

養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—IV
ニジマスの激しいセロイド症をともなう栄養性ミオパチー

窪田三朗・宮崎照雄・津田茂美・糟谷浩一*

三重大学水産学部

Studies on Nutritional Myopathy Syndrome in Cultured Fishes—IV
Nutritional Myopathy accompanying Extensive
Ceroidosis in Rainbow Trout

Saburoh S. KUBOTA, Teruo MIYAZAKI,
Shigemi TSUDA, and Kouichi KASUYA*

Faculty of Fisheries, Mie University

In the winter of 1980, a nutritional disease accompanied by mass mortality occurred in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at a fish-farm in Tochigi Prefecture. Diseased fish had a thin, black-colored body and pale liver and gill. Histopathological symptoms were represented by myopathy of the systemic skeletal musculature and an extensive deposition of lipopigment in viscera. In the skeletal musculature, most of muscle fibers exhibited mild atrophy and some of the fibers underwent various alterations; central nucleation, extreme atrophy and necrosis within the atrophic fibers. Lipopigment was made up of ceroid and lipoprotein. The lipopigment deposition was extensive within hepatocytes, cardiac muscle, smooth muscle of digestive tubes and macrophages present in the spleen, the hematopoietic tissue, gills and the skin. Hemosiderosis occurred also within the spleen.

Based on results from the histopathological research, it was judged that this disease, represented by myopathy and ceroidosis was due to feeding on a rancid diet.

Keywords: rainbow trout, myopathy, ceroidosis, hemosiderosis.

1980年10月に栃木県下の1養殖場で、当才のニジマス (*Salmo gairdneri*) が「やせ」と体色黒化を呈し斃死するようになった。ニジマスの飼育には湧水を利用し、フィードオイルや総合ビタミン剤を添加しない状態で、ニジマス用配合飼料のみを投与したものである。その飼料は、1日分の

* 栃木県水産試験場 (Tochigi Prefectural Fisheries Experimental Station)

本研究の一部は文部省科学研究費補助金により行った。

投与量をバケツに入れて池のそばの小屋の中に置き、適時投与した。このような条件で飼育されていたニジマスが、10月頃から前記の異常を呈し始め、1981年1月には最高の斃死率に達した。1月にとりあげた病魚を病理組織学的に検討した結果、心筋線維、消化管の平滑筋線維および内臓諸器官に激しくセロイドが沈着し、また骨格筋組織にミオパチーがそれぞれみられた。以下その詳細について報告する。

材料および方法

供試病魚は、1981年1月7日に採取された平均体重64gのニジマス6尾で剖検後10%ホルマリン水で固定し、常法に従ってパラフィン切片を作製した。染色は、ヘマトキシリン・エオジン染色、PAS反応、塩基性フクシン染色、チール・ニルセン染色、ズダンIII染色、ズダン黒B染色、シュモール反応、アルデヒド・フクシン染色、アザン染色、PTAH染色、ベルリン青反応を目的に応じて施した。

結 果

病魚の発生状況

ニジマスの飼育には、摂餌開始時点からニジマス用配合飼料（C社製）のみが、フィードオイルや総合ビタミン剤を添加することなく用いられた。その飼料は、専用の保管小屋に保蔵し、毎日1日分の投与量をバケツに入れた後、直射日光が当たらないように池のそばの小屋の中に置き、適時ニジマスに投与した。このようにして飼育されたニジマスが、1980年10月頃から体のやせや、体色黒化を呈して斃死するようになり、特に選別や移送に際して斃死魚数が増大した。翌1981年1月には放養尾数1万尾当り、約100尾の斃死が続くようになった。この時点で病魚の一部からウィルス検査を試みたところ、ごく弱いタイターながらIPNウィルスが検出された。同時に、飼料をC社以外のものに換えた結果、同年3月には、1養殖池当り1日の斃死魚数が5～6尾に減少し、輸送時の斃死魚もなくなった。

肉眼的所見

病気のニジマスは、「やせ」と体色の黒化が顕著で、剖検すると鰓が褪色しており、肝臓は黄土色に変色していた。しかし腹水や眼球突出などの異常は認められなかった。

病理組織学的所見

1. 骨格筋組織： いずれの症状にも共通して体側筋組織と鰭動筋組織の筋線維は一樣に軽度の萎縮を呈し、その中に中心核を呈する線維や強い萎縮と壊死に陥った線維がび慢的に散在していた（Plate I-1,2,3）。この筋線維の退行性病変は両側性に現われる傾向があり、また、その程度に個体差がみられた。なお、脊髓、脊髓神経節、筋組織内の神経線維には特記すべき異常はみられなかった。

