

平成 22 年 4 月 5 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790608

研究課題名 (和文) トレースバック実験によるプリオンの由来の同定

研究課題名 (英文) Identification of the origin of prion infection

研究代表者

小林 篤史 (KOBAYASHI ATSUSHI)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：50431507

研究成果の概要 (和文)：

我々は以前、孤発性 CJD-MM1 であるにも関わらず多数のプラーク型プリオン蛋白沈着を伴う症例(MM1-PL)を報告した。この MM1-PL プリオンはプリオン蛋白遺伝子コドン 129 の遺伝子型が一致しないにも関わらず 129V/V ヒト型マウスの方へ強い感染性を示した。発病した 129V/V マウスは孤発性 CJD-VV2 プリオンを接種した時と同様のプリオン蛋白沈着パターンを示した。これらの結果は MM1-PL が孤発性 CJD-VV2 プリオンの感染によって引き起こされた可能性を示唆している。

研究成果の概要 (英文)：

We previously reported an atypical sCJD-MM1 case (MM1-PL) presenting many plaque-type PrP deposits in the brain. To investigate the origin of the MM1-PL, we performed intracerebral inoculation of a brain homogenate from the MM1-PL patient into humanized mice with 129M/M or 129V/V genotype. The present our study shows that the MM1-PL was caused by the iatrogenic transmission of sCJD-VV2 prions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：神経病態生化学、プリオン、クロイツフェルト・ヤコブ病、神経変性疾患、脳

## 1. 研究開始当初の背景

プリオン感染とは異常型プリオン蛋白を鋳型にして正常型プリオン蛋白が構造変化を起こし、自身も異常型となり蓄積していく過程である。この過程において異常型と正常型のプリオン蛋白のアミノ酸配列が一致することは異常化の効率を決める大きな要因となっている。孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) はプリオン蛋白遺伝子コドン 129 の正常多型 (MM, VV, MV) と蓄積する異常型プリオン蛋白のタイプ (タイプ 1 or 2) により分類されるが、MM1 プリオンは 129M/M のヒトプリオン蛋白を発現するヒト型ノックインマウスへ感染しやすいのである。

しかし、我々はあるプリオン-宿主の組合せにおいてはプリオン蛋白のアミノ酸配列が一致しなくても容易に異常化が起きることを明らかにした。ウシ海綿状脳症プリオンはヒトに感染し変異型 CJD プリオンとなった後でも、ウシ型ノックインマウスに強い感染力を示したのである。トレースバックと名づけられたこの現象を利用すれば、プリオン感染の由来をたどることができると考えられた。そこで我々はトレースバック実験をおこない、プラーク型硬膜移植関連 CJD が孤発性 CJD-VV2 患者由来の硬膜により引き起こされうることを明らかにした。

## 2. 研究の目的

孤発性 CJD-MM1 であるにも関わらず脳内に多数のプラーク型プリオン蛋白沈着を伴う非典型的な症例 (MM1-PL) が存在する。MM1 でプラークを伴う症例はプラーク型硬膜移植関連 CJD 以外にはこの症例だけである。この非典型的な MM1 症例は脳外科手術歴があるものの硬膜移植は行われていないことから孤

発性 CJD とされている。しかし臨床・病理像はプラーク型硬膜移植関連 CJD とよく似ており、孤発性 CJD-VV2 患者からの感染による医原性 CJD の可能性がある。そこでトレースバック実験を行ってこの可能性について検討する。

## 3. 研究の方法

MM1-PL 脳組織をホモジナイズして接種材料とし、129M/M あるいは 129V/V ヒト型マウスの脳内へ接種した。接種後、発症するまで経過を観察し、潜伏期間を比較した。発症したマウスの脳を採取し、免疫組織化学的検索および **Western blot** により異常型プリオン蛋白の検出をおこなった。

## 4. 研究成果

129V/V ヒト型マウスは MM1-PL 脳内接種後平均 296 日で発病したのに対し、129M/M ヒト型マウスは接種後 700 日を経過しても発病しなかった (Table 1)。接種材料である MM1-PL の遺伝子型は 129M/M であるにも関わらず、129V/V ヒト型マウスの方へ強い感染性を示すことが明らかになった。129V/V ヒト型マウスにおける潜伏期間は孤発性 CJD-VV2 プリオンを接種した 129V/V マウスと同じであった。

