

IPN(伝染性臓臓壊死症)に関する研究—I

岐阜県内の発病状況と病原体の分離

田代文男・森川 進

ニジマス (*Salmo gairdnerii*) の稚魚期に発生する IPN (*Infectious Pancreatic Necrosis*¹⁾) は佐野によって1964年に静岡県その外の発病例中の3例に疑いがもたれ、不明病として報告された。その後1970年に Sano²⁾ によってこれらの不明病が IPN と同定された。

岐阜県内における発生の経過は立川らによつて類似の症状が報告され、1966年に組織学的に検討した結果明らかに臓臓の壊死が確認されたが細胞培養法による病原体の分離はできなかった。³⁾

1972年に施設整備によって細胞培養が可能となつたので、本法による病原体の分離と県内の発病の状況について検討したので結果を報告する。

県内の発病状況

1972年1月から同年7月までに発生したマ

ス類の病害例について現地調査ならびに来場検体の検査結果をまとめたのが第1表である。発病の傾向は調査対象の増加により前年に比して増加しているが、特に IPN と疑われる病害が著しく増加している。表中不明とした疑 IPN と培養細胞による検査の結果 IPN と推断した病例は42.1%に達した。本病による被害は発病時の魚体の大きさや環境条件によって異なつたが、累積死亡率は30~100%に及んだ。

症状の分類

岐阜県内に発生した IPN と推断される病例は I・II 型に類別される。

I 型は飼育水温が13~16°Cの湧水地帯で餌付後7~30日目に発病するもので、死亡率がきわめて高く日間死亡率が10%以上に達する場合もあり、累積死亡率は50~100%に及ぶ。

症状は旋回狂奔や腹部突出、外見的には正

第1表 マス類の病害実態調査表

魚種別病例数 病名	ニジマス		アマゴ	
	病例数	発生率%	病例数	発生率%
1. 細菌性鰓病	10	17.6	6	19.3
2. 細菌性疾病	10	17.6	22	71.1
3. 原虫症	2	3.4		
4. (1) + (3)	10	17.6	1	3.2
5. I P N	7	12.3	2	6.4
6. 疑I P N	17	29.8		
7. その他	1	1.7		
合計	57	100	31	100

注1. (2)はビブリオ、せっそう病を含む。

2. (6)はI P Nが疑わしい病例。

常で糞を引くもの、カタール性胃炎、胃や腸に餌が認められず透明な粘液充満等のいわゆる急性症状を示した。⁵⁾

II型は大部分が河川水利用地帯で水温が10°C以上になった時期に発生した。発生時の魚体の大きさは1~5gで日間死亡率はI型に比して低く、累積死亡率も30%以内であった。

症状は旋回、腹部膨出、眼球突出、体色黒化、鰓基部や体表の出血、貧血、腹水貯留、肝臓の白化、幽門垂部の出血等が多く見られ、いわゆる慢性症状であった。⁵⁾

病原体の分離

1. 細胞培養

用いた細胞はRTG-2（ニジマス生殖腺纖維芽細胞）である。この細胞は東京水産大学佐野徳夫助教授が渡米時にWOLFより分株を受けたもので、後長野水指等に分けられ、1972年6月長野水指より当場に分株された。

分株時の継代数は99代で、細胞培養は常法によった。すなわち繁茂状態（Confluent）になった細胞をEDTA（Versen）によつて分散させ、ml当たり約10万個の細胞数になるよう培養液を加えて後、植え継ぎした。培養

液はEagle MEM (G I B C O, F-11) 90%に牛胎児血清 (G I B C O) 10%を加え、更にペニシリン100IU/ml, ストレプトマイシン100mg/mlを添加して後PHを7.2~7.4に調節した。

培養温度は20°Cに保ち、16×150mmのねじ口培養試験管による静置培養によった。

2 接種液の作製

被検体は発病池の生鮮な病魚又は50%PB Sグリセリン液に冷蔵保存した魚体を乳鉢で充分磨碎し、Hank's BSS液を加えて10倍液に調整する。この希釈液を12,000回転で5分間遠沈して上澄液をとり、ミリポアフィルターHA(0.45μ)でろ過して接種液を作製した。

3 培養細胞への接種と病原体の分離

接種液 0.1mlを培養細胞に加えて20°Cで静置培養し、病原体を分離した。病原体の存在有無は細胞の変成(CPE)の現われ方と形状によった。CPEの生じた検体については3代以上継代培養を行って病原体がウィルスであるかどうかの確認をした。

細胞培養の結果

9病例について接種した結果を第2表に示した。いづれの検体も原虫類、細菌の寄生は認められず細胞培養の結果は陽性でCPEが現われた。CPEは写真1,2のようにWOLF⁶⁾

第2表 培養細胞による病原体の分離結果

検体 No.	魚種	発病の状況					RTG-2 之の接種結果(24時間後)
		病魚の体重	飼育用	発病時の水温	症状	累積死亡率(推定)	
1	ニジマス	0.3	湧水	10	I型	50	+
2	"	1.0	河川水	12	II型	30	+
3	"	2.0	"	"	"	"	+
4	"	1.0	"	14	"	<50	+
5	アマゴ	1.2	"	13	"	<10	+
6	ニジマス	1.0	湧水	10	"	不明	+
7	"	0.3	"	12	I型	50<	+
8	"	1.5	河川水	15	II型	20	+
9	アマゴ	5.0	"	17	"	不明	+

