

(海外実践疫学演習 (海外共同研究演習)) 報告書

2016 年 9 月 14 日 提出

氏名	前川 直也
所属	動物疾病制御学講座 感染症学教室
学年	3 年
出張先	Philippine Carabao Center (PCC), University of Philippines Los Banos (UPLB)
出張期間	2016. 8. 24 – 2016. 8. 31
目的	重複感染牛に対する抗体医薬による治療試験の効果判定 (共同研究) および UPLB におけるセミナー発表

活動内容 (2,000 字程度、活動内容が判る様な写真や図表を加えて下さい)

当研究室では、免疫チェックポイント分子を標的とした新規抗体医薬の開発を行っており、ウシに投与可能な抗 PD-L1 キメラ抗体を樹立した。宿主免疫系による病原体排除を増強するその作用機序より、免疫チェックポイント分子が病態の形成にかかわる疾病であれば病原体の種類を問わず適用可能であると考えられ、また複数の病原体に重複感染している場合でも同時の治療効果が見込まれる。これまでに牛白血病、ヨーネ病、アナプラズマ症において PD-1/PD-L1 経路が病態の形成にかかわること、また抗 PD-L1 抗体などを用いて経路阻害することで病原体特異的免疫応答が活性化することが *in vitro* の実験系にて示されている。また、牛白血病ウイルス感染牛において当該抗体医薬の治療効果を評価する臨床試験が現在日本国内において進行中である。フィリピンでは、数多くの感染症がいまだ猛威を振るっており、牛白血病、アナプラズマ症、バベシア症などの慢性疾患の発生も多く報告されている。当研究室ではフィリピンカラバオセンター (PCC) との共同研究を行ってきた実績があり、今回も当該施設を使用して重複感染牛に対する抗体医薬の治療効果評価試験を行うこととした。まずフィリピン・ルソン島各地の農場において多頭のホルスタイン牛から採血を行い、複数の病原体に感染している個体を特定した。重複感染牛 2 頭 (牛白血病ウイルス、アナプラズマ、バベシア 3 重感染個体 1 頭およびアナプラズマ、バベシア 2 重感染個体 1 頭) について、抗 PD-L1 キメラ抗体の投与を行い、各病原体の感染量を減らす効果があるか継時的に定量を行う予定である。海外実践疫学演習・海外共同研究演習として個体の選別はオチルク (D3) が、また抗体の投与および投与後 6 日目までの試験は西森 (D3) が担当し、報告者は投与後 1 ヶ月のタイミングで現地へ渡航し試験を行った。現地では採材した血液から DNA、RNA および血清を採取し、

DNA、RNA は日本に持ち帰って病原体量の定量や免疫活性化状態の評価を行う。血清は投与した抗体薬の血中濃度の推移や、抗「キメラ抗体」抗体の出現をモニターする。報告者は投与後 29 日目の血液からの PBMC 分離、CD4⁺/CD8⁺ T 細胞分離の後に DNA 抽出および RNA 抽出を行い、血清を使った ELISA により各採血時点での血中抗体薬濃度および抗キメラ抗体抗体を定量した。現地施設は北大と比べると機材・試薬が充実しておらず不便を感じることも多々あったが、なんとか ELISA を含めた実験のノルマを達成することができた。必要試薬は日本から持参したものが多かったが、あまり余裕を持たせていなかったことから失敗できない状況に陥る実験もあったため、プレッシャーを感じることも多々あった。次回からの教訓にしたいと思う。



図 1. フィリピンカラバオセンターの外観

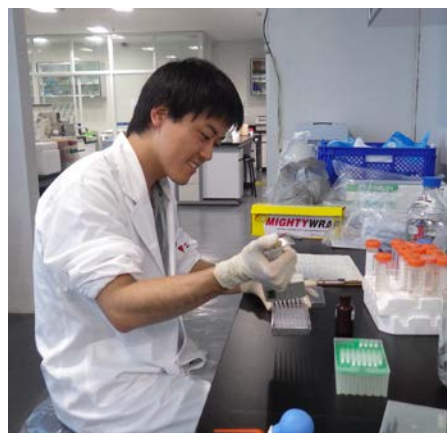


図 2. 実験の様子

今回の滞在では PCC での実験のほか、マニラ市内にて行われた 1st International Symposium on Livestock Biotechnology に参加し、台湾他より招かれた著名研究者の講演を聞き、また家畜研究に携わるフィリピン国内研究者からも現状や最新の成果に関する講演があった。トピックはタンパク質の構造解析から家畜育種、繁殖改良、ワクチン開発、フィリピン家畜病対策行政に至るまで多岐にわたっていたが、フィリピンの家畜産業の現状について知る良い機会となった。また会場では主にフィリピン国内の大学や研究施設から多数の研究者が参加しており、報告者も交流を持つことができた。特に Central Luzon State University (CLSU) より参加していた Dr. Jaypee Abnoja とは、イヌの免疫学研究についての共同研究の可能性を現在模索中である。



