HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on immunosuppression caused by prostaglandin E2 during chronic infections of cattle [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	佐治木, 大和
Citation	北海道大学. 博士(獣医学) 甲第14554号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/81674
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yamato_Sajiki_abstract.pdf (論文内容の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：佐治木　大和
Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Studies on immunosuppression caused by prostaglandin E_2 during chronic infections of cattle
（牛慢性感染症におけるプロスタグランジン E_2 を介した免疫抑制に関する研究）

牛伝染性リンパ腫（旧名：牛白血病）およびヨーネ病は、日本で広く蔓延しているウシの慢性感染症である。家畜伝染病予防法に定められたウシの監視伝染病のうち、牛伝染性リンパ腫は最も発生頭数が多く、次いでヨーネ病が 2 番目に多い。そのため、両疾病は日本の畜産業に甚大な被害をもたらす家畜衛生上の重大な課題とみなされているが、現在有効なワクチンや治療法が存在せず、新規制御法の開発が強く望まれている。先行研究において、免疫抑制因子 programmed death (PD)-1 および PD-ligand 1 (PD-L1) を介した T 細胞の疲弊化が、牛伝染性リンパ腫ウイルス（BLV）やヨーネ菌の免疫回避機構の一つであることが示された。一方で抗 PD-L1 抗体などの抗体薬は、PD-1/PD-L1 経路を阻害することで病原体特異的な免疫応答を活性化させることから、BLV 感染症およびヨーネ病に対する新規制御法となる可能性が示された。しかしながら、両疾病の病態進行に伴い、PD-1 や PD-L1 等の免疫抑制因子の発現が誘導される機序はいまだ解明されていない。

PD-1/PD-L1 の発現誘導機序を解明するため本研究では、プロスタグランジン E_2 (PGE_2) に着目した。PGE_2 は、アラキドン酸からシクロオキシゲナーゼ (COX)-2 を含む様々な酵素を介して合成される生理活性物質であり、炎症の誘導に関与するとともに免疫抑制作用を持つことが知られている。また近年、ヒトやマウスの研究において、PGE_2 が PD-1 や PD-L1 を含む免疫抑制因子の発現を制御することが示された。しかしながら獣医学領域において、PGE_2 の免疫抑制作用と感染症の病態形成との関連はほとんど報告がなかったことから、本稿では、まずウシにおける PGE_2 の機能解析およびウシの慢性感染症における PGE_2 の動態解析を行った。また、PGE_2 産生を阻害する COX-2 阻害剤に着目し、単剤および抗 PD-L1 抗体との併用における治療効果を *in vitro* および *in vivo* にて評価した。さらに、COX-2 阻害剤と抗 PD-L1 抗体の併用によって治療効果が増強された詳細な機序の解明を行った。

第 1 章: ウシにおける PGE_2 の免疫抑制作用および PGE_2 とヨーネ病の関連を解析した。まず PGE_2 の機能解析として、ウシの末梢血単核球 (PBMC) を PGE_2 存在下で培養したところ、PGE_2 は PBMC からの T helper (Th) 1 サイトカイン産生および T 細胞の増殖能を強く抑制し、免疫抑制因子 PD-L1 の発現を誘導することが示された。このことより、PGE_2 がウシにおいて免疫抑制に関与することが明らかとなった。さらにヨーネ病罹患牛では、血中 PGE_2 量が増加し、回腸病変部での PGE_2 発現が亢進していた。一方で、COX-2 阻害剤を用いて PGE_2 の産生を阻害するとヨーネ菌特

異的 Th1 応答が活性化されたことから、PGE_2 がヨーネ病の病態進行に伴う免疫抑制に関与することが示唆された。

第 2 章 : BLV 感染症と PGE_2 の関連を示すために、BLV 感染牛における PGE_2 の動態解析を行った。その結果、BLV 感染症の病態進行に伴い、血中 PGE_2 量が増加することおよび血中 PGE_2 量がリンパ球数、プロウイルス量および B 細胞における PD-L1 発現率と正の相関関係にあることが明らかとなった。次に、COX-2 阻害剤の治療効果を *in vitro* および *in vivo* で評価した。BLV 感染牛由来 PBMC を COX-2 阻害剤存在下で培養したところ、COX-2 阻害剤が BLV 特異的な Th1 サイトカイン産生ならびに T 細胞増殖を活性化することが示された。また、COX-2 阻害剤と抗 PD-L1 抗体を併用すると、特異的な Th1 応答がさらに増強されることも明らかとなった。これら結果をもとに、BLV 感染牛に対して「COX-2 阻害剤単剤」あるいは「COX-2 阻害剤と抗 PD-L1 抗体の併用」の臨床試験を実施し、抗ウイルス効果を評価した。その結果、COX-2 阻害剤は単剤でも有意に BLV 感染牛のプロウイルス量を減少させた。さらに併用法は、抗 PD-L1 抗体単剤では効果が認められないような病態が重度に進行した BLV 感染牛に対しても、強い抗ウイルス効果（最大 80%減少）を示した。以上より、COX-2 阻害剤は単剤および抗 PD-L1 抗体との併用においてウシの慢性感染症に対する新規制御法として有用である可能性が示された。

第 3 章 : 第 2 章において抗 PD-L1 抗体および COX-2 阻害剤の併用によって治療効果が増強された機序を解明するために、抗 PD-L1 抗体単剤で治療された BLV 感染牛由来の検体を解析した。その結果、抗 PD-L1 抗体投与後、血中 PGE_2 濃度が有意に増加することが示された。抗 PD-L1 抗体治療下に誘導された PGE_2 の役割を解明するために解析を行ったところ、PGE_2 が受容体 E prostanoid (EP) 4 を介して T 細胞の活性を直接抑制することおよび抗 PD-L1 抗体処置により産生された Th1 サイトカインの一種である tumor necrosis factor (TNF)-α によって PGE_2 産生が誘導されることが明らかになった。以上より、TNF-α によって誘導された PGE_2 が受容体 EP4 を介して抗 PD-L1 抗体の治療効果を減弱させている可能性が示唆された。これらの結果をもとに、抗 PD-L1 抗体と EP4 阻害剤の併用法の治療効果の評価を行った。抗 PD-L1 抗体と EP4 阻害剤の併用は、ウシの PBMC およびマウスの脾細胞からの Th1 サイトカイン産生を有意に増加させた。さらにマウスのリンパ腫モデルを用いた試験では、抗腫瘍効果の増強が確認されたことから、本治療戦略が動物種によらず適応可能であることが示唆された。

本研究により、PGE_2 はウシの慢性感染症に共通して認められる免疫回避機構の一つであることが示唆された。PD-1/PD-L1 経路および COX-2/PGE_2/EP4 経路を標的とした併用療法が、生体内において抗ウイルス免疫を活性化することが明らかとなり、BLV 感染症に対する新規制御法となりうることを示した。本併用療法は、マウスリンパ腫モデルにおいても抗腫瘍効果を増強させたことから、ヒトを含む様々な医療分野への応用が期待される。今後は、より大規模な、もしくはより多くの動物モデルを用いた臨床試験を行い、本研究を基にした新規治療法の効果を詳細に検討する必要がある。