養殖魚類の疾病に関する研究—I.

ハマチの黒変魚について

木 村 正 雄

(1963 年 6 月 4 日受理)

STUDIES ON DISEASES OF FISH UNDER CULTURE—I.
BLACKENED SPECIMENS OF THE YELLOW TAIL,
SERIOLA QUINQUERADIATA T. AND S..

Masao KIMURA*

A number of blackened specimens among normal ones of the yellow tail in fish-farms establishments in Akamizu and Urajiri Bays of Nobeoka City, Miyazaki Prefecture were compared with the control with special reference to pathological histology. The results run as follows:—

1. The number of red corpuscles of the control fish amounted to $3,620,000 \pm 500,000$ per mm^3 whereas $3,060,000 \pm 560,000$ in blackened Akamizu and $1,610,000 \pm 420,000$ in morbid Urajiri ones respectively, significant difference existing between the normal and Urajiri blackened specimens ($F_{6(0.05)}^{14} 4.41 < F_0 = 44.53$). But Akomizu sick fish did not stand significantly at variance with the healthy ones in this respect.

2. Liver fat was scanty in the unhealthy ones. Sudan III staining gave a reading which was significantly different from that of the normal ($F_{55(0.05)}' = 4.02 < F_0 = 29.515$).

3. Examination of liver lipids did not reveal existence of neutral ones but indicated a small quantity of denatured lipoids occurring in the liver.

4. Cloudy swelling of constituent cells accompanied by shrinkage of their nuclei was a general feature of morbid liver. Forcal necrosis was found obtaining sometimes in the organ.

5. Morbidity of the kidney was characterized by (a) shrinkage of Bowman's capsule, (b) dilatation, swelling, and denaturation of nephritic tubule, and (a) abundant bleeding in interstice. Advancement of sickness led to fibrosis. Interstice was mostly rich in fibrous matter, hardened thereby.

6. Almost nothing particular was seen in unhealthy spleen, except anemia.

7. Atrophy consequent on chronic catarrhal inflammation was evident in alimentary canal of the morbid.

8. Anemia and deficiency of fat were seen in dark muscle of the sick specimens.

From the above findings, severe symptoms of metabolic endogenous toxication were evident.

酸化脂肪の毒性についての報告はかなり見られる。川津¹⁾ はニジマスで乾さなぎによる貧血、成長停止ならびに肝臓の変性を観察し、金田²⁾ は白ネズミで不飽和脂肪酸による腸の細胞浸潤と腎臓細尿管の拡張を報告している。これらの症状に類似するものに鎌田³⁾、尾崎・鎌田⁴⁾、窪田・鎌田⁵⁾らの報告がある。橋本⁶⁾は酸化脂肪の毒性について成長停止、肝臓の変性および貧血などの症状をあらわすと報告している。福田・木村⁷⁾はさきにスッポンの代謝障害性の疾病を報告したが著者はここにハマチについて記することにする。ハ

* 宮崎大学農学部 (Dept. of Fishery, Fac. of Agriculture, University of Miyazaki, Miyazaki, Japan.)

マチの養成中にしばしば黒変魚があらわれることは周知の事実であるがその詳細な知見は発表されていない。本報告は黒変魚について特に病理組織に重黒を置いて記したものである。

この研究を実施するに当り、材料採集に協力された宮崎県沿岸漁業指導所技師百合野定氏、同所技師立中義徳氏、また材料を提供され、種々便宜を計られた延岡市赤水漁業合資会社々長日高宏弥氏に感謝する。なお種々御助言戴いた宮崎大学教授福田博業博士、病理学的所見について御助言下さった宮崎大学農学部講師野坂大氏に感謝する。また本報告を御校閲戴いた寺尾新博士に感謝するとともに本研究を終始御指導下された宮崎大学教授古川一郎博士に感謝するものである。

