

## PD-L1 の阻害により既存のワクチン効果を増強

～子牛のワクチンプログラムへの応用に期待～

### ポイント

- ・子牛においてワクチン接種後に免疫チェックポイント分子 PD-1 の発現が上昇。
- ・抗 PD-L1 抗体とワクチンを子牛に併用投与すると、ワクチンに対する免疫応答が増強。
- ・既存のワクチン効果が改善されることによる感染症対策への応用に期待。

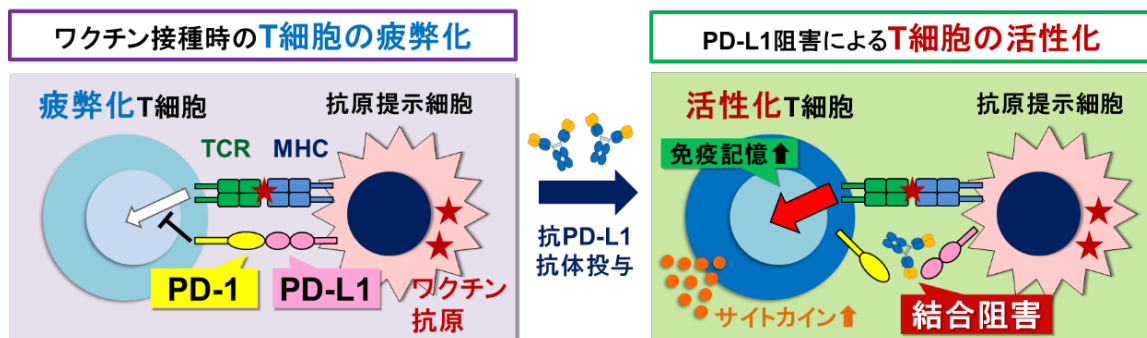
### 概要

北海道大学大学院獣医学研究院の今内 覚教授、岡川朋弘特任助教授ら、北海道大学ワクチン研究開発拠点（北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所）の鈴木定彦教授、東北大学大学院医学系研究科の加藤幸成教授、雪印種苗株式会社の研究グループは、免疫チェックポイント阻害剤が牛のワクチンに対する免疫応答を増強することを解明しました。

ワクチンは疾病の予防と集団感染の拡大防止の観点から、感染症対策において必要不可欠です。獣医療においても様々な動物用ワクチンが使用されています。ウシなどの産業動物は集団で飼育されることが多く、特に子牛は免疫系が未熟で肺炎などの感染症に罹患しやすいため、ワクチン接種による集団感染の予防が非常に重要です。しかし、既存のワクチンでは子牛の感染症を防御できない場合もあり、ワクチンが効かない理由の解明やワクチンの改良が求められています。本研究では、免疫チェックポイント分子 PD-1/PD-L1 に着目し、ワクチン接種後の子牛における PD-1 の発現動態と、ワクチンに対する免疫応答に及ぼす影響を検証しました。子牛に市販の弱毒生ワクチンを 2 回接種すると、免疫応答に重要な T 細胞において PD-1 の発現が上昇しており、免疫応答が抑制されていることが示唆されました。さらに、PD-1/PD-L1 経路を阻害する抗 PD-L1 抗体をワクチンと同時に接種すると、PD-1/PD-L1 を介した抑制シグナルが解除され、ワクチンに対する T 細胞の応答やサイトカインの分泌が増強されました。以上の結果より、PD-L1 の阻害によって子牛のワクチンに対する T 細胞応答が増強されることが明らかになりました。

今後は、免疫チェックポイント阻害剤を用いた免疫応答の増強によって、ワクチンのウイルス防御効果が向上するかを検証する予定です。本研究の知見を基盤としてワクチンプログラムの改良を進めることにより、ウシの生産性向上に貢献することが期待されます。

