

アマゴ癩瘡病の病理組織学的研究—II.

経鰓感染について

宮崎照雄・窪田三朗

魚病研究

第9巻 第2号 別刷

1975年3月発行

Reprinted from

Fish Pathology

Vol. 9, No. 2, March 1975

アマゴ癩瘡病の病理組織学的研究—II.

経鰓感染について

宮崎照雄*・窪田三朗*

(昭和 50 年 1 月 11 日受理)

サケ科魚類の癩瘡病の病徴発現には三種の型があると報告されていて、臨床的にみて急性型では鰓に数多くの点状出血が生じて急死し、亜急性型では体軀に膨隆患部ができ、慢性型は準臨床感染を特徴とすると言われている³⁾。今回、著者らはそれらのうち急性型にあたる病魚を病理組織学的に検討し、急性型病徴の発現は病原菌の経鰓感染に基づいていることを明らかにした。

材料および方法

罹病魚は 1973 年 6 月奈良県黒滝村の養殖場より入手した 2 尾 (月齢 16 ケ月) と 1974 年月に三重県美杉村の養殖場より入手した 4 尾 (月齢約 18 ケ月) である。病魚の腎臓から普通寒天平板で細菌を分離した後、各臓器をブレン液、10% ホルマリン水またはヘリー液で固定した。常法に従って 4~5 μ のパラフィン切片を作り、HE 染色、パッペンハイム二重染色、PAS 反応、アザン染色、ファンギーソン染色、トルイジンブルー染色 (PH 4): 三酸染色またはエオジン・オレンジ G・トルイジンブルー染色を目的に応じて施した。

結 果

病魚の腎臓から分離された細菌は短桿状で運動性なく、褐色水溶性色素を産生することから *A. salmonicida* と判断された。

肉眼的・解剖的所見

外見的な症状はほとんど認められなかった。解剖学的には鰓薄板に多数の充出血点が認められた。軽症例では、鰓薄板の充出血点のほかには他の内臓諸器官には顕著な病徴はみられなかった。重篤例では鰓薄板の充出血点に加えて鰓は貧血色になり、肝臓でも点状出血が出現するとともに貧血色を呈していた。その脾臓は暗赤色を呈して腫大し、腎臓には小白斑や出血斑が出現していた。軀幹部筋肉を三枚におろして観察すると筋肉中に小出血斑が認められる場合もあった。

病理組織学的所見

a) 鰓: 細菌集落は鰓薄板の上皮あるいは鰓薄板の毛細血管の任意の部位に生じていた。鰓薄板の上皮に生じた細菌集落は小規模で上皮細胞の辺縁部に位置し、その集落の一端は上皮細胞を、他端は毛細血管床を破壊して壁柱細胞に接していた (図 1)。鰓薄板の毛細血管内に細菌集落が出現した場合には、その鰓薄板に血行障害と上皮細胞の増生が生じていた。細菌集落、血行障害および上皮の肥厚には相互に密接な関係があって、それらの進行には次のような過程がみられた。まず、小さな細菌集落は鰓薄板の毛細血管における細菌塞栓として認められ、塞栓局部では上皮細胞の腫大とわずかな増生が生じていた。この時点では細菌塞栓は完全閉塞的であるがまだ顕著な血行障害は生じていなかった (図 2, 3)。塞栓の細菌の増殖が進めば、細菌集落は毛細血管床をつき破って、肥厚した上皮内に侵入して増大していた。この時点では血行障害も生じ、塞栓より前域にある毛細血管は赤血球を満して拡大し、塞栓局所では肥厚した上皮内に出血が生じるとともに、塞栓より後域の毛細血管は虚血的になり壁柱細胞が壊死していた。こうした細菌集落の増大および血行

