

養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—V
変敗蚕蛹投与によるコイの背こけ症状

宮崎 照雄・窪田 三朗
三重大学水産学部

Studies on Nutritional Myopathy Syndrome in Cultured Fishes—V
Sekokeosis in the Carp fed on Rancid Pupae of the Silk-worm

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

A long-period administration of rancid pupae of the silk-worm caused the carp (*Cyprinus carpio*) sekokeosis (sekoke means in Japanese extensive atrophy of the back). The carp displayed extensive thinness of the back after feeding for a seven month period and underwent a moribund condition accompanying the thin body after twelve months. Diseased fish histopathologically exhibited myopathy of the systemic skeletal musculature, ceroid and hemosiderin deposition and chronic nephritis which was extensive especially in moribund cases. The myopathy was characterized by various kinds of alterations of muscle fibers and in the moribund cases, most of the muscle fibers were lost, accompanying a compensative production of fibrous tissue. Ceroid and hemosiderin were deposited within macrophages accumulating in the altered musculature, the spleen, the renal hematopoietic tissue and around pancreatic acini. The deposition became more extensive in the moribund cases. Chronic nephritis was characterized by glomerulitis, nephroses and productions of connective and adipose tissues accompanying loss of the hematopoietic tissue. But extensive alterations were not observed in Langerhans' islets, the nervous system and blood vessels.

Based on histopathological findings, the sekokeosis was represented by the systemic myopathy due to nutritional deficiency and toxicant affection.

Keywords: carp, rancid pupae of silk-worm, nutritional myopathy, ceroidosis, chronic nephritis

蚕蛹を餌として多用した養殖ゴイに背こけ症状*が発生することはよく知られている。横手(1967), Yokote(1970)は自然発生の背こけ症状の病魚を詳細に検討し, その本質が糖尿病であることを明らかにした。筆者らはこれまでにコイの背こけ症状と同様に軀幹の著しい瘦削を示すブリの病魚(窪田ら, 1980)とトラフグの病魚(延東ら, 1979)を調べ, それらの本質が栄養性ミオパチーであることを明らかにしてきた。これらの外見的に似た症状の疾病を比較検討する意味から, 本研究ではマゴイに変敗蛹を長期間投与して背こけ症状を発現させ, 時間経過に伴う症状の変化をふまえて, 発病魚について病理組織学的検討を行った。以下にその結果の詳細について報告する。

材料および方法

供試した蚕蛹は水で湿らせた後, 日光に数日間さらして変敗させた。この変敗蛹からソックスレーの装置でエチルエーテルにて油分を抽出した結果, 蛹は約4%の油分を含有し, 抽出油は粘調で, その過酸化価は約3 meq/kg(レー法改良法)であった。供試魚は平均体重94gのマゴイ10尾で, 上述の変敗蛹を体重の約1%の割合で投与し, 800ℓの水量で, 止水にて飼育した。飼育期間は約12ヶ月間で, 換水は適時行い, 冬期には加温することにより, 期間中の水温を20~27°Cに保った。体長と体重の測定は70日目ごとに行った。飼育実験開始から7ヶ月目に2尾, 背こけ症状を発現した8ヶ月目に5尾, 瀕死状態になった12ヶ月後に3尾をそれぞれとりあげて, 観察に供した。各供試魚は剖検後, 15%ホルマリン水, ブェン液あるいはカルノア液で固定し, 常法に従ってパラフィン切片を作製した。染色はマイヤーのヘマトキシリン・エオジン染色, PAS反応, アザン染色, 燐タングステン酸ヘマトキシリン(PTAH)染色, ズダン黒B染色, チール・ニルセン染色, ベルリン青染色, 塩基性フクシン染色, アルデヒドフクシン染色, ワイゲルト線維素染色, コンゴ赤染色, メチル紫染色, アルシアン青染色(pH3), ボディアン染色, クルユーバーパレラ染色, ビクトリア青・酸性フクシン染色を目的に応じて施した。また, 暗視野蛍光顕微鏡観察も併せて行った。

結 果

肉 眼 的 所 見

供試魚の成長は悪く, 飼育開始から7ヶ月目の増重率は僅か1.4でしかなかった。8ヶ月目には全ての供試魚に背こけ症状と体重の減少傾向が認められた。それらの病魚は背部の瘦削と肝臓の軽度な萎縮を示していた。12ヶ月目には, 残っていた3尾はいずれも軀幹の瘦削が著しく, 衰弱して水槽底に静止したままであり, 瀕死状態にあった。瀕死魚の体側筋はほとんどの筋線維の消失のために透明化しており, 肝臓の萎縮と褪色, 鰓の褪色, 腎臓の腫大と白色化も併せて観察された(Plate I-1)。

