

霞ヶ浦・北浦における天然コイのコイヘルペスウイルス病の感染状況

荒井 将人・野内 孝則・高島 葉二*

A Survey of Koi Herpesvirus (KHV) in the Wild Carp of Lake Kasumigaura and Kitaura

Masahito Arai, Takanori Yanai and Yoji Takashima *

Key words : Carp, Koi Herpesvirus, KHV, Kasumigaura, Kitaura

1. はじめに

2003年10月に霞ヶ浦北浦において発生した養殖コイのへい死は、霞ヶ浦北浦の網いけす養殖業に甚大な被害をもたらした。その後の研究により、このコイのへい死はコイヘルペスウイルス（以下「KHV」という）病によるものと診断された（Sanoら、2004）。本疾病は「持続的養殖生産確保法」の「特定疾病」に指定されており、病気のまん延防止の措置を講じなければならない。このため、霞ヶ浦北浦の網いけすで養殖されていたコイは2004年1月20日から3月30日までに全て処分された（高島ら、2004）。

本疾病は1998年にイスラエル及び米国の養殖コイ及びニシキゴイにおいて初めて確認された疾病（Hedrickら、2000）であり、また、日本には未侵入とされていたため（網田ら、2002）、その研究は立ち後れていた。こ

のため、霞ヶ浦北浦の養殖コイの大量死以前に天然水域でKHV病が発生していたにもかかわらずKHV病と診断されず、後日KHV病が判明する事例があった（水戸ら、2004）。また、天然水域におけるKHV病の発生事例は、霞ヶ浦北浦の発生事例（高島ら、2004）まで知られておらず、天然水域（湖内）でのKHVの消長や発生状況、天然コイ資源に対する影響を明らかにするため、2004年2月から2005年3月まで約1年間に渡り、霞ヶ浦北浦の天然コイにおけるKHV病の感染状況調査を行った。この結果、若干の知見を得たので報告する。

2. 方法

2004年2月から2005年3月までの期間、当該が霞ヶ浦2箇所、北浦2箇所定期的に実施している張網調査（小型定置網、茨城県、1995）で採捕されたコイのうち

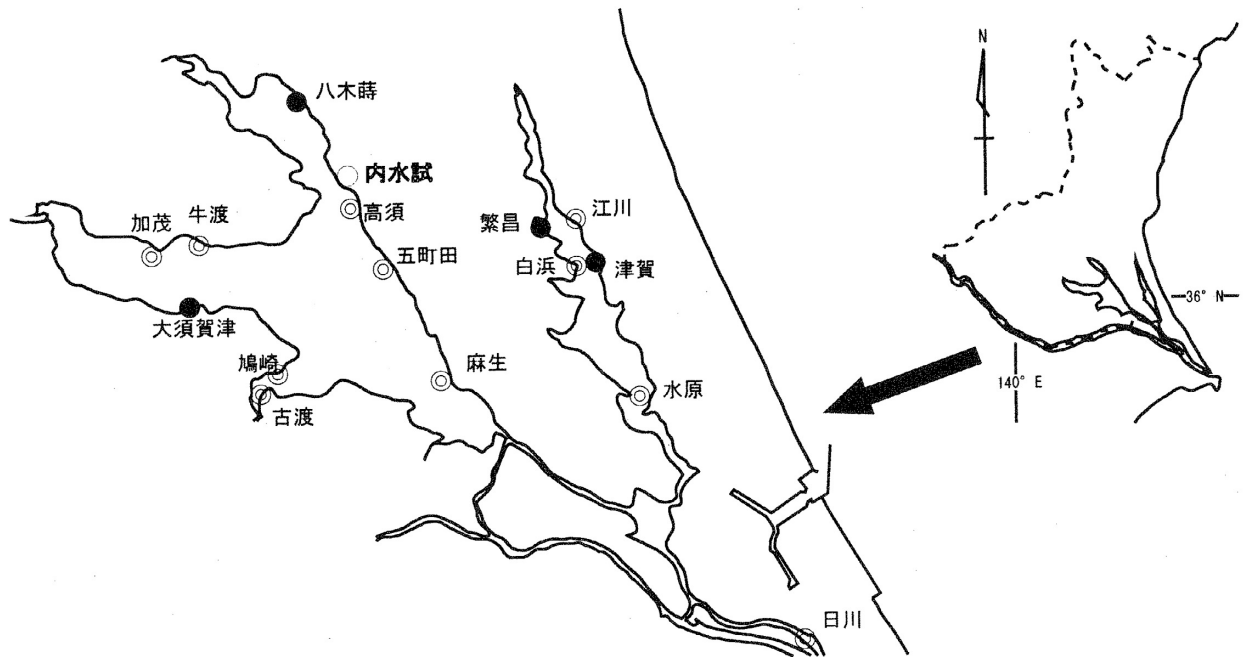


図1 調査地点 (● : 張網調査, ○ : その他の調査)

