

プロフィールシート

1. 病名		Amyotrophia of Abalone アワビ類の筋萎縮症
2. 病原体 <sup>1)</sup>		Abalone asfa-like virus (AbALV) (参考文献1)
	a) 分類	未分類だが粒子の形態とゲノム解析からAsfaviridae 科に分類されると考えられる。
	b) 形態	ウイルス粒径は200nm程度。 2本鎖DNA, 280kbp. ORF309個. GC含量 31.32% (未公表)
	c) 特徴	<ul style="list-style-type: none"> <li>・クロアワビ、エゾアワビ、マダカアワビ、メガイアワビに感染し当歳貝に高い死亡率をもたらす。</li> <li>・1歳以上の成貝では死亡率は低い。</li> <li>・トコブシには感染しないようである。</li> <li>・過去の論文で本病の特徴とされた異常細胞塊には必ずしもウイルス感染細胞が含まれず、本病との関係は不明。</li> <li>・異常細胞塊や、同じく過去の論文で本病の特徴とされた貝殻の欠刻と真珠層への色素沈着は、メガイアワビでは観察されない。</li> <li>・主にエラの細胞で増殖する。(以上 参考文献2)</li> <li>・水平感染する。洗卵で種苗への感染を防御できることから垂直感染はしないと思われる。</li> <li>・水温18~20℃でウイルスの増殖が顕著(それ以下の水温は調査されていない)。25℃以上ではウイルスの増幅は少ない。(未公表)</li> </ul>
3. 地理的分布		<ul style="list-style-type: none"> <li>・1980年代初頭に初めて発生し、暖流域に分布し、寒流域には分布しないとされていた。</li> <li>・公式発表はないが、2005年以降の調査では、東北地方の太平洋側と日本海側の両方で不調なエゾアワビから本ウイルスが検出されている。</li> <li>・日本以外で本病は報告されていない。</li> </ul>
4. 宿主		クロアワビ (Haliotis discus discus) エゾアワビ (Haliotis discus hanai) マダカアワビ (Haliotis madaka) メガイアワビ (Haliotis gigantea)
5. 発生情報		
	a) 潜伏期間	<ul style="list-style-type: none"> <li>・病貝の飼育排水を7ヶ月齢のクロアワビとメガイアワビの飼育水へ導入したところ、3日目には一部の個体にウイルスが検出され、4週間後にウイルス量は最大となり、4週間後から死亡が観察された。クロアワビとメガイアワビの62日後の累積死亡率は、それぞれ46と49%、44と66%であった。いずれもduplicateで測定。(参考文献2)</li> <li>・病貝の飼育排水を12ヶ月齢のマダカアワビとメガイアワビの飼育水槽へ導入したところ、3日目には一部の個体にウイルスが検出され、4週間後にウイルス量は最大となった。マダカアワビでのウイルス量は、メガイアワビの10倍程度多かった。試験終了時の累積死亡率は、マダカアワビは78と92%(感染63日目)、メガイアワビで10と18%(感染78日目)であった。(未公表)</li> <li>・4歳のクロアワビ、メガイアワビ、エゾアワビへの感染試験では、感染は成立するが死亡はほとんど起こらなかった。(参考文献2)</li> </ul>
	b) キャリアー	ある程度成長したアワビは死亡せずキャリアとなる
	c) 感染経路	水を介して水平感染する
	d) ベクター	不明
	e) 蔓延状況(死亡率、罹患率など)	感染が発生した種苗生産場では80%死亡することもある。
	f) 感染ステージ	殻長2mm程度のエゾアワビとマダカアワビで感染と死亡を確認している。5歳のメガイアワビ、クロアワビでも感染を確認している。
	g) 感染要因	不明
6. 症状		
	a) 臨床症状	クロアワビでは真珠層に褐色の色素が沈着するとともに、貝殻に欠刻と呼ばれる切り込みが形成される場合がある。 メガイアワビでは外観症状が見られた例はない。
	b) 組織検査	鰓の上皮細胞の並びが乱れる。Major capsid proteinに対する抗血清を用いた免疫染色では、陽性細胞は感染初期から死亡の盛期には鰓に、感染後期の死亡が減少する時期には筋肉に増加する傾向がある。(参考文献2)
	c) 疑わしいケース	過去の論文で本病の特徴とされた異常細胞塊は、メガイアワビでは観察されない。 水温が上昇しウイルスが減少した後も死亡が継続する場合がある。高水温期の本病に続く死亡では、ビブリオ属細菌が分離される傾向がある。(未公表)
7. 検査法		
	a) 標的器官	ほとんど全ての組織から検出できるが、筋肉は採材が容易で検出感度も高い。体表から綿棒で拭いた粘液からも検出が可能である。(参考文献3)