* 三重県立大学水産学部

障害に対応して上皮の肥厚はさらに顕著になり、塞栓症の鰓薄板は隣接する鰓薄板と融合するようになっていた(図4)。病状がさらに進展すれば、塞栓前域の毛細血管はさらに赤血球を満して拡張し、その中の赤血球の多くは変性に陥り、そして、壁柱細胞も壊死して鰓薄板の支持構造は顕著に破壊されていた(図5)。肥厚した上皮中に漏出した赤血球の細胞質は小滴状になり、その核は核粉に崩壊していた。塞栓後域の毛細血管の虚血化はさらに進んで、そのために血管支配域の組織に梗塞も生じていた。この時点では塞栓症の鰓薄板のみならず、隣接の既に融合した鰓薄板さえも上皮細胞の腫大を伴う上皮増生が起っていた。その上皮内には粘液細胞やエオジン好性顆粒をもつ細胞が増加していた(図6)。最終的には鰓薄板の細菌集落は鰓弁動脈の血管壁から角鰓軟骨の一部をも巻き込む大きな集落へと発展していた。この時、集落をとり囲んだ上皮の一部が崩壊して集落が外界に露出することもあった(図7)。

重篤例では鰓薄板の毛細血管のみならず、鰓弁動脈にも不完全な細菌塞栓が認められた。塞栓を起こした動脈は赤血球を満して拡張し、鰓弁上皮は浮腫に陥っていた(図8)。

肥厚した上皮中にみられたエオジン好性顆粒をもつ細胞は、エオジン好性顆粒を細胞中に充満させていて、その比較的好塩基性の原形質は核とともに細胞の一端に偏在していた。なお、この細胞核は染色質に乏しく、1個の明瞭な仁を有する。前記のエオジン好性顆粒の染色性は、HE染色、パッペンハイム二重染色とエオジン・オレンジG・トルイジンブル染色で輝赤色、三酸染色で橙黄色、アザン染色で橙赤色、ファンギーソン染色で黄色に染り、PAS反応およびトルイジンブル異調染色で共に陰性であった(図9, 10)。

b) 皮膚および軀幹筋: 皮膚には著明な病変は認められなかった。皮下脂肪組織および筋肉組織の細い血管には、時々、完全閉塞性の細菌塞栓が生じ、その結果、塞栓局所の血管壁は変性壊死して血管周囲に小規模な出血が起っていた。

c) 心臓: 心筋組織の間結合織中には、形成直後と思われる小さな細菌集落がしばしば出現していた。細菌集落は、増大するにつれて、心筋線維を囲繞圧迫するようになり、その心筋線維は変性壊死に陥っていた。このような感染病巣周囲の生活組織の間質には大単核細胞が浸潤繁殖していた(図12)。重篤例では心筋組織の細菌集落は非常に大きく発達して、心内膜を巻き込むとともにそれを破壊し、その結果、集落の一部が心臓の内腔内に突出するに至っていた(図11)。軽症例および重篤例とも細菌集落の規模は他の器官にみられるものに比べてはるかに大きかった。

動脈球外膜にも細菌集落が出現し、集落の周囲組織には小規模だが大単核細胞の浸潤繁殖が生じていた(図13)。

d) 肝臓: 類洞には完全閉塞性の細菌塞栓が多発していた。重篤例では類洞の細菌塞栓は類洞内皮を破壊して実質組織に侵入して大きな細菌集落に発展していた。集落に囲繞された肝細胞は変性壊死し、局所的に出血が起っていた。また、類洞は虚血的になりそこに大単核細胞の浸潤集合が認められた(図14)。

e) 脾臓: 軽症例では、莢組織においてのみ小さな細菌集落が散見された。重篤例では、莢組織に大小いくつもの集落が形成され、集落に囲繞された局所は変性壊死に陥っていた(図15, 16)。このような莢組織の周囲の脾髄は赤血球で充満し、小さな細菌集落がいくつも生じていた(図15)。莢動脈あるいは脾静脈には不完全閉塞性の細菌塞栓が出現することもあり、細菌集落が付着侵入した血管壁局所は変性壊死していた。

