HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	カキヘルペスウイルス１型変異株（OsHV-1 μvar）について
Author(s)	笠井, 久会; 吉水, 守
Citation	かき研究所ニュース, 28, 5-8
Issue Date	2013-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57055
Type	journal article
File Information	550kakiken28 5-8.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

カキヘルペスウイルス1型変異株（OsHV-1 µvar）について

北海道大学大学院水産科学研究院　笠井久会・吉水　守

カキヘルペスウイルス1型変異株（OsHV-1µ var）は養殖場におけるマガキ（*Crassostrea gigas*）幼生および幼若カキの大量死への関与が示唆されるウイルスである[1]。従来より、海産二枚貝にカキヘルペスウイルスが感染しているという報告はあったが、カキの死亡との関係が指摘されたのは1991年以降である。フランスにおいて1991年から毎年夏にマガキの幼生および幼若カキの異常死が起こり、幼生の場合はふ化してから4－5日経過後に摂餌不良、異常遊泳が見られ、6日後から死亡しはじめ8－12日で全個体が死亡した。幼若カキの場合は、3－12ヶ月令のマガキに80－90%もの大量死が見られたが、事前に何らかの兆候が認められなかったと報告されている。これらの試料からPCRでウイルスゲノムの一部を増幅し、塩基配列を決定したところ、カキヘルペスウイルス1型(OsHV-1)基準株と比較し2.8kbpの欠損を含む変異が認められ、OsHV-1varとして区別されることとなった[2]。その後、2008年の夏にフランス全土のマガキ生産地において幼若マガキおよび12－18ヶ月令のマガキに大量死が発生した。死亡はマガキに限られ、死亡率は40－100%に達した。原因究明の結果、OsHV-1の関与が示唆され、塩基配列を詳細に比較したところOsHV-1varと比較し共通の変異が認められ、OsHV-1µvarと称されるに至った[1]。

わが国ではフランスで報告されているような大量死は報告されていないため、日本国内に持ち込ませない対策を講じることが重要である。本稿では、OsHV-1µvarの関与が示唆されるマガキの大量死の発生状況と、OsHV-1µvarのウイルス学的性状について紹介すると共に、OsHV-1µvarの検出法を紹介し、本病に対する備えとしたい。最後に、本病に対して有効と考えられる防疫対策について紹介したい。

症状・発生状況

非常に高い死亡率が観察される一方で、外観上の症状は乏しく、鰓のびらんが観察されるとの報告[3]に留まる。病理学的には外套膜の結合組織、鰓、唇弁および消化管に細胞浸潤が認められるものの、炎症性ではない。幼生の場合は、摂餌不良や異常遊泳ののち、水槽底面に沈殿する。フランスにおける2008年と2009年の発生例では、水温が16℃を超えてから死亡が起こっていることから、疾病の発生と水温には何らかの関連があると考えられている。急激な水温の上昇は死亡率を上昇させるリスク要因として指摘されている[4]。

OsHV-1µvarの関与が示唆されるマガキの大量死は、フランスにおいては2008年4月に発生し[5]、その後フランス産の種苗を介してヨーロッパ各地に広まった。2009年から11年にかけて、イギリス、アイルランド、スペイン、イタリア、ポルトガルおよびオランダにおいて大量死およびOsHV-1µvarの検出が報告されている[4]。感染拡大は南半球に及び、2010年3月にニュージーランド、同年11月にオーストラリアで発生した。ヨーロッパでは幼生および幼若カキに大量死が起こるのに対し、オーストラリアではそれらに加え18カ月令以降のマガキにも大量死をもたらした[6]。国際獣疫事務局（the World Organisation for Animal Health, OIE）への疾病発生に関する最新の届け出によれば、2012年7月31日にイギリスのエセックス州でマガキ幼生に60－80%の大量死が起こり、マーケットサイズのカキも10%死亡した。

わが国では、2011年に国内4県から採取されたマガキ150個体および2007年に国内5県から採取された合計350個体を対象にOsHV-1の保有状況調査が行われた。その結果、2011年の3県および2007年の5県の試料に陽性の個体が含まれ、高水温期に検

出率が高い傾向にあった。しかしながら、ウイルスの塩基配列は既報のOsHV-1あるいはOsHV-1μvarと完全に一致せず、フランスの発生例のようなマガキの大量死も報告されていない（平成24年度日本魚病学会春季大会にて嶋原らより口頭発表）。従って、わが国のマガキはOsHV-1に感染している例はあるものの、OsHV-1μvarは国内未侵入であると考えられる。

