

동아시아 지역에 있어 전염성조혈기괴사증 바이러스 (IHNV)의 분자역학 및 병독성의 변화

니시자와 토요히코[†]

전남대학교 수산생명의학과

Molecular epidemiology and virulence changes of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) in East Asia

Toyohiko Nishizawa[†]

Department of Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu, 59626, Republic of Korea

Causative agent of infectious hematopoietic necrosis (IHN) belonging to genus *Novirhabdovirus* (*Rhabdoviridae*). Economic losses caused by IHNV are serious in mainly *Oncorhynchus* spp. including rainbow trout *O. mykiss* and Atlantic salmon *Salmo salar*. IHNV was initially found by endemic presence in U.S. West Coast for sockeye salmon fry *O. nerka* and chinook salmon fry *O. tshawytscha* in the 1950s, and it has spread to Japan, Korea and Taiwan in the 1970s, and also to Italy and France in the 1990s. Currently, IHNV is detectable in many parts of the world, including Russia and South America. Mortality due to IHNV infection in fish with ≤ 0.5 g of body weight reaches 60% to 100%, while the mortality reduces by fish growing. In recent years, onset of IHNV infection has increased also in fish with large sizes. Here, we introduce molecular epidemiology and virulence changes of IHNV in East Asia, furthermore, we discuss on future prospects in IHNV researches.

Key words: IHNV, molecular epidemiology, virulence change, detection, identification, research prospect

전염성조혈기괴사증(infectious hematopoietic necrosis, IHN)은 전염성조혈기괴사증 바이러스 (IHN virus, IHNV)에 의한 연어과 어류의 감염증으로서 주로 무지개송어 (*Oncorhynchus mykiss*)를 포함하여 *Oncorhynchus* 속 어류 및 대서양연어 (*Salmo salar*)에서 심각한 피해를 일으킨다. 이 질병은 본래 미국 서해안의 홍연어 (*O. nerka*) 및 왕연어 (*O. tshawytscha*) 치어에서 발생되던 질병으로서 1950

년대 까지 알려져 왔다. 그 이후로 캐나다의 무지개송어 치어에서 유사한 질병이 발생하기에 이르러 북아메리카 전역으로 확산되었다. 이와 같이 IHN은 북아메리카의 풍토병으로 취급되어 왔으나 1970년대에 일본에서 발생이 보고된 이래 한국과 대만에서도 확인되었으며, 1990년대에 들어서는 이탈리아와 프랑스에서도 발생되어 현재는 러시아나 남아메리카 대륙을 포함하는 세계 각 지역에서 질병이 확인되고 있다 (Bootland and Leong, 2011).

IHN은 체중이 0.5 g 이하의 치어에서 발생된 경

[†]Corresponding author: Toyohiko Nishizawa
Tel: +82-61-659-7178, Fax: +82-61-659-7179
E-mail: jnishi@jnu.ac.kr

우에는 누적폐사율이 60~100%에 달하지만, 어류의 성장도에 따라서는 사망률이 저하되는 경향이 나타난다. 왕연어, 홍연어 및 무지개송어에서 주로 발생되며, 은연어 (*O. kisutsh*)에서는 높은 감염 저항성이 보인다 (Kimura and Yoshimizu, 1991). 본병은 본래 2년생 이상의 어류에서는 발병되지 않는 것으로 알려져 있었으나, 1990년대 말 이후로 대형어에서 발병이 보고되기 시작하였고, 심지어는 친어용의 대형어류도 본 바이러스 감염에 의하여 사망되는 감염예가 알려지게 됨으로서, 본 질병에 의한 산업적인 피해가 매우 심각한 지경에 이르고 있다. 감염어는 우선 행동이 둔해지고 물의 흐름에 저항하지 못하고 무기력한 상태로 물에 떠있는 상태로 관찰되며, 최후에는 짧은 시간 동안 격렬하게 발광하다가 사망에 이른다. 감염어는 복수 저류, 안구돌출, 빈혈증상을 보이며, 아가미의 퇴색이 특징적이다. 가슴지느러미 끝부분이나 항문 부근에 V자 형태의 출혈 증상이 보이는 경우도 있다. 대형 어류에 감염이 발생한 경우는 복강벽, 비장이나 유문수 주변의 지방조직, 복막 및 뇌와 심장을 둘러싼 막 등에서 출혈 반점이 보이기도 한다. 병리조직학적으로 신장의 조혈 조직에서 심한 괴사가 나타나며, 비장의 조혈 조직 괴사도 특징적으로 관찰된다. 증상이 진전됨에 따라 간에서도 국소괴사가 나타나고, 위점막 고유층 과립세포의 괴사가 나타나며, 비장의 선방 및 랑게르한스섬세포에서 부분적인 퇴행변성 및 괴사도 예외 없이 관찰된다(Wolf, 1988).

