

令和 8 年 4 月 30 日

## 令和 7 年度 共同研究報告書

研究代表者：石川 真悟

1. 研究課題名	日本語表記：黒毛和種子牛における呼吸器自然免疫記憶機構の解析 英語表記：		
2. 研究期間	令和 7 年 4 月 1 日 ~ 令和 8 年 3 月 31 日		
3. 共同研究者	氏 名	機 関・所属部署名	職 名
	石川 真悟	大阪公立大学・獣医学研究科	准教授
	土赤 忍	大阪公立大学・獣医学研究科	講師
	市川 誠彦	大阪公立大学・獣医学研究科	学部生
	米澤 周奈	大阪公立大学・獣医学研究科	学部生
4. 研究目的	<p>ウシの呼吸器病は呼吸器病症候群（BRDC：Bovine Respiratory Disease Complex）とも呼ばれ、ウイルスおよび細菌等の病原微生物とストレス等による免疫状態の変調が複雑に絡み合って発生する、ウシ産業において最も大きな経済的損失をもたらす疾病である。その予防法を開発するために、研究代表者らは気管支肺胞洗浄（BAL）により回収した気管支肺胞洗浄液（BALF）を解析することにより、BRDCにおける病原体と免疫の関連を解析してきた。その結果、呼吸器においてはユニークな肺胞マクロファージによる自然免疫応答が重要な役割を果たしていることが明らかとなっていった。また、この肺胞マクロファージは病原体関連分子パターン（PAMPs）により活性化され、抗病性活性が一時的に増加することが分かった。一方で、PAMPs による自然免疫の活性化はエピジェネティックな変化を同時に惹起し、長期間記憶されることが近年明らかになってきた。このエピジェネティックな変化は自然免疫細胞の病原体排除に関わる遺伝子の転写を促進するように働き、感染による症状を軽減することがマウスで報告されている（Yoshida et al., <i>Nat Immunol</i>）。しかし、牛における長期的な自然免疫記憶に関する報告はない。そこで、本研究では牛における自然免疫記憶機構を解析することを目的とする。</p>		
5. 研究内容・成果	<p>農学部附属フィールド住吉牧場において、健全子牛 4 頭に対して、非鎮静・局所麻酔下で気管支肺胞洗浄（BAL）を実施した。</p> <p>回収した気管支肺胞洗浄液（BALF）は、リン酸緩衝溶液（PBS）を用いて 3 回洗浄し、肺胞マクロファージを得た。肺胞マクロファージは <math>1 \times 10^6</math> cells/ml となるようセルバンカー I（タカラバイオ）で再懸濁し、凍結バイアルに分注した。</p> <p>訪問タイミングが 2 月末と遅くなってしまったため、今年度の試験ではエピゲノム変化の詳細な解析は実施できなかった。今後、回収・保存した肺胞マクロファージを <i>in vitro</i> で PAMPs や <i>Mycoplasma bovis</i> で刺激培養し、刺激後のエピゲノム変化を解析する予定である。エピゲノム変化は、細胞内のヒストンメチル化およびアセチル化レベルを cell ELISA により測定することにより行う。</p>		



※ 必要に応じて、枠を広げて記載してください。

6. 成果となる論文・学会発表等

(※参考となる資料を添付してください。)

特になし

7. 産業動物防疫リサーチセンターへ訪問した回数

(例)

氏名	職名等	国籍	訪問回数・合計日数	訪問時期
石川 真悟	准教授	日本	1回・1日	2月
土赤 忍	講師	日本	1回・1日	2月
市川 誠彦	学部生	日本	1回・1日	2月
米澤 周奈	学部生	日本	1回・1日	2月

8. 利用した設備・施設等 ※必要に応じ様式の追加・削除可。

施設

室名	動物種	飼育数	期間
ABSL 3 施設			
ABSL 2 施設			
ABSL 2 施設 (鳥類)			

設備・機器類

(I) 獣医棟 3 階

機器名	使用した延日数
MALDI Biotyper (BRUKER)	
フローサイトメーター (ライフテクノロジーズジャパン)	
デジタル PCR (日本バイオラッド)	
キャピラリーシークエンサー (SeqStudio, Spectrum Compact)	
ナノポアシークエンサー (GridION)	
リアルタイム PCR 装置 (Quant Studio 3, 5)	
ポータブルリアルタイム PCR 装置 (PicoGene)	
リアルタイム濁度測定装置 (テラメックス LoopampEXIA)	
ゲル・メンブラン撮影装置 (ChemiDog touch)	
PCR 装置 (BioRad, Applied Biosystems)	
自動核酸抽出装置 (magLead 12gC)	
NanoDrop 分光光度計 (Thermo ND-1000)	
マルチプレートリーダー (ThermoFisher Varioscan)	
マイクロプレート洗浄装置 (Thermo WellWash)	
細菌検査用ホモジナイザー (オルガノ EXNIZER400)	
アイソレーター (マウス/ラット用) (Tokiwa T-BCC-Micro-M25)	
安全キャビネット (AIRTEC 等)	1 日
オートクレーブ (トミー精工 LSX-500, 平山製作所 HG-50)	
蛍光顕微鏡 (EVOS M7000, KEYENCE BZ-9000)	
倒立位相差顕微鏡 (OLYMPUS CKX41)	
位相差顕微鏡 (OLYMPUS CK2)	
超遠心機 (HITACHI CP80WX)	
冷却遠心機 (KUBOTA, Thermo)	
卓上遠心機 (HITACHI, KUBOTA, eppendorf)	
インキュベーター (SANYO MIR-153, LTE-510)	
CO <sub>2</sub> インキュベーター (ASTECC SCI-165D/APC, ThermoF370)	
超純水製造装置 (Milli-Q Advantage)	

(II) 産業動物教育研究センター

部屋名	機器名	使用した延日数
大中動物検査実験室	大中動物検査実験室	
	全身麻酔装置	

		埋込式回転診療台	
中動物陽圧実験室		手術台、无影灯（2機）、麻酔装置、生体情報モニター、X線投下装置（Cアーム）一式	
MRI 室		3T MRI、MRI用生体情報モニター、MRI用麻酔装置一式	
		MRIオペレーター	
P2 検査実験室		アイソレーター（鳥類用）	
		安全キャビネット	
		オートクレーブ	
器具・薬品庫		ウサギ飼育用ケージ	
滅菌リネン庫		高圧蒸気滅菌装置	
		カートリッジ式酸化エチレンガス滅菌器	
動物飼育		動物飼育費	
		飼育管理員	

その他の装置・データ等

分 類	名 称	使用した延日数
データベース		
バイオリソース		
データ・文献		
装置		