

## 魚類疾病の現状と課題

中西照幸<sup>†</sup> 松浦雄太

日本大学生物資源科学部 (〒252-0880 藤沢市亀井野 1866)

## Current status and issues of fish diseases in Japan

Teruyuki NAKANISHI<sup>†</sup> and Yuta MATSUURA

\*Department of Veterinary Medicine, College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa, 252-0880, Japan

## 1 はじめに

東京の葛西臨海水族園で、人気の高いクロマグロなどの回遊魚が原因不明のまま昨年12月ころより相次いで大量に死亡し、今年の4月の初めにはついに1尾となってしまったことがマスコミで取り上げられた。水族館側の懸命の努力で、最近マグロの群泳が復活したと聞かがいまだに原因不明である。一方、本年3月初旬に石川県の水産総合センターで飼育されていたシロサケ稚魚からレッドマウス病の原因菌 *Yersinia ruckeri* が検出された。本疾病は、持続的養殖生産確保法に基づく特定疾病に指定されており、これまでわが国での発生は未報告であった。特定疾病には指定されていないが、本邦で未発生のアメリカナマズで流行しているエドワジェラ・イクタルリ *Edwardsiella ictarullii* の発生が報告されている。2007年夏に東京都、広島県及び山口県下の河川で突如発生しアユの大量死が起きた。その後小規模の発生が続き自然に終息したと思われていたが、河川アユを調査したところ、一見健康にみえるアユから *E. ictarullii* が分離され保菌していることが判明した。

このように、原因不明病の発生や海外からの魚病の侵入は頻繁に起きているが、マスコミで取り上げられるのは氷山の一角にすぎない。水産養殖の現場では、原因不明の疾病の発生が後を絶たず、海外からの新しい疾病の侵入や新興、再興感染症が依然として発生し、増養殖業の発展を妨げる大きな阻害要因となっている [1]。

本稿では、近年の魚病問題の特徴、防疫対策の動向を

中心に、魚病問題の現状と課題について報告する。

## 2 魚病被害の現状

海面魚類養殖においては、かつて連鎖球菌症や類結節症などの細菌感染症がまん延し、治療のために抗菌性薬剤が多く使用されてきた。しかし、耐性菌の増加、抗菌性薬剤の魚体への残留に対する消費者の懸念、薬剤が効かないウイルス性疾病の発生等の理由から、国や業界をあげて治療から予防への防疫対策に転じ、抗生物質の使

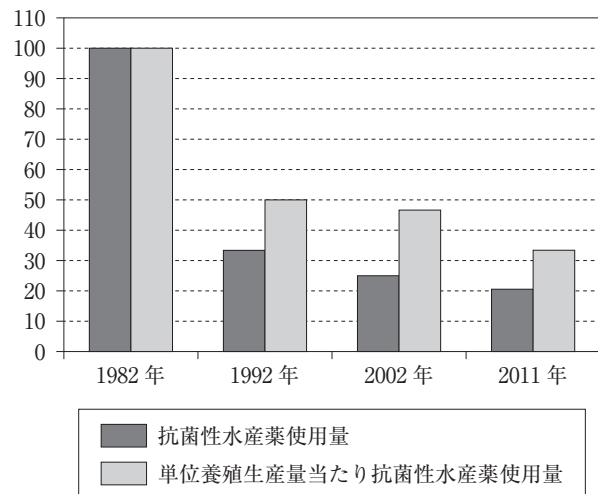


図1 抗菌性水産薬の使用状況の推移

出典：養殖業の取り組み 平成25年3月 水産庁資料  
<http://www.jfa.maff.go.jp/j/saibai/yousyoku/arikata/pdf/2docu.pdf>

<sup>†</sup> 連絡責任者：中西照幸（日本大学生物資源科学部獣医学科魚病学研究室）

〒252-0880 藤沢市亀井野 1866 ☎ 0466-84-3383 FAX 0466-84-3380

E-mail: nakanishi.teruyuki@nihon-u.ac.jp

<sup>†</sup> Correspondence to: Teruyuki NAKANISHI (Fish Disease Laboratory, Department of Veterinary Medicine, College of Bioresource Sciences, Nihon University)

1866 Kameino, Fujisawa, 252-0880, Japan

TEL 0466-84-3383 FAX 0466-84-3380 E-mail: nakanishi.teruyuki@nihon-u.ac.jp

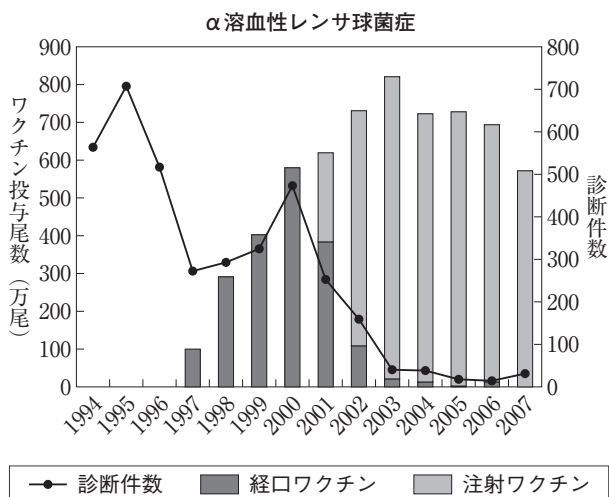


図2 愛媛県の養殖ブリ類におけるワクチン投与尾数と対象疾病の診断件数の推移 [1]