材料および方法

黒変魚は 7~8 月に多く発生し、その大部分は時期が進むにつれて逐次死亡して 9 月に入るとほとんど見られなくなる。用いた検体は宮崎県延岡市内の赤水湾および浦尻湾において養成中のハマチの中から、昭和 37 年 8 月 31 日赤水湾にて 12 尾(体長 12.3~26.7 cm, 体重 34~420 g) 同年 9 月 4 日浦尻湾にて 17 尾(体長 12.1~26.5 cm, 体重 40~450 g) をそれぞれ採集した。

これらのハマチは採集後ただちに血液の少量を心臓より採血し、血球数*を計測するいつぼう、血液塗末標本を作成した。採血後の魚体は解体し、所要の臓器および肉組織を摘出し、それぞれの目的に応じた固定液で固定した。

Table 1. Body length and body weight of the materials.

Blackened fish				Control fish			
Akamizu Bay		Urajiri Bay		Akamizu Bay		Urajiri Bay	
Body length	Body weight	Body length	Body weight	Body length	Body weight	Body length	Body weight
cm	g	cm	g	cm	g	cm	g
14.5	54.0	15.6	70	25.2	340	25.0	400
12.3	34.0	15.2	73	26.7	420	26.5	450
19.7	144.0	12.1	40	25.0	360	26.0	430
23.2	242.0	14.9	71	26.5	400		
21.0	202.0	16.8	81				
16.5	94.0	14.7	60				
20.0	175.0	13.5	53				
16.6	92.0	17.1	98				
		19.3	162				
		15.7	80				
		15.8	74				
		14.7	69				
		14.5	64				
		19.8	184				
Collected on Aug. 29, 1962		Collected on Sept. 4, 1962		Collected on Aug. 29, 1962		Collected on Sept. 4, 1962	

固定および染色: 固定にはブアン氏液, ペーカーホルマリンカルシウム液, 10%ホルマリン水および無水エタノールなどを使用した。

染色にはヘマトキシリン・エオシン法, ファンギーソン氏ピクロクシン法およびアザン氏法を用いた。

グリコーゲンの検出には PAS 染色法およびベスト氏カーミン法を使用し、唾液消化法をも併用した。

* トーマツファイスの計算板を使用。

脂質についてはズダンⅢ、ズダンブラックBおよびナイルブルーを用いて検索した。肝臓脂肪の含有脂質量はズダンⅢで染色し顕微鏡写真用露出計*を用いて対照群と比較計量した。検査標本の作成にはパラフィン法、セロイデンパラフィン法および凍結法を用い、常法にしたがつた。また切片の厚さはそれぞれ5 μ 、3 μ および15 μ とした。なお正常および病理組織について比較研究を行なうにあたり、切片の厚さ、染色などによる偶発的差を除くために著者が発表した方法⁹⁾を用いた。この方法は比較すべき異種の材料をクモの糸で結びつけ、アルコールによる脱水、パラフィンまたはセロイデン中の包埋、ミクロームによる切断、スライド上のはり付、染色、バルサムによる封入をすべて全く同一物として同時に行なうのである。Plate 1. のAおよびIにはかように処置した正組織と病理組織とが並んで出ている。

結果および考察

採集した検体のうち外貌的所見で発育の不全と体色の黒変が著しいものが22個体みられた。これらの検体は黒変の程度に多少の相違はあつても病理学的所見ではきわめて類似度が高く、体色の正常なものとは以下述べるように組織像に著しい相違がみとめられる。

本報告では一応黒変魚に対して正常魚を対照群として比較検討した。

I. 肉眼的所見

著明に体色黒変した魚体は運動が一般に不活発であつて主群をはなれて遊泳しているものが多いが、中には健康魚群にまじつてかなり活発に遊泳しているものもある。

1. 皮膚および鰭： 皮膚は黒変しているだけで、びらん、硬化などというような特別な徴候は認められなかつた。また鰭についても色調、形状などについて特異な変化を認めなかつた。

2. 鰓： 鰓特有の色調はみられず、きわめて淡色を呈し、はなはだしきものは淡灰色を帯び、明らかに貧血の徴候とみられる。体色の黒変がはなはだしく、かつ運動性の鈍い個体ほど貧血症状が亢進しているように思われた。また粘液質が少なく、ために鰓組織は全般的に乾燥し柔軟性を欠いている感じがする。

