

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—Ⅲ
内 臓 諸 器 官

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*) —Ⅲ
The Visceral Organs

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

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—Ⅲ
内 臓 諸 器 官

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*) —Ⅲ
The Visceral Organs

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

We examined histopathologically the visceral organs of diseased carps either with infectious ulcers or with healing ulcers in their body surface. In the serious diseased fish with large infectious ulcers, 1) the small lesions involving the endocardium and myocardium, in which rods were disseminated, were produced in the ventricle, 2) the marked hemosiderosis occurred in the spleen and in the hematopoietic tissue of the kidney, 3) lipoprotein-granulation degeneration occurred in the extensive hepatic cells, 4) masses of lipofuscin-laden macrophages appeared in the interstitial tissues of the liver and pancreas, and in the spleen and the hematopoietic tissue of the kidney. And in the fish with healing ulcers 1) small round cells extensively infiltrated through the myocardium of the heart, 2) masses of ceroid-laden or lipofuscin-laden macrophages appeared in the spleen and in the hematopoietic tissue.

From the histopathological observation, it has been confirmed that bacteremia producing disseminated lesions in the visceral organs is induced by rods, and the flexible bacterium can not produce them. We have concluded that the appearance of hemosiderosis in the organs abounding with the cells of the reticuloendothelial system might be related to the increase in the number of deteriorated erythrocytes in the circulating blood, resulting from marked

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

circulation derangement in the ulcerative lesions. We can point out that functional impairment occurs in the visceral organs in the serious disease condition.

体表に形成された潰瘍病巣の病理組織学的諸相については前2報で報告した。(宮崎ら 1976) 進行過程にある潰瘍病巣が敗血病巣に発展している重篤例では内臓器官に転移感染病巣が認められ、また、肝臓に脂質の代謝異常、脾臓や腎臓の造血組織に血鉄症が発現するなど生理面の乱調を示す所見が得られた。そこで、これらの異常と潰瘍病巣の病理組織学的諸相とを対比、検討した結果を報告する。

材料および方法

進行過程にある潰瘍病巣と治癒過程にあるそれらを持つ病魚6尾から内臓諸器官を摘出し、ヘリー液、ブアン液、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得た。染色にはHE染色、ギムザ染色、トリクローム染色、アザン染色、マロリー三重染色、PAS反応、ホイゲン反応、ウンナ・パッペンハイム染色、好銀線維染色、ワイゲルト線維素染色の他、リポフスチン、セロイド、ヘモジデリンなどの色素のためにズダンⅢ染色、ズダン黒B染色、ベルリン青反応、シュモール反応、抗酸性反応(チール・ニルセン法)、マロリー塩基性フクシン染色、リリー法、ヒュック法、アロキサソ・シッフ反応を目的に応じて施した。また、上述の各種の色素の特性を見るために10%過酸化水素水、5%過マンガン酸カリウム水溶液、1%塩酸、1%水酸化ナトリウム水溶液、アセトン、およびキシロール長時間浸漬(25℃, 24時間)も行なった。

結 果

1) 心臓：体表に形成された潰瘍病巣が拡大して、体側筋組織の太い血管を巻き込んで、敗血病巣へと発展している重篤例の心臓では心室に転移感染病巣が見られた。そこでは短桿菌が心内膜に侵入して心内膜が壊死するとともに、隣接する心筋は、凝固壊死に陥っていた(Fig. 1)。

治癒過程にある潰瘍病巣をもつ病魚の心臓では、心室の心筋組織に小円形細胞を主体とするび慢性の炎性細胞浸潤が起っていた。しかし、そこには細菌は認められなかった(Fig. 2)。

2) 肝臓：進行過程にある重篤例の肝臓では、広範囲の実質細胞に顆粒変性が起っていた(Fig. 3)。顆粒変性に陥った肝細胞では、空胞化した細胞質内にHE染色で桃色に染る1~数個の小顆粒が出現していた。この小顆粒はパラフィン切片での脂肪染色とアロキサソ・シッフ反応に陽性、酸性フクシン(マロリー三重反応)、抗酸性反応とワイゲルト線維素染色に弱陽性に反応するが、PAS反応、鉄反応、ホイゲン反応、ウンナ・パッペンハイム染色ではいずれも陰性であった。また、この小顆粒がアセトンとキシロールによる長時間浸漬で溶解消失した。以上のような性質から、この顆粒はセロイドではなく、一種の脂タンパクと判断された。また、この顆粒は細胞内封入体とよく似ているが、核酸反応が陰性であることから封入体ではないと思われた。また、肝細胞の脂タンパク性顆粒変性が著しい肝臓では、リポフスチン担細胞が、変性に陥った肝実質域や類洞および間質組織に単独または小塊状に集合して出現していた(Fig. 4)。それは細胞質内にHE染色で黄褐色に見える粗大顆粒を充満していて、その細胞の核は核濃縮を起こして偏在していることが多かった。このリポフスチンは次のような性質をもっていた。パラフィン切片での脂肪染色、シュモール反応(緑青色)、リリー法(青色→アセトン処理後脱色)、ヒュック法(青色)、PAS反応

