

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19540

研究課題名(和文)プリオン病の病因論に新展開をもたらす研究

研究課題名(英文)Study for bringing a new dimension in the pathogenesis of prion disease.

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) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：ハムスター順化プリオンを、プリオン蛋白(PrPc)欠損マウスに脳内接種すると、非炎症性脳病変が生じる。本研究では、この現象とプリオンとの関連を調べることで、プリオン病の病因論を再考した。ハムスター順化プリオンで発病したPrPc欠損マウスの脳乳材を、新たなPrPc欠損マウスの脳内に接種し約3年間観察したが、有意な神経変性はなく、異常蛋白質の蓄積もなかった。ハムスター順化プリオンそのものはPrPc欠損マウス脳で障害をもたらすが、その病原性はPrPcなしには伝播しなかった。したがって、プリオンの伝播と病原性は分離でき、プリオンの病原性発現にはPrPcを必要としない経路があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ノーベル賞受賞者であるブルシナー博士が提唱したプリオン説は、世界中の研究者のコンセンサスを得て定着しているが、一部には未だにプリオン説で説明し難い現象が存在する。例えば、特定の凝集プリオン蛋白でのみ伝播性・病原性が観察され、伝播性・病原性が観察されない凝集プリオン蛋白が大半である。また、異常型プリオン蛋白の存在を実証できないプリオン病が存在する。今回、申請者の発見を展開した本研究の成果である「プリオンの伝播と病原性は分離できる」は、プリオン病の病因論に新局面をもたらすことが期待される。また、この成果はアルファ・シヌクレイノパチーなどプリオン病類縁疾患の病因論にも影響を与える可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Intracerebral inoculation of hamster-adapted prions into the brain of mice lacking the cellular prion protein (PrPc) results in non-inflammatory brain lesions. In this study we investigated how this phenomenon is associated with prions, and we reconsidered the pathogenesis of prion disease. The brain homogenate of PrPc-deficient mice infected with hamster-adapted prions was inoculated into the brain of new PrPc-deficient mice, and the mice were observed for about 3 years. The results indicated that there was neither neurodegeneration nor abnormal protein deposition in the brain. Thus, hamster-adapted prions themselves caused damage in the brain of PrPc-deficient mice, but their pathogenicity did not propagate without PrPc. These findings suggest that pathogenicity can be separated from prion transmission; PrPc is required for the transmission of prions, but there is a PrPc-free pathway in the pathogenesis of prions.

研究分野：神経化学

キーワード：プリオン 脳神経疾患 病因論

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

プリオン病の病原因子プリオンは、正常型プリオン蛋白(PrPc)が構造変換し多量体化して凝集体を形成した異常型プリオン蛋白であるとするプリオン説は、今日では世界中の研究者が認める常識である。しかし、申請者は、ハムスター馴化プリオンを PrPc が欠損したマウスに脳内接種すると、脳病変が生じ死に至るという奇妙な現象を発見した。この現象はプリオン説では説明不可能である。本研究では、ハムスター馴化プリオンで発病した PrPc 欠損マウスの脳ホモジネート試料を用いて、病原性や疾患伝播性を調べる実験を実施して、この奇妙な現象とプリオンとの関係性を明らかにしようとした。

