

魚病研究などについて最後に言いたいこと

鈴木邦夫

1. 始めに

2016年3月末日をもって定年退職となります。1985年4月1日に北海道立水産ふ化場（現 さけます・内水面水産試験場）に採用・配属されて31年になりました。これまで主にサケ科魚類の魚病に係る研究に従事させていただきました。最後に（もしかしたら今後 後に続く方々の参考になるかも知れないことを）2、3書き留めておこうと思います。1984年12月に水産学博士の学位をいただき（北海道大学水産学部増殖学科、生理生態学講座山田寿郎教授）就職活動をしておりましたところ、運良く縁あって水産ふ化場で働くこととなりました。ただ、当時は学生時代鹿部の栽培センターで講座の先輩である草刈宗晴博士の研究（クロソイの種苗生産）のお手伝いをさせていただいたことなどから、海面水試の方を希望しておりました。魚病の仕事は水産ふ化場に配属されてから始めたことで、最初は何一つわからず、当時 魚病科長であった坂井勝信博士からごく基本的なこと（培地の作成、細胞培養、魚病検査の初歩など）を教えていただき手探り状態で始め、試行錯誤の連続でした。ちなみに、私は学生時代 魚類の白血球（病原体等に対する生体防御に関係する細胞）について調べておりました^{1,2)}が、魚病（感染症学）にも微生物学にもあまり興味がなく微生物の学生実験さえ経験していない状態でした。当時はニジマス、ヤマベ等の内水面養殖が盛んで（そのため？）、様々な魚病が猛威をふるっており魚病診断・検査・防疫対策等でかなり忙しかったと記憶しています。



図1 IHN(伝染性造血器壊死症)で死亡したニジマス仔魚体側にV字状の出血斑(IHNの典型的な症状の一つ)がみられる

1990年代（バブル崩壊前後）は検査や防疫対策・指導等でかなり忙しい状態で、年間の魚病診断件数は80-100件程度だったと思います。魚病の中でも、特にIHN

(infectious hematopoietic necrosis、伝染性造血器壊死症：図1) と呼ばれるウイルス病とBKD (bacterial kidney disease、細菌性腎臓病：図2) と呼ばれる細菌病

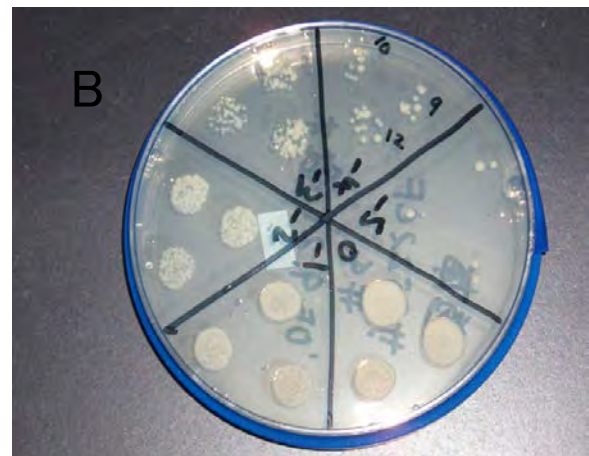
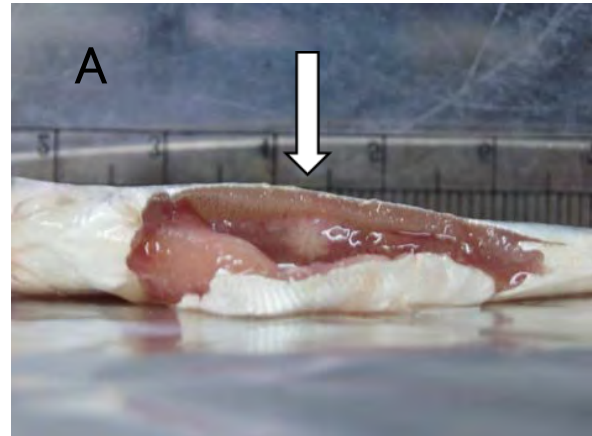


図2 (A)BKD(細菌性腎臓病)菌感染試験で死亡したサケ稚魚の腎臓 腎臓に白色の膨隆部(BKDの典型的な症状の一つ、 図の矢印で示した部分)がみられる。また、腎臓は全体的に褪色している (B)BKD菌 *Renibacterium salmoninarum*のコロニー 白色の部分BKD菌が増殖したところである

による被害が大きく、もし仮に今後も魚病に関われるなら、どちらかの被害を軽減できるような少しでも貢献したいと思いました。6-7年経過して、研究を展開する必要があると考え、当時一緒に魚病の仕事に関わっていた畑山誠さん（現 さけます・内水面水産試験場

内水面資源部道東内水面G) に手伝ってもらいながら、組み替えDNA、DNAシークエンサー、PCR等のいわゆる分子生物学的手法を取り入れて研究を始めました。当然、近くになんでも聞ける「先生」などはおらず、夜は参考になりそうな文献資料を読みあさりしました。当時の私の愛読書は、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版 (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989年) でした。

2. オレゴン州立大学 Oregon State University

1995年、北海道立の試験研究機関職員を対象とした長期海外研修で、オレゴン州立大学 (Corvallis コーバリス、オレゴン州: 図3) におかげさまで約7ヶ月派遣され、大変勉強になりました。オレゴン州立大学には、



図3 オレゴン州立大学 Oregon State University キャンパス内の建物

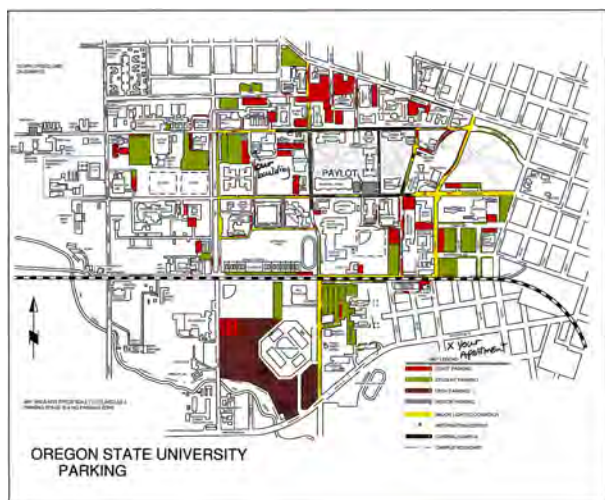


図4 オレゴン州立大学のキャンパス地図(駐車場の配置図)

Dr. Leongの研究室は図の中央部上にあるNash Hallと呼ばれる建物にあった

IHNウイルスの研究で世界的に知られていたDr. Leongの研究室があり(図4)、活発に成果をあげており(ウイルス関係の学術雑誌としてはかなり評価が高いJournal of Virology (American Society for Microbiology)等に多数論文が掲載されていた)、すでにIHNウイルスのワクチン開発にも取りかかっているようでした。幸い研究室の大学院生(Marc Johnson)と一緒にいくつかのプロジェクトにも参加させていただき、滞在期間の関係で全て途中までしか関われませんでした。有意義な時間だったと思います(結果の一部は水産学会で発表しました)。研究を始めた当初は試薬や機器の場所さえわからず、会話は研究に関することは苦労しませんでした。雑談は理解できず、しかし、まるで学生時代のように研究三昧の毎日でした(天国です)。コーバリスは、確か人口5万人ほどのどかな町で(図5)、大学と林業(クリスマスツリー)とヒューレット・パッカド(コンピュータ会社)の工場があり治安の良い自然の豊かな良い雰囲気のところでした。大学のキャンパスも日本のように塀で囲まれている訳では無く町に溶け込んでおり非常にオープンな感じ



図5 コーバリス Corvallis で筆者が住んでいたアパートからの1シーン 冬も雪はほとんど降らず穏やかな気候だった

を受けました。Dr. Leong始め研究室の皆さんには(図6)、日本から来た異邦人を研究者仲間として暖かく迎え入れてくださり感謝しております。印象に残ったのは、程度の高い研究をしていたにも関わらず(無関係に)使用している機器がかなり古かったこと、大学内の研究者間の(個人的な)ネットワークが発達しており使用する試薬など(試薬、酵素、株細胞、ベクターなど)をお互いに貸し借りして研究予算を有効活用していたこと、人間関係のドライさと同時に親しくなったときのフランクさ、論文化の驚異的なスピード、研究室の皆さん(一部を除きネイティブスピーカー)の英語の流ちょうさ、研究企画書等の英語の文章のうまさなどです。昔、ある方に(研



図6 Dr. Leong 研究室の皆さん 左から筆者、Helen、Linda、Marc (Johnson)、Ben、Dr. Leong(中央の黒服の女性)

究者として大先輩)、「研究は予算や機器ではなくアイデア(自然や自然現象に対する自分なりの見方・考え方が大切だ」と言われたことがありましたが、そのことを実感しました。

3. 体腔液中の病原体

サケ科魚類では、性成熟に伴い雌親魚の体腔中に液体がたまり(体腔液と呼ばれる)、その中に一部の魚では病原体が検出されることが知られています。この病原体が検出される魚は保菌状態(キャリア)であったと考えられます。キャリアは病原体を体内に保有していても発症(病気の症状がでること)しない魚のことをいいます。すなわち、このキャリアの魚は感染場所・感染時期は不明ですが感染しており、体内に保有していた病原体が性成熟に伴い何らかの原因(免疫が弱まるなど)で増殖し体腔液に見られるようになったと考えられます。サケ科魚類の魚病では、病気(感染症)の感染源として親魚(体腔液中の病原体)と発症魚・死亡魚が考えられ、そのため体腔液検査は病気を防ぐ点(防疫)から非常に重要な検査と言えます。

これまで体腔液の検査によりIHNウイルスを始め、OMV(*Oncorhynchus masou virus*)やBKD菌(*Renibacterium salmoninarum*)、冷水病菌(*Flavobacterium psychrophilum*)等が全道のサケ科魚類ではしばしば検出されています。このうち、サケ体腔液中のBKD菌と冷水病菌については、2004年にさけます・内水面水産試験場で他に先駆けて検査を開始しています。当時一緒に魚病の仕事をしていた三坂尚行さん(現 さけます・内水面水産試験場内水面資源部)と佐々木典子さん(現 水産研究本部企画調整部)と先ずサケ体腔液について調べてみました。詳しくは論文を参照していただきたいと思いますが^{3,4)}、調べたほとんどの河川で遡上親魚からBKD菌および冷水病

