

Babesia gibsoni 症のワクチン開発

Vaccines against Babesia gibsoni

須永藤子, 斉藤康秀, 並河和彦

麻布大学

Sunaga F., Saito Y., Namikawa K.

Azabu University

Abstract. The antigen was made by concentrating the supernatant of *B.gibsoni* culture medium with the ultrafilter, and was divided into F1 and F2 by ion exchange chromatography. These antigens were subcutaneously injected to two female one-year old beagles respectively, and were examined for immunogenicity by the indirect fluorescent method for 60 days after the inoculation. The antibody showed a titer of 1,280 all four in dogs. Then, two groups of dogs inoculated with F1 and F2 antigens respectively were challenged with the virulent *B.gibsoni* isolate, and F1 antigen group compared with F2 antigen group in the preventive activity of the attack with such indexes as the preventive rate of the multiplication of parasites, anemia and pyrexia. Consequently, the suppressive effects of the multiplication of parasites and pyrexia were recognized in both groups, especially the suppressive effect of anemia was excellently observed in the F1 antigen group.

These results suggested that the F1 antigenic substance in the supernatant of culture medium had an effective activity as inactivated vaccine.

1. 目的

B.gibsoni は犬に溶血性貧血を引き起こす住血性原虫で、ワクチンによる予防法の確立が望まれている。我々は *B.gibsoni* の培養継代株の作出に成功し、この原虫株の培養上清中に存在する抗原物質が有望なワクチン候補であることを報告した^{1,2)}。しかし、培養上清中には多数の抗原物質が含まれており、有効な抗原物質は特定されていない。そこで、有効な抗原物質を特定する目的で、原虫培養上清をイオン交換クロマトグラフィーで2つの成分に分け、それぞれの抗原の防御免疫効果を検討した。

2. 材料と方法

培養上清抗原は *B.gibsoni* 培養上清を限外濾過膜で

濃縮し作製し、これをイオン交換 (DEAE Sepharose) クロマトグラフィーを用い、0.15M NaCl 加 20 mM Tris-HCl (pH7.4) 緩衝液で溶出した分画液 (F1) と次に 0.5M NaCl 加 20 mM Tris-HCl (pH 7.4) 緩衝液で溶出した分画液 (F2) に分け、それぞれを濃縮して準備した。実験には1歳雌ビーグル犬6頭を用いた。F1およびF2に QuilA を加え、それぞれ2頭の犬に20日おきに3回、頸部皮下に投与し免疫した。両免疫群の防御免疫効果を見るため、1回目の免疫後60日目に *B.gibsoni* 感染赤血球 2×10^8 個で攻撃感染を行った。対照群2頭には同量の *B.gibsoni* 感染赤血球を接種した。検査項目は原虫感染赤血球率、PCV、体温および *B.gibsoni* 抗体価とした。

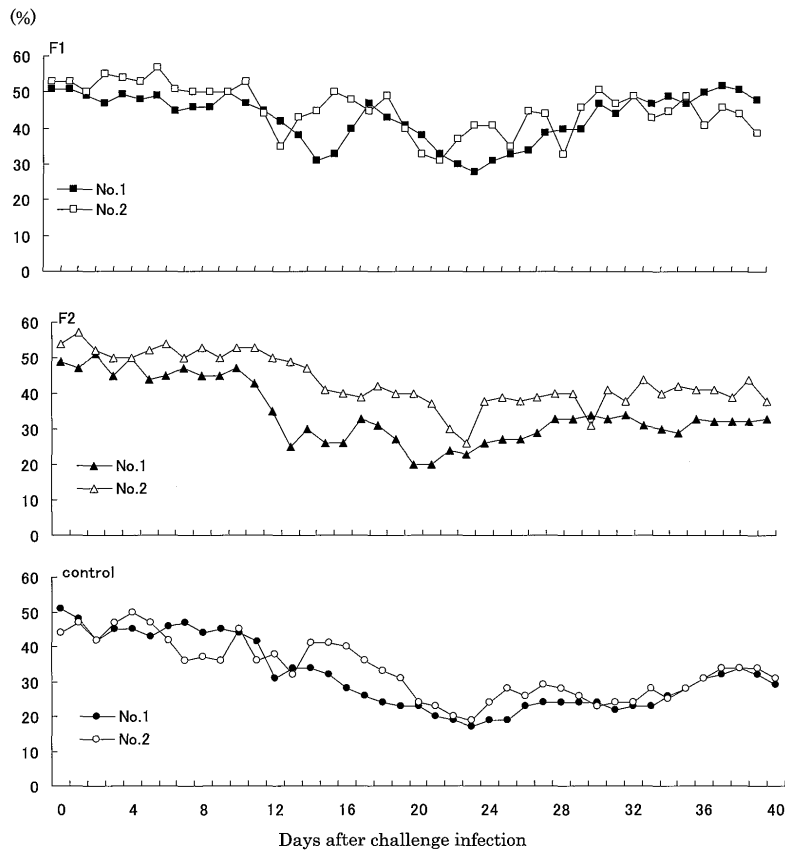


Fig 1. The effect of immunization with F1 and F2 antigens on PCV after challenge infection (day 0). F1 No.1: ■, No.2: □. F2 No.1: ▲, No.2: △. Control No.1: ●, No.2: ○.

3. 結果および考察

4. 要約

B.gibsoni 抗体は両免疫群ともに16から20日目に抗体が認められ、攻撃感染時には1280倍であったが、攻撃感染後には20,480倍まで増加した。抗体価については両免疫群に差は認められなかった。ワクチン効果を判定するために、強毒株で攻撃感染し、特徴的な*B.gibsoni* 症状である発熱、貧血および原虫数の増加を指標に検査したところ、両免疫群ともに40℃以上の発熱期間は対照群に比べ1/5以下となり、著明な発熱抑制効果が認められた。また、原虫の増殖および貧血の抑制効果も両免疫群ともに対照群に比べ認められたが、F1免疫群がF2免疫群に比べ、貧血抑制効果が強く認められた (Fig 1)。これらの結果から今回イオン交換クロマトグラフィーで*B.gibsoni* 培養上清抗原を2つに分けたが、両方の成分中にワクチン候補となる抗原が存在していることが明らかとなり、さらに、F1成分中により有効なワクチン候補となる抗原が存在することが示唆された。

B.gibsoni 原虫の培養上清中に存在する抗原物質が有望なワクチン候補であることをすでに報告したが、培養上清中には多数の抗原物質が含まれており、有効な防御抗原物質は特定されていない。そこで、防御抗原を特定する目的で、原虫培養上清をイオン交換クロマトグラフィーで2つの成分に分け、それぞれの抗原の防御免疫効果を検討した。その結果、両免疫群ともに対照群に比べ、原虫の増殖、貧血および発熱が抑制されたが、F1免疫群の貧血抑制効果はF2免疫群に比べ優れていた。これらの結果からF1成分中により有効なワクチン候補となる抗原が存在することが示唆された。

文献

1) Sunaga F, Namikawa K, Kanno Y, Continuous *in vitro* culture of erythrocytic stages of *Babesia gibsoni* and virulence of the cultivated parasite. J Vet Med Sci 64:

- 571-575, 2002
- 2) 須永藤子, 杉山大樹, 柏原さやか, 小久保聖子, 早瀬理恵, 並河和彦, 菅野康則. *Babesia gibsoni* 培養上清抗原および培養メロゾイト抗原の防御免疫効果. 獣医寄生虫学雑誌. 2: 65, 2003