

連鎖球菌の感染に伴うハマチの血液像の所見と、 宿主の栄養条件との関連について

藤 田 眞 吾

Some Notes on Blood Cell Constituents of Yellow-Tail Infected with *Streptococcus* sp., with Reference to Nutritional Condition of Hosts

Shingo FUJITA*

Synopsis

In the cultivation of yellow-tail *Seriola quinqueradiata*, it is the most serious problem to prevent a bacterial infectious disease caused by *Streptococcus* sp. In the previous paper, it was suggested that when sardin *Sardinops melanosticta* was habitually used for a long term, the thiamine deficient condition caused the yellow-tail to decrease the protective ability of fish against Streptococcal infection, and to show a high mortality.

In the present work, observation of blood cell constituent of yellow-tail, under the conditions of thiamine deficiency and artificially infected with *Streptococcus* sp., was made. It is supposed that these conditions result in decrease of leucocytes, especially of neutrophils which may take charge of protective mechanism of fish against bacterial infection.

既報(藤田・大橋, 1978, 1979)において、ハマチにマイワシを連続投与すると、ハマチの肝臓中のサイアミン含量が急激に減少することからサイアミン欠乏症に陥ることを推察した。また、マイワシを連続投与したハマチは、サバ *Scomber japonicus* 等を混用した場合に比べて連鎖球菌に感染しやすく、栄養の欠陥が細菌感染に対する魚の抵抗力を低下させることを推察した(藤田, 1980)。ヒトにおいては、連鎖球菌を含む種々の細菌感染症に伴って白血球数、とくに好中球が増加する(ド・グルーチー, 1974; 清水, 1974)。魚類においても自然感染(保科, 1962; 榎本, 1969)や人為感染(畑井, 1972; 室賀, 1975)に伴って好中球が増加することが認められている。そこで、前報(藤田, 1980)の人為感染実験において塗抹血液像の変化を観察したところ、対照区の白血球数の増加に比べてマイワシ単用区のそれが著しく少く、細菌感染に対する抵抗力の低下に関与していると考えられたので報告する。

材料および方法

観察に供した血液塗抹標本はすべて前報(藤田, 1980)

の実験2において、濃食塩水および連鎖球菌の菌液に浸漬した後、5時間および1~20日目に採取した血液について作成したものである。染色方法は May-Giemsa 染色である。未熟赤血球(塩基好性および多染性赤血球の合計)は赤血球1,000個を、白血球数は赤血球10,000個を計数中に出現した血球の頻度として求めた。白血球の組成は、白血球50~200個中の、好中顆粒球・リンパ球およびその他の白血球の出現頻度を百分率で表わした。その他の白血球の中には、通常健康魚の塗抹像ではほとんど出現しない細胞の他に単球と思われる血球が含まれているが、両者を明確に識別し得ない場合があったので、敢えて分類しなかった。

結果および考察

未熟赤血球の出現頻度、全白血球数(赤血球10,000個あたり)および白血球の組成は Fig. 1~3 のとおりであった。本来魚の血液性状は個体差が大きく、また本報では異常な生理状態の魚を対象としているため、測定値は大きな分散を示した。図には、傾向を示すものとして、平均値のみをプロットした。

未熟赤血球は、対照区では感染後1~3日目に一過性に増加したが、実験区では感染直後の値が対照区の1/2

* 京都府立海洋センター (Kyoto Institute of Oceanic and Fishery Science, Miyazu City, Kyoto 626)

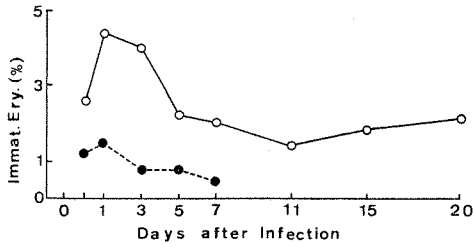


Fig. 1 Changes in ratio of immature (baso- and poly-chromatic) erythrocytes to total erythrocytes in the blood of yellow-tail infected with *Streptococcus* sp. Open circles indicate the mean ratio of control fish and closed circles indicate ones under nutritional deficiency.