(紅色), マロリー三重染色(赤紫色), アザン染色(橙色), アロキサン・シッフ反応(桃色)に陽性であるが, 抗酸性反応に弱陽性であり, 塩基性フクシン染色, 鉄反応は陰性であった。また, 有機溶媒に不溶であるが, 脂肪染色性を失っていた, 酸, アルカリ, 過酸化水素, 過マンガン酸カリウムに不溶でかつ脱色されなかった。

治癒過程にある潰瘍病巣をもつ症例の肝臓には, 肝細胞の脂タンパク性顆粒変性やリポフスチン担細胞の出現もあったが, いずれも軽度であった。

進行過程にある軽症例の肝臓では, 大半の肝細胞は豊富な糖原を含んでいた。

3) 膵臓: コイの膵臓は消化管の周囲に分布するのみならず, 肝臓や脾臓の内に入る血管の血管壁周囲にも分布する。このうち, 特に, 肝臓や脾臓内にある膵臓の間質には, 病気の過程に応じて種々の色素顆粒が沈着した大単核細胞が塊状に集積していた (Fig. 4)。この塊状に集合した大単核細胞群の内部には好銀性細網線維は見られなかった。まず, 進行過程にある重篤例では, リポフスチン担細胞のみで細胞集塊を形成していることが多いが (Fig. 4)。治癒例では, 卓越したリポフスチン担細胞に加えて少数のセロイド担細胞も出現していた。そしてこの段階では, 色素顆粒が沈着した大単核細胞は核濃縮に陥っていることが多かった。なお, 実質組織には著変は見られなかった。

4) 消化管: ここには著変は見られなかった。

5) 脾臓: 重篤例の脾臓では, 脾髄が萎縮するとともにヘモジデリンやリポフスチンが沈着した多数の大単核細胞が脾髄や莢組織にび散的に出現していた (Fig. 5)。このうちヘモジデリン担細胞が卓越して単独で出現しているが, リポフスチン担細胞は比較的少数で, 小集塊を形成することもあった (Fig. 6)。この段階では色素顆粒が沈着した大単核細胞のうち, 好銀性細網線維にまつわりつくような状態にないものも少なからずあった。ヘモジデリンはHE染色で褐色に見える微小顆粒で, 大単核細胞の細胞質内に充満していて, ベルリン青反応(深青色), シュモール反応(緑色)に陽性であるが, 脂肪染色, 抗酸性反応, 塩基性フクシン染色, リリー法, ヒュック法, アザン染色, マロリー三重染色にはいずれも陰性であった。また, 有機溶媒, 酸, アルカリ, 過酸化水素, 過マンガン酸カリウム水溶液の長時間浸漬でヘモジデリンは不溶であり, 脱色されなかった。なお, 重篤例の脾臓に出現したリポフスチンは抗酸性反応に陽性であり, 抗酸性リポフスチンと判断された。

治癒過程にある症例の脾臓では, リポフスチン, セロイド色素またはヘモジデリンがそれぞれ沈着した大単核細胞がより集った細胞集塊が組織内に散在していた (Fig. 7, 8)。この細胞集塊を構成する細胞のうちでヘモジデリン担細胞は極めて少数であり, リポフスチン担細胞とセロイド担細胞が卓越していた。また, この細胞集塊の内部には好銀性細網線維が明瞭に見られた (Fig. 9)。なお, セロイド色素はHE染色で褐色に見える硝子様の粗大顆粒で主に核濃縮に陥った大単核細胞の細胞質中に存在していて, 次のような性質を持っていた。脂肪染色には弱陽性であるが, 抗酸性反応(輝赤色), 塩基性フクシン染色(輝紅色), PAS反応(紅色), アザン染色(赤色)に陽性であり, シュモール反応, リリー法, ヒュック法, 鉄反応には陰性であった。また, 有機溶媒, 酸, アルカリ, 過酸化水素, 過マンガン酸カリウム水溶液にセロイド色素は不溶で脱色されなかった。

