HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on genotype and diagnosis of tuberculosis in Asian elephants (Elephas maximus) of Nepal [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	PAUDEL, Sarad
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11968号
Issue Date	2015-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60010
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Sarad_Paudel_review.pdf, 審査の要旨

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（獣医学）　　氏名：Sarad Paudel

審査委員

主査　教授　坪田敏男
副査　教授　鈴木定彦
副査　教授　苅和宏明
副査　准教授　中島千絵

学位論文題名

Studies on genotype and diagnosis of tuberculosis in Asian elephants (*Elephas maximus*) of Nepal

（ネパールのアジアゾウにおける結核の遺伝子型別および診断に関する研究）

ゾウでの結核は、現在世界中で増加傾向にあり、主に人型結核の原因菌である*Mycobacterium tuberculosis*によって引き起こされる新興・再興感染症の一つである。鼻汁洗浄液からの結核菌分離培養がゾウでの結核診断の最も信頼できる方法とされている。しかしながら、この方法は多くの点で限界があり、実用的ではない。ネパールには、現在 200 頭のアジアゾウ（*Elephas maximus*）が飼育されており、2002 年に初めて結核の発生が報告された。ゾウから分離された *M. tuberculosis* の遺伝子型別に関する研究は、これまでほとんど行われてこなかった。本研究により、初めてネパールのアジアゾウにおける結核菌の分離同定ならびに遺伝子型別がなされた。

まず、ネパールで結核が疑われて死亡したアジアゾウ３頭（A、B および C）より *M. tuberculosis* を分離し、遺伝子型別を行った。spoligotyping、TbD1 領域の検出ならびに反復配列多型法（MLVA)により、３頭の分離菌株は Indo-Oceanic 系統に属することが示された。そのうちの１頭では、*gryA* 領域のシークエンスにより T231C において一塩基多型を示したことにより、新規タイプと判定された。この T231C の一塩基多型は、ネパールにおいて人の結核菌で既に検出されている。MLVA の結果およびゾウの移動経歴より、３頭のうちの２頭のゾウは、同一の人またはゾウから *M. tuberculosis* が感染したと推測された。

次に、別の死亡アジアゾウ２頭（D および E）から分離された *M. tuberculosis* 菌株について、spoligotyping および Large Sequence Polymorphism（LSP）により遺伝子型別を行った。spoligotyping では、個体 D の分離菌株が、SpolDB4 データベースに掲載されていない新規タイプであった。一方、個体 E 分離菌株は Indo-Oceanic 系統に属した。LSP の結果では、個体 D 分離菌株は２種類の系統（Indo-Oceanic 系統と East-African-Indian（CAS-Delhi）系統）に属し、重複感染していることが示された。また、個体 E 分離菌株も Indo-Oceanic 系統（spoilgotyping で判定）と East-Asian（Beijing）系統に属し、重複感染していた。

３番目に、ゾウ結核の早期診断法への応用をめざして、ゾウに特異的な interferon-γ release assay（IGRA）の確立を試みた。ネパールの３つの保護区で飼育されているアジアゾウ 40 頭より血液を採取し、実験に供試した。血液に３種類の異なる mitogen（phytohaemagglutinin：PHA、pokweed mitogen：PWM および phorbolmyristateaceteate/ionomycin：PMA/I）を加えた後、interferon-γ（IFN-γ）値を測定した。測定法として、抗ゾウ IFN-γウサギポリクローナル抗体を用いたサンドウィッチ ELISA 法を確立した。また、PMA/I が最も顕著に刺激を与える mitogen であることもわかった。

以上より、本研究は、ネパールのゾウから分離された *M. tuberculosis* の遺伝子型別について有用な情報を提供し、人（とくに象使い）とゾウとの間で結核菌が伝播している可能性を示唆した。また、ネパールのゾウにおいて、系統が異なる２種類の結核菌に重複感染していることが確かめられ、人とゾウとの間での感染ルートならびに感染様式に関して重要な知見を提示した。さらに、将来的には、本研究において確立した IGRA がゾウ結核の早期診断に応用されることが期待される。

よって審査員一同は、上記学位論文提出者 Sarad Paudel 氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第６条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。