

# ニホンウナギのビブリオ病の病理組織学的研究—I. 自然感染

宮崎照雄\*・城 泰彦\*\*・窪田三朗\*・江草周三\*\*\*

(昭和 52 年 7 月 27 日受理)

## Histopathological Studies on Vibriosis of the Japanese Eel (*Anguilla japonica*)—I. Natural Infection

Teruo MIYAZAKI, Yasuhiko JO, Saburoh S. KUBOTA and Syuzo EGUSA

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

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

\*\*\**Fac. Agri., Tokyo Univ., Bunkyo-ku, Tokyo, Japan*

(Received July 27, 1977)

New vibriosis of the Japanese eel broke out in Tokushima prefecture in 1975. MUROGA *et al.* (1976) reported that the causative bacterium had characteristics resembling those of *V. anguillicida* (BRUUN, 1932). The present authors histopathologically observed this vibriosis. A small red patch in early stages or a swollen lesion exhibiting hemorrhage and cutaneous necrosis in advanced cases was observed in the trunk or tail of the diseased fish. Internal gross symptoms of the advanced cases were congested liver, swollen spleen with dark-red coloration, reddish intestine with epithelial desquamation, softened kidney and vascular dilatation of the viscera.

Histopathological observation defined that a main lesion was an infected lesion involved skin and lateral musculature. In the early lesion the bacterium penetrated the dermis, subcutaneous adipose tissue and red musculature and in the advanced cases they spread moreover myoseptum and lateral musculature. The lesion showed necrosis of the affected tissue, extensive vascular dilatation, serous exudation and hemorrhages. Epithelial slough from the edematous, hemorrhagic dermis was also accompanied in the affected skin. In particular in the advanced cases necrosis, circulatory derangements and bacterial multiplication became more intensive and extensive. The advanced cases underwent systemic infection. Metastatic lesions showing necrosis and circulatory derangements were observed in the spleen, liver, kidney, heart, gills and intestine which was particularly followed by desquamative catarrh.

ヨーロッパ産ウナギのビブリオ病は過去に, salzwasser aalrotseuche (SCHÄPERCLAUS 19217, 1934) または red disease (BRUUN *et al.* 1932) として報告された。SCHÄPERCLAUS (1927, 1934) によると aalrotsenche は主に秋に流行し, 外部病変として腹部や体側部に発赤斑, 膨隆または潰瘍病巣, 鱗赤症状が認められ, その病原菌は *Vibrio anguillarum* とされた。BRUUN *et al.* (1932) によると red disease は主に夏に流行し, 尾部, 脊鰭や尻鰭の基部の発赤, 肛門周囲の発赤, 体表の擦過

症様病変, 腸管の発赤, 肝うっ血, 軀幹筋組織内出血などの変化が指摘されている。また原因菌は, *V. anguillicida* として報告された。

徳島県下でニホンウナギに発生したビブリオ病が室賀ら (1976) によって報告されたが, 彼らはその病原菌の生化学的性状が, BRUUN *et al.* (1932) が報告した *V. anguillicida* のそれとほぼ一致すると述べている。本報ではそのビブリオ病の病理組織学的所見を報告する。

### 材料および方法

供試材料は, 1975 年夏に徳島県下の養殖場から入手した罹病魚 12 尾 (体重約 30~100 g) で, いずれも体表

\* 三重大学水産学部

\*\* 徳島県水産試験場

\*\*\* 東京大学農学部

に発赤を伴う糜爛性または膨隆性病巣を発現していた。体表患部および内臓諸器官をブアン液で固定後、常法に従ってパラフィン切片を作成した。染色は HE 染色, ギムザ染色, PAS 反応, アザン染色を目的に応じて施した。

