

養鰻における疾病の早期検知技術の開発

高村 一成・隅川 和・高月 明

1 目的

本県ではウナギ養殖が盛んに行われており、その産業規模は年間生産量 300～600 トン、年間生産金額 10～20 億円と、本県における重要な産業となっている。しかし、疾病によるへい死被害が大きな問題となっており、2019 年から 2023 年の県内養鰻業における魚病による年間平均被害金額は約 4 千万円にものぼる。ウナギ養殖で被害をもたらす疾病はウイルス病、細菌病、寄生虫病の 3 種に大別されるが、県内ではこのうち、ウイルス病の 1 種である「ウイルス性血管内皮壊死症 (Viral endothelial cell necrosis of eel (以下、「VECNE」という。))」の被害が一定数を占めており、当該疾病による年間平均被害金額は約 1 千万円となっている (図 1)。

本病は Japanese eel endothelial cells-infecting virus (以下、JEECV) と呼ばれるウイルスを原因とした疾病で、ウナギ以外の魚種での発生は確認されていない。(小川ら, 2022)。本ウイルスは血管の内面を覆う内皮細胞を選択的に侵し、本病に罹患したウナギには鰓弁の中心静脈洞内への多量の血液の流入によるうっ血症状や、鰓蓋や鰭の発赤、腹腔内出血などの症状が見られる (小川ら, 2022)。過去の感染試験においては、へい死率が約 2 週間で 75%に達し (小川ほか, 2022)、致死率の高い疾病と言える。処置方法としては、35℃への昇温や給餌制限が有効であるとされている (田中ら, 2008) が、本病の感染拡大速度は非常に早く、飼育魚のへい死発生を確認した段階では既に飼育池全体に感染が拡大しており、前述の処置実施後もへい死被害が一定期間継続するケースが多い。飼育池内における疾病の感染拡大については、初期に感染した個体の放出する病原体が飼育水を介して他の個体に感染することで飼育池全体に蔓延していくと考えられ、へい死が発生する前段階で飼育水中の病原体が増加すると推察される。そのため、飼育池中のウイルス量の増加を判断基準として疾病の発生を早期に検知できる可能性がある。

本研究では、本県のウナギ養殖においてへい死被害の大きい VECNE の被害抑制を目的として、qPCR を用いた飼育池の飼育水からの原因ウイルス JEECV の定量検出による本病の早期検知技術の開発及び検証を実施した。また、本試験と併せ、分養による感染拡大リスクの解明を目的とした感染試験及び拭き取り検査キットを用いた養殖場内における JEECV 汚染状況の調査を実施した。

2 材料と方法

(1) qPCR を用いた飼育池の飼育水からの原因ウイルス JEECV の定量検出

県内養鰻業者のうち、令和 6 年度に VECNE の発生が見られた A 業者及び B 業者の 2 業者をモニタリング対象とした。いずれの業者も年間通じて水温を約 30℃に加温して養殖を行う周年加温形式である。各業者の飼育池のうち、令和 6 年度に VECNE の発生池が確認された 1 池をモニタリング対象とした。モニタリング期間については、A 業者は 2025 年 6 月から 7 月までを、B 業者は 2025 年 6 月から 10 月を対象とした。これらの飼育池において、1 週間から 1 ヶ月に 1 回の頻度で飼育水 200mL を採水し、-20℃で 24 時間以上凍結保存した。当該飼育水サンプルは冷

凍状態で当所へ持ち帰り、解凍後、水産研究・教育機構 水産技術研究所 養殖部門 病理部ら（2024）の手法に従って、鉄凝集法によりウイルス粒子をフィルター濾過濃縮し、当該フィルターから DNA を抽出後、qPCR に供した。また、水質条件を早期検知の指標とすることを検討するため、飼育水サンプルの一部はポータブル中濃度アンモニア態窒素測定器 HI-97715（HANNA instruments）及びポータブル低濃度亜硝酸態窒素測定器 HI-97707（HANNA instruments）を用いて、飼育水中のアンモニア態窒素量及び亜硝酸態窒素量を測定した。

