

氏名（本（国）籍）	村 上 智 亮（福岡県）
主 指 導 教 員 名	岐阜大学 教授 石 黒 直 隆
学 位 の 種 類	博士（獣医）
学 位 記 番 号	獣医博甲第399号
学位授与年月日	平成25年9月24日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Studies on Pathogenesis and Transmission of Animal AA Amyloidosis (動物AAアミロイドーシスの病態と伝播に関する研究)
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 柳 井 徳 磨 副査 帯広畜産大学 教 授 古 林 与志安 副査 岩 手 大 学 教 授 御 領 政 信 副査 東京農工大学 教 授 渋 谷 淳 副査 岐 阜 大 学 教 授 石 黒 直 隆

学位論文の内容の要旨

アミロイドーシスは、生体内の蛋白質がミスフォールディングを起こし、 β シート構造を有するアミロイドへと変化し種々の臓器に蓄積して発症する疾患である。Amyloid A (AA) アミロイドーシスは、血清アミロイド A (SAA) がミスファールディングして発症する。家畜における AA アミロイドーシスは、ウシや家禽に観察されており、顕著な症状を示さない状態で慢性に経過する。実験的にも、硝酸銀水溶液やカゼイン、Lipopolysaccharide (LPS) など免疫刺激剤にて炎症を誘発し、SAA 濃度を高めることにより、偶発的に AA アミロイドーシスを誘発することができるが、アミロイド形成に至る詳細なメカニズムについては未だ不明である。

本研究では、ウシとニワトリのアミロイドーシスの自然例を解析することにより、アミロイドーシス発症の病態を解析した。また、実験的に同種間と異種間の動物にアミロイドを投与することにより、アミロイドの伝達性についても解析を行い、その成果を第1章から第4章にまとめた。

第1章では、AA アミロイドーシス罹患牛の病態を明らかにするため、アミロイドーシスに罹患したホルスタイン牛 14 頭を調査し、各臓器におけるアミロイド沈着の分布を解析した。その結果、アミロイドの沈着パターンによってウシ AA アミロイドーシスを Class I（腎糸球体への沈着が重度）と Class II（腎糸球体への沈着が軽度）に分類した。Class I では臨床的にネフローゼ症候群がみられたのに対し、Class II では臨床症状がみられなかった。

第2章では、某養鶏農場で集団死したニワトリを病理組織学的に解析した結果、AA アミロイドーシスと診断した。ワクチン接種部位での炎症反応が強く観察され、ワクチン接種とアミロイドーシス発症の関係が疑われた。また、同群の見かけ上健康なニワトリにもアミロイド沈着が検出された。

第3章では、前述の養鶏農場で使用されていた各ワクチンとAAアミロイドーシス発症との関係を調べるため、ニワトリ 149 羽 (Julia:48 羽, Julia-Lite:47 羽, P2:26 羽, Line-M:28 羽) を用いてニワトリ AA の投与実験を実施した。炎症刺激には Freund' complete adjuvant (FCA) と LPS のエマルジョン, *Salmonella Enteritidis* (SE) ワクチンあるいは *Mycoplasma gallisepticum* ワクチンを用い、ニワトリ AA アミロイドを静脈内もしくは経口的に投与した。その結果、SE ワクチン投与後、アミロイドを静脈内に投与したニワトリの 81% に、また、経口的に投与したニワトリの 67% にアミロイド沈着が観察された。

第4章では、日本白色種ウサギ 67 羽を用いて、ウシ AA アミロイドのウサギへの異種間伝播実験を実施した。また、ウサギにおける飛節潰瘍症 (Sore-Hocks: SH) がアミロイドーシスの伝播に与える影響についても検討した。炎症刺激剤として、FCA, LPS, *Staphylococcus aureus* 加熱死菌のアジュバント (Sta) を用い、投与アミロイドとしてウシ AA amyloid を用いた。その結果、SH ウサギのうち FCA+LPS を投与した 27 羽中 9 羽 (33%), Sta+LPS を投与した 9 羽中 7 羽 (78%), SH-like ウサギのうち Sta+LPS を投与した 7 羽中 3 羽 (43%) でアミロイドーシスの発症を確認した。これにより、継続的な炎症刺激とアミロイド投与で、アミロイドーシスが異種間で伝達することが明らかとなった。

以上の結果より、家畜の AA アミロイドーシスは、持続的な炎症刺激がある場合、同種動物および異種動物間で伝播が起きることが示された。本研究成果は、今後のアミロイドーシス研究や家畜アミロイドーシスの予防に有用な情報を提供するものと思われる。

審 査 結 果 の 要 旨

学位申請者である村上智亮君は、ウシとニワトリの Amyloid A (AA) アミロイドーシスの自然発生に遭遇し、病理学的に詳しく解析することにより動物のアミロイドーシスの発生と病態について研究した。また、同種および異種動物へのアミロイドーシスの伝播性についても解析し以下の成績を得た。こうした研究成果をもとに提出された学位論文について審査した。