## 結 果

### 肉眼的所見

病魚の軀幹部または尾部の任意の部位に 1~2 個の病巣が形成されていた。病巣は発赤斑あるいは皮膚壊死, 皮下および皮下出血を伴う膨隆性病巣であった(図 1)。大きな病巣をもつ症例では体色が白化し, 鰭赤症状を現わすことが多かった。剖検的には, 大きな感染病巣をもつ症例において, 著しい肝うっ血, 脾腫, 腎臓の暗赤色化と軟化, 腸管の発赤とカタルがみられた。

### 病理組織学的所見

病巣の各組織器官の総合的な検討の結果, 皮膚から体側筋組織に広がった感染病巣が原発病巣であり, その病巣拡大に伴って菌血症から全身感染に至ると考えられた。

#### 1) 原発病巣

皮膚および体側筋組織を巻き込んだ原発病巣の初期変化は, 真皮, 皮下脂肪組織, 血合筋組織の表層域に及ぶ細菌の伝播と冒された組織の循環障害を伴う変性, 壊死であった(図 2)。細菌増殖は特に真皮疎結合織層と皮下

脂肪織に著しく, その静脈や毛細血管のうっ血, 組織の水腫性疎開, 軽度の出血と組織のび漫的な壊死がみられた。また壊死した真皮の上部の表皮は剥落していた(図 2)。

拡大した病巣では細菌が, 真皮, 皮下脂肪織, 血合筋組織に広く伝播するとともに, 幾つかの筋隔膜内に侵入, 増殖していた(図 3)。病巣中心域の表皮は基底膜を残して剥離していた。露呈した真皮の疎結合織層は広範囲にわたって水腫性疎開, 出血, 壊死を起し, 密結合織層は硝子化し, 局所的に壊死していた。皮下脂肪織では細菌は赤血球を満して拡張した動脈や静脈の血管壁で特に著しく増殖し, 組織は出血や著しい水腫を伴って壊死していた。血合筋組織に侵入した細菌は筋内膜で増殖し, そこに分布する毛細血管は充うっ血や出血を起し, 組織は水腫性疎開を示していた。筋内膜を冒された血合筋線維は核の中心移行, 横断裂, 凝固壊死を示し, さらに細菌の侵入を受けた筋線維は部分的な融解壊死に陥っていた。この組織には少数の大単核細胞と好中球がみられた(図 4)。筋隔膜における細菌の増殖は著しく, 組織はび漫的に壊死して, その膠原線維は膨化融解を示していた。筋隔膜に分布する体節動脈や体節静脈の血管壁で特に細菌増殖が著しく, 血管壁は出血を伴って壊死し, 血管腔内の血液中には多数の細菌が侵入していた(図 5)。細菌増殖が著しい筋隔膜に隣接する体側筋組織へも細菌の伝播がみられた。病巣辺縁では, 真皮の疎結

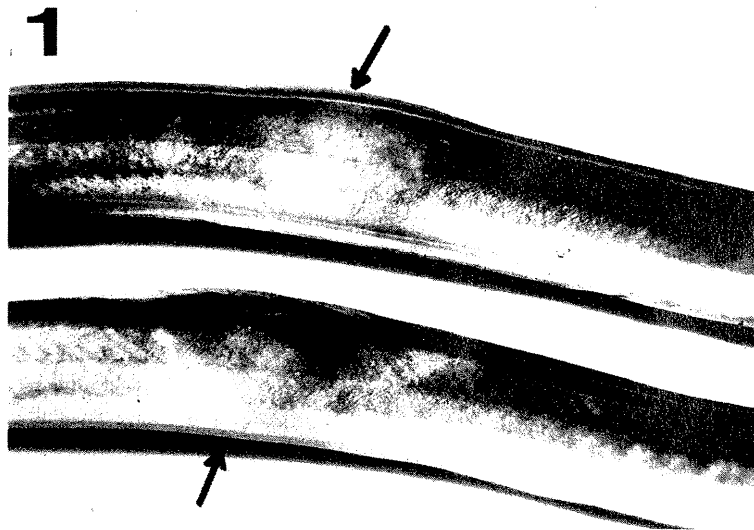


図 1. 膨隆性病巣 (矢印) を示す病魚。

Fig. 1. Diseased eels exhibiting large swollen lesions (arrows) with hemorrhage and cutaneous necrosis in the trunk.