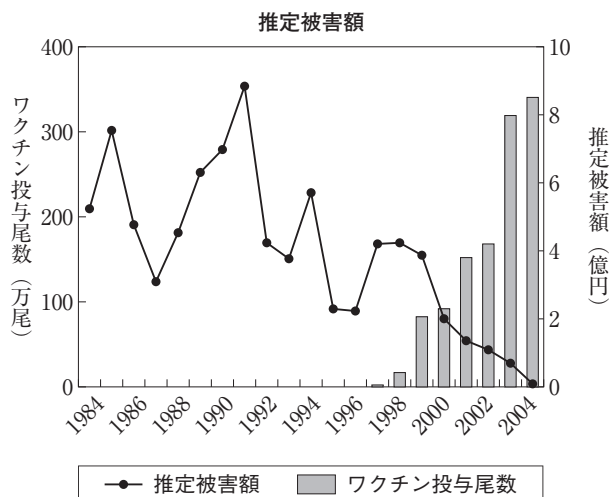
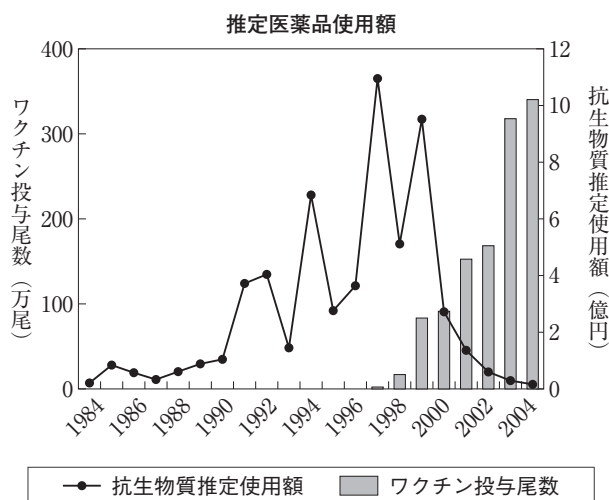


図3 養殖ブリ類におけるα溶血性レンサ球菌症関連ワクチン投与尾数とレンサ球菌症推定被害額及びマクロライド系抗生物質推定使用額の推移 (資料提供：大分県農林水産研究センター水産試験場 福田 稯氏)

用が激減している。特に、この傾向は海面養殖魚の5割を占めるブリ養殖に顕著に表れている (図1)。

この予防対策の柱になったのがワクチンの普及である。1997年に連鎖球菌症に対するワクチンが市販され、これを契機にイリドウイルス感染症をはじめとする多くの疾病に対してワクチンが市販された。図2及び図3に示されているように、ブリ養殖において、ワクチンの普及 (投与尾数の上昇) に伴い連鎖球菌症やイリドウイルス感染症の診断件数は激減している [2] (図2, 3)。なお、図2、図3には2007年までのデータしか示していないが、2008年以降現在までも同様な傾向が続いている [3]。また、養殖漁場の環境改善の努力が実り、その他の疾病についても発生件数は大きく減少してきている。その結果、1994～1995年には養殖業生産約3,000億円のうち、300億円 (10%) 近くに達していた魚病被害額が近年では約100億円 (3%) 程度に低下している (図4)。



### 3 近年の魚病問題の特徴

わが国の魚介類増養殖は、多魚種少量生産が特徴であり、多様な疾病が発生している。そのため多くの問題に直面しているが、1990年以降のわが国における魚病問題には下記に述べる4つの大きな特徴が認められる (表1)。

#### (1) ウイルス性疾病の発生とまん延

近年の特徴として、ウイルス性疾病の発生とまん延があげられる。代表的な疾病として3つの疾病を紹介する。マダイイリドウイルス病は、1990年の夏に愛媛県の養殖マダイに初めて発生し、翌1991年以降毎年夏の高水温期を中心に甚大な被害をもたらしている。当初マダイで発生したが、ブリ、カンパチ、スズキなど3目31魚種に感染し被害を及ぼしている。1999年よりマダイを皮切りに現在8魚種に対するワクチンが市販され被害が

