

った(Fig. 1)。

脳における PrP<sup>C</sup> 抗原陽性部位はいずれの動物においても灰白質の神経細胞と神経線維であった。

2) カニクイザルの脾組織における PrP<sup>C</sup> 抗原の分布

カニクイザルの脾組織における PrP<sup>C</sup> 抗原の検出を行い、あわせて CD35 陽性 FDC および CD20 陽性 B 細胞との相関性について検討した(Fig. 2)。その結果、PrP<sup>C</sup> 抗原は CD35 陽性の FDC および CD20 が強発現している濾胞中心に一致して検出された。なお、この個体の頸部リンパ節および扁桃においては CD35 陽性細胞は観察されず、PrP<sup>C</sup> 抗原も検出されなかった。また、抗 CD21 抗体 (1F8、ヒト FDC の検出用モノクローナル抗体。DAKO) による抗原検出も試みたが、カニクイザルパラフィン切片においては不可能であった。

#### D. 考察

マウス、ラット、カニクイザル由来組織のパラフィン切片上の PrP<sup>C</sup> 抗原の検出を試みた結果、C-20 および M-20 が有用であった。ヒト異常プリオンタンパクに汎用されている 3F4 はカニクイザルの PrP<sup>C</sup> 検出には使用不可能であった。

ホルマリン固定パラフィン切片を用いた免疫組織化学では、ホルマリン固定によって抗原エピトープがマスクされてしまうことがあるので賦活化のためにタンパク分解酵素を用いることがある。今回、トリプシン処理

と非処理を比較した結果、非処理で強陽性の部位はトリプシン処理でも陽性であった。さらに非処理ではバックグラウンドが強く非特異反応と判断が困難であったが、トリプシン処理によってこれは消失した。

また、サル脾組織の濾胞中心の PrP<sup>C</sup> 抗原はトリプシン処理によって明確となった。これはすでに知られているマウスやヒトの PrP<sup>C</sup> の局在と一致している (Klein MA et al., Nat Med, 1998. Burhem J et al., Blood, 2001.)。よって、トリプシン処理を実施した方が染色方法として妥当であろう。今後、凍結組織の結果と比較する予定である。

カニクイザルの脾組織においては B 細胞領域の濾胞中心に PrP<sup>C</sup> が局在しており、これは FDC と関連し手いと考えられた。これはヒトの脾における PrP<sup>C</sup> の局在と同様であることが明らかとなったので、サルをモデルとして使えることを示している。

#### E. 結論

マウス、ラット、サルパラフィン切片組織における PrP<sup>C</sup> 抗原の免疫組織学的検出ができた。凍結組織およびパラフィン切片を用いて、カニクイザルおよびマウスの脳、リンパ系組織および造血組織における PrP<sup>C</sup> 発現の局在を検討していく。

#### F. 健康危険情報

なし

図1. PrP<sup>C</sup>抗原の脳における局在を示した。

A: BALB/c マウスの脳における PrP<sup>C</sup> 抗原の検出結果を示した。小脳および中脳の神経細胞と神経線維が陽性である。sABC法、トリプシン処理 37°C 25分。撮影倍率 x20。

B: 陰性コントロールとして、一次抗体に正常ヤギ血清を使用した連続切片を示した。同拡大。

C: カニクイザルの大脳における PrP<sup>C</sup> 抗原の検出結果を示した。大脳皮質の神経線維が陽性である。トリプシン処理 37°C 25分。x40。

D: 陰性コントロールとして、一次抗体に正常ヤギ血清を使用した連続切片を示した。同拡大。

白脾髄の濾胞は明瞭である。異常所見はみられない。x4 および x40。

C: CD35 抗原の検出。sABC法。濾胞に一致して CD35 陽性 FDC 細胞が検出された。樹状の特徴ある細胞質が陽性であった。核は比較的大きく、核小体が明瞭である。Bと同部位、同拡大。

D: CD20 抗原の検出。sABC法。この部位は CD20 陽性 B 細胞領域である。同拡大。

E: PrP<sup>C</sup> 抗原の検出。sABC法。トリプシン処理 37°C 25分。濾胞中心に PrP<sup>C</sup> 抗原が検出された。同拡大。

F: 陰性コントロールとして一次抗体に正常ヤギ血清を使用した連続切片を示した。同拡大。

図2. カニクイザル脾組織における PrP<sup>C</sup> の局在を示した。

A,B: カニクイザル脾組織、HE 染色。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Shibayama K, Kamachi K, Nagata N, Yagi T, Nada T, Doi Y, Shibata N, Yokoyama K, Yamane K, Kato H, Iinuma Y, Arakawa Y. A novel apoptosis-inducing protein from *Helicobacter pylori*. *Molecular Microbiology* 2003, 47: 443-451.