#### 2. 研究の目的

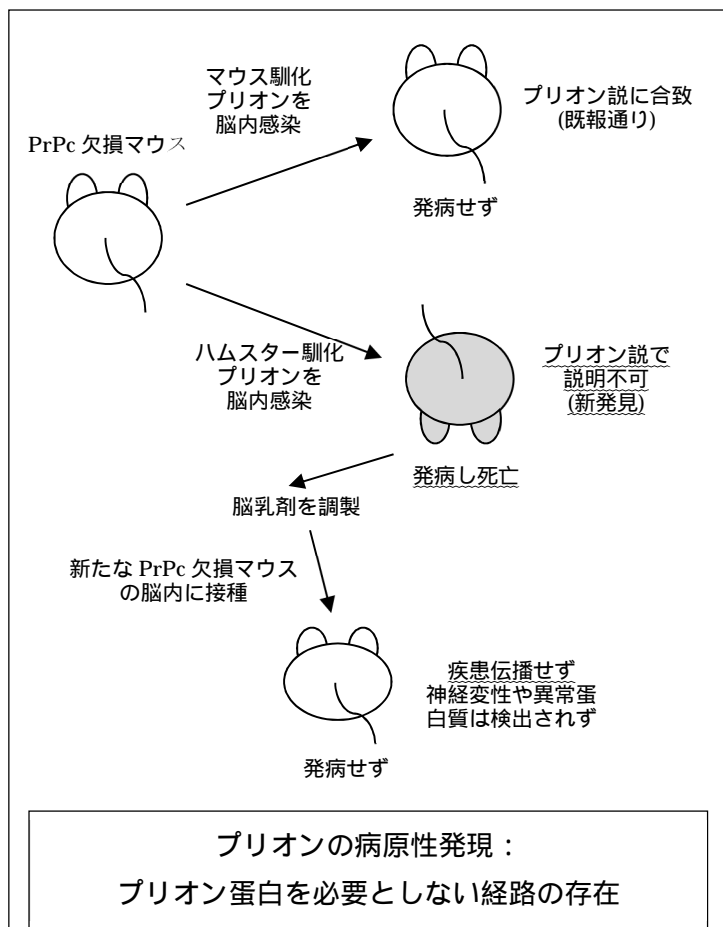
申請者は、これまでに実施されていなかったハムスター馴化プリオンを PrPc 欠損マウスに脳内接種する実験を行ったところ、約5ヶ月後にはマウスは非炎症性脳病変が生じ死に至った。この PrPc 欠損マウスにマウス馴化プリオンを脳内接種しても発病しないことは既報の通りであり、このハムスター馴化プリオンを野生型マウスに脳内接種しても発病しないことも既報の通りであった。本研究では、この奇妙な現象がプリオンとどのように関連しているかを調べることで、プリオン病の病因論に新たな局面をもたらすことを目的とした。

#### 3. 研究の方法

過去にプリオンを扱ったことがない器具類を整備して、ハムスター馴化プリオンで発病した PrPc 欠損マウスの脳を採材し、生理食塩水を加えてホモジナイズした後に軽遠心を行い、上清を回収して接種用の脳ホモジネート試料を作製した。新たな PrPc 欠損マウスの脳内に脳ホモジネート試料を接種し、疾患を発病するかどうかマウスを日々観察して調べた。なお、発病が確認された場合には、発病マウスの脳ホモジネート試料を作製して、新たな PrPc 欠損マウスへ接種する実験を繰り返し実施(継代実験)し、接種から発病までの潜伏期間・臨床症状・神経病理像(部位別のグリオシスや神経細胞脱落や神経網変化の程度)を解析することで、疾患の表現型に変化がないかどうかを調べる予定であった。また、脳内に蓄積する異常蛋白質を各種の免疫組織化学法・ウエスタンブロット法で解析し、異常蛋白質が確認された場合は異常蛋白質の組織沈着パターンと蛋白分解酵素処理抵抗性・蛋白質変性剤可溶性などを解析する予定であった。さらに、疾患が継代された場合は、伝播性病原因子の「株」現象が維持されているかどうかの解析や、伝播性病原因子の化学的特性解析や組成分析を実施する予定であった。最終的には実験結果を総合して、病原因子の特性やプリオンとの関係性について結論を得て、病因論について新たな局面を考察した。

