

豚の抗病性に着目した選抜指標の検討

普照恭多 當眞嗣平* 片桐慶人 上西博英**

I 要 約

沖縄県家畜改良センター（以下改良センター）におけるランドレース種集団 92 頭を用いて、分子機能に影響を与え、豚の抗病性改良の DNA マーカーとして有用性が高いことが想定される TLR5 (1205C/T), NLRP3 (2906A/G), NOD1 (1922G/A あるいは 2752G/A), NOD2 (2197A/C) の抗病性遺伝子の遺伝型の分布を検証した。TLR5 の機能低下型 (1205T) の頻度は 11.4%と、一般的な集団での頻度を大幅に下回った。NOD1 及び NLRP3 では、一般的な集団と同様に多様性が見られた。NOD2 では、他の一般的な集団ではほとんど見られない機能亢進型が観察された。また、生産形質と抗病性遺伝子の相関について、生産形質に負の影響を与えることがないことも明らかとなった。以上から、改良センターにおけるランドレース種集団の抗病性遺伝子の遺伝子型分布の特徴が解明され、種豚選抜の際に抗病性改良 DNA マーカーの活用が可能であることが示唆された。

II 緒 言

養豚業において感染症は生産性を損なう主要な原因であり、その対策は急務である。抗菌剤の使用が制限されている現在の状況下においては、豚自体の遺伝的抗病性を向上させることが重要である。これまでに、感染最初期にマクロファージ等の自然免疫細胞に発現しているパターン認識受容体と呼ばれる分子が病原体を認識し、抗体等の獲得免疫系も含めた宿主の免疫系を活性化し病原体の排除を促進することが明らかになっている¹⁾。また、豚のパターン認識受容体遺伝子で数多くの多型が存在し、またその多くが受容体分子の病原体認識等の分子機能に関与する部分に集中しており、それらの多型の中のいくつかは実際に病原体の認識等の分子機能に影響を与えている^{2, 3)}。さらには、パターン認識受容体の一つであり細菌の鞭毛タンパク質の認識に関連性を有するものや、ワクチン接種後の特異的抗体価と関連性を有するものが商用豚品種中に広く高頻度で存在することも明らかとなっている^{4, 5)}。そこで、パターン認識受容体遺伝子のうち、抗病性改良 DNA マーカー候補としての有用性が高いことが想定される TLR5 (1205C/T), NLRP3 (2906A/G), NOD1 (1922G/A あるいは 2752G/A), NOD2 (2197A/C) の多型について遺伝型決定の検討、生産形質および抗病性改良 DNA マーカーとの関連性についての検証を行った。

III 材料および方法

1. 期間、場所および供試豚

調査は 2018 年 7 月から 2021 年 12 月にかけて行い、改良センター産のランドレース種 92 頭を供試豚とした。

2. 調査項目および方法

1) 遺伝型決定

DNA 抽出は、供試豚の組織片をプロテイナーゼ K (10mg/ml:和光純薬工業株式会社製) が含まれた抽出バッファー (1.2%SDS, 12.0mM EDTA, 100mM Tris-HCl[pH8.5], 0.5%NP-40) で溶解後、フェノールクロロホルム法にて精製し、イソプロパノール沈殿法で行った。遺伝型決定は、豚の抗病性改良 DNA マーカー候補としての有用性が高いことが想定される TLR5 (1205C/T), NLRP3 (2906A/G), NOD1 (1922G/A あるいは 2752G/A), NOD2 (2197A/C) の多型について行った。遺伝型決定は農研機構へ委託した。