6) 腎臓: 重篤例の腎臓では糸球体に著変は見られないが, 尿細管上皮はかなり高度の硝子滴変性に陥っていた。造血組織では類洞細網内皮細胞の多くにヘモジデリンが沈着していて, 髄質内にはセロイド担細胞とリポフスチン担細胞より成る細胞集塊が散在していた (Fig. 10)。

治癒例では軽度の尿細管上皮の硝子滴変性が生じ, 細網内皮細胞のヘモジデリン沈着も軽度であ

った。しかし、リポフスチン担細胞とセロイド担細胞より成る細胞集塊はかなり多く見られ、これらの細胞の核は核濃縮に陥っていることが多かった。

7) 總：ここには著変は見られなかった。

考 察

健康魚の脾臓と腎臓の造血組織にはヘモジデリン担細胞、リポフスチン担細胞、セロイド担細胞も認められるが、進行過程にある重篤例では特にヘモジデリン担細胞の数と程度が著しく多大で血鉄症の状態に達していた。ヘモジデリン色素は赤血球のヘモグロビンに由来する色素であり、赤血球を吞食した吞食細胞中に出現すると言われている(鈴江ら 1974)。重篤例の潰瘍病巣には激しい循環障害が起こっていて、血管内の赤血球の大半が変性に陥っていることが多く、このことから、重篤例では循環血液中に占める変性した赤血球の割合が増大することとなり、これによって脾臓や造血組織に分布する吞食細胞の繁殖が刺激されるとともに、変性した赤血球が吞食細胞に攝取されて破壊される。そして、その結果、これらの組織、器官に高度の血鉄症が発現すると考えられた。また、腎臓の造血組織に見られたヘモジデリンを吞食した大単核細胞は、類洞の細網内皮細胞(AKAZAKI 1952)であった。脾臓におけるヘモジデリン担細胞に関しては好銀性細網線維から遊離している細胞もあったが、大半の細胞は細網線維とまつわりついていて、ヘモジデリン担細胞の多くは細網細胞(AKAZAKI 1952)と判断された。以上のことから、脾臓や腎臓の造血組織でヘモジデリン顆粒を吞食しているのはもっぱら細網内皮系(AKAZAKI 1952, 赤崎ら 1962)の細胞であり、コイにおいては赤血球破壊の機能をもつ組織・器官は脾臓と腎臓の造血組織であると考えられた。重篤例の肝臓では実質細胞内の脂タンパク性の顆粒が析出し、脂質代謝に乱調が起こっていた。しかし、この肝実質に生じた脂質代謝異常の病因は現在のところ不明である。

病魚の肝臓、脾臓の間質と脾臓および腎臓の造血組織の細網内皮系細胞にはリポフスチンやセロイド色素の沈着が見られた。このうちリポフスチンは脂肪染色、シュモール反応、リリー法、ヒュック法に陽性に反応し、塩基性フクシン染色には陰性であるが、セロイド色素は塩基性フクシン染色と抗酸性反応に陽性であり、シュモール反応、リリー法、ヒュック法にはいずれも陰性であった。このような組織化学的特性(リゾン 1968, 佐野 1972)によって両方の色素を区別することができた。以上のことから、哺乳類の臓器に出現する生体色素の検出に用いられる組織化学的手法(佐野 1972)を魚類のそれにも応用できることがわかった。リポフスチンは消耗性疾患や栄養不良などの原因で萎縮した臓器の実質細胞に沈着すると言われている(鈴江ら 1974)。またセロイド沈着はビタミンE欠乏症時に実質組織に現われると言われている(平井 1973)。基本的に、ズダンⅢ、ズダン黒Bなどの脂肪染色に染るが脂肪溶媒に不溶、PAS反応陽性、抗酸性染色で染るといった組織化学的特徴を有する消耗性色素は、過酸化脂肪の重合体で、その重合の程度によって組織化学的特性に若干の違いがでるとされている。(PEARSE 1972)。病魚の絶食による疲労や栄養不良がこれらの消耗性色素の沈着の誘因になっていると考えられ、病魚の治療には抗菌剤に加えてビタミンEなどの栄養剤の投与もはかれるべきであろう。ただ、興味あることには、これらの消耗性色素の沈着が、哺乳動物では実質組織に起るのに対して、コイでは細網内皮系の細胞に著しかった。特に、脾臓や腎臓の造血組織における細網内皮系のように老旧赤血球の処理作用をもつ細胞系に、消耗性色素が沈着することは、色素沈着と赤血球破壊との間に何らかの相関性があることを示唆していると言えよう。魚類における消耗性色素の沈着については今後検討していきたい。

