

# 魚類の細菌感染症の病理組織学的研究

宮 崎 照 雄  
三 重 大 学 水 産 学 部

## Histopathological Study on Bacterial Infections in Fishes

Teruo MIYAZAKI  
Faculty of Fisheries, Mie University

Reprinted from  
Bulletin of the Faculty of Fisheries, Mie University  
No. 7, October 1, 1980

## 魚類の細菌感染症の病理組織学的研究

宮 崎 照 雄

三重大学水産学部

### Histopathological Study on Bacterial Infections in Fishes

Teruo MIYAZAKI

Faculty of Fisheries, Mie University

The author histopathologically studied *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillicida* and *Edwardsiella tarda* infections in Japanese eel (*Anguilla japonica*) and *Streptococcus* sp. and *Nocardia kampfachi* infections in cultured yellowtail (*Seriola quinqueradiata*). Based on the histopathological findings, the author investigated characteristics of the infections and inflammation in fishes in the following pages.

#### Chapter I. *Aeromonas hydrophila* infection in Japanese eel

1) Fifteen naturally infected fish were collected from fish-culturing ponds in Shizuoka Prefecture March and October 1972 and in Mie Prefecture March 1975. The diseased fish externally showed red fins, and the red surface of the belly and ventral side of the tail. They anatomically manifested enteritis and often hemorrhage in the stomach.

2) The bacteria histologically multiplied in the mucous-like substance contained in the anterior part of the intestine. The region manifested mucous-desquamative catarrh accompanying lymphocytes infiltration into the epithelium and the tunica propria without an obvious, bacterial invasion. No metastatic lesion was formed but parenchymal alterations and circulatory disturbances occurred without a bacterial invasion. The alterations were characterized by the degeneration of hepatic cells, necrosis and the degeneration of epithelia of renal tubules, numerical atrophy of the renal hematopoietic tissue and necrosis of the splenic sheathed arteries. The circulatory disturbances were represented by hemorrhage in the liver, the stomach, the dermis, the gill epithelia and the renal glomeruli. The disturbances were also represented by exudation of serum and fibrin from altered glomerular capillaries.

Based on the histopathological findings it was determined that the parenchymal alterations and the circulatory disturbances were caused by the toxic substances produced by *A. hydrophila* multiplying in the intestine.

3) Five strains of the isolated bacteria were intramuscularly injected at the rate

of 0.5 and 1.0 mg per 100g to an individual fish. Three fish became moribund after 3 days but two fish survived for 10 days after the injection. In the moribund fish, the injected lesion was formed in the lateral musculature and manifested necrosis, edema, hemorrhage, stasis and angitis. A fatty change in hepatic cells, edema in the splenic sheathed arteries and nephrose occurred without an obvious, bacterial invasion.

#### Chapter II. *Vibrio anguillcida* infection in Japanese eel

4) Twelve naturally infected fish were collected from fish-culturing ponds in Tokushima Prefecture summer 1975. The slight cases formed hemorrhagic patch-lesions on the body surface. The moribund cases formed hemorrhagic swollen-lesions on the body surface and anatomically manifested a congested liver, splenomegaly and enteritis.

5) The bacteria invaded the dermis, the subcutaneous adipose tissue and the red musculature in the patch-lesion, and moreover the bacteria spread and multiplied at the lateral musculature and the vascular wall of lateral-muscular veins in the swollen lesion. The infected lesions manifested necrosis, edema and hemorrhage. The moribund case underwent septicemia accompanying the generalized infection. The infectious spleen was necrotized to cause the blood sea. The infectious liver manifested marked sinusoidal congestion, hemorrhage and pressure atrophy of hepatic cells. In the intestine, the bacteria were disseminated at the tunica propria and the submucosa via capillaries and caused desquamative-catarrh enteritis. In the infectious kidney, the hematopoietic tissue was necrotized accompanying hemorrhage and bacterial emboli were often formed in the glomerular capillaries. The infectious gills manifested edema.

6) The isolated bacteria was intramuscularly injected at the rate of 0.2, 0.5 and 1.0 mg per 100g to nineteen Japanese eels. The fish became moribund in 18 to 24 hours after the injection with 0.5 and 1.0mg and in 3 to 4 days after the injection with 0.2 mg. They manifested the same pathological characteristics as the moribund cases of the naturally infected fish.

7) Based on the histopathological findings in the naturally and experimentally infected fish, it was determined that characteristics of *V. anguillcida* were strong invasiveness into the tissue and the cause of septicemia in the terminal case.

8) The sonicate of the bacteria was intramuscularly injected at the rate of 2.0 mg per 100g one to five times at intervals of 24 hours and 5.0mg per 100g one to two times at the same interval. No fish died and no external change occurred during the experimental periods. The injected lesion was necrotized accompanying hemorrhage, infiltration of inflammatory cells and angitis. Hyperplasia of lymphocytes, lymphoblasts and splenocytes, infiltration of neutrophils and the formation of the germinal-center-like structure were caused in the spleen. Hyperplasia of immature neutrophils and activation of reticulo-endothelial cells lining sinusoids occurred in the renal hematopoietic tissue. Degeneration was caused in the hepatic cells.

Based on the histopathological results, it was determined that the sonicate acted as the toxin and the antigen.

#### Chapter III. *Edwardsiella tarda* infection in Japanese eel

9) Fifty-nine naturally infected fish were collected from fish-culturing ponds

in Shizuoka Prefecture June to October and December 1972, February 1973 and in Mie Prefecture September 1975 and March 1976. The diseased fish were classified into two manifestation types according to the organ in which abscesses were initially formed; the type of suppurative interstitial-nephritis (39 fish) and the type of suppurative hepatitis (20 fish).

10) In both types, the abscess consisted of immature neutrophils and the bacteria were phagocytized and multiplied in the neutrophils. Liquefaction of abscesses was followed by marked bacterial multiplication. The liquefied abscesses usually involved the blood vessels to form pus emboli and cause pyemia.

The diseased fish of the type of suppurative interstitial-nephritis formed abscesses initially in the hematopoietic tissue of the kidney. They often produced suppurative lesions in the spleen, the stomach, the heart and the abdominal musculature in the pyemic condition. The terminal case underwent septicemia and manifested marked necrosis accompanying marked bacterial dissemination in the spleen, the liver and the gills. On the other hand, the diseased fish of the type of suppurative hepatitis formed abscesses initially in the liver. With growth of the abscesses, the renal hematopoietic tissue manifested marked hyperplasia of neutrophils and hematopoietic cells, and the infectious spleen manifested neutrophils infiltration and splenocytes proliferation. The septicemic case manifested necrosis accompanying marked bacterial dissemination in the spleen and the renal hematopoietic tissue.

Based on the histopathological findings, it was determined that *E. tarda* was a pyogenic bacterium.

11) The isolated bacteria were intramuscularly injected at the rate of 0.5 and 1.0mg per 100g to five Japanese eels. All fish formed a swollen lesion in the injected region of the body and became moribund after 2 days. Suppurative inflammation was caused in the injected lesion. No abscess was formed in the visceral organs. Marked necrosis was caused due to bacterial dissemination in the liver, the spleen and the renal hematopoietic tissue. Based on the results of the experimental infection, pyogenicity of *E. tarda* was proved and it was recognized that the experimental infection caused an injection disease far different from the natural infection.

#### **Chapter IV. *Streptococcus* sp. infection in yellowtail**

12) Seventy-four naturally infected fish were collected from fish-culturing coasts in Kagoshima Prefecture autumn 1974 and 1975, winter 1976, in Nagasaki Prefecture autumn 1976 and in Mie Prefecture summer and autumn 1975, 1976 and 1977.

13) External characteristics were represented by necrotized eyes, exophthalmos, formation of white protuberances containing pus or caseous matter on the inner surface of opercles and production of swollen lesions containing pus or caseous matter in the caudal peduncle and basal regions of fins. The diseased fish manifested one of the above characteristics but often two of them. Anatomical changes were represented by peri-epicarditis and color changes or congestion in the liver.

14) In the eye lesion the bacteria penetrated and multiplied in the eye-lid, the conjunctiva, the cornea, the sclera, the adipose tissue surrounding the eye-ball and in



the oculo-motive musculature. The infected lesion manifested necrosis, edema, fibrin deposition, thrombosis, hemorrhage and infiltration of neutrophils and macrophages in the acute case. The chronic case manifested granulomatous inflammation in the eye lesion. The protuberances in the opercles and the swollen lesions in the caudal peduncle and the basal regions of fins were due to the formation of abscesses in the subcutaneous tissue in the acute case. In the chronic case, they were due to the formation of granulomas enclosing the abscesses.

Metastatic lesions were usually formed in the peri-epicardium due to bacterial dissemination into the pericardium. Fibrin deposition and macrophages infiltration occurred in the acute case. The disseminated bacteria were phagocytized and multiplied in the macrophages. In the chronic case granulomas were formed to enclose the bacteria and the inflammatory exudates on the peri-epicardium. The metastatic lesion was not obvious in the other visceral organs. Parenchymal degeneration and necrosis or congestion occurred in the liver.

15) Experimental infections were implanted by an intramuscular injection with the isolated bacteria at the rate of 1.0mg per 100g, smearing the bacteria onto the eye at the rate of one loopful cells per one fish and the oral administration with the bacteria at the rate of 20mg per 100g. Five fish (200g body weight) were used in each experiment. The injected and smeared fish became moribund after 5 to 7 days and they manifested granulomatous inflammation in the infected and metastatic lesions.

16) Based on the results of the naturally and experimentally infected fish, it was determined that *Streptococcus* sp. was a bacterium causing granulomatous inflammation.

#### Chapter V. *Nocardia kampachi* infection in yellowtail

17) Seventeen naturally infected fish were collected from fish-culturing coasts in Mie Prefecture autumn and winter 1975 and 1977 and in Okinawa Prefecture autumn 1975. The diseased fish were classified into four manifestation types according to external and anatomical views. Type 1 was the abscess-type characteristic in the formation of the large abscesses in the subcutaneous adipose tissue and the spleen. Type 2 was the nodule-type characteristic in the formation of small, white, nodule-appearing lesions in the lateral musculature and viscera. Type 3 was the airbladder-nodule-type characteristic in the marked formation of nodule-appearing lesions especially in the airbladder. Type 4 was the branchitis-nodosa-type characteristic in the formation of multi-nodules in the gills.

18) Among the types 1, 2 and 3, the infected lesions histopathologically manifested the same form of inflammatory responses; at first, two different shapes of abscesses, then abscess-granulation type of lesions and granulomas terminally. The large abscess was characterized by marked infiltration of neutrophils and a tendency of being formed in the subcutaneous adipose tissue and the spleen. The small abscess which was observed as a nodule-appearing lesion with the naked eye, was characterized by the formation of a layer consisting of macrophages to wall off the pus and a tendency of being formed generally. In both types of abscesses the bacteria markedly multiplied

extending branches and forming many druse. In the abscess-granulation type of lesion, the pus was walled off by a layer consisting of the granulation tissue and epithelioid cells. In the granuloma thick layers of epithelioid cells walled off the suppurative exudates, in which the bacteria decreased in number and were transformed into short rods.

In the branchitis-nodosa-type, the bacteria invaded the connective tissue of the gill filaments and caused the production of the granulation tissue in the acute case. The granulomas were formed to wall off each druse in the granulation tissue in the chronic case. Nodules consisting of macrophages and granulomas were formed at the metastatic lesions in visceral organs.

19) Based on the histopathological findings, types 1,2 and 3 could be recognized as one kind of manifestation type; general abscess-nodule type. According to the above recognition, it was determined that *N. kampachi* infection had two manifestation types as the general abscess-nodule-type and branchitis-nodosa-type. *N. kampachi* was determined as a bacterium causing granulomatous inflammation.

#### Total discussion

20) The author comparatively discussed infectious diseases caused by 14 species of fish-pathogenic bacteria. Based on the histopathological findings of them, it was determined that i) *A. hydrophila* was characteristic in the production of toxic substance, ii) *V. anguillicida*, *V. anguillarum*, *Vibrio* sp., *Vibrio* sp. RT group, *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas anguilliseptica* and *Flexibacter columnaris* were characterized by a strong invasiveness into the tissue and causing necrosis, iii) *E. tarda* was a pyogenic bacterium and iv) *Streptococcus* sp., *N. kampachi*, *Pasteurella piscicida*, *Corynebacterium* sp. and *Mycobacterium piscium* were bacteria causing granulomatous inflammation.

21) The author discussed characteristics of inflammatory responses in fishes. As for inflammatory responses concerned with defensive reactions, phagocytosis of neutrophils and macrophages and demarcation with the granulation tissue were not efficacious against *E. tarda*, *P. piscicida*, *Streptococcus* sp., *Corynebacterium* sp. and *N. kampachi*, because these bacteria were proven to be able to multiply in phagocytes and invade the granulation tissue. On the other hand, the granuloma formation was the most efficacious, defensive response against these bacteria, because i) granulomatous inflammation was manifested in the terminal stage after the defensive acts of neutrophils, macrophages and the granulation tissue were defeated, and ii) those bacteria markedly decreased in numbers after they were walled off by the layer of epithelioid cells.

## I 緒 論

日本における主要な養殖魚類はブリ (*Seriola quinqueradiata*), マダイ (*Chrysophrys major*), ニホンウナギ (*Anguilla japonica*), アユ (*Plecoglossus altivelis*), ママゴ (*Oncorhynchus rhodurus* f. *macrostomas*), ニジマス (*Salmo gairdneri*), コイ (*Cyprinus carpio*) およびキ

ンギョ (*Carassius auratus*) である。これらの魚種にはそれぞれに特徴的な、あるいはいくつかの魚種に共通するウィルス、細菌、真菌による感染症がしばしば発生し、そのための生産低下が問題になっている。感染症の病原微生物に関する研究は数多くなされているが (江草, 1978), 病理組織学的研究は少なく、我国では過去にニジマスのビブリオ病 (内田, 1961; 保科ら, 1965) とアマゴのせっそう病 (窪田ら, 1971), ニホンウナギのひれ赤病 (保科, 1962), ブリのビブリオ病 (木村, 1968), ニホンウナギの鰓ぐされ病 (江草, 1967a), ブリのノカルジア症 (窪田ら, 1968) と細菌性類結節症 (窪田ら, 1970a, b), ニジマスの伝染性膀胱壊死症 (SANO, 1970) などについて病理組織学的観察結果が報告されているにすぎない。欧米では古くから各種細菌感染症の病理組織学的検討が加えられており, SCHÄPERCLAUS (1927, 1930, 1934, 1954) によりヨーロッパウナギの *Aeromonas* と *Vibrio* の感染症の病理組織が, その後, AMLACHER (1970), WOLKE (1975), ROBERTS (1978), RICHARDS *et al.* (1978) により種々の細菌感染症の病理組織が記載されている。しかし, 上記の論文を含め他の論文でも病理組織学的所見が十分に検討されているものは少ない。全身に及ぶ詳細な病理組織の記述はサケ・マス類のウィルス病と細菌感染症について WOOD *et al.* (1956a, b, 1957) と YASUTAKE *et al.* (1965, 1970, 1972, 1975) が, サケのカラムナリス病について PACHA *et al.* (1967) が, largemouth bass (*Micropterus salmoides*) の *Aeromonas hydrophila* 感染症について HUIZINGA *et al.* (1979) が行なっているにすぎない。

筆者はこれまでに魚類の感染症の病理組織学的研究を進め, スズキ (*Lateolabrax japonicus*) のリンホシスチス病 (宮崎ら, 1972), 淡水魚の真菌性肉芽腫症 (宮崎ら, 1972b, 1973a, b, c), コイの *Flexibacter columnaris* 感染症 (宮崎ら, 1973d), アマゴのせっそう病 (宮崎ら, 1975a, b), コイの低水温性滑走細菌性あなき病 (宮崎ら, 1976d, e, f), ニホンウナギの *Edwardsiella tarda* 感染症 (宮崎ら, 1976a, b, c), *Pseudomonas anguilliseptica* 感染症 (宮崎ら, 1977a) および *Vibrio anguillicida* 感染症 (宮崎ら, 1977b), ニジマス・アマゴの *Vibrio* sp. RT群感染症 (宮崎ら, 1977h), ニジマスの *Ichthyophonus* 症 (宮崎ら, 1977d, e, f) についてそれぞれの病理組織を明らかにした。また, 共同研究者とともにアユの *Vibrio anguillarum* 感染症 (舟橋ら, 1974), ニホンウナギの *Branchiomyces* 症 (簡ら, 1979a), ニホンウナギ・ブリ・クロダイの *Ichthyophonus* 症 (簡ら, 1979b) についても, 病理組織を明らかにした。以上の一連の病理組織学的研究から魚類の感染病巣には病原微生物の種類によりそれぞれに特徴的な炎症反応が現われることを知った。また, 魚類の感染症は総じて全身感染に進展しやすい傾向があり, その過程で菌血症, 敗血症, 膿血症または毒血症を示すことがわかった。

本論文はそれぞれ固有の病理組織学的特徴をもつニホンウナギの *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillicida* および *Edwardsiella tarda* 各感染症とブリの *Streptococcus* sp. と *Nocardia kampfachi* 各感染症をとり挙げ, 詳細に病理組織学的検索を加え, その結果に基づいて各感染症を感染論的および炎症学的に比較検討したものである。

## Ⅱ 各 論

### 第1章 ニホンウナギの *Aeromonas hydrophila* 感染症

*Aeromonas hydrophila* 感染症はニホンウナギ (*A. japonica*) の疾病として古くから知られているもので, ひれ赤病と呼ばれている。その原因菌については生化学的性状 (保科, 1962; 江草, 1967), 細菌毒素 (SHIMIZU, 1968a, b, c; 清水, 1969; DONTA, *et al.* 1978), 血清型 (清水ら,

1968), 生態 (反町ら, 1971; 青木ら, 1973; 若林ら, 1976; 金井ら, 1977) などに関して多くの知見がある。一方, 病理組織に関する既往の報告は保科 (1962) のものが唯一であるが, 保科はひれ赤病の原因菌には *A. punctata*(=*A. hydrophila*)と *Paracholobacterium anguillimortiferum* (= *Edwardsiella tarda*) の2種があり, いずれも同様の疾病を起こすとし, 原因菌の相違による疾病の区別をすることなく扱った。後に明らかにするように上記の2種の細菌は全く異なる疾病を起こすものであり, 従って保科の記述ではどれが *A. punctata* 感染症の病理組織像であるかが明らかでない。そこで著者は *A. hydrophila* の単独感染症の病理組織を明らかにするため, 自然発病と人工感染の病魚について以下の観察を行なった。

### 材料および方法

自然発病魚: 1972年5月と10月に静岡県下の養殖場から採集した10尾 (体重50~150g) と1975年5月に三重県下の養殖場から採集した5尾 (体重100~150g) のニホンウナギである。上記の供試魚は *A. hydrophila*\* 以外の細菌が関与していないことが確認されたものである。

人工感染魚: ニホンウナギ5尾 (体重80~150g) に *A. hydrophila* の5株をそれぞれ接種した。供試菌株は上記の三重県下の養殖場から入手した病魚の腸管から分離したI-3, I-4, I-5株と腎臓から分離したK-1とK-2株である。菌株は0.5%食塩添加普通寒天平板で20°C, 24時間培養後, 0.85%食塩水中に懸濁し, 体重100g当り0.5または1.0mg湿菌量 (菌液量は0.2ml) を尾部体側筋内に注射した。接種後, 水温20~22°Cの水槽に収容し, I-3, I-4とI-5株接種魚は瀕死となった3日後に, K-1とK-2株接種魚は10日目にとり挙げて調べた。

自然発病魚と人工感染魚のいずれも外見観察後に, 0.5%食塩添加普通寒天平板で肝臓, 腎臓, 血液, 腸管 (三重県下の養殖場で採集例のみ) から, また人工感染魚の注射局所からもそれぞれ細菌の分離を行なった。ついで, 自然発病魚からは体表の発赤部と内臓諸器官を, 人工感染魚からは注射局所と内臓諸器官を摘出し, ヘリー液, ブェン液または10%ホルマリン水で固定した。常法に従って4~8μmのパラフィン切片と10μmの凍結切片を作成し, マイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色, ギムザ染色, アザン染色, PAS反応, ワイゲルト線維素染色またはズダンⅢ染色を目的に応じて施した。

## 結 果

### 肉 眼 的 所 見

A) 自然発病魚: 病魚は体表に発赤を示すが, 特に胸鰭, 臀鰭, 体腹面に顕著である (Plata I-1) が, 発赤の程度には個体差が認められた。剖検的には腸管は白化・硬化したり, 発赤・腫脹したりし, いずれの場合も腸管を切開すると悪臭を放つ黄白色の粘調物が管内に見られた。肝臓は褪色することが多いが, 症例によってはうっ血していることもあった。脾臓はやや腫大していた。胃は弛緩していることが多く, 稀に胃壁に出血斑も見られた。病魚の肝臓, 腎臓, 血液および腸管内容物から *A. hydrophila* が分離された。

B) 人工感染魚: 5株の菌株を接種した供試魚はともに接種から2日後に注射局所が発赤して腫大した。3日後にI-3, I-4, I-5株を接種した供試魚が瀕死となり, 注射局所の発赤・腫脹, 胸鰭と臀鰭の発赤, 肝臓の褪色と軽い脾腫を示した。これらの瀕死魚の注射局所, 肝臓, 腎臓

\* 分離菌株は東京大学の江草周三教授のもとで全て *A. hydrophila* と確認されている。

および血液から接種細菌が再分離された。他方、K-1とK-2株を接種した魚は10日目まで生存し、その時点では腎臓と血液はもとより注射局所からも細菌は再分離されなかった。また剖検的にも内臓諸器官に著変は認められなかった。

#### 病理組織学的所見

##### A) 自然発病魚

(1) 腸管：腸では主に前半部の管腔内に滞留する粘液様物質の中で細菌が激しく増殖していた(plate I-2)。細菌のうち *A. hydrophila* と思われる短桿菌が多数を占めるが、それと形態の異なる細菌もわずかに混じっていた。この区域の絨毛の粘膜上皮細胞は萎縮し、その上皮と粘膜固有層には多数のリンパ球の浸潤がみられた(plate I-3)。また剖検的に発赤腫脹していた腸の前半部では、粘膜上皮と粘膜固有層のリンパ球浸潤に加えて剥離性カタルが生じていた(plate I-4)。上皮剥離は局所的であり、露出局所の粘膜固有層には細菌の侵入像、壊死がみられることが多いが、稀に上皮の剥離局所が再生上皮で覆われていることもあった。管腔内に剥落して壊死した上皮細胞内にも細菌の増殖像が認められた。腸後半部から直腸にかけては管腔内における細菌増殖は顕著ではないが、絨毛の粘膜固有層でのリンパ球浸潤は著明であった。

(2) 胃：多くの症例では組織学的に著変はみられないが、剖検的に出血斑を呈していた胃では粘膜固有層や粘膜下織に巣状出血がみられた。その出血巣には組織学的に細菌の侵襲は認められなかった(plate I-5)。

(3) 肝臓：実質細胞は萎縮、混濁腫脹、脂肪変性などに陥り、これらの退行性病変はそれぞれが単独で現われたり、併発したりしていた。これらの病変は肝臓全体に及ぶことが多く、症例によっては血管壁から実質部に及ぶ巣状出血(Plate II-1)や、血管壁における小型細胞浸潤が伴われることもあった。しかし、出血巣や炎症巣に細菌の侵襲を認めることはできなかった。

(4) 脾臓：ニホンウナギの脾臓の構成単位は英動脈と脾髄である。脾動脈の末梢にあたる英動脈の外膜はよく発達して英組織を形成する。英組織は英大円細胞と基質の膠原線維と好銀性細網線維から成る網工で構成され、血液中の異物を濾過する働きがある。脾髄は細網組織から成り、その網工内にはリンパ様組織がび散的に分布し、そのため赤髄と白髄の区分はない。

病魚では英動脈の壊死がよく見られ、症状の進行したものではそれはより著明であった。その壊死は内膜と中膜を主体に起こる場合と外膜である英組織に起こる場合とがあった。前者では血管腔内に赤血球の充満や血栓が生じ、英組織は圧迫萎縮に陥っていた。このような英動脈を支配する脾動脈も充血し、その外膜には濾出性の出血もみられた。脾臓ではリンパ球の数が減少し、細網細胞の活性、遊離化がみられた。それに対して英組織の壊死が顕著な場合には基質の網工が開裂し、脾髄にはうっ血とリンパ様組織の消失が起こっていた(Plate II-2)。いずれの場合も英動脈の壊死局所と脾髄には細菌の侵襲は認められなかった。

(5) 腎臓：腎臓は副腎腺と造血組織から成る頭腎および腎実質と造血組織から成る腹腎（以下腎臓と呼ぶ）に区分される。間質としての造血組織は赤血球や白血球を産生し、組織内には異物貪食能の強い細網内皮細胞で内張りされた類洞がよく発達している。腎実質は動脈支配であるのに対して、類洞は腎門脈を介して尾静脈の支配を受けている。

病魚では糸球体の障害とネフローゼが共通してみられ、症例によっては腎臓血管系の出血もみられた。糸球体における病変は毛細血管の障害とそれによる漿液や線維素の濾出や出血であった。糸球体毛細血管の障害が弱い場合には毛細血管の拡張や上皮の局所的な剥離、少量の漿液の濾出がみ

られるにすぎない。糸球体毛細血管が崩壊した場合には、多量の漿液と線維素がボウマン氏嚢腔内に出て貯溜し、そのためボウマン氏嚢は著しく拡大し、その上皮は極度に扁平化していた。それに続く尿細管の管腔内には濾出物による円柱が形成されたり、尿細管上皮細胞に萎縮、混濁腫脹、硝子滴変性、壊死および壊死細胞の脱落もみられた (Plate II—3)。症例によっては糸球体に濾出性出血が生じ、ボウマン氏嚢腔からその流域の尿細管腔内に赤血球が充満することもあった (Plate II—4)。また、腎動脈、腎静脈、腎門脈などの血管に内皮の壊死と血管壁の濾出性出血がみられることもあった。しかし、糸球体や血管系の障害局所には細菌の侵襲は認められなかった。

造血組織は共通して減数萎縮に陥り、類洞の細網内皮細胞は活性化して腫大するが、食菌像はみられなかった。

(6) 皮膚および体側筋組織：外見的に体表や鰭の発赤が弱い症例では真皮の疎結合組織層に弱い濾出性の出血がみられるにすぎない。発赤が激しい症例では真皮から皮下脂肪組織にかけて出血が起こり、そのため真皮疎結合組織は出血と水腫による疎開および類線維素変性を起こし、鱗囊も漿液や赤血球を容れて拡張していた。この部位の表皮は薄層化していた (Plate II—5)。上記のいずれの出血局所にも細菌の侵襲を認めることはできなかった。なお、体側筋組織には横紋筋線維に空胞変性が希れにみられることもあった。

(7) 心臓：多くの症例で心臓に特記すべき変化は認められないが、希に心臓腔内に血栓が観察された。

(8) 鰓：多くの症例の鰓で、鰓薄板上皮に軽微な出血がみられた。

#### B) 人工感染魚

(1) 細菌接種局所：I—3, I—4, I—5 株を注射し、それから3日後に瀕死状態になった魚では、接種菌は体側筋組織に分布し、その局所には水腫性疎開と軽度の出血が起こり、横紋筋線維は萎縮、空胞変性、壊死などに陥っていた (Plate III—1, 2)。この細菌接種局所の周囲の筋組織、筋隔膜、皮下脂肪組織および真皮の疎結合組織層には出血が生じ、表皮は薄層化していた。また、これらの組織に分布する血管は充血し、その壁には好中球と小円形細胞の浸潤がみられた。それに対して、K—1とK—2株を注射し、その後10日目まで生残した魚では、注射局所に細菌はほとんど認められず、体側筋組織の壊死局所には大単核細胞の浸潤貪食と、線維芽細胞や線維細胞の繁殖がみられた。

(2) 肝臓：肝臓および以下に記す内臓諸器官には上記のI—3, I—4, I—5株を注射した瀕死魚についてのみ病変が観察された。肝臓実質細胞は萎縮や脂肪変性に陥り (Plate III—3)、肝臓血管系には小円形細胞浸潤を伴う血管炎もみられた。しかし、組織学的手法で肝臓に細菌を認めることはできなかった。

(3) 脾臓：瀕死魚では莢組織に少数の細菌が侵襲し、莢動脈全体が壊死するとともに脾髄はうっ血または疎化し、リンパ球が激減していた (Plate III—4)。

(4) 腎臓：瀕死魚ではネフローゼが顕著で、尿細管上皮細胞は萎縮、混濁腫脹、硝子滴変性および壊死などを起こしていた (Plate III—5)。糸球体では毛細管の上皮細胞の硝子滴変性と剥離あるいは係縮の増殖がみられた。造血組織は軽度の減数萎縮を呈し、類洞の拡張と細網内皮細胞の腫大や遊離像がみられた。ただし細菌は組織学的に確認できなかった。

(5) 消化管、心臓、鰓：瀕死魚でもこれらの組織には著変はみられなかった。しかし、心臓腔内や内臓諸器官の血管腔内には少数の細菌が観察された。

## 考 察

ニホンウナギの自然発病魚15尾を病理組織学的に精査したが、いずれの症例でも *A. hydrophila* は腸管に認められるのみで、転移病巣の形成はみられなかった。腸管における *A. hydrophila* の増殖は粘液様物質の中で行なわれ、腸の組織への侵襲は軽微にすぎなかった。*A. hydrophila* は病魚だけではなく、外見的にも解剖学的にも異常がみられないニホンウナギの腸管からも分離される(反町ら, 1971; 青木ら, 1973)。しかし、それらの分離株の多くは魚に対する病原性を持たないか、持っても弱いことが多いと言われている(江草, 1967b, 1972)。また、病魚からの分離株でも病原性は菌株により著しく相違することも知られており(江草, 1967b; 金井ら, 1977)、このことは筆者自身の感染実験からも裏づけられた。ニホンウナギにおける *A. hydrophila* は、ヒトの *E. coli* に似て(坂崎, 1973)、強い毒力をもつ菌株が腸管に入り、そこで増殖することによってひれ赤病をひき起こすことになると考えられる。

ニホンウナギのほか、赤斑病のコイでは腸管から(江草, 1978)、ヨーロッパウナギ(*A. anguilla*)の red pest では皮膚の病巣から(SCHÄPERCLAUS, 1930)、brown trout (*Salmo trutta*)の aeromonad septicemia (RICHARDS, *et al.*, 1978) や largemouth bass (*Micropterus salmoides*)の red sore (HUIZINGA, *et al.*, 1979) では皮膚の病巣と腸管からそれぞれ *A. hydrophila* が分離されている。病理組織学的検討は brown trout と largemouth bass のほか channel catfish (*Ictalus punctatus*) (WOLKE, 1975) の感染症についてなされており、それらを総括すると、皮膚の病巣では壊死、出血および炎症性細胞浸潤が、腸では剥離性カタルがそれぞれ起こり、肝臓実質、腎臓実質および脾臓には組織学的に細菌の侵襲が認められない状態で退行性病変が発現するのが特徴である。また、アユにも *A. hydrophila* 感染症があり(城ら, 1979) 筆者はそれについても病理組織学的観察を行う機会を得た(未発表)。その要点を述べると、細菌が頭部や尾部に経皮的に侵入し、侵入局所で増殖して壊死と出血を起こすが、肝臓と腎臓の実質の退行性病変、や脾臓の莢動脈の壊死と脾髄の血海、肝臓実質部と腎臓造血組織の出血は全て顕著な細菌の侵襲なしに起こされていた。以上述べたように *A. hydrophila* は腸管内で増殖するほか、経皮的にも侵入することがわかった。アユと brown trout の自然発病魚、ニホンウナギと largemouth bass の自然発病魚と人工感染魚にみられるように、どの魚種の *A. hydrophila* 感染症でも実質の退行性病変と出血は細菌の直接的な侵襲なしに発現しており、それぞれの病理組織像には相似する点が多い。この事実は実質の退行性病変や出血の発現に細菌毒素が関与している可能性を強く示唆している。SHIMIZU (1968a, b) は本菌の超音波震盪による破壊菌体の抽出物をニホンウナギの筋肉内に注射し、注射局所に出血や壊死、肝臓実質の退行性病変を認めている。DONTA *et al.* (1978) は本菌の代謝産物が細胞毒性をもつことを指摘している。本菌だけではなくグラム陰性細菌は一般に、肝臓実質、筋線維、血管内皮(血栓形成や出血の原因)などに障害を及ぼし、網内系細胞やリンパ球を活性化するといった内毒素をもつと言われている(本間ら, 1973; 吉田, 1976)。ニホンウナギのひれ赤病に関して、*A. hydrophila* は腸管腔内で増殖するが、他の組織内に増殖像を認めることができないにもかかわらず肝臓や腎臓の実質、脾臓の莢動脈に退行性病変が、また皮膚や鰓などに出血が観察された。腸管における細菌の代謝産物と菌体成分の吸収とそれが生体に及ぼす影響については今後の検討課題であるが、上記の病変の発現には腸から吸収された細菌の代謝産物や菌体成分の影響は無視できないと考えられる。

## 第2章 ニホンウナギの *Vibrio anguillicida* 感染症

1975年徳島県下のいくつかの養殖場のニホンウナギに *Vibrio* 属の細菌による疾病が発生し、室賀ら (1976) はその原因菌の性状が *Vibrio* 属の代表的魚病細菌である *V. anguillarum* と異なり、古く BRUUN, *et al.* (1932) によりヨーロッパウナギのビブリオ病原菌として報告された *V. anguillicida* の性状にほぼ一致すると報告している。*V. anguillicida* は BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology (1974) の8版には掲載されていず、*V. anguillarum* に含まれているが、本論文では室賀ら (1976) の見解に基づいて原因菌を *V. anguillicida* とした。以下本菌感染症の自然発病魚と人工感魚について行なった病理組織学的検討の結果を述べ、原因菌の破壊菌体がニホンウナギに及ぼす影響についても検討したのでその結果も併せて述べる。

### 材料および方法

**自然発病魚：**病魚は1975年の夏に徳島県下の養殖場から採集したニホンウナギ12尾(体重30～100g)で、いずれも現地で解剖され、ファン液で固定後に筆者に送付された。

**人工感染魚：**人工感染魚は培養した *V. anguillicida* をニホンウナギ(体重50～150g)に接種して得た。用いた菌株は広島大学室賀清邦助教授から分与された *V. anguillicida* ET-517 株で、3%食塩加ブレインハートインフュージョン寒天平板培(栄研、以下3% NaCl BHI 培地)で25℃、24時間培養後、集菌した菌体を0.85%食塩水に懸濁させ、湿菌量で体重100g当たり0.2、0.5、1.0mgになるように供試魚の尾部に皮下から筋肉内にかけて注射した。供試魚数は上述の各菌量につき、4、5および10尾とし、接種後水温22～25℃の水槽に入れて経過をみた。0.2mg菌量区では接種後3～4日の間に、0.5mg菌量区では接種後18～24時間の間に瀕死状態に陥った個体を逐次とり挙げた。1.0mg菌量区では接種の約8時間後に5尾とり挙げ、残りは18～24時間の間に瀕死状態になるのを待ってとり挙げた。とり挙げた病魚は外見の観察と剖検後、血液と腎臓から3% NaCl BHI 培地で細菌の分離を行なった。

