

## 論文

## サケ科魚類にみられた腎石灰症候群様疾病について

田畑和男\*

Nephrocalcinosis-like disease observed in salmonidae fishes

Kazuo TABATA\*

キーワード：アマゴ，ニジマス，腎石灰症候群，カルシウム，硬度，アルカリ度，炭酸イオン，重炭酸イオン

兵庫県内の某淡水魚類養魚場（以下A養魚場）において、アマゴとニジマスの成魚の腎臓や輸尿管内に石灰質様物質が沈着する疾病が発生した。既往文献（Landort 1975, Cowey and Roberts 1980）と組織化学的検討等から腎石灰症候群 Nephrocalcinosis の疑いが考えられた。本症は国内では兵庫県はもとより、日本全体における報告例もないと思われる珍しい疾病である。しかし、ヨーロッパでは、すでに1975年に本症の発生が報告されており、病態生理学、病理組織学といった基礎的分野の中で研究されてきた。

一方、病因についての報告は少ないが、Landort (1975)は飼料性の可能性のなかで水の硬度の関係を、また、Cowey and Roberts (1980)は、ミネラルの飼料性不均衡が水の硬度、二酸化炭素量の上昇といった環境要因とあいまって病理的状态を生ずる可能性を報告している。しかし、Heinenn *et al.* (1993)は飼料との関係を否定した。Sveinung *et al.* (1999)は、高濃度の二酸化炭素が本症の有病率を有意に高めることを報告したが、水の硬度に関しては触れていない。このように、現在のところ、完全に原因が究明されたという段階ではないようである。

今回発生した疾病を腎石灰症候群と診断したが、その防除対策を考える上で原因究明が重要である。そこで、発生原因の究明を疫学におこなったところ、用

水のカルシウム濃度または硬度さらにアルカリ度成分が大きく関与している可能性が示唆された。以下にその詳細を報告する。

## 材料および方法

供試魚 兵庫県内のA養魚場において飼育されていた孵化後数ヶ月～1年前後のアマゴ、ニジマス成魚のうち、2000年9月から2001年9月にかけて内水面漁業センターに検査依頼のあった魚病検体を供試魚とした。体重の範囲は19～200gであった。

A養魚場は発眼卵を購入し、成魚まで飼育する生産方式をとっており、用水はすべて地下水を使用している。

水質分析法 現地で水温、溶存酸素(DOメータModel ND-10)を測定した後、検水を実験室に持ち帰った後、pH(ガラス電極法)、RpH(30分間曝気後のpH)およびアルカリ度、カルシウム、マグネシウム、硬度を下記の方法により分析した。

アルカリ度:pH計による硫酸滴定法(pH4.8)(吉田・曇目1991)。この値は、主として $\text{CO}_3^{2-}$ 、強アルカリ、および $\text{HCO}_3^-$ の量を表す。

Ca, Mg, 硬度:NN指示薬およびEBT指示薬によるEDTA滴定法(吉田・曇目1991)。

\*Tel: 078-941-8601, FAX: 078-941-8604, Email: kazuo\_tabata@pref.hyogo.jp  
兵庫県立農林水産技術総合センター内水面漁業センター(679-3442 兵庫県朝来市田路1134)  
現所属: 兵庫県立農林水産技術総合センター水産技術センター(674-0093 兵庫県明石市二見町南二見22-2)

魚病検査 外部症状,内部症状は肉眼観察によった。

ウイルス検査は細胞(RTG-2)培養法によった。

細菌検査は,鰓における顕微鏡観察,腎臓における改変サイトファーガ培地とTSA培地による培養法によった。また,腎臓中の細菌性腎臓病(BKD)と細菌性冷水病(BCWD)の検出にはPCR法を使用した。寄生虫および真菌類検査については,鰓,腸,腎臓における顕微鏡観察によった。

死亡率は,A養魚場の飼育記録から算出した。罹病率は,無作為にサンプリングした検体の罹病率を全体の罹病率とした。

カルシウム染色 病魚腎臓の生またはホルマリン固定標本をダールのカルシウム染色(アリザリンレッドS法,小川1988)を施し,顕微鏡下で観察した。本染色によって,カルシウムは橙赤色に染められる(背景は緑色)。なお,本検査は,2004年にA養魚場において腎石灰症候群様疾病を発症したブラウンマスを材料にして実施した。対照魚には内水面漁業センターで飼育中のアマゴを使用した。

