HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Development of an indirect ELISA to detect equine antibodies against Burkholderia mallei and molecular characterization of B. mallei strain isolated from a horse in Mongolia [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	市川, 世識
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第16157号
Issue Date	2024-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/93824
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yoshiki_Ichikawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：市川　世識
Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Development of an indirect ELISA to detect equine antibodies against *Burkholderia mallei* and molecular characterization of *B. mallei* strain isolated from a horse in Mongolia
（鼻疽診断用間接 ELISA 法の開発と鼻疽菌モンゴル株の分子系統解析）

鼻疽は鼻疽菌 *Burkholderia mallei* の感染によって引き起こされる馬科の感染症である。近年、南米、南アジア、中東で流行が認められており、再興感染症と位置付けられている。本菌が馬に感染するとしばしば臨床症状を示さず、慢性経過をたどるため、他の動物への感染源となる。効果的な治療法およびワクチンが開発されていないため、鼻疽の根絶は感染馬の摘発淘汰が必須である。血清学的サーベイランスは鼻疽の蔓延の程度・範囲を調査することができる。分子疫学的サーベイランスは感染個体からの菌分離、そして菌株の遺伝的特徴を解析することで、感染源および感染経路を特定することができる。これらのサーベイランスを組み合わせることで、鼻疽の流行をより包括的に理解し、効果的な公衆衛生上の指針を策定できる。本研究は、鼻疽の血清学的診断とサーベイランスに現在用いられている補体結合反応の問題点を解決し、代替しうる高感度 ELISA を開発することを目的とし、さらに、鼻疽菌モンゴル株の遺伝的背景を明らかにし、新たに分子疫学的サーベイランス法を開発するために行われた。

第 1 章では、17 種類の組み換えタンパク質と界面活性剤を用いて抽出した全菌タンパク質を使用した間接 ELISA の診断精度を比較した。その結果、17 種類の組み換えタンパク質のうち、Hcp1 と GroEL を使用した ELISA が高い診断能力を示した。この結果は、鼻疽菌組換えタンパク質を使用した ELISA を開発した先行研究の結果を支持するものである。一方、全菌タンパク質を使用した ELISA は、いずれの組換えタンパク質と比べても診断能力が高かった。本研究では界面活性剤を用いて全菌タンパク質を抽出したが、これは作製方法が簡便で、安全であり、特別な技術・施設を必要としない。したがって、全菌タンパク質を抗原とした ELISA は、鼻疽の血清学的診断法および血清学的サーベイランスにおいてより効果的で、安全性の高い高感度 ELISA となりえることが示唆された。

第 2 章では、2019 年と 2022 年にモンゴルで分離された鼻疽菌 4 株の全ゲノムシークエンスデータからその遺伝的特徴を解析し、モンゴル株系統を特異的に同定できる高解像度融解曲線分析法を開発した。分子系統解析では、モンゴル株が近年鼻疽の発生が認められる他の国々の菌株と全く別の系統であること、さらに隣国であるロシア、中国でサンプリングされた菌株とも異なる固有の系統に属していることが明らかとなった。また、モンゴル株間の遺伝的多様性の乏しさおよび細菌が分離された罹患馬の地理的情報から、2 つの異なる発生地域にてサンプ

リングされた 4 つの菌株がモンゴル東部における単一株の伝播に由来する可能性が高いことが示唆された。本研究で開発した高解像度融解曲線分析法は、モンゴル株特異的 SNPs を明瞭に識別し、菌株がモンゴル系統に由来するものかどうか判定できることが示された。

本研究では、高感度で安全性の高い鼻疽の新規血清学的診断法として全菌タンパク質を抗原とした ELISA を開発した。また、モンゴル株を簡便、迅速かつ低コストに同定することのできる分子疫学的手法としてモンゴル株特異的 SNPs に対する高解像度融解曲線分析法を開発した。これらの新規血清学的診断法および新規分子疫学的手法は、より詳細な鼻疽の流行の把握および鼻疽の制圧・根絶に向けた効果的な施策の立案に貢献するものと期待される。