

# クロアワビの『筋萎縮症』人為感染稚貝における病理組織像の経日的変化

中津川 俊 雄



クロアワビ稚貝の筋萎縮症における病理組織像の経日的な変化を、人為感染稚貝を用いて検討したところ、試験開始20日後に外観的にも組織学的にも病変部が認められた。病変部は貝殻辺縁部の欠刻、着色として現われ、鰓上皮細胞と上足内末梢神経細胞が異常に増殖していた。日数の経過とともに、病変部は中枢および末梢両神経系を中心に拡大するようであった。56日経過した少数の個体においては、結合組織や消化器系の器官にも病変部が認められた。この感染試験から、本疾病は鰓が感染門戸となっていると考えられた。

著者はこれまで、クロアワビ *Nordotis discus* 稚貝の中間育成の過程において大量死亡を引き起こし、各地の種苗生産施設で問題となっている疾病について、その伝染性および加温処理の本疾病に対する抑制効果を報告した(中津川, 1990; 中津川, 1991)。また、本疾病については自然発症稚貝における病理組織所見の報告がある(中津川ら, 1988)しかし、感染稚貝における病理組織像の時間的な変化についての報告はまだない。そこで、今回人為感染稚貝を用いて病理組織の経日的変化をみることができ、若干の知見を得たのでその結果を報告する。なお、本報告ではこの疾病を便宜上クロアワビの『筋萎縮症』と呼ぶ。

## 材料および方法

供試貝には、筋萎縮症に罹病していないと考えられるクロアワビ健常稚貝150個(平均殻長16.4 mm)を用いた。人為感染試験を1989年7月5日に実施し、8月30日までの56日間供試貝を飼育した。試験区は対照区および攻撃区の2区とし、前者には50個、後者には100個を供試した。攻撃区における人為感染の方法は、滅菌海水1 lに、中津川(1990)の方法に従って調製された自然発症衰弱貝の磨砕濾液10 mlを添加し、供試貝をこの中に20分間浸漬することによって行われた。一方、対照区の供試貝については病貝濾液を含まない滅菌海水1 lに20分間これを浸漬した。浸漬処置を行った両区の供試貝を、それぞれ塩ビ製波板をシェルターとしていた網カゴ(36×36×23 cm)に収容した。さらに、各区の網カゴは50×37×21 cmのプラスチック水槽内に収容した。各水槽には換水率6~7回転/時間で濾過海水を流し、2~3日に1度水槽掃除と投餌を行った。餌は、主に市販のアワビ用配合飼料を与えた。攻撃区では、試験開始5日後(7月10日)、15日後(7月20日)、20日後(7月25日)、26日後(7月31日)、42日後(8月11日)、および48日後(8月17日)にそれぞれ

5個の生存貝（シェルターに付着していた稚貝）を採取した。これらの生存貝については、その外観症状を観察した後、10%中性ホルマリン溶液で固定した。これらのホルマリン固定材料のうち試験開始5日後、48日後採取分は各3個、試験開始42日後採取分は4個、その他の日の採取分は各5個を病理組織観察に供した。また、供試貝が本疾病に罹病していないことを確認するため、試験開始前に3個の供試貝を同様に10%中性ホルマリン溶液で固定して、そのうち2個を組織観察に供した。試験終了時（8月30日）には、攻撃区および対照区の生残貝を10個および5個それぞれ採取した。これらの生残貝については、その外観症状を観察後、10%中性ホルマリン溶液で固定し、そのうち攻撃区では5個、対照区では3個を組織観察に供した。飼育期間中にみられた衰弱貝や死亡貝は、水槽掃除の際、外観症状を観察して、計数し除去した。なお、これらの衰弱貝や死亡貝が筋萎縮症に罹病し、本疾病により衰弱、死亡したことを確認するため、試験開始47日後（8月16日）の衰弱貝1個を採取した。本衰弱貝の外観症状を観察した後、10%中性ホルマリン溶液で固定し組織観察に供した。