f) 腎臓: 軽症例では造血組織の洞内皮細胞は腫大しそれらのうちのいくつかは食菌していた(図17)。重篤例では腫大した洞内皮細胞内の多くは食菌していた。本菌は洞内皮細胞内で増殖し、そのような状況下にある内皮細胞は基底膜より剝離していた。洞内には上述の細胞内増殖に由来すると思われる細菌集落が多発し、そのいくつかは洞内皮をさらに破壊して周囲の造血組織あるいは尿管上皮中に侵入拡大した集落に発展していた。細菌集落に囲繞された造血組織は壊死に陥り、また尿管上皮は硝子滴変性などの退行化に陥っていた(図18)。

g) 消化管: ここには特に著変はなかった。

考 察

I) 細菌集落、細菌塞栓の形成と病理像

a) 鰓: 鰓薄板上皮表面に微小細菌集落が形成されていること、および、その微小集落がその後組織内に侵入発展しているという事実は、鰓薄板に初発感染が成立していることを示すものと考えられる。鰓薄板の毛細血管内に生じた細菌塞栓は、一次的には上皮表面の微小細菌集落に由来するか、または、初発病巣が鰓弁動脈を巻き込んで敗血病巣に進展した結果、その病巣から細菌が血流を介して下流の鰓薄板毛細血管に定着し発達して、そこを閉塞することによって生じたと考えられる。そして、心筋組織における転移感染巣が心臓の内腔に達するほどに拡大することを考えれば、鰓薄板毛細血管内の細菌塞栓は、二次的には、心筋組織の感染病巣から血液を介して再び鰓に侵入、定着した細菌に由来していると考えられる。塞栓症の鰓薄板の鰓上皮の肥厚は細菌集落の増大と血管の血行障害に対応して起っていた。このことから鰓上皮の肥厚は細菌塞栓症の鰓薄板の毛細血管を維持する意義をもつのではないかと思われた。

鰓薄板の上皮細胞の増生による上皮の重層化に伴って上皮中にエオジン好性顆粒をもつ細胞が増加していた。この細胞は正常魚でも少数ながら鰓弁上皮や皮膚の重層上皮に存在していることから、上皮性の細胞と推察される。この細胞のエオジン好性顆粒が好酸性で糖質を含まないことがわかったが、その本体については今後検討したい。

b) 心臓: 心筋組織における小細菌集落は常に心筋間質組織に出現していたことから、それは間質の毛細血管に到達した細菌に由来しているものといえよう。心筋組織では他の臓器に先行して細菌集落認められ、かつ、その規模ははるかに大きかった。その原因は次のように考えられる。つまり、細菌は鰓の感染病巣から背大動脈を通じて内臓諸器官に一樣に転移するが、肝臓、脾臓、腎臓では組織内に発達した細網内皮系の細胞⁹⁾により捕食されてしまう。木菌はそうした細胞中で増殖する能力をもっているようであるが、感染後間もない体力の衰えていない宿主では細菌は細胞中で消化されないまでも増殖は強く抑制されるであろう。また、鰓からこれらの臓器に伝播中に細菌が血液中の食細胞に出会う機会も多いと思われる。これらの条件によって、肝臓、脾臓、腎臓などの臓器では転移感染病巣の成立は遅延すると思われる。しかし、心臓は鰓から短距離にあり、細網内皮系を欠くため細菌は比較的容易に心筋組織に侵入、定着して増殖し、その結果そこに大きな細菌集落が形成されるのではなからうか。また心筋組織の破壊によって感染病巣が心臓に達するようになれば、その感染病巣は重要な敗血病巣になると考えられる。

c) 脾臓: 魚類の発達した英組織は、英動脈から赤脾髄に入る血液量を調整したり、血液を沍過したりする機能を果すとされている⁹⁾。細菌集落が英組織に定着、形成されやすいのは、菌血症あるいはさらに発達して敗血症の経過を通じて、英組織で血液が沍過されるとき、この組織に細菌がひっかり、そして増殖するためと思われる。また、脾髄の赤血球充満は、英組織が細菌集落のため変性壊死に陥り、この組織の血液量調整機能が著しく障害されたために生じたのであろう。そして、この調整機能の障害もまた英組織を通過する細菌の停滞に関与し、前記の集落形成の一助となるであろう。

d) 腎臓: 造血組織の洞における細菌塞栓は、洞内皮細胞に捕食された細菌が消化されずに逆に細胞内で増殖し、その内皮細胞を壊死させ、その細胞を足場にしてさらに増殖することによってできた細菌集落によるところが大きいと思われる。腎臓に細菌集落が多発するのは、造血組織中の洞内皮細胞の優勢な分布⁵⁾⁹⁾によるとと思われる。重篤例では著しい貧血に陥るが、これは細菌集落の増大による造血組織の直接的な崩壊および洞内皮細胞の食菌によって生じた洞内皮細胞封鎖⁹⁾のための鉄代謝の失調¹⁰⁾などによってひきおこされたと考えられる。

II) 感染と発病について

鰓薄板で初発感染が成立し、その初発感染病巣の発展によって細菌が血行性に転移して鰓のより広範囲の部位に感染病巣が多発することについては既に述べた通りである。鰓から出た動脈血が脊大動脈を介して全身に供給されるという魚の血液循環を考えると、鰓に成立した感染病巣がさらに発展して鰓弁動脈を巻き込んで敗血病巣に進展すれば、菌血症が生じることになる。全身に伝播された細菌は、肝臓、脾臓、腎臓などでは組織に発達した細網内皮系の細胞の食菌作用を受けるため、これらの器官では転移病巣は当初は成立しないようである。しかし、細網内皮系を欠く心臓では細菌が定着して感染病巣が成立しやすく、当初から他の器官に見られないほど大きな細菌集落へと発展していた。また、このような心筋組織における感染病巣

は、多くの場合、心筋組織を破壊し、心内膜をも巻き込んで心内腔に達するほどに増大して敗血病巣へと進展していた。鰓および心臓という血液循環の中心的な器官における敗血病巣の成立によって、多量の細菌が継続的にまたは間歇的に血液中に流入するようになれば、血液中の白血球は本菌の産生する白血球融解内毒素⁷⁾の作用を受けて著しく減耗する⁴⁾であろうし、細網内皮系の細胞は食菌の結果、一種の細網内皮系封鎖に陥り、宿主の防禦能力は著しく障害されるようになる。この結果、全身感染が成立して諸器官・組織に転移病巣が多発するようになって病状は重篤な敗血症⁸⁾へと進展する。特に内臓諸器における感染病巣の発達は宿主の生命を脅やかすことになると考えられる。以上のことから、経鰓感染症では鰓の感染病巣を一次敗血病巣、心臓のそれを二次敗血病巣として、菌血症から第二次敗血症⁹⁾へと進展していくと言えよう。そして、経鰓感染では、血液循環の特徴から、内臓諸器官での転移病巣の成立は初発感染病巣の成立後比較的短い時間で生じると考えられる。養殖場で、著明な外徴のみられない病魚では行動に異常がみとめられてから斃死までの時間が短いといわれるのは上述の理由によると思われる。

要 約

- 1) 癩瘡病、すなわち *A. salmonicida* 感染症のなかでも鰓に多数の点状充出血が認められるが顕著な外部病徴を示さない病魚の病理組織学的検討を行なった。
- 2) その結果、この型の病魚は経鰓感染により感染し、鰓の感染病巣と心臓での転移病巣を敗血病巣として、菌血症から第二次敗血症へと進展する病状経過をたどると判断した。

