



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular investigation of tuberculosis in Asian elephants in Nepal
Author(s)	PANDIT, Arjun
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第16657号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16657
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98267
Type	doctoral thesis
File Information	Arjun_Pandit_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：PANDIT Arjun

審査委員	主査 教授	石 塚 真 由 美
	副査 教授	坪 田 敏 男
	副査 特任教授	鈴 木 定 彦
	副査 准教授	松 野 啓 太
	副査 准教授	下 鶴 倫 人

学位論文題名

Molecular investigation of tuberculosis in Asian elephants in Nepal (ネパールにおけるアジアゾウの結核に関する分子調査)

ネパールのアジアゾウにとって結核感染は重大な保全上の脅威となりつつあり、とくに人型結核菌 *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) の種間および種内伝播が深刻な懸念となっている。ネパールにおける人およびアジアゾウでは、結核菌の遺伝子型としてインド・オセアニア系統が優勢であるものの、北京系統と CAS-デリー系統も確認されている。本研究では、ネパールの飼育アジアゾウにおける Mtb の疫学および分子特性の一端を明らかにするとともに、結核診断法について検討を行った。

第 I 章では、2019 年から 2022 年にかけて死亡した飼育アジアゾウ 9 頭について、培養、LAMP 法および PCR 法により肺組織からの結核菌の検出を試みた。さらに、4 例より得られた菌株について薬剤感受性試験 (DST) を実施した。また、培養において雑菌混入が見られ、Mtb 株が分離できなかった 1 例については、組織サンプルから抽出した DNA を用いて、*rpoB* および *katG* のアミノ酸コード領域および *inhA* のプロモーター領域における薬剤耐性関連変異の有無を調べた。さらに、PCR 法陽性例については、Spoligotyping、Large Sequence Polymorphism (LSP)、*gyrA* 配列解析および Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit-Variable Number of Tandem Repeats (MIRU-VNTR) 解析により遺伝子型別を行った。結果として、培養により 4 例、LAMP 法により 6 例および PCR 法により 5 例から Mtb が検出された。また、分離株 1 例において *katG* (Ser315Thr) のイソニアジド耐性関連変異が検出された。Spoligotyping と LSP の組み合わせにより、PCR 法陽性 5 例は、北京系統 (2 例) およびインド・オセアニア系統 (3 例) と同定された。このうちインド・オセアニア系統 3 例は、ネパールでの過去の感染アジアゾウの分離株と同様に *gyrA* 上に T231C 変異を有していた。ネパールのアジアゾウにおいてイソニアジド耐性の出

現は初めての報告であり、これは人由来の可能性が高いと考えられる。このように、近年においてもネパールの飼育アジアゾウに結核が感染していることが明らかとなり、ゾウとゾウの間の伝播に加えて人からゾウへの伝播の可能性を示唆する知見も得られた。

第 II 章では、飼育アジアゾウにおいて、非侵襲的なサンプル（糞便）からの結核菌検出手法の確立を試みた。まず、BCG（東京-172）を 10^0 から 10^{-5} まで連続希釈し、抽出された DNA に対し LAMP 法と PCR 法を実施した。その結果、LAMP 法は PCR 法に比べて 100 倍高い感度を示し、PCR 法が 15,000 CFU を検出したのに対して、LAMP 法は 150 CFU まで検出可能であった。次に、チトワン国立公園で結核抗体検査（Dual Path Platform Veterinary Tuberculosis Assay : DPP）で DPP 陽性 11 例、DPP 陰性 7 例の計 18 例を対象に、2022 年から 2025 年までの 4 年間、各々 3 日間の連続的な糞便採集を繰り返し実施した。採集した糞便サンプルから DNA を抽出し、LAMP 法と PCR 法を実施した。その結果、DPP 陽性 11 例のうち 2 例が 2-4 年続けて LAMP 法陽性を示したが、PCR 法では陽性例は検出されなかった。LAMP 法陽性例のうち、研究開始から 2 年後に死亡したアジアゾウにおいて、培養により結核陽性が確認され、LAMP 法による陽性が裏付けられた。2 例のみではあるが、糞便中から LAMP 法により結核菌 DNA が検出され、非侵襲的な結核診断法の確立に向けた重要な知見が得られた。

本研究は、アジアゾウにおける *Mtb* の伝播動態に関する分子レベルでの重要な知見を提供するとともに、ネパールにおけるアジアゾウでの薬剤耐性結核菌の出現を初めて報告するものである。また、PCR 法に比べて LAMP 法は感度が高く非侵襲的な診断ツールとしての可能性を示した。これらの研究成果は、アジアゾウの保全ならびにワンヘルスに対して多大な貢献をするものといえる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 PANDIT Arjun 氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学院規定第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。