

# ウイルス性表皮増生症防除研究 - IV

## - 原因ウイルスの検出とヒラメ体内でのウイルス量 -



前報ではヒラメの種苗生産過程で発生し、大規模な被害を引き起こす表皮増生症原因ウイルス（ヒラメヘルペスウイルス）の特性について紹介しました。今回は、疾病を正確に診断するための技術と病魚のウイルス量の測定技術についてまとめます。

### 疾病を診断する技術

疾病を診断するには種々の方法があります。その内容をま

#### 疾病の診断法

##### ①病理組織学的検査

病変部分を詳しく観察し、症状から疾病を特定する。同じ病変をおこす疾病が複数存在すると、特定は困難。

##### ②免疫学的検査

ある疾病の病原体にのみ反応する抗体を作り、病原体を検出する。

##### ③分子生物学的検査

病原体の核酸（DNA・RNA）を検出する。

##### ④病原体検査（ウイルス・細菌・真菌・寄生虫）

病原体そのものを観察もしくは培養して同定する。

とめると、次のようになります。

疾病診断では、多くの場合迅速性が求められますが、疾病の確実な特定には病原体の検出が必要です。表皮増生症は、原因ウイルスが分離培養できないため、病魚の表皮細胞の増生を顕微鏡で観察することにより診断が行われてきました（①病理組織学的検査）。しかし、この方法は症状を見るものなので、病原体の特定は行えません。いろいろと検討を重ねた結果、最近になり漸く分子生物学的なウイルス検出手法（PCR法）を開発することに成功しました（③分子生物学

的検査）。この方法は、原因ウイルスの核酸を増幅させ、高感度に検出するものです。これにより、原因ウイルスが「ある」「ない」の他に、存在するウイルス量も正確に測定できるようになりました。また、まだ発症していない感染初期の病魚や、発症しないサイズのヒラメ（本症は変態後のヒラメでは発症しない）の内部に潜伏するウイルス量も調べることができるようになりました。

### 病魚のウイルス量はどれくらいか？

本疾病の原因ウイルスに感染したヒラメ仔魚の体表からは、図1のように新たなウイルスが水中に放出されていることが確認されています。参考に、ヒラメヘルペスウイルスの感染環を模式化したものを図2に示します。

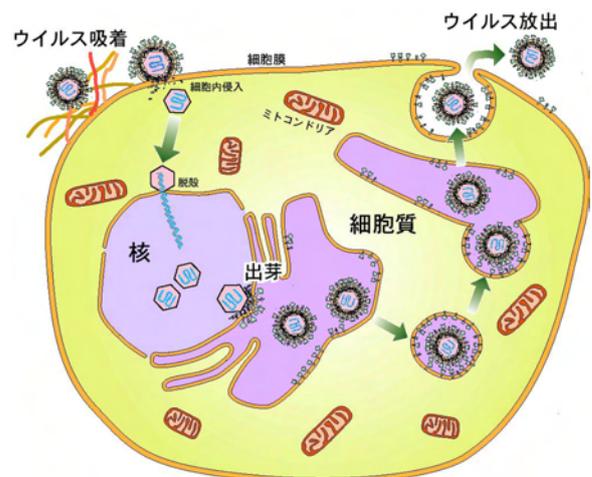


図2 表皮増生症ウイルスの生活史

本ウイルスはヒラメ表皮細胞に吸着し、細胞内で大量に増殖（複製）して、再び細胞外へ放出されます。本疾病を防除するためには、病魚がどれくらいのウイルスを持っているのか、また、どれくらいの量のウイルスを水中に放出するのか