* 現在、茨城県水産試験場

表1 霞ヶ浦北浦天然コイのPCR検査結果

2004年(2~8月)

| 採集月日 | 水域 | 採集場所 (市町村) | 採集方法 | 検査 個体数 | PCR検査結果 | |
|-----------|-------|---------------|------|-----------|---------|----|
| | | | | | 陽性 | 陰性 |
| 2004/2/9 | 霞ヶ浦 | 麻生町麻生 | 張網 | 1 | 1 | |
| 2004/2/19 | 霞ヶ浦 | 霞ヶ浦町加茂 | 夕毛網 | 5 | 1 | 4 |
| 2004/2/27 | 常陸利根川 | 神栖町日川 | さし網 | 8 | | 8 |
| 2004/3/16 | 霞ヶ浦 | 桜川村古渡 | 張網 | 5 | | 5 |
| 2004/3/19 | 霞ヶ浦 | 美浦村大須賀津 | 張網 | 2 | | 2 |
| 2004/3/19 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 5 | | 5 |
| 2004/3/26 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 7 | | 7 |
| 2004/4/8 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 4 | | 4 |
| 2004/4/12 | 霞ヶ浦 | 美浦村大須賀津 | 張網 | 1 | | 1 |
| 2004/4/14 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 5 | | 5 |
| 2004/4/14 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | 張網 | 5 | | 5 |
| 2004/4/21 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 5 | | 5 |
| 2004/4/26 | 霞ヶ浦 | 桜川村古渡 | 張網 | 5 | | 5 |
| 2004/5/10 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | 張網 | 1 | | 1 |
| 2004/5/10 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 2 | | 2 |
| 2004/5/10 | 常陸利根川 | 神栖町日川 | さし網 | 3 | | 3 |
| 2004/5/11 | 霞ヶ浦 | 霞ヶ浦町牛渡 | 衰弱 | 1 | | 1 |
| 2004/5/13 | 霞ヶ浦 | 美浦村大須賀津 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/5/14 | 霞ヶ浦 | 霞ヶ浦町牛渡 | へい死 | 1 | 1 | |
| 2004/5/14 | 北浦 | 大洋村江川 | 横ひき | 3 | | 3 |
| 2004/5/26 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 3 | | 3 |
| 2004/5/28 | 霞ヶ浦 | 麻生町五町田 | 横ひき | 1 | | 1 |
| 2004/5/28 | 霞ヶ浦 | 江戸崎町鳩崎 | へい死 | 1 | | 1 |
| 2004/5/28 | 霞ヶ浦 | 霞ヶ浦町牛渡 | へい死 | 1 | 1 | |
| 2004/6/4 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/6/7 | 霞ヶ浦 | 美浦村大須賀津 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/6/9 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 3 | 1 | 2 |
| 2004/6/24 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 1 | | 1 |
| 2004/6/25 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 2 | 2 | |
| 2004/7/5 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 3 | 2 | 1 |
| 2004/7/7 | 常陸利根川 | 神栖町日川 | さし網 | 3 | 2 | 1 |
| 2004/7/7 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 3 | | 3 |
| 2004/7/12 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 4 | 3 | 1 |
| 2004/7/16 | 北浦 | 大洋村江川 | 横ひき | 2 | | 2 |
| 2004/7/21 | 北浦 | 麻生町白浜 | トロール | 1 | | 1 |
| 2004/8/2 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/8/6 | 霞ヶ浦 | 美浦村大須賀津 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/8/10 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/8/11 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 3 | | 3 |
| 2004/8/11 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 3 | | 3 |