본 논문에서는 동아시아지역에서 확인되는 IHNV의 분자역학과 이들 바이러스의 병독성의 변화에 대하여 소개하고, 향후 관련 연구의 전망에 대하여 논하고자 하였다.

병 원 체

IHNV는 *Rhabdoviridae* (랩도바이러스과) *Novirhabdovirus*속의 기준이 되는 종으로 같은 속 내에 viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV), hiram rhabdovirus(HIRRV) 및 snakehead rhabdovirus (SHRV)와 같은 어류 바이러스가 속해있다 (Dietzgen et al., 2012). IHNV 입자는 일반적으로 직경

70~80 nm, 길이 160~180 nm (보고에 따라서는 45~100 nm×100~430 nm)의 엔벨롭으로 싸여진 탄환형으로, 계놈은 약 11,000 염기배열의 비분절 (-)RNA 이다. 바이러스 입자는 5개의 구조단백질 [L (RNA polymerase, 150~225 kDa), G (glycoprotein, 63~80 kDa), N (nucleoprotein, 38~47 kDa), P (phosphoprotein, 22~26 kDa), M (matrix protein, 17~22 kDa)]로, 바이러스 계놈은 6개의 유전자 (3'-N-P-M-G-Nv-L-5')로 구성되어 있다 (Dietzgen et al., 2012). G와 L 유전자 사이의 non-virion protein (12~14 kDa)을 코딩하는 Nv 유전자는 *Novirhabdovirus*속에서 속하는 바이러스들의 특징적인 유전자이다. G 단백질은 IHNV 입자 표면 엔벨롭의 돌기 모양의 구조로서 세포의 리셉터와 결합하는 리간드의 역할을 하며, 나아가 바이러스의 세포내 침입 과정에도 관여한다. 또한 항 G 단백질 항체가 바이러스의 중화능력을 가지는 점으로 보아 G 단백질은 예방 백신의 개발에 있어 중요한 감염 방어 항원으로 고려되고 있다 (Engelking and Leong, 1989; Bootland and Leong, 2011). IHNV 바이러스 분리주간의 혈청학적 관계는 다클론항체 (polyclonal antibodies, PAbs)를 이용한 중화실험으로는 대부분이 유사하지만, 단클론항체 (monoclonal antibodies, MAbs)를 사용한 중화실험 혹은 western blotting 결과에서 약간의 차이가 보인다 (Bootland and Leong, 2011). 아울러 중화실험 및 형광항체법 등의 비교를 통하여 IHNV와 VHSV 또는 HIRRV 사이의 교차반응은 보이지 않는다. Kurath et al. (2003)은 미국에서 그동안 분리되어왔던 IHNV를 분리 지역과 분리 어종에 따라 Gg-U, Gg-M 및 Gg-L의 유전형으로 분류하였다. Gg-U는 미국 서해안 북부의 알래스카주에서 워싱턴주에 걸쳐 분리된 바이러스주, Gg-M은 콜롬비아강 유역에서 아이다호주에 이르기까지의 중부지역의 분리주, 그리고 Gg-L은 오리건주 남부에서 캘리포니아주에 이르는 미국 남부지역의 분리주이다.