10%中性ホルマリン溶液で固定された組織材料は、常法により組織切片とした後、ヘマトキシリン・エオジン染色、あるいはアザン染色を施し鏡検に供した。

## 結果

**生残率** 飼育期間中における攻撃区および対照区の生残率の変化を Fig. 1 に示した。試験開始10日後（7月15日）には攻撃区において8個、対照区において1個の死亡貝がみられた。これらはいずれも配合飼料の消化不良のため消化管が膨満あるいは破裂したことによる死亡と考えられた。攻撃区では試験開始24日後（7月29日）頃から残餌が多くなり、36日後（8月10日）からは死亡貝が出現し始め、48日後（8月17日）までの8日間に9個が死亡あるいは衰弱貝として取り上げられた。これらの死亡・衰弱貝では、貝殻辺縁部の欠刻および着色（赤褐色）や外套膜ならびに足筋肉の外観的萎縮（痩せ）がみられ、筋萎縮症の特徴的な外観症状を呈していた。試験終了時（8月30日）には、最終的に20個が死亡・衰弱貝として取り上げられ、そのうち11個が外観症状の観察から本疾病によるものと判断された。したがって、ホルマリン固定材料として採取された生存貝40個を生残数に含めれば、攻撃区の試験終了時における生残率は80%となった。一方、対照区での死亡貝は試験開始10日後（7月15日）に消化不良で死亡した1個だけで、その生残率は98%であった。なお、飼育期間中の水温は、試験開始41日後の8月15日以降は25°Cを越えた。

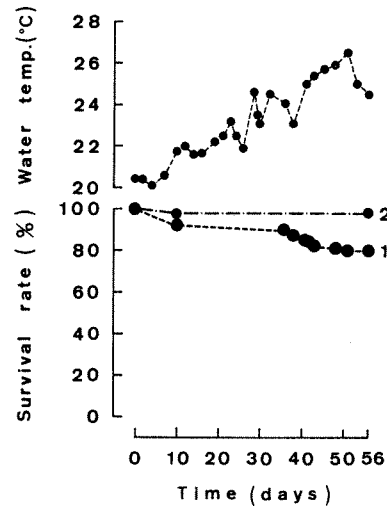


Fig. 1. Changes in survival rates of two groups of abalone and water temperature during the period of the experiment. 1. A group exposed to a 220 nm filtrate of diseased abalone homogenate at the start of the experiment; 2. A group not exposed to the filtrate (control).

**外観的症狀および組織所見** 経日的に採取された攻撃区の40個の生存貝について、その外観症状を観察した。試験開始20日後（7月25日）に採取された5個のうち1個において初めて貝殻辺縁部の欠刻および着色がみられた。26日後（7月31日）に採取された5個のうち3個で貝殻辺縁部の欠刻あるいは着色がみられ、42日後から試験終了時に採取された20個すべての個体において、貝殻の外観異状が観察された。しかし、これらの固定材料はいずれも生存貝あるいは生残貝であるためか、足筋肉や外套膜の外観的な萎縮（痩せ）は観察されなかった。一方、試験開始前（7月15日）に採取された3個および終了時（8月30日）に採取された対照区の5個では、いずれも外観の異状は認められなかった。

なお、本疾病の外観症状の特徴の1つである、貝殻辺縁部の欠刻について、実体顕微鏡による詳細な観察を行った。その結果、貝殻の欠刻した部分だけ見殻が形成されず、周囲の貝殻が伸長するため、肉眼的には欠刻したように見えるということが明らかとなった。

次に、病理組織観察に供した攻撃区の計30個の生存貝における病変部の有無を、Table 1 に示した。試験開始20日後（7月25日）に採取された5個のうち外観症状のみみられた1個で、鰓および上足内末梢神経に病変部が初めてみられた。26日後（7月31日）に採取された5個ではすべての個体の鰓に病変部がみられ、うち3個で上足内末梢神経に

Table 1. Existence of the diseased parts of living abalones in the attacked group.

