

令和 2年 8月25日

学 長 殿

主 査

学位論文審査の要旨及び結果並びに試験の
結果について（報告）

令和 2年 8月25日付けで依頼されました下記の者の学位論文審査
の要旨及び結果並びに試験の結果を別紙1及び別紙2のとおり報告します。

記

専 攻 畜産衛生学専攻（博士後期課程）

氏 名 ABDELBAKY Hanan Hassan Mahmoud

(別紙1)

学位論文審査の結果の要旨	
専攻	畜産衛生学専攻 (博士後期課程)
氏名	ABDELBAKY Hanan Hassan Mahmoud
審査委員署名	主査 西川 義文 副査 三 学 南 副査 五十嵐 慎 副査 横山 直明 副査 河津 信一郎
題目	Identification of antigenic proteins from <i>Neospora caninum</i> and characterization of the surface antigen, NcSAG1 (ネオスポラ・カニナム由来抗原タンパク質の同定と表面抗原 NcSAG1 の解析)
審査結果の要旨 (1,000 字程度)	

ネオスポラ症の診断における現在の問題点を解消するために、ウシにおいてネオスポラ流産を判定できる血清学的手法が望まれている。さらに、病原性に関与するネオスポラ分子の同定は、ネオスポラの感染対策には必須である。有効な診断用抗原の同定、ワクチン開発、薬剤標的の発掘は、ネオスポラ感染の制御には重要である。本研究では、抗原の同定、ネオスポラ流産に対する血清診断法の開発、ネオスポラ症の病原性を理解することにより、ネオスポラ感染の対策方法を提案した。

第一章では、実験感染及び自然感染の各種動物に対し、血清診断用抗原 NcGRA7 の抗原性領域を決定した。全長 217 アミノ酸からなる抗原を 5 つの断片として作製した。結果として、シグナル配列を除いた NcGRA7 の全長領域 (NcGRA7m) がマウス、ウシ、イヌからネオスポラ抗体を検出することができた。本研究により、NcGRA7 を利用した診断法の開発には動物種を考慮する必要性が示された。

第二章では、複数のネオスポラ抗原を比較解析することにより、ネオスポラ流産の正確な診断のための血清学的手法の開発を行った。最初に 5 つのネオスポラ抗原 (NcGRA6、NcGRA7、NcGRA14、NcCyp、NcSAG1) の組換えタンパク質を用い、実験感染させたマウスとウシの血清に対する反応性を ELISA で評価した。その中で 3 つの抗原 (NcGRA6、NcGRA7、NcSAG1) が高い抗原性を示した。次に、免疫染色によりネオスポラ症の確定診断がされた流産牛の血清を用いて 3 つの抗原 (NcGRA6、NcGRA7、NcSAG1) の反応性を評価し、NcSAG1 及び NcGRA7 を用いた ELISA はネオスポラ症のサンプルをそれぞれ 100% (9/9) と 88.9% (8/9) 検出できた。一方、新生子牛においては神経症状の有無による NcSAG1 抗体及び NcGRA7 抗体のレベルに差は認められなかった。この結果により、NcSAG1 抗体及び NcGRA7 抗体のレベルが、神経症状ではなく流産と関連していることが示された。

第三章では、NcSAG1 の機能解析とネオスポラの病原性への関与に着目した。第二章の結果は、NcSAG1 が妊娠期におけるネオスポラ症の病態に関与することを強く示唆している。そこで、CRISPR-Cas9 を利用したゲノム編集技術により NcSAG1 欠損原虫株 (NcSAG1KO) を作製した。In vitro の実験で、NcSAG1 の欠損により原虫が感染細胞から脱出する能力が有意に減少していることが明らかとなった。In vivo の実験結果では、親株原虫の感染に比べて、NcSAG1KO 感染マウスで体重変動と臨床症状が軽度であり高い生存率を示した。妊娠マウスを用いた実験では、親株原虫の感染と比較して、NcSAG1KO 感染マウス由来の新生マウスでは生存率が上昇し、新生マウスの脳内原虫数も減少しており垂直感染の減少が示唆された。従って、本結果により NcSAG1 がネオスポラの病原性因子であることが示された。

本研究により、ウシのネオスポラ流産のマーカー抗原として NcSAG1 と NcGRA7 の有用性が見出された。さらに、NcSAG1 はワクチン開発や創薬の分子標的になることが強く示唆された。

学位論文の基礎となる学術論文

題目 Identification of the antigenic region of *Neospora caninum* dense granule protein 7 using ELISA

著者 Hanan H. Abdelbaky, Ragab M. Fereig, Yoshifumi Nishikawa

学術雑誌 Parasitology International

(巻・号・頁) (67 巻・6 号・675-678 頁)

発行年月 2018 年 12 月

題目 Evaluation of *Neospora caninum* serodiagnostic antigens for bovine neosporosis

著者 Hanan H. Abdelbaky, Maki Nishimura, Naomi Shimoda, Jun Hiasa, Ragab M. Fereig, Hiromi Tokimitsu, Hisashi Inokuma, Yoshifumi Nishikawa

学術雑誌 Parasitology International

(巻・号・頁) (75 巻・102045 頁)

発行年月 2020 年 4 月