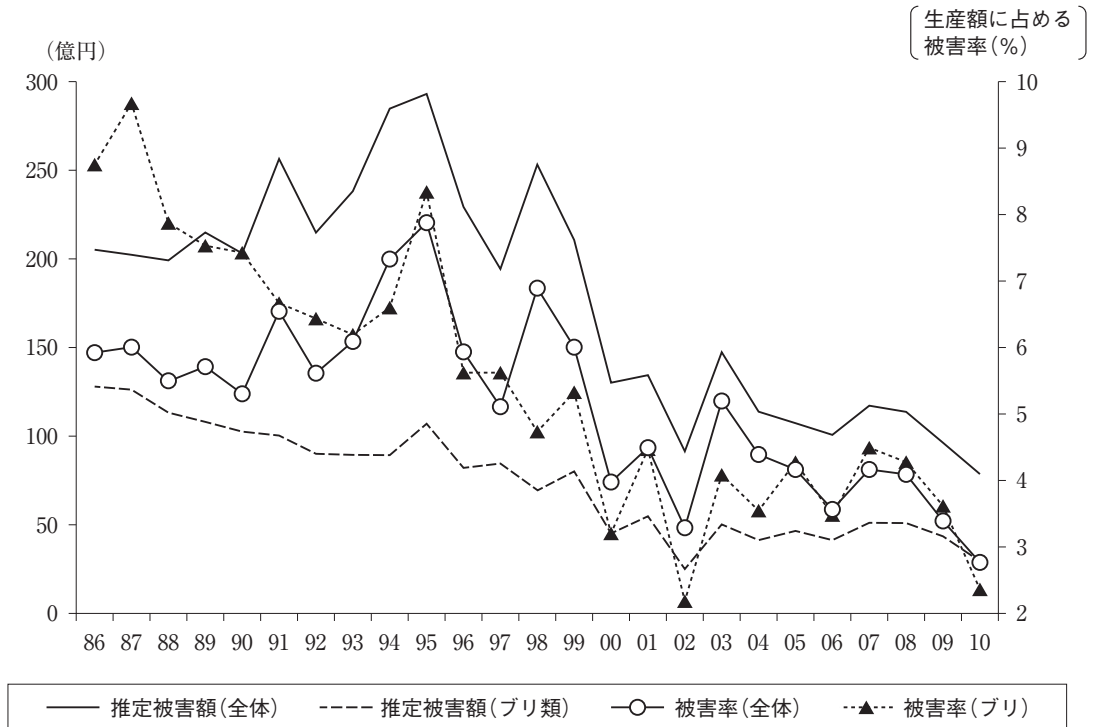


図4 給餌養殖魚の魚病被害額の推移

出典：養殖業の取り組み 平成 25 年 3 月 水産庁資料

<http://www.jfa.maff.go.jp/j/saibai/yousyoku/arikata/pdf/2docu.pdf>

減少しているが、感受性を示す魚種が多く問題となっている。原因ウイルスは外国産種苗とともに日本に侵入した疑いがもたれている。

クルマエビの急性ウイルス血症 (PAV) は、1993 年に中国からクルマエビ種苗の輸入に伴って持ち込まれた新しい病気で、その後発生地域が急速に拡大し養殖業のみにとどまらず、種苗生産施設にも及び深刻な被害をもたらした。現在は、採卵用親エビの PCR による診断と感染エビの排除、ヨード剤による卵の消毒による垂直感染の防止、飼育水の殺菌等により被害が減少している。コイヘルペスウイルス病について、1998 年にイスラエル及び米国でニシキゴイの大量死がおり、2000 年にコイヘルペスウイルスが原因として学術雑誌に紹介された。その後、世界各地に広まりヨーロッパ各国 (ドイツ、イギリス、オランダ、ベルギー等) やアジアの国々 (インドネシア、台湾等) で発生が報告された。わが国においても 2003 年 10 月に霞ヶ浦・北浦においてイケス養殖のマゴイの大量死がおり、その後またたく間に 23 都府県に感染地域が拡大し、2004 年 7 月末には 37 都道府県にまで広がった。

(2) 天然水域における魚病のまん延

もう 1 つの大きな特徴は、これまでの魚病の発生はおもに養殖場における発生がおもであったが、近年大きな被害を及ぼしている疾病は養殖場だけでなく、河川や湖

表1 近年の魚病問題の特徴

- ▶ ウイルス性疾病のまん延  
マダイのイリドウイルス病, クルマエビの PAV, コイヘルペスウイルス病等
- ▶ 天然水域における魚病のまん延  
アユの冷水病, コイヘルペスウイルス病等
- ▶ 輸入種苗による海外からの病原体の侵入  
IHN, EIBS, マダイのイリドウイルス病, クルマエビの PAV 等
- ▶ 細胞内寄生細菌に由来する感染症の増加  
ノカルディア症, ミコバクテリウム症, エドワジェラ症等

沼などの天然水域で発生し、しかも広域に及んでいることである。その代表例としてアユの冷水病とコイヘルペスウイルス病をあげる。

冷水病は、本来北米のサケ科魚類の病気として知られていたが、1984 年以降ヨーロッパでも発生が確認され、ニジマス仔魚症候群 Rainbow trout Fry Syndrome と呼ばれた。わが国では、1987 年に徳島県のアユ養殖場で、1990 年に東北地方のギンザケ孵化場において確認された。したがって、日本には 1985 年以降に米国西部

からギンザケ卵とともに侵入したと考えられている。当初アユの発生は養殖場に限定されていたが、1990年ころより全国の河川で発生するようになった。この原因として、当時琵琶湖産のアユ（湖産アユと呼ばれる）がアユ釣り用に全国の河川に放流されていたことから、冷水病に感染した湖産アユが天然水域へのまん延の原因と考えられている。特に問題となるのは、アユやニジマス以外にも多くのサケ科魚類、ウナギ、コイ、オイカワ、ウグイ、ドジョウなどが感受性を示すことである。このため天然の河川の生態系への影響も危惧されている。アユ冷水病に対するワクチンについては、これまで国の研究機関や地方の水産試験場が積極的にワクチン開発に取り組み、アジュバント添加注射ワクチンについては有効性の高い試作ワクチンが開発されている。しかし、注射が難しい仔稚魚の時期に冷水病に感受性を示し、食習慣から内臓も含めて食すること、さらにアユは年魚といわれ1年で寿命を終え、稚魚が海から川に遡上後、あるいは養殖魚の場合放流後、わずか半年ほどで産卵・死亡することから、体内に長く残留するアジュバントが使えないという状況があり、実用化が可能なワクチンの開発が難しい状況にある。

コイヘルペスウイルス病は、前述のように、平成15年10月の霞ヶ浦のコイ養殖において大量死がおき、しかも診断結果が出る前に霞ヶ浦から全国各地にすでにコイが出荷されていたため、またたく間にコイヘルペスウイルス病は日本全国に広がってしまった。わずか2年もたたないうちに、北は北海道から南は鹿児島県にかけて、40都道府県において1,000件近い発生が確認されている。このまん延の背景にはいくつかの原因がある。1つには、当時霞ヶ浦におけるコイの生産量はわが国の半分近くを占め、霞ヶ浦で育成されたコイが全国の釣り堀やコイ料理店に出荷されていたこと、並びに多くの釣り堀やコイ料理店の蓄養池が近くの河川と水域でつながっていたことによる。2つ目は、上記のアユと同様に事業として全国各地の河川に放流されていたことによる。3つ目は、個人の愛好家が病魚を殺すに忍びず近くの川や堀に“放流”したことによる。コイヘルペスウイルス病に限らず細菌や原虫・寄生虫性疾病を含めて共通していることは、魚類の病原体はいったん国内に侵入すれば、隔離が難しいことから天然水域にも拡散し根絶することが難しいことである。

### (3) 輸入種苗による海外からの病原体の侵入

海外より卵や種苗として輸入された幼稚魚に由来する疾病は数多く、上述の冷水病やコイヘルペスウイルス病も含めほかにも多くの疾病があるが、その中でも代表的な疾病をいくつか紹介する。伝染性造血器壊死症 (IHN) は、1970年ころアラスカ産ベニザケ卵とともに日本に