분자역학 및 병독성의 변화

IHN의 보고가 아시아에서 최초로 이루어진 곳은 일본이다. 1971년 미국의 알래스카주에서 수입

한 홍연어의 발안란에서 부화시킨 치어와 같은 시설에서 사육을 행하던 북해도의 한 연어부화장에서 일본산 홍연어로부터 처음으로 발생되었다. 그 이듬해 북해도 다른 연어부화장들의 홍연어에서 다수 발생되어져 일본에서의 IHNV는 바이러스에 오염된 미국산 홍연어 난을 통하여 처음 유입되어진 것으로 생각되어졌다 (Yoshimizu, 1996). 1974년에는 일본의 혼슈에 위치한 나가노현 및 시즈오카현의 무지개송어에서 다시 발생된 이후 일본 각지의 무지개송어 및 자연산 송어에 감염이 확대되었다. 이 IHNV 바이러스주들을 대상으로 한 계통해석과 병독성 실험이 2000년대 후반에 들어 진행되었다 (Nishizawa et al., 2006). 1970년대에 일본에서 분리된 IHNV 분리주는 모두 Gg-U로 분류되었고, 미국 분리주와의 다양성 (diversity)은 1.8% 이하로 나타났다. 이에 비하여 1980년대부터 2000년대에 걸쳐 분리된 일본 분리주는 새로운 유전형인 Gg-JRt로 분류되었다. 이 결과는 Yoshimizu et al. (1996)이 제시했던 바와 같이, 1970년대에 Gg-U에 속했던 미국 분리주가 일본으로 전파된 이후 일본 내에서 독자적인 진화가 진행되었음을 분자역학적 방법으로 확인된 것이다. 유럽의 IHNV는 일본의 경우와 달리 미국의 Gg-M이 유럽으로 전파된 이래 유럽 내에서 독자적으로 진화되었던 것으로 확인되었다. 이들 결과는 일본의 경우 홍연어의 난을 미국 서해안 북부지역에서 다수 수입하였고, 유럽에서는 무지개송어의 난을 미국 서해안 중부지역에서 다수 수입했었던 사실과도 일치하는 결과였다 (Fig. 1A) (Nishizawa et al., 2006). 한국은 1970년대에 강원도지역에서 미국으로부터 수입한 무지개송어를 양식하기 시작하였고 치어에서 IHNV와 유사한 질병이 현장에서 확인되던 중에 1990년 2월에 삼척지역의 송어 양식장의 치어에서 최초로 분리되었는데, 이 분리주는 미국의 IHNV RB-76과 매우 유사한 것으로 보고되어졌다 (Sohn et al., 1993). 그 이후 1999년에서 2002년 사이에 한국 중부지방 무지개송어양식장의 성어를 폐사시키는 병독성이 강한 IHNV가 분리되었고, 그 새로운 바이러스 주는 일본의 분리주와 관련성이 높은 바이러스로 확인되었다 (Fig. 1A) (Kim et al., 2007). 한국과 일본 양국간의 무지개송어 난의 이동 또는 종묘의 이동

은 공식적으로 확인된바 없었으나, 1970년대에 미국으로부터 한국으로 유입된 무지개송어 유래 분리주가 어떠한 과정을 통하여 일본에서 변이된 바이러스주로 변화되었다는 점은 매우 흥미로운 부분이다.

한편, 일본에서 진화되어진 IHNV 바이러스주가 미국의 바이러스주에 비해 그 다양성이 높은 점에서 IHNV의 분자 진화 속도는 일본의 무지개송어 양식 환경에서 더 빠르게 진행된 것으로 생각된다 (Nishizawa et al., 2006; Mochizuki et al., 2009). 더욱이 2000년대의 일본 분리주는 무지개송어에 대하여 매우 강한 병독성을 나타내지만, 1970년대의 분리주는 당시에 실시되었던 감염실험에서는 무지개송어 강한 병독성을 가졌던 것으로 보고되어졌으나 2000년대 들어 실시된 실험에서는 그 병독성이 매우 낮게 나타났다 (Mochizuki et al., 2009). 이러한 결과로부터 IHNV의 병독성은 숙주 측의 생물학적 요인에 크게 영향을 받는 것으로 추측된다. 즉, 무지개송어의 IHNV에 대한 감수성은 생존어의 자연선택에 의해 점차적으로 저하되었지만, IHNV의 병독성은 그것을 상회하는 속도로 상승한 것으로 보인다. IHNV의 계통 다양성은 VHSV에 비교하여 보았을 때 상대적으로 매우 낮다 (Fig. 1B) (Nishizawa et al., 2002). 이는 미국에서 풍토병의 하나였던 IHNV가 IHNV와 바이러스에 감염된 난의 이동을 통하여 세계 각지에 확산되었다는 사실을 확인시켜주는 결과이다. 흥미롭게도 IHNV를 포함하여 이들 RNA 바이러스에서의 계통수 말단에서의 분자진화 속도에는 큰 차이가 없다. 반면, VHSV의 경우에는 병원체로서 발견되기 이전에 VHSV의 계통은 다양한 장소에서 독자적으로 진화하여 어느 정도의 다양성이 이미 확립되어 있었던 것으로 생각된다. 바이러스는 새로운 숙주체내에서 병원체가 되는 경우 그 진화 속도는 급격히 가속된다. IHNV도 무지개송어라는 새로운 숙주와 만난 이후부터 지금까지도 급속한 진화를 계속하고 있다고 할 수 있다. 한편, 일본의 무지개송어 양식장에서는 IHNV 생존어를 인위적으로 만들어 양식에 적용하는 경우가 있다. 이러한 행위는 새로운 병독성 IHNV의 생성을 조장할 위험성이 있으므로 매우 주의하여야 할 사안이라 생각된다.

