



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular epidemiology of spotted fever group rickettsiae in Zambia and development of multiplex LAMP for simultaneous detection of the rickettsiae and malaria parasites [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Moonga, Lavel Chinyama
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第14559号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81680
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Lavel_Chinyama_Moonga_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（感染症学） 氏名：Lavel Chinyama Moonga

審査委員	主査 教授	野 中 成 晃
	副査 教授	鈴 木 定 彦
	副査 准教授	中 尾 亮
	副査 准教授	山 岸 潤 也

学位論文題名

Molecular epidemiology of spotted fever group rickettsiae in Zambia and development of multiplex LAMP for simultaneous detection of the rickettsiae and malaria parasites

（ザンビアにおける紅斑熱群リケッチアの分子疫学とマルチプレックス LAMP を利用したマラリア原虫との同時検出法の開発）

紅斑熱群リケッチアは吸血性節足動物が保有する細菌群であり、そのうち一部の種がヒトに感染し、発熱や発疹などの症状を引き起こす。近年、ノミが保有する *Rickettsia felis* や *R. asembonensis* のヒトからの遺伝子の検出例や分離例が相次いで報告され、これらノミ媒介性紅斑熱リケッチア群の新興感染症起因菌としての可能性が議論されつつある。しかし、その分布域や自然界における存続様式、ヒトへの病原性についてはほとんど明らかにされていない。特にサブサハラアフリカにおける知見は乏しく、この地方における感染の実態調査が急務であった。

これに対応すべく、Lavel Chinyama Moonga 氏は、ノミ媒介性紅斑熱群リケッチア症の流行疫学の基礎的知見を得ることを目的として、分子遺伝学的手法を用いて、ザンビア共和国の哺乳動物と節足動物、およびヒトにおける感染率調査を行った。加えて、リケッチア症と類似した症状を示すマラリアについて、両者を鑑別診断可能な迅速診断法の開発を行った。

学位論文の第一章では、ザンビア共和国の各地より収集したノミ虫体・蚊虫体・犬血液・げっ歯類臓器より抽出した DNA を試料として、紅斑熱群リケッチア特異的な PCR を行った。陽性検体について、サンガー法、リアルタイム PCR 法、および次世代シーケンサーを用いたアンプリコン解析によって種の同定を行った。その結果、犬血液 150 検体中 7 検体、ネコノミ 48 検体中 7 検体、マストミス属ネズミ

臓器 77 検体中 12 検体から *R. felis* の遺伝子が検出された。一方で、*R. felis* の媒介昆虫として報告のある蚊では 172 検体の全てが陰性だった。さらに、ネコノミでは 22 検体から *R. asembonensis* の遺伝子が検出され、*R. felis* が陽性であった 7 検体は全て *R. asembonensis* との共陽性であった。これらの結果から、ザンビア共和国では犬やネズミとネコノミの間で *R. felis* が、ネコノミ間で *R. asembonensis* の生活環が維持されている可能性が示唆された。これは同国において *R. felis* と *R. asembonensis* が分布していることを示した初めての報告であり、ヒトへの感染の有無についての調査が急務であると考えられた。

第二章ではノミ媒介性紅斑熱群リケッチアのヒトにおける感染実態調査を行った。調査試料として、首都ルサカとその近郊都市の 2 箇所 で採取し凍結保存された末梢血検体、および地方部における健常人の血液濾紙検体の合計 1,153 検体の既存試料を使用した。紅斑熱群リケッチア特異的 PCR による検出を行い、陽性検体について遺伝子配列解析を行った結果、ルサカの病院で採取された 2 検体が PCR 陽性を示した。これら 2 検体から 4 遺伝子領域の増幅と遺伝子配列解析を行ったところ、いずれも *R. asembonensis* の既知配列と 100% の相同性を示した。2 名の陽性患者のうち 1 名では貧血と体重減少が認められ、もう 1 名の臨床症状は不明であった。貧血と *R. asembonensis* 感染との関係は不明であり、*R. asembonensis* のヒトへの感染性およびその病原性について、さらなる探索が必要であると考えられた。

第三章では、紅斑熱群リケッチアとマラリア原虫を同時に検出可能な迅速診断法の開発を行った。紅斑熱群リケッチアとヒト感染性マラリア原虫を特異的に検出する 2 つの LAMP プライマーを混合し、増幅産物を核酸クロマトグラフィーに展開した。本反応系では両標的それぞれ各 100 コピー相当の遺伝子を 60 分以内に検出し、その反応性は培養細菌・原虫を用いた試験によっても確認できた。ザンビアを含むサブサハラ地方は高度なマラリア流行地域であり、症状の類似する紅斑熱群リケッチア症が広く見過ごされている可能性がある。本法はこれら地域において使用可能な、迅速診断法としての普及が期待される。

以上のように、Lavel Chinyama Moonga 氏は、本研究によって、ザンビア共和国においてノミ媒介性の紅斑熱群リケッチアが哺乳動物と節足動物内に存在することを初めて明らかにした。そのうち *R. asembonensis* はヒトにも感染し、疾病を起こしている可能性があることを示唆した。また、マラリアと同時検出可能な紅斑熱群リケッチアの迅速診断法を開発した。これらの研究成果は、これまで顧みられてこなかったノミ媒介性の紅斑熱群リケッチアのサブサハラにおける存続様式の解明と、その診断治療に貢献するものと考えられる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Lavel Chinyama Moonga 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。