

## 蚕におけるウイルス接種時間および回数と感染価

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	古田, 要二 鮎沢, 千尋
巻/号	41巻5号
掲載ページ	p. 371-374
発行年月	1972年10月

## 蚕におけるウイルス接種時間および回数と感染価

古田 要二・鮎 沢 千 尋

東京都杉並区・農林省蚕糸試験場  
(1972年3月7日受理)

Yoji FURUTA and Chihiro AYUZAWA: Effects of the duration and the times of inoculation of virus on the infection to the silkworm, *Bombyx mori*

蚕のウイルス接種方法には、ウイルスを桑葉あるいは人工飼料に塗布して添食させるかあるいは嚙下による経口接種と、皮下注射による経皮接種とがある。ウイルス性軟化病の場合には、皮下注射も可能であるが、稚蚕期には技術的に困難であり、また5齢蚕では感染しにくい等によって主として経口接種による方法が用いられている。核多角体病の場合には、経口接種が容易であるため多く用いられているが、経口接種より経皮接種のほうが感受性が高く、かつ定量接種が可能であること、さらに蛹では上記の利点のほかに二次感染がさけられること等によって経皮接種が比較的多く行なわれている。

経口接種の場合には、ウイルスを食下させる時間によってウイルス接種量が異なってくるが、これが実験結果にどのような影響を与えるか、また経皮接種の場合に接種回数と発病率との関係を知る目的で、軟化病ウイルスおよび核多角体病ウイルスを用いて実験を行なった。

本文に入るに先だち、本稿のご校閲をいただいた小林勝利博士に深謝する。

### 材料および方法

#### 1. 経口接種による場合

接種病原としては、軟化病ウイルス(坂城株)を接種して得られた病蚕の10%乳液の10,000 rpm, 10分間の遠心上清(以下 FV と略す)および核多角体浮遊液(以下 NP と略す)の10倍階段希釈液を用いた。卵面塗布の場合には、1蛾採り蚕卵台紙に産下された孵化前日の催青卵を10等分し、それぞれにウイルスの各種濃度液を脱脂綿で塗布し、そのまま催青を続け、孵化した蛾蚕を1濃度区15頭に整理して飼育した。蛾蚕添食の場合は、桑葉の表裏にウイ

ルス液を塗布して陰乾後、日124号×支124号および日128号×支128号の蛾蚕に1濃度区15頭ずつ所定時間食下させた後新鮮な桑葉に移しかえた。添食日数が5日間の区においては、眠中を除いて5日間ウイルス塗布桑を食下させた。なお、飼育は27°Cで4齢までとした。

#### 2. 経皮接種による場合

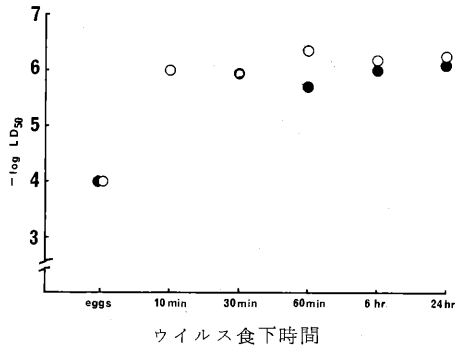
核多角体病蚕より採取した体液の3,000 rpmで10分間の遠心を2回行なった上清(以下 NV と略す)を接種ウイルス液とした。その10倍階段希釈液を、支122号(太)×日122号の5齢起蚕および蛹に1濃度区10頭ずつガラス毛細管によって注射した。1頭あたりの接種量は0.001 ml ないしは0.002 ml を12時間の間隔で1—4回注射した場合および1回に0.001 ml—0.008 ml 注射した場合とがある。5齢起蚕接種は化蛹まで、蛹接種は化蛾までそれぞれ26°Cで飼育し、LD<sub>50</sub>を求めた。

### 結 果

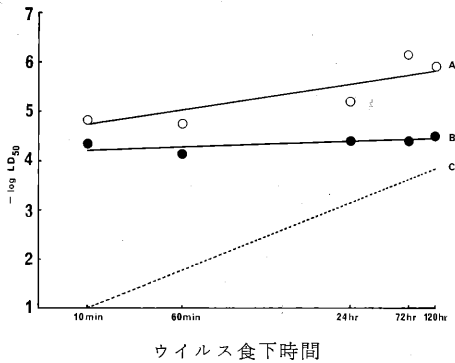
#### 1. ウイルス添食時間と感染価

FV を桑葉塗布により10分間—24時間食下させた場合には、第1図に示されるように10分間添食も24時間添食もその感染価にはほとんど差が認められなかった。

つぎに、FV および NP を用い、ウイルス添食時間をさらに3、5日間と長くした場合についてみると、第2図に示したように、NP では5日間食下させても感染価は10分間添食の場合とほとんど変らなかったが、FV の場合には3日および5日間添食したものは24時間以内のものよりやや高い感染価を示した。しかし、添食時間の10分間に対し、5日間は720倍となり、かりに常に同一速度でウイルスを



