



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the mechanism of the immunosuppression caused by bovine mycoplasmosis and the development of its novel control method [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	後藤, 伸也
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第14109号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78466
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shinya_GOTO_review.pdf, 審査の要旨



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：後 藤 伸 也

審査委員	主査	教授	大 橋 和 彦
	副査	教授	鈴 木 定 彦
	副査	准教授	岡 松 正 敏
	副査	准教授	今 内 寛

学位論文題名

Studies on the mechanism of the immunosuppression caused by bovine mycoplasmosis and the development of its novel control method

（牛マイコプラズマ感染症における免疫抑制機序の解明と新規治療法の開発）

牛マイコプラズマ感染症は、ウシの伝染性疾患であり、慢性肺炎や難治性乳房炎、中耳炎、関節炎が認められる。現在までに、ウシに病原性を示すマイコプラズマとして、*Mycoplasma bovis* や *M. mycoides* subsp. *mycoides* biotype Small Colony, *M. bovis genitalium* など多くが報告されている。その中でも特に *M. bovis* は近年、世界各地で最も高率に分離され、畜産業に甚大な経済的損失を与えている。*M. bovis* 感染牛では慢性に病態が進行して難治性に至るが、現在のところ、*M. bovis* に対する有効なワクチンはなく、本疾患の病態解明と新たな治療・制御法の開発が望まれている。そこで本研究では、様々な牛の慢性感染症の病態形成への関与が疑われている免疫抑制因子、programmed death 1 (PD-1) およびそのリガンド PD-ligand 1 (PD-L1) に着目して、*M. bovis* 感染症の免疫抑制機序の解明と新規治療法の開発を試みた。

最初に、免疫抑制が認められる *M. bovis* 感染症において、PD-1/PD-L1 の発現解析およびそれらの分子の機能解析を行った。*M. bovis* 感染牛の末梢血中において、PD-1 発現 $CD4^{+}$ および $CD8^{+}$ T 細胞、ならびにリガンドである PD-L1 発現単球の割合が、非感染牛と比較して有意に増加していた。さらに PD-1 発現 T 細胞の増加とインターフェロン- γ (IFN- γ) 応答能の低下との間には負の相関が認められた。また PD-1 あるいは PD-L1 に特異的な抗体を用いた PD-1/PD-L1 経路阻害試験では、感染牛由来末梢血単核球 (PBMC) における *M. bovis* 特異的な IFN- γ 応答が増強された。これらの結果より、PD-1/PD-L1 経路が *M. bovis* 特異的 T 細胞の疲弊化に関与していることが示唆された。

近年、PD-1/PD-L1 に関連した免疫抑制因子としてプロスタグランジン E_2 (PGE $_2$) が注目されている。そこで、*M. bovis* 感染症における PGE $_2$ による免疫抑制機序と PD-1/PD-L1 経路との関連性の解明を試みた。健康牛から分離した PBMC を用いた *in vitro* における *M. bovis* 感染試験では、PGE $_2$ 産生量の増加に伴い、単球における

PD-L1 発現量の上昇が観られた。さらに、*M. bovis* 感染牛における末梢血中 PGE₂ 濃度の上昇は、PD-L1 発現単球の割合の増加と正の相関を示した。一方で、PGE₂ 合成の律速酵素である cyclooxygenase (COX) -2 に対する阻害剤と抗 PD-L1 抗体を併用して、PBMC における PD-1/PD-L1 経路と PGE₂ の阻害試験を行うと、*M. bovis* 特異的 IFN- γ 応答がより強力に再活性化された。以上より、PGE₂ は *M. bovis* 感染牛における PD-L1 発現誘導因子のひとつであり、*M. bovis* 感染症における免疫抑制に関与することが示唆された。

以上の結果を踏まえて、肺炎症状を呈した *M. bovis* 感染牛を用いて、抗 PD-L1 ラット-ウシキメラ抗体 (Boch4G12) と COX-2 阻害剤の投与試験を行い、*in vivo* における PD-1/PD-L1 経路と PGE₂ の阻害効果を検討した。Boch4G12 と COX-2 阻害剤の併用投与牛では、投与前と比較して *M. bovis* 抗原に対する IFN- γ 応答が有意に上昇し、試験最終日まで高い値を維持していた。一方で、無投与牛あるいは COX-2 阻害剤単剤投与牛では、IFN- γ 応答の継続的な上昇は認められなかった。以上の結果より、抗 PD-L1 抗体と COX-2 阻害剤の併用による治療が本疾患に応用できることが示唆された。

本研究により、*M. bovis* 感染症における免疫抑制には、PD-1/PD-L1 の発現上昇により誘導された T 細胞の疲弊化が関与していること、また、*M. bovis* によって誘導される PGE₂ が PD-L1 の発現誘導因子のひとつであることが示された。さらに、抗 PD-L1 抗体と COX-2 阻害剤を併用することにより、*M. bovis* 特異的免疫応答が強く再活性化されることが明らかとなった。

以上のように、本研究は、根本的な制御法のない *M. bovis* 感染症における免疫抑制の分子機序を解明して、免疫抑制因子に対する分子標的薬が新規制御法となる可能性を提示したものであり、*M. bovis* など牛マイコプラズマ感染症の制圧に向けた制御法開発に有用な知見をもたらしている。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者後藤伸也氏の学位論文は、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。