



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Development of a Comprehensive Detection Method for Paramyxoviruses Using Indonesian Bats
Author(s)	NESTI, Dela Ria
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。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第16959号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16959
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99367
Type	doctoral thesis
File Information	Dela_Ria_Nesti_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（感染症学）

氏名：Dela Ria Nesti

審査委員	主査	教授	大場	靖子
	副査	教授	中島	千絵
	副査	教授	山岸	潤也
	副査	准教授	林田	京子

学位論文題名

Development of a Comprehensive Detection Method for Paramyxoviruses Using Indonesian Bats

（インドネシア由来コウモリを用いたパラミクソウイルス網羅的検出法の開発）

人獣共通感染症は、公衆衛生における世界的な脅威の一つである。その多くは、野生動物や家畜が保有する病原体が人間の生活圏へ流入することによって発生すると考えられている。なかでもコウモリは、人獣共通感染症を引き起こし得る多様な病原体を保有していることが知られている。特に、種数および個体数ともに多くのコウモリが生息し、食品市場における野生個体の取引も行われているインドネシアでは、コウモリ由来の人獣共通感染症の発生リスクの大きさが懸念されており、その制御を図る上で、リスク原因となり得る病原体および宿主種の双方に対する包括的理解は不可欠である。

そこで本研究では、効果的なウイルス検出を可能とする手法として、汎 RT-PCR と次世代シーケンスを統合した半網羅的ウイルス検出法を開発した。実証モデルとして、ニパウイルスをはじめとする高リスク病原体を含むパラミクソウイルスを対象とした。具体的には、オルソパラミクソウイルス亜科を対象とした RMH プライマーセット、アブラウイルス亜科およびルブラウイルス亜科を対象とした ARb プライマーセット、ならびにニューモウイルス科を対象とした PNE プライマーセットの 3 種類の縮重プライマーセットを用いた semi-nested PCR について、系の最適化および感度評価を行った。その際、多検体同時解析を可能とするため、各プライマーに 8 塩基から成るインデックス配列を付与した。簡易化を目的として one-step 多重 PCR も検討したが、semi-nested PCR の検出感度には及ばなかった。次に、インドネシアで採取されたコウモリ 135 頭の気管および直腸スワブを用いて本手法の検証を行った。その結果、1 回のシーケンス解析で *Pararubulavirus*、*Orthorubulavirus*、および *Henipavirus* 属に分類される既知ウイルスのゲノムと 70.88-82.44% の配列類

似性を示す7種類の新規パラミクソウイルス様配列を同定することに成功した。これらの結果は、パラミクソウイルス科全般を対象とした PAR PCR、PAR PCR 増幅産物と ARb PCR 増幅産物を跨ぐように設計した linking-PCR、ならびに検出したウイルス様配列に特異的な RT-PCR によって検証された。以上より、本手法は高感度かつ低コストであり、コウモリ由来ウイルスの調査・監視に有効であることが示された。

一方、宿主生物に関する正確な種同定は、ウイルスの生活環ならびに宿主との生態学的相互作用を理解する上で不可欠である。DNA バーコーディング法は簡便かつ高精度であり、形態学的手法による種同定を補完する有用な方法である。しかしながら、インドネシアに生息するコウモリについては、参照データベースの整備が未だ十分とは言えないのが現状である。そこで本研究では、インドネシア 4 島 6 地点で採取されたオオコウモリ科、キクガシラコウモリ科、カグラコウモリ科に属する計 48 頭のコウモリ由来試料について、ミトコンドリア *cox1* バーコード配列を取得し、形態学的同定結果との比較を行った。すべての試料で増幅に成功し、GenBank に相同配列が存在しない場合や相同性が低い場合には、*cytb*、*BDNF*、*RAG2* 遺伝子を用いて種同定を補完した。その結果、48 頭中 44 頭について種の特定に成功し、それらは計 15 種に分類された。そのうち *Cynopterus nusatenggara*、*Rhinolophus celebensis*、*Dobsonia peronii* については、本研究により新規の *cox1* 配列が得られ、参照データベースの拡充に寄与した。加えて、新規 *Pararubulavirus* 様配列を保持していたコウモリは形態学的手法では種同定に至らなかったが、*cox1* バーコード解析により、これが *Cynopterus brachiotis* であることも明らかとなった。

以上の一連の研究により、コウモリの保持するパラミクソウイルスおよびその宿主を効率的に同定する方法が確立された。本手法を用いた疫学研究の大規模展開は、宿主-ウイルス生態系の理解を一層深め、人獣共通感染症対策の強化に大きく寄与するものと期待される。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Dela Ria Nesti 氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 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。