なお、本研究成果は、2023 年 3 月 1 日（水）公開の Vaccines 誌に掲載されました。



ワクチンに対する T 細胞応答の抑制機序と PD-L1 阻害の効果

## 【背景】

ワクチンは疾病の予防と集団感染の拡大防止の観点から、感染症対策において必要不可欠です。獣医療においても様々な動物用ワクチンが使用されていますが、特に集団で飼育されるウシやブタ、ニワトリなどの産業動物においては、ワクチン接種による集団感染の予防が非常に重要です。特に子牛では、ウイルスや細菌などの感染症を原因とする肺炎や腸炎が死因の約6割以上を占めており、大きな経済損失に繋がっています。そのため、子牛は生後1ヶ月ほどからワクチンプログラムが組みられ、様々なワクチンを順番に接種されます。しかし、既存のワクチンでは子牛の感染症を防御できない場合もあり、ワクチンが効かない理由の解明やワクチンの改良が求められています。

本研究グループはこれまで、ウシやイヌを対象として免疫チェックポイント分子 PD-1/PD-L1 を介して引き起こされる「免疫の疲弊化」という現象に着目し、感染症学・免疫学の観点から研究を進めてきました。そして、免疫チェックポイント阻害剤（抗 PD-L1 抗体）を独自に開発し、ウシの感染症に対する新規制御法への応用を試みています（関連するプレスリリース①、②）。

PD-1 は T 細胞上に発現する免疫抑制受容体で、抗原提示細胞に発現しているリガンドの PD-L1 と結合することで、T 細胞の活性化シグナルを阻害し、T 細胞のエフェクター機能を減弱します。マウスを用いた基礎研究によると、ワクチン接種によって免疫記憶が誘導される際に、PD-1/PD-L1 経路は細胞性免疫を担うメモリー T 細胞の誘導を阻害することが明らかになりました。逆に、抗 PD-L1 抗体を用いて PD-1/PD-L1 の結合を阻害すると、T 細胞のエフェクター機能を活性化できます。しかし、免疫チェックポイント阻害剤とワクチンの併用効果に関する研究はマウスなどの実験モデルを用いた研究にとどまっており、臨床現場で実際に用いられているワクチンとの併用効果を調べた研究は前例がありませんでした。

そこで本研究では、免疫チェックポイント阻害剤のワクチン応答増強効果を評価することを目的とし、現在臨床で使用されているウシ用のワクチンと本研究グループが開発した抗ウシ PD-L1 抗体を用いて、子牛を用いた臨床研究を実施しました。

## 【研究手法】

子牛（ホルスタイン種）に対して、市販の弱毒ウイルス生ワクチンを6週間間隔で2回接種し、その内の半数のウシには抗ウシ PD-L1 抗体をワクチンと同時に投与しました（図1）。投与2週間前、投与直前、投与7日後、投与14日後、以降2週間おきに投与2ヶ月後まで採血を行い、血液中のリンパ球を分離しました。そして、リンパ球における PD-1 発現動態と、ウイルス抗原刺激に対する T 細胞並びにサイトカインの応答を解析し、ワクチン接種前後における免疫応答の推移を評価しました。

## 【研究成果】

子牛にワクチンを2回接種すると、T 細胞の各分画において PD-1 の発現が上昇しており、免疫応答が抑制されていることが示唆されました。実際に、ワクチンと抗 PD-L1 抗体を併用して投与したウシにおいては、ウイルス抗原に対する CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、 $\gamma\delta$  T 細胞の応答がすべて活性化されました（図2）。さらに、これらのウシでは、IFN- $\gamma$  というサイトカインの産生量も上昇していました。以上より、抗 PD-L1 抗体の併用によって、子牛のワクチンに対する T 細胞応答を増強できることが明らかになりました。

## 【今後への期待】

今後は、ワクチンと抗 PD-L1 抗体の併用による免疫応答の増強効果がどの程度ワクチンによるウイルス防御効果を向上させるかについて検証を進める計画です。本研究の成果を基盤として、現行のワクチンプログラムの改良が進めば、肺炎や腸炎などの感染症による子牛の死亡や成長不良を低減することが期待され、畜産業における生産性の向上につながると期待されます。

また、私たちの先行研究により、免疫チェックポイント PD-1/PD-L1 は様々な動物種(イヌ、ウマ、ブタ、ニワトリなど)で幅広く保存された免疫応答の抑制機序であることが明らかになっています(関連するプレスリリース③、④)。現在、本研究グループは、幅広い動物種に対して免疫チェックポイント阻害剤を開発中であり、これらの阻害剤を「動物種横断的な免疫増強剤」として応用することで、将来的には獣医療全体のワクチンを改善する可能性も期待されます。

