

話題の感染症

コイヘルペスウイルス病について

Koi Herpesvirus Disease

いいだ たか じ
飯 田 貴 次
Takaji IIDA

I. 要 旨

「koi herpesvirus (KHV)」がこの病気の病原体の英語表記であり、この「koi」は「ニシキゴイ」を指している。日本で言う「マゴイ」、すなわち食用のコイは一般に「common carp」と呼ばれている。もちろん種は同じ「*Cyprinus carpio*」である。病原体の英語表記からもわかるように、このKHV病はニシキゴイで流行した病気であり、世界に拡大していったのもニシキゴイの商取引によってである。昨年（2003年）に、残念ながら日本においてもKHV病が発生し、多大な被害を出したことは記憶に新しい。冬になり、KHV病による死亡は報告されなくなったが、春を迎え、水温が上昇するとともに、各地で再びKHV病が発生し、コイの死亡が報告されるようになってきた。

KHV病とはどんな病気で、今、どのような研究や対策が講じられているのかを概説する。

II. 世界におけるKHV病の発生

2000年に学術雑誌にコイの新しいウイルス病が紹介され、これによりKHV病が世界に知られることとなった¹⁾。この記事は1998年にイスラエルとアメリカで発生した病気の研究報告であったが、今年の1月に東京で開催された日本の錦鯉振興会主催の「錦鯉サミット」において英国のニシキゴイ養殖場のオーナーが「1996年に自分の養殖場で原因不明の大量死があり、今から考えるとKHV病と思われる」と報告し、資料が残っているわけではない

が、著者が知るかぎりでは1996年のこの事例がKHV病の発生の最も古いものと考えられる（しかし、このオーナーによれば輸入したニシキゴイから感染したとのことで、それ以前に他の地域で発生していたことを述べていた）。2000年の時点ではKHV病の発生はアメリカ、イギリス、オランダ、ドイツ、ベルギー、イスラエルに限られていたが、その後、2002年にインドネシアおよび台湾での発生が報告され、2003年には日本においても発生した。今年3月に横浜で開催された「コイヘルペスウイルス病に関する国際シンポジウム ～コイヘルペスウイルス病防除に向けて～」(主催：水産総合研究センター、東南アジア漁業開発センター、農林水産省、国際獣疫事務局)におけるオランダの研究者の報告によれば、上記の欧州諸国に加え、イタリア、デンマーク、オーストリア、フランス、スイスにおいてもKHV病が発生しており、ルクセンブルクやポーランドではPCRによる検査によりKHVが検出されている。このように欧州ではKHV病の発生地域は拡大しつつあり、発生件数も増加傾向である。例えばオランダでは2001年の2件から2003年には27件へと増加している。先にも述べたが、欧米におけるKHV病の拡大はほとんどがニシキゴイの取引に伴う移動によるものである。東欧諸国では古くから食用ゴイの養殖が盛んであるが、幸いなことに東欧諸国の食用ゴイではKHV病は発生していない。

III. 日本におけるKHV病の発生とその拡大

日本におけるKHV病の発生が確定したのは2003

独立行政法人水産総合研究センター 養殖研究所病害防除部
☎ 516-0193 三重県度会郡南勢町中津浜浦 422-1

Aquatic Animal Health Division, National Research Institute of
Aquaculture, Fisheries Research Agency
(422-1, Nakatsuhamaura, Nansei-machi, Watarai-gun, Mie)

年11月であり、食用ゴイの一大生産地である茨城県霞ヶ浦においてであった。日本の食用ゴイの生産は年間約1万tであり、霞ヶ浦では約50%が生産されていた。KHV病発生のため、霞ヶ浦では今年の3月末までに養殖ゴイを全数処分したため、今年の食用ゴイの生産は激減するものと予想される。

霞ヶ浦でコイの異常な死亡が見られるようになってから養殖研に診断が依頼されるまで約1カ月ほどの時間が経過した。残念なことに、その間にコイが活魚として全国に販売されたため、KHV病は日本国内に広く伝播することとなってしまった。

日本ではコイの養殖場ばかりではなく、天然河川や湖沼でのKHV病の発生が報告されている。その原因の1つとして養殖場の排水があり、KHV病が発生した養殖場からの排水が天然河川に流れ込み、その河川でKHV病が発生した例も知られている。