要 約

1. 滑走細菌による潰瘍病に罹病したニシキゴイの内臓諸器官を病理組織学的および組織化学的に検討した。
2. その結果, a) 重篤例の心臓に短桿菌による伝播感染病巣が見られた。肝臓では実質細胞が脂タンパク性顆粒変性に陥るとともに, リポフスチン担細胞も出現していた。脾臓の間質にはリポフスチン担細胞より成る細胞塊が形成されていた。脾臓は高度の血鉄症に陥っていた。腎臓では尿細管上皮は硝子滴変性に陥り, 造血組織にはヘモジデリン担細胞やリポフスチン担細胞が目立った。b) 治癒例では, 特に脾臓にセロイド担細胞とリポフスチン担細胞より成る細胞塊が多数見られた。
3. 以上のことから, 重篤例では, 体側筋組織に形成された敗血病巣が短桿菌による菌血症を招来していることが確証され, かつ潰瘍形成に重要な役割を果たしていた滑走細菌は全身感染をひき起こす性質のものでないことがわかった。
4. また, 重篤例では生理的乱調や機能障害が内臓器官に起こっていることがわかった。

文 献

- AKAZAKI, K., 1952. Reticulo-endothelial system. *Acta. Path. Jap.*, 2 (3): 113—142.
- 赤崎兼義, 1962. 細内系の概念. 最新医学, 17 (1): 168—175.
- 平井俊策, 1973. ビタミンE欠乏症. 代謝, 10 (7): 51—59.
- リゾン, L., (今泉正訳), 1968. 生体色素, 組織化学および細胞化学(理論と方法), 白水社, 東京, 569—592.
- 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学的研究—I 感染病巣について. 本誌, 3: 49—58.
- , ———, 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, 本誌, 3: 59—66.
- PEARSE, A. G. E., 1972. Ceroid. *Histochemistry: Theoretical and applied*. Churchill Livingstone, London, 1083—1085.
- 佐野 豊, 1972. 生体色素, 組織学研究法, 南山堂, 東京, 571—605.
- 鈴江懐・小林忠義編, 1974. 色素変性, 病理学総編, 医学書院, 東京, 351—379.

Legends for Figures

- Fig. 1. A rod-disseminated lesion in the ventricle of a fish with large infectious ulcers. MASSON's trichrome method, X100
- Fig. 2. A lesion of the ventricle of a fish with healing ulcers. Small round cells predominantly infiltrate through the myocardium, in which there are no bacteria. HE stain, X100
- Fig. 3. Lipoprotein-granulation degeneration of the hepatic cells in the serious diseased fish. HE stain, X400
- Fig. 4. Lipofuscin-laden macrophages appear in the interstitial tissues of the liver and pancreas. SCHMORL's reaction, X200
- Fig. 5. The spleen in the hemosiderosis of a serious diseased fish. A lot of hemosiderin-laden macrophages appear diffusely. Prussian blue reaction, X100
- Fig. 6. A high power detail of pigments-laden macrophages in the spleen in the hemosiderosis. Hemosiderin-laden cells (HIC) outnumber but a few of lipofuscin-laden cells (LIC) are also seen. Prussian blue reaction, X400
- Fig. 7. The spleen of a fish with healing ulcers. There appear considerable numbers of masses composed of pigments-laden macrophages. ZIEL-NEELEN's method, X200
- Fig. 8. A high power detail of a mass of pigments-laden macrophages shown in Fig. 7. Ceroid-laden cells (CIC) outnumber and a small number of lipofuscin-laden cells (LIC) are also present among them. SCHMORL's reaction, X400
- Fig. 9. The argyrophil reticular fibers appear in a mass of pigments-laden macrophages shown in Fig. 7. WATANABE's silver impregnation, X400
- Fig. 10. The hematopoietic tissue of the kidney in a serious diseased fish. The reticuloendothelial cells (ReC) lining sinusoids phagocytize the hemosiderin and a mass of pigments-laden macrophages appears. Pas reaction, X400