病理組織学的所見

背こけ症状の発現時期とその程度から疾病の段階を区分し, それぞれの段階の病魚の病理組織学

* コイでは外見的に体の背側部に顕著な瘦削を示す疾病を背こけ病(Sekoke disease)と呼称してきた。背こけ病と呼ばれる疾病の検索の結果, 糖尿病性のもの(Yokote, 1970)と筋ジストロフィーによるものの(Aoe *et al.*, 1972)などが認められている。筋ジストロフィーという名称は現在では原因不明の難治性の筋疾患に限られて呼称されており, Aoeら(1972)により示された疾病は, 筆者らの言う栄養性ミオパチーの範ちゅうに入ると言えよう。したがって背こけ病の取り扱いに混乱を起こさないために, 背こけ病の呼称は自然発症糖尿病ゴイにのみ使用し, その他の原因による体の背側部の瘦削を主徴とする疾病に対しては単に症状としての表現に止め, 背こけ症状(Sekokeosis)と称したい。

的特徴をまとめると次のようになる。

1. 初期（軽症例）

背こけ症状の発現の約1ヶ月前にとりあげて供試した2尾がこの段階にあり、主に体側筋の白色筋組織に限って筋線維の壊死が散見された。肝細胞は糖原を豊富に貯蔵しており、他の組織器官には特記すべき異常がみられなかった。

2. 進行期（中症例）

飼育開始から8ヶ月目に肉眼的に背こけ症状の発現が確認された5尾はいずれもこの進行期に区分された。

a. 骨格筋組織： いずれの病魚も体側筋の白色筋組織に著しい退行性病変を起こしていた。その退行性病変は左右の体側にはほぼ同程度現われており（Plate I—2）、軀幹部から尾部のほぼ全域の筋節に及んでいた。筋線維の退行性病変は、単純萎縮、肉漿塊の出現を伴う萎縮、縦裂、硝子化および壊死であり（Plate I—3）、そのうち、萎縮の激しい筋線維は変形したり、断裂して、細く細い線維となっていた（Plate I—4）。その細く短くなった筋線維は横紋を明瞭に残しており、あたかも再生筋線維に似るが、PTAH染色で染色性が低下しており、その点で退行像であることがわかる。壊死は正常に近い太さの筋線維や上述の萎縮筋線維にも起こっており、それらの多くは食細胞の貪食処理を受けていた。こうした退行性病変の顕著な筋組織の間質にはマクロファージを伴った線維性結合織の増殖が進んでいた。なお、体側筋の血合筋組織、鰭動筋組織、鰓動筋組織などの筋組織では退行性病変の程度は比較的軽かった。

脊髄神経節に小円形細胞の浸潤がみられることもあるが、一部のものに限られていた。神経節の神経細胞と神経線維、脊髄、側線神経、および退行性病変の著しい筋組織内の末梢神経線維には特記すべき異常はみられなかった。

b. 内臓諸器官： 肝臓の実質細胞では貯蔵糖原の減少がみられるが、退行性病変は著明ではなかった。セロイドや血鉄素の沈着が進んでおり、それらを貪食した細胞が、肝臓実質部内に散在するほか、脾臓の脾髄静脈周囲、肝内および脾内の脾小葉を含めた脾小葉周囲結合織内、腎臓の造血組織内と集尿管周囲結合織などに浸潤、集簇していた。また、腸の吸収上皮にはセロイドの微細顆粒の沈着がみられた。セロイドはパラフィン切片において、PAS反応、塩基性フクシン染色、ズダン黒B染色にいずれも陽性となり、チール・ニルセン染色で弱～強抗酸性を示し、蛍光顕微鏡観察で黄色の蛍光を発する性質があった。

なお、腎実質、脾細胞とランゲルハンス島、副腎腺、心臓、鰓、眼球の網膜と脈絡膜、および鰓の赤腺などには異常がみられなかった。

3. 終末期（重症例）

飼育開始から12ヶ月後に顕著な背こけ症状を呈して瀕死状態になった3尾がこの範ちゅうにあった。

a. 骨格筋組織： 体側筋の白色筋組織と血合筋組織をはじめ、鰭動筋組織や鰓動筋組織などの骨格筋組織はいずれも激しい退行性病変を起こしていた。なかでも白色筋組織の病変は激しく、極度に萎縮した筋線維がわずかに残存するのみで、ほとんど線維性結合織に置きかわっていた（Plate II—1, Plate II—2）。このような筋組織内の細小血管の周囲には多数の小円形細胞が集簇し、代償性増殖した線維性結合織内にはセロイド貪食細胞やマクロファージが浸潤していた。また、筋組織内の末梢神経線維や側線神経には特記すべき異常はみられなかった。脊髄神経節には小円形細胞の増加がみられるが、その神経細胞や神経線維の異常はほとんど観察されなかった（Plate II—3）。