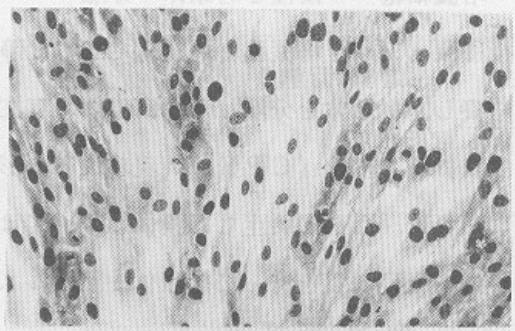


写真1 confluentになった正常なRTG-2細胞
×100

が“Stringy”，Malsbergerが“feethery”と表現しているものと同一の羽毛状であった。

いづれの検体もCPEは24時間後に顕著に現われ核の濃縮、細胞の空胞化が認められ、 $T\text{CID}_{50}$ (Infectivity dosage) の高いことを示した。I型、II型のCPEの形状、出現するまでの時間に差は見られなかった。T

$C\text{ID}_{50}$ の測定は未着手である。

特徴的なことは検体No.5.9のアマゴに明らかにニジマスと同一のCPEが現われたことであった。

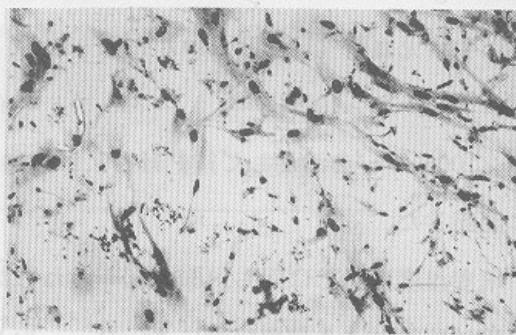


写真2 IPN特有なCPE
(検体No.1, 接種3日後)
×100

产地のウィルス汚染がIPNをひろめたと推定される。

症状については環境条件によって大きく2つに大別され、急性型、慢性型に類別されたが、さらに詳細な検討が必要であり、又ウィルスが同一かいなかについては今後の検討事項である。

本県内に発生したウィルス性病害がIPNであるかどうかは血清学的判定を行わなければならぬが、抗血清の入手が困難であったため、細胞培養によって検討した。培養細胞に現われたCPEからIPNと推断したが、ウイルスの型について血清学的な判定で同定する必要がある。

アマゴに発生したIPN類似症について細胞培養によって病原体が分離され、ニジマスのIPNと同形のCPEが現われた。長野水⁸⁾指によると同県内のアマゴに顕著なIPNが発生したことが知られており、在来マス類にIPNが感染することが報告されていることから、本県内の発病例もIPNと推定される。

今後在来マス類への伝播について充分留意

考 察

1972年1月から7月までに岐阜県内のマス類に発生した病害について調べた結果、IPNの発病頻度が高いことが判った。発病状況を聞き取りによって調べてみると、IPNが増加しはじめたのは一部の養魚場を除いて、1969年～1970年頃からであり、種卵生産地の発病年度と大体一致する。したがって種卵生

する必要がある。

要 約

1. 1972年1月から7月までに岐阜県内のマス類に発生した病害の実態について調査した結果、R T G-2の培養細胞によってIPNと推断される病例が42.1%に達した。
2. 症状は湧水地帯に発生するI型と、河川水地帯に見られるII型に類別された。
3. I型は急性で死亡率が高く、II型は慢性で、I型に比べて死亡率は低いが、魚体の大きなものに発病した。
4. 培養細胞による病原体の分離を試み、9病例いづれもIPN特有のCPEが現われた。のことからIPNと推断した。
5. アマゴにIPN類似の病例が認められた。

文 献

- 1) 佐野徳夫 ; 1966 ; ニジマス稚魚の疾病, 魚病研究, 1(1), pp37~46
- 2) SANO T, 1971 ; Studies of Viral Disease of Japanease Fishes.
Bull Jap. Soc. Sci. Fish. 31(6)
pp 495~498
- 3) 立川 亘・本荘鉄夫・家坂剛正, 1965 ; ニジマス春稚魚の疾病について, 岐水試研報No.11, pp100~101

4) 家坂剛正, 1966 ; ニジマス春稚魚の疾病

について…III, 岐水試研報No.13,

pp61~65.

5) 長野水脂, 1971 ; 昭和46年水産庁指定研

究「病害研究」中間報告書。

6) WOLF K. and P. E. VESTERGARD

Jørgensen, 1970 ; Double Infection of R T G-2 Cells with Egtved and Infectious Pancreatic Necrosis Viruses,

Archiv für die gesamte Virusforschung 29, pp 337~342

7) MALSBERGER R. G. C. P. CERINI, 1963 ;

Characteristics of Infectious Pancreatic Necrosis Virus, J. Bacteriol, 86 pp1283~1286.

8) 長野水指・1972 ; 昭和47年度水産庁指定研究「病害研究」中間報告書。

9) 佐野徳夫・1972 ; ニジマス稚魚のIPNに関する基礎研究, 魚病研究 6 (2), pp 109~116.