3. 肝臓： 黒変魚の肝臓を対照魚と比較すると色調は著しく暗赤褐色を呈し、形状は小さく、また剖面は萎縮してやや硬化した感じをうける。これは脂肪が欠乏したために色調が変化し、組織が萎縮したものと考えられる。

4. 腎臓： 対照魚では暗黒褐色であるに比して色調はやや黒赤色を帯びている。形状については特に判別しがたかつた。

5. その他の臓器ならびに体組織：

1) 脾臓についてははなんらの異常を認めなかつた。

2) 消化管内には粘液やや多く胃内容の空虚な個体が多かつた。

3) 筋肉には体液の貯溜、出血斑などの特別な徴候は認めなかつたが、血合肉は貧血症状のすすんでいるものほど色調は淡いようである。

II. 顕微鏡的所見

1. 血液： 血球数は対照ハマチでは $3,626,800/\text{mm}^3 \pm 508,670/\text{mm}^3$ 、黒変魚では浦尻湾産が $1,614,400/\text{mm}^3 \pm 427,713/\text{mm}^3$ 、赤水湾産は $3,068,000/\text{mm}^3 \pm 564,595/\text{mm}^3$ を示し、黒変魚の平均血球数は対照ハマチのそれに比してかなり少ない。これらの平均値は赤水湾産のものは正常魚とは統計的に有意差は認めら

* 肝臓脂質の含有量についてはオリンパス社製の顕微鏡写真用露出計 EMM-IV を用いた。同露出計用の露出表は透過光度に対して露出時間の大きさを与えてある。透過光度が大であれば露出時間は小さくなる。このことを利用してプレパラートの組織を通した一定光度の透過度が大であれば組織中の脂肪含量が少なくなるといえるので、露出計の読みに対応する露出時間を含有量の相対値とした。例えば同露出計の読みが84であれば脂肪の含有量は露出計の読みが54.5の場合の2分の1しか含まれていないとして計算してある。

いうまでもなく、ここに得られた透過光度を利用した脂肪含有量は絶対値を示すものではなく相対値としてあらわしたものである。

れないが、浦尻湾産のものでは明らかに有意差*が認められた。また血球数の多少が疾病の進行状態をあらわすものと仮定すると、赤水湾産のものは症状の軽いのもあり、浦尻湾産のものはかなり症状が亢進していると考えられる。

血球についての検査は十分な資料を得ていないので別次の機会に報告したい。

2. 肝臓: 黒変魚と対照魚の肝臓脂肪質をズダンⅢで染色し、その染色度を比較計量した。計量値についてそれぞれの平均値を求め対照魚については 2.991 ± 0.158 , 黒変魚では 1.964 ± 0.073 を得た。これらの平均値の検定を行なった結果、対照魚と黒変魚については肝臓脂肪質の染色度は統計的に有意の差を示した**。したがって肝臓脂肪質の含有量は明らかに相違していると考えられる。

1) 対照魚の肝臓は非常に多くの脂肪を含有しているのに比べて黒変魚においては Plate 1. の A に見られるように著しく欠乏状態にある。わずかに存在した脂肪はズダンⅢ橙黄色に、ズダンブラック B で淡墨色ないし暗青色に、ナイルブルーでは青色を呈した。すなわちいずれの場合も中性脂肪はみとめられず、変性していることを示した。

2) グリコーゲン反応は対照魚に比べて極めて微弱で、肝臓グリコーゲンの著しい減少が認められる。また組織学的にみると肝細胞索のみだれは認められないが肝細胞の核の濃縮と混濁腫張がみとめられた。また一部の検体には肝臓血管の栓塞によると思われる巣状壊死が認められた (Plaet 1. の B)。

