

さけます・内水面シリーズ

新しい感染症診断技術の開発に向けて

キーワード：サケ科魚、魚病診断技術、血液、粘液

はじめに

最近では国内でサーモン養殖（ご当地サーモン）がブームとなっており、現在ではそのブランド数は全国で80以上にもものぼります。道内各地でもサーモン養殖を開始する養殖経営体が増加しております。一方で、道内の放流用種苗や養殖魚には、伝染性造血器壊死症（Infectious hematopoietic necrosis; IHN）と呼ばれるウイルス感染症や細菌性冷水病等の細菌感染症が発生しており、飼育している魚に深刻な死亡被害を及ぼしています。これら感染症の感染拡大を防ぎ、水産業の生産量を安定化させるためには、感染症発生初期段階での正確で迅速な診断、診断結果に基づく最適な治療・感染拡大防止対策の選択と実施、再発しないよう防疫対策の徹底が重要です。

道総研さけます・内水面水産試験場では、感染拡大防止措置の一環として、民間増養殖経営体で飼育されているサケ科魚類を含む多くの魚介類について魚病検査を行っています。本稿では、私たちが魚病検査で実施している検査について、加えて現在行っている新しい検査技術開発の試みについてご紹介します。

魚病検査

魚病検査では、増養殖施設で発生した不調魚（瀕死状態の魚）について検査を行います。まず、飼育池での遊泳の様子や摂餌活性等について、飼育

者に聞き取りを行います。次に、当場に冷蔵で送付されてきた不調魚について、症状を確認します。また、サケ科魚の場合、多くは腎臓や脾臓に異常をきたすことが多いため、これらを材料としてウイルスや細菌の培養検査、PCRによる遺伝子検査を実施します（図1）。これらの情報をもとに不調の原因を推定します。

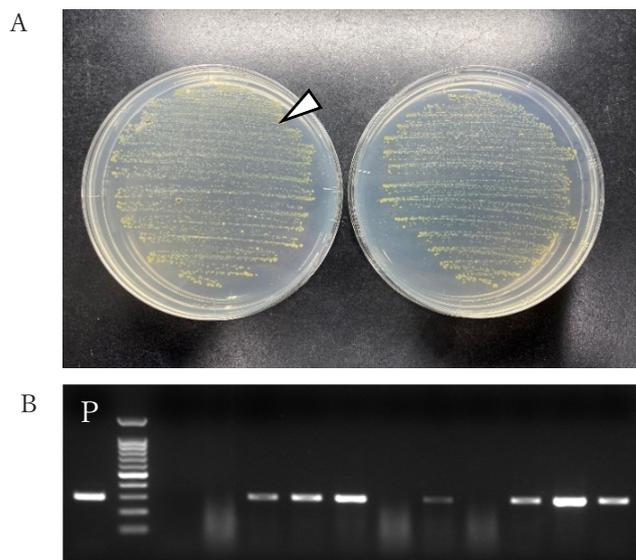


図1 魚病検査の一例（細菌検査とPCR検査）

- A) 寒天培地上にできる細菌の集落の形状や色を見て判定します。写真では黄色いコロニー（細菌の集落）が一面に生えています（白矢頭）。
- B) PCR検査では、PCR後に電気泳動によりバンド（白く光る部分）が出現するかどうかを確認します。陽性対照（P）と同じ位置にバンドが出現すると感染していると判定されます。

魚病検査の抱える課題

PCR検査や培養検査を行うことで不調の原因に関する情報を得ることができますが、これらの検査方法にも限界があります。例えば、これらの検査では検出したい病原体の遺伝子が宿主（魚）体内に限りなく少ないとき（感染初期等）には検出することが困難です。また、培養法は適切な条件で行わなければ病原体を増殖・培養することができませんが、全ての感染症を念頭に置いて網羅的に検査を実施するのは難しいです。加えて、増殖速度の遅い病原体を検出するには長期間を要するという問題もあります。さらに、現在の魚病検査では不調魚の臓器を材料とするため生かしたままでは検査ができません。近年は大型魚での感染症発生も確認されており、産業価値の高い成魚に対し現行の検査を行うには民間養殖経営体にとってコストがかかります。このような魚病検査の抱える課題を解決するため、病原体以外の物質を検出する診断技術や魚を生かしたまま採取できる材料を検査対象とした新たな診断技術の開発が必要だと考えました。

血液を用いた診断法の開発

ヒトや家畜の感染症早期診断には、血液中に存在する物質（タンパク質や代謝物等）の含有量を調査する健康診断法が一般的に用いられます。血液は検査する対象生物を生かしたまま採取可能なため産業価値の高い生物を生かしておくことができます。しかし、魚類においては健康状態や感染症発症時の血液性状に関する知見は乏しく、現在のところ血液を用いた検査法は確立されていません¹⁾。そこで、血液を用いた魚病検査法の開発に向けて、ニジマスの血液に含まれる物質が感染によりどのように変化するかを調べました。健康なニジマスとIHNに人為的に感染させたニジマス

の血液中に含まれる代謝物19種類の含有量を測定した結果、14種類の代謝物がIHN感染により変化することがわかりました(図2)。代謝物以外にも、血液中のタンパク質についても分析し、病原体に感染することで起こる変化を調べました。その結果、600程度のタンパク質に変化が見られ、IHN感染が血液成分の様相や含有量に大きな影響を与えることがわかりました。IHN感染によって血液成分が変化したのは、IHNに感染すると生じる炎症反応やウイルスによって障害を受けた腎臓や肝臓等から漏れ出た代謝物が血液中に流れ出たことによるものと考えられます(図3)。このように、血液中の成分は身体の状態を色濃く反映されることが明らかとなりましたので、今後は診断事例を

