

養殖魚の栄養性ミオパチー症候群に関する研究—VI

コイに対する蚕蛹油と魚油の投与実験— i

脱脂北洋ミール基本ビタミンE欠乏飼料

宮崎 照雄・窪田 三朗

三重大学水産学部

Studies on Nutritional Myopathy Syndrome in Cultured Fishes-VI Feeding Study with Oils extracted from Silk-worm Pupa and Fishes on the Carp-i Vitamin E deficient Diet based on Defatted White Fish Meal

Teruo MIYAZAKI and Saburoh S. KUBOTA

Faculty of Fisheries, Mie University

The authors performed a feeding study and prophylactic examination on the carp (*Cyprinus carpio*). The feeding study was performed with a vitamin E deficient diet based on defatted white fish meal and containing one of the oils extracted from the silk-worm pupa, the sandeel (*Ammodytes personatus*) and the Japanese anchovy (*Engraulis japonica*). Carp fed on the oil containing and vitamin E deficient diet, underwent sekokeosis after feeding for two or three months. Diseased fish exhibited characteristically atrophy of the back. Histopathological characteristics were represented by myopathy of systemic skeletal musculature, ceroid and hemosiderin deposition and nephroses which were extensive in cases exhibiting intensive sekokeosis.

The prophylactic examination was performed with administration of vitamin E at a rate of 25mg per 100g of the previously described diet. Prophylactic effect was tested on oils extracted from the silk-worm pupa and the sandeel. After feeding for seven months, no carp underwent sekokeosis and exhibited histopathologically myopathy and nephrosis except for ceroid deposition in viscera.

Based on results from this study, it was judged that the myopathy representative of sekokeosis was identified as nutritional myopathy caused by vitamin E deficiency. Characteristics of this myopathy were similar to those of nutritional myopathies of the carp fed on rancid pupae of the silk-worm, the yellowtail and the puffer fed on the raw sandeel and anchovy. The authors pointed out that vitamin E deficiency was an important cause of those myopathies.

Keywords : carp, silk-worm pupa oil, fish oil, vitamin E deficiency, myopathy, ceroidosis, nephrosis

筆者らは第Ⅰ報(宮崎ら, 1981)で, 変敗した蚕蛹を投与したコイに発現した背こけ症状が, 病理組織学的に栄養性ミオパチーであることを明らかにした。また, ブリ(窪田ら, 1980), トラフグ(延東ら, 1979), エジマス(窪田ら, 1981)の栄養性ミオパチーの検索結果も考え合せ, これらの病因が餌料に含有される脂質成分にあることを推察した。橋本ら(1966)は脱脂北洋ミールを基本餌料にして, 酸化サンマ油(過酸化価 $120\sim 150\text{meq/Kg}$)を投与したコイに背こけ症状の発現を認めている。本研究では, 橋本らの研究に従い, コイの餌料として多用される蚕蛹, ブリやトラフグの餌料であるカタクチイワシやイカナゴからそれぞれ抽出した油分について, ビタミンE欠乏条件の脱脂北洋ミール基本餌料を用いて, コイの飼育実験を行った。その結果, これら三種の油分の投与で背こけ症状の発現を認めた。また, さらにビタミンE添加により背こけ症状の発現の予防実験も行い, 成果を得た。本報ではそれらの詳細について述べる。

材料および方法

供試した蚕蛹油, イカナゴ(*Ammodytes personatus*)油, カタクチイワシ(*Engraulis japonica*)油, およびエチルエーテルで脱脂した北洋ミールの性状はTable 1に記した。イカナゴ油とカタクチイワシ油はそのまま用いたが, 蚕蛹油のみ, 使用前に室温で通気して過酸化価を約 150meq/Kg にあげたものを用いた。飼料の組成は脱脂北洋ミール60g, α デンプン30g, 油分10g, ミネラル混合(USPX 塩混合)2.0gとし, ビタミンE欠除ビタミン混合剤を0.2gの割合で添加した。ビタミン混合剤の組成はほぼ, 橋本ら(1966)の処法に従った。背こけ症状発生のための実験は上記の組成の配合餌料を用いた。また, 蚕蛹油とイカナゴ油について, 飼料100g当りビタミンE(ユベラオイル)を25mg添加した飼料を用いてビタミンE添加による背こけ症状発現の予防実験も行った。供試した油分と配合餌料は酸素吸収剤のヒドロサルファイトナトリウムとともに容器に入れ, 冷蔵庫中に保存した。各実験区とも平均体重 $5\sim 17\text{g}$ のコイを30または50尾ずつ供試し, 500水量のプラスチック水槽を用い, 止水方式で, 適時換水しながら飼育した。投餌量は総魚体重の2%量で, 最長飼育期間は7ヶ月間とした。その間, 約1ヶ月間隔で体量と体長を計測し, 背こけ症

Table 1. Characteristics of oils and meal.

Oils and Meal	Oils			Meal
	Pupa of silk-worm*	Japanese anchovy	Sandeel	Defatted white fish meal
Vitamin E (mg%)	—	—	—	6
α -tocopherol (mg%)	—	—	—	6
Acid value	27.5	17.5	4.4	
Peroxide value (meq/Kg)	19.1	78.3	28.0	
Iodine value	133	176	205	
Nonsaponificant (%)	1.42	0.61	0.49	
Crude protein (%)				45.6

* : oxidized with aeration to increase peroxide value to 150 meq/Kg before preparation of the diet.