また、水温データロガー TidbitV2（Onset 社）を用い、各飼育池の 1 日ごとの水温の推移を測定した。

（2）分養による感染拡大リスクの解明を目的とした感染試験

養鰻業においては、飼育魚の成長に伴う飼育密度の増加を防ぐために、一定期間ごとに魚体重別に飼育池を分散させる作業を行う。このとき、各飼育池の成長の遅い飼育群は総魚体重が少ないことから、複数の飼育池の飼育魚を同一の飼育池に池入れして飼育する場合がほとんどである。この一連の作業を「分養」という。しかし、池入れして一定期間が経過した後に、当該飼育池で疾病が発生する事例が多い。これは各飼育群で疾病への感染歴が異なっており、既感染魚が保有していた病原体が未感染魚へ感染したことで疾病が発生したと考えられた。実際に県内養鰻場においては、VECNE の発症歴がある飼育群と発症歴がない飼育群を同一の飼育池に池入れした後、本病が発生し、飼育魚が大量へい死した事例が確認されている。

そこで、VECNE 収束後の飼育池の生存魚（既感染群）と、その他の飼育池の魚（未感染群）を用いた同居感染試験を行うことで、既感染群から未感染群への JEICV 感染拡大の可能性を検証し、分養を行った際の感染拡大リスクの解明を試みた。

1) 供試魚

供試魚は県内養鰻業者から入手した魚体重 200～250g/尾のニホンウナギを用いた。既感染群については、VECNE の発生歴がある飼育池から、未感染群については、未発病の飼育池からそれぞれ入手した。

2) 試験区及び飼育条件

試験区は、同居区（既感染群 10 尾＋未感染群 10 尾）及び未感染群単独区（20 尾）の 2 区とし、1 区あたり 500L パンライト水槽に 20 尾を収容した。

各飼育池の飼育水容量は 200L で、5 時間で飼育水が 1 回転する微換水条件とした。また、飼育水の水温はヒーターで 28℃に維持し、十分なエアレーションによって一定の溶存酸素量が保持されるようにした。飼育期間中はおとひめ（日清丸紅飼料株式会社）を給餌率 2 % で毎日 4 回に分けて給餌した。

3) 供試魚及び飼育水の分析

供試魚については、へい死個体は取り上げ後、実体顕微鏡による鰓組織の観察を行い、同部位から DNeasy Blood & Tissue Kit を用いて DNA を抽出し、水産研究・教育機構 水産技術

研究所 養殖部門 病理部ら（2024）の手法に従って qPCR を行った。

また、飼育水については、試験開始 0 日目から試験終了日まで、1 ～ 2 日に 1 回の頻度でオーバーフロー排水を 100mL 採水し、前述と同様の手法で DNA を抽出した。

（３）養殖場内における JEECV 汚染状況の解明

疾病が発生した養殖場においては、施設内の設備や器具類等から病原体の遺伝子が検出された事例が複数報告されている（石川ら, 2021 ; Kawato et al., 2023）。これは疾病によるへい死魚を取り扱った作業員が施設内を移動することにより、手足等に付着した病原体が施設内に拡散されたと考えられている。これにより、未発生の飼育池に病原体が侵入し、感染拡大を引き起こす危険性がある。また、JEECV のようなウイルスについては、酸素曝気用の水車の飛沫によって周辺の飼育池へ侵入する可能性も考えられる。

そこで、（１）でモニタリング対象とした養殖池を調査対象として、拭き取り検査用スワブ ファインチェック（アズワン）を用いて、施設内において作業員の手が触れる頻度が高い設備や器具類を拭き取り、付着物から DNeasy Blood & Tissue Kit を用いて DNA を抽出し、水産研究・教育機構 水産技術研究所 養殖部門 病理部ら（2024）の手法に従って qPCR を行うことにより、当該箇所における JEECV 遺伝子の有無を調査した。

3 結果及び考察

（１）qPCR を用いた飼育池の飼育水からの原因ウイルス JEECV の定量検出

モニタリングを実施した A 及び B 業者の各飼育池における水温の推移は図 2、6、JEECV 遺伝子量の推移は図 3、7、各飼育池のアンモニア態窒素量及び亜硝酸態窒素量の推移は図 4、5、8、9 のとおりであった。

1) A 業者

A 業者の No. 3 池については、モニタリング開始前の 1 月 28 日に VECNE が疑われるへい死魚が 10 尾/日確認されたため、当センターで魚病診断を行ったところ、VECNE の発生を確認した。本モニタリング開始の 6 月時点で VECNE の発生確認から 4 ヶ月経過したにもかかわらず、7 月中旬まで JEECV 遺伝子量が $10^2 \sim 10^3$ copies/mL 検出された。理由としては、軽症で治癒した個体や未発症個体がウイルスキャリアーとなって生存し、長期間 JEECV が飼育水中に排出され続けたためであると考えられた。

