

安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業

「国内主要養殖魚の重要疾病のリスク管理技術の開発」

令和5年度 最終年度報告書

|      |                         |
|------|-------------------------|
| 課題番号 | 19190702                |
| 課題名  | 国内主要養殖魚の重要疾病のリスク管理技術の開発 |

|              |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| 研究実施期間       | 令和元年度～令和5年度（5年間）                   |
| 代表機関         | 国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所 養殖部門 病理部 |
| 研究総括者        | 伊東 尚史                              |
| 研究総括者<br>連絡先 | TEL : 0599-66-1872                 |
|              | FAX : 0599-66-1970                 |
|              | E-mail : ito_takafumi99@fra.go.jp  |
| 共同研究機関       | 国立大学法人 東京海洋大学                      |
|              | 日本獣医生命科学大学                         |
|              | 栃木県水産試験場                           |
|              | 静岡県水産・海洋技術研究所                      |
|              | 長野県水産試験場                           |
|              | 愛媛県農林水産研究所                         |

## ＜別紙様式 3＞最終年度報告書

### 1 研究目的

我が国の養殖の成長産業化を推進している中、感染症の発生による経済被害が養殖経営に大きな影響を与えている。特に近年、主要な養殖種で原因が不明な疾病の発生がみられ、診断法がなく伝播経路等も不明なことから、これらが一度発生すると被害が大きくなりやすく、予防対策の立案・実施についても難しい状況にある。また、国内に常在し清浄化が困難な疾病の中には、国際獣疫事務局（WOAH）が指定している疾病が存在し、水産物の輸出障壁になっているものがある。それらの疾病については、相手国がそれらの疾病の清浄国である場合、我が国からの輸出ができない、あるいは輸出ロットごとの当該疾病の無病証明のための検査負担が生じている状況である。WOAHでは疾病の清浄性担保の概念として、ゾーニング（地理的区分での管理）やコンパートメンタリゼーション（施設のバイオセキュリティレベルに基づく管理）による管理を示している。しかし、水生生物の感染症は飼育水を介して伝播することから導入は困難であると考えられ、閉鎖水域で飼育されているニシキゴイを除き、水産防疫ではほとんど検討されてこなかった。

このため、本研究では、

1. 病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発
2. 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

により、我が国の養殖業における重要疾病の診断法を開発または高度化し、防除法を確立するとともに、新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術を開発することを目標とする。

具体的には

1. 病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発により、
  - ・ 不明病の原因体が明らかとなることで検査法の確立が可能となり、病原体の感染ルートや環境中での動態を把握できる。
  - ・ これらの疫学情報を基に感染防除対策を構築することができる。
  - ・ 診断法の普及により対象疾病の発生状況を把握することで、発生海域や時期、あるいは発症サイズなど防除対策の構築に有益な知見が得られる。
2. 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発により、
  - ・ 海産養殖魚におけるマダイイリドウイルス病（RSIV）や内水面の養殖マス類における伝染性造血器壊死症（IHN）を対象にゾーニングやコンパートメンタリゼーションによる清浄性確保が可能となる養殖管理技術を開発する。
  - ・ 防疫指針や防疫マニュアル等において、開発された技術を普及させる。
  - ・ これらにより当該水域や養殖施設での疾病発生を防止でき、清浄な水域・養殖施設間での種苗の導入・移動が可能になることで、広域的なまん延も防止できる。
  - ・ 本技術の導入により、養殖水域・養殖施設の清浄性が確認できれば、厳格な衛生条件を課す国への輸出や輸出時の検査手順が軽減される可能性がある。

その結果、

1. 不明病の検査法が確立され、病原体の動態を把握できる。
2. 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術を開発することにより、養殖施設等での疾病発生が防止される。

## 2 研究内容

### (1) 研究課題

#### 1) 小課題名：病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発（小課題責任者名：松山知正・研究機関：水産研究・教育機構 水産技術研究所）

病原体が不明な水産動物疾病について、病原体分離や分子生物学的手法等を用いた病原体特定とその検出法開発を行う。従来、疾病の原因体解明には病原体を分離し、感染実験による病徴の再現を観察する方法で行われてきたが、従来法だと分離培養が不可能な病原体については、検査法の確立が出来ず病原体の感染ルートや環境中での動態を把握も困難で、感染防除対策を講ずることが出来なかった。しかし近年、次世代シーケンサー等による分子生物学的手法等の発達により、病魚に特異的に存在する遺伝子から疾病の病原体を探索することが可能となってきた。実際にこれまで、申請グループはアコヤガイ赤変病の病原体を次世代シーケンサー等による分子生物学的手法により明らかにしている。

疾病毎に病原体に基づき開発する診断法を活用し、キャリア魚を含む病魚群と健康魚群を識別する。種苗の販売や飼育魚の移動前にロットの検査を導入することによって病魚群の移動を未然に防ぎ、感染経路を遮断することによって疾病のまん延防止を図る。

#### (ア) マダイに大量死を引き起こす不明病の診断法と防除法の開発

近年、養殖マダイの新たな疾病が夏季、冬季を問わず発生しており、疾病によっては非常に高い累積死亡率を示す場合もある。死亡や症状の広がり等の疫学情報よりいくつかの疾病については感染症である可能性が高いが病原体については全く不明である。感染拡大を防ぐためには病原体の解明と防除法の開発が急務である。疾病発生漁場より病魚をサンプリングし、病理学的、病原体分離法及び次世代シーケンサー等による分子生物学的手法等を用い、病原体の特定とその検出法開発を行う。病原体の検出法が確立された際には、都道府県の水産試験場等に検査マニュアルを通知し、魚病診断への活用を促す。

#### (イ) ウナギの板状出血病の診断法と防除法の開発

ウナギの板状出血病はウナギ養殖において被害の大きい疾病であり、現場では本疾病単独だけでなく、細菌疾病のパラコロボ病など他の疾病との混合感染を引き起こしやすくなることが知られている。しかし、本疾病の病原体は解明されていない。本病の病原体が解明され防除法が開発されれば、本疾病だけでなく、本病感染後2次的に発生する疾病の被害も軽減されると期待される。疾病発生の養殖場より病魚をサンプリングし、病理学的、病原体分離法及び次世代シーケンサー等による分子生物学的手法等を用い、病原体の特定とその検出法開発を行う。開発した検出法を用いた疾病の早期発見・対策法を案出する。また、病原体の検出法は都道府県の水産試験場等を通知し、魚病診断への活用を促す。

#### (ウ) ニジマスのラッシュの診断法と防除法の開発

ニジマスのラッシュは体表のスレが主な症状であり、マーケットサイズで発生するため商品価値の低下を招く。現在は主に静岡県で発生が確認されているが、過去には他の県においても発生している。今後、海産ニジマス養殖が盛んになると本疾病の感染病魚が移動する可能性が高まることから、病原体を解明し病魚の移動を抑えることが重要である。海外の養殖ニジマスでもUSラッシュ、レッドマークシンドローム及びストロベリ

ーシンドロームと呼ばれる疾病がいくつか知られており、これらの疾病については病原体としてウイルスやリケッチアが疑われているが、日本のラッシュも含めこれらの関連性については不明であり、本疾病と海外での症例との関係を調べることも重要である。疾病発生の養殖場より病魚をサンプリングし、病理学的、病原体分離法及び次世代シーケンサー等による分子生物学的手法等を用い、病原体の特定とその検出法開発を行う。開発した検出法を用いた疾病の早期発見・対策法を案出する。また、病原体の検出法は都道府県の水産試験場等を通じ、魚病診断への活用を促す。

#### (エ) アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発

アユの異型細胞性鰓病（通称ボケ病）はアユ養殖においては冷水病と並び被害の大きい疾病である。冷水病については薬剤による治療が可能であるが、本病には効果なく、薬剤による治療は困難である。病魚に共通して見られるポックスウイルスが病原体と考えられているが、人為的感染実験が成功しておらず、未だ結論は得られていない。現状ではポックスウイルスを検出するPCR法で診断している。養殖場現場では本病が発生した際、餌止めと0.5%～1%程度の塩水浴で治療しているが、死亡を抑えられないケースや、食塩濃度保持のため注水を止めるため水質の悪化により死亡する場合がある。本疾病発病には細菌の関与も指摘されており、病徴の進行と細菌の分布やウイルスの感染の関係を調べ、発病原因を明確にすることが重要である。また、一度発生した養殖場では、消毒等徹底していても、毎年繰り返し発生が見られることから感染源の把握や感染経路の特定も重要である。加えて、本病では急速に死亡が起こり、対処が難しいため、予防に向けたワクチンの開発の検討も必要である。死亡病魚や感染組織磨砕濾液などを用いた感染実験による病徴の再現、その時の鰓における細菌分布とポックスウイルス動態の検討から、発病原因を明確にする。この成果により本病の感染実験を可能とし、予防法開発等の研究を加速させる。天然魚におけるポックスウイルスの分布調査も含め、養殖場におけるポックスウイルスの感染源や感染経路を明らかにし、養殖現場における防除法を構築する。また、ポックスウイルスの遺伝子から推定される抗原を用いたワクチン等による予防法の検討を行う。

### 2) 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発（小課題責任者名：桐生郁也・研究機関：水産研究・教育機構 水産技術研究所）

海産養殖魚におけるマダイイリドウイルス病（RSIV）や内水面の養殖マス類における伝染性造血器壊死症（IHN）を対象にゾーニングやコンパートメンタリゼーションによる清浄性確保が可能となる養殖管理技術を開発する。これまで、水産分野においてはゾーニング、コンパートメンタリゼーションともに国際的にはほとんど取組まれておらず、これらの手法による清浄性管理手法は行われていないのが現状である。

防疫マニュアル等において開発された技術を普及させる。本課題による新たな清浄性管理手法による養殖管理技術が開発されれば、当該水域や養殖施設での疾病発生を防止でき、清浄な水域・養殖施設間での種苗の導入・移動が可能になることで、広域的なまん延も防止できる。

#### (ア) ゾーニングによるマダイイリドウイルス（RSIV）病の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

RSIV病による被害は1992年に世界ではじめて日本の養殖マダイから報告されて以降、現在まで中国、韓国及び東南アジア各国の数多くの魚種（40魚種以上）から、その被害

報告がなされている。しかし、RSIVの通年的な疫学調査は世界的にも養殖魚及び天然魚を問わず、全く報告がないことから、現在まで本ウイルス病の感染源に関して、養殖場で越年魚から感染を受けるのか、養殖場周辺の天然魚に生息するウイルスキャリア魚から水平伝播するのか、天然水域や中間育成場で感染するのか、親魚から垂直感染しているのか全く不明である。清浄性管理手法を確立するにはRSIVの感染環を断ち切る必要があるが、そのためにはウイルス感染源の情報が必須である。また、物理的な境界線のない海面養殖において、ゾーニングによる清浄性管理手法を確立するためには、どのような範囲（養殖生簀単位や湾単位）でゾーンを設定するかが重要となる。その際には、人為的な管理ができない天然魚および環境海水によるウイルスの伝播リスクを明らかにする必要がある。そこで、本課題では養殖魚（越年魚及び当歳魚を含む）や天然魚及び環境水からのイリドウイルスの検査を経時的に実施し、当歳魚の感染源を推定する。越年魚から当歳魚（0歳魚）へ感染している可能性が示唆された場合、海流や潮の流れ等を考慮し、越年魚と当歳魚の飼育生け簀を水域（湾）ごとに分け、ウイルスキャリア魚と非感染魚との接触の機会を減らすことを試みる。これらの手法等により人為的な仕切りを設けることが出来ない海面においてゾーニングによる疾病の清浄化が可能かを検証する。

#### **（イ）コンパートメンタリゼーションによるマス類の伝染性造血器壊死症（IHN）の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発**

IHNは病原ウイルスと魚との接触により引き起こされることから、IHNウイルスと魚との接触要因を解明し、その接触要因を排除するためのコンパートメントの確立とその検証を試みる。具体的には、ウイルスに感染耐過したウイルスキャリア魚やそれらを育成した感染耐過親魚、河川水等の病原体が存在する環境水などとの接触により感染が引き起こされると考えられるが、これまでこれらの感染源としてのリスクを推定できなかった。そこで、ウイルスの分子疫学的調査法を開発することにより感染源を特定し、さらに感受性稚魚を用いた実験疫学的な調査と組み合わせることにより、リスクの推定を試みる。その結果に応じた排除法を示すとともに、ワクチン接種による直接的な被害軽減効果以外の育成期および採卵親魚におけるリスクの軽減効果を推定し、将来的なワクチンの導入の有効性を示す。さらに、IHNの発生がある養殖施設において、リスクを排除する（バイオセキュリティレベルを上げる）ことによるコンパートメンタリゼーションで清浄性確保が可能かを検証する。

## **（2）達成目標**

### **小課題1. 病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発**

本課題では対象疾病をマダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病、ニジマスの通称ラッシュ及びアユの異形細胞性鰓病とし、以下の実行課題で研究を推進する。

- ・マダイに大量死を引き起こす不明病の診断法と防除法の開発
- ・ウナギの板状出血病の診断法と防除法の開発
- ・ニジマスのラッシュの診断法と防除法の開発
- ・アユの異形細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発

課題終了時にはこれら原因不明の疾病について、診断法と防除法を確立する。開発し

た検査法や防除法は検査・防疫マニュアル等に取りまとめ、都道府県等の担当者へ配布するとともに、必要に応じてブロック会議等を通じて検査技術のポイントを解説することによって普及を図る。また、より平易なリーフレット等も作成し、養殖業者や製薬メーカー等への周知も並行して行うことにより、当該疾病に対する知識と意識の向上を図る。

#### 【令和元年度】

- ・対象4疾病について、疾病の発生漁場より病魚をサンプリングする。
- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては病理学的、病原体分離法及び次世代シーケンサー等による分子生物学的手法等を用い、病原体の絞り込みを進める。
- ・アユの異形細胞性鰓病については死亡病魚や感染組織磨砕濾液などを用いた感染実験による病徴の再現を試みるとともに、原因と疑われるポックスウイルスの動態を調べるウイルス検出法の開発を行う。

#### 【令和2年度】

- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては病理学的、病原体分離法及び次世代シーケンサー等による分子生物学的手法等を用い、病原体の絞り込みを行う。
- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては前年度までに得られた結果を基に診断法の開発に着手する。
- ・アユの異形細胞性鰓病については、感染実験による病徴の再現を行うとともに、発病要因の検討に着手する。さらに養殖場内での感染源や感染経路を特定するため、感染源として天然魚におけるポックスウイルスの分布調査を開始する。

#### 【令和3年度】

- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては病理学的、病原体分離法及び次世代シーケンサー等による分子生物学的手法等を用い、病原体の絞り込みを行う。
- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては前年度までに得られた結果を基に診断法の開発を進める。
- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては前年度までに得られた結果を基に防除法の開発に着手する。
- ・アユの異型細胞性鰓病については疾病の発病要因の検討をさらに進める。
- ・アユの通称ボケ病については前年度までに得られた結果を基に養殖場内でのポックスウイルスの感染源や感染経路を解明に着手する。また、養殖場内でのポックスウイルスの感染源や感染経路の特定を進める。
- ・アユの異型細胞性鰓病については、予防に向けてポックスウイルスの遺伝子から推定されるワクチン抗原となり得る候補の探索を開始する。

#### 【令和4年度】

- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては前年度までに開発した診断法を現場に応用する。
- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては前年度までに得られた結果を基に防除法の開発を進める。
- ・アユの異型細胞性鰓病については疾病の発病要因を明らかにする。

- ・アユの異型細胞性鰓病については前年度までに得られた結果を基に養殖場内でのポックスウイルスの感染源や感染経路の特定を続ける。
- ・アユの異型細胞性鰓病についてはポックスウイルスの遺伝子から推定されるワクチン抗原となり得る候補の探索を続ける。

#### 【令和5年度】

- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては前年度までに開発した診断法を必要に応じて改良する。
- ・マダイに大量死を引き起こす不明病、ウナギの板状出血病及びニジマスの通称ラッシュについては前年度までに得られた結果を基に防除法の開発を行う。
- ・アユの異型細胞性鰓病については感染源や感染経路を特定し養殖場における防除法を開発する。
- ・アユの異形細胞性鰓病についてはポックスウイルスの遺伝子から推定される抗原を用いたワクチン等による予防法の検討を行う。
- ・対象4疾病について、開発した検査法や防除法は検査マニュアルや平易なリーフレット等を作成し都道府県等の担当者へ配布し普及を図る。また、必要に応じて水産技術研究所 病理部において技術講習会を開催する。

### 小課題2. 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

本課題ではWOAHリスト疾病である海産養殖魚におけるマダイイリドウイルス病（RSIV）や内水面の養殖マス類における伝染性造血器壊死症（IHN）を対象にゾーニングやコンパートメンタリゼーションによる清浄性確保が可能となる養殖管理技術を検証し、開発することを目標とする。

RSIVでは、養殖海域の天然魚、養殖魚および導入種苗を合計で2000尾以上調査することで、各集団の感染源としてのリスクを明らかにする。また、養殖海域の海水を延べ200か所以上検査することに加え、培養ウイルスを用いた感染実験を実施し、海水によるRSIVの伝播リスクを明らかとする。これらの情報からゾーニングによる清浄性確保が可能となる養殖管理技術を提案し、養殖業者の協力の元の実証試験を実施する。

