

令和元年6月12日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17702

研究課題名(和文)環境中のアミロイドを介した鳥類AAアミロイド症の伝播性に関する研究

研究課題名(英文) Study on the transmission of avian AA amyloidosis mediated by amyloid in the environment

研究代表者

村上 智亮 (Murakami, Tomoaki)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10728447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ニホンウズラに対し、リポポリサッカライド(LPS)を炎症刺激として与え、ウズラアミロイドを経口投与することにより、ウズラAAアミロイドーシス経口伝播モデルを開発した。また、本モデルを用いて、用量依存性の伝播効率向上を実証した。ウズラアミロイドーシスの水平伝播を検証するため、アミロイドーシス発症ウズラと正常ウズラを4週間同一ケージ内で飼育したが、アミロイドーシスの伝播は証明できなかった。動物園にて飼育されているフラミンゴが、効率に全身性アミロイドーシスを発症することを明らかにした。本症例群の検索により、脳へのAAアミロイド沈着を初めて動物で発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AAアミロイドーシスは多くの動物種で観察される致死性疾患であり、その伝播リスクの解明は喫緊の課題である。本研究により、鳥類AAアミロイドーシスの用量依存性の経口伝播性が明らかとなった。本研究において、ウズラにおけるアミロイドーシスの経口伝播効率はマウスのそれより高く、経口伝播機序を解析する上で有意なモデルとして活用可能である。また、中枢神経系におけるAAアミロイドの沈着は人においてのみ確認されている稀な病態であり、その病的意義は明らかではない。本研究で用いたモデルを用いることで、人の脳アミロイドーシスの病態解明の一助となる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：We developed a quail AA amyloidosis oral transmission model. This model develops AA amyloidosis by orally administering quail AA in a dose-dependent manner. In order to confirm the horizontal spread of quail amyloidosis, the onset of amyloidosis quail and normal quail were kept in the same cage for 4 weeks, but in-cage transmission of amyloidosis could not be demonstrated.

It has been shown that flamingos bred in zoos develop a high incidence of systemic amyloidosis. By searching these cases, AA amyloid deposits in the brain were first detected in animals.

研究分野：獣医病理学

キーワード：アミロイド ウズラ フラミンゴ 伝播 発症リスク 病態モデル

1. 研究開始当初の背景

アミロイド A (AA) アミロイドーシスはほ乳類や鳥類に広く発生する致死性疾患であり、炎症性タンパクである血清 AA (SAA) がアミロイド構造を有する AA へと構造変換し、全身に沈着することにより発症する。AA アミロイドーシスは実験動物への持続的な炎症刺激により誘発できる。この実験的誘発の過程において、炎症刺激に併せてアミロイドを投与することにより、アミロイド形成が増強され、AA アミロイドーシス発症までの期間が顕著に短縮されることが知られており (Lundmark et al., PNAS, 2002)、AA アミロイドーシスの伝播と呼ばれている。

AA アミロイドーシスの伝播性は実験動物だけでなく、自然環境下の動物においても示唆されている。日本国内において飼育下のチーターは AA アミロイドーシスを高率に発症し、AA アミロイドーシスのチーターの排泄物に含まれる AA をマウスに投与すると AA アミロイドーシスが誘発されることから (Zhang et al., PNAS, 2008)、チーター-AA アミロイドーシスの水平伝播が懸念されている。しかしながら、国内の飼育下チーターでの近親交配が進んでいることから、遺伝的素因としてアミロイドーシスを発症しているとも考えられ、真相は不明である。野生及び飼育下の鳥類においても、AA アミロイドーシスの集団発生が度々報告されており、特に水禽類は AA アミロイドーシスの集団発生が多く報告されているが (Landman et al., Avian Pathol, 1998)、原因の究明には至っていない。

2. 研究の目的

- (1) 応募者が既に確立しているニワトリやマウスの実験系に加えて、ウズラを用いて AA アミロイドーシス経口伝播実験系を確立する。
- (2) 国内の複数のフラミンゴ飼育施設を検索し、AA アミロイドーシス発生率を解析する。
- (3) AA アミロイドーシス発症個体の臨床的特徴、アミロイド沈着パターンを解析する。
- (4) 開発したウズラモデルを用いて、AA アミロイドーシスの水平伝播性を検証する。

