



# 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                 | <a href="https://doi.org/10.14943/doctoral.r7246">https://doi.org/10.14943/doctoral.r7246</a>                                          |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/100105">https://hdl.handle.net/2115/100105</a>                                                    |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                        |
| File Information    | Hiroya_Konno_review.pdf, 審査の要旨 <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a> |



## 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：紺 野 紘 矢

|      |        |         |
|------|--------|---------|
| 審査委員 | 主査 教授  | 森 松 正 美 |
|      | 副査 教授  | 滝 口 満 喜 |
|      | 副査 教授  | 山 崎 真 大 |
|      | 副査 准教授 | 中 尾 亮   |

## 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）

人獣共通感染症である内臓リーシュマニア症（visceral leishmaniasis、VL）は、主に *Leishmania infantum* および *L. donovani* によって引き起こされる重篤な疾患である。*L. donovani* によるイヌ内臓リーシュマニア症（canine visceral leishmaniasis、CVL）については感染報告が限られており、その感染経路の全容がいまだ解明されていない。VL の感染リスクや病態の重症化には、宿主側の遺伝的要因、特に抗原提示を担う主要組織適合性複合体（major histocompatibility complex、MHC）の遺伝子多型が深く関与することが示唆されている。しかし、イヌ MHC 遺伝子（dog leukocyte antigen、DLA）に関する研究はこれまでクラス II 遺伝子の一部に限定されており、クラス I 遺伝子を含む包括的な多型情報の解析は不十分であった。そこで本研究では、*L. donovani* に対するイヌの実験感染モデルを構築するとともに、新しいシーケンス技術を用いて DLA 多型情報を正確かつ幅広く得ることを目的とした。

第一章では、ビーグル犬を用いた *L. donovani* による実験的 CVL モデルの構築を試みた。感染後 8 カ月間の観察において、臨床症状や一般血液検査に顕著な変化は認められなかったが、リアルタイム PCR 法を用いた解析により、肝臓および末梢血中に寄生虫 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確認された。これにより、*L. donovani* がイヌに対

して不顕性感染を引き起こすことが実験的に証明され、イヌが本病原体のヒトへの感染経路として寄与する可能性が示された。

第二章では、CVL の感受性に関与すると考えられる DLA 遺伝子多型について、遺伝的背景の異なるビーグル犬 2 系統 (TOYO および Marshall) 計 93 頭を対象に詳細な解析を行った。DLA クラス I (*DLA-88*, *DLA-12*, *DLA-88L*, *DLA-64*, *DLA-79*) およびクラス II (*DLA-DRA*, *DLA-DRB1*, *DLA-DQA1*, *DLA-DQB1*) の計 8 遺伝子座について、PCR 法およびサンガーシーケンス法により遺伝子型を決定した。その結果、クラス I の新規アレルを含む多数の多型を同定し、計 14 種類の DLA ハプロタイプを分類した。また、系統間でアレル頻度に有意な差が認められたことから、系統による疾患感受性の違いを規定する遺伝素因の存在が示唆された。

第三章では、DLA 遺伝子解析の精度と効率を飛躍的に向上させるため、長鎖 PCR とロングリードシーケンス (PacBio single-molecule sequencing in real time (SMRT)) を用いた新規の全長配列解析法を構築した。83 頭のビーグル犬を対象に、DLA クラス I および II の全長配列を解析した結果、従来の解析法では困難であったクラス I 遺伝子座の詳細な分類と、新規アレルを含む極めて多様なハプロタイプ構造が明らかになった。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配列に基づくと合計で 25 種類に細分化されることが推定された。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を新たに発見した。

以上、本研究は *L. donovani* による CVL の実験モデルを提示するとともに、イヌの免疫応答の鍵となる DLA 遺伝子群の全容を最新のゲノム解析手法によって解明したものである。本研究で得られた知見は、CVL のみならず、イヌの様々な感染症、自己免疫疾患等における疾患感受性解析のための強固な基盤となるものであり、獣医学および比較医学の発展に寄与する価値の高いものと認められた。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者紺野紘矢氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学院規程第 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。