

話題の感染症

両生類のラナウイルス感染症

Ranavirus disease in Amphibians

うねゆみ
宇根有美
Yumi UNE

要 旨

2008 年 10 月にわれわれのグループは日本で初めて両生類のラナウイルス感染症を確認した。ラナウイルス感染症は、世界各地で両生類の数の減少にかかわっているとされ、2008 年 5 月に世界動物保健機関の監視すべき重要な野生動物の感染症リストに、両生類の疾病として初めてカエルツボカビとともに加えられた。ラナウイルスは、イリドウイルス科に属する大型の正二十面体のウイルスで、直鎖状の 2 本鎖 DNA (サイズ 140 ~ 303kbp) を持つ。宿主域は広く、両生類のみならず、魚類、爬虫類にも感染する種類がある。各発育ステージの両生類が感受性を有しているが、特に変態途中、変態直後の幼体の感受性が高く、しばしば幼体の大量死事例として発見される。野生下および養殖両生類で流行が確認されている。感染は、直接接触、共食、汚染水などを介した間接触によって伝播する。魚類のイリドウイルスに対するワクチンは開発されているが、両生類のラナウイルスに関して予防法はない。国内で発見されたラナウイルス感染症は、ウシガエル (*Rana catesbeiana*) の幼体の大量死事例として見出された。分離されたウイルス RCV-JP は、ラナウイルスの基準種 FV-3 とは異なるもので、2008 年 9 月に遺伝子登録された台湾の RCV-TW07 と非常に類似していたが、RCV-JP の由来は不明である。

日本では、カエルツボカビ症は飼育下のカエルに流行した。しかし、ラナウイルス感染症は野生下の両生類の大量死事例として発見された。日本には、有尾目 (サンショウウオ、イモリ) 23 種、無尾目 (カエル) 35 種 5 亜種、計 58 種 5 亜種の両生類が生

息している。このうち 77.5% が日本固有種である。このように貴重な日本の両生類に対して、ラナウイルスはどのような影響を与えるのか、早急に明らかにし、対策をとる必要がある。

はじめに

国際自然保護連合の調査によれば (http://www.iucnredlist.org/amphibians/redlist_status)、2008 年現在、世界には約 6,000 種類の両生類があり、そのうち、32.4% が絶滅あるいは絶滅に瀕しているとされている。両生類の個体数を減少させる原因としては、生息域の破壊がもっとも重要で、次に環境汚染、森林火災、外来種圧、感染症などが続く。このうち、感染症は 1980 年代以降、世界各地で劇的な両生類の個体数減少にかかわっているとされ、他の原因より種の絶滅を引き起こす確率が非常に高い (http://www.iucnredlist.org/amphibians/major_threats 図 1)。これは感染症の特性に起因するもので、たとえ病原体が少数であっても、一旦、地域に持ち込まれ宿主を獲得すると無尽蔵に増殖し、ヒト、動物や物流を介して拡散していく。その代表的な例がカエルツボカビで、特にパナマやオーストラリアで猛威を振るっており、侵入が予想できても、拡大、被害を阻止できない状況にある。すなわち、自然界にあっては、病原体の拡散をコントロールする、あるいは排除することは極めて困難である。

これは、家畜やヒトの感染症でも同様で、古くは狂犬病 (コヨーテ、アライグマ、コウモリ)、牛型結核 (イギリスのアナグマ、ニュージーランドのオポッサム)、ウエストナイル熱 (野鳥)、新型インフルエンザの出現で影が薄くなったが、高病原性鳥イ

ンフルエンザ（野鳥）と枚挙にいとまがない。このため、野生動物に関連する感染症の公衆衛生上および動物衛生上の問題を重視して、2008年5月世界動物保健機関（旧国際獣疫事務局、OIE）は野生動物の感染症に関する提言を行い、あわせて、重要な監視すべき伝染病をリストアップした（表1）。この中には、感染症による生態系および生物多様性の破壊を危惧し、初めて両生類の病原体として、カエルツボカビとイリドウイルスが掲載された。ともに両生類の新興感染症として捉えられ、カエルツボカビは、1999年に1属1種の新種のツボカビとして登録

された。イリドウイルス科ラナウイルスによる両生類の感染症としては、1965年にFrog virus 3感染症、1968年にオタマジャクシ浮腫病¹⁾が報告されているが、1990年後半から世界各地で流行が報告されるようになった。カエルツボカビに関しては、すでに本誌において黒木俊郎博士（神奈川県衛生研究所）が解説しているので（53巻3号、2007年 http://www.eiken.co.jp/modern_media/）、ここでは、最近、国内で発見されたイリドウイルス科ラナウイルス感染症について解説する。

