

ヒラメのウイルス性疾病

中井敏博

広島大学生物生産学部：東広島市鏡山 1-4-4, 724, 日本

日本における海産魚類の生産は、種苗生産技術および高密度促成飼育技術の進歩に伴い、ブリ(*Seriola quinqueradiata*)、マダイ(*Pagrus major*)、ヒラメ(*Paralichthys olivaceus*)、トラフグ(*Takifugu rubripes*)など数魚種で大量生産が可能となった。また対象魚種も年々増加し、現在、試験研究段階のものを含め40種以上の魚類が養殖されている。しかし一方では、これらの魚種の種苗生産および養成過程で従来知られていなかった種々の疾病が発生するようになり、安定した生産を阻む上で大きな問題となっている。

これらの海産魚に発生する疾病のうち、ウイルス病であることが確定しているものとしては、ブリ稚魚のウイルス性腹水症(反町・原, 1985)、トラフグの口白症(畑井ら, 1983; Inouye *et al.* 1992)、ヒラメのラブドウイルス病(五利江ら, 1985; Kimura *et al.*, 1986)、ヒラメ稚魚のウイルス性表皮増生症(Iida *et al.*, 1989; Miyazaki *et al.*, 1989)、ヒラメ稚魚のビルナウイルス病(楠田ら, 1989)、クロダイ(*Acanthopagrus schlegelii*)仔魚の上皮壊死症(Miyazaki *et al.*, 1989)、イシダイ(*Oplegnathus fasciatus*)、キジハタ(*Epinephelus akaara*)、シマアジ(*Pseudocaranx dentex*)仔稚魚のウイルス性神経壊死症(Yoshikoshi and Inoue, 1990; Mori *et al.*, 1991, 1992)、マダイのイリドウイルス感染症(井上ら, 1992)、およびズキ(*Lateolabrax japonicus*)、ブリ、ヒラメその他のリンホシスチス病(宮崎・江草, 1972; 松里, 1975; 田中ら, 1984)がある。また、海面養殖中のギンザケ(*Oncorhynchus kisutch*)で赤血球封入体症候群が報告されている(Takahashi *et al.*, 1992)。これらのウイルス性疾病は、リンホシスチス病を除きいずれも致死性が高いため、種苗生産および養殖事業の存続を揺るがしかねないほどの問題を提起している。

日本における海産魚のウイルス病についての研究は1980年代に入ってから始まったものであり、原因ウイルスの性状および感染機構に関しては不明な点が多く残されており、従って殆どの場合有効な防除対策は確立されていないのが現状である。本論文では、日本でヒラメに発生し問題となっているウイルス病について、その発生状況、症状、および原因ウイルスの特性に関するこれまでの知見を概述する。

Key Words : *Paralichthys olivaceus*, Scuticociliatida, MPN

1. ウイルス性表皮増生症

本病は1985年頃から西日本を中心に各地の種苗生産場で発生し始めた疾病で、発病はふ化後10日から25日齢(全長7~10mm)の仔魚にほぼ限定される。病気の進行は早い場合で1週間、遅ければ3週間で殆どの場合全滅状態となる(飼育水温18~20℃)。また一度ある飼育群に発生すると、その年の種苗生産期間中は何度生産を繰り返しても発生し、より小さいサイズで発生する傾向がみられる。肉眼的には鱗(および体表)が白濁し、顕微鏡下では

それらの表面に無数の球形細胞が観察される。組織学的には表皮細胞の増生を特徴とし、表皮以外の組織には顕著な変化認められない(Iida *et al.*, 1989, 1991; Miyazaki *et al.*, 1989; 増村ら, 1989)。

病魚の表皮細胞の核および細胞質にウイルス粒子が多数存在し、核内の粒子はエンベロープをもたず(直径100~140nm)、細胞質内の粒子はエンベロープを有する(直径190~230nm)。粒子は正20面体構造で、162個のカプソメアからなる。培養細胞(RTG-2, CHSE-214、

EPC、FHM)によるウイルス分離は成功していないが、病魚の磨砕ろ液を用いた感染実験により本病はウイルス感染症であることが明らかにされた。また、同様の感染実験によりエーテル、pH3、および50℃・30分の処理によりその感染性が失われたことから、本ウイルスはヘルペスウイルスに同定しうると考えられている(Iida *et al.*, 1989)。なお、本ウイルスは分離・精製されていないためその核酸および構造タンパクの詳細な性状は明かにされていない。

