

令和元年5月30日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05317

研究課題名(和文)プリオン病の発病抑制に関わる宿主遺伝子の解析

研究課題名(英文) Analysis of host genetic factors associated with disease suppression against prion diseases.

研究代表者

堂浦 克美 (Doh-ura, Katsumi)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00263012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：私たちの体内では、何らかの外的要因等の影響を受け、プリオンの増殖が制御されているものと考えられるが、その機構は不明である。申請者は、食品添加物等として日常摂取しているセルロース誘導体(CE)が、プリオン病に対して長期間にわたる優れた発病抑制効果を発揮することを発見した。CE効果には明瞭なマウス系統差がある。高感受性系統と低感受性系統でCEの体内動態に違いは無く、高感受性系統と低感受性系統の交配実験から感受性に影響する宿主因子を探索した。その結果、あるグリア関連因子の多型が感受性に関連していることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

特発性プリオン病に罹患するのはごく少数の人だけであり、また同様にプリオンに曝露されても発病しない人たちがいることがわかっており、私たちの体内には何らかの外的要因等を受けプリオンの増殖を抑制する防御機構が備わっている。CE感受性はまさにそういった防御機構の一部となっている可能性があり、CE感受性候補因子を明らかにした本研究は、プリオンに対する防御機構の解明やプリオン病の克服に繋がる知見である。

研究成果の概要(英文)：In our bodies, it is thought that prion proliferation is controlled under the influence of some external factors, but the mechanism is unknown. The applicant has found that a cellulose derivative (CE), which is ingested daily as a food additive, exhibits excellent suppressive effects against prions for a long period of time. The CE effectiveness is clearly dependent on mouse strains. In the current study, we found that there was no difference in the pharmacokinetics of CE between high-sensitive mice and low-sensitive mice. Then, we searched for host factors affecting sensitivity in the offspring from high-sensitive mice and low-sensitive mice. Finally, as a result, we found that a polymorphism of a certain glial related gene is associated with sensitivity. The findings open a new avenue of elucidating anti-prion defense mechanism and overcoming prion disease.

研究分野：神経化学

キーワード：遺伝子 ゲノム 脳神経疾患 マイクロアレイ プリオン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 私たちの体内では、何らかの外的要因等の影響を受け、プリオンの増殖が制御されているものと考えられるが、その機構は不明である。
- (2) 申請者は、食品添加物等として日常摂取しているセルロース誘導体(CE)が、プリオン病に対して長期間にわたる優れた発病抑制効果を発揮することを発見した。
- (3) CEの効果には明瞭なマウス系統差がみられた。

2. 研究の目的

- (1) CEの効果発現メカニズムを明らかにすることで、プリオンに対する生体防御機構の一端を抉り開けられるのではないかと考え、CE感受性に関する宿主要因を明らかにしようとした。

3. 研究の方法

- (1) 高感受性系統であるTg7[遺伝的背景不明]と低感受性系統であるTga20[B6背景]において、CEの体内動態を調べた。
- (2) 高感受性系統Tg7を低感受性系統B6の背景を持つZurich(MoPrP-/-)と交配した2世代目(F2)マウス(HaPrP+/-, MoPrP-/-)でCE感受性試験を行った。
- (3) さらに、F2~F4マウス(HaPrP+/-, MoPrP-/-)の作出・選抜を継続し、プリオン感染にてCE効果の判定を行った。
- (4) ゲノムDNAを用いて、SNPsアレイによる全ゲノム関連解析を行った。
- (5) CEを投与した高感受性マウスと低感受性マウスから採取した材料を用いてプロテオミクス解析や他のビトロ解析を行った。

4. 研究成果

- (1) Tg7とTga20ではCEの体内動態に違いは無かった。
- (2) Tg7をZurichと交配したF2マウス(HaPrP+/-, MoPrP-/-)のCE感受性試験で、高感受性群と低感受性群を分離できた。
- (3) さらに、高感受性群をZurichと交配したF3以降のマウスも含めてCE感受性を解析したところ、コンジェニック化に伴い高感受性群の発生比率が右肩上がりに上昇し、F3では約45%のマウスがCEに対して高感受性であった。
- (4) 全ゲノム関連解析やプロテオミクス解析等を総合して、あるグリア関連因子の多型が感受性に関連していることがわかった。
- (5) このことは、感受性が異なる他の複数の野生型マウス系統においても確認された。
- (6) この3年間の研究で当初の目的であるCE感受性に関連する候補因子を見つけることに成功した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Schätzl H, Gilch S, Doh-ura K. Preparation and Characterization of Cellulose Ether Liposomes for the Inhibition of Prion Formation in Prion-infected Cells. *J Pharm Sci*, 査読有, 2019, doi: 10.1016/j.xphs.2019.03.025. [Epub ahead of print]

Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kitamoto T, Doh-ura K. Intermolecular crosslinking of abnormal prion protein is efficiently induced by a primuline-sensitized photoreaction. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 査読有, 1863(2):384-394, 2019, doi: 10.1016/j.bbagen.2018.11.008.

Teruya K, Oguma A, Nishizawa K, Kamitakahara H, Doh-ura K. Pyrene conjugation and spectroscopic analysis of hydroxypropyl methylcellulose compounds successfully demonstrated a local dielectric difference associated with in vivo anti-prion activity. *PLoS One*, 査読有, 2017, 12(9):e0185357. doi: 10.1371/journal.pone.0185357.