合織層と皮下脂肪織を伝った細菌の側方伝播がみられた。以上示したように、筋隔膜に分布する太い血管を巻き込んだこの拡大病巣は敗血病巣となる。以下、この段階の感染病巣をもつ症例を全身感染期とする。

真皮および皮下脂肪織を伝っての細菌の側方伝播と筋隔膜を伝っての体側筋組織深部への細菌の伝播によって、広範囲の体側筋組織を巻き込んだ大きな感染病巣も観察された(図 8)。この感染病巣は肉眼的には大きな膨隆病巣として認められた。病巣の中心域では真皮の密結合織が露呈し、細菌が組織内にび散的に広がり膠原線維は細裂していた。この壊死した真皮は、著しい細菌増殖のため広範囲にわたって壊死に陥った脂肪織から剝離していることが多かった。血合筋組織の広範囲にわたって細菌が伝播して増殖し、筋線維が横断裂、細裂、膨化、顆粒状崩壊、軟化融解から消失を示す壊死に陥っていた。間質結合織に溢血した赤血球の多くは脱核して顆粒状に崩壊していた。筋隔膜への細菌伝播は著しく、腹部の病巣では腹膜に達することもあった。筋隔膜に分布する数多くの血管の壁に多数の細菌が侵入して増殖し、細菌が壊死した血管壁から血液内に侵入していた。広範囲の体側筋組織にも細菌が伝播し、間質結合織に水腫、出血が起こり、筋線維は横断裂、細裂、顆粒状崩壊、凝固壊死、軟化融解に陥っていた(図 5)。筋組織の壊死が著しい症例では、病巣中央部の血合筋組織と体側筋組織が壊死崩壊し、崩壊した筋線維の細片におきかわっていた。上述の病理組織像を示す感染病巣をもった症例を重篤例とする。

## 2) 初期段階の病巣の内臓諸器官

本病では脾臓に細菌が現われやすく、初期段階から莢組織に少数の細菌が伝播していた。脾髄はうっ血し、脾髄のリンパ球は太い脾静脈や脾動脈の周囲に集中していた。脾髄の細網組織は軽度の壊死に陥っていた。腸管の粘膜固有層には脾臓に次いで細菌がよく現われ、初期には大腸の粘膜固有層の毛細血管の周囲にわずかながら細菌が認められることもあった。初期の肝臓では類洞はうっ血気味となっていたが、肝細胞は豊富に糖原を貯蔵していた。

他の内臓諸器官への細菌伝播はみとめられなかった。

## 3) 全身感染段階の病魚の内臓諸器官

脾臓では、細菌は莢組織内や脾髄にび散的に伝播していた。その莢組織は基質の線維の断裂、融解を示す壊死に陥っていた。脾髄でうっ血がより顕著となり、基質の細網線維網工は著しく拡張するとともに断裂し、細網細胞は壊死していた。脾髄内のリンパ球の全てが消失して

いた。

腸管では大腸の粘膜固有層のうっ血した毛細血管の周囲に細菌が集落をつくって増殖し、結合織は水腫性疎開や局所的な壊死を示していた。粘膜固有層に細菌が伝播増殖した絨毛の粘膜上皮は基底膜から剝離していた(図 7)。また筋肉層や漿膜の細血管の周囲組織にも少数の細菌の伝播がみられた。小腸から直腸における細菌伝播は軽微であった。

肝臓ではかなりの数の細菌が類洞内に伝播し、類洞は肝全体にわたってうっ血を呈していた。類洞と肝細胞索との間に水腫が起こり、肝細胞索の配列は乱れ、肝細胞の大半は糖原を失なって軽度に萎縮していた。

