

酸化脂肪投与コイに見られる眼底病変*

村地 四郎・唐川 佳子
(広島大学水畜産学部水産学科)

Symptoms Appearing in the Eye Fundus of the Carp Fed on the Diet Containing Oxidized Oil

Shiro MURACHI and Yoshiko KARAKAWA
*Department of Fisheries Faculty of Fisheries and Animal Husbandry
Hiroshima University, Fukuyama*
(Fig. 1; Table 1; Plate 1)

緒 論

コイの背こけ病研究の現状に関しては、最近の横手¹⁾の総説に詳しく述べられているので、ここには省略するが、コイの飼料中に含まれる酸化脂肪が背こけ病発生の一つの大きな要因であり、かつ、ビタミンEの添加によりその発生が効果的に予防される事が、橋本²⁾によって明らかにされている。筆者らは、この橋本らの研究と連係を保ちつつ、酸化脂肪を加えた飼料で飼育したコイの眼底に見られる病変を追求した。その結果、外見上からは背こけ症状のいまだ発現しないような初期のものでも、網膜及び網膜血管に明瞭な病変の見られる事を確かめ、かつ、その組織学的検査をも実施し、眼底検査で認められた病的所見が、いかなる組織学的病変に基づくものであるかについても明らかにした。

毒物の混入などによる異常環境下に置かれた場合の魚の臨床的診断技法として、眼底検査が極めて有効である事は村地³⁾が既に報告したところであるが、今回は、飼料中の酸化脂肪に基づく病態の検査方法としても利用し得る事を確認したので、ここに報告する事とする。

本研究を実施するに当たり、全般に亘り御指導と御援助をいただいた東京大学農学部教授橋本芳郎博士、背こけ魚の材料を供与された現東北海区水産研究所増殖部長古川厚博士、ならびに、基本飼料の調整に関し御助力をいただいた東京大学農学部水産化学教室渡辺武氏に深く感謝する次第である。なお、本研究の一部は、昭和39、40年度農林漁業試験研究補助金によったものであり、その一部を報告書⁴⁾⁵⁾として発表した。

材料及び方法

昭和39年度の実験には、内海区水産研究所大野分室において、8月9日より12月10日まで約120日間飼育したコイの中から、下記の3種の飼料群よりそれぞれ10尾ずつ分与を受けたものについて、眼底検査ならびに組織学的検査を実施した。この飼育条件に関しては橋本²⁾らの報告よりそのまま必要な部分を次に抜粋する事とする。

『広島県北部淡水指導所より入手した平均体重約5gのコイ稚魚を内海区水産研究所大野分室の室外に設置した2×2×0.5mのコンクリート製水槽で8月上旬より12月上旬まで約120日間飼育した。飼

* 広島大学水畜産学部熊野淡水生物実験所業績第1号

育水は井戸水で、1.2l/分の割合で通水し、水温は25°C(8月)~15°C(12月)の範囲にあった。

各群330尾の5群を設け、Table 1に示す飼料で飼育した。なお各群とも飼料No. 1により試験前1週間予備飼育を行なった。投餌量は10月初旬までは1日当り乾物として体重の5%とし、それ以後はコイの摂餌状態によって調節した。試験飼料100に対して水80を加えよく練って投与した。

Table 1. Composition of experimental diets. (g) (from Y. HASHIMOTO et al. ²⁾)

Diet No.	Defatted fish meal	α -Starch	Corn oil	Saury oil	Vitamin mixture †	Mineral mixture ††	DL- α -Tocopheryl acetate (mg)	CMC
1	60	30	10*		0.2	2		1.5
3	60	30		10 (0**)	0.2	2		1.5
5	60	30		10 (0**)	0.2	2	50	1.5

* Purified oil ** Oxidized oil (P.O.V 120-150)

† Thiamine nitrate 10, Riboflavin 80, Pyridoxin hydrochloride 20, Cobalamine 0.02, Ascorbic acid 300, Nicotiamide 150, Ca-pantothenate 100, Biotin 2, Folic acid 6, Choline chloride 1000, Inositol 400, p-Aminobenzoic acid 80, Menadione 8 mg, A₁ 4000 and D₃ 360 IU per kg diet.

†† USPX salt mixture 100g, AlCl₃ 15, ZnSO₄ 300, CuCl₂ 10, MnSO₄ 80, KI 15 and CoCl₂ 100mg.