文 献

- 1) K. AKAZAKI (1952): Reticulo-endothelial system. *Acta Patho. Japonica*, 2(3), 113-142.
- 2) 赤崎兼義・綿貫 勤 (1961): 細内系, 最新医学, 16(2), 297-302.
- 3) P. GHITINO (1972): The principal aspects of bacterial fish diseases in Italy. *Symp. zool. Soc. Lond.*, 30, 25-38.
- 4) P. J. GRIFFIN (1954): The nature of bacteria pathogenic to fish. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 83, 241-253.
- 5) 勝沼精蔵 (1918): 血液および組織の白血球について, 日本病理学会会誌, 8(1), 9-25.
- 6) 清野謙次 (1918): 血液および組織白血球, 特に組織球性細胞について, 日本病理学会会誌, 8(1) 1-7.
- 7) G. W. KLONTZ, W. T. YASUTAKE and A. J. ROSS (1966): Bacterial diseases of the salmonidae in the Western United States: pathogenesis of furunculosis in rainbow trout. *Am. J. Vet. Res.*, 27(120), 1455-1460.
- 8) 小林六造 (1940): 敗血症の原因菌と成因について, 日本医事新報, 940, 4-10.
- 9) 尾曾越文亮 (1954): 脾の系統発生, 血液学討議会報告, 7, 1-35.
- 10) 妹尾左知丸 (1961): 細網内皮系, その食食能と鉄代謝機能との関係, 最新医学, 17, 219-223.

Histopathological Studies on the Fulunclosis of Amago—II.

