

# マイコプラズマ罹患牛の鼻咽頭における病態解析と免疫抑制機序の解明

宮崎大学農学部獣医学科・教授 平井 卓哉

## ■ 目的

*Mycoplasma bovis* (*M.bovis*) は経鼻感染し、呼吸器病の重症化に大きく関与しているが、鼻咽頭病変の病態解析はほとんどない。その原因として、鼻咽頭壁を覆う骨が標本作製の妨げとなり、抗原検出が難しいからである。我々は骨の入らない新たな採材法を確立し、豚の上部気道の病態解析を行っている。牛呼吸器病の予防対策の確立には、侵入門戸における病態解析が不可欠である。鼻咽頭関連リンパ組織(NALT)を覆う上皮層には M 細胞が存在し、外来抗原を取り込んで上皮下で抗原提示が行われる。我々は、*M.bovis* が M 細胞等を経由して上皮下に侵入し、PD-1/PD-L1 を介した局所免疫抑制を引き起こす可能性を推測している。本研究の目的は、*M.bovis* の NALT と扁桃における分布、病態解析および PD-1/PD-L1 の発現を明らかにすることである。

## ■ 方 法

宮崎県の複数の農場より 1 カ月～6 カ月齢までの黒毛和種牛 8 例を用いた。その内訳は、*M.bovis* 陽性で、呼吸器症状を示した子牛 5 例であり、*M.bovis* 陰性で呼吸器症状を示さなかった症例を陰性対象とした。これらの牛から NALT、扁桃および肺を採材し、病理組織学的標本を作製した。また、*M.bovis* の 23S rRNA のドメイン V 領域を標的として Dig 標識プローブを作製し、in situ hybridization (ISH) 法を実施した。PD-1 および PD-L1 の発現解析については、NALT、扁桃、肺門リンパ節、肺を採材し、RNA 抽出後、PD-L1 および PD-1 の RT-PCR を実施した。加えて、PD-L1 および PD-1 の Dig 標識プローブを作製し、ISH 法を実施した。

## ■ 結果および考察

呼吸器症状を示した症例の NALT および扁桃において、陰窩膿瘍および壞死が認められ、同部において *M.bovis* 陽性シグナルが検出された。これらの病変は NALT より扁桃で顕著であった。NALT の自由表面は線毛上皮で覆われ、タイトジャンクションが発達し、陰窩が浅い。一方、扁桃は扁平上皮で覆われ、一部で基底膜を欠き、深い陰窩を形成している。このため、扁桃は抗原認識の面では優れているものの、細菌や物質が入り込み、感染を起こしやすい。扁桃陰窩内には剥離上皮、食物残渣、粘液、死滅した常在菌などが正常でも存在し、これらによって構成される栓子が *M.bovis* を含む病原性細菌増殖の足場になっている可能性が考えられた。

*M.bovis* 陽性例 5 例と陰性例 3 例の NALT、扁桃、肺門リンパ節、肺を用いて PD-L1 および PD-1 の検出を RT-PCR で行った。陽性例と陰性例の両例において PD-L1 および PD-1 mRNA が検出された。PD-L1 および PD-1 の RNA プローブを用いた ISH を実施したところ、PD-L1 陽性シグナルはリンパ濾胞内外のマクロファージ様細胞に、PD-1 陽性シグナルは粘膜上皮内および粘膜下のリンパ球様細胞に検出された。しかし、*M.bovis* 陰性の対照牛で肺炎のない症例にも同様のシグナルが検出され、対照例との差は認められなかった。

## ■ 結 語

呼吸器症状を示した症例の NALT および扁桃において、陰窩膿瘍および壞死が認められ、同部において *M.bovis* 陽性シグナルが検出された。これらの病変は NALT より扁桃で顕著であった。この病変の相違は NALT と扁桃の組織構造の相違に起因すると推測された。扁桃陰窩内には剥離上皮、食物残渣、粘液、死滅した常在菌などが正常でも存在し、これらによって構成される栓子が *M.bovis* を含む病原性細菌増殖の足場になっている可能性が考えられた。