

マダイイリドウィルス病に対するワクチンの開発

誌名	農林水産技術研究ジャーナル
ISSN	03879240
著者	中島, 員洋 前野, 幸男 真鍋, 貞夫 ほか1名,
巻/号	21巻3号
掲載ページ	p. 49-51
発行年月	1998年3月

マダイイリドウイルス病に対するワクチンの開発

中島員洋*・前野幸男**・真鍋貞夫***・小野耕一***

マダイイリドウイルス病に対する防除技術の確立を目的として、ワクチンの開発を行った。マダイイリドウイルス病に対するワクチンは、マダイイリドウイルス培養液にホルマリンを添加し、不活化し作製した。ワクチン液をマダイ1尾あたり0.1ml、腹腔内または筋肉内に接種して免疫した。その後、マダイイリドウイルスを腹腔内接種して攻撃後、マダイイリドウイルス病に対する防御能を検討した結果、室内実験では高い予防効果が認められた。

さらに自然環境下での有効性を確認するために野外試験を実施した。その結果、ワクチン未投与群が高い死亡率を示したのに対し、ワクチン投与群の死亡率は低く、本ワクチンの有効性が野外試験においても確認された。

本ワクチンは、海産養殖魚のウイルス病に有効なワクチンとしては世界で最初の例となる。また、本ワクチンの普及はマダイイリドウイルス病の効果的予防のみならず、養殖業の経営安定化等安全かつ安定的な養殖マダイの供給に寄与する事が期待できる。

はじめに

近年、我が国においてウイルスに起因する海産養殖魚の病気が産業的に大きな問題になっている。なかでもイリドウイルスによって惹起こされるマダイイリドウイルス病は1990年のマダイにおける発生以来ブリ、スズキ、カンパチ等20種類以上にのぼる養殖魚でその発生が確認されている¹⁾。また、その被害は稚魚から成魚の広範囲にわたり、産業的被害も甚大で、その防除策の開発は急務となっていた。

マダイイリドウイルス病の診断については、ギムザ染色による異形肥大細胞の検出やモノク

ローナル抗体を用いた蛍光抗体法による診断法^{2),3)}が確立されたが、本病に対する効果的な予防や治療は未だ開発されていない。淡水養殖魚のワクチンとしては、欧米で既にビブリオ病、せつそう病、レッドマウス病等の細菌性疾病に対するワクチンが、我が国においてもビブリオ病に対するワクチンが使用されており、ワクチンによる予防法が普及しつつある。北欧においては、ワクチン使用による抗菌剤使用量の激減等の効果が報告されている。しかしながら、これまで海産養殖魚のウイルス病に対するワクチンの開発については報告がなかった。そこで私達は、マダイイリドウイルス病に対する予防法を確立するために本病に対するワクチンの開発を行った。

Kazuhiro NAKAJIMA, Yukio MAENO, Sadao MANABE and Koichi ONO: Development of a vaccine against red sea bream iridoviral disease

1. マダイイリドウイルス病及び マダイイリドウイルスについて

1990年に四国で最初に養殖マダイに発生が確認されたマダイイリドウイルス病は、翌1991年以後も毎年夏の高水温期を中心に西日本の各地の養殖場で流行を繰り返し、産業的に大きな問題となっている。病魚は、体色が黒化して海面を力無く遊泳する。軽度の眼球突出や出血、体表の出血性のスレが観察されることもある。本病は病理学的検査、ウイルス分離及び感染実験の結果から、イリドウイルス科のウイルスが原因であることが明らかにされた⁴⁾。マダイイリドウイルスは直径が200~240nmで、ウイルス感染細胞質内には、六角形を呈した粒子状形態が多数、細胞によっては結晶状に配列して観察され、粒子内部には高電子密度のコアが観察される(写真1)。また、物理化学的性状解析の結果⁵⁾、ウイルス粒子サイズ等の形態学的特徴及び増殖部位等から本ウイルスは二本鎖DNAウイルスの一種のイリドウイルス科に属すると考えられている。当初、本ウイルスを継代培養できる株化細胞はなかったが、その後の研究でイサキの鰭より確立した株化細胞(以下GF細胞)にて継代培養可能細胞が可能となったことが明らかとなり、ウイルス培養、ウイルスの性状解析及びワクチンの調製等が可能となった。

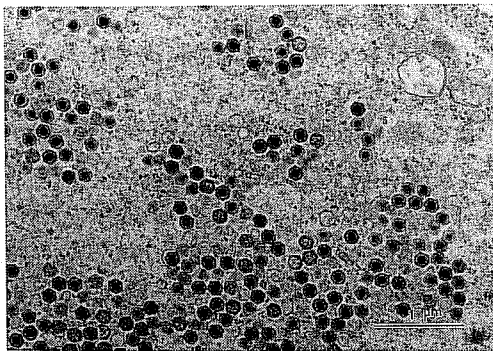


写真1 マダイイリドウイルス感染GF細胞内に観察されるマダイイリドウイルス粒子

2. マダイイリドウイルス不活化ワクチンの室内実験による効果の検討

イリドウイルスをGF細胞に接種し増殖させた後、ウイルス感染培養液から低速遠心で沈渣を除きウイルス浮遊液を得た。これにホルマリンを最終0.1%になるように加え、不活化ワクチンを作製した。ワクチンの投与方法はマダイ1尾あたり不活化ワクチン液0.1mlを腹腔内または筋肉内に注射し、10日間免疫した。その後、マダイイリドウイルスを腹腔内に接種、攻撃しワクチンによる防御能の誘導を検討した。その結果、腹腔内及び筋肉内接種により免疫した群はいずれも対照群(未投与)に比較して極めて低い死亡率を示し、本ワクチンの高い有効

