

Babesia gibsoni 症のワクチン開発

Development of Babesia gibsoni vaccine

須永藤子, 斉藤康秀, 志村純子

麻布大学獣医学部

Fujiko Sunaga, Yasuhide Saito, Sumiko Simura

School of Veterinary Medicine, Azabu-University

Abstract. For trying to make live vaccine, the virulence of Oita isolate of *Babesia gibsoni* was attenuated by 900 passages in microaerophilus stationary phase (MASP) culture. Two dogs inoculated with the attenuated parasites did not elicit any clinical sign, but seroconverted.

Two inoculated dogs were challenged with the virulent *B. gibsoni* isolate at the 60th day after inoculation. None of the inoculated dogs developed fever, but they showed low PCV depression and low parasitemia. The control dog challenged with the virulent isolate showed high fever (more than 40 °C), severer PCV depression, and high parasitemia.

These results suggested that the attenuated isolate was safety and effectivity as live vaccine.

1. 目的

Babesia gibsoni は犬に対して溶血性貧血を引き起こす住血原虫であり, 感染犬は重篤な症状を示し死亡するものもある。しかし, この疾病に対するワクチンは開発されていない。牛のバベシア症ではオーストラリアで摘脾子牛を用いて急速継代した *Babesia bovis* 生ワクチンが40年近く使用されている¹⁾。また, *B. divergens* の継代培養による弱毒化の研究もおこなわれている²⁾。我々は *B. gibsoni* 原虫の長期培養法を確立し, 400代培養原虫の生ワクチンとしての可能性を報告した³⁾。今回さらに病原性がなく, 免疫原性がある原虫を作出するために900代継代培養し, その病原性と発症防御効果について検討した。

2. 材料と方法

1) 原虫

B. gibsoni 大分株: 当研究室でイヌを用いて継代維

持している株

B. gibsoni 培養株: 大分株を培養馴化した株

2) 培養継代方法

感染赤血球 (parasitemia 1-2%) の最終濃度が10%になるように0.25% AlbMax加RPMI1640培養液を加え, 2mlずつ12穴プレートに分注し, 5% CO₂, 37°Cでインキュベートし, 毎日培養上清1mlを等量の培養液と交換した。3日目ごとに parasitemia が1-2%になるように犬赤血球を加えて継代し, 同様に培養した。

2) 培養原虫株の病原性の変化

900代継代培養した原虫の病原性を調べるために, 900代培養原虫10⁹個をビーグル犬2頭の静脈内に接種し, 原虫感染赤血球率, PCV値, 体温および間接蛍光抗体法(IFAT)で *B. gibsoni* 抗体価を測定した。

3) 培養原虫株の発症防御効果の検討

900代培養株の発症防御効果を検討するために, 培養原虫接種後60日目に10⁹個の *B. gibsoni* 大分株で

攻撃感染し、同時に対照として1頭のビーグル犬に同量の原虫を接種した。実験期間は攻撃感染後40日間とし、検査は上記と同様の項目を行った。

3. 結果および考察

1) 培養原虫株の病原性の変化

900代培養原虫を接種した2頭はPCV値および体温に変化は認められず、原虫はNo.1の6日目に観察されたのみであった。また、IFATは640倍と1280倍を示した。元気食欲に変化は認められなかった。900代培養原虫は以前報告した大分株および200代培養原虫³⁾に比べ、明らかに病原性が低下した。また、400代培養原虫に比べ、原虫感染赤血球率および原虫の出現頻度が低下した。また、抗体価は大分株、200代および400代培養原虫を接種した実験犬に比べ、低い値を示した。

これらの結果から、900代培養原虫は犬に対して病原性を示さず、免疫原性があることが明らかとなったので、さらに、この培養原虫の発症防御効果を検討するために攻撃感染を行った。

2) 900代培養原虫の発症防御効果

900代培養原虫で免疫後60日目に*B. gibsoni*大分株で攻撃感染したところ、感染を防御することはできなかったが、原虫の増殖及び貧血、発熱(40℃以上)は対照犬に比べ、明らかに抑制された。

Fig 1に示したとおり、原虫の増殖は対照犬が原虫

感染赤血球率10%以上を示したのに比べ、免疫群2頭の原虫感染赤血球率は1%前後の低い値で推移し、回復した。また、対照犬は重度の貧血を示し、PCV値は20%以下が15日間続き、実験終了時まで回復することはなかった。一方、免疫群のPCV値は最低値35%を示したのち回復し、実験終了時には42%及び46%を示した。体温は対照犬では長期間の発熱が認められたが、免疫群では発熱はほとんど認められなかった。

IFAT抗体価は攻撃感染後速やかに上昇し、免疫群は20,480倍を対照犬は5,120倍を示した。

これらの結果から900代培養原虫は400代培養原虫に比べ、犬に対して病原性がなく免疫原性があり、強い発症防御効果があることが明らかとなった。

4. 要約

900代培養原虫株は犬に対して病原性がなく免疫原性があり、*B. gibsoni*感染に対して強い発症防御効果があることが明らかとなった。

文献

- 1) Callow, L.L., Mellors, L.T. Int. J. Parasit. 9. 333-339 1979.
- 2) Winger, C. M., Res. Vet. Science 46, 110-113. 1989.
- 3) Sunaga F, Namikawa K, Kanno Y., J Vet Med Sci 64: 571-575, 2002.

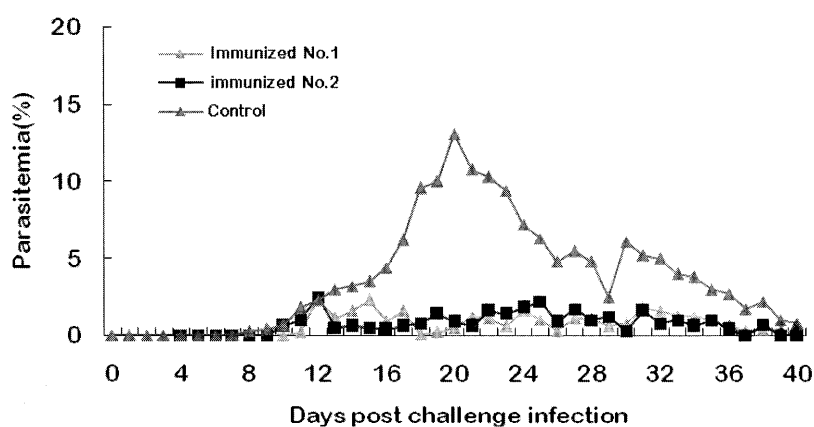


Fig 1. Parasitemia observed on the attenuated isolate immunized and control dogs after challenge infection.