HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular epidemiological study of Leishmania and sand fly vectors [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Nzelu, Chukwunonso Onyemaechi
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11969号
Issue Date	2015-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60011
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Chukwunonso_Onyemaechi_Nzelu_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：Chukwunonso Onyemaechi Nzelu

審査委員

主査	教授	片　倉　　賢
副査	教授	苅　和　宏　明
副査	教授	鈴　木　定　彦
副査	准教授	加　藤　大　智

学位論文題名

Molecular epidemiological study of *Leishmania* and sand fly vectors

（リーシュマニアおよび媒介昆虫サシチョウバエに関する分子疫学的研究）

リーシュマニア症は、メスのサシチョウバエに媒介されるリーシュマニア原虫によって引き起こされる節足動物媒介性寄生虫疾患である。リーシュマニア症の臨床症状は多様で、感染原虫種が臨床像を決定する大きな要因となるため、感染者の早期診断や感染種の同定は、本症の治療や予後判定に重要である。また、リーシュマニア症伝播の制御や監視には、流行地に分布するサシチョウバエやベクター種の同定が重要である。Nzelu 氏の学位論文は 4 章から構成されている。

第 1 章では、ペルーに分布するサシチョウバエの COI 遺伝子バーコード領域の塩基配列を決定し、種の鑑別への有用性を明らかにした。Kimura 2-parameter を用いた近隣結合解析では、解析した全ての種が独立したクラスターを形成していた。遺伝子多型の頻度は、同種内では 0-5.96%、異種間では 8.39-19.08%であり、COI バーコードによって解析した全ての種を区別することが可能であった。COI 遺伝子は、集団解析や隠蔽種の多型解析に有用であることが明らかにされていることから、本遺伝子はサシチョウバエの調査に有用なツールとなると考えられた。

第 2 章では、*Sergentomyia* 属サシチョウバエから初めて *Leishmania* (*Leishmania*) *tropica*、*L.* (*L.*) *major* および *Trypanosoma* sp.の DNA を検出し、ガーナの皮膚型リーシュマニア症の発生地域で、*Sergentomyia ingrami* や *S. hamoni* がベクターとなっている可能性について報告した。本研究は、ガーナなど西アフリカの皮膚型リーシュマニア症の発生地域で *L.* (*L.*) *tropica* を検出した最初の報告であり、西アフリカのサシチョウバエからリーシュマニア属以外のトリパノソーマ科の原虫を検出した最初の報告でもある。これらの知見は、ガーナの皮膚型リーシュマニア症の疫学において、非常に重要な意味を持つものである。また本研究は、ガーナにおける皮膚型リーシュマニア症のベクターが、これまで旧大陸におけるベクター種として報告されている *Phlebotomus* 属のサシチョウバエとは異なり、*Sergentomyia* 属のサシチョウバエである可能性を示唆するものである。

第 3 章では、多検体のサシチョウバエから簡便にリーシュマニア感染の有無を検出することを目的とし、18S rRNA 遺伝子を標的とした高感度の loop-mediated isothermal amplification (LAMP)法を確立した。確立した LAMP 法は迅速かつ正確で、サーマルサイクラーの必要もなく、一般的なウォーターバスや加熱ブロックを用いて 60 分以内に結果が判定できた。本法は 0.01 匹相当のリーシュマニア DNA を検出できる検出感度を有しており、これはサシチョウバエ検体のみならず、感染原虫数が少ない臨床検体からも原虫を検出できる感度であった。本研究で確立した LAMP 法は、LAMP 産物の可視化にマラカイトグリーン色素を用いた初めての報告である。本法をエクアドルの流行地で捕獲したサシチョウバエの調査に応用し、リーシュマニア症の調査ツールとしての有用性を確認した。本法は、疾患流行地におけるリーシュマニア原虫の迅速な調査を可能にするものである。

第 4 章では、皮膚型リーシュマニア症の分子診断を目的とし、Flinders Technology Associates (FTA)カードによるサンプリング法を用いて、ワンステップ、シングルチューブで、流行地で応用可能な LAMP 法の確立を行った。確立した LAMP 法は、FTA カードに添加した 0.01 匹相当のリーシュマニア DNA を検出することができ、リーシュマニアに近縁なヒト感染性トリパノソーマとの交差反応は認められなかった。採材に FTA カードを用いた LAMP 法は、迅速かつ簡便であり、皮膚型リーシュマニア症における有用な診断ツールになると考えられた。

以上、Nzelu 氏はリーシュマニア症の診断と疫学調査ならびに媒介昆虫サシチョウバエの分子疫学において有用な情報を提供した。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Chukwunonso Onyemaechi Nzelu 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。