病原体

OsHV-1は*herpesvirales*目*Malacoherpesviridae*科*Ostreavirus*属に属し、207Kbpの2本鎖DNAを持ち[7]、ヌクレオカプシッドがエンベロープに包まれた直径110－130nmのほぼ球形のウイルスである[8]。国際ウイルス分類委員会（ICTV）の2011年版のリストによれば、*herpesvirales*目には、*herpesviridae*科、*Alloherpesviridae*科ならびに*Malacoherpesviridae*科が含まれる。前二者は脊椎動物を宿主とし、*Malacoherpesviridae*科は軟体動物を宿主とする。ウイルスの培養には生きた細胞が必要であり、フラスコ内で培養するためには株化細胞が必要である。脊椎動物では魚類を含め多くの株化細胞が樹立されているが、軟体動物や甲殻類では株化に成功していない。そのため、ウイルス粒子を大量に得ようとする場合には、感受性を有する生きた個体に人為感染させる必要がある。

感受性を有する貝類

OsHV-1は、マガキのほか、ヨーロッパヒラガキ*Ostrea edulis*[9]、ホタテ*Pecten maximus*[10]、アサリ*Ruditapes phillippinarum*[2]への感染が報告されている。これら貝類についても、死亡した幼生から検出されていることから、関与が疑われる状況にある。一般に脊椎動物のヘルペスウイルスは宿主特異性が高いことが知られているが、OsHV-1は宿主範囲が広い。その原因として、種類の異なる貝類が大量に閉鎖環境下におかれるなどでウイルスに曝される機会が増え、OsHV-1が他の貝類に感染する機会を得たか、あるいは突然変異により感染能力を獲得したと考えられている[2]。今後、より多くの種類の貝類を調査対象に加えることで、宿主範囲の拡大が示される可能性がある。一方、OsHV-1μvarは現在のところマガキのみが宿主とされているが、外観上健康なホタテおよびイガイ*Mytilus edulis*からもDNAが検出されている[4]。人為感染試験等で、体内でのウイルスの増殖を確認することで、宿主か否かの確認を行う必要がある。

診断法

OsHV-1の感染に特徴的な外観症状が報告されておらず、現在は高い死亡率および死亡個体からのウイルス検出を指標に診断されている。培養が可能な株化細胞が樹立されていないことから、電子顕微鏡による観察や特異遺伝子の検出が用いられる。特異遺伝子検出のためのPCR法、qPCR法および*In situ hybridization*法が確立されているが、変異の有無を確認するには塩基配列を決定する必要がある。方法の詳細はOsHV-1μvarの発見[1]に関する報告を参照されたい。

防疫対策

魚類の場合は、病気が発生した養魚場や近隣の養魚場の魚の移動制限、殺処分、殺処分場や加工場からの排水の消毒が有効であるとされている[11]。これは、病気が他のエリアに広まらないようにするための対策であり、OsHV-1μvarのようにわが国に未侵入と考えられている病原体に対しては、病原体の侵入を水際で食い止めるべきである。もし種苗を移入する場合は、病原体フリーの国あるいは地域からに限定し、さらに検査で病原体フリーであることが証明されていることが望ましい。マガキの場合は、食用として外国から輸入される例もあることから、梱包機材および同封の海水の処理等にも注意を払う必要がある。

一般にエンベロープを有するウイルスは安定性が低く、サケ科魚類やコイのヘルペスウイルスの場合

は河川水中において1週間程度（10℃以上）で失活する[12,13]。ウイルスの安定性と温度には密接な関係があり、低温の方が安定し、60℃以上であれば速やかに失活すると考える。数mg/L程度の有効塩素濃度で十分不活化できると考えるが、有機物が大量に含まれる場合は効力が落ちるため、より大量の次亜塩素酸塩を要する[14]。紫外線に関しては、ヘルペスウイルスは他のウイルスと比較し紫外線に弱いグループに属すため[15]、紫外線による飼育用水の殺菌が可能と考える。魚類の場合は、卵の消毒、施設の衛生管理、飼育用水の殺菌、親魚の検査、稚仔魚の検査、飼育水温の調節などの防疫手段が講じられている[16]。また、飼育排水の殺菌、天然物の利用、耐病系の選抜などについても研究が進められている。著者らはマガキ腸内細菌の中から抗ヘルペスウイルス活性を有する細菌を見出している。これらをプロバイオティクスとして餌料生物とともにマガキに給餌することも防疫の一助と考える（平成24年度日本魚病学会秋季大会にて笠井らより口頭発表）。これらの防疫対策は、マガキの生産に対しても有効と考えられ、病気の発生如何に関わらず上述の対策を行うことを強く勧めたい。最後に、平成23年2月に農林水産省消費・安全局から都道府県水産主務課長宛に出された「カキヘルペスウイルス（OsHV-1）変異株に関する注意喚起について」を転記する。