Part	Elapsed days after infection							
	5	15	20	26	37	43	56	
	Number of specimens							
	3	5	5	5	4	3	5	
Ctenidium	—	—	+1	+5	+2	+1	+3	
Pleuro-pedal neuro-trunk	—	—	—	—	+2	+3	+4	
Neuro-trunk or peripheral nerve in snout	—	—	—	—	+2	+2	+3	
Peripheral nerve in pedal muscle	—	—	—	—	+4	+3	+4	
Peripheral nerve in epipode	—	—	+1	+3	+3	+3	+4	
Peripheral nerve in mantle	—	—	—	—	+2	+3	+3	

—, not exist; +, exist (numerals showing individuals observed diseased parts).

も病変部がみられた。37日後（8月11日）に採取された4個では、すべての個体で足筋肉内末梢神経に病変部がみられ、足側神経幹、吻部神経幹あるいは末梢神経、上足内末梢神経および外套膜末梢神経にも病変部がみられる個体もあった。また、鰓を観察できた2個ではいずれも病変部がみられた。43日後（8月17日）に採取された3個ではほとんどの個体で、足側神経幹、吻部末梢神経、足筋肉内末梢神経、上足内末梢神経および外套膜末梢神経に病変部がみられた。また、3個のうち鰓を観察できた1個では病変部がみられた。試験終了時（56日後、8月30日）に採取された5個のうち4個では、足側神経幹、足筋肉内末梢神経、上足内末梢神経、吻部末梢神経および外套膜末梢神経に病変部がみられ、うち1個ではそのほかに中腸腺、胃および食道に病変部がみられ、結合組織にも病変部と思われる部分がみられた。一方、試験終了時に採取された5個のうちの残りの1個では鰓にのみ病変部がみられた。

鰓における病変部は、鰓の上皮細胞の異常な増殖として認められ（Fig. 2）、足側神経幹における病変部では、神経幹内の神経細胞が異常に増殖して神経幹内に充満し、神経繊維を圧迫していることが窺われた（Fig. 3）。足筋肉内末梢神経、上足内末梢神経および外套膜末梢神経の病変部は、末梢神経の神経細胞の異常な増殖として認められた（Fig. 4）。結合組織（Fig. 5）、中腸腺（Fig. 6）、胃（Fig. 7）および食道における病変部は、いずれも宿主由来と考えられる細胞の異常な増殖像として認められた。

一方、組織観察に供された試験開始前採取分の2個および試験終了時（8月30日）に対照区から採取された3個で

は、いずれも病変部はみられなかった。また、攻撃区での死亡・衰弱の原因を確定するため、組織観察に供された試験開始47日後（8月16日）の衰弱貝1個では本疾病の特徴とされる病変部が観察され、本試験期間中の供試貝の死亡・衰弱の原因は筋萎縮症であると断定された。

## 考察

人為感染試験開始前の供試貝および対照区における試験終了時の生残貝の、外観観察および軟体部の組織観察結果から、これらの供試貝は筋萎縮症に罹病しておらず、対照区において本疾病の自然発生はなかったことが確認された。また、攻撃区では試験開始36日後に死亡が始まったが、これらの死亡は本疾病によることが、外観観察および組織観察結果から確認された。しかし、攻撃区での本疾病による死亡・衰弱貝は100個中11個にとどまった。中津川（1990）は、『水温が23°C以上に上昇すると本疾病の進行は止まることが確かめられた』と述べている。一方、本試験においては試験開始28日以降水温が23°Cを越え、さらに41日以降は25°Cを越えた。したがって、本試験において比較的本疾病による死亡が少なかった理由として、中津川（1990）の指摘した水温の上昇を挙げることができる。

経日的に採取された攻撃区の生存貝における病変部の変化を見ると、試験開始20日後にすでに、5個のうち1個ではあるが、外観的には貝殻辺縁部に、組織的には鰓および上足内末梢神経に病変部が認められた。そして、26日後には採取された5個すべてにおいて鰓に、またそのうち3個では貝殻辺縁部および上足内末梢神経に病変部が認められた。さらに、その後に採取された個体の組織観察結果とを併せて考えると、攻撃後の日数の推移にともない、病変部は中枢神経系や軟体部各所の末梢神経系に拡大していくように思われた。特に、鰓における病変部が観察に供したほとんどすべての個体で認められたことは、鰓が本疾病の感染門戸となっている可能性が大きいことを示唆している。このことは、中津川（1990）が、本疾病について『経皮・経鰓感染が起こることを示しており、本疾病は水を介する伝染病とみられる』と述べたことを裏付けている。