腎臓では糸球体毛細管に細菌が伝播し、糸球体内皮は細胞単位に壊死を呈していた。尿管上皮は軽度の混濁腫脹に陥っていた。造血組織内にはかなりの数の細菌が侵入し、細胞単位の壊死と局所的な基質の線維網工の断裂、拡張がみられた。類洞の細網内皮細胞は細胞単位の壊死に陥っていることが多いが、活性腫大しているものもあった。しかしそれらの細胞の食菌像はみられなかった。

心臓では心室心外膜や動脈球外膜に分布する血管周囲に細菌が伝播していたが、心筋組織や心腔内の細菌数は僅少であった。鰓ではかなりの数の細菌が鰓薄板毛細血管の基底膜に侵入し、毛細血管は赤血球を満して拡張し、鰓薄板上皮は局所的に浮腫化していた。

胃、膀胱、鰓と気道などでは、分布する血管の周囲組織に少数の細菌の伝播がみられた。

## 4) 重篤例の内臓諸器官

重篤例の内臓諸器官は剖検時に、組織の軟化融解を伴う激しい脾腫、著しい肝うっ血、腸管全体に及ぶ剝離性カタル、腎臓の軟化、鰓の鰓弁膨化などを示していた。

脾臓では細菌が脾臓全体に伝播し、莢組織と脾髄は広範囲にわたって壊死に陥り、脾髄には激しい出血が起こっていた。出血が激しい場合には、血海となっていた(図 9)。腸管では大腸から直腸にわたって、その絨毛の粘膜固有層、粘膜下織、筋肉層に細菌が伝播していた。粘膜固有層での細菌増殖、血管の充うっ血、組織の水腫性疎開と壊死、出血そして粘膜上皮の剝離はより著しくなり、剝離や壊死した粘膜上皮が腸管腔を塞いでいた(図 8)。

肝臓では類洞のうっ血と肝細胞萎縮はより高度となり、細菌は類洞内や肝動脈、肝門脈、肝静脈の血管壁で多数増殖していた(図 10)。局所的にび漫性の出血が起こり、そこでは肝細胞は索構造を失って個々にばらばら

になり赤血球とともに混在していた。腎臓では糸球体毛細血管に細菌塞栓が多発し、その糸球体は局所的に上皮や内皮の剝離、基底膜の膨化融解を起こしていた。細菌は造血組織内にび散的に伝播し、組織は出血、基質の線維網工の断裂を伴った壊死に陥っていた。類洞の細網内皮も壊死していた。漿膜の細血管の周囲、腎門脈や腎動脈の血管壁にかなりの数の細菌が侵入し、それらの血管は赤血球を満して拡張するとともに血管腔内に多数の細菌がみられた。

心臓では心外膜や動脈球外膜に分布する細血管の拡張とその血管壁での細菌増殖はより著しくなっていた。心筋組織内に微小な細菌集落が現われ、心腔内の血液にも多数の細菌がみられた。鰻では、鰻薄板毛細血管の基底膜への細菌の伝播、毛細血管の赤血球を満しての拡張、鰻弁と鰻薄板の上皮の浮腫による剝離はより著しくなり、広範囲に及んでいた(図 11)。

胃、気道、鰻、脾臓では、そこに分布する細血管の血管壁への細菌伝播はより広範囲に及んでいた。

## 考 察

本病の原発病巣は、皮膚から体側筋組織を巻き込んだ感染病巣であった。病理組織学的観察の結果から次の病状の発展経過が考えられた。まず、表皮の外傷などから侵入した細菌が真皮の疎結合織で増殖し、その後皮下脂肪織に伝播する。この初期段階の病巣において真皮や皮下脂肪織の血液を満して拡張した細静脈や毛細血管の血管壁およびその周囲組織に細菌が増殖していた。この初期段階の病巣をもつ症例の脾臓や腸管に少数の細菌が伝播していた。脾臓の莢組織は血液を沓過する働きがあり、ここに細菌がみられたことは、この段階で菌血症が起こっていることを示すものと言えよう。