**破壊菌体注射魚：**破壊菌体は前述の培養した細菌を0.85%食塩水に懸濁し、強力音波震盪器(東陽理工製)を用いて十分に菌体破壊を行ない、450nmのミリポアフィルターで濾過した菌体抽出液を用いた。この濾液について3% NaCl BHI 培地で生菌が混在していないことを確認した。この濾液を湿菌量に換算して体重100g当たり2.0mgと5.0mgになるようにニホンウナギ(体重100～150g)の皮下から筋肉にかけて1～5回、24時間間隔で反復注射した。供試魚数は2.0mg注射区で注射回数1回が2尾、以下2回が2尾、3回が3尾、4回が2尾、5回が5尾であった。また、5.0mg注射区では注射回数1回が2尾、2回が2尾であった。供試魚は注射期間中水温22～25℃の水槽に収容し、最終注射から24時間後に採血、解剖に供した。

上記の自然発病魚、人工感染魚および破壊菌体注射魚とも病巣あるいは注射局所、内臓諸器官を摘出し、ヘリー液またはファン液で固定した。常法に従って4～8μmのパラフィン切片をつくり、マイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色、ギムザ染色、PAS反応、アザン染色を目的に応じて施した。破壊菌体注射魚から得た血液塗抹標本にはギムザ染色、PAS反応、ペルオキシダーゼ反応(佐藤・関谷法)を施した。

### 結 果

#### 肉 眼 的 所 見

A) 自然発病魚：いずれの病魚も軀幹部や尾部の側面に発赤斑あるいは出血を伴う腫脹患部を形



成し (Plate IV — 1), 腫脹患部をもつ病魚は著しく衰弱し, 瀕死の状態にあった。腫脹患部表面の皮膚は壊死し, 患部を切開すると血液を混じえた組織崩壊物が流出することもあった。剖検的には発赤斑を示すだけの病魚の内臓諸器官に著変はみられないが, 瀕死魚では肝うっ血, 脾腫, 腸管の発赤とカタル, 腎臓の軟化などが認められた。

B) 人工感染魚: 人工感染魚のうち, 0.5mgと1.0mg菌量接種魚では, その接種局所の皮膚が注射後4〜5時間で灰白色に変色し, 8〜10時間たつとそこが発赤腫脹した。1.0mg菌量区のうち8時間経過したものを5尾とり挙げて剖検すると, 腸前半部の発赤と軽い脾臓がみられた。0.5mgと1.0mg菌量区の供試魚は注射後18〜24時間で全て瀕死状態に陥り, 0.2mg菌量区のもの3〜4日で瀕死状態に陥った。接種菌量の多寡にかかわらず, 全ての瀕死魚の接種局所は腫脹し, その中央部には表皮剥離を伴う皮膚の壊死, 周縁部には出血が起こっていた。剖検的には肝うっ血, 脾腫, 腸管の発赤とカタル, 全身の血管系の拡張がみられた。

C) 破壊菌体注射魚: 破壊菌体2.0mgと5.0mg注射区とも2回以内の注射魚には外見的にも剖検的にも異常はみられなかった。2.0mg注射区のうち3〜5回反復注射した魚でも注射局所の皮膚にわずかに発赤が認められる程度であり, 剖検的にも軽微な脾腫がみられるに止まり, いずれも斃死はなかった。

#### 病理組織学的所見

##### A) 自然発病魚

(1) 体表患部: 軀幹部や尾部に僅かに発赤斑としてみられる程度の患部でも細菌が真皮から皮下脂肪織にかけて侵入, 増殖し, 特に真皮疎結合織層での増殖が目立った。その真皮疎結合織層には水腫性疎開, 出血および壊死が生じ, その局所の直上部の表皮は剥離していた。皮下脂肪織の病巣部には充うっ血, 出血, 結合織の水腫性膨化が起こっていた。

瀕死魚の腫脹患部では細菌が真皮から皮下脂肪織, 血合筋組織さらには軀幹筋組織 (普通筋線維から成る) に拡がって増殖していた (Plate IV — 2)。その患部域では表皮が剥離し, 真皮疎結合織層は水腫性疎開と壊死を起こし, 真皮密結合織層は水腫または硝子化していた。皮下脂肪織では細菌が結合織内に拡がり, 充うっ血, 出血, 壊死が顕著となっていた。血合筋組織では筋内膜に沿って細菌が拡がり, 血合筋線維は核の中心移行, 萎縮, 肉漿塊の出現, 壊死などの退行性病変を呈し, その間質部には充うっ血, 水腫, 出血が起こっていた。細菌は血合筋組織の下脂肪組織化した筋隔膜から軀幹筋組織およびその筋節を継ぐ結合織性の筋隔膜にかけて拡がっていた。その軀幹筋組織では出血は軽い, 水腫は著しく, 筋内膜を侵された普通筋線維は萎縮や壊死に陥っていた。筋隔膜とそこに分布する体節動脈や体節静脈の血管壁では細菌増殖が著しく, 筋隔膜には水腫性膨化と壊死が起こり, 血管壁での壊死, 出血に加えて, 管腔内への細菌の侵入像もみられた (Plate IV — 3)。

腫脹患部には組織病変がさらに進行しているものもあり, この場合には壊死した真皮と皮下脂肪織とが分離し, 血合筋組織と軀幹筋組織での細菌の増殖のため筋線維の壊死はより激しくなり, 病巣内に出血した赤血球は顆粒状に崩壊するに至っていた (Plate IV — 4)。

以上, 発赤斑患部あるいは腫脹患部の病理組織像を記述したが, 以下に述べる内臓諸器官への細菌伝播と病変は前者の症例では弱く, 後者の瀕死魚では顕著な全身感染と激しい病変が認められた。そこで, 前者を感染初期例, 後者を瀕死例と類別して, 以下それぞれの内臓諸器官の病理組織像を述べる。

(2) 脾臓：本菌は感染初期例で既に莢組織に伝播しており、その莢組織に著変はないが、脾髄はうっ血的になっていた。瀕死例では肉眼的にも脾腫が激しく、組織学的には多数の細菌が莢組織や脾髄に伝播しており、その莢組織は壊死し、脾髄は血海に陥っていた (Plate IV—5)。その脾髄からリンパ様組織は消失していた。

(3) 腸管：本菌は腸管への伝播性が強く、感染初期例で既に腸前半部の絨毛には粘膜固有層の毛細血管周囲に少数の細菌が侵襲し、毛細血管の充うっ血と固有層の水腫性疎開が起こって、局所的に粘膜上皮が剥離していた (Plate V—1)。

瀕死例の腸前半部では多数の絨毛の粘膜固有層において、充うっ血した毛細血管周囲に細菌が微小な集落をつくり、固有層は水腫性疎開、出血、壊死を起こし、粘膜上皮が広く剥離するに至っていた (Plate V—2)。特に細菌伝播の著しい腸管では細菌が粘膜下織、筋層にもみられた。このような症例では腸後半部にも同様の病変がみられた。

(4) 肝臓：感染初期例では肝臓に細菌は観察されず、実質細胞にも病変は認められなかった。瀕死例では多数の細菌が類洞や肝門脈などの血管壁に伝播しており、類洞は激しくうっ血していた。実質細胞への細菌の侵襲はみられないが、うっ血のため実質細胞は圧迫萎縮に陥り、貯蔵糖原を失っていた (Plate V—3)。また局所的に巣状出血や水腫が起こり、出血局所の肝細胞索は崩壊していた。

(5) 腎臓：感染初期例の腎臓には著変はみられなかった。瀕死例では動脈や静脈の血管壁、糸球体毛細血管および造血組織に細菌が伝播し、特にその造血組織は出血を伴ってび散的に壊死に陥っていた (Plate V—4)。糸球体毛細血管には細菌塞栓も形成されることがあり、その内皮と上皮の壊死および基底膜の膨化がみられた。尿細管上皮細胞は混濁腫脹や壊死を呈していた。造血組織の類洞の細網内皮細胞は腫大するが、その食菌像はみられなかった。また、細菌が侵襲した血管壁に炎症反応は認められなかった。

(6) 心臓、鰓、胃、脾臓：感染初期例ではこれらの器官には特記すべき病変はみられなかった。瀕死例ではこれらの器官の血管壁およびその周囲の組織への細菌の伝播が顕著になっていた。心臓では心外膜、心内膜、動脈球外膜に細菌の増殖と水腫や壊死がみられ、心腔内の血液中でも細菌が観察されるが、白血球の食菌像はみられなかった。鰓では細菌は鰓弁動脈の血管壁と鰓薄板毛細血管の基底膜に侵襲し、鰓薄板毛細血管が充血するとともに鰓の上皮下に浮腫も起こっていた (Plate V—5)。

#### B) 人工感染魚

接種菌量の多寡にかかわらず瀕死状態に陥った供試魚は全て同様の病理組織像を示していた。従って本項ではこれらを一括して取り扱った。また病状の進行過程を知る目的で1.0mg菌量区の供試魚について、接種8時間後に5尾とり挙げて観察に供したので、その結果も併せて述べる。

(1) 細菌接種局所：接種8時間後の症例では、接種細菌は注射部位の真皮、皮下脂肪織、血合筋組織および軀幹筋組織の表層域にかけて拡がっていた。その真皮疎結合織層には軽度の水腫と出血が、皮下脂肪織には充うっ血と出血がみられた。筋組織は水腫的になり、横紋筋線維は変性、壊死していた。

瀕死例では細菌が真皮から筋組織の広域にわたって拡がって増殖していた。真皮疎結合織層は水腫性疎開、出血、壊死に陥り、その上の表皮は剥離していた。皮下脂肪織では出血とその結合織の壊死が激しくなり、筋組織には出血、水腫、筋線維の変性と壊死が進んでいた (Plate VI—1)。ま

た、筋隔膜とそこに分布する血管の血管壁での細菌増殖は顕著で、血管腔内への細菌の侵入像もみられた。

(2) 脾臓：人工感染魚でも脾臓への細菌の伝播は起こり易く、接種8時間後には細菌が莢組織に伝播していた。瀕死例では細菌が脾臓全体に拡がり、莢組織は壊死し、脾髄は血海を呈し、リンパ様組織は完全に消失していた。

(3) 腸管：接種8時間後で細菌は腸前半部の絨毛の粘膜固有層内の毛細血管周囲に小集落を形成しており、その絨毛には上皮剥離が起こっていた。しかし、後半部から直腸にかけては異常はみられなかった。瀕死例の腸管では全域にわたって粘膜固有層、粘膜下織、筋層に細菌が伝播し、粘膜固有層の水腫性疎開と壊死とともに上皮剥離が顕著になっていた (Plate VI—2)。

(4) 肝臓：接種8時間後には細菌が類洞内に散見され、中心静脈性に実質細胞が萎縮していた。瀕死例の肝臓では類洞内や血管壁に多数の細菌が伝播しており、類洞はうっ血し、実質細胞は圧迫萎縮に陥っていた。巣状出血も起こり、その局所の肝細胞索は崩壊していた。

(5) 腎臓：接種8時間後では造血組織の類洞に細菌伝播がみられるが、腎実質と造血組織には著変は認められなかった。瀕死例では細菌が動脈や静脈の血管壁、糸球体毛細血管および造血組織とその類洞内に伝播していた。造血組織には、水腫、出血、壊死が生じ、尿管上皮細胞は混濁腫脹や萎縮に陥っていた。

(6) 心臓、鰓、胃、鰾、脾臓：接種8時間後にはこれらの器官に著変はなかった。瀕死例では、心臓の心腔内の血液中に多数の細菌が観察され、心外膜にも細菌伝播がみられたが、心筋層には細菌の侵入はみられなかった。鰓では鰓弁動脈と鰓薄板毛細血管基底膜に細菌が伝播し、浮腫が生じていた。胃では腺層と粘膜下織の毛細血管周囲に、鰾と脾臓では血管壁に細菌の侵襲がみられるが、炎症反応は認められなかった。

#### C) 破壊菌体注射魚

本実験では2.0mgと5.0mgの2段階の注射量を反復注射したが、供試魚の組織学的変化は注射量よりもむしろ注射回数によって異なる傾向がみられた。

(1) 注射局所：破壊菌体2.0mgを1～3回、5.0mgを1～2回反復注射した症例では注射局所の血合筋組織と軀幹筋組織に充うっ血、水腫、出血、好中球の浸潤が生じ、横紋筋線維は萎縮、壊死に陥っていた (Plate VI—3)。注射局所に隣接する皮下脂肪織や真皮には軽度の水腫が起こっていた。破壊菌体2.0mgを4～5回反復注射した症例ではその影響域はさらに拡がり、血合筋と軀幹筋の両組織とも筋線維の変性と壊死は著しくなり、壊死したものは大単核細胞の浸潤と貪食処理を受けていた。間質では筋周膜の類線維素変性、好中球と大単核細胞の浸潤、線維細胞と線維芽細胞の繁殖もみられた (Plate VI—4, 5)。皮下脂肪織や筋隔膜の血管には好中球と小円形細胞の浸潤を伴う血管炎がみられた。真皮の疎結合織層には未分化間葉系細胞の活性像がみられたが、その直上部の表皮には病変はみられなかった。

(2) 肝臓：破壊菌体を2.0mgまたは5.0mgを1～2回反復注射した症例では実質細胞が中心静脈性に混濁腫脹か脂肪変性に陥っていた。それ以上の注射回数の症例では実質細胞の退行域が拡がり肝臓全体に及ぶものもあった。いずれの症例でも類洞の星細胞の繁殖がみられた。

(3) 脾臓：破壊菌体0.2mgまたは5.0mgを1～3回注射した症例では脾髄に顕著なリンパ球数の増加、好中球浸潤、細網細胞の活性化がみられた (Plate VII—1)。また脾静脈の管腔内には多数のリンパ球の移行がみられた。破壊菌体2.0mgを4～5回反復注射した症例では大型のリンパ芽細

胞とリンパ球から成る胚中心様構造も構築されるに至り、脾髄と脾静脈管腔内にはリンパ球の増数が観察された (Plate VII—2)。

(4) 腎臓：いずれの症例でも糸球体には特記すべき病変はないが、尿細管上皮には混濁腫脹がみられた。造血組織では造血細胞と好中球が増数し、この変化は破壊菌体の注射回数が多い症例ほど顕著となっていた (Plate VII—3)。また好中球は好酸性顆粒の増加と細胞質のPAS反応性の亢進を呈していた。なお、類洞の細網内皮細胞は活性、腫大していた。

(5) 消化管：破壊菌体を2.0mgまたは5.0mg 2回以上注射した症例では、胃の粘膜下織 (Plate VII—4) および腸管の粘膜固有層と粘膜下織に未分化間葉系細胞の活性繁殖やそれを伴う血管周囲炎がみられた (Plate VII—5)。

(6) 心臓：破壊菌体を2.0mgまたは5.0mg 1～2回注射した症例では心臓腔内の血液中の好中球が増加し、3～5回反復注射したものでは好中球とリンパ球の増数がみられた。心外膜には未分化間葉系細胞の活性繁殖がみられた。

(7) 塗抹血液：破壊菌体量や注射回数に関係なく、血液塗抹標本での好中球はほとんどが円形核の幼若型で占められ、ペルオキシダーゼ陽性顆粒と好酸性顆粒がともに増加し、細胞質のPAS反応性も亢進していた。

## 考 察

これまでに知られているウナギのビブリオ病にはヨーロッパウナギの *V. anguillicida* (BRUUN, *et al.*, 1932), *V. anguillarum* (SCHÄPERCLAUS, 1927, 1934) および *Vibrio* sp. (MCCARTHY, 1976) 各感染症があり、ニホンウナギでは *V. anguillarum* 感染症 (城ら, 1972) が知られている。そのうち、ヨーロッパウナギの *V. anguillicida* 感染症は夏に発生し、尾部、背鰭、臀鰭および肛門周囲の発赤、体長面における擦過症状の病巣、腸管の発赤、肝うっ血、体側筋組織の出血などが特徴であり、これらの病変はニホンウナギの *V. anguillicida* 感染症と似ている。ヨーロッパウナギの *V. anguillarum* 感染症は秋に発生し、腹部や体側部に発赤斑、出血を伴う腫脹または潰瘍病巣を呈し、その病理組織像は真皮の出血、肝臓類洞のうっ血と実質部の出血で特徴づけられる。それに対してニホンウナギの *V. anguillarum* 感染症は春から夏初にかけて発生し、腹部、肛門周囲および鰭の発赤、肝臓の腫大と出血斑、胃の弛緩拡張がみられる。また、ヨーロッパウナギの *Vibrio* sp. 感染症は初夏に発生し、体表の発赤、腹膜の点状出血、脾腫、腹水の貯溜が特徴で、体側筋組織の壊死と出血、内臓の血管内における夥しい数の細菌の侵入、脾臓と腎臓の壊死などの病理組織像がみられる。上記の各感染症の病理所見から、*V. anguillicida* と *V. anguillarum* 各感染症の間には発生時期が相違するが、解剖と病理組織学的所見には類似点もみられる。しかし、*Vibrio* sp. 感染症は体表に腫脹患部や潰瘍病巣を示さず、腹水症を起こす点が前2者と異なる。

ニホンウナギの *V. anguillicida* 感染症では体表の患部と内臓諸器官の転移病巣に顕著な細菌の侵入と増殖が起こり、組織の壊死、漿液の滲出や出血が主要病変であった。人工感染魚の接種局所と内臓諸器官の転移病巣にも上記の自然発病魚と極めてよく似た病変が現われており、本症の病理組織学的特徴は細菌の顕著な侵襲と壊死を伴う漿液性出血性炎と定義できる。これと同じ形の病変がニジマスの *V. anguillarum* 感染症 (内田, 1961; 保科, 1965; MCCARTHY, *et al.*, 1974), ブリの *Vibrio* sp. 感染症 (木村, 1968) およびアユの *V. anguillarum* 感染症 (舟橋ら, 1974) についても認められ、*Vibrio* 属の細菌感染症に共通する病理組織学的特徴と言える。

*V. anguillicida* を皮下から体側筋内に接種した人工感染魚のうち、接種から8時間後にとり挙げた症例では接種局所の真皮、皮下脂肪組織、体側筋組織に細菌の侵襲、壊死、水腫と出血が起こり、脾臓と腸管に転移病巣がつくられていた。この病変は自然発病魚の感染初期例と酷似している。人工感染による瀕死例と自然感染の瀕死例はともに激しい全身感染とほぼ同一の病理組織像を呈していた。以上の事実から、本症では体表の患部が初発病巣となり、次いで脾臓と腸管に転移病巣をつくり、最終的に全身感染に発展すると考えられた。また、本症は細菌の皮下から体側筋にかけての接種により人工的に再現することが可能であることもわかった。人工感染では接種菌量は自然感染の際に侵入する菌量をはるかにしのいで多く、供試魚は急激に瀕死状態に陥っており、このことは注射病または一次敗血症（小林，1940）に相当すると言える。病理組織学的にも瀕死魚では接種局所と転移病巣に壊死と漿液性出血性炎が起こり、網内系細胞や白血球による防御反応は皆無であり敗血症の特徴が認められた。自然発病魚も同じ型の敗血症を示すことから、自然発病における末期の病変は注射病にも匹敵する激しい敗血症と言える。

*V. anguillicida* の破壊菌体の体側筋内注射により、1) 注射局所の体側筋組織の変性、壊死、水腫、出血、2) 肝臓実質細胞の変性、3) 脾臓におけるリンパ球とリンパ芽細胞の増生、4) 腎臓の尿細管上皮の変性、造血組織の好中球の増生、類洞の細網内皮細胞の活性腫大、5) 全身の未分化間葉系細胞の活性繁殖がひき起こされた。これらの諸反応から本菌の破壊菌体は組織障害をひき起こすだけでなく、魚を感作することがわかった。本菌の破壊菌体の生物活性はグラム陰性細菌の内毒素のそれと多くの点で一致している（本間ら，1973；丹羽ら，1976；吉田，1976）。*Vibrio* 属の細菌の毒素に関する研究はニジマスのビブリオ病原菌（*V. anguillarum* と考えられる）で内田（1961）により行なわれている。それによると56℃、30分の加熱死菌を凍結と解凍を繰返して得た粗毒素を生菌数換算で  $8 \times 10^8$  相当量でニジマスに筋肉内注射すると、筋組織、肝臓、腸管は激しく壊死し、脾臓には円形細胞（由来は不詳）の増生が起こり、最終的に供試魚は斃死したという。他方、室賀（1975）は *V. anguillarum* の merzonin 処理死菌を生菌換算量で 10mg を筋肉内に注射し、ニホンウナギの斃死を認めているが、病理学的な記載はない。内田（1961）の実験結果との比較から、*V. anguillicida* の組織障害に係る毒性はあまり強くなく、腸に対する障害因子もたない。病魚の病理組織学的観察結果からも病変は細菌の侵襲に併せて発現しており、腸管の粘膜上皮の剝離についても同様であった。本菌の感染症では細菌の顕著な組織侵襲こそが病変の発現にとって重要な意義をもつと言える。

### 第3章 ニホンウナギの *Edwardsiella tarda* 感染症

保科（1962）によりニホンウナギのひれ赤病の原因菌とされた *Paracolobactrum anguillimortiferum* と *Aeromonas punctata* は現在ではそれぞれ異った疾病の原因菌とされ、前者は *Edwardsiella tarda* と改められ、パラコロ病の原因菌となっている（WAKABAYASHI, *et al.*, 1973；江草，1978）。本菌感染魚は外見的にひれ赤症状を呈する他に、腎臓主部あるいは肝臓にあたる軀幹に腫れや穿孔を生じ、剖検的には腎臓または肝臓に膿瘍を多発するのが特徴である。筆者は本菌単独による自然感染魚を病理組織学的に検討した結果、本症には造血組織炎型と肝炎型という2種の発現型があることを明らかにした。その一部は既に報告したが（宮崎ら，1976a, b, c），以下に

その後の検討も含めて本症の病理組織像の詳細を述べる。

### 材料および方法

**自然発病魚：**供試魚は稚魚を含めて59尾のニホンウナギである。稚魚はシラス期からクロコ期のもので、1973年2月静岡県下の養殖場で採集した8尾と1976年5月三重県下の養殖場で採集した15尾であり、いずれも加温池で飼育されていた。大型魚は1972年6日から10月にかけて静岡県下の養殖場の露地池から採集した26尾、同年12月に同県下の加温池から採集した4尾、1975年9月に三重県下の養殖場の露地池から採集した6尾の計36尾で、それらの体重は20～240gであった。病魚の外部観察と剖検後、大型魚からは肝臓、腎臓、血液から細菌\*を分離し、内臓諸器官と体表部の患部を摘出してヘリー液またはブァン液で固定した。病稚魚は肝臓か腎臓から細菌\*を分離後、全体をヘリー液で固定した。

**人工感染魚：**供試魚はニホンウナギ（体重100～150g）5尾で、それに三重県下の養殖場の病魚由来株M-3株を以下の手続きで接種した。細菌をBHI寒天平板培地で25℃、24時間培養し、集菌した細菌を0.85%生理的食塩水中に懸濁し、体重100g当たり湿菌量で0.5mg（2尾）および1.0mg（3尾）を供試魚の尾部体側筋内に注射した。接種後水温24～26℃の水槽に収容し、瀕死状態に陥ったものを適時とり挙げ、外見観察後接種患部と腎臓から細菌を分離し、接種患部と内臓諸器官を摘出してヘリー液で固定した。

自然発病魚および人工感染魚の固定標本から常法に従ってパラフィン切片と凍結切片をつくり、マイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色、ギムザ染色、PAS反応、アザン染色、ワン・ギーソン染色、ワイゲルト線維素染色、好銀性細網線維鍍銀染色（渡辺法）、ズダンⅢ染色を目的に応じて施した。

### 結 果

#### 肉 眼 的 所 見

A) 自然発病魚：稚魚では肝臓または腎臓が発赤腫脹し、しばしばその部位の軀幹に水胞や瘻孔が生じていた。大型魚のうち軽症例では外見的異常はみられないが、瀕死例では肝臓または腎臓主部にあたる軀幹が腫大、発赤していた。腎臓主部にあたる軀幹が腫大している症例では同時に肛門周囲も発赤し、腫脹していた。剖検的には主部も含め腎臓全体に白色の小膿瘍が多発し、腎臓全体が腫大していた（Plate VIII—1）。なかでも腎臓主部にあたる軀幹に瘻孔をもつ症例では腎臓主部に膿瘍が開口してできた潰瘍がつくられ、それに接する腹膜と腹筋には出血性の患部が生じ、その中心部が崩壊して瘻孔となっていた。腎臓に生じた潰瘍は空洞となっていることが多いが、その中に悪臭を放つ暗赤色の膿が貯まっていることもあった。腎臓に膿瘍が多発した症例の肝臓は黄褐色から黄白色に変色し、症例によっては可視大の微小な白色の巣状壊死巣がみられた。脾腫、胆嚢の腫大も顕著であり、特に腎臓の膿瘍が腹腔内側に開口して潰瘍化した症例では消化管、鰓、腹膜の表面に膿が付着して白濁していた。

肝臓にあたる軀幹が腫大している症例では剖検的には肝臓に白色の小膿瘍が多発し、肝臓は腫大していた（Plate VIII—2）。肝臓の膿瘍が開口して潰瘍が生じた症例では、それに接する腹膜と腹

\* 静岡県下の養殖場の病魚からの分離菌は WAKABAYASHI, *et al.* (1973) により同定された。三重県下の養殖場の病魚からの分離菌については筆者が主要性状について調べ、*E. tarda* と判断した。

筋に出血を伴う病巣が形成され、その中心部が崩壊して瘻孔をつくっていた。またあるいは、開口した膿瘍からでた膿が腹腔内に貯溜し、消化管、鰓、腹膜の表面は白濁していた。これらの症例の脾臓と腎臓の腫大は顕著であるが、その中に膿瘍の形成は認められなかった。

B) 人工感染魚：供試魚はいずれも細菌接種から2日後に瀕死状態になった。接種局所は腫れあがり、そこを切開すると膿が流出した。剖検的には脾腫、肝臓と腎臓の褪色がみられたが、いずれにも膿瘍の形成は観察されなかった。

#### 病理組織学的所見

A) 自然発病魚：59尾の自然発病魚の病理組織学的検討の結果、本症には化膿性造血組織炎型と化膿性肝炎型という2種の発現型に類別できることが明らかになった。前者に分類された病魚は39尾（そのうち稚魚は12尾）、後者には20尾（そのうち稚魚は11尾）であった。以下それぞれの病理組織学的特徴を記す。

##### a) 化膿性造血組織炎型

(1) 腎臓：初期の病巣は造血組織の類洞につくられた好中球血栓 (Plate VIII—3) とそれに由来する微小膿瘍であった。好中球血栓は類洞内で貪食した細菌の細胞内増殖のため死んだ細胞内皮細胞や好中球を核にして形成されていた。微小膿瘍はこの血栓局所の周囲の造血組織を巻き込む状態で多くの好中球が集簇してつくられていた。その膿瘍は析出線維素の薄い分画線をもち、その中の好中球の一部には食菌像や細菌の細胞内増殖像がみられた。この好中球血栓と微小膿瘍は同一個体で多発する傾向があった。

剖検的に膿瘍形成が認められた腎臓では、病理組織学的に、大小の膿瘍の形成、膿瘍の軟化融解、潰瘍化と排膿、血管破壊による膿塞栓の形成などの種々の病変がみられた。増大過程にある膿瘍では好中球の集簇が顕著で、その辺縁部には浸潤した好中球が成層しており、膿瘍は周囲の組織を圧迫するか組織内に浸潤する状態で増大していた (Plate VIII—4)。その膿瘍の構成主体である好中球は染色質に富む円形核と弱好酸性の豊富な細胞質をもつ幼若型が大半を占め、分葉核球は僅少であった (Plate VIII—5)。膿瘍中央部の好中球は食菌像を示しており、好中球に貪食された細菌は細胞質内の空胞中に存在していた。なかには細菌の細胞内増殖のため死んで菌球となったものも散見された。また、種々の細胞の断片などを貪食した大単核細胞もみられた。このように好中球の集簇の顕著な膿瘍が現われた腎臓造血組織の非侵襲部には幼若好中球と大型の幼若造血細胞が増生し、尿細管上皮細胞の中には軽度の硝子滴変性を示すものもみられた。

膿瘍内の好中球が崩壊して軟化融解の状態にある病巣では、その辺縁域で激しい細菌の増殖が起こり、食菌した好中球に由来する菌球も多数みられた (Plate IX—2)。融解した膿瘍の周囲には析出線維素による分画線が形成されることが多いが、なかには膿瘍辺縁部での激しい細菌増殖のため分画線の線維素が融解し、その周囲の造血組織や腎実質に細菌が侵襲してるものもあった (Plate IX—1)。このように病巣が拡大する過程で、病巣に隣接した太い血管を侵したり、腎臓被膜を侵したりすることもあった。病巣に隣接した太い血管が侵されて崩壊すると管腔内に細菌を含む膿が流入して膿塞栓がつくれ (Plate IX—3)、もとの膿瘍は空洞化していた。塞栓局所の血管壁は細菌の侵襲を受けて壊死することが多いが、細菌の侵襲が弱い場合には内膜の剥離と中膜から外膜にかけて炎症性細胞浸潤が起こっていた。腎門脈が侵された場合にはその流域の造血組織内に転移性の小膿瘍や小さな壊死巣が多発していた。腎静脈が侵された場合には背大動脈から心臓にかけて膿と細菌が拡がっていた。腎臓被膜が侵されて潰瘍化した病巣では排膿が起こって空洞化していた。

このように排膿によって細菌数が激減した病巣は析出線維素の厚い分画線で囲まれ、その外側には肉芽組織が増殖していた (Plate IX—4)。また、肉芽組織が分画線を貫通して病巣内部の空洞内に浸潤し、器質化しつつある病巣もみられた。膿瘍の軟化融解と細菌増殖が激しくなり、そのため膿塞栓や潰瘍の形成がみられる腎臓では造血組織は減数萎縮し、類洞は虚血的に拡張していた。

類洞の細網内皮細胞は活性腫大し、食菌や遊離像を示していた。腎臓の造血組織に微小膿瘍が形成された段階の初期症例では他の組織器官に転移病巣がみられることはほとんどない。これに対して膿瘍内で細菌増殖が激しく、病巣が拡大している症例では、全身感染が起こり、腎臓以外の器官にも諸病変が観察された。従って以下に述べる他の器官の病変はいずれも全身感染の病魚についての記載である。

(2) 脾臓：脾臓への細菌伝播は程度の差はあるが多くの病魚で観察された。細菌の伝播が激しくない症例では小膿瘍の散発あるいは漿液滲出組織融解反応がみられた。脾臓内の膿瘍は好中球の浸潤が弱く、水腫を伴っていた。その非侵襲部の脾髄はリンパ様組織の消失と細網細胞の減数により水腫的になり、脾髄には遊離形の細網細胞、多核巨細胞、ヘモジデリン担細胞が分散していた。なお英動脈の英組織も減数萎縮を起こしていた。(Plate IX—5)。また、漿液滲出組織融解反応を示す場合には、細菌が英組織や脾髄に分散し、その脾髄は水腫化するとともにリンパ様組織は消失し、細網細胞は壊死し、基質の細網線維の網工は融解、開裂していた。英組織の辺縁域も崩壊に至っていた (Plate X—1)。

脾臓全体に細菌の伝播と増殖が激しい症例では、脾髄、英動脈とも壊死に陥り、水腫と好中球浸潤を伴っていた (Plate X—2)。しかし血海状態を呈することはなかった。

(3) 肝臓：肝臓では肝門脈や肝静脈に化膿血栓が、実質部には巣状壊死や類洞内の線維素血栓がよく見られた (Plate X—3)。化膿血栓は血管内膜に付着する小規模なものから血管腔内を充塞するものまであり、その血管には壊死や炎症性細胞浸潤が起こっていることが多かった。壊死巣には細菌増殖が顕著で、少数の好中球浸潤もみられた。非侵襲部の実質細胞は脂肪変性に陥り、類洞は虚血的に拡張していた。

(4) 心臓：全身感染例では心臓腔内の血液中に多数の細菌が観察され、微小な化膿病巣が心内膜や心外膜にみられることもあった。

(5) 鰓：鰓弁動脈に化膿血栓が、鰓薄板毛細血管には細菌塞栓がそれぞれ形成され、その局所は壊死に陥っていることが多かった。

(6) 消化管：一般に胃や腸の血管内に小規模な化膿血栓が散見されるにすぎないが、一症例で胃の粘膜下織に膿瘍が認められた (Plate X—4)。ただし、腎臓の膿瘍の潰瘍化によって排膿が起こった症例では、排出された膿が消化管や腹膜、鰓の表面に付着し、その表層部が細菌の侵入を受けて壊死しているのが観察された。

(7) 皮膚および体側筋組織：腎臓の膿瘍が開口してつくられた潰瘍に接する部分の腹膜から腹筋組織、皮下脂肪織、皮膚にかけて細菌の侵入と化膿性炎が起こっていた (Plate X—5)。腹筋組織の化膿病巣は蜂窩織炎を呈しており、炎症巣が壊死崩壊した場合には腹膜から皮膚を貫通する瘻孔を形成していた。

#### b) 化膿性肝炎型

(1) 肝臓：この発現型では初期病変は肝臓にのみみられた。それは類洞内において細菌を貪食した星細胞や好中球を核とする血栓 (Plate XI—1) の形成であり、次いでその周囲の実質部を巻込むようにして形成された微小膿瘍であった。剖検的に肝臓内に膿瘍が認められる個体では大小の膿



瘍が実質部を圧迫するように形成されていた。膿瘍は主として幼若な好中球から成り、壊死した実質細胞や大単核細胞も少数含んでいた。膿瘍は析出線維素で分画され、隣接する実質細胞は圧迫萎縮を受けていた (Plate XI—2)。非侵襲部の実質細胞は軽度脂肪変性を呈し、類洞は虚血的に拡張し、その中に好中球や大単核細胞がみられた。

