

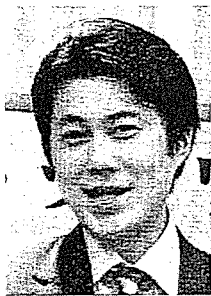
ま と め

ペントサン・ポリサルフェート(PPS)脳室内持続投与法はこれまで明らかな効果は示していませんが、全身的な副作用も認められず、安全性は高いといえます。今年はぜひ濃度の設定を考えたいと思っています。治療適応が一番問題で、残念ながら悪くなったところから立ち上げる治療ではないので、なるべくお元気うちに治療できる方が適応になると考えています。効果の判断は進行性の病気なので、進行が遅くなっているのか、変わらないのかは、ある程度の症例を積み重ねないと比較・判定できないので、有効性の判断はまだまだ先になるかと思えます。今年もこれまでの方のフォローアップをして、長期的な経過を観察しながら判断をしたいと考えています。

薬害肝炎弁護団より報告

「効かない・危険な薬」
が使われ続けた薬害

薬害肝炎訴訟 九州弁護団
古賀 克重 弁護士



薬害肝炎裁判は、提訴から2年が経ちまして終盤を迎えています。全国5地裁でやっているのですが、大阪が2月20日、九州が2月22日に結審し、いずれも夏ごろに判決が出るだろうと言われています。東京が年末に結審を向かえ、今年は薬害肝炎裁判にとって大きな1年になります。福岡・大阪で勝って、さらに東京で勝って全面解決に結びつけて行きたいと考えています。

この裁判自体は血液製剤で肝炎になってしまった方の裁判です。主に出産のときの止血剤に使われていた薬なのでお母さん方に被害者がたくさん出ました。それ以外にも脳外科手術・心臓手術などの止血剤で使われ、被告の三菱ウエルファーマーの少なめの試算でも1980年以降で50万本以上が29万人に使われて、少なくとも1万人以上の方が感染被害を受けているといわれています。1964年以降使われていた薬で、資料が残っている1980年以降で1万人ですから相当な数の被害者になるだろうといわれています。スモンのときに戦後最大の薬害といわれ1万人でしたが、そのスモンに匹敵する薬害といわれています。

この裁判の大きな特徴の一つは、実は効かなかった薬だということです。過去の薬害の場合は、例えばエイズでは

効く薬だったけれども非常に危険性が高かったのを見逃し、有効性と危険性のバランスを天秤にかけて、危険性が高いのに国が認可したことに問題があったのです。肝炎の場合、この薬自体は1998年になって効かない薬であったということで承認が取り消されました。ですが、実は1970年代の最初に再評価の制度で本当は取り消されなければならない薬でした。米国では1977年12月にFDAがこれは効かないむしろ肝炎の危険性が高いということで取り消しになりました。この情報が日本にも入ってきましたが、ヤコブやエイズと同じような構造で使われ続けました。これがこの裁判の特徴です。

※古賀弁護士の報告の後、全国で最初に実名を公表した九州原告の山口美智子さんが自らの経験と思いをお話されました。内容については、次号でご紹介いたします。

〈追加情報〉

薬害肝炎訴訟は、大阪で2006年6月21日、福岡で8月31日、いずれもフィブリノゲン製剤の安全性確保に関し、製薬会社と国を厳しく批判した原告勝訴の判決が下されました。しかし原告全員の救済までは至っておらず、課題も残されています。全国で128名(8月25日時点)の原告が提訴しており、東京地裁での判決(2007年2月頃予定)に期待が寄せられています。

ヤコブ病 サポートネットワーク 相談窓口

◇本部・岐阜県中津川市 0573-62-4970

*eメール cs-net@takenet.or.jp

*ホームページ <http://www.cjd-net.jp>

◇西日本：滋賀県大津市 0748-72-1478

◇東日本：東京都 03-5391-2100

◇北海道：札幌市 011-813-7049

プリオン病

徳島大学分子酵素学研究センター分子細胞学部門／教授

坂 口 末 廣

アステラス製薬「感染症」VOL.36 No. 4 (2006.7) 通巻 第210号 掲載

解説 [I]

