

4) アユの冷水病感染耐過における特異抗体および局所免疫系活性化の必要性の有無

金辻宏明

【目的】 これまでに冷水病に感染して耐過したアユはその後の水平感染に高い抗病性を示すことを報告した。この抗病性をワクチンに応用するためには抗病性を発揮する因子の特定が不可欠である。そこで本研究では、感染耐過アユの血清を正常アユに接種して抗病性を付与できるかどうか、また感染耐過がエラや皮膚などの局所で成立するかどうかを調べるために体内だけの免疫刺激によって抗病性が獲得されるかを判定して感染耐過における局所免疫系の必要性を調べた。

【方法】 供試魚には11月に琵琶湖で採捕され、当場の屋内池で飼育した冷水病経験のない平均体重10.2gのアユを用いた。飼育は前述と同様にして行った。供試菌には*Flavobacterium psychrophilum* SG990302株を用い、培養は供試菌を50mLの改変サイトファーガ液体培地(MCY)に接種して15°Cで振盪(100rpm)しながら24時間行った。水平感染耐過魚はこれまでと同様にして作出^{※1)}し、尾断法によって血液を採取したのち、常法にしたがって血清を分離した。冷水病未経験アユからも同様にして正常血清を得た。水平感染耐過魚血清の接種による健全アユに対する抗病性付与効果は次のようにして調べた。供試血清をPBSで10倍希釈し、各区25尾を用いて供試魚の腹腔内に1尾あたり50 μ L接種した。また、冷水病菌FKCに対するウサギIgG^{※2)}をPBSで1mg/mLに調整して供試魚の腹腔内に50 μ L接種した区を設けた。接種後、前述と同様にして水平感染攻撃を行い、1日1回死亡魚の計数および観察を行った。試験期間中は無給餌とした。つぎに、培養菌注射によって感染耐過魚を作出し、抗病性を調べた。まず供試菌を培養後、 1×10^4 または 1×10^5 CFU/50 μ LになるようにMCYで希釈して調整し、各区30尾を用いて供試魚の腹腔内に50 μ L接種した。対照区は培養菌を含まないMCYを同様に接種した。接種後、水平感染攻撃^{※3)}で抗病性を評価した。

【結果】 水平感染耐過魚血清、正常血清および冷水病菌体に対するウサギIgGを健全供試魚の腹腔内に接種して抗病性の付与を調べたところ、図1に示すように水平感染耐過魚血清および正常血清接種アユは13日後にはともに全滅した。また、ウサギIgG接種区では5日後から12日後まで死亡が続き、最終生残率は8.0%で全ての区で抗病性は付与されなかった。つぎにアユに培養生菌を注射すると体内免疫系の活性化だけが行えたと考え、培養菌注射で生残したアユの抗病性を調べた。培養菌注射を行ったときの結果は図2に示すとおりである。培養菌を接種後の生残率はMCY接種区、 1×10^4 CFU/fish接種区および 1×10^5 CFU/fish接種区の順で高く、それぞれ96.7、80.0および70.0%であった。この生残魚を水平感染攻撃すると生残率は逆に 1×10^4 CFU/fish接種区、 1×10^5 CFU/fish接種区およびMCY接種区の順で高く、それぞれ76.2、38.1および4.8%であった。水平感染攻撃中の死亡魚は通常の冷水病死亡所見と比較してアゴ欠けや鰓蓋部よりの出血個体が少なく、多くが無症状死亡個体であった。この結果から 1×10^5 CFU/fish接種区では高い抗病性を獲得したと判断された。

以上の結果から、感染耐過魚の抗病性は特異抗体だけで生じている可能性は低く、さらに注射感染耐過魚が局所の免疫を活性化させていないと仮定すると、少なくとも体内で生じる細胞性免疫系の活性化が必要で、さらにそれと協働する特異抗体も必要かもしれないと推察された。

※1) 金辻宏明・二宮浩司・山本充孝・遠藤誠：冷水病耐過アユの抗病性，平成14年度滋賀水試事報，204-205，(2003).
※2) 金辻宏明：アユ抗体および冷水病菌体に対するウサギ抗血清の作製と酵素標識，平成14年度滋賀水試事報，216-217(2003).
※3) 金辻宏明：ハプテン化および免疫原性強化した冷水病菌体ワクチンの有効性，平成14年度滋賀水試事報，188-189(2003).