2004年(9~12月)

| 採集月日 | 水域 | 採集場所 (市町村) | 採集方法 | 検査 個体数 | PCR検査結果 | |
|------------|-------|---------------|------|-----------|---------|-----|
| | | | | | 陽性 | 陰性 |
| 2004/9/1 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/9/2 | 霞ヶ浦 | 霞ヶ浦町志戸崎 | トロール | 3 | | 3 |
| 2004/9/6 | 常陸利根川 | 神栖町日川 | さし網 | 3 | | 3 |
| 2004/9/13 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/9/22 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/10/8 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/10/22 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | トロール | 3 | | 3 |
| 2004/10/28 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | 張網 | 3 | 1 | 2 |
| 2004/10/28 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | トロール | 2 | | 2 |
| 2004/11/5 | 常陸利根川 | 神栖町日川 | さし網 | 3 | | 3 |
| 2004/11/5 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 2 | | 2 |
| 2004/11/15 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 3 | 3 | |
| 2004/11/24 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | 張網 | 24 | 8 | 16 |
| 2004/11/25 | 霞ヶ浦 | 霞ヶ浦町志戸崎 | トロール | 6 | | 6 |
| 2004/11/26 | 霞ヶ浦 | 美浦村大須賀津 | 張網 | 2 | | 2 |
| 2004/12/1 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 1 | | 1 |
| 2004/12/6 | 北浦 | 大洋村江川 | トロール | 10 | | 10 |
| 2004/12/14 | 北浦 | 鹿嶋市津賀 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2004/12/24 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 1 | | 1 |
| 2004/12/27 | 霞ヶ浦 | 玉造町甲 | 衰弱 | 1 | | 1 |
| 計 | | | | 203 | 26 | 177 |

2005年(1~3月)

| 採集月日 | 水域 | 採集場所 (市町村) | 採集方法 | 検査 個体数 | PCR検査結果 | |
|-----------|-----|---------------|------|-----------|---------|----|
| | | | | | 陽性 | 陰性 |
| 2005/1/11 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2005/1/12 | 北浦 | 北浦町繁昌 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2005/1/18 | 霞ヶ浦 | 美浦村大須賀津 | 張網 | 2 | | 2 |
| 2005/1/19 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 1 | | 1 |
| 2005/3/16 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 2 | | 2 |
| 2005/3/24 | 霞ヶ浦 | 玉造町八木蒔 | 張網 | 3 | | 3 |
| 2005/3/30 | 霞ヶ浦 | 玉造町高須 | さし網 | 1 | | 1 |
| 計 | | | | 15 | 0 | 15 |