プリオン病

坂口 末廣*

ウシプリオン病である狂牛病(牛海綿状脳症, bovine spongiform encephalopathy : BSE)がヒトに感染する可能性が指摘されて以来, 食に対する安全性が潜在的感染の恐怖も加わり大きな社会的問題となっている。狂牛病の発生は, 人間の利便性のみを追及し自然の法に背いた結果である。そして, もともと草食動物であるウシに強制的に共食いさせた人間の愚かさをあからさまに見せつけた事例でもある。

世界中の研究者が精力的にプリオン病に取り組んでいるが, 未だプリオン病は不治の病である。ここでは, プリオン病について, 特にヒトプリオン病とBSEについて, またプリオン病の病原体「プリオン」について概説する。

I. プリオン病

プリオン病または伝達性海綿状脳症は, 新規の病原体「プリオン」により引き起こされる中枢神経変性疾患である。プリオン病は, ヒトのみでなくヒツジやウシなどの動物にもみられる。現在のところ, 有効な治療法はなく, 致死性疾患である。病理学的変化は中枢神経系のみに限局し, 著明な脳萎縮がみられる。広範囲に海綿状空胞が無数に観察される(カラー頁図1)。神経細胞は変性を起こし脱落し, アストロサイトやミクログリアは異常に活性化している(グリオーシス, カラー頁図2)。また, 異常プリオン蛋白が沈着し形成されたアミロイド斑(クールー斑)も観察される。そしてプリオン病では, 通常感染症にみられるような抗体産生などの免疫学的反応は認められない。

1. ヒトプリオン病

ヒトのプリオン病は, その成因により孤発性, 遺伝性, および感染性プリオン病に分類される(表1)。大部分(85~90%)を孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病(Creutzfeldt-Jakob disease : CJD)が占めている。初老期に発症し, 痴呆, 小脳機能

表1 ヒトプリオン病の成因による分類

成因	疾患名
孤発性	孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病
遺伝性	家族性クロイツフェルト・ヤコブ病 ゲルストマン・ストロイスラー・シェインカー症候群 致死性家族性不眠症
感染性	クールー 医原性プリオン病 変異型クロイツフェルト・ヤコブ病

障害およびミオクローヌス等を主症状とする。有病率は100万人に一人の割合である。発生率は毎年200万人に一人である。成因は全く不明である。しかし興味深いことに, 患者脳をマウス等の実験動物に接種すると, 動物は感染し発症する。このことは, 感染が成因であることを示唆しているのかもしれない。残りの大部分(10~15%)は, 遺伝性プリオン病である。優勢遺伝の形式をとる。プリオン蛋白(PrP)遺伝子に変異が認められる(カラー頁図3)。遺伝性プリオン病には, 家族性CJD, ゲルストマン・ストロイスラー・シェインカー症候群(Gerstmann-Sträussler-Scheinker syn-

*Suehiro SAKAGUCHI 徳島大学分子酵素学研究センター分子細胞学部門/教授

drome : GSS) および致死性家族性不眠症 (fatal familial insomnia : FFI) がある。そして残りの数パーセントが、感染が原因でと考えられる感染性プリオン病である。古くは、パプア・ニューギニアのフォア (Fore) 族にみられた小脳失調症を呈するクールーが、感染性プリオン病として有名である。食人慣習による経口感染が病因と考えられている。また、医原性 (iatrogenic) CJD も感染性プリオン病である。医原性プリオン病の大きな原因は、プリオン病の発症前診断が不可能なことにある。そのため、ある病気で来院した患者が CJD に感染していると分からず、その患者に使用した手術器具や深部脳波電極などの医療器具が汚染され、その汚染した器具を介して他のヒトに CJD を感染させたケースも報告されている。また、CJD 感染者からの角膜移植や汚染脳硬膜移植、CJD 感染者から抽出された成長ホルモンの投与などによる医原性プリオン病も報告されている。そして最近、輸血が原因で感染したと考えられる CJD ケースも報告され^{1, 2)}、大きな関心を集めている。さらに現在問題になっている、BSE から感染したと考えられる若年発症の変異型 (variant CJD : vCJD) がある (詳細は後述)。