b. 内臓諸器官： どの症例の肝臓でも、実質細胞は貯蔵糖原を消失し、セロイドの微小顆粒の沈着を示していた。脾臓ではセロイドと血鉄素を貪食したマクロファージが脾臓内にび慢的に分布し、その大小の集塊が脾髄静脈周囲に形成されていた。肝臓および脾臓内の脾小葉、腹膜内の脾小葉の周囲脂肪織にはセロイド・血鉄素貪食細胞の集簇が顕著で、そのため脾小葉の圧迫萎縮もみられた (Plate II-4)。上記の色素貪食細胞のうち、セロイド貪食細胞のほうが卓越していた。脾小葉内のランゲルハンス島には顕変はみられず、その内の β 細胞にも特記すべき異常は指摘できなかつた (Plate II-5, III-1)。

腎臓では腎実質の退行性変化と造血組織の減数表縮が顕著で、その大半が、夥しい数のセロイド貪食細胞を伴った結合織や脂肪織に置きかわっていた (Plate III-2)。腎小体には壊死や崩壊から消失に至る変化 (Plate III-3)、糸球体毛細血管の開裂を伴う拡張 (Plate III-4)、糸球体メサンギウム基質の水腫性疎開 (Plate III-5)、メサンギウムの増殖を伴うび慢性糸球体硬化 (Plate IV-1, 2)、ボウマン嚢周囲の硝子化 (Plate IV-3) などが特徴であった。上記の糸球体の障害をもつ腎小体はボウマン嚢基底膜の肥厚や嚢周囲の線維化も併せて起こしていることが多かった。ボウマン嚢周囲の硝子化が顕著な腎小体は萎縮の傾向が強くなり、嚢上皮と糸球体との癒着、糸球体の崩壊、腎小体自身の硝子化などの諸変化を伴っていた。その硝子物質はエオジン好性、アザン染色で赤色、ワン・ギーソン染色で黄赤色、アルデヒドフクシン染色で紫色、PAS 反応弱陽性、コンゴ赤染色で橙色、ワイゲルト線維素染色でヨウ素反応を呈するが、アルシアン青、クリスタル紫、メチル紫には反応しなかつた。尿細管にみられる変化としては、上皮の萎縮と管腔拡張、上皮細胞内への糖蛋白体やセロイドの沈着 (Plate IV-4)、尿円柱の形成 (Plate IV-5)、上皮の壊死と剥落が特徴であった。そのうち尿円柱をつくる物質は、PAS反応で弱ないし強陽性、ズダン黒B染色、アルデヒドフクシン染色、アルシアン青染色でともに陽性、クリスタル紫とメチル紫染色でメタクロマジアを呈した。また腎芽細胞の増生、少数の細小動脈の硝子化もみられた。頭腎では造血組織にセロイド貪食細胞の集簇がみられるが、間腎腺には異常は観察されなかつた。

心臓では心筋線維に異常はみられないが、セロイド貪食細胞の浸潤が心筋層や心内膜にみられた。しかし、鰓薄板、眼球の網膜や脈絡膜、鰓の赤腺などの細小血管や毛細血管には特記すべき異常は指摘できなかつた。

考 察

変敗した蚕蛹を長期間投与することによって発現した背こけ症状の主要な病理組織学的特徴は、全身の骨格筋組織に起こった退行性病変、セロイドと血鉄素の沈着および腎臓障害であった。そのうち、骨格筋組織の病変の特徴は、筋線維の種々の退行性変化がほぼ全身性にび慢的に発現することであった。また、そのような筋組織を支配する神経系に異常が指摘できなかつた。以上の特徴から、骨格筋組織の病変はミオパチー (筋原性筋疾患) (CARL, *et al.*, 1973; 浜崎ら, 1977) と判断される。なお、糖尿病に付随する筋障害は神経障害性の筋萎縮とされており (鬼頭, 1980)、明らかに異なる。同様の筋組織の退行性変化はビタミンE欠乏条件で酸化魚油を投与したコイ (Aoe *et al.*, 1972) のほか、トラフグ (延東ら, 1979) やブリ (窪田ら, 1980) にもみられている。また、杉井ら (1968) は蚕蛹で養殖されたコイに自然発生した背こけ症状の魚のビタミンE含量を調べ、筋組織内のビタミンE含量の減少を認めている。ミオパチーおよびセロイド症はビタミンE欠乏や酸化魚油の影響によるとも言われている (平井, 1973)。今回の実験で用いた蚕蛹は栄養的に劣っていることが実験魚の成長不良から判断され、その病魚に発現したミオパチーはビタミンEをはじめとする

