

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659424

研究課題名(和文)プリオン増殖阻害に関わるエピゲノム遺伝子制御の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the epigenetic gene regulation related to the inhibition of prion formation

研究代表者

堂浦 克美(Doh-ura, Katsumi)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00263012

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：長期間にわたりプリオン増殖阻止現象を示す化合物の作用機序を解明するため、化合物投与マウスおよび対照マウスの脳組織について染色体DNAのエピゲノム修飾を解析した。メチル化DNA免疫沈降法+プロモーターアレイでメチル化マッピングを、クロマチン免疫沈降法+プロモーターアレイ解析でヒストン修飾マッピングを行った。さらに、同組織材料を用いてDNAアレイ解析とマイクロRNAアレイ解析で遺伝子発現プロファイリングを行った。これらの結果を相互に照らし合わせて、候補遺伝子群を抽出した。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the action mechanism of a compound that is inhibitory against prion formation for a long term, epigenetic modification of chromosomal DNA was examined in the brain tissue samples from the compound-treated mice and the control mice. Both methylation mapping and histone modification mapping were performed by the chromatin immunoprecipitation and promoter array analyses. In addition, gene expression profiling was performed by DNA array analysis and microRNA array analysis using the same brain tissue samples. All results were analyzed bioinformatically, and candidate genes were finally extracted.

研究分野：神経化学

キーワード：神経分子病態学 プリオン エピゲノム 治療学 糖質

1. 研究開始当初の背景

プリオン病治療薬探索研究中に偶然に発見したある化合物は、単回皮下投与の半年後、1年後、1年半後のいずれの時期のプリオン感染に対しても、投与直後のプリオン感染に対するのと同程度に、優れたプリオン増殖阻止作用を発揮した。そこで、化合物が長期間にわたりプリオン増殖阻止作用を発揮する機序として、エピジェネティックなクロマチン修飾が関与していると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、ある化合物の長期間にわたるプリオン増殖阻止作用に関わる宿主要因として、特定の遺伝子群のエピジェネティックな染色体 DNA 修飾を検証するため、化合物投与マウスおよび対照マウスで、プリオンの標的である脳の染色体 DNA のメチル化マッピングとヒストン修飾マッピングを実施し、プリオン増殖阻止に関わる遺伝子群の存在を明らかにすることが目的である。

3. 研究の方法

化合物投与マウスおよび対照マウスの脳組織を用い、メチル化マッピングは MeDIP + プロモーター・マイクロアレイと MIAMI + プロモーター・マイクロアレイで解析し、ヒストン修飾マッピングは ChIP + プロモーター・マイクロアレイで解析をおこなった。これらのデータは、mRNA 発現マイクロアレイ解析とマイクロ RNA 発現マイクロアレイ解析による遺伝子発現プロファイルのデータと合わせてバイオインフォマティクス解析を行い、候補遺伝子群を抽出した。

4. 研究成果

化合物投与マウスの脳組織と対照マウスの脳組織において、染色体 DNA のエピゲノム修飾と遺伝子発現プロファイルを解析した結果、いくつかの候補遺伝子群を抽出できた。これらの遺伝子群について、化合物投与マウス脳と対照マウス脳での発現の違いを定量的 RT-PCR で検討し、遺伝子発現の違いが有意であることを確認した。さらに、個々の遺伝子について、プリオン増殖阻止とどのように関係しているかを、プリオン持続感染細胞やプリオン感染マウスを用いて解析しているところであり、予備の実験の段階ではあるが、プリオン増殖阻害と関係する遺伝子の存在が示唆されている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

Teruya K, Wakao M, Sato M, Hamanaka T, Nishizawa K, Funayama Y, Sakasegawa Y, Suda Y, Doh-ura K. Heparinase I-specific disaccharide unit of heparin is a key structure but insufficient for

exerting anti-prion activity in prion-infected cells. *Biochem Biophys Res Commun*, in press, 2015、doi: 10.1016/j.bbrc.2015.03.139、査読有

倉橋 洋史、堂浦 克美 . プリオン (異常プリオン蛋白) の伝播, *Clinical Neuroscience*, vol.33 no.3, 260-264, 2015、査読無