状発現後は計測時点で病魚の全てを採取した。ビタミンE添加による予防実験区では7ヶ月後に全個体を取りあげた。なお、ランゲルハンス島の検索の目的で、市販用のコイ配合飼料（OK社製）を投与し、植物プランクトンの繁殖したコンクリート水槽で飼育していたコイで、外見上正常なもの5尾（平均体重40g）も供試した。全ての供試魚は、採血、剖検後、ブアン液か15%ホルマリン水で固定した。供試魚のうち、蚕蛹油投与区15尾、その予防区10尾、イカナゴ油投与区15尾、その予防区10尾、およびカタクチイワシ油投与区25尾について、常法に従って病理組織学的検索に供した。

結 果

飼育実験結果

1. 蚕蛹油投与区：飼育開始から3ヶ月後に約10%の魚に背こけ症状の発現があり、6ヶ月後には仮性肥大を呈する病魚も含め全ての個体が発症するに至った。

2. イカナゴ油投与区：飼育開始から2ヶ月後に約30%の魚が背こけ症状を呈し、3ヶ月後には約50%の発症率となった。この区では飼育期間は3ヶ月間で打切った。

3. カタクチイワシ油投与区：飼育開始から3ヶ月後に約30%、5ヶ月後には仮性肥大を呈する病魚も含めて100%の発症率に達した。

4. ビタミンE添加による予防区：蚕蛹油とイカナゴ油投与とも、7ヶ月間の飼育期間中、成長は顕著でないが、肉眼的には背こけ症状の発現は認められなかった。

以上の実験区の供試魚について、背こけ症状の発現時期とその時点における供試魚の成長状況はTable 2に示した。

Table 2. Occurrence of sekokeosis in the carp.

Experimental groups	Silk-worm pupa oil	Pupa oil + vitamin E	Sandeel oil	Sandeel oil + vitamin E	Oil of Japanese anchovy
Numbers of carp	50	50	30	50	50
Body weight					
initial, mean (g)	5.6	20.6	17.3	12.7	5.5
percent gain	82*	75**	26*	224***	75*
Occurrence of sekokeosis	10% after 90 days	—	30% after 60 days	—	30% after 90 days

Vitamin E administration : 25 mg per 100 g of diet

Diet : Defatted white fish meal 60g, α -starch 30g, Oil 10g, Mineral mixture 2g, Vitamin mixture 0.2g

Mineral mixture : USPX salt mixture 100g, $AlCl_3$ 15, $ZnSO_4$ 300, $CuCl_2$ 10, $MnSO_4$ 80, KI 15, $CoCl_2$ 100 mg

Vitamin mixture : Thiamine nitrate 10, Riboflavin 80, Pyridoxin hydrochloride 20, Cobalamin 0.02, Ascorbic acid 300, Nicotinamide 150, Ca-pantothenate 100, Biotin 2, Folic acid 6, Choline chloride 400, Inositol 400, P-aminobenzoic acid 80, Menadione 8 mg, Vitamin A 4000, Vitamin D₃ 800 IU per 2 Kg diet.

* : at the point of occurrence of sekokeosis

** : at the 120th day

*** : at the 210th day

肉眼的所見

蚕蛹油、イカナゴ油、カタクチイワシ油のそれぞれ投与区とも、供試魚は共通して成長不良であり、特に背こけ症状を呈する病魚は軀幹背面や体軀の瘦削が特徴であった (Plate I—1)。中でも体軀の瘦削が顕著な重症例には生命維持が困難と思われるものが多く、剖検的には肝臓と鰓の褪色がみられた。仮性肥大を示す病魚は正常に近い外見を呈するが、その体側筋は張りを失って軟らかくなり、剖検的に肝臓や鰓の褪色もみられた。背こけ症状および仮性肥大を呈する病魚とも動きが緩慢で、その重症例は水面近くに静止することが多かった。

病理組織学的所見

各組織器官の病理組織学的特徴は、各種油分投与による実験的発症魚と予防実験区の供試魚とに分けて記す。そのうち、重要な問題を含むランゲルハンス島に関する観察は、上記の実験供試魚のほか、市販の配合飼料で飼育した魚についても行なったので、その結果は併せて別項目にまとめた。

1. 実験的発症魚

a 骨格筋組織： 三種の油分投与区の供試魚のうち、背こけ症状または仮性肥大を呈する病魚とも、体側筋の白色筋組織と血合筋組織、鰭動筋組織などに退行性病変が観察された。筋組織の筋線維に特徴的に現われる退行性病変は、単純萎縮、肉漿塊の出現を伴う萎縮、混濁腫脹、空胞変性、仮性肥大、縦裂、硝子変性、壊死などであり、壊死した線維はマクロファージにより貪食処理されていた。退行性病変の起こった組織は補空性水腫や結合織の増殖を示しており、補空性反応の顕著な症例は肉眼的には仮性肥大としてみられた。蚕蛹油 (Plate I—2, 3) とカタクチイワシ油 (Plate I—5, II—1) 各投与区の病魚では筋線維の萎縮と壊死が卓越して発現し、イカナゴ油投与区の病魚 (Plate II—3, 4) では上記の全ての変化が混在して現われる傾向があった。筋線維の変化は両側性に、び散的に発現し、特に脊椎に近い部分の白色筋組織には他の部分よりも強い変化が現われていた。血合筋組織や鰭動筋組織の退行性病変は白色筋組織の病変が十分に進展した後に発現する傾向があった。筋組織の退行化の程度に従って症状を類別すると、中症例では白色筋組織を主体に退行性病変が進行しており、変性の程度と規模とも中等度であり、正常に近い形の筋線維も多く残されていた。重症例では退行性病変は体側筋組織と鰭動筋組織のいずれにも広範囲に及び、筋線維の退行化の程度も高度であった (Plate I—4)。なかには激しい萎縮のため細く短くなった筋線維やその壊死像のみが残るだけとなった筋組織をもつ症例もみられた (Plate II—2)。こうした重症例の筋組織には補空性反応に加えて、セロイド貪食細胞の浸潤や血管周囲での小円形細胞浸潤も併せてみられた。なお、上記のいずれの症例とも、脊髄神経節、脊髄および筋組織中の末梢神経線維には特記すべき異常は指摘できなかった。

b 肝臓： 前述の三種の油分投与区の供試魚のうち、中症例の病魚はいずれも、その肝臓の実質細胞中に糖原を十分に貯蔵していた。しかし、重症例の肝実質細胞には糖原の減少と消失が顕著で、なかにはセロイド沈着を示すものがみられた。特にイカナゴ油投与区の重症例の肝実質細胞におけるセロイド沈着が顕著であった (Plate II—5)。

c 脾臓： どの油分投与区とも、中症例、重症例は共通して脾髄にセロイド・血鉄素貪食細胞の増加がみられた (Plate III—1)。これらの貪食細胞は脾髄内にび散的に分布するほか、脾髄静脈周囲に集簇していた。貪食細胞の出現程度と両色素の細胞内沈着割合は、中症例と重症例のいずれにも個体差が大きくみられた。

d 脾臓： どの油分投与区とも、その中症例と重症例では共通して、肝臓内、脾臓内および腹膜内のいずれに分布する脾小葉の周囲にはセロイド・血鉄素貪食細胞の集簇がみられた。貪食細胞の集簇は特に脾臓内脾小葉周囲に顕著であった (Plate Ⅲ—1)。中症例と重症例とも、この貪食細胞の浸潤程度と細胞内での色素沈着の割合には個体差が認められた。

e 腎臓： 三種の油分投与区とも、その中症例の腎臓では、少数の尿細管に P A S 反応陽性物質の円柱形成が、また、造血組織にはセロイド貪食細胞の増加と類洞内皮細胞の活性腫大がそれぞれみられた。

重症例では、腎臓障害が顕著となる傾向があった。尿細管には、P A S 反応陽性物質の尿円柱形成、同物質の上皮細胞内沈着、上皮細胞の萎縮、上皮細胞の壊死と尿細管の崩壊がみられた。尿円柱の P A S 反応陽性物質は、ズダン黒B染色に弱陽性、アルデヒドフクシン染色に陽性となり、糖脂蛋白体とみられた。上皮細胞内に沈着した P A S 反応陽性物質はズダン黒B染色とアルデヒドフクシン染色に陽性になるほか、一部のもはチール・ニルセン染色で抗酸性を呈し、糖脂蛋白体のほかセロイドも含まれていた (Plate Ⅲ—2)。腎小体では糸球体毛細血管の拡張が一般的であるがさらに、ボウマン嚢周囲の線維化や硝子化、腎小体の崩壊も散見された。造血組織にはセロイド貪食細胞の集簇と造血組織の減数萎縮がみられた。特に上記の腎実質の障害が顕著な部分では造血細胞の消失と結合織の補空性増殖が進み、症例によっては、大半の腎実質と造血組織が消失してしまい、脂肪細胞を伴った結合織におきかわっていることもあった (Plate Ⅲ—3)。

f 心臓、鰓、その他： いずれの油分投与区の供試魚とも、中症例と重症例の心臓心筋層中にはセロイド貪食細胞の浸潤がみられ、その程度は重症例でより顕著になっていた。供試魚の一部に鰓弁の桿棒化やダクチロギルスの寄生がみられたが、これらの変化と骨格筋の退行性病変の程度との間には相関はなかった。中症例、重症例とも頭腎の間腎腺細胞に著変はみられないが、間質の造血組織にセロイド貪食細胞の集簇、類洞の細網内皮細胞の活性腫大がみられた。消化管、脳などには顕著な異常はみられなかった。

2. ビタミンE添加による予防実験例

蚕蛹油とイカナゴ油投与のための基本飼料にビタミンEを添加して飼育した魚では、その成長は当該ビタミン無添加区のものに比べて良好であった。それぞれの油分投与区とも7ヶ月飼育した供

Table 3. Summary of histopathological findings in the carp.

Experimental groups	Silk-worm pupa oil		Pupa oil + vitamin E	Sandeel oil		Sandeel oil + vitamin E	Oil of Japanese anchovy	
Myopathy	++	+++	-	++	+++	-	++	+++
Deposition of pigment*								
Spleen	±~+	+	±~+	±~++	±~++	±~+	±~+	±~++
Kidney	±~+	+	±~+	±~++	±~++	±	±~+	±~+
Liver	±~+	+	±~+	-~+	±~+++	-	-	-~+
Pancreas	±~+	+	±~+	±~+	+~+++	±	±~+++	±~+
Nephroses	-~±	+~+++	-	-~+	+~+++	-	±~+++	±~+

*: include lipoprotein, ceroid and hemosiderin.

Pigment deposition within macrophages in the spleen, renal hematopoietic tissue and the pancreas, and within hepatocytes in the liver.

-: no change, ±: very slight, +: mild, ++: moderate, +++: severe

試魚の骨格筋組織には特記すべき退行性病変は認められなかった。(Plate III-4)。また、その肝臓実質細胞は豊富に糖原を貯蔵していた。しかし、脾臓と膵臓にはセロイド・血鉄素貪食細胞の浸潤があるものの、その程度はビタミンE無添加条件の病魚に比べて軽度であった。腎臓では、腎実質に異常は全くみられないが、造血組織に軽度なセロイド貪食細胞の集簇がみられた(Plate III-5)。その他、心臓、鰓、消化管には異常がなかった。以上の所見はTable 3にまとめた。

3. ランゲルハンス島

ランゲルハンス島の β 細胞については、三種の油分投与区とビタミンE添加による予防区のそれぞれの供試魚に加えて、市販配合飼料で飼育した魚でも併せて検討した。その結果、ビタミンE添加による予防実験区の供試魚では、ランゲルハンス島 β 細胞は濃密に分泌顆粒を保蔵しており、 β 細胞および他の細胞にも退行性病変は全くみられなかった(Plate IV-1)。油分の投与により発症した中症例と重症例とも、ランゲルハンス島 β 細胞の細胞内分泌顆粒の量は、前述の予防実験例のものに比べてやや少ない傾向があった(Plate IV-2, 3, 4)が、 β 細胞および他の細胞に退行性病変は全くみられなかった。こうした β 細胞の分泌能の低下現象の程度には個体差があり、骨格筋組織の退行性病変の程度とは平行せず、油分の種類との間にも関係はみられなかった。市販配合飼料で飼育した魚では、ランゲルハンス島 β 細胞の細胞内分泌顆粒の量はかなり少なく、細胞内での顆粒分布は疎化していた(Plate IV-5)。しかし、 β 細胞および他の細胞に退行性病変はみられなかった。なお、この配合飼料飼育魚の骨格筋組織、腎臓、その他の組織には全く異常はみられなかった。

考 察

過酸化価150meq/Kgの蚕蛹油、同28meq/Kgのイカナゴ油、同78meq/Kgのカタクチイワシ油にはビタミンE含有はなかった。これらの油分を、ビタミンE欠除の脱脂北洋ミール基本飼料を用いてコイに投与した結果、背こけ症状の発現を認めた。その病魚の病理組織学的検討の結果、背こけ症状の本質である骨格筋組織の障害は明らかにミオパチー(筋原性筋疾患)の特徴(CARL, *et al.*, 1973; 浜崎ら, 1977)を持っていた。これに対し、蚕蛹油とイカナゴ油の投与に際してビタミンEを添加(飼料100g当り25mg)した場合には背こけ症状の発現およびミオパチーの発現はともに予防された。以上の事実から、ミオパチーはビタミンE欠乏による栄養性ミオパチーと言える。蚕蛹油投与区の病魚のミオパチーの特徴は変敗蚕蛹投与により発生したミオパチー(宮崎ら, 1981)と酷似し、カタクチイワシ油やイカナゴ油投与区の病魚のミオパチーは同じ海産魚を餌料とするブリ(窪田ら, 1980)やトラフグ(延東ら, 1979)に発生したミオパチーとも著しく似ていた。また、ビタミンEの添加によりミオパチーの発現が予防されることがトラフグで認められている(窪田ら, 1981)。以上の事実から、コイ、ブリおよびトラフグに発生する栄養性ミオパチーの重要な誘因としてビタミンE欠乏が指摘できる。ミオパチーはコイでは白色筋組織に、ブリでは血合筋組織に、トラフグでは鰭動筋組織にそれぞれ優先的に発現する傾向がみられた。このようにミオパチーの好発組織には魚種差があるものの、ブリやトラフグの栄養性ミオパチーの実験モデルとしてコイを供試することは有益と言える。

セロイドと血鉄素の沈着程度は、ビタミンE欠除条件で油分を投与した魚において顕著であり、ビタミンE添加条件の魚では軽度な傾向があった。セロイドの生成機序として、ビタミンE欠乏のために体内の不飽和脂肪酸が過酸化物を形成し、それが重合したり、蚕白質と結合してできると考

えられている (PEARSE, 1960)。本研究で供試した三種の油分とも不飽和脂肪酸を含んでおり、飼料を介して摂取された不飽和脂肪酸もまたビタミンE欠乏状態で自動酸化されると考えられる。そのようにして体内で自動酸化した脂肪酸がマクロファージに貪食され、細胞内にセロイドとして沈着すると推察される。

腎臓障害は、ミオパチーの重症例で顕著であり、ビタミンE添加による予防区の魚にはその発現はなかった。腎臓障害のうち、糖脂蛋白体の尿円柱形成や上皮細胞内沈着は尿中に糖、脂質、蛋白質が高濃度に排出されていることを示唆しており、その原因に糸球体の障害が考えられる。その他、尿細管の壊死・崩壊も含め、本腎臓障害は中毒症的な腎症とみられる。この腎症とよく似た病変は、非脱脂蚕蛹 (21%の油分含有) を投与したニジマス (川津, 1961) や酸化サンマ油をビタミンE欠乏条件下で投与したコイ (Aoe *et al.*, 1972) にみられ、そのうちコイではビタミンE添加により腎症の発現が防止されている。以上のことから、腎症の発現誘因としてビタミンE欠乏が重要視される。なお、イエウサギを用いたビタミンE欠乏実験で、不安定な過血糖および糖尿が発生したという報告もある (板井, 1955)。糖脂蛋白の尿中へと排出とビタミンE欠乏との関係については今後さらに検討したい。

ランゲルハンス島の β 細胞の脱顆粒現象、グリコーゲン浸潤と核変性および島細胞の異常は糖尿病性背こけゴイの特徴とされている (横手, 1967, 1973; YOKOTE, 1970)。本研究において、ビタミンE添加による背こけ症状予防実験区の供試魚では、ミオパチーの発現もなく、ランゲルハンス島 β 細胞は豊富に分泌顆粒を保有していた。それに対して、ビタミンE欠乏条件下でミオパチーを呈した病魚では、ランゲルハンス島 β 細胞の細胞内顆粒の量はやや減少していた。さらに、市販配合飼料で飼育した魚では、ミオパチーが全くみられないが、ランゲルハンス島 β 細胞の分泌顆粒の減少が目立った。以上のことから、ミオパチーを発現した病魚の β 細胞の姿は、各種ビタミンを総合的に投与した魚の β 細胞と比較すれば脱顆粒的、あるいは分泌機能の減退とみられなくはないが、市販配合飼料飼育魚の β 細胞と比較すれば異常とは言えない。第Ⅴ報 (宮崎ら, 1981) で述べたように、変敗蚕蛹投与によりミオパチーを起こした病魚のランゲルハンス島 β 細胞も、市販配合飼料を投与した魚の β 細胞との比較からは、異常とは言えずと結論した。このようにコイでは栄養状態によってランゲルハンス島 β 細胞の分泌顆粒の量は変動することから、分泌顆粒の寡多だけを糖尿病発現の示標とすることには問題がある。橋本ら (1966) および WATANABE *et al.* (1970) はビタミンE欠乏状態のコイに β 細胞の分泌顆粒の減少を認めている。この事実から、 β 細胞の分泌顆粒の減少はビタミンE欠乏を誘因としていると推定される。また、コイにとって市販配合飼料に含有されるビタミンEの量は不十分であり、水槽水に繁殖したプランクトンからのビタミンEの補給も充分でないようである。糖尿病としての β 細胞の異常の判断には、糖尿病ゴイの β 細胞の糖尿浸潤や核変性 (横手, 1973)、ヒトの糖尿病におけるランゲルハンス島の硝子変性および β 細胞の退行性病変 (平山, 1980) などの確認が必要不可欠と言えよう。

本研究で供試した蚕蛹油、イカナゴ油、カタクチイワシ油のそれぞれについて、必須脂肪酸の含有量、脂肪酸の酸化による有害物質の性状と混入割合などは未検討であり、ミオパチー、セロイド沈着、腎臓障害などに関わる油分の影響には不明な点が残る。WATANABE *et al.* (1968) は油中の酸化生成物もコイには有害であると報告している。今後純粋なビタミンE欠乏症の検討や変敗脂質中の有毒物質の作用機作についても検討していきたい。

本研究をまとめるにあたり有益な御助言を賜った水産庁養殖研究所の能勢健嗣先生に深謝します。また、ビタミン剤とミネラル混合剤の供与ならびに文献の閲覧に御便宜を賜ったエーザイ株式会社若林高明部長にもお礼を申しのべる。

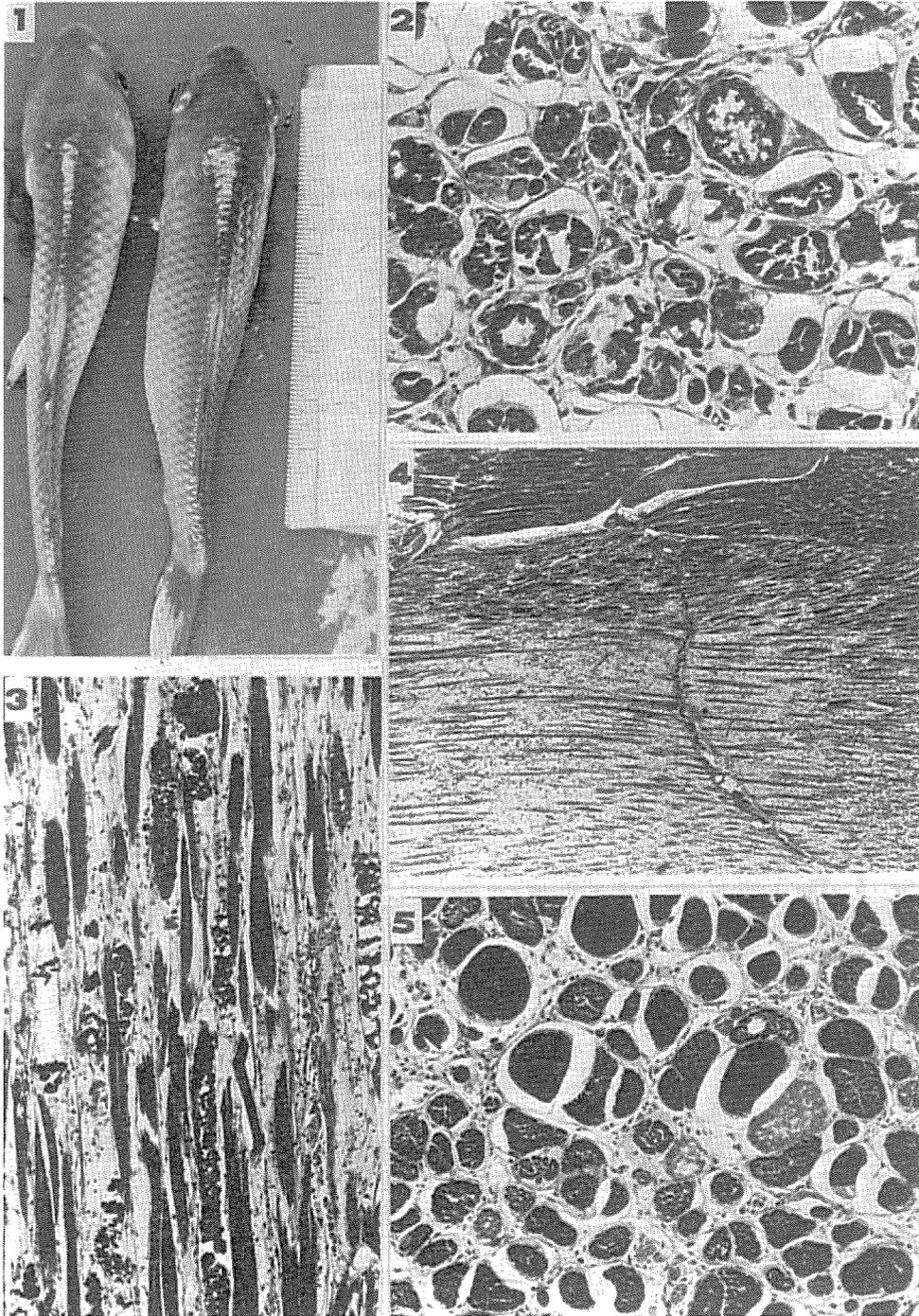
文 献

- AOE H., ABE, T., SAITO H. and H. KOYAMA, 1972. Preventive effects of tocopherols 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・大林萬輔・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.
- 橋本芳郎・岡市友利・渡辺武・古川厚・梅津武司, 1966. 酸化脂肪によるコイの背こけ病の発生とビタミンの予防効果. *日水誌*, 32(1): 64—69.
- 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.
- 板井忠生, 1955. ビタミンEと血糖. *日生理学誌*, 17: 807—809.
- 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.
- 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. ブリの栄養性ミオパチー. *魚病研究*, 15(2): 75—80.
- 窪田三朗・延東 真・宮崎照雄・大林萬輔, 1981. — —Ⅲ. トラフグの栄養性ミオパチー症に対するビタミンEの予防効果. *同誌*, 16(1): 9—13.
- 窪田三朗・宮崎照雄・津田茂美・糟谷浩一, 1981. — —Ⅳ. ニジマスの激しいセロイド症を伴う栄養性ミオパチー. *本誌*, 8: 107—115.
- 宮崎照雄・窪田三朗, 1981. — —Ⅴ. 変敗蚕蛹投与によるコイの背こけ症状. *本誌*, 8: 117—129.
- PEARSE A. G. E., 1968. Histochemistry. Theoretical and Applied. LITTLE, BROWN and COMPANY, Boston, 759pp.
- WATANABE T. and Y. HASHIMOTO, 1968. Toxic components of oxidized saury oil including muscular dystrophy in carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 34(3): 1131—1140.
- WATANABE T., F. TAKASHIMA, C. OGINO and T. HIBIYA, 1970. Effects of α -tocopherol deficiency on carp. *ibid*, 36(6): 623—630.
- 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** Carp suffering from sekokeosis. They have thin bodies accompanied by extremely atrophic backs. They fed on a diet which contained oil of silk-worm pupa and was deficient in vitamin E for five months.
- Fig. 2** A cross section of the lateral white musculature exhibited a moderate degree of myopathy. The fish fed on a diet which contained oil of silk-worm pupa and was deficient in vitamin E for three months. Every muscle fiber undergoes extreme atrophy, atrophy accompanying appearance of sarcoplasm, splitting and necrosis. The interstitial connective tissue initiates a production. Azan stain, X200
- Fig. 3** A longitudinal section of the same musculature. Azan stain, X160
- Fig. 4** A longitudinal section of the lateral musculature exhibiting severe myopathy. The fish fed on a diet which contained oil of silk-worm pupa and was deficient in vitamin E for five months. The white musculature is damaged markedly but the red musculature sustains mild damage. In the white musculature, intensively atrophic, tiny fibers remain and the interstitial tissue is produced, accompanied by infiltration of ceroid-laden macrophages. Azan stain, X20
- Fig. 5** A cross section of the lateral white musculature exhibiting a moderate degree of myopathy. The fish was reared with a diet deficient in vitamin E and containing oil of Japanese anchovy, for three months. Every fiber exhibits simple atrophy, extreme atrophy, atrophy accompanying an appearance of sarcoplasm, and necrosis. The interstitial tissue initiates a production. Azan stain, X160

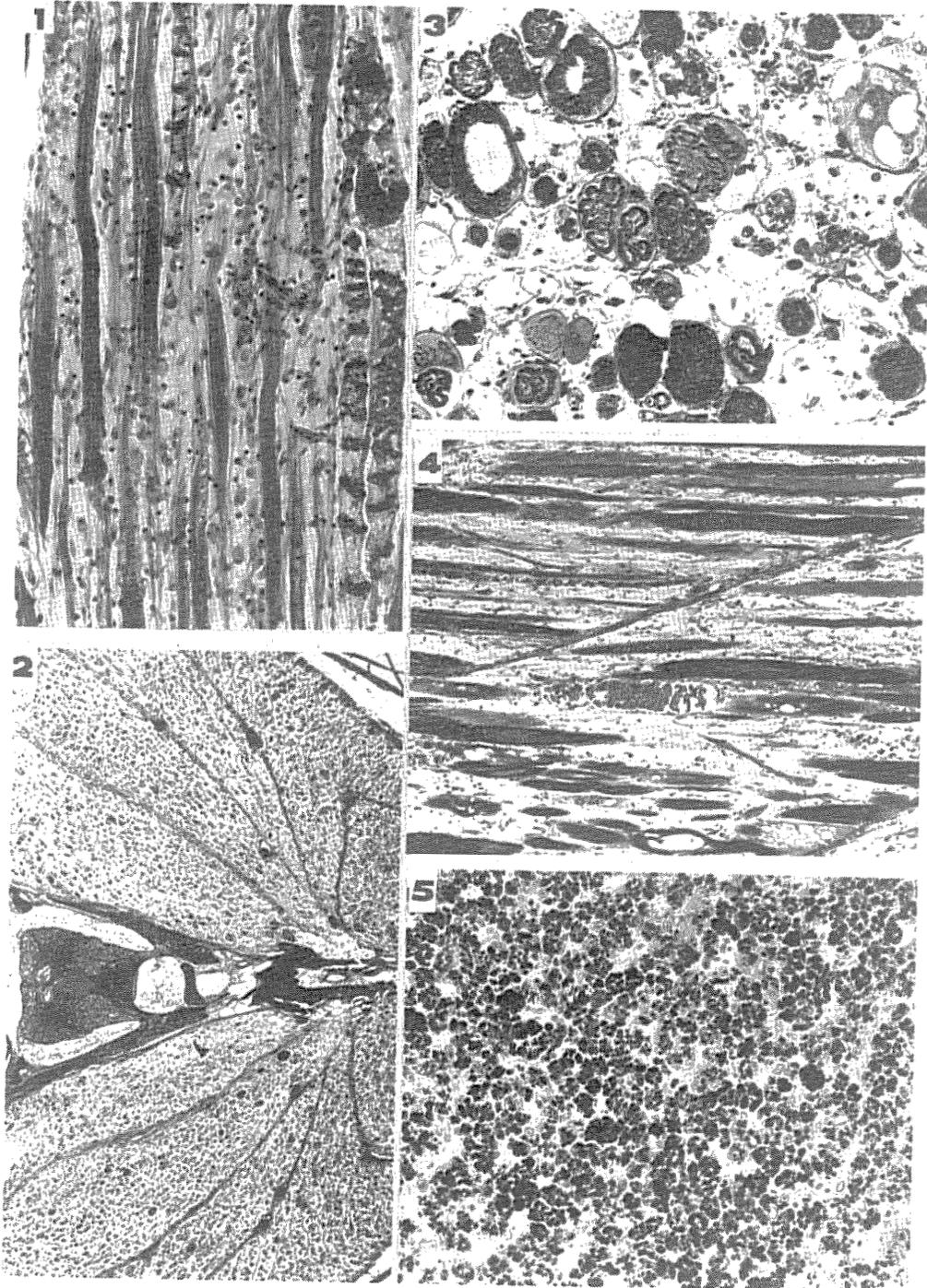
Plate I



Explanation of Plate II

- Fig. 1** A longitudinal section of the white musculature same to that shown in Fig. 5 of Plate I. Atrophic muscle fibers exhibit central nucleation and invasions of macrophages. H-E stain, X160
- Fig. 2** A cross section of the lateral musculature exhibiting severe myopathy. The fish fed on a diet deficient in vitamin E and containing oil of Japanese anchovy, for five months. Every myomere of the bilateral white musculature exhibits severe damage. Azan stain, X20
- Fig. 3** A cross section of the lateral white musculature exhibiting a moderate degree of myopathy. The fish fed on a diet containing sandeel oil and deficient in vitamin E for three months. Every fiber undergoes various kinds of damage; simple atrophy, atrophy accompanying appearance of sarcoplasm, extreme atrophy, vacuolization, cloudy swelling accompanying vacuolization, and necrosis. The interstitial tissue is produced, accompanied by infiltration of macrophages. Azan stain, X200
- Fig. 4** A longitudinal section of the same white musculature. All of fibers exhibit various kinds of damage. Azan stain, X50
- Fig. 5** The liver of the fish with severe myopathy, fed on a diet containing sandeel oil and deficient in vitamin E for three months. Ceroid deposition is extensive within all hepatocytes. Hepatocytes exhibit no nuclear alteration. Sudan Black B stain X200

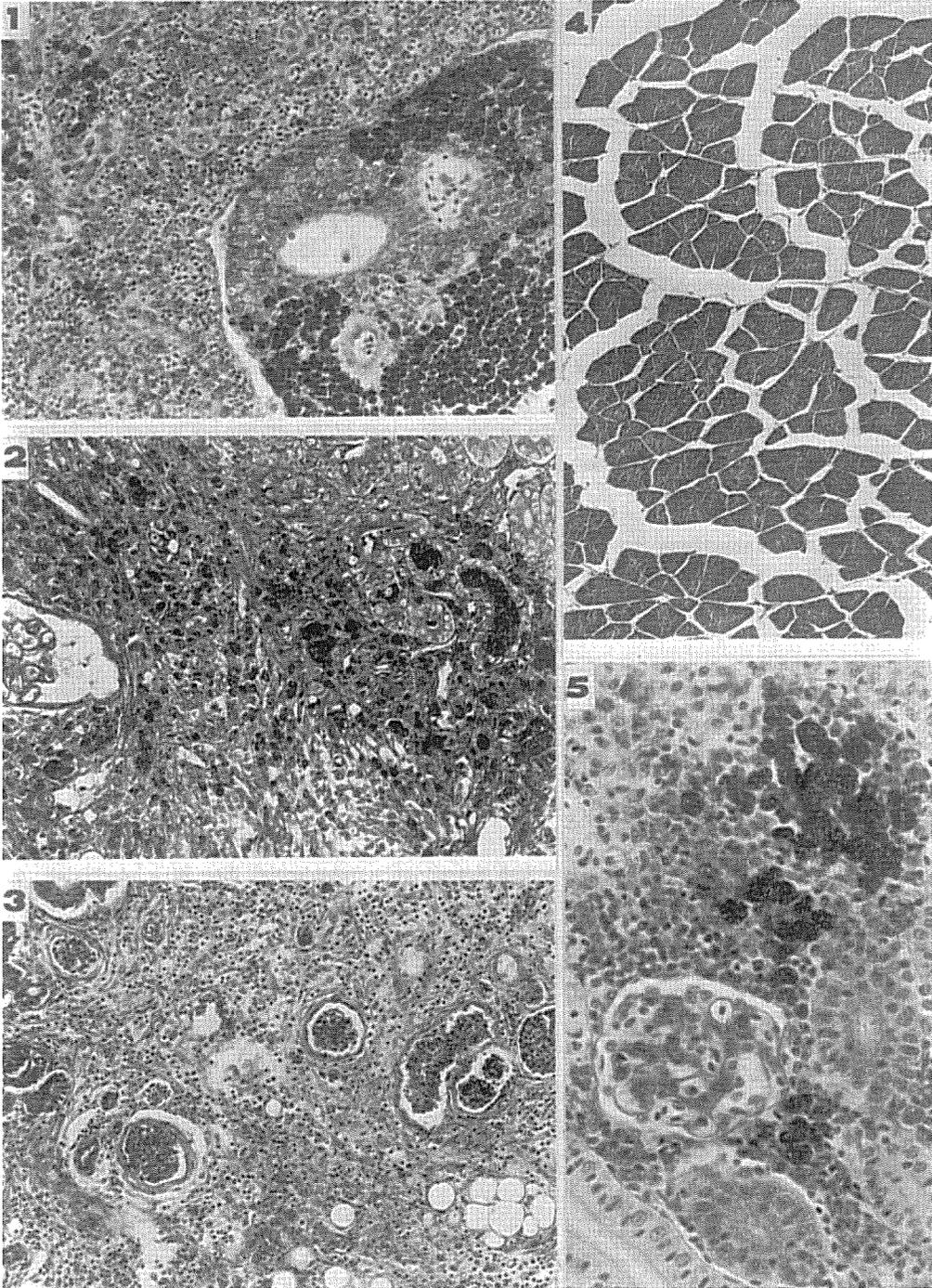
Plate II



Explanation of Plate III

- Fig. 1** The spleen and pancreas of a fish with severe myopathy, fed on a diet containing sandeel oil and deficient in vitamin E for two months. Ceroid and hemosiderin-laden macrophages accumulate within the splenic pulp and around the pancreatic acini. Sudan Black B stain, X 160
- Fig. 2** The kidney of a fish with severe myopathy, reared on a diet containing oil of the silk-worm pupa and deficient in vitamin E for five months. In a corpuscle, glomerular capillary is dilated markedly. Renal tubules exhibit a formation of casts within the lumen and a deposition of gluco-lipoprotein within the epithelial cells. The hematopoietic tissue is replaced by connective tissue accompanying large numbers of ceroid-laden macrophages. Casts, deposited matter and the ceroid are positive to Aldehyde Fuchsin. Aldehyde Fuchsin stain, X 160
- Fig. 3** The kidney of a fish with severe myopathy, fed on a diet which contained oil of Japanese anchovy and was deficient in vitamin E for five months. Renal tubules are necrotized and lost. Remaining corpuscles undergo diffuse glomerulosclerosis and necrosis. Markedly damaged area is replaced by connective tissue accompanying fat cells and ceroid-laden macrophages. H-E stain, X100
- Fig. 4** The lateral white musculature of a fish reared with a diet containing sandeel oil and vitamin E for seven months. Muscle fibers exhibit no alteration. H-E stain, X160
- Fig. 5** The kidney of the same fish. Ceroid-laden macrophages increase in numbers in the hematopoietic tissue. The glomerulus and renal tubules exhibit no obvious damage. PAS reaction, X320

Plate III



Explanation of Plate IV

- Fig. 1** Large Langerhans' islet of a fish reared on a diet containing oil of silk-worm pupa and vitamin E for seven months. B-cells have large amounts of Aldehyde Fuchsin positive granules within cytoplasm. Other cells exhibit no alteration. Aldehyde Fuchsin stain, X320
- Fig. 2** Large Langerhans' islet of a fish reared on a diet containing oil of silk-worm pupa and deficient in vitamin E for five months. The amount of Aldehyde Fuchsin positive granules within B-cells is less than that of B-cells shown in Fig. 1. B-cells and other cells exhibit no alteration. Aldehyde Fuchsin stain, X320
- Fig. 3** Large Langerhans' islet of a fish fed on a vitamin E deficient diet containing sandeel oil for two months. B-cells have considerable amounts of Aldehyde Fuchsin positive granules. B-cells and other cells exhibit no change. Aldehyde Fuchsin stain, X320
- Fig. 4** Large Langerhans' islet of a fish fed on a diet containing oil of Japanese anchovy and deficient in vitamin E for five months. The amount of Aldehyde Fuchsin positive granules within B-cells is less than that shown in Fig. 1. B-cells and other cells exhibit no alteration. Aldehyde Fuchsin stain, X320
- Fig. 5** Large Langerhans' islet of a fish reared on a commercial diet in a pond rich in plankton. The amount of Aldehyde Fuchsin positive granules within B-cells is obviously less than that shown in Fig. 1. This fish manifests no myopathy and no nephrosis. Aldehyde Fuchsin stain, X320

Plate IV