侵入したサケ科魚類のウイルス感染症である [1]。ニジマスをはじめアマゴ、ヤマメ、ヒメマスなどの稚魚期に発生して大きな被害を与えているが、近年では、より大型の魚にも発生するようになり問題となっている。赤血球封入体症候群 (EIBS) は、米国ワシントン州のマスノスケより1982年に発見された。わが国では、1986年に宮城県の海面養殖ギンザケに大発生し、以来淡水域を含め大きな被害が出ている。当初ギンザケの発眼卵を米国から輸入していたことがあり、この時に侵入したと考えられている。

また、マダイイリドウイルス病については、香港で採捕され日本に輸入されたスズキやタイ国におけるヤイトハタから分離されたウイルスと遺伝子及び病原性の観点から類似していることから原因ウイルスは外国から種苗とともに持ち込まれたと考えられている。さらに、クルマエビの急性ウイルス血症 (PAV, 別名ホワイトスポットシンドローム WSSV) は、1993年に中国福建省からクルマエビ種苗の輸入に伴って持ち込まれた新しい病気で、その後発生地域が急速に拡大し養殖業のみにとどまらず、種苗生産施設にも及び深刻な被害をもたらしている。

### (4) 細胞内寄生細菌に由来する感染症の増加

後述するように、最近ワクチンの普及により連鎖球菌症やイリドウイルス病の発生が減少しているが、水産増養殖現場においては、ノカルディア症、ミコバクテリア症、エドワジェラ症など細胞内寄生細菌による疾病の発生が大きな問題となっている (表2)。これらの疾病に対しては、最近いくつか抗菌剤が追加承認され治療の選択肢が増えてきているが、慢性化すると治療が難しいことから、ワクチンを用いた予防が期待されている。しかし、細胞内寄生細菌に対する感染防御には液性免疫よりもウイルスに対する感染防御と同様に、細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) やマクロファージが重要な役割を果たす細胞性免疫が重要である。したがって、不活化ワクチンよりも生ワクチンの方が推奨されるが、水産用ワクチンとしては生ワクチンの使用は以下の理由から難しく、ワクチンの開発が遅れている。すなわち、①病原性復帰の危険性、②水中では微生物の伝播や増殖が容易に起こる、③隔離が難しい (特に海面におけるイケス養殖)、④病原体の宿主範囲が広く自然界における分布や伝播機構がほとんど分かっていない、などによる。

## 4 魚類防疫対策の動向

### (1) 防疫体制の整備

わが国の水産防疫制度は2つの法律に基づいて行われている。輸入防疫制度は水産資源保護法、国内防疫は持続的養殖生産確保法に基づいている。平成6年に発効した国連海洋法条約の第196条に、海洋環境の汚染や有



表2 細胞内寄生細菌に由来する感染症の増加

魚種 (被害額の多い順)	被害額の多い疾病順		
	1	2	3
1 ブリ類	連鎖球菌症 (25.8%)	ノカルジア症 (25.8%)	ミコバクテリア症 (12.8%)
2 マダイ	マダイイリドウイルス病 (41.6%)	滑走細菌症 (27.5%)	エドワジエラ症 (23.3%)
3 ヒラメ	エドワジエラ症 (50.7%)	連鎖球菌症 (28.4%)	スクーチカ症 (10.7%)
4 クルマエビ	ピプリオ病 (81.8%)	鰓黒病 (13.6%)	ホワイトスポット病 (2.9%)
5 ウナギ	鰓うっ血病 (38.3%)	パラコロ病 (23.2%)	不明病 (21.4%)
6 アユ	細菌性冷水病 (76.7%)	ボケ病 (12.1%)	不明病 (3.3%)
7 フグ類	不明病 (20.0%)	口白病 (19.5%)	エラムシ症 (14.7%)
8 ニジマス	伝染性造血器壊死症 (32.2%)	細菌性鰓病 (13.0%)	イクチオホヌス症 (11.6%)
9 ギンザケ	ピプリオ病 (97.2%)	せっそう病 (1.8%)	不明病 (0.9%)
10 シマアジ	マダイイリドウイルス病 (61.2%)	連鎖球菌症 (29.1%)	不明病 (9.2%)

魚種別被害状況 (平成 18 年) を改変

出典: 家畜衛生をめぐる年報 (平成 20 年度) 第 2 部 安全な畜水産物を供給するための取組 7. 水産動物の疾病対策について, b. 魚種別被害状況 (平成 18 年)

害な変化をもたらす恐れのある外来種や新種の導入防止の規定があり, 平成 7 年に国際獣疫事務局 (OIE) により水産動物衛生規範が制定された。このような流れの中で, わが国においても平成 8 年に水産資源保護法が改正され, 水産種苗の輸入許可制度が導入された。この時対象とされたのは, コイ, クルマエビ及びサケ科魚類の稚魚あるいは発眼卵であった。

一方, 過剰な餌料投与に伴う残餌・糞等の発生により給餌養殖による養殖場の汚染が深刻になっていることから, 永続的な養殖を続けていくためには養殖漁場の利用適正化に関する法規制が必要との要望があり, 平成 10 年政府内に魚類防疫制度に関する検討会が設置され, 翌平成 11 年 5 月に持続的養殖生産確保法が可決された。この法案には, 漁場改善計画の作成勧告及び公表だけでなく, 平成 9 年に OIE により国内防疫制度がない国はこれを整備するようとの勧告がなされたこともあり, 当時より問題となっていた海外からの疾病の侵入と国内におけるまん延を防止するために, 特定疾病のまん延防止 (移動制限, 殺処分, 消毒などの措置), 魚類防疫員による養殖場への立ち入り検査や試験研究等の推進が盛

