

厚生労働科学研究費補助金（食の安全確保推進研究事業）

（総括）研究報告書

神経変性疾患の原因となるプリオン様蛋白質の家畜における発現分布
および生物種間伝達の調査研究

研究代表者 チェンバーズ ジェームズ 東京大学農学生命科学研究科 助教

研究要旨：神経変性疾患の原因蛋白がプリオン様の性質を有することが近年報告されている。そこで本研究は食肉を介して神経変性疾患の原因蛋白を摂取するリスクを評価することを目的とした。本年度（3年計画1年目）は、神経変性疾患の原因蛋白が家畜の組織に存在するのかを調べた。その結果、家畜の脳において神経変性疾患に関連する蛋白が生理的に発現しており、牛、山羊、豚の脳では加齢性に p-Tau が蓄積することが明らかになった。これらの蓄積物は高齢の個体でのみ観察され、蓄積量が少ないことから、食肉を摂食することによるリスクは小さいと考えられた。次年度以降は、末梢神経を含む組織を解析するとともに、異種間における伝達の可能性を実験的に検証する。

研究分担者

内田和幸 東京大学農学生命
科学研究科 教授

A. 研究目的

神経変性疾患では特定の蛋白が神経組織に蓄積し、進行性に神経細胞が脱落する。これまでにアルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症の患者の神経組織において β -amyloid ($A\beta$)、Tau、 α -synuclein (α syn)、TDP-43 等の蓄積蛋白が同定されている。

これらの蛋白はプリオンのように神経組織内で伝播することが示されており、患者の組織から抽出した蛋白を腸（マウス）または脳（マウス、サル）に接種す

ることにより、それぞれ疾患特異的な蛋白が固体間で伝達することが近年確認された。また、申請者はヒト型 Tau を過剰発現するマウスの脳を解析し、Tau の蓄積とともに α syn が蓄積することを明らかにした。すなわち、ヒト型 Tau が seed となり、マウス型 α syn が蓄積する可能性が示唆された。

これらのことから、動物に由来する蛋白を seed としてヒトの蛋白が蓄積する可能性が考えられるため、食肉を介して神経変性疾患の原因蛋白を摂取するリスクを評価する必要がある。そこで本研究は、食の安全性をふまえて以下の課題を明らかにすることを目的とした。

- ① 神経変性疾患の原因となるプリオン様蛋白が食肉となる家畜の組織に存在するのか
- ② 異なる種類のプリオン様蛋白が神経組織において伝播するのか
- ③ 動物種間でプリオン様蛋白が伝達するのか

B. 研究方法

本研究は3年計画であり、本年度（1年度目）は主に課題①に取り組み、課題②の準備を行なった。

課題①

1. 材料

牛（4個体）、山羊（2個体）、馬（10個体）、豚（2個体）、鶏（5個体）、その他鳥類（9個体）の脳組織サンプルを収集し解析に用いた。

（倫理面への配慮）

病勢鑑定のために剖検された動物組織サンプルを使用しており、倫理的な問題はない。

2. 方法

脳組織の切片を作成し、免疫組織化学により蛋白を検出した。蛋白検出には、以下の一次抗体を使用した：A β , Tau, p-Tau, α syn, p- α syn, Ubiquitin。

Tau, α syn については生理的な蛋白発現を評価し、A β , p-Tau, p- α syn, Ubiquitin については異常蓄積物を評価した。

課題②

1. 材料

ヒト型 Tau 発現マウス（rTg4510）を繁殖維持し、3ヶ月齢（5個体）、6ヶ月齢（9個体）、8.5ヶ月齢（9個体）、10ヶ月齢（18個体）の組織をサンプリングした。また、ドキシサイクリン投与によりヒト型 Tau の発現を抑制した個体群についても同様にサンプリングした。

（倫理面への配慮）

動物実験および遺伝子改変動物の使用については実施機関の承認のもと、適切に実施した。

2. 方法

それぞれの群について、脳組織の切片を作成し、課題1と同様に Tau, p-Tau, α syn, p- α syn, Ubiquitin, TDP-43 抗体を用いて免疫組織化学的に解析した。

3. 研究内容の分担

課題①

材料の収集は、チェンバーズ（牛、山羊、鳥類、イノシシ）および内田（馬、鶏、豚）が行った。蛋白検出については、チェンバーズおよび研究協力者の中山（学生）が免疫組織化学を実施し、内田が病理評価を行なった。

課題②

材料の収集は、チェンバーズおよび研究協力者の中山（学生）が行った。蛋白検出については、チェンバーズおよび研究協力者の中山（学生）が免疫組織化学を実施し、内田が病理評価を行なった。

これらの結果についてチェンバーズと

内田が総合的に検討し、本報告書をまとめた。

C. 研究結果

課題①

牛：若齢（2歳）および高齢（19歳）の脳において Tau および α syn の生理的な発現を認めた。高齢の脳において神経細胞体および神経突起に p-Tau および Ubiquitin の蓄積を認めた（図1）。 $A\beta$ および p- α syn の蓄積は観察されなかった。若齢個体では、いずれの蓄積物も観察されなかった。

