

5) シュードモナス病・冷水病2種混合アジュバント添加注射ワクチンを接種したアユの血中抗体価

二宮浩司・遠藤 誠・金辻宏明・山本充孝

【目的】 シュードモナス病・冷水病2種混合アジュバント添加注射ワクチンを接種したアユの両疾病に対する感染防御能を評価するため、両疾病原因菌に対する血清中の凝集抗体価を測定した。

【方法】

1. 供試魚および供試ワクチン： シュードモナス病や冷水病の発病歴のない平均体重8.5gの琵琶湖産アユを試験に供した。ワクチンには共立製薬株式会社が作製したシュードモナス病不活化ワクチン（不活化前生菌数 1.5×10^{10} CFU/mL、FPC941株）と冷水病不活化ワクチン（不活化前生菌数 6.0×10^8 CFU/mL、SG990302株）を水産試験場で1:0、1:1、1:9、1:99および0:1の容積比で混合し、さらに、前述の混合液とオイルアジュバント（MONTANIDE-ISA763A：Seppic社）を3:7の重量比で乳化させたものをそれぞれワクチンP、ワクチンM1、ワクチンM2、ワクチンM3およびワクチンFとした（図1）。
2. ワクチンの投与方法： 前述の各ワクチンをそれぞれ50 μ L/尾の割合で供試魚の腹鰭基部前方の腹腔内に接種し、それぞれワクチンP区、ワクチンM1区、ワクチンM2区、ワクチンM3区、ワクチンF区とした。対照区には無処理魚を用いた。各試験区の供試魚数は150尾とした。ワクチン投与後は採血を行うまで各試験区の供試魚を地下水により流水飼育した（水温18.3~18.7 $^{\circ}$ C）。
3. 血清中の凝集抗体価の測定： ワクチン投与26日後および47日後に各試験区の供試魚を任意に10尾採取し、尾部静脈より採血を行った。定法により供試血清を得た後、抗体価はマイクロタイター法により測定した。

【結果】 全てのワクチン投与区の供試魚血清中に両疾病原因菌に対する凝集抗体価の上昇が認められた。シュードモナス病菌に対する抗体価（幾何平均値）は、図2に示すようにワクチン投与26日後のワクチンP区で1:3104、ワクチンM1区で1:1552、ワクチンM2区で1:42、ワクチンM3区で1:12、対照区で1:<2であり、ワクチンに含まれるシュードモナス病原菌の抗原量が低下するに従い、抗体価は低下する傾向にあった。ワクチン投与47日後では、ワクチンP区で1:446、ワクチンM1区で1:147、ワクチンM2区で1:64、ワクチンM3区で1:4、対照区で1:<2であり、ワクチンM2区を除く他のワクチン投与区はワクチン投与26日後に比べて抗体価が低下する傾向にあった。高い抗体価を有したワクチンP区とワクチンM1区は、攻撃試験でも高い有効性を示したことから、特異抗体を始めとする液性免疫が本病の感染防御効果に重要な役割を担うことが推察される。冷水病に対する抗体価（幾何平均値）は、ワクチン投与26日後のワクチンF区で1:14、ワクチンM1区で1:6、ワクチンM2区で1:2、ワクチンM3区で1:3、対照区で1:<2であり、冷水病単価ワクチンであるワクチンFに比べて何れの混合ワクチン区においても抗体価は低下する傾向にあった。このことは、攻撃試験において混合ワクチン区の有効率がワクチンF区と比べて低かったことと符合していた。ワクチン投与47日後では、ワクチンF区で1:14、ワクチンM1区で1:2、ワクチンM2区で1:14、ワクチンM3区で1:18、対照区で1:<2であり、ワクチンM2区とワクチンM3区はワクチン投与26日後に比べて抗体価は上昇し、ワクチンF区とほぼ同程度の値となった。このことはワクチン投与48日後の攻撃試験において両混合ワクチン区の有効率が上昇したことと符合するものであった。そのため、冷水病においても特異抗体を始めとする液性免疫が本病の感染防御効果に重要な役割を担うことが推察される。なお、追試でワクチンM2とワクチンM3を今回の1/5投与量（10 μ L/尾）で接種したところ、今回とほぼ同程度の抗体価を得ている。また、今回の冷水病に対する抗体価はせいぜい1:14~18程度しか上昇しなかったが、過去の測定例では冷水病の自然感染経験魚の抗体価が1:70程度まで上昇しているため、今回使用した何れのワクチンも自然感染経験魚が獲得するほどの抗体価をアユに付与していないものと考えられる。