#### 4. 研究成果

ハムスター馴化プリオンで発病した PrPc 欠損マウスの脳乳材を別の PrPc 欠損マウスの脳内に接種して、約3年間マウスを観察してきたが外見・体重・反射反応・行動・認知機能・記憶等において異常は観察されなかった。これらのマウスを安楽死させ脳を採取して、神経病理学的解析を行ったが、部位別のグリオシスや神経細胞脱落や神経網変化の程度において対照群と比べて明らかな異常は検出されなかった。また、各種の免疫組織化学法・ウエスタンブロット法で異常蛋白質の検出を行ったが、異常蛋白質は全く検出されなかった。以上から、ハムスター馴化プリオンそのものは PrPc 欠損マウス脳で障害をもたらすが、その病原性は PrPc なしには伝播しないことが明らかとなり、プリオンの伝播と病原性は分離でき、プリオンの病原性発現経路には PrPc を必要としない経路があることが示された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hannaoui S, Arifin MI, Chang SC, Yu J, Gopalakrishnan P, Doh-Ura K, Schatzl HM, Gilch S.	4. 巻 152(6)
2. 論文標題 Cellulose ether treatment in vivo generates chronic wasting disease prions with reduced protease resistance and delayed disease progression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neurochem.	6. 最初と最後の頁 727-740
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.14877.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Abdulrahman BA, Tahir W, Doh-Ura K, Gilch S, Schatzl HM.	4. 巻 13(1)
2. 論文標題 Combining autophagy stimulators and cellulose ethers for therapy against prion disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Prion.	6. 最初と最後の頁 185-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19336896.2019.1670928.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Schatzl H, Gilch S, Doh-ura K.	4. 巻 108(8)
2. 論文標題 Preparation and Characterization of Cellulose Ether Liposomes for the Inhibition of Prion Formation in Prion-infected Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Pharm Sci.	6. 最初と最後の頁 2814-2820
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2019.03.025.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kitamoto T, Doh-ura K.	4. 巻 1863(2)
2. 論文標題 Intermolecular crosslinking of abnormal prion protein is efficiently induced by a primuline-sensitized photoreaction.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochim Biophys Acta Gen Subj.	6. 最初と最後の頁 384-394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2018.11.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Teruya K, Oguma A, Nishizawa K, Kamitakahara H, Doh-ura K.	4. 巻 12(9)
2. 論文標題 Pyrene conjugation and spectroscopic analysis of hydroxypropyl methylcellulose compounds successfully demonstrated a local dielectric difference associated with in vivo anti-prion activity.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0185357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0185357.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 逆瀬川 裕二、堂浦 克美	4. 巻 35(12)
2. 論文標題 プリオン病の多様性と治療開発	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 実験医学 増刊	6. 最初と最後の頁 27-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件(うち招待講演 1件/うち国際学会 12件)

1. 発表者名 Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kamitakahara H, Doh-ura K.
2. 発表標題 Protection to prion infection by cellulose ether compounds depends on host mouse strains.
3. 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kamitakahara H, Doh-ura K.
2. 発表標題 Cellulose ether liposomes for the inhibition of prion formation.
3. 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kamitakahara H, Schatzl HM, Gilch S, Doh-ura K.
2. 発表標題 Characterization of cellulose ether liposomes for the inhibition of prion formation in prion-infected cells.
3. 学会等名 PRION2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Gopalakrishnan P, Yu J, Hannaoui S, Chang SC, Arifin MI, Doh-ura K, Schatzl HM, Gilch S.
2. 発表標題 Cellulose ethers interfere with CWD prion propagation in vitro and in vivo.
3. 学会等名 PRION2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Doh-ura K.
2. 発表標題 Photoreaction-induced SDS-resistant PrP Sc/res oligomer formation.
3. 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Doh-ura K.
2. 発表標題 Liposomal formulation improved the anti-prion activity of cellulose ether compounds in ScN2a cells.
3. 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1 . 発表者名 Sakasegawa Y, Nishizawa K, Oguma A, Teruya K, Doh-ura K.
2 . 発表標題 A platinum compound enhances the endogenous proteolytic degradation of the PrPC and PrPres in mouse neuroblastoma N2a cells.
3 . 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2018 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Doh-ura K, Teruya K, Nishizawa K, Oguma A, Sakasegawa Y, Kamitakahara H.
2 . 発表標題 Cellulose ether compounds exert protection to prion infection; a biological parameter related to the effectiveness of compounds.
3 . 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2017 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Teruya K, Oguma A, Nishizawa K, Kamitakahara H, Doh-ura K.
2 . 発表標題 Pyrene index of hydroxypropyl methylcellulose compounds correlates with the in vivo long-lasting anti-prion activity.
3 . 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2017 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Nishizawa K, Teruya K, Oguma A, Sakasegawa Y, Doh-ura K.
2 . 発表標題 Anti-prion activities of cellulose ether compounds in prion-infected cells are consistent with long-lasting anti-prion activities in vivo.
3 . 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2017 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2017年

1. 発表者名 Sakasegawa Y, Nishizawa K, Oguma A, Teruya K, Doh-ura K.
2. 発表標題 C-terminal chaperone domain of heat shock protein 90 modifies the conformation of cellular prion protein central region in the presence of copper ion.
3. 学会等名 Asian Pacific Prion Symposium 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Doh-ura K.
2. 発表標題 Protein Aggregation - Prions: still untouchable agents -.
3. 学会等名 XXIII World Congress of Neurology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 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 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/32729	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 コンフォメーション病治療用材料、及びその製造方法、並びに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 堂浦 克美、照屋 健太	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-169312	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 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 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-093414	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件



〔その他〕

東北大学大学院医学系研究科神経化学分野  
<https://www.neurochemistry.med.tohoku.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----