

クエ・マハタ種苗量産技術確立事業－Ⅳ

マハタ由来ノダウイルスの数種の海産魚に対する病原性

田中真二・栗山 功・井上美佐・西村昭史

目 的

マハタの種苗生産および養殖過程では、ウイルス性神経壊死症（VNN）による大量死がしばしば発生する。本病はこれまでに多くの海産魚で発生が報告されており、本病の病原体である魚類ノダウイルスは、シマアジ（S J）型、キジハタ（RG）型、トラフグ（TP）型およびマツカワ（BF）型の4種類の遺伝子型に大別され、各遺伝子型はその宿主域、また病原機構が異なることが示唆されている。本事業では、RG型に分類されるマハタ由来ウイルスの宿主域を調べる。

方 法

1. マハタ由来ウイルスの宿主域

VNNの感染歴のない体重0.3~0.9gのマハタ、クエ、クエとマハタの交雑魚、マダイ、ヒラメ、トラフグおよびカサゴの人工種苗を用い、浸漬感染を行った。またマハタとヒラメについては13g前後の比較的大きな稚魚を用いて注射感染も行った。感染にはマハタ病魚の脳と眼球をPBSで5倍希釈した磨砕濾液を用い、浸漬感染では $10^{5.1}$ TCID₅₀/mℓのウイルス添加海水に2時間浸漬し、また注射感染では $10^{6.1}$ TCID₅₀/0.02mℓ/尾のウイルス液を背部筋肉内に接種した。対照区の魚はPBSを用いて感染区と同様に処理した。ウイルス感染後は15ℓまたは100ℓ水槽に供試魚を収容し、28℃で15日間経過を観察した。

全ての死亡魚および生残魚について、病理組織学的観察および間接蛍光抗体法（FAT）によるノダウイルス抗原の検出を行った。

2. マハタ由来ウイルスのヒラメに対する病原性及び水温の影響

体重0.5gのヒラメを4個の15ℓ水槽に50尾ずつ収容し、水温18、23、28℃の感染区と28℃の対照区として前記と同様にウイルスを浸漬感染させ、20日間経過を観察した。

結果および考察

1. マハタ由来ウイルスの宿主域

表1に示すとおり、浸漬感染区のマハタ、ヒラメ、トラフグおよび注射感染区のマハタでは遊泳異常と死亡がみられ、死亡魚の中枢神経組織および網膜組織には神経細胞の壊死および空胞の形成が観察されるとともに、強度のFAT陽性反応がみられた。また生残魚の多くもFAT陽性であった。以上の結果から、RG型であるマハタ由来ウイルスはマハタのほか、ヒラメおよびトラフグに対しても病原性を示すことが確認された。ただし0.3gのヒラメでは42%が死亡したのに対し、12.5gのヒラメでは生残魚でFAT陽性反応はみられたものの、死亡しなかったことから、本ウイルスに対するヒラメの感受性は魚体の大きさに依存すると思われる。

表1 マハタ由来ノダウイルス人為感染魚の死亡率およびウイルス抗原検出状況

感染方法 ^{*1}	魚種	体重 (g)	尾数	死亡率 (%)	FAT陽性尾数/検査尾数	
					死亡魚	生残魚
浸漬	マハタ	0.8	25	4	1 / 1	24 / 24
	クエ	0.9	30	0	—	0 / 30
	クエ×マハタ ^{*2}	0.4	15	0	—	15 / 15
	マダイ	0.6	30	0	—	0 / 30
	ヒラメ	0.3	50	42	21 / 21	27 / 29
	トラフグ	0.7	50	32	16 / 16	9 / 34
注射	カサゴ	0.5	30	0	—	21 / 30
	マハタ	13.6	20	100	20 / 20	—
	ヒラメ	12.5	30	0	—	28 / 30

^{*1} ウイルス添加海水（ $10^{5.1}$ TCID₅₀/ml）に2時間浸漬、またはウイルス液（ $10^{6.1}$ TCID₅₀/0.02ml/尾）を背部筋肉内に注射

^{*2} クエ（雌）とマハタ（雄）の交雑魚

クエとマハタの交雑魚およびカサゴでは、試験期間中異常はみられなかったものの、多くの生残魚でFAT陽性反応を示した。このことから、本ウイルスはこれらの魚種に対しては強い病原性は示さないものの、神経細胞内で増殖し得ることが確認された。

クエおよびマダイでは、試験期間中異常はみられず、生残魚も全てFAT陰性で、神経細胞でのウイルスの増殖は確認されなかったことから、これら2魚種に対する本ウイルスの病原性は確認されなかった。クエはマハタと同じRG型のウイルスの宿主魚種であるが、本試験でクエに対する本ウイルスの病原性がみられなかったことから、同じRG型のウイルスでもクエ由来株とマハタ由来株では宿主域が異なることが示された。

なおいずれの魚種も、対照区では異常はみられず、生残魚もFAT陰性であった。

以上の感染実験の結果から、魚類ノダウイルスの宿主域は、現在類別されている4種の遺伝子型のみにより規定されているわけではないことが示された。本ウイルスについては、今後さらに遺伝子の解析、および宿主域に関する検討が必要である。本試験では、マハタ由来ウイルスは他の魚種においても神経細胞を標的としていることが確認されたことから、感染実験においては、死亡の有無だけでなく、神経細胞におけるウイルスの増殖を

確認することで、よりの確に病原性の判定が行えると思われる。

2. マハタ由来ウイルスのヒラメに対する

病原性に及ぼす水温の影響

本病による摂餌低下および死亡までの期間は水温が低いほど長い傾向がみられたが、累積死亡率はいずれの水温区も94~98%と高かった(図1)。高水温区のみならずヒラメの種苗生産時の水温範囲である18°Cでも本ウイルスは強い病原性を示したことから、ヒラメの種苗生産にあたっては、マハタ由来ウイルスに対しても十分注意する必要があると思われる。

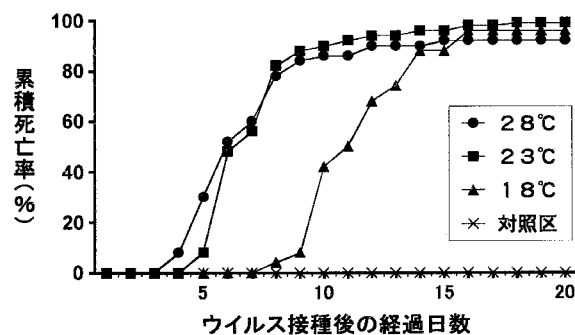


図1 異なる水温でウイルスを接種されたヒラメの死亡状況