

氏名（本（国）籍）	大 野 佳（大阪府）
推 薦 教 員 氏 名	岐阜大学 教授 猪 島 康 雄
学 位 の 種 類	博士（獣医学）
学 位 記 番 号	獣医博乙第170号
学位授与年月日	令和2年9月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	ハンドウイルカ (<i>Tursiops truncatus</i>) の呼吸器真菌 感染症の治療に関する研究
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 猪 島 康 雄 副査 帯広畜産大学 教 授 横 山 直 明 副査 岩 手 大 学 教 授 山 崎 真 大 副査 東京農工大学 准教授 佐々木 一 昭 副査 岐 阜 大 学 准教授 西 飯 直 仁 副査 岐 阜 大 学 教 授 前 田 健

学位論文の内容の要旨

近年、国内の水族館等の飼育施設ではハンドウイルカ (*Tursiops truncatus*) を野生から入手できず、その飼育頭数は減少傾向にある。また、本種はカンジダ属やアスペルギルス属の真菌を主な起因菌とする呼吸器感染症の罹患率が高い。そのため、現飼育個体群に対しては、抗真菌剤のスペクトルや副作用、抗真菌剤に対する起因菌の感受性を考慮した適切な呼吸器真菌感染症の治療を実施し、長期飼育に努める必要がある。また、繁殖により本種の飼育頭数を維持、確保するためには、妊娠、授乳中の母獣における本疾患についても適切に治療する必要がある。そこで、以下の研究を実施した。

第1章では、呼吸器真菌感染症を呈した本種にミカファンギン (MCFG) を静脈内投与した際、その安全性 (副作用) について評価した。本種に MCFG を投与することで体温低下や白血球減少症を伴う副作用が生じることを示したが、その副作用が生じた直接の原因や発生メカニズムについては不明であった。これより、本種に MCFG を投与する際、定期的に体温や白血球数をモニタリングすることの重要性が示唆された。また、本種に MCFG を投与することでアスパラギン酸トランスアミナーゼ (AST) 値が増加することを示した。これより、AST 値をモニタリングすることの重要性も示唆された。

第2章では、呼吸器真菌感染症を呈した妊娠、授乳中の母獣にポリコナゾール (VRCZ) を経口投与した際、VRCZ が胎盤、乳汁移行するのかどうかや、妊娠、授乳中の母獣に VRCZ を投与することが母仔獣にとって安全であるのかどうか (副作用) について評価した。妊娠中に VRCZ を投与した母獣の臍帯血や、その仔獣から出生直後に採取した血液から VRCZ を検出したことで、本種の胎盤 (臍帯血) を介して胎仔に VRCZ が移行することを初めて明

らかにした。妊娠7か月目の母獣にVRCZを投与したところ、母仔獣の双方に副作用は認められなかった。一方、妊娠5か月目の母獣にVRCZを投与したところ、母獣に副作用は認められなかったが、仔獣に脊椎弯曲が認められた。妊娠中の母獣にVRCZを投与したと脊椎弯曲との因果関係は不明であった。これより、妊娠中の母獣にVRCZを投与する際、母獣の血漿VRCZ濃度をモニタリングしながら妊娠7か月目以降に投与することや、投与で得られる治療効果と副作用を評価することの重要性が示唆された。本章ではさらに、授乳中にVRCZを投与した母獣の乳汁や、その乳汁を人工哺育のために給与した、又は飲んだ仔獣の血液からVRCZを検出したことで、乳汁を介して仔獣にVRCZが移行することを初めて明らかにした。授乳中の母獣にVRCZを投与したところ、母仔獣の双方に副作用は認められなかった。本種における乳汁中と血漿中のVRCZ濃度の比 (1.66 ± 0.27 , 平均値±標準偏差値, $n=134$) がヒト (1.0) よりも高値であることを示した。これより、本種ではVRCZがヒトよりも乳汁移行しやすいこと、また、その移行性の違いは、本種とヒトの乳汁成分の違い(本種の乳脂肪率はヒトより高値)やVRCZの高脂溶性が関与している可能性が示唆された。授乳中の母獣の血漿や乳汁VRCZ濃度がヒトの治療有効濃度域かそれよりも高濃度域で推移しているにも関わらず、仔獣の摂餌量(kcal)が増加(又は吸乳量が低下)するにつれて仔獣の血漿VRCZ濃度が低下することを示した。これより、母獣の血漿VRCZ濃度(又は乳汁VRCZ濃度)や仔獣の摂餌量(又は吸乳量)次第で、VRCZが仔獣に蓄積する可能性や、その蓄積でVRCZの副作用が仔獣に生じる可能性が示唆された。また今後、授乳中の母獣にVRCZを投与する際、母獣に加えて仔獣の血漿VRCZ濃度や副作用についてもモニタリングすることの重要性が示唆された。

