

氏 名	HO THI DUNG
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博甲第 6 2 8 0 号
学位授与の日付	2 0 2 0 年 9 月 2 5 日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	Study on the immune responses in the chickens with <i>Eimeria</i> parasite infection or lactic acid bacteria administration: Toward the application of <i>Lactobacillus acidophilus</i> L-55 as an anticoccidial agent (アイメリア寄生虫感染または乳酸菌投与ニワトリにおける免疫反応に関する研究：抗コクシジウム剤としてのラクトバチルス・アシドフィルス L-55 の適用に向けて)
論文審査委員	教授 西野 直樹 教授 齋藤 昇 准教授 辻 岳人
<b>学位論文内容の要旨</b>	
<p>Probiotic bacteria are considered as a potential alternative solution to deal with anticoccidial drug resistance and maintain food safety. However, little is known about their use to control parasitic diseases, particularly avian coccidiosis. Therefore, we conducted the experiments focus on the immune responses in the chicken with <i>Eimeria tenella</i> infection or lactic acid bacteria administration, toward the application of <i>Lactobacillus acidophilus</i> L-55 (LaL-55) as an anticoccidial agent.</p> <p>The local immune responses in chick cecum with <i>E. tenella</i> infection showed that T helper (Th) cell marker CD4 was upregulated in the infected ceca, but not cytotoxic T cell marker CD8. The gene expressions of Th1 cytokines (Interleukin (IL)-18 and Interferon (IFN)-<math>\gamma</math>) were increased significantly, but not Th2 cytokines (IL-4, IL-13, and IL-10). The expression of granzyme A and perforin which thought to play a relevant role in cell-mediated cytotoxicity were increased after <i>E. tenella</i> infection compared with the uninfected control group. We further evaluated the local cellular response in chicks with <i>E. tenella</i> which was depleted mononuclear phagocytes by <math>\iota</math>-carrageenan. The result of macrophages depletion chicks indicated significantly lower CD4 expression level than those of the infected control group. Cytokine responses in the ceca of macrophages depletion chicks appeared to be a mixed Th1/Th2 response, and perforin expression was higher in the macrophage depletion chicks than in the infected control group. These results suggested that the main immune cell type was induced after <i>E. tenella</i> infection were Th1 and NK cells and these responses might be regulated by macrophages during early <i>E. tenella</i> infection.</p> <p>LaL-55 was selected to determine whether it might help protect chickens against diseases by enhancement of immune function. The results showed that oral administration of LaL-55 augmented the elevation in the total numbers of leukocytes and lymphocytes in the chicks with the Newcastle disease virus vaccine. NK cell activity was augmented by LaL-55 administration at 2 weeks after the secondary Newcastle disease virus vaccine inoculation. IFN-<math>\gamma</math>-mRNA expression was significantly elevated in splenocytes from chicks administered with LaL-55. Overall, our results suggested that LaL-55 augmented the cellular immune responses and vaccine effect.</p> <p>In conclusion, the cell-mediated immune response was induced in the chick cecum by <i>E. tenella</i> infection. LaL-55 could enhance cellular immune responses, especially NK cell activity. Then our data may suggest that LaL-55 is safe and effective as an immuno-enhancer and can be applied as an antiparasitic formulation in chickens.</p>	

## 論文審査結果の要旨

鶏コクシジウム症は、養鶏業にとって経済的ロスの非常に大きい寄生虫感染症である。本感染症は、薬剤耐性原虫の出現などから、新しくかつ安全な対策が必要とされている。新しい対策を講じるためには、本感染症に罹患したニワトリ体内での病態形成機構を知ることが重要である。本学位論文では、①急性コクシジウム症の原因原虫である *Eimeria tenella* 感染時のニワトリ盲腸における免疫環境を把握し、② *E. tenella* 感染において重要な役割を持つと考えられるマクロファージ (MΦ) を生体内から消去した際の病態、③安全な方策としての乳酸菌の本感染症の応用へ向けて、乳酸菌による免疫賦活効果の仕組みについて検証した。

研究の結果、*E. tenella* 感染における免疫環境はヘルパー1型T細胞 (Th1) を主体としたTh1型免疫が優位であり、同時にNK細胞の活性化が起きていることが明らかとなった。Th1型免疫応答は、MΦにより誘導されるため、MΦを消去することにより病態が増悪するか否かを検証することにより、病態形成に重要な細胞群が推測できると考えられたため、カラゲナン処理によりMΦを消去したニワトリに対する*E. tenella* 感染を試みた。その結果、MΦ消去ニワトリでは病態は軽快化したものの、免疫環境はTh1型優位であった。これらの結果から、*E. tenella* 感染をコントロールするには、NK細胞のような自然免疫系を優位にする必要性が考えられた。そこで、安全な免疫賦活法として乳酸菌ラクトバチルス・アシドフィルスL-55 (LaL-55) に着目した。LaL-55の免疫賦活効果を検討するために、LaL-55投与ニワトリに対してニューカッスル病生ワクチンを投与し、その際の免疫応答についてNK細胞機能を中心に検討した。その結果LaL-55投与ニワトリでは、LaL-55投与量依存的にNK細胞活性化が認められたことから、LaL-55は将来的な鶏コクシジウム症に対するプロバイオティクスとして有用であると結論付けた。

本学位論文は、*E. tenella* 感染盲腸内の免疫環境がTh1型優位であること、MΦ消去によりNK細胞のような自然免疫を司るリンパ球が感染コントロールに重要であることを新しく見出し、そのような免疫環境を誘導する乳酸菌としてラクトバチルス・アシドフィルスL-55は有用であることを証明した。論文提出者は、本研究論文について十分理解し、発表会における質疑応答も十分なものであると考えられた。よって本論文は最終試験に合格するに値すると結論付けた。