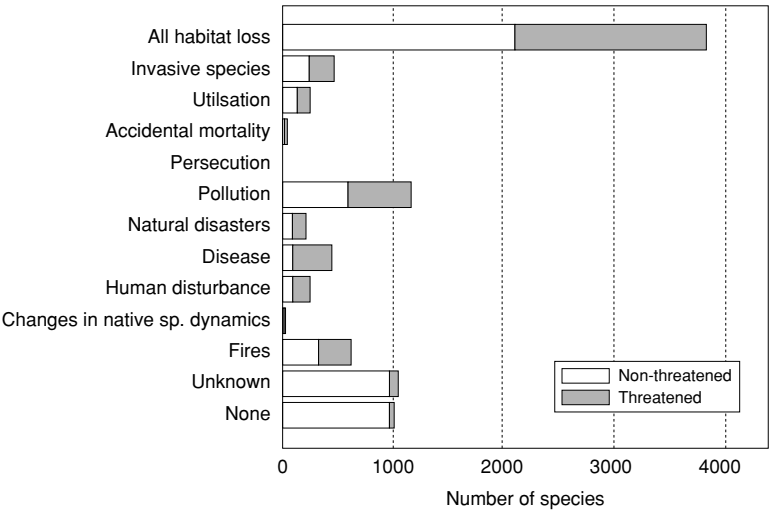


図1 Major threats to amphibians.
(http://www.iucnredlist.org/amphibians/major_threats より引用)

表1 野生動物の監視疾病リスト（OIE）

African Horse Sickness	Avian Chlamydiosis オウム病	Leishmaniosis
African Swine Fever	Avian Cholera	Leptospirosis レプトスピラ症
Avian Influenza HPAI 高病原性鳥インフルエンザ	Avian Infectious Bronchitis	Maedi/Visna
Avian Influenza LPAI (wild birds) 低病原性トリインフルエンザ	Avian Tuberculosis 鳥型結核	Myxomatosis
Bluetongue	Bovine Tuberculosis 牛型結核	Paratuberculosis (Johne's disease)
Foot and Mouth Disease (FMD)	Tuberculosis Human 人型結核	Q-fever Q熱
Vesicular Stomatitis	Bovine Herpesvirus (IBR)	Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD)
Swine Vesicular Disease	Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)	Rabies 狂犬病
Rinderpest	Brucella melitensis ブルセラ	Scrapie スクレビー
Peste des Petits Ruminants	Brucella abortus	Trichinellosis トリヒナ
Contagious Bovine Pleuropneumonia	Brucella suis	Tularemia 野兎病
Classical Swine Fever	Brucella sp.	West Nile disease 西ナイル熱
Lumpy Skin Disease (capri ne pox)	Caprine Arthritis/Encephalitis (CAE)	
Newcastle Disease	Duck Plague (DVE)	Amphibians
Rift Valley Fever	Duck Hepatitis	Chytridiomycosis
Sheep/Goat Pox	Echinococcus granulosus 単包条虫	Iridovirus diseases
Anaplasmosis	Echinococcus multilocularis 多包虫症	
Anthrax 炭疽	Epizootic Haemorrhagic Disease (EHD)	
Aujeszky's Disease 仮性狂犬病	Equine Herpesvirus	

■ は人獣共通感染症

I. イリドウイルス科ラナウイルス

イリドウイルスの「irido」は、ギリシャ語の iris、iridos (虹色) に由来し、感染細胞の中に集積したウイルス粒子が虹色を呈することから命名された。大型の正二十面体のウイルス粒子 (球形ビリオン) で、直径は属によって多様で 120 ~ 360nm。直鎖状の 2 本鎖 DNA (サイズ 140 ~ 303kbp) のウイルスである (http://www.ictvdb.rothamsted.ac.uk/ictv/fs_irido.htm)。ウイルスの複製には核が関与し、細胞質内にカプシドが集積して (細胞質内封入体として確認される属がある)、細胞膜より出芽する。宿主細胞膜由来のエンベロープを持つもの (脊椎動物ウイルス、主としてラナウイルス属とリンホシスチス属) と持たないもの (昆虫ウイルス、主としてイリドウイルス属とクロルイリドウイルス属) とがある。後者はエーテル耐性で、他のすべてのウイルスがエーテルおよび非イオン性界面活性剤に感受性がある。

両生類のウイルス感染症として重要なウイルスのほとんどが、このイリドウイルス科に属している。この科には、イリドウイルス Iridovirus 属、クロルイリドウイルス Chloriridovirus 属、ラナウイルス Ranavirus 属、リンホシスチス Lymphocystivirus 属、メガロサイチ Megalocytivirus 属の 5 属と (図 2)、この他、未分類 unassinged のウイルス群があり、節足動物などの無脊椎動物 (昆虫と軟体動物) と下等脊椎動物 (魚類、両生類、爬虫類) から分離される。このうち、イリドウイルス属、クロルイリドウイルス属のウイルスは昆虫に感染し、また、リンホシスチスとメガロサイチ属のウイルスは魚類に感染す

る。オーストラリアの流行性造血器壊死症ウイルス (Epizootic Hematopoietic Necrosis virus : EHN²⁾) や北米のオオクチバスウイルス (Largemouth bass virus : LMBV) がよく研究され、日本では、海水魚のイリドウイルス病が、マダイなどの養殖魚に流行し、養殖産業に多大な被害を及ぼした (ほとんどがメガロサイチ属ウイルス)³⁾。そして、ラナウイルス属のウイルスは、魚類、両生類および爬虫類に感染する。両生類に病原性を示すイリドウイルスとして、ラナウイルス属および未分類イリドウイルス属 (frog erythrocytic iridoviruses) のウイルスがよく知られている。

