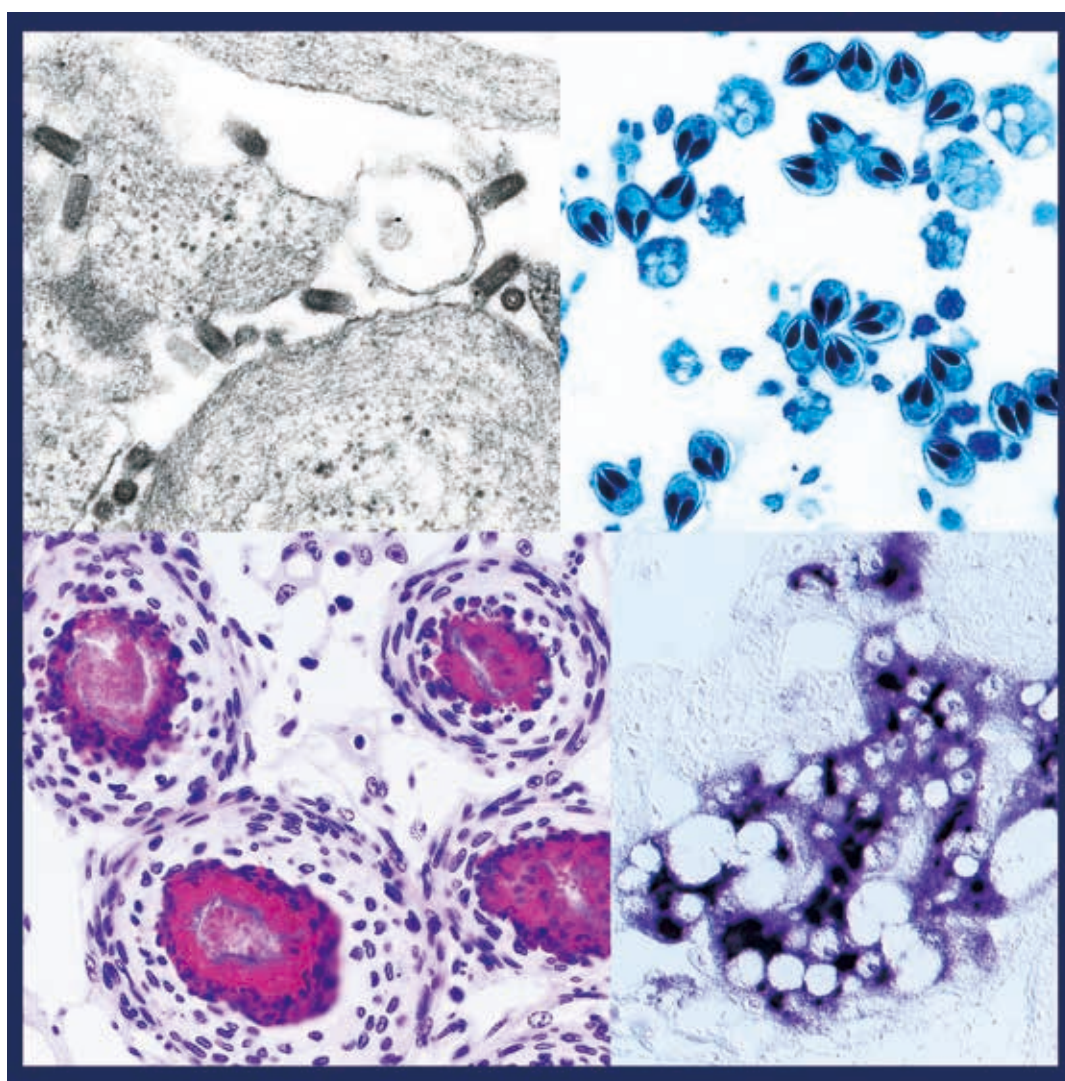


増養殖研究レター

第7号 (2018年2月) 魚病特集号



編集 増養殖研究所



国立研究開発法人
水産研究・教育機構

魚病研究の最前線

(所長：乙竹 充)