軟化融解した膿瘍では細菌増殖が顕著で、辺縁部からその周囲の線維素性分画線を経て周囲の実質部に細菌が侵襲していた。侵された分画線は融解し、実質細胞は壊死するとともに基質の格子状線維も融解していた (Plate XI—3)。このような膿瘍の拡大に際して、隣接の太い血管が侵されると膿が血管腔内に流入して膿塞栓を形成し、さらにその支配域に転移性膿瘍や巣状壊死巣を多発していた (Plate XI—2)。また肝臓被膜が侵されて膿瘍が開口すると、排膿が起こってその内部は空洞化し、周囲の実質組織との境には析出線維素の厚い膜で分画されていた。また排出された膿は潰瘍周囲の被膜の上に付着することが多く、膿内の細菌が被膜からその下の実質部に広く侵襲し、実質部は壊死に陥っていた。なお、排膿後空洞化した病巣は修復に向かうこともあり、その場合には線維素性分画線の周囲に肉芽組織が増殖し、好銀性細網線維の新生、肝細胞の再生も伴われていた (Plate XI—4)。このように種々の段階の病巣をもつ肝臓では非侵襲部の実質細胞は脂肪変性に陥り、類洞は虚血的に拡張し、そこに線維素血栓、星細胞の繁殖がみられた。

肝臓に微小膿瘍が散発しているだけの病魚は肝臓以外の組織器官に特記すべき変化を起こしていなかった。しかし、肝臓に膿瘍が多発し、膿瘍内での細菌増殖が顕著になった病魚では全身感染により肝臓以外の組織器官にも病変がみられた。以下には全身感染に至った症例の組織器官にみられた病変を述べる。

(2) 脾臓：脾臓への細菌伝播が軽度な場合には脾髄に好中球浸潤、細網細胞やリンパ芽細胞の増生、莢組織への好中球浸潤が生じていた (Plate XI—5)。浸潤した好中球はいずれも幼若な細胞でこれらの中には食菌しているものもみられた。脾臓への細菌の伝播、増殖が激しい場合には細菌は脾臓全体に拡がり、莢動脈や脾髄は壊死に陥っていた。

(3) 腎臓：腎臓の造血組織では、肝臓における膿瘍の形成、増大と平行して、幼若好中球とその芽細胞と思われる大型の造血細胞の増生が顕著となり、造血組織の占める割合は著しく増加していた (Plate XII—1)。好中球の芽細胞と思われる細胞は1～2個の核仁を含む円形核と豊富な好塩基性の細胞質をもっており、この細胞の間には弱好塩基性の細胞質と円形核をもつ未熟な好中球が散在するが、幼若赤血球はほとんどみられなかった。類洞内には少数の細菌が伝播しており、多数の好中球の移行、類洞の細網内皮細胞の腫大や食菌像がみられた。

腎臓に細菌伝播が顕著な症例では糸球体毛細血管や造血組織の類洞内に細菌が伝播していた。類洞の細網内皮細胞には食菌像と細菌の細胞内増殖による崩壊像もみられ、その周囲の造血細胞や尿管上皮も細菌の侵襲を受けて壊死していた。

(4) 心臓、鰓：心臓の心内膜には化膿血栓が付着し、心筋層には小さな蜂窩織炎がしばしばみられた。鰓では鰓弁動脈に化膿血栓が散見された。

(5) 消化管：特に肝臓の膿瘍が開口して排膿が生じた場合には膿が腹腔内に貯溜するとともに消化管や腹膜の表面にも付着していた。消化管では細菌が漿膜から筋層にかけてび散的に侵入し、粘膜下織の血管周囲にも伝播しており、侵された組織は壊死していた。

(6) 皮膚および体側筋組織：肝臓に生じた潰瘍に接する腹膜に膿が付着するとともに腹筋組織から皮下脂肪、皮膚に細菌が侵入し、そこには蜂窩織炎が生じていた。なかには、感染局所が崩壊して腹膜から表皮にかけて瘻孔を形成している例もあった。

### C) 人工感染魚

(1) 細菌接種局所：菌量0.5mgおよび1.0mg接種魚とも瀕死例は酷似の病変を呈していた。接種細菌は血合筋と軀幹筋の両組織に拡がって増殖し、感染病巣を形成していた。この病巣の中心域は壊死と水腫が激しいが、辺縁部では蜂窩織炎が起っていた (Plate XII—2)。浸潤した好中球の多くは食菌しており、病巣内には出血も生じていた。病巣直上部の真皮には水腫と出血が起こり、表皮は剥離していた。

(2) 腎臓：どの症例でも細菌が類洞から造血組織に拡がり、造血組織が巣状壊死またはび漫的な壊死を呈し、壊死域内の尿細管上皮細胞は混濁腫脹や壊死に陥っていた (Plate XII—3)。また壊死域の類洞の細網内皮細胞は食菌したり菌球と化していた。

(3) 脾臓：細菌は主に莢組織に伝播し、その莢組織を中心に脾髄に及ぶ巣状壊死が多発していた。その脾髄には好中球の浸潤もみられた (Plate XII—4)。

(4) 肝臓：類洞および実質部に細菌が伝播し、類洞では星細胞の食菌像やそれに由来する菌球が多数みられ、侵された実質部は巣状壊死に陥っていた (Plate XII—5)。非侵襲部の実質細胞は萎縮や脂肪変性に陥っていた。

(5) その他の内臓諸器官：胃と腸の粘膜下織、心臓の心筋層、鰓弁の動脈周囲の結合織に細菌が伝播してそこに小壊死巣がつけられていた。

## 考 察

ニホンウナギの *E. tarda* 感染症は病理組織学的に化膿性造血組織炎型と化膿性肝炎型という明瞭な特徴をもつ二種の発現型に分けられた。その膿瘍の構成主体が幼若好中球であることも特徴である。健康なニホンウナギの循環血液中の好中球組成は幼若型が90～95%を占めると報告されており (保科, 1962), この血液学的特徴が膿瘍の好中球組成に反映していることは疑いない。さらには、膿瘍の増大および増数に併せて造血組織に未熟好中球とその芽細胞の増生が顕著となっていたことから、感染病巣における好中球の需要に従って造血組織から好中球が好若なまま動員され、それが膿瘍の組成に反映していることも考えられる。幼若好中球は食菌するが細菌の細胞内増殖を許して菌球となることが多かった。従って好中球の *E. tarda* に対する殺菌能力は極めて弱いと言えるが、このように好中球の感染防御能力の弱さが幼若な細胞にのみあてはまるか、また成熟の進んだものについてはどうかという問題は今後の検討課題である。

化膿性造血組織炎型では造血組織において、化膿性肝炎型では肝臓において、膿瘍が細菌の増殖のために拡大し、隣接する血管を侵して膿塞栓を形成した結果全身感染が起こっていた。全身感染では両発現とも膿血症的に転移病巣を形成しており、本菌は化膿細菌としてニホンウナギに病原性を示すと言える。また造血組織炎型の全身感染の段階で、脾臓は漿液滲出組織融解病変から変性壊死化病変を呈し、肝臓には巣状壊死が生じていた。それに対して肝炎型では脾臓は細胞増生浸潤反応から変性壊死化病変を呈し、造血組織には細胞増生が顕著となっていた。以上のように病状の進行段階においては両発現型の間に異った病変も現われるが、全身感染末期では壊死を主体とした病変が共通して現われており、両発現型とも感染末期には敗血症に陥っている。この事実から、本菌感染症は化膿性炎で始まり、膿血症的に全身感染を起こし、末期には敗血症に至ると言える。

造血組織炎型では造血組織の類洞に、肝炎型では肝臓の類洞において初期病巣が認められた。初期病巣が貪食した細菌の細胞内増殖像を示す細網内皮細胞や好中球を核とした好中球血栓であった

ことから、体内に侵入した細菌が造血組織または肝臓の類洞の細網内皮細胞に貪食され、そこで増殖することが初期病巣成立の起転となっていると考えられる。健康なニホンウナギの網内系の分布およびその異物貪食能の強さを調査するためにトリパン青による生体染色実験を行なった結果、造血組織の類洞の細網内皮細胞が最も異物貪食能に優れ、肝臓の類洞の星細胞と脾臓の細網細胞の異物貪食能ははるかに劣っていた(宮崎ら, 1976a)。本菌感染症の病魚のうち、造血組織炎型が66%、肝炎型が34%で、前者は後者の約2倍の発現率を示している。この差は網内系細胞の異物貪食能の差異によると考えられる。上記のように初期病巣が腎臓造血組織や肝臓など直接外界に接することのない組織に形成されていた。ニホンウナギの腎臓造血組織は尾部から尾静脈と腎門脈を介して、肝臓は内脈を介して腸から、また後尾静脈を介して尾部からもそれぞれ静脈血を受けている(宮崎ら, 1977d)。この血液循環から細菌の侵入門戸は尾部体表か消化管にあると考えられるが、稚魚の全身組織標本の観察からもそれらの部位に顕著な病巣は認められなかった。このことから、本菌はサケ類のセッソウ病菌 *Aeromonas salmonicida* (宮崎ら, 1975a, b)、ニホンウナギの赤点病菌 *Pseudomonas anguilliseptica* (宮崎ら, 1977a) やビブリオ病菌 *Vibrio anguillicida* (宮崎ら, 1977b, 本論文第2章)、アユのビブリオ病菌 *Vibrio anguillarum* (舟橋ら, 1974) などとは異なり、侵入門戸に明瞭な病巣をつくることはなく、体内に侵入後比較的すみやかに血液の中に入る性質をもっと考えられる。

初発病巣が腎臓造血組織または肝臓に形成されていたことおよびニホンウナギの血液循環からみて、細菌の侵入門戸は尾部体表か腸管にあると類推した。筆者はこれらの自然発病魚の病理組織学的知見に基づいて、*E. tarda* を体側筋内に接種するか、ゾンデを用いて強制経口投与\*する方法で感染実験を行なった。筋肉内接種では接種局所の軀幹筋組織に化膿性炎が起り、本菌が化膿菌であることが裏づけられた。しかし、この場合、肝臓と腎臓造血組織の転移病巣には壊死が強く現われ、化膿性炎は起こらず、注射病または一次敗血症(小林, 1940)の経過をとっていた。他方、経口感染について、保科(1962)は本菌と同種とされる *P. anguillimortiferum* の培養菌を経口投与、胃内注入あるいは直腸内注射で感染の成立および斃死を認めている。保科の実験のうち、後二者の方法では、水温25.5~26.3℃で、処理後発病までの日数が20~25日、斃死までが25~30日と極めて長く、また腸炎が主病変として観察されている。筆者の自然発病魚の観察では腸炎はみられず、また培養菌の強制経口投与では感染が成立しなかった点と相違している。両者の相違点については実験方法、実験条件の違いなどもあり、培養菌を用いた経口感染実験は今後の検討課題の一つである。ニホンウナギ以外に、ボラ(楠田ら, 1976)や channel catfish (*Ictalurus punctatus*) (MEYER, *et al.*, 1973) の *E. tarda* 感染症では腹部や尾柄部の筋肉内に化膿病巣が形成されると言われており、これらの魚種では経皮感染もあるようである。しかし、いずれにしてもニホンウナギにおける *E. tarda* の侵入門戸の究明と人工感染の方法の解明は今後に残された問題である。

---

\* 10尾のニホンウナギに体重100g当たり10~50mg湿菌量を強制経口投与したが、発病魚はなく、いずれの組織器官にも感染病巣の成立を示す病理組織学的変化も観察されなかった。この理由から本文ではこの実験の結果を省いた。

#### 第4章 ブリの *Streptococcus* sp. 感染症

ブリの連鎖球菌症は1974年に南九州沿岸各地の養殖漁場に初めて発生し、1975年には九州と四国のほとんどの沿岸養殖漁場に広がった(楠田ら, 1978)。三重県下では本病は1975年の夏、尾鰭方面で初めて発生し、1977年には県下のほぼ全域に広がった。病魚は眼球および眼周部の壊死、眼球突出、尾柄部および鰓蓋裏面における膿瘍とそれに由来する肉芽腫病巣の形成のいずれかを主病巣とするものが多く、狂奔の後に斃死するのが特徴である。筆者は1974年から1977年にかけて鹿児島、三重、長崎の各県の沿岸養殖漁場から採集した自然発病魚と、分離菌株を用いた人工感染魚について病理組織学的検索を行った。以下その詳細を述べる。

##### 材料および方法

**自然発病魚：**供試魚は75尾で、鹿児島県下の養殖漁場から1974年と1975年の秋および1976年の夏に採集した1年魚計21尾(体重30~700g)、三重県下の養殖漁場から1975、1976、1977年の夏と秋に採集した1年魚計35尾(体重30~500g)、同県下の養殖漁場から1977年の冬に入手した2年魚計10尾(体重400~1,500g)および1976年秋に長崎県下の養殖漁場から入手した1年魚計9尾(体重100~200g)である。これらの各病魚の感染病巣などから3% NaCl BHI 寒天平板培地(栄研)で細菌を分離し、連鎖球菌\*であることを確認した。各病魚から体表患部と内臓諸器官を摘出し、ファン液または10%ホルマリン水で固定した。

**人工感染魚：**供試魚は体重約200gのブリで、下記の各細菌接種区および対照区のそれぞれに5尾ずつ用いた。供試菌株は1976年夏、三重県下の養殖漁場で採集した病魚から分離後、3% NaCl BHI 寒天平板培地で、25℃、24時間培養したものである。集菌後、0.85%食塩水中に懸濁し、1) 体重100g当たり湿菌量で1.0mgを供試魚の尾部体側筋内に注射したり、2) 体重100g当たり湿菌量で20mgをゾンデを用いて胃内に強制投与するか、あるいは、3) 1尾当たり、1白金耳分の菌量を培地から取って、供試魚の眼球表面に塗布した。なお対照区は無処置とした。それぞれの供試魚は海面に設置した網生簀(2×2×2m)4個に収容した。実験期間中の表層水温は25~27℃であった。接種魚のうち筋肉内注射と眼球塗布によるものは全て発病したので適時とり挙げ、細菌接種局所から細菌を分離後、接種局所および内臓諸器官をファン液で固定した。細菌を胃内に強制投与した魚と対照区の魚は2週間後までに何ら病徴発現はなく、2週間後に内臓諸器官を摘出してファン液で固定した。

自然発病魚および人工感染魚からの固定標本から常法に従って4~10μmのパラフィン切片と10μmの凍結切片を作製し、マイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色、ギムザ染色、グットパスチャー染色、PAS反応、アザン染色、ワイゲルト線維素染色、ワン・ギーソン染色、チール・ニルセン染色、好銀性細網線維染色(渡辺法)、ズダンⅢ染色、ズダン黒B染色、ナイル青染色を目的に応じて施した。

##### 結 果

###### 肉 眼 的 所 見

A) 自然発病魚：体表部の患部は全眼部、鰓蓋裏面、尾柄部、胸鰭・腹鰭・臀鰭の基部にみられ

\* 三重県以外の県の養殖漁場で採集された病魚からの分離菌については、標本提供者によって *Streptococcus* sp. と確認された。

た。そのうち眼部の病変は、眼周部の出血、角膜白濁、眼球突出、前眼房から眼周部に及ぶ壊死 (Plate XIII — 1), さらには眼球崩壊などであった。眼部の病変は両側性に発現することが多く、稚魚でも大型魚でも頻発し、眼球脱落は特に稚魚に特徴的であった。尾柄部では皮下に膿瘍かそれに続く肉芽腫が形成されるため腫脹患部が発現することが多いが、その膿瘍の崩壊などにより腱が露出する潰瘍が形成されることもあった。その腫脹患部には白色か赤褐色の膿汁か乾酪物質が充満していた。尾柄部の病巣も両側性に生じることが多く、尾柄部に病巣をもつ病魚の尾鰭は発赤し、しばしば軟条間膜の崩壊がみられた。鰓蓋裏面では皮下に膿瘍かそれに続く肉芽腫形成のため白色の腫瘍が多発し、裏面全体に毛細血管の怒張と皮下出血が及んでいた。この腫瘍内には白色の膿汁か乾酪物質が充満していた。鰓蓋裏面の病巣も両側性に生じる傾向があるが、表面に現われることはなかった。また、鰓蓋裏面に患部をもつ病魚はしばしば尾柄部にも患部を形成していた。胸鰭などの鰭基部には腫脹患部が浅い潰瘍が形成され、その鰭の先端には軟条間膜の発赤と崩壊もみられた。患部の発現は胸鰭では一側性であるが、腹鰭や臀鰭では両側性となる傾向があった。上記の種々の部位に発現した腫脹患部から採集された膿汁か乾酪物質には検鏡と培養によって多数の連鎖球菌が認められた。

体表部に発現した患部のうち全眼部、尾柄部、鰭基部の患部はそれぞれが単独で現われるが、鰓蓋裏面の患部は他の部位の患部とともに併発していることもあった。病変の現われ方に年、季節、水域、魚の年齢による特異性はみられなかった。

剖検的には多くの症例に共通して心外膜一心囊膜炎、肝臓の変色、脾萎縮または脾腫がみられた。心外膜一心囊膜炎は心臓と動脈球および心囊膜の表面に白色の炎症性構築物が形成されるのが特徴で、小規模な場合には心臓各部と心囊膜を部分的に覆うにすぎないが、激しい場合には心房と心室、心室と動脈球、さらには心臓各部と心囊膜との間に炎症性構築物による癒着もみられた (Plate XIII — 1)。肝臓の病変は変化に富み、軽度の褪色やうっ血、巣状出血を伴う激しいうっ血、黄褐色への変色、小水泡の多発と黄土色への変色などの病変が現われ、後三者は狂奔する瀕死魚に観察された。脾臓は萎縮するものが多いが、なかには脾腫もみられた。しかし、腎臓、胃、腸、幽門垂には著変はみられなかった。なお鰓蓋裏面に腫瘍形成が顕著な症例の鰓では最外葉に壊死もみられた。

B) 人工感染魚：細菌を筋肉内接種した魚は接種から3～5日後に全て斃死するか瀕死の状態に陥り、接種局所は軽度の腫れを呈し、供試魚5尾中2尾に軽度の眼球突出もみられた。剖検的には全供試魚に心外膜炎が生じ、肝うっ血、軽度の脾萎縮か脾腫がみられた。眼球表面に細菌を塗布した魚は塗布の5～7日後にいずれも前眼房の壊死あるいは眼球突出を起こして斃死するか瀕死状態に陥った。剖検的には心外膜炎、肝うっ血、脾萎縮がみられた。なお、細菌を胃内に強制投与した魚および対照区の魚ではともに外見的、剖検的異常はみられなかった。

#### 病理組織学的所見

##### A) 自然発病魚

(1) 全眼部\*：角膜混濁、眼球や眼瞼の出血など軽度の病変の場合には、連鎖球菌が結膜から角膜あるいは眼瞼にかけて感染、増殖して多数の微小集落をつくり、角膜上皮に壊死、結膜と眼瞼に壊死、水腫、線維素析出、好中球浸潤、出血がそれぞれ起こっていた。前眼房と眼瞼が壊死するか眼球突出を呈している場合には、細菌が結膜から角膜、虹彩、眼球網膜など眼球内部に侵入すると

\* 魚の眼では眼球周囲の嚢およびその嚢の眼球面から眼球の角膜までの上皮には名称がない。筆者はそれらの位置と構造から前者を眼瞼、後者を結膜と呼ぶことにした。

ともに眼球周囲の鞏膜、眼窩部脂肪織、視神経束、動眼筋組織、動鰓蓋筋組織、頭骨の軟骨膜にかけて侵入増殖していた。眼球突出を起こしたものではさらに脈絡膜の毛細血管が著しく拡張し、血管破綻による膜内出血も生じていた。感染局所の組織は壊死し、そこには滲出性炎から肉芽腫性炎に至る炎症反応がみられた。滲出性炎の段階では漿液の滲出、線維素の析出、結合織の類線維素変性、好中球浸潤、大単核細胞の浸潤、出血、充うっ血、血栓形成が観察された。肉芽腫性炎の段階では類上皮細胞層が病巣の辺縁部から病巣内部に伸長し、病巣を非侵襲部から分画していた (Plate XIII—2)。類上皮細胞層で分画された病巣の壊死組織や炎症性滲出物は凝固しているが、連鎖球菌は其中で多数生残し、また類上皮細胞に侵襲して類上皮細胞由来の菌球をつくっていた。類上皮細胞層による被包が進んだ肉芽腫では、その内部は乾酪化していた。

眼球崩壊の状態では眼前房が壊死崩壊し、レンズと硝子体が消失し、鞏膜の硝子軟骨や網膜が露呈しており、眼底部の網膜、鞏膜および眼窩脂肪織には大小の肉芽腫形成がみられた (Plate XIII—3)。

(2) 尾柄部、鰓蓋裏面、各鰭基部の患部：これらの部位の病巣は基本的に共通した病理組織像を呈していたのでまとめて記す。感染病巣は真皮から皮下結合織、さらに筋組織に及ぶ膿瘍あるいは肉芽腫であった。膿瘍は粟粒大から小豆大の大きで、幼若好中球を主体に少数の赤血球、組織の残骸を含み、その中で連鎖球菌が増殖していた。膿瘍周囲には血管の充うっ血、血栓形成、結合織の類線維素変性、好中球の浸潤がみられた (Plate XIII—4)。膿瘍が軟化融解すると、膿瘍内の連鎖球菌の増殖が進み膿瘍周囲には肉芽組織が増殖して分画線を形成していた。その肉芽組織は新生毛細血管、線維芽細胞、大単核細胞から成り、特に大単核細胞は膿瘍と肉芽組織の境界部に浸潤して成層しており、その一部は食菌していた (Plate XIII—5)。また肉芽組織の毛細血管には連鎖球菌の侵入も認められた。

病巣が肉芽腫化すると、膿瘍を分画する肉芽組織の内側に沿って類上皮細胞層が増生し、膿瘍を被包していた (Plate XIV—1)。被包された化膿性滲出物は凝固から乾酪化しており、その中で脂質の分離、連鎖球菌の減数が起こっていた。

なお、潰瘍化した病巣では、潰瘍底に肉芽組織が増殖しており、その表面に類上皮細胞層が増生していることもあり、それらの表層部には連鎖球菌が認められた。

(3) 心臓：心臓への連鎖球菌の伝播は主に心嚢内に起こり、心筋層および心内腔にはほとんどみられなかった。心嚢に連鎖球菌が伝播すると心外膜表面と心嚢膜内面に大単核細胞を含む線維素の析出が起こり、連鎖球菌は大単核細胞に貪食されるが細胞内増殖して、大単核細胞由来の菌球をつくっていた (Plate XIV—2, 3)。線維素の析出は細菌の伝播と増殖の程度によって異なり、細菌の伝播が弱い症例では小規模にすぎないが、細菌の伝播と増殖が激しい症例では心臓、動脈球、心嚢膜のほぼ全面に線維素が析出し、大単核細胞の浸潤、食菌も顕著となっていた。こうした滲出性炎は眼などの体表患部の炎症反応が滲出性炎から肉芽組織による病巣の分画が起こっている段階の症例にみられた。

症状が進んだ場合には心外膜および心嚢膜表面の病巣は肉芽腫性炎に進展しており、類上皮細胞層による感染局所の分画と被包がみられた。類上皮細胞層は心外膜や心嚢膜と細菌が分布する析出線維素層との境界部に増生し、さらに細菌とともに炎症性滲出物を被包して肉芽腫をつくっていた (Plate XIV—4)。肉芽腫が形成されると、被包された析出線維素は凝固し、大単核細胞は凝固壊死し、それらはさらに乾酪化していた。連鎖球菌はその乾酪物の中でも集塊を成して生残していた (Plate XIV—5)。類上皮細胞層と心外膜、動脈球外膜との間には肉芽組織の増殖が起こっており、

心外膜や動脈球外膜にも線維素の沈着、血管の拡張、線維芽細胞の繁殖、それに大単核細胞の浸潤がみられた。細菌伝播が弱い場合には肉芽腫は小規模なものが散在するにすぎないが、細菌の伝播と増殖が激しい症例では、心室、心房あるいは動脈球を覆い尽くすほどの広大な肉芽腫がしばしば形成され、心臓の各部分および心嚢膜との間に癒着も起こっていた (Plate XV—1)。

しかし、心筋層、心内膜、動脈球の中・内膜には著変はみられなかった。

(4) 肝臓：養殖ブリの肝臓実質細胞は多量の中性脂肪を貯蔵しており、従ってパラフィン切片の染色標本では実質細胞の細胞質は淡明である。褪色した肝臓では実質細胞が中心静脈性に萎縮していた。黄褐色に変色した肝臓では実質細胞の萎縮が広範囲に及び、極度に萎縮して壊死した細胞が散在していた (Plate XV—2)。巣状出血を呈する肝臓では、出血は表層部に起こっており、実質細胞は中性脂肪を貯蔵したものが多く、微小な硝子滴が出現する硝子滴変性に陥ったものもみられた (Plate XV—4)。黄土色に変色した肝臓では実質細胞に硝子滴変性が生じていた。その硝子滴変性は細胞質内の空腔中に大小の硝子球が現われるのが特徴で、その硝子球はワイゲルト線維素染色に紫染するが脂肪染色に陰性、チール・ニルセン染色で抗酸性はなく、硝子滴と同様の性質をもっていた。この変性が現われた肝臓には線維素に富む漿液を貯溜した小水胞も形成されていた (Plate XV—5)。また、これらの病変部への連鎖球菌の侵襲はみられなかった。

ただし、少数例において肝臓被膜表層に微小な連鎖球菌性の肉芽腫が散見されることもあった (Plate XV—3)。

(5) 脾臓：萎縮した脾臓では英動脈の英組織が萎縮するかあるいは英組織に赤血球が拘着して変性に陥り、そのため脾髄は虚血的に萎縮するとともに脾柱の平滑筋細胞が集束して脾柱構造が明瞭となっていた (Plate XVI—1)。脾髄には細網細胞の遊離像がみられるが、リンパ球およびリンパ芽細胞の増生は認められなかった。英組織や脾髄への細菌の侵襲は認められなかった。

(6) 腎臓：どの病魚でも尿管上皮細胞に混濁腫脹、硝子滴変性、壊死といった退行性病変がみられ、その程度は瀕死魚ほど著しかった。しかし糸球体に著変はみられなかった。造血組織では、体表の患部に化膿性炎が起こっている症例においては、幼若好中球やその芽細胞と思われる造血細胞の増生がみられた。瀕死魚では造血組織は減数萎縮を起こしていた。類洞の細網内皮細胞は腫大し、遊離像も呈するが、連鎖球菌貪食像はみられなかった。

(7) 消化管：胃、幽門垂、腸のいずれにも特記すべき異常はなく、ただ少数例で腹膜に連鎖球菌による微小な肉芽腫が散見された。

(8) 鰓：一般に鰓に著変はないが、鰓に壊死が起こった症例では、鰓弁と鰓薄板が連鎖球菌の侵襲を受けて壊死に陥っていた。

#### B) 人工感染魚

人工感染による発病は細菌を筋肉内に注射したものと眼球塗布したものに限られていた。

(1) 細菌注射局所：連鎖球菌が注射された局所の軀幹筋組織は巣状に壊死し、そこに漿液の滲出、多数の好中球や大単核細胞の浸潤が起こり、この局所の辺縁部には類上皮細胞層による被包が進んでいた。 (Plate XVI—2)。

(2) 眼：細菌を塗布した症例では、連鎖球菌が角膜、結膜、眼窩部脂肪織に侵入し、角膜と結膜には壊死、出血、線維素の沈着がみられた。また眼窩部脂肪織の感染病巣には類上皮細胞層による分画、被包がみられた (Plate XVI—3)。

なお、細菌を筋肉内に注射した症例における眼球突出では、眼底部に連鎖球菌による小型の肉芽腫が形成され、脈絡膜の毛細血管束は激しく拡張していた (Plate XVI—4)。

(3) 心臓：どの病魚でも心臓の心外膜、動脈球の外膜、心嚢膜などの表面に感染病巣がみられた。感染病巣では心外膜や動脈球外膜などと連鎖球菌を含む折出線維素層との境界部に類上皮細胞層が増生して病巣を分画したり、小型の肉芽腫を形成していた (Plate XVI—5)。しかし、心筋層、心内膜、動脈球中・内膜に著変はみられなかった。

(4) 肝臓：どの病魚でも実質細胞は萎縮を呈し、なかには壊死細胞が散見された。

(5) 脾臓：萎縮した脾臓は自然発病魚のものと同じ病変を呈していた。

(6) 腎臓：腎臓ではネフローゼ、造血組織の減数萎縮などがみられた。

(7) 消化管、鰓：どの病魚でもこれらの器官には著変はみられなかった。

## 考 察

自然発病魚の全眼部、尾柄部、鰓蓋裏面および心臓における感染病巣は、病理組織学的に、概ね滲出性炎から肉芽腫性炎に進展する炎症反応を呈していたが、その形態は上記のそれぞれの組織器官で若干異っていた。つまり、1) 全眼部の感染病巣では、壊死、漿液滲出・線維素析出・出血・好中球浸潤などの滲出性炎に大単核細胞の浸潤が加わった複雑な炎症反応から、肉芽組織の増殖を伴った肉芽腫性炎に移行していた。2) 尾柄部、鰓蓋裏面および各鰭の基部に発現した感染病巣では、膿瘍形成を特徴とする化膿性炎から、肉芽組織による膿瘍の分画を経て、類上皮細胞層による膿瘍の被包を特徴とする肉芽腫性炎に至る炎症反応が起こっていた。3) 心臓の心嚢内では線維素の析出と大単核細胞の浸潤が組合わさった炎症反応から、肉芽腫性炎に至る炎症であった。人工感染魚の細菌接種部位でも肉芽腫性炎が確認された。以上の観察結果からブリの連鎖球菌症は肉芽腫性炎の発現で特徴づけられた。また最近ブリと同じ漁場で飼育されている、マアジ、ヒラアジ、インダイにもブリ連鎖球菌症原因菌\*による疾病が起こっており、病魚の眼、尾柄部、心臓などの感染病巣には肉芽腫性炎の発現がみられた (筆者ら未発表)。上記の事実からブリの連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. は肉芽腫性炎起炎菌に類別できる。

本菌と性状を異にする連鎖球菌による疾病には、ニジマス (HOSHINA, *et al.*, 1958), seacatfish (*Arius felis*) やボラ (*Mugil cephalus*) (PLUMB, *et al.*, 1974) などの連鎖球菌症が知られている。そのニジマスの疾病では心臓、肝臓、腸、腎臓に壊死がみられるが、肉芽腫性炎の所見はない。魚類以外にもヒトや実験小動物に連鎖球菌症が知られているが、*S. pyogenes* 感染症では漿液性出血性炎や化膿性炎が (武田, 1971; 工藤ら, 1973; 鈴江ら, 1974), また *S. zooepidemicus* 感染症では化膿性炎 (工藤ら, 1973; 中川, 1977) がそれぞれ主病徴とされている。このことからブリ連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. の肉芽腫性炎起炎性は特徴的と言える。

肉芽腫形成について、人体医学ではアレルギーの条件下で網内系細胞が類上皮細胞に変態するとされている (武田, 1971)。本病の場合も肉芽腫形成に際して、大単核細胞が繁殖浸潤し、それらとおきかわるよう類上皮細胞が増生していたことから類上皮細胞は大単核細胞由来と考えられる。また、本症では肉芽腫周囲にリンパ球やプラズマ細胞の浸潤層は形成されず、人工感染魚が接種から3~7日後という極めて短い期間に自然発病と同じ肉芽腫をつくるなど、アレルギーの条件とは結びつかない現象もあった。特異抗体の検討を含め、肉芽腫形成とアレルギーとの関係については今後の課題である。

\* マアジなどの病魚から分離された連鎖球菌は宮崎大学農学部青木宙助教授のもとでブリ病原性連鎖球菌と同種と特定された。



本症ではその感染病巣において滲出性炎から肉芽腫性炎に至る炎症経過がみられた。化膿性炎の段階では好中球による食菌は極めて弱く、好中球の崩壊に併行して細菌増殖が進んでいた。大単核細胞は活発な食菌を営んでいたが、連鎖球菌の細胞内増殖を許し、死んで菌球と化すことが多かった。このように好中球と大単核細胞は連鎖球菌に対して有効な感染防御を果たしていないと言える。それに対して、炎症経過の最終段階に現われる肉芽腫では、連鎖球菌は肉芽腫内に被包されると増殖は抑えられるものの生残はしていた。この現象から肉芽腫は感染防御反応として連鎖球菌を被包し、細菌の増殖と拡散を阻止する働きをしていると言える。しかし、細菌が肉芽腫内に生残するという事は逆に抗菌剤による治療を難しくしていることを示唆している。

ブリの連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. では $\alpha$ 型溶血毒(楠田, 1978; 見奈見, 1979)以外の毒素は全く検討されていない。本菌の感染病巣には結合組織の融解、血栓形成、析出線維素の融解、好中球の崩壊など、細菌毒素の作用を示唆するような病変も観察された。また特に肝臓の実質細胞には萎縮、硝子滴変性、壊死などの退行性病変が細菌の侵襲なしに発現しており、細菌毒素の関与が疑われた。本菌の毒素については今後検討されねばならない課題である。本菌の感染経路について、自然発病魚は全眼部、尾柄部、鰭基部または鰓蓋裏面に主患部を形成しており、消化管には著明な病巣は認められなかった。また、人工感染は細菌の筋肉内接種と眼球塗布で成立するが、強制胃内投与では感染は起こらなかった。以上の事実は本菌が経口感染よりも経皮感染する可能性のほが高いことを示唆している。筆者の行った感染実験で、筋肉内接種した魚に眼球突出がみられた症例もあり、また、見奈見(1979)は腹腔内接種により、眼球突出、鰓蓋裏面と尾柄部に腫脹患部の成立をみている。それらの患部はいずれも転移性と考えられる。以上の知見から本菌は眼の諸組織、尾柄部や鰓蓋裏面の皮下結合組織に強い侵襲性を持ち、従ってそれぞれの組織に感染病巣が成立する傾向が著しいと考えられる。なお経口感染については、見奈見(1979)が餌魚のイカナゴ、マイワシ、カタクチイワシなどの内臓から本症原因菌を分離したことに基づいて経口感染を推測している。また江草(私信)は陸上水槽でストレスの多い条件で感染実験を行ない、経口感染が成立したと述べている。しかし、筆者および見奈見(1979)はともに健康な魚を用いて経口感染を試みたが失敗した。以上のことから、本菌は健康な魚に対しては経口的に感染しないが、魚の健康状態が良くない時には経口感染もあるかも知れない。

## 第5章 ブリの *Nocardia kampachi* 感染症

ブリのノカルジア症は1964年に四国の豊後水道沿岸の養殖漁場において初めて発生し、その後、日本海沿岸を除く本州、九州、四国の岸沿養殖漁場にしばしば発生するようになった(窪田, 1977)。三重県下の沿岸養殖漁場に四国から病魚が搬入されてノカルジア症が発生したのは1966年であり、狩谷ら(1968)は原因菌の性状を調べて *Nocardia kampachi* とし、窪田ら(1968)は本病の病徴と病理組織学的特徴を報告した。

ブリのノカルジア症は肉眼的病徴から次の4発現型に類別されている。皮下および内臓諸器官に大型膿瘍が多発する膿瘍型(以下第1型)、体側筋や内臓諸器官に微小結節が多発する結節型(第2型)、鰓に結節が多発する鰓結節型(第3型)および鰓に結節形成が特徴的な鰓結節型(第4型)である。筆者はこれら4種の発現型の病理組織学的検討を行ない、それぞれの特徴を示すことがで