【成果の活用】 今回使用した混合ワクチンは、シュードモナス病に対する高い液性免疫をアユに付与すると思われるが、冷水病に対してはシュードモナス病ほどではなかった。

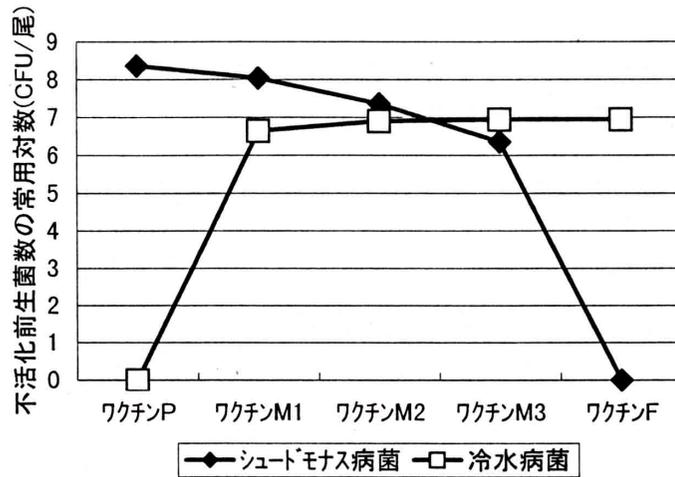


図1. 供試ワクチンに含まれるシュードモナス細菌および冷水細菌の不活化前生菌数

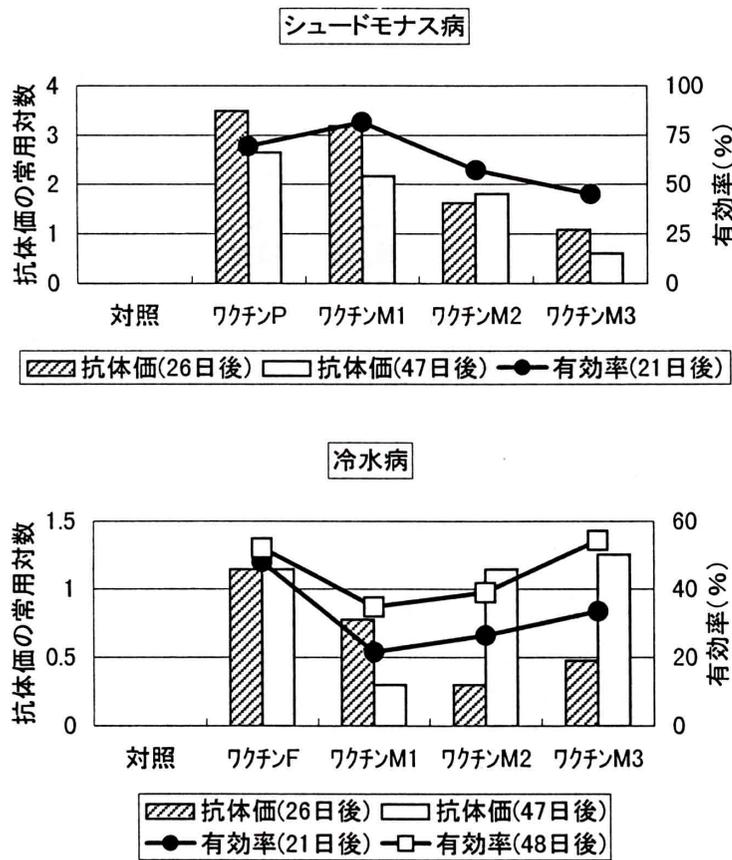


図2. 2価ワクチンで免疫したアユの血清中のシュードモナス細菌または冷水細菌に対する凝集抗体価と攻撃試験における有効率。
凝集抗体価はワクチン投与26日および47日後に測定
攻撃試験はワクチン投与21日および48日後に実施(シュードモナス病はワクチン投与21日後のみ実施)