

クエおよびトラフグにおけるウイルス性神経壊死症の発生

中井敏博*¹・Nguyen Huu Dung*¹・西澤豊彦*¹・
室賀清邦*¹・有元 操*²・大槻観三*²

(*¹広島大学生物生産学部, *²日本栽培漁業協会)

ウイルス性神経壊死症 (viral nervous necrosis: VNN) の発生はこれまでにわが国ではイシダイ, キジハタ, およびシマアジ仔稚魚で報告されており¹⁻³⁾, 高い死亡率をもたらすことから本病はわが国の海産魚の種苗生産における最も重要な疾病の一つと考えられている。病魚は回転・旋回といった異常遊泳 (特に稚魚) を示し, 病理組織学的には網膜および脳組織における神経細胞の壊死・崩壊による大型の空胞形成を特徴とする。原因ウイルスはエンベロープを持たず, 直径 25~30 nm の球形の RNA ウイルスで, 網膜や脳の神経細胞の細胞質に高濃度に存在する。いずれの魚種からもウイルスは未だ分離培養されていないが, シマアジ仔魚 VNN 原因ウイルスはその構造タンパク質と核酸の性状からノダウイルス (Nodaviridae) に同定され, SJNNV (striped jack nervous necrosis virus) と名付けられている⁴⁾。

今回著者らは, 種苗生産過程のクエ (*Epinephelus moara*) およびトラフグ (*Takifugu rubripes*) に発生した大量斃死事例について検討した結果, その発生状況, 病理組織学的観察, およびウイルス学的検査結果から本斃死は VNN によると判断されたので報告する。

材料および方法

クエの大量斃死は日本栽培漁業協会 (以下, 日裁協) の上浦事業場 (稚魚) および五島事業場 (仔稚魚) で, またトラフグ (仔稚魚) の斃死は日裁協屋島事業場でそれぞれ発生した。各事例から斃死状態の魚を採取し, ホルマリン固定および凍結 (-80°C) 保存した。常法通りパラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン・エオシン染色後光学顕微鏡観察を行った。またホルマリン固定魚を 2.5% グルタルアルデヒド・2% パラホルムアルデヒドおよび 1% オスミウム酸で再固定後, 超薄切片を作製し, 1% ウラニル酢酸・クエン酸鉛で染色して病変部を電子顕微鏡観察した。既報の方法⁵⁾にしたがって凍結切片を作製し, ウサギ抗-SJNNV 血清を用いた間接蛍光抗体法により眼および脳の組織を免疫染色して観察した。PCR 法による病魚からの SJNNV の構造タンパク質遺伝子 (RNA2) の検出は Nishizawa *et al.*⁶⁾ の方法により

行った。すなわち, 病魚全体 (仔魚) または眼球 (稚魚) を Tween 20 とプロテイナーゼ K で処理後, クロロホルム・フェノールで核酸を抽出し, SJNNV RNA2 遺伝子の T4 領域 (430 bp) の増幅のためのプライマーを用いて PCR を 25 サイクル行った。

結果および考察

上浦事業場では, 1992年5月下旬に孵化したクエを飼育していたところ, 同年8月下旬から9月上旬にかけて全長 80~100mm の稚魚ないし幼魚が大量に斃死した。五島事業場では, 1993年5月中旬から6月下旬にかけて3回クエの生産を行い, 第1回の生産では全長 26mm の稚魚に病気が発生した。第2回および第3回の生産ではそれぞれ 6mm, 4mm の仔魚が発病し, ほぼ全滅状態となった。これらの幼稚魚では顕著な異常遊泳は認められず, 病魚の多くは網底に横たわって徐々に死亡した。外観的には体表におけるスレ以外の目立った症状は認められなかった。

屋島事業場では 1993年6月上旬~下旬に飼育中のトラフグ (約 9~25mm) が表層を回転遊泳するといった異常を示し, 1日 1~3 万尾程度の死亡が続き, 最終的には高い累積死亡率となった。外観的には病的変化は認められなかった。

これらの病魚の皮膚および鰓に寄生虫や *Flexibacter* のような長桿菌は認められず, また細菌の分離は行っていないが, 組織切片の観察において脳や肝臓, 腎臓などの内臓諸器官に細菌の増殖像は認められなかった。