ラナウイルスは、少なくとも 20 種類あるとされ、代表的なものとして Frog Virus 3 (FV-3)⁴⁾、オタマジャクシ浮腫病 (TEV)¹⁾、*Ambystoma tigrum* (トラフサンショウウオ) virus^{5, 6)}、Bohle (ボーレ) iridovirus (BIV)、*Rana esculenta* iridovirus などがある (表 2)。このうち、FV-3 が基準となるウイルスで、多くの種類のカエル (アカガエル属) とヒキガエルに、しばしば高病原性で高い死亡率を示す。FV-3 と TEV 間には、ウイルス学的に密接な関係があり⁷⁾、ともに幼体での被害が大きく、同じ臨床症状を示す⁸⁾。北米全土で、FV-3 と TEV に類似するラナウイルスによるオタマジャクシを含む幼体の大量死が報告されており、しばしば、致死率が 90% を超える^{9, 10)}。

その後、ウイルス学および分子生物学的研究が進み、FV-3 (同義語 Box turtle virus 3、Bufo United Kingdom virus-BUK、Bufo marinus Venezuelan iridovirus 1、Lucké triturus virus 1、Rana United Kingdom virus-RUK、Redwood Park virus、Stickleback virus、Tadpole edema virus-TEV、Tadpole virus 2、Tiger frog virus-TFV、Tortoise virus 5)、*Ambystoma tigrinum* virus (ATV) (同義語 Regina ranavirus)、Bohle iridovirus (BIV)、Santee-Cooper ranavirus (SSRV) (同義語 Doctor fish virus-DFV、Guppy virus 6-GV6、Largemouth bass virus-LMBV)、*Rana esculenta* iridovirus、Singapore grouper iridovirus、*Testudo* iridovirus のように整理された (http://www.oie.int/aac/eng/Publicat/Cardsenglish/Ranavirus%20card_final.pdf#search='OIE')¹¹⁾。

イリドウイルスの分類

1. イリドウイルス Iridovirus 属 (昆虫)
2. クロルイリドウイルス Chloriridovirus 属 (昆虫)
3. ラナウイルス Ranavirus 属 (両生類、爬虫類、魚類)
4. リンホシスチス Lymphocystivirus 属 (魚類)
5. メガロサイチ Megalocytivirus 属 (魚類)

この他、未分類 unassinged のウイルス群

図 2 イリドウイルスの分類

表2 両生類のラナウイルス

Host	Virus	Country or region where isolated	References
Leopard frog (<i>Rana pipiens</i>)	Frog virus 3	United States, North America	Hyatt et al 2000
Leopard frog (<i>Rana pipiens</i>)	FV1-3, FV9-23 Lucke triturus virus 1	United States	Ahne & Essbauer 2001
Bullfrog (<i>Rana catesbeiana</i>)	Tadpole edema virus オタマジャクシ浮腫病 (TEV)	United States, North America	Wolf et al 1968
Edible frog (<i>Rana esculenta</i>)	<i>Rana esculenta</i> iridovirus (REIR)	Croatia, Europe	Ahne et al 1998
Edible frog (<i>Rana esculenta</i>)	<i>Rana esculenta</i> iridovirus (REIR)	United Kingdom, Europe	Ahne et al 1998
Common frog (<i>Rana temporaria</i>)	Rana UK virus (RUK)	United Kingdom, Europe	Drury et al 1995. Hyatt et al 2000. Cunningham et al 1996
Red-legged frog larvae (<i>Rana aurora</i>)	Redwood Creek virus	California, United States	Mao et al 1999, 1997
Ranid frog (<i>Rana grylio</i>)	<i>Rana grylio</i> virus (RGV)		Ahne & Essbauer 2001
Tiger frog (<i>Rana tigrina</i>)	Tiger frog virus (TFV)	China	He et al 2002
Tiger frog (<i>Rana tigrina</i>)	(LSV)	China	He et al 2002
Tiger frog (<i>Rana tigrina</i>)	RTV	Thailand	Ahne & Essbauer 2001
African clawed toad (<i>Xenopus laevis</i>)	XV	United States	Ahne & Essbauer 2001
Ornate burrowing frog (<i>Limnodynastes ornatus</i>)	Bohle iridovirus (BIV)	Australia	Speare & Smith 1992
Cane toad (<i>Bufo marinus</i>)	Guatapo iridovirus	Venezuela, South America	Hyatt et al 2000
Common toad (<i>Bufo bufo</i>)	Bufo UK virus (BUK)	United Kingdom, Europe	Ahne et al 2001
Red-spotted new eft (<i>Notophthalmus viridescens</i>)	NVT	United States, North America	Ahne & Essbauer 2001
Red eft (<i>Diemictylus viridescens</i>)	T6-20	United States	Ahne & Essbauer 2001
Tiger salamander (<i>Ambystoma tigrinum stebbinsi</i>)	<i>A. tigrinum</i> virus (ATV)	Arizona, United States	Jancovich et al 2001
Tiger salamander (<i>A. t. mavortium</i> or <i>diaboli</i>)	Regina ranavirus (RRV)	Saskatchewan, Canada	Bollinger et al 1999
Tiger salamander (<i>A. tigrinum</i>)	Not yet named	N. Dakota, United States	Docherty 1999
Spotted salamander (<i>A. maculatum</i>)	Not yet named	Maine, United States	
Tiger salamander (<i>A. tigrinum</i>)	Not yet named	Utah, United States	

