

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

きむらくみこ
申請者氏名 木村 久美子

家畜および野生動物のプリオン病には、羊および山羊のスクレイピー、牛海綿状脳症 (BSE) および鹿慢性消耗病 (CWD) 等が含まれ、我が国においては羊スクレイピーおよび BSE の発生が認められる。今回、プリオン病の病理学的診断法の高度化および新たな解析法の開発を目的として、以下の研究を実施した。

第 1 章では、BSE 本邦初発例の神経病理学的解析を行った。OIE 診断マニュアルに従い、日本において延髄のみの検査で BSE の診断を行うためには、日本の野外症例の病変分布を検査し、英国例との同一性を証明しなくてはならない。そこで BSE 本邦初発例の脳の病変分布を病理組織学的に精査し、英国例と比較検討した。また、免疫組織化学的に PrP^{Sc} の蓄積分布を検索した。その結果、病理組織学的に空胞変性は脳幹に主座していた。病変は中脳から延髄にかけて高度であり、特に延髄の三叉神経脊髄路核に最も顕著な空胞変性が認められた。免疫組織化学的検査では、病変に一致し、中脳から延髄にかけて顕著な PrP 陽性反応が認められた。また、病理組織学的に空胞変性が確認されなかった尾状核、被殻および小脳皮質においても陽性所見が確認された。BSE 本邦初発例の病変の分布は英国の BSE 症例に類似しており、このことから本症例は英国例と同じ BSE プリオンに罹患している可能性が示唆された。これらの成績は、我が国において延髄門部のみの検査で BSE 診断が実施されていることに根拠を与えるものである。一方、免疫組織化学的検査では、空胞変性が認められない領域でも陽性所見が確認されたことから、診断および病態解析におけるその有用性が再確認された。

第 2 章では、ウェスタンブロット法と免疫組織化学との中間的手法であるヒストブロット法のプリオン病診断および解析への可能性について、スクレイピー感染マウスおよびハムスターの脳を用いて検討した。その結果、ブロット膜を前処理しない場合には PrP^C が検出され、ブロット膜をプロテイナーゼ K 処理および蒸留水オートクレーブ処理した場合には PrP^{Sc} が検出されることが明らかになった。このように、ヒストブロット法を用いることによって、PrP^C および PrP^{Sc} の動態を *in situ* で識別することが可能になった。また、ヒストブロット法による解析の結果、スクレイピー感染脳では PrP^{Sc} の蓄積部位に一致して、PrP^C の減少が観察された。これらの結果から、スクレイピー感染脳では PrP^C が PrP^{Sc} への変換によって消耗されたことが示唆された。免疫沈降においても、ヒストブロット法の結果に一致して、スクレイピー感染脳における PrP^C の減少が確認された。以上の結果より、PrP^C の機能欠損がプリオン病の病理発生に関与している可

能性が示唆された。

第3章では、第2章で確立したヒストプロット法の野外発症例への応用性について、BSEおよび羊スクレイピー野外発症例を用いて検討を行った。その結果、牛および羊でも前処理法を変えることによって *in situ* において PrP^C と PrP^{Sc} を識別できることが明らかになった。また、BSEあるいはスクレイピー罹患脳でも、PrP^{Sc} のシグナルが観察される部位に一致して、PrP^C のシグナルの減少が観察された。これは、第2章の結果同様、プリオン病の病理発生に PrP^C の機能欠損が関与する可能性を支持する結果であった。

第4章では、プリオン病診断のための実験動物接種法における、種間バリアーの病理学的変化および PrP^{Sc} の蓄積に対する影響について検討した。シリアンハムスターにマウススクレイピーを伝達し、継代に伴う病理組織学的、免疫組織化学的および免疫生化学的変化について解析を行った。その結果、脳の病変分布には継代に伴う変化は認められなかったが、PrP^{Sc} の蓄積分布は継代に伴って変化した。2代および3代継代ハムスターの脳軟膜下領域および上衣下領域では明瞭な PrP プラーク形成が確認されたが、初代伝達ハムスターではプラークは全く確認されなかった。ウエスタンプロット法では蓄積した PrP^{Sc} は初代からハムスターの特徴を示していた。これらの結果から、種間バリアーは潜伏期のみならず PrP^{Sc} の蓄積分布にも影響を及ぼすことが明らかになった。

本論文で示した一連の研究により、家畜のプリオン病の病理学的診断の精度を高めるとともに、新しい診断・解析法を確立することができた。これらの手法を用いた病態解析により、プリオン病の病理発生における PrP^C の動態の重要性が示唆された。また、新知見として、異種動物へ伝達されたプリオン病では PrP^{Sc} の蓄積部位が継代に伴って変化することが確認できた。本研究により日本の BSE 研究が格段に進歩し、世界に比肩することができたと確信された。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位を授与するに値するものと認めた。