増養殖研究レターを手にとりて頂きまして、ありがとうございます。当所では、「安全で高品質な魚介類の安定供給」と「水産養殖業の振興」のため、次の業務に取り組んでいます。

1. 養殖用魚介類や放流用魚介類の病気の防除のための研究開発
2. 養殖業で問題となっている原因不明の病気や特定疾病等の重要な病気の診断、優れた診断方法の開発と普及
3. 水産生物の育種のための研究開発、系統の作出及び育種の実用化に必要な基盤技術の開発や調査
4. 水産生物の栄養代謝機構の解明、飼餌料の開発、飼料及び飼料添加物の効用と安全性に関する研究開発
5. 増養殖環境を把握・評価する技術の研究開発、複合養殖などにより環境収容力を有効活用する技術の研究開発
6. ニホンウナギの親魚養成手法や仔魚用飼料、仔魚飼育手法の開発、有用家系の作出など、シラスウナギの大量生産技術を確立するための研究開発

本号では、このうちの1と2の最新のトピックスをご紹介します。

目次

魚病研究センター

魚病研究センターでの取り組みについて	3
ブリ類のべこ病薬剤治療法の開発	3
国内に分布するカキヘルペスウイルスの病原性	4
未解決疾病に対するワクチン開発	4
網羅的遺伝子解析による病原体の特定	5
細菌性溶血性黄疸原因菌の性状解明	5
赤血球封入体症候群 (EIBS) の感染履歴を把握する診断法の開発	6
特定疾病レッドマウス病に関する対策研究	6

魚病診断・研修センター

魚病診断・研修センターでの取り組みについて	7
不明病診断	7
OIE (国際獣疫事務局) リファレンスラボラトリー活動	8
アクアレオウイルスの診断法の開発と疫学調査	8

表紙写真説明

左上：魚の病原ラブドウイルスの電子顕微鏡写真（砲弾状に見えるもの）。右上：魚に寄生する *Myxobolus* 属の粘液胞子虫の胞子（色素に濃染する2つの極嚢と呼ばれる構造を持つ）。
 左下：ビブリオ属の細菌に感染したエビの中腸線の病理組織。同心円状に集まった細胞の中心部に細菌の集塊がある。右下：カレイ肝組織でのアクアレオウイルス遺伝子の検出（紫色の部分）。

魚病研究センターでの取り組みについて

(魚病研究センター長：森 広一郎)

近年の魚病被害額は90億円と推定されています。90年代には、200億円を超える魚病被害が発生していましたが、連鎖球菌症、マダイイリドウイルス病などのワクチンが市販され、ワクチンの普及に伴い猛威を振るっていた疾病の発生も激減し、全体の魚病被害額も大きく減少しました。その一方で、有効なワクチンが開発されていないなどの理由により、解決が困難な未解決疾病の被害は継続しており、ブリ類ではノカルジア症やミコバクテリア症、マダイやヒラメでは、エドワジエラ症、アユでは冷水病などの疾病が発生し、依然として大きな問題となっています。これら未解決疾病に加え、これまでに流行していなかった新たな疾病の被害もしばしば発生しており、最近では海外伝染病であり我が国の防疫対象疾病であるレッドマウス病が国内で

初めて発生して大きな問題となりました。魚病研究センターでは、感染制御グループ、免疫グループ及び病原体グループの3つのグループを設け、南勢庁舎の他、玉城庁舎の海外伝染病研究棟や上浦庁舎の隔離飼育実験棟などの施設を利用し、病原体の性状や感染経路の解明、ワクチンの開発等、未解決疾病や新興感染症の対策研究に取り組んでいます。



玉城庁舎の海外伝染病研究棟（写真左）及び上浦庁舎の隔離飼育実験棟（写真右）。海外伝染病研究棟は、国内未侵入の疾病の研究、隔離飼育実験棟は、大小の隔離水槽で感染試験等を実施。

ブリ類のべこ病薬剤治療法の開発

(魚病研究センター 感染制御グループ：佐藤 純)