#Iridovirus の文献より

II. 発生状況と臨床症状

ラナウイルスは、両生類の生活環のすべての発育ステージに影響を与えるが、特に、オタマジャクシと変態にかかわる時期が最も冒されやすく、成体より幼体の方が3倍以上感受性が高いとされている。このため、変態途中あるいは変態直後の動物の大量死として発見されることが多く、しばしば、野生下両生類の急激な個体数減少を引き起こす。なお、成体の動物の中に無症候性キャリアが存在すると考えられているが、臨床的に異常のない個体から、ウイルスは稀にしか分離されない。

流行とその影響には季節性があり、暖かい季節（高水温下）では、流行が起きやすく、かつ大規模になりやすく、病勢の進行も早い。また、地域へのラナウイルスの侵入は、感染した両生類、魚類または爬虫類や汚染物の移動により起こる。

臨床症状は、突然死から明瞭な症状を示さないものまでさまざまである。甚急性では全身性出血性病変を主徴とする。経過が長くなると、皮膚潰瘍、四肢・尾の壊死、全身水腫、体腔水腫などが観察される^{5, 8, 12)}。ときに二次感染を伴って赤字病のような症状を呈する。実験による急性感染症では、接種後2日～2週間で発症し、通常、全身症状を呈する⁸⁾。

病理組織学的所見としては、ウイルスは一般に造血細胞を標的とするといわれているが、骨格筋などの筋組織を除く全身諸臓器から分離される。また、ウイルスの種類や株、宿主の種類と年齢などによって病変が異なるが、概して壊死性変化が顕著で、皮膚および全身諸臓器、特に造血組織と肝臓が冒される。また、腎臓や肝臓などで、好塩基性の細胞質内封入体をみることがある¹³⁾。しばしば、二次的細菌感染による臨床症状や組織学的所見が観察される。

III. 感染経路と宿主域

汚染された水との接触、オタマジャクシなどの共食によって水平感染する¹²⁾。垂直感染もおこり得ると考えられているが、実験的には証明されていない。

BIVは、両生類のみならず、爬虫類（淡水性カメ、ヘビ）および魚類（淡水魚）と3種の脊椎動物に感染することができる。このように、両生類、爬虫類および魚類と類を越えて感染する病原体は少なく、この宿主域の広さは疫学上および防疫上問題になる。さらに、感染性が高く少数のウイルスでも感染が成立し、無症候性キャリアー状態も起り得る。おそらく、野生状態ではこの形が最も一般的な状態であろう。宿主がいない環境で、ある期間生存できるが増殖することはない、一旦、その地域に侵入しても一貫して検出され続けることはない。

IV. 消毒法

ラナウイルスは抵抗性が強く、乾燥材料であっても長期間生存する。また、4℃の水中では比較的長期間安定している。

消毒法は、一般的ウイルスの消毒法に準じる。エンベロープ（脂質を含む）を有するウイルスかどうかで、消毒薬の効果が異なる。すなわち、エーテル、クロロホルム、フロロカーボンなどの有機溶媒でエンベロープを持つウイルスは容易に不活化される。ちなみに、ラナウイルスはエンベロープを有する。多くのウイルスは、56℃では30分でカプシド蛋白が変性し、4%次亜塩素酸ナトリウムで不活化される。

以下に、一般的ウイルスの消毒法を示す。①煮沸（98℃以上）15～20分、②2w/v%グルタール、③0.05～0.5w/v%（500～5,000ppm）次亜塩素酸ナトリウム、④70%消毒用エタノール、⑤2.5w/v%ペンピドンヨードなど。

V. 診断法

それぞれの生活環における急性ラナウイルス感染症の臨床症状は、以下のとおりである。変態中の両生類の大量死では、第1にラナウイルス感染症を疑う。

- ・オタマジャクシ：活力の低下、腹水、出血、死亡。
- ・変態個体：活力の低下、全身性水腫、腹水、出血、死亡。
- ・成体：活力の低下、皮膚潰瘍形成、出血、死亡。

発症または死亡個体であれば、新鮮あるいは冷凍の死体か組織（脾臓または腎臓が最適）あるいは組織を採材し10%ホルマリンか70%アルコールで固定し、保存する。診断方法としては、病理学的検査、組織からのウイルス分離（魚の培養細胞を用いる）、抗原検出、ELISA（AC-ELISA：antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay）、PCR検査、電子顕微鏡学的検査がある。PCR検査では、ウイルスの主要カプシド蛋白をコードする遺伝子を検出する。検査材料として腎臓と脾臓が用いられている。キャリアー状態（少数感染）の場合、PCR検査でしか検出できないかもしれない^{1, 9, 14～17)}。

VI. 治療法と予防法

治療法はない。しかしながら、Johnsonら¹²⁾は、両生類の皮膚からの分泌物がラナウイルスに防御的に働くとは仮定して、アシクロビル（Zovirax）の服用が、臨床使用において、症状をコントロールする潜在的作用があるかもしれないとしている。

魚類のイリドウイルス感染症に関しては、すでに不活化ワクチンが開発されていて、マダイ、ブリ属魚類に筋肉内あるいは腹腔内接種で予防接種されている。しかし、両生類のラナウイルスのワクチンは開発されていない。また、現行のワクチンでは、野生下の動物には使用できない。ラナウイルスは、OIEの監視疾病リストに掲載されていることから、汚染地域あるいは汚染国からの汚染物の移動に関して多くの提言がなされている。