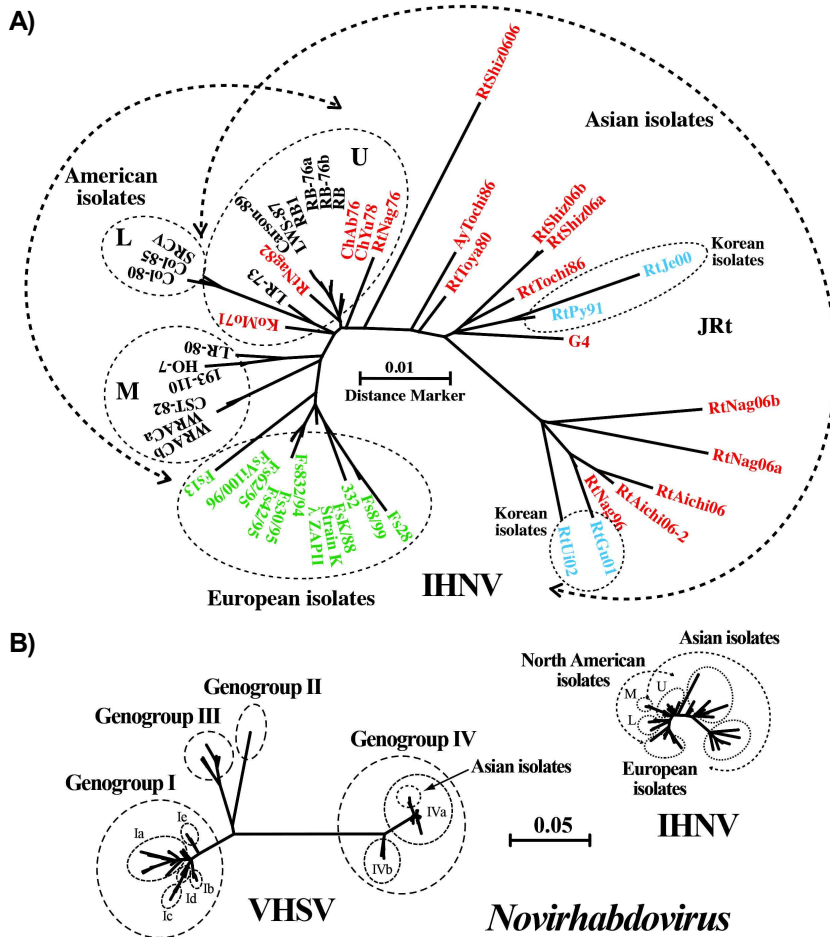


Fig. 1. Molecular phylogeny of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV). A) molecular phylogeny among 49 isolates based on nucleotide sequences of the glycoprotein gene open reading frame. The distance marker refers to the expected number of substitutions per site. Isolates shown with black, green, red and light blue letters were obtained from U.S.A., European countries, Japan and Korea, respectively. The first 2 letters of each isolate name indicate the host fish; i.e. Ch, Ko, Rt and Ay denote chum salmon, kokanee salmon, rainbow trout and ayu *Plecoglossus altivelis*, respectively. The following letters indicate the area of isolation; i.e. Ab, Yu, Mo, Nag, Toya and Tochi denote Abashiri, Yurappu, and Mori on Hokkaido, and Nagano, Toyama and Tochigi Prefectures on Honshu. B) comparison of nucleotide diversity between IHNV and viral hemorrhagic septicemia viruses (VHSV) in *Novirhabdovirus*.