* 現沖縄県宮古農林水産振興センター家畜保健衛生課

** 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

2) 生産形質

生産形質はデータ提供のあった16頭について、一日平均増体量（DG）および飼料要求率を調査した。

3. 統計処理

T検定を行った。

IV 結果および考察

表1にパターン認識受容体の機能¹⁾を、表2に豚の主要品種における抗病性改良DNAマーカー候補の遺伝型分布³⁾を、表3に供試豚の抗病性改良DNAマーカー候補の遺伝型分布を示した。TLR5-1205の機能低下型（1205T）の頻度は10.9%であり、県外の集団での頻度を大幅に下回るものであった。TLR5の機能低下型については、サルモネラ菌の実験感染により下痢スコアの悪化あるいは排菌量の増加が見られるなど抗病性の観点で不利な遺伝型であることが明らかとなっているが⁴⁾、供試したランドレース集団は、何らかの選択圧が働き、下痢に対する抵抗性の低いタイプが排除されている可能性が考えられた。本SNPは例えヘテロ型であっても下痢に対する抵抗性の面でやや不利であると想定されており、肉豚が交雑豚として生産されることを考慮しても、TLR5-1205Tを集団中から排除する、ないし低頻度に維持しておくことは有意義であると考えられる。NLRP3-2906及びNOD1-2752については、他のランドレース種集団と同様に多様性が見られた。NOD1-1922については通常型（機能亢進型）のみが観察され、機能低下型は存在しなかった。NOD2-2197の機能低下型（2197A）の頻度は79.9%であった。すなわち、機能亢進型が20.1%存在しており、県外集団^{3, 6)}より高頻度で観察された。

表1 パターン認識受容体とその機能

分子	機能
TLR5	フラジェリン(鞭毛タンパク質)を認識
NLRP3	様々な細胞・ミトコンドリアストレスに応答
NOD1	ペプチドグリカンの一部(iE-DAP)を認識
NOD2	ペプチドグリカンの一部(ムラミルジペプチド)を認識

表2 豚主要品種における抗病性改良DNAマーカー候補の遺伝型分布

抗病性マーカー候補	品種毎の機能低下型の頻度 (%)			
	L	W	D	B
TLR5-1205	50.0	0	0	0
NLRP3-2906	83.3	93.8	100.0	75.0
NOD1-1922	0.0	0	34.4	0
NOD1-2752	27.7	61.5	40.6	69.8
NOD2-2197	100.0	83.3	53.1	90.6

表3 L種豚集団における抗病性改良DNAマーカー候補の遺伝型分布 (n=92)口

抗病性マーカー候補	機能亢進型	機能低下型	機能亢進型ホモ	ヘテロ	機能低下型ホモ	沖縄県における機能低下型の頻度 (%) *	県外における機能低下型の頻度 (%) **
TLR5-1205	C	T	73	18	1	10.9	50.0
NLRP3-2906	G	A	9	38	45	69.6	83.3
NOD1-1922	G	A	92	0	0	0.0	0.0
NOD1-2752	G	A	58	30	4	20.7	27.7
NOD2-2197	C	A	3	31	58	79.9	100.0

* [(ヘテロ÷2)+機能低下型]/92×100%

**表2より抜粋

表4から7に各抗病性改良DNAマーカーと生産形質との関連性を示した。表4のTLR5-1205における生産形質について、機能亢進型(CC)とヘテロ(CT)の間に有意な差はみられなかった。表5のNLRP3-2906と生産形質について、機能亢進型(2906G)を有する個体(AG)が機能低下型ホモ接合体個体(AA)と比較して飼料要求率が改善する傾向が見られた(P<0.1)。表6のNOD1-2752と生産形質について、機能亢進型(GG)とヘテロ(AG)の間に有意な差はみられなかった。表7のNOD2-2197と生産形質について、機能低下型(AA)とヘテロ(AC)の間に有意な差はみられなかった。なお、NOD1-1922は全ての個体で機能亢進型(GG)であったため、生産形質との比較検討は行わなかった。

表4 TLR5-1205と生産形質との関連性

項目	遺伝型		有意差
	機能亢進型 (CC) n=12	ヘテロ (CT) n=4	
日増体量 (g)	1020.3±68.7	1099.1±103.7	ns
飼料要求率	3.01±0.15	2.91±0.11	ns

表5 NLRP3-2906と生産形質との関連性

項目	遺伝型		有意差
	機能低下型 (AA) n=11	ヘテロ (AG) n=5	
日増体量 (g)	1035.5±27.7	1072.5±38.0	ns
飼料要求率	3.09±0.08	2.88±0.14	P<0.1

表6 NOD1-2752と生産形質との関連性

項目	遺伝型		有意差
	機能亢進型 (GG) n=9	ヘテロ (AG) n=6	
日増体量 (g)	1061.2±68.7	1050.8±25.9	ns
飼料要求率	3.03±0.14	2.95±0.16	ns

