



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies of dog leukocyte antigens genotyping based on canine visceral leishmaniasis
Author(s)	紺野, 紘矢
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第7246号
Issue Date	2026-06-30
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.r7246
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/100105
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroya_Konno_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：紺 野 紘 矢

学位論文題名

Studies of dog leukocyte antigens genotyping based on canine visceral leishmaniasis

(イヌ内臓リーシュマニア症を起点とした

イヌ主要組織適合性複合体遺伝子多型に関する研究)

人獣共通感染症として知られる内臓リーシュマニア症（visceral leishmaniasis, VL）は、主要な病原体である *Leishmania infantum* と *L. donovani* によって引き起こされる。特に *L. donovani* によるイヌ内臓リーシュマニア症（canine VL, CVL）の感染報告は限られており、その感染経路の全体像は未解明である。他の感染症と同様に、CVL の感染リスクには地理的要因だけでなく、宿主側の遺伝的要因も関与している。そのため、宿主の免疫応答に影響を与える遺伝的素因を知ることは、CVL の感染感受性や病態進行のメカニズムを理解する上で不可欠である。しかし、VL 感染の感受性差に影響を及ぼす重要なリスクファクターである抗原提示に関わる主要組織適合性複合体（major histocompatibility complex, MHC）分子の遺伝子多型に関する研究は、イヌではこれまで一部の遺伝子や抗原提示に関わる領域のみに限られていた。そのため、イヌの MHC 多型情報を正確かつ幅広く得ることが急務である。

第一章では、ビーグル犬を用いて *L. donovani* による実験的な CVL モデルを構築した。*L. donovani* プロマスティゴートを静脈内接種することで感染後 8 か月の観察期間中、一般状態、血液学的検査、血液化学的検査、及びリンパ球サブセット解析では、顕著な変化は認められなかった。しかし、リアルタイム polymerase chain reaction (PCR) 解析を実施したところ、末梢血および肝臓からキネトプラスト DNA が持続的に検出された。さらに、肝生検組織の免疫組織化学的解析により寄生虫抗原が検出され、肝臓内の寄生虫の存在を支持する結果であった。本実験モデルにより、*L. donovani* はイヌへ感染することが実験的に示され、イヌが CVL の潜在的な保虫宿主となり得る可能性が示された。

第二章では、ヒト及びイヌで VL のリスク、感受性、および重症度の個体差への関連性が示唆されている MHC 多型について、これまでイヌで広く研究されてきたイヌ MHC (dog leukocyte antigen, DLA) クラス II 遺伝子に加え、DLA クラス I 遺伝子の多型に関する研究を実施した。実験には、2 つの異なる系統 (TOYO および Marshall) から由来する 93 頭の遺伝的均一性が高いビーグル犬を用い、遺伝座特異的な PCR およびサンガーシーケンスによって DLA クラス I 遺伝子 4 つと DLA クラス II 遺伝子 4 つの遺伝子型を決定した。結果として、DLA クラス I 遺伝子では、新規アレルを含む合計 11、4、1、2 のアレルがそれぞれ *DLA-88*、*DLA-12/88L*、*DLA-64*、*DLA-79* で確認された。また、DLA クラス II 遺伝子では、*DLA-DRA*、*DLA-DRB1*、*DLA-DQA1*、および *DLA-DQB1* において、それぞれ 1、10、6、7 のアレルが検出され、全体で 14 種類の DLA ハプロタイプが存在することが判明した。ハプロタイプ解析では、DLA 遺伝子群の広範な領域におけるアレルおよびハプロタイプが推測された。また、系統間の比較により、そのアレルおよびハプロタイプの発現頻度が異なることも明らかにした。DLA 遺伝子多型に関する新たな情報が得られたことで、CVL を含む様々な疾患の感受性に関わる遺伝子素因が発見される可能性が示唆された。

第三章では、83 頭のビーグル犬を対象に、長鎖 PCR と PacBio Single-Molecule Real-Time シーケンスを組み合わせた新しい DLA 遺伝子型解析法を用いて、DLA クラス I および II 遺伝子の全長配列を詳細に解析した。結果として、*DLA-88*、*DLA-12*、*DLA-88L*、*DLA-64*、*DLA-79* においてそれぞれ 10、9、2、7、8 の全長配列に基づく新規アレルが発見された。DLA クラス II 遺伝子では、*DLA-DRA*、*DLA-DRB1*、*DLA-DQA1*、*DLA-DQB1* においてそれぞれ 11、18、12、8 の新規アレルが発見された。さらに、従来のペプチド結合部位配列に基づくアレル分類では 10 種類であった DLA ハプロタイプが、イントロン内の反復配列を除外した全長配列に基づくアレル分類では合計で 25 種類に細分化されることが推定された。全長解析は DLA 遺伝子多型のより詳細な分類を可能にするだけでなく、転写調節に関するプロモーターや CpG アイランド領域の多型の同定にも寄与した。

以上、本研究は *L. donovani* がイヌに感染し、保虫宿主として機能する可能性を実験的に証明した。さらに、新規開発した全長解析手法により、ビーグル犬における DLA 遺伝子群の極めて高度な多様性を明らかにした。本手法および多型情報は、CVL の感受性個体の特定のみならず、イヌの様々な免疫関連疾患の病態解明に向けた強力な基盤となることが期待される。