검출 및 동정

IHNV의 확인을 위해서는 분리 배양이 기본이다. IHNV는 RTG-2, CHSE-214, FHM세포와 그 외 연어과어류 유래 주화세포에서 잘 증식한다. IHNV의 증식 가능 온도 범위는 13~20°C 이고, 적정 온도는 15~18°C 이다. IHNV로 감염된 주화 세포는 구형화 후 다발모양으로 변화하고 이후에 플라스

크 바닥에서 떨어져 부유한다. IHNV 감염에 의한 세포변성효과 (cytopathic effect, CPE)는 VHSV나 HIRRV 감염에서 매우 유사한 형태를 나타내기 때문에 배양한 후에 형광항체법이나 RT-PCR법을 이용하여 IHNV로서 동정하여야 한다. IHNV 계통을 표적으로 하는 특이 PCR 프라이머로는 많은 종류가 보고되어 있으며, 계통 분석을 위해서는 G 단백질 유전자가 이용된다(OIE, 2016).

한편, 형광항체법, ELISA 및 RT-PCR 등으로 병어에서 IHNV를 직접 검출할 수 있지만, 폐사 원인을 규명하기 위해서는 검출한 IHNV가 어체 중에 critical level (임계값) 이상 존재하는 것을 확인해야 한다. 일반적으로 IHNV의 critical level은 바이러스 감염가로서는 10^6 TCID₅₀/g-tissue, 계놈량으로는 10^8 genome/g-tissue 정도이다. 최근 IPNV 등의 다른 바이러스들과 혼합 감염된 시료가 다수 발견된다. IPNV와 혼합 감염된 검체로부터 IHNV를 분리·배양하기 위해서는 시료 중의 IPNV를 사전에 항 IPNV 혈청을 이용하여 완전히 중화시킬 필요가 있으나 그 작업이 매우 복잡하다. 최근에 IPNV에 지속 감염된 EPC 세포가 수립되었는데 (Kim et al., 2012), 이 세포는 IHNV 또는 VHSV에 대한 감수성을 유지하면서 IPNV에 대한 감수성이 매우 낮다. 따라서 이러한 지속 감염 세포를 이용하면 IPNV에 혼합 감염된 시료에서도 IHNV를 고감도로 분리·배양 할 수 있다.

방역대책

일반적으로 난생인 어류에서는 모자면역이 성립하지 않는다. 또한 자어기 (연어과 어류에서는 0.3~0.5 g 전후의 시기) 에는 체액성 면역반응이 나타나지 않는다. 따라서 백신에 의한 예방대책이 유효하게 될 때까지 성장시키는 시기까지는 IHNV 방제 대책을 따로 구축해야 할 필요가 있다. IHNV 방역 방법으로는 친어선별, 수정란의 소독 및 위생 관리가 주로 이용된다.

친어 선별

채란용 친어의 건강 상태 파악과 관리는 종묘 생산의 성패를 좌우한다. IHNV 감염 후 살아남은 불현감염어는 성숙시기에 난소강액 및 정액이 IHNV로 오염되어진다 (Yoshimizu et al., 1993). 이렇게 성숙과정에 IHNV로 오염된 친어가 포함된 친어군 내에서는 수평 감염이 진행되고 친어 체내의 난과 정자도 오염되며, 이들로부터 생산되는 부화 자어도 IHNV에 감염되게 된다. 따라서 채란 이전에 체강액을 채취하여 정밀한 IHNV 검사를 실시 할 필요가 있다.

수정란의 소독

성숙된 산란용 친어 체강내의 IHNV는 정자 또는 난자를 오염시키고, 부화된 자어 시기부터 IHNV가 발병하기 때문에(Mulcahy and Pascho 1984), IHNV의 수직 감염을 피하기는 어렵다고 생각되어 왔다. 하지만, 난 내에 들어간 IHNV는 난 내의 내용물에 의해 불활화되거나, IHNV로 오염된 상태의 정자와 난이 수정한다 하더라도 난 발생 과정 중의 배아체는 감염으로 죽게 된다. 또한 난 표면에 흡착된 IHNV도 수직 감염의 원인이 되기는 하지만 발안 시기의 난을 포비돈요오드(50 ppm, 15 분)로 처리하면 난 표면의 IHNV를 불활화시킬 수 있다(Yoshimizu et al., 1989). 따라서 죽은 난의 제거 및 발안란의 소독을 통하여 IHNV의 수직감염은 저지할 수 있다(Yoshimizu et al., 2003).

