

総説

豚の抗病性育種に向けたゲノム情報の活用

上 西 博 英 (国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用
研究部門 動物機能利用研究領域 動物生体防御ユニット)

Uenishi, H. (2017). Utilization of genome information for pig breeding aiming at disease resistance.
Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 70, 11-18.

養豚業において、感染症等による斃死・成長阻害等の直接的な被害、あるいは感染症への対策に要する費用等は最も重要なコスト増大要因と言える。ワクチンや薬剤等による感染症の予防・治療も重要であるが、豚そのものの抗病性を高めることによる衛生対策コストの低減についても検討が必要である。感染症への抵抗性に関しては、遺伝的要因に伴う個体間差が存在することが想定され、育種により豚群全体の抗病性を向上させることが期待される。これまでに我々が行ってきた、豚ゲノム情報を活用した抗病性に影響を与える遺伝的要因の探索と、豚の抗病性向上のための育種についての研究の現状と方向性について解説する。

キーワード：ゲノム、抗病性、育種、免疫系遺伝子、多型

1. 豚の免疫能・抗病性と遺伝的背景の影響

現代の養豚業は、病気との闘いであると言っても過言ではない。口蹄疫等のような深刻な危機をもたらす疾病だけでなく、数多くの感染症が幼豚の斃死、成長性の阻害等、生産性の阻害原因となっており、いかに衛生的な環境を保ち、疾病の蔓延を阻止するかということが養豚経営において最も重要な事項と言える。養豚も含めた畜産における疾病対策としては、ワクチン、抗生物質、及び環境面からの衛生対策が主たるものであろう。ワクチンについては、現在では数多くの豚の感染症に対応するものが実用化されており、感染症の抑止に大きな貢献をしていると考えられるが、ワクチンで疾病を完全にコントロールできている訳ではなく、また新たに出現する感染症への対応や、既知の病原体の変異に伴うワクチンの効果の低下等、数多くの問題が存在する。抗生物質については、予防的な投与については望ましくないとの考え方も強く、また耐性菌の問題もあり、その使用については難しい問題が付随し

ている。環境面での衛生対策についても、完全な病原体排除は困難である。そこで、これまであまり顧みられてこなかった、「宿主そのものの疾病抵抗性（抗病性）を高める」という衛生対策の重要性が注目されているところである。

家畜は、例え同一品種であっても高い遺伝的多様性が残存している。品種を特徴付ける毛色等の外貌については高い斉一性が見られるが、同一品種でも飼養されている集団間、あるいは同腹のきょうだい間であつてさえ成長性、肉質等で差が見られることは実際に養豚に少しでも関わっておられる方々であればお気づきのことと思われる。このような「遺伝的多様性」を用いて、有史以前から家畜の改良は脈々と続けられてきた。豚においては、より成長性が良く、体長が大きく、産肉性の良いものが選抜されてきた。特に、ここ数百年の間のいわゆる西洋品種での改良はめざましく、体長に関する極めて強い選抜がかかり、染色体の一部の多様性が非常に小さくなっていることが知られている²³⁾。近年では、繁殖性についての改良が注目されており、国内の種豚での産子数を一部ヨーロッパ諸国並みにまで向上させるための努力が続けられている。また、国内では牛と同様に「おいしさ」の観点から筋肉内脂肪が重要な改良指標として意識されており、独自の品種改良の試みも行われている。

抗病性についても、感染症対策の重要性を鑑みれば、育種改良の指標として非常に重要であることは当然なのだが、様々な困難さから取り組みが遅れてきた。感染症に関わる形質は、病原体の感染の拡がり、気候、施設等、環境要因によって大きく左右され、評価が非常に困難である。また、病原体の取り扱い上の問題もあり、感染試験による形質調査もその実施には困難が伴う。しかしながら、抗病性についても、品種間、あるいはきょうだい間での疾病に対する抵抗力の差が「感覚的に」存在することに気がついている方々は多い

ことと思う。抗病性、あるいは抗病性に大きな影響を与えると考えられる免疫能について、遺伝的背景が影響を与えていることについては、ヒトや、マウス等の実験動物で既に明らかになっていたが、豚においても30年以上前から報告が行われている^{4,22)}。但し、環境要因でその正体が見えにくい豚の抗病性に関わる遺伝的背景を正確に把握し、それを品種改良につなげていくためには、豚の正確な遺伝的情報、即ちゲノム情報が利用可能となることが前提であった。

