

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K06506

研究課題名(和文) プリオンによるA・タウ・シヌクレイン・TDP43の脳内沈着誘発の可能性の検討

研究課題名(英文) Association of prion proteins with other neurodegenerative disease-related proteins

研究代表者

高尾 昌樹 (Takao, Masaki)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・病院 臨床検査部・部長

研究者番号：50245487

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：51例のCJDを検討。平均年齢 $71 \pm 11$ 歳。Thal phase(アミロイド)は、0(29例)、1-2(15例)、3(3例)、4-5(4例)であった。タウ蛋白(神経減線維変化)の進展度Braakステージは、0(17例)、1-2(28例)、3-4(5例)、5-6(1例)であった。ADNCは、None(30例)、Low(16例)、intermediate(5例)、high(0例)であった。孤発性CJDと遺伝性CJDでは、タウに関して、孤発性CJDで有意差をもって軽いことが示された。プリオン蛋白と神経変性疾患関連蛋白との沈着について一部では関連がある可能性を否定できず更なる検討を要する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

プリオン病はBSEによって種の壁を越える伝達性疾患である。近年アルツハイマー病のアミロイド、タウ、パーキンソン病におけるシヌクレインなどもプリオンと同様な機序で脳内を伝達拡大することや、一部の状況下では他人の組織から感染する可能性(屍体から採取して使用した硬膜)も指摘されており、プリオン病の病態を解明することは重要である。本研究で得られた成果がただちにプリオン病の病態解明に繋がるものではないものの、近年のCryo-EMにより、神経変性疾患関連蛋白の原子構造が次々と明らかになり、今後、原子構造からみた研究によっても、プリオンやほかの神経変性疾患関連蛋白との関連なども明らかになる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Fifty one CJD cases were studied. Mean age was  $71 \pm 11$  ys. Thal phase (amyloid beta) was 0 (29 cases), 1-2 (15 cases), 3 (3 cases), and 4-5 (4 cases). Braak stage of progression of tau protein was 0 (17), 1-2 (28), 3-4 (5), and 5-6 (1). ADNC was none (30), low (16), intermediate (5), high (0). The results showed a significant difference in tau between SCJD and FCJD, with the SCJD group having a significantly milder tau level. The possibility of an association between prion protein deposition and neurodegenerative disease-related proteins in some cases cannot be ruled out and requires further investigation.

研究分野：臨床神経病理学

キーワード：プリオン クロイツフェルト・ヤコブ病 アミロイドベータ タウ アルツハイマー病

## 1. 研究開始当初の背景

プリオン病は、従来種の壁を越えない感染性（伝達性）疾患と考えられていたが、BSE によって種の壁を越える伝達性の疾患としての位置づけがなされている。したがって、公衆衛生の観点からもその病態を解明することは極めて重要である。加えてプリオンという蛋白が感染性を有するという研究を背景に、近年はアルツハイマー病におけるアミロイドβ、タウ、パーキンソン病におけるαシヌクレインなどもプリオンと同様な機序で脳内を伝達拡大することや、一部の状況下では他人の組織から感染する可能性（屍体から採取して使用した硬膜）も指摘されており、プリオン病の病態を解明することは広く神経変性疾患の病態解明にも関連し重要である。

プリオン病の脳における異常プリオン蛋白 PrP<sup>res</sup> が、神経変性疾患関連タンパクであるアミロイドβ、タウ、αシヌクレイン、TDP-43 といった蛋白沈着に影響を与えるかどうかは明らかではない。ヒトプリオン病の海馬で、PrP<sup>res</sup> がタウ沈着に与える影響の研究がある（Brain Pathol 2017;27:332）。しかし全脳での研究ではなく、ほかの神経変性疾患関連蛋白との関連は検討されていなかった。また、日本では欧米にない遺伝性プリオン病(V180I)の研究も可能である。とくに、V180I は高齢発症が多いことから、ほかの異常蛋白が沈着していることも多く、その実態を明らかに出来る可能性もあると考えた。

一方、プリオン病はその感染性と一旦発症すると100%致死的事であることから、ヒト死後脳を用いた研究をすることは特に日本では難しいことが多い。病理解剖を含めて症例を蓄積して研究を行う本研究には一定の意義があると考えた。