위생관리

IHNV는 소독제에 비교적 감수성이 높다. 작업자의 손 소독은 염화벤잘코늄액(200 ppm) 또는 크레졸비누액(100 ppm)이, 사육용 기구류 및 사육수조 등의 소독에는 차아염소산나트륨용액(유효염소농도 50 ppm)이 각각 유효하다(Hatori et al., 2003). 또한 사육수의 살균은 저압 자외선 조사법($10^4 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$)이 효과적이다(Yoshimizu and Kasai, 2002).

예 방

지금까지 IHNV의 예방용 백신으로서 불활화 및 약독화 백신, 재조합 G 단백질 백신 및 G 단백질유전자를 이용한 DNA 백신 등이 개발되어왔다(Winton 1997; Lorenzen et al., 2002; Bootland and Leong, 2011). 그러나 대부분은 시판 단계에 이르지 못하던 중에 최근 캐나다에서 DNA 백신이 시판되기 시작하였다(Alonso and Leong, 2013). 한편, 합성 RNA인 Poly(I:C)를 무지개 송어에 우선 투여한 후에 활성이 있는 IHNV를 접종하여 강한 방어 면역을 유도하는 새로운 면역법이 보고되었는데(Kim et al., 2009), 이 면역법은 VHSV와 nervous necrosis virus (NNV) 등의 RNA 바이러스 감염증에서도 그 유효성이 확인되었다(Takami et al., 2010; Nishiza-

wa et al., 2009). 아울러, 사육 수온의 관리를 통하여 감염된 바이러스의 증식 속도를 제어하면 어체내 감염된 바이러스의 병독성을 간접적으로 억제 가능하다는 원리를 적용하여, 바이러스의 증식은 가능하지만 발병에는 도달하지 않는 수온에서 어류를 사육하면서 병독성 있는 활성 바이러스(VHSV, NNV 및 red seabream iridovirus (RSIV))를 접종하는 방법으로 강력한 감염 방어를 유도하는 방법이 개발되어지고 있다(Nishizawa et al., 2011; 2012; Oh et al., 2014). IHNV는 20°C의 세포배양 조건에서도 증식이 활발한 반면에 연어과어류에서의 IHNV 발생은 그 보다 낮은 저 수온시기에 나타난다. 이러한 점에서 사육온도관리를 통한 IHNV 면역법의 검토가 기대된다.

향후 연구 및 전망

1960년대에 RTG-2 세포와 CHSE-214 세포 등의 어류주화세포가 수립되어 바이러스의 분리 배양이 가능하게 된 이후부터 어류 바이러스 연구는 비약적으로 발전하여 진단 또는 확인을 목적으로 한 IHNV의 검출법 및 양식현장의 IHNV 방역대책은 어느 정도의 완성단계에 도달하였다고 평가된다. 향후에 해결하여야 할 남겨진 과제는 IHNV 질병 대책 수립을 위한 백신을 포함한 예방법과 치료법의 확립일 것이다. 지금까지 개발되어온 IHNV 불활화 또는 subunit 백신의 실험적인 효과는 relative percent survival (RPS) 값이 60% 이상으로 그 효과가 기대된다. 하지만 이러한 수준의 RPS 값으로 모든 양식 현장의 백신 사용자에게 납득을 얻어낼 수 있을지는 의문이다. 일반적으로 백신 사용자는 비면역 대조구를 따로 두지 않고 백신처리를 한다. 따라서 양식 현장에서 백신을 처리했음에도 40% 상당의 어류가 폐사하게 되면 처리 백신의 효과에 의문을 품을 수 있다. 이에 비하여 바이러스 감염 이후 살아남은 생존어(감염내과어)의 감염 방어능은 매우 높아서 RPS 값은 95% 이상으로 나타난다. 즉, 인위적으로 감염내과어를 생산하는 이른바 생백신의 경우라면 백신을 사용하는 양식어민도 만족할 수준이다. 최근에 이르기까지 어류의 생백신 개발 연구는 거의 이루어지지 않았다. 그 이유는