ブリ類の養殖過程で稚魚に発生するべこ病は、微胞子虫の感染によって起こる疾病で西日本の各地で問題となっています。この病気の特徴は、筋肉に微胞子虫の胞子が詰まったシストと呼ばれる乳白色の塊が形成され、その周辺の筋肉が融解したり、シストが膨らんだりして体表が凸凹になり、症状がひどい場合は患部がはじけて、細菌性感染などの二次的な感染を誘発して死亡することもあります。患部は自然治癒しますが、出荷時までシストやその痕跡が筋肉中に残るため、クレームの対象になることもあり、経済的な損出が大きい疾病のひとつとして対策が望まれていました。増養殖研究所では、近畿大学水産研究所、愛媛県農林水産研究所水産研究センター、鹿児島県水産技術開発センターと共同で農林水産省の水産防疫対策委託事業により

本病の治療法の開発に取り組みました。その結果、本原因虫の体側筋肉中でのシスト形成などの症状の抑制にベンズイミダゾール系の薬剤（ふぐ目で承認されているフェバンテルなど）の経口投与が有効であることが分かりました。今後、当該薬剤による治療法が実用化されれば、ブリ類養殖における経済的被害の軽減に大きく貢献することが期待されます。



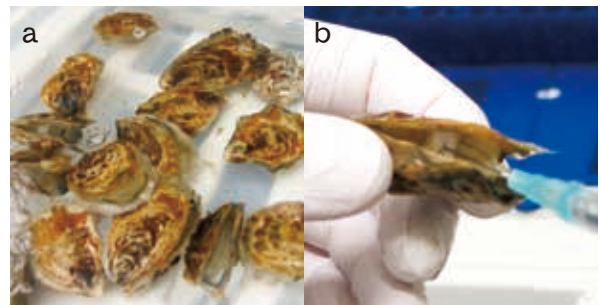
筋肉中のシスト。胞子が入った乳白色のシストが多数認められる。

国内に分布するカキヘルペスウイルスの病原性

(魚病研究センター 感染制御グループ：嶋原 佳子)

カキのヘルペスウイルス 1 型 (Ostreid herpesvirus-1; OsHV-1) は、マガキなど二枚貝の幼生や稚貝に感染するウイルスです。OsHV-1 は世界各地に分布しており、国や地域により遺伝子にわずかな違いがあります。日本にも、欧米や他のアジア諸国とは異なる、日本独自の変異型が存在することが指摘されていましたが、カキ養殖業への影響は不明のままでした。増養殖研究所は OsHV-1 研究で世界をリードするフランス国立海洋開発研究所 (Ifremer) と共同で感染試験により国内ウイルスの病原性を明らかにするとともに、養殖現場における死亡との関連を詳しく調査しました。その結果、国内のウイルスは在来カキ類に対して海外の強毒株と同等の毒性を示すこと、養殖場での稚貝の死亡に関与することが明らかになりました。しかし、

養殖場での死亡は数週間で終息し、欧米のように大規模な大量死には発展せず、ウイルスを保有するものの死亡に繋がらない例が各地で確認されました。一連の研究と調査から、本ウイルスは養殖場での死亡原因の一つですが、日本の養殖環境では数ヶ月間にわたり死亡が継続する例はまれで、養殖業に対する影響は限定的であると考えられました。



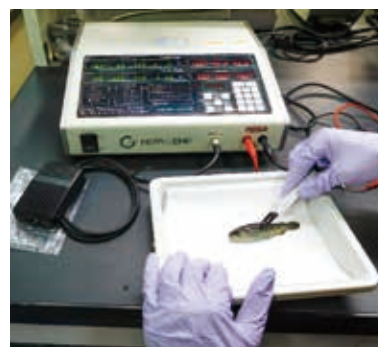
マガキを用いた感染試験の様子。供試ガキを麻酔により開殻させ (a)、閉殻筋にウイルス液を注射する (b)。

未解決疾病に対するワクチン開発

(魚病研究センター 免疫グループ長：栗田 潤)

