

学位論文審査の結果の要旨	
氏名	小嶋 篤史
審査委員署名	主査 <u>大松 勉</u> 副査 <u>小山 哲史</u> 副査 <u>水石 哲也</u> 副査 <u>落合 謙爾</u> 副査 <u>古市 達哉</u> * 審査委員が5名を超える場合は、記入欄を追加して作成してください。
題目	<i>Macrorhabdus ornithogaster</i> の分子生物学的解析法と治療法開発に向けた基礎技術の開発
審査結果の要旨 (1,000 字程度)	
<p><i>Macrorhabdus ornithogaster</i> (MO) はペット鳥に病原性を示す真菌であり、世界中の鳥類から検出されている。本研究では MO の効果的な治療法を開発するために、国内で飼育されているペット鳥の MO 感染症について疫学調査を行い、次いで MO の培養と薬剤感受性試験の確立を行った。さらに、MO の分子疫学的解析法を確立し、これを用いて国内に蔓延する MO の分子疫学的解析を行った。</p> <p>第一章では、有効な治療法を明らかにするため疫学調査を行った。治療開始3週間以内の陰転率はアンフォテリシン B (AMPH-B) 単独療法が 66.7%、AMPH-B・ミカファンギン (MCFG) 併用療法が 75.0%であり、有意差が認められなかったが、AMPH-B 単剤療法で陰転しなかった個体に対し MCFG やフルコナゾール (FLCZ) を併用し、最大6週まで治療を継続した場合の陰転率は97.9%まで上昇した。これは海外において報告されている AMPH-B 単剤療法の陰転率 (16.6%) をはるかに上回る成績であり、新規治療法の基盤となる情報を提供すると共に、多剤耐性株の存在も明らかにした。</p> <p>第二章では、糞便から MO の純培養を行うための研究を行った。培養管による汚染の軽減、強酸性培養液による除菌、培養上清の 5~10%添加による増殖強化、適正な植え継ぎ期間の設定、冷凍保存など、MO の培養に至適な条件を明らかにした。</p> <p>第三章では、<i>in vitro</i> における効果的な薬剤を明らかにするため、培養に成功した株を基に、酵母様真菌 DP '栄研'を用いた感受性試験を実施した。判定時間は 72~120 h が適切であることを示した。<i>Candida</i> spp.の薬剤感受性試験のガイドラインを参考に、抗真菌薬の感受性試験の結果を解釈した結果、MCFG、カスポファンギン (CPFZ)、FLCZ、ポリコナゾール (VRCZ) は感性であり、イトラコナゾールは用量依存的感性、フルシトシンは耐性であ</p>	

り、AMPH-B は株により感受性が異なり、CPFG 及び VRCZ が新たな治療薬となる可能性を明らかにした。

第四章では、糞便サンプルを用いて分子疫学解析を行うため、MO 特異的プライマーを設計することで糞便サンプルから ribosomal DNA (rDNA) の D1/D2 1、internal transcribed spacer (ITS)、IGS (Intergenic spacer) 領域を直接増幅することを可能にした。これらの遺伝子検出系を利用することで、MO の疫学調査をより効率よく実施することが可能になると考えられた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が東京農工大学大学院農学府共同獣医学専攻の学位論文として十分に価値があると認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

題 目 : Validation of the usefulness of 26S rDNA D1/D2, internal transcribed spacer, and intergenic spacer 1 for molecular epidemiological analysis of *Macrorhabdus ornithogaster*.

著 者 名 : Kojima A, Osawa N, Oba M, Katayama Y, Omatsu T, Mizutani T

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science JVMS-21-0576.R1.

巻・号・頁・発行年 : 84(2): 頁未定, 2022

既発表学術論文

1. 題 目 : Genetic characterization of *Trichomonas gallinae* (Rivolta, 1878) in companion birds in Japan and the genotypical relationship in the Asia region.

著 者 名 : Chou S, Hadano S, Kojima A, Yorisaki M, Yasuda M, Ike K, Tokiwa T

学術雑誌名 : Journal of Microbiology, Immunology and Infection PMID: 34246556

巻・号・頁・発行年 : 未定(Available online 29 June 2021)

2. 題 目 : Resurrection of the genus *Eumonospora* (Apicomplexa: Sarcocystidae) for *Caryospora* species without Stieda body.

著 者 名 : Chou S, Tokiwa T, Hadano S, Izawa N, Ueda M, Kojima A, Ike K

学術雑誌名 : Parasitology international PMID: 32147506

巻・号・頁・発行年 : 77: 102101, 2020

Summary of Graduation / Doctoral Thesis Assessment Results

KOJIMA Atsushi

Macrorhabdus ornithogaster (MO) is a pathogenic fungus that infects pet birds. Chapter 1 describes the epidemiological evaluation of effective treatments that target this organism. The findings revealed that additional administration of micafungin or fluconazole resulted in a high negative MO rate (97.9%) in birds that were resistant to amphotericin B monotherapy. Chapter 2 chronicles the standardization of the procedure to establish pure cultures of MO directly from feces. Optimization of the procedure included minimizing contamination by using culture tubes, sterilization by strong acidic culture medium, growth promotion by addition of culture supernatant, establishing appropriate time of medium replacement, and cryopreservation. Chapter 3 evaluates the drug susceptibilities of the cultured strains described in Chapter 2. The appropriate time to assess susceptibility was found to be between 72-120 h. The drug susceptibilities of MO strains was determined as per guidelines available for *Candida* spp. MO was found to be susceptible to caspofungin and voriconazole in addition to micafungin and fluconazole. This indicates that caspofungin and voriconazole may potentially be utilized as novel therapeutic anti-MO agents. Chapter 4 describes the development and utilization of novel MO-specific primers that amplified the D1/D2, internal transcribed spacer, and intergenic spacer regions of the ribosomal MO DNA directly from fecal samples. These primers will serve as useful tools to aid epidemiological studies on MO. All members of the Board of the Thesis Assessment Committee of TUAT unanimously approved this Doctoral Thesis (Doctor of Philosophy) on account of the merits of its findings, contents, and structure as well as the published articles that stem from this research.