試験飼料のうち魚粉はn-ヘキサンで脱脂したホワイトフィッシュミール(粗蛋白69.2%, 粗脂肪2.0%)である。サンマ油は白土精製した過酸化価3以下のもので、飼料No. 3, 5には40°C~60°Cで8~24時間空気吹き込みを行ない、過酸化価が120~150になるように酸化させたものを使用した。トーマロコシ油は市販品である。

ビタミン混合物はマスについてのHALVERらの処方からビタミンEを除き、二、三の修正を加えたもので、ビタミンEとして、DL- α -tocopheryl acetateを使用した。飼料原料には多少ビタミンEが含まれており、各々100g中、飼料No. 1よりトーマロコシ油を除いたものに0.86mg、トーマロコシ油に22.9mg、酸化しないサンマ油には6.6mg、酸化させたサンマ油には2mgのビタミンEがそれぞれ測定された。無機塩混合はHALVERの処方通りである。(橋本ら²⁾より抄録)』

供与を受けたコイは、第1飼料区と第5飼料区のものでは、外観上全く異常は認められなかったが、第3飼料区のもの全部明瞭な背こけ症状が認められた。

40年度より41年度にかけては、東京大学農学部橋本教授より、基本飼料の供与を受け、当学部において始めよりコイを飼育して随時眼底検査を実施し、個々のコイについて眼底所見の変化を時間を追って追求すると共に、特色ある病変の発現した場合は取り上げて眼底の組織的検査の材料とした。また、酸化脂肪投与に基づく特徴的症狀を記録するのを目的としたので、飼料組成は次の通り極端に相異なる二飼料区にした。すなわち、対照飼料区は39年度の第1飼料と同様であるが、酸化脂肪添加群においては酸化脂肪添加量を2倍の20gとした。

今回の供試魚は、実験開始時に満2年で平均体重約62gであった。実験開始に先立ち眼底を検査し、異常のない事を確認した魚二尾ずつを一組にした60lの循環式水槽に飼育し、水温は常時23~25°Cに保ち、水質には常に注意して頻りに水を交換した。魚が常に飽食状態にあるように餌を与えた。実験魚の試験飼育期間は眼底所見の結果により様々であるが、最低10日から最高120日の範囲にわたった。

眼底検査には、魚をMS-222で軽く麻酔した後、前に村地³⁾が用いた検眼鏡を改良したFig. 1のような浸水式倒像検眼鏡を作製使用した。今回の場合も眼底検査による後遺症は全く認められなかった。眼底撮影に際しては前報³⁾同様水晶体を除去した。組織学的検査のためには重クロム-ホルマリン-醋酸で固定、パラフィン切片とし、MAYERのヘマトキシリン及びエオシンの二重染色を行なった。

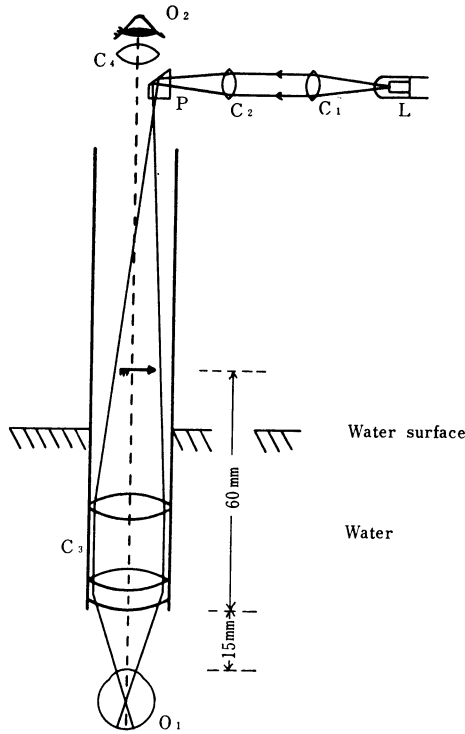


Fig. 1. Optical diagram of the indirect ophthalmoscopy for fish.

L: light source; C₁, C₂: condensers of the ophthalmoscope;
C₃: condenser lens; C₄: eyepiece lens; O₁: eye of fish; O₂:
eye of observer.

実験結果

眼底検査による病的所見

酸化脂肪投与によって網膜血管に見られる病変としては、まず血管壁が不透明となり、内部の血流が認めにくいような所見が得られる。それが進行するにつれて、血管壁の反射は増強し (Photo. 1), 更に管径不同が認められる場合が多い (Photo. 2, 3)。症状がもっと進むと、血管壁は逆に非常に脆弱な薄紙のように見え、内部の血流が異常に透視出来るようになる (Photo. 4)。このような状態の魚では水晶体の除去などの手術に際し、血管壁が破れて出血する 경우가非常に多い。