**Table 1** ヒト型マウスにおける潜伏期間

Inoculum	Incubation period in days $\pm$ SEM ( $n/n^0$ ) <sup>a</sup>		
	Tg+Ki-Hu129M/M (12X) <sup>b</sup>	Ki-Hu129M/M (1X)	Ki-Hu129V/V (1X)
sCJD-MM1 (H3)	429 $\pm$ 6 (6/6)	467 $\pm$ 24 (8/8)	774 $\pm$ 32 (6/6)
sCJD-VV2 (AK)	723 $\pm$ 79 (4/4)	633 $\pm$ 49 (6/6)	312 $\pm$ 7 (4/4)
MM1-PL	N.D. <sup>c</sup>	> 700 (0/6)	296 $\pm$ 9 (6/6)

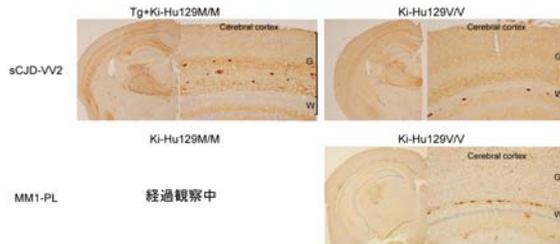
<sup>a</sup>  $n$ , number of diseased animals;  $n^0$ , number of inoculated animals.

<sup>b</sup> The expression levels of human PrP in the brains.

<sup>c</sup> N.D., not done.

発病した 129V/V ヒト型マウスの脳を病理組織学的に検索すると、白質に局限したプラーク

ク型のプリオン蛋白沈着がみとめられた (Figure 1)。この白質へのプラーク型プリオン蛋白沈着パターンは孤発性 CJD-VV2 プリオンを接種した 129V/V ヒト型マウスにおけるプリオン蛋白沈着パターンと非常に類似していた。



**Figure 1** マウス脳内におけるプリオン蛋白沈着パターン

今回の研究により MM1-PL プリオンはプリオン蛋白遺伝子コドン 129 の遺伝子型が 129M/M であるにもかかわらず、129V/V ヒト型マウスへ感染しやすく、129V/V ヒト型マウスに感染すると孤発性 CJD-VV2 プリオンを接種した時と全く同じ潜伏期間および神経病変を示すことが明らかになった。そして MM1-PL の感染性および神経病変は孤発性 CJD-MM1 のものとは全く異なっていた。これらの結果は MM1-PL の由来が孤発性 CJD-VV2 プリオンである可能性を示唆している。このようなトレースバック現象は孤発性 CJD-VV2 プリオンが遺伝子型の差を越えた感染の後も VV2 プリオンとしての情報を保持しているためにひきおこされるのかもしれない。

本研究の成果により、この MM1-PL 症例は感染による医原性 CJD であることが明らかになった。この症例は脳外科手術歴があるものの硬膜移植がおこなわれていないことから、感染の原因は脳外科手術である可能性が高

い。これまで日本国内において脳外科手術による医原性 CJD の報告はなく、疫学的には脳外科手術は医原性 CJD のリスクファクターとは考えられていなかった。しかし本研究により脳外科手術による感染が明らかとなった以上、脳外科手術もリスクファクターとして考え、感染防止対策を徹底する必要性が示された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

(1) Kobayashi A, Sakuma N, Matsuura Y, Mohri S, Aguzzi A, Kitamoto T. Experimental Verification of a Traceback Phenomenon in Prion Infection. *J Virol*. 査読有 84(2010)3230-3238.

(2) Hizume M, Kobayashi A, Mizusawa H, Kitamoto T. Amino acid conditions near the GPI anchor attachment site of prion protein for the conversion and the GPI anchoring. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有 391(2009)1681-1686.

(3) Kobayashi A, Asano M, Mohri S, Kitamoto T. A traceback phenomenon can reveal the origin of prion infection. *Neuropathology* 査読有 29(2009)619-624.

(4) Hiraga C, Kobayashi A, Kitamoto T. The number of octapeptide repeat affects the expression and conversion of prion protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有 382(2009)715-719.

[学会発表] (計 1 件)

(1) 小林篤史、ヒト異常型プリオン蛋白特異的抗体の作製、2009年プリオン研究会、2009年8月29日-30日、宮城県

[その他]

ホームページ等  
<http://www.prion.med.tohoku.ac.jp>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小林 篤史 (KOBAYASHI ATSUSHI)  
東北大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：50431507

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：