きたので、以下にその結果を述べる。

### 材料および方法

供試魚のうち、第1型は1年魚6尾（体重400～600g）で1977年の秋に三重県下の養殖漁場から採集した。第2型は1年魚5尾（体重400～800g）で1975年と1977年の秋に三重県下の養殖漁場から、第3型は1年魚1尾（体重約3.5kg）で1975年の秋に沖縄県の海洋博覧会会場の海洋牧場から、第4型は1年魚5尾（体重900～1,000kg）で1974年の冬に三重県下の養殖場から、それぞれ集めた。第3型を除く病魚からそれぞれ、1%NaOH小川培地（日水製）を用いて菌を分離した。

各病魚の体表の瘤状突出患部と内臓諸器官を切取り、ファン液、10%ホルマリン水、ヘリー液で固定した。常法に従って4～8μmのパラフィン切片と凍結切片をつくり、マイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色、ギムザ染色、PAS反応、グットパスチャー染色、アザン染色、ワイゲルト線維素染色、細網線維鍍銀染色（渡辺法）、ズダンⅢ染色、ズダン黒B染色を目的に応じて施した。

### 結 果

#### 肉 眼 的 所 見

a) 第1型（膿瘍型）：本型の外見的特徴は小豆大から直径3cmを越す大小の瘤状突出が体表に多発することであった（Plate XVII—1）。瘤状突出は半球状で弾力性があり、突出部の表面は糜爛や排膿による潰瘍がしばしばみられた。突出部を切開すると皮下脂肪織中に白色から黄白色の膿汁か乾酪物質を充満した膿瘍があり、血合筋には粟粒大かそれ以下の微小膿瘍や結節もみられた。剖検的には心臓、腎臓、鰾、鰓に粟粒大かそれ以下の白色の微小膿瘍か結節が、また脾臓ではそれらに加えて米粒大から小豆大の膿瘍も形成されていた。肝臓は褪色するが、感染病巣の発生は極めて少なかった。膿汁を生標本として観察すると菌糸やドルーゼを形成したノカルジア菌および炎症性細胞が多数みられた。

b) 第2型（結節型）：感染初期の病魚は体表に小型の浅い潰瘍を呈し、それを切開すると血合筋に微小結節様病巣がみられた。しかし、内臓諸器には感染病巣はみられなかった。全身感染に至った病魚は体表に小豆大から大豆大の硬い瘤状突出や潰瘍を呈し、それらの患部を切開すると主に血合筋に多数の粟粒大の白色の結節様病巣（病理組織学的には膿瘍および肉芽腫が含まれる、以下同じ）の集塊がみられた。なお、結節様病巣から膿汁が流れ出ることはなかった。剖検的には脾臓、腎臓、鰾などに粟粒大からそれ以下の大きさの白色の結節様病巣が多発していたが、肝臓、心臓、鰓には僅少であった（Plate XVII—2）。

c) 第3型（鰾結節型）：この型の病魚は1尾のみで、その体表には潰瘍を伴う大型の腫脹患部が生じ、剖検的には内臓諸器官に白色の結節様病巣や膿瘍が形成されていた。特に鰾壁には夥しい数の白色の結節様病巣が重り合って出現しており、そのため正常ならば厚さ1mmに満たない鰾壁が約1cmに肥厚していた。その鰾壁を切断すると病巣は内膜と中膜に多発しているが、外膜と赤腺には少なかった。脾臓には微小な結節様病巣や小豆大の膿瘍が多発し、腎臓には微小結節病巣が散見されるが、心臓、肝臓、鰓には少数の結節様病巣がみられるにすぎなかった（Plate XVII—4）。なお、体側筋にはクドア（*Kudoa amamiensis*）（江草，1978）のシストが多数形成されていたが、それらは容易に組織から摘出でき、ノカルジアの病巣と明らかに区別された。

d) 第4型（鰓結節型）：この型の病魚は一般にやせていて体色が淡くなっており、体表には患

部を形成していなかった。剖検的には鰓弁の基部から中央部にかけて小豆大からそれ以下の大きさの白色結節の多発が特徴的であった(Plate XVII—3)。3尾の鰓にはカリグス(*Caligus spinosus*)の寄生もみられた。脾臓、腎臓、鰓には粟粒大以下の白色の結節様病巣が散見されるが、肝臓には病巣はほとんどみられず、黄土色を呈して萎縮していた。病魚から分離されたノカルジア菌の小川培地における集落の形状は狩谷(1968)および楠田ら(1973, 1974)の *N. kampfachi* のものと同じであった。

#### 病理組織学的所見

第1型(膿瘍型)の特徴である皮下脂肪織の膿瘍は組織学的には類上皮細胞層が膿瘍を被包した肉芽腫も含まれていた。第2型(結節型)と第3型(鰓結節型)では全身に発現した結節様病巣は組織学的には微小膿瘍かそれに由来する肉芽腫であった。以上の3型の感染病巣の病理組織像には共通性があり、第4型(鰓結節型)とは明らかに相異していたので、第1型から第3型を一括して扱った。

##### A) 第1・第2・第3型

(1) 初期病巣：ノカルジア菌の伝播は皮下脂肪織と体側筋組織では毛細血管周囲の結合織、心臓では心外膜と心筋層、鰓では鰓薄板毛細血管の基点部、脾臓では莢動脈の莢組織や脾髄、腎臓では造血組織にそれぞれ認められ、伝播したノカルジア菌は糸状菌体を伸して増殖していた。体側筋組織や皮下脂肪織の感染局所では好中球の集簇と未分化間葉系細胞の繁殖が(Plate XVII—5)、また、脾臓と腎臓造血組織では好中球と大単核細胞の集簇がそれぞれみられた。しかし、鰓と心臓の病巣では炎症性細胞の反応は弱かった。

(2) 膿瘍：膿瘍には大型膿瘍と微小膿瘍があった。前者では小豆大以上のものが皮下脂肪織に形成されるほか小豆大以下のものが脾臓に好発していた。皮下脂肪織の大型膿瘍では好中球反応が激しく、薄い肉芽組織で分画されていた。大単核細胞は肉芽組織だけに浸潤していた(Plate XVIII—1)。脾臓の大型膿瘍では好中球反応が激しいが、析出線維素、大単核細胞、類上皮細胞が混った分画線が形成されていた(Plate XVIII—2)。膿瘍内のノカルジア菌は分枝をもつ糸状菌体を伸したり、ドルーゼを多数形成して増殖していた。ドルーゼは放射状に伸びる分枝をもつ糸状菌体とその間に分布する短棒状菌体から構成され、前者はグラム染色で陽性であるが、後者はその染色性が弱かった(Plate XVIII—3)。

微小膿瘍はノカルジア菌の増殖がみられる好中球の集簇を中心にもち、その周囲を大単核細胞の浸潤層で被包されていた。ノカルジア菌は大単核細胞層にも伸長するが、菌体に接している炎症性細胞には食菌像はみられず、退行像が顕著であった。この微小膿瘍は全身性に形成されるが、発現した組織器官によりその形態はそれぞれ異っていた。腎臓造血組織、脾臓、鰓の微小膿瘍はほぼ球形で、大単核細胞層で分画され(Plate XVIII—4)、体側筋組織では横紋筋線維の走向に沿って紡錘形を呈し、大単核細胞を含む肉芽組織で被包されていた(Plate XVIII—5)。心室の心筋層および鰓の鰓弁結合織(Plate XIX—1)の膿瘍はともに不定形で、大単核細胞の反応が弱かった。

(3) 膿瘍肉芽型病巣\*と肉芽腫：膿瘍は分画線を成す大単核細胞層や肉芽組織中に類上皮細胞の増生が進むと膿瘍肉芽型病巣から肉芽腫に移行していた。膿瘍肉芽型病巣は類上皮細胞層を含む肉芽組織、既ち類上皮細胞性肉芽腫が膿瘍を被包した状態のもので、膿瘍と肉芽腫の中間的な病巣で

\*本病の感染病巣の病理組織像はヒトの野兎病(上野ら, 1973)のそれと酷似しているので、野兎病で用いられている名称に従った。

ある。類上皮細胞性肉芽層による被包に際して、この層はしばしばノカルジア菌の侵襲のため局所的に壊死崩壊し、そのためノカルジア菌がこの層の外側に拡がるとともに新たな炎症性細胞の浸潤とそれを被包する類上皮細胞性肉芽層の増殖も起こっていた。このように類上皮細胞性肉芽層が重層した時には内部のものは凝固壊死に陥っていた (Plate XIX—2)。被包された化膿性滲出物は乾酪化、大単核細胞は凝固壊死に陥り、その中のノカルジア菌は長桿状に変形し、ドルーゼも崩壊していた (Plate XIX—3)。

肉芽腫では類上皮細胞層が発達し、その内部は乾酪化が進み、中性脂肪や有機溶媒難溶性脂質の沈着が起こり、ノカルジア菌も減数していた (Plate XIX—4, 5)。老成した肉芽腫では類上皮細胞層は扁平化し、その周囲の肉芽組織は線維化しており、その内部のノカルジア菌の数の減少は顕著で、全て短桿菌形を呈していた (Plate XX—1, 2)。

上述のように感染病巣の炎症反応は化膿性炎から肉芽腫性炎に移行していたことから、病巣が膿瘍を主体としている段階を急性期、病巣が膿瘍肉芽型病巣から肉芽腫を主体としている段階を慢性期とみなし、以下に各組織器官の病変を記す。

(4) 皮膚および体側筋組織：第2型の病魚のうち1尾では皮膚から血合筋組織にかけてのみ病巣がみられ、内臓諸器官には病巣は認められなかった。この個体では皮下脂肪組織に達する潰瘍があり、その潰瘍底に肉芽組織が増殖し、そこにノカルジア菌がみられた。さらにその下の血合筋組織でも毛細血管周囲にノカルジア菌が侵入し、そこに好中球の集簇が起こっていた (Plate XVII—5)。第2型の全身感染例では真皮、皮下脂肪組織、血合筋組織、軀幹筋組織にかけて小豆大から大豆大の感染病巣が形成され、特に血合筋組織に多発していた。そのうち急性例では微小膿瘍であり、慢性例では膿瘍肉芽型病巣か肉芽腫であった。それぞれの病巣内あるいは隣接する横紋筋線維は変形、萎縮、凝固壊死を呈していた (Plate XVIII—5)。

第1型の急性例では皮下脂肪組織に大型膿瘍が、真皮や血合筋組織に微小膿瘍が形成されていた (Plate XVIII—1)。その大型膿瘍が崩壊、排膿後には潰瘍底に厚い肉芽組織層の増殖がみられた。慢性例では皮下脂肪組織に大きな膿瘍肉芽型病巣や肉芽腫が形成され、その周りの真皮や血合筋組織には粟粒大の肉芽腫が散在していた (Plate XIX—4)。

第3型の病魚における体表の腫脹患部では、血合筋組織に多数の粟粒大の肉芽腫が集合して形成され、そのうちの中心部のものは相互に癒着し、同一の類上皮細胞層で被包されるとともに凝固壊死に陥っていた。

(5) 脾臓：第1型の急性例では米粒大から小豆大の膿瘍が多発し、その間に微小膿瘍やそれに由来する膿瘍肉芽型病巣も散在していた (Plate XVIII—2)。慢性例では膿瘍肉芽型病巣や肉芽腫が主体を成すが、大型膿瘍もみられた。その大型膿瘍では類上皮細胞層の増生がわずかにみられるが、成層は不連続的であり、膿瘍は融解していた。

第2型の急性例では微小膿瘍と膿瘍肉芽型病巣が併せて出現していた。慢性例では粟粒大の膿瘍肉芽型病巣や肉芽腫が多発し (Plate XIX—2)、肉芽腫だけの症例もあった。

第3型の病魚は慢性期の段階にあり、第2型の慢性例の脾臓と同じ病変を示していた。脾臓の非侵襲部はいずれの場合も圧迫され、脾髄にはリンパ球や大単核細胞が増生、好中球が浸潤するが、慢性例でも胚中心状の構造はみられなかった。

(6) 腎臓：腎臓では大型膿瘍が形成されないという点を除けば、上述の脾臓と同じ状況の病変がみられた。急性例では微小膿瘍が多発し (Plate XVIII—4)、慢性例では膿瘍肉芽型病巣や肉芽腫が多発していた (Plate XX—1, 2)。病巣に隣接した尿細管は圧迫萎縮に陥り、希れに糸球体毛

細血管にノカルジア菌の菌糸の伝播がみられた。造血組織では膿瘍の形成に合わせて好中球や造血細胞が増生し、類洞の細網内皮細胞は腫大するが、その食菌像はみられなかった。

(7) 肝臓：一般に肝臓には感染病巣が極めて少なく、微小膿瘍か肉芽腫がわずかにみられるにすぎない。実質細胞も萎縮を呈するにすぎなかった。

(8) 心臓：第2型と第3型の病魚では心臓に著明な感染病巣の形成は弱く、慢性例において心室の心筋層に粟粒大以下の肉芽腫が散見される程度であった。第1型の病魚では心外膜や心筋層に感染病巣が多発し、急性例では膿瘍が、慢性例では膿瘍、膿瘍肉芽型病巣、肉芽腫がみられた。

(9) 鰓：鰓での感染病巣の形成は第3型の病魚で最も激しく、鰓壁の内膜から中膜にかけて微小膿瘍、膿瘍肉芽型病巣、肉芽腫が重なりあって多発していた (Plate XX—2, 3)。内膜から中膜に形成された肉芽腫は粟粒大よりやや大きく、その多くは互いに癒着し、共通の類上皮細胞層で被包され、被包内の肉芽腫は全て凝固壊死していた。また内膜が壊死崩壊し、鰓腔内にも菌糸が伸長していた。類上皮細胞層の周囲には炎症性細胞に富む肉芽組織の増殖がみられた。気道壁にも感染病巣がみられるが、赤腺には肉芽腫が点在する程度であった。

(10) 鰓：鰓の感染病巣は第1型の症例で顕著であるが、第2型と第3型では常に観察されるとは限らなかった。病巣は鰓薄板から鰓弁動脈周囲の結合織に形成されており、ノカルジア菌の増殖と組織壊死は顕著だが、好中球浸潤は軽度であった (Plate XIX—1)。病巣周囲には鰓弁上皮の肥厚と鰓薄板の癒着が起こり、鰓薄板毛細血管にはしばしば菌糸塞栓がみられた。ノカルジア菌の増殖が激しい病巣では鰓弁結合織と鰓弁動脈が崩壊し、鰓弁動脈内に大きな菌糸塞栓の形成がみられた。慢性例では病巣周囲に肉芽組織が増殖するが、肉芽腫形成までは至っていなかった。

(11) 消化管：胃や腸管に感染病巣が散見された。胃では粘膜固有層にドルーゼを被包する肉芽腫が形成されると胃腺層から粘膜上皮が崩壊して潰瘍化することもあった。 (Plate XX—4)。

#### B) 第4型 (鰓結節型)

この型の病魚は疾病の流行盛期とそれから約1ヶ月経た末期の2回にわけて採集された。盛期に採集された病魚では感染病巣は増殖性炎が主体で、末期に採集された病魚では感染病巣には肉芽腫性炎が起こっていた。

(1) 鰓：どの症例でも感染病巣の形成は鰓弁において最も顕著であった。感染病巣は角鰓軟骨周囲の結合織に形成され、大きなものは鰓弁の基部からその中央部に達していた (Plate XX—5)。病巣には肉芽組織が増殖するが、その肉芽組織は緻密で毛細血管に乏しく、大単核細胞、線維芽細胞、線維細胞、好塩基性細胞質をもつ大型幼若細胞などの増殖と好銀性細線維や膠原線維の新生が顕著であった (Plate XXI—1, 2)。ノカルジア菌は肉芽組織の内でドルーゼを形成することが多く、ドルーゼ周囲の炎症性細胞は壊死し、肉芽組織の基質となっている好銀性細線維や膠原線維の網工も融解していた。病巣は拡大して鰓弁動脈を侵し、動脈内に肉芽組織が侵入した場合には肉芽組織内に線維素の析出が起こり、流域の鰓薄板毛細血管は虚血に陥っていた。また角鰓軟骨も侵されることがあり、その場合には角鰓軟骨は破断され、その断片を中心にして軟骨細胞の増殖も起こっていた。病巣周囲の鰓弁上皮は肥厚し、鰓薄板の毛細血管は病巣のため鰓弁動脈との連結が破されて虚血化し、鰓薄板相互の癒着も起こっていた。また鰓薄板毛細血管にはノカルジア菌のドルーゼが単独で現われることもあった。

末期に採集した病魚の鰓の病巣には肉芽腫の形成が顕著であった (Plate XXI—3)。肉芽腫は肉芽組織の中で、ドルーゼを被包するように形成され、1個ないし数個のドルーゼを被包する小型のものが多かった。肉芽腫内にはドルーゼとともに炎症性細胞も被包されており、それらの細胞は凝

固壊死していた。なかでも老成した肉芽腫は扁平化した類上皮細胞層と乾酪巣をもち、乾酪巣中のノカルジア菌は死滅していた。

(2) 内臓諸器官：この型の病魚では鰓以外の臓器における転移病巣の形成は軽度であり、脾臓、腎臓造血組織、心臓、鰓に少数の病巣がみられるにすぎなかった。盛期に採集した病魚では脾臓、腎臓造血組織、心臓にノカルジア菌が伝播して菌糸を樹枝状に伸して増殖する初期病巣や、大単核細胞の集簇した結節がみられた。この型では感染局所には大単核細胞の集簇が顕著で、好中球反応は極めて弱く、結節内でノカルジア菌は樹枝状に伸長するのみで、明瞭なドルーゼ形成には至っていなかった。結節内部の細胞は凝固壊死に陥っていた (Plate XXI—4)。

末期に採集した病魚では、いずれの臓器でも肉芽腫が主体で、その肉芽腫内部のノカルジア菌は死滅していた (Plate XXI—5)。

実質臓器の非侵襲部について述べると、脾臓では脾髄の細網細胞が繁殖し、腎臓では造血細胞が軽度に増生するとともに類洞の細網内皮細胞が腫大していた。肝臓では中心静脈性に実質細胞が萎縮していた。

## 考 察

解剖学的所見に基づいた発現型のうち、第1型(膿瘍型)、第2型(結節型)、第3型(鰓結節型)の3型と第4型(鰓結節型)との間には病理組織学的に特徴的な相違がみられた。第1、第2、第3型では膿瘍、膿瘍肉芽型病巣、肉芽腫が共通して観察された。そのうち膿瘍には好中球反応が激しい大型膿瘍と好中球集簇が比較的弱くて大単核細胞の繁殖を伴った微小膿瘍とがあった。そのうち大型膿瘍は第1と第3型に発現するが、微小膿瘍は各型に共通して形成されていた。膿瘍の規模は膿瘍の発現部位とノカルジア菌の増殖の程度に関連していると考えられ、膿瘍の規模に基づいて発現型を分ける意義はない。また、これら3型の慢性期では感染病巣に膿瘍肉芽型病巣と肉芽腫が形成されていた。それぞれの炎症性細胞の変遷とノカルジア菌の動態から膿瘍肉芽型病巣は膿瘍が修飾されたもので、最終的に肉芽腫に至ると考えられる。以上のように第1、2、3型の間では感染病巣の病理組織学的特徴には共通する点が多い。これら3型は、その外見、解剖所見および病理組織学的特徴から、軀幹膿瘍—結節型として1つの発現型にまとめることができると考えられる。

他方、第4型(鰓結節型)ではノカルジア菌の鰓への侵襲性と感染病巣における肉芽組織の増殖が特徴で、鰓以外の内臓諸器官には大単核細胞性結節が形成されるが膿瘍形成はみられなかった。鰓の感染病巣における肉芽組織の増殖は鰓自体の組織構造の特徴に基づいた病変でないことは前述の軀幹膿瘍—結節型において鰓に化膿性炎が起こり、肉芽組織の増殖が弱かったことから理解できる。以上のことから鰓の感染病巣に肉芽組織が急性に現われ、ノカルジア菌の生存とともに増殖し続けることは鰓結節型の特徴と言える。この病理組織学的特徴から、鰓結節型は1つの独立した発現型と言える。従ってノカルジア症には軀幹膿瘍—結節型と鰓結節型という2つの発現型があるとみなすことができる。

楠田ら(1973, 1974, 1979)は自然発病魚からの分離菌について性状検討と感染実験を行っている。それによると筆者の言う軀幹膿瘍—結節型と鰓結節型からの分離菌株の間には性状に多少差が認められると言う。また前者の分離菌株を筋肉内注射や強制経口投与することにより全身に感染病巣が発現し、また後者の分離菌株を筋肉内接種することにより鰓をはじめ全身に感染病巣が形成されたと報告されている。ただし楠田らの報告には病理組織像の記載は全くなく、それぞれの分離菌株がそれぞれの発現型に基づいた炎症反応を招来したか否かは不明であり、発現型が現われる原因

が菌株の相違に基づいているのかどうかはわからない。筆者の観察から鰓結節型では経鰓感染が推察でき、他方、軀幹膿瘍—結節型では経皮感染が推察されたが、激しい全身感染の病魚では感染経路を決定することは困難であった。筆者の観察結果と楠田ら（1979）の実験結果から考え合えると、本菌の感染経路には経皮、経口、経鰓が考えられた。

軀幹膿瘍—結節型の感染病巣に現われた病変は、ヒトの野兎病 (*Francisella tularensis* 感染症) (KITAMURA, *et al.*, 1956; 上野ら, 1973) の病変と酷似していた。既に両者の膿瘍はいずれも大単核細胞の分画線をもち、ともに膿瘍肉芽型病巣へ移行していた。肉芽腫は両者の間で若干異なり野兎病ではラングハンス巨細胞が出現し、ノカルジア症では類上皮細胞層が複数回にわたって増成されることがそれぞれ特徴である。上野ら（1973）によると野兎病では、膿瘍は発病後2週間以内に発現し、その後2～5週の抗体産生期に膿瘍肉芽型病巣に、6週後に肉芽腫へと変遷し、類上皮細胞の増生には抗体の関与が確認されている。それに対してノカルジア症の場合には慢性の症例において膿瘍肉芽型病巣と肉芽腫が併発しているだけではなく、少数ながら膿瘍もみられ、野兎病におけるような一律性の経時的推移は認められなかった。ノカルジア症の病巣における炎症反応の推移と抗体産生の関係については、今後究明されねばならない問題である。

### Ⅲ 総 合 考 察

筆者はニホンウナギの *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillicida* および *Edwardsiella tarda* による各感染症、ブリの *Streptococcus* sp. と *Nocardia kampfchi* による各感染症について病理組織学的検討を加えた。本考察では上記5種の疾病を中心に他の代表的な細菌感染症を含めて感染論的および炎症学的に比較考察を試みた。

上記の5種の感染症の病理組織学的特徴を経時変化を配慮して概略を記すと次のようになる。ニホンウナギの *A. hydrophila* 感染症では原因菌は主に腸管内で増殖し、絨毛にリンパ球浸潤を伴った粘液性剥離性カタル性腸炎をひき起こす。本菌は菌血症的に全身伝播するが、転移病巣をつくらず、細菌の直接的な侵襲なしに、肝臓実質細胞の退行性病変、腎臓のネフローゼ、脾臓の莢動脈・内臓諸器官の血管系・糸球体毛細血管・皮膚の末梢血管にそれぞれ循環障害がひき起こされる。本菌の強毒株は血管、筋組織、肝臓実質細胞に障害をひき起こす毒素を産生することが SHIMZIU (1968, a, b) により明らかにされており、上記の非侵襲性の病変は細菌毒素の作用によるものと考えられる。

ニホンウナギの *V. anguillicida* 感染症では細菌が皮膚から皮下脂肪組織、体側筋組織にかけて侵襲して激しい組織壊死とともに漿液性出血性炎を起こす。全身感染の段階では細菌が全身の血管系、脾臓、腎臓造血組織、腸管などに伝播し、組織壊死、水腫、出血をひき起こしていた。本症では原因菌の激しい組織侵襲により感染局所に壊死とともに漿液性出血性炎が起こるのが特徴と言える。

ニホンウナギの *E. tarda* 感染症では腎臓造血組織あるいは肝臓に膿瘍が多発し、膿瘍の軟化融解と並行して増殖した細菌が全身感染し、その段階で化膿血栓や化膿性の転移病巣を形成し、全身感染末期には敗血症になる。この特徴から *E. tarda* は化膿細菌に類別される。なお本菌はニホンウナギではその侵入門戸に著明な病巣はつくらない。

ブリの *Streptococcus* sp. 感染症では全眼部、尾柄部、鰓蓋裏面、各鰭基部に初発病巣が形成さ

れ、転移病巣は心臓に形成される。全眼では原因菌が結膜、角膜、眼窩部脂肪織に侵入し、壊死、線維素析出、好中球と大単核細胞の浸潤が組合わさった複雑な炎症反応から肉芽腫性炎が現われる。尾柄部、鰓蓋裏面、各鰭基部では原因菌が皮下組織に侵入し、その局所に膿瘍を主徴とする化膿性炎から化膿性増殖性炎を経て肉芽腫性炎に至る炎症反応が起こる。心臓に転移した原因菌は心臓内で増殖し、心臓心外膜、動脈球外膜、心臓膜の表面に大単核細胞の浸潤を伴った線維素性炎から増殖性肉芽腫性炎を起こす。本菌は大単核細胞や類上皮細胞内で増殖する性質をもつが、肉芽腫内ではその活性が低下するものの生残する能力がある。以上のように本菌は肉芽腫性炎起炎菌としての特徴をもつ。

ブリの *N. kampachi* 感染症は肉眼所見から膿瘍型、結節型、鰓結節型および鰓結節型とに類別される。病理組織学的には前三者は軀幹膿瘍—結節型としてまとめることができ、皮下脂肪織、体側筋組織および内臓諸機関に膿瘍から膿瘍肉芽型病巣を経て肉芽腫が多発するのが特徴である。他方、鰓結節型では鰓弁の感染病巣に増殖性炎から増殖性肉芽腫性炎が現われ、内臓諸器官の転移病巣には繁殖性炎から肉芽腫性炎に至る炎症反応が生じる。ノカルジア菌は類上皮細胞層で被包されると増殖が抑えられて死滅する。本菌も肉芽腫性炎起炎菌である。

以上5種の細菌感染症についてその特徴を記した。そのうち *A. hydrophila* はニホンウナギ以外に largemouth bass (*Micropterus salmoides*) の red sore (HUIZINGA, *et al.*, 1979) や brown trout (*Salmo trutta*) の aeromonad septicemia (RICHARDS, *et al.*, 1978), アユのエロモナス感染症 (城ら, 1980) の原因菌として知られ、それぞれの疾病において、細菌の侵襲なしに肝臓、脾臓、腎臓造血組織に細菌毒素の関与により退行性病変が現われることを各研究者が指摘している。*A. hydrophila* 感染症の総合的知見から本菌は細菌自体の侵襲よりもその毒素により病変をひき起こす性質の細菌と言える。

*V. anguillida* 同様に強い組織侵襲性をもつ細菌には *V. anguillarum* (保科, 1965; 舟橋ら, 1974; MCCARTHY, *et al.*, 1974; RICHARDS, *et al.*, 1978), *Vibrio* sp. (木村, 1968), *Vibrio* sp. RT 群 (宮崎ら, 1977c) などのビブリオ菌のほか、*A. salmonicida* (宮崎ら, 1975a, b; FERGUSON, *et al.* 1978), *Pseudomonas anguilliseptica* (宮崎ら, 1977b) および *Flexibacter columnaris* (PACHA *et al.*, 1967; 江草, 1967; 宮崎ら, 1973b; RICHARDS *et al.*, 1978) が挙げられる。アユやサケ・マス類の *V. anguillarum* 感染症では経皮的に、ブリの *Vibrio* sp. 感染症では経皮か経口的に感染が成立して、それぞれの初発病巣と脾臓・腎臓造血組織の転移病巣には壊死と漿液性出血性炎が起こる。サケ・マス類の *Vibrio* sp. RT 群感染症では経皮的に感染が成立するが、初発病巣と転移病巣ともに細菌集落の形成が顕著で、他のビブリオ病に比べて組織壊死は弱く、好中球や大単核細胞の反応がみられる。*A. salmonicida* はサケ類に経皮または経鰓的に感染し、体側筋の病巣では組織壊死と線維素性出血性炎が起こる。鰓の初発病巣および内臓諸器官の転移病巣では細菌塞栓に由来する細菌集落中心の病巣が形成され、組織壊死は細菌集落周囲に限局的である。ニホンウナギの *P. anguilliseptica* 感染症では真皮から体側筋組織にかけて初発病巣が、心臓と全身の血管系に転移病巣がつくられる。感染病巣では細菌の組織侵襲が激しいが組織の壊死は著しくなく、大単核細胞の繁殖性炎が特徴である。真皮の感染病巣には出血が起こる。*F. columnaris* 感染症では鰓と真皮に細菌が強く侵襲し、組織の壊死も激しい。上記の組織侵襲性の強い細菌は共通して組織損傷性があり、プロテアーゼ活性をもつ (江草, 1978)。

*E. tarda* 感染症は化膿性炎で終始し、原因菌は化膿細菌に類別される。本菌と同じ性質の細菌は他に知られていない。



肉芽腫性炎起炎菌には *Streptococcus* sp. と *N. kampachi* のほか、*Pasteurella piscicida* (窪田ら, 1968; 江草ら, 1979), *Corynebacterium* sp. (WOOD, *et al.* 1956 b; WOLKE, 1975; 江草, 1978; 江草ら, 1979) および *Mycobacterium piscium* (AMLACHER, 1970) などが挙げられる。ブリの *P. piscicida* 感染症では原菌は腎臓造血組織の類洞細網内皮細胞・細網細胞・造血細胞, 脾髄の細網細胞, 鰓薄板毛細血管の壁柱細胞などに侵襲して細胞内増殖し, 菌球をつくる性質がある。初期病巣は細菌集落を中心とするが, 集落周囲に大単核細胞の繁殖を経て, 類上皮細胞層による集落の被包が完了すると原因菌は衰退, 消失する。*P. piscicida* は white perch (*Morone americana*) にも感染する (JONSSON, *et al.*, 1968)。その他 *Pasteurella* 属の細菌による感染症はアユ (楠田ら, 1972), Atlantic salmon (*Salmo salar*) と brown trout (*S. trutta*) (HAASTEIN, *et al.*, 1976) などで知られている。アユでは眼球突出, 眼球内出血, 腹水と腸炎が, Atlantic salmon では血液を混じえた膿瘍が筋肉に形成され, brown trout では体表の潰瘍, 眼球突出, 腎臓と脾臓の腫大がそれぞれ観察されている。これらの *Pasteurella* 感染症では病理組織学的知見はなく, 解剖所見として小結節がブリ病魚のように認められないことから肉芽腫形成はないと推察される。従って肉芽腫形成はブリの *P. piscicida* 感染症の特徴である。*Corynebacterium* sp. はサケ・マス類に感染し, 腎臓造血組織の類洞細網内皮細胞と造血細胞, 脾髄の細網細胞, 心臓・体側筋組織・腹膜に繁殖した大単核細胞に侵襲して菌球をつくる。感染病巣は壊死後肉芽腫におきかわる。*Mycobacterium piscium* などの結核菌は種々の魚種に感染し, 感染局所に 大単核細胞の繁殖と肉芽腫の形成が観察されている。上記の肉芽腫性炎起炎菌のうち *Streptococcus* sp., *P. piscicida*, *Corynebacterium* sp. には細胞寄生性も指摘できる。

以上の知見から, 1) *A. hydrophila* は細菌毒素による病変発現を特徴とし, 2) *V. anguillicida*, *V. anguillarum*, *Vibrio* sp., *Vibrio* sp. RT群, *A. salmonicida*, *P. anguilliseptica*, *F. columnaris* は組織侵襲性の顕著な細菌であり, 3) *E. tarda* は化膿細菌, 4) *P. piscicida*, *Streptococcus* sp., *Corynebacterium* sp., *Mycobacterium piscium* および *N. kampachi* は肉芽腫性炎起炎菌に類別される。また, それぞれの感染経路は次のように考えられる。*V. anguillicida*, *V. anguillarum*, *Vibrio* sp., *Vibrio* sp. RT群, *A. salmonicida*, *P. anguilliseptica*, *F. columnaris*, *Streptococcus* sp. および *N. kampachi* は明瞭な初発病巣を侵入局所につくり, その病巣の形成部位から, 経皮感染が主要な経路と考えられる。そのうち, *A. salmonicida*, *F. columnaris* および *N. kampachi* は経鰓感染もする。また, *N. kampachi* は経口的にも感染するようである (楠田ら, 1979)。*V. anguillicida* (本論文第3章), *V. anguillarum* (舟橋ら, 1974; 城ら, 1977), *P. anguilliseptica* (筆者未発表), *A. salmonicida* (筆者未発表), *Streptococcus* sp. (本論文第4章) について, 原因菌をそれぞれ宿主の体側筋内に接種することにより, 実験的に自然発病魚と酷似の病変を再現することができる。特に *V. anguillarum* はその宿主のアユに体重100g当り8.75細胞の割合で体側筋内に接種するだけで発病, 斃死さすという城ら (1974) の報告があり, 接種菌量からも自然感染に近い再現実験と言える。これらの知見は上記の細菌の経皮感染の傍証とみることができよう。それに対して *E. tarda* 感染症のように原因菌が侵入門戸に著明な病巣をつくらず, 感染実験が難しいものでは感染経路の解明は難しい。細菌感染症にはそれぞれ特有の感染経路があるが, それは宿主側や細菌側の条件に加えて環境条件など複雑な要因に支配されていることは疑いなく, 条件によっては本来の経路とは異った経路による感染が起こる可能性も充分考えられる。

初発病巣とそれを中心に広がった病巣で終始し, 菌血症を起こすだけの *A. hydrophila* と *F.*

*columnaris* を除く他の細菌は容易に菌血症を経て全身感染症をひき起こす。菌血症や全身感染症が起こり易いのは、魚類は所属リンパ節を備えていないためと考えられる。転移病巣が多発する本格的な全身感染への進展には、感染病巣が太い血管を侵して、間歇的にまたは継続的に多数の細菌を血液中に供給する敗血病巣の成立が重要な起点となることが多い。敗血病巣の成立方法は細菌によって異なり、*V. anguillicida*, *V. anguillarum*, *Vibrio* sp. RT 群, *P. anguilliseptica* などの感染症では、細菌が血管壁に侵入して激しく増殖することによる。また *E. tarda*, *Streptococcus* sp. および *N. kampachi* の感染症では膿瘍が増大して、*A. salmonicida*, *P. piscicida* および *Corynebacterium* sp. の感染症では増大した細菌集落が血管を侵して敗血病巣となる。*A. salmonicida* 感染症を例にとると、経鰓感染の場合には鰓弁動脈が侵されて全身感染が起こるが、経皮感染の場合には原因菌の血管壁への侵襲が弱いため転移病巣が生じにくい(宮崎ら, 1975 a, b)。この事実は敗血病巣の成立が全身感染症の発現にとって重要な起点であることを示している。