KHV病の発生を受けて、農林水産省消費・安全局魚類安全室から各都道府県への調査により、霞ヶ浦でのKHV病の発生より数カ月前に、岡山県の河川でコイの大量死があったことが報告された。そのときの死亡魚が冷凍保存されていたことから養殖研で再検査をしたところ、その一部の試料からKHVが検出された。今までの聞き取り調査によってもそれ以前にコイの原因不明の大量死の報告はなく、現在のところ、日本におけるKHV病の最初の発生は岡山県におけるものと考えられている。霞ヶ浦と岡山県河川でのKHV病の発生の関連は今のところ不明である。

現在までのところ、茨城県、岡山県を含み、34都府県でKHV病の発生やKHVの検出が確認されている。その中には霞ヶ浦からのコイ活魚によって伝播したことが明らかな地域もあるが、霞ヶ浦との因果関係もなく、なぜ、KHV病が発生したかが全く不明な地域もある。今後の有効なKHV病対策を立てるうえでも、どのようにKHV病が日本国内に拡大していったかを明らかにする必要がある。

IV. KHV病の特徴

KHV病はコイ、すなわち *Cyprinus carpio* にしか感染せず、コイに近い種類のキンギョやフナにさえ感染しないと考えられている。KHV病が疑われるコイの大量死が発生した場合には、コイ以外の魚が

死んでいないかが大切な情報となる。KHV病になるとコイは餌食いが悪くなり、水面をフラフラと泳ぐようになる。KHV病の外観的な症状は、鰓の膨化・粘液過多・壊死、体表の出血、目の落ち込みであり、鰓の異常が最もよく認められる(図1)が、これらの症状が必ず発現するわけではなく、ほとんど無症状の病魚も見受けられる¹⁾。病理組織学的には鰓上皮細胞の増殖が盛んで、二次鰓弁間の空間を埋め尽くし、鰓が棍棒化しているものが多い(図2)。鰓は魚にとっては呼吸器官であり、二次鰓弁間に新鮮な水が流れることにより、鰓表面から水中の酸素を体内に取り込んでいる。二次鰓弁間が埋め尽くされると酸素を取り込めなくなり、酸素欠乏になると考えられるが、魚の皮膚は角質層がないため、鰓以外に、外部と接している体表からも一部酸素を取り込めるため、鰓の病変だけが死亡原因とは考えに



図1 KHV病魚コイ
鰓の壊死と目の落ち込みが認められる。

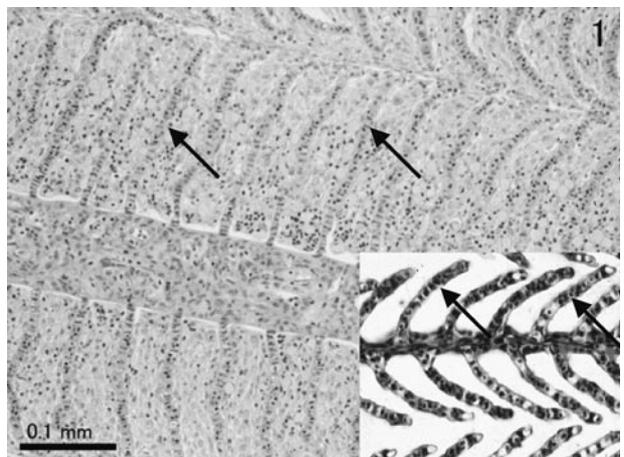


図2 病魚鰓の組織像
二次鰓弁(矢印)の間が上皮細胞の増殖で詰まっている。右下は正常の鰓組織(二次鰓弁の間が空いている)。

くい。一部の文献では腎臓の炎症が顕著であると記述しているが、日本における症例では腎臓の炎症はほとんど認められない。その他の臓器では異常はほとんど認められず、心筋の壊死を指摘している研究者もいる。KHV 病による死因については検討すべき課題である。

KHV 病の発生は 20～25℃ の水温が好適であるが、15℃ でも発生している。13℃ では KHV が感染していても発症することはないが²⁾、今年 4 月に開催された日本水産学会の平成 16 年度大会において、水温を 13℃ に保ち、107 日後に水温を上昇させると発病したとの報告があり、低水温ではウイルスが死滅するわけでもなく、また、コイが免疫を獲得するわけでもないことが示された。昨年、KHV 病が 11 月に発生後、12 月に入り水温が低下するに従い KHV 病の発生は減少し、1 月に入ってからの新たな発生はなかった。多くの関係者は、発生がなくなったからといってこのまま KHV 病が終息するとは考えてはおらず、水温の上昇に伴い KHV 病が再発すると心配していた。その心配が現実のものとなり、3 月ころから少しずつ KHV 病の再発と思われる報告が出るようになり、4 月後半には西日本を中心に KHV 病が再発し始め、徐々に東日本へと移ってきている。