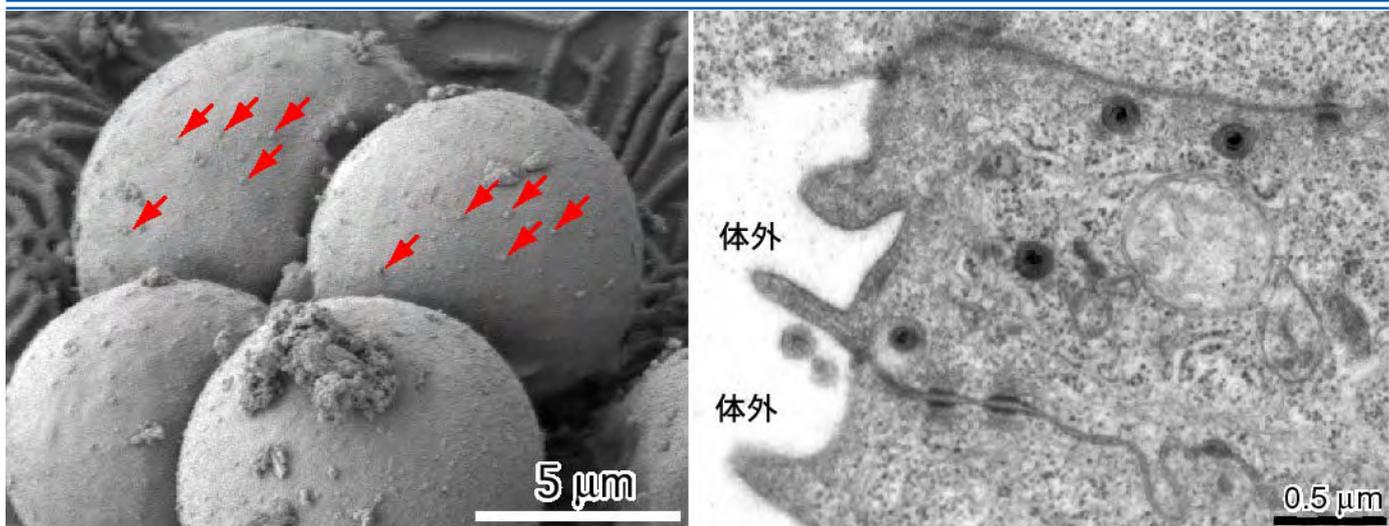


図1 感染細胞表面に存在するウイルス粒子

A: 走査型電子顕微鏡による感染細胞表面, 矢印はウイルス粒子

B: 透過型電子顕微鏡による感染細胞断面, 細胞質内のウイルス粒子は体外に排出される。

について知る必要があります。

これを調べるために、実験的に本ウイルスをヒラメ仔魚に感染させ、先に開発したウイルス量を検出する技術を利用して、感染した仔魚の各部にあるウイルス量と、仔魚から放出されるウイルス量の変化を確認しました(図3)。その結果、ウイルスは表皮細胞で素早く増殖し、感染から3日後には10億個程度になることがわかりました。また、1尾の感染魚から、1時間あたり1000万個程度のウイルス粒子が放出されていることが確認されました。この結果は、いかに多くのウイルスが水中に放出されるかを物語っており、本疾病の感染が大規模化するのにも頷けます。

後にウイルス量のピークがあり、その後急減していることがわかりました。

本ウイルスは全長15mmのヒラメ稚魚(変態後ヒラメ)にも感染しますが、この場合、表皮細胞は増生せず死亡も見られません。つまり、15mm以上のヒラメが本ウイルスに感染した場合、無症状でウイルスを90日以上持ち続け、ウイルスが長期間、飼育水中に放出され続ける可能性があります。ヒラメの種苗生産施設では、1シーズンに複数回の生産が行われます。本疾病を完全防除するためには、ヒラメヘルペスウイルスの感受性期(前報で紹介した全長10mmまで)だけでなく、大きいサイズの種苗の扱いについても、細心の注意が必要です。飼育水や養殖器具を通して、大きいサイズの種苗から他の水槽の小さい種苗にウイルスを感染させてしまう恐れがあるからです。施設内の全てのヒラメが感受性期を越えるまで、飼育水からのウイルス侵入を阻止する策を講じる必要があります。更に、種苗生産から半年の間は無症状のヒラメから本症原因ウイルスが放出される可能性があるため、厳格な防疫体制を継続することがより安全な種苗生産につながると思います。

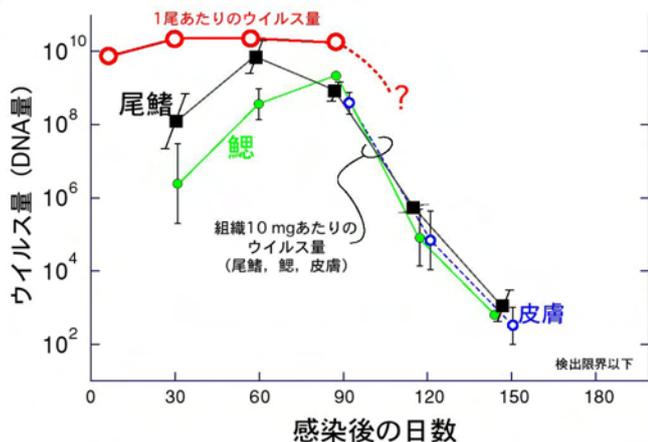


図3 表皮増生症罹患魚のウイルス量グラフ

1尾あたりのウイルス量は感染後90日以降測定できなかった。尾鰭、鰓、皮膚については、10mg(湿重量)あたりのウイルスDNA量で示した。B: 細胞質に形成される空胞内のウイルス粒子

### ウイルス潜伏から防疫を考える

病魚の、感染3日目以降のウイルス保有状況についても調べてみた結果、1尾あたりのウイルス量は10億個程度から増加することはありませんでした(図3)。臓器別(尾鰭、鰓および皮膚)のウイルス量を見ると、感染60日後~90日

### 終わりに

4回にわたって表皮増生症の死因から防除対策について紹介してきました。徹底した防疫を行うことで本疾病は防除可能です。しかし、更なる防除策があるに越したことはありません。現在、当センターでは(社)日本水産資源保護協会から委託を受けて、ウイルスを吸着する粉体を水中投入することでウイルス病を防除する技術の開発を行っています。これらも成果が出つつあります。今まで開発した防除技術と新たな技術を複合させて、ヒラメに限らず海産魚種苗生産の一層の安定化を目指して研究を行っています。新しい技術については、またの機会に報告させていただければと思います。