病理組織学的観察の結果, いずれの事例の病魚においても, 網膜および脳組織に神経細胞およびその他の細胞の壊死・崩壊によると考えられる広範囲にわたる空胞形成が認められた (図 1)。鰓, 筋肉, および内臓には顕著

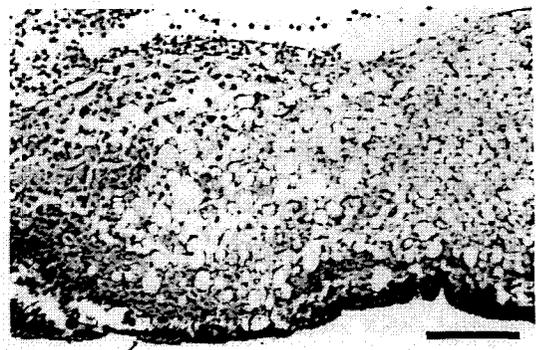


図 1. クエ病魚 (稚魚) の網膜組織の空胞 (H&E 染色). スケール=100 μm.



図 2. クエ病魚（稚魚）の網膜神経細胞の細胞質に観察されたウイルス粒子。スケール=300nm。

な病変は観察されなかった。網膜および脳病変部の神経細胞の細胞質または細胞外に、球形で直径約 28 nm のウイルス粒子が高密度に観察され（図 2）、また抗-SJNNV 血清を用いた蛍光抗体法によりそれらの神経細胞に特異蛍光が認められた。さらに、いずれの病魚サンプルからも PCR 法により SJNNV RNA2 の T4 領域に相当する約 430 bp の増幅産物が得られた。なお、五島事業場での第 3 回の生産に使用したクエ産卵親魚の生殖巣からも PCR 法によりウイルス遺伝子が検出された。

本研究では感染実験によりウイルスが死亡の原因であることを確認していないが、疾病の発生状況や病魚の病理組織学的特徴がこれまでに他の魚種で報告された VNN に酷似しており、かつそれらの病魚の網膜や脳の神経細胞に SJNNV と同じ形状のウイルスが観察され、さらに SJNNV と抗原および遺伝子の少なくとも一部が共通するウイルスが検出されたことから、今回クエおよびトラフグの仔稚魚に発生した疾病は VNN であると判

断された。

シマアジ VNN の感染源は親魚と考えられており⁷⁾、生殖巣のウイルス検査による親魚の選別が本疾病の防除法の一つになり得ることが示されている⁸⁾。他魚種の VNN ではその感染源は明らかにされていないが、今回 VNN が発生したクエの産卵親魚の生殖巣からウイルスが検出されたことから、クエにおいても垂直伝播が本病の主要な感染経路であると推定される。インダイ、キジハタやシマアジにおいては VNN の発生は仔稚魚に限定されていたが¹⁻³⁾、今回検査したクエでは孵化後 3 か月以上経過した比較的大きな魚（80~100 mm）でも発生した。結果には示さなかったが疾病の流行後約 5 か月経過した一部の生残魚の眼からウイルス遺伝子が検出されたことから、親魚のみならず感染耐過魚が感染源となる可能性も考えられる。

本研究は文部省科学研究補助金 (05454094) および農林水産省特研（魚ワクチン）によって行われた。

文 献

- 1) Yoshikoshi, K. and K. Inoue (1990): *J. Fish Dis.*, **13**, 69-77.
- 2) Mori, K., T. Nakai, M. Nagahara, K. Muroga, T. Mekuchi and T. Kanno (1991): *Fish Pathol.*, **26**, 209-210.
- 3) 有元 操・丸山敬悟・古澤 巖 (1994): 魚病研究, **29**, 19-24.
- 4) Mori, K., T. Nakai, K. Muroga, M. Arimoto, K. Mushiake and I. Furusawa (1992): *Virology.*, **187**, 368-371.
- 5) Nakai, T., K. Mori, K. Muroga and T. Mekuchi (1991): *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 1507-1510.
- 6) Nishizawa, T., K. Mori, T. Nakai, I. Furusawa and K. Muroga (1994): *Dis. Aquat. Org.*, **18**, 103-107.
- 7) Arimoto, M., K. Mushiake, Y. Mizuta, T. Nakai, K. Muroga and I. Furusawa (1992): *Fish Pathol.*, **27**, 191-195.
- 8) Mushiake, K., T. Nishizawa, T. Nakai, I. Furusawa and K. Muroga (1994): *Fish Pathol.*, **29**, 177-182.