

学位論文審査結果の要旨

博士課程 ①・乙	第 34 号	氏 名	久澄 倫之介
審 査 委 員		主 査 氏 名	片本 宏
		副 査 氏 名	末峰 潤三
		副 査 氏 名	佐藤 正博
[論文題名] Detection and quantification of bovine signal joint T-cell receptor excision circles. (Veterinary Immunology and Immunopathology, 167: 86-90, 2015) ウシ signal joint T-cell receptor excision circles の定量方法の確立と臨床応用への基盤研究			
[要 旨] signal joint T-cell receptor excision circles (sjTREC)は、T細胞が胸腺で $\alpha\beta$ 細胞へと分化・成熟する際に生じる環状 DNA である。sjTREC 数は胸腺から産出された $\alpha\beta$ T細胞の数を示し、末梢血における sjTREC の測定は、胸腺機能評価の手段として利用されているが、これまでにウシの sjTREC に関する研究は行われていない。 本研究の目的は、ウシ sjTREC の定量が細胞性免疫能を評価する指標の一つとして有用であるかを明らかにすることである。研究1において、ウシ sjTREC 領域が第10染色体上の TCR α chain C-like 領域に存在することを明らかにし、特異性の高い sjTREC 定量 PCR 法を確立した。研究2において、確立したウシ sjTREC 定量 PCR 法を用いて、ウシ末梢血単核球中に含まれる sjTREC 数を測定した。その結果、sjTREC 数は新生子期に最も多く、加齢とともに減少すること、生後50日までの間は、オスの方がメスよりも有意に多いこと、さらに sjTREC 及び末梢 T細胞数は、夏期に最も多くなり、夏期と冬期間に有意差があることを明らかにした。このことから、冬期に細胞性免疫が低下し、肺炎などの感染症の罹患率が増加することが示唆された。研究3において、肺炎に罹患した子牛と健康な子牛の sjTREC 数を比較したところ、肺炎に罹患した子牛は健康な子牛と比べ sjTREC 数が少なく、治療や健康状態の改善に伴って増加することが明らかとなった。 以上の結果は、末梢血中 sjTREC の定量がウシの健康状態の評価において有用であることを示した極めて重要な知見であり、今後の産業動物獣医療の発展に資すると思われる、学位に値する成果と判断した。			

TCR α chain C-like 領域に存在することが明らかになった。

次に、ウシ sjTREC 定量 PCR を確立するために、signal joint 領域の多型を確認したところ、いくつかの多型部位及び δ rec- ψ J α の結合部位に塩基のランダムな挿入が認められた。これらの塩基配列を基にウシ sjTREC プライマー及び TaqManProbe を作成し、特異性の高い定量 PCR 法を確立した。この定量 PCR の増幅効率 は 98% 以上で、10~1000 万コピーのウシ sjTREC の測定が可能であった。

研究 2: 確立したウシ sjTREC 定量 PCR 法を用いて、約 400 頭のウシ末梢血単核球中に含まれる sjTREC 数を測定し、sjTREC 数と末梢 T 細胞数、日齢、性差及び季節変動との関係を調査した。その結果、sjTREC は新生子期に最も多く、加齢とともに減少したことから、加齢に伴い胸腺機能は減少することが示唆された。また、sjTREC 数は生後 50 日までの間は、オスの方がメスよりも有意に多く、胸腺機能に性差があることが示唆された。更に、sjTREC と季節変動及び末梢 T 細胞数と季節変動との関係を調査した結果、sjTREC 及び末梢 T 細胞数は、夏期に最も多くなり、夏期と冬期間に有意差が認められた。これは、冬期に細胞性免疫が低下することを示唆し、その結果、冬期に肺炎などの感染症に対する罹患率が増加することが考えられた。

研究 3: 同じ飼養環境で同じ月齢の子牛のうち、肺炎に罹患した子牛と健康な子牛の sjTREC 数を比較した。その結果、肺炎に罹患した子牛は健康な子牛と比べ sjTREC 数が少なく、肺炎に罹患した子牛は健康な子牛と比較し胸腺機能が低いことが示唆された。また、重度の真菌症子牛の治療前、中及び後における sjTREC 数及び末梢の T 細胞数についても調査した。その結果、治療開始 2 週間で sjTREC 数が増加し、胸腺機能が活性化されたことが示唆された。治癒後には、sjTREC 数は治療前の値に戻ったが、末梢 T 細胞数が増加傾向にあり、末梢の免疫系が活性化されたことが示唆された。

[結語]本研究において、ウシ sjTREC 領域を特定し、定量方法を確立した。その結果、胸腺機能は加齢に伴い減少し、季節変動に伴い増減することが明らかになった。さらに、免疫状態が低下し易感染状態の子牛では、末梢血中の sjTREC 数が低下し、治療や健康状態の改善に伴って増加するなど、胸腺機能は動的変動することが示唆された。

以上の結果から、ウシの末梢血中 sjTREC の定量によって胸腺機能を評価することができ、ウシの健康状態を評価する指標の一つとして利用できると考えられた。さらに、本法によって下痢や肺炎が慢性化する個体を見つけることが可能であり、易感染性個体の早期摘発方法としても使えること、治療中の個体の sjTREC 数を経時的に測定することで治療の効果を評価する方法としても使えることが示唆された。

備考 論文要旨は、和文にあつては 2, 000 字程度、英文にあつては 1, 200 語程度とする。