菌が検出されました。北海道内の病原菌の分布だけでなく定量検出方法の高度化を行い、さらにサケ等のサケ科魚類に対する病毒性(病原体が感染後魚等に病気を起こす性質)についても確認しています。冷水病については三坂尚行さんが精力的に研究を進めその成果は防疫対策に生かされています。このうち、BKD菌についてやや詳しく述べたいと思います。2004年の調査では、nested-PCR(PCRを連続して行う方法、通常のPCRより検出感度が高い)で全道8河川の遡上サケ親魚のうち7河川のサケからBKD菌が検出され(図7, 8)、検出率(各河川の調べた60個体のうち検出された割合)は、0%~30%となっています。このことは少なくともこの年の遡上サケ親魚にはBKD菌が広く分布していたことを示唆します。次に、BKD菌に関しては、検査方法の高度化とサケに対する感染試験結果・病毒性について述べたいと思います。

●検査方法の高度化：一般的に病原細菌の検査や診断における検出方法には様々なものがありますが、何を検出しているかが常に問題となります。例えばPCRはDNA(ゲノム、遺伝子)を増幅する技術ですので、検出されたのはDNA(デオキシリボ核酸)という物質になります。このとき、その検出されたDNAと増えることができる病原菌の関係が問題です。すなわち、DNAは(割と丈夫な)物質なので、生きて増えることができる病原菌中のDNAだけでなく、生きていても増えられない状態や死んだ病原菌のDNA、さらには環境中に存在する裸のDNA(病原菌由来)まで検出される可能性があります。また、細菌の定量(魚体中、培地中等の細菌の数を測定する)には、適当な人工的な培地上に細菌をばらまいて出てきたコロニー(理想的には1個の細菌が増えて肉眼的に見える大きさまでなったと考えられる細菌の塊)の数を数える方法(培養法)がとられます。しかし、BKD菌は非常に増えにくい細菌で通常の培養法では8~12週間程度かかってしまい、通常の魚病検査・診断には使えません。このようなことから、リアルタイムRT-PCRでBKD菌のある遺伝子(*msa*遺伝子、BKD菌の病原性に関連すると言われている)のmRNA(メッセンジャーRNA)を検出・定量する方法を開発しました(図9, 10)。微生物(病原細菌)のmRNAは分解されやすいため、それが検出されることは微生物が生きて活動していることを示唆します。費用の問題等はありませんが、この方法は迅速で検出感度が高く、生きて活発に活動し増えることのできる病原菌を検出・定量することから、今後魚病の分野でも広く使われるようになる可能性があります。

●サケに対する病原性・病毒性：ウイルス、細菌等の病原体の病原性・病毒性は、宿主(感染し増えることのできる生物)の種類や大きさ(年齢、仔稚魚か親魚など)

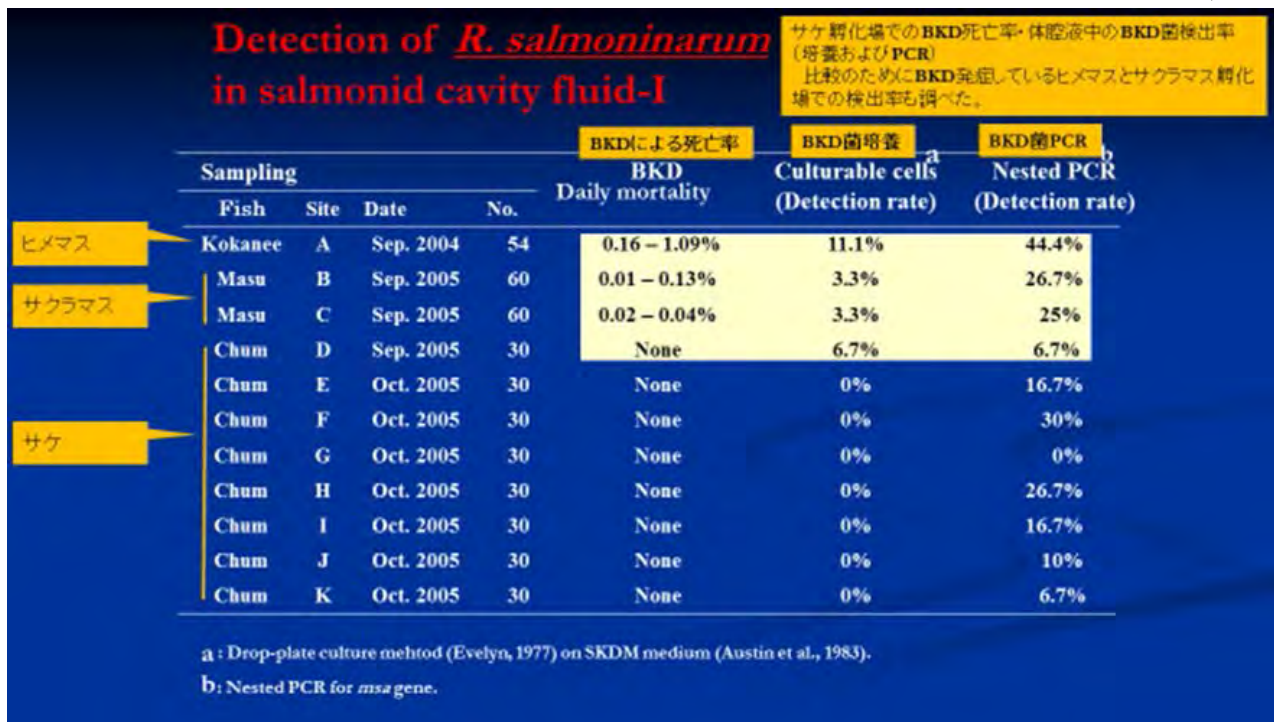


図7 2004年における道内のサケ・サクラマス・ヒメマス親魚体腔液中のBKD菌検出
 サケ親魚では発症・死亡はないものの、8河川中7河川で、検査個体の最高30%からnested-PCRでBKD菌が検出された

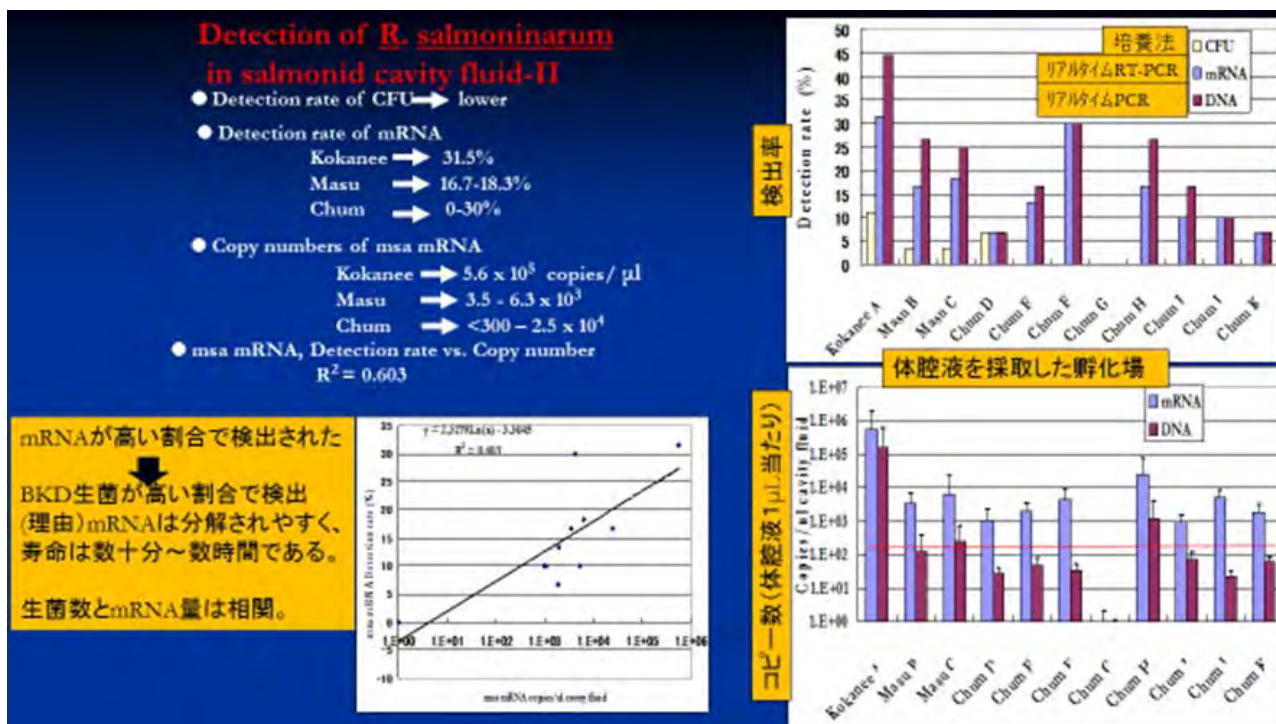


図8 サケ体腔液からリアルタイム PCR およびリアルタイム RT-PCR でそれぞれ標的遺伝子 *msa*(DNA) およびその mRNA が高い濃度で検出された

および密度、健康状態など、水温等の環境条件などの種々の条件で変わります。また、一般に病原性・病毒性は変化する(変異とよばれる)ことが知られています。そこで、サケ体腔液から分離されたBKD菌を用いて、サケ稚魚

に対する病原性を感染試験で確認しました。サケ稚魚に接種して通常の流水(淡水)飼育したところ、接種後18週で累積17%が死亡しました(対照の累積死亡率4%: 図11)。一部を接種後7週で海水飼育(止水、閉鎖循環、

