

## 一一 ワクチン開発に関する研究

### ワクチン開発研究の略歴

魚類も人と同じように一度病気にかかると二度目にはかかりにくくなることからワクチンが有効であることが判っていたが、六〇年代にはニジマスの免疫に関する研究の結果、ワクチンの実用化は困難であるという考え方が強かった。七〇年代になって、食塩水など体液より浸透圧の高い液中に漬けた後で蛋白質が魚体内に吸収されることが明らかになってから、浸漬ワクチン投与方法（ワクチン液に魚体を浸す方法）の開発が進み、サケ科魚類のビブリオ病ワクチンの有効性が明らかになった。徳島県におけるビブリオ病ワクチンの開発も、一九七八年高知大学とアユビブリオ病ワクチンの共同研究により本格的に開始された。七〇年代後半は、こうしたワクチン研究の進展と同時に、七三年以降葉が効かないビブリオ病が養殖アユに大きな被害をもたらしたことから、ビブリオ病ワクチン実用化に向けた全国的な研究体制が組織された時期であった。こうした組織的な試験研究の結果、八二年以降は基礎的試験を終了して試験用ワクチンによる養殖施設を用いた産業規模での試験が行われ、八八年にアユビブリオ病ワクチンが水産用ワクチン第一号として承認された。

### その他のワクチン開発研究

アユビブリオ病ワクチン実用化の手法をモデルとして、その他の魚病ワクチンの開発試

験が進められた。八五年にはブリの類結節症ワクチンの実用化試験が始まり九六年まで様々な試験が続けられた、また、同年ウナギのバラコ口病ワクチンの有効性を評価するための試験が行われた。アユのビブリオ病はワクチンの普及とともに発生件数が減少し、九〇年代になると冷水病とシユードモナス病という新たな病気が養殖場で流行し、被害が増加していった。九四、九九年の六年間で、全国の水産試験場が診断したアユの魚病発生件数に占める二つの病気の比率は、冷水病が約三五パーセント、シユードモナス病が約一八パーセントにのぼっている。こうしたことから、九六年以降シユードモナス病が、九九年以降には冷水病のワクチン開発研究に取り組んでいる。

### アユのビブリオ病ワクチンの開発

#### 浸漬ワクチンの開発

前述したように、七四、七五年に高知大学と共同研究が行われ、経口ワクチン（餌に混ぜて魚に食べさせるワクチン）の種類、投与する量と期間、効果の持続性などが明らかにされた。次に、ワクチンの開発には欠かせない効果の判定方法を確立する研究が取り組まれ、ビブリオ病原因菌を懸濁した菌液に試験魚を漬けて感染発病させ、死亡率の高低でワクチンの効果を判定する方法が開発された。この方法は浸漬攻撃法と言われ、病原菌を一パーセント食塩水で一ミリリットル当たり百万細胞の濃度に調整し、この中に試験魚を三、五分間入れておくというものであった。体重二グラム以上の健康なアユであればビブリ

オ病に感染し、死亡率、死亡日数に差がないこと、病死するのは処理後一〇日までであることが明らかになった。ワクチンの投与方法として、養殖場で簡単に実施できる浸漬法（ワクチン液に魚を浸す方法）が開発された。この方法では、ワクチン液（液体培地で培養した病原菌液にホルマリンを混ぜたもの）の濃度にもよるが、四〇秒から六時間浸漬すればその後六日目以降には十分なワクチンの効果が期待できる。

#### ワクチンの使用方法の改善と海産魚への適用について

その後、ビブリオ病ワクチンを養殖現場で使いやすくするために、小さなアユ（三グラム以下）を低い濃度のワクチン液に長い時間浸漬する方法に関する試験が行われた。この方法であれば、アユの種苗を輸送する過程で活魚水槽の中で浸漬ワクチン処理が可能になり、標準法（一〇倍希釈ワクチン液に二時間浸漬）に比べて大幅な作業の軽減が可能になる。試験場内と養殖現場での確認試験が八六年から九一年まで行われた結果、五〇〇倍希釈ワクチン液に六時間浸漬する方法では効果が低かったが、五〇・二〇〇倍に希釈して一〇分間浸漬した場合は二ヶ月間標準法と同等の効果があることがわかった。最終的に一〇〇倍希釈一〇分間浸漬法の有効性を、養殖池を使った産業規模での試験で確認している。