2. プリオン病の異種間感染

スクレーピー (scrapie) は、ヒツジに自然発症する病因不明の動物プリオン病である。イギリス、ドイツ、フランスでは数百年からすでにその存在は知られていた。1936年に、スクレーピー発症ヒツジ脳の乳剤を健康なヒツジに接種することにより、スクレーピーが実験的に感染したことが示された。その後、スクレーピーはハムスターやマウスなどの実験小動物にも感染することが相次いで報告され^{3, 4)}、スクレーピーは感染性疾患であることが認識されるようになった。また Gibbs と Gajdusek は、スクレーピーが旧または新世界サルへも感染することを明らかにし、スクレーピーがヒトへ感染する可能性を示唆した⁵⁾。しかし、プリオン病には“種の壁”と呼ばれる興味深い現象が存在し^{6, 7)}、これまでの疫学的調査でも、ヒツジからヒトへの感染は否定的である⁸⁾。

しかし最近、BSE がヒトに感染する可能性が強く指摘されている。1986年に英国ではじめて BSE が確認された。その後、BSE の発生件数は急激に増加し、1992年のピーク時には約37,000件の BSE が報告されている。2005年までに、合計184,370頭のウシが BSE に感染している。スクレーピー罹患ヒツジの肉骨粉をウシに与えたためにウシが感染し、さらに感染したウシの肉骨粉をウシに与えたために感染が拡大したと考えられている。実際、1988年から肉骨粉を与えることが禁止され、1992年をピークに BSE の発生数は減少し、現在では年間数百の BSE が報告されるのみである (2005年は225の BSE が報告)。このような状況の中、英国で1994年から1996年の間に、これまでの CJD と発症年齢、症状および脳の病理学的所見を異にする十数名の vCJD 患者が報告された。2006年5月までに、161名の vCJD 患者が報告され、155名の方が亡くなっている (英国 CJD サーベイランス・ユニットのホームページ : <http://www.cjd.ed.ac.uk>)。Lasmezras らは BSE 罹患ウシ脳を接種したマカクザルがプリオン病に感染したことを報告した⁹⁾。この結果は、疫学的調査の結果も含めて、vCJD が BSE から感染したことを強く示唆することとなった。しかし、BSE がヒトに本当に感染したかという疑問には、未だ完全に答えられていない。

英国以外にも、アイルランド、フランス、ポルトガル、スイスなどのヨーロッパの国々でも、BSE の発生が報告されている。日本では、平成13年に最初の BSE が報告されて以来、26頭の BSE が確認されている。また、フランスでは6名の vCJD の患者が、カナダ、アイルランド、イタリア、そして米国でそれぞれ1名の vCJD の患者が報告されている (2002年11月まで)。日本でも、2005年に1名の vCJD の患者が報告されている。米国の患者は長期間英国に滞在した経歴を持つ。また、日本の患者も、短期間であるが英国に滞在した経歴があり、英国で感染したのではないかと考えられている。

3. 孤発性 CJD と vCJD

vCJD は、孤発性 CJD と比べて多くの点で異な

表2 孤発性と変異型クロイツフェルト・ヤコブ病の比較

成因	孤発性	変異型
発症年齢(平均)	66歳	29歳
主症状	性格変化 痴呆 ふらつき	精神症状 四肢の痛み
罹病期間(平均)	4カ月	14カ月
脳波: PSD	あり	なし
アミロイド斑	まれ	無数(fluid plaque)

っている(表2)。孤発性CJDの発症年齢のピークは60歳代なのに対し、vCJDは29歳と非常に若いうちに発症する。孤発性CJDは性格変化・痴呆・ふらつきなどを初発症状とするのに対し、vCJDでは精神症状で発症することが多い。四肢の痛みなどの感覚障害もvCJDに特徴的である。症状の進行は孤発性CJDで早く、数カ月以内に無動性無言に陥る。これに対し、vCJDは進行が遅く、平均罹病期間は約14カ月と長い。また、孤発性CJDでは脳波検査にて典型的な周期性同期性放電(periodic synchronous discharge: PSD)が検出されるのに対し、vCJDでは検出できない。病理学的にも、孤発性CJDではアミロイド斑がまれにしか認められないのに、vCJDではアミロイド斑が無数に観察される。またこのアミロイド斑は、周囲が空胞で花弁状に取り囲まれたfluid plaqueという特徴的なアミロイド斑である。