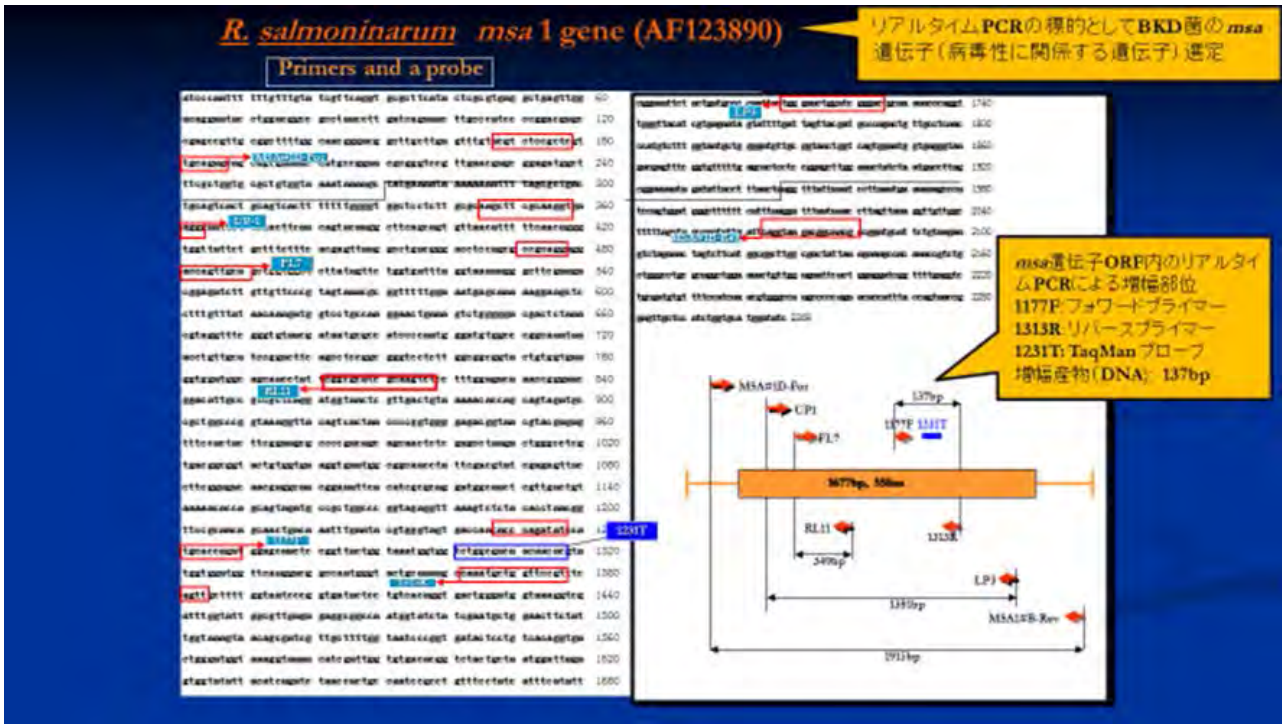


図9 リアルタイムRT-PCRのためのBKD菌msa遺伝子増幅部位の塩基配列およびプライマー

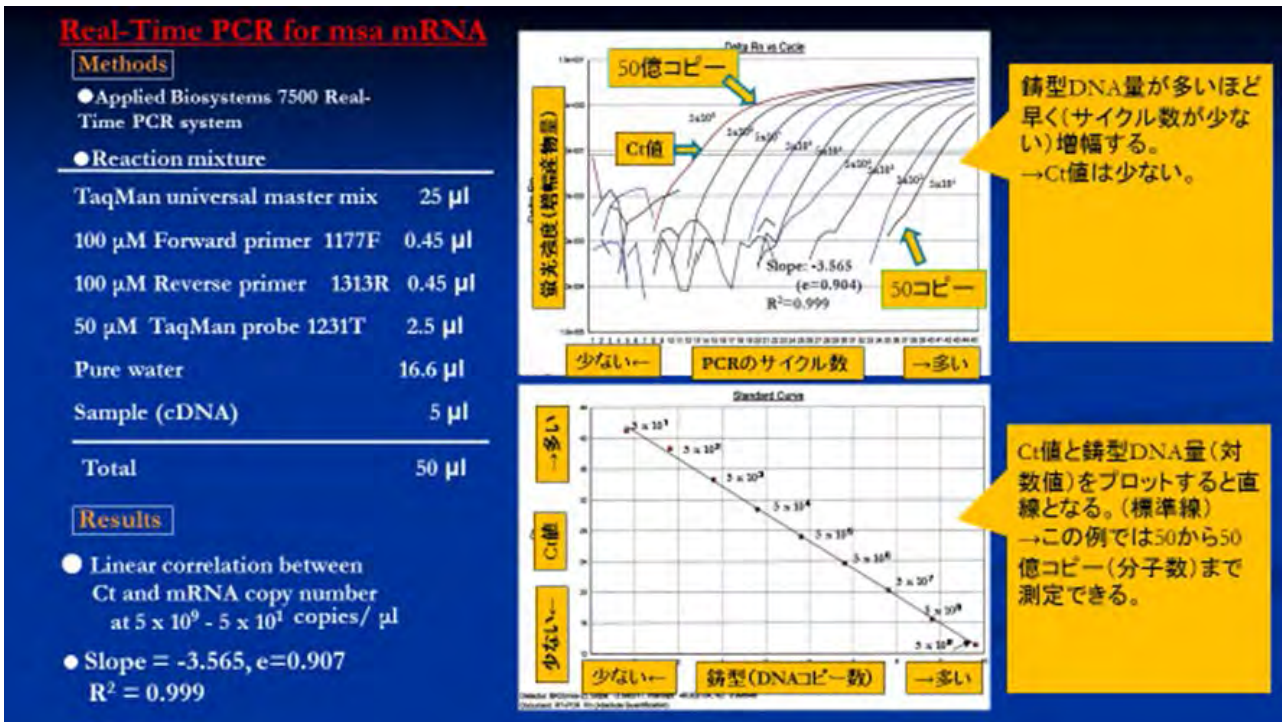


図10 BKD菌msa遺伝子のmRNAを標的としたリアルタイムRT-PCR 検出感度が高くかつ検出範囲も広い

人工海水、毎日全量交換)に移行し18週まで飼育したところ、累積死亡率は33% (対照は14%) となり、海水に移行すると死亡が増加するらしいことも観察しました。このことは、サケ稚魚が淡水飼育中にBKD菌に感染した場

合、放流後或いは海中飼育後、一部の魚で発症・死亡する可能性が高まることを示唆します。なお、実際の(ニジマス・サクラマス等の) 増養殖施設でのBKDによる日間

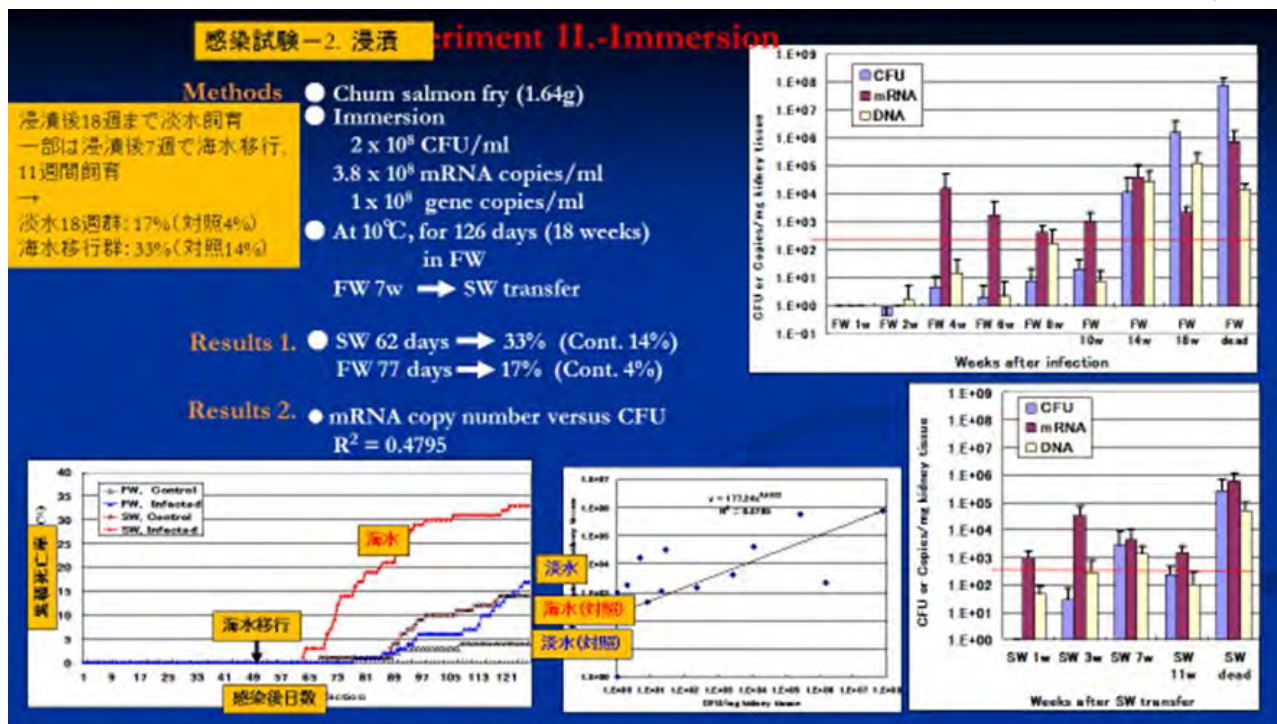


図 11 BKD菌のサケに対する感染試験結果 淡水中で浸漬感染後、10 週程度で死亡し始め 18 週までの累積死亡は 17%であった (対象は 4%) 淡水で感染後、7 週から海水飼育した群は累積死亡率が 33%(ただし、止水飼育、対象は 14%死亡)

死亡率 (1 日に全飼育数の中のどの位が死亡するかという割合) は 0.1%程度と言われてています。

2015 年のサケ遡上親魚の体液液について水野伸也博士 (さけます・内水面水産試験場 内水面資源部) が中心となり nested-PCR で調べたところ、全道の 7 河川中 6 河川から BKD 菌が検出され、検出率は最大 93% となっており、全道的にサケ稚魚への感染や放流後の発症・死亡が危惧されます。

4. IHN ウイルス

IHN ウイルスの DNA 型 (DNA form) について論文としては後に報告しましたが、調べるようになった経緯を述べてみたいと思います。1998 年に道内のあるサケふ化場から魚病検査の依頼があり、通常検査を行いました。その結果病原体は検出されませんでした。日間斃死率は最高 0.1% 程度で浮上後から始まり 10 日程度で斃死はほぼおさまりましたが、IHN 様 (体側筋の出血斑?) の症状がみられました (図 12, 13)。そこで通常細胞培養法を行いました、ウイルスは検出されませんでした。すなわち原因不明の斃死ということですが、当時上司であった坂井勝信博士 (魚病科長) から PCR をやってみたら (RT-PCR ではなく) とアドバイス (?) を受け、やってみたら陽性であったので非常に驚きました (図 14)。どういう意図で坂井さんが言われたのかは未だお聞きし



図 12 Aふ化場におけるサケ斃死魚の症状 サケ斃死魚 (左) は体側筋に出血? がみられる 写真右は正常魚 (表皮を剥いだ状態) 比較のために、IHN 死亡魚 (ニジマス仔魚) を示す IHN 死亡魚では体側に V 字状出血斑 (IHN の典型的な症状の一つ) がみられる

ていませんが、当然お考えがあったと思います。IHN ウイルスは RNA ウイルス (ゲノムとして RNA をもつウイルス) で、その生活史に DNA となる状態は報告されていません。したがって、もし DNA の状態があるなら (これを DNA 型と呼ぶ)、これまで未報告の生活史 (例えばキャリアーなどに関係する) をもつ可能性があります。この DNA 型に関して

