

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 岡 田 宗 典

*Mycoplasma hyopneumoniae*によって起こる豚マイコプラズマ肺炎（MPS：Mycoplasmal pneumonia of swine）は、豚の慢性疾病のなかで最も発生率が高く、養豚産業に甚大な経済的被害を与えている。生産現場においては、MPSの予防・治療のために抗生物質の投与が行われているが、公衆衛生上の観点から使用を制限する傾向が強くなっている。さらに飼育環境の改善のために早期離乳やSPF豚群への変換などが提案されているが、一般的には行われていない。このような背景から、著者はMPSの予防方法として*M. hyopneumoniae*の培養上清を用いた不活化ワクチンを開発し、その実用化について研究を行なった。

本研究では、実験感染系を用いて*M. hyopneumoniae*の培養上清ワクチンの有効性を確認し、培養上清中に存在する*M. hyopneumoniae*抗原蛋白について検討するとともに培養上清ワクチン注射豚における肺病変形成の抑制機序を明らかにした。さらに実際の生産現場に本ワクチンを応用し、野外における有効性と生産性の改善効果について評価した。

第1章では、*M. hyopneumoniae*の全菌体および培養上清を抗原とした不活化ワクチンを作製し、実験感染系を用いて各ワクチンの防御効果について評価した。さらに、ワクチン注射豚の血清を用いて免疫応答に関与する抗原について検討した。全菌体ワクチン注射豚では、攻撃時のCF抗体価が、著明に上昇したものの肺病変面積率および肺からの回収菌数に对照豚との有意差は認められなかった。一方、培養上清ワクチン注射豚では、攻撃時のCF抗体価は比較的低い値を示したものの肺病変面積率および回収菌数は对照豚に比べ有意に減少した。

以上の結果から、培養上清ワクチンは、肺病変形成の抑制効果および菌の定着抑制効果を示すことが明らかとなった。さらに培養上清ワクチン注射豚の血清は、*M. hyopneumoniae*の6種の蛋白を認識しており、おそらく、これらの蛋白のいずれかが肺病変形成の抑制に関係している可能性が示唆された。

第2章では、*M. hyopneumoniae*培養上清ワクチンによる肺病変形成の抑制効果について、その作用機序を明らかにするために、培養上清ワクチン注射豚の気管支肺胞洗浄液（BALF）に出現する炎症性細胞と局所抗体および炎症性サイトカイン（TNF- α ）について検討し、肺病変の組織学的所見との関連について考察した。攻撃後、培養上清ワクチン注射豚のBALFでは对照豚に比べ*M. hyopneumoniae*特異的IgAおよびIgG抗体価の有意な上昇が認められた。しかしながら*M. hyopneumoniae*がすべてのBALFから回収され、攻撃後4週における培養上清ワクチン注射豚の回収菌数は、对照豚に比べ有意に低かったものの攻撃後3週まで有意差は認められなかった。BALF中の細胞は、对照豚では総細胞数が増加し、TNF- α 濃度の上昇に一致して好中球およびリンパ球が顕著に増加した。一方、培養上清ワ

クチン注射豚では、TNF- α は低い値を示し、肺胞マクロファージ、好中球数およびリンパ球数も低い値を示した。さらに肺病変面積率は対照豚に比べ減少していた。組織学的には気管支および肺胞腔内への炎症性細胞の浸潤さらに気管支周囲におけるリンパ濾胞の過形成が観察されたが、培養上清ワクチン注射豚の肺における肺胞マクロファージおよび好中球の浸潤やT細胞の集簇は、対照豚に比べ軽度であった。さらにIgA産生細胞は、対照豚に比べ増加していた。

以上の結果から、培養上清ワクチン注射豚では*M. hyopneumoniae*感染後、早い時期に局所抗体が産生され、この抗体が肺胞マクロファージと*M. hyopneumoniae*との相互作用を抑制することにより、TNF- α の産生を抑制するものと考えられた。その結果、その後の炎症性サイトカインの誘導や肺の炎症反応が抑制され、肺病変が減少するものと考えられた。

第3章では、衛生レベルの異なる三カ所の農場を用いて実際の生産現場における*M. hyopneumoniae*の培養上清ワクチンの有効性を検討した。培養上清ワクチン注射豚ではMPSの臨床症状が改善されるとともに肺病変保有率が半減し、肺病変面積率および*M. hyopneumoniae*の菌数は有意に減少した。さらに慢性呼吸器病による被害の大きい農場では平均1日増体重が増加し、出荷日齢は短縮された。その結果、飼料要求率の改善も認められた。

以上本論文は、*M. hyopneumoniae*の培養上清を用いた不活化ワクチンは、生産現場においてもMPSの臨床症状および肺病変の形成を抑制することが明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）論文として価値あるものと認めた。