## 2. 研究の目的

異常プリオン蛋白 PrP<sup>res</sup> が、神経変性疾患関連タンパクであるアミロイドβ、タウ、αシヌクレインといった蛋白沈着に影響を与えるかどうかを、病理学的に明らかにすることを目的とした。神経変性疾患関連蛋白の伝播が、プリオン病と類似機序が考えられているなかで、PrP<sup>res</sup> が、異なる神経変性疾患関連蛋白へ影響を及ぼすかを病理学的に解明するものである。神経変性疾患関連蛋白はすでに脳内の拡がり方がある程度確立されているので、多くの解剖学的部位を半定量的に比較・検討することで、神経変性疾患関連蛋白の分布・程度が通常と異なる状態を検出しやすい。PrP<sup>res</sup> も同様な評価を加え、他の蛋白との関連を明らかにできる。解剖例の少ないプリオン病例を研究目的で多数有するブレインバンクでこそ可能な研究であり、将来、分子生物学的に蛋白間の関連を検討する上でも意義ある情報を提供できる。

## 3. 研究の方法

研究期間において、ブレインバンクに登録されている（研究同意の得られている）プリオン病の症例において、分子生物学的情報が確立されているプリオン病を対象とした。また、研究期間中にあらたに登録された症例も並行して研究を行った。病理学的な解析として、基本的なプリオン病病理の評価を行った。HE染色と抗PrP免疫染色（3F4抗体）でプリオン病を確定させた。加えて、神経変性疾患関連蛋白沈着の評価を行うために：アミロイドβ、タウ、αシヌクレイン各蛋白関連の病理学的進展ステージと、各解剖学的部位での沈着程度を評価した。上記によってプリオン病において、神経変性疾患関連蛋白の病理学的実態を検討した。各異常蛋白の沈着の程度は病理学的なステージとして国際的に認められている評価方法を用いた。

## 4. 研究成果

全体で51例を検討することが可能であったので、その結果を示す。対象の平均年齢は71±11歳であった。孤発性CJD（38例）に加え、遺伝性CJD（12例）、硬膜移植(DCJD)（2例）を含めた検討結果を示す。アミロイドβの進展度を示すThal phaseでは、0（29例）、1（14例）、2（1例）、3（3例）、4（3例）、5（1例）であった（図1）。タウ蛋白の沈着の指標としての神経原線維変化の進展度 Braak ステージは、0（17例）、1-2（28例）、3-4（5例）、5-6（1例）であった（図1）。National Alzheimer's Coordinating Center (NACC)によるアルツハイマー病神経病理変化という観点からは、アルツハイマー病らしさで、None（30例）、Low（16例）、intermediate（5例）、high（0例）であった（図1）。

孤発性CJD（38例）と遺伝性CJD（12例）では、対象症例においては死亡時年齢がそれぞれ69±9歳、77±13歳と差がみられることから、それぞれのグループでの検討を追加した。硬膜移植例は2例のみであったことから、追加検討対象からは削除した。孤発性CJDと遺伝性CJDとのアミロイドβ沈着とタウ沈着のそれぞれの分布の比較を図2に示す。アミロイドβに関しては統計学的な有意差は見出されなかったが、タウ（神経原線維変化）に関しては、孤発性CJDにおいて進展度が有意差をもって軽いことが示された。

レビー小体病でみられるアルファシヌクレインの沈着は Braak のステージ 2（臨床的には運動障害は示さないレベル）が2例、6（びまん性レビー小体病、あるいは新皮質型に相当）が2例であった。

検討から除外をした硬膜移植による CJD では 1 例ではアミロイド β、タウの沈着は見られなかったが、1 例ではアミロイド β の沈着が高度であった。

本研究で得られた成果がただちにプリオン病の病態解明に繋がるものではないもののいくつかの興味深い結果が得られた。孤発性 CJD においては、アミロイド β の沈着は 22 例 (43%)、タウは 34 例 (67%) にみられたが、中等度以上の症例は多くなかった。研究開始時の予想では、神経変性疾患関連蛋白の沈着が高度にみられることを考慮していたことから、予想とは反対の結果であるが、今後症例数の追加をすることでより確実な結果を得る必要がある。一方、孤発性 CJD と遺伝性 CJD を分けて検討した場合、アミロイド β の沈着の差は明瞭ではないが、タウの沈着において遺伝性 CJD のグループでやや進展している可能性が得られた。ただ、統計学的には有意差があるものの、今回の検討では遺伝性 CJD のほう年齢がやや高いことから、単純に年齢に伴う変化である可能性も否定はできていない。遺伝性 CJD はいくつかの変異により臨床病理学的な表現型が異なることから、さらなる検討を目指したい。