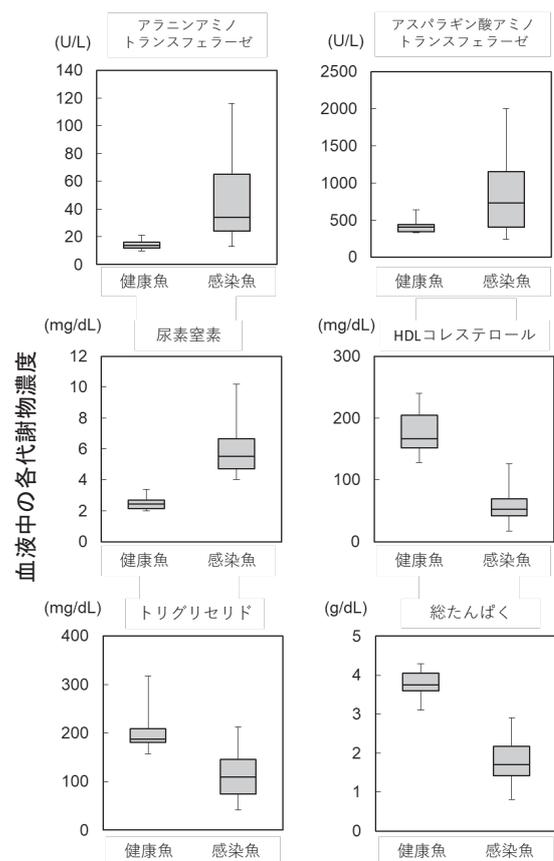


図2 健康及びIHN感染したニジマスの血液中代謝物の変化（一部）

健康魚（グラフ内左）が健康なニジマス、感染魚（グラフ内右）がIHNに感染したニジマスの血中代謝物量を示しています。ヒトの健康診断においても腎臓や肝臓の障害を示すとされる代謝物に変化が見られました。

集積しより詳細な変化や健康状態の基準値を設定することで、健康診断法として利用できる可能性があります。

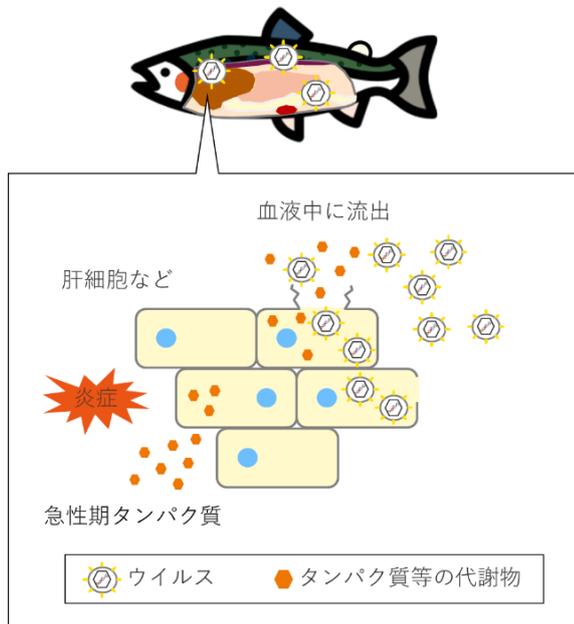


図3 病原体感染により体内で起こる反応とそれに伴う血液成分の変化(予想図)

ウイルスは肝臓等の細胞内に侵入し増殖する特性を持っています。IHNウイルスに増殖された細胞は破壊される(臓器は壊死する)ため、その際に細胞内の代謝物が血液中に流出し各種成分の血中濃度が変化すると考えられます。

粘液を材料とした魚病検査技術開発の試み

魚類の体表面は粘液で覆われています。体表粘液はレクチン等の生体防御物質や代謝物が含まれており、病原体の外界(環境水)から体内への侵入を化学的・物理的に阻止しています。体表粘液も血液同様、魚を生かしたまま採取することが可能です。もし体表粘液が魚の健康状態を反映しているのであれば、健康診断法として利用できるのではないかと考え、病原体感染による体表粘液中に含まれるタンパク質の変化について解析しました。病原体に感染したサクラマス体表粘液中に含まれるタンパク質と健康状態の体表粘液中に含まれるタンパク質を比較した結果、病原体感染により7種類のタンパク質が大きく変化しているこ

とがわかりました。現在は、変化が見られたタンパク質をバイオマーカー(病気の変化や治療に対し反応する指標)として検出する検査手法の開発を行っています。

おわりに

病原体に感染することによって魚類の血液や粘液に含まれる様々なタンパク質や代謝物の様相が変化することがわかりました。これまで魚類のウイルス感染症に関する研究の多くは原因ウイルスの性状や症状の原因究明、防疫対策に重点が置かれてきており、感染症発症時の病態生理学的研究は未開の分野です²⁾。今後、病態生理学的知見を集積し、血液や粘液のような比較的簡単かつ魚を生かしたまま採取することができるもので診断が可能になれば、病原体に感染した魚を早期に発見することやコスト低減も可能となり、感染症蔓延を事前に防止するための対策も立てやすくなります。今後はこのような新たな診断技術を開発し、感染症蔓延を防止することで生産を安定化させられるような研究を進めてまいります。

本稿記載の研究の一部は、JSPS科研費19K23690の助成を受けて実施されました。

参考文献

- 1) 池田弥生, 尾崎久雄, 早山萬彦, 池田静徳, 見奈美輝彦 (1976)ノカルジア菌を接種したハマチの血液成分に関する診断学的研究. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 42, 1055-1064.
- 2) 吉水 守, 笠井久会 (2007)魚類ウイルスとその疾病防除対策. 日本動物用医薬品協会会報, 27, 1-17.

(西川翔太郎 さけます・内水試内水面資源部
報文番号B2474)