2. 豚のゲノム解析～その現状と抗病性研究への利用

豚のゲノム解析は、ヒトのゲノム解析から少し遅れる形で、最初は染色体上への遺伝子のマッピングと物理地図の作成、あるいは多型マーカーを用いた遺伝地図の作成から始まった。マイクロサテライトマーカーを用いたゲノム全体の遺伝地図²¹⁾、また放射線雑種細胞パネルを用いた物理地図の構築¹⁰⁾を経て、2003年に米国（イリノイ大学）や英国（サンガー研究所）等を中心として、国際豚ゲノム解析コンソーシアム（International Swine Genome Sequencing Consortium; SGSC）が結成された¹⁾。SGSCにおいては、解読対象として、世界中で広く供用されており、国内においても肉豚生産時の主要な雄親（止め雄）として利用され

ており、肥育豚生産に与える影響の大きいデュロック種を選定することとした。但し、塩基配列解読のためのゲノムライブラリー作成には、染色体の本数に偏りを生じないように雌個体を使用した。Y染色体の解読のためには、別のデュロック種雄個体を使用した。大腸菌人工染色体（BAC）と呼ばれるベクターに、解読対象個体のゲノムDNAを断片化（平均約180kb）してクローニングしたゲノムライブラリーを構築し、BACクローンを、全染色体をカバーするように並べ直す作業を行った上で、それぞれのゲノム断片の解読を行う（いわゆる階層的ショットガンシーケンシング法）という方法が採られた¹⁾。ゲノム塩基配列解読の手法は日進月歩であり、BACクローン等による全染色体の地図作成を行わずに、全ゲノムをいきなり解読するホールゲノムショットガンと呼ばれる方法も開発されたが、SGSCでは両者を合わせて低コストで解読を行う手法を採ることとした。SGSCには、日本からも筆者らの部門（旧称：農業生物資源研究所）や農林水産先端産業技術振興センター（現：農林水産・食品産業技術振興協会）農林水産先端技術研究所が参加し、第6及び第7染色体の一部の解読を担当した。2009年11月には、豚の全ゲノム塩基配列解読のためのデータ取得が概ね終了したということで「解読完了宣言」がSGSCから出されたが、その後もデータ解析は続けられ、また豚

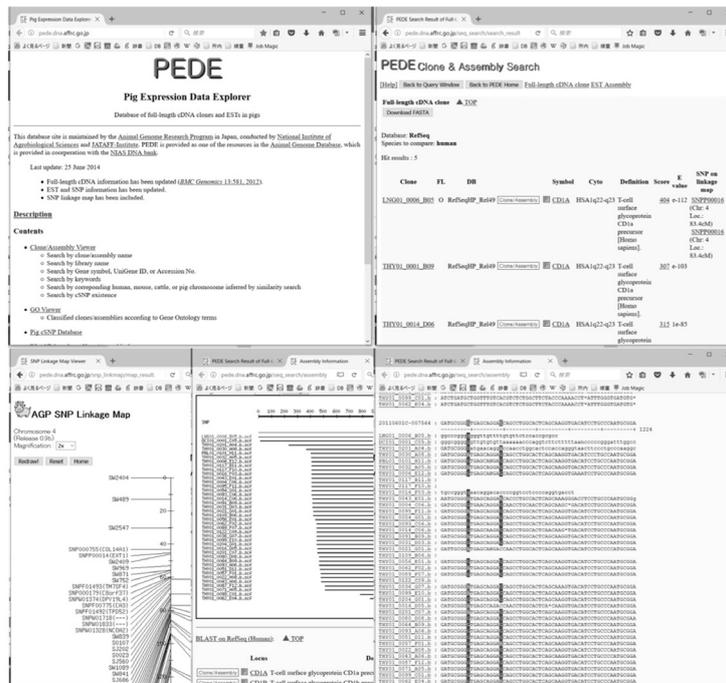


図1. 完全長 cDNA ライブラリーを用いた豚発現遺伝子データベース Pig Expression Data Explorer (<http://pede.dna.affrc.go.jp/>)。キーワード検索により配列情報や多型情報等を取得することができる。

