

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 遠矢 真理

提出論文は、動物の心内膜炎の原因菌で人獣共通感染症の病原体である豚レンサ球菌（学名 *Streptococcus suis*）に注目し、その性状を詳細に解析した一連の研究過程を論じたものである。本菌による豚の疾病では、髄膜炎や敗血症などの重篤な症状だけでなく、臨床上健康な豚が食肉へ加工される際に心内膜炎を指摘される症例も多い。本菌の強毒株は多糖体からなる莢膜を保有し、それが動物体内で白血球の食菌作用に抵抗する重要な病原因子と認識されている。これまで、髄膜炎から分離した本菌は全て莢膜を有していたが、心内膜炎から分離した場合、30%ほどが無莢膜の菌であった。しかし、これまでの研究では、同一の豚の心内膜炎から 1 株しか分離菌を保存していなかったため、保存中に無莢膜に変化したのか、元々無莢膜菌として存在したのか不明であった。そこで、第 1 章では、同一個体の豚心内膜炎病変部あるいはそこから分離培養した菌を用いて、それぞれ 24 株ずつを分離し、その莢膜産生性を調べた。全部で 70 検体を検査したところ、61 検体から豚レンサ球菌のみが分離された。一部の例外を除き、いずれも豚レンサ球菌血清型 2 型遺伝子を保有していた。さらに、抗 2 型血清を用いた共凝集反応検査で莢膜産生を調べたところ、1 検体由来の 24 株全てが有莢膜菌の検体が 33 体、24 株全てが無莢膜菌の検体が 2 体、残りの 26 検体からは有莢膜菌と無莢膜菌の両者が認められた。また、それらの豚を飼育していた農場は、北関東と東北地方に分散しており、地域的な偏りは見られなかった。これらの成績から、豚心内膜炎病変部には、豚レンサ球菌の有莢膜菌と無莢膜菌が共存していることが明らかになった。また、農場に地域的な特徴はなく、いずれの場所でも同様な事象が起こっている事が示唆された。

第 2 章では、同一の心内膜炎由来の有莢膜菌と無莢膜菌における類縁性を明らかにするため、比較ゲノム解析を行った。まず、両者が分離できた検体由来の有莢膜菌および無莢膜菌それぞれ 1 株ずつを無作為に選び、その全ゲノム配列を決定した。両者はいずれも血清型 2 型菌であるため互いに極めて類似している。そこで、ゲノム上に見られた SNPs を比較することにより分子系統樹を作成し、菌株間の類縁性を明らかにした。その結果、同一個体由来の有莢膜菌と無莢膜菌のペアが最も近縁であり、次いで同一農場で飼育された豚由来のペア

同士が近縁であることが明らかになった。また、例数は少ないが、同一農場由来のペアにおいて、有莢膜菌同士または無莢膜菌同士の方がより近縁な例もあった。莢膜産生に関連する遺伝子群の塩基配列を解析すると、いずれも偶発的な突然変異により無莢膜菌に変化していた。これらの成績より、有莢膜菌から無莢膜菌への突然変異は、それぞれの農場あるいは豚個体内で起こっていること、農場によっては特定の菌株が潜在して農場内の豚間での感染を繰り返していること、そして、有莢膜菌と無莢膜菌の両者が病変を形成している可能性があることが示唆された。

豚レンサ球菌には、1～34 および 1/2 の 35 種類の血清型が報告されていた。しかし、近年、このうち 32 と 34 型が既報の *Streptococcus orisratti* であり、20、22、26 型は新菌種 *Streptococcus parasuis* に再分類された。そして、33 型についても別菌種にすべきと報告されたが、分離株が 1 株しか存在せず新菌種の提唱には至っていなかった。申請者らは、近年このうち 33 型と型別される豚レンサ球菌が牛の心内膜炎から分離されることを見つけた。そこで第 3 章では、牛の心内膜炎の原因となる豚レンサ球菌について詳細に分類学的解析を進めた。分類学上重要な 16S rRNA 遺伝子配列および菌種の特定にしばしば利用される *sodA* 遺伝子配列を決定し、他のレンサ球菌の配列と比較したところ、いずれの配列を用いた場合でも 33 型の豚レンサ球菌は他と分岐したクラスターを形成していた。さらに、全ゲノム DNA を用いた DNA-DNA ハイブリダイゼーション実験でも、33 型菌は互いに 79.5-90.1% と高い相同性を示したのに対し、他のレンサ球菌とは 33.8% 以下と低い相同性だった。生化学的性状においても、真の豚レンサ球菌とは異なる性状が認められた。これらの成績から、血清型 33 型の豚レンサ球菌を新菌種 *Streptococcus ruminantium*, sp. nov. と提唱した。

以上の研究によって、動物の心内膜炎由来レンサ球菌の豚における疾病発症に際しての菌の生態に関する重要な知見を提示することが出来た。さらに、牛の心内膜炎の原因菌が新しい菌種であるという重要な発見によって、今後の動物の心内膜炎由来レンサ球菌の研究が加速的に進むと期待される。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。