



Title	Establishment of the diagnostic system of tuberculosis feasible in developing countries [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Bhagwan, Maharjan
Citation	北海道大学. 博士(獣医学) 乙第7089号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/78527
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Bhagwan_MAHARJAN_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：Maharjan Bhagwan

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

学位論文題名

Establishment of the diagnostic system of tuberculosis
feasible in developing countries
(開発途上国で実施可能な結核診断システムの確立)

結核は結核菌に由来する感染症であり、世界中で年間約 1,000 万人の新規患者と約 150 万人の死者を出していることから、その全世界的な対策が急務となっている。結核の対策として最も重要な事項の一つは、早期診断に基づいた早期治療である。しかしながら、現在の結核確定診断は、感度と特異性の低い塗沫検鏡、並びに手間と時間がかかる培養試験に依存しているのが現状である為、早期診断は不可能である。また、これらの試験に供する臨床検体の開発途上国における輸送においては、コールドチェーンが完備されておらず、臨床検体の質が保持できていない点で問題を抱えている。一方、近年は、遺伝子診断法を用いた結核診断が様々な国に導入され使用されているが、遺伝子診断に供する臨床検体の輸送についても、塗沫検鏡、並びに培養試験と同一の輸送上の問題が発生している。また、遺伝子診断法においては、リアルタイム PCR 装置といった精密機器を使う為、開発途上国における保守・管理には大きな問題がある。本研究では、結核確定診断におけるこれらの問題を解決するために、結核臨床検体のほとんどを占める喀痰の、コールドチェーンが完備されていない状況下での質を保ったままでの輸送法の確立、並びに精密機器を使う必要のない簡便で安価な結核遺伝子診断法の開発を目指した。

第 I 章では、新規の喀痰輸送液である OMNIgene SPUTUM (OMS) の塗沫検鏡、並びに培養試験における有用性が従来法と比較された。その結果、OMS を用いた場

合には、従来法に比べて、塗沫検鏡、並びに培養試験における結核菌の検出率が高かった。また、OMS を用いた場合には、従来法に比べて、喀痰処理の簡略化が可能であり、コールドチェーンなしに長期間に渡って室温で臨床検体保存が可能であることから、開発途上国において有用であるものと考えられた。

第 II 章では、OMS を用いた輸送法が、世界保健機関から推奨されているリアルタイム PCR を用いた遺伝子診断法である GeneXpert MTB/RIF に応用できるかどうかについての検討がなされた。その結果、OMS は、GeneXpert MTB/RIF を用いた検査において従来法に比べて結核菌の検出率が高いことが示された。第 I 章で示された様に、OMS を用いた場合には、喀痰処理の簡略化が可能であり、コールドチェーンなしに長期間に渡って室温で臨床検体保存が可能であることから、開発途上国における遺伝子診断法への応用が可能であるものと考えられた。

第 III 章では、保守・管理に問題があるリアルタイム PCR 装置を用いた遺伝子診断法である GeneXpert MTB/RIF に代わる簡便で安価な方法として等温遺伝子増幅法である Loop mediated isothermal amplification (LAMP) 法を応用した喀痰からの結核菌の直接検出法が開発された。本研究では、1 件体当たりの検査費用を安価に抑えること、並びに特定の検出器を用いることなく陽性判定を可能とすることを目的として、新たな指示色素の検索と反応条件の精査、コールドチェーンなしに長期間に渡って室温での保存を可能とするための試薬の乾燥化が試みられた結果、メチルグリーンを指示色素とした乾燥 LAMP 法が開発された。臨床検体を用いた塗沫検鏡、並びに培養試験との比較試験において、本研究で開発された LAMP 法が感度、並びに特異度において両法と同等か優っていることが実証された。

本学位論文提出者の Maharjan Bhagwan 氏は、本研究において、結核早期診断においてのこれまでの課題であった結核臨床検体の輸送に OMS が有用である事を示した。また、結核の早期診断を簡便かつ安価に実施できる遺伝子診断法を開発し、その感度、並びに特異度が良好である事を証明した。これらの成果は、開発途上国における結核の早期診断を可能とするものであった。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Maharjan Bhagwan 氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。

