

# ゲノムサイエンスを利用した ブリの健康維持

増養殖研究所 病害防除部 中易千早



我が国の養殖業において、ぶり類（ブリ・カンパチ・ヒラマサ）は生産量・生産額共に1位の重要な魚種であるが、同時に魚病被害額も1位であり、各種の病気が発生し、大きな問題になっている。防除策として、これまで抗菌物質等の薬剤による治療が中心であったが、近年、消費者の食の安心・安全への関心が高まるとともに、病気を予防し、健康を維持させるためにワクチン開発および実用（市販）化が積極的に行われている。

## 1. ブリのワクチンの現状と問題点

ブリの5種類の病気（ $\alpha$ 溶血性レンサ球菌症、マダイイリドウイルス病、ビブリオ病、類結節症及びストレプトコッカス・ジスガラクチエ感染症）に対するワクチンがこれまで開発・市販されてきた。これらはいずれも毒性や感染力が強く、年間に数十億円もの被害が生じていたが、ワクチンの投与で、病気が未然に防がれ被害は大幅に軽減された。

その一方、ワクチンが開発されておらず、大きな被害を出し続けている病気も多数存在する。これらの病気に対してワクチンが開発できない理由の一つとして、病原体が培養できない（難培養性病原体）ことが挙げられる。これまでに開発された魚類用ワクチンは、病原体を大量に培養し、ホルマリン等の化学処理によって毒性を失活させたものを有効成分とする不活化ワクチンである（図1）。この方法は作製時に病原体の大量培養が必須であり、難培養性病原体に対するワクチン開発の大きな障害になっている。

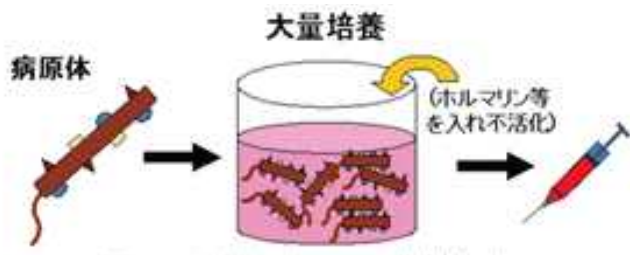


図1. 不活化ワクチンの作製方法

病原体を培地の中で大量に増やした後、ホルマリン等で殺し（不活化）、それをワクチンとして使用する。

病原体を含む微生物群で、人間が培養可能な微生物は全体の0.1～1.0%と言われている。つまり、微生物のうち99%以上が培養できない。そのため、今後も難培養性病原体による被害は増加すると考えられ、培養を必要としない新しいワクチンの開発が急務になっている。

ブリでは、難培養性病原体の引き起こす病気として細菌性溶血性黄疸（以下、黄疸）が挙げられる。この病気は、出荷サイズの大きなブリでも罹病し体表が黄色くなり、死亡率も高い（図2および3）。生き残ったブリも筋肉中にビリルビンも蓄積することで食味が苦くなるため、商品価値がなくなり、被害額は年間4億円にのぼる。ワクチンの開発要望の高い病気の一つであるが、病原菌は難培養性のため、ワクチン開発は進んでいなかった。



図2. 細菌性溶血性黄疸に感染したブリ

丸枠で示した部分が黄色化している。死亡率が高く、生残した魚も、肉の味が苦くなるため、出荷できなくなる。大きく育てた魚も発病するため、被害が大きい。

## 2. ゲノム情報を利用したワクチン開発

我々研究グループでは、東京海洋大学および大分県農林水産研究センターと共同で黄疸に対するワクチン開発を行うため、医学分野でも研究進捗が顕著なサブユニットワクチン（成分ワクチン）に着目した。これは、病原体のゲノム情報を解読し、そこから得られる遺伝子情報を利用して病原体の一分成分（感染防御抗原）のみを大腸菌などを用いて人工的に合成し、ワクチンとして利用する方法である（図4）。この感染防御抗原とは、病原体の急所となる部分を構成しているタンパク質で、病原体の表層に存在する場合