アミロイド β とタウをあわせて考えるアルツハイマー病理変化としてみた場合には、中等度以上の症例が 5 例あったことは重要である。CJD においては臨床的に進行性認知症がみられるが、アルツハイマー病理変化は短期間に完成するものではないと考えられることから、この変化は CJD を発症する前にすでに存在していると考えられる。したがって、臨床症候にどのような影響を与えるのかといった臨床医学的な検討も今後重要になる。とくに、高齢化の進む日本において、高齢発症の多い V180I の遺伝性変異を有する CJD も多く見いだされ、多角的な検討の必要性を残している。また、近年の Cryo-EM により、神経変性疾患関連蛋白の原子構造が次々と明らかになり、プリオン病の研究も欧米では進行している (Acta Neuropathol. 2022 Sep;144(3):509-520. Cell Tissue Res. 2023; 392(1): 167-178.)。今後、原子構造からみた研究によっても、プリオンやほかの神経変性疾患関連蛋白との関連なども明らかになる可能性がある。本研究にあたって硬膜移植例 2 例において、アミロイド β の沈着が高度であったことは、アミロイド β の伝達性を示唆する可能性を支持する症例である可能性があることも重要な点である。

以上、クロイツフェルト・ヤコブ病を中心に神経変性疾患関連蛋白との関連について病理学的な検討を行った。近年 SAR-CoV-2 やそれに対するワクチンと、プリオン病を含めた神経変性疾患の発症や進行との関連を指摘する報告もあるが、本研究のように死後脳を用いた研究手法は、そういった疑問も解決できる可能性がある。

図 1 : 51 例のアミロイド β の進展 (左)、タウ (神経原線維変化の進展 (中央)、アルツハイマー病神経病理変化の程度 (右))

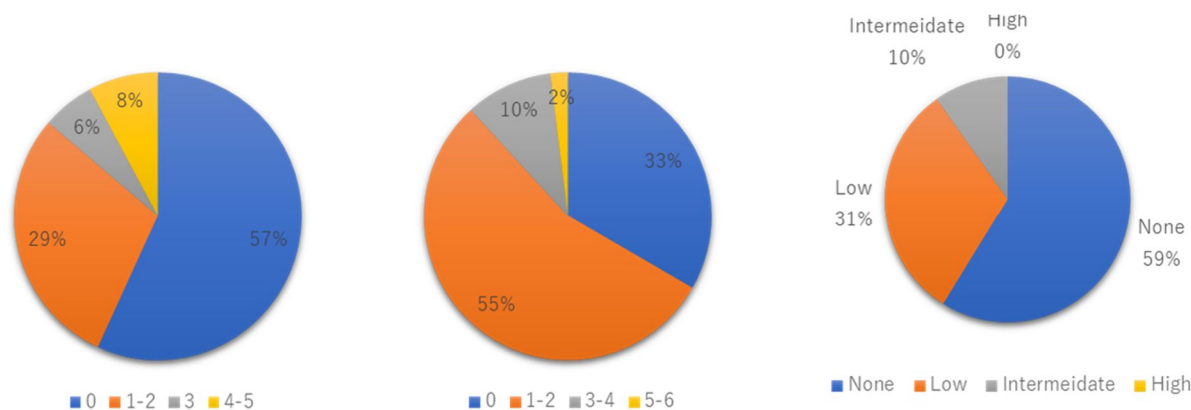
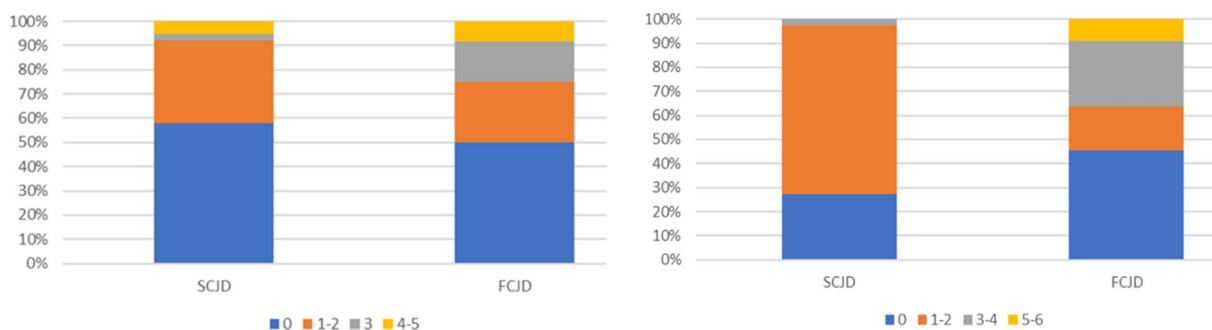