II. 非通常病原体「プリオン」

プリオン病の病原体はウイルスや細菌などの病原微生物と異なり、通常のオートクレーブ(121℃, 30分間)では完全に不活化できない。また、紫外

線、アルコール、エチレンオキシドガスなどの処理でも不活化できない。ノーベル医学生理学賞受賞者であるPrusiner博士は、プリオン病の病原体は核酸を含まず蛋白のみで構成されているのではないかと考え、1982年にプリオン(prion: proteinaceous infectious particle; 蛋白性感染粒子)という概念を導入した¹⁰⁾。

1. 正常プリオン蛋白と異常プリオン蛋白

プリオン蛋白には、正常プリオン蛋白(PrP^C)と異常プリオン蛋白(PrP^{Sc})の二つの構造アイソフォームが存在する。PrP^Cはさまざまな正常組織に発現している。特に、中枢神経(神経細胞)に最も多く発現している。グリコシル・フォスファチジル・イノシトール(GPI)アンカーで細胞膜に結合し、細胞膜上に発現している糖蛋白である(カラー頁図4)。N末領域にはグリシンに富む8個のアミノ酸の繰り返し(octapeptide repeat: PHGGG₂WGQ)領域がある。この領域は銅(II)イオンと結合し、細胞内に銅(II)イオンを輸送するのに関与しているのではないかと考えられている。また、C末領域にはS-S結合が存在し、その間に二つのN型の糖結合がある。マウスPrP^CのNMRの解析の結果、N末領域(アミノ酸23~120)は無構造なランダムペプチドであり、C末領域(アミノ酸121~231)は3つのαヘリックス(42%)と2つの短いβシート(3%)が存在し、球状構造をとっていることが判明している(表3)。一方、異常プリオン蛋白(PrP^{Sc})は、プリオン病罹患組織(脳やリンパ組織など)にのみ特異的に検出される。脳内に沈着しアミロイドを形成する。PrP^{Sc}は、PrP^Cが何らかの機構を通じて構造変化を起こし産生されたものである。よって、両者のアミノ酸は全く同じである。しかし、両者の蛋白構造

表3 正常プリオン蛋白(PrP^C)と異常プリオン蛋白(PrP^{Sc})の相違点

プリオン蛋白(PrP)	蛋白分解酵素 (Proteinase K)	溶解性 (界面活性剤)	蛋白高次構造	
			αヘリックス	βシート
正常PrP(PrP ^C)	感受性	可溶性	42%	3%
異常PrP(PrP ^{Sc})	抵抗性	不溶性	30%	43%

は著しく異なる。PrP^{Sc}は、PrP^Cと比べ、 β シート
の含有量が43%と著明に増加している(表3)。

PrP^CとPrP^{Sc}の構造の違いは、両者の蛋白に
いくつかの生化学的な違いをもたらしている(表3)。
一つは、界面活性剤に対する可溶性の違いである。
PrP^Cは可溶性であるが、PrP^{Sc}は不溶性である。
もう一つは、蛋白分解酵素(proteinase K)に対
する感受性の違いである。PrP^Cはproteinase K処理
にて完全に消化されるが、PrP^{Sc}は抵抗性である。
このproteinase Kに対する感受性の違いを利用し
て、PrP^{Sc}を検出し、プリオン病、特にBSEの診
断がなされている(カラー頁図5)。

2. プリオン仮説 (カラー頁図6)

Prusiner博士は、PrP^{Sc}がプリオンであるとする
プリオン仮説を提唱した。この仮説によると、
一個のPrP^{Sc}が一個のPrP^Cとヘテロダイマーを形
成し、PrP^CをPrP^{Sc}へと変換させる。さらに、新
しく産生されたPrP^{Sc}は次のPrP^CをPrP^{Sc}へと変換
させる。このようにして、PrP^{Sc}は指数関数的に
増加する。そして、プリオンは複製する。このモ
デルは、LansburyやCaugheyらの提唱する核依
存性重合モデル¹¹⁾に対して、ヘテロダイマーモ
デルといわれている。核依存性重合モデルでは、
変性PrPが数個重合しPrP^{Sc}の核(seed)を形成す
る(核形成期)。この核が形成されると、PrP^Cがこ
の核に重合(polymerization)し、PrP^{Sc}への変換
が起こる(成長期)。このようにしてPrP^Cから
PrP^{Sc}への変換が起こり、長いPrP^{Sc}のポリマーが
形成される。プリオンの増殖は、このポリマーが
分断され、たくさんの新しい核が形成されること
によって起こる。どちらのモデルが正しいのか、
今後の成果に期待されることである。

