



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	北海道に発生したリンホシスチス病について
Author(s)	田中, 真; 吉水, 守; 草刈, 宗晴 他
Citation	日本水産学会誌, 50(1), 37-42 https://doi.org/10.2331/suisan.50.37
Issue Date	1984-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/38613
Rights	© 1984 公益社団法人日本水産学会
Type	journal article
File Information	yoshimizu-32.pdf



北海道に発生したリンホシスチス病について

田中 真・吉水 守・草刈宗晴・木村喬久

(1983 年 5 月 9 日受理)

Lymphocystis Disease in Kurosoi *Sebastes schlegeli* and Hirame *Paralichthys olivaceus* in Hokkaido, JapanMakoto TANAKA,*¹ Mamoru YOSHIMIZU,*¹ Muneharu KUSAKARI,*²
and Takahisa KIMURA*¹

Lymphocystis disease of Kurosoi *Sebastes schlegeli*, and cultured and wild Hirame *Paralichthys olivaceus* in Hokkaido, Japan was studied by light and electron microscopy.

Seasonal variation in the incidence of lymphocystis was recognized and the incidence of lymphocystis was greatest in July (37%) in the cultured Hirame.

Lymphocystis cells were observed mainly on the fins of Kurosoi and were observed in various places on the body surface of Hirame.

Lymphocystis cells showed characteristic figures, including cellular hypertrophy, cell enclosure by a distinctive hyaline capsule, enlarged nucleus and granular-appearing cytoplasm with prominent inclusions.

The virus particles were polyhedral, represented as hexagonal or pentagonal profiles in sections. They are about 273 nm in mean diameter in Kurosoi and about 259 nm in mean diameter in both cultured and wild Hirame. They may often be seen in crystalline array and they are always located in the cytoplasm. Virogenic particles were observed around the inclusion body seen on light microscopy.

リンホシスチス病は非致死性のウイルス病として古くから研究され多数の報告がみられる。¹⁻³⁾ 1977 年までにすでに 32 科 96 種以上の広い魚種に確認されている⁴⁾が、ウイルスの分離培養は困難とされ、WOLF ら⁵⁾により Blue gill *Lepomis macrochirus* のウイルスについて BF-2 細胞を用い分離培養に成功したのが唯一である。従って原因ウイルスの性状等については未だほとんど明瞭にされていない。

我国ではスズキ *Lateolabrax japonicus*, ハマチ *Seriola quinqueradiata*, イシダイ *Oplegnathus fasciatus*, カレイ及びマダイ *Chrysophrys major* における発生例の報告があるのみで、⁶⁻⁸⁾ 且つ電顕レベルでのウイルス粒子の確認は長林ら³⁾のタイおよびスズキでの観察をみるに過ぎない。

本報では 1981 年から 1982 年にかけて北海道に発生した人工種苗生産クロソイ *Sebastes schlegeli*, ヒラメ *Paralichthys olivaceus* および天然ヒラメにみられた 3 例のリンホシスチス病について光学顕微鏡および電子顕

微鏡による観察を行ったので報告する。

材料および方法

1982 年 1 月及び 2 月北海道立栽培漁業総合センターで飼育中の人工種苗生産クロソイ 4 年魚 4 尾 (平均全長 32~35 cm) 1982 年 9 月北海道檜山管内大成町のアワビ種苗供給センター中間育成場で飼育中の人工種苗生産ヒラメ 1 才魚 5 尾, 1982 年 12 月大成町沿岸の底刺網にて捕獲された天然ヒラメ罹病魚のうちの 1 尾 (全長 21 cm) を供試魚とした。

供試魚の患部を切り出し、光学顕微鏡観察のためにブアン氏液で固定し、パラフィン切片を作製して、ヘマトキシリン・エオシンの二重染色を行った。また電子顕微鏡観察のためには、パラホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド混液で前固定したのち、オスミック酸で固定し、エポン樹脂に包埋した。ガラスナイフで超薄切片を作製し、ウランと鉛で二重染色を行い、日立電子顕微鏡 H-300 で観察した。

*¹ 北海道大学水産学部微生物学講座 (Laboratory of Microbiology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Japan.)

*² 北海道立栽培漁業総合センター (Hokkaido Marine Cultivation Center.)

Correspondence: Professor T. Kimura, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate 041, Japan.

