HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Investigation on the susceptibility of transgenic mice and rat neuronal cell line Rn33B that express equine major histocompatibility class 1 to equine herpesvirus-1 [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	港, 江利奈
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第14116号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78510
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Erina_MINATO_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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：港　江　利　奈

審査委員	主査　教授	木　村　享　史
	副査　教授	大　橋　和　彦
	副査　教授	乙　黒　兼　一
	副査　助教	長　谷　部　理　絵

学位論文題名

Investigation on the susceptibility of transgenic mice and rat neuronal cell line Rn33B that express equine major histocompatibility class 1 to equine herpesvirus-1

（ウマ主要組織適合遺伝子複合体クラス1遺伝子導入マウスおよびラット由来神経細胞株Rn33Bにおけるウマヘルペスウイルス1型感受性の検討）

ウマヘルペスウイルス 1 型（EHV-1）はヘルペスウイルス科 α ヘルペスウイルス亜科バリセロウイルス属に属する。EHV-1 は馬に呼吸器症状、流産および脊髄脳症を引き起こし、馬産業に経済的損失を与える。予防には生ワクチンあるいは不活化ワクチンが使用されているものの、日本を含む世界各地で EHV-1 感染症は発生している。

馬を用いた EHV-1 感染実験には施設的、費用的な制限がある。このことから、馬に代わる小動物モデルおよび *in vitro* モデルの開発が求められている。EHV-1 感染症の実験的感染モデルとしてはマウスが用いられてきたが、マウスは脊髄脳症など EHV-1 感染症の重要な病態を再現しない。また、EHV-1 感受性の培養細胞モデルの数は限られており、EHV-1 感染に対する細胞種特異的な宿主の反応を解析することは困難である。特に、神経細胞が EHV-1 感染に抵抗性を示す機構は解明されていないが、これは神経細胞の *in vitro* 感染モデルが存在しないためである。

EHV-1 感染症モデルの不足という課題を解決するため、本研究では、EHV-1 の機能的エントリーレセプターであるウマ主要組織適合遺伝子複合体（ウマ MHC class 1）遺伝子を導入することで、EHV-1 感受性を有するマウスモデルおよび神経細胞株モデルの作製を試みた。第 1 章では、全身臓器にウマ MHC class 1 を発現するマウスを作製し、その EHV-1 感受性を検討した。作製した遺伝子導入マウス（Tg マウス）では、肺を含む様々な臓器でウマ MHC class 1 の発現が認められた。次に、Tg マウスおよび野生型の同腹仔（WT マウス）に EHV-1 を経鼻感染させた。その結果、Tg マウスの肺では、WT マウスに比較して、より多くの細胞が EHV-1 に感染することが明らかになった。以上の結果より、ウマ MHC class 1 を外来性に発現させること

で、*in vivo* においてマウス細胞の EHV-1 感受性を増強できることが明らかとなった。

第 2 章では、ラット由来神経細胞株 Rn33B にウマ MHC class 1 を遺伝子導入した細胞株 Rn33B-A68B2M を作製し、同細胞株における EHV-1 感受性を解析した。親株である Rn33B 細胞と同様に、Rn33B-A68B2M 細胞は 32˚C での培養で未分化状態を維持し、37˚C での培養で神経様に分化した。神経病原性株である EHV-1 Ab4 を用いた感染実験により、未分化細胞では EHV-1 増殖が認められるのに対し、分化細胞ではウイルス増殖が著しく抑制されることが明らかとなった。興味深いことに、HSV-1 を Rn33B 細胞に感染させた場合、細胞の分化状態に関わらずウイルス増殖が認められた。これらの結果から、Rn33B-A68B2M 細胞は分化依存性に EHV-1 抵抗性を獲得することが示唆された。

本研究により、*in vivo* で発現させたウマ MHC class 1 が EHV-1 感染 Tg マウスにおける肺病変の形成に影響することが明らかとなった。また本研究では、ラット由来神経細胞株を用いた *in vitro* モデルを作製し、同モデルは分化神経細胞における EHV-1 抵抗性を再現した。これらのモデルは EHV-1 感染症における分子病理機構の解明に貢献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港江利奈氏の学位論文は，北海道大学大学院獣医学研究科規程第６条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。