

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 秋 庭 正 人

農場における腸管出血性大腸菌O157:H7(O157)の生態と伝播様式の解明を目的として一連の研究を行った。成績の概要は以下の通りである。

O157型別法の評価を目的として23県の家畜保健衛生所等で77頭の牛から分離した77株のO157について、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による型別、PCR法による毒素遺伝子型別、ファージ型別等を行った。その結果、わが国の牛由来O157型別法としてはPFGEが識別力の点で優れており、疫学解析上の有力なツールとして使用可能であることが明らかとなった。一方、PFGE像を用いてクラスター解析を実施したところ、PFGE型と毒素遺伝子型には相関が認められたが、PFGE型とファージ型とは関連性が低かった。したがって牛由来O157型別法としてPFGEを標準的な方法として用い、ファージ型別を併用することによって、より詳細な疫学的知見を得ることができるものと考えられた。

また牛由来77株中1株はいずれの手法を用いても人の集団感染株と識別不能であった。これは、欧米と同様にわが国においても牛が人への感染源となっている可能性を示唆する成績と考えられた。

農場における本菌の排菌数、排菌期間を究明するために、1農場における保菌牛7頭について経時的に糞便からの菌分離を行い、分離菌の毒素遺伝子型やPFGE像を調べた。7頭中1頭において2ヶ月以上の持続的排菌が、3頭において2ヶ月前後の間欠的排菌がそれぞれ認められ、この間の排菌数は糞便1g当たり43個以下と推定された。

調査対象牛のうち持続的または間欠的排菌が認められた4頭中3頭において分離菌の遺伝子型が時間の経過とともに変化する現象が認められた。特に保菌牛1頭においては、1週間おきに分離菌の遺伝子型が変化した。これら分離菌は互いに近縁であることが示唆されたので、本現象は牛腸管内における遺伝的変異と優勢菌の交代を反映するものと考えられた。

自然感染牛で認められたO157分離菌の遺伝子型変化が実験的に再現できるか否か検討を加えた。2頭の実験感染牛に由来する分離菌401株の解析において、投与後2日目には両牛から変異菌が回収された。牛No.1では投与後32日目以降投与菌が回収不能となった。牛No.2では投与後38、42日目に投与菌は回収されなかったが、その後投与菌のみが回収された。各牛由来の変異菌に17種類および10種類のPFGE型が認められたが、両牛間で同じPFGE型を示す株は認められなかった。以上の成績から牛腸管内におけるO157のランダムな遺伝子型の変化と適応遺伝子型の増殖による優勢菌の交代を反映する現象が2頭の実験感染牛で再現できたものと考えられた。

グローバルな視点からの疫学的知見を得ることを目的として、わが国と米国における牛由来O157の

比較を行った。国内の牛から分離された91株と米国内で牛から分離された415株をPFGE, PCR, あるいはファージタイピング等の手法によって比較したところ, 日本の牛から分離された3株は米国の牛から分離された株と高い相同性を示した。本菌は共通の媒体を介して長い距離を伝播し, 複数の大陸の牛群に広がる可能性が考えられた。

以上の成績から, わが国の牛由来O157型別法としてはPFGEが識別力の点で優れており, 疫学解析上の有力なツールとして使用可能であることが明らかとなった。牛由来77株中1株は2種類の制限酵素を用いたPFGE, 毒素遺伝子型別, ファージ型別のいずれの手法を用いてもヒトの集団感染株と識別不能であったこと, さらに牛の保菌期間が少なくとも50日以上であったことから, わが国においても牛が人への感染源となっている可能性が示唆された。また本研究において牛の腸管内でO157の遺伝子型の変化と優勢遺伝子型の交代現象が起こることを初めて明らかにした。さらにO157は共通の媒体を介して長い距離を伝播し, 複数の大陸の牛群に広がる可能性が考えられた。

以上本論文は, 牛の腸管内における遺伝子型の変化を含め腸管出血性大腸菌O157:H7 (O157) の生態を分子疫学的に究明したもので, 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。