2. 内臓諸器官： それぞれの症例とも内臓諸器官の変化は脂原性色素の沈着を主徴としており、各器官の特徴は次のようであった。

肝臓では肝細胞内のセロイド沈着が顕著であった。そのセロイドは一般に小滴状で細胞内にび慢的に沈着するが、沈着が激しい細胞では細胞内にセロイドが充満して細胞は膨化し、その境界も不明瞭になり、核の偏在や核濃縮を伴っていた。セロイド沈着の激しい細胞は中心静脈、門脈および

細胆管の周辺などに顕著であった(Plate I—4.5)。

脾臓では脾髄内にセロイド、脂蛋白、メラニン、血鉄素をそれぞれ沈着した細網細胞が多数現われていた(Plate II—1)。脾臓では上記の色素のうち、血鉄素とセロイドの沈着が優勢であった。

腎臓では、造血組織にメラニンとセロイドの沈着したマクロファージが多数出現していた(Plate II—2)。腎実質の糸球体には特記すべき異常はなかったが、尿細管上皮の一部には硝子滴変性や顆粒状の脂蛋白の沈着がみられた。

脾臓では、小葉周囲にセロイドや脂蛋白の沈着したマクロファージが少数みられた。

鰓では鰓薄板毛細血管内や鰓弁上皮内にセロイドや脂蛋白の沈着したマクロファージの浸潤が顕著であった(Plate II—3)。二、三の症例の鰓には細菌性鰓病の特徴である長桿菌の侵襲、鰓薄板上皮の肥厚、鰓薄板の癒着および局所性の鰓弁の棍桿化も併せてみられた。

その他脂蛋白の沈着したマクロファージは表皮、真皮、眼球にもみられた。以上、肝実質細胞や各器官のマクロファージ内に沈着したセロイドは、PAS 反応、ズダン III 染色、ズダン黒B染色、アルデヒド・フクシン染色、塩基性フクシン染色に陽性、チール・ニルセン染色で抗酸性、シュモール反応には弱陽性をそれぞれ示した。脂蛋白はセロイドの染色性に対して、脂肪染色性と抗酸性で若干劣り、シュモール反応は陰性であった。

心臓では心筋線維内に顆粒状から小球状の脂蛋白が出現していた(Plate II—4)。これらの色素は筋原線維間にび慢的に沈着し、心筋線維内で沈着の顕著な局所は、筋原線維の消失を伴う空胞変性を呈するに至っていた。

消化管では胃、小腸、幽門垂のそれぞれの筋層平滑筋線維内に脂蛋白の沈着がみられた(Plate II—5)。このような平滑筋内の脂蛋白の沈着は幽門垂と小腸に顕著であるが、胃では軽度であった。しかしそれぞれの絨毛、粘膜下織には特記すべき異常はなかった。

以上、心臓心筋線維と消化管の平滑筋線維内に沈着した脂蛋白はパラフィン切片では脂肪染色性に劣り、長時間染色で弱陽性にしかならないが、アルデヒド・フクシン染色で陽性を示し、その他当該脂蛋白は塩基性性フクシン染色とシュモール反応に陰性、チール・ニルセン染色とPAS 反応に陰性または弱陽性であった。

考 察

筆者らは、ブリ(窪田ら, 1980)、トラフグ(延東ら, 1979)、およびコイ(宮崎ら, 1981)について、それぞれの栄養性ミオパチー症候群に共通する特徴として骨格筋組織のミオパチーと内臓諸器官などでのセロイド沈着をあげた。今回検索したニジマスの病魚では、骨格筋組織の退行性病変の程度が軽度ではあるものの、ミオパチーの特徴(CARL, *et al.*, 1973; 浜崎, 1977)を示しており、セロイド沈着も併せてみられた。この事実からニジマスの病魚に発現した異常が、栄養性ミオパチー症候群の範ちゅうに入ることは疑いない。ただし、ニジマスは内臓諸器官のマクロファージ内は言うにおよばず、肝実質細胞、心筋線維、消化管平滑筋線維にも脂原性色素の沈着が顕著であることが極めて重要な特徴と言える。

以上のようなニジマスのセロイド症は、綿実粕を含む飼料を投与した場合(WOOD, *et al.*, 1956)や人工的に変敗させたニンシ魚肉を基本とした配合飼料を投与した場合(SMITH, 1979)にもそれぞれ観察されている。またニンシ油を添加したカゼイン基本飼料を投与したマスノスケ(WOODALL, *et al.*, 1964)やカタクタイワン油およびイカナゴ油を投与したコイ(宮崎ら, 1981)にも、セロイ