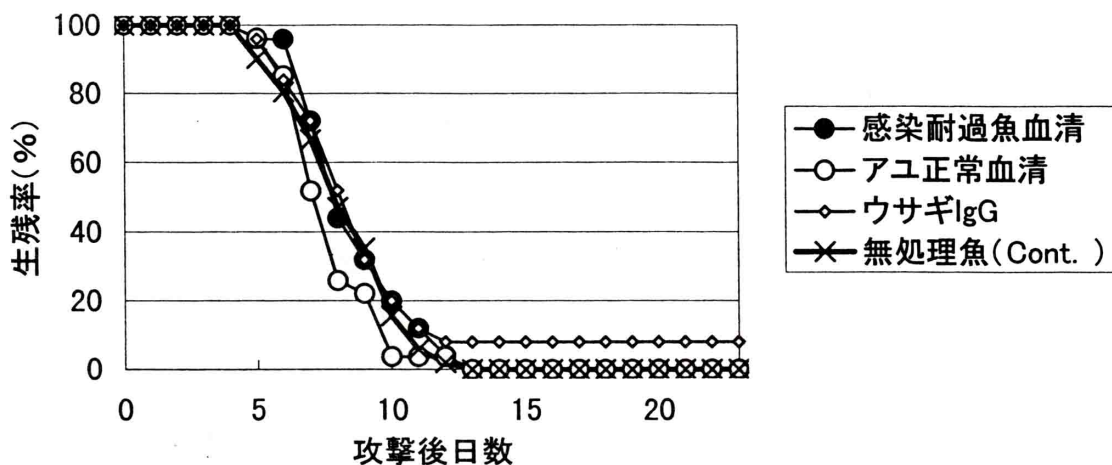


図1. アユ冷水病水平感染耐過魚血清を正常アユの腹腔内に接種したときの抗病性の付与効果.

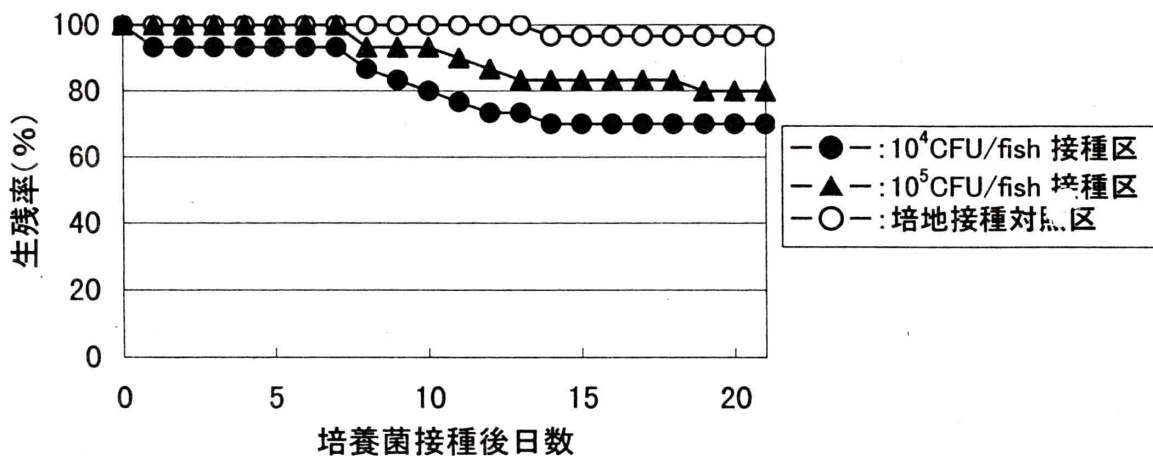


図2. アユ冷水病培養菌を健常アユ腹腔内に接種して攻撃したときの生残率の推移

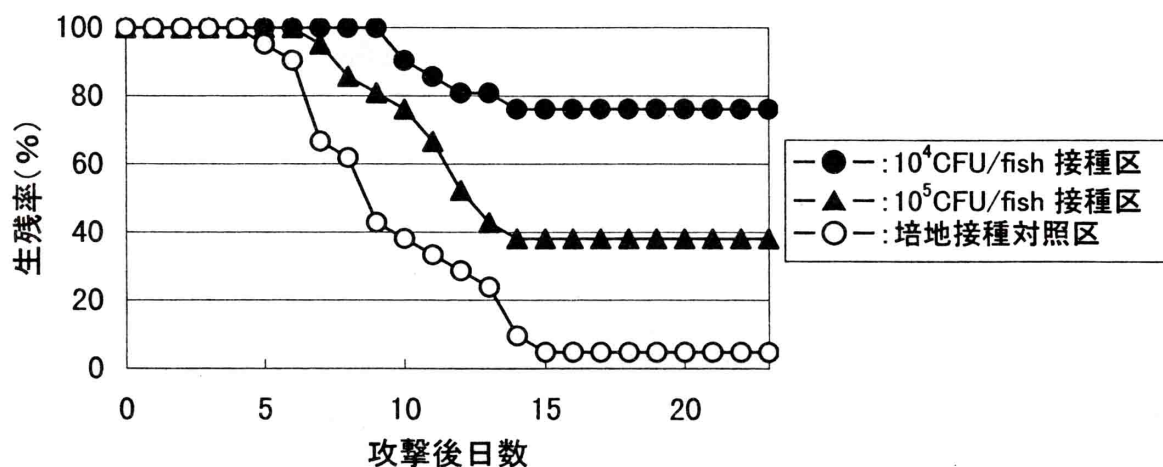


図3. 培養菌注射攻撃を耐過したアユを水平感染攻撃したときの生残率の推移.