ヒラメ仔魚に対する実験感染では、15～25℃の水温範囲で感染が成立し高い死亡率を示す。ただし、水温が低いほど致死日数が長くなる傾向がみられる。また、全長10mm(20日齢)以下のヒラメは高い感受性を示すが、その他、マダイ、クロダイ、マコガレイ(*Limanda yokohamae*)、キジハタ、およびトラフグの仔稚魚には本ウイルスに対する感受性が認められない(増村ら、1989)。ヒラメ以外の魚種における自然発病例としては、キツネメバル(*Sebastes vulpes*)* およびマツカワ(*Verasper moseri*) (北海道大学吉水博士私信)でそれぞれ1例確認されているが、その発生頻度および死亡率からみて本病はヒラメ仔魚に特有の疾病と考えられる。

本病の簡易迅速診断には鱗の組織切片を用いた蛍光抗体法が有効である(Nakai *et al.*, 1991)。本病の感染源が不明であるため、防除に有効な方法は現在知られていない。

2. ラブドウイルス病

本病は1984年に兵庫県下で養殖中のヒラメに発生し、その翌年には兵庫県、香川県、および北海道での発生が確認された。病魚(体重 100～700g)は体表および鱗の充出血、腹部の膨満、生殖腺のうっ血、および筋肉内出血を特徴とし、その他、組織学的には腎臓の造血組織および脾臓の実質細胞の壊死、腸管固有層の出血が認められる。死亡率は北較的低位が90%以上の死亡率となった事

例もある(飼育水温2～18℃)。本病は低水温期に発生し易く、水温が15℃を越えると自然に終息する傾向がみられる(五利江ら、1985; Kimura *et al.*, 1986; 吉水ら、1987; 大迫ら、1988a)。

病魚の臓器から RTG-2細胞に細胞の球形化を特徴とするCPEを発現するウイルスが分離され、感染実験により本ウイルスが本病の原因体であることが確認された。原因ウイルスはラブドウイルス科(Rhabdoviridae)、リッサウイルス属(Lyssavirus)に属し、エーテルおよび酸(pH3)感受性で、80×160～180nmの砲弾型を呈する。本ウイルスは *Rhabdovirus olivaceus* と命名されたが、一般にはヒラメラブドウイルス(Hirame rhabdovirus: HRV)と呼ばれている。HRV株の血清型は単一で、既知の魚類病原ラブドウイルス(IHNV、VHSV、SVCV、PFRV、EVA、EVX)の抗血清で中和されない(Kimura *et al.*, 1986)。また、HRVは5種類の構造タンパク(L、G、N、M1、M2)を有するが、IHNVやVHSVとはSDS-PAGEにおいて一部移動度が異なる(Nishizawa *et al.*, 1991)。RTG-2以外にFHMやEPC細胞がHRVに高い感受性を示す。増殖温度は5～20℃で、適温は15～20℃である(Kimura *et al.*, 1986)。

1986年に三重および岡山県下でヒラメ稚魚にも本病の発生が確認され、HRVはヒラメ以外にアユ(*Plecoglossus altivelis*)、クロダイ、および輸入メバルの各病魚から、も分離されている(Kimura *et al.*, 1986; 吉水ら、1987)。さらに実験的にはキジハタ*、クロソイ(*Sebastes schlegeli*)*やニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)(Kimura *et al.*, 1986; Oseko *et al.*, 1992)などがHRVに対して感受性を有することから、本ウイルスの自然宿主はさらに拡大する可能性がある。

本病の感染機構は不明であるが、上述したような水温が15℃を越えると自然に終息すること、また実験的にも

*大迫典久・吉水 守・木村喬久・福永長廣(1990): キツネメバルの上皮増生症について。平成2年度秋季日本水産学会講演要旨 p86。

*安部昌明・松本紀男・反町 稔(1989): 平成元年度日本魚病学会春季大会講演要旨 p2。

HRVは15℃以上の水温では病原性が低下することから(大迫ら、1988b)、水温制御が本病の予防に有効と考えられる。また、HRVはヨード剤(有効ヨード25ppm、15分)や紫外線(2~4 μ w \cdot sec/cm²)により不活化されることから(吉水ら、1987)、サケ・マス類のウイルス病対策で一般化している卵の消毒や飼育水の殺菌が本病の防除に有効であるかもしれない。

3. ビルナウイルス病

本病は1986年(愛媛県)および1987年(大分県)に養殖中のヒラメ稚魚に発生した(水温13~18.5℃)。病魚(体重1~2.4g)は腹水の貯留または頭部の出血を特徴とする。病魚からRTG-2およびCHSE-214細胞で核濃縮を特徴とするCPEを発現するウイルスが分離され、感染実験により本病はウイルスが病であることが確認された(楠田ら、1989)。

