

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 山 本 欣 也

豚丹毒菌は、養豚業界に多大な経済的損失を与えている豚丹毒の原因菌である。本菌の薬剤感受性については、サルファ剤及び一部のアミノグリコシド系薬剤を除くほとんどの化学療法剤に対して高い感受性を持つことが知られおり、近年、数種類の薬剤に対する耐性株の出現が報告されてきている。しかしながら、本菌の薬剤耐性機構については未だ解明されていない。

そこで、本研究では、豚丹毒菌野外株の薬剤感受性を疫学的観点から検討を行い、最も高率に耐性株が出現していたテトラサイクリンに対する豚丹毒菌の薬剤耐性機構の解明を試みた。さらに、テトラサイクリン耐性株の病因学的意義についても検討を加えた。

第1章 豚丹毒菌野外分離株の薬剤感受性

1988年から1998年の間に豚丹毒に罹患した豚から分離された豚丹毒菌214株の薬剤感受性を調べた結果、ペニシリン系薬剤、ニューキノロン系薬剤及びタイロシンに対して極めて高い感受性が認められた。また、既に耐性株の出現が報告されているジヒドロストレプトマイシン (DSM)、エリスロマイシン (EM) 及びオキシテトラサイクリン (OTC) に対する耐性株の他に、クリンダマイシン (CLDM)、リンコマイシン (LCM) 及びドキシサイクリン (DOXY) に対する耐性株の出現が確認された。特にOTCに対しては50%以上の114株が耐性株であり、血清型、由来及び分離年度に関わらず高率に分離された。

また、飼育イノシシの敗血症例から分離された豚丹毒菌の薬剤感受性を調べた結果、豚由来株と同様に、DSM、LCM、OTC及びDOXYに対する耐性株が確認された。また、その血清型は通常病豚から分離される1a型と2型であり、マウス及び豚に対して病原性を示したことから、飼育イノシシ由来豚丹毒菌が、豚における豚丹毒において病因学的意義を持つことが示唆された。

第2章 豚丹毒菌のテトラサイクリン耐性機構

豚丹毒菌において最も高率に耐性株が出現しているテトラサイクリン (TC) に対する耐性機構の解明を試みた。

TCからリボソームを保護するribosomal protection proteins (RPPs) の遺伝子を検出するPCRをもとに、豚丹毒菌KY-5-42株のTC耐性遺伝子の解明を試みた結果、1920塩基対からなるTC耐性遺伝子の全塩基配列を決定した。この遺伝子の塩基配列及び予想されるアミノ酸配列と既知のRPPsのそれらとを比較した結果、*Enterococcus faecalis*由来のtet(M) 遺伝子と99%の相同性を示し、豚丹毒菌のTC耐性遺伝子はtet(M) 遺伝子に分類された。また、この遺伝子を大腸菌において発現させた結果、大腸菌にTC耐性を賦与できることが確認されたことから、豚丹毒菌においても、この遺伝子によ

り TC 耐性が賦与されたことが示唆された。

さらに、TC 耐性の豚丹毒菌野外分離株 114 株における *tet(M)* 遺伝子の保有状況を PCR により調べた結果、全ての株から特異的な PCR 産物が検出され、この遺伝子が既に野外の豚丹毒菌株に広く分布していることが示唆された。

第 3 章 豚丹毒菌テトラサイクリン耐性株の病因学的意義

オキシテトラサイクリン (OTC) を含む 5 種類の抗生物質を飼料添加物 (成長促進目的) または飼料添加剤 (治療目的) として規定されている濃度で添加した飼料を給餌した豚における、豚丹毒生ワクチンの免疫効果を調べるとともに、テトラサイクリン (TC) 耐性豚丹毒菌株の病因学的意義について検討した。

5 種類の抗生物質を飼料添加物としての濃度で添加した飼料を豚に給餌した場合、ワクチンの効果に影響は認められなかった。一方、OTC を飼料添加剤としての濃度で添加した飼料を豚に給餌した場合、ワクチン接種により強毒株からの感染防御は成立したが、ワクチン効果の指標であるワクチン接種局所の発疹の発現が遅延し、その持続期間も短縮され、さらに抗体応答も抑制されたことから、ワクチンの免疫効果が抑制されることが示唆された。また、OTC を飼料添加剤としての濃度で添加した飼料を給餌したワクチン無接種豚に対して、強毒の TC 感受性株の病原性は低下したが、強毒の TC 耐性株は急性経過で豚を死亡させたことから、TC 耐性株は、TC を恒常的に摂取している豚の体内においても発育が阻害されず、その病原性を発揮することが示唆された。

以上本論文は、ワクチンの免疫効果を抑制させることが示唆された TC を恒常的に大量に使用している現在の豚の飼養形態において、TC 耐性株が重要な病因学的意義を持つことを明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) 論文として価値あるものと認めた。