その後、真皮の疎結合織層を伝っての細菌の側方伝播と筋隔膜を伝っての深部への細菌伝播によって病巣が拡大する。この病巣では筋隔膜に分布する太い血管の壁で増殖した細菌が多数、血管内の血液中に侵入して、病巣は敗血病巣へと進展していた。この敗血病巣をもつ症例では全身的に転移病巣が現われ、全身感染症に陥っていた。全身感染が著しい重篤期の症例の転移病巣では、組織壊死と血行障害が著しく、炎症性細胞反応は極めて乏しかった。この事実から全身感染が著しい重篤例は敗血症に陥っていると考えられた。

原発病巣および内臓の伝播病巣では、組織の壊死、血管の拡張、漿液滲出、出血が主体となり、白血球反応は極めて乏しかった。この事実から、本病の炎症反応は、

漿液性——出血性——組織壊死性炎と判断された。前述のように、原発病巣において血行障害を起こした血管の壁での細菌増殖と細菌の血液内侵入が、菌血症から全身感染症、さらに敗血症を招来していた。また転移病巣において、細菌が血行障害を起こした血管の壁に侵入し、その周囲組織に広がっていた。病巣における血行障害が血液伝播した細菌の組織内への侵入を助けるのか、または血管壁での細菌増殖による血管壊死が血行障害を助長するのかどうかについては本研究では確認できなかった。しかし、本症において血行障害と細菌伝播は重要な関係にあるのが特徴的であった。細菌の感染病巣における組織の変性壊死と血行障害の発現、炎症性細胞反応の弱いことは、ヨーロッパ産ウナギ (SCHÄPERCLAUS 1927) やニジマス (内田 1961, 保科 1968, McCARTHY *et al.* 1974), アユ (舟橋ら 1974) の *Vibrio anguillarum* 感染症や、ヨーロッパ産ウナギの *Vibrio sp.* 感染症 (McCARTHY 1976), ハマチのビブリオ病 (窪田・1963, 楠田 1965, 木村 1968) などでも認められている。以上のことから上記の変化はビブリオ属の細菌感染症の主要な発現形と考えられた。

ビブリオ病のもう一つの主要な病変に剝離性カタル性腸炎が報告されている。本病における腸炎は主に粘膜固有層への細菌の伝播増殖とそれによる充うっ血、水腫、壊死および粘膜上皮の剝離で特徴づけられた。しかし重篤例で激しい腸炎を起した区域の絨毛のなかには、その粘膜固有層への細菌伝播がない状態で、固有層に充うっ血と水腫性疎開、粘膜上皮の剝離がみられた。ニジマスの *V. anguillarum* 感染症における剝離性カタル性腸炎は、細菌の粗毒素接種によって再現できるとされている (内田 1961)。上述の事実から、本病の剝離性カタル性腸炎の発現は、主として絨毛の粘膜固有層への細菌の伝播による直接的な組織の傷害によるが、細菌粗毒素の関与の可能性も考えられた。なお、本菌の粗毒素と病変の発現との関係は、今後検討したい。

## 謝 辞

本研究をすすめる・あたり、有益な参考文献を貸与下された広島大学水畜産学部の室賀清邦博士に深謝する。

## 要 約

1. 徳島県下の養殖場で発生したニホンウナギのビブリオ病を病理組織学的に観察した。
2. 本病の主要病巣は、皮膚から体側筋組織を巻き込んだ感染病巣であった。その病変は漿液性——出血性

