

プロフィールリスト

1. 病名	マボヤの皮囊軟化症 (Soft tunic syndrome)	
2. 病原体	<i>Azumiobodo hoyamushi</i>	
	a) 分類	ユーグレノゾア門 キネトプラスト綱 ネオボド目 ¹⁾ Euglenozoa, Kinetoplastea, Neobodonida,
	b) 形態	細胞は紡錘形で2本の鞭毛を持つ。パラフィン切片上では鞭毛は1本しか視認できないのが普通。培養された個体の鞭毛を除いた細胞の長径は15mm前後、短径は5mm前後である。 ¹⁾ 病個体から海水中に遊走してきたものは長径10-13mm。 ²⁾ 本綱に属する生物に特徴的な、キネトプラストと呼ばれる非常に発達したミトコンドリアDNA塊を持つ。 ¹⁾
	c) 特徴	<ul style="list-style-type: none"> ・活発に遊泳する。 ・海水中でフリーの状態でも少なくとも1週間は生存可能である。 ・培養液中で継代可能(5-20°Cで増殖)。
3. 地理的分布	韓国 ⁷⁾ 日本	
4. 宿主	これまでに判明しているのは、マボヤ (<i>Halocynthia roretzi</i>) および エボヤ (<i>Styela clava</i>) ¹⁰⁾	
5. 発生情報		
	a) 潜伏期間	実験感染では2~4週間
	b) キャリアー	マボヤ(マボヤの種苗の輸入によって韓国から日本へ病原体がもたらされた。)
	c) 感染経路	海水を介した水平感染による。水管の水流によってホヤに付着し、水管付近から侵入するものと考えられる。
	d) ベクター	特に知られていない
	e) 蔓延状況(死亡率、罹患率など)	累積死亡率は20~95%
	f) 感染ステージ	満1才以上の個体で発病(それより若齢での感染は不明)
	g) 感染要因	夏季に水温が20°Cを超え、ホヤが水管を閉じて夏眠状態になると病気は収束する。
6. 症状		
	a) 臨床症状	初期には水管周辺から皮囊が軟化することが多い。健康な個体の皮囊は一種のセルロースであり、非常に硬いが、重篤になると皮囊全体が非常に柔らかく薄くなり、張りがなくなる。ハサミなどで簡単に切れるようになる。内側の軟体部には明らかな異常が認められないのが普通。
	b) 組織検査	<ul style="list-style-type: none"> ・軟化した皮囊繊維は走行が顕著に乱れ、ひどい場合には疎な部分ができ、穴が開いているように見える。皮囊上皮細胞が脱落し、繊維中に落ち込んでいることもある。 ・ヘマトキシリン・エオシン染色で軟化した皮囊中に青く染まる <i>A. hoyamushi</i> を見る。 ・軟体部は遊走細胞の増加や局所的な遊走細胞の集積が見られる場合があるが、顕著な組織障害は見られない。
7. 検査法		
	a) 標的器官	皮囊
	b) 簡易検査法	<ul style="list-style-type: none"> ・臨床的に皮囊が軟化していれば本疾病に罹患している可能性が高い。 ・軟化した皮囊を一部切り出し、滅菌海水中に一晩浸漬し、海水中に遊走してきた鞭毛虫を顕微鏡で観察する。
	c) サーベランス	<ul style="list-style-type: none"> ・臨床観察による皮囊軟化の有無 ・PCR
	d) 確定診断	・PCR
	(参考)PCR	
	DNA 抽出法	<ul style="list-style-type: none"> ・軟化した皮囊を一部を切り出して、細かく切り、滅菌海水を入れたチューブに入れ、4°Cで一晩浸漬すると、被囊の切り口から鞭毛虫が海水中に遊走してくる。被囊を除去し、虫体を遠心して集めたものから、市販のDNA抽出キットを用いて、本虫のDNA抽出を行う。常法通り、Proteinase K で虫体を破壊し、フェノール・クロロホルム法でタンパク質を除きエタノール沈殿させるDNA抽出方法でも良い。 ・軟化した被囊から直接DNAを抽出する場合、抽出した核酸溶液にPCRの阻害物質が混入すると思われるので、DNA抽出キットは植物用の Quick-DNA Plant/Seedキット(Zymo Research)を用いる。