表3 わが国における輸入防疫対象水産動物と特定疾病

対象動物	特定疾病	国内の状況
コイ	コイヘルペスウイルス病*	侵入・まん延
	コイ春ウイルス血症*	未侵入
キンギョ, その他のフナ類, ハクレン, コクレン, ソウギョ, アオウオ	コイ春ウイルス血症*	未侵入
	ウイルス性出血性敗血症*	内水面では未侵入
サケ科魚類の発眼卵, 稚魚	流行性造血器壊死症*	未侵入
	ピシリケッチア症**	未侵入
	レッドマウス症**	未侵入
クルマエビ属の稚エビ	バキュロウイルス・ベナエイ感染症*	未侵入
	モノドン型バキュロウイルス感染症*	未侵入
	イエローヘッド病*	未侵入
	伝染性皮下造血器壊死症*	未侵入
	タウラ症候群*	未侵入

\* OIE リスト疾病 (2013 年 5 月時点)

\*\* 旧 OIE リスト疾病

り込まれた。

上述したように, コイヘルペスウイルスが 1998 年にイスラエル及び米国で発生し, 世界各地で報告されるようになり, 2001 年に魚病研究者の国際会議で本病が話題となるに至って, 水産庁は専門家を米国に派遣するなど診断法やウイルス検出法について検討を始めた。また, 防疫対策として, 農林水産省は平成 15 年 (2003 年) 6 月に「持続的養殖生産確保法」に基づき, 本ウイルス病を「特定疾病」に指定した。「特定疾病」とは国内における発生が確認されておらず, または国内の一部のみに発生している養殖水産動物の疾病であって, まん延した場合に重大な損害を与える恐れのある疾病で, コイヘルペスウイルス病以外にもコイ科魚類, サケ科魚類及びクルマエビ属のエビなど現在 11 種類の疾病が指定されている [4] (表 3)。なお, 発見された場合, 出荷自粛, 移動禁止, 焼却処分などのまん延防止措置がとられる。

さらに, 前述の海外におけるコイヘルペスウイルス病の発生を踏まえ, 水産資源保護法において「観賞用を除くコイの稚魚」に限定していたコイの輸入禁止措置を「観賞用を含むコイの稚魚と幼魚」に拡大し, 防疫体制を強化した。現在の制度では水産動物を輸入しようとする際には, 輸出国政府が発行した検査証明書の添付がなければ輸入できない。また, 水産動物到着時に動物検疫所は現物検査を行い, 異常がなければ輸入許可証を発行する。もし, 異常が認められた場合, 管理命令により疾病ごとに定められた期間, 隔離飼育が行われ精密検査が実

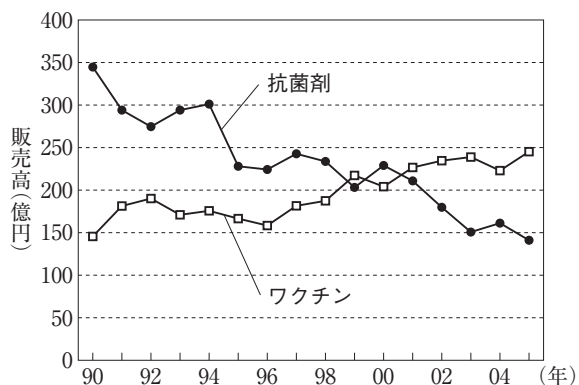


図5 抗菌剤とワクチン販売量の推移

施される。

本年3月に特定疾病に指定されているレッドマウス病がわが国で発生したことについては冒頭に述べたが、現在最も恐れているのはコイ春ウイルス血症(SVC)の侵入である。特に、中国からのSVCの侵入を警戒し、SVCについては、これまでコイのみを対象としてきたが、平成19年にキンギョその他のフナ属魚類や中国において4大家魚として大規模に養殖されているハクレン、コクレン、ソウギョ及びアオウオが追加された。現在、動物検疫所においてSVCの侵入を防止するために診断体制の強化など重要な態勢が敷かれている。

さらに、貝類においても封じ込めや治療が不可能なカキヘルペスウイルス1型マイクロバリエント(OsHV-1 microvariant)やホタテガイのパーキンサス・クワディが海外で発生し、これらの疾病が国内に侵入した場合大きな被害が生じることから関係者は警戒している。

## (2) ワクチンの開発と普及

わが国の魚病対策は、これまでその大きな部分を抗菌性薬剤による細菌病の治療に頼ってきた。ところが近年では、耐性菌の増加、抗菌剤の魚への残留に対する消費者の懸念の高まり、及び薬剤が無効なウイルス病の流行などにより、魚病対策における抗菌剤の有用性は低下している。一方、ワクチンを中心とした予防対策には、これらの諸問題を解決する力があり、さらに、計画的な生産により養殖業の経営の安定化にも寄与できる。こうした中で、治療から予防に主眼を置いた防疫対策への転換が、行政、業界両サイドから進められ、水産用ワクチン、特に海産魚用ワクチンの開発・実用化が活発に進められた。その結果、2000年前後には、販売額ではワクチンが薬剤を追い抜くという状況が生まれている[5](図5)。

わが国において現在、細菌性疾病については、ビブリオ病、J-0-3型ビブリオ病、 $\alpha$ 及び $\beta$ 溶血性連鎖球菌症、類結節症、エドワジェラ症、ストレプトコッカス・ジスガラクチエ感染症及びストレプトコッカス・パラウベリス感染症が実用化されている。また、ウイルス性疾病に

