

ニシキゴイの滑走細菌性あなあき病の
病理組織学的研究—Ⅱ
治癒段階の潰瘍病巣

宮崎照雄・窪田三朗・江草周三*
三重大学水産学部

Histopathological Studies of Gliding-bacterial Ulcer Disease
of the Color Carp (*Cyprinus carpio*)—Ⅱ
Healing Ulcerative Lesions in the Body Surface

Teruo MIYAZAKI, Saburoh S. KUBOTA and Syuzo EGUSA
Faculty of Fisheries, Mie University

三重大学水産学部研究報告

第3号別刷

Reprinted from
Bulletin of the Faculty of Fisheries, Mie University
No. 3, November 1, 1976

ニシキゴイの滑走細菌性あなあき病の
病理組織学的研究—Ⅱ
治癒段階の潰瘍病巣

宮崎照雄・窪田三朗・江草周三*
三重大学水産学部

Histopathological Studies of Gliding-bacterial Ulcer Disease
of the Color Carp (*Cyprinus carpio*)—Ⅱ
Healing Ulcerative Lesions in the Body Surface

Teruo MIYAZAKI, Saburoh S. KUBOTA and Syuzo EGUSA
Faculty of Fisheries, Mie University

Two carps with naturally healing ulcers in the body surface were obtained from among the diseased fish suffering from a gliding bacterial infection, and we have made a histopathological observation on their lesions. In the earlier stage of healing ulcers excavating the lateral musculature, the mesh-shaped, thin regenerating epithelium migrated and covered the fibrin meshwork precipitated on the affected lateral musculature. And in the affected musculature a large number of inflammatory cells infiltrated and phagocytized the necrotized tissues and there were no bacteria. In the far progressing stage of the healing ulcers the regenerating epithelium became thicker and beneath it the highly vascularized, granulation tissue was newly formed and it replaced inflammatory exudates and necrotized matters of the musculature.

From the histopathological observation, we have concluded that covering of the ulcer surface with the regenerating epithelium and the precipitated, fibrin meshwork, and organization by the newly formed, granulation tissue play an important role to heal the ulcerative lesions.

我々は第1報において(宮崎ら1976),あなあき病罹病魚の進行過程にある潰瘍病巣を病理組織学的に検討し,そこに滑走細菌をはじめ幾種かの細菌が関与しているのをみた。さらに我々は,進

*東京大学農学部 (Faculty of Agriculture, Tokyo University)

行過程ある潰瘍病巣をもつ病魚群と同一群に属する2尾の病魚において自然治癒の段階にある潰瘍病巣を認め、それらの病理組織学的検討を行なった。その結果、治癒段階にある潰瘍病巣において侵入してくる細菌などに対する排除機構を認めた。以下その詳細について報告する。

材料および方法

第1報で報告した進行過程にある潰瘍病巣をもつ病魚群と同一群に属する2尾の病魚の治癒段階にある4個の潰瘍病巣を調べた。病巣患部から細菌分離後、病巣組織および内臓諸器官をヘリー液、ブァン液または10%ホルマリン水で固定し常法に従って4~6 μ のパラフィン切片を作成した。染色はHE染色、ギムザ染色、アザン染色、PAS反応、ワン・ギーソン染色、ワイゲルト線維素染色、好銀線維素染色を目的に応じて施した。

結 果

肉眼的所見

治癒過程にある潰瘍病巣では、進行過程にある潰瘍病巣の表面がただれて組織の壊死が顕著であるのに対して、病巣から細菌は分離されず、その中心域は赤い肉色を呈し、辺縁域は白色を呈しかつその表面は比較的平滑で光沢をもっていた。