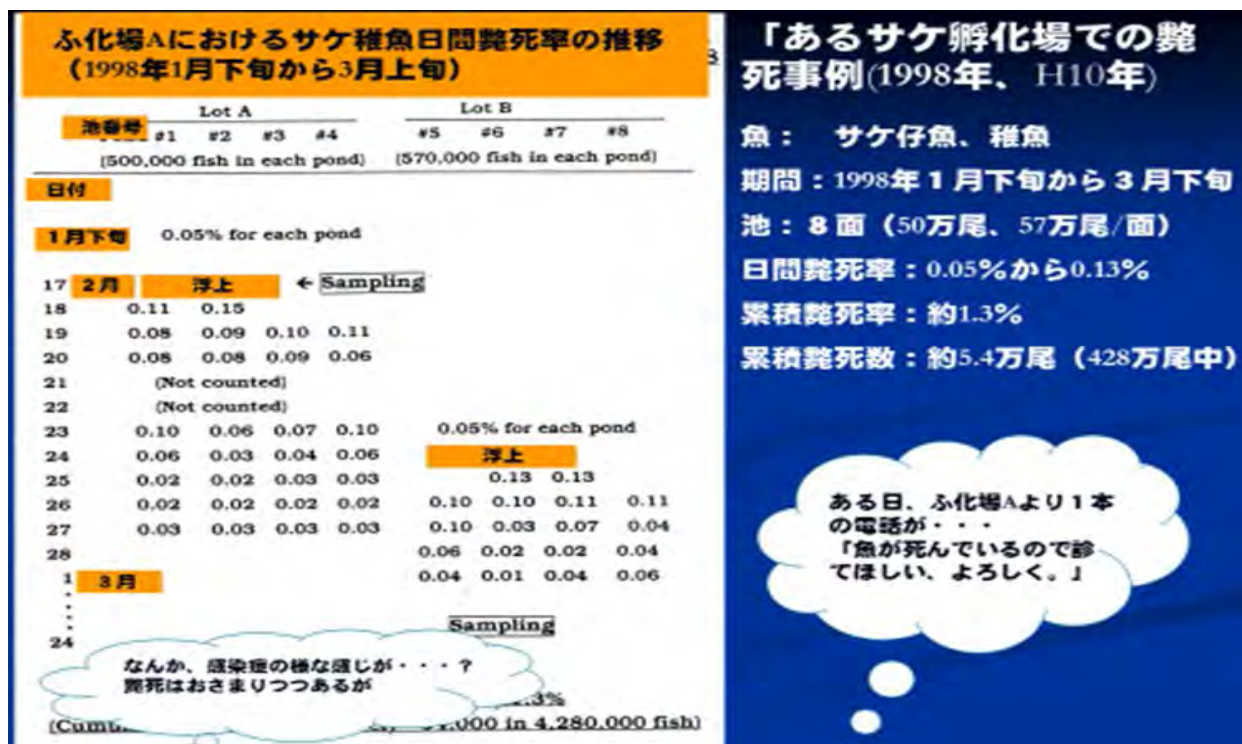


図 13 Aふ化場におけるサケ稚魚斃死状況(日間斃死率の推移) 飼育魚 428 万尾(池 8 面)は、浮上後斃死が見られ(日間斃死率は 0.01 から 0.13%程度)、累積斃死数は約 5.4 万尾であった 病原体(IHNウイルス含む)は検出されず、PCRでIHNウイルスのDNA型が検出された

は後で述べる海産魚の神経壊死症ウイルス(ベータノダウイルス)のDNA型と同様、できる限り徹底的に調べました。なお、このIHNウイルスのDNA型と症状(サケ稚魚でみられた体側の出血様)との関連は不明です。

いろいろな疑問がありますが、少なくとも次のことは言えると思います。1) 魚組織中には弱い逆転写酵素活性が検出され、このDNA型は魚に感染後、体内の逆転写酵素活性で産生される。2) 塩基配列が高度に保存されている。3) 親から精子・卵を介して仔稚魚に伝達されているらしい(図 15)。4) 増養殖魚及び天然魚に広範囲にみられる。5) 調べた限りではDNA型から直ちにウイルス(感染粒子)ができる様にはみえない。これらのことからウイルス(感染粒子)との関連は不明ですが何らかの生物学的働きがあると推測されます。特にキャリアー状態との関連は興味があるところです。

なお、RNAウイルスのDNA型は、IHNウイルスで調べ初めてから数年後に文献検索したところ、人を含めほ乳類の複数のウイルスでも既に報告されており^{6,7)}、RNAウイルスに一般的にみられる現象と思われる。

5. 薬事法改正

2003年5月に「薬事法」が突然改正され、ホルマリン、マラカイトグリーン等の使用が禁止されました。ホルマ

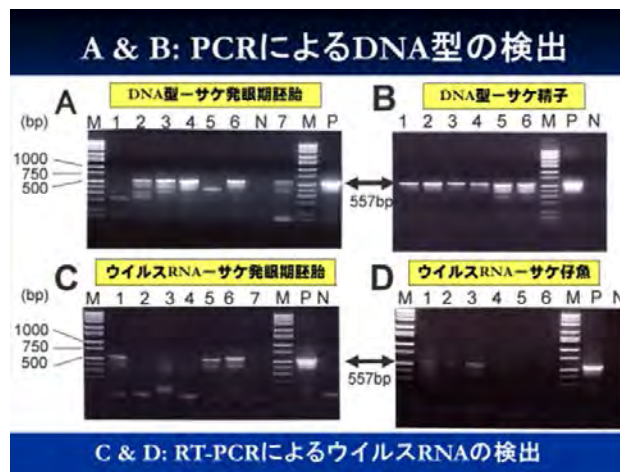


図 14 サケからのIHN ウイルスDNA型の検出 陽性固体では 557bpの陽性バンドがみられた この増幅産物は塩基配列からDNA型と確認された (A)および(B)はPCRの結果を示す (A)サケ発眼期胚胎、(B)サケ精子、(C)および(D)はRT-PCRの結果を示す

表 北海道のサケ科魚類におけるIHNウイルス DNA型の検出率とコピー数

採集		魚種	成長段階	DNA型検出		
場所	年			検出率	コピー数(/mg組織)	配列名
孵化場A	1998	サケ	発眼期胚胎	5/5	1.7×10^4	D(980324)
河川A	2002	サケ	精子	3/10	1.4×10^2	D(CS#1)
河川C	2002	サケ	精子	0/10	検出なし	
河川D	2002	サケ	精子	0/10	検出なし	
河川E	2002	サケ	精子	1/10	2.4×10^2	D(CS#2)
河川F	2002	サケ	精子	0/10	検出なし	
河川G	2002	サケ	精子	0/10	検出なし	
河川H	2002	サケ	精子	0/10	検出なし	
河川I	2002	サケ	精子	1/10	1.1×10^2	D(CS#8)
河川J	2002	サケ	精子	0/10	検出なし	
河川K	2002	サケ	精子	5/10	3.5×10^2	D(CS#10)
河川L	2002	サケ	精子	7/10	4.8×10^1	D(CS#11)
河川M	2002	サケ	精子	1/10	3.7×10^1	D(CS#12)
孵化場E	2003	サケ	稚魚(0.8g) 脳	5/10	1.3×10^1	D(CS#13)
			稚魚(0.8g) 胃腸	0/10	検出なし	
孵化場F	2002	サクラマス	精子	5/10	4.5×10^2	D(MS)
孵化場G	2003	ニジマス	稚魚(6g) 脳	10/10	1.9×10^2	D(RT)
			稚魚(6g) 胃腸	5/10	1.0×10^2	
道孵化場	2003	ニジマス	稚魚(5g) 脳	0/10	検出なし	
			稚魚(5g) 胃腸	0/10	検出なし	

図 15 河川遡上サケ親魚および養殖場におけるニジマス・サクラマスのIHNウイルスDNA型検出結果（1998年から2003年） サケおよびサクラマス精子、ニジマス稚魚等から検出され、コピー数は組織1mg当たり 10^1 から 10^4 程度であった 増幅産物の塩基配列も確認している

リンは、値段の安さ・使い安さ・効果等から、サケ科魚類の原虫病（イクチオポド症など：図16）の予防・治療に使用されていたもので、サケマス類の増養殖の飼育に係る方々始め関係機関、私ども試験研究機関も困惑いたしました。また、マラカイトグリーンは、サケマス類の卵のミズカビ病予防に使用されておりました。このため、薬事法に抵触しない食品等を利用してホルマリンおよびマラカイトグリーンの代替法の開発に着手しました。何人かが手分けして開発にあたりましたが、私は原虫病に対する代替法を担当することとなり、急遽いろいろ試してみましたが、最終的には魚に対する安全性と効果の点から「緑茶の抽出物」（有効成分はカテキン類）にたどりつきました⁸⁾。その後、最近になって水野伸也博士がハーブ添加餌料の原虫病予防法の開発や原因となる原虫（イクチオポドなど）の感染経路解明に係る研究で大きな成果を挙げています。今後の研究の進展と成果の普及が期待されます。この薬事法改正の影響には様々な側面がありますが、増養殖魚は食品であることから安全が優先されるべきという意識の向上、原虫（イクチオポド、

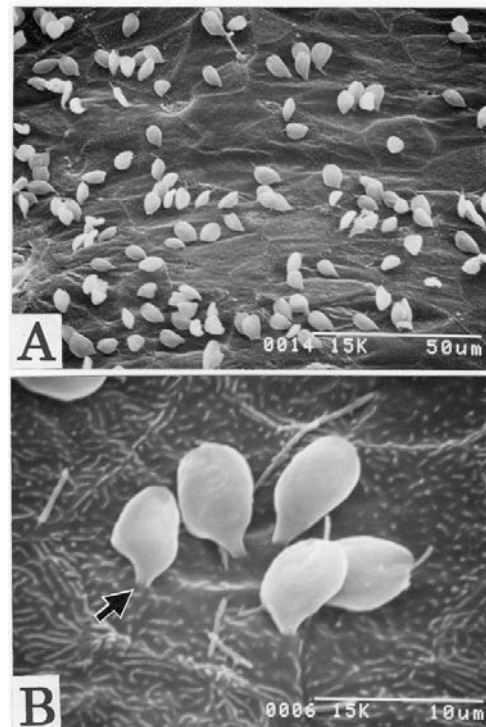


図 16 サケ稚魚体表に寄生するイクチオポド(サケ科魚類の原虫の1種) (A) 走査型電子顕微鏡像、右下バーは50μmを示す (B) 走査型電子顕微鏡像、右下バーは10μmを示す