水温については、24～32℃の間で推移し、JEECV 遺伝子量との関連性は見られなかった。

モニタリング期間中にアンモニア態窒素量は 0.4～1.60mg/L、亜硝酸態窒素量については、86～120 μ g/L の範囲で推移し、期間中を通じてアンモニア態窒素と亜硝酸態窒素量には連動した変動が見られた。JEECV 遺伝子量の推移との関連性は特に見られなかった。

2) B 業者

B 業者の No. 8 池については、2024 年 11 月中旬のへい死尾数の急増後、11 月 29 日にへい死魚を用いて魚病診断を実施したところ、VECNE の発生が確認され、以降 2025 年の飼育期間を通じて VECNE の症状が見られる数尾～数十尾/日のへい死が確認されていたことから、へい死尾数の急増は見られていなかったものの、VECNE は継続して発生していたと考えられた。

No. 8 池の JEECV 遺伝子量は 6 月 25 日から 7 月 2 日まで $1.8 \sim 2.0 \times 10^3$ copies/mL が検出された後、7 月 10 日から 7 月 31 日まで未検出の期間を経た後 8 月 17 日に 3.48×10^3 copies/mL が検出され、9 月 10 日に 1.60×10^2 copies/mL まで増加した。調査期間中のへい死尾数は数尾～十数尾/日であった。なお No. 8 池の VECNE 発生の原因としては、内外で養殖されていた既感染個体の池入れにより JEECV が持ち込まれた可能性が高いと考えられている（中城, 2025）。

水温と JEECV 遺伝子量の推移を比較すると、 34°C 以上の高水温が確認された 7 月末に JEECV 遺伝子が検出されなかった期間があったことから、高水温によりウイルス活性が低下し、既感染群から飼育水へ排出される JEECV が減少したと考えられた。この結果は既報にも合致しており（Umeda et al. 2024）昨年度モニタリング時も同様の傾向が見られた（中城, 2025）。

アンモニア態窒素量についてはモニタリング期間中に $0.07 \sim 0.30 \text{ mg/L}$ の範囲で増減を繰り返す傾向が見られた。また、亜硝酸態窒素量については、 $37 \sim 61 \mu\text{g/L}$ の範囲で増減を繰り返し、期間中を通じて緩やかに減少する傾向が見られた。JEECV 遺伝子量の推移と比較すると、特に関連性は見られなかった。

（２）分養による感染拡大リスクの解明を目的とした感染試験

同居感染試験は 2025 年 5 月 22 日から 7 月 4 日まで実施した。

試験期間中、試験区においてへい死魚が 1 尾発生したがへい死魚の鰓組織を用いた qPCR により VECNE によるへい死ではないことが確認された。また、飼育水中の JEECV 遺伝子も試験期間中を通じて検出されなかった。試験終了後に供試魚を全て取り上げ、体表や鰓、内臓の症状を目視で確認したが、いずれの個体にも VECNE に見られる鰓蓋や鰭の発赤、鰓弁中心洞のうっ血、腹腔内の出血などの症状は見られなかった。また、鰓組織を qPCR に供したところ、いずれの個体にも JEECV 遺伝子が検出されなかった。

同居感染試験では、既感染群から未感染群へのウイルス感染及び発症は確認されなかった。既報では既感染群から未感染群への水平感染が成立しており（Umeda et al., 2024）、今回の試験で感染が成立しなかった原因としては、既感染群が保有するウイルス量の減耗及び感染力の低下、飼育環境が考えられた。

本試験では既感染群として、B 業者の VECNE 発生が見られた飼育池（No. 8 池）の個体を 5 月 15 日に池上げ後 5 月 22 日に当センターへ搬入して供試したが、No. 8 池においては当所へ搬入以降も VECNE によるものと思われる症状のへい死は継続して確認されていた。一方で、感染が初めて確認されてから半年以上が経過しており、供試した個体が保有しているウイルス量が減少していた可能性は考えられる。

