

皮膚背面に白濁症状を呈するマダイの好中球顆粒

近藤昌和[†], 渡邊里帆, 橋本啓人, 木村雄大, 安本信哉

Neutrophil Granules of Red Seabream *Pagrus major* with a Symptom of Cloudiness on the Dorsal Skin

Masakazu Kondo[†], Riho Watanabe, Keito Tachibanagi, Takehiro Kimura and Shinya Yasumoto

Abstract : Red seabream *Pagrus major* cultured in our laboratory showed a symptom of cloudiness on the dorsal skin around the base of dorsal fin in June 2020. In the whitish skin, epithelial cells were enlarged with no proliferation. Mucus cells were not observed in the epithelium. Numerous lymphocytes accumulated in the dermis under the epithelium. *Photobacterium damsela damsela* was isolated from the whitish skin surface, however, the symptom (whitish skin) was not reproduced by experimental infection (immersion method) of this bacterium. Here, we call this disease dorsal skin cloudiness (DSC). Two types of granules were observed in the neutrophils of red seabream infected with DSC. Both granule types had similar morphologies but different cytochemical characteristics to those of ordinary granules (oG1^N, oG2^N) isolated from non-infected fish. In this paper, we called the two granule-types from the fish with the symptom of DSC as extraordinary chromophobic granules (type 1, eoG1^{DSC}; type 2, eoG2^{DSC}). The eoG1^{DSC} showed chromophobic, simple morphology (without stratified structure), peroxidase positive and lack of lysozomal enzymes. The eoG2^{DSC} was stratified granule with three-layer structure [inner eosinophilic layer (L0-0), middle chromophobic layer (L0-1) and outer chromophobic layer (L1)]. Lysozomal enzymes (acid phosphatase, β -glucuronidase and esterases) and peroxidase (PO) were localized in L0-0 and L1, respectively. Both types of extraordinary granules were Sudan black B negative. Spot formation, a characteristic phenomenon seen in PO-stained oG2^N (positive L1 and negative L0), was not observed in eoG2^{DSC}.

Key words : granule, neutrophil, *Pagrus major*, red seabream, dorsal skin cloudiness

緒 言

マダイ *Pagrus major* の好中球には2種類の通常型顆粒 (ordinary granule, oG; 1型, oG1^N; 2型, oG2^N) が存在し^{1, 2)}, 感染症に罹患したマダイではそれら顆粒の細胞化学的特徴が変化することがある [この場合の顆粒を異常型顆粒 extraordinary granule (eoG) と呼ぶ]^{3, 4)}。また, 感染症の種類によっては未感染魚の好中球には観察されない誘導型顆粒 (inducible granule, iG) が出現する³⁻⁵⁾。2020年6月に, 水産大学の屋外水槽で飼育していたマダイに皮膚背面の白濁症状が観察され, 皮膚から病原細菌の一種である *Photobacterium damsela damsela* が分離された⁶⁾。本報告ではこの疾病を皮膚背面白濁症 (dorsal skin cloudiness,

DSC) と称し, 本症に罹患したマダイ (以後, DSC罹患魚と称す) の好中球について報告する。

材料および方法

2020年6月上旬に, 体重約 20 gマダイを飼育していた水産大学の大型屋外水槽 (水量約10 kL) 2基 [水槽① (997尾収容) と水槽② (999尾収容)] に, 背鰭基部の周囲の皮膚が白濁する個体が少数出現した。飼育水には濾過や殺菌を行っていない天然海水を掛け流し条件で用いており, DSC罹患魚の出現時の水温は21.0℃であった。水槽①では出現を確認した翌日 (1日後) と2日後にそれぞれ1尾, 3日後に2尾死亡し, 水槽②では2日後に1尾死亡した。

水槽①では出現3日後にはDSC罹患魚は約3割に達した。重篤な個体では筋肉層が露出していた。また、水槽②では4日後に約2割のマダイに症状が認められたが、重篤個体は認められなかった。出現3日後にDSC罹患魚19尾を水槽①から別の水槽に移動後、18尾を研究室に持ち込んで細菌および寄生虫検査を行った（19尾中1尾は取り損ねたため、後述の経過観察に使用した）。水槽①の残りのマダイ（974尾）を全て取り上げて、塩酸オキシテトラサイクリン（OTC; 水産用OTC散50%「KS」、共立製薬）による薬浴を行った（有効OTC濃度50 ppm, 1時間, 水温約22℃）。水槽②からDSC罹患魚出現4日後に、病理組織観察用として6尾、経過観察用として12尾を取り上げたのち、残りのマダイ（980尾）をOTCで薬浴した。薬浴後にそれぞれを元の水槽に戻し（戻す前に水槽の底を掃除した）、飼育を継続した。