VII. 世界分布とその影響

ラナウイルス感染症は、世界各地で野生の両生類に流行している^{18, 19)}。イギリスでは、1985～1991年にかけて、イングランドの南東部でヨーロッパアカガエル（*Rana temporaria*）の異常な個体数の減少が起きたことから、ロンドン動物学研究所などがFrog Mortality Projectを発足し、イギリス全土よりカエルの死に関する情報を収集すると同時に、原

因究明のための調査を開始した。その結果、3,600件 64,500 匹以上の両生類の死に関する情報が寄せられ、年間数万匹の単位で、ヨーロッパアカガエルがラナウイルス感染症により死亡していることが明らかになった。このラナウイルスは、成体のみならず、オタマジャクシや卵にまで影響を与えるとされ、病型として、皮膚潰瘍型、全身出血型とその混合型がある²⁰⁾。また、種特異性が低く、ヨーロッパヒキガエルやイギリスに生息するすべてのイモリにも感染するといわれている²¹⁾。なお、このウイルスは、比較的最近イギリスへ侵入したものと考えられ、北米の両生類から検出されたウイルスと密接な関係があることから、1つの可能性として、北米から導入したウシガエルあるいは淡水魚によってもたらされたと考えられている²²⁾。

北米では、Amphibian Research and Monitoring Initiative が調査を実施している。その結果、2006年 34 の州 110 例の両生類の病性鑑定で、死因の 43%がラナウイルス、16%がカエルツボカビ、10%が原虫であったとしている。さらに、両生類の大量死 19 件の解析によると、ラナウイルス感染症によるものが 16 件 12 の州、12 種類の両生類で確認されたが、これに対して、ツボカビ症は 3 件 3 つの州で 3 種類の両生類のみであったとされている。また、1998 年には、北アメリカの 3 つの州でトラフサンショウウオ Tiger Salamander (*Ambystma tigrinum*) のラナウイルスによる大量死が公表された。この報告によると、同様の大量死は 1983 年より毎年確認され、幼体ばかりの死体が 5,000 ~ 27,000 匹みつかったとされている²³⁾。

オーストラリアでは、野生下両生類へのラナウイルスの影響は、カエルツボカビほど科学的に証明されていないとの報告もあるが、1992 年に FV-3 の近縁種の BIV が、ornate burrowing frog (*Limnodynastes ornatus*) の変態個体から分離された²⁴⁾。クイーンズランドにおける疫学調査の結果、両生類 14 種の急激な減少に BIV が関与していることが示唆されている。実験的に、ornate burrowing frog のオタマジャクシと変態個体、オオヒキガエル giant toad (*Bufo marinus*) のオタマジャクシと変態個体、成体への高い病原性が確認されている。また、White's treefrog (*Pelodryas caerulea*) のオタマジャクシ、northern banjo frog (*Limnodynastes terraereginae*) および

Australian variable treefrog (*Litoria latopalmata*) のオタマジャクシと変態個体に対しても致死性である。なお、BIV はオーストラリア土着のラナウイルスの可能性はある。

アジアでは、1995 年中国で養殖されていた pig frog (*Rana grylio*) に、FV-3 に類似するラナウイルス (RGV) による大量死が起きており²⁵⁾、さらに、2001 年には養殖されていた tiger frog (*Rana tigrine rugulosa*) に、ラナウイルス (TFV) の流行が報告されている²⁶⁾。タイでも、2004 年カンボジアから輸入された観賞魚の餌用カエル (*Rana* spp.) が、係留期間中 50%死亡し、これらからラナウイルスが検出された。詳細な記載はないが、台湾南部で、2007 年 10 月に死亡したウシガエルから、ラナウイルス RCV-TW07 が検出されている。

VIII. 日本初のラナウイルス感染症

2008 年 9 月にウシガエル幼体の大量死として、西日本の 1 箇所の池で発見された²⁷⁾。この池では、2008 年 9 月 10 日頃から、変態途中あるいは変態直後のウシガエルの死体が、1 日に数千匹の単位で観察された。当初、農薬の流入、有毒プランクトンの発生、酸素欠乏、水温上昇などの原因が考えられたが、同じ池に生息する雑魚には著変がなく、成体の死体も発見されず、カエルの幼体のみが発症、死亡していた。

臨床症状としては、沈鬱、不活発で、人が近寄っても逃走しない。半眼、眼瞼の充血、腹部の膨隆(水腫)、皮膚の紅班、点状出血、皮膚潰瘍、削瘦、指端の欠損、尾の脱落などが認められた。その他の肉眼所見として、皮下水腫、体腔水腫、肝臓の腫大が観察された(図 3)。組織学的には、尿細管の硝子滴変性を伴う高度の糸球体壊死が特徴的で(図 4, 5)、さまざまな程度の肝細胞変性と壊死が認められた。また、腎尿細管上皮内と肝細胞内に、好塩基性細胞質内封入体が観察された(図 6)。電顕的には、糸球体の血管内皮と思われる細胞の細胞質内に、対称性で、正二十面体の直径 130nm のラナウイルス様構造物を少数認めた。ラナウイルスの主要カプシド・タンパク質 (MCP) 遺伝子を増幅する特異的プライマー CON²⁸⁾ を用いた PCR 検査により、ラナウイルスに特異的とされる 139bp のバンドを検出し