ところで、本疾病の外観症状の特徴の1つである、貝殻辺縁部の欠刻については、実体顕微鏡による詳細な観察結果から、欠刻した部分だけ貝殻が形成されないことによって生じることが明らかとなった。したがって、今回の組織所見から、この欠刻は、外套膜末梢神経の病変により外套膜にある貝殻分泌細胞が正常に機能しなくなり、その部分の貝殻形成がうまくできなかったために生じるものと推測された。

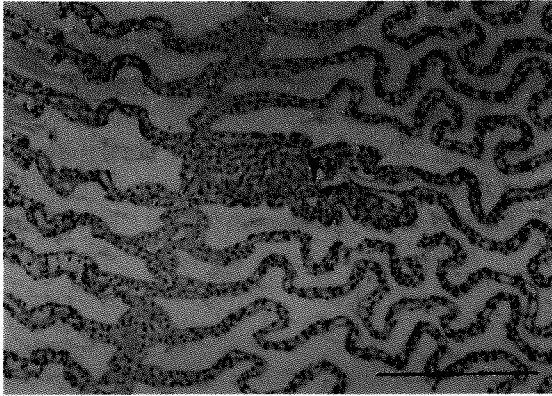


Fig. 2

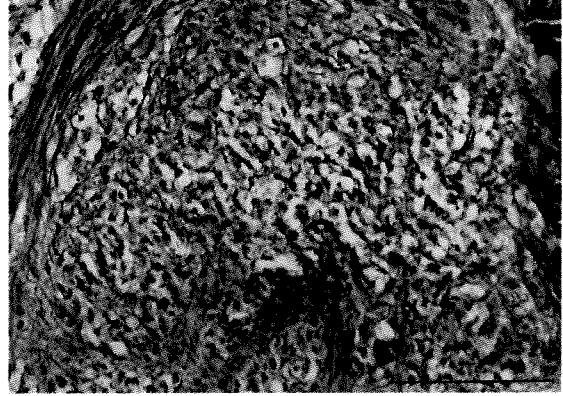


Fig. 5

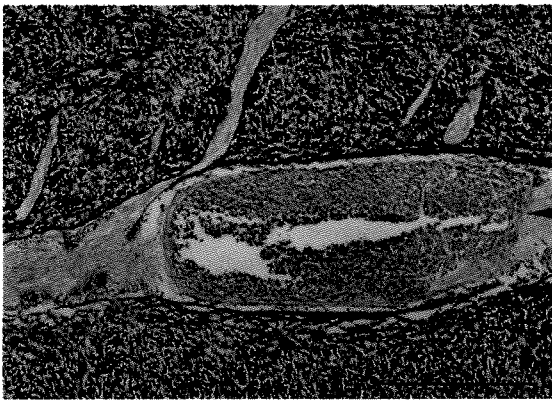


Fig. 3

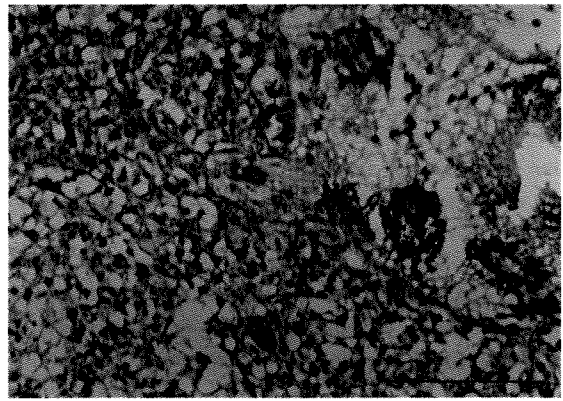


Fig. 6

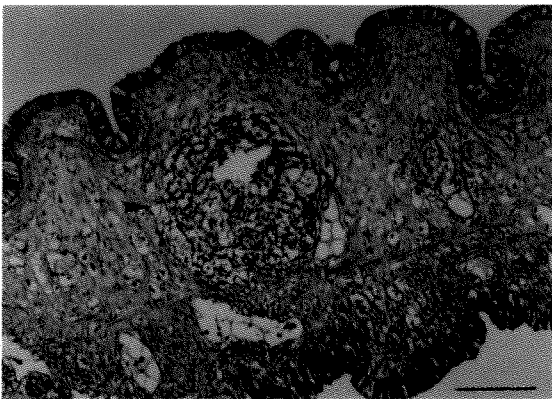


Fig. 4

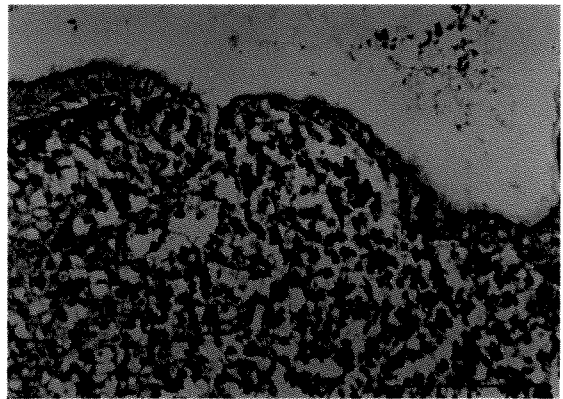


Fig. 7

Fig. 2-7. Sections of the soft part of living abalone in the attacked group. 2. diseased part (arrow) of the ctenidium. 37 days after challenge. Epithelial cells abnormally multiply. H.E. stain. Bar: 0.2 mm; 3. diseased part (arrow) of the pleuro-pedal neuro-trunk. 56 days after challenge. Azan stain. Bar: 0.5 mm; 4. diseased part (arrow) of the peripheral nerve in the mantle. 37 days after challenge. Azan stain. Bar: 0.05 mm; 5. diseased part of the connective tissue. 56 days after challenge. Azan stain. Bar: 0.1 mm; 6. diseased part of the mid gut gland. 56 days after challenge. Azan stain. Bar: 0.1 mm; 7. diseased part of stomach. 56 days after challenge. Azan stain. Bar: 0.1 mm.