感染病巣の成立により炎症反応が現われるが、その型は人体医学で知られているものとほぼ同じであり、その形式は各病原菌により特異な傾向がみられる。炎症の意義は川喜田(1971)、鈴江ら(1974)、飯島(1976)により詳述されている。それらを要約すると炎症は刺激あるいは傷害に対する病的なまでに高まった組織水準の応答であり、形態的には変質、循環障害、滲出および細胞の繁殖を主徴とし、時間とともに動く複雑な病変であると理解される。魚類の感染病巣に現われた炎症反応の意義を感染防御に特に主眼的をおいて考えると次のようになる。滲出性炎のうち、漿液性炎は組織侵襲性が顕著な *V. anguillicida*, *V. anguillarum*, *Vibrio* sp., *Vibrio* sp. RT 群などの細菌が感染した局所に起こりやすい。漿液の滲出は組織に有害な細菌の代謝産物の希釈と中和に役立つかも知れないが、漿液の蛋白成分は細菌の栄養となり、漿液滲出による結合組織の疎開は細菌の伝播を促すことにもなりかねない。線維素析出は感染局所の分画に参加したり、出血に伴って起こる。前者の例は *E. tarda* や *N. kampachi* 感染による膿瘍の分画あるいは *Streptococcus* sp. の心臓転移病巣における細菌増殖局所の非侵襲部からの分画にみられる。線維索性分画線は細菌や病巣の拡がりを阻止する障壁としての意義が考えられるが、膿瘍の融解に際してその分画線も細菌の侵襲を受けて融解することがあり、強固な障壁とは言えない。しかし、*E. tarda* 感染症による膿瘍が排膿した後は析出線維素と肉芽組織が組み合った分画線が形成され、それが病巣修復の起点となることもある。*Streptococcus* sp. の心臓転移病巣では析出線維索性分画線を被包するようにさらに類上皮細胞層が増生した後に感染局所の原因菌が衰退していた。従って析出線維素が原因菌の封入のための障壁としての役割を果たすためには肉芽組織が類上皮細胞層により補強される必要がある。それに対して *A. salmonicida* が侵入した体側筋組織、*F. columnaris* や他の滑走細菌が感染した鰓弁、*Streptococcus* sp. が感染した結膜には出血に伴って線維素の析出や結合組織の類線維素壊死が生じるが、この場合には障壁としての意義は認められない。

出血性炎は血管が原因菌の直接的な侵襲や細菌の代謝産物などによって傷害を受けた結果生じる。原因菌の侵襲による出血は組織侵襲性が激しい *V. anguillicida*, *V. anguillarum*, *A. salmonicida*, *P. anguilliseptica*, *F. columnaris* などが感染した局所に起こる。細菌毒素が原因と推定される血管障害による出血は、*A. hydrophila* 感染症の特徴の1つであり、ほぼ全身的である。*A. hydrophila* の細菌毒素の研究による知見 (SHIMIZU, 1968 a, b; 清水, 1969) から、内毒素がその原因と考えられている。非侵襲性の出血は *Streptococcus* sp. 感染症の肝臓内出血にもみられ、この場合も細菌毒素が原因と考えられる。

化膿性炎は好中球の浸潤を主体とする炎症反応であり、化膿細菌である *E. tarda* のほか、*Str-*

*eptococcus* sp. や *N. kampaachi* などの肉芽腫性炎起炎菌の感染初期病巣にみられる。魚類の好中球のもつ酵素の働きについては未知な点が多く、ペルオキシダーゼやアルカリフォスターゼなどが知られているにすぎない (ELLIS, 1978)。化膿性炎の主役は一般に円形核をもつ幼若好中球である。この現象は左方移行によるほか、正常状態でも循環血中の幼若好中球の占める割合が非常に高いという特徴が感染病巣の好中球組成にも反映していると考えられる。幼若好中球は *E. tarda* や *Streptococcus* sp. を貪食するが、殺菌、消化作用は弱く、細菌の細胞内増殖により死んで菌球と化することもある。また好中球の崩壊が原因菌の増殖を助長するのも事実である。従って好中球の病原細菌に対する感染防御能は必ずしも強いとは言えない。

繁殖性炎は組織球や他の大単核細胞を含めたいわゆるマクロファージの繁殖が特徴である。マクロファージは網内系由来と考えられておりヒトや実験小動物の網内系として骨髄の細網細胞と類洞の細網内皮細胞、脾髄の細網細胞、肝臓類洞の星細胞、体腔や結合組織の組織球などが挙げられている (AKAZAKI, 1952; 飯島, 1976)。魚類の網内系の研究は少なく、筆者らの検討結果では骨髄が腎臓造血組織に変わるほかには基本的に上記の細胞に一致するが、マクロファージの由来細胞として未分化間葉系細胞も無視できない (宮崎ら, 1976 a, f, 1977 a)。*P. anguilliseptica* 感染症は繁殖性炎を主体とし、この炎症で終始する (宮崎ら, 1977 a)。その細菌はマクロファージにはほとんど貪食されることはない。原因菌が莢膜をもつことが WAKABAYASHI, *et al.* (1973) により認められており、それゆえに捕食から免れていると考えられる。*Streptococcus* sp., *N. kampaachi*, *P. piscicida* (窪田ら, 1970; 江草ら, 1979), *Corynebacterium* sp. (江草ら, 1979) は変遷する炎症経過のなかで繁殖性炎が生じ、いずれの場合もそれは次に来る肉芽腫性炎の前駆反応であった。マクロファージは *N. kampaachi* 以外の細菌を貪食するが、しばしば細菌の細胞内増殖を許しており、その殺菌、消化能力はあまり高くないと考えられる。ただし、上記の肉芽腫性炎起炎菌の感染病巣において、類上皮細胞の出現に先行してマクロファージの反応が生じており、類上皮細胞がマクロファージの浸潤域で増殖、成層していることから類上皮細胞のマクロファージ由来が推察される。

増殖性炎は炎症性肉芽組織の増殖を特徴とするが、その現われ方には次の2通りがある。その1つは *E. tarda* の感染による膿瘍や滑走細菌の感染による潰瘍病巣におけるように、病巣の治癒段階で肉芽組織が増殖する場合で、修復性炎の意味をもつと言える。それに対して *Streptococcus* sp. や *N. kampaachi* による膿瘍を分画被包する肉芽組織は、病巣内の原因菌の増殖と並行して大単核細胞の繁殖や類上皮細胞の増生という修飾を受けつつ終始増殖し、肉芽腫に至る。また *N. kampaachi* 感染による鰓結節型の鰓の病巣では原因菌の侵入増殖と並行して終始増殖を続け、肉芽腫形成という修飾を受ける。このような肉芽組織の増殖は肉芽腫性炎の前駆的な反応として位置づけられる。このような進行性の肉芽組織は魚類の炎症反応にみられる特徴である。

肉芽腫性炎は類上皮細胞層による感染局所の被包を特徴とし、*P. piscicida*, *Streptococcus* sp., *Corynebacterium* sp., *M. piscium* および *N. kampaachi* による感染症にみられる。肉芽腫性炎の発現は原因菌により異なり、*P. piscicida* (窪田ら, 1970; 江草ら, 1979), *Corynebacterium* sp. (江草ら, 1979) および *M. piscium* (AMLACHER, 1970) の感染病巣では繁殖性炎に引き続いて起こり、原因菌と壊死組織を被包し、被包完了後には死滅する。*Streptococcus* sp. の感染病巣では化膿性炎から化膿性増殖性炎を経て (尾柄部や鰓蓋裏面)、あるいは線維索性繁殖性炎 (心臓の転移病巣) につづいて、それぞれ肉芽腫性炎が生じ、炎症性滲出物ともども原因菌を被包する。本菌は肉芽腫内で長期生残するのが特徴である。また *N. kampaachi* 感染症では化膿性炎から化膿性

増殖性炎を経て（軀幹膿瘍—結節型），あるいは増殖性炎につづいて（鰓結節型）肉芽腫性炎が現われ，原因菌と炎症性滲出物を被包する。本菌は肉芽腫内で死滅する。以上のように肉芽腫の発現様式および形態は原因菌によりかなり特異的とも言える。肉芽腫形成は好中球，大単核細胞あるいは肉芽組織を主役とする炎症反応につづいて生じ，最終の反応とも言える。また，肉芽腫内の原因菌は衰退する。こうした事実から類上皮細胞層による被包は好中球や大単核細胞，肉芽組織による感染防御を補強し，かつ原因菌の増殖と拡散を阻止する強固な障壁としての意義があると考えられる。人体医学では肉芽腫性炎にはアレルギーが関与するとされており，肉芽腫周囲でのリンパ球やプラズマ細胞の浸潤，特異抗体の検出がその証左となっている（KITAMURA, *et al.*, 1956；武田，1971；上野ら，1973；鈴江ら，1974）。しかし，魚類の肉芽腫ではリンパ球やプラズマ細胞の浸潤は極めて弱く，脾臓にもリンパ球の動きが少ない。魚類のアレルギー，免疫反応についての病理学的研究はほとんどなく，肉芽腫形成の理論的究明は今後の課題と言えよう。

## 要 約

主要養殖魚種の重要な疾病であるニホンウナギの *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillicida* および *Edwardsiella tarda* 各感染症とブリの *Streptococcus* sp. と *Nocardia kansasii* 感染症について病理組織学的特徴を明らかにし，さらにそれに基づいて魚の感染論と炎症反応について言及した。

### 第1章 ニホンウナギの *Aeromonas hydrophila* 感染症

自然発病魚と人工感染魚の病理組織学的特徴を明らかにした。

1) 供試魚は静岡県（1972年5月，10月）と三重県（1975年5月）の養殖場から採集した自然発病魚15尾，および病魚からの分離菌株を筋肉内接種（体重100g当たり0.5～1.0mg菌量）して得た人工感染魚5尾である。

2) 自然発病魚はひれ赤症状を呈し，*A. hydrophila* は腸管腔内の粘液様物質内で増殖していた。病理組織学的には，腸管に絨毛のリンパ球浸潤を伴う剥離性カタル性腸炎が起り，肝臓実質の退行性病変，腎実質のネフローゼ，腎糸球体・脾臓の英動脈・内臓諸器官の血管系・真皮の末梢血管に血管の障害と循環障害が観察された。

3) 自然発病魚では腸を除く内臓諸器官と皮膚の病変部には細菌の直接的な侵襲が組織学的に認められないことから，病変の発現には *A. hydrophila* の代謝産物や菌体成分の関与が推察された。

4) 人工感染実験では供試魚5尾のうち2尾は生存し，その他の3尾は瀕死状態になった。瀕死魚では接種局所の体側筋組織に壊死と出血がみられ，肝臓と腎臓の実質および脾臓には退行性病変が非侵襲性に現われていた。この肝臓と腎臓の実質の病変は自然発病魚のものと類似していた。

### 第2章 ニホンウナギの *Vibrio anguillicida* 感染症

自然発病魚，人工感染魚および破壊菌体注射魚の病理組織学的特徴を明らかにした。

5) 供試魚は徳島県（1975年夏）の養殖場から採集した自然発病魚12尾と，分離菌株を筋肉内注射した人工感染魚19尾（体重100g当たり0.2mg菌量区4尾，0.5mg区5尾，1.0mg区10尾）および強力音波震盪器によって処理した破壊菌体を筋肉内に注射した18尾（体重100g当たり2.0mg区14尾，5.0mg区4尾）である。

6) 自然発病魚は体表に発赤斑や腫脹患部を呈し，腫脹患部では細菌が真皮から体側筋組織にか

けて侵入増殖し、侵された組織は壊死、水腫、出血を起こしていた。本菌は全身性に激しく侵襲し、脾臓に壊死と出血、肝臓にうっ血、巣状出血および実質細胞の圧迫萎縮、剝離性カタル性腸炎、腎臓造血組織の壊死、鰓の浮腫などをひき起こしていた。

7) 人工感染魚のうち途中で採集した5尾を除く14尾は全て瀕死状態に陥り、自然発病魚と酷似の病理組織像を現わしていた。

8) 自然発病魚と人工感染魚の病理組織学的所見から本菌は体表の患部を初発病巣とし、最終的に全身感染から敗血症をひき起こすことがわかった。また、病変の進展には細菌の組織侵襲性が重要な意義をもつこともわかった。

9) 破壊菌体注射魚では注射局所の体側筋組織に筋線維の変性壊死、炎症性細胞浸潤、水腫、出血が、肝臓実質細胞の変性、脾臓にリンパ球とリンパ芽細胞の増生と胚中心様構造の構築、腎臓造血組織に好中球の増生、全身の網内系細胞の活性繁殖がみられた。この所見から本菌の破壊菌体は魚を感作するが、組織障害作用は弱いと考えられた。

### 第3章 ニホンウナギの *Edwardsiella tarda* 感染症

自然発病魚と人工感染魚の病理組織学的特徴を明らかにした。

10) 供試魚は静岡県（1972年6～10, 12月, 1973年2月）と三重県（1975年9月, 1976年5月）の養殖場から採集した59尾と分離菌株の筋肉内接種により得た人工感染魚5尾（体重100g当たり0.5mg菌量区2尾, 1.0mg区3尾）である。

11) 自然発病魚は剖検的・病理組織学的に肝臓か腎臓造血組織のいずれかに膿瘍を多発しており、この特徴から化膿性肝炎型（20尾）と化膿性造血組織炎型（39尾）に類別された。両者とも膿瘍は幼若好中球を主体として構成され、膿瘍内の細菌は好中球の崩壊に合わせて激しく増殖する傾向がある。その結果膿瘍は融解し、隣接する血管が侵されて膿血症的に細菌の全身感染が起こっていた。以上の所見から、本菌を化膿細菌に類別できた。

12) 全身感染の段階では間葉系組織の反応は発現型によって異なり、化膿性肝炎型では脾臓に細胞浸潤と増生、造血組織に好中球と芽細胞の増生が起こるが、末期には脾臓と造血組織の転移病巣には壊死が主体となっていた。それに対して、化膿性造血組織炎型では脾臓に変性壊死と肝臓実質の退行性病変が起こるのを特徴としていた。以上の所見から全身感染末期では敗血症に進展していると考えられた。

13) 人工感染魚では接種局所の体側筋組織に化膿性炎が起こり、本菌が化膿細菌であることが確認された。しかし、肝臓と腎臓造血組織はともに壊死を主徴とした転移病巣が現われるだけで化膿性病変は生じなかった。このことから生菌の筋肉内接種による発病は注射病的であった。

### 第4章 ブリの *Streptococcus* sp. 感染症

自然発病魚および人工感染魚の病理組織学的特徴を明らかにした。

14) 自然発病魚は鹿児島県（1974, 1975年秋, 1976年冬）、長崎県（1976年秋）および三重県（1975, 1976, 1977年夏と秋）の沿岸養殖漁場から採集した75尾である。病魚は外見的に全眼部の壊死や眼球突出、鰓蓋裏面の腫瘤患部、尾柄部の腫脹患部のいずれか一つを主徴としており、剖検的には心臓表面に偽膜を形成する病巣がみられた。

15) 病理組織学的には全眼部では連鎖球菌が眼瞼、結膜、眼窩脂肪組織などに拡がり、壊死を伴った線維素性化膿性繁殖性炎ないしは肉芽腫性炎を現わしていた。鰓蓋裏面と尾柄部の病巣では連鎖球菌は皮下結合組織に侵入し、そこに膿瘍を、ついで肉芽腫を形成していた。心臓の転移病巣では

線維素析出と大単核細胞の繁殖が起こり、そこに肉芽腫がつくられていた。連鎖球菌は大単核細胞と類上皮細胞内で増殖するが、類上皮細胞層で被包が完了すると増殖が止まっていた。肝臓と腎臓の実質部および脾臓の莢動脈には細菌の直接的な侵襲なしに退行性病変が起こっていた。

16) 人工感染を試みたうち、分離菌株を筋肉内接種（体重100g当り1.0mg菌量，5尾），あるいは眼球塗布（1尾当り1白金耳菌量，5尾）した実験魚はすべて7日以内に発病したが，生菌を強制経口投与（体重100g当り20mg菌量）した5尾は発病しなかった。筋肉内接種魚では接種局所と心外膜に，眼球塗布魚では全眼部と心外膜に肉芽腫性炎を現わし，それぞれの肝臓と腎臓の実質に退行性病変が起こっており，自然発病魚の病理組織像がほぼ再現された。

17) 以上の結果から本菌は全眼部，鰓蓋裏面，尾柄部などに初発病巣を，ついで心臓に転移病巣をつくり，いずれの病巣にも肉芽腫を形成することを特徴とすることが明らかとなった。ブリの連鎖球菌症原因菌 *Streptococcus* sp. は肉芽腫性炎起炎菌であることがわかった。

### 第5章 ブリの *Nocardia kampachi* 感染症

自然発病魚について病理組織学的検討を行なった。

18) 供試魚は外見および解剖所見からi) 皮下に大型膿瘍が形成される膿瘍型（三重県1977秋，6尾），ii) 筋肉や内臓諸器官に微小結節様病巣の多発が特徴的な結節型（同1975，1977秋，5尾），iii) 鰓に結節様病巣の形成が顕著な鰓結節型（沖縄県1975年秋，1尾）およびiv) 鰓に結節形成が顕著な鰓結節型（三重県1975年冬，5尾）に類別された。

19) 病理組織学的にはi)，ii) およびiii) 型の感染病巣には大小の膿瘍が形成され，大型膿瘍は好中球反応が一方向的に強く，微小膿瘍では大単核細胞の反応も加わって好中球の集簇局所を成層，分画していた。大型膿瘍はi) 型の皮下脂肪織と脾臓に，微小膿瘍はi)，ii)，iii) 型の全身に形成されていた。ノカルジア菌は膿瘍内でドルーゼを形成して増殖していた。

20) i)，ii) およびiii) 型の慢性状態では膿瘍肉芽型病巣や肉芽腫結節の形成が顕著で，肉芽腫内のノカルジア菌は衰退していた。

21) iv)型では鰓弁の結節はノカルジア菌のドルーゼを囲む肉芽組織から構成され，慢性状態では肉芽組織内にさらにドルーゼを被包する肉芽腫も形成され，肉芽腫内のノカルジア菌は衰退していた。

22) 以上の所見から i)・ii)・iii) を軀幹膿瘍—結節と統合することができ，本症はこの軀幹膿瘍—結節型と鰓結節型とに大別された。また，本菌は肉芽腫性炎起炎菌に類別できた。

### 総 合 考 察

23) *A. hydrophila*, *V. anguillarum*, *E. tarda*, *Streptococcus* sp. および *N. kampachi* を中心に他の主要な魚類病原細菌 *V. anguillarum*, *Vibrio* sp., *A. salmonicida*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Flexibacter columnaris*, *Pasteurella piscicida*, *Corynebacterium* sp. および *Mycobacterium piscium* をとり挙げ，これらの細菌による疾病について感染論的に考察した。

24) 上記の13種の魚類病原細菌がひき起こす炎症反応について，それぞれの特徴と意義について論議した。

稿を終わるにあたり，本研究の端緒を与えられ，終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜わった東京大学農学部名誉教授江草周三先生に謹んで深謝いたします。

また、本研究のとりまとめに種々の御助言を賜わるとともに多大の御配慮をいただいた三重大学水産学部教授窪田三朗先生に厚く御礼申し上げます。

本研究をすすめるにあたり、文献や菌株の供与および有益な御助言と御便宜を賜わった東京大学農学部助教授若林久嗣先生ならびに広島大学水畜産学部助教授室賀清邦先生に厚く感謝の意を表します。

研究のための供試魚の採集に御協力下さった徳島県水産試験場の城泰彦氏、鹿児島県水産試験場の九万田一己氏ならびに養殖業者各位に深く感謝いたします。

## 文 献

- AKAZAKI, K., 1952. Reticulo-endothelial system. *Acta. Patho. Jap.*, 2 (3) : 113—142.
- AMLACHER, E., 1970. Textbook of Fish Diseases. T. F. H. Publications, New Jersey, Translated by D. A. CONROY and R. H. HERMAN. 302pp.
- BRUUN, A. and B. HEIBERG, 1932. 'The red disease' of the eel in Danish waters. *Meddelelser fra Kommissionen for Danmarks Fiskeri og Mavundersoelser. Serie. Fiskeri*, 9 (6) : 1—19.
- 青木 宙・渡辺 力, 1973. ウナギの養殖池水および腸管より分離された薬剤耐性菌の研究, 日本水誌, 39 : 121—130.
- DONTA, S. T. and HADDOW, A. D., 1978. Cytotoxic activity of *Aeromonas hydrophila*. *Infect. and Immun.*, 21 : 989—993.
- 江草周三, 1967 a. 養殖ウナギの鰓病について. 魚病研究, 1 (2) : 72—77.
- 江草周三, 1967 b. 運動性エロモナス菌について. 同誌, 2 (2) : 181—186.
- 江草周三, 1972. 魚病細菌と魚病. 日本細菌学誌, 27 (6) : 739—744.
- 江草周三, 1978. 細菌症. p97—272. 魚の感染症, 恒星社厚生閣, 東京, 554pp.
- 江草周三・窪田三朗・宮崎照雄, 1979. 魚の病理組織学. 東京大学出版会, 東京, 155pp.
- ELLIS, A. E., R. J. ROBERTS and R. TYLLER, 1978. The anatomy and physiology of teleosts. p13—54. ed. by R. J. ROBERTS, *Fish pathology*. Baillieretindall, London, 318pp.
- FERGUSON, H. W. and D. H. MCCARTHY, 1978. Histopathology of furunculosis in farmed rainbow trout. *Jour. Fish Diseases*, 1 (2) : 165—174.
- 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. 魚病研究, 8 (2) : 136—143.
- HAASTEIN, T. and G. L. BULLOCK, 1976. An acute septicaemic disease of brown trout (*Salmo trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) caused by a *Pasteurella*-like organism. *Jour. Fish Bio.*, 8 : 23—26.
- 本間 遜・斉藤和久・河西信彦・丹羽充, 1973. 細菌内毒素. 講談社, 東京, 574pp.
- HOSHINA, T., T. SANO and Y. MORIMOTO, 1958. A *Streptococcus* pathogenic to fish. *Jour. Tokyo Univ. Fish.*, 44 : 57—68.
- 保科利一, 1962. ウナギの鰓赤病に関する研究. 東京水産大学特別研報, 6 (1) : 1—104.
- 保科利一・四竈安正・江草周三, 1965. ビブリオ病. p255—267. 川本信之編, 養魚学総論, 恒星社厚生閣, 東京, 695pp.
- HUIZINGA, H. W., G. W. ESCH and T. C. HAZEN, 1979. Histopatology of red-sore disease (*Aeromonas hydrophila*) in naturally and experimentally infected largemouth bass. *Jour. Fish Dis.*, 2 : 263—277.
- 飯島宗一, 1976. 炎症と生体防御. 岩波講座現代生物科学12, 岩波書店, 東京, 203pp.
- JANSSEN, W. A. and SURGALLA, 1968. Morphology, phisiology and serology of a *Pasteurella* species pathogenic for white perch (*Rccus americans*). *Jour. Bacteriol.*, 96 : 1606—1610.
- 城 泰彦・室賀清邦, 1972. 淡水養殖ウナギから分離された *Vibrio anguillarum* について. 魚病研究, 6 (2) : 117—119.
- 城 泰彦・室賀清邦, 1977. アユのビブリオ病に関する研究—I. *Vibrio anguillarum* の病原性. 同誌, 12 (3) : 151—156.
- 城 泰彦・大西圭二, 1979. 養殖アユのエロモナス感染症. 同誌 (投稿中)

- 簡 肇衡・宮崎照雄・窪田三朗, 1979 a. 台湾における養殖ニホンウナギのブランキオマイセス症. 同誌, 13(4): 179—182.
- 簡 肇衡・宮崎照雄・窪田三朗, 1979 b. 魚類のイクチオフォヌス症に関する研究—Ⅳ. 自然感染魚の比較病理組織学的観察. 本誌, 6: 129—146.
- 金井欣也・若林久嗣・江草周三, 1977. 養殖ウナギにおける健康魚と病魚の腸内細菌叢の比較. 相違について. 魚病研究, 12(3): 199—204.
- 狩谷貞二・窪田三朗・中村良江・吉良桂子, 1968. 養殖ハマチ・カンパチにおけるノカルジア症について—Ⅰ 細菌学的研究. 同誌, 3(1): 16—23.
- 川喜田愛郎, 1971. 感染論. 岩波書店, 東京. 733pp.
- 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: 81—175.
- KITAMURA, S., M. FUKUDA and T. URAGAMI, 1956. Pathology of tularemia. *Act. Pathol. Jap.*, 6: 719—725.
- 小林六造, 1940. 敗血症の原因菌と成因に就て. 日本医事新報, 940: 4—10.
- 窪田三朗, 1977. 水産用薬品. p30—69, 小華和忠・吐山豊秋・米村寿男編, 動物用医薬品・飼料添加物・新飼料の有用性評価法, フジテクノシステム, 東京, 500pp.
- 窪田三朗・狩谷貞二・中村良江・吉良桂子, 1968. 養殖ハマチ・カンパチにおけるノカルジア症について—Ⅱ 病理組織学的研究. 魚病研究, 3(1): 24—33.
- 窪田三朗・鎌田淡紅郎, 1971. アマゴ癰瘍病の病理組織学研究—Ⅰ 病原菌の集落形成. 同誌, 5(2): 116—119.
- 窪田三朗・木村正雄・江草周三, 1970 a. 養殖ブリ稚魚の細菌性類結節症の研究—Ⅰ 病徴学及び病理組織学. 同誌, 4(2): 111—118.
- 窪田三朗・木村正雄・江草周三, 1970 b. — —Ⅱ 結節形成の機構. 同誌, 5(1): 31—34.
- 工藤正四郎・田所一郎, 1973. レンサ球菌. p443—463, 福見秀雄編, 病原微生物学, 細菌編, 医学書院, 東京 990pp.
- 楠田理一・川合研一・豊島利雄・小松功, 1976. 養殖ハマチから分離された *Streptococcus* 属の新魚病細菌について. 日水誌, 42(12): 1345—1352.
- 楠田理一・三浦 航, 1972. 養殖アユから分離された病原性 *Pasteurella* 菌の性状について. 魚病研究, 7(1): 51—57.
- 楠田理一・中川敦史, 1979. ブリのノカルジア病. 同誌, 13(1): 25—31.
- 楠田理一・滝 秀雄, 1973. 養殖ハマチのノカルジア症に関する研究—Ⅰ 病原菌の形態学的ならびに生化学的性状について. 日水誌, 39(9): 937—943.
- 楠田理一・滝 秀雄・竹内照文, 1974. — —Ⅱ 結節症のハマチから分離された *Nocardia kampfachi* の性状. 同誌, 40(4): 369—373.
- 楠田理一・豊島利雄・岩村善利・佐古浩, 1976. 高知県興津湾のボラ病魚から分離された *Edwardsiella tarda* について. 同誌, 42(2): 271—275.
- MCCARTHY, D. H., J. P. STEVENSON and M. S. ROBERT, 1974. Vibriosis in rainbow trout. *Jour. Wildl. Dis.*, 10: 2—7.
- MCCARTHY, D. H., 1976. Vibrio disease in eel. *Jour. Fish Biol.*, 8(4): 317—320.
- MEYER, F. P. and G. L. BULLOCK, 1973. *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Appl. Microbiol.*, 25: 155—156.
- 見奈美輝彦, 1979. 飼料魚から分離されたハマチ病原性連鎖球菌. 魚病研究, 14(1): 15—20.
- 宮崎照雄・江草周三, 1972 a. スズキのリンホシスチス病について. 同誌, 6(2): 83—89.
- 宮崎照雄・江草周三, 1972 b. 淡水魚の真菌性肉芽腫症に関する研究—Ⅰ キンギョに流行した真菌性肉芽腫症. 同誌, 7(1): 15—21.
- 宮崎照雄・江草周三, 1973 a. — —Ⅱ アユに流行した真菌性肉芽腫症. 同誌, 7(2): 125—133.
- 宮崎照雄・江草周三, 1973 b. — —Ⅲ ブルーギルの真菌性肉芽腫症. 同誌, 8(1): 41—43.
- 宮崎照雄・江草周三, 1973 c. — —Ⅳ 野生魚の真菌性肉芽腫症. 同誌, 8(1): 44—47.
- 宮崎照雄・江草周三, 1973 d. キンギョおよびフナのいわゆる“あなあき病”と“エビスティルス着生ゴイ”について. 同誌, 7(2): 115—124.
- 宮崎照雄・江草周三, 1976 a. ニホンウナギの *Edwardsiella tarda* 感染症の病理組織学的研究—Ⅰ 自然感染—化膿性造血組織炎型. 同誌, 11(1): 33—43.
- 宮崎照雄・江草周三, 1976 b. — —Ⅱ 自然感染—化膿性肝炎型. 同誌, 11(2): 67—76.
- 宮崎照雄・江草周三, 1976 c. — —Ⅲ 自然感染—稚ウナギ. 同誌, 11(3): 127—132.



- 宮崎照雄・江草周三, 1977 a. ニホンウナギの *Pseudomonas anguilliseptica* 感染症の病理組織学的研究—I 自然感染. 同誌, 12(1): 39—49.
- 宮崎照雄・城 泰彦・窪田三朗・江草周三, 1977 b. 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. 同誌, 12(3): 163—170.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1975 a. アマゴ癰瘍病の病理組織学的研究—II. 経鰓感染について. 同誌, 9(2): 204—212.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1975 b. ————III 経皮感染について. 同誌, 9(2): 213—218.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1977 c. サケ科魚類のビブリオ病の病理組織学的研究. 同誌, 12(2): 93—98.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1977 d. 魚類のイクチオフォヌス症に関する研究—I ニジマス稚魚. 本誌, 4: 45—56.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1977 e. ————II ニジマスにおける慢性感染症. 本誌, 4: 57—66.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1977 f. ————III 生活史. 本誌, 4: 67—80.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1977 g. 魚類の組織器官の組織学的研究と魚病学への応用—I ニホンウナギの血管系. 本誌, 4: 81—92.
- 宮崎照雄・窪田三朗・江草周三, 1976 d. 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. 本誌, 3: 49—58.
- 宮崎照雄・窪田三朗・江草周三, 1976 e. ————II 治癒段階の潰瘍病巣. 本誌, 3: 59—66.
- 宮崎照雄・窪田三朗・江草周三, 1976 f. ————III 内臓諸器官. 本誌, 3: 67—73.
- 宮崎照雄・窪田三朗・田代文男, 1977 h. サケ科魚類の内臓真菌症に関する研究—I 病理組織. 魚病研究, 11(4): 183—186.
- 室賀清邦, 1975. *Vibrio anguillarum* およびその感染症に関する研究. 広島大学水畜産学部紀要, 14: 101—215.
- 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. 魚病研究, 11(3): 141—146.
- 中川雅郎, 1977. レンサ球菌病およびブドウ球菌病. p130—140. 藤原公策・中川雅郎・石井俊雄・高垣善男編, 実験小動物の感染症, ソフトサイエンス社, 東京, 390pp
- 丹羽 充・原田敏枝, 1976. 内毒素の分子構成と活性. p188—198. 加藤巖編, 細菌内毒素の研究, 別冊蛋白核酸酵素, 共立出版株式会社, 東京, 340pp
- PACHA, R. E. E. and J. ORDAL, 1967. Histopathology of experimental columnaris disease in young salmon. *Jour. Comp. Pathol.*, 77: 419—423.
- PLUMB, J. A., J. H. SCHACHTE, W. PELTIER and B. CARROLL, 1974. *Streptococcus* sp. from marine fishes along the Alabama and Northwest Florida coast of Gulf of Mexico. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 103: 358—361.
- RICHARDS, R. H. and R. J. ROBERTS, 1978. The bacteriology of teleosts. p183—204. edi. by R. J. ROBERTS, *Fish pathology*, Bailieretindall, London, 318pp,
- ROBERTS, R. J. 1978. The pathophysiology and systematic pathology of teleosts. p55—91. edi. by R. J. ROBERTS, *Fish pathology*. Bailieretindall, London, 318pp,
- 坂崎利一, 1973. 腸内細菌. p523—579. 福見秀雄編, 病原微生物学, 細菌編, 医学書院, 東京, 990pp
- SANO, T., 1971. Studies on viral diseases of Japanese fishes—I Infectious pancreatic necrosis of rainbow trout; First isolation from epizootics in Japan. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 37(6): 495—498.
- SCHÄPERCLAUS, W., 1927. Die Rotseuche des Aales im Bezirk von Rugen und Stralsund. *Zeit. Fisch.*, 25: 99—128.
- SCHÄPERCLAUS, W., 1930. *Pseudomonas punctata* als Krankheitserreger bei Fischen Untersuchungen über Süßwasseraleutseuche der weisssische. *Zeit. Fisch.*, 28: 289—370.
- SCHÄPERCLAUS, W., 1934. Untersuchungen über die Aalseuchen in deutschen Binnen und Küsten wässern 1930—1933. *Zeit. Fisch.*, 32: 191—217.
- SCHÄPERCLAUS, W., 1954. Fischkrankheiten. 3 Aufl. Akademie Verlag, Berlin, 708pp,
- SHIMIZU, T., 1968 a. Studies on pathogenic properties of *Aeromonas liquefaciens*—I Production of toxic substance to eel. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 35(1): 55—56.
- SHIMIZU, T., 1968 b. ————II Separation toxic factors by gel filtration. *Ibid*, 35(2): 163—172.
- SHIMIZU, T., 1968 c. ————III Some chemical and antigenic properties of toxic factors. *Ibid*, 35(4): 423—429.
- 清水朋子, 1969. エロモナス感染症における菌の病原性と産生する毒素について. 魚病研究, 4(1): 19—30.