*³ 長林俊彦・厚田静男・菊地晴美・花田 博: 日本獣医学会講演要旨 pp. 116 (1982)

Table 1. Size of lymphocystis cells

Fish species	Diameter of		Thickness of cell membrane (μm)
	Cell (μm)	Nucleus (μm)	
<i>Sebastes schlegeli</i>	$497 \pm 62 \times 394 \pm 61$	$140 \pm 31 \times 102 \pm 20$	17 ± 3
<i>Paralichthys olivaceus</i> (cultured)	$291 \pm 58 \times 248 \pm 48$	$151 \pm 33 \times 121 \pm 26$	15 ± 5
<i>Paralichthys olivaceus</i> (wild)	$146 \pm 25 \times 128 \pm 23$	$80 \pm 12 \times 63 \pm 10$	4 ± 1

結果および考察

発生経過 1. クロソイ: 北海道立栽培漁業総合センターでは 1973 年以来クロソイの種苗生産技術に関する研究が続けている。その間 1978 年 6 月から 8 月にかけて人工種苗生産した約 1000 尾をコンクリート 6 m³ 槽でサンマ、イカナゴを給餌し種苗生産用親魚として周年飼育していたところ、1981 年 6 月に本病の発生を認めた。同年 12 月の調査では 5 尾に観察されたが、これらの個体は取りあげてしまったため、その後の病状の経過は確認できなかった。

2. 養殖ヒラメ: 北海道大成町では、1981 年 5 月から 6 月に日本栽培漁業協会宮古事業場で人工種苗生産した全長 18 mm のヒラメ稚魚を 7 月中旬に北海道立栽培漁業総合センターに輸送し、サンマ、イカナゴを給餌して平均全長 10~13 mm まで養成した幼魚 150 尾を搬入し、長水路 (1.0 m $\times$ 5.0 m $\times$ 0.5 m) で飼育していたが、1982 年 2 月本病の患部が 1 個体の口の周りに認められた。その後の発生経過を Fig. 1 に示した。当時 143 尾を飼育しており、6 月初旬には 3 尾に確認されたのち罹病魚は増加し、7 月中旬には 26%, 37 尾に達した。しかしその後自然治癒により罹病魚は減少し、本病の発生には季節性のあることがうかがえた。

肉眼的所見 病変は粟粒様異物としてクロソイではほとんど鰭のみに限られていたが (Fig. 2), ヒラメでは各鰭のみならず眼球を含む体表面のいたるところに観察された (Fig. 3)。しかし内臓諸器官には認められなかった。感染細胞の大きさは天然ヒラメの顕微鏡的なものから、クロソイのように直径約 1 mm のものまで存在した。それらは多くの集塊を形成し、大きな集塊では高さ数ミリメートルほど盛りあがっていた。

光顕観察 リンホシスチス細胞は結合組織内に埋没して観察される。その形態的特徴はすでによく知られているように、正常の細胞に比しきわめて大きく、一層の均質無構造で好塩基性の厚い細胞膜で囲まれ、内部には細胞の巨大化に比例した巨大な核と好塩基性の封入体が認められる (Fig. 4, 5, 6)。感染細胞の大きさは Table 1 に示