AA アミロイドーシスと疑われたホルスタイン牛 14 頭について病理組織学的に解析し、各臓器でのアミロイド沈着の分布を検索した。その結果、アミロイドの沈着パターンによってウシ AA アミロイドーシスを Class I (腎糸球体への沈着が重度) と Class II (腎糸球体への沈着が軽度) に分類した。Class I では臨床的にネフローゼ症候群がみられたのに対し、Class II では臨床症状がみられなかった。

某養鶏農場で集団死したニワトリを病理組織学的に解析した結果、AA アミロイドーシスと診断した。ワクチン接種部位に炎症反応がみられたことから、ワクチン接種とアミロイドーシス発症との関係に着目して解析し、みかけ上健康なニワトリの各臓器にもアミロイドが蓄積していることを確認した。

ワクチン接種と AA アミロイドーシス発症との関係を調べる目的で、149 羽のニワトリを用いてワクチン接種とアミロイドの投与実験を実施した。その結果、サルモネラワクチンを接種したニワトリにおいて、静脈内にアミロイドを接種した群の 81%, 経口投与した群の 67% でアミロイド沈着が観察された。これにより、同種間でアミロイドが伝播することを明らかにした。

日本白色種ウサギ 67 羽を用いて、ウシ AA アミロイドのウサギへの異種間伝播実験を実施した。また、飛節潰瘍症とアミロイドーシスとの関係も検討した。各種炎症刺激剤との

併用の結果、飛節潰瘍症を有しているウサギで最も高率にアミロイドーシスの発症が確認された。持続的な炎症刺激がなされた場合、異種間においてもAAアミロイドが伝播することを明らかにした。

上記の研究成果は、今後の伝播性アミロイドーシス研究および家畜およびヒトのアミロイドーシス研究に有用な情報をあたえるものと判断した。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Pathogenesis of experimental amyloid protein A amyloidosis in sore hocks-affected rabbits
著 者 名 : Murakami, T., Inoshima, Y., Watanabe, K., Kobayashi, Y., Matsui, T., Kurazono, H. and Ishiguro, N.
学術雑誌名 : Amyloid
巻・号・頁・発行年 : 18(3):112-118, 2011
- 2) 題 目 : Atypical AA amyloid deposits in bovine AA amyloidosis
著 者 名 : Murakami, T., Inoshima, Y., Kobayashi, Y., Matsui, T., Inokuma, H. and Ishiguro, N.
学術雑誌名 : Amyloid
巻・号・頁・発行年 : 19(1):15-20, 2012
- 3) 題 目 : AA amyloidosis in vaccinated growing chickens
著 者 名 : Murakami, T., Inoshima, Y., Sakamoto, E., Fukushi, H., Sakai, H., Yanai, T. and Ishiguro, N.
学術雑誌名 : Journal of Comparative Pathology
巻・号・頁・発行年 : in press
- 4) 題 目 : Experimental induction and oral transmission of avian AA amyloidosis in vaccinated white hens
著 者 名 : Murakami, T., Muhammad, N., Inoshima, Y., Yanai, T., Goryo, M. and Ishiguro, N.
学術雑誌名 : Amyloid
巻・号・頁・発行年 : 20(2):80-85, 2013

既発表学術論文

- 1) 題 目 : 脳幹部膿瘍により神経症状を呈したホルスタイン種子牛の1例
著 者 名 : 松本高太郎, 村上智亮, 菅生樹春, 山田一孝, 古林与志安, 松井高峯, 猪熊壽
学術雑誌名 : 日本獣医師会雑誌
巻・号・頁・発行年 : 63(5):351-354, 2010
- 2) 題 目 : 起立不能を呈した育成牛における非定型散発性牛白血病の1例
著 者 名 : 松山雄喜, 村上智亮, 大林哲, 古林与志安, 松本高太郎, 松井高峯, 猪熊壽
学術雑誌名 : 日本獣医師会雑誌
巻・号・頁・発行年 : 63(5):355-358, 2010
- 3) 題 目 : Humeral chondrosarcoma in Hokkaido brown bear (*Ursus arctos*

yesoensis)

著 者 名 : Murakami, T., Kobayashi, Y., Chiba, S., Kurauchi, Y., Sakamoto, H.,
Sasaki, M. and Matsui, T.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : 74(9):1195-1197, 2012

4) 題 目 : Pathological features of *Mycobacterium kansasii* infection in
black bearded sakis (*Chiropotes satanas*)

著 者 名 : Murai, A., Murakami, T., Inoue, M., Ueda, H., Shiihara, S., Kimura,
J., Hirata A. Sakai, H. and Yanai, T.

学術雑誌名 : Journal of Comparative Pathology

巻・号・頁・発行年 : 147(4):566-569, 2012