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 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(獣医学) |
| Dissertation Number | 甲第14554号 |
| Issue Date | 2021-03-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/81674 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Yamato_Sajiki_review.pdf, 審査の要旨 |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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：佐治木　大和

審査委員

| | |
|---|---|
| 主査　教授 | 鈴　木　定　彦 |
| 副査　教授 | 大　橋　和　彦 |
| 副査　准教授 | 今　内　覚 |
| 副査　講師 | 松　野　啓　太 |

学位論文題名

**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。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、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 感染症やヨーネ病に対する新規制御法となる可能性も示された。しかし、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。Prostaglandin $E_2$ ($PGE_2$)は、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、免疫抑制作用を持つことが知られている。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ているが、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されていない。そこで本研究では、ウシの慢性感染症における $PGE_2$ の動態解析を行い、COX-2 阻害剤と抗 PD-L1 抗体の併用による治療効果を評価した。さらに本併用法による治療効果の増強機序の解析を行った。

第 1 章では、ウシにおける $PGE_2$ の免疫抑制作用や $PGE_2$ とヨーネ病の関連を解析した。まず、ウシの末梢血単核球 (PBMC) を $PGE_2$ 存在下で培養した結果、$PGE_2$ 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、$PGE_2$ 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。そこで、ヨーネ病罹患牛を解析した結果、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 章では、BLV 感染牛における $PGE_2$ の動態解析を行い、血中 $PGE_2$ 量が病態進行

に伴い増加し、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を明らかにした。また、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も示された。そこで、BLV 感染牛に対して COX-2 阻害剤および抗 PD-L1 抗体を用いた臨床試験を行った。COX-2 阻害剤は単剤でも、BLV 感染牛に対して、有意にプロウイルス量を減少させた。さらに、COX-2 阻害剤と抗 PD-L1 抗体を併用すると、特異的な Th1 応答が増強され、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 章では、第 2 章において COX-2 阻害剤および抗 PD-L1 抗体の併用による治療効果の増強機序を解析した。その結果、抗 PD-L1 抗体投与後、血中 $PGE_2$ 濃度が有意に増加し、$PGE_2$ 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や、抗 PD-L1 抗体処置によって産生された tumor necrosis factor (TNF)-α により $PGE_2$ 産生が誘導されることが新たに明らかになった。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。そこで、抗 PD-L1 抗体と EP4 阻害剤の併用による効果を検証した。その結果、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、本治療戦略の有効性が示唆された。

以上より、$PGE_2$ がウシの慢性感染症おいて免疫回避機構の一つとして重要な役割を果たすことが明らかとなった。さらに 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、生体内における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が示された。

本研究は、ウシ慢性感染症でみられる免疫抑制における $PGE_2$ の役割を明らかにしたものであり、ウシ慢性感染症の新規制御法の確立に向けて有用な知見を提供している。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者　佐治木　大和　氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。