면역시킨 어류가 바이러스에 지속 감염된 상태로 생존하면서 바이러스를 수중에 계속 배출하여 양식 환경수가 오염될 수 있다는 우려 때문이다. 불행하게도, 무지개송어 등은 IHNV의 오염 환경에서 양식해야 하는 상황이다. 따라서 일부러 바이러스 보균어를 만들어서 양식장에 제공하려는 움직임이 나타날 수도 있다. 그러나 이러한 행위는 IHNV의 변이를 조장하고 독력이 높은 바이러스를 생성할 가능성을 높인다. 현재 본 저자들에 의하여 몇 종류의 어류 바이러스병에 대한 생백신 처리법의 연구가 진행되어지고 있는데, 살아있는 바이러스를 완성도 높은 백신처리 조건으로 면역시킨 어류는 감염내과어가 되며 체내의 바이러스는 일정 기간 후 체내에서 완전히 제거되어지는 것으로 생각하고 있다. 이러한 점에서 볼 때, 안전하고 효율적인 감염내과어의 생산 방법의 개발은 산업적으로도 매우 중요한 사안이다. 따라서, 어류 바이러스의 병독성 기작 및 어체내 지속감염 연구 등을 진행하여 그 메커니즘을 구체적으로 해명하여야 할 필요가 있다. 나아가 이러한 일련의 연구는 효과적인 바이러스 감염어의 치료법의 확립에도 크게 기여할 것으로 생각된다.

참고문헌

- Alonso, M. and Leong, J.C. Licensed DNA vaccines against infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV). *Recent Pat DNA Gene Seq.*, 7, 62-65, 2013.
- Bootland, L.M. and Leong, J.C. Infectious hematopoietic necrosis virus, In Woo, P.T.K. and Bruno, D.W. (eds) *Viral, Bacterial and Fungal Infections*. Vol. 3, 2nd Edition. CAB international, pp.66-109, 2011.
- Dietzgen, R.G., Calisher, C.H., Kurath, G., Kuzmin, I.V., Rodriguez, L.L., Stone, D.M., Tesh, R.B., Tordo, N., Walker, P.J., Wetzel, T. and Whitfield, A.E., Family Rhabdoviridae, In: King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J. (eds) *Virus Taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Elsevier Academic Press, San Diego, CA, pp. 686-713. 2012.
- Engelking, H.M. and Leong, J.C. The glycoprotein of infectious hematopoietic necrosis virus elicits neutralizing antibody and protective responses, *Virus Res.*, 13, 213-230, 1989.