- 清水朋子・江草周三, 1968. ウナギのワタカブリ病から分離された *Aeromonas liquefaciens* の血清学的菌型について. 同誌, 3(1): 12—15.
- 反町 稔・江草周三, 1971. 養殖ウナギの腸内好気性細菌について. 同誌, 6(1): 1—7.
- 鈴江 懐・小林忠義, 1974. 病理学総論, 医学書院, 東京. 919pp
- 武田勝男, 1971. 病理学総論, 南山堂, 東京. 502pp
- 上野龍夫・斉藤武郎, 1973. 野兎病の組織学. 感染症, 3(3): 29—32.
- 内田達次, 1961. 鱒のビブリオ病に関する実験的研究. *Konan's Technical Bull.* 上, 甲南工業株式会社 1—43.
- WAKABAYASHI, H. and S. EGUSA, 1972. Characteristics of a *Pseudomonas* sp. from an epizootic of pond-cultured eels (*Anguilla japonica*). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 38(5): 577—587.
- WAKABAYASHI, H. and S. EGUSA, 1973. *Edwardsiella tarda* (*Paracolobactrum anguillimortiferum*) associated with pondcultured eel disease. 同誌 39(9): 931—936.
- 若林久嗣・金井欣也・江草周三, 1976. 養鰻環境における魚病細菌の生態に関する研究—I. 水中の一般細菌について. 魚病研究, 11(2): 63—66.
- WOLKE, R. E., 1975. Pathology of bacterial and fungal diseases affecting fish. p33—116. edi. by RIBELIN, W. E. and G. MIGAKI. *The pathology of fishes*. Univ. of Wisconsin Press, Madison, London, 1004p.
- WOOD, E. M. and W. T. YASUTAKE, 1956a. Histopathology of fish—III Peduncle (cold-water) disease. *Prog. Fish-Cult.*, 18: 58—56.
- WOOD, E. M. and W. T. YASUTAKE, 1956b. Histopathology of kidney disease in fish. *Amer. Jour. Pathol.*, 32: 845—857.
- WOOD, E. M. and W. T. YASUTAKE, 1957. Histopathology of fish—V Gill disease. *Prog. Fish-Cult.*, 19: 7—13.
- 山村雄一, 1971. 病理生化学. 岩波書店, 東京, 584pp.
- YASUTAKE, W. T., T. J. PARISOT and G. W. KLONTZ, 1965. Virus disease of the salmonidae in western United States. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 126: 520—530.
- YASUTAKE, W. T., 1970. Comparative histopathology of epizootic salmonid virus diseases. p341—350. edi. by SNIEZKO, S. F., A symposium on diseases of fishes and shells. *Amer. Fish Soc.*, Washington, D. C., 526pp.
- YASUTAKE, W. T., 1975. Fish viral diseases; Clinical, histopathological, and comparative aspects. edi. by RIBELIN, W. E. and G. MIGAKI, *The pathology of fishes*. Univ. of Wisconsin Press, Madison, London, 1004pp.
- YASUTAKE, W. Y. and D. F. AMEND, 1972. Some aspects of pathogenesis of infectious hematopoietic necrosis (IHN). *Jour. Fish Biol.*, 4: 261—264.
- 吉田守正・斉藤和久, 1973. 生体における内毒素. p241—276, 本間遜・斉藤和久・河西信彦・丹羽充編, 細菌内毒素, 講談社. 東京. 574pp

## Explanation of Plate I

**Plate 1.** *Aeromonas hydrophila* infection in Japanese eel

**Fig. 1.** A moribund eel. This fish shows the hemorrhaged surface of the belly and the tail, and hemorrhaged fins.

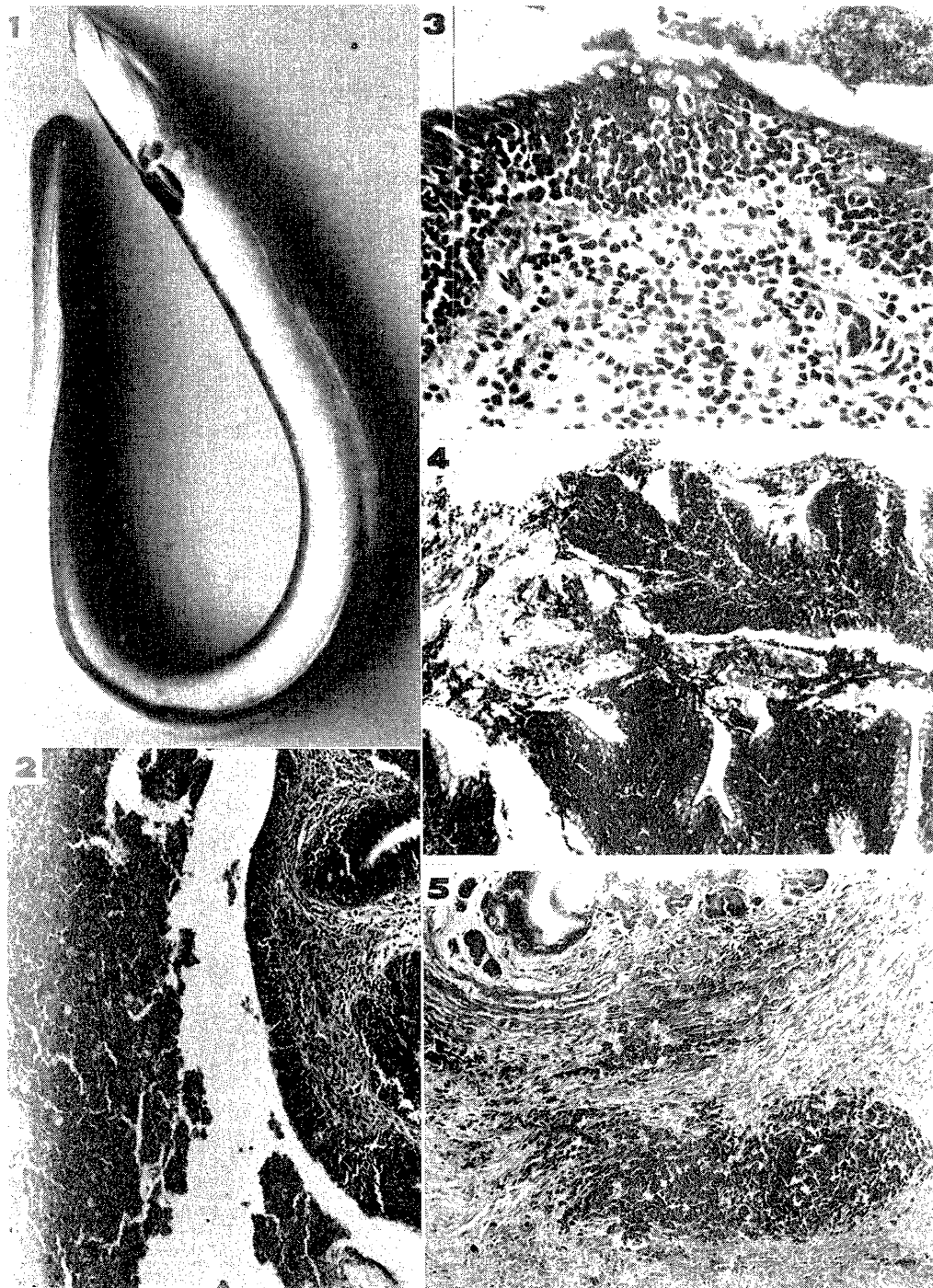
**Fig. 2.** The bacteria-multiplying region in the anterior half of the intestine. The bacteria markedly multiply in mucous-like matter in the lumen and they scarcely attack the villus. Many lymphocytes infiltrate into the epithelium and the tunica propria. Giemsa stain,  $\times 160$

**Fig. 3.** A high-power view of lymphocytes infiltrating into the epithelium and the tunica propria of the intestine. Giemsa stain,  $\times 400$

**Fig. 4.** An enteritis lesion. Mucous-desquamative catarrh accompanying lymphocytes infiltration into the epithelium and the tunica propria is caused in the anterior half of the intestine. The bacteria multiply in mucous-like matter and sloughed epithelia in the lumen. The bacterial invasion into the tissue is very weak. Hematoxyline-eosin(H-E) stain,  $\times 100$

**Fig. 5.** A focal hemorrhage in the submucosa of the stomach. The hemorrhage occurs around venule without an obvious invasion of the bacteria. H-E stain,  $\times 100$

Plate I

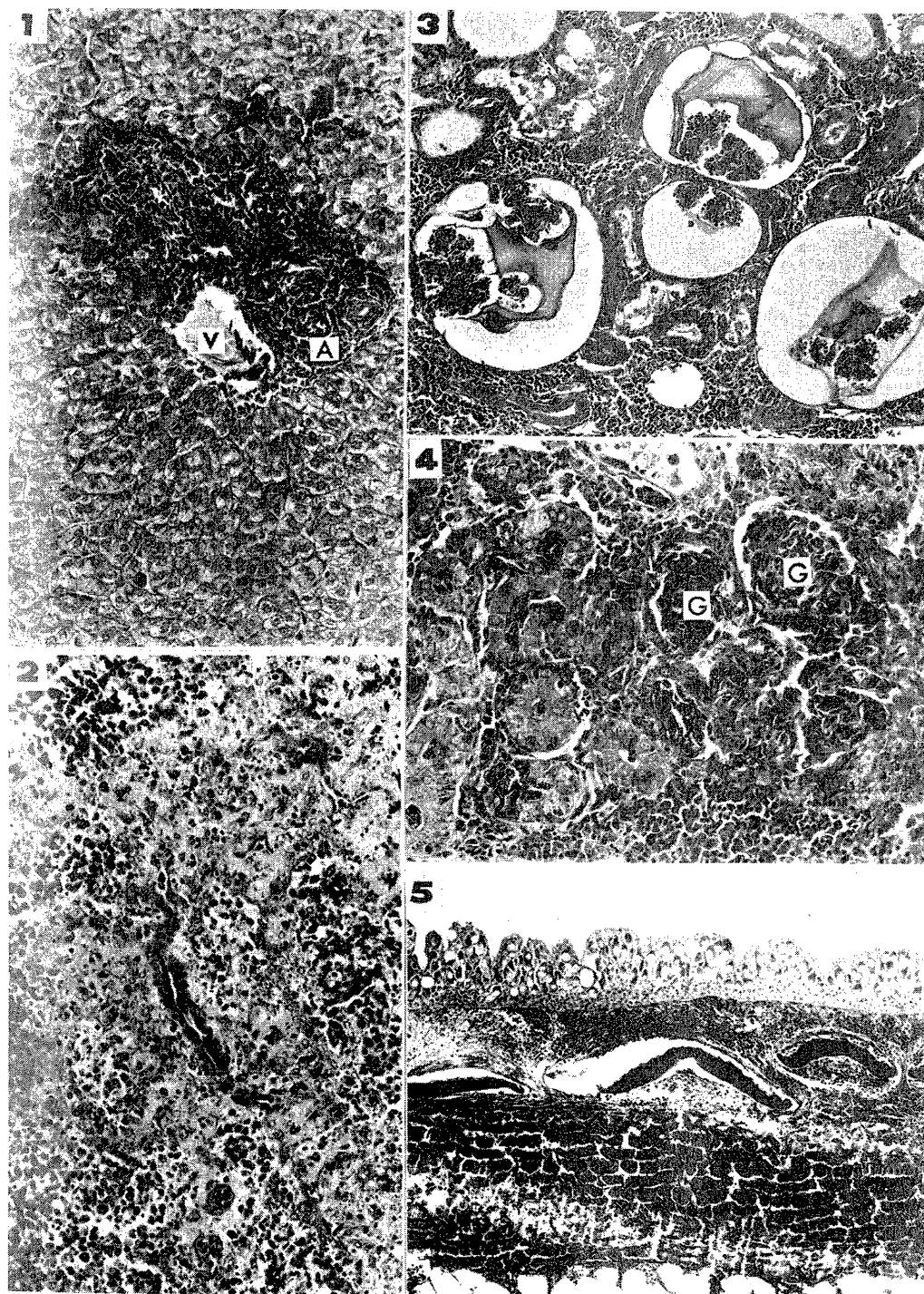


## Explanation of Plate II

**Plate II.** *Aeromonas hydrophila* infection in Japanese eel

- Fig. 1.** Alterations in the liver. All of hepatic cells undergo cloudy swelling. A focal hemorrhage occurs without a bacterial invasion around a portal vein (V) and a hepatic arteriola (A), and involves the parenchyma. H-E stain,  $\times 200$
- Fig. 2.** Necrosis of the sheathed artery in the spleen. The sheathed tissue is obviously necrotized without a bacterial invasion. Azan stain,  $\times 200$
- Fig. 3.** Nephrose in the kidney. Serum and fibrin exude from altered glomeruli. The exudates expand markedly the Bowman's cavity and fill in renal tubules. Epithelial cells of renal tubules are degenerated and necrotized. The hematopoietic tissue undergoes numerical atrophy. A bacterial invasion is not obvious in the kidney. H-E stain,  $\times 100$
- Fig. 4.** Hemorrhage from glomeruli (G) and nephrose. Erythrocytes came from altered glomeruli fill in renal tubules. Epithelial cells of renal tubules undergo cloudy swelling and necrosis. H-E stain,  $\times 200$
- Fig. 5.** Hemorrhage in the dermis and the subcutaneous adipose tissue. Hemorrhage is marked in the dermal loose connective tissue and scale sacks. A bacterial invasion is not obvious in the hemorrhagic lesions. The epithelium becomes thin. H-E stain,  $\times 50$

Plate II

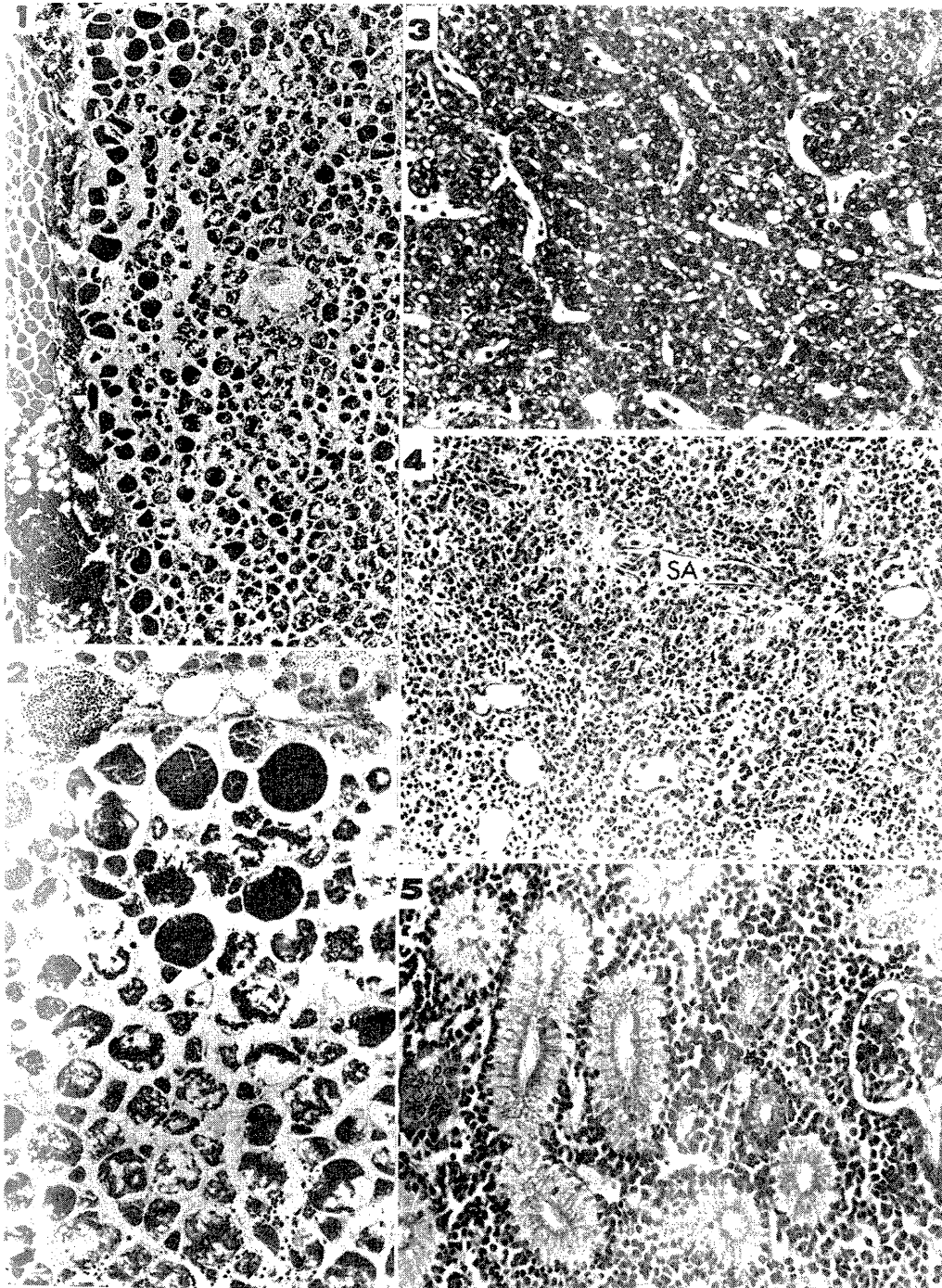


## Explanation of Plate III

**Plate III.** *Aeromonas hydrophila* infection in Japanese eel

- Fig. 1.** A low-power view of an injected lesion in the lateral musculature of an experimentally infected fish. Necrosis of muscle fibers, edema, hemorrhage and angitis are caused. H-E stain,  $\times 20$
- Fig. 2.** A detail of the injected lesion in the lateral musculature. Necrosis of muscle fibers, edema, hemorrhage and stasis are observed. H-E stain,  $\times 80$
- Fig. 3.** A fatty change of hepatic cells of the experimentally infected fish. Bacterial dissemination is not obvious in the liver. H-E stain,  $\times 160$
- Fig. 4.** Pathological changes in the spleen of the experimentally infected fish. The sheathed tissue of the sheathed artery (SA) and the pulp are edematous. Splenocytes increase in number in the edematous pulp. Bacterial dissemination is not obvious in the spleen. H-E stain,  $\times 160$
- Fig. 5.** Nephrose in the kidney. Hyaline droplet degeneration occurs in renal epithelial cells. The hematopoietic tissue undergoes numerical atrophy. Bacterial dissemination is not obvious in the kidney. H-E stain,  $\times 200$

Plate III





## Explanation of Plate IV

**Plate IV.** *Vibrio anguillicida* infection in Japanese eel

**Fig. 1.** Moribund eels. They form a swollen lesion on the lateral side of the tail.

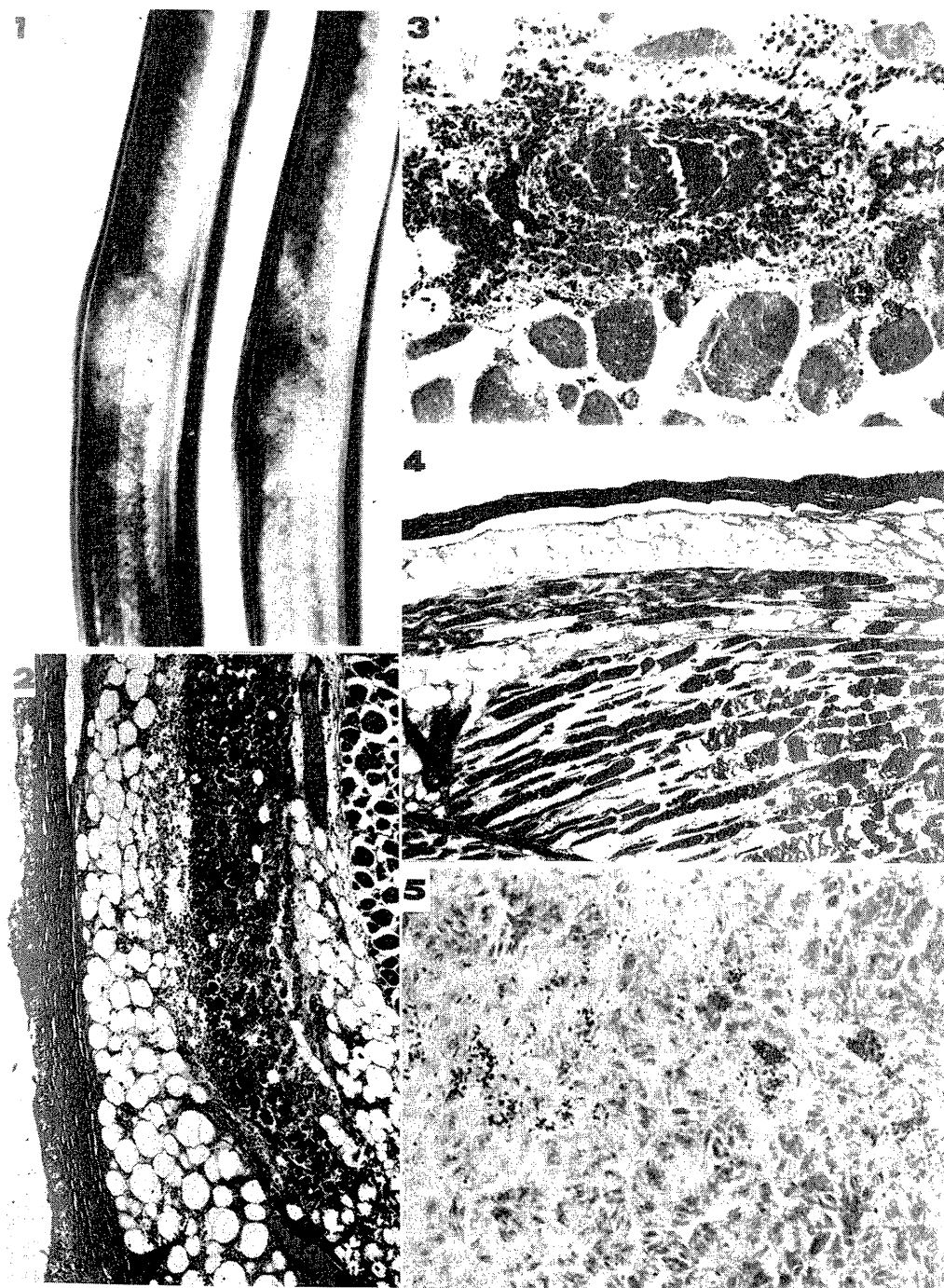
**Fig. 2.** A low-power view of a moderately swollen lesion formed on the lateral side of the body. The bacteria invade the dermis, the subcutaneous adipose tissue and the red musculature. In the affected skin the epithelium disappears and the dermis is necrotized accompanying edema and hemorrhage. The affected adipose tissue manifests necrosis, edema and hemorrhage. The affected, red musculature manifests necrosis and hemorrhage. H-E stain,  $\times 50$

**Fig. 3.** A detail of bacterial invasion and multiplication in the vascular wall of the lateral-muscular vein. The affected wall is necrotized accompanying hemorrhage. This occurrence indicates establishment of the septic lesion to cause general, bacterial dissemination. Giemsa stain,  $\times 200$

**Fig. 4.** A low-power view of a swollen lesion on the lateral side of a moribund fish. The bacteria markedly spread from the dermis to the deep layer of the lateral musculature. The affected tissue is necrotized accompanying edema and hemorrhage. H-E stain,  $\times 20$

**Fig. 5.** The infectious spleen of the moribund fish. The bacteria are disseminated in sheathed arteries. The sheathed arteries and the pulp are markedly necrotized to cause the blood sea. Giemsa stain,  $\times 320$

Plate IV

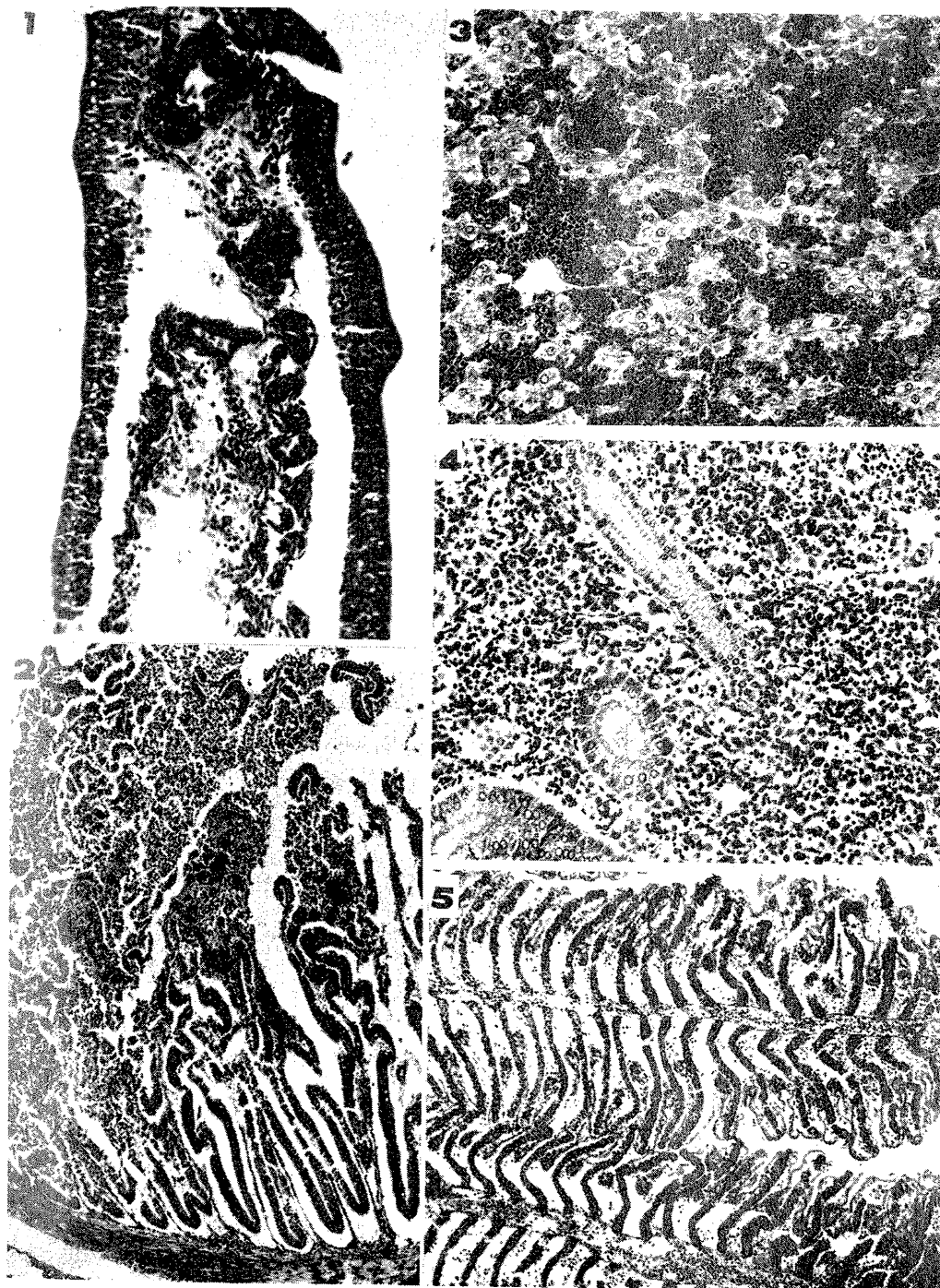


## Explanation of Plate V

**Plate V.** *Vibrio anguillicida* infection in Japanese eel

- Fig. 1.** The early lesion in the infectious intestine. The bacteria are disseminated in and around capillaries in the tunica propria. The affected tissue manifests congestion, hemorrhage, edema, necrosis and epithelial separation. Giemsa stain,  $\times 320$
- Fig. 2.** The infectious intestine of the moribund fish. The bacteria markedly disseminated in a lot of villi and cause desquamative catarrh enteritis. Azan stain  $\times 50$
- Fig. 3.** The infectious liver of the moribund fish. The bacteria invade veins and sinusoids. Marked sinusoidal congestion is caused and has hepatic cells undergo presser atrophy. H-E stain,  $\times 100$
- Fig. 4.** The infectious kidney of the moribund fish. The hematopoietic tissue is invaded by bacteria and is markedly necrotized accompanying hemorrhage. H-E stain,  $\times 100$
- Fig. 5.** The infectious gill of the moribund fish. The bacteria are disseminated in filamental arteries and lamella capillaries. Hyperemia of capillaries and edema are caused. H-E stain,  $\times 100$

Plate V

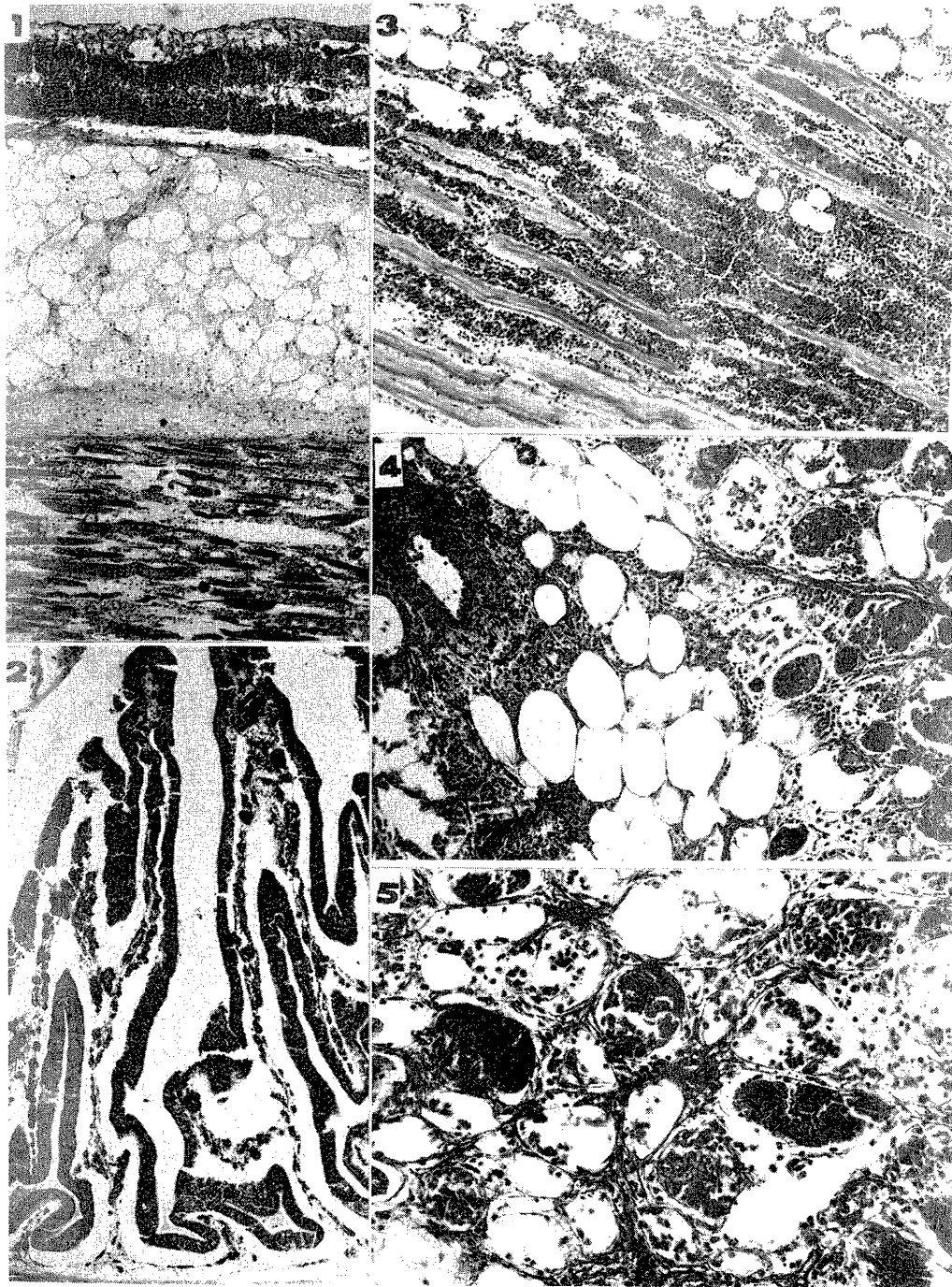


## Explanation of Plate VI

**Plate VI.** *Vibrio anguillcida* infection in Japanese eel

- Fig. 1.** A low-power view of an injected lesion of a moribund fish experimentally infected by an intramuscular injection with the isolated bacteria at the rate of 1.0 mg per 100g body weight. The bacteria spread into the dermis, the subcutaneous adipose tissue and the musculature. The affected tissue manifests necrosis, edema and hemorrhage. H-E stain,  $\times 50$
- Fig. 2.** The infectious intestine of the moribund fish. The bacteria are disseminated in the tunica propria and the submucosa and cause congestion, hemorrhage, necrosis and epithelial separation. H-E stain,  $\times 50$
- Fig. 3.** An injected lesion in the red musculature of a fish which was intramuscularly injected with the sonicate of the bacteria twice at the rate of 5.0 mg per 100 g body weight. The affected lesion manifests necrosis of muscle fibers, hemorrhage and neutrophils infiltration. H-E stain,  $\times 80$
- Fig. 4.** An injected lesion in the lateral musculature of a fish injected five times with 2.0 mg of the sonicate. Affected muscle fibers are necrotized and phagocytized by macrophages. Angitis accompanying infiltration of neutrophils and small round cells is caused in the lateral-muscular artery. H-E stain,  $\times 80$
- Fig 5.** A detail of the lesion injected five times with 2.0 mg of the sonicate. Infiltration of macrophages and neutrophils, their phagocytosis to necrotized muscle fibers, fibrinoid degeneration of the sarcolemma and fibroblasts proliferation are observed. H-E stain,  $\times 160$