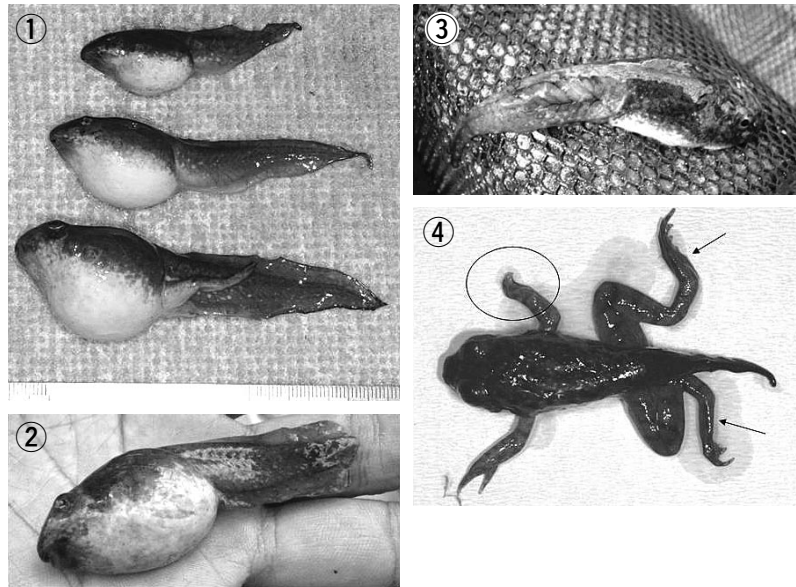


図3 ウシガエルラナウイルス (RCV-JP) 感染症

- ①：オタマジャクシの種々の程度の体腔水腫、②：皮膚の出血、尾の欠損、短縮
 ③：オタマジャクシの皮膚潰瘍、④：変態途中の幼体の左足欠損、両後肢指端短縮、削瘦

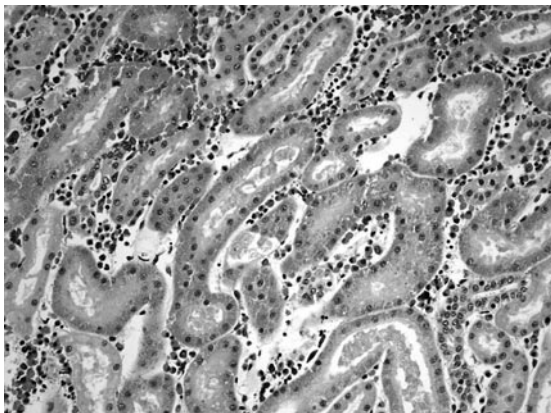


図4 ウシガエルラナウイルス (RCV-JP) 感染症
腎臓病変 尿細管上皮の硝子滴変性 HE 染色

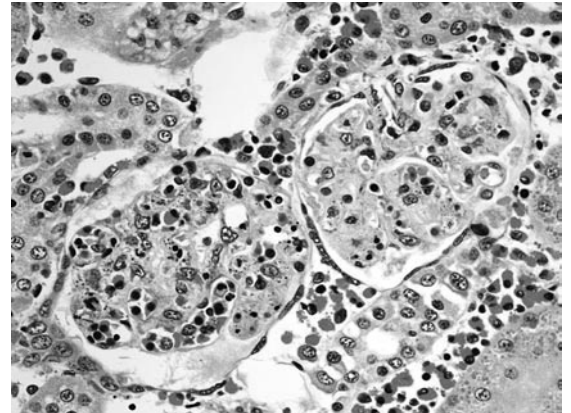


図5 ウシガエルラナウイルス (RCV-JP) 感染症
腎臓病変 糸球体壊死 HE 染色

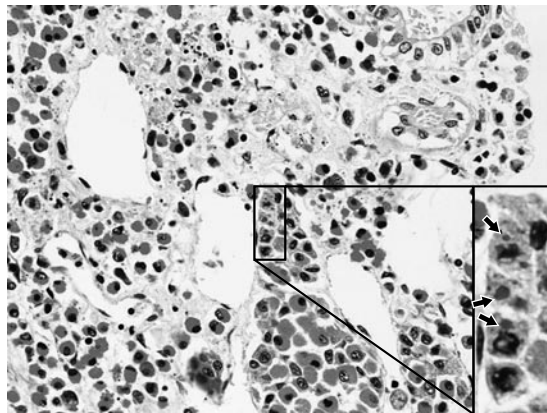


図6 ウシガエルラナウイルス (RCV-JP) 感染症
腎臓病変 腎臓間質造血細胞と未熟尿細管
上皮細胞質内塩基性封入体 (挿入、→) HE 染色

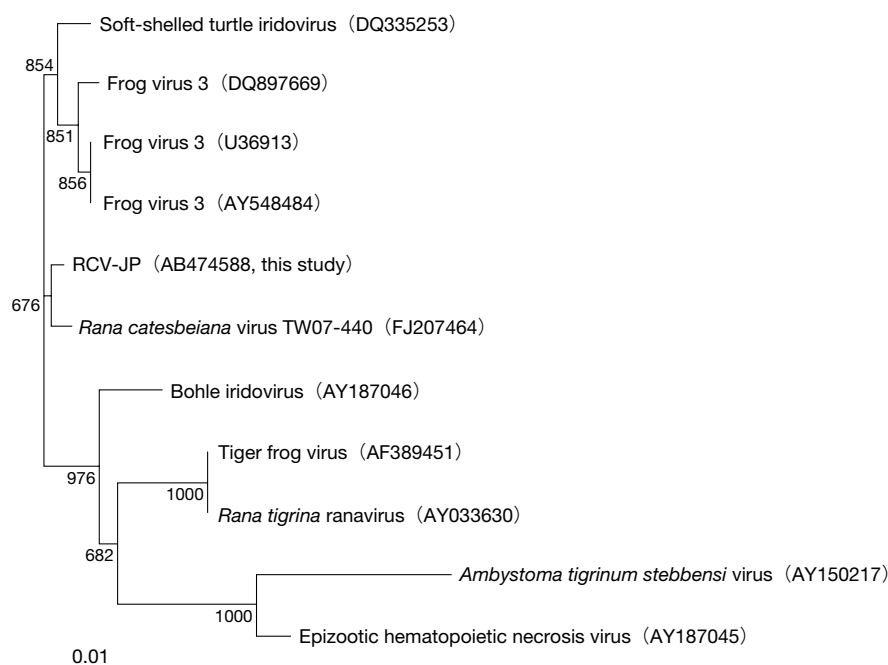


図7 ウイルス主要カプシド部分の塩基配列による系統樹
(麻布大学獣医学部分子生物学研究室村上賢教授提供)
RCV-JPが、今回国内で発見されたラナウイルス。

た。そのPCR産物の塩基配列は、2008年9月に遺伝子登録された台湾のウシガエルのラナウイルス RCV-TW07 (GenBank accession no. FJ207464) と高い相同性を示した。しかし、ウシガエルに死をもたらすとされる tadpole edema virus、*Rana catesbeiana* virus Z (RCV-Z)²⁹⁾ などとは、塩基配列が異なっていた (図7)。

今回、ラナウイルス感染症が流行した池では、例年、野生のウシガエルが産卵していたが、未だかつてこのような大量死は確認されていない。なぜ、2008年9月に突然流行が起きたのかはわからず、また、今回分離されたウイルスの由来も不明なままである。

財務省統計によれば、日本には、台湾から2007年1年間に、ウナギ約1,300tとその他の生きた魚介類が輸入されている。しかしながら、本ウイルスと台湾から輸入される魚介類との関係を明らかにするためには、今後、さらなる疫学調査が欠かせない。