Nishizawa K, Oguma A, Kawata M, Sakasegawa Y, Teruya K, Doh-ura K. Efficacy and mechanism of a glycoside compound inhibiting abnormal prion protein formation in prion-infected cells: implications of interferon and phosphodiesterase 4D interacting protein. *Journal of Virology*, 88, 4083-4099, 2014、doi: 10.1128/JVI.03775-13、査読有

Kurahashi H, Sakasegawa Y, Doh-ura K. Detection of Proteinase K-resistant prion protein (PrPres) in mouse neuroblastoma cells. *PSSJ Arch* 7:e074, 2014、査読有

Teruya K, Doh-ura K. Amyloid-binding compounds and their anti-prion potency. *Curr Top Med Chem*. 13(19):2522-2532, 2013、査読有

倉橋 洋史、堂浦 克美 . プリオン病の診断と治療 プリオン病治療の現状と展望 . *Clinical Neuroscience* , 31(9)1093-1095, 2013、査読無

Honda H, Sasaki K, Minaki H, Masui K, Suzuki SO, Doh-ura K, Iwaki T. Protease-resistant PrP and PrP oligomers in the brain in human prion diseases after intraventricular pentosan polysulfate infusion. *Neuropathology*, 32(2):124-132, 2012、doi: 10.1111/j.1440-1789.2011.01245.x、査読有

堂浦 克美 . 神経ウイルス感染症の最前線 プリオン病研究の最前線 . *NEUROINFECTION* , 17(1)136-141, 2012、査読無

〔学会発表〕(計13件)

堂浦 克美 . 抗プリオン化合物の作用機序に関する考察、徳島大学疾患酵素学研究センタープリオンセミナー・徳島、徳島大学、2015年2月27日

Sakasegawa Y, Doh-ura K. A platinum compound enhances the protease sensitivity of PrPres in cell lysates. Asian Pacific Prion Symposium 2014, Jeju, Korea, July6-7, 2014

堂浦 克美 . TSE プリオンとプリオノイドの違い、第55回日本神経病理学会総会学術研究会・東京、学術総合センター、2014年6月7日

逆瀬川 裕二、西澤 桂子、堂浦 克美 . プリオン複製に関わる宿主因子の細胞生物学的および生化学的な探索アプローチ。第86回日本生化学会大会・横浜、パシフィコ横浜、2013年9月11日-13日

Doh-ura K. Drug discovery for prion diseases: dream and reality. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Nagasaki, Huis Ten Bosch, July21-22, 2013

Sakai E, Sakasegawa Y, Doh-ura K. Glycerol enhances the PrPres production via a PI3K signaling pathway in prion-infected neuroblastoma cells. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Nagasaki, Huis Ten Bosch, July21-22, 2013

堂浦 克美 . ヤコブ病治療研究の現状と課題。第6回食と医療の安全に関わるプリオン病の市民講座・東京、東京医科大学病院、2012年12月2日

Sakasegawa Y, Doh-ura K. Extracellular heat shock protein 90 enhances PrPres production in prion-infected neuroblastoma N2a cells. Asian Pacific Prion Symposium 2012, Yokohama, Pacifico Yokohama, July29-30, 2012

Kurahashi H, Doh-ura K. Applicational research from yeast prion to mammalian prion with Gpg1 and Rnq1 100 that inhibit propagation of yeast prion. Asian Pacific Prion Symposium 2012,

Yokohama, Pacifico Yokohama, July29-30, 2012

Hamanaka T, Doh-ura K. Melanin-like substances extracted from insect cuticle reduce the PrPres levels in prion-infected cells. Asian Pacific Prion Symposium 2012, Yokohama, Pacifico Yokohama, July29-30, 2012

Sakai E, Doh-ura K. Glycerol enhances the protease-resistance prion protein production in prion-infected neuroblastoma cells. Asian Pacific Prion Symposium 2012, Yokohama, Pacifico Yokohama, July29-30, 2012

坪井 義夫、堂浦 克美 . プリオン病に対する治療法の開発。第53回日本神経学会学術大会・東京、東京国際フォーラム、2012年5月25日

Sakasegawa Y, Goto Y, Hachiya N, Kaneko K, Doh-ura K. Dominant negative inhibition by GPI anchor-less recombinant prion proteins is observed in persistently prion infected N2a cells in a culture medium-dependent manner. Prion2012, Amsterdam, Nederland, May09-12, 2012

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.prion.med.tohoku.ac.jp/prion.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堂浦 克美 (DOH-URA, Katsumi)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00263012