## 【謝辞】

本研究成果の一部は文部科学省科学研究費助成事業、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター・イノベーション創出強化研究推進事業並びに革新的技術開発・緊急展開事業(うち地域戦略プロジェクト)、農林水産省の安全な畜産水産物安定供給のため包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業及び北海道大学大学院獣医学研究院臨床研究推進研究費、及びAMED 生命科学・創薬研究支援基盤事業(BINDS)の支援の下で行われました。

## 【関連するプレスリリース】

プレスリリース①:

牛難治性疾病の制御に応用できる免疫チェックポイント阻害薬(抗 PD-L1 抗体)の開発にはじめて成功(2017年4月27日)

URL: [https://lab-inf.vetmed.hokudai.ac.jp/content/files/Research/2017.4.27\\_pr.pdf](https://lab-inf.vetmed.hokudai.ac.jp/content/files/Research/2017.4.27_pr.pdf)

プレスリリース②:

ウシの疾病に有効となる抗ウイルス効果の確認に成功～牛白血病などの新規制御法への応用に期待～(2019年8月7日)

URL: [https://www.hokudai.ac.jp/news/190807\\_pr2.pdf](https://www.hokudai.ac.jp/news/190807_pr2.pdf)

プレスリリース③:

イヌのがん治療に有効な免疫チェックポイント阻害薬(抗 PD-L1 抗体)の開発にはじめて成功～北海道大学動物医療センターにおける臨床研究成果～(2017年8月25日)

URL: [https://lab-inf.vetmed.hokudai.ac.jp/content/files/Research/2017.8.25\\_jyu.pdf](https://lab-inf.vetmed.hokudai.ac.jp/content/files/Research/2017.8.25_jyu.pdf)

プレスリリース④:

続報・肺転移のあるイヌ悪性黒色腫に抗 PD-L1 抗体が有効であることをはじめて実証～イヌ用免疫チェックポイント阻害薬の実現に大きく前進～(2021年2月15日)

URL: [https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/210215\\_pr.pdf](https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/210215_pr.pdf)

## 論文情報

論文名 Enhancement of Vaccine-Induced T-Cell Responses by PD-L1 Blockade in Calves (PD-L1 阻害による子牛のワクチンに対する T 細胞応答の増強)

著者名 岡川朋弘<sup>1</sup>、今内 覚<sup>1, 2</sup>、中村隼人<sup>1</sup>、Otgontuya Ganbaatar<sup>1</sup>、佐治木大和<sup>1</sup>、渡 慧<sup>1</sup>、納多春佳<sup>3</sup>、本間 満<sup>3</sup>、加藤幸成<sup>4</sup>、鈴木定彦<sup>2, 5</sup>、前川直也<sup>1</sup>、村田史郎<sup>1</sup>、大橋和彦<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北海道大学大学院獣医学研究院、<sup>2</sup>北海道大学ワクチン研究開発拠点、<sup>3</sup>雪印種苗株式会社、<sup>4</sup>東北大学大学院医学研究科、<sup>5</sup>北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所)

雑誌名 Vaccines (ワクチン学の専門誌)

D O I 10.3390/vaccines11030559

公表日 2023 年 3 月 1 日 (水) (オンライン公開)

## お問い合わせ先

北海道大学大学院獣医学研究院 教授 今内 覚 (こんないさとる)

T E L 011-706-5216 F A X 011-706-5217 メール konnnai@vetmed.hokudai.ac.jp

U R L <https://lab-inf.vetmed.hokudai.ac.jp/>

東北大学大学院医学系研究科 教授 加藤幸成 (かとうゆきなり)

T E L 022-717-8207 F A X 022-717-8207 メール yukinari.kato.e6@med.tohoku.ac.jp

雪印種苗株式会社 研究開発本部 阿部健太郎 (あべけんたろう)

T E L 0123-84-2121 メール kentaro.abe@snowseed.co.jp

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

東北大学医学部広報室 (〒980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1)