IHNについては、国内で海面サーモン養殖が盛んな中、重要な常在疾病であるIHNについて、清浄性管理が行われた魚を海面養殖用の種苗とすることで、国内での拡大リスクを減少させることができる。

#### 【令和元年度】

- ・RSIV病については養殖魚（越年魚及び当歳魚を含む）や天然魚及び環境水の経時的なサンプリングおよびマダイイリドウイルスの検査を開始する。
- ・IHNについては、病原ウイルスの分子疫学的な調査手法の検討を行うとともに、実験疫学的な手法により感染耐過稚魚やそれを育成した親魚候補、河川水等の病原体が存在する環境水等のリスク調査に着手する。

#### 【令和2年度】

- ・RSIV病については養殖魚（越年魚及び当歳魚を含む）や天然魚及び環境水の経時的なサンプリングおよびマダイイリドウイルスの検査を継続するとともに、前年度得られた結果を基に感染源の推定を進める。
- ・IHNについては病原ウイルスの分子疫学的な調査手法の検証および前年度に引き続きリスクの調査を継続するとともに、ワクチン接種による感染耐過魚のリスクに及ぼす影

響も調査する。

【令和3年度】

- ・RSIV病については前年度までに得られた結果を基に感染源を推定する。
- ・IHNについては、感染耐過した親魚のリスクとワクチン接種の影響を調査するとともに、得られた結果を基に感染リスクに応じた排除法を検討する。
- ・IHNの発生がある養殖施設において、リスク排除による発生防止に向け、実験疫学的に推定した感染リスクの分子疫学的な手法による評価とその排除法の検討を開始する。

【令和4年度】

- ・RSIV病については、越年魚から当歳魚（0歳魚）へ感染している可能性が示唆された場合、越年魚と当歳魚の飼育生け簀を水域（湾）ごとに分け、ウイルスキャリア魚と非感染魚との接触の機会を減らすことにより疾病の発生が抑えられるか検討を開始する。
- ・IHNについては、感染耐過した親魚含めたリスクに応じた排除法を示すとともに、ワクチン接種によるリスク低減効果を推定する。
- ・IHNの発生がある養殖施設において、リスク排除による発生防止に向け、感染リスクの分子疫学的な手法による評価とその排除法の検討を継続する。

【令和5年度】

- ・RSIV病については、前年度まで得られた結果・手法等により海面においてゾーニングによる疾病の清浄化が可能かを検証する。
- ・IHNについてはリスクを排除することによるコンパートメンタリゼーションで清浄性確保が可能かを検証する。
- ・いずれの疾病についても開発した養殖管理技術や排除法等は検査マニュアルまたは平易なリーフレット等にまとめ、都道府県等の担当者へ配布するとともに、養殖業者等への周知も並行して行うことにより、当該疾病に対する清浄性管理手法の向上を図る。  
これらの成果の相乗効果により、研究開発に主体的に参画した養殖業者が開発された技術を実践することにより最終年度において生産性の1割向上等を目指し水産業の競争力強化に資する。

また、水産分野においてはゾーニング、コンパートメンタリゼーションともに国際的にはほとんど取組まれていないのが現状であり、これらの技術に関する疾病の清浄性管理についての国際的なコンセンサス形成も重要である。その点においては本研究の成果によって、国際的な議論をリードすることが可能になり、魚病の清浄性管理について日本の国際的な地位向上も期待できる。

研究開発の中間時（令和3年3月末時点）における研究の進捗目標値

実行課題名：ゾーニングによるマダイイリドウイルス（RSIV）病の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

- （1）RSIV病の感染源を推定：80%
- （2）RSIV病のゾーニングによる清浄化の検証：0%

実行課題名：コンパートメンタリゼーションによるマス類の伝染性造血器壊死症（IHN）の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

- （1）IHNの感染リスクの調査とその排除法の開発：70%
- （2）コンパートメンタリゼーションによるIHN清浄性管理の検証：20%

### (3) 研究開発された成果の取扱い

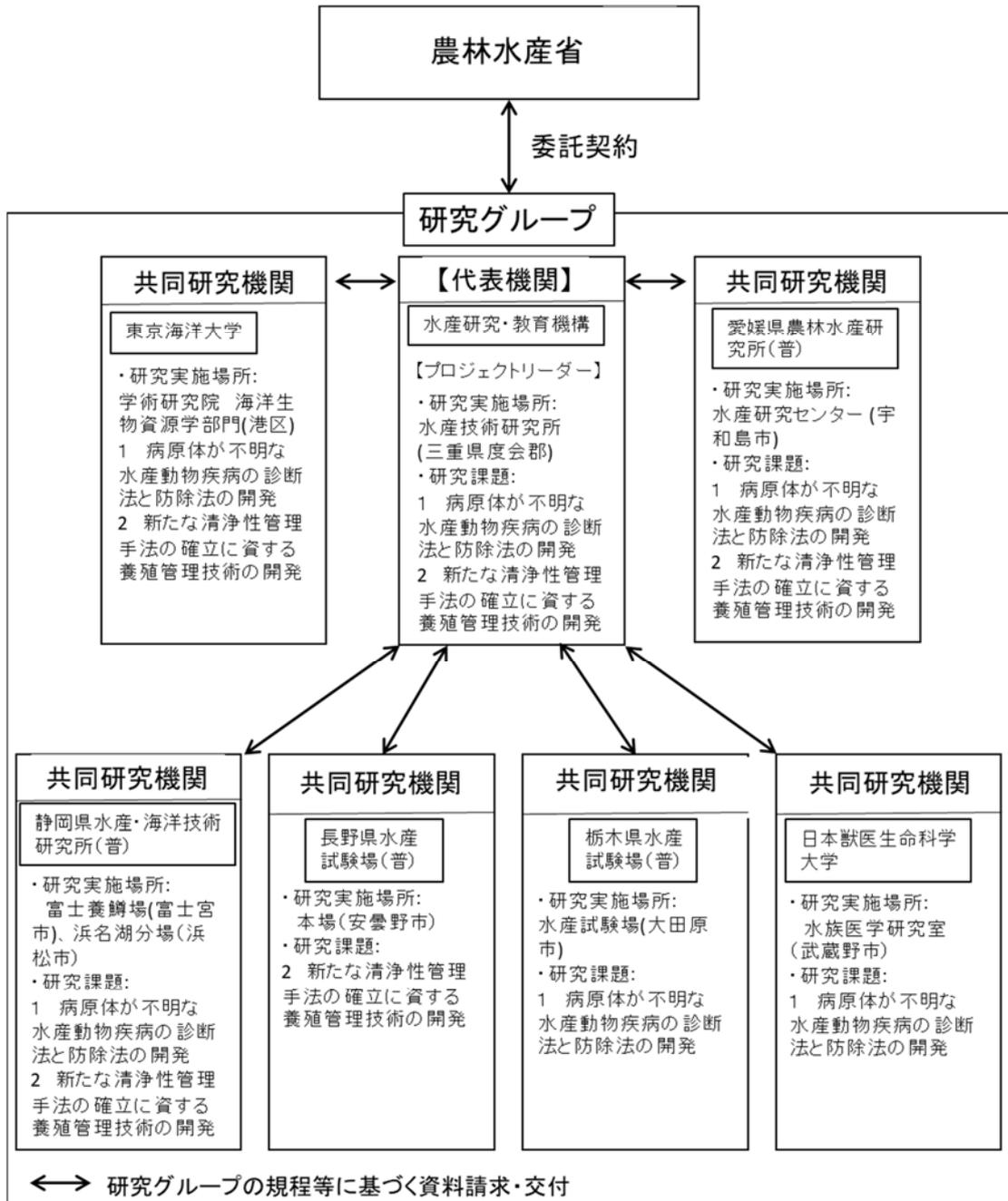
本課題ではWOAHリスト疾病である海産養殖魚におけるマダイイリドウイルス病（RSIV）や内水面の養殖マス類における伝染性造血器壊死症（IHN）を対象にゾーニングやコンパートメンタリゼーションによる清浄性確保が可能となる養殖管理技術を検証・開発する。これにより、当該水域や養殖施設での疾病発生を防止でき、清浄な水域・養殖施設間での種苗の導入・移動が可能になることで、広域的なまん延も防止できる。特にRSIVについては宿主域が広いことから、水産物輸出時の無病証明を求める国が増えつつあり、海面でもゾーニングによる清浄性管理が可能となった場合、本結果を提示し厳格な衛生条件を課す国への輸出や輸出時の検査が軽減される可能性がある。IHNについては、国内で海面サーモン養殖が盛んな中、重要な常在疾病であるIHNについて、清浄性管理が行われた魚を海面養殖用の種苗とすることで、国内での拡大リスクを減少させることができる。

確立した原因不明病の診断方法はマニュアルにして公表し、必要に応じて講習会を開催して、都道府県の魚病担当者が自ら診断できる体制を構築する。防除技術や、ゾーニングおよびコンパートメンタリゼーションによる魚病対策もマニュアルを作成し、都道府県の魚病担当者ならびに養殖業者へ配布する。以上のように開発した技術を公開することで、成果を魚病対策へ活用する。

(4) 年次計画

| 研究課題   | 研究年度                      |    |                |    |    |
|--|---------------------------|----|----------------|----|----|
|  | R1                        | R2 | R3             | R4 | R5 |
| 1. 病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発<br>(1) マダイに大量死を引き起こす不明病の診断法と防除法の開発                           | 原因体解明                     |    | 診断法開発          |    |    |
|  |                           |    | 防除法開発          |    |    |
|  | 原因体解明                     |    | 診断法開発          |    |    |
|  |                           |    | 防除法開発          |    |    |
| (2) ウナギの板状出血病の診断法と防除法の開発   | 原因体解明                     |    | 診断法開発          |    |    |
|  |                           |    | 防除法開発          |    |    |
|  | 原因体解明                     |    | 診断法開発          |    |    |
|  |                           |    | 防除法開発          |    |    |
| (3) ニジマスのラッシュの診断法と防除法の開発   | 原因体解明                     |    | 診断法開発          |    |    |
|  |                           |    | 防除法開発          |    |    |
|  | 原因体解明                     |    | 診断法開発          |    |    |
|  |                           |    | 防除法開発          |    |    |
| (4) アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発  | 感染実験による病徴の再現              |    | 発症要因の解明        |    |    |
|  |                           |    | 感染経路の特定と防除法の開発 |    |    |
|  | 感染実験による病徴の再現              |    | 発症要因の解明        |    |    |
|  |                           |    | 感染経路の特定と防除法の開発 |    |    |
| 2. 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発<br>(1) ゾーニングによるマダイイリドウイルス (RSIV) 病の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発 | 感染源の推定                    |    |                |    |    |
|  | ゾーニングによる清浄化の検証            |    |                |    |    |
|  | 感染リスクの調査とその排除法の開発         |    |                |    |    |
|  | コンパートメンタリゼーションによる清浄性管理の検証 |    |                |    |    |
| (2) コンパートメンタリゼーションによるマス類の伝染性造血器壊死症 (IHN) の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発                        | 感染リスクの調査とその排除法の開発         |    |                |    |    |
|  | コンパートメンタリゼーションによる清浄性管理の検証 |    |                |    |    |
|  | 感染リスクの調査とその排除法の開発         |    |                |    |    |
|  | コンパートメンタリゼーションによる清浄性管理の検証 |    |                |    |    |

(5) 研究体制



(注1) 機関ごとに、研究実施場所、実施項目を記載してください。

(注2) 「普及・実用化支援組織」については名称の後に(普)と、また「農林漁業者等」については名称の後に(農)、(林)、(漁)等と、そのことが分かるように記載してください。

(6) 実施体制

| 研究項目                            | 担当研究機関・研究室           |       | 研究担当者                          | エフォート (%) |
|---------------------------------|----------------------|-------|--------------------------------|-----------|
|                                 | 機関                   | 研究室   |                                |           |
| 研究総括者                           | 水産研究・教育機構<br>水産技術研究所 | 病理部   | ◎前任者中易 千早<br>(～2021. 3)        | 10        |
|                                 |                      |       | ◎後任者伊東 尚史<br>(2021. 4～)        | 15        |
| 1. 病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発     | 水産技術研究所              | 病理部   | ○松山 知正                         | 10        |
| (1) マダイに大量死を引き起こす不明病の診断法と防除法の開発 | 水産技術研究所              | 病理部   | △前任者 米加田 徹<br>(～2022. 3)       | 10        |
|                                 |                      |       | △後任者 黒部 智史<br>(2021. 8～)       | 10        |
|                                 |                      |       | 伊東 尚史                          | 前出        |
|                                 |                      |       | 桐生 郁也                          | 10        |
|                                 |                      |       | 河東 康彦                          | 10        |
|                                 |                      |       | 新田 理人<br>(2022. 4～)            | 10        |
|                                 |                      |       | 高田 優三<br>(2022. 4～)            | 10        |
|                                 | 愛媛県農林水産研究所           | 魚類検査室 | 川上 秀昌 (～<br>2023. 3)           | 5         |
|                                 |                      |       | 水野 かおり (～<br>2022. 3)          | 5         |
|                                 |                      |       | 石井 祐治 (～<br>2020. 3)           | 5         |
|                                 |                      |       | 原川 翔伍 (2021. 4<br>～)           | 5         |
|                                 |                      |       | 板野 公一 (2022. 4<br>～)           | 5         |
|                                 |                      |       | 鈴川 健二 (2023. 4<br>～)           | 5         |
|                                 |                      |       | 平井 真紀子 (2023. 4<br>～)          | 5         |
| (2) ウナギの板状出血病の診断法と防除法の開発        | 水産技術研究所              | 病理部   | △前任者寺島 祥子<br>(～2020. 6)        | 10        |
|                                 |                      |       | △前任者高野 倫一<br>(2020. 7～2021. 3) | 10        |

|                               |                                 |     |  |  |
|-------------------------------|---------------------------------|-----|--|--|
|                               | 静岡県水産・海洋技術研究所                   |     | △後任者梅田 剛佑<br>(2021.4～)<br>松山 知正<br>吉野 友晃(2021.4～)<br>松浦 雄太<br>桐生 郁也<br><br>鈴木 基生 (～2021.3)<br>吉川 昌之 (2021.4～2022.3)<br>飯沼 紀雄 (2022.4～)                             | 10<br>前出<br>5<br>5<br>前出<br><br>5<br>5<br>5          |
| (3) ニジマスのラッシュの診断法と防除法の開発      | 水産技術研究所<br><br>静岡県水産・海洋技術研究所    | 病理部 | △高野 倫一<br>前任者寺島 祥子<br>(～2020.6)<br>後任者梅田 剛佑<br>(2021.4～)<br>松山 知正<br>吉野 友晃(2021.4～)<br>松浦 雄太<br>桐生 郁也<br><br>木南 竜平 (～2020.3)<br>中村 永介 (2020.4～)<br>瀧川 智人 (2022.4～) | 前出<br>前出<br>前出<br>前出<br>前出<br>前出<br><br>10<br>5<br>5 |
| (4) アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発 | 東京海洋大学<br>日本獣医生命科学大<br>栃木県水産試験場 |     | △佐野 元彦<br><br>和田 新平<br><br>石川 孝典(～2022.3)<br>西村 友宏 (～2020.3)<br>野中 信吾 (2020.4～2022.3)  | 10<br><br>10<br><br>10<br>10<br>10                   |

|   |                        |       |   |   |
|---|------------------------|-------|---|---|
|   |                        |       | 森 竜也 (2021.4～<br>2023.3)  | 10  |
|   |                        |       | 渡邊 長生 (2022.4<br>～)   | 10  |
|   |                        |       | 高木 優也 (2023.4<br>～)   | 10  |
| 2. 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発                                     | 水産技術研究所                | 病理部   | ○前任者 伊東 尚史<br>(～2021.3)<br>○後任者 桐生 郁也<br>(2021.4～)  | 前出<br><br>前出  |
| (1) ズーニングによるマダイイリドウイルス(RSIV) 病の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発            | 水産技術研究所                |       | △河東 康彦<br>伊東 尚史<br>米加田 徹<br>(～2022.3)<br>桐生 郁也<br>湯浅 啓(2021.4～<br>2022.3)<br>黒部 智史(2021.8<br>～)<br>新田 理人<br>(2022.4～)<br>高田 優三<br>(2022.4～) | 前出<br>前出<br>前出<br><br>前出<br>5<br><br>前出<br><br>前出<br><br>前出 |
|   | 愛媛県農林水産研究所             | 魚類検査室 | 川上 秀昌 (～<br>2023.3)<br>水野 かおり (～<br>2022.3)<br>山本 千晶 (～<br>2021.3)<br>原川 翔伍 (2021.4<br>～)<br>板野 公一 (2022.4<br>～)                            | 前出<br><br>前出<br><br>5<br><br>前出<br><br>前出                   |
| (2) コンパートメンタリゼーションによるマス類の伝染性造血器壊死症 (IHN) の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発 | 東京海洋大学<br><br>長野県水産試験場 |       | △佐野 元彦<br><br>小川 滋 (～<br>2022.3)<br>竹花 孝太 (～<br>2022.3, 2023.4～)  | 前出<br><br>10<br><br>10                                      |

|  |               |                           |    |
|--|---------------|---------------------------|----|
|  |               | 川之辺 素一<br>(2022.4~2023.3) | 10 |
|  |               | 重倉 基希 (2022.4<br>~2023.3) | 10 |
|  |               | 白鳥 史晃 (2022.4<br>~)       | 10 |
|  |               | 星河 廣樹 (2023.4<br>~)       | 10 |
|  | 静岡県水産・海洋技術研究所 | 中村 永介                     | 前出 |
|  |               | 松山 創(~2022.3)             | 5  |
|  |               | 木南 竜平(~<br>2020.3)        | 前出 |
|  |               | 池田 卓摩(2020.4<br>~2023.3)  | 5  |
|  |               | 瀧川 智人 (2022.4<br>~)       | 5  |
|  |               | 富山 皓介 (2023.4<br>~)       | 5  |