また、中城（2025）は感染が成立しない要因として摂餌環境を指摘している。JEECV に感染したウナギは増殖したウイルスによって鰓組織に障害を受けている状態であり、摂餌によって酸素要求量が増えることで鰓呼吸の負担が大きくなり、へい死するリスクが高まることが報告されていることから、摂餌を抑えると感染リスクも減少すると考えられる。そこで、本試験では覆いにより飼育池内の光量を低減し、ウナギの摂餌が活発な夜間の環境に近づけた。しかしながら感染は成立しなかったことから、ウイルスによる感染のリスクが鰓呼吸の負担よりも小さかったと考えられる。また、試験期間を昨年度より長期間に設定したことも試験中の魚体内

のウイルス量減耗に寄与した可能性がある。

この結果は一定の条件を満たせば、既感染群と未感染群を同居させた場合でも水平感染が成立しない場合があることを示唆しており、その条件が明らかになれば分養による感染拡大リスクを低減できる可能性が考えられる。

水平感染が成立した既報 (Umeda et al., 2024) における飼育条件と本試験における飼育条件を比較すると、ウナギの飼育密度、換水条件、感染方法に違いがある。既報では飼育水 20L にウナギ 6 尾を飼育しているのに対し、本試験では飼育水 200L にウナギ 20 尾を飼育しており、飼育密度は 3 分の 1 である。また、換水速度は既報では 0.1L/分、本試験では 0.67L/分 (200L/5 時間) と本試験の方が速い。ただし、本試験の方が水の容量が大きいため、全換水にかかる時間は既報が 3 時間 20 分程と短い。感染方法は、既報では感染魚から抽出したウイルスを水槽に投入しているのに対し、本試験では発症が認められた飼育池のウナギを無作為に抽出し、未感染群と同居させている。

よって、本試験では水質 (溶存酸素)、換水率及び飼育密度が感染成立に適した条件でなかった可能性が考えられる。

(3) 養殖場内における JEECV 汚染状況の解明

拭き取り検査を実施した箇所は表 1 のとおりである。今年度の調査ではいずれの業者においても JEECV 遺伝子は検出されなかった。

謝辞

昨年度本研究の開始にあたり、多大な情報、助言をいただきました、国立研究開発法人 水産研究・教育機構 水産技術研究所 病理部の梅田剛佑研究員に深く御礼申し上げます。

引用文献

- 小川和夫・佐野元彦・横山博・倉田修 (監修) : ウイルス性血管内皮壊死症 (鰓うっ血症) . 新魚病図鑑第 3 版, 緑書房, 2022, 78.
- 田中眞・佐藤孝幸・馬文君・小野信一 (2008) ウイルス性血管内皮壊死症に対する昇温処理および無給餌の効果. 魚病研究, 43 (2), 79-82.
- 水産研究・教育機構 水産技術研究所 養殖部門 病理部・静岡県水産・海洋技術研究所 (2024) 農林水産省戦略的プロジェクト研究推進事業「国内主要養殖魚の重要疾病のリスク管理技術の開発」成果普及資料, 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
- 石川孝典・西村友宏・野中信吾・森 竜也・小原明香・小堀功男・久保田仁志・和田新平・佐野元彦 (2021) : 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「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」ー天然水域における PaPV 動態調査 2ー. 栃木県水産試験場研究報告, 65, 9-10.
- Y. Kawato, Y. Takada, K. Mizuno, S. Harakawa, Y. Yoshihara, Y. Nakagawa, T. Kurobe, H. Kawakami, T. Ito (2023) Assessing the transmission risk of red sea bream

iridovirus (RSIV) in environmental water: insights from fish farms and experimental settings. Microbiology Spectrum, 11, 5.

K. Umeda, T. Takano, S. Okazaki-Terashima, Y. Matsuura, Y. Kawato, T. Matsuyama (2024) Experimental Waterborne Infection of Japanese Eel Endothelial Cells-Infecting Virus (JEECV) and the Effects of Water Temperature on Infection. Fish Pathology, 59 (1), 17-24