3. 研究の方法

- (1) 応募者は Lipopolysaccharide (LPS) 2 mg/kg の腹腔内投与によって炎症刺激を与えたウズラに対し、ウズラアミロイド (AA アミロイド症を発症したウズラの脾臓から Pras 法を用いて抽出) を静脈内投与することによって、AA アミロイド症伝播モデルを確立済みであった (第 159 回日本獣医学会、BO-23)。このウズラモデルに対し、LPS の投与量や投与期間、アミロイドの経口投与量を検討することによって、アミロイド症経口伝播モデルを開発する。
- (2) 岐阜大学の柳井研究室で過去 20 年間に検索されたフラミンゴを再検索し、AA アミロイド症発生率の飼育施設による偏りや性差、年齢差、好発する前駆疾患、アミロイドの沈着パターンを明らかにする。また、国内のフラミンゴ飼育施設に協力を要請し、新規に死亡した個体について同様の検索を行う。
- (3) AA アミロイドーシスを発症したウズラと健常ウズラを 4 週間同居させる。病理組織学的解析により、健常ウズラにおける AA アミロイドーシス発症傾向を解析し、ケージ内における水平伝播が生じるかどうかについて検証する。

4. 研究成果

若齢ウズラおよび成熟ウズラに対し、LPS を週 2 回、4 週に渡って投与した。LPS の初回投与と同時に、ウズラアミロイドを静脈内投与もしくは経口投与し、4 週後に剖検した。

病理組織学的解析の結果、若齢・成熟ウズラの双方において、静脈内投与群・経口投与群ともにアミロイド非投与群と比較して有意な全身アミロイド沈着量の増加がみられた。このことから、ウズラの AA アミロイドーシスが静脈内投与だけでなく、経口投与によっても誘発（伝達）可能であることが示された。さらに追加実験では、静脈内投与、経口投与共に用量依存性の伝播効率向上を実証した。ウズラアミロイドーシスの水平伝播を検証するため、アミロイドーシス発症ウズラと正常ウズラを 4 週間同一ケージ内で飼育したが、アミロイドーシスの伝播は証明できなかった。このことは、アミロイドーシス罹患動物におけるアミロイドの排泄、ひいては他個体の摂取量が非常に少ないことが原因として考えられた。

某動物園にて斃死したフラミンゴ 58 例の全身臓器に対して、病理学的解析を実施し、うち 27 例において全身性にアミロイド沈着を認めた。このことから、動物園のフラミンゴが高率にアミロイドーシスを発症していることが示唆された。さらに 27 例のうち、1 例において大脳全域にわたって重度の脳血管アミロイドーシス（CAA）が認められ、5 例において脳室周囲の一部の脳血管壁へのアミロイド沈着が認められた。前者の 1 例において、沈着アミロイドは免疫組織学的に AB および AA の双方に陽性を呈し、残る 5 例では AB に陰性、AA に陽性を示した。鳥類における CAA の報告は稀であり、ヒト以外での脳への AA 沈着に関しては本研究が初の発見である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

- (1) Koike N, Sasaki A, Murakami T, Suzuki K. Effect of edaravone against cisplatin-induced chronic renal injury. Drug and Chemical Toxicology. In press. 査読有
- (2) Murakami T (CA), Miyoshi T, Takahashi N, Kangawa A. Persistent hyperplastic primary vitreous in two piglets. Journal of Veterinary Medical Science 81(3): 357–360, 2019. 査読有
- (3) Sasaki A, Koike N, Murakami T, Suzuki K*. Dimethyl fumarate ameliorates cisplatin-induced renal tubulointerstitial lesions. Journal of Toxicologic Pathology 32(2): 79-89, 2019. 査読有
- (4) Ohto-Fujita E, Shimizu M, Sano S, Kurimoto M, Yamazawa K, Atomi T, Sakurai T, Murakami Y, Takami T, Murakami T, Yoshimura K, Hasebe Y, Atomi Y. Solubilized eggshell membrane supplies a type III collagen-rich elastic dermal papilla. Cell and Tissue Research 376:123–135, 2019. 査読有
- (5) Murakami T, Sassa Y. Pleomorphic Malignant Mesothelioma in a Broiler Breeder Infected with Avian Leucosis Virus Subgroup J. Journal of Comparative Pathology 160:50-55, 2018. 査読有
- (6) Harata D, Tsuchiya Y, Miyoshi T, Yanai T, Suzuki K, Murakami T (CA). Inhibitory effect of propolis on the development of AA amyloidosis. Journal of Toxicologic Pathology 31(2):89-93, 2018. 査読有
- (7) 田尻弘和, 久保穂菜美, 村上智亮, 吉岡太陽, 秦珠子, 亀田恒徳, 中澤千香子, 太良修

平, 中澤靖元. 精練法の異なる家蚕シルクフィブロインの組織工学材料としての評価. 高分子論文集 75(1):54-60, 2018. 査読有

- (8) Chantawong P, Tanaka T, Uemura A, Shimada K, Higuchi A, Tajiri H, Sakura K, Murakami T, Nakazawa Y, Tanaka R. Silk fibroin- Pellethane® cardiovascular patches: Effect of silk fibroin concentration on vascular remodeling in rat model. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 28(12):191, 2017. 査読有
- (9) Shimada K, Higuchi A, Kubo R, Murakami T, Nakazawa Y, Tanaka R. The Effect of a Silk Fibroin/Polyurethane Blend Patch on Rat Vessels. *Organogenesis* 13(4):115-124, 2017. 査読有
- (10) Nakayama Y, Kamiie J, Watanabe G, Suzuki K, Murakami T (CA). Spontaneous, experimentally induced and transmissible AA amyloidosis in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Veterinary Pathology* 54(6):912-921, 2017. 査読有