病理組織学的所見

治癒過程にある潰瘍病巣の表面は再生表皮に被われていたが、これは正常な表皮とは異った構造を呈していた。まざロイの正常な表皮は基底膜の上に円柱形基底細胞が一層に並び、その上の表皮中層域に棍棒状細胞が重層を成して不規則に散在し、表層には粘液細胞が散在しており、この棍棒状細胞や粘液細胞の間を埋めるようにして多面体上皮細胞が基底細胞層のすぐ上から表層にかけて分布する、という構造を呈している (Fig. 1)。しかし、治癒過程の初期段階にある潰瘍病巣 (Fig. 2) においては次のような変化が見られた。まず潰瘍病巣の周辺域のうち比較的遠位にある表皮は正常に近い構造を保っていたが、潰瘍病巣に近づくにつれ、表皮内の棍棒状細胞は著しく減少して表皮はほとんど多面体上皮細胞から構成されるに至っていた。潰瘍病巣との境界域の表皮においては、基底細胞はその細胞質が好塩基的となり核も増大して、腫大するとともに局所的に複層化していた。また上皮細胞も高度に増生して表皮は著しく肥厚していたが、その中には棍棒状細胞は全くなく、少数の粘液細胞が散在するにすぎず、基底細胞層の上部には小円形細胞の浸潤も起こっていた (Fig. 3)。次いで、真皮が巻き込まれた潰瘍局所においては、表皮の基底細胞はその細胞質の好塩基性を増すようになり、同じく突起を出して星形を呈した上皮細胞とからみ合っていた。表皮中層域はこの突起をもった上皮細胞が互いに突起をからみ合わせて分布しており、高度に疎化していた。この部位には小円形細胞の浸潤も起こっていた。他方、表皮の表層域では粘液細胞の増生も起こり、多面体上皮細胞が比較的密に集合すると共にその表面は乳頭状に突出していた (Fig. 4)。表皮の下にある真皮の疎結合織をつくる膠原線維は類線維素変性に陥り、そこに分布する血管は著しく拡張し大単核細胞の浸潤繁殖も見られた (Fig. 5)。潰瘍局所の変性した鱗の周囲には破骨細胞とよく似た多核巨細胞が出現し、一部は鱗の中に侵入して鱗を吞食していた (Fig. 6)。潰瘍によって切断された真皮の密結合織は類線維素変性に陥り、そこに分布する血管は赤血球を満して拡張していた。体側筋組織を巻き込んだ潰瘍病巣の中心域では、潰瘍表面はその辺縁部に見られたものと同じ構造をもつ再生表皮によって被われていた (Fig. 7)。その下の体側筋組織表層には多量

の線維素が析出していた。体側筋組織内の筋肉は凝固壊死に陥ったままであり、間質の血管は赤血球を満して拡張すると共に間質に漿液の滲出、軽度の出血と大単核細胞の浸潤が起っていた (Fig. 8)。

治癒過程が進んだ潰瘍病巣において、その周辺域の表皮には初期段階のそれのみ以上の変化は見られなかったが、真皮の疎結合織には多くの大単核細胞と線維芽細胞、および少数の好中球を含む新生毛細血管に富む肉芽組織が出現し、類線維素変性に陥った膠原線維は融解消失していた (Fig. 9)。変性した鱗の周囲には多核巨細胞に加えて肉芽腫が出現しそれを圍繞していた (Fig. 10)。潰瘍によって切断された密結合織先端には大単核細胞の浸潤繁殖が起っていた。体側筋組織を巻き込んだ潰瘍の中心域では、潰瘍表面を被う再生表皮の細胞増生が進んで細胞密度は高まり、表皮表層の細胞層は重層扁平化していた (Fig. 11)。体側筋組織表層に現われた線維素層には赤血球を満して拡張した多数の新生毛細血管が伸長し、大単核細胞の著しい浸潤繁殖も生じ、この大単核細胞の侵入を受けた線維素網は断裂して細片化するとともに融解消失していた (Fig. 12)。また、体側筋組織では、筋肉は凝固壊死したままであるが、組織間質に毛細血管の新生が生じ、大単核細胞の浸潤繁殖、線維芽細胞の増生、好銀性網線維や膠原線維の増生も起り、壊死した筋肉内に侵入した大単核細胞は筋肉を吞食していた (Fig. 13)。さらに深層の体側筋組織では筋肉は萎縮し、間質には漿液の滲出、大単核細胞や小円形細胞の浸潤繁殖、線維芽細胞の増生や膠原線維の増加が起っていた (Fig. 14)。

さらに治癒が進んだ段階のものでは、潰瘍表面を被う再生表皮は上皮細胞の増生によってより緻密になり肥厚もしていた。再生表皮の下の体側筋組織表層には赤血球を満した新生毛細血管と大単核細胞に富む肉芽組織が出現して発達し、初期段階に見られた析出線維素や高度の凝固壊死に陥った筋肉は消失してこの肉芽組織に置換していた (Fig. 15, 16)。なお深層の筋肉組織の間質に分布する太い血管の周囲には小円形細胞の浸潤繁殖が目立った。