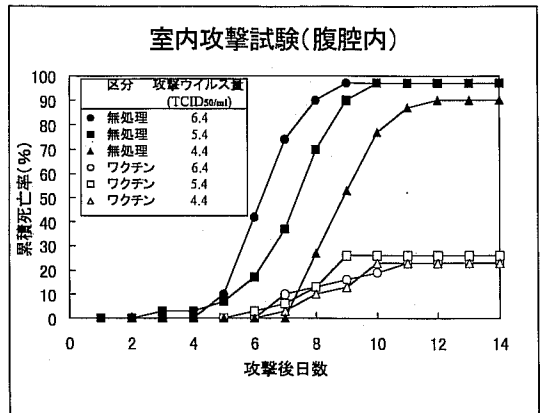


図1 室内実験結果(腹腔内接種による免疫)

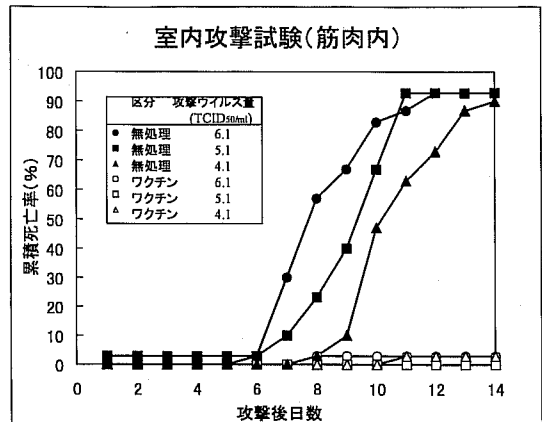


図2 室内実験結果(筋肉内接種による免疫)

性（予防効果）と安全性が証明された（図1，図2）⁶⁾。

3. 野外試験成績

上記のごとく室内実験ではワクチンの予防効果（有効性）及び安全性が示されたことから，さらに自然環境下におけるワクチンの有効性を調べるため野外試験を行った。養殖マダイにワクチン液を腹腔内に0.1ml接種し，接種後から12週間生簀で飼育し観察を行った。また，無投与対照群を隣接した生簀で同様に飼育した。対照群では投与4週間後から摂餌行動が鈍くなる魚が観察されるとともに，死亡魚が観察され始め，6～7週間目にピークに達した（図3）。ワクチン投与群では対照群の死亡魚のピークよりやや遅れ，投与後8週間後に小さなピークを示した。累積死亡率は，対照群で68.5%，投与

群では19.2%であり，RPS（有効率）は72%であった。なお，累積死亡率では，ワクチン投与群と未投与群との群間で統計学的に有意な差（ $p < 0.01$ ）が認められた。またワクチン投与後6週間目の平均魚体重はワクチン未投与群が30.8gであったのに対して，ワクチン投与群では35.6gであった。ワクチン投与群と未投与群間で統計学的に有意な差（ $p < 0.01$ ）が認められ，平均増体重からもワクチン投与群の成長が優れていることが示された。

おわりに

マダイイリドウイルス病に対して，極めて予防効果の高いワクチンの開発に成功した。今後はマダイイリドウイルスの感染により被害を受けている他の養殖魚種，例えば，ブリ，カンパチ等でのワクチンの有効性の検討が必要となる。さらにワクチン投与方法の検討，ワクチン中の有効成分の同定等の研究も引き続き行っていく予定である。本ワクチンの普及により，マダイイリドウイルス病に対する効果的な予防が可能となるとともに，海産養殖業の経営安定化等に大きく寄与するものと確信している。

(* 養殖研究所 病原生物研究室)

(** 養殖研究所 病原生物研究室)

(***財団法人 阪大微生物病研究会観音寺研究所)

文 献

- 1) 松岡他 (1996) 魚病研究 31 : 233-234
- 2) Nakajima K. and Sorimachi M. (1995) Fish Pathol. 30 : 47-52
- 3) Nakajima K. et al. (1995) Fish Pathol. 30 : 115-119
- 4) 井上 潔ら (1992) 魚病研究 27 : 19-27
- 5) Nakajima K. and Sorimachi M. (1994) Fish Pathol. 29 : 29-33
- 6) Nakajima K. et al. Fish Pathol. 32(4) : 205-209

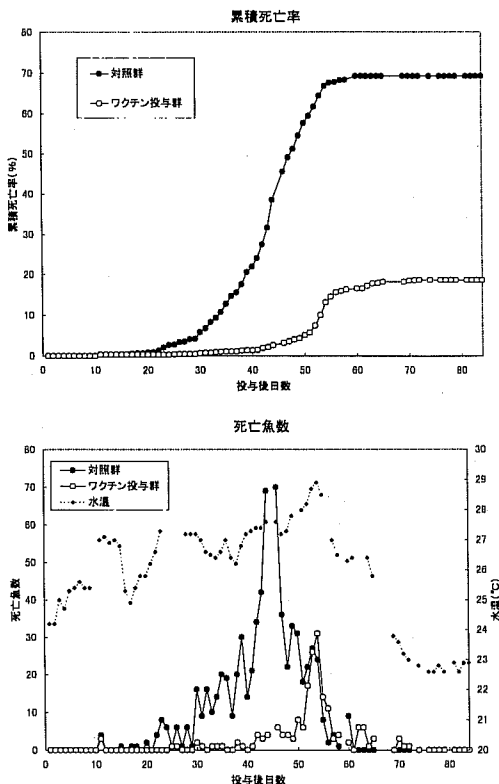


図3 野外試験結果