トリコジナなど) の分類・生態・感染源・感染経路解明などが進んだこと、サケにおける防疫や魚病研究の重要性が明らかになったこと、等の側面もあるかと思えます。

6. 中央水産試験場

1999年4月に、中央水産試験場(余市町)資源増殖部魚病防疫科に異動となり2002年3月までの3年間、伊藤慎悟さん(現 中央水産試験場資源増殖部)および故 西原豊さんと一緒に海産魚の魚病研究に従事しました。当時間題となっていたのは「ヒラメ貧血症」と「ヒラメ・マツカワ等のウイルス性神経壊死症(VNN)」でした。他にもホタテガイの病気(感染症かどうかは不明)、2枚貝の原虫病等がありました。VNNは神経壊死症ウイルス(ベータノダウイルス、2分節ゲノムを有するRNAウイルスの1種)による海産魚のウイルス病ですが、道内でもヒラメおよびマツカワの種苗生産施設等で度々被害が出ており、親魚のELISA検査(神経壊死症ウイルスに対する魚の抗体の検出・定量)や稚魚のRT-PCR検査も行われておりましたが、早急に検査診断技術の改良や防疫に係る研究が必要と思いました。VNNは薬剤もワクチンもないことから防疫対策が重要となります。検査診断ですが、当時は神経壊死症ウイルス検査用の培養細胞(株細胞)も未だ無かったことから、いろいろな海産魚の株細胞をつくることから始めました。最終的にはヒラメ、マツカワ、ニシン等の株細胞を樹立できましたが、残念ながら神経壊死症ウイルスを増殖させることはできませんでした。その後数年して当時広島大学の中井敏博教授が神経壊死症ウイルスが増殖する株細胞(E-11細胞)を樹立しています。中井教授からE-11細胞を分与していただき、ようやく通常の培養細胞法でウイルス検査ができる様になりま

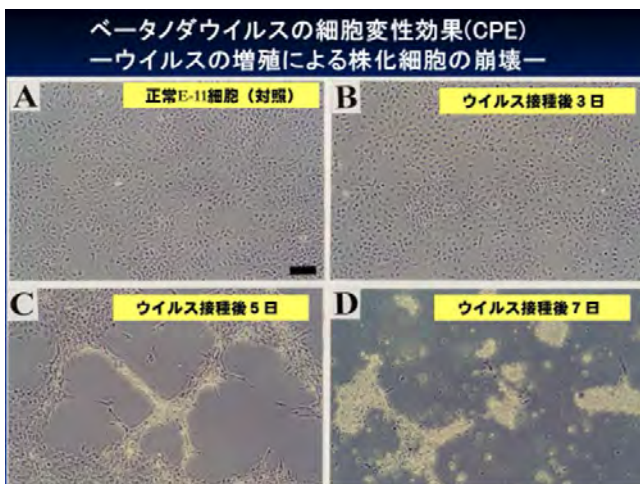


図17 E-11細胞における神経壊死症ウイルス(ベータノダウイルス)の細胞変性効果(CPE) (A)正常なE-11細胞(対照)、(B)ウイルス接種後3日、(C)ウイルス接種後5日、(D)ウイルス接種後7日 接種後日数の経過に伴い細胞の崩壊(CPE)が進行している

した(図17)。これと関連したことですが、私が異動した当初は前述したように神経壊死症ウイルスの検査にはRT-PCRを用いておりました。しかし、私は以前、IHNウイルスのDNA型を調べておりましたので、RT-PCRの解釈には

表 マツカワからのベータノダウイルスDNA型の検出

採集日	試料	検体数	検査陽性数			
			RNA1		RNA2	
			DNA型	ウイルス	DNA型	ウイルス
2000年3月-4月	精子	35	0	0	11	8
2000年3月-4月	未受精卵	18	1	0	9	3
2000年4月	仔魚	5	0	0	1	1
2000年6月	幼魚	2	0	0	1	0
2001年3月	精子	15	5	1	5	0
2001年3月-4月	未受精卵	12	5	0	3	0
2001年4月	未受精卵	4	0	1	1	0
2001年4月	受精卵	7	0	1	4	0
2001年4月	卵巣腔液	5	0	1	4	0
2001年4月	仔魚	6	0	1	4	0
2001年5月	仔魚	5	0	0	0	0
2001年6月	幼魚	20	5	0	1	0
合計		134	17	5	44	12

図18(表) マツカワ種苗からのPCRによる神経壊死症ウイルス(ベータノダウイルス)DNA型の検出 PCRでマツカワ精子、未受精卵、仔魚、幼魚からDNA型が検出された。ただし、ウイルス(感染粒子)は細胞培養法で検出されなかった。なお、本ウイルスは2分節ゲノム(それぞれ、RNA1およびRNA2と呼ばれている)を持つが両ゲノムともにDNA型が存在する。また、図(表)で「ウイルス」とあるのは、ウイルスゲノムRNAのRT-PCRによる検出結果を示す

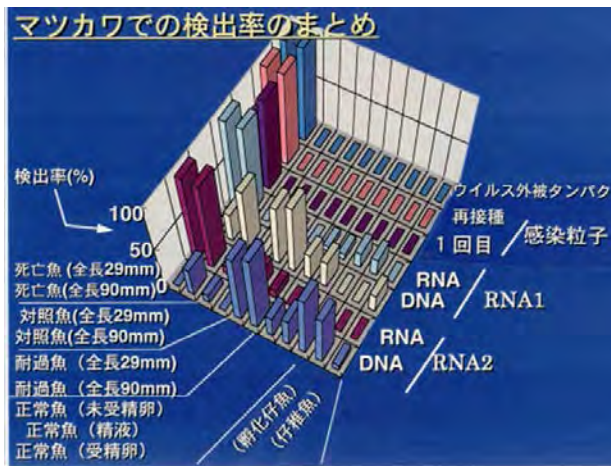


図19 神経壊死症ウイルス(ベータノダウイルス)人為感染後のマツカワ幼魚でのDNA型とウイルス(感染粒子)およびウイルスコートタンパクの検出状況。感染死亡魚ではウイルスとDNA型(およびコートタンパク)が検出されたが、感染耐過魚ではDNA型は検出されたが、ウイルスとコートタンパクは検出されなかった。なお、ウイルス、DNA型およびコートタンパクの検出はそれぞれ、細胞培養法、PCR、免疫ブロッティングによった。対照として使用した正常魚(未感染魚)にもDNA型が検出された



図 20 神経壊死症ウイルス(ベータノダウイルス)DNA型とウイルスゲノム塩基配列の比較
 由来魚種(マツカワかいはヒラメ)が同じウイルスとDNA型では両者の塩基配列はかなり(98%)一致している

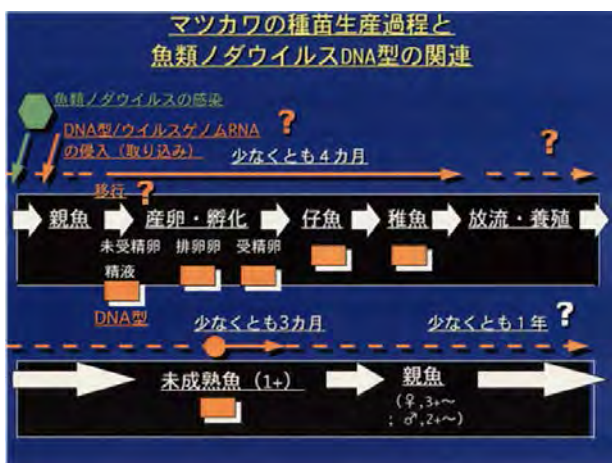


図 21 マツカワの生活史と神経壊死症ウイルス(ベータノダウイルス)DNA型の関連(仮説) DNA型は親魚から卵および精子を介して仔稚魚に伝達され、魚体中で長期間(少なくとも数ヶ月)存在していると推察された

疑問をもちました。すなわち、RT-PCR検査陽性にはDNA型が含まれている可能性があること、また、例えばRT-PCRでウイルスゲノムを検出したとしてもウイルス(感染粒

子virion)との関連は必ずしも明らかでないこと(2分節ゲノムRNAの片方しか検出されなかったため)、などです。その後 実際にヒラメ、マツカワなどから神経壊死症ウイルスDNA型を検出しました⁹⁾(図18)。このDNA型についてもIHNウイルスDNA型と同様にいろいろ調べてみましたが、ヒラメとマツカワでは、1)感染後、魚体内中で魚の逆転写酵素活性で産生するらしいこと(図19)、魚組織中には弱い逆転写酵素活性があること、2)塩基配列が高度に保存されていること(図20)、3)親魚から仔稚魚に伝達され保持される(少なくとも数ヶ月間)らしいこと(図21)、4)株細胞(E-11)中でもDNA型からウイルスコート(外被)タンパクは産生されないこと、等がわかりました。このことはその生物学的な働きは不明ですが、魚体内でDNA型が何らかの働きをしていることを強く示唆します。今後の解明が待たれます。

なお、この過程でウイルスコートタンパク遺伝子のクローニングや部位特異的変異導入、タンパクの発現・精製、抗体作成、トランスフェクションなど一連の組み替えDNA実験に係る研究が経験でき(図22, 23)、神経壊死症ウイルス研究の基盤ができたと考えました。

中央水産試験場には海水（掛け流し）を使用した魚病隔離飼育室（実験室）があり、海産魚だけでなく海水を使ったサケ科魚類の飼育試験・感染試験等ができれば有用な知見が得られると考えましたが、当時はそのような余裕はなく機会もありませんでした。

また、貝類の魚病（ウイルス、原虫が関係する）は本州県で問題となっており、その検査・診断や病理研究等に貝類の株細胞が必要です。しかし、貝類の株細胞は世界的にもほとんどないことからその樹立を試みました。鹿部にあった栽培センターからいろいろな種類の稚貝をいただいて試みましたが、貝の組織に係るコンタミネーションや培地の問題（おそらく）で上手くいきませんでした。2016年には「特定疾病」が強化され、貝類の疾病（ウイルス病、細菌病、原虫病）4種が新たに指定されます。

7. 冷水病

サケ冷水病（図 24）については、国内で初めてMisaka

and Suzuki⁴⁾が報告し、その後共同研究者の三坂さんらが研究を進め大きな成果を挙げたことは前述しました。^{10, 11)}このサケ冷水病菌は冷水病菌ですが、アユの冷水病菌とは異なるグループのようです。冷水病菌は全道の遡上サケ親魚体腔液から毎年高い割合で検出され、一部のサケ飼育施設では被害がでています。このサケ冷水病菌の起源や感染源・感染経路、病毒性に係る変異や遺伝子レベルでの病毒性の判定等は今後必要であり、多くの課題が残されています。

8. 異質3倍体

1994-1995年頃、佐々木義隆博士（現 さけます・内水面水産試験場道東支場）と一緒にサケ科魚類の異質2倍体および3倍体のIHNウイルスに対する抗病性（発症・死亡のし難さ）の検討をしました¹²⁾。佐々木さんがサケマス類10魚種を用いて5種の異質2倍体と4種の異質3倍体を作成し、これらの浮上魚（稚魚）に対してIHNウイルスを接種し生残率から抗病性を比較しました。IHN