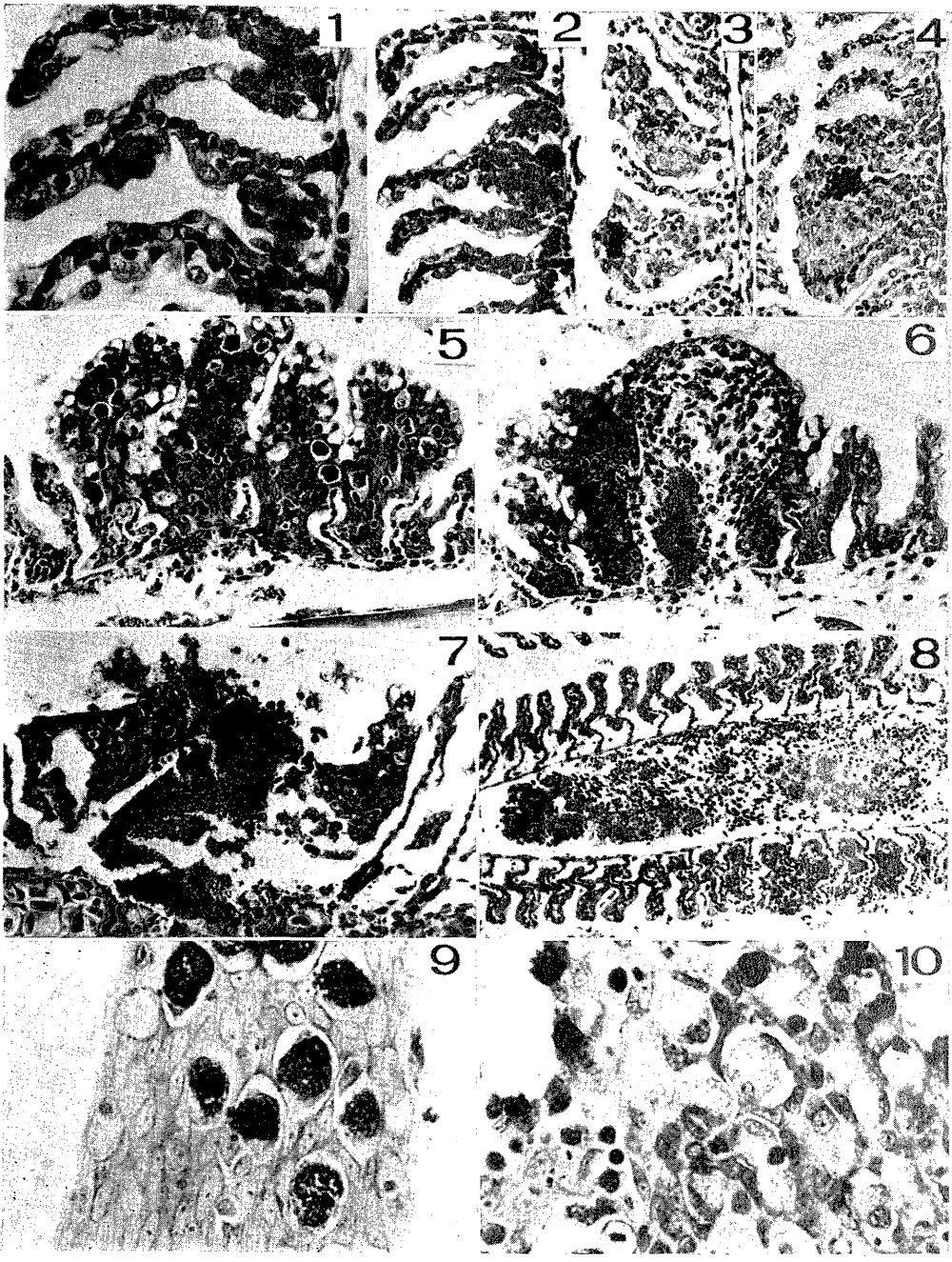
Perbranchial Infection

Teruo MIYAZAKI and Saburoh S. KUBOTA

(Prefectural Univ. of Mie, Fac. of Fish. Tsu, Mie, Japan)

Naturally diseased **amago** (*Oncorhynchus rhodurus* f. *macrostomus*) with no external symptoms other than marked petechiae on the gill and acute death were histopathologically examined. The following histopathological changes were observed. 1) Micro infection in the epithelium of a gill lamella, 2) bacterial embolism in gill lamellae which, causing disturbance in blood circulation as well as the proliferation of branchial epithelial cells, further developed to involve the gill-filamental artery, 3) metastatic lesions in the heart with well developed bacterial colonies, marked tissue destruction and mononuclear infiltration, and 4) metastatic lesions in the liver, the spleen and the kidney with either small or large bacterial colonies and with marked tissue destruction.

From these histopathological observations we concluded that with this type of diseased fish *Aeromonas salmonicida* entered the fish through branchial epithelium. We further suspected that, as an infected lesion in the gill developed into the initial septicemic lesion and a metastatic lesion in the heart into the secondary one, there appeared general dissemination, which later induced the secondary septicemia.



