miyazaki, T. and Y. Jo (1985): Studies on ichthyophonus disease of ayu. *Fish Pathology*, **20**, 45-48.
- 森 利之・畑井喜司雄・窪田三朗 (1986): 抗酸菌に感染したフエヤッコダイの病理組織学的所見. 日本獣医畜産大学研究報告, **35**, 141-145.

Explanation of Figures

- Fig. 1.** Macroscopical feature of a diseased fish (case 2), showing nodules (arrows) found on the surface of liver and intestine.
- Fig. 2.** Multiple granulomas (arrows) in the red pulp of spleen.
Aldehyde fucsin stain. Bar: 200 μm .
- Fig. 3.** A granuloma in liver parenchyma composed of mononuclear cells and surrounded by the thin connective tissue.
Azan-Mallory stain. Bar: 50 μm .
- Fig. 4.** Multiple granuloma formation in central venous sinuses (arrow head) and under secondary gill lamellae (arrow).
Aldehyde fucsin stain. Bar: 200 μm .
- Fig. 5.** A granuloma in cardiac muscles surrounded by the thin connective tissue.
Azan-Mallory stain. Bar: 100 μm .
- Fig. 6.** High magnification of the granuloma in liver parenchyma composed of mononuclear cells (arrow) similar to immature epithelioids in irregular arrangement.
HE stain. Bar: 20 μm .
- Fig. 7.** A colony of Gram-positive, slender, long rods (arrow) in the granuloma in the spleen.
Gram stain (Hucker-Conn method). Bar: 10 μm .
- Fig. 8.** Long rods of about 0.5 μm in diameter (arrows) phagocytized by mononuclear cell (arrow head) in the granuloma in the kidney.
Bar: 3 μm .