必須栄養素の欠乏により引き起された栄養性ミオパチーと考えることができる。

腎臓障害はミオパチーの進行期の段階ではほとんど認められず、筋組織の大半が消失に至った終末期の症例に限り顕著であった。そのうち、PAS 反応陽性物質の尿円柱形成や同物質の尿細管上皮細胞内への沈着などは糖尿の発生を示唆する。尿細管の障害のほか、基底膜の肥厚を伴う糸球体の慢性硬化は、横手(1967, 1973)、YOKOTE(1970)による自然発生糖尿病ゴイの所見に酷似し、ヒトの糖尿病(矢島, 1951; 木下ら, 1978; 平山, 1980)にも見出されている。しかし、本症の腎臓障害は糖尿病性腎障害の特徴とされる結節性糸球体硬化や滲出性病変(fibrin capsやcapsular dropの形成)はみられなかった。また、慢性糸球体硬化をはじめ腎小体の線維化や硝子化および壊死、尿細管および間質の荒廃は慢性型腎炎の特徴(矢島, 1951; ALLEN, 1962; 木下ら, 1978)とも一致する点が多い。この様に本症の腎臓障害は糖尿病性腎症とも似ているが、ランゲルハンス島のβ細胞に特記すべき異常がなかったことも考え併せると、慢性型腎炎と判断するほうが妥当と言える。尿円柱および腎小体に沈着した硝子様体は、その染色性から、糖、脂質、蛋白質の複合体と判断され、複雑な物質代謝障害の発現が推察される。体の大半の筋線維の消失という激しい筋組織の障害が物質代謝を攪乱させ、腎実質の排出機能に障害を及ぼすことは充分考えられる。また、川津(1961)は脱脂および非脱脂の蚕蛹(21%油分含有)をニジマスに投与し、いずれの場合も尿細管腎症の発現を認め、病変の程度は非脱脂蚕蛹を投与した魚で著しかったと報告している。著者らも次報で述べるように、蚕蛹油を投与したコイに腎臓障害の発現を、ビタミンEの添加によりそれが予防されることをそれぞれ認めている。上記の事実から、腎臓障害に蚕蛹の含有する脂質が関与しているとも推察される。この点については今後さらに検討したい。