魚病診断

白濁した皮膚の表皮をスライドグラスで掻き取り顕微鏡観察した。また、鰓の押しつぶし標本も観察した。表皮断面および腎臓から菌分離を行った。また、下記の採血に用いたDSC罹患魚3尾の表皮を体表粘液とともに白金耳で掻き取り、菌分離に供した。培地にはブレインハートインフュージョン寒天培地（栄研）および寒天を増量した海水サイトファーガ寒天培地⁵⁾を用いた（培養温度25.0℃）。皮膚断面からは少数の、掻き取った表皮は多数の均質なコロニーが両培地上に形成された。表皮から分離された細菌の性状試験および同定を行った。

DSC罹患魚の経過観察と採血

水槽①から取り上げた1個体と水槽②からの12尾を、屋外の1,000 L容円形ポリプロピレン製水槽（水量500 L）1基に収容し（22.3℃）、海水掛け流しで10日間経過観察した。飼育期間中は市販の配合飼料（マリン3号、林兼産業）を飽食量給餌した。収容5日後（22.1℃）に生残魚3尾を取り上げてキナルジンで麻酔し、尾柄部血管から採血した。血液塗抹標本の作製および各種細胞化学染色法は前報¹⁻⁵⁾と同様に行った。

再現試験

DSCが発生する前に屋外水槽から屋内水槽（濾過槽と紫外線殺菌灯を使用）に搬入し、25.0℃で育成していたマダイ5尾（平均体重40.0 g、試験前に症状は認められていな

い）を用いて、DSC罹患魚から分離した細菌による再現試験を浸漬感染法によって試みた。なお、供試魚は試験前に1週間22.0℃で馴致飼育した。感染後、7日間経過観察した（水温22.0℃）。飼育期間中は市販の配合飼料（マリン3号、林兼産業）を飽食量給餌した。

結 果

DSC罹患魚（Fig. 1）の経過観察のために水槽に収容した13尾は、採血のために3尾取り上げる前に3尾死亡し（収容3, 4および5日後にそれぞれ1尾; 死亡率23%）、取り上げ後に1尾死亡した（収容7日後; 水温22.5℃）。収容10日後（水温22.0℃）の生残魚（6尾）には症状は認められなかった。また、死亡個体には筋肉の露出が見られたが、潰瘍は形成されなかった。

DSC罹患魚の皮膚と鰓には寄生虫は観察されなかった。白濁した皮膚の表皮を掻き取り顕微鏡観察したところ、運動性を有する短桿菌が多数観察された。腎臓からは細菌は分離されず、表皮を体表粘液とともに塗布した培地上には円形乳白色の均一なコロニーが多数形成された。コロニーの大きさは25.0℃、24時間の培養で直径約1 mmであり、コロニーの周囲は円滑であった。またコロニーの表面に隆起は認められなかった。均一なコロニーが得られたことから、本菌が原因菌と考えられた。本菌は運動性のあるグラム陰性の短桿菌（長径0.6-1.1 μm, 短径0.6-0.8 μm）であり、カタラーゼとオキシダーゼは陰性であった。API 20E（バイオメリュー・ジャパン）による性状試験の結果から *Photobacterium damsela* であると推定された。さらに、



Fig. 1. Red seabream with a symptom of cloudiness (arrows) on the dorsal skin around the base of dorsal fin. Bar=5 cm

本菌をZappulliら (2005)⁷⁾ に準じてPCR-RFLP解析に供したところ、*Photobacterium damsela damsela*に同定された。

病理組織標本の予備的な観察の結果、皮膚の白濁部分では表皮の上皮細胞が巨大化し（表皮の増生はない）、表皮に粘液細胞が認められず、白濁部分直下の真皮には多数のリンパ球を主体とする白血球が集積していた。表皮の外表面には少数の細菌が認められた。