(注1) 研究総括者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付すこと。

(注2) 代表機関及び共同研究機関並びに研究総括者の変更を行う必要が生じた場合はその理由を明記した書面を添付すること。

**(7) 各年度の研究費**

令和元年度 30,278,000円

令和2年度 26,318,632円

令和3年度 22,916,000円

令和4年度 20,622,950円

令和5年度 18,562,000円

### 3 研究成果の概要

#### (1) 主な成果

##### 1) 成果の内容

###### 小課題1 病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発

###### 実行課題1 マダイに大量死を引き起こす不明病の診断法と防除法の開発

マダイの不明病として解析対象とした冬季貧血症の病魚からは1種類のアドマウウイルスが検出され、これは病原ウイルスと推察された。夏季腎腫大症では、症状を呈する病魚から計4種類のウイルス（2種類のアドマウウイルス（いずれも冬季貧血症とは異なる）、1種類のパルボウイルスおよび1種類のハンタウイルス）とビブリオ属細菌由来の遺伝子配列が優占的に検出された。これら疾病の病魚から検出されたウイルスについては、今後の診断のため検出用PCR法を開発した。夏季腎腫大症の病魚から検出されたパルボウイルスは、導入種苗や養殖現場のふき取り検査でも検出され、本ウイルスは導入種苗を介して侵入し、死魚の取り扱いにて養殖現場内に拡散していた可能性が示唆された。夏季腎腫大症がマダイ養殖場で自然収束し、研究を行うための追加の病魚サンプルを得ることが出来なくなったことから、本疾病の主因は確定できなかった。そこで、マダイ養殖における包括的な防除対策法を検討するため、マダイのエドワジエラ症の病原体である*Edwardsiella anguillarum*について導入種苗や養殖現場のふき取り検査調査を行った。その結果、*E. anguillarum*も導入種苗を介して養殖現場に侵入し、死魚の取り扱いにより拡散している可能性が示唆され、*E. anguillarum*に対しては塩素消毒が非常に有効であることを示した。

###### 実行課題2 ウナギの板状出血病の診断法と防除法の開発

本病の病原体がウナギの血管内皮壊死症の病原ウイルスでもあるJEECVである可能性を示した。本ウイルスに特異的なPCR法および免疫染色法による検出・診断法を開発した。開発した方法を利用したウナギ鰓組織中および養鰻場飼育水中のウイルス量の経時的調査により、本ウイルスの考えられる感染源・感染経路を明らかにした。また、ウイルスの培養系を利用し、本ウイルスに対してエタノールあるいは次亜塩素酸ナトリウムによる消毒が有効であることを示した。

###### 実行課題3 ニジマスのラッシュの診断法と防除法の開発

本症が未同定の細胞内寄生性細菌による感染症であることを示した。本菌に特異的なPCR法を開発し、養殖現場または水産試験場レベルで実施可能な検出法を確立した。さらに、定量PCR法も開発し、これを利用して飼育環境水中や皮膚中の菌数を測定することを可能にした。オキシテトラサイクリン経口投与が本症の治療に有効であることも見つけた。また、成熟した雌親魚の体腔液中から本菌は検出されず、採卵時に本菌が侵入するリスクが非常に低いことも明らかにした。

###### 実行課題4 アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発

本病の原因はアユボックスウイルス（PaPV）であることを明らかにした。高感度のPCR検出およびアユPaPV DNAの定量PCR法が開発され、これにより感染実験で定量的にウイルス動態を調べられるようになった（論文公表済み）。また、感染実験により鰓病変および死亡の発生が再現でき、鰓における自然感染魚と同等以上のPaPV増殖が確認できることから、本病の原因はPaPVであることが判明するとともに、18℃、23℃および28℃での感染実験において、28℃では死亡がみられず、本病の発生が水温の影響を受けることを明らかにした（学会発表済み・論文取りまとめ中）。

## 小課題2 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

### 実行課題1 ゾーニングによるマダイイリドウイルス (RSIV) 病の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

RSIVでは、養殖海域の天然魚が養殖場におけるRSIV流行の感染源となっている可能性がほとんど無いことが明らかとなった。また、海水中のRSIVゲノム濃度が $10^3$ コピー/L未満の場合は感染リスクが0.0001%以下であり、病気の発生生簀から100m以上離れると海水を介してRSIVが伝播する可能性がほとんど無いことも明らかとなった。一方、感染越年魚や導入種苗が養殖場におけるRSIV流行の原因であることも示唆された。これらの知見を基に、導入種苗の事前検査でウイルスを保有していないマダイを、越年魚あるいは他の養殖場から100m以上離れた生簀で約2年間飼育するゾーニングの実証試験を実施した。その結果、対象ロットでRSIV病の発生が無く、出荷魚の検査でもRSIVが検出されることは無く、ゾーニングによる清浄性管理によりRSIVを保有しないマダイを生産することが可能であった。さらに、RSIVでは海水が距離に依存してウイルス伝播の防壁として機能することが示唆され、海面養殖での防疫対策の重要性が再確認された。このことから、消毒による防疫対策の情報を整備するために、次亜塩素酸ナトリウム、塩化ベンザルコニウム、エタノール、温度、日光等に対するRSIVの不活化条件を明らかにした。これらの情報は、マニュアルとして整理し、養殖業者や関係機関に対して講習会等により周知を行った。

### 実行課題2 コンパートメンタリゼーションによるマス類の伝染性造血器壊死症 (IHN) の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

2つのウイルスタンパク質遺伝子の配列情報を使うことで、IHNウイルスの分子疫学的な調査手法を開発した。これを用いて参画する水産試験場における稚魚の発生事例でのウイルス感染源や群でのウイルス感染の様相を明らかにすることができ、今後の養殖場での感染源の推定に利用可能と考えられた(学会発表済み)。IHNウイルスフリー湧水の使用、あるいはIHNウイルスに汚染された用水をUV殺菌した給水を使用することにより、稚魚でのIHN発生防止ができることを確認した。

## 2) 成果の活用

本研究で得られた成果は学術論文として7報、国内外の学会等発表として29題を公表し、学術の発展に貢献した。また、成果の普及やアウトリーチ活動として、商業誌等における成果公表や養殖業者に対する講演活動を行い、本課題の対象疾病では衛生管理が防疫対策として有効であることを説明した。さらに、行政が活用しうる成果として、対象疾病の診断法や養殖場における防除法のマニュアルを作成し、科学的知見と行政施策との間の橋渡し、すなわちレギュラトリーサイエンスとして役割を果たした。なお、各課題における詳細については、別紙様式2および以下の記載のとおりである。

### 小課題1 病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発

#### 実行課題1 マダイに大量死を引き起こす不明病の診断法と防除法の開発:

夏季腎腫大症および冬季貧血症原因ウイルスに対する遺伝子検査法のマニュアルを作成し、発生県の魚病検査施設へ周知した。また、種苗期に発生した新規ボックスウイルス病については、本病のPCR診断法を民間の種苗生産会社へ普及した。種苗生産会社では、本課題で開発した検査法を用いて受精卵のウイルス検査を実施している。行政が活用しうる成果として、夏季腎腫大症と冬季貧血症の発症が疑われた際の診断に活用するため、「マダイの夏季腎腫大症と冬季貧血症(いずれも仮称)診断マニ

アル」を作成した。加えて、海面養殖業者に対する飼養衛生管理の重要性について指導を行うための資料として、「エドワジエラ症の研究から得られたマダイ養殖の包括的な疾病対策」および「やってはいけない！ in 海面養殖」を作成し、農林水産省へ提出した。

実行課題2 ウナギの板状出血病の診断法と防除法の開発：

養鰻場における本病の感染源・感染経路の解明のため、静岡県・高知県内の養鰻場で定量PCR検査の利用を開始した。行政が活用しうる成果として、地方公設試におけるウナギのウイルス性血管内皮壊死症の診断と養鰻業者に対する疾病防除法の啓蒙活動のため、「ウナギのウイルス性血管内皮壊死症診断・防除マニュアル」を作成し、農林水産省へ提出した。

実行課題3 ニジマスのラッシュの診断法と防除法の開発：

ラッシュの簡易診断法として静岡県内でPCR検査の利用を開始した。行政が活用しうる成果として、地方公設試におけるニジマスの非致死性皮膚炎ラッシュの診断と養鰻業者に対する疾病防除法の啓蒙活動のため、「ニジマスの非致死性皮膚炎ラッシュ診断・防除マニュアル」を作成し、農林水産省へ提出した。

実行課題4 アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発：

今回開発した高感度の定量PCR法を、アユ遡上稚魚のウイルス検査や養殖場内におけるウイルスの汚染状況調査等に活用している。行政が活用しうる成果として、地方公設試におけるアユの異型細胞性鰓病の診断とアユ養殖業者に対する疾病防除法の啓蒙活動のため、「アユの異型細胞性鰓病 (Atypical Cellular Gill Disease : ACGD) 診断・治療マニュアル 第2版 (公益社団法人 日本水産資源保護協会発行)」を作成し、農林水産省へ提出した。

小課題2 新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

実行課題1 ゾーニングによるマダイイリドウイルス (RSIV) 病の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発：

ゾーニングによるRSIV病の清浄性管理手法の要点について、湾単位の管理区域の設定を基軸に国際獣疫事務局 (WOAH) が提示している方法に準拠してマニュアル化し、対外輸出において求められる管理水準を実装するための情報を整理した。また、海面養殖において有効な消毒等の防疫対策についても情報を整理して周知を図った。上述の資料はそれぞれ、「ゾーニングによるマダイイリドウイルス病の清浄性管理について」および「病原体の拡散 in 海面養殖」としてまとめ、行政が活用しうる成果とし、農林水産省へ提出した。

実行課題2 コンパートメンタリゼーションによるマス類の伝染性造血器壊死症 (IHN) の清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発：

今回開発したIHNウイルスの分子疫学的な調査手法により参画する水産試験場における稚魚の発生事例でのウイルス感染源の様相を明らかにすることができたことから、今後の養殖場での感染源の推定に利用可能と考えられる。行政が活用しうる成果として、養鰻業者に対するIHNの清浄化と強毒化阻止に向けての啓蒙活動のため、「伝染性造血器壊死症 (IHN) の清浄化と強毒化阻止に向けて (提言)」を作成し、農林水産省へ提出した。

## (2) 各研究課題の成果

## 1) 小課題名：病原体が不明な水産動物疾病の診断法と防除法の開発

### (ア) 研究目標

我が国の養殖の成長産業化を推進している中、感染症の発生による経済被害が養殖経営に大きな影響を与えている。特に近年、主要な養殖種で原因が不明な疾病の発生がみられ、診断法がなく伝播経路等も不明なことから、これらが一度発生すると被害が大きくなりやすく、予防対策の立案・実施についても難しい状況にある。そこで、我が国の養殖業における重要疾病の診断法を開発または高度化し、防除法を確立する。

- ・不明病の原因体が明らかとなることで検査法の確立が可能となり、病原体の感染ルートや環境中での動態を把握できる。
- ・これらの疫学情報を基に感染防除対策を構築することができる。
- ・診断法の普及により対象疾病の発生状況を把握することで、発生海域や時期、あるいは発症サイズなど防除対策の構築に有益な知見が得られる。

### (イ) 研究内容

病原体が不明な、マダイの夏季および冬季の不明病、ウナギの板状出血、ニジマスのラッシュについて、次世代シーケンサーを用いた網羅的な解析と分子疫学的解析により病原体を特定し、検出・診断法を開発する。開発された検出法を用いて、養殖環境中ならびに対象生物中での病原体の動態を解析し、感染経路を遮断する手法を確立し、対象疾病の防除方法を構築する。また、アユの異型細胞性鰓病については、アユポックスウイルス (PaPV) が病原体と考えられているが、人為的感染実験が成功しておらず、未だ結論は得られていない。本疾病発病には細菌の関与も指摘されており、病徴の進行と細菌の分布やPaPVの感染の関係を調べ、発病原因を明確にする。本病についてはウイルスの感染経路の遮断を目的とした疫学解析に加え、PaPVの遺伝子から推定される抗原を用いたワクチン等による予防法の開発を試みる。本事業で対象とした4魚種の各疾病について、開発した検査法や防除法については検査・防疫マニュアル等に取りまとめ、都道府県等の担当者へ配布し普及を図る。また、必要に応じて、都道府県の担当者や養殖業者に対して講習会を開催する。

### (ウ) 研究結果

マダイの不明病に関しては、夏季腎腫大症および冬季貧血症の主因となる病原体を探索するため、病魚に対してメタトランスクリプトーム解析を行った。なお、解析費用を抑えるため2-14の検体（一反応あたり平均7.2検体）を混合し、解析を行った。その結果、夏季腎腫大症を呈する病魚からは計4種類のウイルス（2種類のアドマウイルスと1種類のパルボウイルス、さらに1種類のハンタウイルス）とビブリオ属細菌由来の遺伝子配列が優占的に検出された。一方、冬季貧血症を呈する病魚からは1種類の、前述とは異なるアドマウイルスが検出された。これら病原体を迅速に検出するため、病原体由来の遺伝子配列を元に診断用PCR法を開発した。さらに、開発したPCR法を用いてR4年に見られた夏季腎腫大症を呈する病魚の個別別検査を行ったところ、R4年にメタトランスクリプトーム解析により検出されたアドマウイルス（R4型）とパルボウイルスが高頻度で検出された（陽性率70%以上）。そのうち、約半数（56%）の個体からはR4型アドマウイルスとパルボウイルスの両方が検出された。R4年に腎腫大症と診断された病魚では重複感染が起こっていたと考えられる。本事業では防除法を確立することを目的としており、そのためには病原体の生産現場への侵入経路、および養殖現場での拡散要因を把握する必要がある。そこで、病原体の生産現場への侵入

経路を明らかとするため、R4年度のマダイ導入種苗（計3業者から40あるいは60尾をサンプリング）に対して夏季腎腫大症の要因として疑われるウイルスの検査を行ったところ、1業者のサンプルからパルボウイルス陽性種苗が複数見られた（12尾/60尾で陽性）。この結果は、パルボウイルスは導入種苗を介して養殖現場に侵入したことを示唆している。一方、他の2種類のウイルス（H30型とR4型のアドマウイルス）は導入種苗から検出されなかった。そのため、他の経路を介して養殖現場に侵入したと推測される。また、養殖現場における病原体の拡散要因を明らかとするために拭き取り調査を行った。養殖現場でのサンプリングでは、漁港内の地面、舵輪、死魚回収の際に使用するタモ網やスカリ、軍手等から検体を採集した（図1）。検査は3種類のウイルス（H30型とR4型のアドマウイルスとパルボウイルス）とビブリオ属細菌に対して行った。これら現場にて収集されたサンプルを用いて病原体の検出を試みたところ、死魚を取り扱う器具や容器（死魚樽、死魚回収に使用するタモ網や軍手、漁港の共同死魚回収箱）において、パルボウイルスとビブリオ属細菌が検出された。この結果は、死魚を介した病原体の拡散を示唆している。



図1 養殖現場での拭き取り調査の状況。作業船（A）では、甲板や縁、舵輪、死魚回収容器等からサンプリングを行った。船上の死魚樽（B）からは、蓋の止め金具、内側と外側の側面、内部の不廃液を検査した。海上（C）では、生簀の縁、自動給餌器の拭き取りを行った。漁港においてもサンプリングを行い、餌料庫の取手（D）等、生産者の方々が高頻度で触れる箇所を検査した。

夏季腎腫大症については検出された病原体のいずれか、あるいはこれらが複合的に感染することで発症する可能性が推察されたが、本疾病が自然収束し研究を行うための病魚サンプルを得ることが出来なくなったことから、本疾病の主因は確定できなかった。

そこで、本課題では特定の病原体に注視するのではなく、細菌感染症も含めて包括的に防除対策法を検討することとした。なお、ウイルス感染症では小課題2にてマダイイリドウイルスに対する防除法の開発を行っていることから、本小課題では防除法を開発するためのマダイの疾病のモデル病原体として細菌感染症のエドワジエラ症を選択した。そこで、(1)エドワジエラ症の主因である*Edwardsiella anguillarum*の養殖現場への侵入経路の解明（導入種苗の検査）、(2)養殖現場での拡散要因の調査、(3)マダイ養殖現場での海水中の*E. anguillarum*数の季節的推移状況の把握、そして、(4)消毒法の検討を行った。導入種苗の検査(1)では、令和5年11月の導入種苗から脾臓のサンプリングを行い、定量PCR法を用いて*E. anguillarum*の検査を行った。その