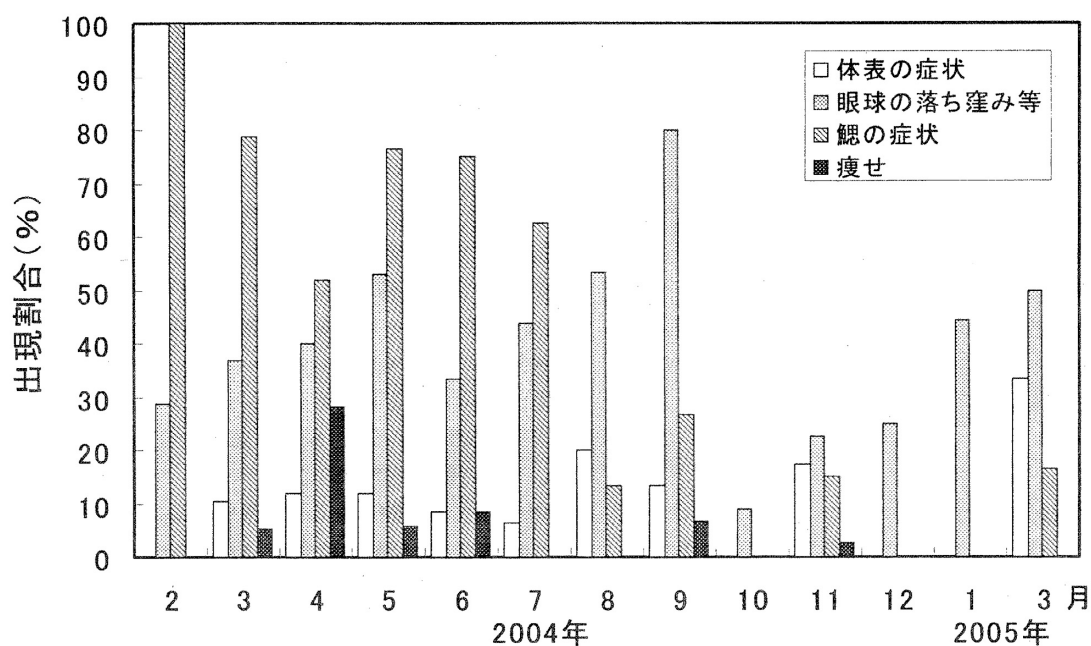


図2 外観症状が観察された個体の月別出現割合

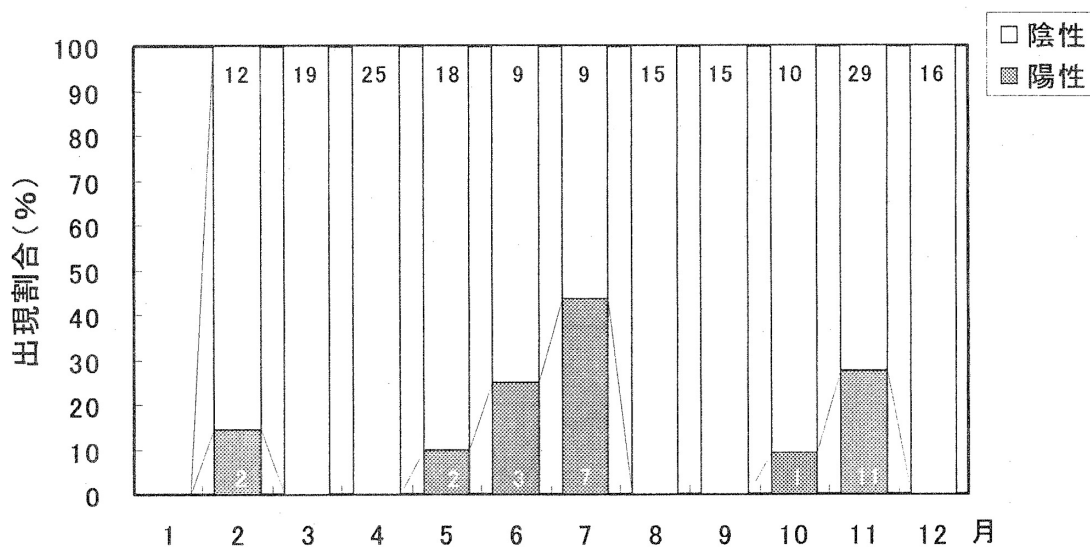


図3 霞ヶ浦北浦天然コイの月別陽性個体出現割合 (2004年)

棒グラフ中の数字は陰性または陽性の個体数を示す

張網1ヶ統1回あたり3個体程度を採取し、PCR検査を行った(図1)。また、その他の調査においてコイが採捕された場合も同様に検査した。また、霞ヶ浦においては2004年5月及び12月に採捕された衰弱魚2個体、死亡魚3個体についても検査を行った。検査個体数は合計218個体である(表1)。

採集したコイは全長、体長、体重を測定後、外観症状及び剖検所見を記録した。外観症状の記録は、2003年10月の霞ヶ浦北浦におけるKHV病発生時に病魚におい

て観察された症状(高島ら, 2004)に基づき、体表や鱗の症状(白化、スレ、発赤等)、眼球の落ち窪みの症状(眼球や頭部の陥没)、鰓の症状(貧血、うっ血、退色、鰓ぐされ等)、及び養殖魚に比べ天然魚で多く観察された痩せの症状(魚体全体の痩せ)を主に行った。また、剖検所見の記録は各臓器(腎臓、肝臓、脾臓、心臓)の色や状態等について行った。

PCR検査用試料は鰓及び腎臓を採取し、試料は冷凍保存(-20℃)及び100%エタノール保存した。PCR検査に

おけるプライマーセット及びPCR反応プログラムは2004年10月11日まではGrayら(2002)に従い、2004年10月12日以降はYuasaら(2005)に従った。検査部位は基本的には鰓(冷凍)とし、必要に応じて腎臓も検査した。検査結果の判定は、電気泳動において290bpの位置にバンドが現れない場合を陰性、明瞭またはわずかにバンドが確認された場合は陽性と判定した。

張網調査におけるコイの採集状況の経年変化は、茨城県内水面水産試験場調査研究報告に記載された張網調査データ(久保田ら, 2002, 谷村ら, 2003, 谷村ら, 2004)を用い、2000年度以降について整理した。

3. 結果

(1) 外観症状及び剖検所見

検査したコイ(腐敗した死亡魚を除く)で、体表や鱗の症状、眼球の落ち窪みの症状、鰓の症状、痩せの症状等の外観上の症状が認められたものは、215個体中141個体(66%)であった。これらは2004年2月～9月を中心に確認され、10月以降は少ない傾向が認められた(図2)。