3. 「種の壁」とプリオン仮説

正常プリオン蛋白(PrP^C)は種を超えて非常に保
存されている蛋白である(90~95%以上のアミノ
酸が同一)。しかし、それぞれの種のPrP^Cのアミ
ノ酸配列は僅かであるが種によって異なる。プリ
オン仮説によると、このアミノ酸の違いがPrP^C
とPrP^{Sc}(プリオン)との親和性を決定し、プリオ

ン病の種の壁をも決定していると考えられてい
る。つまり、同一種間でのプリオン感染が最も起
こりやすいのは、同一種のPrP^CとPrP^{Sc}との親和
性が最も高いからである。しかし、種が異なると、
PrP^CとPrP^{Sc}との親和性が低くなり、プリオン感
染が起こりにくくなる。ヒツジのPrP^{Sc}はヒトの
PrP^Cと結合しないために、ヒツジからヒトへの
感染は起こらない。一方、ウシのPrP^{Sc}はヒトの
PrP^Cとある程度結合できるために、BSEがヒトに
感染する。

おわりに

プリオン病の予防・治療法開発のための研究が
精力的に行われているが、残念ながら未だ有効な
方法はない。食の安全性の問題やプリオン感染へ
の潜在的恐怖を解決するにも、プリオン病の予
防・治療法の研究は重要である。これからの研究
の発展に期待したいと思う。また、医原性プリオ
ン病の発生をなくすには、プリオン病の発症前診
断法の確立が重要である。この方面の研究の発展
にも大いに期待したいと考えている。

文献

- 1) Llewelyn CA, Hewitt PE, Knight RSG, Amar K, Couse S, Mackenzie J and Will RG : Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* 2004 ; 363 : 417~421.
- 2) Peden AH, Head MW, Ritchie DL, Bell JE and Ironside JW : Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet* 2004 ; 364 : 527~529.
- 3) Chandler RL and Fisher J : Experimental Transmission of Scrapie to Rats. *Lancet* 1963 ; 41 : 1165.
- 4) Chandler RL : Encephalopathy in mice produced by inoculation with scrapie brain material. *Lancet* 1961 ; 1 : 1378~1379.
- 5) Gibbs CJ, Jr. and Gajdusek DC : Transmission of scrapie to the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *Nature* 1972 ; 236 : 73~74.
- 6) Dickinson AG : Scrapie in sheep and goats. *Front Biol* 1976 ; 44 : 209~241.

- 7) Bruce ME and Fraser H : Scrapie strain variation and its implications. *Curr Top Microbiol Immunol* 1991 ; 172 : 125~138.
- 8) Carlson GA, Hsiao K, Oesch B, Westaway D and Prusiner SB : Genetics of prion infections. *Trends Genet* 1991 ; 7 : 61~65.
- 9) Lasmezas CI, Deslys JP, Demaimay R, Adjou KT, Lamoury F, Dormont D, Robain O, Ironside J and Hauw JJ : BSE transmission to macaques. *Nature* 1996 ; 381 : 743~744.
- 10) Prusiner SB : Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982 ; 216 : 136~144.
- 11) Kocisko DA, Come JH, Priola SA, Chesebro B, Raymond GJ, Lansbury PT and Caughey B : Cell-free formation of protease-resistant prion protein. *Nature* 1994 ; 370 : 471~474.