以下で、その後も増加しなかった。ニジマスについて、反復採血を行うと未熟赤血球が増加すると報告されており(中村・川津, 1975), 対照区の変化は小規模な失血に対する反応であったと考えられる。すなわち、魚体の取り扱いや濃塩水浸漬の際に体表や鰓に損傷が生じ、出血や局所的な充血が起ったのであろう。あるいは感染やショックに対する反応かも知れない。ハマチにマイワシやカタクチイワシ *Englauris japonica* を連続投与すると、多染性赤血球は比較的早期に減少する(藤田・大橋, 1978)。ヒトの多染性赤血球(清水, 1974)と同等に扱うことに疑問はあるが、多染性赤血球の増加が盛んなヘモグロビン合成を伴う新しい赤血球の補給を示すものと考えれば、実験区では栄養の欠陥により造血能力が低下していたと推察される。

感染直後(5時間後)の全白血球数は両区とも $10 \sim 15$ Cells/ 10^4 Ery. と非常に少なかった。その理由として、(1)ハマチの白血球数は低温期に減少すること(榎本, 1969; 大橋・藤田, 1978), (2)水温変化の激しい陸上の水槽に実験魚を移したために、ハマチの白血球の大部分を占めるリンパ球が低温や取扱いのショックによって減少したこと(榎本, 1969)が考えられる。水温 10°C 付近の越冬期間には、ハマチの白血球数は 20 Cells/ 10^4 Ery. 以下である(大橋・藤田, 1978)。したがって、菌液処理後5時間目に白血球数が減少したと解するよりも、細菌感染に対する反応が未だ現われていなかったと考える方が妥当である。感染後3日目から、対照区では好中球・リンパ球の増加とともに全白血球数が増加したが、実験区ではほとんど変化しなかった。

とくに好中球は、対照区ではリンパ球の増加に先立って、感染後1日目から増加し3日目に最高値に達して

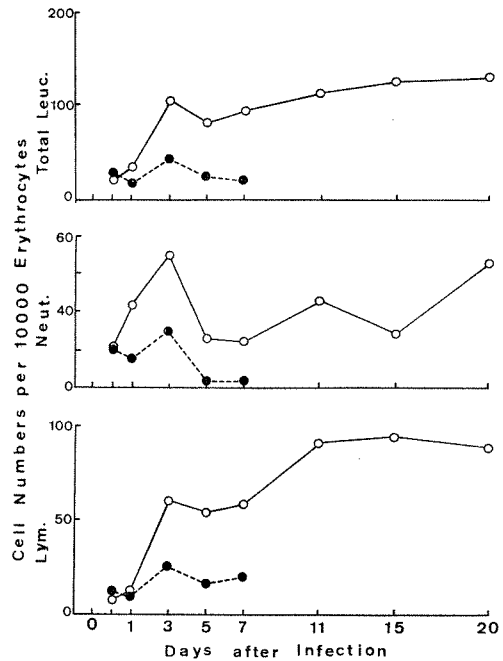


Fig. 2 Changes in numbers of total leucocytes, neutrophils and lymphocytes per 10,000 erythrocytes in the blood of yellow-tail infected with *Streptococcus* sp. Symbols as in Fig. 1.

5日目にはほぼ元のレベルに戻ったのに対し、実験区では3日目にやや増加の傾向が見られるものの、5日目にはほとんど出現しなくなった。森(1981)はキンギョ *Carassius auratus* の血液において、ペルオキシダーゼ陽性白血球を顆粒球であろうと推定し、その喰菌作用を認めている。ウナギ *Anguilla japonica* においても、*Aeromonas* および *Vibrio* 感染初期に好中球が増加し、塗抹標本のうえで喰菌の像が認められている(畑井, 1972; 室賀, 1975)。今回観察した標本でも、まれではあるが、好中球および単球と思われる細胞に喰菌の像を確認した。実験区の魚体では、細菌感染に対する防御機構のひとつである白血球の動員が不可能な状態であったと思われる。また、血液中の細菌数の多い個体の塗抹像では白血球数が極端に少く、脆弱化して崩壊している像や核が無構造になって萎縮している好中球が散見される(それらは計数対象にしていない)。したがって、実験区の魚は感染後速かに敗血症に移行したと思われる。

その他の白血球は、対照区では感染後3日目から増加し始め、7日目に最高値の約20%に達した後減少した。この変動の中には通常健康魚にも10%以下の頻度で出現

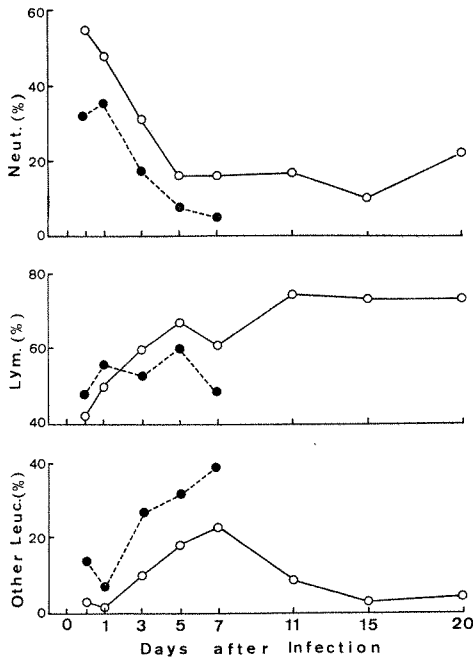


Fig. 3 Changes in ratio of neutrophils, lymphocytes and other leucocytes to total leucocytes in the blood of yellow-tail infected with *Streptococcus* sp. Symbols as in Fig. 1.