(あるいは同種であるイノシシ)の中での遺伝的多様性についての解析を進めた上で、2012年11月に豚ゲノムのおよそ90%を明らかにした結果について論文発表が行われた⁹⁾。

ゲノム塩基配列は、単に解読しただけでは意味のない塩基の羅列であり、遺伝子の配置や、実際に転写される mRNA の構造等が明らかにならなければ活用は困難である。筆者らのグループは、できる限り mRNA の全長がクローニングできる手法である「完全長 cDNA ライブラリー」を利用した発現遺伝子の大規模解読を行い、26種類の臓器から26万個以上の発現遺伝子の断片配列、さらには発現遺伝子をクローニングしたものの31,079個の全長配列(およそ15,000個の遺伝子に相当)の解読を行った(図1)^{35,38)}。ゲノム配列上の遺伝子探索においてはこのデータも活用され、偽遺伝子を含めておよそ25,000個の遺伝子がゲノム上に検出されている。また、抗病性に大きな影響を与える免疫系遺伝子については、これも筆者が参加した国際研究グループ(Immune Response Annotation Group; IRAG)により、研究者の「人間の目」による詳細な確認(マニュアルアノテーション)が行われ、およそ1,400個の遺伝子についてゲノム配列上の構造が明らかにされている³⁾。

これらの豚ゲノム情報により、染色体全域にわたってゲノム領域の目印となる DNA マーカーの設定が極めて容易となり、抗病性や免疫能と関連を有するゲノム領域の検索、さらにはその形質を左右する遺伝子多型の検出も不可能ではなくなっている。さらに、抗病性に影響を与えることが想定される免疫系遺伝子についても、ゲノム塩基配列が明らかになることにより、その遺伝的多様性の検討が格段に容易になっている。これらの研究基盤を有効に活用して、豚の抗病性と関連を有する DNA マーカーの探索を行い、感染症による生産性の阻害を抑制するための研究の進展が期待される。

3. 免疫系遺伝子の抗病性への影響

体内に侵入した病原体を認識し、その排除のための応答を引き起こす、いわゆる免疫系に関わる分子群をコードする遺伝子は、疾病に対する感受性と直接関連している可能性が高く、抗病性向上のための DNA マーカー開発の対象として有望であることは論を俟たない。筆者らの研究グループでは、豚の免疫系遺伝子のゲノム解析について総合的に取り組んできており、

抗体遺伝子^{7,8)}、T細胞受容体^{6,36)}及び主要組織適合遺伝子複合体(MHC、豚では豚白血球抗原・Swine Leukocyte Antigen; SLA)³²⁾といった獲得免疫系の分子とともに、自然免疫系での病原体認識で重要な役割を担うパターン認識受容体をコードする遺伝子の多様性の研究を行ってきた^{34,37)}。免疫系遺伝子を含めた遺伝子の多様性の検討に当たっては、対象となる遺伝子のエクソン-イントロン構造を明らかにする必要があるが、豚のゲノム解読が行われたことにより作業が非常に効率化された。

パターン認識受容体は、病原体に由来する分子に特徴的なパターン(Pathogen Associated Molecular Pattern; PAMP)を認識することからそのように呼称される。無脊椎動物においては様々な病原体を認識するために非常に重要な分子であり、ウニにおいては Toll 様受容体(TLR)と呼ばれる一群だけで200種以上がゲノム上にコードされていることが知られている²⁵⁾。豚を含めた哺乳類においては種によって異なるものの、TLRについてはゲノム上にコードされている遺伝子は10~13個程度であるが、その免疫系における重要性は非常に大きい(表1)。パターン認識受容体は、マクロファージ等、病原体に対する初期応答に関与する細胞群に発現しており、それぞれの分子が細菌やウイルス由来の分子に特異的に応答し、獲得免疫系も含めた免疫応答の賦活化に関与している(図2)。そもそも最初にその存在が報告されたパターン認識受容体であるTLR4は、細菌細胞壁外膜の構成成分であるリポ多糖を認識できないマウスの変異がきっかけとなって確認された¹⁹⁾。パターン認識受容体遺伝子の変異は、生体の病原体認識に大きな影響を与えることから感染症の感受性に大きな影響を与えることが想定される。実際に、ヒトでパターン認識受容体遺伝子中の一塩基多型(SNP)等が、マラリアやレジオネラ菌感染症、結核等の感染性疾患に対する感受性と関連している例が数多く報告されている³¹⁾。また、敗血症のリスク、さらにはクローン病や潰瘍性大腸炎等の慢性疾患との関連等についても報告されており、パターン認識受容体遺伝子は、疾患との関連を調査する対象の遺伝子として極めて重要であると言える³¹⁾。