以上述べたように、変敗蚕蛹を投与したコイに発生した背こけ症状は栄養性ミオパチーを基本病徴としていた。

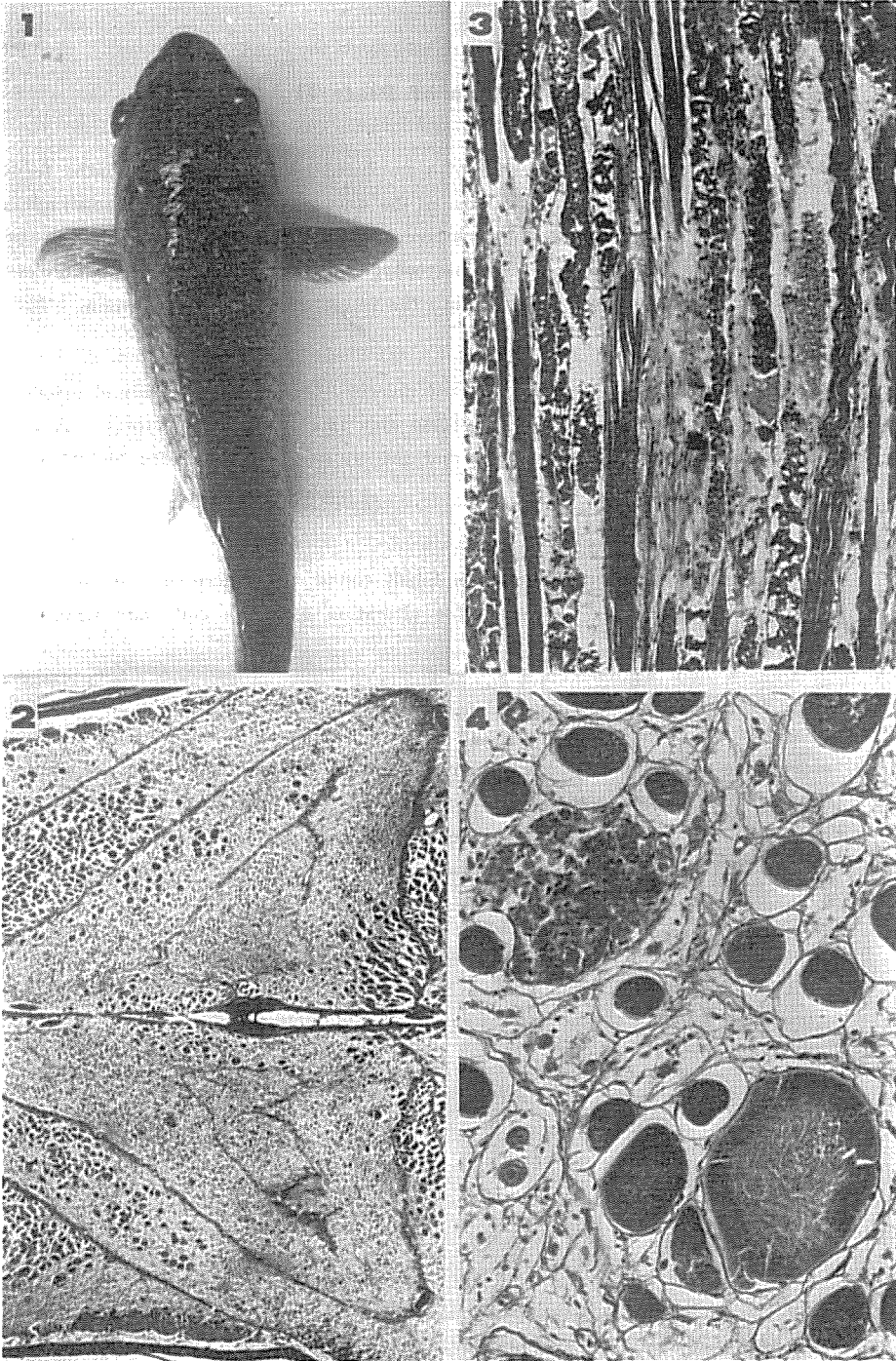
文 献

- ALLEN C. A., 1962. The kidney. Grout and Stration, New York, 770pp.
- AOE H., ABE T., SAITO H. and H. KOYAMA, 1972. Preventive effects of tocolds on muscular dystrophy of young carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 38(8): 845—851.
- CARL M. P. and F. K. MOSTOFI (Edi.), 1973. The striated muscle. The WILLIAMS and WILKINS Company, Baltimore, 518pp.
- 延東 真・宮崎照雄・窪田三朗・大林萬鋪・長野泰三・松本紀男, 1979. 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—Ⅱ. 種苗生産中に発生したトラフグの栄養性ミオパチー症について. *魚病研究*, 13(4): 183—187.
- 浜崎幸雄(監修), 1977. 病理組織の見方と鑑別診断. 医歯薬出版, 東京, 462pp.
- 平井俊策, 1973. ビタミンE欠乏症. 代謝(特集, 脂溶性ビタミン), 10(7): 933—941.
- 平山 章, 1980. 病理. 糖尿病のすべて, 内科シリーズ3, 内科編集委員監修, 南江堂, 東京, 39—50.
- 川津浩嗣, 1961. ニジマス (*Salmo irideus* GIBBONS) の乾さなぎによる飼料性疾病について—Ⅱ. *淡水研報*, 11: 29—42.
- 木下康民(編者), 1978. 腎疾患の症例図譜. 中外医学社, 東京, 402pp.
- 鬼頭昭三, 1980. 糖尿病性ニューロパチー・糖尿病のすべて, 内科シリーズ3, 内科編集委員監修, 南江堂, 東京, 379—404.
- 窪田三朗・舟橋紀男・延東真・宮崎照雄, 1980. 養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—Ⅰ. プリの栄養性ミオパチー・魚病研究, 15(2): 75—80.
- 杉井麒三郎・衣巻豊輔, 1968. 二, 三の魚類におけるビタミンEの分布. *日水誌*, 34(5): 420—428.
- 矢島権八, 1951. 病理学より見た腎炎の分類. *日本臨床*, 14, 1623—1645.
- 横手元義, 1967. コイの背こけ病研究の紹介. *魚病研究* 1(2): 54—65.
- YOKOTE M., 1970. Sekoke disease, spontaneous diabetes in carp, *Cyprinus carpio*, found in fish farms — I. Pathological study. *Bull. Freshwater Fish. Res. Labo.*, 20(1): 39—72.
- 横手元義, 1973. コイの自然発症糖尿病. *Diabetes Jur.*, 1(3): 21—28.