高水温においては、30℃ での発症はなく、低水温と違ってコイは免疫を獲得すると報告されている³⁾。ただ、この場合、確実にウイルスが死滅している保証はなく、病気は発症しないが病原体を保持するキャリアー状態になっている可能性が高い。このようなコイを移動させた場合には KHV 病を各地に拡散させてしまう恐れがあり、注意を要する。

KHV が感染してから発症するまでの潜伏期間は水温やウイルス量にもよるが、一般的には 2～3 週間と考えられている。実験室内では水温を好適に保ち多量のウイルスで感染実験をすると 1 週間ほどで発病する。遊泳が緩慢になってから死亡するまでの時間は 1～2 日と短い。

KHV 病の伝播には直接的な病魚との接触を必要とはせず、水を介しての感染も成立する⁴⁾。陸上動物でいえば「空気感染」に相当するものであり、その感染力の強さを理解いただけるものと思う。先にも述べたが、天然河川での KHV 病の発生には、KHV 病が発生した養殖場からの排水がかかわっている。

V. KHV の特徴

KHV はウイルスの形態・サイズや宿主細胞核内の発達過程から「ヘルペスウイルス」に分類された¹⁾ (図 3)。別の研究者はこのウイルスの全ゲノムサイズが約 277kbp と大きいこと、鳥類や哺乳類のヘルペスウイルスの遺伝子と相同性がほとんどないことなどから、「ヘルペスウイルス」に分類することに疑問を持ち、CNGV (carp nephritis and gill necrosis virus: コイ腎炎鰓壊死症ウイルス) と呼称している³⁾。これまでコイ、キンギョ、ウナギ、チョウザメやサケ科魚類から病原性を有するヘルペスウイルスが分離されているが、KHV を含め、これらのヘルペスウイルスは哺乳類、鳥類および爬虫類由来のヘルペスウイルスとは極めて異なったグループを形成することが報告されており、今後、ヘルペスウイルス科の分類を変更する必要があるといわれている。

KHV の分離にはコイ鱗由来の KF-1 細胞¹⁾ または脳由来の CCB 細胞⁵⁾ が利用され、それ以外の魚類由来株化細胞では分離できない。しかし、KF-1 でも CCB でも KHV の分離はそれほど簡単ではなく、明らかに KHV 病で死亡している個体からも分離できないことをしばしば経験している。また、分離することができても、細胞変性効果が発現するまでに 2 週間以上の時間を必要とすることから、ウイルス分離により KHV 病を診断することは危険であり、現在は KHV 病の診断には PCR による KHV の

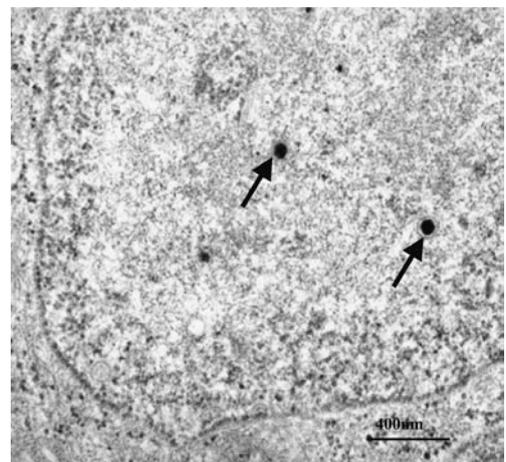


図 3 KF-1 細胞で増殖する KHV の電子顕微鏡像
核内にヌクレオキャプシドが観察される(矢印)。
(三輪 理博士 提供)

遺伝子検出を利用している^{5,6)}。診断に利用する部位としては鰓または腎臓がよいとされているが、現在は鰓を診断材料にしている。

PCR産物の塩基配列を調べたところ、日本で検出されたKHVはすべて一致したが、データベースに登録されている塩基配列と比較して1塩基欠損が認められた。また、KHVのチミジンキナーゼの塩基配列もデータベースに登録されていることから、日本のKHVのチミジンキナーゼの塩基配列を調べたが、こちらも日本のKHVはすべて一致したが、データベースの配列とは1塩基の置換があった。このように日本のKHVと海外のKHVとはわずかではあるが塩基配列に違いが見つかることから、KHV病の世界における感染経路を追うことが可能かもしれない。ちなみに1例のみであるが、インドネシアのKHVを調べたところ、その結果は日本のKHVと一致している。

