

ハギ類に病原性を示す  
非結核性抗酸菌 *Mycobacterium* sp. に関する研究

(Studies on nontuberculous mycobacterium ;  
*Mycobacterium* sp. pathogenic for filefish)

学位論文内容の要旨

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科  
獣医学専攻博士課程平成 25 年入学

深野 華子

(指導教授：和田 新平)

2009年、愛媛県の養殖生簀内のカワハギ (*Stephanolepis cirrhifer*) に高い死亡率を伴う非結核性抗酸菌 (Nontuberculous Mycobacteria 以下 NTM) による疾病が発生し、さらに 2009 年から 2013 年までには日本の他の海域で、カワハギの‘天然魚’や近縁種であるウマヅラハギ (*Thamnaconus modestus*) においても類似した NTM が分離される事例が発生している。

2009 年以降、愛媛県、高知県、長崎県で天然・養殖ハギ類から分離された NTM を使用し、生物学および生化学的な検討と、薬剤感受性について検討したところ、それらハギ由来菌株は生物学および生化学的に同一の特徴を持っていることが明らかとなった。また、薬剤感受性試験の結果からは、ハギ類由来菌株はエリスロマイシンに対して比較的低い最小発育阻止濃度を示し、クラリスロマイシン、ドキシサイクリン、シプロフロキサシンには感受性を示した。

人為感染試験による感染門戸の検討では、浸漬接種、経口接種、腹腔内接種による人為感染試験を実施したが、感染が成立したのは腹腔内投与のものだけであった。このことから、本症の自然発症の成立には何らかの補助的な因子が関与している可能性が推測された。また、カワハギ由来株を使用したウマヅラハギに対する病原性試験では、高い病原性と類似した病理組織像が確認された。

マルチローカスシーケンシングと分子生物学的解析の結果、ハギ類由来菌株は既知の *Mycobacterium* 属ではない可能性が示唆され、*hsp65* 遺伝子による PRA パターン解析では *HaeIII* による切断パターンが近縁種と異なることを示した。また、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 解析により、異なる年、異なる海域で 2 種のハギ類から分離された NTM が全く同一のジェノタイプであることが明らかとなった。

MALDI-TOF MS を使用したタンパク質分析では、カワハギ由来菌株 NJB0901 が独自のタンパク質プロファイルを持っていることを示した。また、総脂質分析では NJB0901 が Tween 80 の特徴的な代謝機構を持っていることが示唆された。

これら、ハギ類から分離される NTM に対する特異的 PCR プライマーの設計し、迅速診断法としての有用性について検討したところ、設計した PCR プライマーはハギ類由来 *Mycobacterium* sp. にのみ特異的に反応し、迅速同定に対する高い有用性が示された。