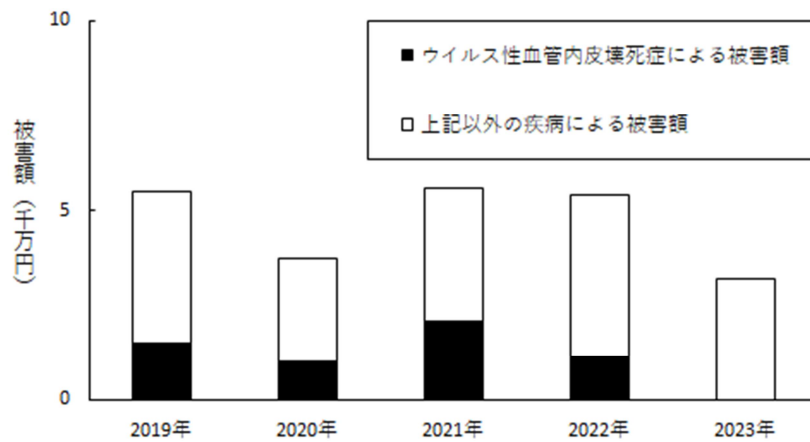


図1 平成31年（令和元年）から令和5年の県内養鰻業における魚病による被害金額とウイルス性血管内皮壊死症による被害額

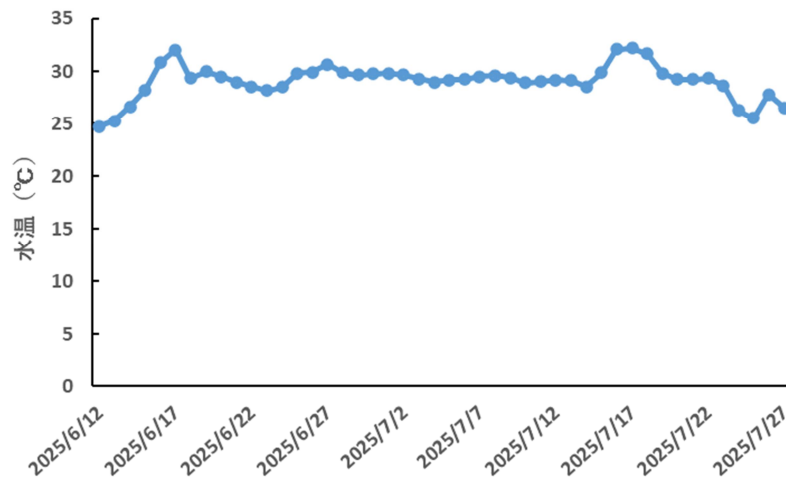


図2 A業者No. 3池における水温の推移

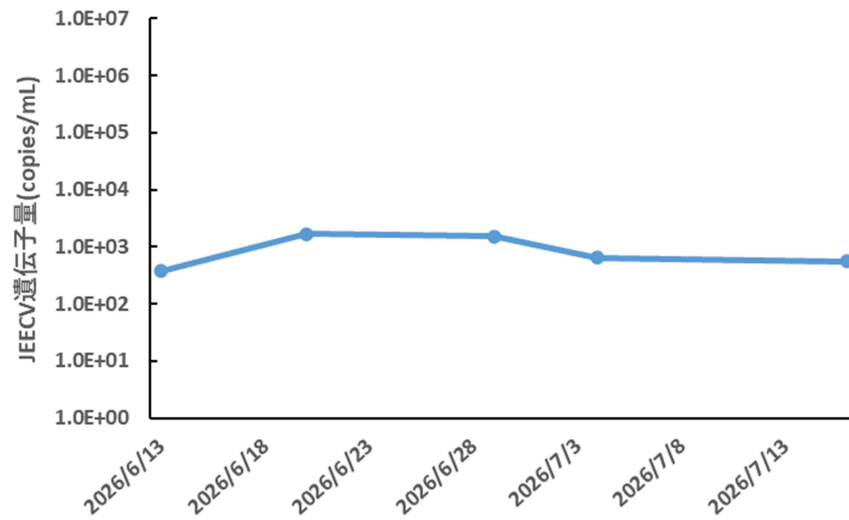


図 3 A 業者 No. 3 池における飼育水中の JEECV 遺伝子量推移

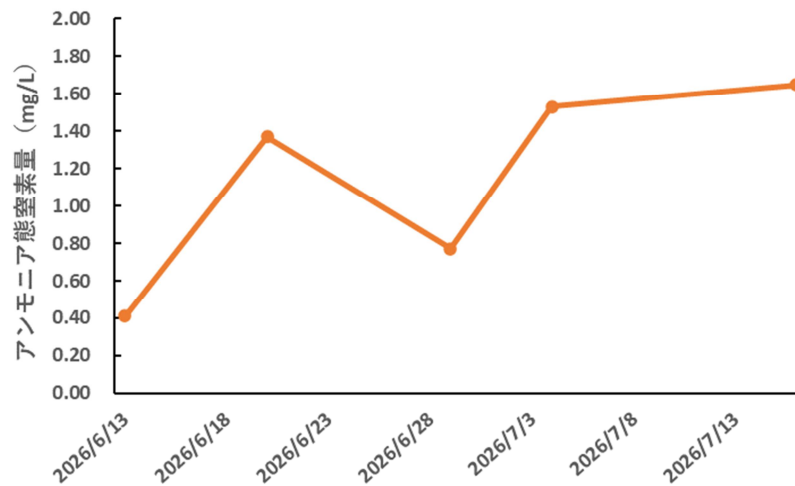


図 4 A 業者 No. 3 池における飼育水中のアンモニア態窒素量推移

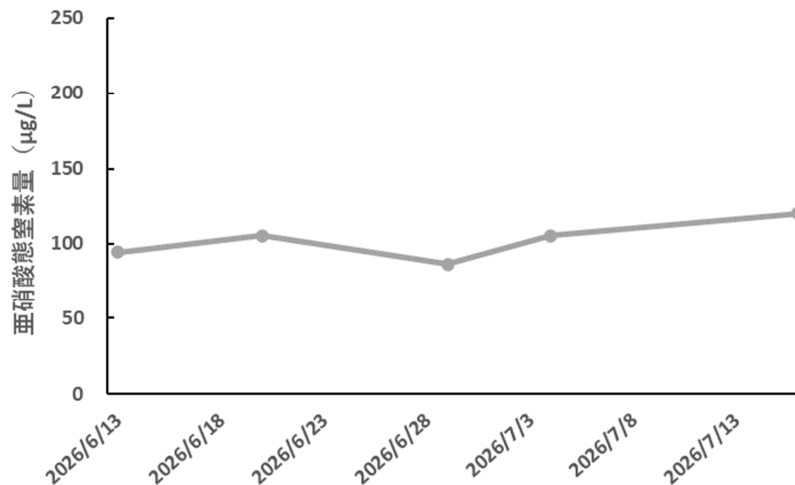


図 5 A 業者 No. 3 池における飼育水中の亜硝酸態窒素量推移

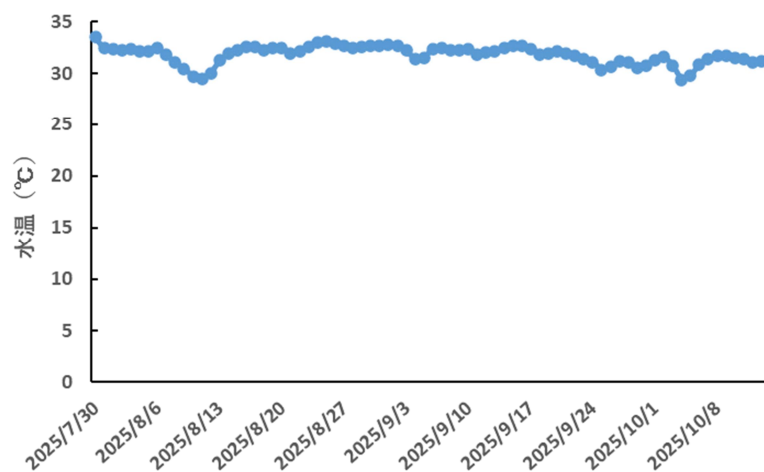