Yamamoto A, Nagata N, Ochiai M, Kataoka M, Toyozumu H, Okada K, Horiuchi Y. Enhanced sensitisation of mice with diphtheria tetanus acellular pertussis vaccine to local swelling reaction to the booster immunisation. *Vaccine* 2002, 20: 3088-3094.

Nagata N, Shimizu H, Ami Y, Tano Y, Harashima A, Suzaki Y, Sato Y, Miyamura T, Sata T and Iwasaki T. Pyramidal and extrapyramidal involvement in experimental infection of enterovirus 71 in cynomolgus monkeys. *J Med Virol* 2002, 67:207-216.

Ida-Hosonuma M, Iwasaki T, Taya C, Sato Y, Li H, Nagata N, Yonekawa H, Koike S. Comparison of neuropathogenicity of poliovirus in two transgenic mouse strains expressing human poliovirus receptor with different distribution patterns. *J. Gen. Virol.* 2002, 83 (Pt5): 1095-1105

Yuriko Suzaki, Yasushi Ami, Noriyo Nagata, Seishiro Naito, Hiroshi Kato, Maiko Taneichi, Motohide Takahashi, Takako Komiya, Sachihiko Satoh, Fumio Gondaira, Junichi Sugiyama, Yoshio

Nakano, Masahito Mori, Katsutoshi Komuro, and Tetsuya Uchida. Protection of Monkeys Against Shiga Toxin Induced by Shiga Toxin-Liposome Conjugates. *Int. Arch. Allergy Immunol* 2002, 127: 294-298.

### 2. 学会発表

永田典代、清水博之、網 康至、波多野 いく持、原嶋綾子、佐藤由子、須崎百合子、倉田 毅、野本明男、岩崎琢也：ポリオウイルスレセプター導入トランスジェニックマウス (TgPVR21) を用いた経鼻接種によるポリオウイルスの病原性について。第 50 回日本ウイルス学会、2002 年 10 月札幌

Iwasaki T, Nagata N, Shimizu H, Ami Y, Miyamura T, Sata T, Kurata T. Pathology of experimental infection of enterovirus 71 in cynomolgus monkeys in comparison with that of poliovirus. 37th joint working conference on viral diseases. The Japan-United states cooperative medical science program. 2002 Aug, Matsumoto, Japan.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

図表について

表 1. 本研究に使用した抗体のリストを示した。

表 2. マウス、ラット、カニクイザルにおける 3 種類の抗 PrP<sup>C</sup> 抗体の有用性を示した。

Table 1. Antibodies used to detect antigens

Antigen (immunogen)	Antibody /animal	Source	Recognition
PrP (human PrP)	C-20 / goat	Santa Cruz Biotech.	
PrP (mouse PrP)	M-20 / goat	Santa Cruz Biotech.	
PrP (hamster PrPsc263K)	3F4 / mouse	DAKO	
CD35 (Human tonsillar cells)	Ber-MAC-DRC / mouse	DAKO	FDCs
CD20 (Human tonsil B cells)	L26 / mouse	DAKO	B cells

Table 2. Antibodies used to detect PrPc antigens in formalin fixed paraffin embedded brain tissues of experimental animals

Antibody /animal	Mouse	Rat	Monkey
C-20/goat	O	O	O
M-20/goat	O	O	O
3F4/mouse	NE	X	X