- Hatori, S., Motonishi, A., Nisizawa, T. and Yoshimizu M. Virucidal effect of disinfectants for *Onchorhynchus masou* virus (OMV). *Fish Pathol.*, 38, 185-187, 2003.(Japanese with English abstract)
- Kim, H.J., Ohseko, N., Nishizawa, T. and Yoshimizu, M.. Protection of rainbow trout from infectious hematopoietic necrosis (IHN) by injection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) or Poly(I:C). *Dis. Aquat. Org.*, 83, 105-113. 2009.
- Kim, H.J., Cho, J.K., Hwang, H.K., Oh, M.J. and Nishizawa, T. Establishment and characterization of the epithelioma papulosum cyprini (EPC) cell line persistently infected with infectious pancreatic necrosis virus (IPNV), an aquabirnavirus. *J. Microbiol.*, 50, 821-826, 2012.
- Kim, W.S., Oh, M.J., Nishizawa, T., Park, J.W., Kurath, G. and Yoshimizu, M. Genotyping of Korean isolates of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) based on the glycoprotein gene. *Arch. Virol.*, 152, 2119-2124, 2007.
- Kimura, T. and Yoshimizu, M. Viral diseases of fish in Japan, *Ann. Rev. Fish Dis.*, 1, 67-82, 1991.
- Kurath, G., Garver, K.A., Troyer, R.M., Emmenegger, E.J., Einer-Jensen, K. and Andersen, E.D. Phylogeography of infectious haematopoietic necrosis virus in North America. *J. Gen. Virol.*, 84, 803-814, 2003.
- Lorenzen, N., Lorenzen, E., Einer-Jensen, K. and LaPatra, S.E. Immunity induced shortly after DNA vaccination of rainbow trout against rhabdoviruses protects against heterologous virus but not against bacterial pathogens. *Dev. Comp. Immunol.*, 26, 173-179, 2002.
- Mochizuki, M., Kim, H.J., Kasai, H., Nishizawa, T. and Yoshimizu, M. Virulence change of infectious hematopoietic necrosis virus against rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* with viral molecular evolution. *Fish Pathol.*, 44, 159-165, 2009.
- Mulcahy, D. and Pascho, R.J. Adsorption to fish sperm of vertically transmitted fish viruses. *Science*, 225, 333-335, 1984.
- Nishizawa, T., Iida, H., Takano, R., Isshiki, T., Nakajima, H. and Muroga, K. Genetic relatedness among Japanese, American and European isolates of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) based on partial G and P genes. *Dis. Aquat. Org.*, 48, 143-148, 2002.
- Nishizawa, T., Kinoshita, S., Higashi, S., Kim, W.S. and Yoshimizu, M. Nucleotide diversity of Japanese isolates of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) based on the glycoprotein gene. *Dis. Aquat. Org.*, 71, 267-272, 2006.
- Nishizawa, T., Takami, I., Kokawwa, Y. and Yoshimizu, M. Fish immunization using a synthetic double-stranded RNA Poly(I:C), an interferon inducer, offers protection against RGNNV, a fish nodavirus. *Dis. Aquat. Org.*, 83, 115-122, 2009.
- Nishizawa, T., Takami, I., Yang, M. and Oh, M.J. Live vaccine of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) for Japanese flounder at fish rearing temperature of 21°C instead of Poly(I:C) administration. *Vaccine*, 29, 8397-8404, 2011.
- Nishizawa, T., Gye, H.J., Takamia, I. and Oh, M.J. Potentiality of a live vaccine with nervous necrosis virus (NNV) for sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus* at a low rearing temperature. *Vaccine*, 30, 1056-1063, 2012.
- O.I.E. (world organization for animal health) Infectious hematopoietic necrosis. Chapter 2.3.4, Manual of diagnostic tests for aquatic animals. <http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-manual/access-online/>, 2016.
- Oh, S.-Y., Oh, M.-J. and Nishizawa, T. Potentiality of a live vaccine with red seabream iridovirus (RSIV) for rock bream *Oplegnathus fasciatus* by controlling fish rearing temperature. *Vaccine*, 32, 363-368, 2014.
- Sohn, S.-G., Park, M.-A., and Park, J.-W. Studies on viral disease of masu salmon, *Oncorhynchus masou*. II. Isolation of infectious hematopoietic necrosis virus from masu salmon fry. *J. Fish Pathol.*, 6, 87-92, 1993.
- Takami, I., Kwon S.R., Nishizawa, T. and Yoshimizu, M. Protection of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* from viral hemorrhagic septicemia (VHS) by Poly(I:C)-immunization. *Dis. Aquat. Org.*, 89, 109-115, 2010.
- Yoshimizu M. Disease problems of salmonid fish in Japan caused by international trade. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 15, 533-549, 1996.
- Yoshimizu, M. Control strategy for viral diseases of salmonids and flounder, In: Lee, C.S., O'Bryen, P.J. (eds) Biosecurity in aquaculture production systems: Exclusion of pathogens and other undesirables., World Aquaculture Society, proceedings of AIP workshop, Baton Rouge, Louisiana, USA, pp. 35-41, 2003.
- Yoshizumu, M. and Kasai, H.. Sterilization of fish rearing water and wastewater at seedling production facilities. *Industrial Water*, 523, 13-26, 2002. (Japanese)
- Yoshimizu, M., Nomura, T., Ezura, Y. and Kimura, T.

- Surveillance and control of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) and *Oncorhynchus masou* virus (OMV) of wild salmonid fish returning to the northern part of Japan 1976-1991. *Fish. Res.*, 17, 163-173, 1993.
- Yoshimizu, M., Sami, M. and Kimura, T. Survivability of infectious hematopoietic necrosis virus in fertilized eggs of masu and chum salmon. *J. Aquat. Anim. Health*, 1, 13-20, 1989.
- Winton JR. Immunization with viral antigens: infectious haematopoietic necrosis. In: Gudding R, Lillehaug A, Midtlyng PJ, Brown F (eds) *Fish vaccinology*, Vol. 90. Developments in biological standardization. Karger, Basel, pp. 211-220, 1997.
- Wolf, K. Infectious hematopoietic necrosis. In Wolf, K. (ed) *Fish viruses and fish viral diseases*. Cornell University Press, Ithaca, N.Y., pp. 83-114, 1988.

Manuscript Received : May 21, 2018

Revised : Jun 8, 2018

Accepted : Jun 8, 2018