以上の観察した治癒過程にある潰瘍病巣の全例において、組織学的手法でも細菌の存在は認められなかった。

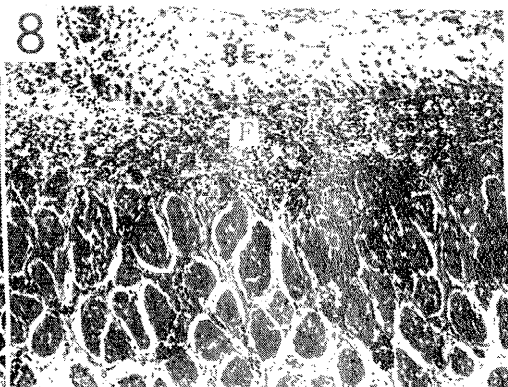
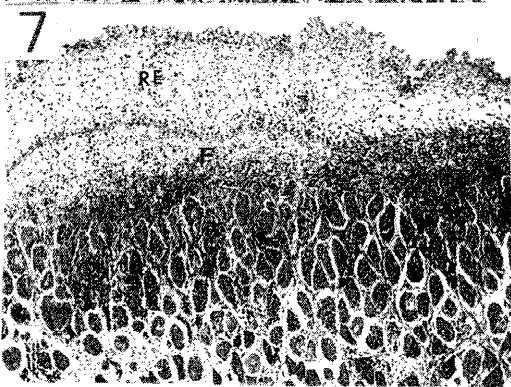
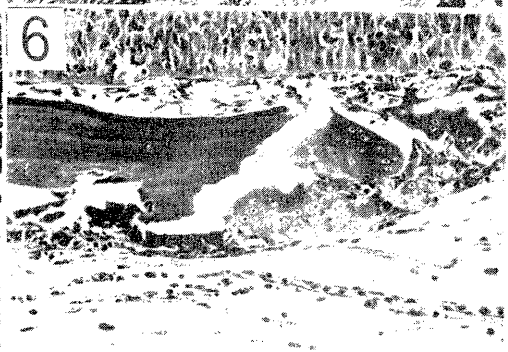
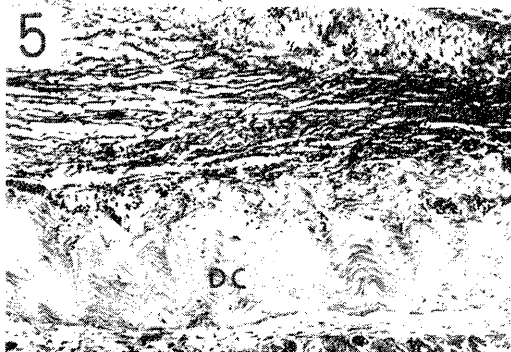
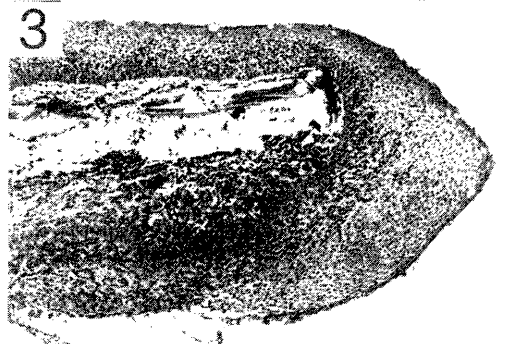
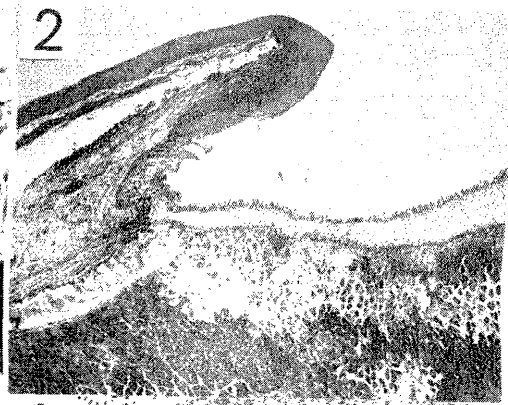
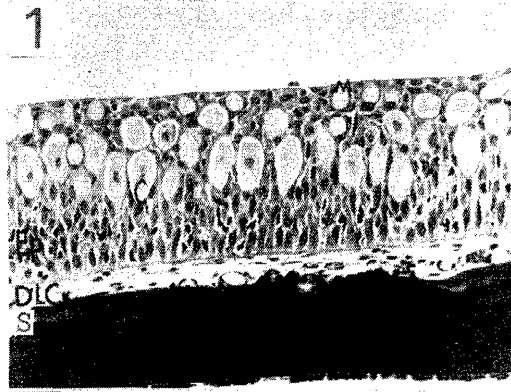
考 察