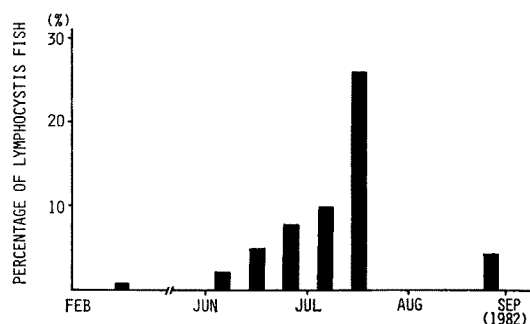
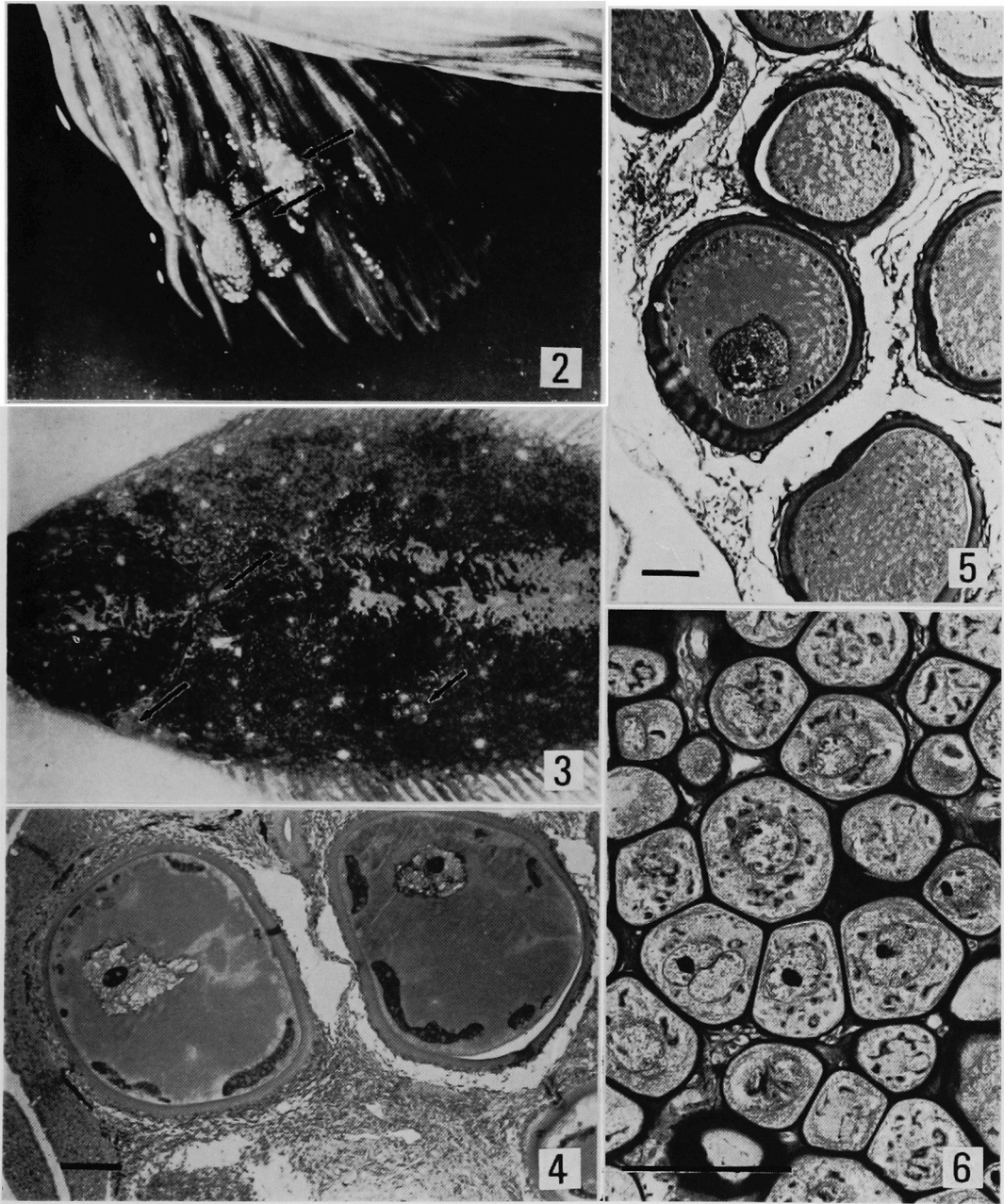


Fig. 1. Incidence of lymphocystis development among cultured Hiram (*Paralichthys olivaceus*) at Taisei Hiram Culture Station.

したように、3 魚群それぞれ異なっていたが同一の群ではほぼ同じ大きさであった。

リンホシスチス細胞を宮崎・江草⁷⁾は、細胞の大きさ、封入体の形、大きさ、構造、位置から 4 つの成長型にわけている。これに従い本症例の感染細胞を分類すると、クロソイでは細胞の大きさ約 $497 \times 394 \mu\text{m}$, 封入体は細胞膜近縁部に観察され (Fig. 4), また養殖ヒラメでは細胞の大きさ約 $291 \times 248 \mu\text{m}$, 封入体は細胞膜近縁部に存在し多数の小さな球状の塊に観察され (Fig. 5), これらは最も成長段階の進んだ 4 型に相当するものと考えられる。しかし天然ヒラメでは感染細胞の大きさ約 $146 \times 128 \mu\text{m}$ で、封入体が核と細胞膜の中間に存在することから 3 型に相当するものと考えられる (Fig. 6)。同じヒラメでありながら養殖ヒラメと天然ヒラメのリンホシスチス細胞の大きさが異なっていたのは感染細胞の成長段階 (感染後の経過時間) の違いによるものと考えられる。