病魚から分離した*P. damsela damsela* (Pdd-I-2株)を用いて浸漬感染を行ったが（感染濃度 1.0×10^9 cfu/ml, 5尾/L, 水温22.0°C, 30分間）*, 7日間の観察期間中に症状は再現されず、死亡も認められなかった。

DSC罹患魚の血液中には好中球が多数観察された。好中球にはMay-Grünwald-Giemsa (MGG) 染色性および各種細胞化学染色性の異なる2種類の顆粒が観察された (Fig. 2; Table 1)。これらのうち1種類はMGG染色性が健常魚のoG1^Nに類似していたが、細胞化学染色性が健常魚とは異なる異常型顆粒であった (eoG1^{DSC})。また、健常魚のoG2^Nと同様にエオシン好性の芯様構造を有する顆粒が観察されたが (Fig. 1A)、本顆粒のエオシン陽性部位はoG2^Nのそれよりも小型であり、細胞化学染色性もoG2^Nとの間に違いが認められた (異常型顆粒, eoG2^{DSC})。eoG1^{DSC}は、oG1^N

と同様にMGG染色によって難染色性を示し、成層構造を示さなかった。また、ペルオキシダーゼ (PO) 陽性であり (Fig. 2E)、各種リゾソーム酵素は検出されなかった。しかし、oG1^Nとは異なり、SBB染色に対しては陰性であった。eoG2^{DSC}はエオシン好性の内層、難染色性の中層および難染色性の外層から構成されていた (Fig. 3)。oG2^Nはエオシン好性のL0とその周囲の難染色性層 (L1) から構成されているが、eoG2^{DSC}の内層はoG2^NのL0よりも小型であった。eoG2^{DSC}の内層にはoG2^NのL0と同様に各種リゾソーム酵素が検出され (Figs. 2B-2D)、β-グルクロニダーゼ (Glu) 陽性の内層の数は、oG2^NのGlu陽性L0よりも多かった。POがeoG2^{DSC}の外層に検出された (Fig. 2E)。しかし、oG2^NのPO染色標本で観察される‘斑’はeoG2^{DSC}には形成されなかった。これらのことから、eoG2^{DSC}の外層はoG2^NのL1に、eoG2^{DSC}の内層と中層を合わせた領域がoG2^NのL0に相当すると考えられる。以後、eoG2^{DSC}の内層をL0-0、中層をL0-1、外層をL1と呼ぶこととする。なお、oG2^NのL1が陽性を示すSBB染色には、eoG2^{DSC}は陰性であった。eoG1^{DSC}とeoG2^{DSC}には核染色に用いたヘマトキシリン染色 (Mayerの処方) による陽性反応像は観察されなかった。

水槽①からのマダイはOTCによる薬浴時に事故 (酸

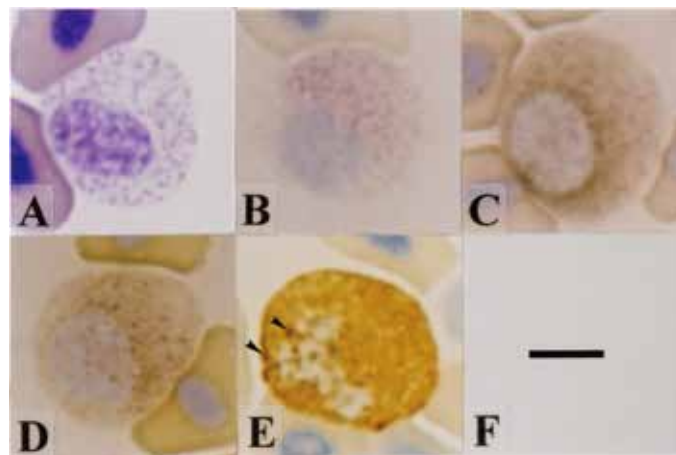


Fig. 2. Neutrophils from red seabream infected with dorsal skin cloudiness. A, May-Grünwald-Giemsa [Note eosinophilic particles (L0-0 of eoG2^{DSC})]; B, acid phosphatase; C, α-naphtyl acetate esterase; D, α-naphtyl butyrate esterase; E, peroxidase [poitive reaction was detected in eoG1^{DSC} (arrowheads) and L1 of eoG2^{DSC}]; F, scale bar (5 μm) which is adapted to all figures (A-E) in Fig. 1. Note small positive particles (L0-0 of eoG2^{DSC}) in B-D. Counter stain in B-E, hematoxylin (Mayer).