第1図 ウイルス食下時間と感染価(1)  
 ●第1回実験, 支124号×日124号, ○第2回実験, 日128号×支128号  
 Eggs: 催青卵塗布, 10分以上: 桑葉塗布, ウイルス: FV



第2図 ウイルス食下時間と感染価(2)  
 A: FV 桑葉塗布, B: NP 桑葉塗布, C: ウイルス食下時間の対数値,  
 供試蚕品種: 日124号×支124号

食下しているとすればウイルス食下量は720倍となるが、感染価においては約10倍の差にとどまっている。一方、蟻蚕60頭による10, 60分間および24時間の間における桑葉食下状態をみると第3図に示したように、24時間の食下量は10分間のその少なくとも100倍以上になっていることが確認された。

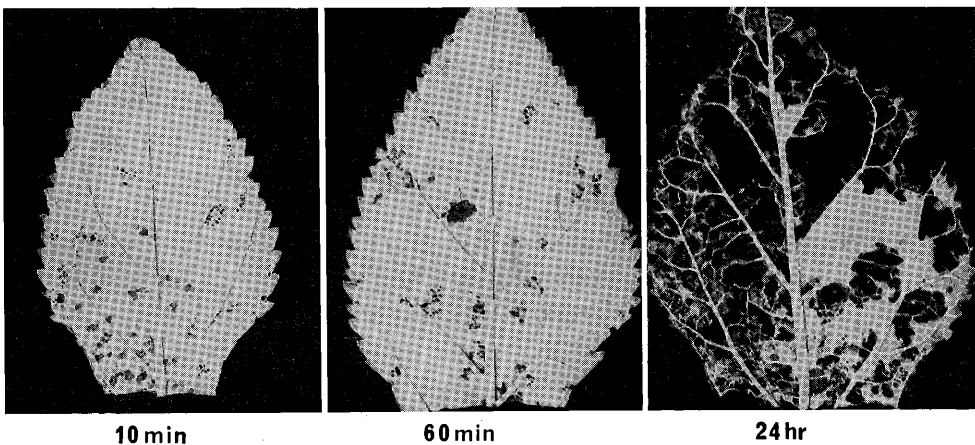
一方、桑葉にウイルスを塗布し24時間添食させている間のウイルス不活化の程度を知るため、FVを塗布した桑葉を24時間26°Cに放置した後、1日間冷蔵した同じ品種の蟻蚕に食下させたところ、塗布直後に食下した場合のLD<sub>50</sub>と全く差はみられなかった。このことから少なくとも24時間の範囲内ではウイルス活性の低下は無視できるものといえる。

第1表 催青卵塗布による感染価

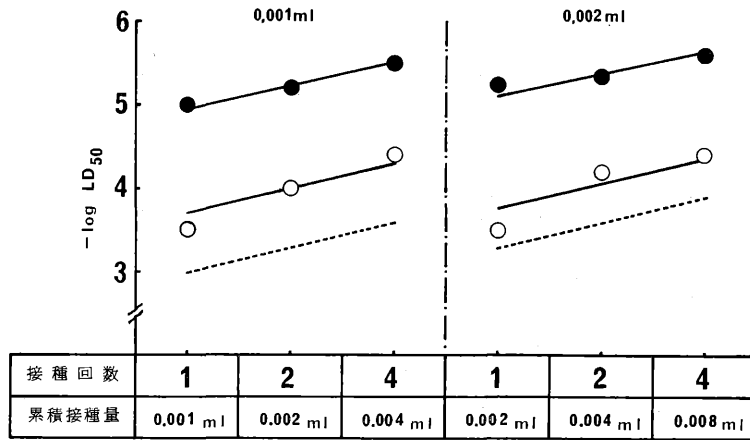
ウイルス濃度	第1回実験		第2回実験	
	供試頭数	病蚕数	供試頭数	病蚕数
10 <sup>-2</sup>	15	15	15	15
10 <sup>-3</sup>	15	14	15	13
10 <sup>-4</sup>	15	5	15	7
10 <sup>-5</sup>	15	3	15	2
10 <sup>-6</sup>	15	0	15	0
LD <sub>50</sub> (-log)	3.97		3.97	

