

論文審査の要旨および結果

1 論文審査の要旨および結果

学位論文の審査は、1) 論文の体裁を整えており、内容においては学術的な新規性があり、かつ論文構成が明確で十分な根拠に立脚してなされているか、2) 広く科学および獣医学の学術の発展に寄与する内容であるかについて行われた。

本研究は、牛のマイコプラズマ性乳房炎の免疫学的理解に資するために、白血球、乳腺上皮細胞および実験的乳房炎牛の免疫学的応答性を検討した。

研究の背景と目的

「マイコプラズマ感染症」は家畜の疾病で損失も大きく難治性でその対策は極めて困難である。*Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) はウシにおいて重度の乳房炎、肺炎および関節炎等を引き起こす微生物であり、多くの症例では難治性に移行し十分な治療効果が得られず甚大な経済的損失をもたらすことが知られている。

国内における *M. bovis* 乳房炎の発生率は増加傾向を示し、*M. bovis* 感染症に対する効果的な制圧技術の構築が課題となっているが、*M. bovis* の病原性とウシの免疫応答について、免疫担当細胞である単核球、好中球および乳腺上皮細胞の *M. bovis* に対するサイトカインへの影響ならびに *M. bovis* 乳房炎における全身ならびに局所の免疫応答性は十分には明らかにされていない。

本研究では、その免疫学的病態の特性を明らかにすることを目的とし、免疫担当細胞である単核球、好中球および乳腺上皮細胞について、分子生物学的および機能的な検討を行うとともに、実験的 *M. bovis* 乳房炎牛の全身および局所免疫の応答性を検討した。

研究方法

免疫担当細胞である単核球、好中球および乳腺上皮細胞に対する *M. bovis* の影響について分子生物学的および機能学的な研究手法を用いて検討を行うとともに、遺伝子発現パターンの網羅的解析手法を用いた。また実験的 *M. bovis* 乳房炎を作出して全身および局所免疫応答性を検討した。

研究の成果

1. *M. bovis* 刺激下におけるウシ単核球および好中球の遺伝子発現パターンの網羅的解析手法により以下の成績が得られた。*M. bovis* 刺激によりウシ単核球および好中球の免疫応答関連遺伝子の発現の増加が認められた。*M. bovis* 感染により単核球は Interleukin 17 に代表される炎症反応関連遺伝子の発現の増加が認められた。また、リンパ球の免

疫応答抑制に関連する mRNA の発現量の増加が認められた。単核球および乳腺上皮細胞の炎症性サイトカイン mRNA 発現量は、*Staphylococcus aureus* および *Escherichia coli* と比較し *M. bovis* では弱い免疫応答性を示すこと、また死菌より生菌の方が強い免疫応答性を示すことが明らかとなった。*M. bovis* に対する単核球および乳腺上皮細胞の炎症性サイトカイン mRNA 発現量は、*S. aureus* および *E. coli* とは異なること、また生菌および死菌で異なる応答性を示すことが明らかとなった。

2. 生体防御に重要な役割を担う好中球の Neutrophil extracellular traps (NETs) 形成に必要な好中球の活性酸素および一酸化窒素(NO) が *M. bovis* 刺激により産生されることを明らかにした。NETs 形成は *M. bovis* の添加により消失するが、*M. bovis* のヌクレアーゼを阻害することにより NETs 形成が残存することを本研究で初めて明らかにした。このことから *M. bovis* のヌクレアーゼは好中球の NETs 形成を阻害することで *M. bovis* は NETs から回避していることが示唆され *M. bovis* のヌクレアーゼは病原性の一因子と考えられた。

3. ウシ乳房内への *M. bovis* 投与は他の乳房炎原因菌と比較し乳汁中に高い菌数を排出させるが、体細胞数の増加の程度は他の菌で誘導されるそれらに比較して低値であった。また、*M. bovis* 注入乳房の乳汁でマクロファージが増加傾向を示し、末梢血で単球が減少する傾向が認められた。血清および乳清においては *M. bovis* 特異抗体の産生が認められたが、乳房リンパ節および脾臓細胞からの単核球および末梢血単核球に対する *M. bovis* 刺激においては細胞増殖（幼若化）反応に変化が認められなかったことから単核球における低反応性または免疫応答の抑制が示唆された。

研究の評価

本研究により、*M. bovis* に対する免疫担当細胞ならびに乳腺上皮細胞の分子生物学的および機能病態的な特徴を明らかにするとともに、実験的な *M. bovis* 乳房炎における局所ならびに全身の免疫応答性の特質の一端を明らかにした。本研究はマイコプラズマ性乳房炎の理解において有用な基礎的知見を提示しているものと考えられる。

以上のことから、権平 智氏は博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

2 最終試験の結果

審査委員4名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2016年 2月17日

審査委員

主査	教授	永幡	肇
副査	教授	樋口	豪紀
副査	准教授	岩野	英知
副査	教授	菊池	直哉