## 結 果

罹病率,死亡率 1999年秋季採卵群のアマゴは,翌年2000年9月ごろから斃死がみられた。11月までの累積斃死率は4~5%程度であったが,9月時点での罹病率は40%程度と高かった。さらにその後の12月から5月までの累積死亡率は約10%で,罹病率は100%であった。この調査の後の年においても,本養魚場では成長したサケ科魚類(アマゴ,ニジマス,ブラウンマス)に限って毎年同様の症状が現れた。なお,アユには発生が見られなかった。

魚病検査結果 外部症状としては腹部の腫れが顕著である(第1図)。内部症状は,腎臓の尿管の白濁が顕著で,さらに腹水の貯留,肝臓の退色が顕著である(第2図)。しかしながら,寄生虫(白点虫 *Ichthyophthirius multifiliis*, 鞭毛虫ほか)は鰓,腎臓に



第1図 病魚の外観。

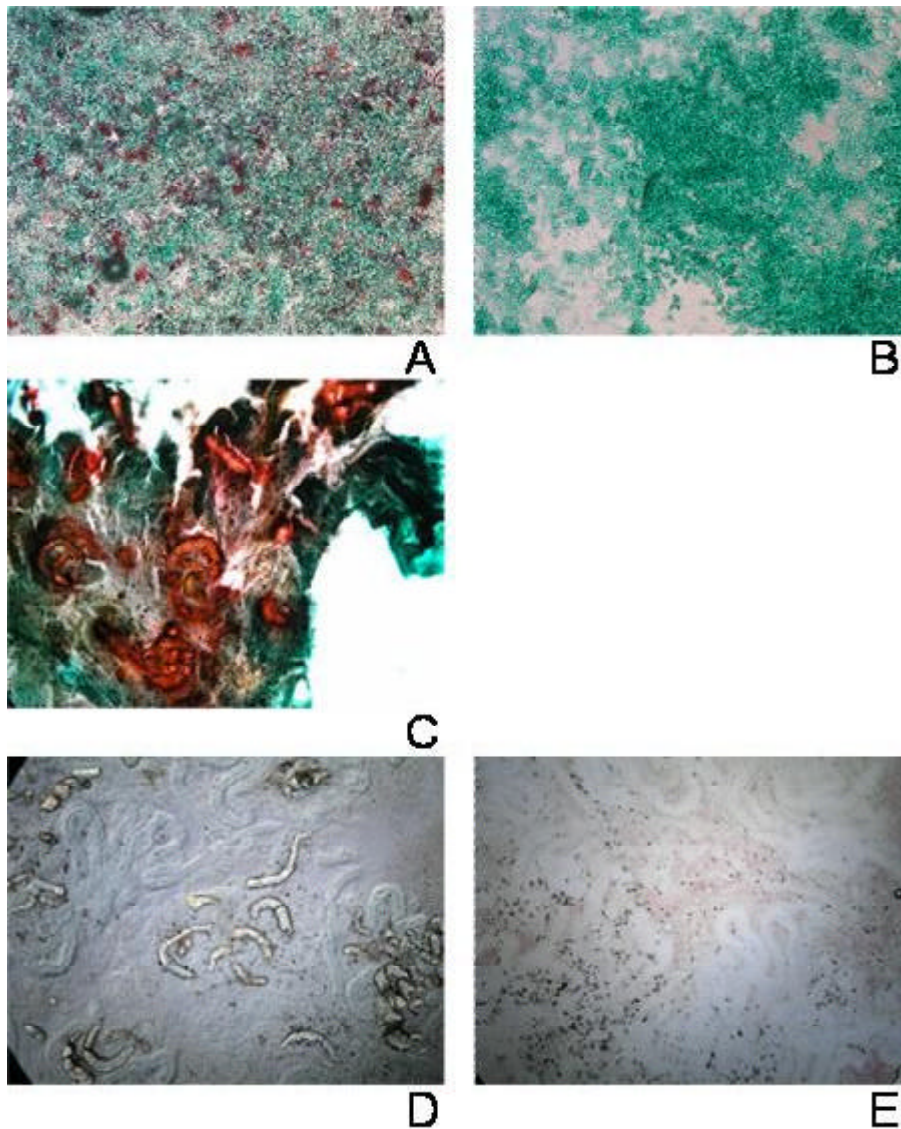


第2図 病魚の内部症状。

において,真菌類(*Saploregnia* sp., *Ichthyophonus hoferi*)は腎臓においてそれぞれ検出されなかった。細菌では,鰓における細菌性鰓病原菌(*Flavobacterium branchiophilum*),腎臓における細菌性冷水病菌(*Flavobacterium psychrophilum*),レンサ球菌(*Streptococcus* sp.),せつそう病菌(*Aeromonas salmonicida*)および細菌性腎臓病(*Renibacterium salmoninarum*)原因菌は検出されなかった。しかし,2000年採卵群の検体ではエロモナス菌 *Aeromonas hydrophila* が5尾中3尾から検出された。ウイルスについては,IHN,IPNは検出されなかった。

