

海外インターンシップ報告書

2014年 8月 17日提出

氏名	岡川 朋弘
所属	動物疾病学講座 感染症学教室
学年	博士課程 4年
活動先名	Washington State University, USA
期間	
① (出発日—帰札日)	① 2015年5月11日-7月3日
② (インターンシップ実施開始日—終了日)	② 2015年5月11日-7月2日

【活動目的及びインターンシップ先を選択した理由】

本インターンシップの活動目的は、Washington State University (WSU), Department of Veterinary Microbiology and Pathology にてウシの感染モデルを用いた研究プロジェクトに参加し、大動物の感染実験や免疫学研究を実施するために必要な専門知識や技術を修得することである。

筆者はこれまでに博士課程で、ウシの慢性感染症（牛白血病・ヨーネ病）を対象とした T 細胞応答の研究に従事してきた。博士課程修了後も感染症の病態解明や新しいワクチン・制御法の開発を目標に免疫学研究に携わりたいと考えており、獣医免疫学の研究が盛んな海外での博士研究員を学位取得後の進路として検討している。しかし筆者は、これまでに先進国の学術機関で研究活動に従事した経験がなく、海外の研究環境の実情を知る機会が乏しかった。また、これまでの筆者の研究では、野外（一般の農場）の感染動物サンプルを材料として用いることが多く、ウシを用いた感染実験や BSL 施設における活動の経験も乏しい。

今回のインターンシップを受け入れてくださった Dr. Wendy C. Brown は、アナプラズマ症をはじめとするウシの感染症に対する T 細胞応答研究の第一人者で、最先端の研究環境と独自の技術を背景に多くの研究成果をあげてきた。幸いにも Dr. Brown は以前から筆者らの研究に興味を持っており、Dr. Brown が主催者の一人であった獣医感染免疫学の国際学会（2015年1月、アメリカ）への参加を誘われたことをきっかけに知り合った。筆者らはこのアメリカ渡航の際に WSU の Dr. Brown 研究室も訪問し、研究設備や大動物の実験感染施設 (BSL2) を実際に見学した。このとき、筆者は Dr. Brown の研究室で 2015 年 5 月からウシを使った *Anaplasma marginale* の感染実験を行う予定であることを知った。この研究プロジェクトに参加すれば、大動物の感染実験や最先端の免疫学研究の経験を積むことができ、かつ学位取得後のキャリアパスのきっかけにできるのではないかと筆者は考え、Dr. Brown の研究室を活動先として選んだ。

【活動内容・成果】

WSU は、アメリカ合衆国ワシントン州プルマン (Pullman) にメインキャンパスを置く州立大学である。WSU は College of Veterinary Medicine (獣医学部) を含む 11 の college (学部) があり、アメリカの公立大学の中でも有数の研究大学のひとつに位置付けられている。

Dr. Brown は WSU で長年、ウシに重篤な感染症を引き起こす *Anaplasma marginale* や *Theileria parva*、*Babesia bovis* に対する T 細胞細胞応答の研究とワクチン開発に取り組んできた。今回の研究プロジェクトでは、*Anaplasma marginale* のワクチン抗原に対する T 細胞応答を中心に、*A. marginale* 実験感染牛の免疫応答を解析し、ワクチン抗原の生体内での効果を検証することが主な目的であった。筆者は 2015 年 5 月 11 日～7 月 2 日の 8 週間、この研究プロジェクトに short-term scholar として参加した。滞在中の主な活動内容は、(1) 感染性微生物の取扱法や免疫学的実験手法の修得、(2) 実験感染施設 (BSL2 を含む) における作業および見学、(3) *A. marginale* 実験感染牛における T 細胞応答の解析、(4) 研究結果やプロジェクトについてのディスカッション、の 4 つである。