T E L 022-717-7891 メール pr-office@med.tohoku.ac.jp

雪印種苗株式会社人事総務部総務課 (〒004-8531 札幌市厚別区上野幌 1 条 5 丁目 1 番 8 号)

T E L 011-891-5678 F A X 011-891-5920

URL <https://www.snowseed.co.jp/support/>

【参考図】

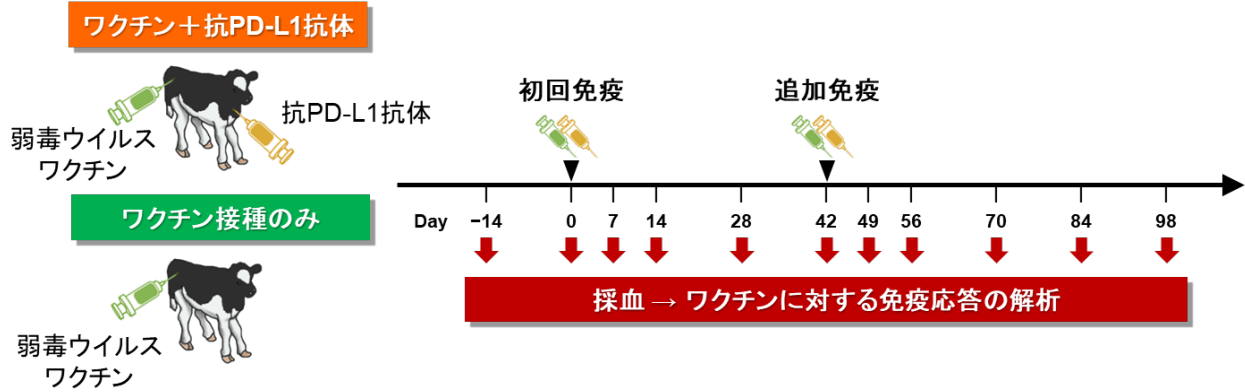


図1. 子牛におけるワクチンと抗 PD-L1 抗体の併用投与試験の概要

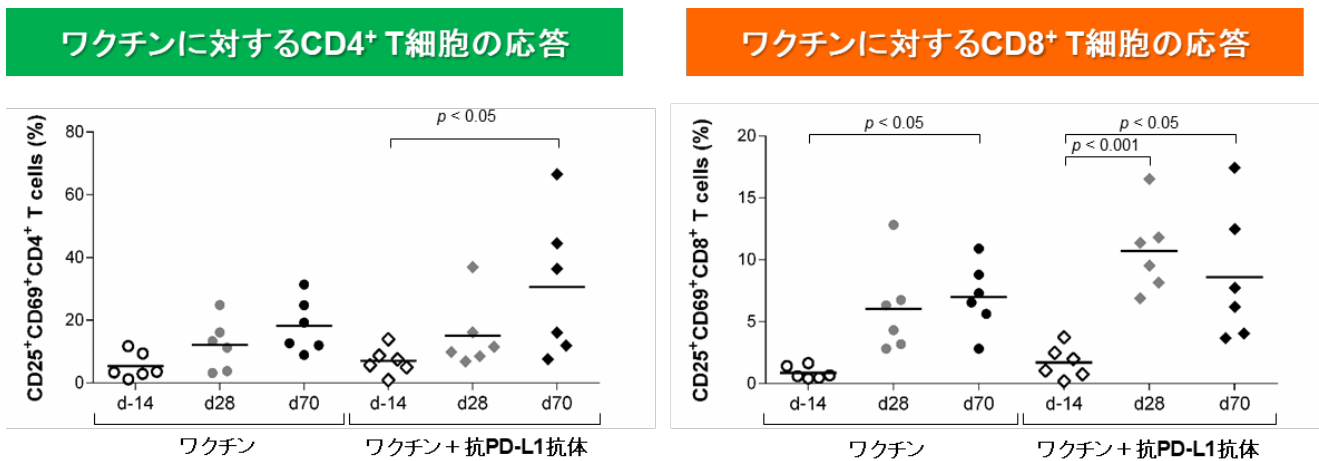


図2. PD-L1 阻害によるワクチンに対する T 細胞贈答の増強 (解析結果)