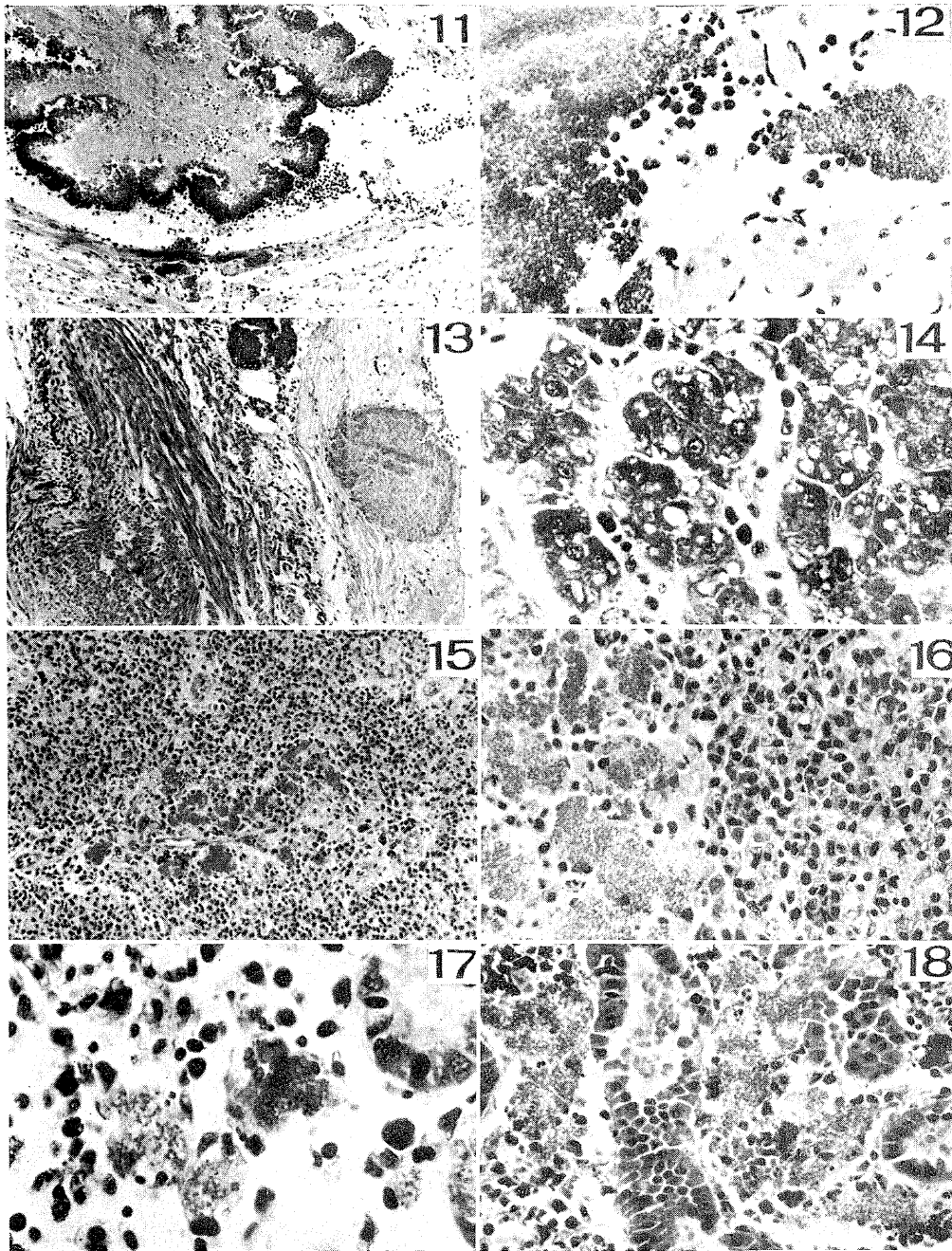


図 の 説 明

- 図 1.** 鰓薄板上皮内に形成された微小細菌集落。HE 染色 ×600。
図 2, 3. 初期の細菌塞栓症の鰓薄板。塞栓症に陥った鰓薄板では上皮細胞は腫大し、塞栓局所で上皮の増生が生じている。HE 染色 ×150。
図 4. 進展した段階の細菌塞栓症の鰓薄板。塞栓局所で漏出性の出血が生じ、塞栓症の鰓薄板は上皮細胞の増生によって、隣接する鰓薄板と癒合している。HE 染色 ×150。
図 5. さらに進展した段階の細菌塞栓症の鰓薄板。顕著に増生した上皮細胞間には、粘液細胞やエオジン好性顆粒をもつ細胞がその数を増加させている。HE 染色 ×200。
図 6. 図 5 に示した感染病巣内の細菌塞栓症に陥った鰓薄板の毛細血管。毛細血管は赤血球を満して著しく拡張し、その中の赤血球は変性している。HE 染色 ×200。
図 7. 鰓弁に侵入拡大した感染病巣。塞栓症の鰓薄板における細菌集落の増大にともなって、それは鰓弁動脈を巻き込んで、角鰓軟骨の一部へ侵入している。HE 染色 ×200。
図 8. 細菌塞栓症の鰓弁動脈。動脈内に細菌塞栓が生じ、動脈は赤血球を満して拡張するとともに鰓弁上皮には水腫が生じている。HE 染色 ×50。
図 9. エオジン好性顆粒を含む細胞。細胞内顆粒はエオジン好性に染っている。エオジン・オレンジ G・トルイジン青染色 ×1000。
図 10. エオジン好性顆粒を含む細胞。細胞内顆粒は反応陰性である。好塩基性の細胞質は細胞の一辺に偏在している。PAS 反応 ×1000。
図 11. 心室に形成された転移感染病巣。大きく増大した細菌集落は心筋と心内膜を破壊して内腔内に突き出ている。画面の下半分を占める心筋組織の間結合織には小さな細菌集落が出現している。HE 染色 ×50。
図 12. 心筋組織に形成された感染病巣。細菌集落に圍繞された心筋は変性壊死し、集落周囲の生活組織内には大単核細胞浸潤が生じている。HE 染色 ×400。
図 13. 動脈球の外膜および中膜に形成された大きな細菌集落。HE 染色 ×150。
図 14. 重篤例の肝臓。類洞は虚血的になり、その中では大単核細胞の浸潤集合が著しい。HE 染色 ×600。
図 15. 感染脾。莢組織に多数の細菌集落が出現し、脾髄には多量の赤血球が集積している。HE 染色 ×100。
図 16. 感染脾。莢組織に大小いくつもの細菌集落が形成され、組織は変性壊死して崩壊している。HE 染色 ×400。
図 17. 初期の感染腎。静脈洞内皮細胞が細菌を貪食している。パッヘンハイム二重染色 ×600。
図 18. 重篤な状態の感染腎。尿細管および造血組織は細菌の侵入増殖によって変性壊死に陥り、崩壊している。HE 染色 ×400。