ド沈着が認められている。その他、イワシ油を投与したニワトリのヒナには顕著なセロイド症が起こることが知られている (MIURA, *et al.*, 1966)。セロイドはビタミンEなどの抗酸化剤欠乏状態で体内の不飽和脂肪酸が自動酸化してつくられると言われている (PEASE, 1968; 平井, 1973)。以上のようなセロイドに関する知見から、今回のニジマスに発生したセロイド症も投与した配合飼料中の油分の変敗を誘因としていと考えられる。つまり、飼料の保蔵や投与前の管理について、保冷装置のない作業小屋では夏には高温のため中の飼料が当然変敗するであろう。また最近の配合飼料の問題点として、原料の北洋ミールの品質低下およびブラウンミールの混入などがあげられている。こうした魚粉中の油分は、飼料の保管が悪い状況では変敗するのが当然であり、飼料中のビタミンEが消費するため、魚がビタミンEの欠乏をきたすことも充分考えられる。配合飼料の品質低下という現状では、本件と同様の事故が起こりやすくなっていると言えるので、魚への投与に際してビタミンEを含めて総合ビタミン剤の添加は、必要不可欠と言えよう。

また、本研究に用いたニジマスと同群の病魚から IPN ウィルスが分離されている。このことから、栄養性疾患のため潜伏していたウィルスがある程度活性化して検出されたと類推する。サケ、マスの養殖の現状ではウィルス感染が重要視されているが、今後はウィルスの検討と同時に栄養障害についても検索されることが必要と言えよう。