表7 NOD2-2197と生産形質との関連性

項目	遺伝型およびn数		有意差
	機能低下型 (AA)	ヘテロ (AC)	
	n=5	n=10	
日増体量 (g)	1037.1 ± 49.4	1083.7 ± 51.7	ns
飼料要求率	2.93 ± 0.15	2.99 ± 0.14	ns

以上のことから、沖縄県家畜改良センターにおけるランドレース種集団の抗病性改良 DNA マーカーについて遺伝子型分布の特徴が明らかとなった。また、ランドレース種集団において、TLR5-1205 の機能低下型の頻度が低く維持されている等、感染症抑止の点で好ましい状態となっていることが示唆された。さらに、生産形質と抗病性改良 DNA マーカーの相関については、検定頭数の関係上、明確な関連性は観察されなかったものの、NLRP3-2906 について、飼料要求率が改善する傾向にあった。抗病性改良 DNA マーカーと疾病に関連する生産形質について、豚サーコウイルス 2 型が浸潤した豚群での斃死や成長阻害防止効果⁷⁾や、豚胸膜性肺炎およびマイコプラズマ性肺炎抑制効果について報告されていることや^{7, 8)}、抗病性改良 DNA マーカーによる選抜が生産形質に負の影響を与えないことも明らかとなってきている。これらのことから、本県においても抗病性改良 DNA マーカーを選抜指標として活用することが可能であるものと考えられた。

V 引用文献

- 1) 上西博英 (2019) 豚の遺伝的な抗病性の改良に向けての取り組み, 家畜感染症学会誌, 8(2), 57-64
- 2) Hirohide Uenishi・Hiroki Shinkai・Takeya Morozumi・Yoshihiro Muneta (2012) Genomic survey of polymorphisms in pattern recognition receptors and their possible relationship to infections in pigs, *Vet Immunol Immunopathol*, 148(1-2), 69-73
- 3) 上西博英 (2017) 豚の抗病性育種に向けたゲノム情報の活用, 豚病会報, 70, 11-18
- 4) Yoshihiro Muneta, Nobuo Arai, Yoko Yakabe, Masahiro Eguchi, Tomoyuki Shibahara, Akiko Sakuma, Hiroki Shinkai, Hirohide Uenishi, Kensuke Hirose, Masato Akiba (2018) In vivo effect of a TLR5 SNP (C1205T) on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in weaned, specific pathogen-free Landrace piglets, *Microbiol Immunol*, 62, 380-387
- 5) Hiroki Shinkai, Kei Terada, Daisuke Toki, Masanori Tohno, Hirohide Uenishi, (2018) Q969R polymorphism in NLRP3 is associated with immune responses to vaccination against bacterial infections in pigs, *Japanese Society of Animal Science*, 89(8), 1043-1050
- 6) Kosuke Jozaki, Hiroki Shinkai, Maiko Tanaka-Matsuda, Takeya Morozumi, Toshimi Matsumoto, Daisuke Toki, Naohiko Okumura, Tomoko Eguchi-Ogawa, Chihiro Kojima-Shibata, Hiroshi Kadowaki, Eisaku Suzuki, Yasuhiko Wada, Hirohide Uenishi (2009) Influence of polymorphisms in porcine NOD2 on ligand recognition, *Molecular Immunology*, 47, 247-252
- 7) Kasumi Suzuki, Hiroki Shinkai, Gou Yoshioka, Toshimi Matsumoto, Junji Tanaka, Noboru Hayashi, Haruki Kitazawa, Hirohide Uenishi (2021) NOD2 Genotypes Affect the Symptoms and Mortality in the Porcine Circovirus 2-Spreading Pig Population, *Genes (Basel)*, 12(9), 1424
- 8) Kasumi Suzuki, Hiroki Shinkai, Gou Yoshioka, Toshimi Matsumoto, Takato Takenouchi, Junji Tanaka, Masanori Shimizu, Haruki Kitazawa, Hirohide Uenishi (2022) Polymorphisms in Pattern Recognition Receptor Genes Are Associated with Respiratory Disease Severity in Pig Farms, *Animals (Basel)*, 12(22), 3163