魚類での実験的創傷治癒の経過については既に窪田ら (1963) の観察があるが、感染病巣であるあなき病の体表の潰瘍病巣の治癒においても創傷治癒におけると同様に再生表皮と炎性肉芽組織が重要な役割を果たしていた。このうち再生表皮は潰瘍表面の被蓋の、そして炎性肉芽組織は潰瘍表面に出現した線維素網や変性・壊死した組織の消化吸收の役割をそれぞれ果たしていた。さらに本病のように体側筋組織を巻き込んだ深い潰瘍病巣が形成され、それが治癒する場合、再生表皮や肉芽組織に加えて無視できないものに潰瘍底における線維素の析出があった。潰瘍底に析出した線維素は白血球や大単核細胞を含み、網状構造物を構築していた。この析出線維素は病勢が激しい場合には細菌の伝播を許すこともあった (宮崎ら 1976) が、体側筋組織や皮下脂肪組織への細菌の侵入を妨げている所見もみられた。このように、潰瘍底に析出した線維素は細菌の侵入伝播を妨げるとともに、水棲動物の常として体表に形成された潰瘍によって起る局所の浸透圧の乱調や体液の流出を軽減する一助となっていると推察される。このように魚類の炎症反応における線維素の析出は人の感染症など (鈴江ら 1974) で考えられているように病巣拡大因子に対する一種の障壁としての役割を果たしていると考えられた。

この析出線維素が潰瘍底を被覆し、病巣拡大因子に対する防御が整うと相前後して再生表皮がそ

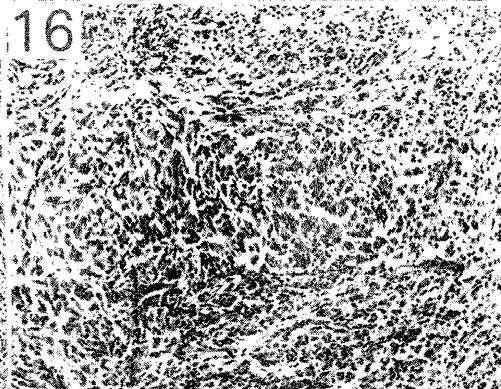
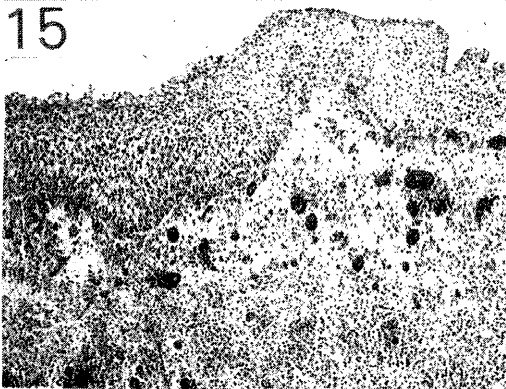
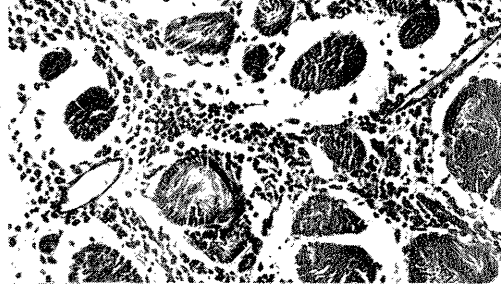
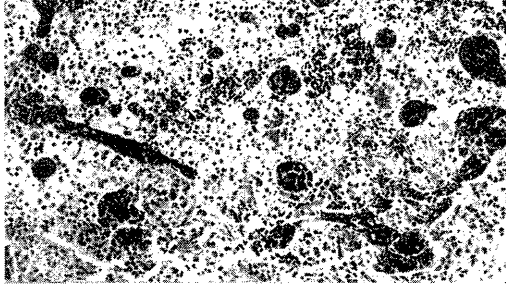
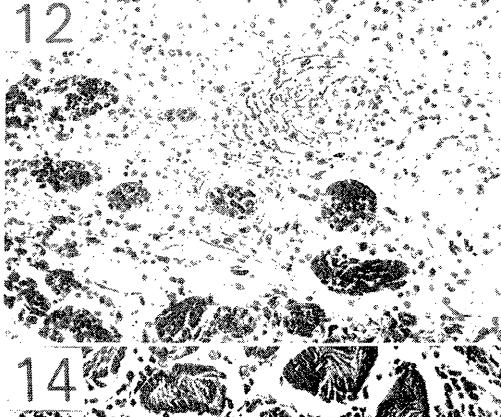
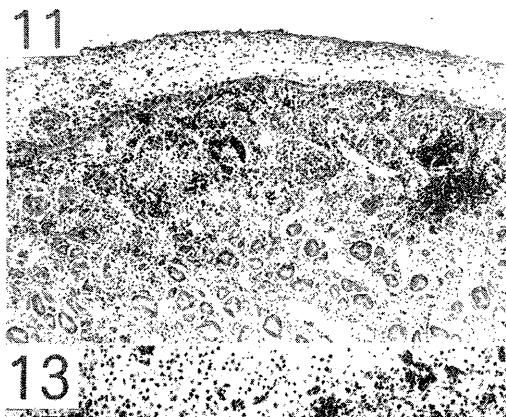
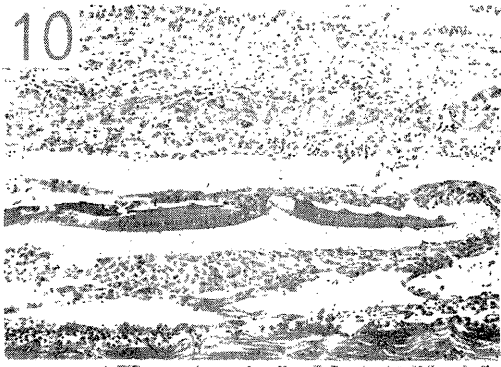
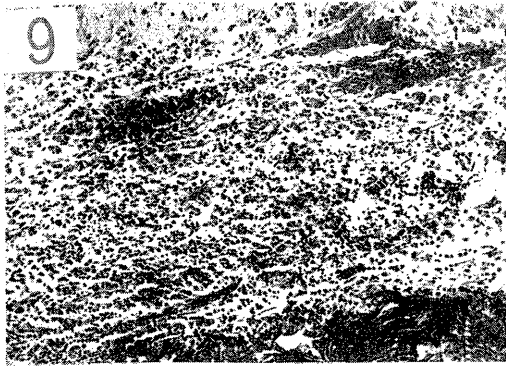
Legends for Figures