Explanation of Plate I

- Fig. 1.** A carp undergoing sekokeosis after feeding on rancid pupae of the silk-worm for about twelve months. The fish has the thin body accompanying the markedly atrophied back and slight exophthalmos.
- Fig. 2.** A cross section of the back of a fish undergoing sekokeosis after feeding for seven months and being in an advanced stage of the disease. The lateral white musculature exhibits extensive myopathy symmetrically. All myomeres of the white musculature exhibit diffuse alterations of muscle fibers. The red musculature shows not so much extensive damage. Azan stain, $\times 10$
- Fig. 3.** A longitudinal section of the lateral white musculature of the advanced case. All muscle fibers undergo simple atrophy, splitting, hyalinization and necrosis. Necrotized fibers are invaded by macrophages. The interstitial connective tissue initiates a compensative production. Azan stain, $\times 160$
- Fig. 4.** A detail of the white musculature of an advanced case. Most of the muscle fibers exhibit simple atrophy, splitting and necrosis. One fiber maintains a normal-like figure. Atrophic fibers are separated from the sarcolemma. Strongly atrophied fibers exhibit central nucleation. A necrotized fiber is invaded by macrophages. The interstitial tissue initiates a production. Bodian stain, $\times 200$

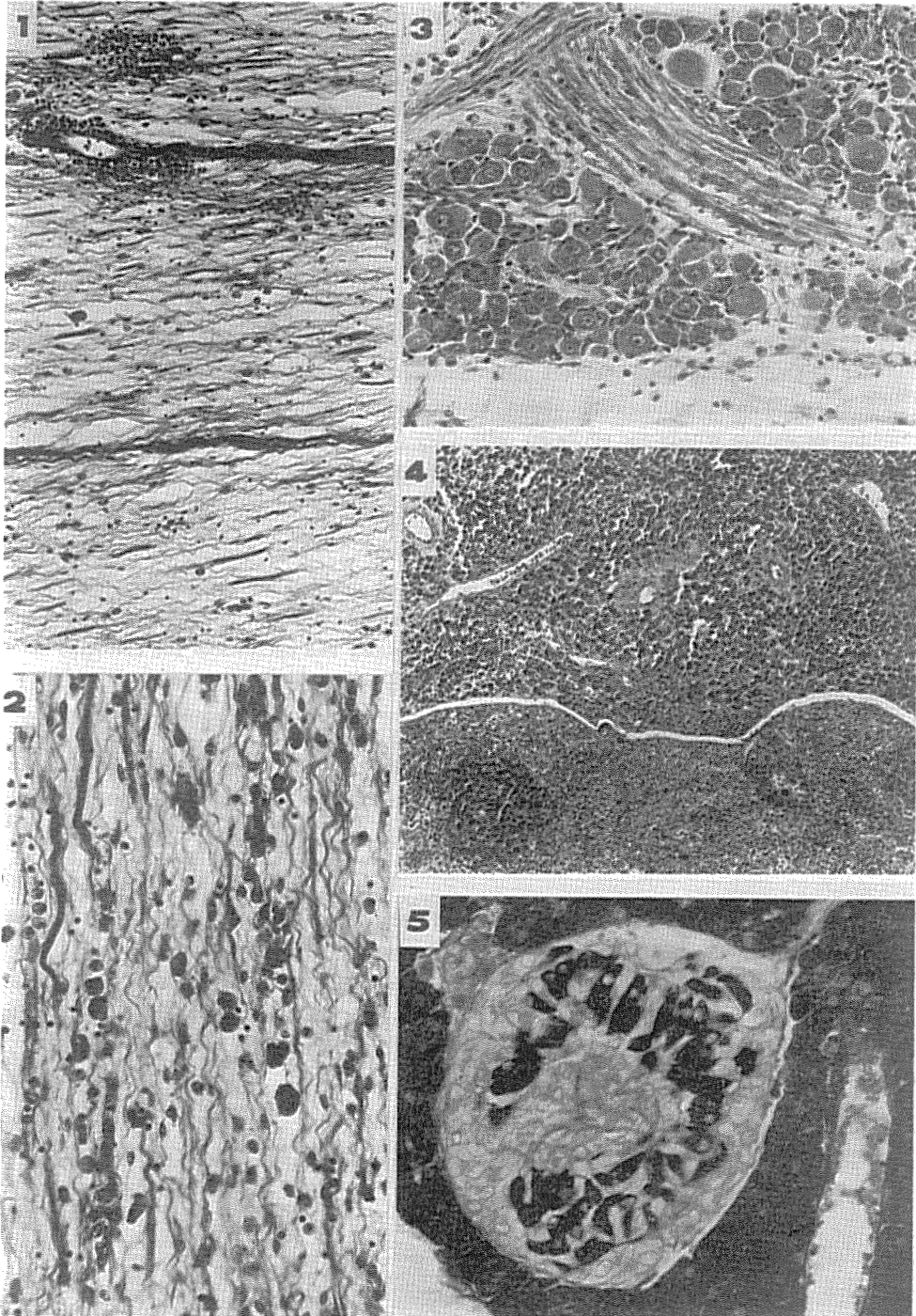
Plate I



Explanation of Plate II

- Fig. 1.** A longitudinal section of the back of a moribund fish after twelve months feeding. In the lateral white musculature, most of the muscle fibers are lost and small numbers of tiny fibers survived. A compensative production of fibrous tissue is extensive. Small round cells and ceroid-laden macrophages are accumulated around the vessels. Ceroid-laden macrophages infiltrate into the interstitial tissue. Azan stain, $\times 200$
- Fig. 2.** A deril of the same musculature. Tiny muscle fibers are intensively atrophied and are progressing to disappearance. Some tiny fibers undergo necrosis. A compensative production of fibrous tissue and infiltration of ceroid-laden macrophages are extensive. Azan stain, $\times 320$
- Fig. 3.** A spinal ganglion of a moribund fish. Small round cells increase in number within the ganglion. There is no remarkable alteration of nerve cells and nerve fibers. Azan stain, $\times 320$
- Fig. 4.** Spleen of the moribund fish. Ceroid and hemosiderin-laden macrophages accumulate around the pulp veins in the spleen and around the pancreatic acini going into the spleen. The macrophages tend to accumulate around the blood vessels within the pancreas. Extensive accumulation of the macrophages causes acinar cells marked pressure atrophy. Sudan Black B stain, $\times 200$
- Fig. 5.** A small Langerhans' islet of a moribund fish. B-cells have much, Aldehyde Fuchsin positive granules within cytoplasm. B-cells and other islet cells exhibit no alteration. Aldehyde Fuchsin stain, $\times 320$