電顕観察 ウイルス粒子は六角形または五角形を呈し、正 20 面体のウイルスと推定された。それらは細胞質内に散在あるいは結晶状配列を呈して存在し (Fig. 7, 8), 粒子の大きさはクロソイで径約 273 nm, ヒラメでは養殖魚及び天然魚いずれの場合も径約 259 nm であり、魚種により若干大きさに差が認められたが、同一魚種では棲息環境が異なっても同じ大きさのウイルスが本病に



Explanation of Figures

Plate I

- Fig. 2, 3. Signs of lymphocystis.
 Fig. 2. Masses of lymphocystis cells on the pectoral fin of *Sebastes schlegeli*.
 Fig. 3. Masses of lymphocystis cells on the body surface in wild *Paralichthys olivaceus*.
 (arrows indicate masses of lymphocystis)
 Fig. 4-6. Light photomicrographs of lymphocystis cells.
 Fig. 4. *Sebastes schlegeli*.
 Fig. 5. cultured *Paralichthys olivaceus*.
 Fig. 6. wild *Paralichthys olivaceus*.
 (H & E, — represent 100 μ m)

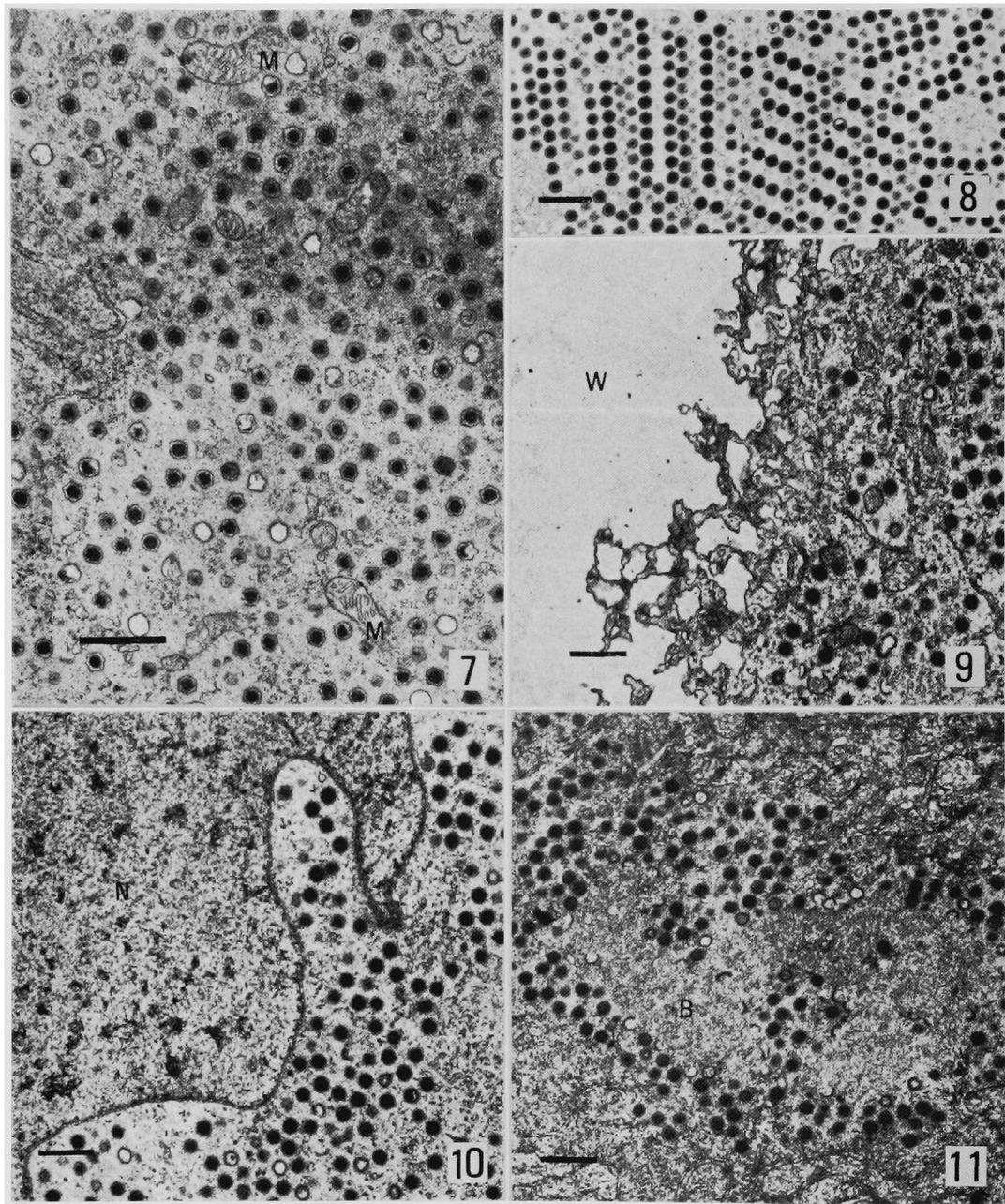


Plate II

Fig. 7-11. Electron micrograph of lymphocystis cells.