プリオン病

坂口 末廣*

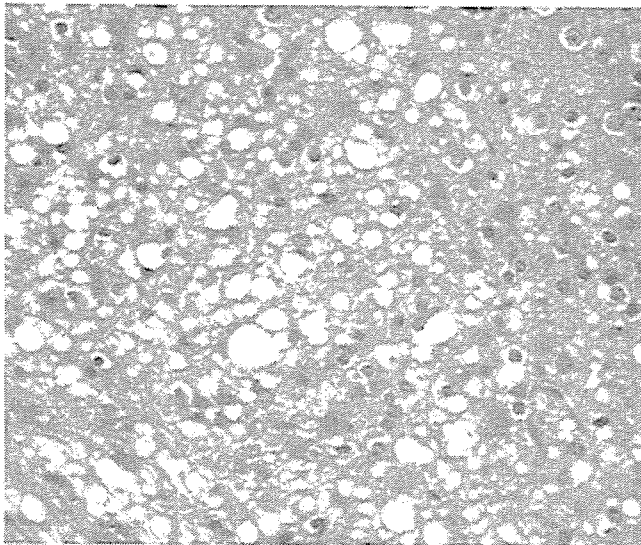


図1 プリオン感染マウス脳の内-E染色像
多数の空胞が認められる。その中には、空胞どうしが融合している像も見られる。

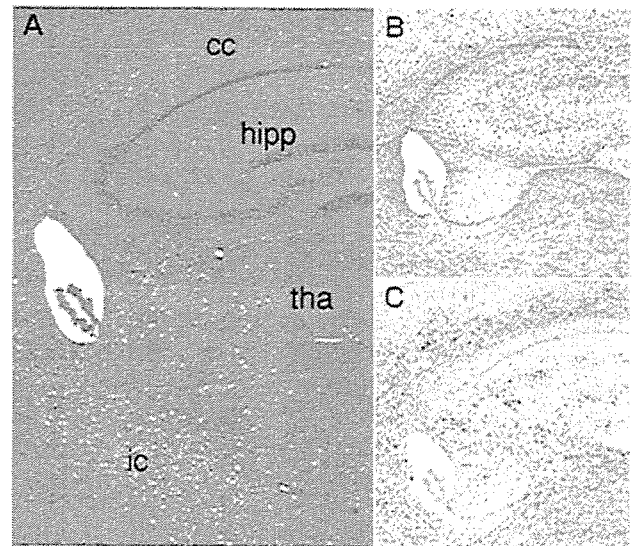


図2 プリオン感染マウス脳におけるグリオシス
A) H-E染色像: 図1と同様多数の空胞がみられる。
CC: corpus callosum, 脳梁
hipp: hippocampus, 海馬
tha: thalamus, 視床
ic: internal capsule, 内包
B) 抗GFAP (glial fibrillary acidic protein) 抗体によるアストロサイトの免疫組織化学染色像。著明な数のアストロサイトが染色されている。
C) 抗F4/80抗体によるミクログリアの免疫組織化学染色像。著明な数のミクログリアが染色されている。

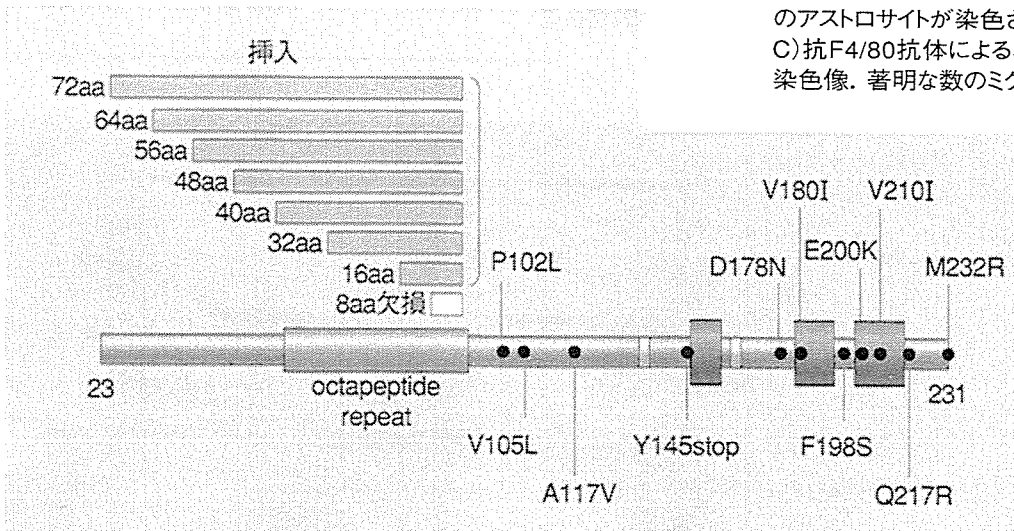


図3 遺伝性プリオン病における変異部位
Octapeptide repeatの領域には、それぞれ2, 4, 5, 6, 7, 8, 9個のoctapeptideに相当する16, 32, 40, 48, 56, 64, 72個のアミノ酸の挿入が認められる。また、1個のoctapeptideに相当する領域の欠損もみられる。また、この領域以降にも、さまざまなアミノ酸