体表や鱗の症状では、体表のスレ、体表の粘液不足、体表や鱗の発赤等の症状が2004年3～9月、11月、2005年3月に観察され、検査個体に占める割合は、2004年3月～11月(10月を除く)で6～20%、2005年3月はやや多く33%であった。

眼球の落ち窪みの症状では、眼球や頭部の陥没の認められる個体が毎月観察され、検査個体に占める割合は

2004年2～9月、2005年1, 3月に多く、29～80%の個体で観察された。

鰓の症状では、鰓の貧血、うっ血、退色、膨潤、鰓弁の癒着、鰓ぐされ等が確認され、検査個体に占める割合は2004年2～7月に多く52～100%の個体で観察され、2004年8月以降はやや少なく検査個体の13～27%で認められた(2004年10, 12月及び2005年1月には観察例なし)。また、鰓の症状の中で重篤と考えられる鰓ぐされは、2004年4月～6月に観察され、検査個体に占める割合は4～18%であった。

痩せの症状を呈するコイは2004年3月～6月及び9月、11月に認められ、3～6月では5～28%、9, 11月で7%、3%の個体で観察された。

剖検所見では、鰓ぐされ、眼球や頭部の陥没、痩せ等の症状以外に、肝臓の退色(検査個体の41%)、心室の縁に脂肪が付着する(24%)等の症状が見られた。

(2) PCR検査

PCR検査結果を表1に示した。2004年2月～12月には203個体を検査し、26個体が陽性であった。陽性26個体のうち、生魚は24個体、死亡魚は2個体(2004年5月採集)であった。陽性個体は霞ヶ浦北浦の広い範囲から確認され、霞ヶ浦では麻生町麻生、霞ヶ浦町加茂、霞ヶ浦町牛渡、玉造町高須、玉造町八木蒔の5箇所、北浦では北浦町繁昌、鹿島市津賀の2箇所、常陸利根川では神栖町日川で採集された。また、2005年1月及び3月には15個体を検査したが、陽性個体は確認されなかった。

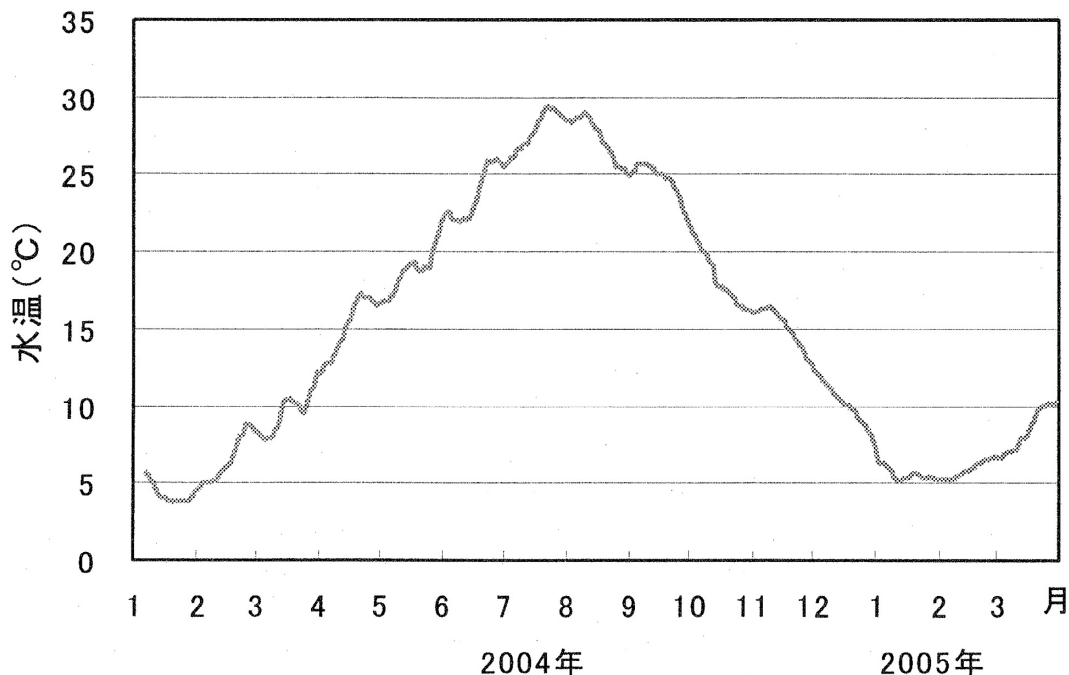


図4 調査期間中における霞ヶ浦の水温(内水試棧橋定点, 水深1m)