**Photobacterium damsela damsela*を寒天増量海水サイトファーガ寒天培地で25°C, 24時間培養し、滅菌海水に懸濁した場合、600 nmにおける吸光度 (光路長1 cm) が1の時、本菌の濃度は 1.9×10^9 cfu/mlであった。

Table 1. Summary of reactions of neutrophil from red seabream infected with dorsal skin cloudiness (DSC) to cytochemical tests

Test ^{*1}	Type of granules and reaction ^{*2}			Other positive site (shape, number and size) ^{*3}
	eoG1 ^{DSC}	eoG2 ^{DSC}		
		L0	L1	
MGG	C	E+C	C	
AIP	—	—	—	
AcP	—	+ ^{*4}	—	
Glu	—	+ ^{*4}	—	
NAE	—	+ ^{*4}	—	
NBE	—	+ ^{*4}	—	
CAE	—	+ ^{*4}	—	
Peroxidase	+	—	+	
		(SF: —)		
PAS	—	—	—	G (round or oval, a few) ^{*5} ; H
PAS- α A	—	—	—	
AB (pH1.0)	—	—	—	
AB (pH2.5)	—	—	—	
TB	—	—	—	G (amorphous, a few, eq Yb); N
SBB	—	—	—	
Oil red O	—	—	—	
Sudan III	—	—	—	

^{*1}AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; Glu, β -glucuronidase; NAE, α -naphthyl acetate esterase; NBE, α -naphthyl butyrate esterase; CAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PAS, periodic acid Schiff reaction; PAS- α A, PAS after digestion with α -amylase; AB, alcian blue; TB, toluidine blue in distilled water; SBB, Sudan black B.

^{*2}eoG1^{DSC}, extraordinary granule type 1 observed after infection with dorsal skin cloudiness (oaiDSC); eoG2^{DSC}, extraordinary granule type 2 oaiDSC [consist of eosinophilic inner layer (L0-0), chromophobic middle layer (L0-1) and chromophobic outer layer (L1)]; iG^{DSC}, inducible granule oaiDSC [consist of chromophobic inner layer (L0) and chromophobic outer layer (L1)]; +, positive; —, negative (non-detection); SF, spot formation.

^{*3}G, granular; H, hyaloplasm; N, nucleus; Yb, Yasumoto body; eq, equivalent to.

^{*4}Activity was limited in the small central area of L0 (L0-0).

^{*5}PAS-positive granule was accumulation of glycogen particles because the positive reaction of the granule disappeared after digestion with α -amylase.

欠)によって123尾が死亡した。薬浴後の両水槽における収容尾数は水槽①で851尾, 水槽②で980尾であった。水槽①では薬浴5日後(水温22.0℃)までに5尾死亡したが, その後の死亡はなく, 症状も認められなくなった。一方, 水槽②では薬浴後に死亡はなく, 症状も徐々に消失した。両水槽のマダイには症状の再発はなく, 現在(10月30日), 体重200 g以上になっている。

考 察

これまでにマダイの皮膚が白濁する疾病として体表白濁症 (body surface cloudiness, BSC) が報告されている⁸⁾。

BSCを発症したマダイでは, 上皮細胞 (= 有棘細胞⁸⁾) の著しい増殖と本細胞内外の浮腫による表皮層の肥厚および表皮層部に存在する多数の粘液細胞からの過剰な粘液によって体表が白濁すると考えられている⁸⁾。また, BSCの白濁は体表全体に生じる。一方, DSC罹患魚では上皮細胞の増生はなく, 上皮細胞の巨大化が観察された。また, 白濁した表皮には粘液細胞は認められず, 皮膚の白濁は背鰭基部周辺に限定されていた。これらのことから, DSCはBSCとは異なる疾病と言える。DSC罹患魚の表皮から海産魚の皮膚潰瘍病の原因細菌である*P. damsela damsela*が分離されたが⁶⁾, DSCの自然発症魚病にも*P. damsela damsela*を浸漬したマダイにも皮膚に潰瘍は形成されな

