

情 報

## 養殖アユにみられた腎臓腫大症について

城 泰彦\*・畑井喜司雄\*\*・落合忍仁\*\*\*・宮崎照雄\*\*\*・  
窪田三朗\*\*\*・江草周三\*\*\*\*  
(昭和 52 年 3 月 25 日受理)

### On Unknown Disease of Pond-Cultured Ayu Characterized by the Swollen Kidney

Yasuhiko Jo\*, Kishio HATAI\*\*, Taehito OCHIAI, Teruo MIYAZAKI,  
Saburoh S. KUBOTA\*\*\* and Syuzo EGUSA\*\*\*\*

\*Fish. Exp. Station of Tokushima Pref., Hiwasa, Tokushima, Japan

\*\*Central Research Lab., Sankyo Co., Hiromachi, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan

\*\*\*Dept. Fish., Fac. Fish., Mie Univ., Edobashi, Tsu, Mie, Japan

\*\*\*\*Dept. of Fish., Fac. of Agr., Univ. of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

(Received March 25, 1977)

Recently a disease which is characterized by swelling of the kidney has been observed among pond-cultured ayu, *Plecoglossus altivelis* in Tokushima Prefecture. Yeasts were frequently isolated from the kidney of diseased fish. These yeasts were identified as *Candida tropicalis* and *C. sake*.

The swollen lesion of the kidney was histopathologically showing necrosis of renal tubules, edematous dissociation of hematopoietic tissue and dilatation of sinusoids.

Histopathological observation could not find the relationship between swelling of the kidney and these yeasts. Thus, occurrence of yeasts in the kidney is very likely to be the result of secondary invasion.

We could not make clear the cause of this unknown disease.

1975 年 8 月下旬から 9 月下旬にかけて徳島県内のアユ養殖場において飼育中のアユに斃死をともなる原因不明の流行病が発生した。放養尾数 5～6 万尾の池で毎日 50～2,000 尾の斃死が見られたが、多くの場合、2～3 週間で終息した。発症魚はすべて琵琶湖産アユでその魚体重は 10～60 g であったが、とくに 30～40 g のものに斃死率の高い傾向がみられた。また発症池の水温は 17～22°C であった。

病魚の外部所見にはとくに異常が認められず、健康魚と識別することは困難であった。鰓は蒼白で、強度の貧血に陥っていることを示唆するとともに粘液の異常分泌が認められたが、寄生虫はみられなかった。臓器中、腎臓が腫大して(図 1)、とくにその後部が局所的に淡

紅色を呈していた。しかし、他の内臓諸器官に顕著な病徴は認められなかった。瀕死魚について細菌学および病理組織学的に調査したが病因を明らかにすることはできなかった。また疾病の発生した池および疾病が発生しなかった池について飼育水、放養密度、使用餌料の種類などを検討したがとくに関連は認められなかった。従って、本報では本症をその病徴から腎臓腫大症と仮称し、調査の概要を述べて今後の研究の参考としたい。

#### 材料および方法

##### 細菌学的検査

1975 年 8 月、徳島県内の 7 業者より集めた 32 尾の病魚について普通寒天を用いて腎臓から、またキトファーガー寒天を用いて鰓から細菌の検出を試みた。腎臓からの試料の採集はメスで傷つけた腎臓に直接白金耳を穿刺し、それを平板に画線塗抹する方法によった。また鰓の場合は綿棒を用いて試料を採集した。また同年 9 月、

\* 徳島県水産試験場

\*\* 三井(株)中央研究所

\*\*\* 三重大学水産学部

\*\*\*\* 東京大学農学部

6業者より集めた14尾の病魚についてサブロー寒天培地を用いて腎臓から定量的に酵母の培養を試みた。これは腎臓に10倍量の生理食塩水を加えてホモジナイズした試料液を原液とし、これらの10倍希釈系列を作製し、各希釈段階の0.1 mlを平板上に均一に塗抹する方法によった。そして、25°C、4日間培養後、出現した集落数より腎臓1g中の生菌数を算定した。

酵母の同定は主としてLODDER (1970)に従ったが、BARNETT et al. (1974)の成書も参考にした。

#### 病理組織学的検査

材料は1975年8月に得られた瀕死状態の4尾である。これらの個体はいずれも腎臓から酵母が分離されている。固定はブアン液を用い、常法により4~8μのパラフィン切片を作製した。染色はH-E染色、PAS反応、パッペンハイムの2重染色、アザン染色などを目的に応じて施した。