図 2 : 孤発性 CJD と遺伝性 CJD におけるアミロイド β (左) とタウ (神経原線維変化) (右) の進展度の比較



## 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 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Dong Thi-Trung, Akagi Akio, Nonaka Toshiaki, Nakagaki Takehiro, Mihara Ban, Takao Masaki, Iwasaki Yasushi, Nishida Noriyuki, Satoh Katsuya	4. 巻 159
2. 論文標題 Formalin RT-QuIC assay detects prion-seeding activity in formalin-fixed brain samples from sporadic Creutzfeldt-Jakob disease patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurobiology of Disease	6. 最初と最後の頁 105504 ~ 105504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbd.2021.105504	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 Okamoto Kosuke, Takeda Akitoshi, Hatsuta Hiroyuki, Sano Terunori, Takao Masaki, Ohsawa Masahiko, Miki Yukio, Nakamichi Kazuo, Itoh Yoshiaki	4. 巻 -
2. 論文標題 An autopsy case of progressive multifocal leukoencephalopathy with massive iron deposition in juxtacortical lesions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12898	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Takao Masaki, Ohira Masayuki	4. 巻 77
2. 論文標題 Neurological post acute sequelae of <sc>SARS CoV</sc> 2 infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 72 ~ 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pcn.13481	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 Satoh Katsuya, Fuse Takayuki, Nonaka Toshiaki, Dong Trong, Takao Masaki, Nakagaki Takehiro, Ishibashi Daisuke, Taguchi Yuzuru, Mihara Ban, Iwasaki Yasushi, Yoshida Mari, Nishida Noriyuki	4. 巻 24
2. 論文標題 Postmortem Quantitative Analysis of Prion Seeding Activity in the Digestive System	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 4601 ~ 4601
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules24244601	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 Yukiko Tanaka, Masaki Ikeda, Ban Mihara, Yoshio Ikeda, Katsuya Sato, Tetsuyuki Kitamoto, Masaki Takao	4. 巻 2
2. 論文標題 Importance of Neuropathological Diagnosis of Dementia Patients in Family Practice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JMA Journal	6. 最初と最後の頁 148 ~ 154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.31662/jmaj.2018-0060	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 -

1. 著者名 Hamaguchi Tsuyoshi, Sanjo Nobuo, Ae Ryusuke, Nakamura Yosikazu, Sakai Kenji, Takao Masaki, Murayama Shigeo, Iwasaki Yasushi, Satoh Katsuya, Murai Hiroyuki, Harada Masafumi, Tsukamoto Tadashi, Mizusawa Hidehiro, Yamada Masahito	4. 巻 91
2. 論文標題 MM2-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: new diagnostic criteria for MM2-cortical type	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry	6. 最初と最後の頁 1158 ~ 1165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jnnp-2020-323231	査読の有無 有
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3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Takao M, Tano M, Inoue T, Shirayoshi T, Kanai M, Furui K, Mihara B.
2. 発表標題 Establishment of brain bank for human prion diseases
3. 学会等名 The 96th Annual Meeting, Virtual meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takao M, Honda K, Koide M, Arai K, Mihara B, Kitamoto T.
2. 発表標題 Prion disease associated with a novel 96bp insertional mutation in the octapeptide repeat region.
3. 学会等名 American Association of Neuropathologists, Inc. The 95th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takao M, Kimura H, Kitamoto T, Mihara B.
2. 発表標題 PrPres deposition in the retina of sporadic, familial and iatrogenic Creutzfeldt-Jakob diseases (CJD)
3. 学会等名 19th International Congress of Neuropathology (ICN) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	美原 盤  (Mihara Ban)  (30190721)	公益財団法人脳血管研究所・その他部局等・研究員(移行)    (72301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------