



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on programmed death-ligand 1 in equine and swine diseases [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Ganbaatar, Otgontuya
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15040号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86021
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	GANBAATAR_Otgontuya_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：GANBAATAR Otgontuya

審査委員	主査	教授	迫田	義博
	副査	教授	大橋	和彦
	副査	教授	中島	千絵
	副査	准教授	今内	寛

学位論文題名

Studies on programmed death-ligand 1 in equine and swine diseases

(ウマおよびブタ疾病における PD-L1 に関する研究)

Programmed death-1 (PD-1) は、T 細胞に発現している免疫抑制受容体である。慢性感染症や腫瘍疾患においては、抗原提示やサイトカインを介した持続的な活性化シグナルにより、T 細胞で PD-1 発現が上昇する。一方、PD-1 のリガンドである Programmed-death ligand 1 (PD-L1) は、抗原提示細胞などの免疫担当細胞、感染細胞あるいは腫瘍細胞に発現している。T 細胞上の PD-1 に PD-L1 が結合すると、T 細胞受容体を介した活性化シグナルが抑制され、サイトカインの産生や細胞増殖などが阻害され、T 細胞の疲弊化が引き起こされる。そして疲弊化 T 細胞はエフェクター機能を発揮できないため、感染細胞や腫瘍細胞を排除できなくなる。このように、T 細胞の疲弊化は慢性感染症や腫瘍疾患の病態進行に深く関与することが知られている。しかし、ウマやブタの慢性疾患において、PD-1/PD-L1 が免疫応答に及ぼす影響は不明である。そこで本研究ではまず、既存の抗ウシ PD-L1 モノクローナル抗体を用いて、ウマあるいはブタの PD-L1 に対する交差反応性と、PD-1/PD-L1 の結合に対する阻害効果を検証した。また、ウマの悪性黒色腫やブタの慢性感染症を対象として、PD-L1 の発現を解析した。さらに、ウマとブタの免疫担当細胞を用いて、抗 PD-L1 抗体を用いた結合阻害による免疫活性化効果を検証した。

第一章ではまず、ウマの PD-1 および PD-L1 遺伝子を同定した。次に、ウマ PD-L1 発現細胞を作製してフローサイトメリー解析を行ったところ、抗ウシ PD-L1 ラットモノクローナル抗体がウマ PD-L1 と交差反応性を示し、ウマの PD-1/PD-L1 の結合を阻害した。抗 PD-L1 抗体を用いて免疫組織化学染色を実施したところ、悪性黒色腫に罹患したウマの腫瘍組織において PD-L1 の発現が確認された。また、抗 PD-L1 抗体を用いた結合阻害により、ウマの末梢血単核球 (PBMC) におけるインターフェロン γ (IFN- γ) およびインターロイキン 2 (IL-2) の産生が活性化された。次に、本抗体をもとにして抗 PD-L1 ラット-ウマキメラ抗体を樹立した。抗 PD-L1 キメラ抗体は、ウマ PD-L1 に結合し、ウマの PD-1/PD-L1 の結合を阻害した。さらに、抗 PD-L1 キメラ抗体を用いた結合阻害により、ウマの PBMC における IFN- γ の産生が活性化された。以上の結果より、ウマ PD-L1 を標的

とした阻害抗体は免疫活性化作用を有しており、ウマの悪性黒色腫に対する新規制御法として有望であることが示された。

第二章では、ブタ PD-1 及び PD-L1 について解析した。ブタ PD-L1 発現細胞を作製して解析を行ったところ、ブタ PD-L1 と交差反応性を示す抗ウシ PD-L1 ラットモノクローナル抗体が複数クローン確認された。これらの抗 PD-L1 抗体の中には、ブタの PD-1/PD-L1 結合を阻害する抗体も認められた。次に、豚繁殖・呼吸障害症候群、マイコプラズマ感染症、サーコウイルス感染症、増殖性腸炎などのブタの慢性感染症を対象として、PD-L1 の発現を免疫組織化学染色で解析した。これらの慢性感染症においては、感染部位に浸潤した免疫担当細胞に PD-L1 が発現していた。さらに、抗 PD-L1 抗体を用いた結合阻害により、ブタの PBMC における IL-2 の産生が活性化された。以上の結果より、ブタの様々な慢性感染症において PD-L1 が免疫抑制に関与している可能性が示され、新規治療標的として有望であることが示唆された。

以上より、抗ウシ PD-L1 モノクローナル抗体がウマおよびブタの PD-L1 に交差反応性を有しており、PD-1/PD-L1 結合の阻害作用および免疫活性化効果を示すことを明らかとなった。さらに、ウマの腫瘍疾患やブタの慢性感染症において、PD-L1 が免疫抑制に関与していることが示唆された。このように本研究は、PD-L1 を標的とした阻害抗体のウマやブタの慢性疾患に対する新規治療法への応用につい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 Otgontuya Ganbaatar 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。