

氏 名 (国籍)	Ok Kar Soe (ミャンマー連邦)
学 位 の 種 類	博士 (獣医)
学 位 記 番 号	獣医博甲第286号
学 位 授 与 年 月 日	平成21年3月13日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第3条第1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	Establishment and Immunophenotypic Characterization of SLA-Defined Duroc Pig Line (組織適合性抗原固定デュロックブタの作成と免疫学的 特徴)
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 北 川 均 副査 帯広畜産大学 教 授 猪 熊 壽 副査 岩 手 大 学 教 授 安 田 準 副査 東京農工大学 教 授 白 井 淳 資 副査 岐 阜 大 学 教 授 深 田 恒 夫

論 文 の 内 容 の 要 旨

組織適合性抗原複合体 (MHC, ブタではSLA) は, 免疫に密接に関係する免疫関連分子であり, これが固定された動物は, 臓器移植, 免疫関連研究, 抗病性検討などの実験動物として優れた性質を有する。SLAが固定された新しい系統のブタを作成し, その免疫学的特徴を検討した。2頭のデュロックブタを始祖として, 兄妹交配が第8世代まで行われた。第8世代の理論的近交系数は75.8%であり, 形態学的異常は認められていない。産子数は非近交系のブタと差がなかったが, 離乳時体重は近交系のブタで低かった。

近交系デュロックブタにおいて, RT-PCRによるヌクレオチド解析が行われ, この解析結果に基づいて, シークエンス特異的プライマーを用いたPCR (PCR-SST) 法によるSLAクラスII DNAの迅速タイピング法が開発された。第3世代から第5世代の近交系デュロックブタにおいて, Hp-27.30 (SLA-1*08an03, SLA-1*06an04, SLA-2*0102, SLA-3*0101 DRB1*1101 and DQB1*0503) と Hp-60.13 (SLA-1*an02, SLA-2*1002, SLA-3*0502, DRB1*0403 and DQB1*0303) の2種のSLAハプロタイプが同定された。この2つのSLAハプロタイプのうち, 2つのクラスIハプロタイプ (Hp-27.0とHp-60.0) は新しいハプロタイプであった。

SLA固定デュロックブタ47頭において, モノクローナル抗体によるフローサイトメトリーを用いて, CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD21, CD25およびMHC-Class II antigenなどの末梢血リンパ球サブポピュレーションを解析した。Hp-60.13/60.13ホモのブタのCD4+ T-cells は, SLA非固定デュロックブタよりも有意に多かった。SLAハプロタイプHp-27.30/27.30ホモ

のブタのCD25+ T-cellsは、SLA非固定ブタおよびHp-60.13/60.13ホモのブタよりも有意に低かった。さらに、SLA固定ブタのCD21+、CD14+およびMHCクラスII+ cellsの比率はSLA非固定ブタよりも有意に低かった。CD3+、CD8+およびCD16+ cellsの比率は各ハプロタイプおよびSLA非固定ブタの間で有意差がなかった。

SLAハプロタイプと免疫反応の関係を明らかにする目的で、豚丹毒の生ワクチン、不活化ワクチンおよびE型肝炎ウイルス（HEV）自然感染に対する血清抗体価が比較された。生菌凝集反応による凍結乾燥豚丹毒ワクチンに対する抗体価はHp-27.30/27.30ホモ、Hp-27.30/60.13ヘテロ、Hp-60.13/60.13ホモ、そしてSLA非固定デュロックブタの順に高くなり、Hp-27.30/27.30ハプロタイプの抗体価はSLA非固定ブタよりも有意に低かった。豚丹毒不活化ワクチンに対するELISA抗体価は、Hp-27.30ホモのブタにおいて他のSLAハプロタイプおよびSLA非固定デュロックブタよりも低かった。ELISAで測定したHEV抗体価は、Hp-27.30/27.30ハプロタイプのブタで最も低く、Hp-27.30/60.13ハプロタイプのブタ、Hp-60.13/60.13ハプロタイプのブタの順で高くなった。

近交系デュロックブタの系統は第8世代まで問題なく交配された。産子数は非近交系のブタと差がなかったが、第5～第8世代のブタにおいて離乳時体重が低く、近親交配の影響が示唆された。末梢血リンパ球サブポピュレーションについては、SLA固定デュロックブタはSLA非固定ブタよりもMHCクラスII、CD21およびCD14陽性細胞レベルが低く、CD3、CD8およびCD16陽性細胞には差がなかった。これらの変化はSLAハプロタイプと関係なく、近親交配または他の因子の影響であることを示唆する。Hp-27.30ハプロタイプのブタにおけるHp-60-13のブタよりも低いCD25+リンパ球の比率は、SLAハプロタイプと関係するかもしれない。ワクチンやウイルス感染に対する免疫反応は、Hp-27.30/27.30ハプロタイプのブタにおいて低く、SLA固定ブタの免疫反応がSLAクラスIのHP-27.0ハプロタイプおよび／またはSLAクラスIIのHp-0.30ハプロタイプと関係することを示唆した。以上のように、新しいSLA固定デュロックブタの系統が作成され、このSLA固定デュロックブタは、基礎医学および移植研究において有用であろう。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者は、組織適合性抗原複合体（MHC、ブタではSLA）が固定された新しい系統のブタを作成し、その免疫学的特徴を検討した。2頭のデュロックブタを始祖として、兄妹交配が第8世代まで行われた。第8世代の理論的近交系数は75.8%であり、形態学的異常は認められていない。近交系デュロックブタにおいてRT-PCRによるDNA解析が行われ、2種のSLAハプロタイプ、Hp-27.30（SLA-1*08an03、SLA-1*06an04、SLA-2*0102、SLA-3*0101 DRB1*1101およびDQB1*0503）とHp-60.13（SLA-1*an02、SLA-2*1002、SLA-3*0502、DRB1*0403およびDQB1*0303）が同定された。このうち、Hp-27.0とHp-60.0の2つのクラスIハプロタイプは新ハプロタイプであった。