かったことから、DSCは皮膚潰瘍病とも異なる。

DSC罹患魚における皮膚の白濁は巨大化した上皮細胞によると考えられるが、*P. damselae damselae*に浸漬したマダイに皮膚の白濁は再現されなかった。しかし、OTCによる薬浴に効果が認められた。また、病理切片には表皮の外表面に細菌は少数しか認められなかったが、掻き取った表皮からは多数の*P. damselae damselae*が分離された(*P. damselae damselae*は表皮の最外層の外表面に付着するが、組織の固定中に容易に脱落すると考えられる)。これらの結果から、*P. damselae damselae*はDSCの原因菌ではあるが、DSC罹患魚では*P. damselae damselae*が皮膚表面に付着しやすい状態になっており、本菌による何らかの刺激によってDSCを発症すると考えられた。DSC罹患魚の表皮に粘液細胞が観察されなかったことから、皮膚が白濁する前に、粘液細胞が消失して粘液量が減少し、*P. damselae damselae*が皮膚表面に付着したと推察される。

DSCにおける粘液細胞消失の原因は不明であるが、BSCの発生原因が環境水中の何らかの刺激物質と推察されていることから⁸⁾、DSCの粘液細胞消失の原因も環境水にあると思われる。本研究では以下の3点についても明らかにできなかった：①DSC罹患魚の真皮におけるリンパ球を主とした白血球の集積が、*P. damselae damselae*の表皮外表面への付着によって起こるのか？②DSC罹患魚では最終的に皮膚が消失して皮下の筋肉層が露出するが、これに真皮中の白血球が関与しているのか？③DSC罹患魚の皮膚の白濁部位が背鰭基部の周囲に限定される理由は何か？これらの疑問点については今後の課題としたい。

本研究の結果、DSC罹患魚の好中球には2種類の異常型顆粒(eoG1^{DSC}, eoG2^{DSC})が存在することが明らかとなっ

た。BSCに罹患したマダイの好中球にも2種類の異常型顆粒(eoG1^{BSC}, eoG2^{BSC})が観察されており³⁾、eoG1^{DSC}とeoG1^{BSC}の特徴は同じであるが(Table 2)、eoG2^{DSC}のL0がエオシン好性のL0-0と難染色性のL0-1から構成されているのに対して、eoG2^{BSC}はL0全体がエオシン好性である。また、各種リゾソーム酵素の局在部位がeoG2^{DSC}ではL0-0であるが、eoG2^{BSC}ではそれらの酵素はL0に検出される(Table 2)。さらに、BSC罹患魚の好中球では細胞質基質がアルカリ性フォスファターゼ(AIP)陽性であるのに対して³⁾、DSC罹患魚ではAIP陰性であった。DSC罹患魚の好中球顆粒の特徴は滑走細菌*Tenacibaculum maritimum*に感染したマダイの好中球顆粒に類似していた(Fig. 3)⁵⁾。滑走細菌感染魚の好中球にも2種類の異常型顆粒(eoG1Tm, eoG2Tm)が観察され、eoG1TmとeoG1^{DSC}は同じ特徴を示し、eoG2TmとeoG2^{DSC}も α -ナフチルブチレートエステラーゼ活性の局在性を除いて類似していた(eoG2^{DSC}ではL0-0, eoG2TmではL0; Table 2)。滑走細菌感染魚の好中球にもAIPは認められていない⁵⁾。滑走細菌は皮膚を含む体表に感染することから、表皮の傷害によって好中球のeoG2にエオシン好性のL0-0と難染色性のL0-1が出現すると考えられる。しかし、滑走細菌感染魚の好中球に観察される誘導型顆粒(iGTm)は、DSC罹患魚には認められなかった(Table 2)。DSC罹患魚とは異なり、滑走細菌感染魚の皮膚には発赤などの症状が観察される^{9,10)}。皮膚における傷害の違いが誘導型顆粒の出現の有無と関連していると考えられる。