3. 腎臓: 黒変魚には共通して Plaet 1. の C および D に示されるように糸球体の萎縮、細尿管の拡張、腫張およびその上皮細胞に変性が認められる。また細尿管内には剝離した上皮細胞が認められる。腎全般にわたって Plaet 1. E にみられるように細尿管周囲の間質にはげしい出血がみられ、中には細尿管内への出血も認められる。古い細尿管内の出血巣は血栓状に線維化し、その細尿管の周囲が厚く膠原線維でとりかこまれたものもかなり認められる。また症状の進んだものの間質は Plaet 1. F および G に見られるように全般的に膠原線維に富み、硬化しているのが認められた。

硬骨魚は一般に造血機能を司る組織は脾臓と腎臓にある⁷⁾とされているが、いずれの臓器が主要な機能を果しているのかは不明である。しかし、いずれがその機能の主体であるにせよ。造血部である腎臓の間質における上述のような出血および変性はその機能に著しい損傷を与えていることが察知される。また腎臓の障害により、体全体にその影響が二次的三次的に出現し貧血症がますます亢進するものと考えられる。

4. その他の臓器ならびに諸組織:

1) 脾臓については貧血を認める外は特別の異常を認めなかつた。

2) 消化管については粘液層が薄く、また盃状細胞が発達して、粘液の分泌がさかんで全般的に萎縮性の慢性カタル性炎の特徴を示していることは Plaet 1. の H に示すとおりである。

3) 血合肉については脂肪およびグリコーゲン共に欠乏状態を示し、また貧血も認められた。

以上のように黒変魚の各臓器における諸変化は明らかに異常なものであつて疾病と認められるべき変化である。さきに福田・木村⁸⁾はスッポンの代謝障碍と認められるものについて報告したが、代謝障碍をうけたスッポンのように異常脂肪の蓄積は認められないが、脂肪の性状は本報告におけるハマチの場合とよく一致する。また病理組織学的にも肝臓細胞の混濁腫張、細尿管の拡張、腫張および細尿管周囲の出血などの症状はよく似ている。小野¹⁰⁾はニジマスに脂肪の過酸化物質および酸化サケ油を与えて貧血と肝臓の脂肪変性、グリコーゲンの減少、腎臓組織の異常がおこつたことを報告している。また川津¹¹⁾もニジマスに乾サナギを与えて小野と同じように貧血、肝臓の脂肪変性および腎臓組織の変性をあげ、腎臓の変性には細尿管の変性

* 平均血球数の差を黒変魚と対照魚について検定し次の結果を得た。

$$F_{6(0.05)}^7 = 4.60 > F_0 = 4.15 \dots \text{赤水湾産と対照魚}$$

$$F_{6(0.05)}^{14} = 4.41 < F_0 = 44.53 \dots \text{浦尻湾産と対照魚}$$

** 対照魚と黒変魚の平均値を比較検定して次の結果を得た。

$$F_{1(0.05)}^{55} = 4.02 < F_0 = 29.515$$

と消失、それに伴う間質の増殖を報告している。川津の報告における細尿管の変性および同間質の増殖は前述した黒変ハマチにおける細尿管の変性および同間質の増殖は前述した黒変ハマチにおける細尿管の変性および同間質の線維化と一応似た症状と考えられるが、黒変ハマチには小野・川津阿氏の報告にみられる肝臓細胞の脂肪変性は認められなかつた。黒変ハマチの場合は腎間質のはげしい出血、およびこれに伴う同間質の膠原線維化による硬変、消化管の慢性カタル、一部肝臓の巣状壊死など前者とは幾分異つた症状もみとめられている。これらの現象は代謝障害が動物の種類によつてその症状を異にするものか、または原因を異にする慢性疾患であるのか今回の所見のみでは断言できない。

一般に腎間質の出血は中毒が起因であり、巣状壊死は細菌、寄生虫卵、血液寄生虫などによる血管栓塞がその原因と考えられているが、巣状壊死は一部の魚体にみとめられたにすぎず、一般的にみて本例についてはその疾病の原因とは考え難く、むしろ肝臓、腎臓、脾臓、消化管および血合肉などにみられた組織変化から総合すれば一応代謝障害性の内性中毒と考えたほうが妥当と思われる。本病性の本態を究明するためには今後、血液像の検討、細菌学的検索、病理組織学的検索ならびに成育環境、餌料などについての検討を続ける必要があると考える。