我が国の水産用ワクチン承認においては、「当分の間は不活化ワクチン以外の承認申請の受付を見合わせる」とする国の方針があることから、不活化ワクチンのカテゴリに入らないワクチンについては製薬会社もその開発には極めて消極的です。一方で、世界的な薬剤耐性菌の出現を抑えるアクションプランの実行が早急に求められている状況に我が国も直面しており、そのためには抗生物質投与からワクチン接種へと疾病対策をいっそうシフトさせていく必要があるものの、細胞内寄生細菌等、従来の不活化ワクチンでは効果が全く期待できない未解決の疾病も多く取り残されている状況があります。そこで、今まで認められていなかった DNA ワクチンをはじめとする、不活化ワクチンとは異なるタイプのワクチンの活用を検討していくべきだとの

動きがここに来てにわかに浮上してきました。このような背景を受け、魚病研究センターでは平成 29 年度の水産防疫対策委託事業の水産動物疾病の診断・予防・まん延防止に関わる技術開発等の課題において、DNA ワクチンの安全性に関する情報収集を中心に、今後数年かけて DNA ワクチン等の不活化ワクチンには当てはまらないタイプのワクチンの基礎研究を行っていく予定です。



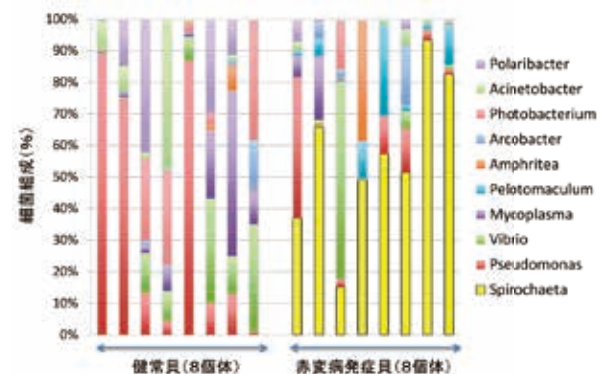
魚体へのエレクトロポレーションによる DNA ワクチン接種の条件検討。接種した発現ベクターの高効率での細胞内導入が期待される。

網羅的遺伝子解析による病原体の特定

(魚病研究センター 免疫グループ：松山 知正)

原因不明病の病原体の特定では、原因となる病原体を分離培養することが基本です。しかし、病原体によっては分離培養ができない事があります。また、二枚貝などでは、体内に様々な微生物が存在し、その中から病原体を特定するのが大変難しい例もあります。以前は、培養が困難な病原体や、貝類の病原体を特定するのは非常に困難でした。近年では遺伝子配列を解読する技術が飛躍的に向上し、一度の解析で莫大な量の遺伝子配列を読み取ることが可能になりました。この新しい技術を利用することで、特定困難な病原体を推定できるようになりました。すなわち、検体に含まれる遺伝子配列を網羅的に解読し、その中から病原体を由来とする遺伝子配列を探し当てるという方法です。私たちは、アコヤガイの赤変病について網羅的遺

伝子解析による病原体の特定を試み、スピロヘータという細菌を病原体として推定しています。最終的に病原体を特定するためには、更に確実な証拠を集めなくてはなりません。現在、これら疾病の病原体の特定に向けて研究を続けています。



アコヤガイ健康貝と赤変病発症貝における細菌組成。検出率の高い順に上位10属を表示。スピロヘータ（黄色）は病貝に特異的かつ普遍的に存在した。

細菌性溶血性黄疸原因菌の性状解明

(魚病研究センター 免疫グループ：高野 倫一)

ブリの細菌性溶血性黄疸は1980年代前半から養殖ブリで問題になってきました。当初は原因不明の病気とされていましたが、90年代はじめに当機構（旧水産庁養殖研究所）において原因細菌の分離培養法が確立されました。しかし、培養に時間がかかることや、培養できても得られる菌の量が少ないことから、なかなか研究が進みませんでした。

