

## 魚の感染症発症の早期発見を目指して

### 【はじめに】

北海道のさけます増養殖経営体では日々様々な感染症が発生しており、その発生件数は年々増加しています。道総研さけます・内水面水産試験場 魚病防疫グループでは、増養殖経営体から持ち込まれた不調魚を検査し、感染症の原因を特定する診断業務を行っています。現場には病状がかなり悪化した状態の魚をはじめ、飼育担当者が長年の飼育経験から察知した「いつもとは何か様子が違う、どこか調子が悪い」状態の魚など、症状の進行度の異なる検体が持ち込まれます。重篤状態の魚では、体内に病原体が多く存在することがほとんどであるため、各種検査により病原体を検出・特定することができます。一方で、ちょっと調子が悪い（感染初期の）魚では体内の病原体量が少なく、現在用いられる検査手法では検出できないことがあります。また、現在診断に用いられる培養検査は結果判定までに5日～7日、長いものだと30日以上時間を要するため、感染拡大防止対策が遅れてしまうこともあります。そこで、これらの問題を解決するため、体内の病原体量に依存せず、感染症発生初期でも検査可能な診断技術の開発に取り組みました。

### 【サクラマスの体表粘液中に含まれるタンパク質を解析】

魚の体表は、飼育水中に存在する病原体の侵入門戸のひとつであると言われています。魚の体表面を覆っている粘液は病原体の外部からの侵入を防ぐ役割を担っており、そこには病原体に対抗するための物質（タンパク質など）が含まれていると考えられます。本研究ではまず、病原体に対して体表粘液ではどのような反応が起こっているか（すなわちどのようなタンパク質が産生されているか）を明らかにすることを目指しました。北海道のさけます増養殖事業における重要対象種であるサクラマスに対し、産業被害の大きいウイルスが原因となる伝染性造血器壊死症（IHN）と細菌が原因となる冷水病の原因病原体をそれぞれ人為的に感染させました。感染したサクラマスの体表粘液を採取し、そこに含まれるタンパク質を網羅的に解析しました。

体表粘液中のタンパク質について解析した結果を表1に示しました。病原体に感染したサクラマスの体表粘液中では生体防御に関連するタンパク質（Interferon-induced GTP-binding protein Mx や Guanylate-binding protein 1 など）が発現しており（表1）、これらタンパク質により病原体の排除が行われていることがわかりました。また、IHN 感染魚の体表粘液と冷水病感染魚の体表粘液に含まれるタンパク質が異なることも見出され、ウイルスに対する魚の反応と細菌に対する魚の反応が変化することも明らかとなりました。これらの結果から、病原体感染により発現したタンパク質を感染症早期診断のためのバイオマーカー（指標）として利用することで感染症の発生を予測可能であること、加えてウイルス病と細菌病を区別することも可能であることが示唆されました。

表 1 病原体感染により発現変動した体表粘液中のタンパク質

IHN ウイルス感染により変動	冷水病原菌感染により変動
タンパク質名	タンパク質名
Histone H3.2	Calpain-2 catalytic subunit
40S ribosomal S15	Splicing factor 3B subunit 3
60S ribosomal L37a	Tubulin beta-1 chain
CCR-NOT transcription complex subunit 1	Actin, alpha skeletal muscle
Interferon-induced GTP-binding protein Mx2	Actin, cytoplasmic 1
Interferon-induced GTP-binding protein Mx3	Apolipoprotein A-I-1
Guanylate-binding protein 1	Apolipoprotein A-I-2

【バイオマーカーを利用した感染症早期診断技術の開発】

病原体感染により発現変動した体表粘液中のタンパク質をバイオマーカーとして検出する技術の開発を試みました。本研究では、体表粘液中に含まれるバイオマーカータンパク質に特異的に結合する抗体を作製し、発色色素で発色させることにより検出する手法を開発しました（図1）。今回作製した抗バイオマーカータンパク質抗体を用いることで体表粘液中のバイオマーカータンパク質を検出することができました。本手法を感染症早期診断技術のひとつとして活用していくために、今後は検出精度の向上を目指していきます。

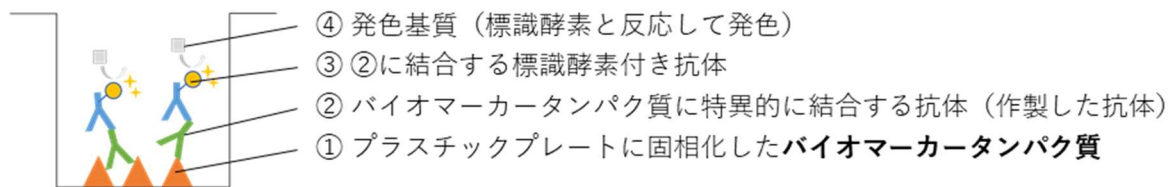


図 1. 本研究で開発した感染症早期診断技術の概略図

【おわりに】

さけます増養殖事業における種苗の安定生産を目指すうえで、魚病対策は欠かすことができません。感染症の蔓延を防止するためには、原因病原体をしっかりと特定するとともに、発生原因をいち早く絶つことが重要です。今後の研究では、感染症による被害を抑えるための診断・発症予測技術の開発に取り組んでいきたいと考えています。

（2021年9月3日 北海道立総合研究機構 さけます・内水面水産試験場  
 内水面資源部 西川翔太郎）