#### 結果および考察

##### 細菌学的検査

普通寒天培地での培養の結果(表1)、ビブリオ菌のみが分離されたのは32尾中3尾だけであった。残りの29尾のうち何も検出されなかった個体は5尾、酵母のみが検出された個体は8尾、細菌のみが検出された個体は1尾、酵母と細菌が同時に検出された個体は15尾であった。酵母が検出された個体を合計すると23尾となり、これは調査魚の79.3%に相当する。このように高い濃度で腎臓から酵母が分離される症例はまだ報告されていない。

なお、キトファーガー寒天培地での培養の結果、魚体間に共通した集落を観察することはできず、また滑走細菌も検出されなかった。

次に、腎臓腫大症と診断された病魚の腎臓から定量的に酵母の培養を試みた結果(表2)、14尾中5尾から酵母のみが検出され、それらの腎臓1g宛の酵母数は4尾が $5.0 \times 10^2 \sim 3.3 \times 10^8$ 細胞、1尾が $1.2 \times 10^5$ 細胞であった。細菌は2個体から検出されたが、1個体からは短桿菌、他の1個体からは球菌であった。何も検出されなかった個体は7尾であった。このように腎臓中の酵母の量が個体により様々で、むしろ定量限界以下の個体が多かったことから、本症が酵母による感染症でないことは明らかと思われる。病魚の腎臓から酵母などが検出されるのは、むしろ2次的に侵入したものであると考えるのが妥当と思われる。しかし酵母などがどのような経路で腎臓に侵入するかは不明であるが、いったん侵入するとそ

表1. 病魚の腎臓からの細菌類の出現状況

業者名	池番号	魚体 No.	出現集落の分類		
			酵母	ビブリオ菌	その他の細菌
NAK	1	1	+	-	+
		2	+	-	+
		3	+	+	+
		4	+	+	+
TAK	3	5	+	-	-
		6	+	-	-
		7	+	-	+
		8	+	-	+
HAM	5	9	+	-	-
		10	-	-	-
	6	11	-	-	-
		12	-	-	+
	7	13	+	+	-
		14	+	-	-
		15	-	+	-
		16	-	+	-
YOS	8	17	+	-	-
		18	+	-	-
		19	+	-	+
		20	+	-	+
HAK	9	21	-	-	-
		22	-	-	-
MOR	10	23	+	-	+
		24	+	-	+
ATU	11	25	-	+	-
		26	+	+	+
		27	-	-	-
		28	+	-	+
	12	29	+	-	-
		30	+	-	-
		31	+	-	+
		32	+	-	+
判定が+の合計			23	7	15

こで増殖する場合もあることは表2より明らかである。

なお、分離された酵母2株を魚体重100g宛湿菌量で5mgになるように健康な養殖アユ各5尾(魚体重60~80g)の腹腔内に接種し、2週間観察したが、アユに何ら病的変化はみられなかった(実験水温17.5~18.5°C)。従って、この結果からも酵母が病原体でないことは明らかと思われる。

分離された酵母は異なる業者の異なる病魚から分離されたにもかかわらず、平板上の集落の形状は肉眼的にほぼ同一で類別し得なかった。そこで由来の異なる9株を

表 2. 腎臓からの酵母の検出

魚体 No.	業者名	体重	体長	生菌数/ 腎臓 1 g	分類
1	SU	48.5 g	14.2cm	<10 <sup>2</sup>	
2	"	40.3	13.6	1.2×10 <sup>5</sup>	酵母
3	MA	32.1	11.9	<10 <sup>2</sup>	
4	"	37.9	13.1	廿(小集落)	球菌
5	HA	16.0	10.6	<10 <sup>2</sup>	
6	"	14.1	10.9	<10 <sup>2</sup>	
7	"	20.2	11.2	<10 <sup>2</sup>	
8	TO	34.5	13.0	<10 <sup>2</sup>	
9	"	38.8	13.3	1.1×10 <sup>8</sup>	短桿菌
10	"	36.4	13.2	5.0×10 <sup>2</sup>	酵母
11	KO	51.0	14.5	3.3×10 <sup>3</sup>	酵母
12	"	46.2	14.0	1.1×10 <sup>3</sup>	酵母
13	NA	36.2	14.0	<10 <sup>2</sup>	
14	"	42.3	14.1	5.0×10 <sup>2</sup>	酵母