結果、120尾中3尾において陽性個体が検出された（陽性率2.5%）。養殖現場では生簀一つあたり2〜3万尾程度の種苗を導入することが一般的なため、陽性率2.5%では500〜750尾程度が*E. anguillarum*に感染している計算となる。給餌の際、マダイは生簀内で群れを成す。それを考慮すると、導入時の陽性個体から他の健康個体への水平感染は十分に起こりうると予想される。養殖現場での拡散要因の調査(2)では、前述のマダイ不明病病原体と同様、養殖現場において拭き取り調査を行った。拭き取り調査は令和5年7月（エドワジエラ症感染拡大前）と同年10月（調査地区におけるエドワジエラ症流行時）に行った。死魚樽では、7月の調査（感染拡大前）では*E. anguillarum*陽性は1/4であったが、10月の調査（感染流行中）では、検査を行った全ての樽（3/3）で陽性が確認された。また、10月の調査では、タモ網に加えて出荷場の選別台や死魚桶を保管する冷凍庫の取手からも検出された。感染状況により*E. anguillarum*の検出頻度は変わるものの、タモ網や死魚樽等、死魚を直接扱う器具で検出されるという傾向は、前述のマダイ不明病病原体と変わらない。

また、マダイ養殖現場の8台の生簀において、海水中の*E. anguillarum*コピー数の季節的推移(3)を調査したところ、9月頃に*E. anguillarum*のコピー数および検出頻度の上昇が見られ、それ以降、水温が18.1℃にまで低下するまで高頻度で検出された（図2）。7月下旬に海水温が25℃に上昇しても直ちに*E. anguillarum*海水中のコピー数は上昇せず、1ヶ月ほど遅れていることは興味深い。また、養殖現場においてエドワジエラ症による斃死数が減少した11月においても、*E. anguillarum*の検出は継続し、感染魚から排菌され続けていることが明らかとなった。

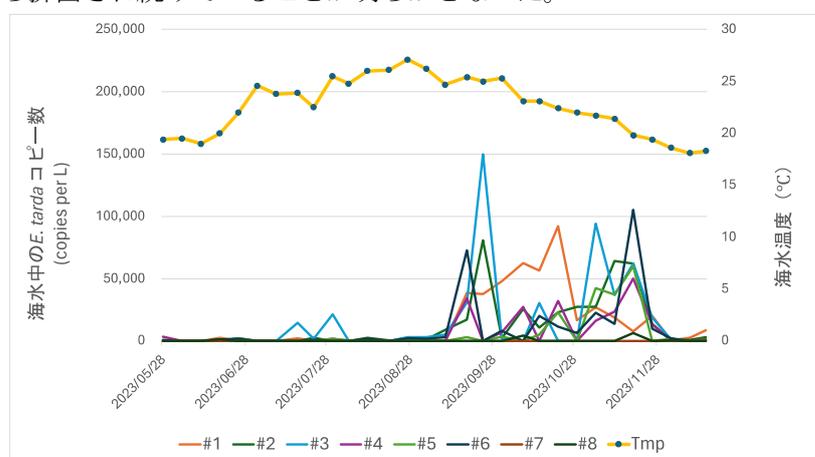


図2 マダイ養殖現場での海水中の*Edwardsiella anguillarum*コピー数の季節的推移

調査には、生産者Aの使用する生簀27台の内、8台を選択し、定期的な海水のサンプリングを行った。海水は鉄凝集法を用いて海水中の懸濁物を凝集させた後、フィルター濾過を行うことで回収した。*E. anguillarum*の定量には、定量PCR法を用いた。

*E. anguillarum*に対する消毒法の検討(4)では、2種類の消毒剤（次亜塩素酸ナトリウムと塩化ベンザルコニウム）に対し、蒸留水中と海水中で30秒と5分の消毒処理を行い、その後、生菌数をミスラ法を用いて評価した。次亜塩素酸ナトリウムによる処理では、低濃度短時間処理（1ppmの希釈液で30秒）でも十分に消毒効果が得られることが明らかとなった。この結果を踏まえ、養殖現場で実施可能な消毒法を開発した。

本事業では防疫指針や防疫マニュアル等において、開発された技術を普及させることを目的としている。そのため、本課題において開発した診断用PCR法は各県水産試験所向けのマニュアルに記載した。また、生産業者向けにも防除法に関する資料（ポスター）を作成した。各県水産試験所を介して生産者へ周知することで防疫法の普及を図る。

ウナギの板状出血病の原因解明では、養鰻場で発生した病魚の病理組織学的解析において核膜過染を伴う核の異常が認められたことから、本病の原因はDNAウイルスであることが示唆された。加えて、メタトランスクリプトーム解析の結果、病魚ではウナギの血管内皮壊死症の病原体でもあるJEECV(アドマウイルス科に属するDNAウイルス)の配列が優占的に出現する個体が見られ、板状出血はJEECVによる症状の一つである可能性が示された。JEECVと板状出血症状との関係を組織学的に調査するため、板状出血を発症した病魚の組織標本に対し、JEECVに対する免疫組織化学染色を実施したところ、JEECV感染細胞が鰓組織内で多数検出され、本ウイルスの感染と板状出血病との関連が示唆された。また、病魚の鰓組織をPBS中で磨砕して健康なウナギに注射したところ、板状出血様の症状が再現される個体が見られ、そのような個体では免疫染色によりJEECVに対する陽性反応が確認された（図3）。これらの点から、過去の症例すべてがJEECVによるものかは確定できないものの、近年の検査で板状出血病と診断される例はJEECVが主因と考えられた。JEECVに関しては、既に報告されている診断・検査法に加え、免疫組織化学染色やELISA、飼育水の定量PCR等の手法を新たに開発した。定量PCR法を用いた経時的調査においては、シラスウナギおよび池入れ後早い時期のウナギは全てJEECV陰性であったが、1年目の秋～冬以降に陽転し、以降は出荷まで陽性が継続した。陽転した時期は前年から飼育されているウナギを収容した他の池で発病・斃死があった時期でもあったことから、長期飼育されている魚から新規導入された魚へ感染が伝播したと考えられた。感染経路に関しては、選別・分養により感染歴のある群を健康な群と同じ池に収容した際に新たな斃死が発生した例があった他、斃死が発生した群の飼育水から斃死の終息後も1年以上に亘ってウイルスDNAが検出されたこと（図4）、病魚の飼育水を健康魚の水槽に添加することで感染が成立したことなどから、感染歴のある魚との同居、あるいはウイルスを含む飼育水を介して感染が伝播していることが示唆され、選別・分養作業が非常に高リスクであることも明らかになった。また、病気の発生頻度の高い養鰻場の多くが周年養殖の形態であったことから、前年から飼育されている魚からその年に新規導入された魚に感染が伝播することが毎年続いている可能性が高いと考えられた。本病の防除策としては、このような感染伝播のリスクを低減していくことが必要である。感染歴のある群を養鰻場内で飼育する場合には隔離と消毒が重要と考えられることから、消毒剤に関する試験を行い、養鰻現場でも比較的導入しやすいエタノールおよび次亜塩素酸ナトリウムがJEECVの不活化に有効であることを示した。また、病魚の飼育水を添加する感染試験においては30℃、32.5℃で飼育した群では死亡があった一方、35℃で飼育した群では死亡がなく、生残魚の鰓組織からもウイルスは検出されなかったことから（図5）、35℃程度の高水温ではウイルスの感染が起きにくいことが示された。35℃への昇温は治療対策として既に利用されているが、上記の結果により病魚からの感染拡大を予防する意味でも一定の効果があると考えられた。また、養殖現場では燃料コ

ストの関係から昇温を32~33℃程度に留めている例も見られたが、この場合は35℃ほどの効果は見込めないことも今回の結果から示唆された。本研究課題において確立した診断・検査法および防除法に関しては関係県へ普及を進めているところである。

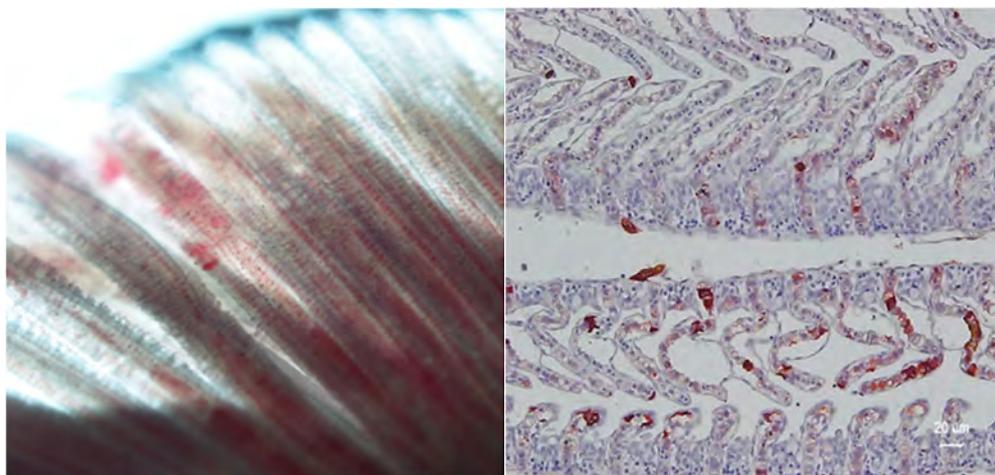


図3. 人為感染試験により板状出血様症状を呈したウナギ鰓（左）とその抗JEECV免疫染色像（右）

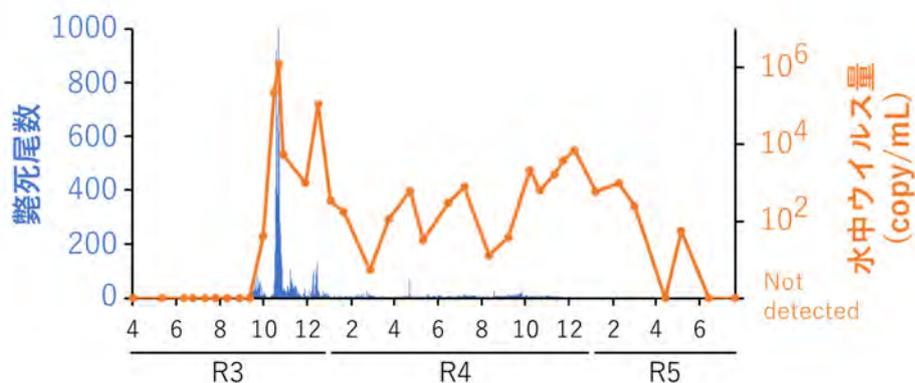


図4. 養鰻場における斃死の発生と水中ウイルス量の経時的調査

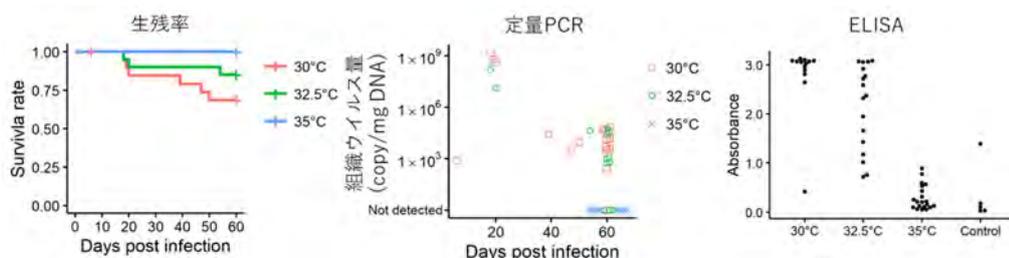


図5. 病魚の飼育水を用いた感染試験の結果

ニジマスのラッシュ（皮膚炎）については、本病を発症したニジマスの患部と正常部を対象にメタトランスクリプトーム解析を行った結果、患部においてリケッチアに近縁な未同定の細菌の16S rRNA遺伝子が検出された。なお、本菌は系統的に *Alphaproteobacteria* 綱に属すると考えられた（図6）。

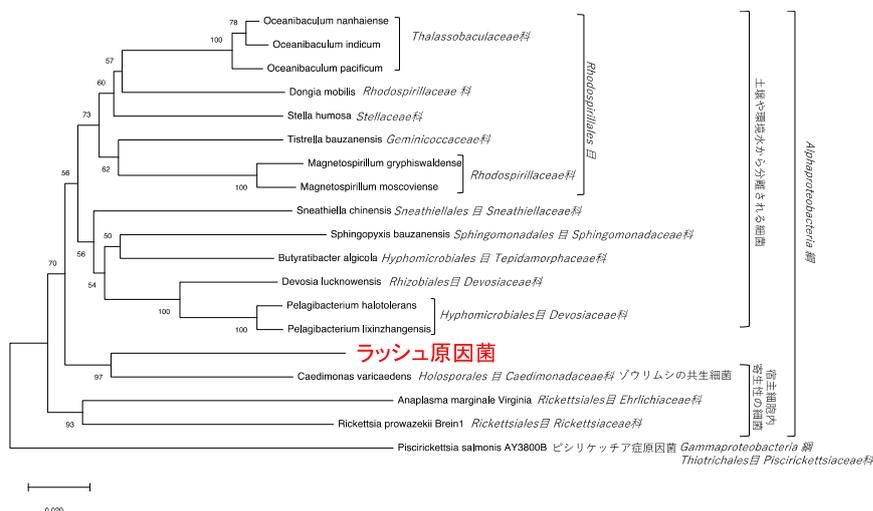


図6. ニジマスラッシュの原因病原体の16S rRNA配列から作成した分子系統樹（NJ法）

次に、本菌のシャペロン遺伝子から組換えタンパク質を作り、これに対する抗血清を作製した。ラッシュ発症部位の組織切片に対して免疫染色を実施したところ、本菌と考えられる粒子状のシグナルが真皮および筋肉の浸潤細胞内から無数に検出された（図7）。すなわち、本症は宿主の細胞内に寄生する細菌感染が原因であると考えられた。次いで、本菌のシャペロン遺伝子を標的としたPCR検査法を確立し、複数のニジマス飼育施設において浸潤検査を実施した。2箇所の非発症施設のニジマスから本菌は検出されなかったが、他の6施設で実施した出荷時検査では全ての施設でラッシュ症状を呈したニジマスから本菌が検出され、養鱒場に広く浸潤していることが示された。続いて、健康なニジマスをラッシュ発症養鱒池に導入したところ、約4割の個体がラッシュを発症したことから、本菌は養鱒場内で水平伝播すると考えられた。同様に、室内での同居試験からも、本菌の水平伝播とラッシュ発症が確認された。また、あるラッシュ発症池で実施した皮膚のPCR検査から、無症状個体であっても約8割が保菌していることが示された。これら保菌魚にオキシテトラサイクリン(OTC) 5日間連経口続投与を2回施すことで、皮膚（図8）や飼育水から本菌が検出されなくなることを確認した。OTC投薬によりラッシュ発症率も低下した。異なる3箇所の親魚池より雌親魚の体腔液を合計44個体分採取し、PCR検査を実施したが、いずれの個体からも原因菌DNAは検出されなかった。すなわち、媒精時の吸水で受精卵が本菌に汚染される可能性は非常に低いと考えられた。

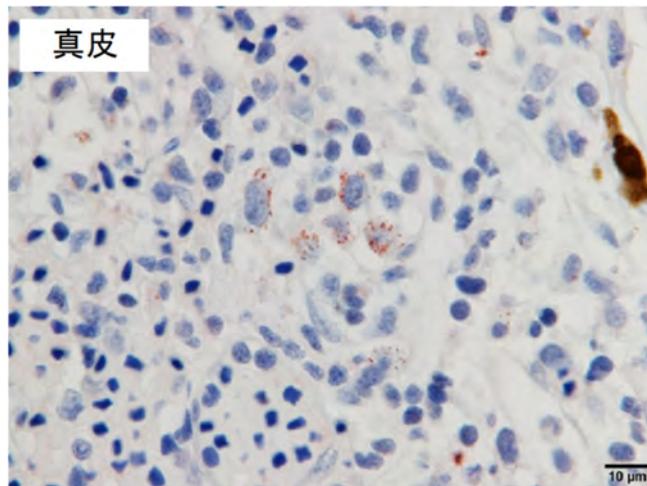


図7. ラッシュ発症ニジマス患部（真皮）から免疫染色で検出された原因病原体宿主の真皮浸潤細胞内から原因菌と考えられる赤色の粒子が無数に検出された

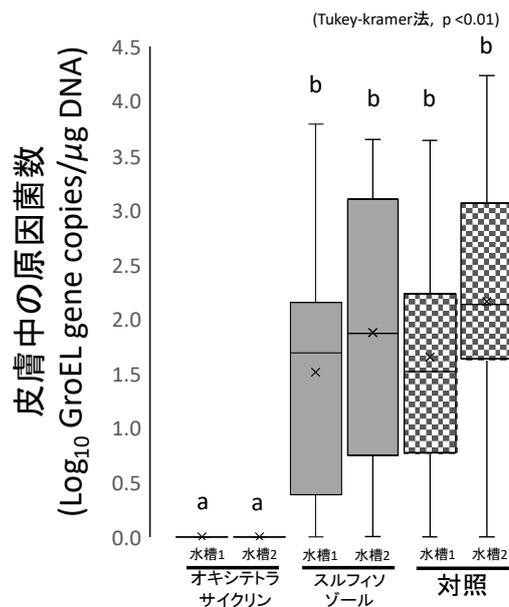


図8. ラッシュ発症ニジマスへのオキシテトラサイクリン（OTC）投薬効果  
ラッシュ保菌魚（n = 15~20）にオキシテトラサイクリン（50 mg 力価/kg体重/日）を5日間連続で2回経口投与した。初回投与から42日目にラッシュ好発部位である腹部の皮膚からDNAを抽出し、定量PCRにより原因菌のシャペロン遺伝子を定量した。