増養殖研究所は、東京海洋大学と大分県と協力し、ブリ細菌性溶血性黄疸原因細菌の脂肪酸組成、極性脂質組成、薬剤感受性や遺伝子配列情報など基本的な性質について調べ、この細菌の分類を行いました。すると、ブリ黄疸症原因菌は“科”レベルで分類学的に新しい細菌であることがわかりました。この細菌の属名には魚類から分離された細長い細菌を意味する *Ichthyobacterium* (「魚 =

ichthys」+「細菌、細い棒 = bacterium」) が、種名にはブリの病原体で死に至らしめる意味の *seriolicida* (「ブリの属名 = *Seriola*」+「ラテン語で殺す = caedo」) が付され、学名が *Ichthyobacterium seriolicida* に決定されました。

現在でも養殖ブリにおいて細菌性溶血性黄疸は大きな被害を出しており防除方法の開発が求められています。増養殖研究所ではこれまでの研究成果をもとに、この病気を予防するためのワクチン開発に取り組んでいます。



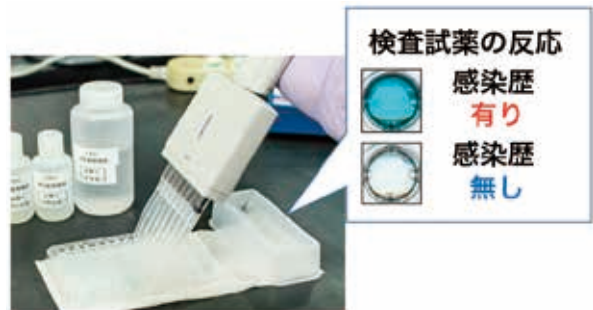
培養したイクチオバクテリウム・セリオリシダの電子顕微鏡写真。細長い構造の一つ一つが *Ichthyobacterium seriolicida* の菌体。一つの菌体の長さはおおよそ5マイクロメートル (1mmの200分の1)。

赤血球封入体症候群 (EIBS) の感染履歴を把握する診断法の開発

(魚病研究センター 病原体グループ：坂井 貴光)

EIBS は、赤血球封入体症候群 (Erythrocytic Inclusion Body Syndrome) と呼ばれるウイルス病であり、重要な養殖対象魚種の一つであるギンザケに大量死亡を引き起こすことがある病気です。この原因ウイルスは、分離培養できないため、これまで疾病対策を行う上で基礎となるウイルスの性状解析が進んでいませんでした。そこで、ゲノム解読に取り組み、原因ウイルスの全ての遺伝子の情報を明らかにしました。この遺伝子情報を基にした新たな診断法の開発を進め、少量の血液サンプルを検体とする遺伝子診断法と感染履歴検査法を確立しました。遺伝子診断法では、原因ウイルスの微量な感染でも迅速に診断できるようになりました。感染履歴検査法では、感染から回復した魚体内で作られる抗体を検出できるようになり、海面養殖に導入するギンザケ種苗の感染履歴を把握することが可能

になりました。感染耐過魚は、EIBS への免疫を持っており、その後の発症リスクが低く、感染歴が無かった場合は、あらかじめ発症時の給餌制限等の飼育管理計画を立てることで EIBS 被害を軽減させることができます。これらの診断法については、ギンザケ養殖の計画的な生産に寄与できるよう、現在普及に向けた取り組みを行っています。



特定疾病レッドマウス病に関する対策研究

(魚病研究センター 病原体グループ：山崎 雅俊)

レッドマウス病は、*Yersinia ruckeri* を原因菌とする魚類細菌感染症の一つです。国外では、ニジマスをはじめ主にサケ科魚類の養殖場で発生し大きな被害が報告されており、我が国では、水産資源保護法及び持続的養殖生産確保法で防疫対象疾病に指定されています。国内では、2015年2月にシロザケ孵化場で本疾病の発生が初めて確認されました。我々、魚病研究センターでは国内におけるレッドマウス病の感染拡大を防ぐために様々な研究を行っています。まず、被害を拡大させないために施設や使用器具類、さらに垂直感染を防ぐ上で重要な卵の消毒法の開発を行いました。また、国内で分離された *Y. ruckeri* の性状を血清学的・遺伝学的・生化学的手法を用いて調べるとともに、内水面の