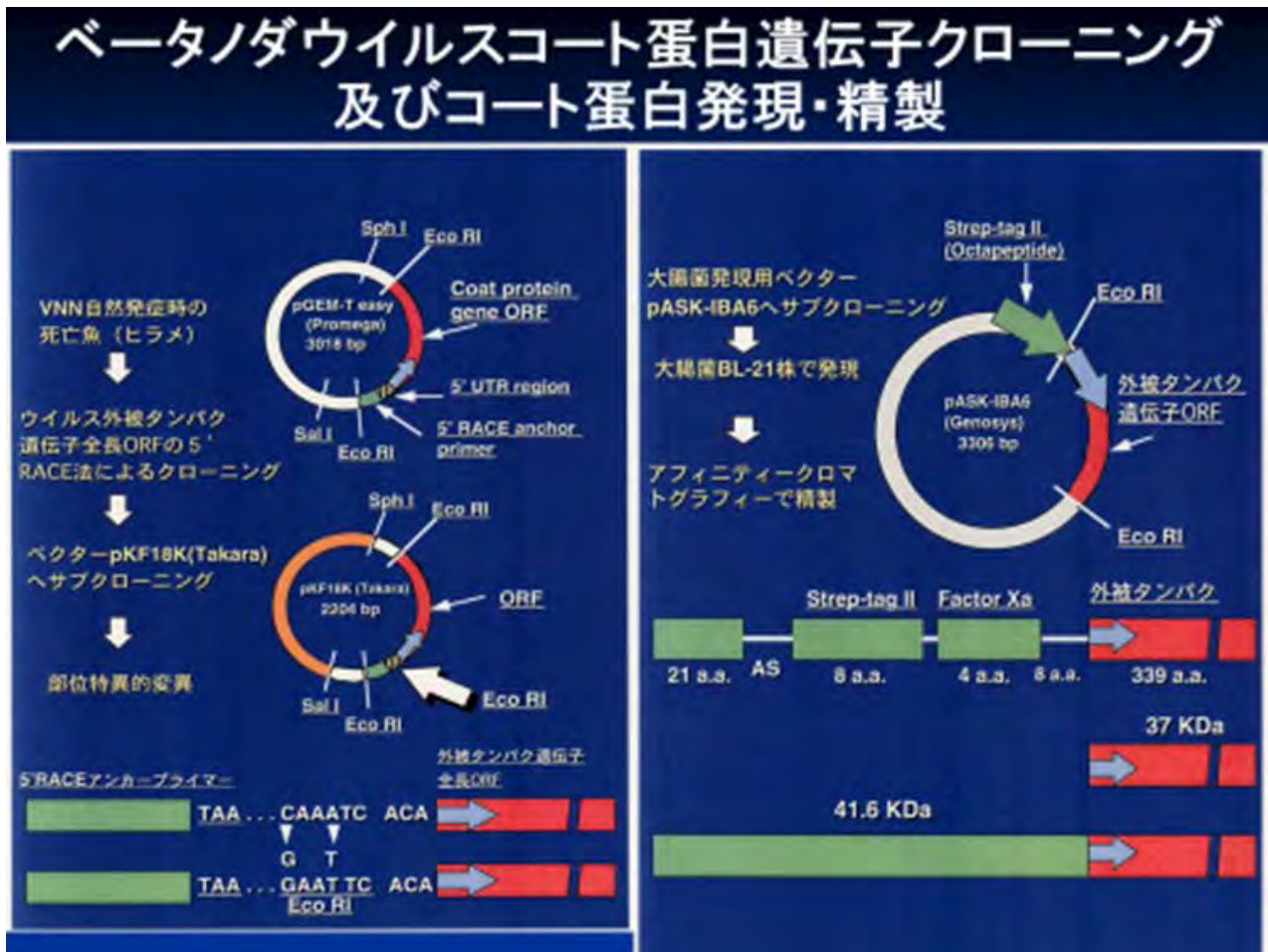


図 22 神経壊死症ウイルス(ベータノダウイルス)コートタンパク遺伝子全長ORFのクローニングと発現・精製 ウイルス感染死亡魚組織より5' RACE法により全長ORFを含むRNA由来のDNAを作成し、部位特異的変異導入を行い大腸菌発現用ベクターにサブクローニング後、発現したウイルスコートタンパクをアフィニティー精製し、抗体作成に用いた

```

106TCCGCTCCGCTCTTGGCAATCCAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 10
      E V P E C E E E C E E
120TCCGCGCCACCGAGGCTGCGGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 120
      S A T T E A A S P Q P E S E A S S S E
140AGTACCGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 140
      S H E T D A P V T X A Z T Y T G F G E C
160ACCGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 160
      T H D V E L L G I S R I S Q A Y L P A V
180ACCGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 180
      S C T D G T L Y V D A T I Y P E L L P E
200CTGGGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 200
      L S H A A R I P Q E T A V S T L E P E I
220ACCGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 220
      Q P R C P A N T C C C T V A C F L P D P
240ACCGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 240
      S D S D E T F D A L Q A T R O X Y V Y A E
260TGTGGGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 260
      K R E S D T V F P Q T T R T L L R T D T
280AGGAGGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 280
      G E D Q L L T S F O A L I L L C V G D H
300ACCGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 300
      T D V Y E L L G I S R I S Q A Y L P A V
320CTGGGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 320
      L E T P E T T A P C B T Q C L F S D
340TCCGCGCCACCGAGGCTGCGGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 340
      S L A A S R F E S I L L G F T Q L S Z A
360ACCGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 360
      P D Q A I X F G O R F L S I D Y L L C T
380AGGAGGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 380
      C D Y D R A V T V H L E E F A C T S S T
400CTGGGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 400
      P A G Q P R O I R D D P N U T F T D C
420GTGCTTACTACTGAGGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 420
      Y A T S S D A Q F R Q I L L P V E T V C
440ACCGAGGCTGATGAGGCTGCTGCTGAGGCTGACCGAGGCTGGAGGAAATTTGGTAAK 440
      T E H D S E E
    
```

コート蛋白遺伝子 全長ORFクローニング

コート蛋白発現・精製

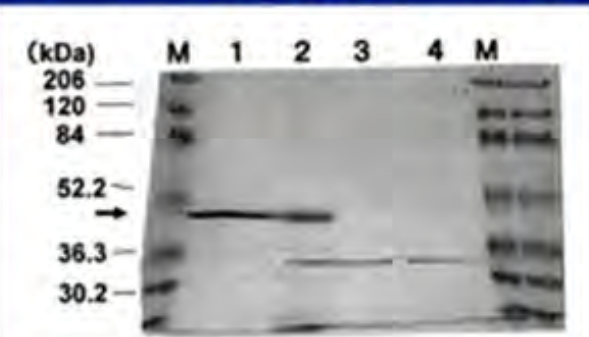


Fig. 5. Confirmation of expression of fusion protein in *E. coli* BL-21 (indicated by →) by immunoblot assay. Lane 1: affinity-purified fusion protein (deduced molecular weight 40006). Lane 2: *E. coli* BL-21 lysate with recombinant vector pASK-IBA6/coat protein gene ORF after induction of expression. Lane 3: *E. coli* BL-21 lysate with vector pASK-IBA6 after induction. Lane 4: *E. coli* lysate after induction. M: prestained SDS-PAGE standards

図 23 神経壊死症ウイルス(ベータナダウイルス)コートタンパク遺伝子の全長ORF塩基配列およびコートタンパクの発現・精製 (左)コートタンパク遺伝子全長ORFは 1017 塩基(338 アミノ酸残基)で、ノダウイルスコートタンパクに特徴的なアミノ酸残基がみられる(D-75 およびアルギニンの連続したところ、R-R-R、2 箇所) (右)大腸菌で発現されたコートタンパクの SDS-PAGE 電気泳動像 コートタンパクは融合タンパクとして大腸菌で発現後 アフィニティー精製された レーン 1 及び 2 で融合タンパクのバンド(推定質量約 40kDa)(⇒)がみられる Mは質量のマーカー、レーン 1 は精製したコートタンパク、レーン 2 は発現した大腸菌のライセート(未精製)、レーン 3 は発現ベクターのみを含む大腸菌のライセート、レーン 4 は大腸菌のみのライセート、をそれぞれ示す



図 24 冷水病で死亡したサケ稚魚 冷水病の典型的な症状(尾柄部の欠損)がみられる (三坂尚行氏提供)

ウイルスに対しては、これまでの研究や実際の増養殖現場における事例から、サクラマスとヒメマスは抗病性が

低く、サケ、カラフトマス、オシヨロコマ(イワナ)は抗病性が高いと考えられます。抗病性の低いサクラマスとヒメマスは、抗病性の高いサケ、カラフトマス、オシヨロコマとの交雑により抗病性が明らかに高まる傾向を示しました。対照として用いたサクラマス、ヒメマス、サケおよびカラフトマスの生残率はそれぞれ、1%、4%、93%および 99%であったのに対して、サクラマス雌×オシヨロコマ雄では 50%、カラフトマス雌×サクラマス雄では 67%となりました。特にサクラマスとカラフトマスの交雑魚ではカラフトマスのゲノム比が高いほど抗病性が高まる傾向がありました。すなわち、生残率はサクラマスが最も低く(1%)、サクラマス雌×カラフトマス雄異質 3 倍体(17%)、カラフトマス雌×サクラマス雄異質 3 倍体、サクラマス雌×カラフトマス雄異質 2 倍体お

よびカラフトマス雌×サクラマス雄異質2倍体(67%から78%)、カラフトマス(99%)となりました。また、生体防御の指標の1つとして測定した補体活性SH₅₀(50% spontaneous hemolytic activity)は、抗病性の高い異質2倍体魚および異質3倍体魚では、抗病性の高いカラフトマスおよびサケと同じ64ないし128の高い補体価を示しました。

異質3倍体は養殖用品種として有用な性質(抗病性、高成長性など)が期待され、また抗病性を検討するモデルとしての利用も考えられます。養殖の効率化のためには有用な形質をもち養殖をする上で効率の良い魚の作出が必要です。今後選抜育種や新たな技術(ゲノム編集など)を組み合わせることで養殖に適した魚種を作出することが必要でしょう。特に近年欧米では、輸入魚粉の高騰や環境負荷の低減等に対応するため、動物タンパク源の割合が低い飼料で良い成長を示すサケマス類(ベジタブルフィッシュ)が作出されすでに事業規模で生産されています。

9. 終わりに

今後の魚病に係る研究で必要と思うことなどを気が付いたままに書いてみます。これについては研究展開方向「サケ科魚類の魚病研究」ですでにまとめられています。これも含めて考えてみたいと思います。