原因ウイルスはエンベロープをもたず、六角形を呈し(平均直径63nm)、IUdRで増殖が阻害されず、クロロホルム、酸(pH3)、および熱(56℃、30分)に耐性を示す。上記の細胞以外に、BF-2、FHM、EPC、およびEK-1が本ウイルスに感受性を有し、10~30℃(適温20~25℃)でよく増殖する。本ウイルスは2分節RNAゲノムを有し、また抗IPNV血清で中和されることから、ビルナウイルス群(Birnavirus)に同定された。ただし、核酸の分子サイズは同じビルナウイルス群に属するブリ稚魚のウイルス性腹水症原因ウイルス(YAV)(反町・原、1985)と同一であるが、IPNVとは異なり、またウサギポリクローナル抗体による中和試験結果では本ウイルスはYAVと同一の血清型に属する(Kusuda *et al.*, 1993)。

4. その他

上記以外に養殖ヒラメにおけるウテルス病としては、古くからリンホシスチス病が知られている(田中ら、1984)。本病は養殖のみならず天然ヒラメでの発生も確認されており、病魚の鰭や皮膚に粟粒様異物が散在的にあるいは集塊をなして形成される(リホシスチス細胞)。致死性はないが外観が醜悪であるため商品価値を失う。原因ウイルス(Lymphocystis virus: LD)はイリドウイル

ス科に属するDNAウイルスで、培養細胞による分離は成功していない。田中ら(1984)の報告以外にヒラメにおける本病に関する研究報告はなく、防除対策は不明である。

なお、ここ数年イシダイ、シマアジ、キジハタといった海産魚の種苗生産過程において壊滅的な被害をもたらしているウイルス性神経壊死症(Yoshikoshi and Inoue, 1990; Mori *et al.*, 1991, 1992)が最近(1993年)ヒラメ(稚魚)でも発生し(未報告)、本病は今後ヒラメの生産において新たな脅威となる可能性がある。

文 献

- 五利江重昭・中本幸一・片嶋一男：ヒラメの病害について-I 海面小割養殖ヒラメのウイルス感染に起因すると考えられるへい死。兵庫水試研報, 23, 63~68, 1985.
- 畑井喜司雄・安永統男・安元 進：養殖トラフグの不明病。長崎水試研報, 9, 59~61, 1983.
- Iida, Y., K. Masumura, T. Nakai, M. Sorimachi and H. Matsuda: A viral disease in larvae and juveniles of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquat. Anim. Health*, 1, 7~12, 1986.
- Iida, Y., T. Nakai, M. Sorimachi and K. Masumura: Histopathology of a herpesvirus infection in larvae of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Dis. Aquat. Org.*, 10, 59~63, 1991.
- 井上 潔・山野恵祐・前野幸男・中島員洋・松岡 学・和田有二・反町 稔：養殖マダイのイリドウイルス感染症。魚病研究, 27, 19~27, 1992.
- Inouye, K., K. Yoshikoshi and I. Takami: Isolation of causative virus from cultured tiger puffer (*Takifugu rubripes*) affected by kuchijirosho (snout ulcer disease). *Gyobyo Kenkyu*, 27, 97~102, 1992.
- Kimura, T., M. Yoshimizu and S. Gorie: A new rhabdovirus isolated in Japan from cultured hiraime (Japanese flounder) *Paralichthys olivaceus* and ayu *Plecoglossus altivelis*. *Dis. Aquat. Org.*, 1, 209~217,