〔学会発表〕(計 16 件)

- (1) 吉田桂子、三好知行、村上智亮 「鶏の腹腔内多発性水胞」全国食肉衛生検査所協議会病理部会研修会、2018年11月15日
- (2) 村上智亮、野口恵一、浜村政夫、菅野剛、川迫一史「ラット乳腺アミロイドーシスにおける新規アミロイドタンパクの同定」第161回日本獣医学会学術集会、BO-25、茨城、2018年9月12日
- (3) 小野歩、柳井徳磨、鈴木和彦、村上智亮「AAアミロイドーシス罹患フラミンゴにおける脳血管アミロイドーシス」第161回日本獣医学会学術集会、BO-24、茨城、2018年9月12日
- (4) 三好知行、小野歩、鈴木和彦、村上智亮 「若齢ウズラにおけるAAアミロイド症の経口伝播」第6回日本アミロイドーシス研究会学術集会、P4-4、長野、2018年8月25日
- (5) 小野歩、柳井徳磨、鈴木和彦、村上智亮 「AAアミロイドーシス罹患フラミンゴにおける脳血管アミロイド症」第6回日本アミロイドーシス研究会学術集会、P5-6、長野、2018年8月25日
- (6) 村上智亮、野口恵一、野村耕二 「イヌの乳腺腫瘍随伴アミロイドーシスにおける前駆タンパク同定の試み」第6回日本アミロイドーシス研究会学術集会、P8-5、長野、2018年8月25日
- (7) Tomoaki Murakami, Kazufumi Kawasako, Masayoshi Tasaki, Keiichi Noguchi, Yukiko Sassa, Yukio Ando, Takeshi Kanno, Masao Hamamura 「Localized Amyloidosis in Rat Mammary Gland」The XVth International Symposium on Amyloidosis、PA065、熊本、2018年3月26日
- (8) 小池夏未、佐々木彩花、矢守凜、村上智亮、鈴木和彦 「シスプラチンの腎毒性に対するエダラボンの効果」第34回日本毒性病理学会学術集会、P-15、沖縄、2018年1月25日
- (9) 佐々木彩花、小池夏未、矢守凜、村上智亮、鈴木和彦 「フマル酸ジメチルの腎間質線維化抑制効果の検討」第34回日本毒性病理学会学術集会、P-16、沖縄、2018年1月25日

- (10) 矢守凜、小池夏未、佐々木彩花、村上智亮、鈴木和彦 「HNF4α 発現低下に伴う尿細管上皮細胞の形質変化」第 34 回日本毒性病理学会学術集会、P-17、沖縄、2018 年 1 月 25 日
- (11) Yukiko Sassa, Tomoaki Murakami, Kazuo Okanoya, Keizo Tomonaga, Masayuki Horie 「Molecular Characterization and Isolation of MuBV-1 from Bengalese finch (*Lonchura striata* f. domestica) in Japan」第 41 回日本鳥類内分泌研究会、演題 12、東京、2017 年 12 月 17 日
- (12) 村上智亮、中山優美、三好知行、小野歩、鈴木和彦、渡辺元 「ニホンウズラにおける AA アミロイド症の病態および伝播性」第 41 回日本鳥類内分泌研究会、演題 1、東京、2017 年 12 月 16 日
- (13) 三好知行、小野歩、渡辺元、鈴木和彦、村上智亮 「ウズラ AA アミロイド症の水平伝播性に関する研究」第 160 回日本獣医学会学術集会、BO-21、鹿児島、2017 年 9 月 13 日
- (14) 小野歩、三好知行、渡辺元、鈴木和彦、村上智亮 「ウズラ AA アミロイド症の実験的経口伝播」第 5 回日本アミロイドーシス研究会学術集会、P37、京都、2017 年 8 月 19 日
- (15) 村上智亮、川迫一史、田崎雅義、安東由喜雄、菅野剛、浜村政夫 「ラットの乳腺癌にみられた新規アミロイド症の同定の試み」第 5 回日本アミロイドーシス研究会学術集会、P43、京都、2017 年 8 月 19 日
- (16) 久保穂菜美、村上智亮、秦珠子、亀田恒徳、太良修平、中澤靖元 「組織工学材料を指向した B. mori シルクフィブロインの生体適合性研究」第 38 回日本炎症・再生医学会、P23-3、大阪、2017 年 7 月 18 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

獣医毒性学研究室ホームページ <http://web.tuat.ac.jp/~tatlv/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：柳井 徳磨

ローマ字氏名：Yanai Tokuma

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。