アユの異型細胞性鰓病における「感染実験による病徴の再現」では、高感度のPCR検出およびウイルスDNAの定量PCR法が開発され、これにより感染実験で定量的にウイルス動態を調べられるようになった。また、感染実験により異型細胞や動脈瘤の形成などの鰓病変および死亡の発生が再現でき（図9および10）、自然感染魚と同等以上の鰓におけるウイルス増殖が確認できたことから、本病の原因はアユポックスウイルス（PaPV）であることが判明した。

「発病要因の解明」では、確立した感染実験系を用いて、飼育温度の影響を調べたところ、28℃では発病はなく、23℃と18℃では、死亡発生は水温が高い方が速いが、累積死亡率は水温が低い方が高かった。このように、本病の発生は水温の影響を受けることが明らかとなった。魚体サイズの影響を調べたところ、平均1.8gまでのサイズでは感染しても死亡せず、それらを平均13gまで育ててから再攻撃しても死亡が見られなかった。同一系統魚の感染対照群がなく、明確ではないものの、このことは、小型魚は保菌するが死亡せずに免疫を獲得する可能性があることを示唆する。

「感染経路の特定と防除法の開発」では、河川のアユのPaPVの保有を調べたところ、河川の流下仔魚ではウイルス陰性であるが、遡上稚魚では3月頃から高い陽性率でウイルスが検出され、その後、夏に向かって陽性率が低下する傾向にあった。また、養殖場のACGD発症群におけるウイルス保有追跡調査を行ったところ、発生から144日後にもウイルスDNAが検出され、感染耐過魚は、ウイルスDNA量は低いものの、長期にわたりウイルスを保有することが判明した（表1）。さらに、発病124日後の感染耐過魚から健常魚へのウイルスの伝播が見られた（表2）。このように、感染耐過した天然魚あるいは養殖魚は感染源となるリスクがあることが判明した。また、養殖場に飛来する可能性のあるカワウやサギ類について、糞中のウイルスを調べたところ、ウイルスDNA量は低いものの、検出される個体が半数程度あった。鳥類は驚くといったん嚙下した餌生物を吐き戻すこともあることから、飛来する鳥が排出する糞や吐き戻し餌料が感染源になり得ると思われた。養殖場の施設各所におけるウイルスDNAの調査を行ったところ、本病の発生があった養殖場では施設内から広く検出され、さらに未発生養殖場でも検出されるところがあり、ウイルス汚染が養殖場内で広範囲に起こっていることが明らかとなった（表3）。養殖場施設の汚染状況から、感染のまん延は感染魚を含んだ凍結加工原料等に起因すると推測され、加工場からのウイルス汚染拡大防止が重要であると考えられた。実際に、4業者に聞き取った保存温度（-18～-20℃）で2ヶ月保存した発病魚を感染源とした感染実験により死亡が見られた。消毒剤の効果については、類似のボックスウイルスであるコイの浮腫症ウイルス（CEV）を対象とし、ニシキゴイ稚魚を用いたバイオアッセイで効果試験を実施したところ、70%エタノール、次亜塩素酸、ポビドンヨード、塩化ベンザルコニウムで一般的なエンベロープウイルスと同様な不活化効果が認められたことから、PaPVに対してもコイヘルペスウイルスと同様な消毒剤の使用法で十分な効果が得られるものと推定された。

「予防法の探索」では、小型のガラス水槽でワクチンの評価ができる試験系を構築した。この系を用いて、病魚鰓の摩砕液のホルマリン不活化ワクチン、PaPVゲノム情報による4遺伝子の太陽菌組換えタンパク質ワクチンおよび2種のDNAワクチンの効果を調べたところ、ウイルスコアタンパク質であるORF199のDNAワクチンに防除効果がみられた（空ベクター接種の感染対照群と比較して有効率85%）。同じ遺伝子の組換えタンパク質ワクチンやウイルス液不活化ワクチンに効果がみられなかったことから、本病による鰓の病変を抑えるためには細胞性免疫を誘導できるDNAワクチンが有効と思われた。

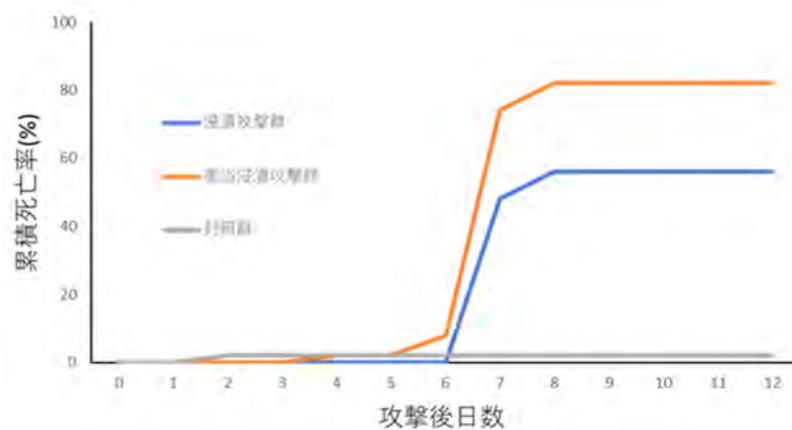


図9. 感染実験における累積死亡率の推移  
 自然発病魚の鰓磨砕濾液を感染源とし、感染群として細菌性鰓病の原因菌 *Flavobacterium branchiophilum* の除菌を目的としたエルバージュ薬浴浸漬攻撃群および薬浴をしない浸漬攻撃群を準備した。

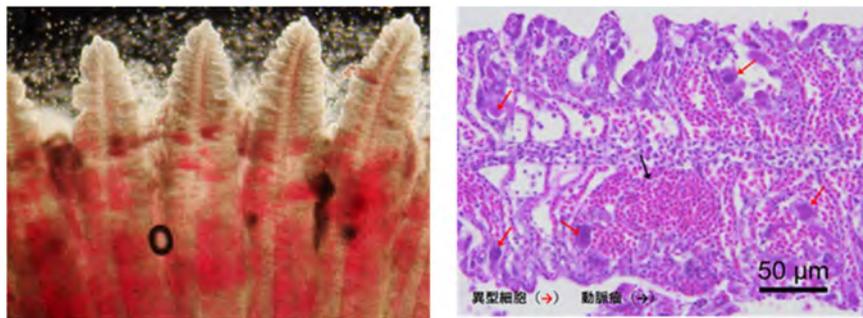


図10. 感染実験における死亡魚の鰓の病変（左：肉眼観察・右：病理切片像）  
 異型細胞を伴う細胞増生および動脈瘤の形成が顕著

表1. 2021年養殖場での自然発症群のウイルス保有追跡調査

| サンプリング日    | 池入 | ACGD発症 | PCR検査結果   |           | 平均体重 (g) | 備考                             |
|------------|----|--------|-----------|-----------|----------|--------------------------------|
|            |    |        | 1st       | 2nd       |          |                                |
| 2021/5/29  |    | 0日後    |           |           |          | 選別時にACGDの疑い。1.5万尾群、17℃         |
| 2021/5/29  |    |        |           |           |          | すぐに0.8%塩水浴実施                   |
| 2021/5/31  |    | 2日後    | 2尾/2尾     | N.T.      | 33.2     | 2尾検査、PaPV陽性確認、BGD陰性。約40尾死亡で終息。 |
| 2021/8/16  |    | 80日後   | 0ロット/6ロット | 2ロット/6ロット | 69.3     | ウェットマウント観察で鰓弁は正常               |
| 2021/9/9   |    | 104日後  | 0ロット/6ロット | 2ロット/6ロット | 66.1     | ウェットマウント観察で鰓弁は正常               |
| 2021/10/13 |    | 144日後  | 0ロット/6ロット | 4ロット/6ロット | 74.4     | ウェットマウント観察で鰓弁は正常               |

1ロット5尾プール：合計30尾

表2. 同居試験による感染耐過魚からのウイルスの伝播

|                       | 8月10日                      | 9月7日                                | 10月5日                               | 11月2日                               |
|-----------------------|----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>感染耐過魚</b>          | 水試導入<br>発病40日後             | 飼育4週間後<br>発病68日後                    | 飼育8週間後<br>発病96日後                    | 飼育12週間後<br>発病124日後                  |
| R4.6.30養殖場自然発病: 50.2g | 1st PCR 0/6<br>2nd PCR 2/6 | 1st PCR 0/6<br>2nd PCR 1/6          | 1st PCR 0/6<br>2nd PCR 3/6          | 1st PCR 0/6<br>2nd PCR 2/6          |
| <b>同居試験魚</b>          | 1st PCR 0/6<br>2nd PCR 0/6 | 同居2週間<br>1st PCR 0/6<br>2nd PCR 1/6 | 同居2週間<br>1st PCR 0/6<br>2nd PCR 0/6 | 同居2週間<br>1st PCR 0/6<br>2nd PCR 1/6 |
| 海洋大吉田ST産: 7.1g        |                            |                                     |                                     |                                     |

表3. 2020年・2021年ACGD発生養殖場における調査結果

| 対象養殖場        | 調査日        | 調査場所         | 1st PCR      | 2nd PCR   | 陽性率 (%) | 対象養殖場      | 調査日          | 調査場所          | 1st PCR | 2nd PCR | 陽性率 (%) |
|--------------|------------|--------------|--------------|-----------|---------|------------|--------------|---------------|---------|---------|---------|
| A            | 2020年9月2日  | 事務所入口扉       | -            | -         | 90      | C          | 2020年9月3日    | 事務所入口の扉       | -       | +       | 50      |
|              |            | 冷凍庫入口扉       | -            | +         |         |            |              | 酸素ポンベレギュレーター  | -       | +       |         |
|              |            | 注水コック        | -            | +         |         |            |              | 自動給餌器1        | -       | -       |         |
|              |            | 給餌器          | -            | +         |         |            |              | 自動給餌器2        | -       | +       |         |
|              |            | 活魚トラック扉      | -            | +         |         |            |              | 自動給餌器3        | -       | -       |         |
|              |            | おとり販売所扉      | -            | +         |         |            |              | 活魚トラック扉       | -       | -       |         |
|              |            | 飼料倉庫の扉       | -            | +         |         |            |              | 加工場入口扉        | -       | -       |         |
|              |            | 酸素ポンベレギュレーター | -            | +         |         |            |              | フィッシュポンプ操作ボタン | -       | -       |         |
|              | おとり用たも網柄   | -            | +            | おとり用たも網1柄 | -       | +          |              |               |         |         |         |
|              | 製氷機の扉      | -            | +            | おとり用たも網2柄 | -       | +          |              |               |         |         |         |
|              | 2021年9月13日 | 事務所入り口の扉     | -            | -         | 50      | D          | 2020年9月3日    | 事務所入口扉        | -       | +       | 60      |
|              |            | 冷凍庫入り口の扉     | -            | -         |         |            |              | 冷凍庫入口扉        | -       | -       |         |
|              |            | 事務所電話受話器     | -            | -         |         |            |              | 製氷機の扉         | -       | +       |         |
|              |            | 給餌器          | -            | -         |         |            |              | おとり鮎水槽水道コック   | -       | +       |         |
| 活魚トラック扉      |            | -            | +            | 軽トラック扉    |         |            |              | -             | +       |         |         |
| おとり販売所の扉     |            | -            | -            | 自動給餌器1    |         |            |              | -             | +       |         |         |
| 飼料倉庫の扉       | -          | +            | 自動給餌器2       | -         | -       |            |              |               |         |         |         |
| 酸素ポンベレギュレーター | -          | +            | 自動給餌器3       | -         | -       |            |              |               |         |         |         |
| おとり用たも網      | -          | +            | 酸素ポンベレギュレーター | -         | -       |            |              |               |         |         |         |
| 製氷機の扉        | -          | +            | おとり用たも網柄     | -         | +       |            |              |               |         |         |         |
| B            | 2020年9月2日  | 事務所入口扉       | -            | +         | 90      | 2021年9月14日 | 事務所入り口の扉     | -             | -       | 70      |         |
|              |            | 加工場入口扉       | -            | +         |         |            | 冷凍庫入り口扉      | -             | +       |         |         |
|              |            | 倉庫入口扉        | -            | +         |         |            | 製氷機の扉        | -             | +       |         |         |
|              |            | 冷凍庫1入口扉      | -            | +         |         |            | おとり鮎水槽水道コック  | -             | +       |         |         |
|              |            | 冷凍庫2入口扉      | -            | +         |         |            | 軽トラック扉1      | -             | +       |         |         |
|              |            | 軽トラック扉       | -            | +         |         |            | 軽トラック扉2      | -             | +       |         |         |
|              |            | ハウス1入口扉      | -            | +         |         |            | 給餌器1         | -             | -       |         |         |
|              |            | ハウス2入口扉      | -            | +         |         |            | 給餌器2         | -             | +       |         |         |
|              |            | 活魚トラック扉      | -            | +         |         |            | 酸素ポンベレギュレーター | -             | -       |         |         |
|              |            | 活魚水槽外        | -            | +         |         |            | おとり用たも網      | -             | +       |         |         |

(エ) 研究成果の活用における留意点

特になし

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

小課題1のマダイの不明病では、対象としていたマダイの夏季腎腫大症および冬季貧血症が養殖場現場で収束したため、新たなサンプルの入手が困難となり、病原体の分離や感染実験など詳細な検討を行うことが出来なかった。これへ対応として、特定の疾病ではなくエンドワジエラ症をモデルとし、マダイ養殖における包括的な防除対策法を検討することとした。

2) 小課題名：新たな清浄性管理手法の確立に資する養殖管理技術の開発

(ア) 研究目標

- ・海産養殖魚におけるマダイイリドウイルス病 (RSIV) や内水面の養殖マス類における

伝染性造血器壊死症（IHN）を対象にゾーニングやコンパートメンタリゼーションによる清浄性確保が可能となる養殖管理技術を開発する。

- ・防疫指針や防疫マニュアル等において、開発された技術を普及させる。
- ・これらにより当該水域や養殖施設での疾病発生を防止でき、清浄な水域・養殖施設間での種苗の導入・移動が可能になることで、広域的なまん延も防止できる。
- ・本技術の導入により、養殖水域・養殖施設の清浄性が確認されれば、厳格な衛生条件を課す国への輸出や輸出時の検査手順が軽減される可能性がある。

#### (イ) 研究内容

海産養殖魚におけるマダイイリドウイルス病（RSIV）や内水面の養殖マス類における伝染性造血器壊死症（IHN）を対象にゾーニングやコンパートメンタリゼーションによる清浄性確保が可能となる養殖管理技術を開発する。これまでRSIV病の感染源に関して、養殖場で越年魚から感染を受けるのか、養殖場周辺の天然魚に生息するウイルスキャリア魚から水平伝播するのか、天然水域や中間育成場で感染するのか、また親魚から垂直感染しているのか全く不明である。そこで、養殖魚や天然魚及び環境水からのRSIVの検査を経時的に実施し、RSIV病の感染源を推定する。感染源を特定した後、その感染源と非感染魚との接触の機会を減らすことにより、人為的な仕切りを設けることが出来ない海面においてゾーニングによる疾病の清浄化が可能かを検証する。IHNは病原ウイルスと魚との接触により引き起こされることから、IHNウイルスと魚との接触要因を解明し、その接触要因を排除するためのコンパートメントの確立とその検証を試みる。具体的には、ウイルスに感染耐過したウイルスキャリア魚やそれらを育成した感染耐過親魚、河川水等の病原体が存在する環境水などとの接触により感染が引き起こされると考えられるが、これまでこれらの感染源としてのリスクを推定できなかった。そこで、ウイルスの分子疫学的調査法を開発することにより感染源を特定し、さらに感受性稚魚を用いた実験疫学的な調査と組み合わせることにより、リスクの推定を試みる。その結果に応じた排除法を示すとともに、ワクチン接種による直接的な被害軽減効果以外の育成期および採卵親魚におけるリスクの軽減効果を推定し、将来的なワクチンの導入の有効性を示す。さらに、IHNの発生がある養殖施設において、リスクを排除する（バイオセキュリティレベルを上げる）ことによるコンパートメンタリゼーションで清浄性確保が可能かを検証する。