(1) 感染性微生物の取扱法や免疫学的実験手法の修得

A. marginale については、Dr. Brown の共同研究者である USDA の Dr. Massaro W. Ueti から感染サンプルの取扱いや感染診断 (血液塗抹の検鏡)、滅菌の方法について指導を受けた。*A. marginale* は日本国内には存在しない病原体であるため、実際の感染赤血球 (赤血球に感染するリケッチアである) を自分の目で見るとは初めてであった (図 1)。感染サンプルの取扱いや滅菌法は一般的な方法だったため、人獣共通感染症対策専門特論や普段の実験操作で培った経験を活かすことができたと思う。

また、ワクチン抗原に対する T 細胞応答を解析するための実験手法 (刺激抗原の準備、リンパ球増殖試験、ELISPOT 法、MHC テトラマーによる特異的 T 細胞の検出、抗原特異的 T 細胞クローンの作製法など) について、Dr. Brown と Dr. James R. Deringer から説明と指導を受けた。これらの大部分は筆者がいままで経験したことのない手法ばかりであったが、両博士の豊富な経験に基づく丁寧なご指導のおかげで論文を読むだけではわからなかった実際の手技を実践し、学ぶことができた (図 2)。

(2) 実験感染施設 (BSL2 を含む) における作業および見学

ワシントン州はアナプラズマ症の流行地であることから規制が緩やかで、*A. marginale* の感染実験は閉鎖施設ではなく大学内の感染実験農場で行われていた (図 3)。そのため、筆者も実験感染牛のサンプリング (採血) に立ち会うことができた。感染実験のために整備された牛舎であったため、動物と作業者の動線が洗練されており、作業はとてもスムーズであった。またこの実験農場には専従の獣医師が 3 名おり、動物の飼育管理、毎日の経過観察、サンプリングを担当していた。さらに滞在中、近隣のアイダホ州に USDA が保有している BSL-2 感染実験施設において、Dr. Brown が実施していたウシに対する *Theileria parva* の感染実験を見学することができた (図 4)。こちらには USDA の専門家が常駐しており、ダニの実験室

コロニーの維持、実験動物の飼育管理、感染実験のセッティングなどそれぞれの工程に特化していた。どちらの施設においても大動物の感染実験を実施するために、徹底した専門家の分業と体系的な施設管理、そして施設を利用する研究者との綿密なコミュニケーション（打合せ、定時連絡など）を徹底している点がとても印象的だった。

(3) *A. marginale* 実験感染牛における T 細胞応答の解析

Dr. Brown の研究室で学んだ手法を用いて、*A. marginale* のワクチン抗原に対する T 細胞応答に及ぼす免疫抑制受容体の影響について免疫学的解析を行った。Dr. Brown のこれまでの研究により、ウシにワクチン抗原を接種すると *A. marginale* 特異的 T 細胞応答が強く誘導されるが、*A. marginale* に感染するとこの T 細胞応答が急激に抑制（疲弊化）され、結果として *A. marginale* の潜伏感染や臨床症状（貧血など）を助長することが明らかになっていた。そこで我々は、筆者が現在研究している PD-1 や LAG-3 という免疫抑制受容体が *A. marginale* 特異的 T 細胞応答の疲弊化を促しているのではないかと考え、*A. marginale* 感染牛における抗原特異的 T 細胞応答を明らかにするために細胞増殖試験やサイトカイン測定を行い、さらに PD-1⁺LAG-3⁺ T 細胞の動態をフローサイトメトリー法で解析した。今回の研究成果については、2015 年 9 月 16~17 日に開催される第 3 回 SaSSOH において発表する予定である。