ウイルス: 軟化病ウイルス

供試蚕品種: 第1回実験 支124号×日124号;  
 第2回実験 日128号×支128号

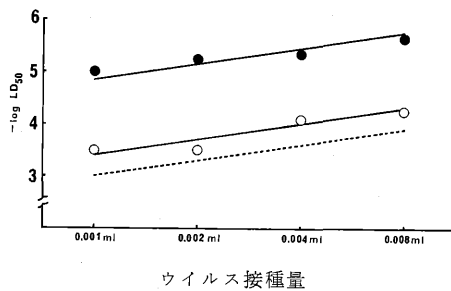


第3図 蟻蚕60頭が所定時間食桑した後の食下状態  
 日124号×支124号



第4図 NV 経皮接種における接種回数と感染価

○—○：5令起蚕に接種，●—●：蛹に接種，蚕品種：支122号（太）×日124号，……：累積接種量の対数値



第5図 NV 経皮接種における接種量と感染価

○—○：5令起蚕に接種，●—●：蛹に接種，蚕品種：支122号（太）×日124号  
……：接種量の対数値

FV を催青卵に塗布した場合には、第1表にみられるように桑葉塗布に比較し、いくぶん低い感染価を示した。

2. ウイルス接種量、回数と感染価

NV を1頭あたり1回の接種量が0.001, 0.002, 0.004 および 0.008 ml となるようにしてそれぞれ5齡起蚕および蛹に注射した場合には、第4図にみられるように感染価は接種量が多いほど高く、ウイルス接種量の対数とほぼ平行することが認められた。つぎに、NV 0.001 ml および 0.002 ml をそれぞれ1—4回接種した場合についてみると、第5図に示したように、この場合も接種回数が増えるほどすなわち量が多くなるほど感染価は高く、累積

接種量の対数値に平行した感染価を示した。

考 察

ウイルスを桑葉塗布により経口接種した場合には、蚕児のウイルス塗布桑葉食下時間が長くなっても感染価はほとんど増大せずその増大は桑葉上のウイルス濃度すなわち単位時間に食下するウイルス量に関係していることが示された。一方、経皮接種を行なった場合には、ウイルス接種回数が増えるにたがって感染価も高くなる。すなわち、感染価は累積接種量に関係していることが示された。この両者の差異の原因については多々あるが、経皮接種では活性ウイルスが体液中で累積され、経口接種ではウイルスを長時間食下させても体内で活性のウイルスが累積されないとも考えられる。ところで、口から入ったウイルスは、宿主細胞での感染成立に至る過程で、宿主の種々の生体防御機構の抵抗を受ける。たとえば、消化液のウイルス不活化作用<sup>1,2,4,5,6</sup> および腸壁への侵入過程で抵抗などがある。なお、このことは細胞質多角体病についても知られている<sup>8</sup>。ところで、経口接種の場合には桑葉にウイルスが均一に塗布されているとして、蚕児の食下速度に多少の緩急があるとしても、一度に食下される桑葉量は限られており、したがって、腸管内では常に一定量のウイルスと一定量の消化液と接触しその不活化作用を受けることになる。この場合、腸管内に入って

くるウイルス量がたとえ消化液で不活化できる限界量以下であるならば、ウイルスが連続的に入ってきててもすべて不活化されるが、不活化限界量以上であるならば、不活化をまぬがれることになる。そして、不活化をまぬがれたウイルスはさらに腸壁侵入の場面でつぎの抵抗をうけることになる。いったん体液に侵入したウイルスについては経皮接種の場合と同様な過程を辿るものと考えられる。ところで、体液内における生体防御機構や侵入ウイルスの存在様態、生存期間等はずまびらかでなく、立入った論議はできないが、接種ウイルスの累積量と  $LD_{50}$  が平行的関係を示すことから、少なくとも本試験に設定した条件の範囲内では、経皮接種による感染成立は接種ウイルスの累積量によって支配されるものと推論される。

### 摘 要

ウイルス性軟化病のウイルス (FV) および核多角体 (NP) の経口接種時間の長短、核多角体病 蚕体液の遠心上清 (NV) の経皮接種の接種回数等と感染価との関係についての実験を行なった。

1. FV の桑葉塗布による接種では、10分間添食による感染価に比し、24時間添食では差がなく、5日間添食でもわずかな上昇にとどまった。NP の桑葉塗布による接種では、10分間添食による感染価に比し、5日間添食してもほとんど差はみられなかった。

2. FV の催青卵塗布によっても高い感染価を示し、この方法も接種法として有用であることが認められた。

3. 一定量の NV を 2—4 回に分けて、12時間間隔で経皮接種した場合の感染価は、累積ウイルス量を一度に接種した場合の値と一致した。

4. 以上のようにウイルスを連続的に接種した場合の発病に対する影響が、経口接種と経皮接種とによって異なる理由について考察した。

### 文 献

- 1) 鮎沢千尋・古田要二 (1966): 日蚕雑, **33**, 66-70.
- 2) Arizawa, K. (1962): J. Insect pathol., **4**, 72-76.
- 3) 鮎沢啓夫・古田要二・倉田啓而・佐藤文子 (1964): 蚕試報, **19**, 223-240.
- 4) 林屋慶三・西田 順・松原藤好 (1968): 応動昆, **4**, 189-193.
- 5) 向井純一郎・武谷立子・稲益正徳・阿久根了 (1969): 日蚕雑, **38**, 437-443.
- 6) 松原藤好・林屋慶三 (1969): 日蚕雑, **38**, 43-48.
- 7) 田波 洋・般田敏夫・松尾 直 (1969): ウイルス, **19**, 128-136.
- 8) 渡部 仁 (1966): 日蚕雑, **35**, 441-417.