—組織壊死性炎で特徴づけられた。

3. 全身感染症の症例では、脾臓、肝臓、腎臓、腸管などに転移病巣が頻発していた。これら転移病巣における変化は、血行障害を伴う組織壊死であった。

#### 文 献

- BRUUN, A. and B. HEIBERG (1932): 'The red disease' of the eel in Danish waters. Meddelelser fra Kommissionen for Danmarks Fiskeri og Havundersøelser. *Serie. Fiskeri*. IX(6), 1-19.
- 舟橋紀男・宮崎照雄・小寺和郎・窪田三朗 (1974): アユのビブリオ病の病理組織学的研究. 本誌, 8 (2), 136-143.
- 保科利一 (1968): 淡水魚類の細菌性疾病, 日水誌, 34 (3), 226-239.
- 木村正雄 (1968): 海産養殖魚とくにブリの疾病に関する基礎的研究. 宮崎大学農学部研究時報, 15 (2), 81-175.
- 窪田三朗・高桑三朗 (1963): 海産養殖魚の疾病に関する研究—I. 三重県下に発生している魚病の概要と予備的考察. 三重県立大学水産学部紀要, 6 (1), 107-124.
- 楠田理一 (1965): 海産魚の潰瘍病に関する研究. 京都府水産試験場業績, 25, 1-116.
- McCARTHY, D. H., J. P. STEVENSON and M. S. ROBERT (1974): Vibriosis in rainbow trout. *J. Wildl. Dis.*, 10, 2-7.
- McCARTHY, D. H. (1976): Vibrio disease in eel. *J. Fish Biol.*, 8(4), 317-320.
- 室賀清邦・城 泰彦・西淵光昭 (1976): 養殖ウナギから分離された病原性 *Vibrio*—I. 性状と分類学的位置. 本誌, 11 (3), 141-146.
- SCHÄPERCLAUS, W., (1927): Die Rotseuche des Aales im Bezirk von Rügen und Stralsund. *Zeit. Fisch.*, 25, 99-128.
- (1934): Untersuchungen über die Aalreuchen in deutschen Binnen und Küstengewässern 1930-1933. *Zeit. Fisch.*, 32, 191-217.
- 内田達次 (1961): 鱧のビブリオ病に関する実験的研究. *Konan's Technical Bulletin* 上. 甲南工業株式会社, 1-43.

## 図 の 説 明

- 図 2. 皮膚から皮下脂肪織を巻き込んだ初期感染病巣。ギムザ染色。×160  
 図 3. 皮膚から血合筋組織を巻き込んだ拡大病巣。HE 染色。×50  
 図 4. 図3に示した病巣の血合筋組織の拡大図。ギムザ染色。×200  
 図 5. 図3に示した病巣の筋隔膜に分布する体節静脈の拡大図。ギムザ染色。×200  
 図 6. 皮膚から体側筋組織の深層域を巻き込んだ大きな感染病巣。冒された組織の壊死, 血行障害が著しい。HE 染色, ×20  
 図 7. 感染初期例の腸絨毛の転移病巣。矢印は, 赤血球を満して拡張した血管の周囲に現われた細菌集落を示す。ギムザ染色。×160  
 図 8. 重篤例の著しい剝離性カタル性腸炎。アザン染色, ×50  
 図 9. 重篤例の感染脾。血海状態になっている。ギムザ染色。×320  
 図 10. 重篤例の感染肝。肝細胞萎縮, 出血を伴う類洞のうっ血が著しい。V: 肝静脈, ギムザ染色。×160  
 図 11. 重篤例の感染鰓。鰓薄板毛細血管の拡張。鰓薄板と鰓弁の上皮の剝離が著しい。HE 染色。×100