筆者らのグループでは、豚のパターン認識受容体内、細胞表面に発現するTLRについての多型の解析を行い、その病原体由来分子の認識において重要な役割を果たす細胞外ドメインに多様性が残存していることを明らかにした²⁶⁾。細胞表面のTLRの細胞外ドメイ

表 1. 代表的なパターン認識受容体とその機能。

分子	機能	細胞での分布
TLR1	トリアシルリポペプチドを認識	細胞表面
TLR2	TLR1・TLR6とヘテロダイマーを形成してリポペプチド認識に関与	細胞表面
TLR3	二本鎖RNAを認識	細胞内小胞
TLR4	LPS (リポ多糖) を認識 (正確にはリポDA)	細胞表面
TLR5	フラジェリン (鞭毛タンパク質) を認識	細胞表面
TLR6	ジアシルリポペプチドを認識	細胞表面
TLR7	一本鎖RNAを認識	細胞内小胞
TLR8	一本鎖RNAを認識	細胞内小胞
TLR9	一本鎖DNAを認識	細胞内小胞
NOD1	ペプチドグリカンの一部 (iE-DAP) を認識	細胞質
NOD2	ペプチドグリカンの一部 (ムラミルジペプチド) を認識	細胞質
NLRP3	様々な細胞・ミトコンドリアストレスに応答	細胞質

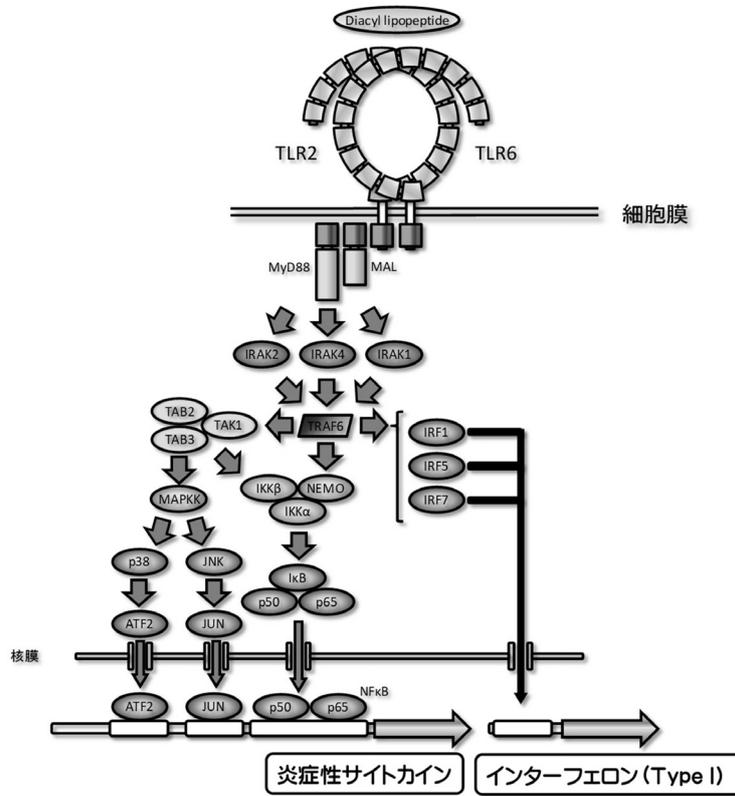


図 2. パターン認識受容体による病原体認識とシグナル伝達の例。TLR 2 /TLR 6 複合体によるジアシルポリペプチドの認識を示す。ジアシルポリペプチドと結合する領域に変異が存在すると、下流へのシグナル伝達が十分行われず、免疫応答が低下することがあり得る。