以上のように、本疾病の進行は緩やかではあるが、神経系を中心にクロアワビ稚貝の軟体部の各所に病変部を形成して、足筋肉の付着力の低下を引き起こし、摂餌できないようにさせ、稚貝を衰弱・死亡に至らしめるものと推察された。今後、感染・発症後死亡せず、生残した稚貝の体なかで病変部がどのように推移するのかは、これらの生残貝が次のシーズンにおける本疾病の感染源になるのではないかという感染経路の問題とも絡めて、検討する必要がある。

#### 参考文献

- 中津川俊雄・畑井喜司雄・窪田三朗. 1988. 筋萎縮を伴うアワビ稚貝の病理組織学的所見. 魚病研究. **23**, 203-204.
- 中津川俊雄. 1990. 筋萎縮を伴うクロアワビ稚貝の疾病の伝染性. 魚病研究. **25**, 207-211.
- 中津川俊雄. 1991. 筋萎縮症罹病クロアワビ稚貝の加温処理事例. 魚病研究. **26**, 157-158.

#### Synopsis

### Changes in Histo-pathological Observation of Juvenile Abalone Artificially Infected with "Amyotrophia"

Toshio NAKATSUGAWA

This paper describes the changes with the lapse of day in histo-pathological observations of juvenile abalone *Nordotis discus* artificially infected with "amyotrophia".

A diseased abalone first appeared at 20 days after challenge. Incision and discoloration at a ridge of the shell, which were typical symptoms of the disease, were macroscopically observed. Growth of epithelial cells in ctenidium and of neuro-cytes of peripheral nerve in epipode were also microscopically observed. These diseased parts spread to the soft parts, mainly to central and peripheral nervous system with increase of days after challenge. Diseased parts of ctenidium were observed in almost diseased abalone. The part seemed to be an atrium of infection of this disease.