供試して同定を試みた結果、これらはすべて増殖方式が多極出芽で、細胞形態が球形から卵形であり、子嚢胞子、射出胞子、テリオスポアなどが形成されない無胞子で、さらにスライド培養法により偽菌糸(図2)が形成されるなどの特性から *Candida* 属に分類された。さらに発酵性試験、資化性試験などの生理学的性状から9株中2株は *C. tropicalis* に、7株は *C. sake* に同定された。

病理組織学的検査

腎臓腫大局所と酵母の感染局所との間に必ずしも相関性が見られなかったため、この両者についてそれぞれの記載をした。

1) 腎臓の腫大部位について: 4例とも肉眼的に腎臓に局所的な腫大が認められた。この腫大部位にはいくつかの尿細管上皮が変性壊死した区域が多発していた。その尿細管上皮細胞は管腔側より融解して、病変の著しい場合には基底膜だけが残存する状態になっていた。退行的病変が起った尿細管の周囲に分布する尿細管の中には崩壊した上皮細胞による円柱が形成されていることが多かった(図3)。退行的病変が起きた尿細管の周囲の造血組織は水腫性疎開を起し、造血細胞は減少し、また類洞の拡張も著しかった(図4)。腎小体については慢性的にポーマン氏囊上皮や糸球体の細胞増生が観察された。細胞増生を起した糸球体はポーマン氏囊上皮と癒着していることが多かった。ポーマン氏囊の腔内に微細な顆粒状をした蛋白様物質の貯溜が見られる例では、糸球体に細胞単位の壊死がしばしば認められた。

前述のように腎臓からは微生物学的手法で酵母が検出

されているが、その酵母は病巣周囲の比較的正常な構造を保つ部位の造血組織内、類洞、糸球体の毛細血管内などに退行的病変や炎症反応を伴うことなくしばしば1~数個で出現していた(図5)。しかし病理組織学的には、尿細管上皮の変性壊死がみられた区域からはほとんど観察されなかった。

以上のことから、腎臓の腫大は尿細管の変性壊死、造血組織の水腫化と類洞の拡張などを特徴とする病巣が多発することによるものである。この病変の原因については、酵母の観察された局所と壊死の局所との間に相関性が見られないので、酵母の感染が本疾病にどのような役割を果しているのかは今後の検討をまたねばならない。

2) 酵母による病変について: 組織学的に酵母は胃の周囲の腹膜や脂肪組織の辺縁に1~数個あるいは集塊を呈して現われていた。またそれは腎臓、肝臓、脾臓などにも観察された。成熟した酵母の形態は8μ前後の球形あるいは卵形で、しばしば一端に娘胞子と思われる小型の胞子がみられた。内部構造は不明瞭で、PAS反応陽性の細胞膜をもっていた。胃の周囲の腹膜に1~数個の酵母が侵入した状態ではその中皮(mesothelium)\*に軽度の増生がみられた。酵母がそこでさらに塊状に増殖している状態では酵母の周囲に新生毛細血管に乏しい肉芽組織が形成され、特に炎症が著しい局所では、脾細胞がまき込まれ変性壊死し消失していることもあった(図6)。このような部位ではしばしば増生した肉芽組織は隣接する脾臓、脂肪組織、腸管、幽門垂などと癒着していた。脂肪組織の近縁部にも酵母が侵入し、そこに肉芽組織が形成されていた。胃、腸の漿膜にもしばしば酵母が観察されたが、炎症反応は比較的軽度であった。肝臓の類洞内、脾臓の脾髄内や被膜に1~数個の酵母がときどき観察された。脾臓被膜の酵母が観察された部位は被膜の肥厚がみられたが、他の観察部位には著変はみられなかった。