次に網膜実質には灰白斑の散在 (Photo. 2), かなりの面積の局所的灰白化, 瀰漫性灰白化 (Photo. 2, 3), 灰白化を伴う眼底隆起 (Photo. 3), あるいは灰白化を伴わない眼底隆起 (Photo. 4) などが認められる。これらの症状は単独で発現する事もあるし、いくつかの病変が共存する場合もある。一番最初に発現する症状がどれであるとは断言しにくい、進行するにつれて眼底隆起の面積は増大すると共に、その様式は極度に不規則かつ複雑になって行くことは確認された。

39年度の実験において、ビタミンEを添加したコイの眼底では、多かれ少なかれ、血管壁の反射増強が見られ、また眼底隆起の併発が認められたが、特に著しい所見としては例外なく血管が怒張し、程度の差こそあれ、すべてに管径不同と蛇行が認められた (Photo. 5)。

40・41年度試験魚においては、外観からはほとんど背こけ症状の認められないものでも、上述の最も

重症と考えられる眼底病変の発現することもしばしばであったことは注目に値する (Photo. 4).

組織学的所見

すでに述べた通り、眼底検査によって認められた病的所見がいかなる組織学的病変に基づいたものであるかを明らかにする目的で、最終的な眼底検査を行なった魚の眼底部分を、すべて組織標本として検査しその関連を検討した。

まづ網膜血管に関して述べることにする。対照飼料区の魚の眼底は全く健常で、網膜血管は (Photo. 6) に見られるようにヘマトキシリンによく染まる核の存在する血管壁を有している。一方眼底検査によって、血管壁の不透明化ならびに反射増強の度がはなはだしく認められるものほど、組織的には血管壁の硝子様化、ならびに肥厚あるいは内膜下への硝子様物質の沈着による血管内腔の径の狭細化が進行する。Photo. 7 にかなりの重症のものを示した。すなわち、血管壁はほとんど全域にわたり均一に硝子様化して、核は認められずエオシンにて赤く染まる物質が増加して血管内腔は極度に狭くなっている。さらに症状が進行し、上述した (Photo. 4) に示すごとく眼底検査において、血管壁が極度に薄く脆弱に見られたものの組織像は、(Photo. 8) に示したように、血管壁は一様に硝子様化し、変性壊死し、破綻性出血を起こす寸前の状態であった。

次に眼底検査によって網膜実質に認められた病変を整理すると、灰白化、眼底隆起及びその両症状の様々な組合せと言う事が出来る。これらの所見と組織学的病変との関連について述べることにする。対照飼料区の網膜の視神経乳頭附近の組織像は (Photo. 9) に示したごとくまったく健常であった。

眼底検査の結果、眼底隆起のみが認められた部分の組織像を (Photo. 10) に、灰白化を伴った眼底隆起の部分の組織像を (Photo. 11) に示した。この二例の他にも多数の組織標本を得たが、それらを検討した結果、眼底隆起は色素上皮細胞の増殖に基づくと考えられる色素上皮層の拡張によって、網膜固有層が硝子様腔に押し出されたものである事を確認した。この際に (Photo. 10) の如く、視細胞層に密着した部分に色素粒の存在する場合は、単に (Photo. 4) のように眼底隆起のみが認められるが、(Photo. 11) のように、視細胞層に近い部分に色素粒の存在しない際には、(Photo. 3) に見られるように眼底隆起と灰白との併発症状が発現する事も明らかになった。また、他の組織標本を検査した結果、眼底検査では隆起が見られないで、灰白化のみの所見を得たものでも根本的には (Photo. 11) と同様の組織的病変を生じているが、ただ拡張がほとんど認められないか、拡張していてもその程度の少ないものに過ぎないことが判明した。

39年度のビタミンE添加群には背こけ症状は見られないが、眼底には著しい特徴的所見の得られたことはすでに述べたところであるが、組織的にも血管ならびに網膜上に背こけコイと同様な病変が多かれ少なかれ認められた。しかしながら眼底所見から見られた血管径の拡張は、組織検査の方面からはその確証を得ることは出来なかった。

考察及び結語

以上に述べた酸化脂肪投与コイにおける網膜血管の検眼鏡と病理組織学所見を症状の経過を追って検討すると、医学において動脈硬化症といわれているものの、眼底網膜血管所見⁶⁾並びに細動脈の病理組織学的所見⁶⁾⁷⁾⁸⁾と全く同様であり、酸化脂肪の投与は動脈硬化症を惹起しやすいと結論出来よう。また、網膜血管系に循環障害がおこれば、網膜浮腫あるいは網膜層間に液の貯溜したために生ずる網膜剝離が併発する可能性があることは人間において認められている⁹⁾。