このように腎臓における異常以外,寄生虫,真菌類,細菌,ウイルス等斃死原因となる病原生物は見つからなかった。

腎臓のカルシウム染色 病魚と正常魚の腎臓生標本の顕微鏡写真を第3図A,Bにそれぞれ示した。病魚の方には数10 μmの海老型をした無生物と思われる構



第3図 ブラウンマス病魚に見られた腎臓中のカルシウム断片。

A : X40, 病魚腎臓 (ホルマリン固定標本をカルシウム染色後ホモジナイズ); B : X40, 正常魚腎臓 (ホルマリン固定標本をカルシウム染色後ホモジナイズ); C : X10, 病魚腎臓 (生標本 カルシウム染色); D : X10, 病魚腎臓 (生標本); E : X10, 正常魚腎臓 (生標本)。

造物が多数観察された。これにダールのカルシウム染色を施したのが第3図Cである。この染色によってカルシウムは橙赤色に、背景は緑色に染められことから、この構造物はカルシウムであることがわかった。ホルマリン固定標本についても同様に染色された(第3図D, E)

用水のカルシウム, マグネシウム, 硬度, アルカリ度  
A 養魚場の地下水の原水, 曝気水および内水面漁業

センター内の飼育池への注入水(砂濾過河川水)についてのカルシウム, マグネシウム, 硬度, pH, RpH, およびアルカリ度の測定, 分析結果を第1表に示した。A 養魚場内での原水と曝気水の測定値間にはpHを除いて違いはなかった。しかし, 内水面漁業センターの飼育用水との間には大きな違いがあった。すなわち, A 養魚場の値は内水面漁業センターのそれよりも, カルシウムは6倍, マグネシウムは4倍, 硬度は

第1表 A養魚場と兵庫県内水面漁業センターの水質分析結果.

