

## Experimental waterborne infection of Japanese eel endothelial cells-infecting virus (JEECV) and the effects of water temperature on infection

Kousuke Umeda, Tomokazu Takano, Sachiko Okazaki-Terashima, Yuta Matsuura, Yasuhiko Kawato and Tomomasa Matsuyama

*Fish Pathology*, **59**, 17-24 (2024); <https://doi.org/10.3147/jsfp.59.17>

ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) は、我が国において重要な水産動物である。ウナギ養殖において、ウイルス性血管内皮壊死症 (VECNE) は非常に問題となっている疾病の一つであり、令和2年度には3億円以上の被害をもたらした。原因ウイルスはJapanese eel endothelial cells-infecting virus (JEECV) と呼ばれるDNAウイルスであり、鰓の血管内皮細胞および壁柱細胞に感染し、核内で増殖する。典型的な症状として鰓弁中央の中心静脈洞に強いうっ血がみられる。本病の感染経路は明らかにされていないが、著者らは、飼育水を介して感染が伝播すると考えている。しかし、これまでの研究において確立されている人為感染方法は腹腔内注射のみであり、これは自然感染経路とは異なる。そこで、本病がウイルスを含有した飼育水を介して感染することを実証するために、新たな人為感染方法を提案するとともに、感染における水温の影響を調べた。

水温の異なる180 L 容水槽 (水量50 L; 水温30.0, 32.5および35.0°C) を設置し、それぞれに健全なウナギを20尾ずつ収容して2週間馴致させたのち、病魚飼育水を5 L加えて感染させた (感染24時間後注水開始)。病魚飼育水は、健全ウナギ ( $n = 6$ ) に400  $\mu$ Lの病魚鰓摩砕濾液 ( $5.0 \times 10^9$  copies) を腹腔内注射して水槽に収容し、典型的な症状が現れた感染7日後から24時間注水を停止させた水槽から得た。感染

後60日間の経過観察を行ったところ、感染後18日目から死亡魚がみられ、最終的な累積死亡率は30.0°Cで32%、32.5°Cで15%、35.0°Cで0%であった。特に18から20日目に死亡したウナギでは高ウイルス量とVECNEの典型的な症状がみられた。生残魚の鰓におけるウイルス陽性率および組織中ウイルス量においては、30.0°Cと32.5°Cの試験区では高かったものの、35.0°Cの試験区ではウイルスは全く検出されなかった。生残魚の抗JEECV血清抗体価は30.0°C試験区で高く、32.5°C試験区で中程度であった。しかし、35.0°C試験区では抗体価は低く、非感染対照群との間に有意差は認められなかった。人為感染実験の結果より、病魚飼育水を用いた浸漬感染が実用可能であることが実証された。さらに、JEECVは飼育水を介して感染が伝播し、その感染は水温35.0°C以上で阻害されることが明らかとなった。

本論文ではVECNEに関する幅広い知見が示されており、さらに現場での実用化を見据えた防疫対策が提案されている。これらの点が高く評価され、本論文は日本魚病学会誌である「魚病研究 (*Fish Pathology*)」の論文賞 (2024年) として表彰された。

安本信哉 (水産大学校生物生産学科)

## Characterization and epidemiological study of newly emerging *Lactococcus garvieae* serotype III in farmed fish in Japan

Kaho Araki, Issei Nishiki and Terutoyo Yoshida

*Fish Pathology*, **59**, 119-126 (2024): <https://doi.org/10.3147/jsfp.59.119>

近年、海産魚類養殖において *Lactococcus* 属細菌である *L. garvieae* 血清型 I 型および *L. formosensis* (旧称 *L. garvieae* 血清型 II 型) による感染症が蔓延している。これらの病原体に対するワクチンはすでに認可され、養殖現場において防疫対策の一環として使用されている。しかし、2021年に宮崎県でこれらのワクチンを接種したカンパチ (*Seriola dumerili*) から未同定細菌が分離され、多遺伝子座配列解析 (MLSA) および抗血清による凝集反応により、*L. garvieae* 血清型 III 型として同定された。この新たな病原体は、2023年にはさまざまな魚種に蔓延し、特にカンパチおよびシマアジ (*Pseudocaranx dentex*) に深刻な被害をもたらした。

本研究では2021年から2023年に様々な養殖魚種より分離された細菌株から、著者らが開発したマルチプレックス PCR (mPCR) 法を用いて *L. garvieae* 血清型 III 型を選別し、計154株の特性を取りまとめた。

*Lactococcus garvieae* 血清型 III 型は全9魚種から分離され、特にシマアジ (72株) およびカンパチ (50株) から多く分離された。また、2022年以降はブリ (*Seriola quinqueradiata*) から15株分離された。分離株の細胞表面にはカプセル様構造が認められ、API 20 STREP を用いた生化学的性状試験では、リボースの酸性化反応は株によって異なるものの、それ以外の項目については他の血清型と類似した特性を示した。凝集反応試験では、すべての株で *L. garvieae* 血清型 III 型に対する抗血清で凝集し、*L. garvieae* 血清型 I 型に対する抗血清では凝集が弱いか凝集しなかった。パイア

ス正弦電場電気泳動 (BSFGE) による DNA 多型解析では、A, B, C の3種類の電気泳動パターンが同定された。これらのうち、タイプ A および B は2021年に養殖場に拡散し、タイプ C は2022年に発見された。薬剤感受性試験においては、すべての分離株がリンコマイシン耐性を持つが、エリスロマイシン耐性は認められなかった。

これらの結果から、*L. garvieae* 血清型 III 型は我が国の海産魚類養殖において、新たな新興病原体として広く伝播していることが明らかとなり、特にリンコマイシン耐性が問題であると考えられた。これまで、エリスロマイシン耐性株は確認されていないものの、今後注視していく必要があること、調査や診断には *L. garvieae* 血清型 III 型に対する抗血清を用いたスライド凝集反応試験や mPCR 法が有効であることが示された。

本研究を可能にした *L. garvieae* 血清型 III 型を同定できる mPCR の開発に関する論文 (荒木香帆・毛利文香・南 隆之・西木一生・吉田照豊: 日本の海産魚類養殖で発生している *Lactococcus* 感染症原因細菌の判別法の開発. 魚病研究, **59**, 63-70 (2024); <https://doi.org/10.3147/jsfp.59.63>) は、画期的な迅速診断法であるだけでなく、ワクチン開発をはじめとする海産魚類の *Lactococcus* 感染症に対する対策技術の基盤としても高く評価され、日本魚病学会誌である「魚病研究 (*Fish Pathology*)」の論文賞 (2024年) として表彰された。

安本信哉 (水産大学校生物生産学科)