VI. KHV 病対策

先にも述べたが、30℃以上の水温での飼育が治療に利用できると考えられているが、食用ゴイの養殖のように大規模なものでは実行は難しく、また、キャリアの問題も残っている。また、イスラエルでは生ワクチンの研究が進んでいるが、これもワクチン株の病原性の復帰やワクチン魚がキャリアになる問題等があり、世界的には受け入れられていない。今のところ、最大の対策は病魚を速やかに取り除き、可能なかぎり消毒を実行することである。

日本におけるKHV病の対策は、日本でKHV病が発生する以前から行われていた。すなわち、2000年にKHV病が正式に学術論文に発表され、2002年にアジアでも発生が報告されたことから、KHVの感染力の強さから考え、日本で発生した場合には大きな被害が出るのが予想されるため、当時の農林水産省水産庁魚類防疫室（現在は消費・安全局魚類安全室）では、平成15年6月30日をもってKHV病を持続的養殖生産確保法の特定疾病に指定し、日本への侵入を防ぐための手立てを講じた。持続的養殖生産確保法とは「漁業協同組合等による養殖漁場の自主的な改善を促進するため漁場改善計画制度を創設し、養殖漁場を養殖水産動植物の生育に適した状態に回復し・維持するとともに、一定の強制的な

措置を含む特定疾病のまん延防止のための措置を整備することにより、持続的な養殖生産の確保を図り、養殖業の発展と水産物の安定供給を図ることを目的」として平成11年5月21日に公布されたもので、その中で特定疾病とは「国内における発生が確認されおらず、又は国内の一部のみに発生している養殖水産動植物の伝染性疾病であった、まん延した場合に養殖水産動植物に重大な損害を与えるおそれがあるものとして農林水産省令で定めるもの」とされており、いくつかの疾病が指定されている（表1）。特定疾病の疑いがある場合には、対象水産動植物の処分、施設の消毒等、まん延防止のために知事による命令を出すことができる。KHV病においても発生した養殖場や釣り堀に指示が出され、コイの処分、施設の消毒が行われている。先にも述べたが、霞ヶ浦での養殖ゴイの全数処分はこの法律に従って実施されたものである。同時に水産資源保護法も改正され、それまでもコイの稚魚の輸入に関しては農林水産大臣の許可が必要であったが、加えて、コイの幼魚の輸入にも許可が必要となった。KHV病対策が正式に打ち出されてからはコイの輸入に関する許可申請はないとのことであるが、先にも書いたが、この法律の改正が成立する前にすでに日本にはKHV病が侵入していたことが後になって判明した。

KHV病の発生を受けて、農林水産省消費・安全局では「KHV病に関する技術検討会」を発足させ、KHV病のまん延防止のため調査・提言等を行ってきている。KHV病は知られるようになってからまだ日も浅く、対策に関する知見も多くはないことから、検討会では、感染コイの処分と施設の消毒に加え、未感染地域への拡大を防ぐために「こいの取扱

表1 現在指定されている特定疾病

こい科魚類	コイ春ウイルス血症 コイヘルペスウイルス症（平成15年6月30日追加）
さけ科魚類	ウイルス性出血性敗血症 流行性造血器壊死症 ピシリケッチア症* レッドマウス病*
くるまえばい 属のえび類	伝染性皮下造血器壊死症 イエローヘッド病 バキュロウイルス・ペナエイによる感染症 モノドン型バキュロウイルスによる感染症

*は細菌性疾病、その他はウイルス性疾病

いに関する注意事項」(表2)を出し、注意を呼びかけている。陸上池などの養殖場・畜養場・釣り堀ではKHV病が発生した場合には確実な消毒とその後に入れる種苗の無病の確認が重要であり、実際に昨年発生した養殖場等でも確実な対策の実施されたところでは、今年に入って水温が上昇してもKHV病の発生はなく、KHV病を駆逐することに成功している。しかし、天然河川や大きな湖沼ではコイの全数処分や消毒はほぼ不可能であり、感染地域の拡大を防ぐことに力を注ぐ必要がある。この場合、是非とも注意しなければならないのが、コイの放流である。河川や湖沼では天然資源の増大を目的にコイが放流されている。また、最近ではコイは自然環境保護の象徴のように扱われ、各地で一般市民により放流されている。このような場合のコイが無病であることを確認しなければならない。さらに、一般の愛好家や釣り人の協力も必須であり、むやみに飼育していたコイや釣ったコイを河川・湖沼に「リリース」しないことが肝要である。知らず知らずのうちにKHV病の感染拡大に手を貸すようなことがあってはならない。

