

# 「三重のマハタ」高品質・早期安定種苗生産技術開発事業Ⅲ ウイルス性神経壊死症ワクチン開発試験

田中真二・羽生和弘・辻 将治

## 目 的

マハタの種苗生産および養殖において大きな被害を及ぼしてきたウイルス性神経壊死症（VNN）に対しては、親魚の選別や卵消毒、殺菌海水での飼育により、種苗生産段階での対処は可能になっている。しかし、こうして生産された種苗では、養殖のために沖出しされた直後からVNNによる死亡が多発しており、養殖段階での本症の防除対策が望まれている。本研究では、沖出し前のマハタ種苗にワクチン処理を施し、本症を予防する技術を確認する。

## 材料および方法

本試験では、ワクチンとして、本症の原因ウイルスであるマハタ由来ベータノダウイルスSGMie95株の大腸菌組み替え外皮タンパクを用いた。過去の研究において、本ワクチンを2回注射投与した場合の有効性が明らかにされていることから、本試験では、注射ワクチンの接種回数と有効性の関係を調べる人為感染試験を行った。平均体重120gのマハタを6個の100Lアクリル水槽に25尾ずつ収容し、2水槽ずつワクチン2回接種区、ワクチン1回接種区および対照区とした。これらのマハタを25℃で1週間水温馴致後、ワクチンを腹腔内接種した。ワクチン2回接種区では、1尾あたり50  $\mu$ g/0.1mLのワクチンを10日おきに2回接種した。1回接種区では、1尾あたり100  $\mu$ g/0.1mLのワクチンを1回接種し、10日後にはリン酸緩衝液（PBS）を0.1mL/尾接種した。対照区では、10日おきに2回、PBSを0.1mL/尾接種した。ワクチン処理期間中は毎日1回、日間給餌率1%で市販のエクストルーダーペレット（EP）を給餌した。1回目のワクチン接種から20日後に、E 11細胞で培養したSGMie95株ウイルスを筋肉内接種（104.5TCID<sub>50</sub>/尾）により感染させ、引き

続き日間給餌率1%でEPを給餌し、水温25℃で14日間死亡状況を観察した。死亡魚については、脳のパラフィン切片を作製し、ウサギ抗SJNNV（シマアジ型神経壊死症ウイルス）血清を用いた間接蛍光抗体法により、VNNによる死亡であることを確認した。なお、各試験設定の2水槽を合わせて1試験区50尾とし、累積死亡率の試験区間差をTukeyの多重比較法により検定した（ $\alpha = 0.05$ ）。

## 結果および考察

各区の死亡率を表1に示す。各試験設定の2水槽間で死亡率に大きな差はなかったため、2水槽を合わせて各試験区50尾として死亡率を算出すると、対照区の死亡率は50%と高かったのに対し、ワクチン1回接種区は18%と対照区より低く、2回接種区はさらに低い2%であり、各試験区間に有意差が認められた。このことから、大腸菌組み替えタンパクワクチンを注射投与する場合、1尾あたり100  $\mu$ g/0.1mLのワクチンの1回接種で有効性が認められるものの、1尾あたり50  $\mu$ g/0.1mLのワクチンを10日おきに2回接種する方がより高い有効性が期待されることが示された。

表1 ワクチンの接種回数と有効性

試験区(ワクチン 接種回数)	死亡率(%)	
	水槽別	合計
2回	4	2 <sup>a*</sup>
	0	
1回	20	18 <sup>b</sup>
	16	
対照区	52	50 <sup>c</sup>
	48	

\*異符号間に有意差あり（ $p < 0.05$ ）