Fig. 7. Cytoplasm of infected cells of cultured *Paralichthys olivaceus* containing numerous viral profiles indicative of icosahedral structure.

Fig. 8. Cytoplasm showing crystalline array of viral particles in *Sebastes schlegeli*.

Fig. 9. The zone adjacent to the cell wall in the lymphocystis cells of cultured *Paralichthys olivaceus*.

Fig. 10. The zone adjacent to the nucleus in the lymphocystis cells of cultured *Paralichthys olivaceus*.

Fig. 11. Inclusion body in the lymphocystis cell of *Paralichthys olivaceus*. Virogenic particles were observed around the inclusion body.

M, mitochondria; W, cell wall; N, nucleus; B, inclusion body (— represent 1 μ m)

関与していることが確認された。リンホスチスウイルスの大きさについては *Pleuronectids* の 130~150 nm から *Silver perch Bairdiella chrysura* の 280~330 nm まで種々異なった大きさのものが存在することが知られており,^{9,10)} 本研究のクロソイおよびヒラメで見いだされたウイルス粒子は比較的大形の部類に属するものと考えられる。またクロソイと同属である *Quillback lockfish Sebastes maliger* では径約 240 nm, ヒラメと近縁な *Plaice Pleuronectes platessa* では 130~150 nm と報告されており,^{9,11)} 本研究で見いだされたウイルス粒子の大きさはそれら近縁魚種で報告されているものと明らかに差異が認められた。両魚種で見いだされたウイルス粒子はいずれも厚さ 17~20 nm の殻 (エンペローブとは異なる) で囲まれ、内部には 170~200 nm のコアを有し、外側には ZWILLENBERG and WOLF,¹²⁾ YAMAMOTO *et al.*,¹³⁾ および PAPERNA *et al.*¹⁴⁾ 等により報告されている fuzzy halo が観察された。

感染細胞は均質無構造で電子密度の低い厚い細胞膜に囲まれ、細胞質との境界は互いに触手を伸ばしたように複雑にからみあった状態を呈していた (Fig. 9)。核は大きく、きわめて不整形であり、クロマチンが増量し、部分的な凝集もみられた。二重構造の核膜が観察されるが、その配列が乱れている個所が少なからず観察された (Fig. 10)。封入体は核内に観察される osmiophilic 物質と類似した顆粒で構成されていた。その内部には他の細胞内小器官を含まず、その外縁部にはカプシッド形成中とみられるウイルス粒子も観察され、封入体がウイルス粒子形成の場となっていることが推察された (Fig. 11)。また封入体は魚種によって電子密度が異なり、クロソイではヒラメに比し電子密度の高い傾向がみられた。

前述のように本病はまず 1981 年 6 月道立栽培漁業総合センターのクロソイに、続いて 1982 年 2 月大成町の養殖ヒラメに発生したが、同町では日本栽培漁業協会宮古事業場から道立栽培漁業総合センターを経由してヒラメ稚魚を搬入していることから、ヒラメの本病発生はクロソイからの伝染ではないかと当初疑われた。しかし本ウイルスは極く近縁の魚種でのみ伝染が成立すること、また本研究で明らかにしたウイルス粒子の大きさの相違から、他からの伝染を考えざるを得ない。本病はその後大成町沿岸域の天然ヒラメに確認され、天然ヒラメで観察されたウイルス粒子の大きさが養殖ヒラメのそれと一致すること、さらにこの養殖場では沿岸の天然海水を汲み入れ飼育水として使用していることなどから、養殖ヒラメでの本病発生は恐らく天然魚からの伝染であろうと推察される。