表4 わが国における市販の魚類ワクチン

平成27年1月31日現在

対象疾病	対象魚種	投与方法	備考
ビブリオ病	アユ	浸漬	10倍希釈ワクチンに2分間浸漬、または100倍希釈ワクチンに10分間浸漬。10倍希釈ワクチンは10回まで反復使用可
ビブリオ病	サケ科魚類	浸漬	10倍希釈ワクチンに2分間浸漬、10回まで反復使用可
ウイルス性神経壊死症	マハタ	注射	
$\alpha$ 溶血性レンサ球菌症	ブリ、ブリ属魚類	経口	飼料に混ぜて5日間経口投与する*
$\alpha$ 溶血性レンサ球菌症	ブリ属魚類	注射**	
$\beta$ 溶血性レンサ球菌症	ヒラメ	注射	
エドワジェラ症	ヒラメ	注射	多糖アジュバント添加、2週間間隔で2回注射、水揚げ禁止期間：14日間
イリドウイルス感染症	マダイ、ブリ属魚類、シマアジ、ハタ類	注射	ハタ類には下記の魚種が含まれる。ヤイトハタ、チャイロマルハタ、クエ、マハタ
イリドウイルス感染症	ブリ	注射	油性アジュバント添加、水揚げ禁止期間：28週間(196日間)
$\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、J-0-3型ビブリオ病	ブリ、カンパチ、ブリ属魚類	注射	2種混合ワクチン
$\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、類結節症	ブリ、カンパチ	注射	2種混合ワクチン、油性アジュバント添加、水揚げ禁止期間：49週間(343日間)
イリドウイルス感染症、 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症	ブリ属魚類	注射	2種混合ワクチン
$\beta$ 溶血性レンサ球菌症、ストレプトコッカス・パラウベリス感染症	ヒラメ	注射	2種混合ワクチン
イリドウイルス感染症、 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、J-0-3型ビブリオ病	ブリ、カンパチ、ブリ属魚類	注射	3種混合ワクチン
$\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、J-0-3型ビブリオ病、ストレプトコッカス・ジスガラクチエ感染症	カンパチ	注射	3種混合ワクチン
$\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、類結節症、J-0-3型ビブリオ病	ブリ、カンパチ	注射	3種混合ワクチン、油性アジュバント添加、水揚げ禁止期間：49週間
イリドウイルス感染症、 $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、J-0-3型ビブリオ病、類結節症	ブリ、ブリ属魚類	注射	4種混合ワクチン、油性アジュバント添加、水揚げ禁止期間：294日間。多糖アジュバント添加、水揚げ禁止期間：4週間(28日間)

\* メーカーによりワクチンの添加量が異なる

\*\* 連続注射器を用い、0.1mlを1回注射する

についてはマダイイリドウイルス病及びウイルス性神経壊死症に対するワクチンが市販されている(表4)。

水産用ワクチンの動向としては、当初群れを対象とする魚類養殖において養殖魚1尾ずつ注射することは実用的でないと考えられ浸漬ワクチンが市販された。しかし、浸漬投与では有効性が認められないワクチンが多く、欧米で普及していた注射法がわが国にも導入されるに至り、現在はもっぱら注射ワクチンが主流となっている。また、類結節症やエドワジェラ症の原因菌となる細胞内寄生細菌に対しては、通常の不活化ワクチンのみでは有効でないことから、アジュバント添加ワクチンが開発された。さらに、動物用ワクチンと同様に、多価ワクチンの開発が進み、最近4種混合ワクチンが販売されている[6]。

### (3) 分子生物学的手法を用いた新しい診断法・予防法の開発

魚類疾病における診断法や予防法の開発は、一般に陸上動物に比べ遅れているといわざるを得ない状況にある。しかし、特定の分野に限れば、陸上動物に匹敵する、あるいはそれ以上に進んでいる分野もある。

水産総合研究センター養殖研究所では、農林水産省の高度化事業の一環として、「マイクロアレイを使った魚介類疾病の迅速同定・診断、同定技術の開発(2002~2006年度)」に取り組み、主要な魚類病原ウイルスや魚病細菌のDNAをスポットしたDNAチップを作製し、病原ウイルスや細菌を網羅的に検出する方法を開発した。その中でヒラメ免疫関連遺伝子のDNAチップを用いて、病原体感染時に発現量が変動するヒラメ白血球遺伝子を明らかにするとともに、ヒラメの $\beta$ 溶血性連鎖球菌症ワクチンの有効性と関連する4遺伝子を特定している。

また、理化学研究所、東京海洋大学及び神奈川県水産総合研究所が共同で、「アクアDNAブック」を作成している。これはヒラメのQTL<sup>\*1</sup>解析用のマイクロサテライトマーカーと魚病診断に用いるプライマー(遺伝子DNA)を染み込ませた本である(図6)。診断や解析用のDNAそのものを紙に印刷したもので、ヒラメの選抜育種や魚病診断に活用することができる。今後の遺伝子診断や解析法の普及における新しい試みとして評価できる。

魚類ワクチンにおいても、サブユニットワクチン、組み換え生ワクチン、ペプチドワクチン、DNAワクチンな

どバイオテクノロジーを駆使した新しいワクチンの開発が急ピッチで進んでいる。特に、DNAワクチンについては、多くの疾病や魚種について高い有効性が確認されており[6]、2005年にはカナダにおいて、サケ科魚類のIHNに対するDNAワクチンが承認された(Apex-IHN, Novartis Animalの系列下のHealth Aqua Health, Ltd., Canada)。現在、カナダのBritish Columbia州において使用されている。同年、米国において馬のウエストナイル熱に対するDNAワクチン(West Nile-Innovator DNA, Fort Dodge Animal Health)が承認されたが、いまだに使用されているという情報がない。また、米国において犬のメラノーマに対するDNAワクチンが治療用に販売されているが、感染症に対するDNAワクチンは上記のサケ科魚類のIHNに対するワクチンのみである。DNAワクチンは生ワクチンの長所と、安全性というペプチドワクチンの長所の両方を備えており、合成の容易さ、安定性、経済性など多くの面で従来のワクチンより優れている。先に述べたように、水産用ワクチンとしては生ワクチンの使用は難しいことから、DNAワクチンが他の分野に先駆けて普及する可能性がある。