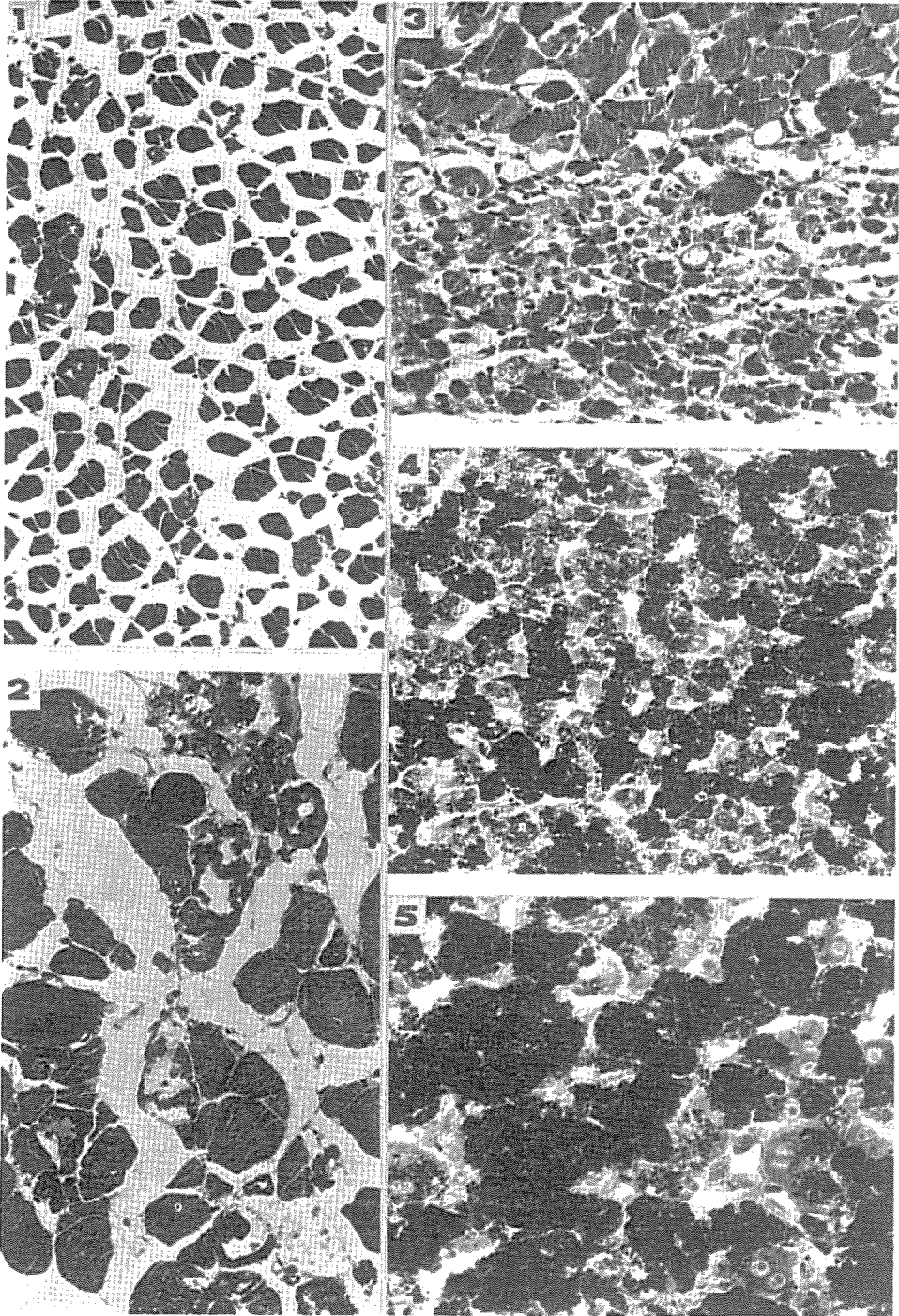
文 献

- CARL M. P. and F. K. TOSTOFI (Edi.), 1973. The striated muscle. The WILLIAMS and WILKINS Company, Baltimore: 518pp.
- 延東 真・宮崎照雄・窪田三朗・大林萬鶴・長野泰三・松本紀男, 1979. 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—II. 種苗生産中に発生したトラフグの栄養性ミオパチー症について. 魚病研究, 13(4): 183—187.
- 浜崎幸雄(監修), 1977. 病理組織の見方と鑑別診断. 医歯薬出版, 東京, 462pp.
- 平井俊策, 1973. ビタミンE欠乏症. 代謝(特集, 脂溶性ビタミン), 10(7): 933—941.
- 窪田三朗・舟橋紀男・延東真・宮崎照雄, 1980. 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—I. ブリの栄養性ミオパチー. 魚病研究, 15(2): 75—80.
- MIURA S. and OHSHIMA K., 1966. Studies of visceral pathology in fowls on fish oil diets. *Jap. J. Vet. Sci.*, 28: 237—250.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1981. 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—V. 変敗蚕蛹投与によるコイの背こけ症状. 本誌, 8: 45—57.
- PEARSE A. G. E., 1968. Histochemistry. Theoretical and Applied. LITTLE, BROWN and COMPANY, Boston: 759pp.
- SMITH C. E., 1979. The prevention of liver lipoid degeneration (ceroidosis) and microcytic anaemia in rainbow trout *Salmo gairdneri* RICHARDSON fed rancid diet: a preliminary report. *J. Fish Disease*, 2: 429—437.
- WOOD E. M., YASUTAKE W. T., WOODALL A. N. and HALVER J. E., 1956. The nutrition of salmonoid fishes. I. Chemical and histological studies of wild and domestic fish. *J. Nutrition*, 84: 125—135.
- WOODALL A. N., ASHLEY L. M., HALVER J. E., OLCOTT H. S. and JOHN VAN DER VEEN, 1964. Nutrition of salmonoid fishes. XIII. The α -tocopherol requirement of chinook salmon. *J. Nutrition*, 61(4): 465—478.

Explanation of Plate I

- Fig. 1.** Lateral white musculature. Most of the muscle fibers exhibit mild atrophy. Some fibers undergo extensive atrophy and necrosis within the atrophic fibers. H-E stain, $\times 80$
- Fig. 2.** A detail of the white musculature. Extremely atrophied and necrotized fibers are scattered within the atrophic fibers. H-E stain, $\times 160$
- Fig. 3.** Lateral red musculature. Most of the muscle fibers undergo extreme atrophy. H-E stain, $\times 200$
- Fig. 4.** Liver. All hepatocytes exhibit a ceroid deposition. Ceroid stained black is deposited as small droplets within the cells. Sudan Black B stain, $\times 160$
- Fig. 5.** A detail of the liver. Hepatocytes with moderate deposition of ceroid do not so extensively undergo any nuclear changes. Hepatocytes with an intensive deposition of ceroid are occupied by a large amount of ceroid and exhibit nuclear degeneration. Ceroid within hepatocytes is positive with Sudan Black B, Aldehyde Fuchsin and Basic Fuchsin, weakly positive with PAS and Schmorl, and acid-fast with Ziel-Nielsen. Sudan Black B stain, $\times 320$

Plate I



Explanation of Plate II

- Fig. 1.** Spleen. Granules of ceroid and lipoprotein are deposited within splenocytes. They are positive with Aldehyde Fuchsin. In the splenocytes, hemosiderin deposition is also extensive. Aldehyde Fuchsin stain, $\times 320$
- Fig. 2.** Kidney. Renal tubules do not exhibit any remarkable changes. Macrophages phagocytizing ceroid and lipoprotein, increased in numbers markedly within the hematopoietic tissue. Sudan Black B stain, $\times 160$
- Fig. 3.** Gill. Ceroid-laden macrophages migrate into the lamella capillaries and filamental epithelia. Sudan Black B stain, $\times 200$
- Fig. 4.** Heart. Lipoprotein is deposited as granules within the cardiac muscle fibers. Affected fibers exhibit partial vacuolization. Lipoprotein is positive with Aldehyde Fuchsin, weakly positive with Sudan Black B, PAS and Ziel-Nielsen and negative with Basic Fuchsin and Schmorl. Aldehyde Fuchsin stain, $\times 320$
- Fig. 5.** Pyloric caecum. Granules of lipoprotein are deposited within the smooth muscle fibers. This kind of symptom is observed in the stomach and the intestine. Aldehyde Fuchsin stain, $\times 200$

Plate II