記

1　カキ養殖業者、関係者への周知

都道府県は以下の事項をカキ養殖業者等へ速やかに周知・徹底する。

(1) 本病原体の侵入は感染カキの移植によるものと推測されている。このため種苗の導入元を確認し、発生国（ＥＵ、オセアニア）からの導入を控えること。また、それ以外の国からの導入の場合についても、輸出国の衛生証明等で充分に安全性を確認すること。

(2) 本病原体の大量死については、水温１６℃を超える時期から報告されていることから、水温の上昇期には特に育成状況に注意すること。

(3) 通常の死亡率を短期間で上回るような大量死があった場合は、ただちに都道府県の水産担当部署に連絡をするとともに、診断結果が出るまでは、他の水域へのカキの移動を自粛すること。

(4) 養殖場への病原ウイルスの侵入防止のため、輸入カキの養殖で使用した機材、輸入カキの梱包機材の使い回しや、他の養殖場で使用した機材の使い回しをしない等の衛生管理を徹底すること。

2　監視体制の強化

(1) 都道府県はカキ養殖業者からカキの大量死の連絡があった場合は、消費・安全局畜水産安全管理課水産安全室へ連絡するとともに、独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所へ診断を依頼すること。

(2) 前述（1）の検査の結果、カキヘルペスウイルスの変異株（OsHV-1μvar）が確認された場合は、関係者に対し活カキ及び養殖用機材の、他の水域への移動の自粛を指導すること。

また、関係県、関係者に対して発生情報を周知し、まん延の防止に努めるとともに、管轄内での養殖場を再点検すること。

文　献

1）Segarra A, Pépin JF, Arzul I, Morga B, Faury N, Renault T, 2010. Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France. *Virus Res.*, **153**: 92-99.

2）Arzul I, Renault T, Lipart C and Davison AJ, 2001. Evidence for interspecies transmission of oyster herpesvirus in marine bivalves. *J. gen. Virol.*, **82**, 865-870.

3）Vásquez-Yeomans R, García-Ortega M and Cáceres-Martínez J, 2010. Gill erosion and herpesvirus in *Crassostrea gigas* cultured in Baja California, Mexico. *Dis. aquat. Org.*, **89**, 137-144.

4) EFSA Panel on Animal Health and welfare, 2010. Scientific opinion on the increased mortality events in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *EFSA J.*, **8**, 1894.

5) Miossec L, Allain G, Arzul I, Francois C, Garcia C, Cameron A, 2009, online. First results of an epidemiological study on oyster (*Crassostrea gigas*) mortality events in France during summer 2008. ISVEE XII - International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics. Available from: http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/6772/.

6) Final report "OsHV-1 µvar international symposium", 2011, online. Available from: http://www.oysterstasmania.org/news/cairns-2011-final-report-oshv-1-var-international-workshop.

7) Davison AJ, Trus BL, Cheng NQ, Steven AC, Watson MS, Cunningham C, Le Deuff RM and Renault T, 2005. A novel class of herpesvirus with bivalve hosts. *J. gen. Virol.*, **86**, 41-53.

8) Le Deuff RM and Renault T, 1999. Purification and partial genome characterization of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *J. gen. Virol.*, **80**, 1317-1322.

9) da Silva PM, Renault T, Fuentes J and Villalba A, 2008. Herpesvirus infection in European flat oysters *Ostrea edulis* obtained from brood stocks of various geographic origins and grown in Galicia (NW Spain) . *Dis. aquat. Org.*, **78**, 181-188.

10) Arzul I, Nicolas JL, Davison AJ and Renault T, 2001. French scallops: A new host for ostreid herpesvirus-1. *Virology*, **290**, 342-349.

11) Dannevig BH, Thorud KE, 1999. Other viral diseases and agents of cold-water fish. In "Fish diseases and discords Vol. 3" ed. by Woo, P.T.K. and D.W. Bruno, CAB International, Wallingford, U.K, pp. 149-158.

12) 吉水　守，瀧澤宏子，亀井勇統，木村喬久，1986. 魚類病原ウイルスと環境由来微生物との相互作用：飼育用水中での生存性．魚病研究，**21**：223-231.

13) Shimizu T, Yoshida N, Kasai H, Yoshimizu, M, 2006. Survival of koi herpesvirus (KHV) in environmental water. *Fish Pathol.* **41**: 153-157.

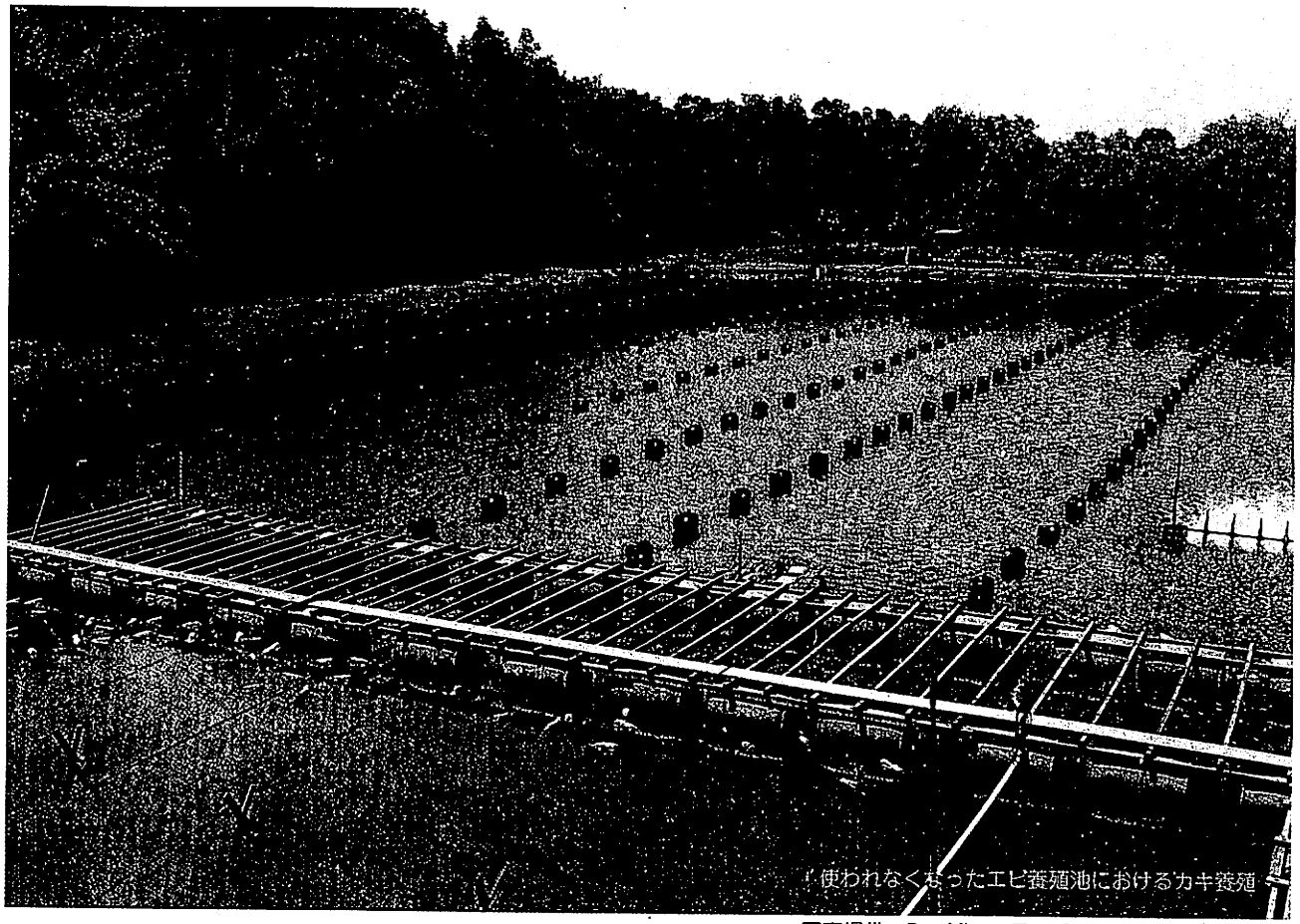
14) Kasai H, Muto Y, Yoshimizu M, 2005. Virucidal effects of Ultraviolet, heat treatment and disinfectants against koi herpesvirus (KHV). *Fish Pathol.*, **40**: 137-138.

15) Kasai H, Yoshimizu M, Ezura Y, 2002. Disinfection of water for aquaculture. *Fish. Sci.*, **68** (Supplement I) : 821-824.

16) 吉水　守，笠井久会 2005. 魚類ウイルス病の最前線－その現状と防疫対策－．化学と生物，**43** (1)，48-58.

Oyster Research Institute News No.28 2013.2

かき研究所ニュース



使われなくなったエビ養殖池におけるカキ養殖

写真提供：Dr. Aileen Tan Shau Hwai (Malaysia)

INDEX

2 ●オーストラリアのカキ養殖技術　日本の生産業発展への貢献めざす
オーストラリア総領事館　主席商務官　吉本剛宏

5 ●カキヘルペスウイルス 1 型変異株（OsHV-1 µvar）について
北海道大学大学院水産科学研究院　笠井久会・吉水　守

9 ●大学生によるイワガキの官能評価　研究所長　高橋計介

14 ●36 年ぶりのケープコッド・ボストン訪問　理事長　森　勝義

32 ●平成 23 年度かき研究所研究助成による研究報告書
シカメガキの分布生態学的研究　飯塚祐輔
マガキ体表面粘液の細菌に対するサーフェスバリアとしての機能の検討
岡田勇希

●世界のかき養殖場　マレーシア