

(別紙1)

学位論文審査の結果の要旨	
専攻	畜産衛生学専攻 (博士後期課程)
氏名	Guswanto
審査委員署名	主査 五十嵐 郁男 副査 西川 義文 副査 玄 学南 副査 横山 直明 副査 今井 邦俊
題目	Studies on the development of diagnostic methods and chemotherapeutics of babesiosis (バベシア病の診断法と化学療法の開発に関する研究)
審査結果の要旨	
<p>バベシア病は赤血球に寄生し、世界的に畜産業に大きな経済的被害を与えている難治性の原虫病である。バベシア病に対する簡便で迅速な診断法の開発や新規の治療薬の開発が喫緊の課題である。本研究の目的は、牛バベシア病に対する信頼できる診断法の評価と新規の薬剤の開発である。</p> <p>第1章では、<i>B. bovis</i> の spherical body 質4 (SBP-4)、<i>B. bigemina</i> のC末端欠損 rhoptry (rRAP1/CT17) 及び両たんぱく質を用いて作製した3種類のイムノクロマトグラフィー(bovICT、bigICT および dual-ICT)と ELISA を用いて、インドネシアの西ジャワで採取された991の牛血清サンプルを検査した。その結果、ELISA、bovICT および dual-ICT により、それぞれ28.4%、25.3%、24.5%のサンプルが <i>B. bovis</i> 陽性、<i>B. bigemina</i> では、それぞれ、27.1%、24.2%、および22.8%のサンプルが陽性であった。これらの結果は迅速な診断結果が求められる野外でのバベシア病の血清学的診断では ICT が適している事が示唆された。</p> <p>第2章では、インドネシアの他の島々で得られた487の血清サンプルについて、血清診断およびnPCRを行った。その結果、ELISA、bovICT および dual-ICT、nPCR により、<i>B. bovis</i> ではそれぞれ69.8%、65.1%、63.0%、50.7%、<i>B. bigemina</i> ではそれぞれ27.5%、26.7%、26.1%、19.1%のサンプルが陽性であった。またこれら</p>	

の方法により、それぞれ 25.7%、23.2%、22.4%、10.7%のサンプルにおいて混合感染が認められた。更にインドネシアで得られた *B. bovis* の sbp4 と *B. bigemina* の rap-1a 遺伝子の DNA 配列は他の国も認められ、94~100%の相同性を示した。

第3章では、熱ショックたんぱく質 90 の阻害剤である 17-dmag の増殖抑制効果を培養原虫と *B. microti* 感染マウスモデルを用いて行った。17-dmag の IC₅₀ は、*B. bovis*、*B. bigemina*、*B. divergens*、*B. caballi*、*T. equi* はそれぞれ 77.6、62.4、173.0、88.5、および 307.7 nM であった。また、17-dmag の MDBK と NIH/3T3 細胞に対する毒性 (EC₅₀) は、それぞれ 15500 と 8780 μM で IC₅₀ より遥かに高く、選択性インデックスは宿主細胞に比べてのすべての原虫で高かった。さらに、*B. microti* 感染マウスに 30 mg/kg の 17-dmag を腹腔投与した結果、非治療群と比較して有為に高い原虫抑制効果が認められた。また、17-dmag と diminazene aceturate を併用して治療したところ、単独で用いた場合と同様の治療効果が認められた。

これらの本申請者の研究成により、ICTs は *B. bovis* と *B. bigemina* の抗体検出の野外応用に有用である事が示された。また、インドネシアの牛バベシア病の疫学情報やバベシア原虫の遺伝子情報が明らかになった。更に、17-dmag がバベシア病の治療薬として有望であることが示唆され、今後の実用化が期待される。

以上について、審査委員全員一致で本論文が帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士後期課程畜産衛生学専攻の学位論文として十分価値があると認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

- 1) 題 目 Evaluation of immunochromatographic test (ICT) strips for the serological detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle from Western Java, Indonesia.
- 著 者 Azirwan Guswanto, Puttik Allamanda, Euis Siti Mariamah, Tserendorf Munkjargal, Bumduuren Tuvshintulga, Hitoshi Takemae, Thillaiampalam Sivakumar, Mahmoud Aboulaila, Mohamad Alaa Terkawi, Madoka Ichikawa-Seki, Yoshifumi Nishikawa, Naoaki Yokoyama and Ikuo Igarashi
- 学術雑誌名 Veterinary Parasitology
(巻・号・頁) (239 巻・76 ~79 頁)
発行年月 2017 年 5 月

(別紙2)

最終試験の結果の要旨	
専攻	畜産衛生学専攻 (博士後期課程)
氏名	GUSWANTO
審査委員署名	主査 五十嵐 郁男 副査 西川 義文 副査 玄 浩平 副査 梅山 直明 副査 今井 邦俊
実施年月日	平成29年7月20日
試験方法 (該当のものを○で 囲むこと)	<input checked="" type="radio"/> 口頭 <input type="radio"/> 筆記
要 旨	
<p>主査および副査の5名は、学位申請者に対し、原虫病研究センターP-Kホールにおいて、学位申請者本人に口頭により学位論文内容の説明を行わせ、その内容について質疑応答を行った。また、関連する専門知識について口頭により試問を行った。</p> <p>その結果、申請者は、帯広畜産大学大学院畜産学研究科博士後期課程畜産衛生学専攻修了者としての学力および見識を有するものと認め、博士(畜産衛生学)の学位を与えるに十分な資格を有すると判定した。</p>	