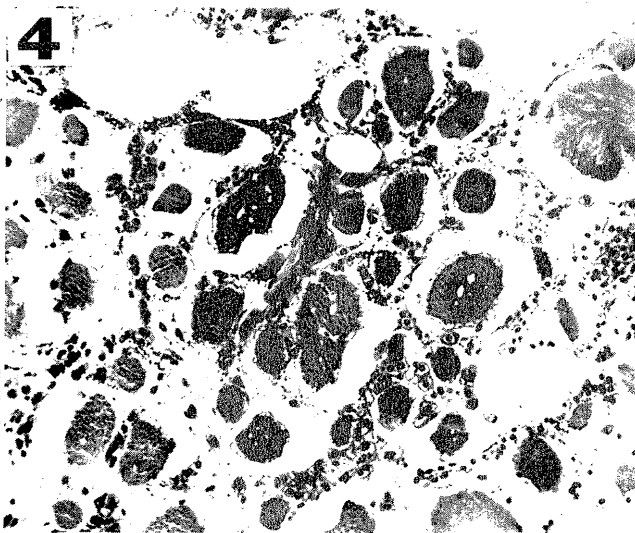
## Explanation of Figures

- Fig. 2.** Skin in a central area of an early lesion formed in the trunk. Bacteria spread in the dermis and subcutaneous adipose tissue. Epithelial slough from the dermis showing edematous dissociation, hemorrhage and necrosis is observed. Hemorrhaged and necrotized adipose tissue is also seen. Giemsa stain, ×160.
- Fig. 3.** A low power view of a central area of an advanced lesion formed in the trunk. Bacteria spread from dermis to red musculature. Epithelial slough, necrosis of affected tissue, vascular dilatation serous exudation and hemorrhages are observed. HE stain, ×50.
- Fig. 4.** A detail of the affected red musculature. Bacteria multiply in the interstitial tissue. The interstitial tissue undergoes vascular dilatation and hemorrhage and muscle fibers show atrophy and necrosis. Giemsa stain, ×200.
- Fig. 5.** A detail of a vein in the myoseptum. Bacteria markedly multiply in the vascular wall. A vascular involvement accompanied by necrosis and hemorrhage shows the bacterial dissemination into the blood. Giemsa stain, ×200.
- Fig. 6.** A low power view of an extended lesion observed in a moribund fish. Bacteria extensively penetrate the lateral musculature. Necrosis, vascular dilatation, serous exudation, hemorrhages in the involved tissue become more extensive and intensive. HE stain, ×20.
- Fig. 7 to 11 show metastatic lesions of the fish with systemic infection.
- Fig. 7.** A metastatic lesion in a villus of the intestine. Bacterial colonies (arrows) are formed beside venules engorged with blood. Epithelial desquamation and necrosis of the tunica propria are observed. Giemsa stain, ×160.
- Fig. 8.** A low power view of the intestine showing desquamative catarrh. Metastatic lesion are caused in a large number of villi. Azan stain, ×50.
- Fig. 9.** Infected spleen. Bacteria spread to the sheathed tissue and the splenic pulp undergoes necrosis followed by marked hemorrhage. Giemsa stain, ×320.
- Fig. 10.** Infected liver. Bacteria penetrate extensively vascular walls (V) and sinusoids. Sinusoidal dilatation followed by focal hemorrhages and hepatic-cell atrophy are marked. Giemsa stain, ×160.
- Fig. 11.** Infected gill. Bacteria invade the basal membrane of lamellae and connective tissue of filaments. Marked capillary-dilatation and edema lifting extensively filamental and lamellar epithelia are seen. HE stain, ×100.

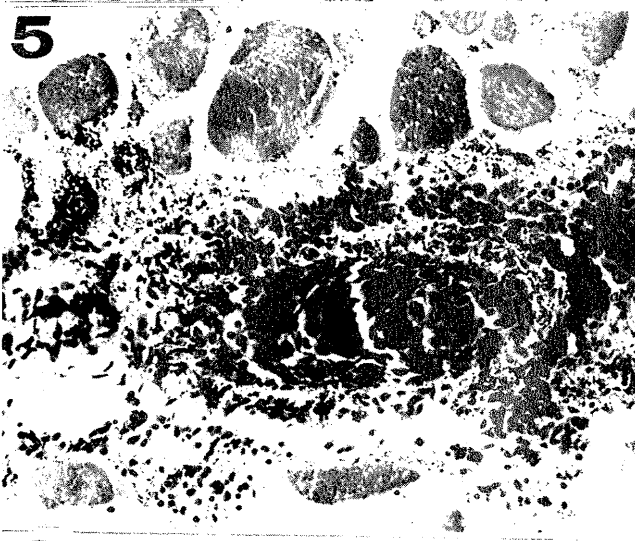
2



4



5



3



6