養殖対象魚に対する病原性を調べ、国内で蔓延した際のリスク評価に必要な知見を収集しています。加えて各県の協力のもと天然魚を対象としてレッドマウス病の浸潤調査を実施しています。これまでのところ、レッドマウス病の再発は見られませんが、引き続き知見の収集やそれを基にした対策研究を行い、レッドマウス病の蔓延防止に努めていきたいと考えています。



サケ科魚類の卵の保菌検査。卵の一つずつ針で穴を開けて検査をします。

魚病診断・研修センターでの取り組みについて

(魚病診断・研修センター長：三輪 理)

魚病診断・研修センターはセンター長を含め6名の研究員が水産動物の疾病診断技術に関する研究開発及び診断技術の普及に関する業務を行っています。業務の多くはいわゆるレギュラトリーサイエンスであり、防疫施策の基礎となる科学的データを行政に提供することを目的に行っています。本センターは法律に基づいてリスク管理を行っている24の水産動物の特定疾病およびOIE（国際獣疫事務局）のリスト疾病の確定診断を行うこととされており、コイヘルペスウイルス(KHV)とマダイイリドウイルス(RSIV)に関してOIEから認定されたリファレンスラボラトリーでもあります。都道府県に対しては魚病診断用の陽性対照の配布や、依頼に基づく不明病の診断を行っており、新たな診断技術についてホームページで公開したり、講習会を

開催したりしています。研究面ではOIEリスト疾病のカキヘルペスウイルスのリスク評価や、種苗生産施設で問題になっているアクアレオウイルスの動態解明、RSIV検出用の新たな培養細胞の確立、食中毒の原因となるクダア遺伝子の検出法の開発、エビ類のサイトカインの研究などを行っています。

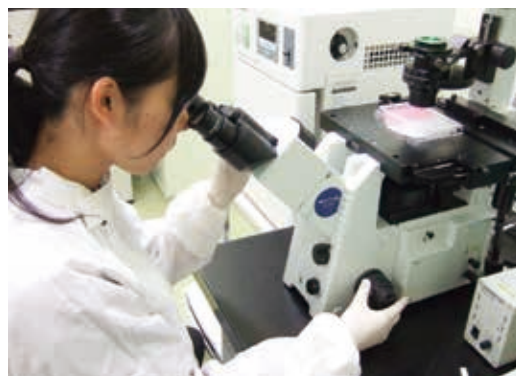


不明病診断

(魚病診断・研修センター長：三輪 理)

病気の診断というと、一般には検査結果や症状から既知の当てはまる病気を見つける作業を指しますが、水産動物ではしばしば未知の疾病が発生します。魚病診断・研修センターでは、検査機関からの依頼に基づき、このような「不明病」の診断を行っています。この場合、診断というより研究の要素が大きくなるため通常の検査より時間がかかります。さらに、わが国で養殖される水産動物は極めて多岐にわたるため、検査依頼がなされる動物種もバラエティに富んでおり、魚類以外にも軟体動物、甲殻類、ホヤ、ウニなど様々な動物の病気の検査を行ってきました。当センターでは、病理組織検査、細菌検査、ウイルス分離、遺伝子検査など、それぞれの専門家が多角的に検査して病気の原因を追究し、結果を依頼元に報告しています。結果としてし

ばしば不明のまま終わることもあります。例えばマダイイリドウイルス病、クルマエビの急性ウイルス血症(PAV)、アユのエドワジエラ・イクタルリ感染症なども不明病の依頼検査で見つかった病気です。なお不明病の検査依頼は、原則として都道府県などの公的機関からのみ受け付けています。



OIE(国際獣疫事務局)リファレンスラボラトリー活動

(魚病診断・研修センター 魚病診断グループ長：湯浅 啓)