する大型の細胞（単球？）が含まれ、それが5～11日目では白血球の5%以上を占めた。単球はヒトの感染症において、好中顆粒球の増加に続いて増加すると云われている（清水, 1974）。*Nocardia* を人為感染させたハマチでも同様な経過がみられ（池田, 1975）、本報の経過ともよく一致する。したがって本来は、単球とその他の異常な細胞とを区別すべきである。

実験区においても、やや濃染しているが対照区のものに酷似した細胞が出現する。また、形態的に好中球に酷似し、その幼若細胞と思われる血球も多い。それらを含めてその他の白血球は3日目にすでに30%近くを占め、重症の個体では50%以上に達した。採血に供した個体のなかで菌血症または敗血症の段階まで進んだ魚の血液像からは正常な白血球はほとんど消失し、少数の萎縮したリンパ球と異常な大型の細胞が大部分を占める。魚体の生理状態が異常なときに出現する特殊な細胞の分類やその生理的な意味を明らかにすることが、血液による診断方法の開発のために必要である。

以上、マイワシ単用がハマチの連鎖球菌に対する抵抗力を低下させる原因のひとつとして白血球の造血の低

下、または白血球の反応の低下が考えられる。未熟赤血球の出現頻度から判断すると、マイワシ単用開始後30日目はすでに造血が抑制される（藤田・大橋, 1978）。今回はマイワシ単用による障害がかなり進行した状態の魚を用いて実験を行ったが、ヒトの場合と同様に顆粒球の寿命が赤血球のそれに比べて短かいのであれば、白血球の反応を中心とする防御機能への影響は比較的早期に現われるかもしれない。マイワシを餌料を主体とする現在のハマチ養殖の形態が避けられないとすれば、他の餌料魚種の混用、栄養剤の添加等を組み合わせて、感染実験とそれに伴う魚体の生理の観察を積み重ねる必要がある。

要 約

1. 長期間マイワシを与えたハマチ（単用区）と、マイワシとサバを交互に与えたハマチ（混用区）を連鎖球菌の菌液に浸漬し、5時間、1, 3, 5, 7, 11, 15および20日後に採血を行い、塗抹血液像を比較観察した。
2. 未熟赤血球は、混用区では感染後一過性に増加したが、単用区では変化しなかった。
3. 全白血球数、リンパ球数は、混用区では感染後3日目から増加したが、単用区では変化しなかった。
4. 好中球数は、混用区では感染後1日目から増加し、3日目にピークに達して5日目以降減少した。単用区ではほとんど増加せず、5日目には極端に減少した。
5. マイワシの単用によるサイアミン欠乏が、ハマチの造血機能を低下させ、細菌感染に対する防御機構のひとつである好中球の動員を低下させるものと推察した。

文 献

ド・グルーチー（浅井一太郎訳）. 1974. 実地医学のための血液学. 794pp. 廣川書店, 東京.
 榎本義正. 1967. 養殖魚類の血中白血球数の変動について. 東海区水研報, 57: 137-177.
 藤田真吾. 1980. 連鎖球菌に対するハマチの感受性に与えるビタミン欠乏の影響. 本誌, 4: 28-31.
 藤田真吾・大橋 徹. 1978. マイワシ投与によるハマチの疾患について. 本誌, 2: 57-66.
 藤田真吾・大橋 徹. 1979. カタクチイワシ・マイワシの投与によるハマチの疾患. 本誌, 3: 26-30.
 畑井喜司雄. 1972. 魚における血流中接種細菌の動態に関する研究—II ウナギ血液における *Aeromonas* 菌の消長に伴う白血球の変動. 魚病研究, 7(1): 30-43.
 保科利一. 1962. ウナギの鱗赤病に関する研究. 東水

連鎖球菌の感染に伴うハマチ血液像：藤田

- 大特別研報, 6(1): 1-105.
- 池田弥生. 1976. 養殖ハマチの血液成分に関する診断学的研究. 学位論文: 1-91.
- 森 真朗. 1981. キンギョの異物食系に関する研究 一Ⅱ 白血球のペルオキシダーゼ反応と食作用について. 魚病研究, 16(2): 91-96.
- 室賀清邦. 1975. *Vibrio anguillarum* およびその感染症に関する研究. 広島大水畜産学部紀要, 14: 101-215.
- 大橋 徹・藤田真吾. 1978. 養殖ハマチの血液学的研究一Ⅱ 血液化学成分・血球組成について. 本誌, 2: 36-47.
- 清水盈行. 1974. 血液病・代謝異常. 病態栄養学双書 6, 298pp. 第一出版株式会社, 東京.