変異が認められる。数字はアミノ酸番号を、大文字のアルファベットはそれぞれのアミノ酸を示す。詳しいPrPの蛋白構造は図4を参照。

* Suehiro SAKAGUCHI 徳島大学分子酵素学研究中心分子細胞学部門/教授

プリオン病

図 4

正常プリオン蛋白(PrP^c)の蛋白構造

マウスPrP^cは、254個のアミノ酸からなる前駆体として産生され、その後N末の22個のアミノ酸はシグナルペプチドとして取り除かれ、C末の23個のアミノ酸はGPIアンカーで修飾される時に切断される。番号はアミノ酸番号を示している。B1(アミノ酸128~131)とB2(アミノ酸161~164)は二つのβシート構造領域を、H1(アミノ酸144~154)、H2(アミノ酸179~193)とH3(アミノ酸200~217)は三つのαヘリックス構造領域を示している。S-SはSS結合を、YはN型糖鎖結合を表している。

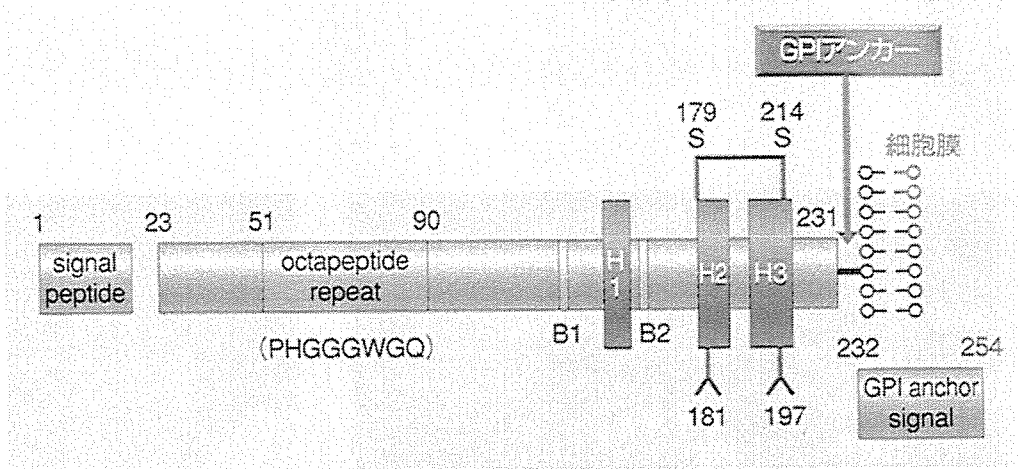


図 5 正常(PrP^c)および異常プリオン蛋白(PrP^{Sc})のウェスタン・ブロットニングによる検出

正常および感染マウス脳乳剤をproteinase K(PK)にて未処理(-)または処理(+)した後、抗PrP抗体を用いてウェスタン・ブロットニングを行った。正常脳では、PK未処理では検出できたシグナルも、PKで処理すると検出できなくなった。これが、PrP^cである。しかし、感染脳では、PK処理後にも強いシグナルが観察される。これが、PrP^{Sc}である。このようにして、PrP^cとPrP^{Sc}を区別する。

