

## 論文審査の結果の要旨

氏名：萩生田 遼

博士の専攻分野の名称：博士（薬学）

論文題名：室内環境における好乾性真菌 *Aspergillus* 属 *Restricti* 節の種多様性と地理的分布

審査委員：(主査) 教授 廣瀬 大

(副査) 教授 榛葉 繁紀 教授 小林 弘子

近年、世界的にアレルギー疾患の有病率が増加傾向にあり日本もその例外ではない。ハウスダストやそこで生活する真菌は、アレルギー疾患に関わるアレルゲンとしてスギ花粉やダニ類と並び臨床における重要性が高い。本論文の研究対象である *Aspergillus* 属 *Restricti* 節（以後、*Restricti* 節）は水分活性が低い環境を好む特異な生理学的特性をもちハウスダスト中で頻繁に分離される分類群として知られる。特に本節の *Aspergillus penicillioides* と *Aspergillus restrictus* はアレルゲン起因菌として知られており医真菌学において関心が高い。近年、気候変動により様々な病原微生物の分布域が拡大することが懸念されはじめているが、本節については室内環境の体系的な多様性調査が殆ど行われていないだけでなく室内環境と野外環境の関係性が明らかになっていないため、気候変動の影響を評価する段階にないのが現状である。本論文は日本国内の室内環境中における *Restricti* 節の多様性と各菌種の地理的分布の実態解明、野外環境における起源の推定を目的として行なったもので、本論は6章より構成される。

まず序論でハウスダスト中の *Restricti* 節の医学的重要性と本節の分類体系、多様性、生活様式、分布域に関するこれまでの知見を踏まえて本論文の目的について述べられた後、第1章では、多様性調査を効率的に進める上で重要な本節の種同定に使える DNA バーコード領域の検討を行っている。国内の室内環境から分離された11菌種87菌株を対象に *Aspergillus* 属の分類学的研究で一般的にターゲットとされる4つの遺伝子領域を比較している。種を判別する上で十分な変異の蓄積がある点とPCR増幅の成功率の高さの点でカルモジュリン遺伝子の部分塩基配列が適当であることが明らかにされており、以降の章の多様性評価ではこの領域の塩基配列と形態情報に基づき種同定を行っている。

第2章では、国内の室内環境における *Restricti* 節の多様性と地理的スケールの分布調査を行っている。国内全域に渡る122軒で採取されたハウスダストから分離された986菌株の種同定を行い、日本新産種11菌種を含む16菌種の分布を確認している。さらに、主要な6菌種に対し一般化線形モデルにより分布の制限要因の評価を行い、いずれの菌種においても人為的要因である清掃頻度が制限していることが示されている。しかし *A. penicillioides* では海岸からの距離、*A. restrictus* では年平均気温という土地的要因も分布を制限していることも明らかにしている。

第3章では、第2章の調査で分離された未記載種と考えられる菌株について詳細な分類学的検討を行っている。4遺伝子領域およびミトコンドリアゲノムに基づく分子系統解析と巨視的および微視的な形態観察を行うことにより、*Restricti* 節の基部系統となる新種 *Aspergillus verrcosus* を記載している。

第4章では、*Restricti* 節の各菌種の生理的特性から野外環境における生活場所の推定を試みている。第2章で分離された16菌種109菌株を対象に、野外環境における分布可能性に強く影響すると考えられる耐塩性、至適pH、炭酸カルシウム可溶化能について評価を行っている。いずれの菌種においても5-20% NaCl、pH 5-7で著しい菌糸成長が認められ、*A. verrcosus* を除き炭酸カルシウムの可溶化能を有することを明らかにしている。その結果に基づき、*Restricti* 節の野外環境の可能性のある生活場所として海洋やカルスト台地

を挙げている。

第5章では、海洋が室内環境由来の *Restricti* 節の野外環境における起源の一つであるか検討するための第一段階として海洋表層水中の多様性調査を行っている。静岡県下田市と鹿児島県奄美市で行った調査からアレルゲン起因菌としてしられる2菌種に加え室内環境から分離報告のある2菌種の分布を確認している。特に *A. penicillioides* は調査地に関わらず出現頻度が高いことが明らかになり、第2章の室内環境の結果を支持している。このことから、*Restricti* 節の一部の菌種においては海洋が野外環境における起源の一つであると考察している。

第6章では、*A. penicillioides* 69菌株（海洋由来7菌）と *A. restrictus* 26菌株（海洋由来2菌株）を対象にゲノムワイドな一塩基多型に基づくジェノタイピングを行い、それらのデータに基づく分子系統学的解析と集団遺伝学的解析から地理的距離や分離源に依存した遺伝的な分化が生じているか評価している。その結果、いずれの菌種においても採取地域や分離源毎での遺伝的分化の程度は低く、地理的に近い地域に遺伝的交流が殆どない異なる系統が混在していることを明らかにしている。本論文の最後には本論で得られた結果に基づき室内環境に分布する *Restricti* 節の主要2菌種の現在の分布の形成プロセスの推定と将来の分布域の変化の可能性について総合考察としてまとめている。

以上本論文は、密閉性が高く低湿度になりやすい室内環境への変化に伴いハウスダスト由来のアレルギー疾患の罹患者数が今後増大すると予想される本邦におけるアレルゲン起因菌の地理的分布の将来予測を目指し、室内環境と野外環境における多様性と分布特性を分類学、生態学、分子系統学、集団遺伝学の見地から明らかにしたものであり、学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（薬学）の学位論文として価値あるものとして認めた。

以 上

令和6年1月12日