Legends for Figures

- Fig. 1.** A minute bacterial colony formed in the epithelium of a gill lamella.
Fig. 2. Early stage of bacterial embolism in a gill lamella showing hypertrophy of epithelial cells and local epithelial hyperplasia.
Fig. 3. Early stage of bacterial embolism formed in two gill lamellae.
Fig. 4. An advanced stage of bacterial embolism in a gill lamella showing local hemorrhage and fusion of three adjacent lamellae resulting from marked proliferation of epithelial cells.
Fig. 5. A more advanced stage of bacterial embolism. Proliferation of mucous cells and eosinophilic granule cells was prominent in addition to that of epithelial cells and fusion of lamellae.
Fig. 6. A capillary, conspicuously engorged with blood, where a bacterial embolus was formed, as seen in the lesion shown in Fig. 5.
Fig. 7. An enlarged lesion in the gill filament. As bacterial cells multiplied in a lesion of a gill lamella, well developed bacterial colony involved gill-filamentary artery, penetrating locally through the cartilaginous shaft, and the gill-filamentary epithelium was locally destroyed.
Fig. 8. Bacterial embolism in the gill filament with marked vascular dilatation and epithelial edema.
Fig. 9. Eosinophilic granule cells among proliferated epithelial cells.
Fig. 10. Eosinophilic granule cells, whose intracellular granules were negative in PAS reaction.

- Fig. 11. A large bacterial colony in a lesion formed in the myocardium, destroying the cardiac muscle and the endocardium and penetrating through the lumen. Small bacterial colonies appeared in the interstitial tissue of the myocardium at the lower part of this picture.
- Fig. 12. Infiltration of mononuclear cells, where a few mytotic cells were seen, in a lesion formed in the myocardium.
- Fig. 13. Two bacterial colonies formed in the tunica adventitia and tunica media of the bulbus arteriosus.
- Fig. 14. Infiltrative proliferation of mononuclear cells in the hepatic sinusoids.
- Fig. 15. An infected spleen, where many bacterial colonies were formed in the sheathed tissue of the sheathed artery and erythrocytes concentrated heavily in the splenic pulp.
- Fig. 16. An infected sheathed tissue of the spleen markedly destroyed by heavy bacterial multiplication.
- Fig. 17. Endothelial cells lining sinuses of the kindey hematopoietic tissue and devouring bacterial cells into their cytoplasm. A few of them were detached from their basement membrane and were destroyed by the intracellular multiplication of bacterial cells.
- Fig. 18. An infected kidney where a large number of bacterial cells attacked renal tubules and hematopoietic tissue and severely destroyed them.