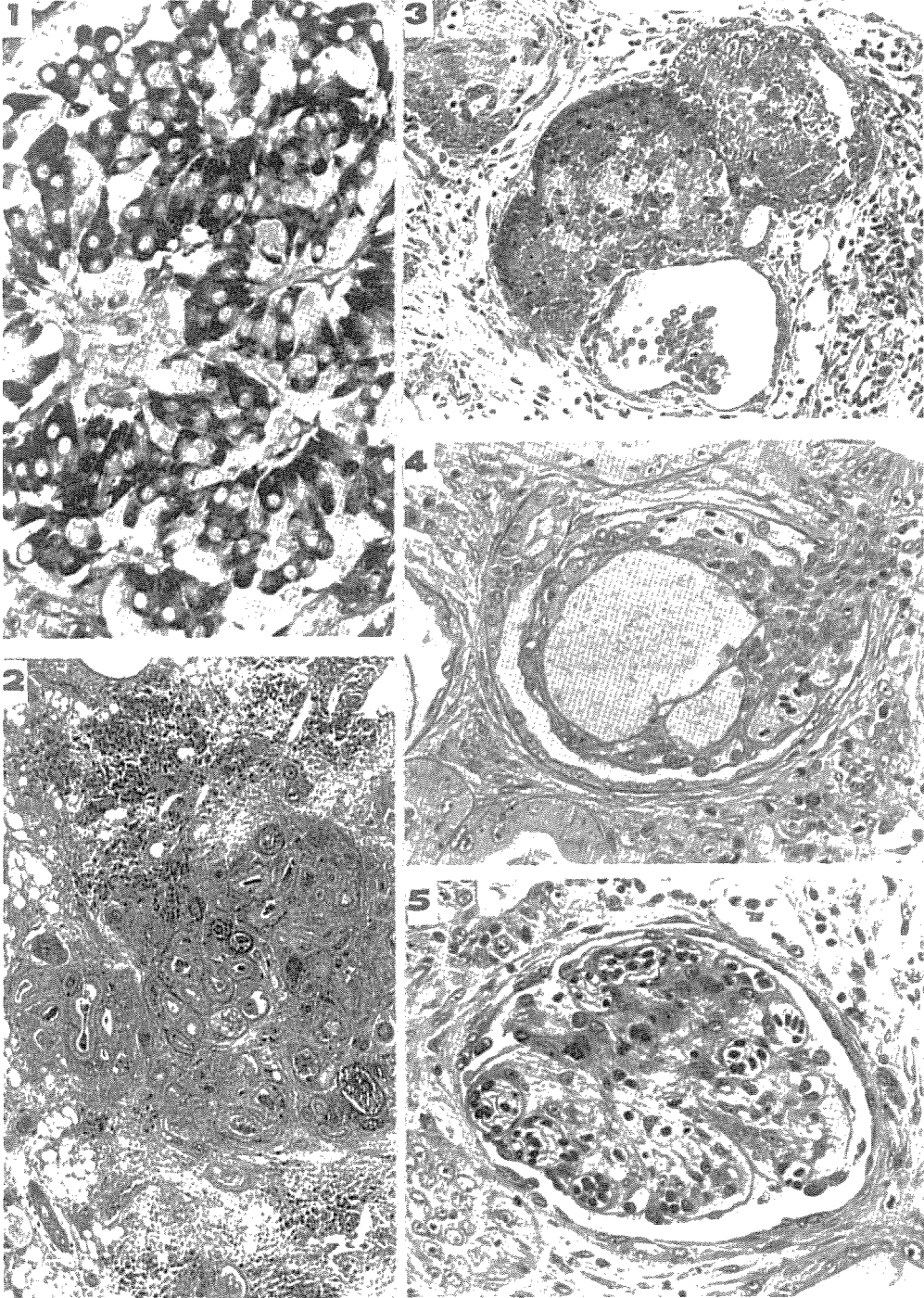
Plate II



Explanation of Plate III

- Fig. 1.** A large Langerhans' islet of a moribund fish. All B-cells have considerable numbers of Aldehyde Fuchsin positive granules within cytoplasm. There is no obvious alteration of B-cells and other islet cells. Aldehyde Fuchsin stain, $\times 320$
- Fig. 2.** A low-power view of the kidney of a moribund fish. Most of the nephrons and hematopoietic cells are lost and replaced with connective tissue produced markedly and containing large numbers of ceroid-laden macrophages. Renal corpuscles exhibit some kind of glomerulitis. Renal tubules exhibit formation of cast and lipopigment deposition within the epithelial cells. Ceroid, cast and lipopigment are positive with Aldehyde Fuchsin stain. Aldehyde Fuchsin stain, $\times 20$. Details of histological changes of the kidney are illustrated with the following figures.
- Fig. 3.** Nephroses. A glomerulus is in the process of destruction. Renal tubules produce PAS positive cast containing separated cells within the lumen. The tubules are markedly dilated, accompanying pressure atrophy and necrosis of the epithelial cells. The hematopoietic tissue is replaced with connective tissue. H-E stain, $\times 200$
- Fig. 4.** Glomerulitis. Glomerular capillary is markedly dilated, accompanying partial destruction of the mesangium. The basal membrane of the capsule becomes thickened. PAS reaction, $\times 320$