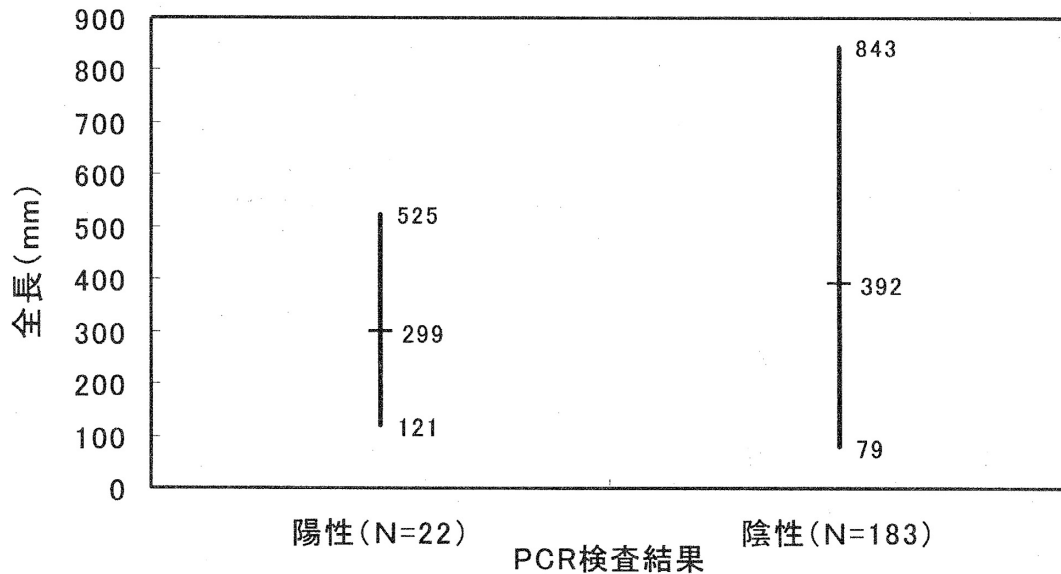


図5 コイの全長とPCR検査結果の関係。棒の横に示した数値は、最大、平均、最小を示す。

①月別陽性個体出現割合

月別のPCR検査結果を図3に示した。PCR検査で陽性が確認されたのは、2004年2月、5～7月、10～11月であり、春季及び秋季を中心に陽性個体を確認された。各月の検査個体中に占める陽性個体（生魚）の割合は、2004年7月で最も高く44%、次いで2004年11月（28%）、6月（25%）、2月（14%）、10月（9%）であった。

調査期間中の霞ヶ浦の水温として、当场棧橋の観測結果（水深1m）を示した（図4）。PCR検査で陽性が確認された2004年5月中旬～7月中旬の水温は18～27℃、10月下旬～11月下旬の水温は16～14℃であった。

②外観症状とPCR検査結果

体表や鱗の症状、眼球の落ち窪みの症状、鰓の症状、痩せの症状のいずれかが観察された141個体中、17個体（12%）がPCR検査で陽性であった。また、生きた状態で採集されPCR検査で陽性であった24個体のうち、上記の症状が観察されたのは17個体（71%）、外観上異常の確認されなかったものは7個体（29%）であり、これらの症状とPCR検査結果は必ずしも一致しなかった。

③コイの全長とPCR検査結果

検査したコイの全長とPCR検査結果の関係を図5に示した。PCR検査で陰性が確認された個体の平均全長は392mm（79-843mm、N=183）、陽性が確認された個体では299mm（121-525mm、N=22）であった。本調査ではPCR検査で陽性のコイの方が小さい傾向がうかがえた。

(3) 張網調査におけるコイの採集状況

張網調査で採集されたコイの個体数（1ヶ統当たりの採捕尾数、4地点の平均値）を2000年から2004年まで示した（図6）。2000年から2003年までの張網1ヶ統当たりのコイの採捕尾数は平均2.8～6.8尾で、KHV病発生翌年の2004年の採捕尾数は平均12.7尾であった。張網調査の結果ではKHV病発生年と翌年のコイの採捕個体数に減少は認められず、むしろ2004年7～9月には、2000年から2003年までの採捕個体数より多くなっていた。