なお全例において、心臓心室内腔にしばしば混合血栓がみられ、胃でも粘膜上皮層に軽度のカタルがみられたがいずれも酵母は観察されなかった。

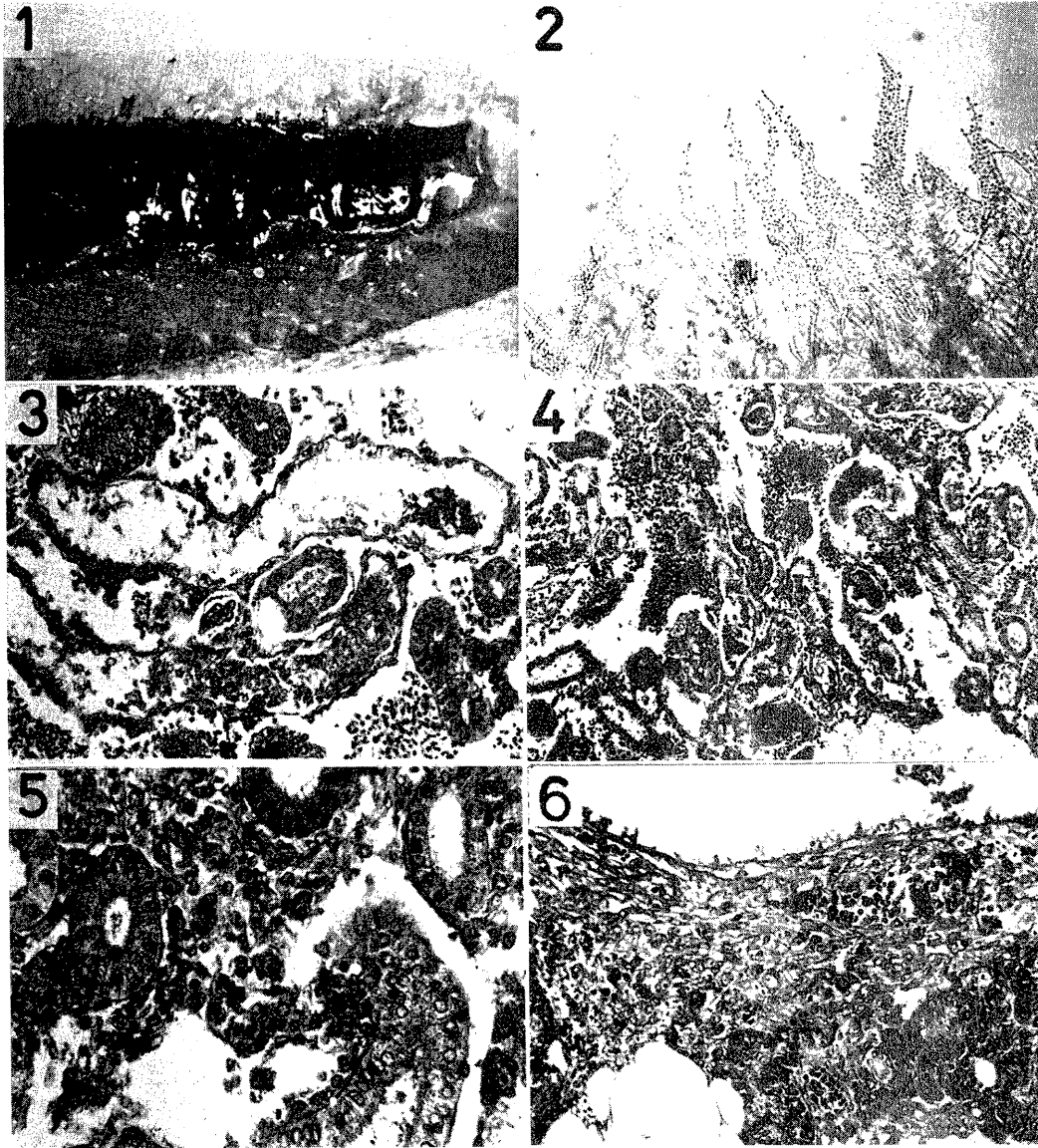
以上のことから、酵母による病変は胃周囲の腹膜や脂肪組織辺縁部における炎症が中心となり、腎臓腫大に酵母が直接主要原因をなしているとは考えにくい。腎臓腫大をもたらす原因については、今後更に検討する必要があると思われる。

\* Text book of Histology, Bloom and Fawcett-(1968) の the serous membranes による

## 文 献

BARNETT, J. A. and R. J. PANKHURST (1974): A new key to the yeasts. North-Holland Pub-

lishing Company, Amsterdam, 273 pp.  
 LODDER, J. (1970): The yeast, a taxonomic study, 2nd ed., North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1385 pp.



- 図 1. 腫大した病魚の腎臓。とくに後部が顕著。  
 図 2. 病魚の腎臓より分離された酵母 (*Candida tropicalis*) の偽菌糸。スライド培養法。  
 図 3. 尿細管上皮細胞の壊死消失と管腔内の壊死細胞の円柱。腎臓, H-E 染色 ×200  
 図 4. 尿細管上皮細胞の壊死, 類洞の拡張, 造血組織の水腫。腎臓, H-E 染色 ×100  
 図 5. 造血組織と類洞に出現した酵母。尿細管はほぼ正常である。腎臓。×400 PAS 反応  
 図 6. 腎臓漿膜にみられた酵母感染病巣。肉芽組織が形成され, 腎細胞の一部は壊死, 消失している。×200 PAS 反応