今回の材料においても、しばしば眼底隆起、あるいは灰白化が見られたが、これは色素上皮層の拡張に起因するものであり、上記の人間に見られたものとは異質ものであるように考えられる。

眼底の病的所見は、まず血管に見られるが、早いものでは酸化脂肪投与後20日前後で発現した。

前に述べたとおり、39年度に内海区水産研究所より供与された酸化脂肪投与群のコイは全部背こけ症状を呈していたが、その眼底に必ずしも重症病変を示していたわけではなく、中には中程度の病的所見の

認められたにすぎない個体もあった。一方、40年・41年度における実験においては、ほとんど背こけ症状の認められないものでも致命的と言ひ得る程度の動脈硬化症状のものもあった。この両材料の間には材料及び方法の項で述べてある通り、酸化脂肪の投与量にかなりの相異があり、40年・41年度の方が酸化脂肪投与量のはるかに多い。このように酸化脂肪の投与量の異なる場合は外見上からの「背こけ」の症状の軽重と、血管壁病変の軽重とは必ずしも一致しない。

本実験に関する限り、酸化脂肪投与群にビタミンEを与えることによって外見上の背こけ症状は予防されたが、網膜血管及び網膜実質上における酸化脂肪に基づく病変は多かれ少なかれ認められた。この事は投与酸化脂肪とビタミンE添加量との量的関係も考えられるので、ここにはその効果に関し軽々には結論しにくい。

最後に眼底検査は、酸化脂肪によって生ずるコイの生理・組織的病変をも早期に察知し得る診断技法である事を確認した。

引 用 文 献

- 1) 横手元義：コイの背こけ病研究の紹介，魚病研究，**1**，54-65 (1967)
- 2) 橋本芳郎・他：酸化脂肪によるコイのセコケ病の発生とビタミンEの予防効果，日水誌，**32**，64-69 (1966)
- 3) 村地四郎：薬物による金魚眼底病変の実験学的研究，広大水畜紀要，**4**，111-165 (1962)
- 4) 村地四郎：魚類栄養状態の診断法の検討，昭和39年度農林漁業試験研究報告，24-27 (1965)
- 5) 同上：同上，昭和40年度農林漁業試験研究報告，37-41 (1966)
- 6) 植村操・他：臨床眼底図譜，197-198，南山堂，東京 (1961)
- 7) 東大医学部病理学教室訳：図説組織病理学，41，医学書院，東京 (1966)
- 8) 赤松保之・他：病理組織学実習，64，南山堂，東京 (1963)
- 9) 桐沢長徳・他：新眼科学入門，162-176，南山堂，東京 (1960)

SUMMARY

1. It was confirmed by Y. Hashimoto et al.²⁾ that muscle dystrophy of the carp was caused by oxidized oil in the diet.

2. In the present research, ophthalmoscopic and histopathologic inspections were made of the eye fundus of the carp fed on the diet containing the oxidized oil.

3. Such symptoms of arteriosclerosis as hyaline degeneration, hypertrophy or necrose of the wall of vitreal vessels were observed.

4. Other symptoms observed were local or diffused decolorization and partial projection of retina. It was confirmed by histological examinations that the decolorizations of retina were caused by the disintegration of the pigment, distributed outer surface of the pigment epithelium, and that the projections of retina caused by the hypertrophy of the pigment epithelium.

EXPLANATION OF PLATE

Natural color photographs of eye fundus (Photo. 1-5) and the sections of retina (Photo. 6-11) of the carp.

Photo. 1-4. Abnormal eye fundus of the carp fed on diet containing oxidized oil.

Photo. 5. Abnormal eye fundus of the carp fed on diet containing both oxidized oil and DL- α -tocopheryl acetate.

Photo. 6. Section of normal vitreal vessels of of the carp.

Photo. 7, 8. Sections of degenerated vessels on eye fundus shown in Photo. 1 and Photo. 4, respectively.

Photo. 9. Section of normal retina of the carp.

Photo. 10, 11. Sections of projected retina corresponding to eye fundus shown in Photo. 4 and Photo. 3, respectively.

Note; Abnormalities are as follows;

- 1) Increase of reflectivity of walls of vitreal vessels (shown in Photo. 1, Photo. 2, Photo. 3, and Photo. 5),
- 2) Irregularity of caliber and tortuosity of vitreal vessels (shown in Photo. 2, Photo. 3, and Photo. 5).
- 3) Serious necrose of vitreal vessels (shown in Photo. 4),
- 4) Decolourization of retina (shown in Photo. 2, Photo. 3, and Photo. 5),
- 5) Projection of retina (shown in Photo. 3, Photo. 4, and Photo. 5).