Teruya K, Doh-ura K. Insights from Therapeutic Studies for PrP Prion Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 査読有, 2017, 7(3). pii: a024430. doi: 10.1101/cshperspect.a024430.

Hamanaka T, Nishizawa K, Sakasegawa Y, Oguma A, Teruya K, Kurahashi H, Hara H, Sakaguchi S, Doh-ura K. Melanin or a Melanin-Like Substance Interacts with the N-Terminal Portion of Prion Protein and Inhibits Abnormal Prion Protein Formation in Prion-Infected Cells. *J Virol*, 査読有, 2017, 91(6). pii: e01862-16. doi:

10.1128/JVI.01862-16.

Teruya K, Oguma A, Nishizawa K, Kawata M, Sakasegawa Y, Kamitakahara H, Doh-ura K. A Single Subcutaneous Injection of Cellulose Ethers Administered Long before Infection Confers Sustained Protection against Prion Diseases in Rodents. *PLoS Pathog*, 2016, 査読有, 12(12):e1006045. doi: 10.1371/journal.ppat.1006045.

〔学会発表〕(計 13 件)

- ① Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Doh-ura K. Photoreaction-induced SDS-resistant PrP^{Sc}/res oligomer formation. Asian Pacific Prion Symposium 2018, Tokyo, October4-5, 2018
- ② Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Doh-ura K. Liposomal formulation improved the anti-prion activity of cellulose ether compounds in ScN2a cells. Asian Pacific Prion Symposium 2018, Tokyo, October4-5, 2018
- ③ Sakasegawa Y, Nishizawa K, Oguma A, Teruya K, Doh-ura K. A platinum compound enhances the endogenous proteolytic degradation of the PrP^C and PrP^{res} in mouse neuroblastoma N2a cells. Asian Pacific Prion Symposium 2018, Tokyo, October4-5, 2018
- ④ Doh-ura K, Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kamitakahara H. Cellulose ether compounds exert protection to prion infection; a biological parameter related to the effectiveness of compounds. Asian Pacific Prion Symposium 2017, Melbourne, Australia, October20-21, 2017
- ⑤ Teruya K, Oguma A, Nishizawa K, Kamitakahara H, Doh-ura K. Pyrene index of hydroxypropyl methylcellulose compounds correlates with the in vivo long-lasting anti-prion activity. Asian Pacific Prion Symposium 2017, Melbourne, Australia, October20-21, 2017
- ⑥ Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Doh-ura K. Anti-prion activities of cellulose ether compounds in prion-infected cells are consistent with long-lasting anti-prion activities in vivo. Asian Pacific Prion Symposium 2017, Melbourne, Australia, October20-21, 2017
- ⑦ Sakasegawa Y, Nishizawa K, Oguma A, Teruya K, Doh-ura K. C-terminal chaperone domain of heat shock protein 90 modifies the conformation of cellular prion protein central region in the presence of copper ion. Asian Pacific Prion Symposium 2017, Melbourne, Australia, October20-21, 2017
- ⑧ Doh-ura K. Protein Aggregation - Prions: still untouchable agents -. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, September16-21, 2017
- ⑨ 堂浦 克美. プリオン病の原因である PrP^{Sc} は排除が困難。第 89 回日本生化学会大会、仙台、2016 年 9 月 25 日
- ⑩ Doh-ura K. Lessons from recent outcomes of clinical trials and therapeutic studies. PRION2016TOKYO, Tokyo, May10-13, 2016
- ⑪ Teruya K, Doh-ura K. Dimer-sized PrP^{Sc} formation detected by western blotting. PRION2016TOKYO, Tokyo, May10-13, 2016
- ⑫ Sakasegawa Y, Doh-ura K. A platinum compound targeting the cysteine residues of disease-related form of prion protein in cell lysates. PRION2016TOKYO, Tokyo, May10-13, 2016
- ⑬ Hiyoshi T, Doh-ura K. Effects of cell growth suppression treatments on PrP^{Sc} accumulation in prion-infected cells; Paradoxical phenomena observed in butyric acid treatment. PRION2016TOKYO, Tokyo, May10-13, 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計3件）

名称：コンフォメーション病の予防又は治療剤、及びコンフォメーション病医薬のスクリーニング方法

発明者：照屋 健太、西澤 桂子、堂浦 克美

権利者：同上

種類：特許

番号：PCT/JP2018/32729

出願年：2018年

国内外の別：国内

名称：コンフォメーション病医薬組成物及びその製造方法

発明者：堂浦 克美、照屋 健太、西澤 桂子、小熊 歩

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2017-093414

出願年：2017年

国内外の別：国内

名称：コンフォメーション病薬スクリーニング用細胞の製造方法及びコンフォメーション病薬スクリーニング方法

発明者：堂浦 克美、逆瀬川 裕二

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2016-094104

出願年：2016年

国内外の別：国内

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

<https://www.neurochemistry.med.tohoku.ac.jp/index.html>

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：照屋 健太
ローマ字氏名：TERUYA, Kenta

研究協力者氏名：西澤 桂子
ローマ字氏名：NISHIZAWA, Keiko

研究協力者氏名：小熊 歩
ローマ字氏名：OGUMA, Ayumi

研究協力者氏名：逆瀬川 裕二
ローマ字氏名：SAKASEGAWA, Yuji

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。