b) 診断法	PCR、定量PCR、免疫染色、in situハイブリダイゼーション
c) サーベランス	未実施
d) 確定診断	次の2つ以上で確認される場合：免疫染色、in situ ハイブリダイゼーション、PCR および増幅産物の配列決定。
<b>(参考) PCR</b>	
DNA 抽出法	Phenol-CHCl <sub>3</sub> 法、市販のキットを用いた方法
増幅領域	Major capsid protein
プライマー	p72-F: 5' -ATGGCGGAGGAGGACCCCTTCATTTTGATAACAAAC-3' p72-R: 5' -TTATGCAGCATATCGCAAGATAGCTGATCCGTCGGTG-3'
増幅サイズ	1944 bp
プロトコル	98°C 30秒、(98°C 10秒、65°C 30秒、68°C 90秒) × 35サイクル、68°C 5分 (参考文献 1)
<b>(参考) PCR</b>	
DNA 抽出法	Phenol-CHCl <sub>3</sub> 法、市販のキットを用いた方法
増幅領域	TOPO isomerase
プライマー、産物 サイズ	TOPO-F: 5' -GACTGTGTAAAAGGAGGCACTAATGGGATC-3' TOPO-R: 5' -ATTTTACCACACCCATCAAGATCTTGATCAACAC-3'
増幅サイズ	1207bp
プロトコル	98°C 30秒、(98°C 10秒、65°C 30秒、68°C 90秒) × 35サイクル、68°C 5分 (参考文献 1)
<b>(参考) 定量PCR 1</b>	
DNA 抽出法	Phenol-CHCl <sub>3</sub> 法、市販のキットを用いた方法
増幅領域	Major capsid protein
プライマー、産物 サイズ	上流 Q-ASFV-like-F4 5' -cccggagcgacctacagaa-3' 下流 Q-ASFV-like-R4 5' -gcattccgacagcatcacag-3'
増幅サイズ	127 bp
プロトコル	98°C 2分、(98°C 10秒、60°C 10秒、68°C 30秒) × 40サイクル (参考文献 1)
<b>(参考) 定量PCR 2</b>	
DNA 抽出法	Phenol-CHCl <sub>3</sub> 法、市販のキットを用いた方法
増幅領域	Major capsid protein
プライマー、産物 サイズ	上流 p72-qF 5' -CCCATCCAACACTCATTCTC-3' 下流 p72-qR 5' -AGCCGAACATCTTCATTAACAC-3' TaqMan probe 5' -CGGCACTAAATGGTCCACAAACACCAA -3' 5' FAM/3' BHQ1
増幅サイズ	189 bp
プロトコル	98°C 2分、(95°C 10秒、60°C 30秒) × 40サイクル (未公表)
<b>8. 対策</b>	
a) 殺菌・滅菌方法	注水への紫外線照射で防除が可能
b) ワクチン	無
c) その他	<ul style="list-style-type: none"> <li>・養殖場の調査、検疫の実施、親アワビと種苗の検査を行う。</li> <li>・機器、車両、人などを介しての広がりを防ぐため、一般的なバイオセキュリティ対策として、洗浄と消毒を行う。</li> <li>・生きているアワビ類の移動を制限する。</li> </ul>
9. 発生事例	九州地方から東北地方にかけて不調なアワビから本ウイルスを検出している。(未公表)

#### 参考文献

- 1) Matsuyama, T., Takano, T., Nishiki, I., Fujiwara, A., Kiryu, I., Inada, M., ... & Nakayasu, C. (2020). A novel Asfarvirus-like virus identified as a potential cause of mass mortality of abalone. *Scientific reports*, 10(1), 1-12.
- 2) Matsuyama, T., I. Kiryu, M. Inada, T. Takano and T. Kamaishi. (2021) Susceptibility of four abalone species, *Haliotis gigantea*, *Haliotis discus discus*, *Haliotis discus hannai* and *Haliotis diversicolor*, to Abalone asfa-like virus. *Viruses*, 13(11), 2315; <https://doi.org/10.3390/v13112315>
- 3) 松山知正, 桐生郁也, 稲田真理, & 中易千早. (2021). PCR による Abalone asfa-like virus の検出に適した検体採取部位の検証. *魚病研究*, 56(1), 18-21.