

氏 名

わた なべ じゅん こ  
渡 部 絢 子

学位論文題目

Molecular Epidemiology of Japanese Isolates of *Microsporium canis*  
Based on Multilocus Microsatellite Typing Fragment Analysis  
(*Microsporium canis* 本邦分離株におけるマイクロサテラ  
イト解析による分子疫学的検討)

## 学位論文内容の要旨

### 研究目的

*Microsporium (M.) canis* Bodin 1902 は人畜共通感染症を起こす皮膚糸状菌症として知られる。本邦では従来北海道のみに分布していたが、1952 年以降、当初東京で、次いで全国から分離されるようになり、ペットブームに伴った感染の拡大が想定された。現在も *M. canis* は頭部・体部白癬患者からしばしば分離され、その多くがイヌ、ネコに由来すると推測されるが、動物との接触が明らかでない例も報告され、感染経路の解明に用いる分類のための分子マーカーの実用化が待たれていた。

他の皮膚糸状菌において有用であった random amplification of polymorphic DNA 法や、ribosomal RNA 遺伝子の多型を用いて種内変異の有無の検討を試みたが、これらの方法による遺伝子多型の検出は不可能であった。

そこで、本研究では multilocus microsatellite typing (MLMT) を用いて、本邦で分離された *M. canis* 株の種内変異の検出に成功した。また、そこで分類された MLMT の型により、本邦での *M. canis* の疫学的検討を試みた。

### 実験方法

2010～2014 年に分離され、本学皮膚科学教室に保存されていた *M. canis* 70 株（ヒト由来 59 株、ネコ由来 11 株）を使用した。菌株はいずれも形態および ITS 領域の塩基情報から同定されたものである。この 70 株と基準株 CBS 113480（ゲノム解読株）について既報に記載されているマイクロサテライトについて MLMT を行った。実験では蛍光標識された 9 種のプライマーセットによりマイクロサテライト配列を含む領域を PCR で増幅した後、PCR 産物のサイズをキャピラリー電気泳動で解析して繰り返し配列の数の違いを測定した。

### 実験成績

マイクロサテライトマーカーの組み合わせにより、70 株は 20 タイプに分けられ、そのうちヒト由来 59 株は 20 タイプに、ネコ由来 11 株は 6 タイプに分けられた。遺伝子型別では、A が最も多く、次いで H, P, I と S の順であった。また、同一家族内のヒト由来株とネコ由来株の解析では、患者と飼ネコの菌株は同じ遺伝子型を示した。

この解析方法で同じ遺伝子型を示すことが明らかになったマーカーおよび基準株の配列を用いた相同性検索により、幾つかのプライマーセットはそれぞれ同じ MS をターゲットにしていることが判明した。このことより、本邦分離株の分類には、MS1 または MS3, MS2, MS4, MS6, MS7 の 5 組が有用であり、特に種内変異の検出能力が高いのは MS2, MS4, MS7 の組み合わせであると考えられた。

遺伝子型と臨床病型との関連性、地域性について検討したが、明らかに有意な差は認められなかった。

## 総括および結論

本邦で分離された 70 株について MLMT を行い、遺伝子多型の検出を試みた。その結果、20 タイプの遺伝子多型を検出できた。これは海外から感染したペット動物を輸入することによって *M. canis* の侵入が何度も起こった可能性を示唆していると考えられる。本邦分離株では MS2, MS4, MS7 を用いた MLMT により、多くの種内変異が比較的容易に検出できるため、今後 *M. canis* 感染症の感染経路の推定など、分子疫学研究に有用であると考えられる。