## 5 今後の課題と展望

前述のように、水産用ワクチンは急速に養殖現場に普及しつつあるが、それに伴い新たな問題も生じている。第一に、ワクチンの種類が圧倒的に不足している。抗菌剤が幅広い細菌に有効であるのに対し、ワクチンは原則として1つの疾病にしか有効ではない。わが国において現在実用化されているワクチンは、細菌性疾病で8種類、ウイルス性疾病については2種類のみであり、多大な被害が出ている他の多くの疾病については実用化には至っていない。しかも、抗菌剤に比べ免疫応答は魚種ごとに異なる可能性が大きく水産用ワクチンは原則として魚種ごとに承認されている。しかし、マダイイリドウイルスに感受性を示す魚種は30種類以上に及ぶ。マダイイリドウイルスワクチンについては1999年春より市販され、現在、マダイ、ブリ属魚類(ブリ、ヒラマサ、カンパチ、ヒレナガカンパチ)、シマアジ、ヤイトハタ及びチャイロマルハタに対するワクチンが使用されているが(表4)、ハタ科魚類1つを取り上げても3~4亜科60属約450種に分類されており広範囲な魚種が含まれる。したがって、魚種ごとに承認するというやり方では多数の魚種への実用化が難しい。わが国の魚類養殖は多様な魚種を少量生産するという特徴を有し、特に養殖対象魚種についてはより魚価が高く生産量の少ない魚種への転換が進められている。このような状況を踏まえワクチン適用可能な魚種を拡大するため、現在水産総合センター増養殖研究所を中心に、既ワクチン承認魚種と類似した抗原の認識や免疫応答能力を有する魚種の範囲を科学的に

\*1: QTLはquantitative trait locusの略で、量的形質遺伝子座を指す。QTL解析とは、すでに知られている標識遺伝子(DNAマーカー)とQTLの連鎖を調べることにより、QTLの染色体上のDNA領域を明らかにする解析法である。

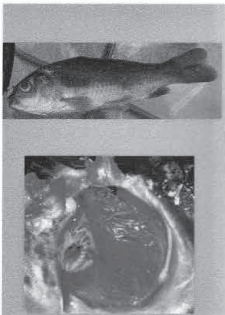


VIRUS - DNA ウィルス

---

**コイヘルペスウィルス病 (KHV)**

コイ  
供試部位/鰓



KHV Sph I-5F  
KHV Sph I-5R

5'- GACACCACATCTGCAAGGAG - 3'  
5'- GACACATGTTACAATGGTGGC - 3'

Control DNA



**新規等温増幅法プロトコール (特許申請中)**

(1) ゲノム DNA を用いた検出

- オリゴ DNA シートの赤い点を、カッターやハサミ、または穴あけ機で約 1mm の大きさに切り取る。
- 紙片をチューブに入れ、5 $\mu$ L の TE で溶解する。そのうちの 1 $\mu$ L を反応に用いる。

(2) ポジティブコントロールの調製

- オリゴ DNA とポジティブコントロールテンプレートの赤い点を、カッターやハサミ、または穴あけ機で約 1mm の大きさに切り取る。
- 2 枚の紙片をチューブに入れ、10 $\mu$ L の TE で溶解する。そのうち 2 $\mu$ L を反応に用いる。

(3) 反応液の調製

	サンプル ( $\mu$ L)	ポジティブコントロール ( $\mu$ L)
10 × Buffer <sup>*1</sup>	2.5	2.5
25mM dNTP	1.4	1.4
25mM MgCl <sub>2</sub>	6	6
オリゴ DNA シート	溶出液 1 $\mu$ L	溶出液 1 $\mu$ L
Template DNA	1	溶出液 1 $\mu$ L
Bst DNA polymerase <sup>*2</sup> (8U/ $\mu$ L)	2	2
滅菌水	11.1	11.1

\*1: Bst DNA Polymerase に適合する専用 10 × Buffer を使用する。  
\*2: Bst DNA Polymerase (NEB cs) を使用する。

(4) 増幅反応条件  
60 °C、30 min

(5) 目視による検出  
増幅反応液が白濁した場合は陽性、白濁しなければ陰性。

**注意事項**

- 本方法は PCR プロトコールとは濃度の違う dNTP を用いる。反応の異なる Mg<sup>2+</sup> 濃度を用いている。十分確認の上、反応液を準備すること。また、この反応液は、及びプロトコールは、専用アッセイで、品質の保証しない。
- Mg<sup>2+</sup> 濃度は反応液に入れる紙の大きさに、増幅に影響を与える事がある。Mg<sup>2+</sup> 濃度を再度確認し、紙のサイズと反応液の大きさの切り取りを注意すること。
- 反応液調製時と反応液は必ずリブナールを保持した状態にする。
- Template DNA の中に、9 塩基、コウチ、13 塩基が含まれること。

オリゴ DNA


D-3

図 6 「アクア DNA ブック」内容例

明らかにするプロジェクトを推進している。

アジュバントについては、従来「顕微鏡下における注射局所からのアジュバント等異物の消失」との考えのもとに使用制限期間が設定されていた。このため、魚類では 1 尾まるごと消費者のもとに届くため、類結節症ワクチンの場合には水揚げ禁止期間が 49 週間 (343 日間) とほぼ 1 年近い期間が設定されている。アジュバントの内容については、植物オイルなど食品として通常摂取されているものや国内でも食品添加物として使用されるものが多く、欧米においては使用制限期間がきわめて短いか、あるいは設定されていない場合が多く、関係者より疑問の声が多く出されていた。このような状況を踏まえ、農林水産省においても食用動物に用いるアジュバントを含むワクチンの使用制限期間の設定に関する考え

