HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | Development of a molecular tool for the differentiation of Mycobacterium bovis and molecular characterization of Mycobacterium bovis isolates in Malawi [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s) | Kapalamula, Thoko Flav |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(感染症学) |
| Dissertation Number | 甲第14556号 |
| Issue Date | 2021-03-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/81677 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Thoko_Flav_Kapalamula_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（感染症学）

氏名：Kapalamula Flav Thoko

| | | |
|---|---|---|
| 審査委員 | 主査　教授 | 東　　秀　明 |
| | 副査　准教授 | 中　島　千　絵 |
| | 副査　准教授 | 磯　田　典　和 |
| | 副査　教授 | 鈴　木　定　彦 |

学位論文題名

The title of the doctoral dissertation

Development of a molecular tool for the differentiation of *Mycobacterium bovis* and molecular characterization of *Mycobacterium bovis* isolates in Malawi

（ウシ型結核菌遺伝子診断法の開発とマラウイにおける
ウシ型結核菌分離株の遺伝学的解析）

*Mycobacterium bovis*によって引き起こされる牛の結核は、(1)生産コストへの高負荷および輸出ができない事による経済的影響、(2)ヒトへの感染・伝播を通じた人獣共通感染症としての公衆衛生上の脅威、ならびに、(3) 絶滅危惧種を含む野生生物への影響の 3 点で世界的に重大な懸念事項となっている。*M. bovis*に起因する結核の根絶は、(1)蔓延地域でも使用可能な簡便かつ低コスト診断法の欠除、(2)流行地域からの*M. bovis*に起因する結核に係る情報不足等の理由により、これまでは不可能と考えられてきた。

本研究では、*M. bovis* を特異的に検出するための遺伝子診断法を開発し、これを応用してマラウイ中部における牛結核の蔓延状況を調査した。更に、牛検体由来 *M. bovis* 株の遺伝学的性状を明らかにして、*M. bovis* の伝播に関わる情報を得た。

第一章において、Kapalamula Flav Thoko 氏は、*M. bovis* 以外の結核菌群菌は保有するが *M. bovis* には無い遺伝子領域 Reagion of Difference 4 (RD4) を標的として、等温遺伝子増幅法 Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法を応用することにより、40 分以内に *M. bovis* を特異的に検出できる遺伝子診断法の開発に成功した。開発した LAMP 法の感度は、核酸として 50 フェムトグラム/検査であり、菌体数として 10 個の *M. bovis* が検出可能であった。

第二章において、Kapalamula Flav Thoko 氏は、第一章の研究で開発した LAMP 反応試薬を乾燥化する事で冷蔵庫等のコールドチェーンが無い地域でも使用できる方法へと改良した。更に、マラウイの屠場で採集した牛臓器検体を対象として評価試験を実施して、乾燥型 LAMP 法が、実検体に於いても使用可能であることを証明すると共に、約 4.9%のウシが結核を発症していることを明らかにした。牛結核が蔓延している開発途上国でも使用可能な簡便・低コスト診断法を提供できることになったという点で重要なブレークスルーと言える。

第三章において、Kapalamula Flav Thoko 氏は、マラウイで牛検体より得られた *M. bovis* 分離菌株の分子疫学的解析を実施して、マラウイで循環している菌株の大部分が Eu1 clonal complex に属し、特に、SB0131 遺伝子型の菌株がマラウイの中央部で優勢であることを示した。また、リロングウェにおける遺伝子型の多様性の高さから、この地域が伝播・拡散の中心となっていることを推測した。更に、近隣諸国、特にザンビアとモザンビークからの分離株との遺伝的類似性から、両国との国を超えた伝播の可能性を示した。

本研究は、*M. bovis* に起因する結核の根絶を目指して、蔓延地域でも使用可能な簡便かつ低コストな診断法を開発し、これを応用してマラウイ中部地域におけるウシ結核の蔓延状況を明らかにしたものである。更に、分子疫学的手法を用いてマラウイとその周辺国における *M. bovis* の伝播状況に関する重要な知見を提供した。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Kapalamula Flav Thoko 氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。