表2 こいの取扱いに関する留意事項
(KHV病に関する技術検討会)

1. 養殖場等
(1)KHV病未発生の養殖場等
○導入する種苗が汚染水域由来でないことの確認。
○導入する種苗が汚染水域由来のこいと接点がないことの確認。
○こいの大量死亡等異常が見られた場合には、出荷・持ち出しを見合わせるとともに、各都道府県の水産試験場等に連絡すること。
○養殖施設内への立入り及び用水に関する十分な注意。
(2)KHV病既発生の養殖場等
○養殖施設や運搬車両等のウイルス不活化のための消毒等の確実な実施。
○その他、未発生の養殖場等に準ずる。
2. 天然水域
(1)放流について
○放流用のこい群が汚染水域由来でないこと、かつ、PCR検査で陰性が確認されたものであることの確認。
○放流用こい群が汚染水域由来のこいと接点がないことの確認。
(2)漁業者・遊漁者等による採捕について
○汚染水域において採捕したこいを他の水域へ持ち出さないこと。

VII. 今後のKHV病対策研究

KHV病の発生を受けて、農林水産技術会議により「平成16年度先端技術を活用した農林水産研究高度化事業」の「全国研究領域設定型研究」に「コイヘルペスウイルス病の防除技術の開発」が課題として取り上げられた。「全国研究領域設定型研究」は「農林水産省が提示する農林水産施策推進上必要な全国ベースでの研究領域に対応した研究」と位置付けられている。そこで、養殖研究所が中核機関となり、共同研究機関として北海道大学大学院水産学研究科、東京海洋大学、日本獣医畜産大学、東南アジア漁業開発センター(SEAFDEC)、栄研化学(株)および共立製薬(株)とともに、研究課題「コイヘルペスウイルス病の診断・防除技術の開発」を計画し、この公募に応募したところ、採択された。その研究内容は以下の通りである。

- ①病理学および疫学的検討：病理学的に本疾病の死因を解明するとともに、不顕性感染魚や他魚種のKHVへの感受性を調べる。また、各地のウイルス株の違いを調べ伝播経路の疫学的検討を行う。
 - ②新たな診断・検出法の開発：現行の診断法より迅速・簡単で高感度なKHVの検出法、あるいは感度は劣るが確実な診断法を開発する。
 - ③防疫対策技術の開発：KHVの効果的な消毒法を確立し、予防のためのワクチン開発を行う。さらに発症したコイの治療法の開発を目指す。
- これまでの魚病対策では少なくとも生け簀単位の多数の魚が対象であったが、KHV病では高価なニシキゴイも発症することから、個々のニシキゴイに対する予防・治療も考慮する必要があり、これまでの魚病対策とは異なった「ペット動物」としての対策も必要であろう。

おわりに

各地の「小京都」と呼ばれるような都市では、町中の水路にニシキゴイが泳ぎ、住民や観光客の目を楽しませてくれている。また、日本の河川・湖沼には、「主」と呼ばれる大きな年とったコイがいるものである。そのような日本の原風景が驚異にさらされている。これ以上のKHV病の感染地域の拡大を

防ぎ、再びコイが安心して生きることができる日本を取り戻すため、研究者は頑張っていかなければならない。研究者ばかりではなく、一般の方々の協力も是非ともお願いしたい。

文 献

- 1) Hedrick, R. P., et al.: A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *J. Aquat. Anim. Health.* **12**: 44-57, 2000.
- 2) Gilad, O., et al.: Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus, and the effect of temperature on mortality of experimentally infected koi. *J. Gen. Virol.* **84**: 2661-2667, 2003.
- 3) Rone A., et al.: Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine.* **21**: 4677-4684, 2003.
- 4) Perelberg, A., et al.: Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel. *The Israeli J. Aquaculture-Bamidgeh.* **55**: 5-12, 2003.
- 5) Gray, W. L., et al.: Detection of koi herpesvirus DNA in tissues of infected fish. *J. Fish Dis.* **25**: 171-178, 2002.
- 6) Gilad, O., et al.: Initial characteristics of koi herpesvirus and development of a polymerase chain reaction assay to detect the virus in koi, *Cyprinus carpio* koi. *Dis. Aquat. Org.* **48**: 101-108, 2002.