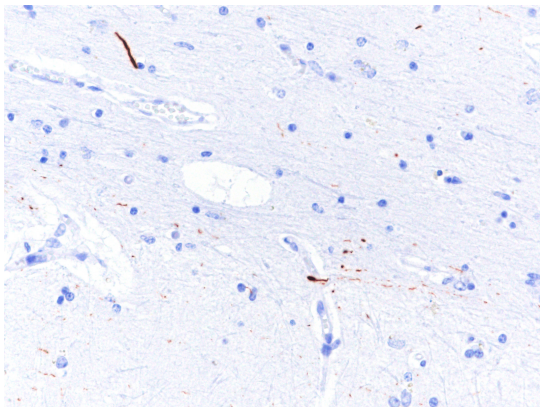


図1 牛の脳。p-tau 陽性の神経突起を認める。

山羊：9歳の個体の脳において Tau および α syn の生理的な発現を認めた。同個体の脳において神経細胞体および神経突起に p-Tau および Ubiquitin の蓄積を認めた（図2）。 $A\beta$ および p- α syn の蓄積は観察されなかった。

馬：高齢の脳において Tau および α syn の生理的な発現を認めた。高齢の大

脳において神経細胞体および神経突起に p-Tau および Ubiquitin の蓄積を認めた。 $A\beta$ および p- α syn の蓄積は観察されなかった。

豚：10歳および12歳の個体の脳において Tau および α syn の生理的な発現を認めた。同個体の脳において神経細胞体および神経突起に p-Tau および Ubiquitin の蓄積を認めた（図3）。 $A\beta$ および p- α syn の蓄積は観察されなかった。

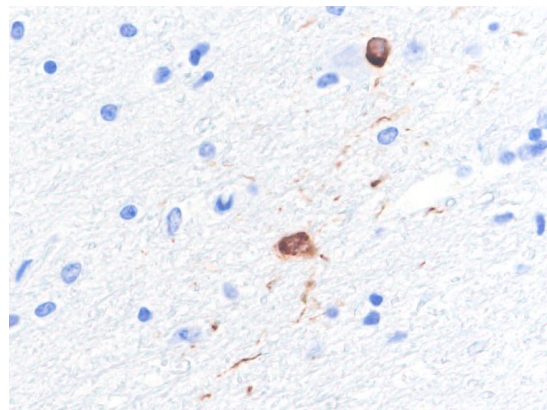


図3 豚の脳。p-tau 陽性の神経細胞体および神経突起を認める。

鳥類：200日齢の鶏の脳において Tau の生理的な発現を認めた。 $A\beta$ 、p-Tau および p- α syn の蓄積は観察されなかった。その他の鳥類については、高齢のペンギンおよびカモの脳において $A\beta$ の蓄積を認めた（図4）。

イノシシ：高齢（20歳）の個体の脳において神経細胞体および神経突起に重度の p-Tau 蓄積を認めた。

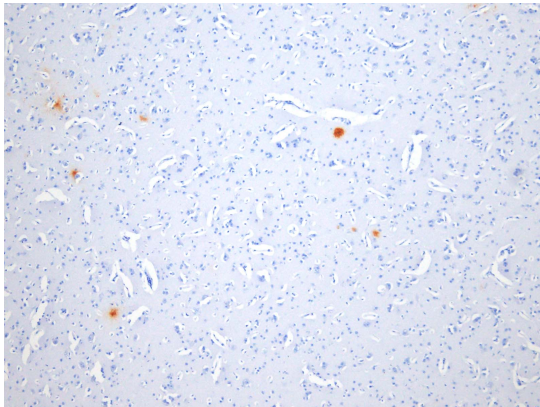


図4 ペンギンの大脳。Aβ陽性の凝集物を認める。

課題②

サンプリングしたマウスの脳においてヒト型 Tau の蓄積とともにマウス型 TDP43 が蓄積することを示す予備データが得られた。また、これらの蛋白の蓄積量には相関が認められ、ドキシサイクリン投与によりヒト型 Tau の蓄積を抑制したところ、TDP43 の蓄積も抑制された。

D. 考察

課題 1

家畜の脳において神経変性疾患に関連する蛋白が生理的に発現しており、牛、山羊、豚の大脳では加齢性に p-Tau が蓄積することが明らかになった。これらの蓄積物は高齢の個体でのみ観察され、蓄積量が少ないことから、市場に流通する食肉を摂食することによるリスクは小さいと考えられる。イノシンについては、高齢個体の大脳において重度の p-Tau 蓄

積が観察されたことから、調査する個体数を増やして解析する必要性が考えられた。

課題 2

ヒト型 Tau の蓄積にともないマウス型 TDP43 が蓄積することを示す予備的なデータが得られた。すなわち、異種蛋白の凝集物が他の蛋白の凝集を促進する可能性が考えられた。次年度はこれらの蛋白蓄積が脳内でどのように伝播するのか、その分布を調べるとともに、蓄積物の生化学的な性質を解析する。それにより、異種に由来する蛋白による cross-seeding のリスクを評価する。

E. 結論

本年度の研究結果から食用家畜の中枢神経組織において神経変性疾患に関連する蛋白が蓄積することが分かったので、次年度は末梢神経等を含む食用部位における蓄積の有無を確認し、食肉検査を通じて市場に流通する食肉の安全性を示すデータを収集する。また、高齢イノシンの脳において重度の p-Tau 蓄積を認めたため、ジビエを想定した食肉の安全性についても並行して解析を進める。

課題①について得られた結果については、末梢組織のデータと追加することで、食肉検査を通して市場に流通する食肉の安全性を示すデータとして活用されることが考えられる。ジビエを想定したイノシン等の野生動物については別にデ

ータを収集し、成果が得られた段階で公表する。年齢不明の個体や中枢神経組織を含むジビエについては、家畜と比較してリスクが想定されるため、必要に応じて関連するガイドライン（野生鳥獣肉の衛生管理に関する指針）に追記する必要性についても検討する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし