

研究情報

マウスモデルを用いた BSE プリオンの「種の壁」に関する研究：異種動物への伝達により BSE プリオンの感受性宿主域は変化する

YOKOYAMA Takashi

プリオン病研究チーム チーム長 横山 隆

はじめに

牛海綿状脳症(BSE)は肉骨粉を介して牛へ伝播しますが、ネコ、動物園動物(チータ、ピューマ、トラなどのネコ科動物や白オリックス、クーズー、などの反芻動物)、羊、サルにも伝達性海綿状脳症を引き起こすほか、ヒトの変異型クロイツフェルト・ヤコブ病の原因となり、広範な動物種へ感染することが示されました。プリオン、すなわち異常プリオン蛋白質(PrP^{Sc})の増幅には宿主の正常プリオン蛋白質(PrP^C)が必須です。PrP^Cをコードするプリオン蛋白質遺伝子は、多くの動物種で保存され、相同性も高いため、プリオンは動物種を越えた感染を起こします。しかし、各動物種のPrP^Cにはわずかなアミノ酸の違いにより、異種動物へのプリオンの伝達は同種間の伝達に比べて、その効率が悪くなります(種の壁)。実験動物ではBSEプリオンはマウスへ伝達しますが、ハムスターには伝達しません。そこで、マウスおよびハムスターのキメラPrP^Cを発現する遺伝子変異マウスを用いて、BSEプリオンに対する感受性を決定するメカニズムについて検討しました。プリオンの「種の壁」のメカニズム解明は、ヒトに対するリスクを考える上でも重要な問題です。

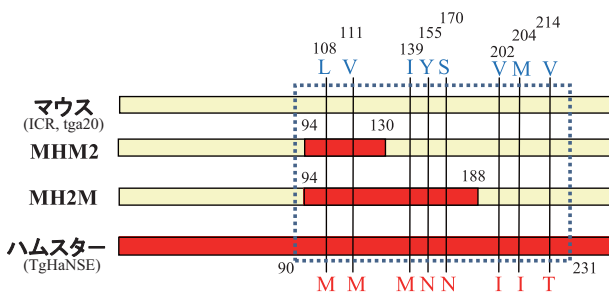


図1 キメラ PrP 発現マウスの概略

点線で示した PrPcore の領域にはマウスとハムスターのアミノ酸配列で8カ所の置換が存在する。青はマウスの配列、赤はハムスターの配列、数字はアミノ酸番号を示す。MHM2 マウスでは108,111位のアミノ酸がM,Mに置換している。MH2M マウスではさらに139,155,170位のアミノ酸がM,N,Nに置換している。I: イソロイシン, L: ロイシン, M: メチオニン, N: アスパラギン, S: セリン, T: スレオニン, V: バリン, Y: タイロシン。

キメラPrPマウス

マウスとハムスターのPrP^Cは254アミノ酸から構成されていますが、両者には15アミノ酸の置換(相同率94.1%)が存在します。その中で、PrP^{Sc}の蛋白質分解酵素に対する抵抗性領域(PrPcoreとも呼ばれ、アミノ酸の約90番目から230番目までに相当)には8アミノ酸の置換が存在します。PrPを4つの領域に分画し、各領域の組み合わせにより、部分的にハムスターのアミノ酸配列を持ったマウスを作ることができます。本研究では、マウスまたはハムスターのアミノ酸配列のPrPを持つマウス(tga20またはTgHaNSE)、PrP94-130をハムスターの配列に入れ替えたPrPを持つマウス(MHM2)、PrP94-188をハムスターの配列に入れ替えたPrPを持つマウス(MH2M)の4種類の遺伝子変異マウスを用いて、BSEプリオンの感染実験を行いました。すべてのマウスは内在性のマウスPrP^Cの影響を除くためプリオン遺伝子欠損マウスと交配しています(null-background)。なお、対照として野生型マウス(ICR)を用いました。

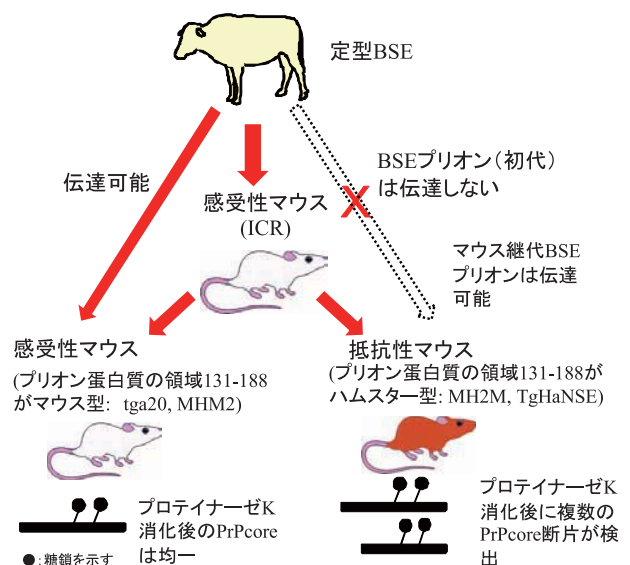


図2 BSE プリオンの遺伝子組換えマウスへの伝達試験のまとめ

伝達試験の結果

1) tga20、MHM2、野生型マウス(ICR)は初代のBSEプリオンに感受性を示し(約400日で発症)、MH2M、TgHaNSEマウスは抵抗性を示しました(発症は認められず、剖検時に脳内にPrP^{Sc}の蓄積も認められません)。このことから、PrPのアミノ酸配列131-188がマウス型の動物はBSEに対して感受性を示し、同領域がハムスター型の動物はBSEに抵抗性を示すことがわかりました。

2) 野生型マウスで1代継代したBSEプリオンについて同様の実験を行ったところ、マウス継代BSEプリオンは、抵抗性動物へも伝達が認められました(図1)。このことは、BSEプリオンが動物種を越えると、その感受性宿主域も変化することを示しています。

3) ウエスタンプロット法により脳内に蓄積したPrP^{Sc}を解析してみると、感受性動物の脳内のPrP^{Sc}は均一なPrPcoreに収束しましたが、BSEに感染した抵抗性動物(MHM2、TgHaNSE)の脳内には複数のPrPcore断片が認められました(図2)。

まとめ

BSEプリオンは異種動物へ伝達すると、その感受性宿主域が変わることが示されました。新たに出現したプリオン病に対しては、独自のリスク評価、伝達性の検証が必要となることを示しています。また、抵抗性動物で認められた複数のPrPcore断片は、プリオンの異種動物への馴化過程を示すものかもしれません。不均一なPrPcore断片の意義や病原性について解明が必要と考えています。今回の研究は、従来型のBSE(定型BSE)を対象としていますが、非定型BSEプリオンに関する研究も進行中です。

掲載誌 Yokoyama et al. J Gen Virol.90,2009,261-268.

Yokoyama et al. Arch Virol.152, 2007,603-609.

この研究内容は動衛研ホームページでもご覧頂けます。

<http://niah.naro.affrc.go.jp/publication/seikajoho2/2008/niah08018.html>

TOPICS

「大人の仕事を学ぶ！」札幌市立真栄中学校の職場訪問学習

平成21年8月28日、札幌市立真栄中学校の第3学年17名が北海道支所を訪れました。中学教育の「生き方・進路」をテーマにした「総合的学習」において、生徒が実際に職場へ足を運び働くことの喜びと厳しさを学ぶことが目的であり、北海道支所では地域社会へ貢献すべく昨年度より生徒の受け入れを行っています。

当日はあいにくの雨模様で動物実験施設見学などの屋外スケジュール

が室内学習へ変更になりましたが、宮崎研究管理監、塩野上席研究員、石原検査技術課職員、能井実験動物管理科職員によるワーキンググループらが説明を行いました。内容は動物衛生研究所紹介映像の上映、北海道支所の業務内容の説明につづき、動物実験施設へ入室するための防護服の着用、実験の必需品であるマイクロピペッターの使い方、寒天平板培地による微生物検査についての各実演と体験学習、最後に質疑応答の

順序で進められました。

生徒たちは「生命あるものを衛(まも)る」という動物衛生研究所の役割や家畜疾病の話に興味深く耳を傾け、体験実習では初めて手にするものに真剣な表情で取り組んでいました。なかでも緊張感が漂う防護服の着用体験は非常に好評でした。

後日寄せられた生徒直筆のお礼状には、「楽しかった」と素直な感動や充実感が述べられていました。生徒一人一人の“My Future”を考えるうえでの貴重な体験の場を提供することができたと同時に北海道支所の活動を情報発信する良い機会となりました。

(環境・常在疾病研究チーム
上席研究員 塩野浩紀)