要 約

養成中の黒変したハマチと正常とみられる個体を対照群として病理組織学的な比較検索を行なつた。

1. 血球数は対照群に比して黒変魚は血球数が少なく、前者では 1mm^3 につき 362 ± 50 万であるのに対して黒変魚では赤水湾産 306 ± 56 万、浦尻湾産 161 ± 42 万を示し、正常魚と黒変魚の赤水湾産とでは有意の差は認められなかつたが浦尻湾産黒変魚と対照群の間には有意の差が認められた。
  2. 肝臓脂肪はわずかししか認められず欠乏状態であつた。肝臓脂肪をズダンIIIで染色して脂肪量を計測し対照魚と比較検討した結果有意な差が認められた。
  3. 肝臓脂質は検索の結果、中性脂肪は認められずわずかに存在したものは変性した類脂質である。またグリコーゲンも欠乏状態であつた。
  4. 一般的に肝臓細胞の混濁腫脹と細胞核の濃縮がみとめられ、一部の個体に巣状壊死が認められた。
  5. 腎臓については糸球体の萎縮、細尿管の拡張、腫脹、変性が認められ、間質には、はげしい出血が認められた。病変の古いものは線維化していた。一般的に間質は膠原線維に富み硬化していた。
  6. 脾臓は貧血がみとめられたただけであつた。
  7. 消化管は萎縮性の慢性カタル性炎が認められた。
  8. 血合肉は貧血をおこし、また脂肪量は欠乏状態を示していた。
- 以上の所見から重篤な代謝障害性の内性中毒の症状と考えられる。

文 献

- 1) 川津浩嗣：淡水研報，10，2，41 (1960)。
- 2) 金田尚志・他：本誌，20，658 (1954)。
- 3) 鎌田淡紅郎：滋賀県醒井養鱒試報，2，1 (1959)。
- 4) 尾崎久雄・鎌田淡紅郎：滋賀県醒井養鱒試報，1，43 (1958)。
- 5) 窪田三郎・鎌田淡紅郎：———，1，15 (1958)。
- 6) 橋本芳郎：水産増殖談話会シンポジウム講演要，35 (1963)。
- 7) 尾崎久雄：水産生理学，金原出版，東京，(1960)。
- 8) 福田博業・木村正雄：本誌，27，413 (1961)。
- 9) 木村正雄：宮崎大学農学部研空時報，1，114 (1955)。
- 10) T. ONO, F. NAGAYAMA and T. MASUDA: J. Tokyo Univ. Fish., 46, 97 (1960)。
- 11) 川津浩嗣：淡水研報，11，1，29 (1961)。

Plate 1. Showing sections of tissues of normal (healthy) and abnormal (morbid) specimens of the yellow tail. A, normal (nor.) and abnormal (ab.) livers; Sudan III, $\times 100$. B, forcal necrosis in abnormal liver; hematoxylin-eosin staining, $\times 100$. C, atrophy (a) of Bowman's capsul; hematoxylin-eosin staining, $\times 400$. D, enlargement and bleeding (b), accompanied by exfoliation of epithelial cell in nephritic tubule; hematoxylin-eosin staining, $\times 400$. E, bleeding (b) seen around nephritic tubule; hematoxylin-eosin, $\times 400$. F, degeneration of Bowman's capsule and relative increase in the formation of renal interstitial fibrous tissue; Fan-Giesson picrofuchsin method, $\times 400$. G, degeneration (d) of nephritic tubule and relative increase in the formation of renal interstitial fibrous tissue; Fan-Giesson picrofuchsin method, $\times 400$. H, atrophy consequent on chronic catarrhal inflammation in intestinal canal; hematoxylin-eosin staining, $\times 400$. I, normal (nor.) and abnormal (ab.) livers; hematoxylin-eosin staining, $\times 200$.