- Fig. 1. The normal skin of the carp. Ep: Epithelium. DLC: Dermal loose connective tissue. S: Scale. M: Mucous cells. C: Clab cells. HE stain, X200
- Fig. 2. The healing ulcer in the earlier stage. Pictures shown in Fig. 3. to 8 show various parts of this ulcer. HE stain, X20
- Fig. 3. The skin in the surrounding area of a healing ulcer. The epithelium is thickened by marked hyperplasia of the epithelial cells. HE stain, X60
- Fig. 4. The skin in the marginal area of the healing ulcer. The mesh-shaped, regenerating epithelium (RE) covers on the affected dermis being in fibrinoid degeneration. HE stain, X100
- Fig. 5. The affected dermis in the marginal area of the healing ulcer. The loose connective tissue is extensively in fibrinoid degeneration. DC: Dense connective tissue. WEIGERT's fibrin stain, X100
- Fig. 6. An injured scale in the dermis in the surrounding area of the healing ulcer. It is phagocytized by polynuclear giant cells. HE stain, X200
- Fig. 7. A central area of the healing ulcer. The mesh-shaped, regenerating epithelium (RE) covers on the fibrin meshwork (F) deposited on the affected lateral musculature. HE stain, X50
- Fig. 8. Detail of the floor of the healing ulcer. In the affected musculature beneath the fibrin meshwork (F), large mononuclear cells infiltrate through necrotized muscles and capillaries engorged with blood are newly formed. HE stain, X100