Plate VI

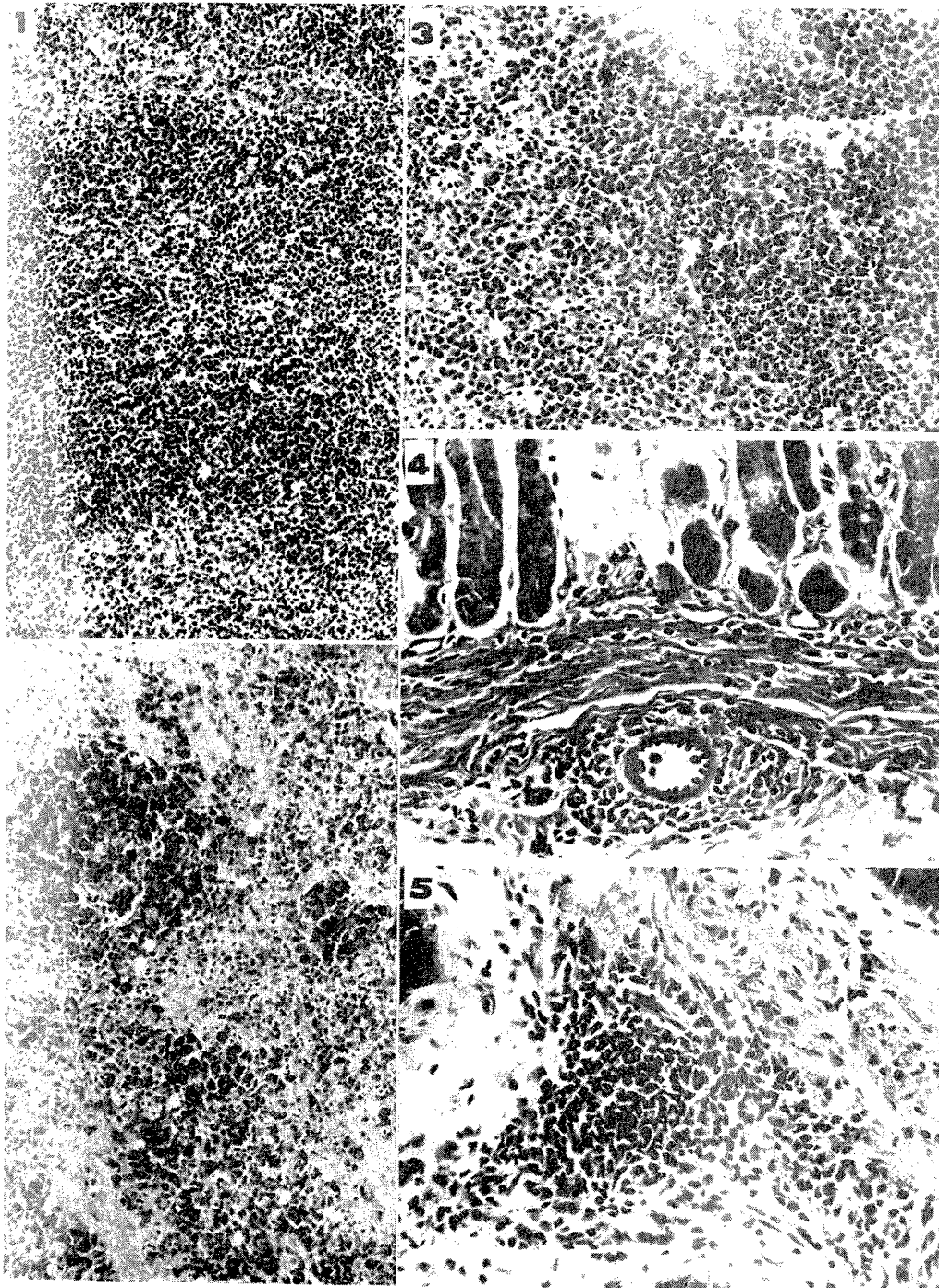


## Explanation of Plate VII

**Plate VII.** *Vibrio anguillcida* infection in Japanese eel

- Fig. 1.** The spleen of a fish intramuscularly injected three times with 2.0 mg of the sonicate. Marked hyperplasia of lymphocytes, neutrophils infiltration and splenocytes proliferation are caused in the pulp. H-E stain,  $\times 80$
- Fig. 2.** The spleen of the fish intramuscularly injected five times with 2.0 mg of the sonicate. Focal hyperplasia of lymphocytes and lymphoblasts is caused in the pulp. Gimesa stain,  $\times 200$
- Fig. 3.** The kidney of the fish intramuscularly injected five times with 2.0 mg of the sonicate. Hyperplasia of immature neutrophils and hematopoietic cells and hypertrophy of reticuloendothelial cells lining sinusoids become marked in the hematopoietic tissue. H-E stain,  $\times 160$
- Fig. 4.** The stomach of the fish intramuscularly injected twice with 5.0 mg of the sonicate. Periarteritis accompanying proliferation of mesenchymal cells and infiltration of small round cells is caused in the submucosa. H-E stain,  $\times 320$
- Fig. 5.** The intestine of the fish intramuscularly injected five times with 2.0 mg of the sonicate. Focal infiltration of small round cells is caused around capillaries in the tunica propria. H-E stain,  $\times 320$

Plate VII



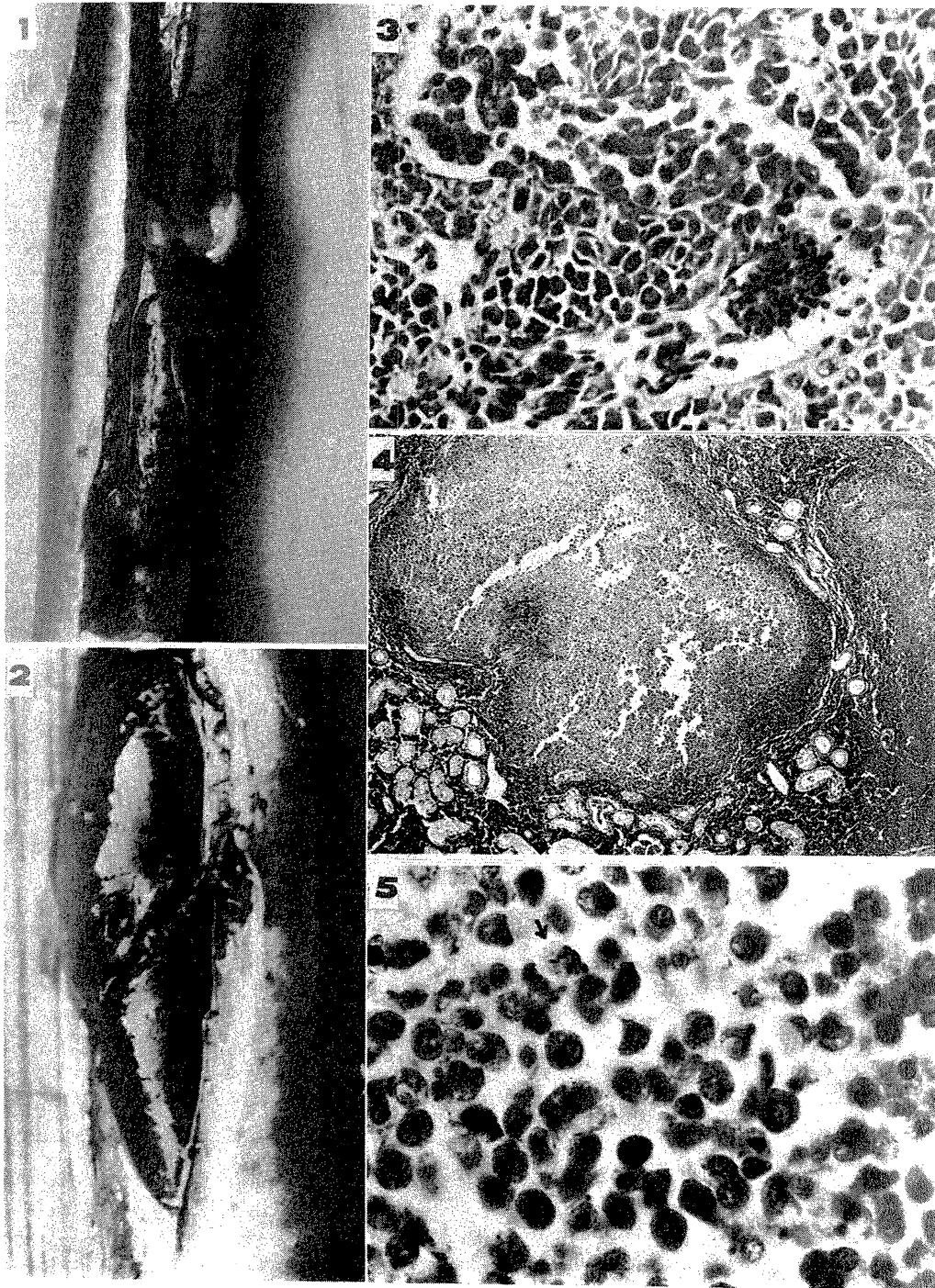


## Explanation of Plate VIII

**Plate VIII.** *Edwardsiella tarda* infection in Japanese eel

- Fig. 1.** An anatomical view of a naturally infected fish of the type of suppurative interstitial nephritis (SIN-type). A lot of white abscesses are formed in the kidney and the organ is swollen.
- Fig. 2.** An anatomical view of a naturally infected fish of the type of suppurative hepatitis (SH-type). White abscesses and ulcers are formed in the liver. A suppurative lesion is produced in the abdominal musculature adjacent to the hepatic ulcer. Pus covers over the stomach and the intestine.
- Fig. 3.** An early infectious lesion in the renal hematopoietic tissue of the SIN-type of fish. The lesion is a thrombus containing bacteria-phagocytizing neutrophils and reticulo-endothelial cells in the sinusoid. Giemsa stain,  $\times 1000$
- Fig. 4.** Abscesses formation in the renal hematopoietic tissue (SIN-type). A large number of neutrophils accumulate in infected regions to form abscesses. Giemsa stain,  $\times 40$
- Fig. 5.** A high-power view of neutrophils composing the abscess. Most of them are immature cells having the round nucleus. Some of them phagocytize the bacteria (arrow). Giemsa stain,  $\times 800$

Plate VIII

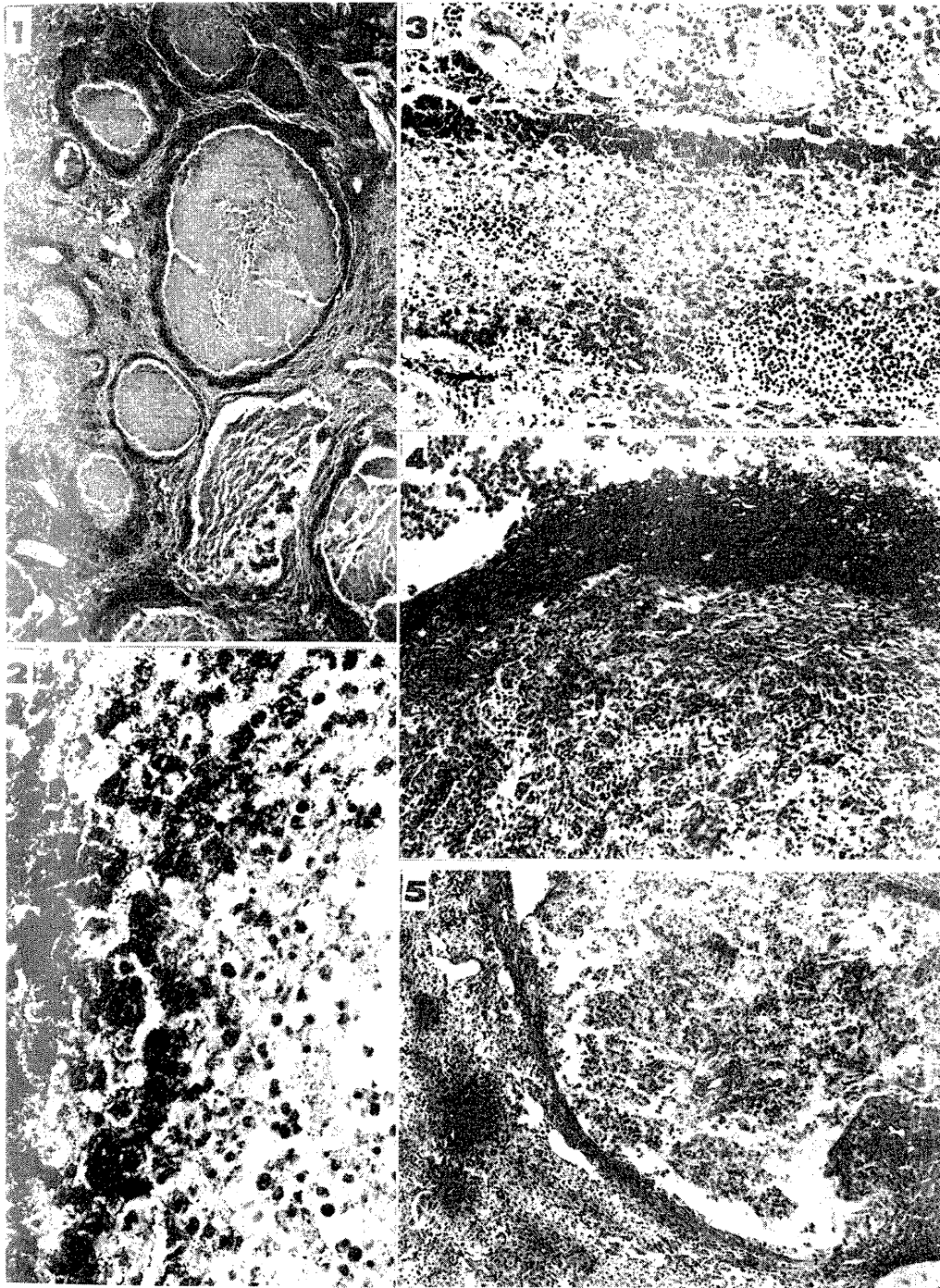


## Explanation of Plate IX

**Plate IX.** *Edwardsiella tarda* infection in Japanese eel

- Fig. 1.** Liquefied abscesses in the renal hematopoietic tissue (SIN-type). Each abscess is liquefied and is walled off by a layer of deposited fibrin. The hematopoietic tissue undergoes numerical atrophy. H-E stain,  $\times 160$
- Fig. 2.** A detail of the bacteria multiplying in the liquefied abscess in the renal hematopoietic tissue (SIN-type). Bacterial multiplication progresses according to the liquefaction of the abscess. The bacteria markedly multiply also in phagocytizing neutrophils. Giemsa stain,  $\times 320$
- Fig. 3.** A pus embolus in the renal vein in the kidney (SIN-type). Pus containing a large number of the bacteria flows into the vessel according to the liquefied abscess involving the vessel. Giemsa stain,  $\times 160$
- Fig. 4.** An ulcerated abscess in the kidney (SIN-type). Pus already flowed out from the abscess. The abscess is walled off by thick layers of deposited fibrin and the granulation tissue. H-E stain,  $\times 50$
- Fig. 5.** Abscess formation in the spleen in a pyemic case (SIN-type). An abscess is formed. The pulp becomes edematous and splenocytes proliferate. PAS reaction,  $\times 160$

Plete IX



## Explanation of Plate X

**Plate X.** *Edwardsiella tarda* infection in Japanese eel

**Fig. 1.** The infectious spleen of a septicemic case(SIN-type). The bacteria are disseminated and necrotize the sheathed tissue of the sheathed artery and the pulp. The tissue is edematous and the fiber mesh-work of the stroma is liquefied and destroyed.  
SA : Sheathed artery, H-E stain,  $\times 200$

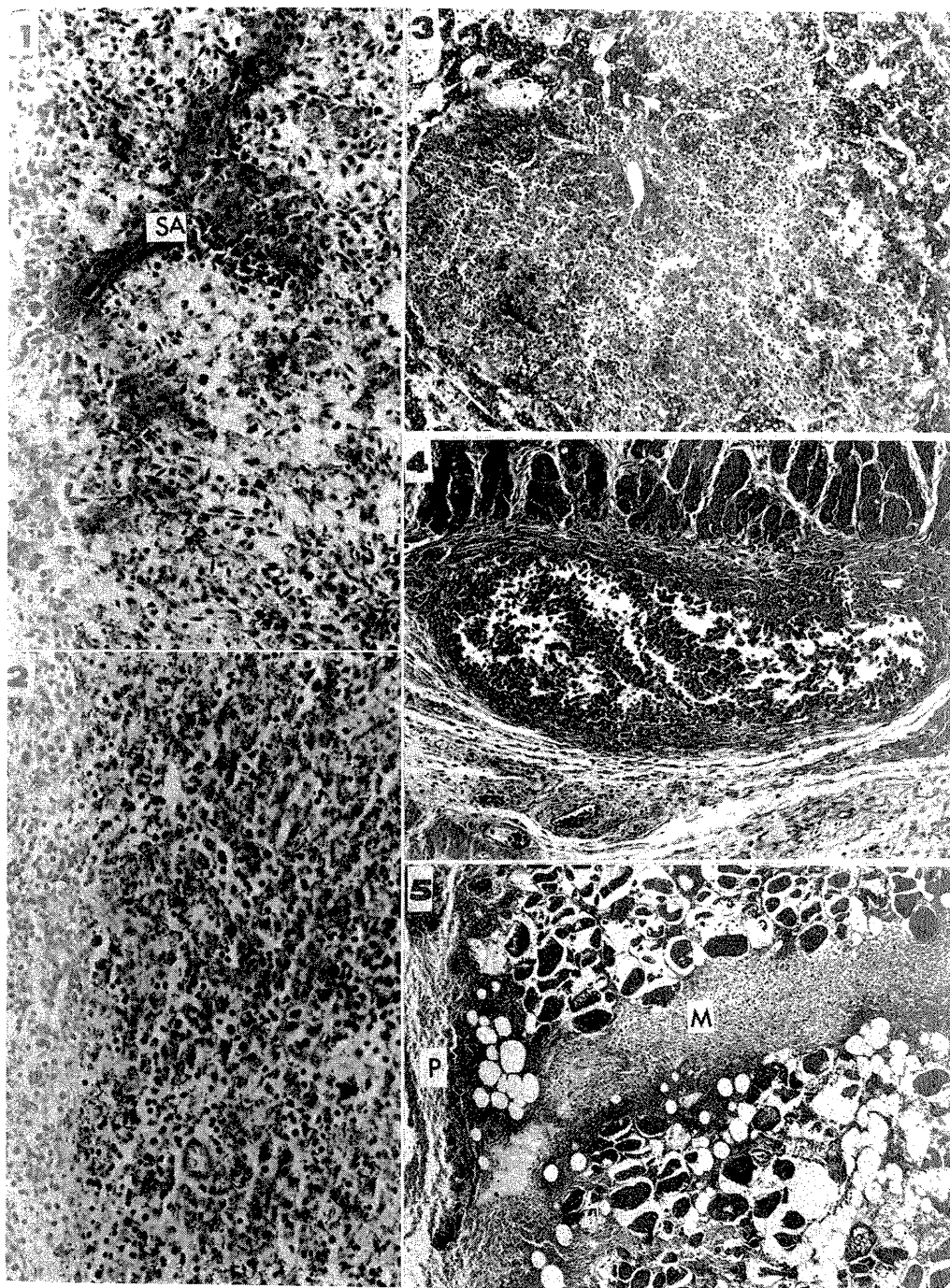
**Fig. 2.** The infectious spleen of a septicemic case (SIN-type). Bacterial dissemination and multiplication are marked. The pulp and sheathed arteries are completely necrotized.  
Giemsa stain,  $\times 200$

**Fig. 3.** The infectious liver of the septicemic case(SIN-type) The metastatic lesion shows focal necrosis. Hepatic cells undergo a fatty change. Sinusoids are dilated oligemicly and fibrin thrombi are formed. H-E stain,  $\times 80$

**Fig. 4.** An abscess formation in the stomach of the pyemic case (SIN-type). The abscess is formed in the submucosa. H-E stain,  $\times 160$

**Fig. 5.** A suppurative lesion in the abdominal musculature adjacent to the ulcerated abscess in the kidney(SIN-type). The bacteria penetrate from the peritoneum (P) to the myoseptum(M) and the musculature. The infected lesions manifest suppurative inflammation and necrosis. H-E stain,  $\times 50$

Plate X



## Explanation of Plate XI

**Plate XI.** *Edwardsiella tarda* infection in Japanese eel

**Fig. 1.** An early lesion in the liver of the SH-type of fish. The lesion is a thrombus containing neutrophils phagocytizing the bacteria in a sinusoid. H-E stain,  $\times 400$

**Fig. 2.** Abscesses formation in the liver(SH-type). Two of them involve the vascular wall to form pus emboli in the hepatic vein. Hepatic cells undergo a fatty change. Sinusoids are dilated oligemicly. Azan stain,  $\times 32$

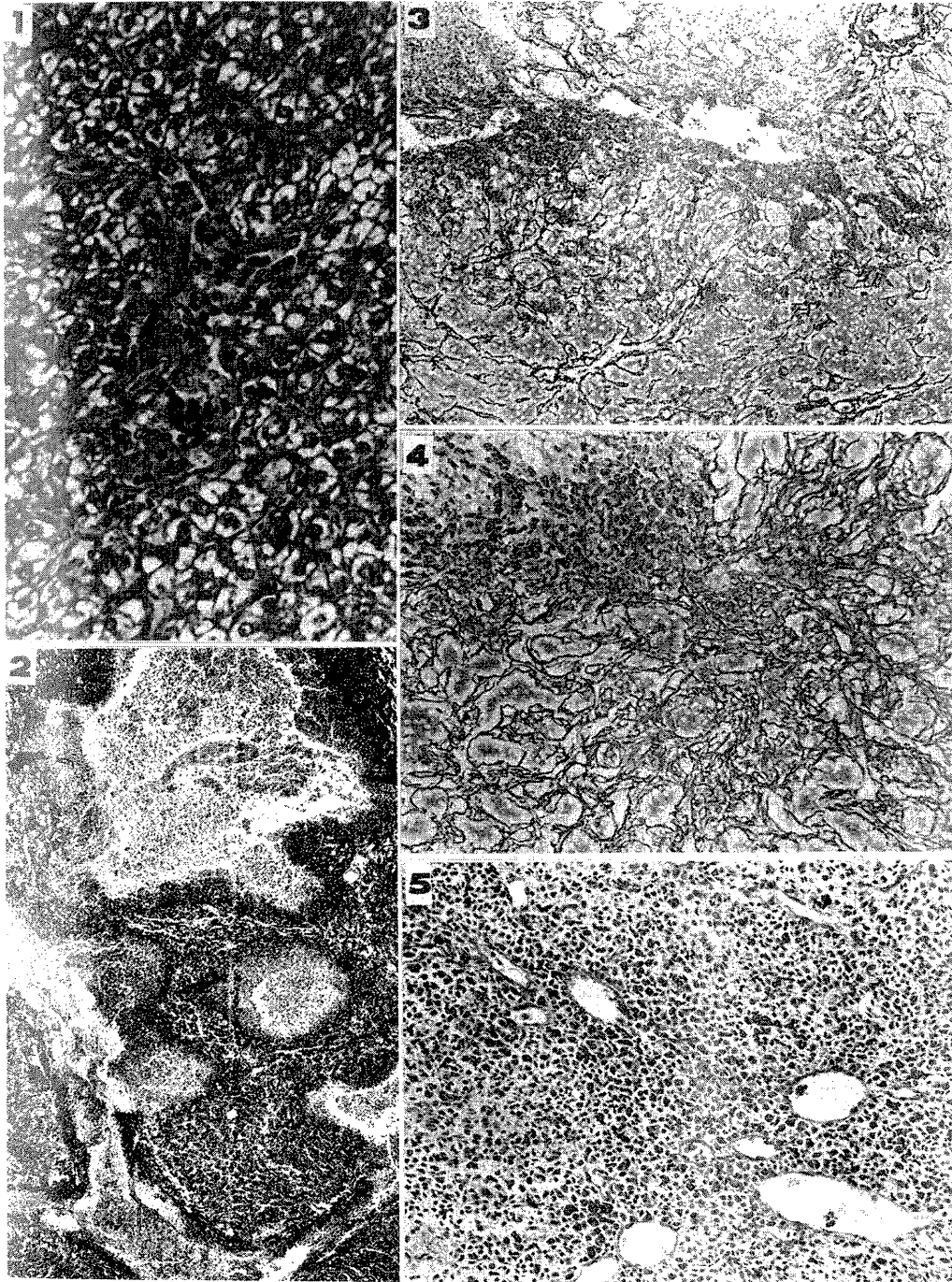
**Fig. 3.** Abscesses formation in the liver (SH-type). The mesh-work stroma involved in a abscess is destroyed and liquefied. Silver stain  $\times 200$

**Fig. 4.** The mesh-work stroma of the granulation tissue walling off an ulcerated abscess in the liver (SH-type). Argyrophil fibers are markedly produced and regenerated hepatic cells appear in the granulation tissue. Silver stain  $\times 200$

**Fig. 5.** The infectious spleen of a pyemic case(SH-type). In the stage which bacterial dissemination is moderate, neutrophils infiltration and splenocytes proliferation become marked. The cytoplasm of splenocytes reacts positively in PAS reaction. PAS reaction,  $\times 200$



Plate XI



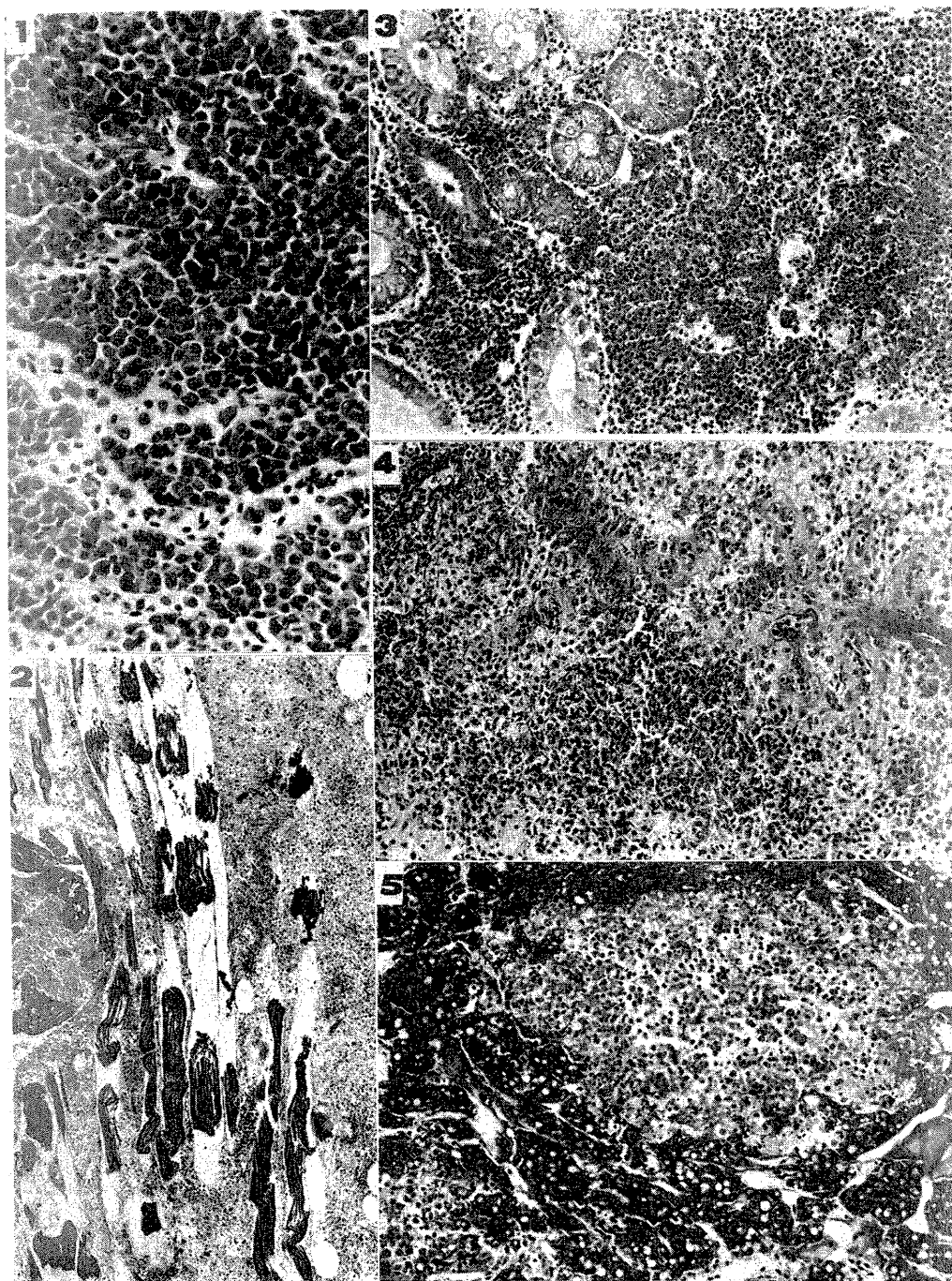


## Explanation of Plate XII

**Plate XII.** *Edwardsiella tarda* infection in Japanese eel

- Fig. 1.** The renal hematopoietic tissue in the pyemic case (SH-type). In the stage which bacterial dissemination is moderate, hyperplasia of immature neutrophils and hematopoietic cells is markedly caused. Reticulo-endothelial cells are hypertrophied to phagocytize the bacteria in sinusoids. Giemsa stain,  $\times 320$
- Fig. 2.** An injected lesion in the lateral musculature of a moribund fish which was intramuscularly injected with the isolated bacteria at the rate of 1.0 mg per 100g body weight. The affected musculature is necrotized and suppurative inflammation is caused. H-E stain,  $\times 80$
- Fig. 3.** The infectious kidney of the moribund fish experimentally infected. The bacteria invade and diffusely necrotize the hematopoietic tissue. No abscess is formed. Epithelial cells of renal tubules undergo cloudy swelling. H-E stain,  $\times 160$
- Fig. 4.** The infectious spleen of the moribund fish experimentally infected. The bacteria diffusely invade and markedly necrotize the sheathed arteries and the pulp. H-E stain,  $\times 160$
- Fig. 5.** The infectious liver of the moribund fish experimentally infected. The metastatic lesion undergoes focal necrosis. H-E stain,  $\times 160$

Plate XII

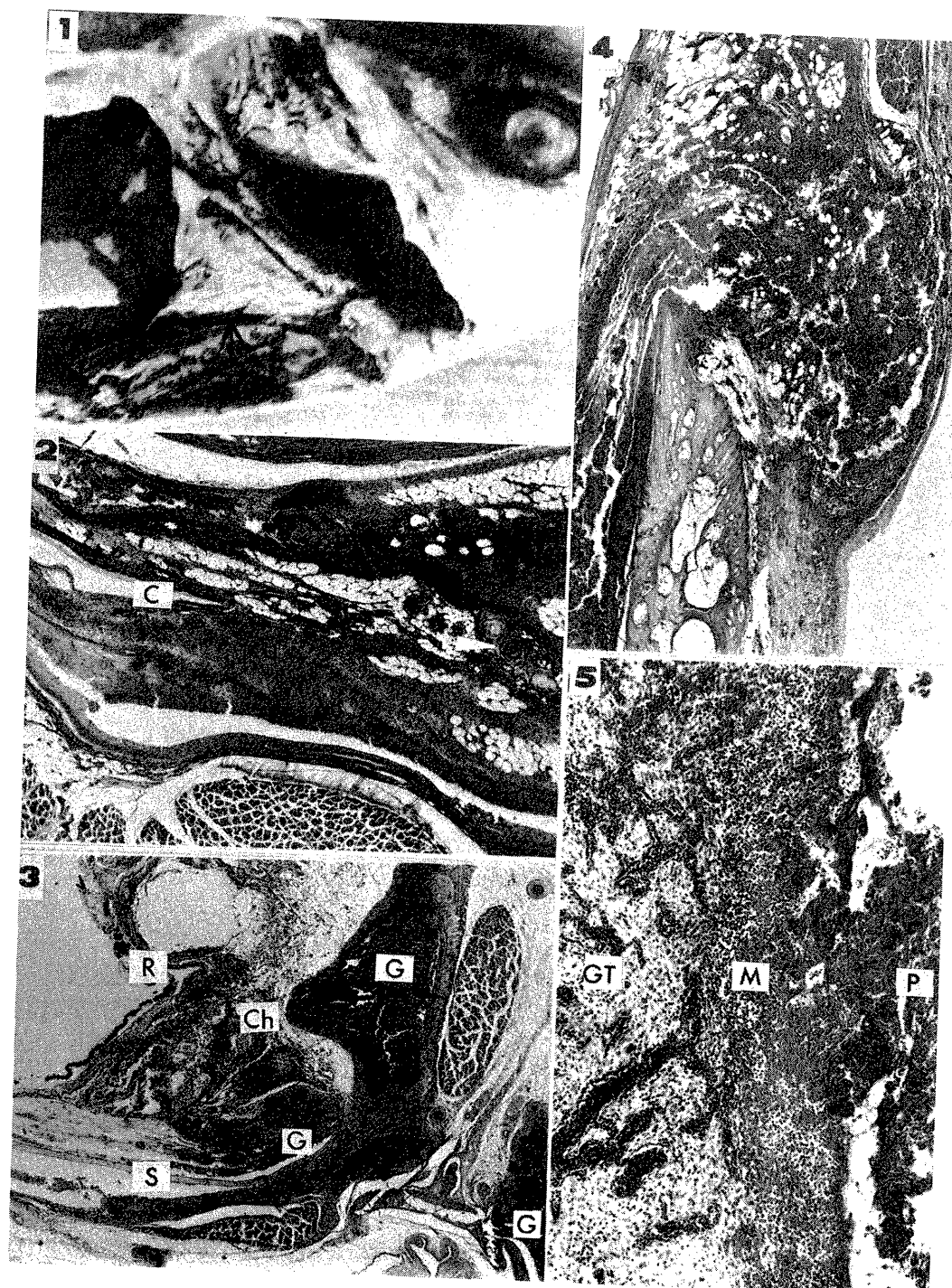


## Explanation of Plate XIII

**Plate XIII.** *Streptococcus* sp. infection in yellowtail

- Fig. 1.** An anatomical view of a diseased fish. This fish shows the necrotized eye and peri-epicarditis (arrow).
- Fig. 2.** An infectious lesion in the eye. The bacteria invade the conjanctiva (C) and the adipose tissue behind the eye-ball. Infiltration of neutrophils and macrophages, demarcation with layers composed of epithelioid cells, hemorrhage and embolism (arrow) are caused in the lesion. H-E stain,  $\times 50$
- Fig. 3.** An infectious lesion of the eye manifested externally destruction of the anterior part. A lot of granulomas (G) enclosing the bacteria and inflammatory exudates are formed behind the choroid membrane (Ch), around the sclera (S) and in the adipose tissue. The granulation tissue is also produced in the choroid. R: retina, H-E stain,  $\times 16$
- Fig. 4.** A large abscess formed in the subcutaneous tissue of the inner side of the opercle. The abscess is composed of a large number of neutrophils and destroyed tissue. Congestion and thrombosis occur around the abscess. H-E stain,  $\times 20$
- Fig. 5.** The granulation tissue demarcating a liquefied abscess formed in the subcutaneous tissue of the caudal peduncle. A layer composed of macrophages (M) is formed between pus (P) and the granulation tissue (GT). H-E stain,  $\times 80$