47頭のSLA固定デュロックブタにおいて、末梢血リンパ球サブセットを検討した。Hp-60.13/60.13ホモのブタのCD4+ T-細胞は、SLA非固定デュロックブタよりも有意に多かった。SLAハプロタイプHp-27.30/27.30ホモのデュロックブタのCD25+ T-細胞は、SLA非固定ブタおよびHp-60.13/60.13ホモのブタよりも有意に低かった。さらに、SLA固定ブタのCD21+、CD14+およびMHCクラスII+ 細胞の比率はSLA非固定ブタよりも有意に低かった。

SLAハプロタイプと免疫反応の関係を明らかにする目的で、豚丹毒の生ワクチン、不活化ワクチンおよびE型肝炎ウイルス（HEV）自然感染に対する血清抗体価が比較された。

凍結乾燥豚丹毒ワクチンに対する抗体価はHp-27.30/27.30ホモ, Hp-27.30/60.13ヘテロ, Hp-60.13/60.13ホモ, そしてSLA非固定デュロックブタの順に高くなり, Hp-27.30/27.30ハプロタイプの抗体価はSLA非固定ブタよりも低かった。豚丹毒不活化ワクチンに対する抗体価も, Hp-27.30/27.30ホモのブタで他のSLAハプロタイプのブタより低かった。HEV抗体価もHp-27.30/27.30ホモのブタで最も低かった。

以上のように, 新しいSLA固定デュロックブタの系統が作成され, Hp-27.30/27.30ホモのブタは免疫反応性が低いことが明らかとなった。このSLA固定デュロックブタは, 基礎医学および移植研究において有用である。

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 : Assignment of the SLA alleles and reproductive potential of selective breeding Duroc pig lines
著 者 名 : Ok Kar Soe, Ohba, Y., Imaeda, N., Nishii, N., Takasu, M., Yoshioka, G., Kawata, H., Shigenari, A., Uenishi, H., Inoko, H., Ando, A. and Kitagawa, H.
学術雑誌名 : Xenotransplantation
巻・号・頁・発行年 : 2008 年 (in press)

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Postprandial changes in leptin concentrations of cerebrospinal fluid in dogs during development of obesity
著 者 名 : Nishii, N., Nodake, H., Takasu, M., Ok Kar Soe, Ohba, M., Maeda, S., Ohtsuka, Y., Honjo, T., Saito, M., and Kitagawa, H
学術雑誌名 : American Journal of Veterinary Research
巻・号・頁・発行年 : 67 (12): 2006-2011, 2006
- 2) 題 目 : ELISA を用いた猫の血漿インスリン濃度測定
著 者 名 : 西飯直仁, 高須正規, Ok Kar Soe, 前田貞俊, 大場恵典, 蜂巣達之, 北川 均
学術雑誌名 : 日本獣医師会雑誌
巻・号・頁・発行年 : 60 (4): 290-293, 2007
- 3) 題 目 : 慢性腎不全猫の尿アルブミン測定における人用分析機器の応用
著 者 名 : 桑原康人, 大場恵典, 加藤晶子, 前田貞俊, 高須正規, 西飯直仁, オッカーソー, 北川 均
学術雑誌名 : 日本獣医師会雑誌
巻・号・頁・発行年 : 60 (7): 505-509, 2007
- 4) 題 目 : Cloning, expressions and investigation for polymorphisms of canine peroxisome proliferator-activated receptors
著 者 名 : Nishii, N., Takasu, M., Ok Kar Soe, Maeda, S., Ohba, Y., Inoue-Murayama, M. and Kitagawa, H.
学術雑誌名 : Comparative. Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry and molecular Biology
巻・号・頁・発行年 : 47 (4): 690-697, 2007

- 5) 題 目：僧帽弁閉鎖不全の犬における塩酸テモカプリル長期投与の安全性
著 者 名：北川 均，大場恵典，前田貞俊，加藤晶子，高須正規，西飯直仁，オッ
カーソー，寺本圭志
学術雑誌名：日本獣医師会雑誌
巻・号・頁・発行年：60 (9)：655-661, 2007