一方で、本ウイルスが日本土着 (固有) のラナウイルスの可能性もあるため、ウシガエルのみならず、在来種を含めた両生類におけるラナウイルスのポピュレーションを明らかにする必要がある。

おわりに

日本には、有尾目 (サンショウウオ、イモリ) 23種、無尾目 (カエル) 35種5亜種、計58種5亜種の両生類が生息している。このうち77.5%が日本固有種である。このように貴重な日本の両生類に対して、ラナウイルスはどのような影響を与えるのか、早急に明らかにし、対策をとる必要がある。

文 献

- 1) Wolf, K., Bullock, G. L., Dunbar, C. E., and Quimby, M. C. Tadpole edema virus: A viscerotropic pathogen for anuran amphibians. *J. Inect. Dis.* **118** : 253-262, 1968.
- 2) Reddacliff, L. A. and Whittington, R. J. Pathology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and redfin perch (*Perca fluviatilis* L.). *J. Comp. Path.* **115** : 103-115, 1996.
- 3) Nakajima K, Kurita J. Red sea bream iridoviral disease. *Virus.* **55** : 115-126, 2005.
- 4) Miller, D. L., Rajeev, S., Gray, M. J. and Baldwin, C. A. Frog virus 3 infection, cultured American bullfrogs. *Emerg. Infect. Dis.* **13** : 342-343, 2007.
- 5) Docherty, D. E., Meteyer, C. U., Wang, J., Mao, J., Case,