- Fig. 5.** Glomerulitis. A glomerulus exhibits diffuse edematous dissociation of the mesangium, accompanying moderate production of the tissue. A number of loops are invaded with the produced mesangium and the remaining loops are engorged with blood. The capsular epithelium is flattened. Moderate fibrosis occurs around the capsule. H-E stain, $\times 320$

Plate III



Explanation of Plate IV

- Fig. 1.** Glomerulitis. This glomerulus undergoes diffuse glomerulosclerosis characterized by a extensive production of the mesangium. Numbers of loops are involved with the mesangium production. Fibrosis is extnsive at the vascular pole of the corpuscle. H-E stain, $\times 320$
- Fig. 2.** Glomerulitis. This glomerulus exhibits diffuse glomerulosclerosis. This corpuscle has a thickened basal membrane of the capsule and extensive fibrosis around the capsule. PAS reaction, $\times 320$
- Fig. 3.** Glomerulitis. Two corpuscles undergo hyalinization due to deposition of a hyalin substance within the glomeruli. The hyalin substance is stained; red with Eosin, Congo Red and Azan, brown with Van Gieson, pink with PAS and no metachromagia with Methyl Violet. Congo Red stain, $\times 320$
- Fig. 4.** Nephrosis. Renal epithelial cells show a extensive deposition of ceroid and gluco-lipoprotein within the cytoplasm. Markedly damaged cells are separated into the lumen and are necrotized. A production of connective tissue is extensive within the hematopoietic tissue. Sudan Black B stain, $\times 160$
- Fig. 5.** Nephrosis. Some tubules have cast within the dilated lumen accompanying epithelial atrophy. Other tubules exhibit marked dilatation. One tubule has swollen epithelial cells due to deposition of fine granules of gluco-lipoprotein. H-E stain, $\times 200$

Plate IV