図6 B 業者 No. 8 池における水温の推移

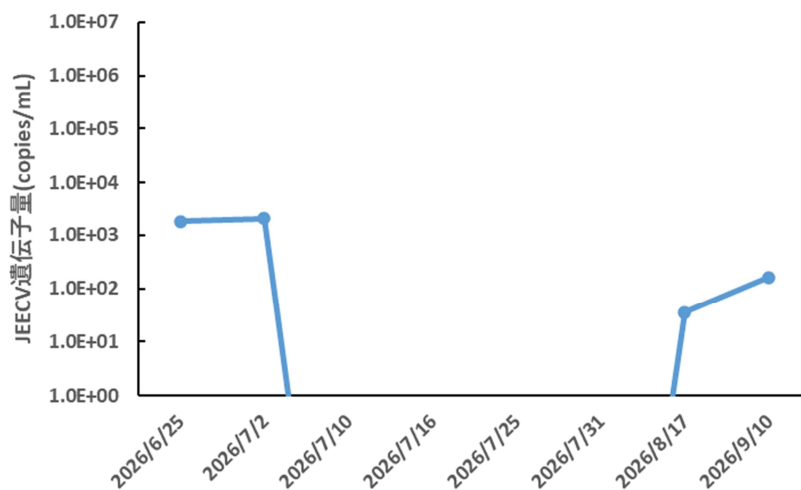


図7 B 業者 No. 8 池における飼育水中の JEECV 遺伝子量の推移

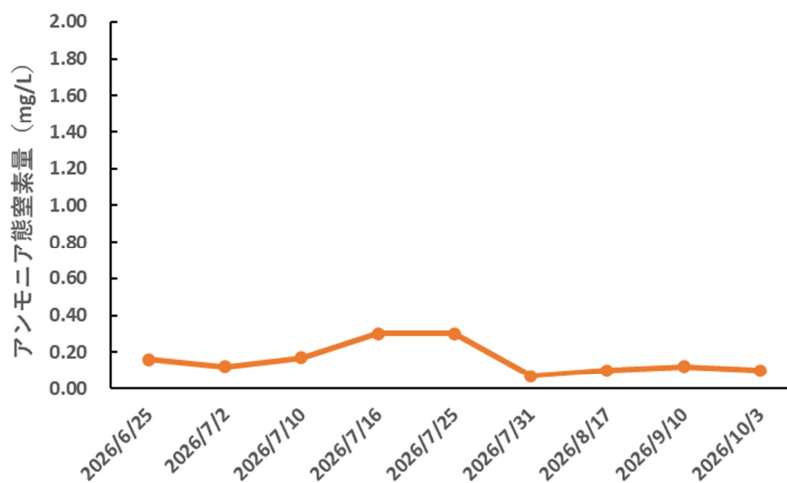


図8 B 業者のモニタリング対象池における飼育水中のアンモニア態窒素量推移

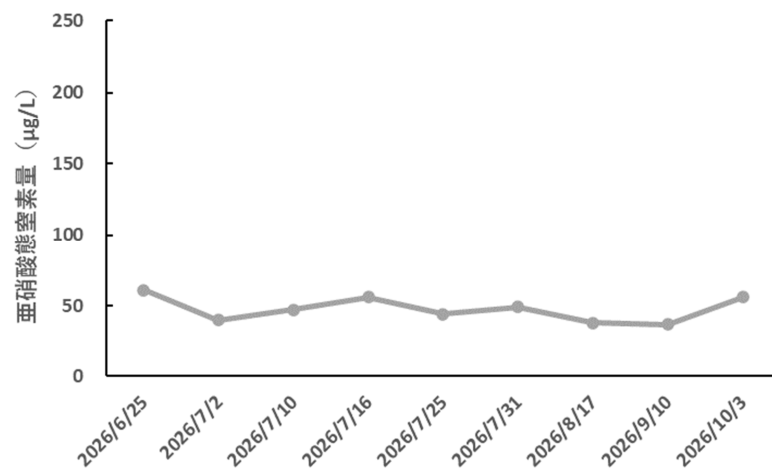


図9 B業者のモニタリング対象池における飼育水中の亜硝酸態窒素量推移

表1 拭き取り検査対象箇所

業者名	採取日	拭き取り箇所
A業者	2025/7/17	餌配分用ト口船内側
A業者	2025/7/17	餌配分用ト口船外側
A業者	2025/7/17	No.3池入口戸板
A業者	2025/7/17	No.3池タモ網持ち手
A業者	2025/7/17	No.3池タモ網網地
A業者	2025/7/17	No.3池内壁
B業者	2025/7/18	飼育棟入口取手（外）
B業者	2025/7/18	飼育棟入口取手（内）
B業者	2025/7/18	No.8池入口仕切
B業者	2025/7/18	No.8池タモ網持ち手
B業者	2025/7/18	No.8池タモ網網地
B業者	2025/7/18	No.8池内壁
A業者	2025/8/12	餌配分用ト口船内側
A業者	2025/8/12	餌配分用ト口船外側
A業者	2025/8/12	No.3池入口戸板
A業者	2025/8/12	No.3池タモ網持ち手
A業者	2025/8/12	No.3池タモ網網地
A業者	2025/8/12	No.3池内壁
B業者	2025/8/13	飼育棟入口取手（外）
B業者	2025/8/13	飼育棟入口取手（内）
B業者	2025/8/13	No.8池入口仕切
B業者	2025/8/13	No.8池タモ網持ち手
B業者	2025/8/13	No.8池タモ網網地
B業者	2025/8/13	No.8池内壁