OIE(国際獣疫事務局)は動物の防疫問題を扱う国際機関でわが国を含め世界180か国が参加しています。OIEでは国際的に特に問題となる疾病について専門家として診断や研修、アドバイスを رفتり陽性対照を配布したりする「リファレンスラボラトリー(リファラボ)」を指定しており、増養殖研究所はマダイイリドウイルス(RSIV)病およびコイヘルペスウイルス(KHV)病のリファラボに指定されています。RSIV病のリファラボは世界でも当所のみであり、各国から診断法に対する問い合わせや陽性対照の配布依頼があります。一方、KHV病のリファラボはイギリスと当所の2か所にあり、当所では2015～2017年にはインドネシアとOIEの予算による研修プロジェクトを実施してき

ました。また、当所では農水省からの依頼を受け、毎年パリで開催されるOIE総会に人員を派遣するとともに、OIEからの依頼により、専門家5人からなるウイルス病に関する臨時委員会に参画しています。リファラボでは精度管理のためISO17025の取得が義務付けられており、当所はKHV病およびRSIV病の診断を対象として当該規格の認証を受けています。

2016～2017年のリファラボ活動実績

活動内容	RSIV病	KHV病
1) 検査依頼		
国内	14件	18件
海外		1件(ID)
2) 陽性対照配布		
国内	9件	40件
海外	6件(US, GB, ES, HK, IN)	5件(ID, AU)
3) 海外研修生受け入れ	3件(PH, ID, KR)	4件(ID, KR, TW)
4) メール等によるアドバイス	4件(SG, KR, US, AU)	3件(ID, KR, AU)
5) リンクゲスト主催	1件(SG)	4件(ID, JP)
6) 協同研究		1件(ID)
7) 研究発表・論文等	7件	4件

AU:オーストラリア; ES:スペイン; GB:英国; HK:香港; ID:インドネシア; IN:インド; JP:日本; KR:韓国; PH:フィリピン; SG:シンガポール; TW:台湾; US:米国

アクアレオウイルスの診断法の開発と疫学調査

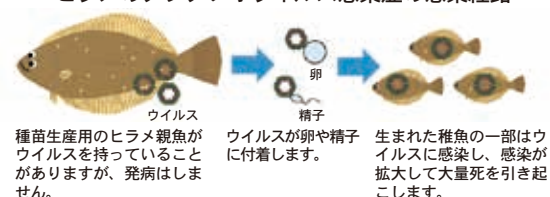
(魚病診断・研修センター 魚病診断グループ：河東 康彦)

近年、ヒラメの稚魚の全滅という大きな被害が出る病気が発生し、県の種苗生産施設などで深刻な問題となっていました。この病気はウイルスが原因と思われましたが、これまでは原因ウイルスを分離して培養できなかったため、ウイルスの特定や、迅速な診断法の開発ができませんでした。

増養殖研究所は、この病気の防除技術を開発するために、病気の原因ウイルス、感染経路などの解明に取り組みました。まず、病気の原因がアクアレオウイルスと呼ばれるウイルスであることを突き止め、原因ウイルスの分離・培養方法を開発しました。そして培養したウイルスから全ゲノム情報を解読し、こ

のウイルスだけにある遺伝子を検出できる迅速な診断方法を開発しました。さらに、ヒラメを殺さずに一滴の血液を検査するだけで過去に本ウイルスに感染していたかどうかを調べることができる検査法も開発しました。これらの診断法や検査法を用いて感染経路の解明に取り組み、種苗生産に用いたヒラメ親魚が本ウイルスを持っていて稚魚の感染源になっていることを明らかにしました。

ヒラメのアクアレオウイルス感染症の感染経路



増養殖研究レター No.7 (平成 30 年 2 月)

編集・発行：(研) 水産研究・教育機構増養殖研究所
業務推進部(大迫典久、奥村卓二、海和礼諸)

〒516-0193 三重県会郡南伊勢町中津浜浦 422-1

TEL: 0599-66-1830 FAX: 0599-66-1962

URL: <http://nria.fra.affrc.go.jp/>