#### (ウ) 研究結果

マダイイリドウイルス病（RSIV）のゾーニングにおいて、まずは人為的な制御が困難な天然魚の感染源としてリスクを調査した。2019年～2022年にわたって、養殖海域において採捕された天然魚（8目29科44種、合計

表4. 養殖海域におけるRSIV陽性の天然魚

| 検体 No. | 漁場 | 採捕日        | 採捕方法 | 魚種   | 体重 (g) | コピー数 /脾臓1mg |
|--------|----|------------|------|------|--------|-------------|
| 74     | A  | 2019/10/16 | 釣り   | マアジ  | 111    | 15          |
| 76     | A  | 2019/10/16 | 釣り   | マアジ  | 140    | 5           |
| 77     | A  | 2019/10/16 | 釣り   | マアジ  | 130    | 21          |
| 880    | A  | 2021/8/30  | 刺し網  | チダイ  | 380    | 3           |
| 881    | A  | 2021/8/30  | 刺し網  | チダイ  | 280    | 3           |
| 923    | A  | 2021/8/31  | 刺し網  | マダイ  | 100    | 5           |
| 902    | B  | 2021/8/31  | 釣り   | メジナ  | 840    | 14          |
| 908    | B  | 2021/11/18 | 釣り   | メジナ  | 440    | 15          |
| 951    | B  | 2021/12/3  | 釣り   | ニザダイ | 500    | 4           |
| 1053   | B  | 2022/6/23  | 釣り   | カサゴ  | 285    | 63          |
| 1078   | B  | 2022/6/23  | 釣り   | アオハタ | 650    | 32          |

1102尾)のRSIV保有状況を検査したところ11検体(1.0%)で陽性が確認された(表4)。

しかしながら、天然魚で検出されたRSIVの保有量は平均して脾臓1mgあたり約10コピーであり、養殖生簀でRSIV病が発生中の外観上健康魚よりも平均値で100倍以上低かった。また、天然魚からRSIVが検出される時期は、全ての検出例において養殖海域でRSIV病が発生してから1ヶ月以上遅れていた。これらの結果から、天然魚で検出されたRSIVは養殖場で発生した疾病に由来するものであり、養殖海域における天然魚がRSIV流行の感染源となっている可能性は低いと考えられた。

次に、海面養殖において生簀間を自由に往来する海水のウイルス伝播リスクを検討した。マダイ（約10 g）を $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ , および $10^7$ コピー/LのRSIVが含まれた海水に3日間連続で暴露させる感染試験を実施したところ、 $10^4$ コピー/L以下の海水でウイルス感染は確認されなかった（図11A）。この試験結果のプロビット分析により、1300コピー/Lのウイルスを含んだ海水の感染率は0.0001%だと推定された（図11B）。すなわち、RSIV濃度が $10^3$ コピー/L未満では海水を介したウイルスの伝播リスクは著しく低いと考えられた。

RSIV病発生中の養殖場における多点採水と逆距離加重法(IDW)を用いた補間により、疾病発生生簀からの空間的なRSIVの拡散状況を可視化した。その結果、海水中のウイルスは生簀中心の濃度が最も高く、潮流の影響を受けながら希釈されつつ拡散していることが確認された（図12）。また、疾病発生生簀から50m以上離れることで感染リスクが下がることも示唆された。

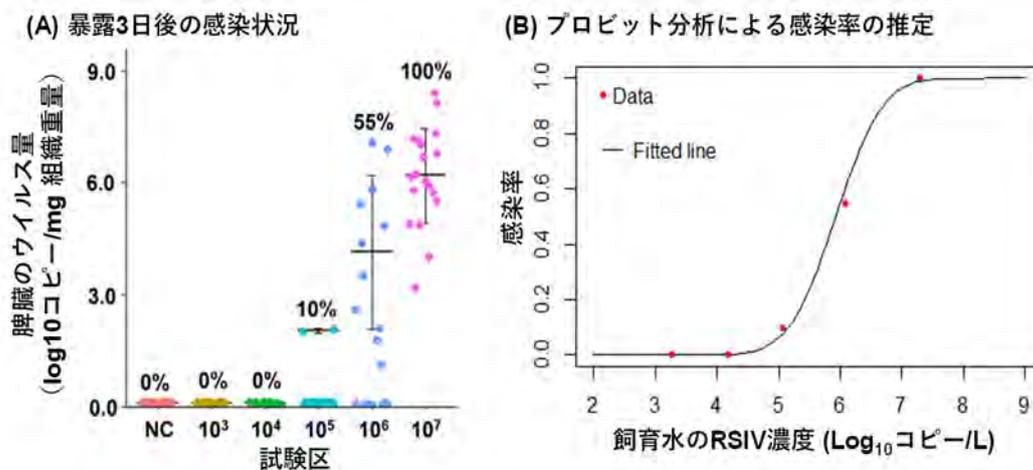


図11. 感染試験結果。(A) 暴露3日後のマダイにおけるRSIV感染状況。各試験区のプロット上に示した数字は感染率を示す。(B) プロビット分析による感染率の推定。 $10^{4.1}$ ,  $10^{3.7}$ ,  $10^{3.4}$ , および  $10^{3.1}$  コピー/Lの推定感染率はそれぞれ0.1%, 0.01%, 0.001%, および0.0001%であった。

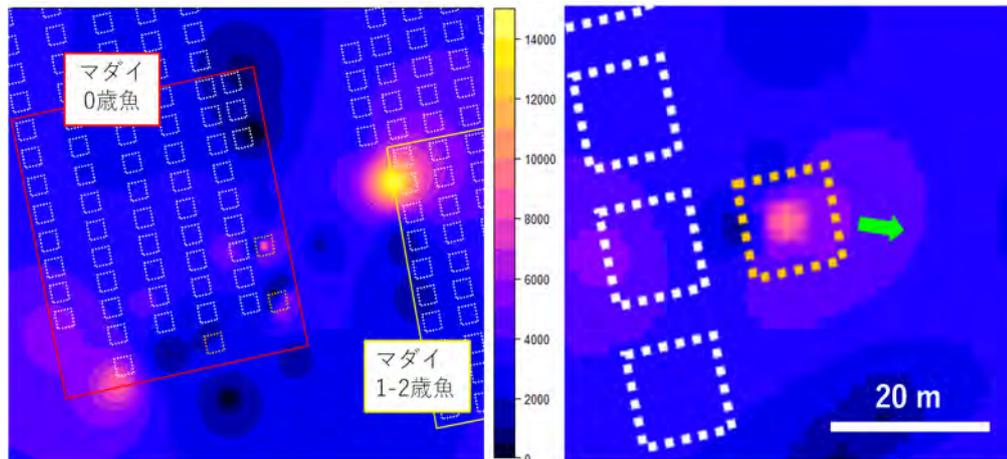


図12. RSIV発生生簀におけるウイルスの拡散状況。RSIV病発生生簀を中心に30地点以上を採水し、IDW法による補間を行った。左図は広域図。マダイの1-2歳魚生簀でウイルス排出量の多いホットスポットが確認された（感染越年魚）。右図は疾病発生生簀の拡大図。矢印は潮流方向を模式的に示している。サンプリング時の平均水温は $24.1 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 、平均流速は $4.0 \pm 1.0 \text{ cm/m}$ 、天候晴れ、中潮（潮位差190cm）

養殖海域におけるRSIVの周年動態を観察するために、2019年～2022年にかけて養殖海域10定点の海水を定期的に調査した。延べ306サンプルのうちRSIVが検出されたのは水温が $24^\circ\text{C}$ 以上の時期を中心に54サンプル（17.5%）であった。そのうち、最も高いウイルス濃度は $10^5$ コピー/Lであり、前述のプロビット分析で推定感染率が0.1%を超えるリスクの高い海水は7サンプルしか確認されなかった。これらの結果から、養殖生簀間の海水を介したRSIVの伝播は距離に依存して限定的であると考えられた（Kawato et al. 2023）。この推測を支持するように、同一湾内でRSIV病の発生が報告されていても、生簀間距離が100m近く離れ、養殖経営体（作業員）が異なる場合にはRSIVが伝播することも無かった。また、研究期間中の疫学調査や多点採水の結果から、導入種苗や感染越年魚が養殖場におけるRSIV流行の感染源であることが示唆された（Kawato et al. 2021）。

これらの知見を基にゾーニングによる清浄性管理の実証試験を養殖場において実施した。導入種苗を事前検査し（60尾）、RSIVを保有していないことが確認されたマダイ稚魚群を、越年魚あるいは他の養殖場から100m以上離れた生簀で飼育したところ、半年後の60尾検査でRSIVは検出されなかった。その後、当該ロットでRSIV病の発生は無く、種苗導入から約2年後の出荷時に再度60尾を検査したところRSIVは検出されなかった。このことから、ゾーニングによる清浄性管理によりRSIVを保有しないマダイ

を生産することが可能であることが確認された。

さらに、RSIVでは海水が距離に依存してウイルス伝播の防壁として機能することが示唆され海面養殖での防疫対策の重要性が再確認さ

表5. RSIVの不活化条件（99.9%以上）

| 消毒剤              | 有機物 | 処理時間               |                    |
|------------------|-----|--------------------|--------------------|
|                  |     | 30秒                | 1時間                |
| 電解海水（遊離塩素）       | なし  | 2 ppm              | 0.125 ppm          |
| 次亜塩素酸ナトリウム（遊離塩素） | なし  | 0.25 ppm           | 0.125 ppm          |
| 次亜塩素酸ナトリウム（遊離塩素） | あり* | 100 ppm            | 10 ppm             |
| 塩化ベンザルコニウム       | あり  | 0.01%              | 0.01%              |
| エタノール            | あり  | 40%                | 30%                |
| 温度（DW懸濁）         | あり  | $60^\circ\text{C}$ | $50^\circ\text{C}$ |

\*有機物ありの場合は培地成分が各処理条件の液体中に10%含まれる。

れたことから、RSIVの消毒条件を検討した。RSIVの感染力価（TCID<sub>50</sub>）を99.9%以上で不活化が確認できた条件を表5に示す。次亜塩素酸ナトリウムでは、純化したウイルス単体（有機物なし）の場合には、0.25 ppm以上あれば十分な消毒効果が確認された。一方、海面養殖での消毒対象は死亡魚回収容器、たも網、長靴等が考えられるが、有機物存在下での使用を想定される。そのため、養殖現場で使用する場合は遊離塩素濃度を100ppm以上に設定することが望ましいと考えられた。さらに、天然海水中でのRSIVの生存性を調べたところ、99%程度のウイルスが不活化するのに、30℃では約2日間、20℃および25℃では約1週間かかることも明らかとなった。

IHNのコンパートメンタリゼーションにおける「感染リスクの調査とその排除法の開発」では、従来使われてきたIHNウイルスのGタンパク質遺伝子配列に加え、Nタンパク質遺伝子配列も使ったウイルス株遺伝子型判別を構築し、IHNウイルスの分子疫学的な調査手法を開発した。長野県水産試験場および静岡県水産・海洋技術研究所富士養鱒場での池出し稚魚のIHN事例を調べたところ、感染源の多様性と量を反映した事例の感染様相を明らかにすることができ、今後の清浄化の実証を行う養殖場での感染源の推定に利用可能と考えられた（図13）。また、IHNウイルスフリー湧水の使用、あるいはIHNウイルスに汚染された用水をUV殺菌した給水を使用することにより、稚魚でのIHN発生防止ができることを確認した。さらに、IHNウイルスの施設内での感染環を明らかにするため、流行するウイルスと判別可能なウイルスに人為感染させた稚魚および同ウイルスの不活化ワクチンを接種した稚魚を性成熟まで飼育し、排泄されるウイルスについて調査した結果、成熟後に分離されたウイルスは接種ウイルスと異なり、その年の流行ウイルスと思われることから、親魚が成熟する段階で免疫が低下してウイルスに再感染していることが示唆された（図14）。また、2019年～2022年までの3年間のIHN死亡稚魚および親魚の疫学調査を行ったところ、死亡稚魚由来株と親魚体腔液由来株は遺伝的に異なり（図15）、さらに、同じ産卵群から分離されるウイルスも経年的に変ったことから（図16）、産卵親魚がウイルスに再感染している可能性が支持された。死亡稚魚由来ウイルスはその系統のニジマス稚魚に対し毒力が強く、親魚体腔液由来ウイルスは毒力が強くない傾向にあった。また、IHN感染稚魚では、累積死亡率が低い場合に持続感染を起こす傾向があることが示唆された。これらのことから、感染耐過稚魚を種苗として利用することが、ウイルスの多様化・強毒化と大きく関わっていると考えられる。「コンパートメンタリゼーションによるIHN清浄性管理の検証」では、候補となる養殖場の施設の構造、飼育法やIHNの発生状況等の聞き取り調査等を行うとともに、候補養殖場における2021年のIHN死亡稚魚のウイルスを分析したところ、遺伝的には単一であり、限定された感染源が想定され、用水の湧水源からの水路に感染耐過魚がいる可能性が考えられたため、電気ショック等による捕獲調査を行ったが魚は見られなかった。また、ウイルスを持ち込む可能性のある野生動物の夜間における屋内施設への侵入の有無を赤外線カメラにより調査したが、野生動物の侵入は認められなかった。2022年の死亡稚魚のウイルスは親魚由来のウイルスと類似しているため、作業員による他の池からのウイルスの持ち込みがあり、そのウイルスが稚魚群に広がったものと推測する。そのため、養殖業者へは、網等の器具の専用化、手足の消毒などの衛生管理の徹底を指導しており、IHNの発生はなくなるもの、被害は減少している。さらに感染源を特定して排除する必要

がある。また、感染耐過魚を親魚に育成する間にウイルスの多様化・強毒化が起こる可能性があることから、親魚候補群を育成群とは別にIHNウイルスフリーの状態で作成するため、親魚候補の稚魚群を上流部で飼育・育成する方法の有効性を検証し、これらの飼育群の排水中で稚魚を飼育しても発病がないことから、上流部で親魚候補を育成することでIHNウイルスフリーの親魚が得られると考えられる。さらに、成熟しない3nニジマスのウイルス排泄が少ない可能性が考えられたことから、2n魚と3n魚の排水を用いた稚魚飼育試験を行ったが、両試験区においてIHNによる死亡稚魚が発生し、3nニジマスもウイルス排出リスクがあると推定された。ウイルス強毒化の阻止のため、感染耐過稚魚を種苗として利用せず、親魚としても利用しないことが重要である。そのため、湧水や地下水を用いてIHNウイルスフリーで種苗生産や養殖が可能な施設では、順次、上流から清浄化に取り組み、施設をウイルスフリーにし、IHNの発生リスクを無くす日常的な飼育・衛生管理の実施を推奨し、河川水を用いたウイルスフリーでの飼育が難しい養殖場とは区別して管理することが必要である。

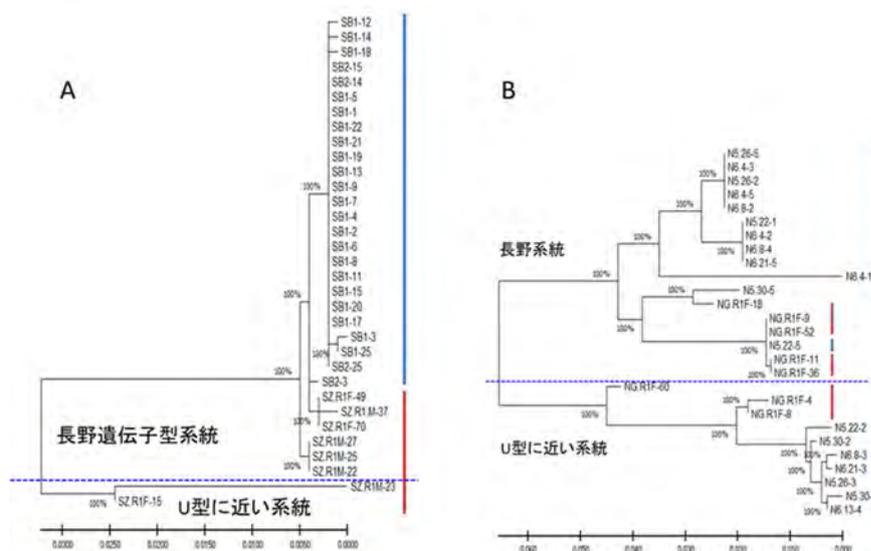


図13. 稚魚のIHN発生事例における死亡魚分離ウイルスの遺伝子型  
 A：静岡県富士養鱒場（2019年） B：長野県水産試験場（2019年）

ブルー分離株：死亡稚魚由来 レッド分離株：同年親魚由来株

Aでは供給水水路の少数の感染耐過魚が感染源と考えられ、事例のウイルスはほぼ同一で、少ない感染源による発生パターンを、Bでは上流域の2養殖場から多様なウイルスが供給され、事例のウイルスは多様で、多くの感染源による発生パターンを示している。

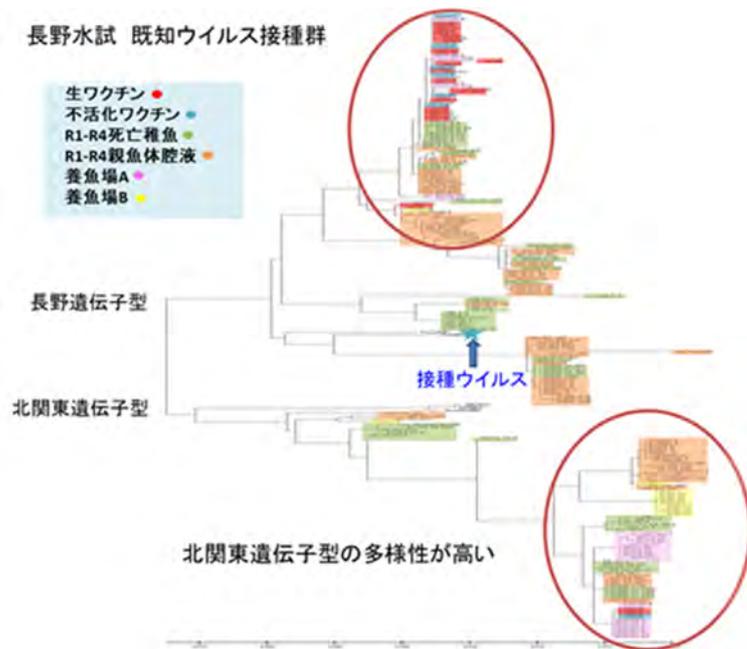


図14. 既知ウイルス接種稚魚を成熟まで育成し体腔液から分離されたウイルスの遺伝子型

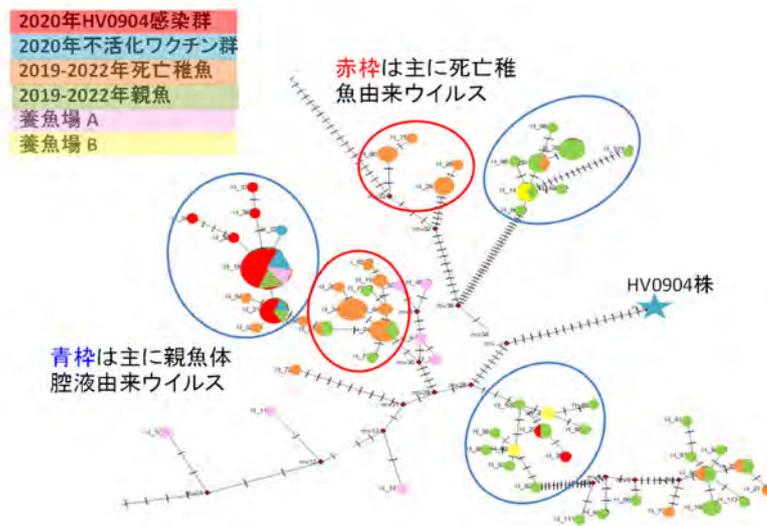


図15. 2019年～2022年の長野県水産試験場におけるIHNウイルス疫学調査により分離されたウイルスの遺伝的相関図（ハプロタイプネットワーク）

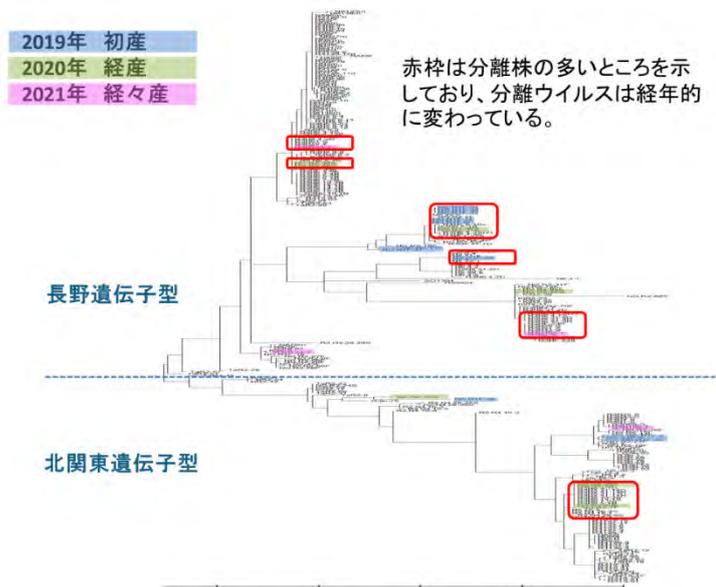


図16. 長野県水産試験場における同一親魚群の体腔液より分離されたウイルスの遺伝子型

#### (エ) 研究成果の活用における留意点

イリドウイルスにおけるゾーニングに関する重要な発見は、物理的な仕切りのない海面養殖において、海水が距離に依存して防壁のように機能すること、天然魚がRSIV流行の感染源となっている可能性が低いことを明らかにしたことである。これらの発見を背景に、①RSIVに感染していない種苗を導入し、②養殖場間あるいは越年魚生簀との距離を100m以上確保し、③適切な衛生管理を実施することで、ゾーニングによる清浄性管理が可能であることを示した。一方、ゾーニングによる清浄性管理の結果として対外輸出における恩恵を得るためには、①～③の管理方法について体系的に整理し、出荷魚がRSIVに感染しない管理方法により養成されてきたことを客観的に輸出相手国に提示する必要がある。そのため、WOAHのAquatic Animal Health Codeにおいて、ゾーニングによる清浄性管理が体系的に記載されている章の情報に準拠する形でマニュアルを整備した。

#### (オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

ゾーニングによる清浄性確保が可能となる養殖管理技術を提案し、養殖業者の協力の元の実証試験を実施し、研究目標を全て達成することができた。

#### <引用文献>

Kawato Y, Mekata T, Inada M, Ito T (2021) Application of environmental DNA for monitoring red sea bream iridovirus at a fish farm. *Microbiol Spectr* 9:e0079621

Kawato Y, Takada Y, Mizuno K, Harakawa S, Yoshihara Y, Nakagawa Y, Kurobe T, Kawakami H, Ito T (2023) Assessing the transmission risk of red sea bream iridovirus

(RSIV) in environmental water: Insights from fish farms and experimental settings.  
Microbiol Spectr 11:e0156723

#### 4 研究成果の発表

別添のとおり。

#### 5 研究期間中に生じた問題、今後の課題等

小課題1のマダイの不明病では、対象としていたマダイの不明病が養殖場現場で収束したため、新たなサンプルの入手が困難となり、病原体の分離や感染実験など詳細な検討を行うことが出来なかった。これへ対応として、特定の疾病ではなく養殖マダイの感染症全体の防除に向けた対策に切り替え、研究を実施した。

ゾーニングによりRSIV病を清浄化できる可能性が示されたが、2021年にはマダイやブリで導入種苗がRSIV感染していたため、各地の養殖海域において大きな被害を出した。これを踏まえるとゾーニングによる清浄性管理には、RSIVフリーの種苗導入が重要なポイントとして考えられ、それには種苗のウイルス検査だけでなく、同じ湾内や越年耐過魚の生簀の近傍で当歳魚（種苗の中間育成魚を含め）を飼育しないことが重要な条件になると考えられた。この実行には湾内での生簀の配置などを考える考慮する必要があり、漁協などの協力が不可欠と考えられた。

## 研究成果の発表

課題番号 19190702

課題名 国内主要養殖魚の重要疾病のリスク管理技術の開発

## 成果等の集計数

| 課題番号     | 学術論文 |    | 学会等発表(口頭またはポスター) |    | 出版図書 | 国内特許権等 |    | 国際特許権等 |    | PCT | 報道件数 | 普及しうる成果 | 発表会の主催(シンポジウム・セミナー) | アウトリーチ活動 |
|----------|------|----|------------------|----|------|--------|----|--------|----|-----|------|---------|---------------------|----------|
|          | 和文   | 欧文 | 国内               | 国際 |      | 出願     | 取得 | 出願     | 取得 |     |      |         |                     |          |
| 19190702 | 0    | 7  | 18               | 11 | 10   | 0      | 0  | 0      | 0  | 0   | 0    | 1       | 1                   | 7        |

## (1)学術論文

区分:①原著論文、②その他論文

| 整理番号 | 区分 | タイトル   | 著者                  | 機関名                        | 掲載誌                                 | 掲載論文のDOI  | 発行年  | 発行月 | 巻(号)     | 掲載ページ     |
|------|----|--|---------------------|----------------------------|-------------------------------------|---|------|-----|----------|-----------|
| 1    | ①  | Development of PCR and quantitative PCR for detection of <i>Plecoglossus altivelis</i> poxvirus-like virus, presumptive causative virus of atypical cellular gill disease in ayu | Koyama T. et al.    | 東京海洋大学・栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学 | Fish Pathology                      | <a href="https://doi.org/10.3147/isfp.55.84">https://doi.org/10.3147/isfp.55.84</a>               | 2020 | 9   | 55 (3)   | 84-87     |
| 2    | ①  | Draft genome sequence of a novel picornavirus from Japanese eel  | Terashima S. et al. | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所      | Microbiology Resource Announcements | <a href="https://doi.org/10.1128/MRA.00878-20">https://doi.org/10.1128/MRA.00878-20</a>           | 2020 | 10  | 9 (42)   | e00878-20 |
| 3    | ①  | Application of Environmental DNA for Monitoring Red Sea Bream Iridovirus at a Fish Farm  | Kawato Y. et al.    | 水産技術研究所                    | Microbiology Spectrum               | <a href="https://doi.org/10.1128/Spectrum.00796-21">https://doi.org/10.1128/Spectrum.00796-21</a> | 2021 | 10  | 9 (2)    | e00796-21 |
| 4    | ①  | Development of new real-time PCR assays for detecting Megalocytivirus across multiple genotypes  | Kawato Y. et al.    | 水産技術研究所・愛媛県農林水産研究所         | Fish Pathology                      | <a href="https://doi.org/10.3147/isfp.56.177">https://doi.org/10.3147/isfp.56.177</a>             | 2021 | 12  | 56 (4)   | 177-186   |
| 5    | ①  | Experimentally induced atypical cellular gill disease in ayu <i>Plecoglossus altivelis</i>   | Ishikawa T. et al.  | 栃木県水産試験場・東京海洋大学・日本獣医生命科学大学 | Fish Pathology                      | <a href="https://doi.org/10.3147/isfp.57.69">https://doi.org/10.3147/isfp.57.69</a>               | 2022 | 9   | 57 (3)   | 69-75     |
| 6    | ①  | Assessing the transmission risk of red sea bream iridovirus (RSIV) in environmental water: insights from fish farms and experimental settings                                    | Kawato Y. et al.    | 水産技術研究所・愛媛県農林水産研究所         | Microbiology Spectrum               | <a href="https://doi.org/10.1128/spectrum.01567-23">https://doi.org/10.1128/spectrum.01567-23</a> | 2023 | 9   | 11 (5)   | e01567-23 |
| 7    | ①  | Experimental waterborne infection of Japanese eel endothelial cells-infecting virus (JEECV) and effects of water temperature on the infection                                    | Umeda K. et al.     | 水産技術研究所                    | Fish Pathology                      | In press  | 2024 | 3   | In press | In press  |

## (2)学会等発表(口頭またはポスター)

| 整理番号 | タイトル   | 発表者名             | 機関名                                      | 学会等名  | 発行年  | 発行月 |
|------|--|------------------|--|---|------|-----|
| 1    | アユの異型細胞性鰓病病原体と推定される <i>Plecoglossus altivelis poxvirus</i> (PaPV)を検出するPCR法および定量PCR法の検討(口頭)                         | 小松 大樹ら           | 東京海洋大学・栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学               | 令和2年度日本魚病学会春季大会   | 2020 | 3   |
| 2    | 「マダイイリドウイルス国内流行株の分子疫学解析」(ポスター)   | 河東 康彦ら           | 水産技術研究所・愛媛県水産研究センター                      | 令和2年度日本魚病学会春季大会   | 2020 | 3   |
| 3    | 「アユ異型細胞性鰓病(ボケ病)の発症要因と感染経路の解明」(口頭)  | 石川 孝典ら           | 栃木県水産試験場・東京海洋大学・日本獣医生命科学大学               | 令和2年度栃木県水産試験場成果発表会  | 2021 | 2   |
| 4    | <i>Plecoglossus altivelis poxvirus</i> の人為感染試験による異型細胞性鰓病の病徴再現(ポスター)  | 石川 孝典ら           | 栃木県水産試験場・東京海洋大学・日本獣医生命科学大学               | 令和3年度魚病学会春季大会   | 2021 | 3   |
| 5    | 伝染性造血器壊死症(IHN)発生事例の分子疫学的分析の試み(ポスター)  | 野中 碧ら            | 東京海洋大・長野水試・静岡水研富士養鱒場・日大生物                | 令和3年度魚病学会春季大会   | 2021 | 3   |
| 6    | 海水中におけるマダイイリドウイルス病発生生簀からのウイルス拡散状況(ポスター)  | 河東 康彦ら           | 水産技術研究所・愛媛県水産研究センター                      | 令和3年度魚病学会春季大会   | 2021 | 3   |
| 7    | ニジマスのラッシュ原因病原体推定(ポスター)   | 高野 倫一ら           | 水産技術研究所                                  | 令和3年度魚病学会春季大会   | 2021 | 3   |
| 8    | Molecular epidemiological analysis revealing dynamics of infectious hematopoietic necrosis virus in facility(ポスター) | Nonaka A. et al. | 東京海洋大・長野水試・静岡水研富士養鱒場・日大生物                | 20th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish(第20回魚介類疾病国際会議)(ヨーロッパ魚病学会主催) | 2021 | 9   |
| 9    | ウナギの血管内皮壊死症ウイルスに関する養鰻場飼育水の定量的モニタリング(口頭)  | 梅田 剛佑ら           | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所・徳島県立農林水産総合技術支援センター | 令和4年度日本魚病学会春季大会   | 2022 | 3   |
| 10   | 飼育水を介したウナギの血管内皮壊死症の伝播について(口頭)  | 梅田 剛佑ら           | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所                    | 令和4年度日本魚病学会秋季大会   | 2022 | 9   |
| 11   | ニジマスのラッシュ発症部から検出された細菌の免疫組織化学(口頭)   | 高野 倫一ら           | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所                    | 令和4年度日本魚病学会秋季大会   | 2022 | 9   |
| 12   | 海水を介した養殖生簀間のマダイイリドウイルスの伝播は限定的な可能性がある(口頭)   | 河東 康彦ら           | 水産技術研究所・愛媛県水産研究センター                      | 令和4年度日本魚病学会秋季大会   | 2022 | 9   |

|    |  |                  |                       |  |      |    |
|----|--|------------------|-----------------------|--|------|----|
| 13 | Spread and transmission of Japanese eel endothelial cells-infecting virus (JEECV) in eel aquaculture farms.(口頭)      | Umeda K. et al.  | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所 | シンポジウム口頭発表(第50回天然資源の開発利用に関する日米会議(UJNR)水産増養殖専門部会)                       | 2022 | 11 |
| 14 | Monitoring red sea bream iridovirus dynamics in seawater using environmental (口頭)                                    | Kawato Y. et al. | 水産技術研究所               | シンポジウム口頭発表(天然資源の開発利用に関する日米会議(UJNR)水産増養殖専門部会)                           | 2022 | 11 |
| 15 | ニジマスのラッシュ症の原因と診断法について(口頭)  | 高野 倫一ら           | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所 | 令和4年度魚病症例研究会   | 2022 | 12 |
| 16 | Prevention of Viral Endothelial Cell Necrosis of Eel (VECNE) in Aquaculture Farms(口頭)                                | Umeda K. et al.  | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所 | シンポジウム口頭発表(第51回天然資源の開発利用に関する日米会議(UJNR)水産増養殖専門部会)                       | 2023 | 8  |
| 17 | Evaluating transmission risk of red sea bream iridovirus between fish farms via seawater using environmental DNA(口頭) | Kawato Y. et al. | 水産技術研究所・愛媛県水産研究センター   | シンポジウム口頭発表(第51回天然資源の開発利用に関する日米会議(UJNR)水産増養殖専門部会)                       | 2023 | 8  |
| 18 | Investigating routes of pathogen spreading in a saltwater fish farm(口頭)  | Kurobe T. et al. | 水産技術研究所・愛媛県水産研究センター   | シンポジウム口頭発表(第51回天然資源の開発利用に関する日米会議(UJNR)水産増養殖専門部会)                       | 2023 | 8  |
| 19 | 分子疫学による伝染性造血器壊死症(IHN)ウイルス動態の推定(口頭)   | 野中 碧ら            | 東京海洋大・長野水試・静岡水研富士養鱒場  | 令和5年度日本魚病学会秋季大会  | 2023 | 9  |
| 20 | ニジマス親魚の成熟過程における伝染性造血壊死症ウイルス(IHNV)の動態(口頭)   | 清水 遼太ら           | 東京海洋大・長野水試・静岡水研富士養鱒場  | 令和5年度日本魚病学会秋季大会  | 2023 | 9  |
| 21 | Estimation of infectious hematopoietic necrosis (IHN) virus dynamics by molecular epidemiology(口頭)                   | Sano M. et al.   | 東京海洋大・長野水試・静岡水研富士養鱒場  | アジア水産学会魚病部会会議(Asian Fisheries Society, Fish Health Section Conference) | 2023 | 9  |

|    |  |                   |                            |   |      |   |
|----|--|-------------------|----------------------------|---|------|---|
| 22 | Dynamics of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) in rainbow trout <i>Oncorhynchus mykiss</i> during maturation(口頭) | Shimizu R. et al. | 東京海洋大・長野水試・静岡水研富士養鱒場       | アジア水産学会魚病部会会議 (Asian Fisheries Society, Fish Health Section Conference) | 2023 | 9 |
| 23 | アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発(口頭)  | 高木 優也             | 栃木県水産試験場                   | 令和5年度アユの疾病研究部会  | 2024 | 2 |
| 24 | アユ異型細胞性鰓病(ACGD)に対するワクチン開発の試み(口頭)   | 馬場俊太郎ら            | 東京海洋大学・栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学 | 令和5年度日本魚病学会秋季大会   | 2024 | 3 |
| 25 | 養殖海域の天然魚が養殖魚のマダイイリドウイルス病流行の感染源となっている可能性は低い(口頭)   | 河東 康彦ら            | 水産技術研究所・愛媛県水産研究センター        | 令和5年度日本魚病学会秋季大会   | 2024 | 3 |
| 26 | 塩酸オキシテトラサイクリン経口投与のニジマスラッシュ治療効果(ポスター)   | 高野 倫一ら            | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所      | 令和5年度日本魚病学会秋季大会   | 2024 | 3 |
| 27 | Potentiality of vaccine development against atypical cellular gill disease in ayu <i>Plecoglossus altivelis</i> (口頭)         | Baba S. et al.    | 東京海洋大学・栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学 | International Conference on Marine Science & Aquaculture 2024           | 2024 | 5 |
| 28 | Analysis of infectious hematopoietic necrosis(IHN) virus dynamics in fish culture facilities by molecular epidemiology(口頭)   | Thin C. et al.    | 東京海洋大・長野水試・静岡水研富士養鱒場       | International Conference on Marine Science & Aquaculture 2024           | 2024 | 5 |
| 29 | Infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) persistency in rainbow trout surviving in experimental infection(口頭)          | Vergel J. et al.  | 東京海洋大・長野水試・静岡水研富士養鱒場       | International Conference on Marine Science & Aquaculture 2024           | 2024 | 5 |