ンは、ロイシンリッチリピートと呼ばれる、アミノ酸残基ロイシンを含む特徴的な配列の繰り返しで構成され、分子の認識に関わる多くのタンパク質で活用されている構造である。豚においても、TLR2及びTLR6が *Mycoplasma hyopneumoniae* を認識している等、他の動物と同様に病原体認識にTLR等が関与していることが明らかになってきたため¹⁶⁾、これらの多型の中に

病原体認識に影響を与えているものが存在するのではないかと考えた。実際に、TLR4におけるリポ多糖の認識、さらにはTLR5による鞭毛タンパク質やサルモネラ菌体の認識に影響を与える多型等^{27,28)}がこれまでに判明している。TLRだけではなく、C型レクチン様受容体と呼ばれるものの中で、真菌由来のβグルカンを認識するdectin (遺伝子としては *CLEC7A*) でも分

子認識に影響を与える多型が確認されている³⁰⁾。一方、細胞質内ではたらくパターン認識受容体で、NOD様受容体と呼称される一群についても、NOD1・NOD2で細菌細胞壁の主成分であるペプチドグリカンの構成成分の認識に影響を及ぼす多型が発見されている^{11,29)}。また、NOD様受容体の中には、インフラマソームと呼ばれる炎症反応を誘導する分子複合体を形成するものがある。NLRP3を含むインフラマソームは、水酸化アルミニウム等のアジュバントによって引き起こされる細胞のダメージを検出し、結果的に免疫賦活化効果を発揮してワクチンの効果の増強に関わっていることが知られており、その機能がワクチンの有効性と関連していることが想定されている。筆者らのグループでは、豚のNLRP3についてもその分子機能に影響を与える多型を明らかにしており³³⁾、ワクチン接種時の抗体応答への影響が期待される場所である。これまでに筆者らのグループで明らかにした豚パターン認識受容体中で病原体由来物質の認識等、機能に影響を与えることが明らかとなった多型の一覧を表2に示す。

パターン認識受容体以外にも、抗病性に影響を与えることが想定される免疫系遺伝子は数多い。それらの中で、筆者らのグループにおいては、ウイルス抵抗性因子として知られているMXに着目して解析を行っている。MXはもともとマウスのインフルエンザ抵抗性因子として同定された遺伝子であり、RNAウイルスを中心としたウイルスの増殖抑制に関与していることが知られているが、豚が保有しているMX1及びMX2双方の遺伝子においても、インフルエンザウイルスの増殖抑制の効果を示すことが明らかにされている^{2,15)}。さらに、MX遺伝子の遺伝型の違いがウイルス増殖抑

制能に影響を及ぼすことを示すデータも存在し^{17,24)}、PRRS等のウイルス性疾患への影響についての検討が必要である。

これらの分子機能に影響を与える多型のそれぞれについては、分布に偏りが見られるものと、様々な品種において多様性が広く確認されるものの両者が存在する。例えばフラジェリンの認識に影響を与えるTLR5の多型については、国内の主要な品種についてはランドレース種内でのみ多様性が観察されている²⁷⁾。ところが、NOD1/NOD2あるいはNLRP3の多型については、多くの品種に多様性が見られる^{11,29,33)}。多様性の分布については、進化学的、あるいはイノシシの豚への家畜化の過程との関連についての考察が必要と考えられるが、抗病性マーカーとしての活用を考えたときには、どの品種でDNAマーカーとして利用可能であるかということと関連し重要である。

4. ゲノム領域と抗病性との関連

病原体に対する宿主の応答は、いわゆる免疫系遺伝子によってのみ規定されているわけではない。豚の抗病性と遺伝子との関連の探索に当たっては、解析の対象を特定の遺伝子だけに限定するのではなく、ゲノム全体にわたってその影響を検討することも必要である。豚において、ゲノム領域と形質についての関連性の解析がその端緒についた頃、抗病性と関連性の高い免疫形質について、ゲノム領域との相関を示した研究成果が発表され⁵⁾、それ以来、免疫能、あるいは疾病そのものとの相関を示した研究が積み重ねられてきた。オーエスキー病の原因であるオーエスキー病ウイルス(pseudorabiesウイルス)感染時の神経症状や体温上昇