第3章では、本種の呼気から分離されたカンジダ属やアスペルギルス属の真菌の種やアゾール系抗真菌剤(イトラコナゾール(ITCZ), VRCZ)に対する分離真菌の感受性について評価することを目的とし、分離真菌の種同定と薬剤感受性試験を実施した。14頭の呼気から合計5種、20株の真菌(*Candida albicans*を6株, *C. tropicalis*を3株, *C. glabrata*を4株, *Aspergillus fumigatus*を6株, *A. niger*を1株)を分離した。ITCZ又はVRCZを投与した後の8頭から分離した8株中2株(ともに*C. tropicalis*)はITCZとVRCZの両方に、1株(*A. niger*)はVRCZに対して耐性を示した。ITCZ又はVRCZを投与する前と投与していない7頭から分離した12株中1株(*C. albicans*)はITCZとVRCZの両方に、3株(すべて*C. glabrata*)はITCZに対して耐性を示し、また3株(*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*)はITCZに対して低感受性を示した。これより、本種にアゾール系抗真菌剤を投与する際、起因菌が耐性(交差耐性含む)を獲得する可能性や、飼育個体群とその飼育環境下でアゾール系抗真菌剤に耐性(自然耐性含む)又は低感受性を示すカンジダ属やアスペルギルス属の真菌(隠蔽種含む)が蔓延している可能性が示唆された。また、適切な抗真菌剤を選択するために分離真菌の種同定と薬剤感受性試験を実施することの重要性も示唆された。

以上、本研究で得られた知見は、妊娠、授乳中を含む本種の呼吸器真菌感染症を適切に治療するための有益な基礎データとなり、また、現飼育個体群の長期飼育や、繁殖による飼育頭数の維持、確保に貢献すると期待される。

審 査 結 果 の 要 旨

近年、国内の水族館ではハンドウイルカ(*Tursiops truncatus*)を野生から入手できず、

飼育頭数が減少している。また、本種は呼吸器真菌感染症の罹患率が高い。そのため、飼育頭数を維持、確保するためには妊娠、授乳中を含む本種の本疾患を適切に治療する必要がある。そこで、以下の研究を実施した。

第1章では、本疾患を呈した本種にミカファンギン（MCFG）を静脈内投与した際、その安全性を評価した。本種にMCFGを投与することで体温低下と白血球減少を伴う副作用や、アスパラギン酸トランスアミナーゼ（AST）活性の増加が生じることを示した。以上より、本種にMCFGを投与する際、定期的に体温、白血球数、AST活性をモニタリングすることの重要性が明らかとなった。

第2章では、本疾患を呈した妊娠、授乳中の母獣にボリコナゾール（VRCZ）を経口投与した際、VRCZの胎盤、乳汁への移行性や、妊娠、授乳中の母獣に投与することの安全性を評価した。本種でVRCZが胎盤、乳汁移行することを初めて明らかにした。妊娠7か月目の母獣にVRCZを投与した際、母仔獣に副作用は認められなかった。妊娠5か月目の母獣にVRCZを投与した際、母獣に副作用は認められなかったが、仔獣に脊椎弯曲が認められた。授乳中の母獣にVRCZを投与した際、母仔獣に副作用は認められなかったが、母獣の血中VRCZ濃度や仔獣の摂餌量次第で、仔獣にVRCZが蓄積する可能性や、蓄積により副作用が生じる可能性を示した。以上より、妊娠（妊娠7か月目以降の投与を推奨）、授乳中の母獣にVRCZを投与する際、母仔獣ともに血中濃度や副作用をモニタリングすることの重要性が明らかとなった。