- S. T. and Chinchar, V. G. Diagnostic and molecular evaluation of three iridovirus-associated salamander mortality events. *J. Wildl. Dis.* **39** : 556-566, 2003.
- 6) Jancovich, J. K., Davidson, E. W., Morado, J. F., Jacobs, B. L. and Collins, J. P. Isolation of a lethal virus from the endangered tiger salamander *Ambystoma tigrinum stebbinsi*. *Dis. Aquat. Organ.* **31** : 161-167, 1997.
 - 7) Hyatt, A. D., Gould, A. R., Zupanovic, Z., Cunningham, A. A., Hengstberger, S., Whittington, R. J., Coupar, B. E. H. Characterisation of piscine and amphibian iridoviruses. *Arch. Virol.* **145** : 301-331, 2000.
 - 8) Wolf, K., Bullock, G. L., Dunbar, C. E. and Quimby, M. C. Tadpole edema virus : Pathogenesis and growth studies and additional sites of virus infected bullfrog tadpoles. In : Mizell, M. R., ed. Recent Results in Cancer Research Special Supplement, Biology of Amphibian Tumors. New York : Springer-Verlag. p 327-336, 1969.
 - 9) Green, D. E. Pathology of amphibia. In : Wright, K. M., Whitaker, B. R., eds. Amphibian Medicine and Captive Husbandry. Malabar, F. L. : Krieger Publishing Company. p 401-485, 2001.
 - 10) Green, D. E., Converse, K. A. and Schrader, A. K. Epizootiology of sixty-four amphibian morbidity and mortality events in the USA, 1996-2001. *Ann N Y Acad. Sci.* **969** : 323-339, 2002.
 - 11) Marsh, I. B., Whittington, R. J., O' Rourke, B., Hyatt, A. D. and Chisholm, O. Rapid differentiation of Australian, European and American ranavirus based on variation in major capsid protein gene sequence. *Mol. Cell. Probe.* **16** : 137-151. 2002.
 - 12) Johnson, A. J., Wellehan, J. F. X. Amphibian virology. *Vet. Clin. Exot. Anim. Pract.* **8** : 53-65, 2005.
 - 13) Brunner, J. L., Richards, K., Collins, J. P. Dose and host characteristics influence virulence of ranavirus infections. *Oecologia.* **144** : 399-406, 2005.
 - 14) Gould, A. R., Hyatt, A. D., Hengstberger, S. H., Whittington, R. J. and Coupar, B. E. H. A polymerase chain reaction (PCR) to detect epizootic haematopoietic necrosis virus and Bohle iridovirus. *Dis. Aquat. Organ.* **22** : 211-215, 1995.
 - 15) Kattenbelt, J. A., Hyatt, A. D., Gould, A. R. Recovery of ranavirus dsDNA from formalin-fixed archival material. *Dis. Aquat. Organ.* **39** : 151-154, 2000.
 - 16) Mao, J., Green, D. E., Fellers, G. and Chinchar, V. G. Molecular characterization of iridoviruses isolated from sympatric amphibians and fish. *Virus Res.* **63** : 45-52, 1999.
 - 17) Cunningham, A. A., Tems, C. A. and Russell, P. H. Immunohistochemical demonstration of ranavirus antigen in the tissues of infected frogs (*Rana temporaria*) with systemic haemorrhagic or cutaneous ulcerative disease. *J. Comp. Path.* **138** : 3-11, 2008.
 - 18) Daszak, P., Berger, L., Cunningham, A. A., Hyatt, A. D., Green, D. E. and Speare, R. Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerg. Infect. Dis.* **5** : 735-748, 1999.
 - 19) Densmore, C. L. and Green, D. E. Diseases of amphibians. *Ins. Lab. Ani. Res. J.* **48** : 235-254, 2007.
 - 20) Drury, S. E. N., Gough, R. E. and Cunningham, A. A. Isolation of an iridovirus-like agent from common frogs (*Rana temporaria*). *Vet. Rec.* **137** : 72-73, 1995.
 - 21) Cunningham, A. A., Langton, T. E. S., Bennett, P. M., Lewin, J. F., Drury, S. E. N., Gough, R. E. and MacGregor, S. K. Pathological and microbiological findings from incidents of unusual mortality of the common frog (*Rana temporaria*). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Biological Sciences.* **351** : 1539-1557, 1996.
 - 22) Cunningham, A. A., Hyatt, A. D., Russell, P. and Bennett, P. M. Emerging epidemic diseases of frogs in Britain are dependent on the source of ranavirus agent and the route of exposure. *Epidemiol. Infect.* **135** : 1200-1212, 2007.
 - 23) Bollinger, T. K., Mao, J. H., Schock, D., Brigham, R. M. and Chinchar, V. G. Pathology, isolation, and preliminary molecular characterization of a novel iridovirus from tiger salamanders in Saskatchewan. *J. Wildl. Dis.* **35** : 413-429, 1999.
 - 24) Speare, R. and Smith, J. R. An iridovirus-like agent isolated from the ornate burrowing frog *Limnodynastes ornatus* in northern Australia. *Dis. Aquat. Organ.* **14** : 51-57, 1992.
 - 25) Zhang, Q. Y., Xiao, F., Li, Z. Q., Gui, J. F., Mao, J. H. and Chinchar, V. G. Characterization of an iridovirus from the cultured pig frog (*Rana grylio*) with lethal syndrome. *Dis. Aquat. Org.* **48** : 27-36, 2001.
 - 26) He, J. G., Lü, L., Deng, M., He, H. H., Weng, S. P., Wang, X. H., Zhou, S. Y., Long, Q. X., Wang, X. Z. and Chan, S. M. Sequence analysis of the complete genome of an iridovirus isolated from the tiger frog. *Virology.* **292** : 185-197, 2002.
 - 27) Une, Y., Sakuma, A., Matsueda, H., Nakai, K. and Murakami, M. Ranavirus outbreak in North American bullfrogs (*Rana catesbeiana*), Japan, 2008. *Emerg. Infect. Dis.* **15** : 1146-1147, 2009.
 - 28) Pallister, J., Gould, A., Harrison, D., Hyatt, A., Jancovich, J. and Heine, H. Development of real-time PCR assays for the detection and differentiation of Australian and European ranaviruses. *J. Fish Dis.* **30** : 427-438, 2007.
 - 29) Majji, S., LaPatra, S., Long, S. M., Sample, R., Bryan, L., Sinning, A., Chinchar, V. G. *Rana catesbeiana* virus Z (RCV-Z): a novel pathogenic ranavirus. *Dis. Aquat. Organ.* **73** : 1-11, 2006.