1) 定量

病原体の保有状況・汚染状況等を定量的に明らかにすることは防疫の第1歩といえるでしょう。特にIHN、BKD、冷水病のように道内(国内)ですでにまん延状態になっている魚病に関しては、現状を把握し、適切な防疫対策を行うために必要です。また、感染経路や感染源を明らかにするためにも必要です。即ち、環境中から病原体を完全に無くすることは最早不可能なので、少なくとも飼育魚に感染させない、という考え方も成り立つでしょう。近年リアルタイムPCRが普及し、遺伝子発現の解析はもとより病原体だけでなく遺伝子組み換え食品等の検出でも使用されています。結果の解釈には一定の注意が必要ですが、リアルタイムPCRは数々の利点を有し、特に培養に時間がかかるあるいは培養できない病原体の迅速な検出・定量には必須のツールとなっています。工夫次第で今後さらに活用されるでしょう。

2) キャリアーの検出

病原体を保有していても症状が出ない個体をキャリアーと呼んでいます。病原体の種類により、あるいは宿主の状態(性成熟など)により病原体が検出される場合も

あれば検出されない場合もあるようです。例えば、IHNでは、親魚の体腔液以外ではキャリアーは検出不可であり、そのためキャリアーの移動によりIHNウイルスが拡散したりキャリアーを施設内に持ち込んでIHNが発生したと考えられる事例が多くあります。したがって、増養殖ではキャリアーの検出技術の開発は重要な課題となっています。さらに、北海道のサケ科魚類の魚病を考える場合、増養殖だけでなく天然にいるサケ科魚類の病原体保有状況や病原体の生態を知るためにもキャリアーの検出技術が必要です。

3) 株のタイピング

一般的に、病原体は同じ種類であっても株により病毒性・病原性が大きく異なる場合があります。例えば、前述した冷水病菌では、株により宿主(ニジマス、サケなど)に対する病毒性が大きく異なることが感染試験で明らかとなっています⁴⁾。感染試験は手間もかかり、条件を一定にすることが困難(魚の大きさなど)なことから、感染試験によらずに株の病毒性等の性質を知ることができれば、防疫に役立てることができそうです。次世代シーケンサーは未だ発展途上ですが、大量の塩基配列データを効率的に読めることから、病原体の株のゲノム解析(塩基配列の比較など)によりその病毒性等の性質を判定できる可能性があります。

4) PCRは何を増幅しているのか?

PCRは近年の生物学の分野において革命的な影響を与えた技術の一つと言えるでしょう。その簡便さと感度の鋭敏さ、応用の広さなどから様々な使われ方をしています。魚病の分野でも培養ができない病原体の検出や、キャリアー状態のように通常の培養法では感度が低く検出できない場合等に病原体の検出方法の1つとして使われています。この場合注意しなければいけないのは、PCRはDNA(病原体特異的なDNA)の増幅方法であって、病原体(特に、生きていて増殖できる病原体)の直接の検出方法ではないことです。したがって、PCR(およびRT-PCR、リアルタイムPCRなど)の結果と生きて増殖できる病原体の存在の関係を解釈する時には常に注意が必要です。病原菌には生きていても増殖できない状態(viable but non-culturable state)も知られていますし、RNAウイルスにはDNA型が存在していますし、また、例えウイルスRNAが検出されても活性のある(増えることができる)ウイルスの存在を必ずしも示すとは限りません。

5) 体腔液

体腔液中には病原体がしばしば検出され、魚がいつ、どこで感染したかは大きな謎ですが、さらになぜ(性成熟に伴い)体腔液中に増えるのか謎です。現象的にはスモルト化などのイベント時にも病原体は増え易いように

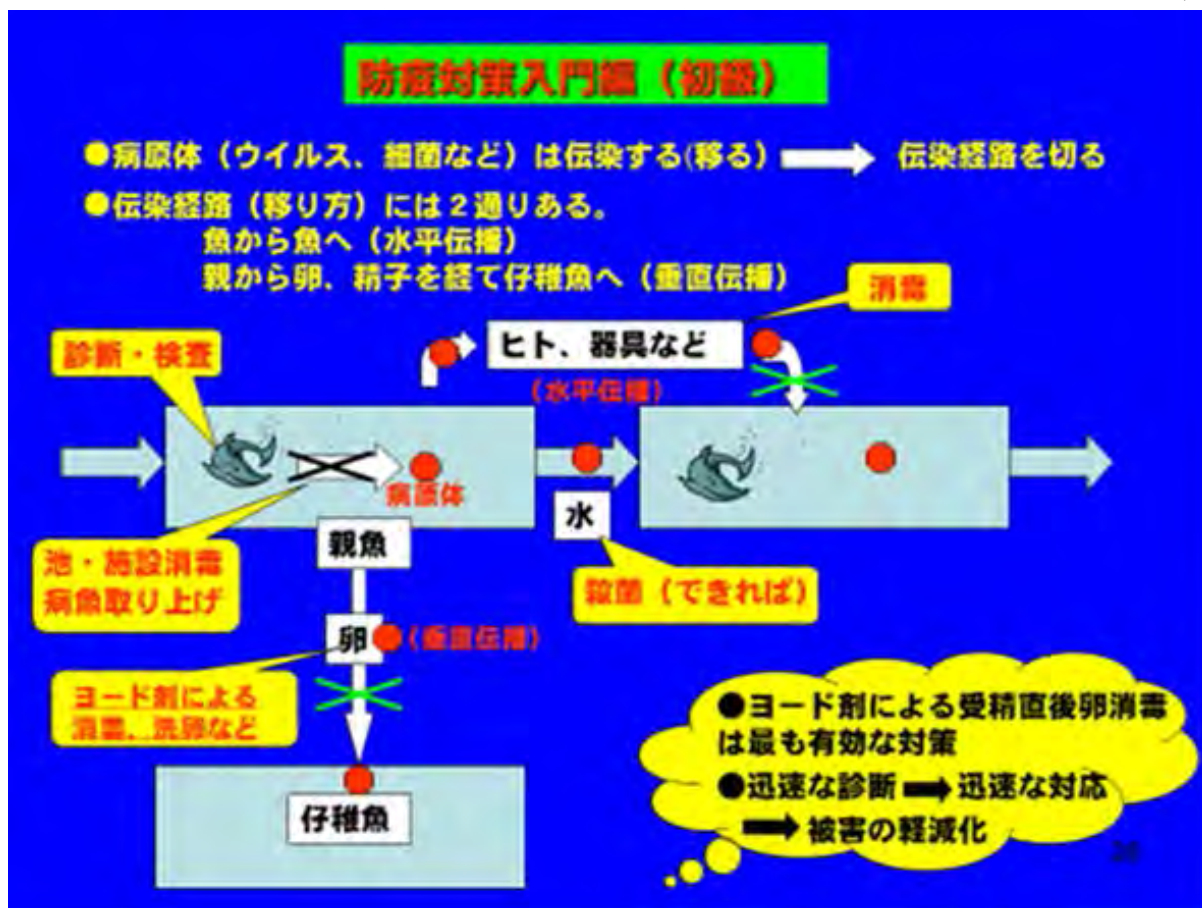


図 25 防疫対策の基本 病原体の水平感染(伝播)および垂直感染(伝播)を防ぐことが大事である このうち、特に卵のヨード剤消毒は費用対効果が高い 今後は洗卵等も組み合わせて防疫を強化することが望まれる

みえます。病原体と宿主の相互関係には非常に興味深いものがあり、防疫対策を進めるためにもこの相互関係(病原体の病原性・病毒性、宿主の免疫機構など)を解明し、予防・治療・防疫に利用することが必要と思います。

6) 株の保存

病原体(微生物)は増殖速度が速く、性質が変化(変異)することから、分離された病原体(株)ごとに保存することが必要です。株は病原体に係る研究の基盤となるものであり、研究機関の財産です。株の保存には手間もかかり予算も必要ですが、魚病研究には必要不可欠であることを今一度認識すべきです。

7) 防疫対策強化(図 25)

日本国内では、サケマス類の新たな水産用医薬品開発(ワクチン開発含む)・実用化は近い将来も進む可能性は低いことから、医薬品に頼らない対策が必要です。その一つとして卵消毒・池施設消毒等のいわゆる「防疫対策」の徹底があります。これまでのところ、ヨード剤による卵消毒は費用対効果が高く、ぜひ徹底していただきたいことの一つです。今後も新たな技術開発は進むでしょう

が、一番大切なことは魚の飼育に係る方々の防疫に対する意識だと思います。

8) 医薬品に頼らない予防・治療

食品としての安全の観点から、医薬品に頼らない飼育が望ましいことは言うまでもありません。当場の水野伸也博士は、平成 15 年の薬事法改正によるホルマリン使用禁止を受けて、サケ科魚類の原虫病対策に取り組み、ハーブ添加餌料による予防方法の開発を始め大きな成果を挙げています。これはサケ科魚類に限らず今後の魚病研究の一つの方向性を示す研究といえるでしょう。水野博士は種苗性評価やストレス軽減など幅広く研究に取り組んでおり、今後の研究の進展が期待されます。

9) サケ科魚類の魚病

北海道内に生息するサケ科魚類には、養殖魚、増殖用種苗、天然魚等がありますが、全てサケ科魚類の病原体(ウイルス・細菌・原虫等)に感染・発症・死亡します(その程度は魚種、条件により異なる)し、一部はキャリアーとなります。したがって、全てのサケ科魚類が防疫の対象となり、一体的な対策が必要となります。北海道内はすでに、IHN、BKD、冷水病等の多くの魚病がまん延し

ており、さらに道内未侵入の病原体が侵入するリスクは明らかに高まっています。特にサケは今のところ（ニジマスやサクラマス、ヒメマスに比べて）重大な感染症は少ないですが、今後は防疫対策に充分留意することが必要でしょう。BKD菌は2015年の調査でも、全道の調べたサケ体腔液中に高い割合で検出されています。

10) 周年（一生）飼育

サケマス内水面養殖と増殖は、魚病を含めて共通の技術からなっています。サケ、カラフトマス増殖では周年（一生）飼育しておりませんが、ニジマス、サクラマス等では養殖魚として淡水で周年成熟するまで飼育しております。したがって魚病含め生理的な研究においてサケ科魚類のモデルとしての内水面養殖魚種の利用は効率的だと思います。

さらに、海水および淡水を使用したサケ・サクラマス等の周年飼育（掛け流し、循環式）ができれば魚病だけでなく生理・生態に係る重要な知見が得られるでしょう。例えば、淡水で感染した魚および感染耐過魚（キャリアーとなっている可能性あり）を淡水と海水で周年一生飼育できれば明らかになることは多いと思います。