## (3) 出版図書

区分:①出版著書、②雑誌(学術論文に記載したものを除く、重複記載をしない。)、③年報、④広報誌、⑤その他

| 整理番号 | 区分 | 著書名(タイトル)   | 著者名        | 機関名                        | 出版社               | 発行年  | 発行月 |
|------|----|---|------------|----------------------------|-------------------|------|-----|
| 1    | ②  | 「海産魚養殖における医薬品に頼らない防疫対策」月刊アクアネット   | 河東 康彦      | 水産技術研究所                    | 湊文社               | 2020 | 11  |
| 2    | ②  | 「ラッシュ」月刊養殖ビジネス  | 高野 倫一      | 水産技術研究所                    | 緑書房               | 2021 | 3   |
| 3    | ②  | 「板状出血症」月刊養殖ビジネス   | 寺島 祥子      | 水産技術研究所                    | 緑書房               | 2021 | 3   |
| 4    | ④  | 戦略的プロジェクト研究推進事業(令和元年度/国庫委託)<br>「アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発」<br>－天然水域におけるPaPV動態調査－  | 石川 孝典ら     | 栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学・東京海洋大学 | 栃木県水産試験場研究報告      | 2020 | 12  |
| 5    | ④  | 戦略的プロジェクト研究推進事業(令和元年度/国庫委託)<br>「アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発」<br>－養殖場におけるPaPV動態調査－   | 石川 孝典ら     | 栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学・東京海洋大学 | 栃木県水産試験場研究報告      | 2020 | 12  |
| 6    | ④  | 戦略的プロジェクト研究推進事業(令和元年度/国庫委託)<br>「アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発」<br>－異型細胞性鰓病の病徴の再現－     | 石川 孝典ら     | 栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学・東京海洋大学 | 栃木県水産試験場研究報告      | 2020 | 12  |
| 7    | ④  | 戦略的プロジェクト研究推進事業(令和2年度/国庫委託)<br>「アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発」<br>－天然水域におけるPaPV動態調査2－ | 石川 孝典ら     | 栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学・東京海洋大学 | 栃木県水産試験場研究報告(Web) | 2021 | 5   |
| 8    | ④  | 戦略的プロジェクト研究推進事業(令和2年度/国庫委託)<br>「アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発」<br>－異型細胞性鰓病の病徴の再現2－    | 石川 孝典ら     | 栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学・東京海洋大学 | 栃木県水産試験場研究報告(Web) | 2021 | 5   |
| 9    | ④  | 戦略的プロジェクト研究推進事業(令和2年度/国庫委託)<br>「アユの異型細胞性鰓病の発病原因の解明と防除法の開発」<br>－異型細胞性鰓病の発症要因の解明－   | 石川 孝典ら     | 栃木県水産試験場・日本獣医生命科学大学・東京海洋大学 | 栃木県水産試験場研究報告(Web) | 2021 | 5   |
| 10   | ④  | 戦略的プロジェクト研究推進事業(2020年度/国庫委託)<br>「ニホンウナギ及びニジマス養殖における重要疾病のリスク管理技術の開発」               | 中村 永介・松山 創 | 静岡県                        | 静岡県水産・海洋技術研究所事業報告 | 2021 | 10  |

(4) 国内特許権等

区分:①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

| 整理番号 | 区分 | 特許権等の名称 | 発明者 | 権利者<br>(出願人等) | 機関名 | 出願番号 | 出願年月日 | 取得年月日 |
|------|----|---------|-----|---------------|-----|------|-------|-------|
|      |    | 該当無し    |     |               |     |      |       |       |

(5) 国際特許権等

区分:①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

| 整理番号 | 区分 | 特許権等の名称 | 発明者 | 権利者<br>(出願人等) | 機関名 | 出願番号 | 出願年月日 | 取得年月日 | 出願国 |
|------|----|---------|-----|---------------|-----|------|-------|-------|-----|
|      |    | 該当無し    |     |               |     |      |       |       |     |

## (6) 報道等

区分:①プレスリリース、②新聞記事、③テレビ放映、④その他

| 整理番号 | 区分 | 記事等の名称 | 機関名 | 掲載紙・放送社名等 | 掲載年月日 | 備考 |
|------|----|--------|-----|-----------|-------|----|
|      |    | 該当無し   |     |           |       |    |

## (7) 普及に移しうる成果

区分:①普及に移されたもの・製品化して普及できるもの、②普及のめどがたったもの、製品化して普及のめどがたったもの、③主要成果として外部評価を受けたもの(複数選択可)。

| 整理番号 | 区分 | 成果の名称                          | 機関名     | 普及(製品化)年月 |   | 主な利用場面                      | 普及状況   |
|------|----|--------------------------------|---------|-----------|---|-----------------------------|--|
| 1    | ①  | マダイ種苗期におけるポックスウイルス病のPCR検査マニュアル | 水産技術研究所 | 2021      | 8 | 種苗生産時における親魚や稚魚のポックスウイルス病の検査 | マダイの民間種苗生産場に検査マニュアルを普及し、マダイポックスウイルス病の診断を可能とした。 |

## (8) 行政が活用しうる成果

区分:①行政がすでに活用した成果、②行政が活用する目途がたった成果

| 区分 | 成果の内容                             | 主な利用場面   | 活用状況   |
|----|-----------------------------------|--|--|
| ①  | ウナギのウイルス性血管内皮壊死症に関する、養鰻場環境水PCR検査法 | 養鰻場におけるウナギのウイルス性血管内皮壊死症ウイルスのモニタリング検査                               | 高知県内水面漁業センターにより、本検査法を用いて養鰻場における当該ウイルスのモニタリング検査を実施中   |
| ②  | マダイの夏季腎腫大症と冬季貧血症(いずれも仮称)診断マニュアル   | マダイの夏季腎腫大症と冬季貧血症(いずれも仮称)の診断  | マダイの夏季腎腫大症と冬季貧血症の発症が疑われた際の地方公設試におけるPCR検査   |
| ②  | エドワジエラ症の研究から得られたマダイ養殖の包括的な疾病対策    | 海面養殖場における包括的な防除対策、特に死魚の取り扱いや資材等の消毒重要性および安易な活魚の持ち込みに対する危険性についての啓発活動 | 養殖業者に対し海面養殖における衛生管理の重要性について説明する際のくわしい指導書<br>E. anguillarumに対する消毒方法<br>マダイ養殖における疾病被害リスクを低減させるためのチェック項目の確認   |
| ②  | ウナギのウイルス性血管内皮壊死症診断・防除マニュアル        | ウナギのウイルス性血管内皮壊死症の診断および養鰻業者に対する疾病防除法の啓発活動                           | 地方公設試におけるウナギのウイルス性血管内皮壊死症のPCR法などによる診断<br>養鰻業者に対するウナギのウイルス性血管内皮壊死症のキャリア魚の移動などによる疾病のまん延に対する注意喚起<br>ウイルス性血管内皮壊死症原因ウイルスに対する消毒方法<br>ウイルス性血管内皮壊死症による被害リスク低減のためのチェック項目の確認 |

|   |  |  |   |
|---|--|--|---|
| ② | ニジマスの非致死性皮膚炎ラッシュ診断・防除マニュアル                                     | ニジマスの非致死性皮膚炎ラッシュの診断および養鱒業者に対する疾病防除法の啓発活動                           | 地方公設試におけるニジマスの非致死性皮膚炎ラッシュのPCR法による診断<br>ニジマスの非致死性皮膚炎ラッシュによる被害リスク軽減のための提言およびチェック項目の確認                       |
| ② | アユの異型細胞性鰓病(Atypical Cellular Gill Disease: ACGD)診断・治療マニュアル 第2版 | アユの異型細胞性鰓病の診断および養殖業者に対する疾病防除法の啓発活動                                 | 地方公設試におけるアユの異型細胞性鰓病のPCR法などによる診断<br>養殖業者に対するアユの異型細胞性鰓病の防除法および治療法の指導  |
| ② | ゾーニングによるマダイイリドウイルス病の清浄性管理について                                  | ゾーニングによるマダイイリドウイルス病の清浄性管理を行う際のマニュアル                                | 養殖業者がマダイイリドウイルス(RSIV)病のゾーニングによる清浄性管理を行う際の指導<br>導入種苗検査の重要性およびRSIV病の流行要因の指導<br>RSIV病による被害リスク低減のためのチェック項目の確認 |
| ② | 伝染性造血器壊死症(IHN)の清浄化と強毒化阻止に向けて(提言)                               | 養鱒業者に対するIHNの清浄化と強毒化阻止に向けての啓発活動                                     | 養鱒業者に対するIHNの清浄化と強毒化阻止のための指導<br>施設の清浄化のための指導<br>IHNによる被害リスク低減のためのチェック項目の確認                                 |
| ② | 海面養殖の防疫対策を考える1<br>病原体のきもち×海面養殖                                 | 海面養殖場における包括的な防除対策、特に死魚の取り扱いや資材等の消毒重要性および安易な活魚の持ち込みに対する危険性についての啓発活動 | 養殖業者に対し海面養殖における衛生管理の重要性について説明する際の簡易なパンフレット  |
| ② | 海面養殖の防疫対策を考える2<br>やってはいけない！ in 海面養殖                            | 海面養殖場における包括的な防除対策、特に死魚の取り扱いや資材等の消毒重要性および安易な活魚の持ち込みに対する危険性についての啓発活動 | 養殖業者に対し海面養殖における衛生管理の重要性について説明する際の簡易なパンフレット  |

## (9) 研究推進会議等の開催実績

区分: ①推進会議、②現地検討会、③その他

| 区分 | 推進会議の名称      | 年月日       | 開催場所           | 参加者 | 消費・安全局担当 | 主な議題及び決定事項                                   |
|----|--------------|-----------|----------------|-----|----------|--|
| ①  | 令和元年度第1回推進会議 | 2019/7/4  | 農林水産省 消費安全局    | 24名 | 有        | 令和元年度の研究計画について検討し、研究計画について承認された。             |
| ①  | 令和元年度第2回推進会議 | 2020/1/31 | 農林水産省 消費安全局    | 24名 | 有        | 令和元年度の研究成果について概要説明と次年度計画について討議し、計画について了承された。 |
| ①  | 令和2年度第1回推進会議 | 2020/8/21 | 水産技術研究所(WEB開催) | 23名 | 有        | 令和2年度の途中経過と研究計画について検討し、研究計画について承認された。        |
| ①  | 令和2年度第2回推進会議 | 2021/1/26 | 水産技術研究所(WEB開催) | 25名 | 有        | 令和2年度の研究成果について概要説明と次年度計画について討議し、計画について了承された。 |
| ①  | 令和3年度第1回推進会議 | 2021/8/31 | 水産技術研究所(WEB開催) | 31名 | 有        | 令和3年度の途中経過と研究計画について検討し、研究計画について承認された。        |
| ①  | 令和3年度第2回推進会議 | 2022/1/20 | 水産技術研究所(WEB開催) | 37名 | 有        | 令和3年度の研究成果について概要説明と次年度計画について討議し、計画について了承された。 |
| ①  | 令和4年度第1回推進会議 | 2022/8/22 | 水産技術研究所(WEB開催) | 33名 | 有        | 令和4年度の途中経過と研究計画について検討し、研究計画について承認された。        |
| ①  | 令和4年度第2回推進会議 | 2023/2/8  | 水産技術研究所(WEB開催) | 33名 | 有        | 令和4年度の研究成果について概要説明と次年度計画について討議し、計画について了承された。 |
| ①  | 令和5年度第1回推進会議 | 2023/9/15 | 水産技術研究所(WEB開催) | 27名 | 有        | 令和5年度の途中経過と研究計画について検討し、研究計画について承認された。        |
| ①  | 令和5年度第2回推進会議 | 2024/2/7  | 水産技術研究所(WEB開催) | 29名 | 有        | 令和5年度の研究成果について概要説明を行った。                      |

## (10) 発表会の主催(シンポジウム・セミナー等)の状況

| 整理番号 | 発表会の名称  | 機関名                    | 開催場所               | 年月日        | 参加者数 | 備考 |
|------|---|------------------------|--------------------|------------|------|----|
| 1    | 「国内主要養殖魚の重要疾病のリスク管理技術の開発」成果報告(R5年度 魚病症例研究会の一部として開催) | 水産技術研究所・東京海洋大学・栃木県・長野県 | シンフォニアテクノロジー響ホール伊勢 | 2023/12/14 | 99   |    |

## (11)アウトリーチ活動の状況

区分:①一般市民向けのシンポジウム・講演会及び公開講座・サイエンスカフェ等、②展示会及びフェアへの出展・大学及び研究所等の一般公開への参画、③その他(子供向け出前授業等)

| 整理番号 | 区分 | アウトリーチ活動   | 機関名                   | 開催場所           | 年月日        | 参加者数 | 主な参加者       | 備考                                 |
|------|----|--|-----------------------|----------------|------------|------|-------------|------------------------------------|
| 1    | ①  | 令和2年度水産防疫体制整備モデル事業研修会「マダイイリドウイルス病は海水によってどこまで広がるのか？」    | 水産技術研究所               | 愛南町役場3階大会議室    | 2020/9/14  | 約50人 | 魚類養殖業者、漁協職員 |                                    |
| 2    | ①  | 令和3年度水産防疫体制整備モデル事業研修会「マダイイリドウイルス病が発生しない漁場を作ることはできるのか？」 | 水産技術研究所               | 西海公民館          | 2021/11/15 | 約50人 | 魚類養殖業者、漁協職員 |                                    |
| 3    | ①  | 県内養鰻業者向け講演会「うなぎのウイルス性血管内皮壊死症の最新情報」                     | 水産技術研究所・静岡県水産・海洋技術研究所 | 静岡うなぎ漁業協同組合    | 2022/12/7  | 12   | 県内養鰻業者、養鰻組合 | 令和4年度日本魚病学会((国)水産技術研究所発表)の内容を講演した。 |
| 4    | ①  | 令和4年度水産防疫体制整備モデル事業研修会「内水面養殖における防疫対策と現実」                | 東京海洋大学                | 愛南町御荘文化センター    | 2023/1/19  | 約50人 | 魚類養殖業者、漁協職員 |                                    |
| 5    | ①  | 海面養殖における有効な防疫対策を考える                                    | 水産研究・教育機構 水産技術研究所     | 近畿大学水産研究所白浜実験場 | 2022/12/21 | 約10人 | 民間養殖業者      |                                    |
| 6    | ①  | 令和4年度水産防疫体制整備モデル事業研修会「マダイイリドウイルスは養殖漁場のどこに潜んでいるか？」      | 水産研究・教育機構 水産技術研究所     | 愛南町御荘文化センター    | 2023/1/19  | 約50人 | 魚類養殖業者、漁協職員 |                                    |
| 7    | ①  | 令和5年度水産防疫体制整備モデル事業研修会「養殖海域でマダイイリドウイルス病がどのように流行しているか？」  | 水産技術研究所               | 愛南町御荘文化センター    | 2023/12/11 | 約50人 | 魚類養殖業者、漁協職員 |                                    |