方を大きく変更することになった。すなわち、アジュバントに含まれる添加材については、添加材の成分に応じた適切な措置を行えば食品を通じて人の健康に影響を与える可能性は無視できるとの昨年 (平成 26 年) 4 月の食品安全委員会による評価結果を踏まえ、本年 3 月に上記に適合する添加剤のみを含むアジュバント添加ワクチンについては、使用制限期間を設定する必要がなくなった。この措置により、ニーズに合った安全で効果の高いワクチンをできるだけ早く生産現場に届けることが可能となった。水産用ワクチンについては、前述のように、生ワクチンの使用が難しく不活化ワクチンに頼らざるを得ない状況にある。したがって、ウイルス病や細胞内寄生性細菌による疾病が増加している現状において、適切なアジュバントの探索が大きな課題となっている。



ワクチン開発において大きな障害となっていることは、有効性判定法の開発が遅れていることである。水産用ワクチンの多くは有効性が認められるにもかかわらず、血中の抗体価の上昇が十分認められない場合が多い。こうした中で、ワクチンの有効性評価には、多大な労力と多数の魚を必要とする攻撃試験に頼っているのが現状である。特に、ウイルス病や細胞内寄生性細菌など細胞内に潜む病原体に対する感染防御には、抗体が中心的な役割を果たす液性免疫よりも細胞障害性T細胞が主役を演じる細胞性免疫が重要な役割を果たしていることが哺乳類において示されている。したがって、ウイルス病や細胞内寄生性細菌に対するワクチン開発には、魚類の細胞性免疫機構に関する研究の発展とそれに伴う多くの養殖魚でも測定できる簡易な細胞性免疫機能検査法の開発が望まれる。

前述のように、いったん侵入した病原体を排除することは水域では難しく、ウイルスや細菌等に汚染された水域で増養殖を継続・発展させていくためには、病気に強い品種の育成、すなわち耐病性品種の作出が必須である。農業や畜産分野あるいは伴侶動物においては、人類の長い歴史の中で野生の植物や動物から育種により新しい品種が作出されてきた。しかし、水産分野においては、コイやキンギョにおいて長年にわたり品種改良が行われ、また、ニジマスなどにおいても成長の早い個体や産卵時期を変化させた系統が作出されているが、いまだ一部の魚種に限定されているのが現状である。最近ノルウェーにおいてQTL解析により作出した伝染性膵臓壊死症 (IPN)<sup>\*2</sup>耐病性の発眼卵を4年間供給し続けたところ、大西洋サケ養殖場におけるIPNの発生が4分の1に激減したという報告がなされている [7] (図7)。わが国においても、マーカー選抜育種法により作出したリンホシスチス耐性ヒラメや冷水病耐性アユの養殖用種苗が販売され、連鎖解析により耐病性遺伝子の存在する領域を限局化し、その領域に存在する候補遺伝子を複数個まで絞り込むことに成功している。最近ヒラメにおいては、β連鎖球菌症やエドワジェラ症抵抗性の系統につい

\*2: ビルナウイルス科アクアビルナウイルス属の Infectious Pancreatic Necrosis (IPN) ウイルスが原因となる疾病で、多くのサケ・マス類が感受性を示す。米国、カナダ及び欧州各国に分布し、北半球のサケ科魚類に共通する疾病である。わが国でも発生しており最近では沈静化する傾向にあるものときどき突発的な被害が出ている。

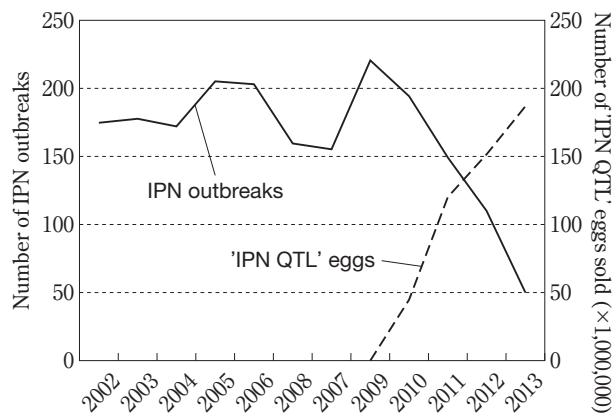


図7 大西洋サケ養殖場におけるIPN耐病性サケ卵の販売との疾病発生状況  
左軸：IPN発生数  
右軸：販売されたIPN耐病性サケ卵数

てDNAマーカーを利用した交配実験が行われている [8]。

今後、分子マーカーを利用した複数のウイルスや細菌等に対する抵抗性品種の選抜育種の進展が期待される。

### 引用文献

[1] 若林久嗣：第1章序論，魚介類の感染症・寄生虫病，江草修三監修，恒星社厚生閣，東京，1-27 (2004)

[2] 高木修作：第9章 現場における使用状況，現場からの要望，水産用ワクチンハンドブック，81-83，恒星社厚生閣，東京 (2009)

[3] 山下亜純：ブリの魚病対策の変化と愛媛県の魚病発生状況，養殖ビジネス，2015年3月号，10-14 (2015)

[4] 木島利通：水生動物防疫のための取り組みとその課題，養殖ビジネス，2014年1月号，22-25 (2014)

[5] 大島 慧：第12章 水産用ワクチンの販売動向，水産用ワクチンハンドブック，106-109 (2009)

[6] 中西照幸，乙竹 充：第7章 新しいワクチンの開発動向，水産用ワクチンハンドブック，中西・乙竹編，58-64，恒星社厚生閣，東京 (2009)

[7] Moen T, Torgersen J, Santi N, Davidson WS, Baranski M, Ødegård J, Kjølglum S, Velle B, Kent M, Lubieniecki KP, Isdal E, Lien S: Epithelial Cadherin Determines Resistance to Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Atlantic Salmon, *Genetics*, 200, 1313-1326 (2015)

[8] 荒木和男，尾崎照遵，岡内正典，岡本裕之，原 素之，山田敏之，正岡哲治，松山知正，坂井貴光，吉田一範，服部圭太，竹内宏行：ヒラメ育種の現状，水産育種，40, 67-69 (2011)