Legends for Figures

- Fig. 9. The granulation tissue is newly formed in the dermal loose connective tissue being in fibrinoid degeneration. Pictures shown in Fig. 9 to 14 show various parts of the healing ulcer in the far progressing stage. HE stain, X100
- Fig. 10. An injured scale is phagocytized by polynuclear giant cells and is enclosed by the granuloma. HE stain, X100
- Fig. 11. The central area of the healing ulcer. The regenerating epithelium increases in cellular numbers. The granulation tissue is newly formed in the fibrin meshwork and in the affected musculature. HE stain, X50
- Fig. 12. A high power detail of the fibrin meshwork beneath the regenerating epithelium. The granulation tissue penetrates and absorbs it. HE stain, X200
- Fig. 13. A high power detail of the superficial layer of the affected musculature. In here the granulation tissue is formed and a number of mononuclear cells migrate and phagocytize the necrotized muscles. HE stain, X200
- Fig. 14. A high power view of the deeper area of the affected musculature. In here large mononuclear cells, small, round cells and fibroblasts proliferate. HE stain, X200
- Fig. 15. The central area of the healing ulcer in the more progressing stage. The regenerating epithelium becomes much thicker. The granulation tissue replaces the fibrin meshwork and the affected tissues. HE stain, X50
- Fig. 16. A high power detail of the granulation tissue. It is composed of newly formed vascular channels, fibroblasts, large mononuclear cells, small round cells and thin collagenous fibers. MAY-GIEMSA's stain, X200



の上に移動を開始し、治癒が本格的に進行する。再生表皮の源として潰瘍病巣周辺域の表皮があげられ、そこでは基底細胞の腫大と上皮細胞の著しい増生が見られた。この病巣周辺域で増生した上皮細胞が潰瘍表面を移動して、表面を被蓋しながら次第に細胞層を増して緻密な再生表皮へと生長する、と考えられた。この再生表皮では棍棒状細胞がまだ出現していず、この点で正常な表皮と異っていた。棍棒状細胞は糖タンパクを含む豊富な細胞質をもつ大きな細胞であり、発生学的には卵黄をもった仔魚の表皮に既に出現している(宮崎ら未発表)。しかし、この細胞の機能はまだわかっていない。再生表皮において粘液細胞が分化している段階でもこの棍棒状細胞が観察されないのは興味ある事実である。

再生表皮の生長と肥厚によって外部からの障害要因に対する防備が整うとともに、潰瘍底の析出線維素層に新生毛細血管が侵入し、大単核細胞、線維芽細胞の浸潤繁殖も加わって肉芽組織が成長する。これは再生表皮の肥厚によって外界と遮断された結果、析出線維素が異物として扱われたためと思われる。そして潰瘍底の変性壊死した筋肉や筋肉組織間質の炎性滲出物、類線維素変性に陥った真皮の膠原線維、変性した鱗も同じに異物処理の対象となり、大単核細胞の浸潤繁殖を伴う肉芽組織あるいは破骨細胞に似た多核巨細胞や肉芽腫によって消化吸収されていく。

以上みたように治癒が肉芽組織の出現によって起っていたことから、体側筋組織に達するほどの深い潰瘍の治癒は二次的治癒(鈴江 1974)と判断された。今回の観察では上述の段階までしか観察できなかった。その後、潰瘍病巣は再生表皮の下に真皮の再生を招き、潰瘍底に出現した肉芽組織は癒痕化し、欠損した体側筋組織の筋肉が再生して次第に復元していくと考えられた。

要 約

1. 病原性滑走細菌による潰瘍病に罹病したニシキゴイの治癒過程にある潰瘍病巣を病理組織学的に検討した。
2. その結果、治癒の初期段階にある病巣では、潰瘍表面は網目状の疎な表皮で被蓋され、潰瘍底には線維素が析出し、その下の侵された体側筋組織では炎性細胞浸潤が起っていた。また、治癒がさらに進んだ段階の病巣では、再生表皮は密度を増して肥厚し、潰瘍底には肉芽組織が新生して析出線維素や壊死した体側筋組織を吸収してそれらと置換していた。
3. 以上のことから、再生表皮と析出線維素による侵された組織表面の被覆と、その後新生した肉芽組織による析出線維素や壊死組織の消化吸収、置換が、潰瘍病巣の治癒に最も重要な役割を果たしているとわかった。

文 献

- 窪田三朗・萩田健二, 1963. 海産養殖魚の疾病に関する研究—Ⅱ ニトロフラゾンの魚病に対する薬理効果に関する研究—(Ⅰ) 三重県大産紀要, 6(1): 125—144.
- 宮崎照雄・窪田三朗・江草周三, 1976. ニシキゴイの滑走細菌性あなあき病の病理組織的研究—Ⅰ 感染病巣について. 本誌, 3: 49—58.
- 鈴江懐・小林忠義編, 1974. 線維素性炎, 600—607. 進行性病変, 420—468. 病理学総論, 医学書院, 東京,