第3章では、本種の呼気から分離された真菌の種同定とアゾール系抗真菌剤（イトラコナゾール、VRCZ）に対する分離真菌の感受性評価を実施した。14頭から合計5種、20株のカンジダ属とアスペルギルス属の真菌を分離した。アゾール系抗真菌剤を投与する際、起因菌が耐性（交差耐性含む）を獲得する可能性や、飼育個体群と飼育環境下でアゾール耐性（自然耐性含む）や低感受性のカンジダ属やアスペルギルス属の真菌が蔓延している可能性を示した。以上より、適切な抗真菌剤を選択するために分離真菌の種同定と薬剤感受性試験を実施することの重要性が明らかとなった。

以上の知見は、妊娠、授乳中を含む本種の本疾患を適切に治療するための有益なデータとなり、飼育頭数の維持、確保に貢献すると判断した。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Leukopenia induced by micafungin in a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): a case report

著 者 名 : Ohno, Y., Akune, Y., Nitto, H. and Inoshima, Y.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : 81 (3) : 449-453, 2019

- 2) 題 目 : First isolation of voriconazole-resistant *Candida albicans*, *C. tropicalis*, and *Aspergillus niger* from the blowholes of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*)

著 者 名 : Ohno, Y., Akune, Y., Inoshima, Y. and Kano, R.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : 81 (11) : 1628-1631, 2019

- 3) 題 目 : Placental and breastmilk transfer of voriconazole to offspring from pregnant and lactating bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*)
著 者 名 : Ohno, Y., Kobayashi, M., Akune, Y. and Inoshima, Y.
学術雑誌名 : Medical Mycology
巻・号・頁・発行年 : 58 (4) : 469-477, 2020

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Establishment of canine and feline cells expressing canine signaling lymphocyte activation molecule for canine distemper virus study
著 者 名 : Nakano, H., Kameo, Y., Andoh, K., Ohno, Y., Mochizuki, M. and Maeda, K.
学術雑誌名 : Veterinary Microbiology
巻・号・頁・発行年 : 133 (1-2) : 179-183, 2009
- 2) 題 目 : Detection of antibodies against Japanese encephalitis virus in raccoons, raccoon dogs and wild boars in Japan
著 者 名 : Ohno, Y., Sato, H., Suzuki, K., Yokoyama, M., Uni, S., Shibasaki, T., Sashika, M., Inokuma, H., Kai, K. and Maeda, K.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 71 (8) : 1035-1039, 2009
- 3) 題 目 : Dogs as sentinels for human infection with Japanese encephalitis virus
著 者 名 : Shimoda, H., Ohno, Y., Mochizuki, M., Iwata, H., Okuda, M. and Maeda, K.
学術雑誌名 : Emerging Infectious Diseases
巻・号・頁・発行年 : 16 (7) : 1137-1139, 2010
- 4) 題 目 : Molecular analysis of parapoxvirus from a spotted seal *Phoca largha* in Japan
著 者 名 : Ohno, Y., Inoshima, Y., Maeda, K. and Ishiguro, N.
学術雑誌名 : Diseases of Aquatic Organisms
巻・号・頁・発行年 : 97 (1) : 11-16, 2011
- 5) 題 目 : Environmental isolates of fungi from aquarium pools housing killer whales (*Orcinus orca*)
著 者 名 : Kohata, E., Kano, R., Akune, Y., Ohno, Y., Soichi, M., Yanai, T., Hasegawa, A. and Kamata, H.
学術雑誌名 : Mycopathologia
巻・号・頁・発行年 : 176 (5-6) : 403-408, 2013

6) 題 目 : Plasma metabolomic analysis in mature female common bottlenose dolphins: profiling the characteristics of metabolites after overnight fasting by comparison with data in beagle dogs

著 者 名 : Suzuki, M., Yoshioka, M., Ohno, Y. and Akune, Y.

学術雑誌名 : Scientific Reports

巻・号・頁・発行年 : 8 (1) : 12030, 2018