表2. これまでに豚パターン認識受容体で病原体認識等の分子機能に影響を与えることが確認された多型。

遺伝子	位置	多型	頻度 (%)						文献
			ランドレース	大ヨークシャー	デュロック	パークシャー	金華豚	ニホンイノシシ	
TLR2	703	V→M	0.0 (12)	0.0 (12)	0.0 (16)	13.3 (16)	0.0 (6)	0.0 (5)	26, 27
TLR4	506	C→W	0.0 (12)	0.0 (12)	0.0 (16)	0.0 (16)	0.0 (6)	10.0 (5)	26, 28
TLR5	148	R→L	0.0 (12)	0.0 (12)	0.0 (16)	0.0 (16)	16.7 (6)	0.0 (5)	26, 27
	402	P→L	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
CLEC7A (Dectin-1)	138	S→L	100.0 (16)	100.0 (16)	100.0 (16)	100.0 (16)	100.0 (16)	90.6 (16)	30
NOD1	641	G→E	0.0 (48)	0.0 (48)	34.4 (48)	0.0 (48)	100.0 (48)	100.0 (48)	29
	918	D→N	27.7	61.5	40.6	69.8	0.0	0.0	
NOD2	733	R→S	100 (48)	83.3 (48)	53.1 (40)	90.6 (48)	0.0 (18)	0.0 (80)	11
NLRP3	969	R→Q	83.3 (32)	93.8 (32)	100.0 (32)	75.0 (32)	0.0 (32)	0.0 (30)	33

〔多型〕で示す矢印の右側のアミノ酸が、分子機能が低下するタイプを示す。各品種の対立遺伝子頻度は病原体認識が低下するタイプのものを示す。括弧内に各品種における解析頭数を示す。

等の宿主応答²⁰⁾や、大腸菌 K88抗原の小腸上皮細胞への接着性等¹²⁾、実際の疾病と関連する形質について相関を有するゲノム領域を示した研究成果が発表される等、遺伝的要因による疾患感受性の差について様々なことが明らかとなってきている。

疾病に関する形質評価は一般には困難であるが、感染の重篤度が評価できるような条件下においては、疾病感受性を指標とした選抜を行うことも可能である。宮城県畜産試験場において、ランドレース種の系統造成を行う際に、マイコプラズマ性肺炎に起因する肺葉の肝変化面積を指標に組み込んで選抜を行うことで、実際にマイコプラズマ性肺炎に対する抵抗性の高い集団を作出することに成功している¹³⁾。本集団の造成過程の個体群を用いて、マイコプラズマ性肺炎に対する抵抗性と関連しているゲノム領域の検出を行ったところ、第2染色体p腕上に有意な相関を示す領域の存在が明らかとなった¹⁸⁾。

近年では、ゲノム塩基配列解読の成果を活用して、豚の全染色体に SNP マーカーを配置したジェノタイプングチップが実用化されており、形質データとゲノム DNA が準備できる環境であれば形質と関連性を有するゲノム領域の検出が比較的容易に行えるシステムが整備されつつある。PRRS や PMWS の感受性と関連するゲノム領域がいくつかの研究で明らかになっており^{14,39,40)}、今後の研究の進展が期待される。

5. 遺伝的多様性の豚抗病性育種への活用

前述のように、免疫系遺伝子の多型の中で病原体認識に影響を与えるものや、疾病関連形質に影響を与えるゲノム領域の検出に関する研究が進展しているが、これらの成果を抗病性向上のための DNA マーカーとして活用するためには、ゲノム領域や遺伝子の遺伝型の抗病性に与える効果を正確に把握する必要がある。遺伝型の異なる個体に対する感染実験は、直接的に抗病性を評価する効果的な方法であるが、国内においては施設的な問題から大規模な感染試験を行うことは困難である。実際には飼養されている集団における遺伝型と、疾患の罹患状況等、抗病性関連形質との相関を疫学的に検証する方法も有益である。また、抗病性関連形質は環境要因に大きく左右されるが、養豚農家をネットワーク化してデータ収集体制を整備するなどして、サンプル数を大きくすれば、正確度の高い効果の検証が可能になるものと考えられる。