NE: Not Examined

Figure 1

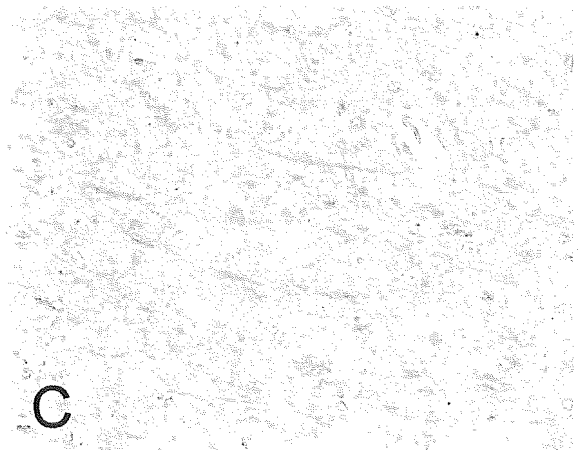
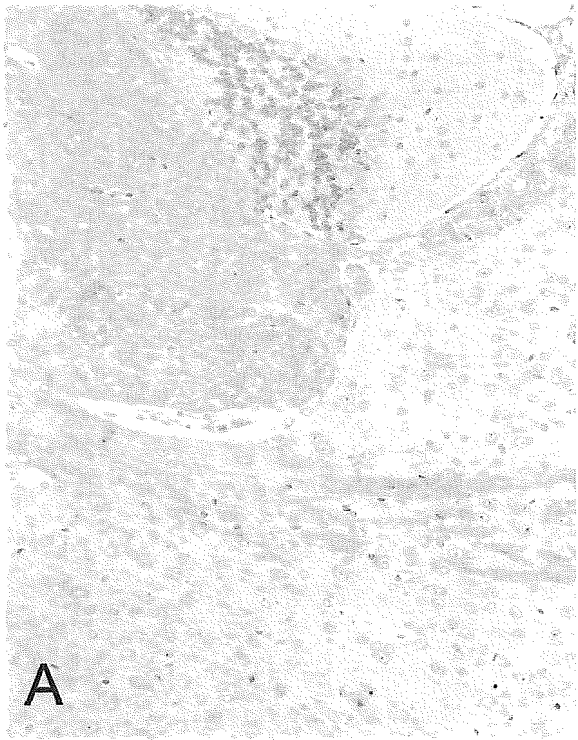
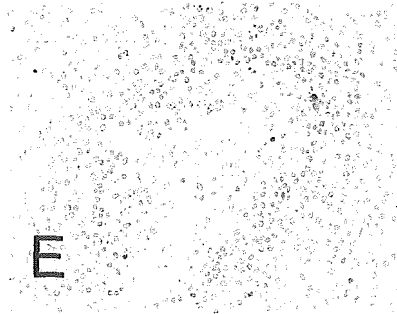
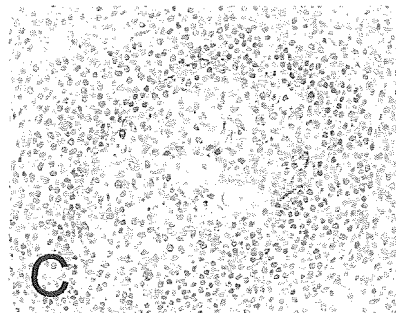
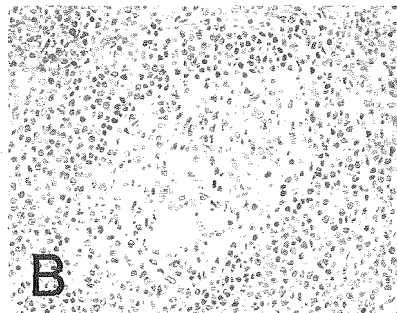
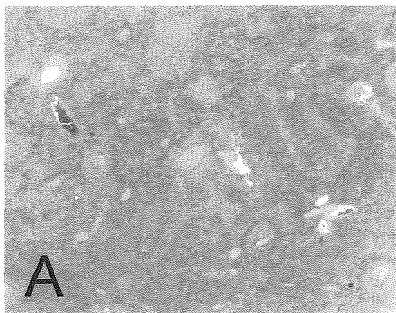


Figure 2



研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nagata,N., 他 9名	Pyramidal and extrapyramidal involvement in experimental infection of enterovirus 71 in cynomolgus monkeys	J.Med Virol.	Vol.67	207-216	2002
Ida-Hosonuma,M.,Iwasaki,T.,Taya,C.,Sato,Y.,Li,H.,Nagata,N. 他2名	Comparison of neuropathogenicity of poliovirus in two transgenic mouse strains expressing human poliovirus receptor with different distribution patterns.	J.Gen.Virol.	Vol.83	1095-1105	2002

20021397

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.24の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。