- 1986.
- 楠田理一・加百克好・竹内康博・川合研児：ヒラメ病魚から分離されたビルナウイルスの性状. 水産増殖, 37, 115~120, 1989.
- Kusuda R., Y. Nishi, N. Hosono and S. Suzuki : Serological comparison of birnaviruses isolated from several species of marine fish in south west Japan. *GyobyuKenkyu*, 28, 91~92, 1993.
- 増村和彦・飯田悦左・中井敏博・馬久地隆幸：ヒラメ仔魚のヘルペスウイルス感染に及ぼす水温および魚齢の影響. 魚病研究, 24, 111~114, 1989.
- 松理寿彦：養殖ハマチのリンホシスチス病について. 魚病研究, 10, 90~93, 1975.
- 宮崎照雄・江草周三：スズキ *Lateolabrax japonicus* (Cuvier and Valenciennes)のリンホシスチス病について. 魚病研究, 6, 83~89, 1972.
- Miyazaki, T., K. Fujiwara, J. Kobara, N. Matsumoto, M. Abe and T. Nagano : Histopathology associated with two viral diseases of larval and juvenile fishes : epidermal necrosis of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and epithelial necrosis of black sea bream *Acanthopagrus schlegelii*. *J. Aquat Anim. Health*, 1, 85~93, 1989.
- Mori, K., T. Nakai, K. Muroga, M. Arimoto, K. Mushiake and I. Furusawa : Properties of a new virus belonging to Nodaviridae found in larval striped jack (*Pseudocaranx dentex*) with nervous necrosis. *Virology*, 187, 368~371, 1992.
- Mori, K., T. Nakai, M. Nagahara, K. Muroga, T. Mekuchi and T. Kanno : A viral disease in hatchery-reared larvae and juveniles of redspotted grouper. *Gyobyo Kenkyu*, 26, 209~210, 1991.
- Nakai, T., K. Mori, K. Muroga and T. Mekuchi : Diagnosis of viral epidermal hyperplasia of Japanese flounder larvae by fluorescent antibody technique. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1507~1510, 1991.
- Nishizawa, T., M. Yoshimizu, J. Winton, W. Ahne and T. Kimura : Characterization of structural proteins of hirame rhabdovirus. *HRV, Dis. Aquat. Org.*, 10, 167~172, 1991.
- 大迫典久・吉水 守・五利江重昭・木村喬久：HRV(Hirame rhabdovirus : *Rhabdovirus olivaceus*) 感染ヒラメの病理組織学的検討. 魚病研究, 23, 117~123, 1988a.
- 大迫典久・吉水 守・木村喬久：*Rhabdovirus olivaceus* (HRV)人工感染に及ぼす水温の影響. 魚病研究, 23, 125~132, 1988b.
- Oseko, N., M. Yoshimizu and T. Kimura : Pathogenicity of *Rhabdovirus olivaceus* (hirame rhabdovirus : HRV) for salmonid fish. In "Salmonid diseases, Proceedings of the OJI international symposium on salmonid diseases" (ed. by T. Kimura). Hokkaido University Press, Sapporo, Japan, pp. 80~87, 1992.
- 反町 稔・原 武史：腹水症を呈するブリ稚魚から分離されたウイルスについて. 魚病研究, 19, 231~238, 1985.
- Takahashi, K., N. Okamoto, A. Kumagai, M. Maita, Y. Ikeda and J. S. Rohovec : Epizootics of erythrocytic inclusion body syndrome in coho salmon cultured in seawater in Japan. *J. Aquat. Anim. Health*, 4, 174~181, 1992.
- 田中 真・吉水 守・草刈宗晴・木村喬久：北魚道に発生したリンホシスチス病について. 日水誌, 50, 37~42, 1984.
- Yoshikoshi, K. and K. Inoue : Viral nervous necrosis in hatchery-reared larvae and juveniles of Japanese parrotfish, *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel). *J. Fish Dis.*, 13, 69~77, 1990.
- 吉水 守・大迫典久・西澤豊彦・木村喬久：ヒラメのラドウイルス病. 魚病研究, 22, 54~55, 1987.

Viral diseases of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Japan

Toshihiro Nakai

*Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University,
Higashi-Hiroshima 724, Japan*

With the rapid progress in seed production techniques, aquaculture production of economically important species of marine fish has been accelerated in Japan. However, mass mortalities due to viral infections as well as other microbial infections have often occurred during the seed production and grow-out stages. Among these diseases, four viral diseases have been known in cultured Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) since around 1980. In this paper, viral diseases of cultured flounder in Japan are briefly reviewed, with special attention to two viral diseases, viral epidermal hyperplasia and rhabdovirus infection, which are relatively important because of their frequent occurrence.

Viral epidermal hyperplasia is characterized by fin opacity and associated with high mortality in larval flounder. Electron microscopy of affected epidermal cells and transmission experiments with tissue filtrates demonstrated that the disease was caused by a herpesvirus but the agent has not been isolated in fish cell lines. On the other hand, rhabdovirus infection occurs in juvenile and production-size fish with hemorrhage in the skeletal muscle and fins, congestion of the gonads, and ascites. A rhabdovirus was isolated in RTG-2 cells from the diseased flounder as a causative agent, which was designated hirame rhabdovirus (HRV) or *Rhabdovirus olivaceus*. HRV is serologically distinguishable from other known fish rhabdoviruses. Intensive researches on these viral diseases started in 1980th, but properties of the causative agents and infection mechanisms have not been fully investigated. This results in difficulty in controlling these diseases.