豚における感染症は、様々な新興感染症の出現、既

知の感染症の遺伝子変異に伴う抗原性の変化や病原性の増強等、年々変化する状況への対応も必要である。特定の病原体にのみ抵抗性を高める戦略では、これらの新たな脅威に対する対応が十分なものとはならない可能性も存在する。一方、食細胞活性等の免疫能を高めることによる、総合的な抗病性の向上を図ることも有効な手段となり得る可能性がある。特定の疾病に対する抵抗性と異なり、それぞれの個体においては疾病防除において顕著な効果は期待できない可能性があるが、集団としては感染症による被害が一定程度軽減され、生産性向上に寄与することも考えられる。免疫能の向上と関連する DNA マーカーは、形質の測定しやすさ等から、疾患そのものと関連するマーカーよりも作出は容易であることが想定され、免疫能の向上が抗病性の向上に直接つながるかどうかの検証が重要であると考えられる。

抗病性の向上は、感染症による生産コストの上昇を抑制するだけでなく、健全に家畜を育成できることによる畜産物の品質の向上にもつながるものと考えられる。家畜衛生・畜産経営双方の観点から、読者の方々においても抗病性向上のための育種に関心をお持ちいただければ幸いである。

謝辞

ここで紹介した研究の多くは農林水産省委託プロジェクト「動物ゲノムを活用した新市場創出のための技術開発（平成19～23年度）」及び「ゲノム情報を活用した家畜の革新的育種・繁殖・疾病予防技術の開発（DNA マーカー育種の高度化のための技術開発）（平成24～28年度）」で行われた。また、多数の共同研究者のご尽力なしには得られなかった成果ばかりである。特に記して謝意を表したい。

文献

- 1) Archibald AL, et al. (2010) Pig genome sequence-analysis and publication strategy. *BMC Genomics* 11: 438.
- 2) Asano A, et al. (2002) Polymorphisms and the antiviral property of porcine Mx1 protein. *J Vet Med Sci* 64: 1085-1089.
- 3) Dawson HD, et al. (2013) Structural and functional annotation of the porcine immunome. *BMC Genomics* 14: 332, 2013.
- 4) Edfors-Lilja I, et al. (1991) Genetic variation in

- Con A-induced production of interleukin 2 by porcine peripheral blood mononuclear cells. *Vet Immunol Immunopathol* 27: 351-363.
- 5) Edfors-Lilja I, et al. (1998) Mapping quantitative trait loci for immune capacity in the pig. *J Immunol* 161: 829-835.
 - 6) Eguchi-Ogawa T, et al. (2009) Genomic structure of the whole D-J-C clusters and the upstream region coding V segments of the *TRB* locus in pig. *Dev Comp Immunol* 33: 1111-1119.
 - 7) Eguchi-Ogawa T, et al. (2010) Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets. XI. The relationship of variable heavy chain gene usage and the genomic organization of the variable heavy chain locus. *J Immunol* 184: 3734-3742.
 - 8) Eguchi-Ogawa T, et al. (2012) Structure of the genomic sequence comprising the immunoglobulin heavy constant (IGHC) genes from *Sus scrofa*. *Mol Immunol* 52: 97-107.
 - 9) Groenen MAM, et al. (2012) Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature* 491: 393-398.
 - 10) Hawken RJ, et al. (1999) A first-generation porcine whole-genome radiation hybrid map. *Mamm Genome* 10: 824-830.
 - 11) Jozaki K, et al. (2009) Influence of polymorphisms in porcine NOD2 on ligand recognition. *Mol Immunol* 47: 247-252.
 - 12) Jørgensen CB, et al. (2003) Linkage and comparative mapping of the locus controlling susceptibility towards *E. coli* F4ab/ac diarrhoea in pigs. *Cytogenet Genome Res* 102: 157-162
 - 13) Kadowaki H, et al. (2012) Selection for resistance to swine mycoplasmal pneumonia over 5 generations in Landrace pigs. *Livest Sci* 147: 20-26.
 - 14) McKnite AM, et al. (2014) Genomic analysis of the differential response to experimental infection with porcine circovirus 2b. *Anim Genet* 45: 205-214.
 - 15) Morozumi T, et al. (2009) Molecular cloning and characterization of porcine Mx2 gene. *Mol Immunol* 46: 858-865.
 - 16) Muneta Y, et al. (2003) Porcine TLR2 and TLR6: identification and their involvement in Mycoplasma hyopneumoniae infection. *J Interferon Cytokine Res* 23: 583-590.
 - 17) Nakajima E, et al. (2007) A naturally occurring variant of porcine Mx1 associated with increased susceptibility to influenza virus in vitro. *Biochem Genet* 45: 11-24.
 - 18) Okamura T, et al. (2012) A genome-wide scan for quantitative trait loci affecting respiratory disease and immune capacity in Landrace pigs. *Anim Genet* 43: 721-729.
 - 19) Poltorak A, et al. (1998) Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science* 282: 2085-2088.
 - 20) Reiner G, et al. (2002) Detection of quantitative trait loci for resistance/susceptibility to pseudorabies virus in swine. *J Gen Virol* 83: 167-172.
 - 21) Rohrer GA, et al. (1994) A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics* 136: 231-245.
 - 22) Rothschild MF, et al. (1984) Breed and swine lymphocyte antigen haplotype differences in agglutination titers following vaccination with *B. bronchiseptica*. *J Anim Sci* 59: 643-649.
 - 23) Rubin C-J, et al. (2012) Strong signatures of selection in the domestic pig genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 19529-19536.
 - 24) Sasaki K, et al. (2014) A single nucleotide polymorphism of porcine MX2 gene provides antiviral activity against vesicular stomatitis virus. *Immunogenetics* 66: 25-32.
 - 25) Satake H and Sekiguchi T. (2012) Toll-like receptors of deuterostome invertebrates. *Front Immunol* 3: 34.
 - 26) Shinkai H, et al. (2006) Biased distribution of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in porcine Toll-like receptor 1 (*TLR1*), *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, and *TLR6* genes. *Immunogenetics* 58: 324-330.
 - 27) Shinkai H, et al. (2011) Porcine Toll-like receptors: Recognition of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis and influence of polymorphisms. *Mol Immunol* 48: 1114-1120.
 - 28) Shinkai H, et al. (2012) TLR4 polymorphism impairing lipopolysaccharide signaling in *Sus scrofa*, and its restricted distribution among Japanese wild boar populations. *DNA Cell Biol* 31: 575-581.

