

論文審査の要旨および担当者

学位申請者	飯島 裕子 (DV15002 獣医内科学)
学位論文題目	日本国内の飼育犬・猫由来 <i>Giardia duodenalis</i> の 分子疫学的研究
担当者	主査 北里大学教授 工 藤 上 副査 北里大学教授 岡野 昇三 副査 北里大学教授 胡 東 良 副査 サエキベテリナリィサイエンス取締役 佐伯 英治

論文審査の要旨

本研究は、世界中に分布して広い範囲の哺乳類に感染し、下痢を引き起こす可能性がある消化管内寄生原虫である *Giardia duodenalis* (*G. duodenalis*) について、現在、遺伝子学的解析手法としては最も優れていると考えられている多遺伝子座での遺伝子型別 (Multi-locus genotyping : MLG) を利用して、日本国内で飼育されている犬・猫が保有する *G. duodenalis* の assemblage (= 遺伝子型) を明らかにし、遺伝子学的多様性や犬・猫における伝播、さらに、人獣共通感染のリスクを評価したものである。

第 1 章 飼育犬由来 *G. duodenalis* の Multi-locus genotyping

日本で初めて犬由来の *G. duodenalis* 株について MLG を用いて assemblage を決定し、各 assemblage の分布と人獣共通感染のリスク評価を行った。

ELISA キットで *Giardia* 特異抗原が陽性となった計 210 検体（一般家庭から 48 検体、ペットショップから 87 検体、繁殖施設から 46 検体、専門学校から 17 検体、犬の訓練施設から 12 検体）の assemblage を解析した。*G. duodenalis* の 4 つの遺伝子座である 18S rRNA（18S ribosomal RNA）、GDH（glutamate dehydrogenase）、BG（beta-giardin）、TPI（triose phosphate isomerase）を標的とする各 nested PCR に加え、犬特異的 assemblage の検出に優れた TPI を標的とする nested PCR を行い、増幅産物のシーケンス解析より遺伝子型別を行った。

その結果、計 170 検体（一般家庭から 39 検体、ペットショップから 69 検体、繁殖施設から 37 検体、専門学校から 13 検体、犬の訓練施設から 12 検体）で *G. duodenalis* の遺伝子型が決定可能であった。83 検体は解析に用いた遺伝子座間での結果に矛盾を生じず、単一の assemblage として同定されたのに対し、87 検体は、複数の異なる assemblage を含んでいた。犬特異的な assemblage（C および D）が全体の 81.8%（139/170）を占め、assemblage C が 15.3%（26/170）、D が 30.0%（51/170）、mixed assemblage C+D が 36.5%（62/170）となった。30 検体（17.6%）は人獣共通感染性とされる assemblage A あるいは B を含み、assemblage A が 2.9%（5/170）、A+D が 9.4%（16/170）、A+C+D が 2.9%（5/170）、B が 0.6%（1/170）、B+D が 1.8%（3/170）であった。1 検体は猫特異的な遺伝子型である assemblage F を含んでいた（D+F: 0.6%）。

一般家庭、ペットショップ、繁殖施設、専門学校、犬の訓練施設のいずれからも人獣共通感染性の *assemblage* A が検出され、国内の飼育犬由来 *G. duodenalis* における人獣共通感染リスクの存在が明らかとなった。また、ペットショップ、繁殖施設の店舗あるいは繁殖施設ごとに分布をみると、人獣共通感染性 *assemblage* の分布が飼育施設ごとに偏っていたことから、各施設における感染コントロールの重要性が示唆された。

第 2 章 飼育猫由来 *G. duodenalis* の Multi-locus genotyping

これまで日本国内では調査されていない一般家庭の飼育猫およびペットショップの飼育猫に由来する *G. duodenalis* 株について MLG による遺伝子型別を行い、各 *assemblage* の分布を明らかにすると同時に人獣共通感染のリスクを評価した。

ELISA キットで *Giardia* 特異抗原陽性の計 57 検体（一般家庭から 13 検体、ペットショップから 44 検体）について、*G. duodenalis* の 4 つの遺伝子座である 18S rRNA、GDH、BG、TPI を標的とする各 nested/semi-nested PCR を行い、増幅された PCR 産物の塩基配列解析より遺伝子型別を実施した。

その結果、計 44 検体（一般家庭から 11 検体、ペットショップから 33 検体）で型別が可能であった。猫特異的な *assemblage* F が 75% (33/44) を占め、次いで *assemblage* A が 13.6% (6/44) 検出された。1 検体 (2.3%) は *assemblage* B だった。4 検体 (9.1%) は遺伝子座間で矛盾を生じ、検体中に *assemblage* A と F が含まれていた。全体で人獣共通感染性 *assemblage* の A または B を含む検体の割合 (25.0%) は犬よりも高い傾向が見られ、複数の異なる地

域の一般家庭飼育猫および 5 店舗のペットショップの飼育猫から assemblage A が検出された。

以上のことから、人獣共通感染性である assemblage A の幅広い分布が明らかとなり、国内の飼育猫由来 *G. duodenalis* における人獣共通感染のリスクが明らかとなった。

第 3 章 飼育犬・猫由来 *G. duodenalis* の 4 遺伝子座における DNA 配列の比較

第 1 章と第 2 章で得られた *G. duodenalis* 株の DNA 配列を用いて系統発生的な解析を行い、飼育犬・猫由来 *G. duodenalis* の遺伝子学的な近似や多様性を明らかにし、各株の犬・猫における伝播について考察した。

飼育犬・猫での調査で得られた合計 649 の DNA 配列 (18S rRNA: 112, GDH: 123, BG: 133, TPI: 281) を遺伝子座ごとにアラインメント処理して比較した。配列内に double peak を示したものを除き、最終的に合計 104 (18S rRNA: 6, GDH: 15, BG: 24, TPI: 58) の異なる配列を用いて最尤法により系統樹を作成した。

その結果、assemblage A と B では、検出された検体数に限りがあるものの、遺伝子学的な多様性が乏しく、いくつかの犬由来株と猫由来株で配列が完全に一致した。従って、これらの assemblage A 株あるいは B 株が幅広く分布し、犬一猫間でも伝播する可能性が示唆された。assemblage C、D、F は系統樹において遺伝子学的多様性が認められたが、検体の提供元や検体採取地域による偏りはみられず、人の手による動物の移動によって遺伝子学的に異なる株が拡散している可能性が考えられた。

以上の成績から、日本国内の飼育犬・猫由来の *G. duodenalis* が潜在的な人獣共通感染リスクを有していること、これらの人獣共通感染性 *G. duodenalis* が犬－犬あるいは猫－猫間のみならず犬－猫の種間においても伝播、維持されている可能性が示された。

本研究の成果は、犬・猫における *G. duodenalis* 感染の疫学的な動態や遺伝子学的特徴に関して理解を深め、小動物臨床の現場で獣医師が飼育されている犬・猫が保有する *G. duodenalis* の人獣共通感染リスクを認識し、飼い主へ適切なインフォームを行うために役立つ知見だと考えられ、最終試験の成績と併せて審査員一同は合格と判定し、博士（獣医学）の学位授与が適当であると認める。