4. 考 察

(1) PCR検査について

本調査においては、2003年10月の霞ヶ浦北浦におけるKHV病発生時に病魚において観察された外観症状を呈するコイの多く（88%）がPCR検査で陰性となった。PCR検査で陰性となったこれらのコイの中にはKHVを保有している個体があったと考えられるが、検査した組織中に含まれるKHVのDNA量がPCR検査の検出限界以下であったため陰性と判定されたと考えられた。このため、KHV病についてPCR検査を生きた魚の健康診断や無病証明に用いる際には、保有しているウイルス量が少ない場合に陰性と判定されるおそれがあり、注意が必要と考えられた。また、今後、天然水域等においてKHV病の感染状況調査を行う際には、PCR検査の検出限界量以下のKHVを保有している個体を検出できない可能性があるため、PCR検査の他に、血清中のKHV抗体価の測定（Adkisonら、2005）等によってコイのKHV感染履歴を調査することが有効であると考えられた。

一方、調査したコイの剖検所見については、肝臓の

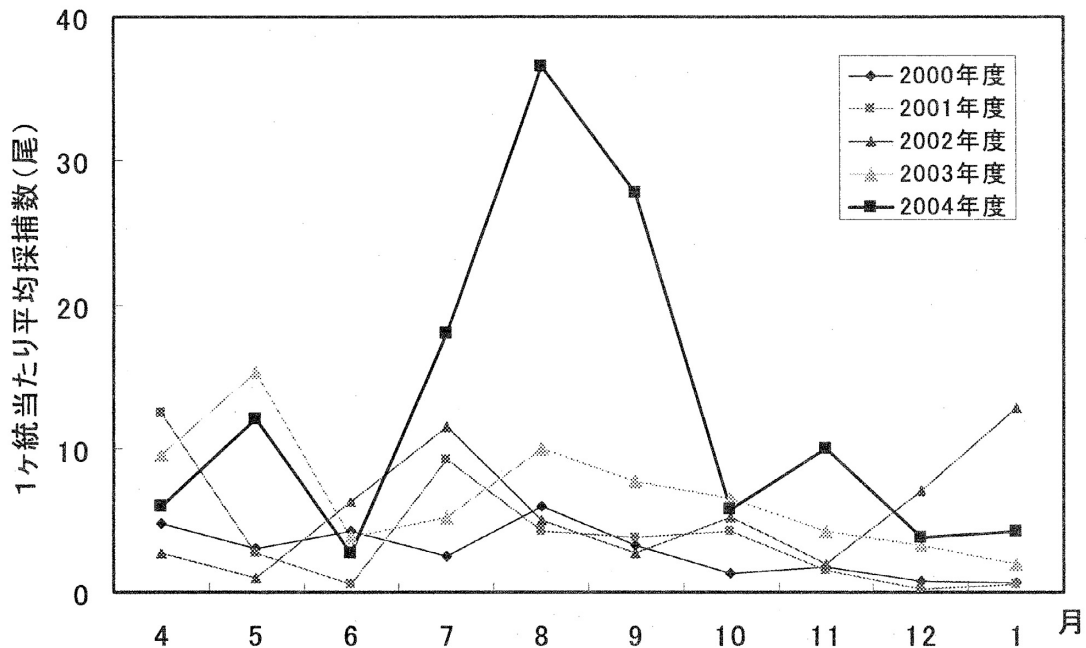


図6 張網調査におけるコイ採捕個体数の経年変化
(霞ヶ浦2箇所、北浦2箇所の平均)

退色(検査個体の41%)、心室の縁に脂肪が付着する症状(24%)が観察されたことから、今後、これらの症状がKHV病と関連があるかどうかを検討する必要があると考えられた。また、コイの全長とPCR検査結果との関係では、PCR検査の結果陽性が確認されたコイの方が小さい傾向がうかがえた。網いけす養殖コイでKHV病が発生した当初の聞き取り調査では、魚体サイズによりへい死状況が異なる意見が多く(高島ら, 2004)、コイの大きさとKHV保有状況や検査結果の解析にはさらなるデータの蓄積が必要と考えられた。

(2) 霞ヶ浦北浦の天然コイについて

霞ヶ浦北浦においては、KHV病発生翌年である2004年以降の天然コイの状況が注目されたが、県で行った巡回監視や漁業者からの聞き取り等ではコイの大量へい死は確認されなかった。また、当場に持ち込まれた天然コイの死魚が2004年5月の3個体のみであったことから、天然コイの大量へい死は起こらなかったと考えられた。また、当場の張網調査の結果においてコイの採捕尾数に減少が見られないことから、KHV病により天然コイ資源はそれほど影響を受けていない可能性が示唆された。