DSC罹患魚の病理組織観察結果および罹患魚から分離された細菌のPCR-RFLP解析結果については別稿にて詳細に報告する予定である。

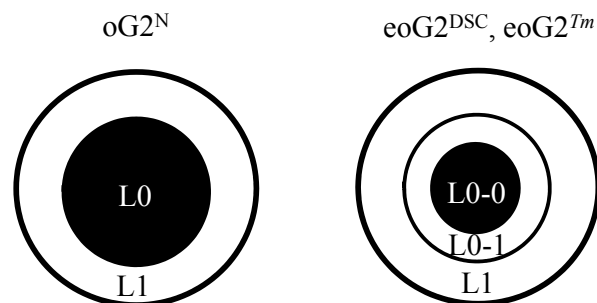


Fig. 3. Comparison of structure of type 2 neutrophil granules (G2) from red seabream. oG2^N, ordinary G2 from non-infected fish; eoG2, extraordinary G2 (eoG2^{DSC} and eoG2Tm, eoG2 in the neutrophils from the fish infected with dorsal surface cloudiness and gliding bacterium *Tenacibaculum maritimum*, respectively). □, chromophobic; ■, eosinophilic.

Table 2. Comparison of neutrophil granules from red seabream infected with dorsal skin cloudiness (DSC), body surface cloudiness (BSC) and *Tenacibaculum maritimum*

Staining ^{1,2}	Origin of neutrophils, type of granules and reaction ³																	
	Non-infected fish ⁴				DSC ^{6b}				Fish infected with:									
	oG1 ^N		oG2 ^N		eoG1 ^{DSC}		eoG2 ^{DSC}		BSC ^{6c}		eoG2 ^{BSC}		eoG1 ^{Im}		eoG2 ^{Im}		iG ^{Im}	
	L0	L1	L0	L1	L0	L1	L0	L1	L0	L1	L0	L1	L0	L1	L0	L1	L0	L1
MGG	C	E	C	C	E+C	C	C	E	C	C	C	C	E+C	C	C	C	C	C
AIP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AcP	-	+	-	-	+ ⁵	-	-	+	-	-	-	-	+ ⁵	-	-	-	-	-
Glu	-	+ ⁴	-	-	+ ⁵	-	-	+ [†]	-	-	-	-	+ ^{†5}	-	-	-	-	-
NAE	-	+	-	-	+ ⁵	-	-	+	-	-	-	-	+ ⁵	-	-	-	-	-
NBE	-	+	-	-	+ ⁵	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
CAE	-	+	-	-	+ ⁵	-	-	+	-	-	-	-	+ ⁵	-	-	-	-	-
PO	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
		(SF: +)			(SF: -)			(SF: -)		(SF: -)			(SF: -)		(SF: -)			
SBB	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		(SF: -)																

¹MGG, May-Grünwald/Giemsa; AIP, alkaline phosphatase; AcP, acid phosphatase; Glu, β -glucuronidase; NAE, α -naphthyl acetate esterase; NBE, α -naphthyl butyrate esterase; CAE, naphthol AS-D chloroacetate esterase; PO, peroxidase; SBB, Sudan black B.

²All types of granules showed negative reaction to other tests (periodic acid Schiff reaction, alcian blue (pH1.0, pH2.5), toluidine blue in distilled, oil red O, Sudan III).
³oG1^N, ordinary granule type 1; oG2^N, ordinary granule type 2; eoG1^{DSC}, extraordinary granule type 1 observed after infection with dorsal skin cloudiness (aiDSC); oG2^{Im}, ordinary granule type 2 observed aiDSC; eoG1^{BSC}, extraordinary granule type 1 observed after infection with body surface cloudiness (aiBSC); eoG2^{BSC}, extraordinary granule type 2 observed aiBSC; eoG1^{Im}, extraordinary granule type 1 observed after infection with *Tenacibaculum maritimum* (aiIm); eoG2^{Im}, extraordinary granule type 2 observed aiIm; iG^{Im}, inducible granule induced at Im; L0, layer zero; L1, layer 1; C, chromophobic; E, eosinophilic; +, positive; -, negative (non-detection); [†], increase of positive site; SF, spot formation.

⁴A few of L0 were positive.

⁵Activity was limited in the small central area of L0 (L0-0).

⁶Kondo et al. (2017)², ^{6b}present report, ^{6c}Kondo et al. (2018)⁵, ^{6d}Kondo et al. (2021)⁴.