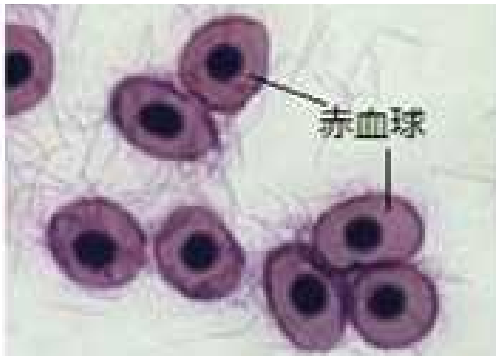


図3. 細菌性溶血性黄疸の病原体  
ブリの赤血球の周りに付着している糸状の微生物（細菌）は本疾病の病原体。

が多い。本抗原を宿主側の免疫系（白血球や抗体など）が攻撃することで効率的に病原体を排除することができる。そのため、感染防御抗原を探し出し、それを成分としたサブユニットワクチンを作製することが出来れば、高い効果が期待できる。この方法だと、病原体自体を培養する必要がなくなり、難培養性病原体に対してもワクチン開発が可能になる。



図4. サブユニットワクチンの作製法  
病原体のゲノム情報からワクチンの有効成分（感染防御抗原）となる遺伝子を探し出し、その遺伝子情報を元に有効成分のみを合成する。

我々は収集した黄疸の原因菌から、ゲノムを抽出し、次世代シーケンサーで全ゲノム情報を解読したところ、本菌には約 1,500 個の遺伝子が存在することが明らかになった。これらの遺伝子がコードするタンパク質が本菌のどの部分を構成し、どのような性状・構造を持っているかをコンピューター解析により予測し、ワクチンの候補となるタンパク質（感染防御抗原）を探索して、268 種類の遺伝子を選び出した。その遺伝子を大腸菌に組み込んだところ、146 種類の組換えタンパク質の合成に成功し、これらを抗原としてサブユニットワクチンを試作した。146 種の試作ワクチンをそれぞれブリに接種し、3 週間後に黄疸の原因

菌による攻撃試験を行い、有効性を検証した。その結果、ほとんどの試作ワクチンは有効ではなかったが、4 種類の試作ワクチンで死亡を有意に抑制することが示された（図 5）。特にその一つ（ワクチン 4）を接種したブリは全く死亡せず、高い有効性を示した。この 4 種類のワクチンについては、追試を行ってみたが、有効であることが再確認された。

### 3. 今後の展望

ブリの黄疸に対して有効性のあるサブユニットワクチンの作製に成功した。魚病細菌に対するサブユニットワクチンが開発された例はこれまでになく、今後ワクチンメーカーと共同し、市販化に向けて取り組む予定である。

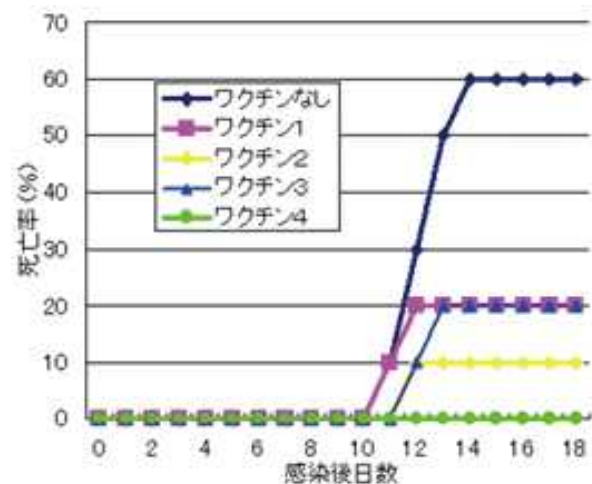


図5. 試作ワクチンの有効性試験  
146 種類のワクチンをブリに接種し、病原体で攻撃した。4 種類のワクチン（ワクチン 1～4）が死亡率を低く抑え、有効であることが示された。

病原体を培養する必要がない本ワクチンの作製法は、ほかの難培養性病原体のワクチン開発にも応用が期待される。これまで予防困難であった病気に対してワクチンが開発できれば、計画的かつ効率的な養殖生産が可能になるとともに、抗生物質などの薬剤使用を減らすことで、「日本の養殖魚は安心・安全である」というブランドの構築に大きく寄与できる。今後、ワクチンを用いた魚病対策を充実させることが、益々重要になるとと思われる。

なお、これらの成果は、農林水産技術会議の「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」において、H22-24 に実施された「遺伝子情報を利用した難培養性病原体に対するワクチン技術の開発」によるものである。