イケスなどで海産魚の稚魚を飼育していると、ビブリオ病に感染して死亡することがある。九二年にマダイ、ヒラメ及びトラフグ稚魚に、アユのビブリオ病ワクチンを一〇〇倍希釈一〇分間浸漬法により投与して有効性を調べている。その結果、ワクチンを投与して一ヶ月後にマダイ稚魚で明確な効果が認めら

れた。ヒラメ稚魚でも有効性が認められたが、効果の持続期間はアユの場合よりも短い。

### ブリの類結節症ワクチンの研究

類結節症は死亡率の高い病気で、主にその年に生まれたブリ稚魚（モジャコと呼ばれる）が六月から九月頃に発病する。六九年以降西日本のブリ養殖場で大きな被害をもたらすようになった。類結節症ワクチンの研究は八五、八九年の五年間行われたが、ヒブリオ病ワクチンと同じ方法で作成した浸漬ワクチンでは効果がなかった。病原菌が病気を引き起こすメカニズムは菌の種類によって違つので、魚が体内の病原菌を認識して攻撃する方法も異なる。この「認識して攻撃する力」を強めるのがワクチンの効果であり、その製法や投与方法を病原菌により研究し工夫することが必要になるのである。一連の研究により、ワクチン開発のヒントになる事実が明らかになった。浸漬攻撃試験の結果、攻撃菌液に試験魚を入れる密度を高くしたり、網で試験魚をすくう行為を伴なうことによつて生き残る魚の割合は増加することがわかった。このようにストレスを与えることでモジャコは発病しにくくなることから、試験魚が病気に感染しやすさを同じにするためには、飼育槽から網ですくつて浸漬攻撃をするまでの時間経過を一定にする必要がある。類結節症原因菌を人工的に培養した場合、七十二時間までなら培養時間が長いほど病原性が強くなった。ブリの血液の血清は細菌を殺す働きがあるが、病原性のある菌株は血清に対する抵抗性があり増殖が活発な時の抵抗性は特に強い。致死量より低い濃度の菌液に試験魚を浸して殺さず

に類結節症に感染させると、体内の異物を除去する働きのある白血球や貪食細胞が腹腔内で増加すると同時に活性化していることが明らかになった。前述のようにストレスを与えたときにも、二四、四八時間後に同様の現象が魚の腹腔内で起こっていることが確認されている。白血球や貪食細胞の増加と活性化が腹腔内だけでなく他の組織でも起こり、魚体内に侵入した病原菌を攻撃して病気にかかりにくくしていることが推察できる。その後ワクチンの作成に工夫が加えられ、九五年には細菌由来の物質（リボポリサツカライド）を添加することによりワクチン効果を高める試験、九六年には類結節症原因菌が生産する物質に毒性があることからこの物質を化学的に無毒化したものをワクチンとして用いる試験が行われた。

### アユのシュードモナス病ワクチンと冷水病ワクチンの研究

細菌による魚の病気に対しては薬を餌に混ぜて与えて治療するが、細菌が耐性を持つようになつて次第に薬が効かなくなる。アユのシュードモナス病はこうした薬剤耐性化が進み、薬による治療が困難な病気であることからワクチンの開発が必要であった。九六年にヒブリオ病ワクチンと同じ方法で作成したシュードモナス病浸漬ワクチンは有効性が認められなかったが、翌年に一〇、一〇〇倍濃度が高いワクチンを投与したところ、投与後一四、六〇日の期間有効性が認められた。しかし、原因菌を培養した液体培地にホルマリンを混ぜて不活化した菌体ワクチンでは効果が安定しないことから、ワクチン効果促進物質（アジュバンド）を添加する試みが行われ

た。九九年には、植物オイル製の物質を添加したワクチン液を、アユの腹部に注射する方法が行われ高い効果が得られた。アジュバンドを添加するとワクチンが魚体内に長くどまることにより効果の持続期間が長くなるが、このことはワクチン物質が残留することにはかならず食品衛生的な観点から問題が指摘された。

九四年に全国湖沼河川養殖研究会、アユ冷水病研究会が発足し、関係県が共同で冷水病対策に取りくむようになった。九九年には、冷水病ワクチンの共同試験が本県も参加して行われた。不活化ワクチンに二種類のアジュバンドを添加したワクチンを腹部に注射したところ、一種類のアジュバンドを添加した場合に有効性が認められた。

（湯浅 明彦）



アユの養殖場