11) 未知の魚病

1999年に「持続的養殖生産確保法」が施行され、その中で11種の魚病が「特定疾病」として指定されました。この特定疾病対象魚病は2016年には23種になる予定です。サケ科魚類については現行4種の魚病が指定されており、2016年にはさらに「サケ科魚類のアルファウイルス感染症」と「(サケ科魚類の) 旋回病」の2種が追加されます。このうち、「レッドマウス病」（細菌病の一種）が2015年に本州県のサケ稚魚で発生し、放流後残っていた魚が全数処分となりました。感染経路は明らかではなく、さらにその後の調査で河川の淡水魚にレッドマウス病菌が検出されています。このことは、レッドマウス病菌のこれまでの報告（宿主域が魚類だけでなく鳥、ほ乳類など非常に広い）から考えると、この病原菌が発生した河川（地域）に定着する可能性を示しています。また、「特定疾病」に指定されていなくともサケ科魚類に被害が出る魚病（感染症）は多く、今後侵入してくる可能性はあります。

さらに、国内で被害があるが北海道内に未侵入の魚病もあります。例えばEIBS（アイブス）(erythrocytic



図 26 元気に泳ぐ遡上サケ親魚の群れ 長年魚病に関わってきたせいか、元気な魚をみるのは気持ちの良いものである

inclusion body syndrome、赤血球封入対症候群) (ウイルス病の1種) は本州県の養殖ギンザケや養殖ニジマス等で被害が報告されており、道内でも今後の発生が危惧されます。ちなみにEIBSに対する薬剤・ワクチン等は開発されていないことから防疫対策が重要です。

魚病は一度被害があると、診断・検査から迅速な防疫対策と緊急対応に追われます。私自身、既に道内で発生していた病気 (IHN、BKD等) の大規模な発生・被害だけでなく道内未報告の新たな病気 (ニジマスヘルペスウイルス病《OMVによる病気》¹³⁾、コイヘルペスウイルス病、サケ冷水病など) を経験しました。いざという時のためにも、対応できる体制 (人・機器・経験・研究の蓄積・予算?・他研究機関との連携など) を常日頃から整えておく必要があります。備えあれば憂いなしです。

12) 増養殖と魚病(図 26)

そもそも、人が生物を飼育管理しようとする病気の問題は避けて通れません。

増養殖が盛んになるほど魚病 (感染症に限りません) は頻発します。したがって、増養殖に係る研究と魚病研究は平行して進める必要があるでしょう。世界の養殖および漁業生産をみると、世界の養殖生産量は2012年には約9,000万トンで全生産 (養殖+漁業) に占める割合は約50%となっています (国際連合食料農業機関FAO、2014年)。サケマス漁業についてみると、生産量は近年ほぼ横ばい (80から100万トン) で2011年の漁獲量は約106万トンですが、サケマス養殖生産量は1990年代から急激に増加し、2011年には約267万トンとなっています (FAO、2013年)。世界的にサケマス類は消費者に好まれているようで、需要は増えています。そのため近年、国内および道内でも大規模な (数千トンから数万トン程度) サケマス養殖 (淡水、海面、閉鎖循環式等) の動きがあります。サケマス養殖には餌料の高騰、飼育用水量不足、排水処理、品種改良 (家魚化)、等の課題がありますが、魚病問題もその一つです。養殖の効率化を図る上で、今後養殖に適した魚の品種改良 (家魚化) が進むと思いますが、その場合 魚病問題はより深刻になるでしょう。

サケマスの増養殖を考えると、北海道の独自性を考えざるを得ません。確かに国内各地でサケマスの増養殖は行われていますが、生産量・生産額から言って日本国内で北海道ほどサケマス増養殖 (特に増殖) が盛んな地域はないでしょう。したがって、サケマスの魚病に関しては北海道ほどリスクが高く魚病に係る研究が必要とされる地域もないように思います。サケマスの魚病研究に関しては国内外の研究機関・関係機関と連携をもちながら、北海道が研究をリードすることが必要ではないでしょうか。ちなみに、世界のサケマスに係る魚病研究は、世界

的なサケマス養殖の進展を反映してか、その進み方は早いようです。例えば、主要な魚病のワクチンはすでに国外では市販されています (ただし、日本国内ではすぐには使用できない。それは別の大きな問題)。

13) モニタリング

体腔液検査による親魚の病原体保有状況の把握が防疫にとって重要であることは言うまでも無いですが、体腔液検査始め日常の魚病診断や現場での調査等にこそ研究シーズがあることも事実です。その意味でもモニタリングは研究の基盤と思います。

2004年にサケ体腔液中のBKD菌と冷水病菌を調べ始める前は、これら病原菌が北海道の遡上サケ体腔液中に広く分布しているとは想像できませんでした (検出される可能性はあるとは思っておりましたが)。大袈裟な言い方をすると、“自然” は人間の想像力を遙かに超えていると思います。

14) ミステリー

研究をやっていると新たな疑問が次々と湧いてくるものですが、それについて私の仮説も含めて書いてみます。

●上述したように、体腔液中にはIHN ウイルス、冷水病菌、BKD菌始めいろいろな病原体が検出されますが、この病原体はいつ、どこで、どのようにサケ等に感染したのでしょうか?どこにこれら病原体は存在していたのでしょうか?魅力的な仮説は、サケマス類のこれら病原体は宿主 (サケマス類) の生活史に合わせて存在しているというものです (私の仮説)。すなわち、親魚体腔液中に存在する病原体は仔稚魚に感染し、生き残った仔稚魚はキャリアーとなり、病原体を保有したまま回帰し、再び体腔液から仔稚魚に感染すると仮定すると、どこで感染したかの説明はつきます。この仮説が正しければ垂直感染 (卵表面の病原体を介した感染と卵内感染) を遮断すれば体腔液中の病原体の検出率は減少しても良いように思います。しかし、サケ体腔液の病原体の検出状況は年により大きく異なっており、これはなぜか、という疑問は残ります。サケマス類の周年 (一生) 飼育を行い、キャリアー検出等の技術開発が進めば糸口がつかめるかも知れません。

●RNAウイルスのDNA型は、上述したように種々のRNAウイルスに広く存在しているようです。これらDNA型は魚体中で何らかの働きをしていると思いますが、調べた限りでは少なくとも親から仔稚魚に伝達されているようにみえます。目的論的な言い方ですが、サケマス類が外来 (ウイルス由来) の遺伝子を利用しているか、ウイルスが自身のゲノム増殖に宿主を利用しているのか、或いはその両方なのか?謎です。DNA型の宿主中での存在状態

(どの組織にどの様な状態で存在しているか)は何か?、逆転写酵素活性の分子の本体は何か?、生物的な働きは何か?、など多くの疑問があります。

●病原体の変異・魚種により異なる感受性： 病原体の変異は一般的な現象ですがサケマス類の魚病でも度々観察されています。例えば、IHNは1950年代に米国のニジマス稚魚で初めて報告され、その後1970年代には国内での事例報告がありますが、いずれもサケマス類の稚魚の病気として報告されています。しかし、親魚等のニジマスとサクラマス(ヤマベ)大型魚でも発症・死亡がみられるようになったことは、30年前に私自身経験しました。最近では本州県でも同様の現象が見られるようです。私たちは、宿主(サケマス類)と寄生物(IHNウイルス)がこれから共存していく過程を見ているのでしょうか? IHNウイルスの変異に対して人は増養殖という活動を介してどの様な影響を与えているのでしょうか?また、魚種によりIHNの罹り易さ死に易さには大きな差があります。ニジマス、サクラマス、ヒメマス等はIHNには“弱い”ですが、サケ、カラフトマス、オシヨロコマ(イワナ)、ギンザケ等は“強く”、感染してもほぼ発症・死亡しません(キャリアーにはなるかも知れない)。これは魚やIHNウイルスにとってどの様な意味があるのか?何らかのトレードオフの反映なのか?病原体と宿主双方のゲノム解析等が進めばヒントが見つかるかも知れません。

最後に、これまで31年間一緒に働かせていただいた職場の上司・先輩・同僚・部下の方々に感謝申し上げます。ここでは触れませんが、特に、道東内水面室(網走市)、道北支場(増毛町)、道南支場(八雲町熊石)で職場を同じくした方々に心から感謝申し上げます。

(内水面資源部 すずき くにお)

参考文献

1) Suzuki K (1984). A light and electron microscope study on the phagocytosis of leucocytes in rockfish and rainbow trout. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Fisheries Science), Volume 50, Pages 1305-1315.
 2) Suzuki K (1986). Morphological and phagocytic characteristics of peritoneal exudate cells in tilapia, *Oreochromis niloticus* (Trewaves), and carp, *Cyprinus carpio* L., Journal of Fish Biology, Volume 29, Pages 349-364.

3) Suzuki K and Sakai DK (2007). Real-time PCR for quantification of viable *Renibacterium salmoninarum* in chum salmon *Oncorhynchus keta*. Disease of Aquatic Organisms, Volume 74, Pages 209-223.
 4) Misaka N and Suzuki K (2007). Detection of *Flavobacterium psychrophilum* in chum salmon *Oncorhynchus keta* and virulence of isolated strains to salmonid fishes. Fish Pathology, Volume 42, Pages 201-209.
 5) Suzuki K and Sakai DK (2009). Presence of homologous DNAs to M gene RNA of infectious hematopoietic necrosis virus in chum salmon *Oncorhynchus keta*. Fish Pathology, Volume 44, Pages 24-32.
 6) Zhdanov VM (1975). Integration of viral genomes. Nature, Volume 256, Pages 471-473.
 7) Klenerman P, Hengartner H and Zinkernagel RM (1997). A non-retroviral RNA virus persists in DNA form. Nature, Volume 390, Pages 298-301.
 8) Suzuki K, Misaka N and Sakai DK (2006). Efficacy of green tea extract on removal of the ectoparasitic flagellate *Ichthyobodo necator* from chum salmon, *Oncorhynchus keta*, and masu salmon, *O. masou*. Aquaculture, Volume 259, Pages 17-27.
 9) Suzuki K (2006). Detection of DNAs homologous to beta nodavirus genome RNAs in barfin flounder *Verasper moseri* and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Diseases of Aquatic Organisms, Volume 72, 225-239.
 10) Misaka N, Hatakeyama M, Koide N and Suzuki K (2013). The variation in virulence among *Flavobacterium psychrophilum* strains isolated from chum salmon *Oncorhynchus keta*. Fish Pathology, Volume 48, Pages 17-20.
 11) Misaka N, Hatakeyama M and Suzuki K (2015). Development of real-time RT-PCR assay for quantification of live *Flavobacterium psychrophilum*, the causative agent of bacterial coldwater disease, in chum salmon *Oncorhynchus keta* fry in Hokkaido, Japan. In 4th International Conference on *Flavobacterium. Flavobacterium* 2015, Auburn, AL, USA.
 12) 佐々木義隆・鈴木邦夫 (1995) サケ・マス類異質3倍体によるIHN抗病性魚の作出. BRAINテクノニュース, 51巻, 15-18ページ.
 13) 鈴木邦夫 (1993) ニジマスの新しいウイルス病. 試験研究は今 No.165, 北海道水産部.