- 29) Shinkai H, et al. (2015) Porcine NOD1 polymorphisms with impaired ligand recognition and their distribution in pig populations. *Mol Immunol* 63: 305-311.
- 30) Shinkai H, et al. (2016) Polymorphisms of the immune-modulating receptor dectin-1 in pigs: their functional influence and distribution in pig populations. *Immunogenetics* 68: 275-284.
- 31) Skevaki C, et al. (2015) Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious diseases. *Clin Exp Immunol* 180: 165-177.
- 32) Tanaka-Matsuda M, et al. (2009) Difference in number of loci of swine leukocyte antigen classical class I genes among haplotypes. *Genomics* 93:261-273.
- 33) Tohno M, et al. (2016) Porcine NLRP3 polymorphism Q969R with gain-of-function and its distribution in pig populations. *Immunogenetics* 68: 693-701
- 34) Uenishi H and Shinkai H. (2009) Porcine Toll-like receptors: the front line of pathogen monitoring and possible implications for disease resistance. *Dev Comp Immunol* 33:353-361.
- 35) Uenishi H, et al. (2007) PEDE (Pig EST Data Explorer) has been expanded into Pig Expression Data Explorer, including 10 147 porcine full-length cDNA sequences. *Nucleic Acids Res* 35: D650-D653.
- 36) Uenishi H, et al. (2009) Genomic sequence encoding diversity segments of the pig TCR δ chain gene demonstrates productivity of highly diversified repertoire. *Mol Immunol* 46:1212-1221.
- 37) Uenishi H, et al. (2012) Genomic survey of polymorphisms in pattern recognition receptors and their possible relationship to infections in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 148: 69-73.
- 38) Uenishi H, et al. (2012) Large-scale sequencing based on full-length-enriched cDNA libraries in pigs: contribution to annotation of the pig genome draft sequence. *BMC Genomics* 13: 581
- 39) Waide EH, et al. (2017) Genomewide association of piglet responses to infection with one of two porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates. *J Anim Sci* 95: 16-38.
- 40) Yang T, et al. (2016) A genome-wide association study of fetal response to type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge. *Sci Rep* 6: 20305.