図 3. 国際シンポジウムの参加者と

さらに滞在の終盤には University of Philippines Los Banos 校 (UPLB) College of Veterinary Medicine を訪問し、現地学生およそ 70 人および教職員に向けて、VMED 151 class (General Principals of Veterinary Medicine) 内の特別講演として Technical Presentation を行った。“Expression of canine immune checkpoint molecules PD-1/PD-L1 and the therapeutic potential of anti-PD-L1 antibody in canine malignant cancers” と題し、自らの研究成果をおよそ 1 時間にわたり発表した。学生を含め熱心に聞いてもらうことができた。その後 UPLB の先生と講演内容や将来的な共同研究についてディスカッションを行った。特にフィリピンでは日本では発生のないイヌの感染症が数多く存在し、死因の上位はジステンパーやフィラリア症、バベシア症等を含む感染症であるという。残念ながら報告者の研究であるイヌの腫瘍についてはいまだ診断および研究の地盤が整っていないようだったが、UPLB では犬の可移植性性器肉腫 (TVT) の研究をしているとのことであった。TVT は腫瘍細胞そのものが個体から個体へ感染する特殊な腫瘍であり、日本での発生はない。報告者は、他個体由来の細胞である TVT が何故免疫系による排除を免れ生着 (感染) するのかについて以前より興味を持ち、PD-1/PD-L1 経路による免疫疲弊化の関与を疑っていたため、腫瘍サンプルの提供について打診を行い、将来的に共同研究を行うことを提案した。先方もこの提案に乗り気であり、腫瘍サンプルの提供を約束してくれた。また UPLB 近くの私立動物病院を訪問し、偶然にも犬エーリキア症の診断治療を見学できた。エーリキア症は日本での発生はない、熱帯地方のダニ媒介性疾患であり、同じくダニ媒介性疾患である犬バベシア症との鑑別が重要である。これら疾病についても免疫学的研究はあまりなされていないため、将来的な共同研究やサンプルの提供について打診を行った。さらに University of Philippines Diliman 校内の Veterinary Teaching Hospital を見学し、フィリピンでの小動物獣医療の最先端を見学した。北大の動物病院と比較するとやはり見劣りする部分もあったが、限られた設備の中で最善の治療をしようという熱気が感じられた。特に感染症対策に重点が置か

れており、来院するとまず感染症かそうでないかで分けられ、動線が被らないよう配慮がされていた。ここでもやはりパルボウイルス感染症やジステンパー、ダニ媒介性感染症が多いとのことであった。



図 4. UPLB でのセミナーの様子



図 5. エーリキア感染症例(鼻出血あり)

以上のように PCC での重複感染牛の実験から、国際シンポジウム、UP での講演、小動物医療の見学、将来的な共同研究にむけたディスカッションなど、短い滞在ではあったが濃密な時間を過ごし、得るものが多い出張であった。最後にこの場をお借りして今回の滞在をアレンジ・サポートしてくれた Dr. Claro N. Mingala および Dr. Michelle Balbin、並びにリーディング大学院関係者の皆様に感謝を申し上げたい。

(海外実践疫学演習・海外共同研究演習) 指導教員評

指導教員所属・職・氏名	獣医学研究科 動物疾病制御学講座 感染症学教室 印教授 大橋 和彦
実施内容について講評を記述して下さい 前川君は当研究室で行っている PCC との共同研究の一環として、牛慢性感染症における免疫学的研究の実験を一部行った。限られた実験設備・試薬での実験は原理を熟知し臨機応変に対応しなければならぬため良い経験になったのではないかと思います。実験ももちろん大切であるが、それだけにとどまらず当初の予定にはなかった国際シンポジウムへの出席や CLSU、UPLB 見学など積極的に行き、自身の研究と結びつけようとする食欲さを見せてくれた。またフィリピンでの家畜研究および小動物医療の現状を知り、日本とのギャップに感じるものがあつたと考える。この経験を糧に、フィリピン大学との共同研究も含めて自身の研究に邁進してほしい。	

※ 1 電子媒体を e-mail で国際連携支援室・リーディング大学院担当に提出するとともに、指導教員

が押印した原本を国際連携支援室・リーディング大学院担当に提出して下さい。

- ※2 本報告書はリーディングプログラム運営委員会で内容を確認します。その後、教務委員会で単位認定を受けることになります。

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