また養殖ヒラメにおいて本病は初夏に多発する傾向が認められた。リンホスチス病発生の季節性について

は、WEISSENBERG¹⁵⁾ は *Centrachids* では夏と冬に発生し、冬の流行が著しいことを、NIGRELLI *et al.*¹⁶⁾ は北米の淡水魚について夏に多発し秋から冬には消失すること、さらに WITT¹⁷⁾ は *White crappie Pomoxis annularis* では 7 月に発生率が最高に達し、その後減少するが、11 月に一時急激な増加があることを報告している。このようにリンホスチス病の消長には魚種によりそれぞれ異なった季節性のあることが知られているが、ヒラメでは初夏に多発する傾向を有するものと考えられる。

要 約

北海道に発生した 3 例のリンホスチス病 (養殖クロソイ、養殖および天然ヒラメ) について光学顕微鏡および電子顕微鏡による観察を行い、以下の結果を得た。

1. 本病の発生には季節性が認められ、養殖ヒラメでは初夏に多発する傾向が認められた。
2. 病変は粟粒様異物として認められ、クロソイではほとんど鰭のみに限られていたが、ヒラメでは各鰭のみならず眼球を含む体表面いたるところに観察された。
3. 光顕観察でリンホスチス細胞は正常細胞に比しきわめて巨大化し、一層の均質無構造で好塩基性の厚い細胞膜で囲まれ、内部には巨大な核と好塩基性の封入体が観察された。
4. 超薄切片でウイルス粒子は細胞質内に散在あるいは結晶状配列をして存在していた。その形態は六角形または五角形を呈し、正 20 面体と推定され、大きさはクロソイで径約 273 nm, ヒラメでは養殖および天然魚共に径約 259 nm, であった。
5. 光顕像の封入体に相当する構造物は電顕像では核内に観察される osmiophilic 物質と類似した顆粒で構成され、その外縁にはカプシッド形成中とみられるウイルス粒子が観察された。
6. 電顕像で核はきわめて不整形で、核膜の配列が乱れている個所が少なからず観察された。また細胞膜は均質無構造で電子密度の低い厚い膜からなり、細胞質との境界は複雑にからみあった状態を呈していた。

謝 辞

本研究の遂行にあたり貴重な試料の採取と提供をいただいた北海道檜山管内大成町アワビ種苗供給センター中間育成場の川下正巳氏、また適切な御助言と御指導をいただいた北海道大学水産学部微生物講座助教授檜面良男博士および助手田島研一教官に心から感謝申しあげ

文 献

- 1) R. WEISSENBERG: *Ann. A.Y. Acad. Sci.*, **126**, 362-374 (1965).
- 2) K. WOLF: *U.S. Fish. Wildl. Serv., Fish. Disease Leaflet*, No. 13, pp. 4, (1968).
- 3) K. WOLF: in "Disease of fish" (ed. by L. E. MAWDESLEY-THOMAS) Academic Press, London, 1972, pp. 305-331.
- 4) R. L. ADRIAN, T. G. JOHN, D. CHAD, and L. HUEY: *J. Wildl. Dis.*, **13**, 307-313 (1977).
- 5) K. WOLF, M. GRAVELL, and R. G. MALSBERGER: *Science*, **151**, 1004-1005 (1966).
- 6) 松里寿彦: 魚病研究, **10**, 90-93 (1975).
- 7) 宮崎照雄・江草周三: 魚病研究, **6**, 83-89 (1972).
- 8) 江草周三・窪田三郎・宮崎照雄: 魚の病理組織学, 東京大学出版会, 東京, 1979, pp. 64-65.
- 9) R. WALKER and R. WEISSENBERG: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **126**, 375-385 (1965).
- 10) A. R. LAWLER, H. D. HOWSE, and D. W. COOK: *Copeia*, 1974, 266-269 (1974).
- 11) J. E. MCCOSKER, D. L. MICHAEL, and T. THOMAS: *Trans. Am. Fish. Soc.*, **95**, 333-337 (1976).
- 12) L. O. ZWILLENBERG and K. WOLF: *J. Virol.*, **2**, 393-399 (1968).
- 13) T. YAMAMOTO, R. D. MACDONALD, D. C. GILLESPIE, and R. K. KELLY: *J. Fish. Res. Board. Cana.*, **33**, 2408-2419 (1976).
- 14) I. PAPERNA, S. ILANA, and A. COLORNI: *J. Fish. Dis.*, **5**, 433-437 (1982).
- 15) R. WEISSENBERG: *Zoologica*, **30**, 169-184 (1945).
- 16) R. F. NIGRELLI and G. D. RUGGIERI: *Zoologica*, **50**, 83-96 (1965).
- 17) A. WITT: *Trans. Am. Fish. Soc.*, **85**, 271-279 (1957).