謝 辞

菌種の同定に協力していただいた水産大学校食品科学科准教授 古下 学博士に感謝いたします。

文 献

- 1) Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Two types of granules in neutrophils from red sea-bream *Pagrus major*. *J Nat Fish Univ*, **64**, 269-271 (2016)
- 2) Kondo M, Yasumoto S, Takahashi Y: Cytochemical characteristics of neutrophil granules from red seabream *Pagrus major*. *J Nat Fish Univ*, **65**, 141-145 (2017)
- 3) 近藤昌和, 前川幸平, 安本信哉, 高橋幸則: 体表白濁症に罹患したマダイの好中球顆粒. 水大校研報, **66**, 189-193 (2018) [Kondo M, Maekawa K, Yasumoto S, Takahashi Y: Neutrophil granules of red seabream *Pagrus major* infected with body surface cloudiness. *J Nat Fish Univ*, **66**, 189-193 (2018) (in Japanese with English abstract)]
- 4) 近藤昌和, 安本信哉: タイノエに寄生されたマダイにおける新たな好中球型: 第4種および第5種好中球. 水大校研報, **68**, 71-77 (2020) [Kondo M, Yasumoto S: New neutrophil types in red seabream *Pagrus major* infested with *Ceratomyxa verrucosa*: Fourth and fifth neutrophil types. *J Nat Fish Univ*, **68**, 71-77 (2020) (in Japanese with English abstract)]
- 5) 近藤昌和, 渡邊里帆, 橋本啓人, 木村雄大, 安本信哉: 滑走細菌 *Tenacibaculum maritimum* に感染させたマダイの好中球顆粒. 水大校研報, **69**, 印刷中 [Kondo M, Watanabe R, Tachibanagi K, Kimura T, Yasumoto S: Neutrophil granules of red seabream *Pagrus major* infected with gliding bacterium *Tenacibaculum maritimum*. *J Nat Fish Univ*, **69**, in press (in Japanese with English abstract)]
- 6) 室賀清邦: 魚類病原細菌. 小川和夫, 室賀清邦 (編), 改訂・魚病学概論. 恒星社厚生閣, 東京, 56-59 (2008) [Muroga K: Gyoryubyougensaikin (Fish pathogenic bacteria). In: Ogawa K, Muroga K (ed) Kaitei Gyobyougakugairon (Introduction to Fish Diseases, revised edition). Koseishakoseikaku, Tokyo, 56-59 (2008) (in Japanese)]
- 7) Zappulli V, Patarnello T, Patarnello P, Frassinetti F, Franch R, Manfrin A, Castagnaro M, Bargelloni L: Direct identification of *Photobacterium damsela* subspecies *piscicida* by PCR-RFLP analysis. *Dis Aquat Org*, **65**, 53-61 (2005)
- 8) 藤巻由紀夫, 富澤 泰, 畑井喜司雄, 窪田三朗: 体表の白濁症状を呈するマダイの病理組織学的検索. 魚病研究, **23**, 111-115 (1988) [Fujimaki Y, Tomizawa Y, Hatai K, Kubota SS: A histopathological examination of red sea bream with a symptom of cloudiness on the body surface. *Fish Pathol*, **23**, 111-115 (1988) (in Japanese with English abstract)]
- 9) 高橋幸則: 海産魚の細菌感染症と診断法. 青木 宙 (編), 魚介類の微生物感染症の治療と予防. 恒星社厚生閣, 東京, 29-61 (2013) [Takahashi Y: Kaisangyo no saikinkansenshou no chiryou to yobou (Diagnosis and bacterial infection in marine fish). In: Aoki T (ed) Diagnosis, Treatment and Prevention of Pathogenic Microorganisms of Fish and Shellfish. Koseishakoseikaku, Tokyo, 1-29 (1974) (in Japanese)]
- 10) 若林久嗣: タイ類, ブリ, ヒラメの滑走細菌症. 江草周三 (編), 改訂増補 魚病学 [感染症・寄生虫病篇]. 恒星社厚生閣, 東京, 129-131 (1988) [Wakabayashi H: Tairui, buri, hirame no kassousaikinshou (Gliding bacterial disease in seabream, yellowtail and Japanese flounder). In: Egusa S (ed) Kaiteizouhou Gyobyougaku [kansenshou · kiseichuubyou hen] (Fish Disease (Infection and Parasitic disease), revised and expanded edition). Koseishakoseikaku, Tokyo, 129-131 (1988) (in Japanese)]