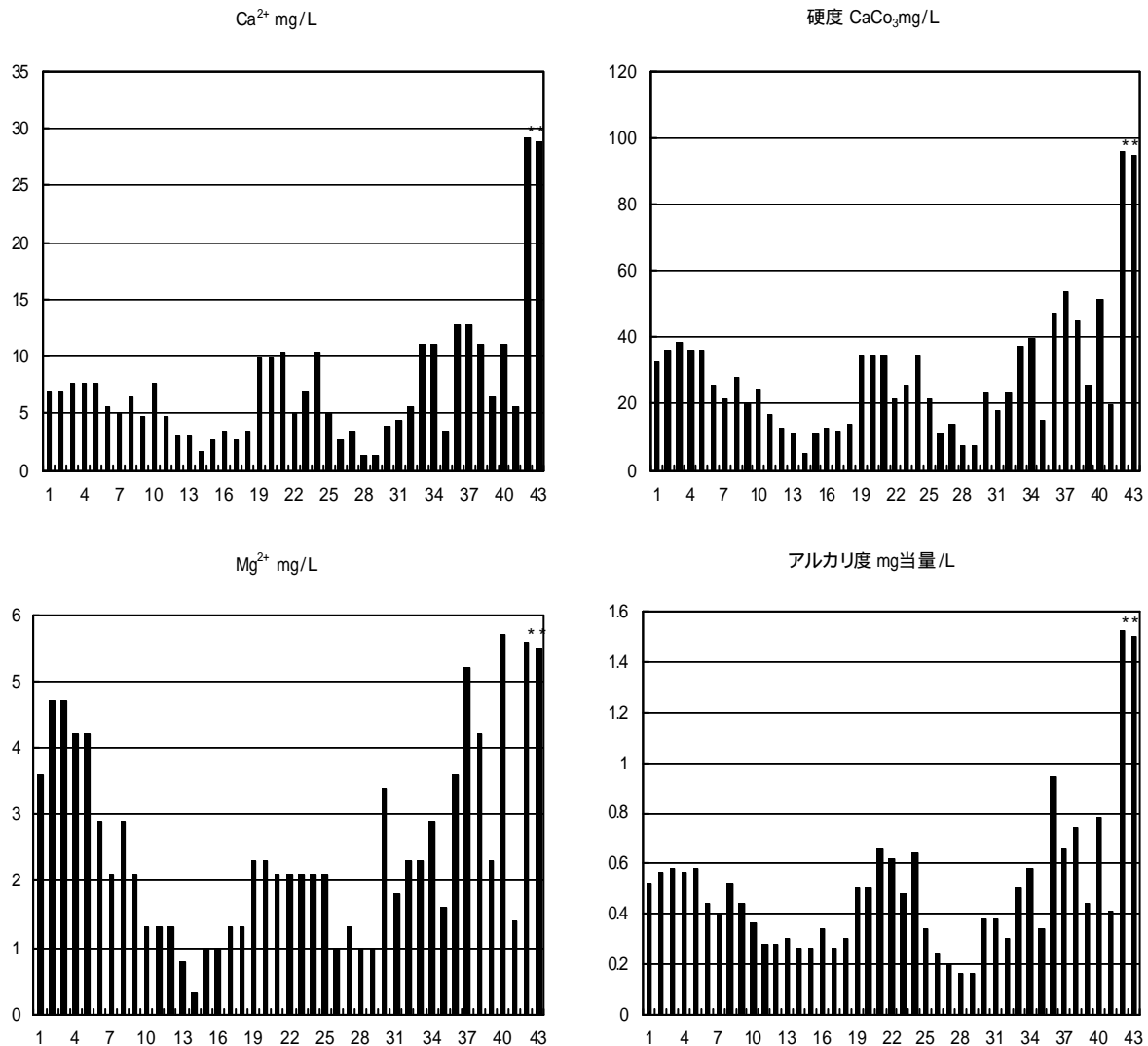
|                    | アルカリ度<br>mg当量/L | Ca <sup>2+</sup><br>mg/L | Mg <sup>2+</sup><br>mg/L | 硬度<br>CaCO <sub>3</sub> mg/L | pH   | RpH  |
|--------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|------|------|
| A養魚場(原水、地下水)       | 1.52            | 29.1                     | 5.6                      | 95.8                         | 5.22 | 8.36 |
| A養魚場(注水、バッキ水)      | 1.50            | 28.8                     | 5.5                      | 94.6                         | 6.44 | 8.40 |
| 兵庫県内水面センター(注水、河川水) | 0.41            | 5.6                      | 1.4                      | 19.8                         | 7.41 | 7.80 |

5倍,アルカリ度は3倍,RpHは0.6それぞれ高かった。

考 察

Landort(1975)は,ニジマス等の腎臓尿細管の中に生じる石灰沈着を示す病態を腎石灰症候群 Nephrocalcinosis として報告している。腎臓に明瞭な筋またはスポットとして見られる白い鉱物質は,カル

シウム染色に対して陽性であり,腹水等が見られる場合もある。過度のストレスを与えない限り死亡率は低い等と報告されている。兵庫県内のA養魚場のサケ科魚類腎臓内の輸尿管を中心に見られた白濁物質は無生物で,カルシウム染色に陽性であったこと,腹水を持つ等から,その疾病は腎石灰症候群 Nephrocalcinosis とみなされた。なお,本症名は,日本魚病学会の“選定された魚病名(2004年改訂)”(魚病研究2004)に記



第4図 兵庫県内のサケ科魚類養殖場における用水についての水質分析結果.

「カルシウム,マグネシウム,硬度,アルカリ度を田畑(1980)より転載」とA養魚場(No. 42, 43)と内水面漁業センター(No. 41)の今回分析結果.\*はA養魚場を示す.横軸の数字は兵庫県内の各養魚場名を示す.

