



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Research on disease progression and immunoinhibitory pathway using sheep model of persistent bovine leukemia virus infection
Author(s)	TIYAMANEE, Wisa
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第16958号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16958
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99803
Type	doctoral thesis
File Information	Wisa_Tiyamaneer_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（感染症学）

氏名：Wisa Tiyananee

審査委員	主査	教授	中島 千絵
	副査	教授	岡松 優子
	副査	教授	今内 覚
	副査	准教授	村田 史郎

学位論文題名

Research on disease progression and immunoinhibitory pathway using sheep model of persistent bovine leukemia virus infection
(牛伝染性リンパ腫ウイルス持続感染羊モデルにおける病態進行および免疫抑制因子に関する研究)

牛伝染性リンパ腫ウイルス（Bovine leukemia virus, BLV）は、感染牛の一部に全身性のリンパ腫である地方病性牛伝染性リンパ腫（enzootic bovine leukosis, EBL）を引き起こす。現在、BLV は日本国内の農場に広く蔓延しており、BLV 感染が原因となる EBL の発生は増加している。EBL 発症牛は全部廃棄となるため、生産者への経済的損失は大きい。EBL の発症には免疫の低下が関与することが知られているが詳細については不明な点が多い。自然宿主であるウシは、BLV が感染すると発症までに長い潜伏期間を要することや発症率が低いことから経時的な解析は非常に難しい。一方、ヒツジは BLV が感染すると短期間で高率にリンパ腫発症に至ることから感染実験モデルとして有用である。そこで本研究では、ヒツジを BLV 感染実験モデル動物として使用し、感染からリンパ腫発症まで経時的にプロウイルスの動態、感染細胞のクローナリティならびに免疫状態を解析し、病態形成に関与する分子機構を明らかにすることを目的とした。

第1章では、発症までの経時的なウイルス感染細胞の動態を解析するために、BLV 実験感染羊における real-time PCR 法によるプロウイルス量（proviral load, PVL）とクローナリティ解析法（Rapid Amplification of Integration Site without Interference by Genomic DNA contamination, RAISING）による BLV 感染細胞のクローナリティ値（clonality value, Cv）の変化を解析した。その結果、リンパ腫を発症したヒツジでは、発症前に血液中の PVL の増加より先に Cv が上昇することが確認された。また、発症したヒツジの腫瘍検体では高い Cv が検出された。このことから RAISING が EBL の早期診断法として有用であることが示された。

第2章では、ヒツジの免疫学的解析を行うためにまず、免疫抑制因子である *programmed cell death-1* (PD-1) および *PD-ligand 1* (PD-L1) 遺伝子を同定した。そ

の結果、ヒツジ PD-1 および PD-L1 のアミノ酸配列は他の哺乳類と高い相同性を示し、特にウシの PD-1 および PD-L1 に相同性が高いことが明らかとなった。そこで、抗ウシ PD-L1 モノクローナル抗体 (mAb) のヒツジ PD-L1 への交差反応を確認したところ、抗ウシ PD-L1 mAb はヒツジ PD-L1 に結合することが確認された。さらに抗ウシ PD-L1 mAb はヒツジの PD-1 と PD-L1 の結合を阻害することに加え、ヒツジ PD-L1 の免疫組織化学的染色にも使用できることも確認した。

第 3 章では、BLV 実験感染羊における PD-L1 および T-cell immunoglobulin and mucin domain-3 (TIM-3) の発現動態と免疫応答を経時的に解析した。PD-L1 の発現は BLV プロウイルス量の増加とともに上昇した。TIM-3 は CD4⁺, CD8⁺, $\gamma\delta$ TCR⁺ T 細胞で発現し、病態進行とともに増加した。抗ウシ TIM-3 mAb を用いて TIM-3 を遮断すると、T 細胞の活性化と抗ウイルス性サイトカインの産生を回復させたが、TIM-3 と PD-L1 経路の両方を遮断すると、相乗的に作用し抗ウイルス性サイトカイン産生を増加させた。このことから、BLV 感染における病態進行に伴う免疫疲弊には、これらの免疫チェックポイント分子が協調的に関与していることが明らかになった。一方、この知見から、併用免疫療法が BLV に対する有望な治療法であることが示唆された。

本研究は、EBL の発症には、血中の PVL の増加より先に Cv が上昇すること、さらに TIM-3 経路および PD-1/PD-L1 経路が BLV による免疫疲弊化に関与することを明らかにした。これらの成果は、BLV 感染症における病態形成機序や免疫回避機構に関する理解を深め、将来的な RAISING による EBL の早期診断や、効果的な治療法の開発に貢献する重要な知見である。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Wisa Tiyananee 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。