プライマー、産物サイズ	<p>初動診断では、下記のプライマーを用いた、18S rDNAをターゲットとしたPCRを行う。耐熱酵素はPhusion(Thermo Fisher Scientific社、NEB社)を用いる。Phusionは、高温に強い、反応が正確、反応時間が早い、PCRを阻害する物質の混入に比較的強い等の特徴がある。価格はTaqと同等か安価。 ProtoHoya 18S-145: 5'-AAGGGGTGCTTCCGATCCGTGG-3' ProtoHoya 18S-679r: 5'-AAGGATGGGACGGAACCGACTGC-3' 増幅産物サイズ; 535bp</p> <p>最終診断は下記のプライマーを用いて、一般的なPCRを行う。 AhF: 5'-GCC TCT GTG GTT TGC TCC TTC GTG T -3' AhR: 5'-TAC TGG GCG GCT TGG ATC TCG T-3' 増幅産物サイズ; 642bp</p>
プロトコル	<p>初動診断(耐熱酵素はPhusion) 98°C 30秒 98°C 10秒、72°C 30秒 (×30サイクル) 72°C 5分</p> <p>最終診断 95°C 3分 95°C 1分、64°C 34秒、72°C 1分 (×40サイクル) 72°C 5分</p>
8. 対策	
a) 殺菌・滅菌方法	<p>・ホルマリン、過酸化水素、ピチオノール、二酸化塩素、およびプロノポールのそれぞれに原因べん毛虫を24時間浸漬した場合のそれぞれの薬剤の50%効果濃度(EC₅₀)は10mg/L以下である。</p>
b) ワクチン	<p>・なし</p>
c) その他	<p>・原因鞭毛虫除去法はまだ確立していないが、40 mg /Lのホルマリンないし二酸化塩素を含む海水中に感染個体を1時間浸漬することで原因鞭毛虫の数が顕著に減少したという報告がある。 ・経験的には8m以深で養殖することにより被害を低減できることが知られている。 ・水温10°Cで<i>A. hoyamushi</i>は死亡個体の被囊内で10日間以上生存し、感染源になり得るため、発病個体を早急に除去する。</p>
9. 発生事例	<p>1995年 韓国で「ムルロン(ふにゃふにゃ病)」と呼ばれる被囊の軟化を伴う大量死が発生 2007年以降、日本でも被囊の軟化を伴う大量死が発生</p>
10. その他	

出典

- 1) Kumagai, A., S. Atsushi, I. Ito, T. Tanabe, K. Takahashi, T. Kamaishi, and S. Miwa (2010) Mass mortality of cultured ascidians *Halocynthia roretzi* associated with softening of the tunic and flagellate-like cells. *Dis. Aquat. Org.*, 90, 229-240.
- 2) Kumagai, A., S. Atsushi, I. Ito, T. Tanabe, J-Y. Song, S. Kitamura, E. Hirose, T. Kamaishi, and S. Miwa (2011) Soft tunic syndrome in the edible ascidian *Halocynthia roretzi* is caused by a kinetoplastid protist. *Dis. Aquat. Org.*, 95, 153-161.
- 3) Hirose, E., A. Nozawa, A. Kumagai, and S. Kitamura (2012) *Azumiobodo hoyamushi* gen. nov. et sp. nov. (Euglenozoa, Kinetoplastea, Neobodonida): a pathogenic kinetoplastid causing the soft tunic syndrome in ascidian aquaculture. *Dis. Aquatic. Org.*, 97, 227-235.
- 4) Kumagai, A. and T. Kamaishi (2013) Development of polymerase chain reaction assays for detection of the kinetoplastid *Azumiobodo hoyamushi*, the causative agent for soft tunic syndrome in the ascidian *Halocynthia roretzi*. *Fish Pathol.*, 48, 42-47.
- 5) Kumagai, A. and T. Kamaishi (2013) Detection of the kinetoplastid *Azumiobodo hoyamushi*, the causative agent of soft tunic syndrome, in wild ascidians *Halocynthia roretzi*. *Dis. Aquat. Org.*, 106, 267-271.
- 6) Park, K. H., S-R. Zeon, J-G. Lee, S-H. Choi, Y. K. Shin, and K-I. Park (2014) In vitro and in vivo efficacy of drugs against the protozoan parasite *Azumiobodo hoyamushi* that causes soft tunic syndrome in the edible ascidian *Halocynthia roretzi* (Drasche). *J. Fish Dis.* 27, 200-217.
- 7) Kim, H. J., J-S. Park, K-H. Park, Y-K/ Shin, and K-I. Park (2014) The kinetoplastid parasite *Azumiobodo hoyamushi*, the causative agent of soft tunic syndrome of the sea squirt *Halocynthia roretzi*, resides in the East Sea of Korea. *Journal of Invertebrate Pathology* 116, 26-40.
- 8) 魚類防疫技術書「マボヤの被囊軟化症 診断・防除マニュアル」 養殖衛生対策推進協議会 平成24年3月
- 9) 熊谷 明 (2011) 国内の養殖マボヤに発生した被囊軟化症. *水産学会誌* 77(2), 290-295.
- 10) Kumagai, A., Sakai, K., Miwa, S (2014) The Sea Squirt *Styela clava* is a Potential Carrier of the Kinetoplastid *Azumiobodo hoyamushi*, the Causative Agent of Soft Tunic Syndrome in the Edible Ascidian *Halocynthia roretzi*. *Fish Pathology* 49(4), 206-209