載がないことから、我が国では未確認か稀なものかのいずれかである。発生原因が水質の高カルシウムや高炭酸によるとみられること(後述)と、日本の水質は一般に諸外国に比べて硬水が少ないことから、日本における発生報告がなかったことは合理的に説明されると考えられる。

病因についての報告は少ないことをすでに述べた。実験的に発生要因と確かめられたのは二酸化炭素についてのみであるが(Sveinung *et al.* 1999)、対照区でさえ有病率が高いことから他の要因も存在する可能性は十分にあると思われる。その他、可能性としてあげられているのが餌料(ミネラルの不均衡)と水質(硬度)であるが、どの程度の不均衡や濃度レベルが発生要因になるかは知られていない。1970年代には配合飼料化が進んでおらず養魚場によって独自の餌料が使われていたものと思われる。近時の日本においてはサケ科魚類の養殖は、飼料メーカーの製造するほぼ均一化された配合飼料の投与によっているので、餌料性を疑う必然性はあまりないだろう。

そこで、今回の発生事例について疫学的に検討を加えた。兵庫県内のサケ科魚類養殖場における用水の水質分析結果が公表されている(田畑1980)ので、そのうちのカルシウム、マグネシウム、硬度、アルカリ度のデータに今回分析したA養魚場と内水面漁業センターのデータを加え、図に示した(第4図)。なお、A養魚場以外には今まで腎石灰症候群様疾病が観察されたことはない。マグネシウムについてはA養魚場以外にも値の高い養魚場があるが、カルシウム、硬度、アルカリ度はA養魚場のみが極度に高い値を示していることがわかる。しかし、硬度はカルシウムとマグネシウムの合計量から計算されるので、実際にはカルシウムとアルカリ度のみが高いといえるだろう。なお、pH4.8のアルカリ度は主として $\text{CO}_3^{2-}$ 、強アルカリ、および $\text{HCO}_3^-$ の量を表すが、pH値から強アルカリの混入はないと思われるので炭酸イオン、重炭酸イオンの混入が高いと換言できるだろう。すなわち、これら成分の多さが腎石灰症候群発生の主因と推測される。高

い炭酸イオン等の影響はSveinung *et al.* (1999)の実験から支持される。一方、高カルシウムの影響についての実験的研究は未だないので要因のひとつとしての可能性が今回の検討で高まったといえる。

A養魚場用水の水質改善については、最初に曝気による方法が試行されたが、第1表、第4図の示すとおり、曝気による値の変化はなかった。炭酸イオン等が高アルカリ度の本体であることを考えると当然の結果である。また、塩化ナトリウムによって化学的にカルシウムを除去する機械の導入が検討されたが、コストが高く導入はされていない。成長段階の比較的早い時期に別の養魚場に移すことによって障壁は取り除かれることがわかり、現在はこの方法によって難を逃れている。

#### 謝 辞

独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所乙竹充博士、栃木県水産試験元部長糟谷浩一氏には情報提供に対してお世話になりました。ここに謹んでお礼申し上げます。

#### 文 献

- Cowey CB, Roberts RJ (1980) 硬骨魚類の栄養病理学。「魚病学」(Roberts RJ編、佐野徳夫訳)、文永堂、東京、240-251.
- Sveinung F, Berit OA, Hilde K, Hanne S, Sigurd S. (1999) Effects of carbon dioxide on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts at constant pH in bicarbonate rich freshwater. *Aquaculture*. **178**, 171-187.
- Heinen JM, Hankins JA, Subramanyam M (1993) Evaluation of four commercial diets for rainbow trout. *Progressive Fish-Culturist*. **55**, 265-269.
- Landolt ML (1975) Visceral granuloma and nephrocalcinosis of trout. In: Ribelin WR, Migaki G (eds), *the Pathology of Fishes*, University of Wisconsin Press. Madison, Wis., 793-801.

日本魚病学会編集委員会(2004) 選定された魚病名  
(2004年改訂). 魚病研究, **39**, 223-233.

小川浩美(1988) ダールのカルシウム染色. 「染色法の  
すべて」, 月刊MEDICAL TECHNOLOGY別冊, 医歯  
薬出版, 東京, 96-97.

Roberts RJ(1980) 硬骨魚類の病態生理学と病理組織.  
「魚病学」(Roberts RJ編, 佐野徳夫訳), 文永堂, 東  
京, 61-97.

田畑和男(1980) 兵庫県内サケ科魚類養殖場水質調査.  
昭和54年度兵庫水試事報, 兵庫水試, 明石, 228-242.

吉田仁志・暮目清一郎(1991) アルカリ度と酸度. 「水  
の分析第3版」(日本分析化学会北海道支部編), 化学  
同人, 京都, 183-187.

吉田仁志・暮目清一郎(1991) カルシウムとマグネシ  
ウム. 「水の分析第3版」(日本分析化学会北海道  
支部編), 化学同人, 京都, 187-192.

吉田仁志・暮目清一郎(1991) 硬度. 「水の分析第3版」  
(日本分析化学会北海道支部編), 化学同人, 京都,  
192-193.