一方、大量へい死は確認されなかったものの、2004年春～夏季に調査したコイを中心に体表や鱗の症状、眼球の落ち窪みの症状、鰓の症状、痩せの症状等の2003年10月のKHV病発生時に病魚において観察された外観症状を呈する個体が確認され、また、PCR検査では春季及

び秋季を中心として、採集したコイからKHVが継続して検出されたことから、KHVが湖内に存在していることが確認された。また、PCR検査で陽性であった個体の29%は外見上の異常が認められず、これらはKHV病感染耐過魚となり湖内に生息していると考えられた。

5. 要 約

- (1) 2003年10月にKHV病の発生した霞ヶ浦北浦において、天然コイのKHV感染状況を調査するため、2004年2月～2005年3月まで定期的に天然コイを採集し、症状の観察及びPCR検査を行った。
- (2) 2004年2月～12月に203個体、2005年1～3月に15個体をPCR検査し、26個体が陽性であった。陽性個体は春季(5～7月)及び秋季(10～11月)を中心に継続して確認され、湖内にKHVが存在することが確認された。
- (3) 採捕魚のPCR検査結果では、KHV病によると思われる外観症状を呈するコイであっても、PCR検査では陰性となる例が多く認められた。また、PCR検査で陽性であっても外観上異常の認められないコイが採集され、これらは感染耐過魚として湖内に生息していると考えられた。
- (4) 張網調査によるコイの採集個体数はKHV病発生以後も減少は認められず、KHV病により霞ヶ浦北浦のコイ資源はそれほど影響を受けていない可能性が示唆された。

文 献

- Adkison M. A., O. Gilad and R. P. Hedrick (2005): An Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for Detection of Antibodies to the Koi Herpesvirus (KHV) in the Serum of Koi *Cyprinus carpio*. *Fish Pathol.*, 40, 53-62.
- 網田健次郎・大江貢弘・的山央人・山口典子・福田穎穂 (2002): 新潟県下の養殖ニシキゴイにおけるコイヘルペスウイルス (KHV) および浮腫症ウイルス (CEV) の調査. *魚病研究*, 37, 197-198.
- Gray W. L., L. Mullis, S. E. LaPatra, J. M. Groff and A. Goodwin (2002): Detection of koi herpesvirus DNA in tissues of infected fish. *J. Fish Dis.*, 25, 171-178.
- Hedrick, R. P., O. Gilad, S. Yun, J. V. Spangenberg, G. D. Marty, R. W. Nordhausen, M. J. Kebus, H. Bercovier and A. Eldar (2000): A Herpesvirus Associated with Mass Mortality of Juvenile and Adult Koi, a Strain of Common Carp. *J. Aquat. Anim. Health*, 12, 44-57.
- 茨城県 (1995): 霞ヶ浦北浦の水産業, 張網, 7.
- 久保田次郎・外岡健夫・谷村明俊・堀直 (2002): 霞ヶ浦北浦の定置網漁獲物測定結果. 茨城内水試調研報, 37, 96-101.
- 水戸鼓・村田守 (2004): 平成 15 年度内水面の魚病診断状況. 岡山水試報, 19, 65-67.
- Sano M., T. Ito, J. Kurita, T. Yanai, N. Watanabe, S. Miwa and T. Iida (2004): First Detection of Koi Herpesvirus in Cultured Common Carp *Cyprinus carpio* in Japan. *Fish Pathol.*, 39, 165-167.
- 高島葉二・渡辺直樹・野内孝則・中村丈夫 (2004): 霞ヶ浦・北浦におけるコイヘルペスウイルス病の発生. 茨城内水試調研報, 39, 1-8.
- 谷村明俊・半澤浩美・外岡健夫・堀直 (2003): 霞ヶ浦北浦の定置網漁獲物測定結果. 茨城内水試調研報, 38, 100-105.
- 谷村明俊・半澤浩美・外岡健夫・野内孝則 (2004): 霞ヶ浦北浦の定置網漁獲物測定結果. 茨城内水試調研報, 39, 144-152.
- Yuasa, K., M. Sano, J. Kurita, T. Ito and T. Iida (2005): Improvement of a PCR Method with the *SphI*-5 Primer Set for the Detection of Koi Herpesvirus (KHV). *Fish Pathol.*, 40, 37-39.