HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Development and Evaluation of Diagnostic Methods for Bovine Tuberculosis and Johne’s Disease
Author(s)	JANG, Eomseob
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第17039号
Issue Date	2026-06-30
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k17039
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/100092
Type	doctoral thesis
File Information	Eomseob_Jang_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（感染症学）　　氏名： Jang Eomseob

審査委員	主査　教授	東　秀明
	副査　特任教授	鈴木　定彦
	副査　准教授	磯田　典和
	副査　教授	中島　千絵

学位論文題名

Development and Evaluation of Diagnostic Methods for Bovine Tuberculosis and Johne’s Disease

（牛結核およびヨーネ病の診断法の開発と評価）

マイコバクテリウム属菌によって引き起こされる牛における結核とヨーネ病は，世界の畜産業に多大な経済的損失をもたらす主要な慢性疾患である。牛における結核の病原体である *Mycobacterium bovis*（ウシ型結核菌）は，重要な人獣共通感染症病原体の一つとしても知られている。一方，ヨーネ病の原因菌である *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*（ヨーネ菌）は，ヒトのクローン病との関連が指摘されている。非特異的な臨床症状，原因菌の人工培地上での増殖の遅さ，潜伏感染などの生物学的および臨床的特性は，有効な対策の立案・実施において大きな課題となってきた。そのため，感染動物の早期発見と淘汰を可能にする迅速かつ正確な診断法の樹立は，牛における結核とヨーネ病の制御における重要な要素となっている。このような背景から，本研究では，現在の診断手法の主要な限界を克服して，牛における結核とヨーネ病を診断するための優れた戦略を確立することを目的とした。

第 1 章では，大腸菌を宿主として作出した組換えタンパク質を抗原とする既存の牛における結核の血清学的検査法の感度改善を目的として，大腸菌よりもウシ型結核菌により近い系統関係にある *Mycolicibacterium smegmatis*（スメグマ菌）を宿主とする発現系を用いて，10 種類のウシ型結核菌組換えタンパク質を発現・精製し，それらを抗原として，ウシ型結核菌インターフェロン γ 遊離試験（IGRA 試験）陽性並びに陰性牛における抗体価を測定した。10 種類のスメグマ菌由来組

換えタンパク質のうちLprA，LppX及びMPB83に対する抗体価は，大腸菌由来のそれらに対する抗体価に比べて，IGRA試験結果との一致度が高いことが示された。抗原組み合わせ解析および多重線形回帰モデルにより，スメグマ菌由来組換えタンパク質LprA，LppX及びMPB83と大腸菌由来組換えタンパク質の組み合わせによる抗体価とIGRA試験の結果との一致度がより高いことが実証され，IGRA試験の実施が制限される環境での代替診断法として利用可能であることが示された。

第2章では，牛における結核とヨーネ病の個体検査に加えて，環境モニタリングも可能にするために，等温遺伝子増幅法であるLoop Mediated Isothermal Amplification（LAMP）法と核酸クロマト法であるSingle-stranded Tag Hybridization- Printed Array Strip（STH-PAS）システムを統合して，ウシ型結核菌及びヨーネ菌の迅速検出法を開発した。精製ゲノムDNAに加えて乳および糞便へのウシ型結核菌BCG株（BCG菌）添加における評価により，開発した方法の高い分析感度と堅牢性が実証された。即ち，精製ゲノムDNAを対象とした試験では，BCG菌で240 fg/反応，ヨーネ菌では13 fg/反応という非常に高い感度を示した。また，乳を対象とした添加試験においては，BCG菌で1,100 CFU/mL，ヨーネ菌では340 CFU/mLという高い感度を示し，個体診断ないしは群レベルでの疫学調査への有用性が示された。さらに，糞便検体を対象とした本試験法の性能は，マイコバクテリウム属菌の環境中での長期的な存続や野生動物による病原体伝播への関与を考慮すると，農場レベルでの環境サーベイランスへの応用可能性を示唆していた。以上のことより，診断や疾病管理リソースが制限されている現場環境において，本試験法が費用対効果の高い第一選択スクリーニングツールとなり得ることが示唆された。

本論文で開発された２種類の診断法は，既存の同様の試験法に比べて実用面において大幅な優位性を有していることから，個体診断，環境調査並びに疫学調査を通じた家畜集団におけるウシ型結核菌並びにヨーネ菌の減少に貢献し，結果として人獣共通感染症のリスクを低減する一助となり得るものである。よって，審査委員一同は，上記学位論文提出者Jang Eomseob氏の学位論文は，北海道大学大学院国際感染症学院規程第10条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。