(4) 研究結果やプロジェクトについてのディスカッション

今回の滞在中、新しい実験結果が得られる度に Dr. Brown や Dr. Deringer とディスカッションをした。先生方はデータの質や再現性をとても重視しており、ひとつひとつの結果に（仮に予想外の結果であっても）きちんと意味を見出して、無駄なく次の方針を決めるということを徹底していた。研究プロジェクトに直接関わるのは 5~6 人程度で大規模な体制ではないのにもかかわらず、コンスタントに最先端の成果を挙げる理由はこの点にあると思う。また、経験豊かな先生方と毎日のようにディスカッションできるという環境は、不慣れな英語で実験結果や次の計画を筋立てて説明することが要求され、とてもタフな経験だった。しかし、先生方が筆者の不慣れな英語を理解するよう努めてくださったおかげで、結果的に綿密なディスカッションができたことをありがたく思う。さらに、WSU 滞在最終日には、研究プロジェクトに関わった先生方、大学院生の前で、インターンシップの活動報告や今回の研究結果について 1 時間の発表を行った。今回の滞在中を通して、獣医免疫学の第一線で活躍する先生方の考え方や研究の進め方に触れることができたことは筆者にとって得難い経験だった。

【今後のキャリアパスを考える上でどのようにプラスになったか】

まず、海外の研究機関における研究プロジェクトに参加したことで、自分の現状での能力（自分は何が得意で、何が苦手なのか）を客観的に知ることができたと思う。Dr. Brown からは研究遂行能力や新たな技術を覚える能力は十分に有していると言っていたが、一方でやはり英語のコミュニケーションでは力不足を実感した。しかし、自分の能力を見つめ直したことで、海外での博士研究員として研究活動に従事するイメージを掴むことができた。

また、本インターンシップを通してアメリカの研究プロジェクトの実情を知ることができ、日本とアメリカの研究環境の違いを肌で感じる事ができた。WSU の大規模な研究施設・動物施設には驚くばかりだったが、一方で自分達のアイデアが通用することもわかり、今後、日本国内の研究環境でもアイデア次第では十分に渡り合えたと感じた。

【後輩へのアドバイス】

後輩の皆さんには、インターンシップ先（研究機関、国際機関、企業など）を選ぶにあたって、単に受入先を「訪問・見学」するだけではなく、何かしらの形でプロジェクトに参加し自分に目標となる課題を課して活動できる受入先を選ぶことを勧めたい。成果をあげられるか否かはともかく、やはり明確な目標があることで毎日の活動に無駄なく取り組むことができると思う。タフなインターンシップになるとは思いますが、その分学ぶことも多いと実感している。

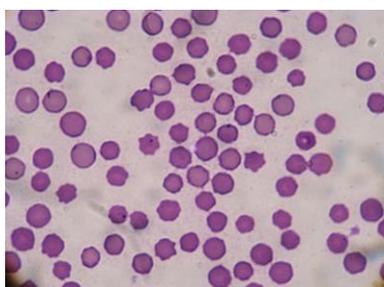


図 1. *A. marginale*

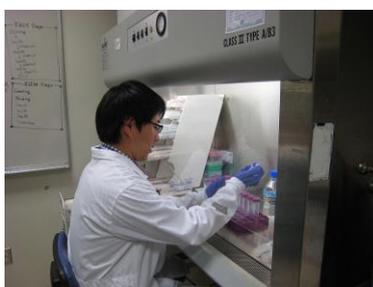


図 2. BSL-2 実験室での作業



図 3. WSU の感染実験農場



図 4. USDA の BSL 動物施設



図 5. 活動報告中の筆者

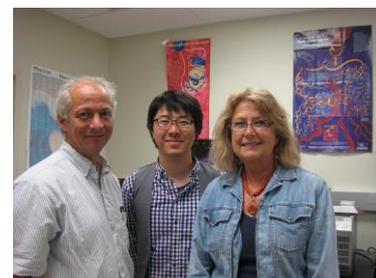


図 6. Dr. Deringer, Dr. Brown と

指導教員確認欄	指導教員所属・職・氏名	印
	感染症学教室 教授	
	大橋 和彦	

提出先：国際連携推進室・リーディング大学院担当

内線：9545 e-mail: leading@vetmed.hokudai.ac.jp