Plate XIII

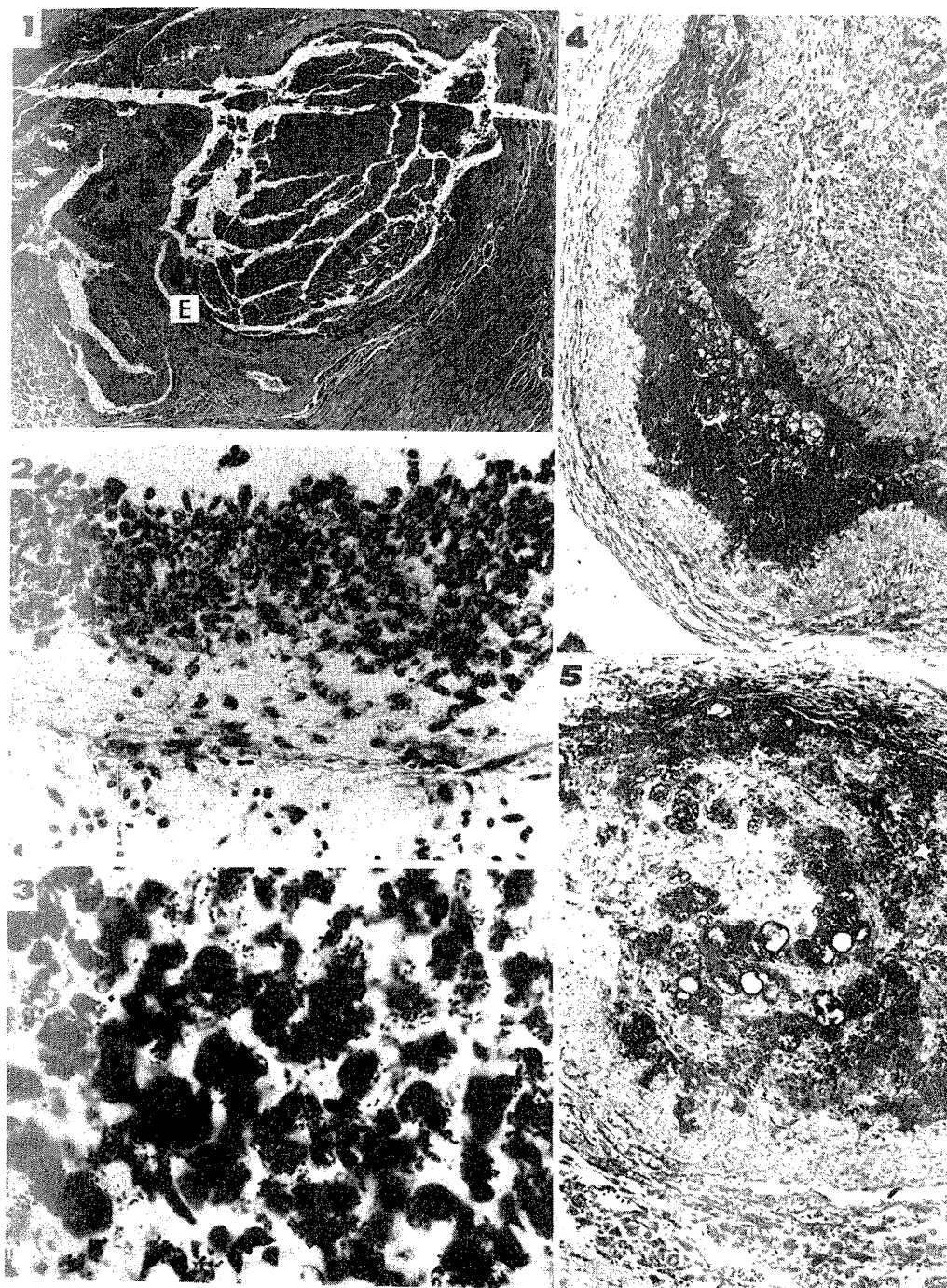


## Explanation of Plate XIV

**Plate XIV.** *Streptococcus* sp. infection in yellowtail

- Fig. 1.** A granuloma in the subcutaneous tissue of the caudal peduncle. A layer composed of epithelioid cells(E) reinforces the surrounding granulation tissue and directly walls off suppurative exudates. H-E stain,  $\times 20$
- Fig. 2.** An early metastatic lesion on the epicardium. The bacteria are disseminated in the pericardium and are phagocytized by macrophages infiltrating in a layer of fibrin deposited on the epicardium. Giemsa stain,  $\times 160$
- Fig. 3.** A high-power view of macrophages infiltrating in the fibrin layer on the epicardium. They phagocytize the bacteria and allow intracellular multiplication of the bacteria. Giemsa stain,  $\times 800$
- Fig. 4.** A granuloma formed on the auricle. The thick layer composed of epithelioid cells walls off inflammatory exudates containing a lot of bacterial colonies. The granulation tissue is produced surrounding the granuloma. H-E stain,  $\times 80$
- Fig. 5.** A detail of an old granuloma formed on the epicardium. The bacteria decrease in number but survive forming colonies in the inflammatory exudate. Giemsa stain,  $\times 200$

Plate XIV



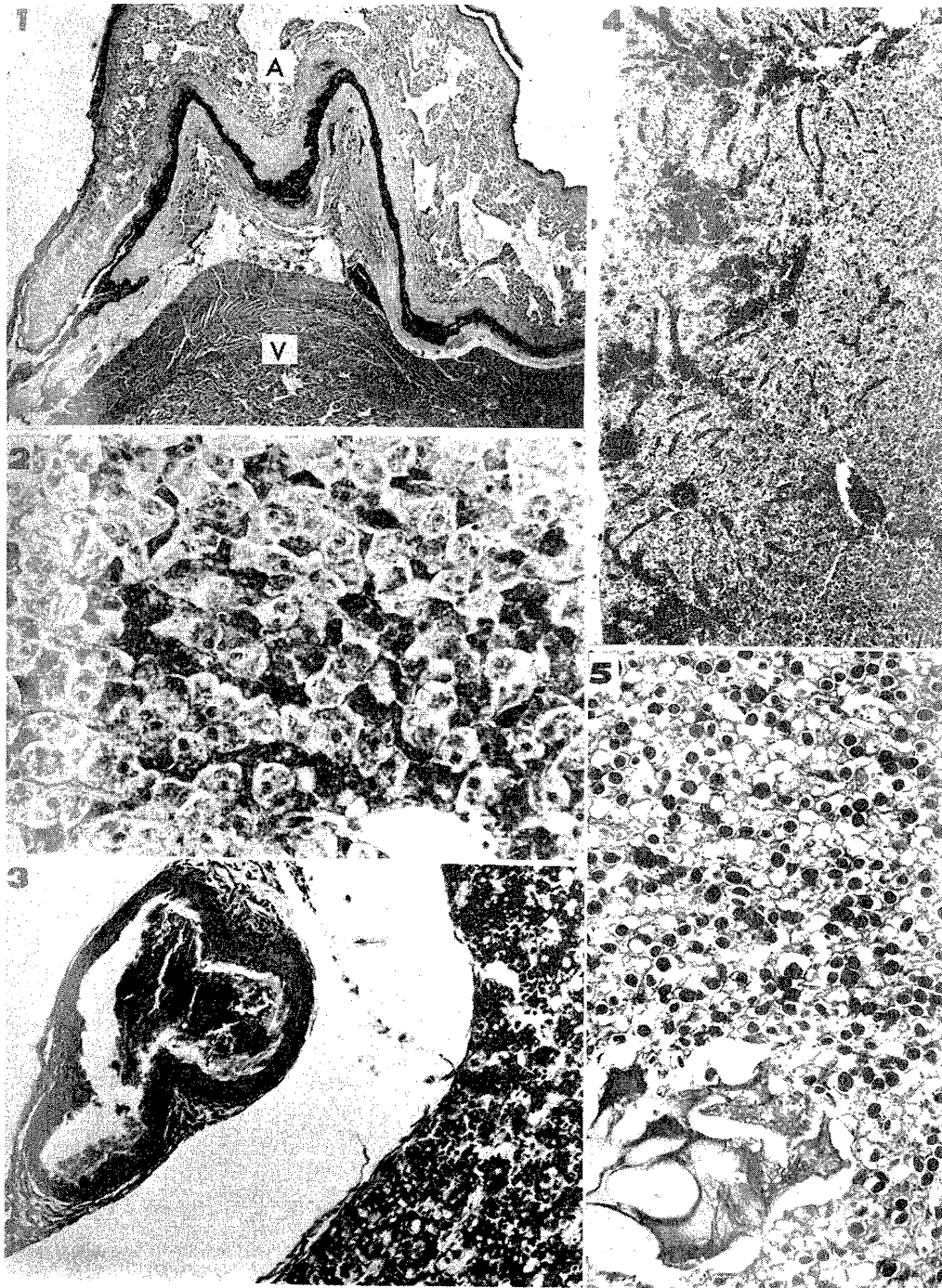
## Explanation of Plate XV

**Plate XV.** *Streptococcus* sp. infection in yellowtail

- Fig. 1.** A large-scale granuloma on the heart. It is formed between the ventricle(V) and the auricle(A) and around the auricle. The black belt shows coagulated inflammatory exudates walled off by the layer of epithelioid cells. H-E stain,  $\times 10$
- Fig. 2.** Alterations in the liver. Hepatic cells are necrotized and undergo cloudy swelling without a bacterial invasion. H-E stain,  $\times 200$
- Fig. 3.** A granuloma on the liver. H-E stain,  $\times 160$
- Fig. 4.** Circulatory disturbances in the liver. Marked congestion and focal hemorrhage involving the parenchyma are caused without an obvious, bacterial invasion. H-E stain  $\times 50$
- Fig. 5.** Alterations in the liver. Hepatic cells undergo hyaline droplet degeneration and vacuolar degeneration. Bullae containing fibrine are produced in the parenchyma. Weigert's fibrin stain,  $\times 160$



Plate XV



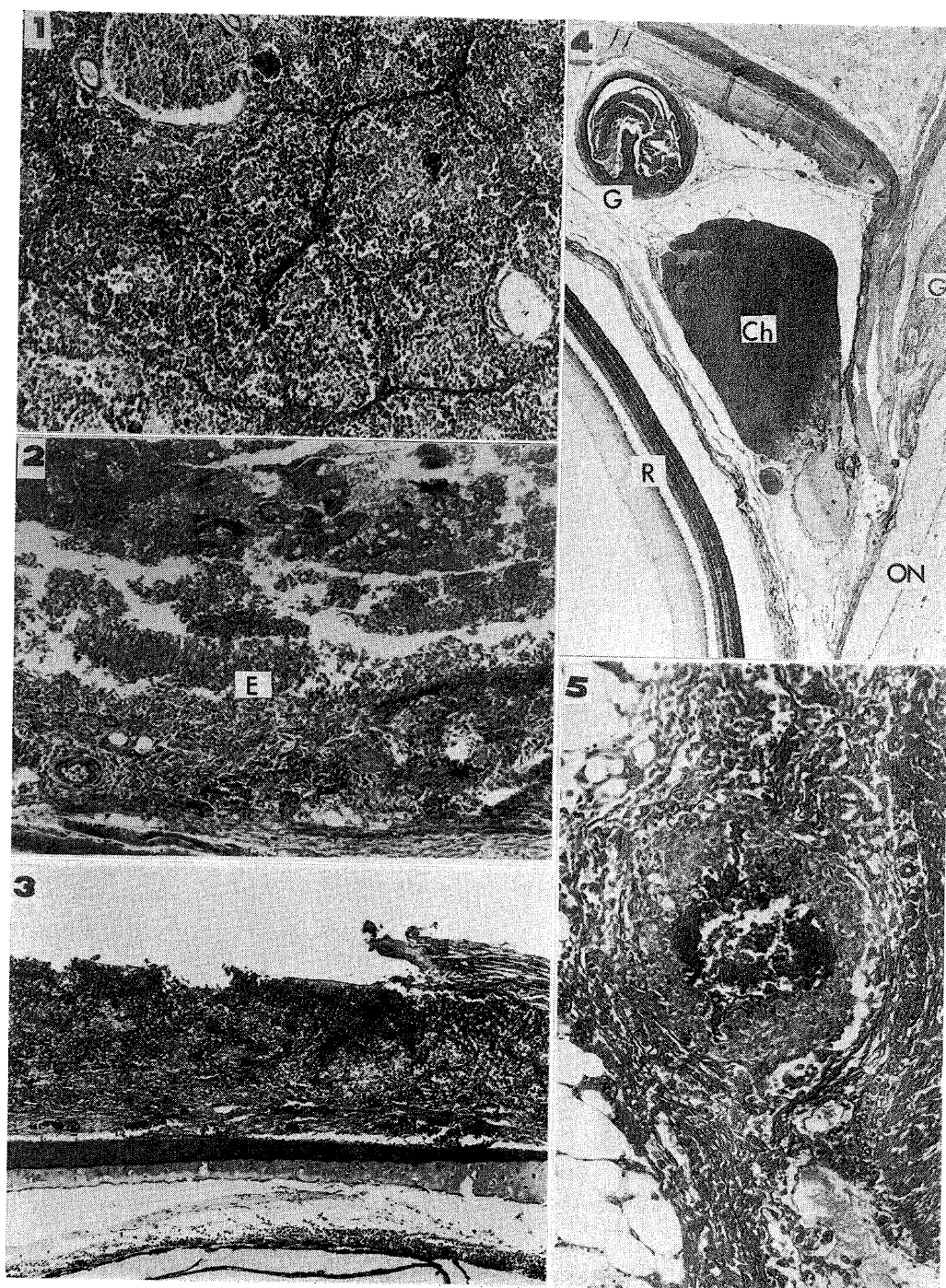


## Explanation of Plate XVI

**Plate XVI.** *Streptococcus* sp. infection in yellowtail

- Fig. 1.** The atrophied spleen. Trabeculae composed of smooth muscle fibers become obvious. Azan stain,  $\times 50$
- Fig. 2.** An injected lesion of a moribund fish intramuscularly injected with the isolated bacteria at the rate of 1.0 mg per 100g body weight. Necrosis and infiltration of inflammatory cells are caused in the lesion. The lesion becomes to be demarcated by a layer of epithelioid cells(E) and the granulation tissue H-E stain  $\times 80$
- Fig. 3.** An eye-lesion caused by smearing of the isolated bacteria. The conjunctiva is invaded by the bacteria and manifests necrosis, fibrin deposition and macrophages infiltration. H-E stain,  $\times 50$
- Fig. 4.** Metastatic lesions in the eye of the fish intramuscularly injected with the isolated bacteria. Granulomas(G) are formed in the bundle of the optic nerve(ON) and between the choroid(Ch) and the sclera. R: retina, H-E stain,  $\times 20$
- Fig. 5.** A granuloma formation on the epicardium of the ventricle of the fish intramuscularly injected with the isolated bacteria. A small granuloma contains inflammatory exudates and the bacteria. The granulation tissue is produced around it. H-E stain,  $\times 200$

Plate XVI

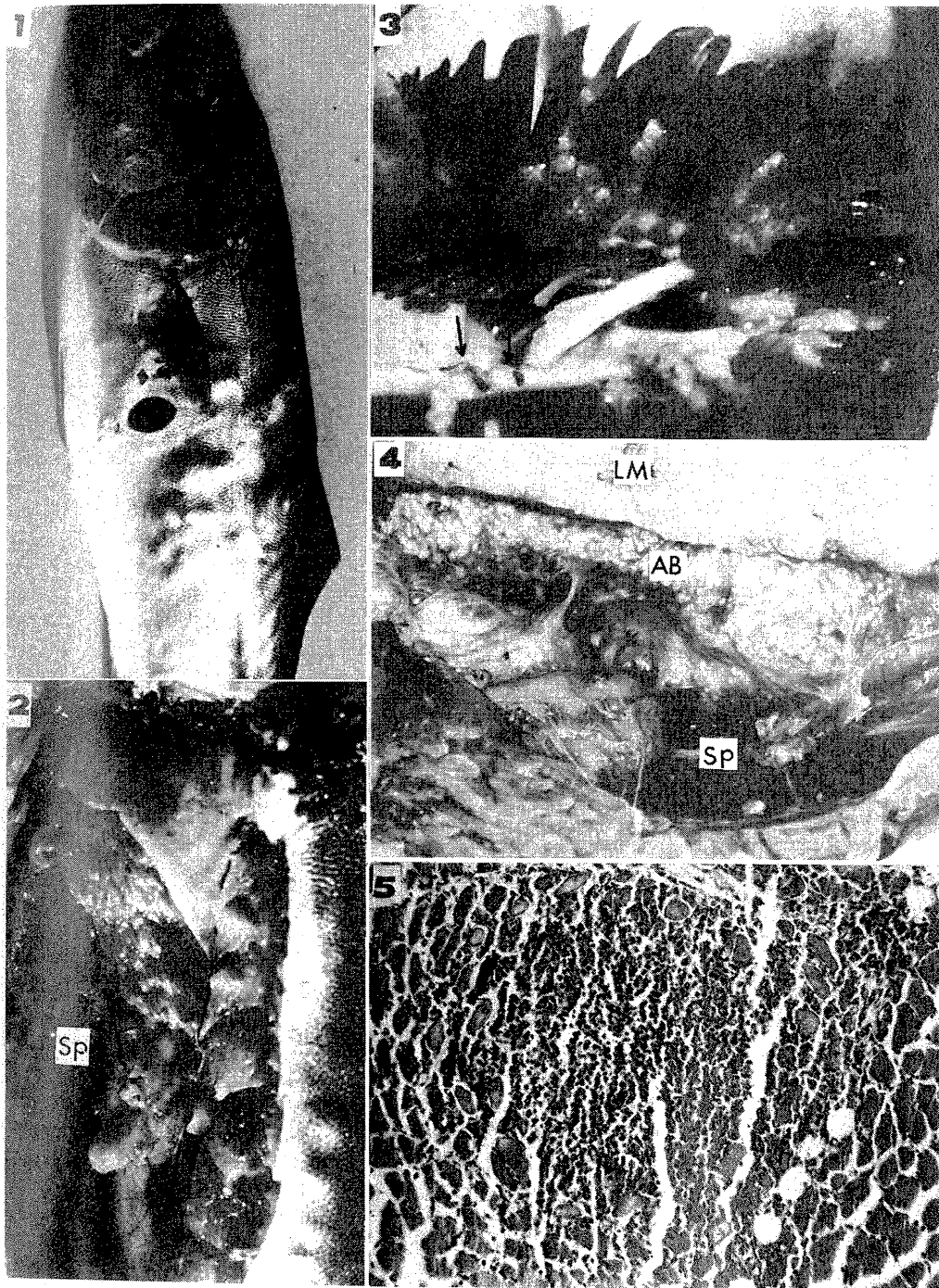


## Explanation of Plate XVII

**Plate XVII.** *Nocardia kampfachi* infection in yellowtail

- Fig. 1.** An external view of a naturally infected fish of the abscess type. Large and small protuberances containing pus are formed on the body surface. Ulcers are also formed after destruction of the skin covering over the protuberance.
- Fig. 2.** An anatomical view of an naturally infected fish of the nodule type. A large ulcer and small protuberances are formed on the body surface. A large number of nodule-appearing lesions are caused in the spleen (Sp).
- Fig. 3.** Gill lesions of a naturally infected fish of the branchitis nodosa type. Numbers of white nodules are formed in gill filaments and gill arches. Two *Caligus* attach to the gill arch(arrows).
- Fig. 4.** An anatomical view of a naturally infected fish of the airbladder-nodule type. Large numbers of nodule-appearing lesions are formed in the wall of the airbladder(AB) and the wall becomes very thick. Abscesses and nodule-like lesions are caused also in the spleen(Sp). This fish has white small cysts of *Kudoa amamiensis* in the lateral musculature(LM).
- Fig 5.** An early lesion in the red musculature underlying a cutaneous ulcer. Infiltration of neutrophils and mesenchymal cells occurs according to growth of the bacteria. Muscle fibers involved in the lesion are degenerated and necrotized. H-E stain,  $\times 200$

Plate XVII

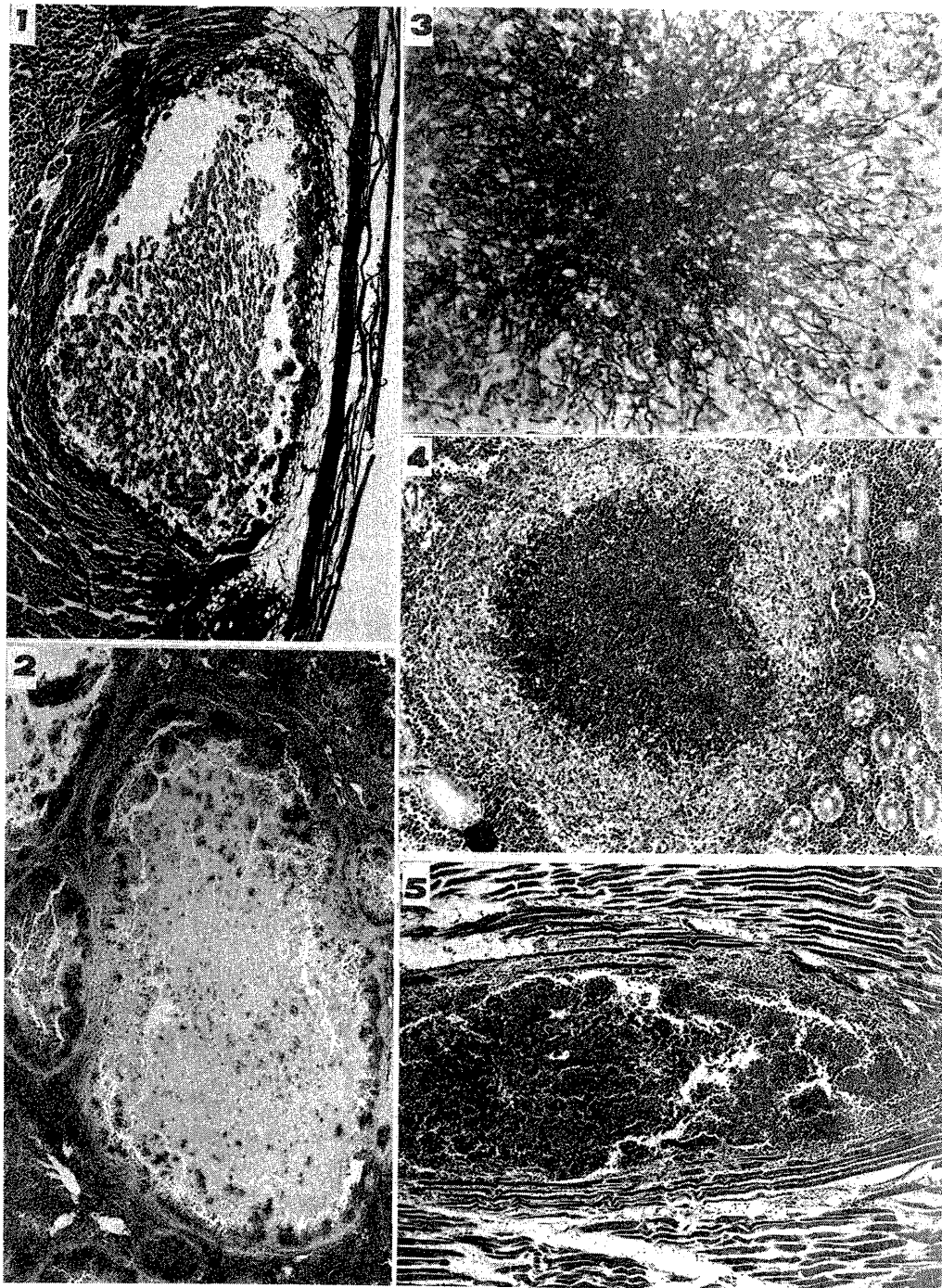


## Explanation of Plate XVIII

**Plate XVIII.** *Nocardia kampachi* infection in yellowtail

- Fig. 1.** A low-power view of a large abscess produced in the subcutaneous adipose tissue of a fish of the abscess type. The abscess is liquefied and is demarcated by a thin layer of the granulation tissue. It markedly presses the underlying red musculature. Giemsa stain,  $\times 10$
- Fig. 2.** A low-power view of abscesses produced in the spleen (abscess type). Large abscesses are dominantly produced. Also small abscesses characteristic in walling off by the layer of macrophages are observed. Giemsa stain,  $\times 16$
- Fig. 3.** A high-power view of a druse in the abscess. The druse consists of hypha-shaped cells extending actinomorphically and rod-shaped cells. The former strongly reacts Gram positive but the latter reacts weakly. Giemsa stain,  $\times 320$
- Fig. 4.** A small abscess in the kidney of a fish of the nodule type. This one is characterized by focal accumulation of neutrophils in which the bacteria markedly grow, and the formation of a layer composed of macrophages to demarcate the suppurative exudates. Such small abscess are observed with the naked eyes as small, white, nodule-appearing lesions in the visceral organs. H-E stain,  $\times 100$
- Fig. 5.** A small abscess in the red musculature (nodule type). The abscess is demarcated by a layer of the granulation tissue containing a lot of macrophages. Multitudinous production of such abscesses formed the protuberance on the body surface. H-E stain,  $\times 80$

Plate XVIII



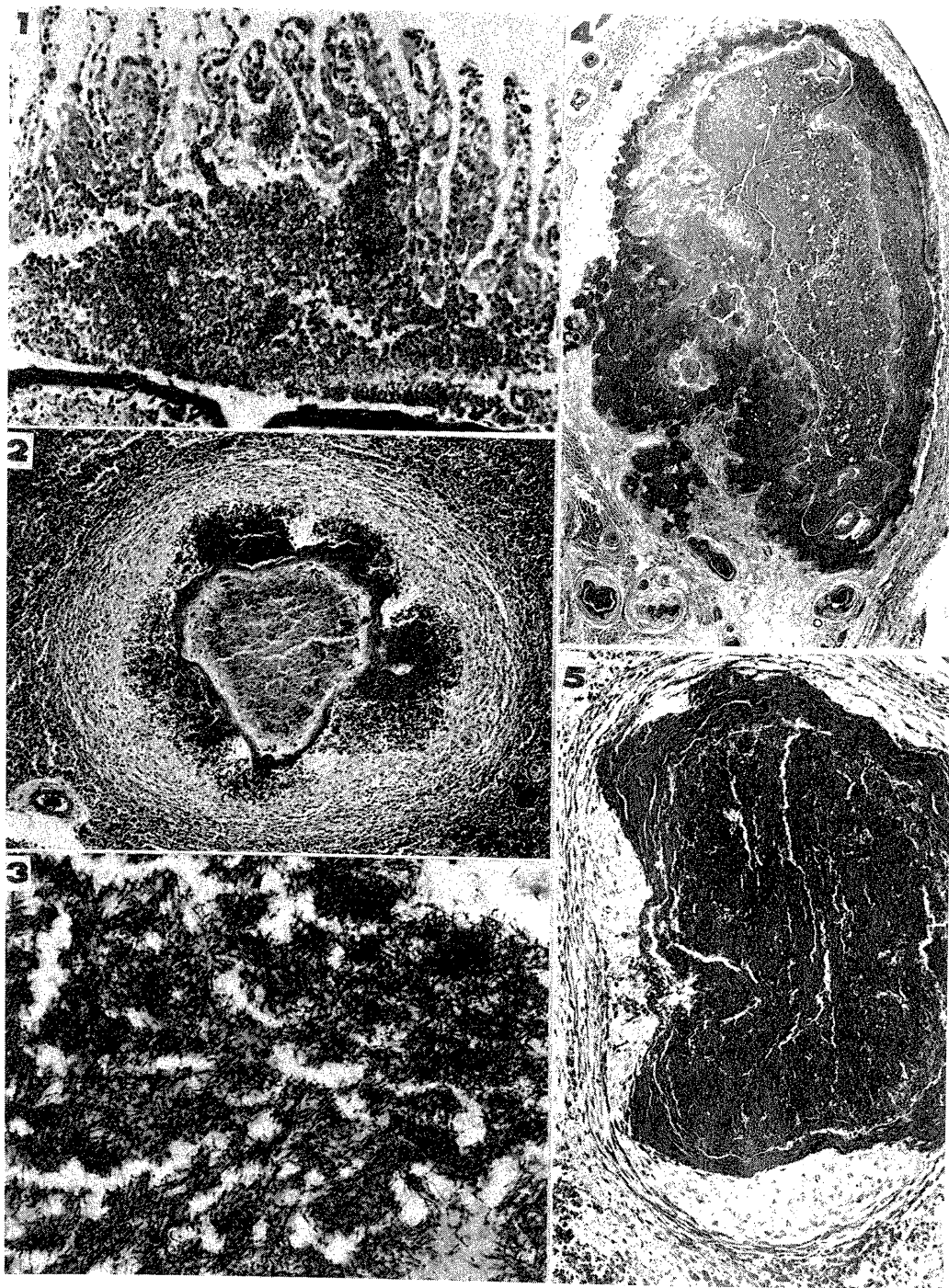
## Explanation of Plate XIX

**Plate XIX.** *Nocardia kampachi* infection in yellowtail

- Fig. 1.** A small abscess in a gill filament(abscess type). The bacteria grow in the connective tissue and in lamellae capillaries. Neutrophils infiltration is weak in the gill lesion. Giemsa stain,  $\times 160$
- Fig. 2.** A lesion of the abscess-granulation type in the spleen (abscess type). A layer of the granulation tissue containing epithelioid cells demarcates the suppurative exudates. The bacteria invade and necrotized partially the granulation tissue. H-E stain,  $\times 50$
- Fig. 3.** The bacteria in suppurative exudates in the lesion of the abscess-granulation type. The bacteria form no druse and transform to the long rod-shape. Giemsa stain,  $\times 320$
- Fig. 4.** Granulomas formation in the subcutaneous adipose tissue and the red musculature of a chronic case(abscess type). The largest one comes from a large abscess. Granulomas are walled off by two layers; inner one is composed of epithelioid cells and outer one is composed of the granulation tissue. The suppurative exudates become coagulation in the granuloma. H-E stain,  $\times 10$
- Fig. 5.** A granuloma in the spleen(nodule type). This one comes from a small abscess and has a thick layer composed of epithelioid cells, walling off directly suppurative exudates, and a thin, surrounding layer composed of the granulation tissue. The suppurative exudates and the surrounding epithelioid cells undergo coagulation. H-E stain,  $\times 160$



Plate XIX



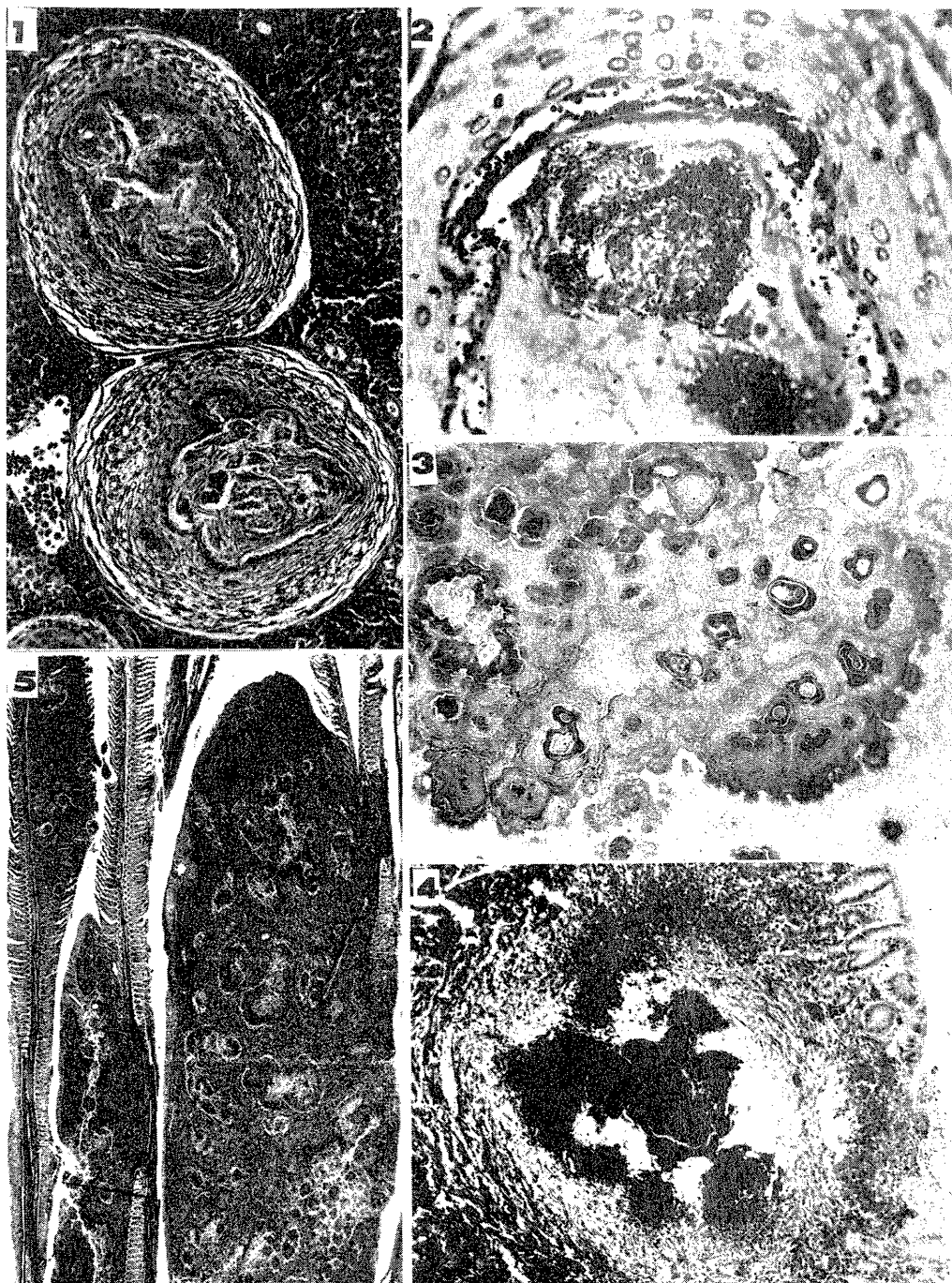


## Explanation of Plate XX

**Plate XX.** *Nocardia karpachi* infection in yellowtail

- Fig. 1.** Two old granulomas in the kidney(abscess type). The inner layer of epithelioid cells is atrophied. The surrounding, granulation tissue undergoes fibrosis. The suppurative exudates becomes to caseation. Azan stain,  $\times 160$
- Fig. 2.** A high-power view of the bacteria in the old granuloma. They markedly decrease in number and transform into the short rod-shape. Giemsa stain,  $\times 500$
- Fig. 3.** Granulomas formation in the wall of the airbladder (airbladder-nodule type). A large number of granulomas are formed in the infected wall. Many of them are fused and are altogether walled off by the layer composed of epithelioid cells and the surrounding, granulation tissue. H-E stain,  $\times 10$
- Fig. 4.** A granulomatous lesion in the stomach (nodule type). Azan stain,  $\times 50$
- Fig. 5.** A low-power view of gill lesions (branchitis-nodosa type). The granulation tissue are markedly produced at infected lesions caused in the connective tissue of gill filaments. The bacteria form many druse and necrotize the granulation tissue around druse. Azan stain,  $\times 20$

Plate XX



## Explanation of Plate XXI

**Plate XXI.** *Nocardia karpachi* infection in yellowtail

- Fig. 1.** A detail of the infected lesion in the gill filament. In the granulation tissue, fibroblasts proliferation, macrophages infiltration and production of fibers are very marked. Regions around druse are necrotized. PAS reaction,  $\times 160$
- Fig. 2.** The fiber-stroma of the granulation tissue produced at the infected lesion in the gill filament. The stroma is composed of the mesh-work of argyrophil fibers and collagen fibers. The mesh-work is destroyed at the necrotized area around druse. Silver stain,  $\times 100$
- Fig. 3.** Granulomas formation in the gill lesion. Granulomas are formed to enclose individual druse in the granulation tissue. In the granuloma, the bacteria markedly decrease in number and inflammatory cells undergo coagulation. H-E stain,  $\times 160$
- Fig. 4.** An early lesion in the spleen(branchitis-nodosa type). Many macrophages accumulate in the infected region to form a nodule. In this manifestation type, the abscess formation is scarcely observed. H-E stain,  $\times 200$
- Fig. 5.** A granuloma in the spleen(branchitis-nodosa type). This one comes from the nodule. H-E stain,  $\times 100$

Plate XXI

