



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on molecular detection of Leishmania infection in stray dogs from Bangladesh [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	AKTER, SHIRIN
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第12843号
Issue Date	2017-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67866
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	SHIRIN_AKTER_review.pdf, 審査の要旨



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：Shirin Akter

審査委員	主査	特任教授	片倉	賢
	副査	特任教授	杉本	千尋
	副査	教授	大橋	和彦
	副査	准教授	中尾	亮

学位論文題名

Studies on molecular detection of *Leishmania* infection in stray dogs from Bangladesh
(バングラデシュ人民共和国の野犬におけるリーシュマニア感染に関する研究)

内臓リーシュマニア症は、サシチョウバエによって媒介される公衆衛生上重要な寄生虫症である。地中海沿岸、中東、中央アジア、北アフリカなどの地域では、*Leishmania infantum* が人獣共通感染性の寄生虫種として、イヌが主要な自然宿主となっている。一方、インド亜大陸では、*Leishmania donovani* がヒトとサシチョウバエでのみ生活環を完結する寄生虫種として知られている。*L. donovani* の自然感染環におけるイヌの役割は検討されてこなかったが、バングラデシュ共和国の内臓リーシュマニア症流行地で捕獲した野犬の1頭の血液から *L. donovani* の DNA が検出されたことが報告された。このことから、同地域の内臓リーシュマニア症流行における野犬の役割を詳しく調査する必要性が提起された。また、バングラデシュ共和国では、野犬がヒトの生活圏で生息しており、リーシュマニア原虫以外の寄生虫がイヌを介してヒトに伝播する可能性も考えられた。本研究では、本流行地において計50頭の野犬を捕獲し、リーシュマニア感染の診断ならびに野犬が保有する寄生虫種の網羅的検出を試みた。

第一章では、捕獲した野犬50頭について、リーシュマニア感染の血清診断とDNA診断を行った。リーシュマニア原虫の rK39 抗原に対する抗体検査の結果、6頭(12%)のイヌで陽性反応が認められた。末梢血白血球層から抽出したDNAを材料としてリーシュマニア原虫のミトコンドリア・ミニサークルDNAを標的としたリアルタイムPCRによる原虫DNAの検出を行ったところ、10頭(20%)で陽性反応が得られ、そのうち5頭からは Internal Transcribed Spacer (ITS) 領域のPCR増幅が確認された。PCR産物のシーケンス解析により、得られた配列はバングラデシュ共和国の内臓リーシュマニア症患者から検出された *L. donovani* の配列と100%一致した。

第二章では、上記 50 頭のうち、採血した血液量の豊富であった 14 頭のイヌを対象に、血漿中に遊離するセルフリーDNA (cfDNA) を網羅的に解析し、寄生虫由来 DNA の検出を試みた。抽出した cfDNA を材料に Illumina MiSeq によるメタゲノム解析を行い、各サンプルあたり約 2,300 万配列を得た。イヌ由来配列を参照ゲノム配列へのマッピングにより除去した後、NCBI nt (non-redundant nucleotide sequences) データベースを用いて、BLASTn プログラムによる相同性検索を行った。その結果、寄生虫種の配列と高い相同性を示すリードが計 150 配列得られた。線虫類の配列は糸状虫の感染を示唆しており、それらの共生菌と考えられるヴォルバキアの配列も検出された。また、原虫類の検出結果はリーシュマニアとバベシアの感染を反映しており、赤血球内寄生性のバベシアでは cfDNA の検出結果と血液を対象とした PCR による原虫検出結果に一致が認められた。

以上の結果、バングラデシュ共和国における *L. donovani* の感染環の維持におけるイヌの役割が示唆された。今後、イヌ体内のリーシュマニア原虫のサシチョウバエへの伝播能を証明することにより、インド亜大陸に分布する *L. donovani* の自然界における存続様式が明らかになることが期待される。一方、イヌ血中の cfDNA は、寄生虫感染を診断するバイオマーカーとして有用であることが示された。今後、寄生虫のゲノム情報がさらに蓄積されることにより、cfDNA 解析法がより精度の高い寄生虫感染診断法に発展し、また、野犬が保有する寄生虫のヒトへの感染リスクを評価するツールとして利用されることが期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Shirin Akter 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。