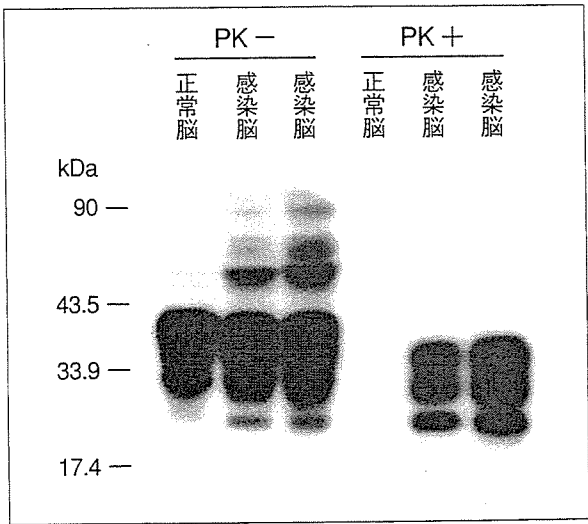
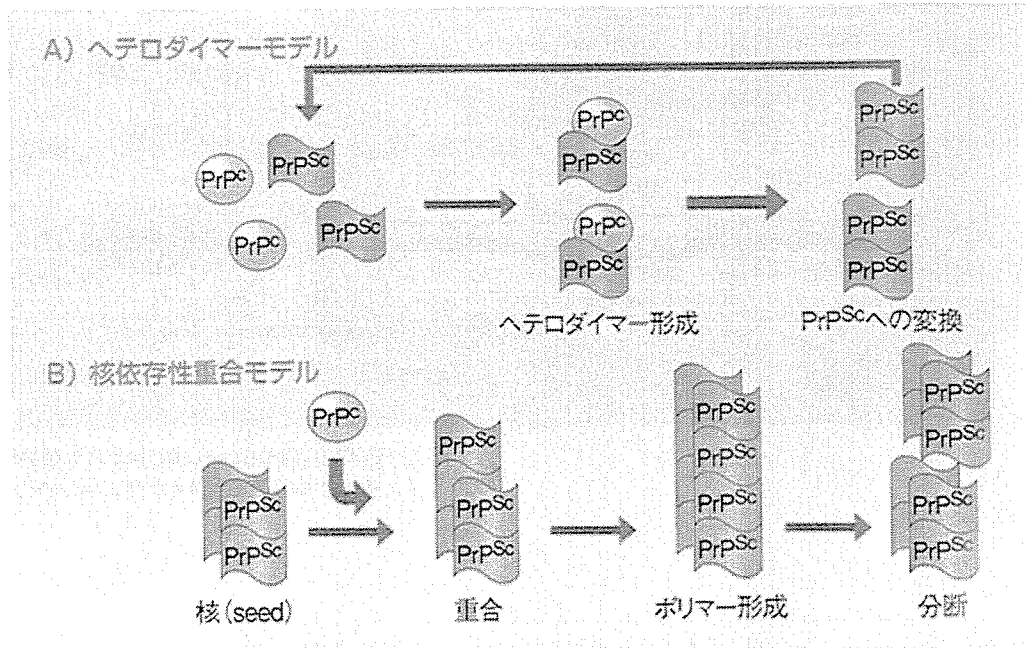


図 6

プリオン複製モデル
A)ヘテロダイマーモデル。
B)核依存性重合モデル。
詳細は本文参照。



5. プリオン蛋白質の生理機能

坂口 末廣*

正常プリオン蛋白質 (PrP^C) は、宿主蛋白質であり感染性はない。しかし、一旦構造変化を起こし異常プリオン蛋白質 (PrP^{Sc}) に変換すると感染性を帯びたプリオンとなり、プリオン病を引き起こす。これまでの研究により、PrP^C は神経細胞の生存維持、神経髄鞘の形成維持、高次脳機能に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。最近我々は、PrP 類似蛋白質 (PrPLP/Dpl) を発見した。この分子は神経変性作用を持ち、神経細胞を死に至らしめる。興味深いことに、PrP^C は PrPLP/Dpl と機能的に拮抗し、神経細胞が変性死を起こすことを抑制する。このように、PrP^C は神経系において重要な分子であることが明らかとなりつつある。

Key Words : プリオン蛋白質/プリオン蛋白質類似蛋白質/プリオン病/遺伝子欠損マウス/神経変性

I はじめに

プリオン蛋白質 (PrP) は宿主遺伝子にコードされた糖蛋白質である。PrP には正常プリオン蛋白質 (PrP^C) と異常プリオン蛋白質 (PrP^{Sc}) の2種類が知られている。PrP^C が構造変換し、PrP^{Sc} が産生される。その構造変換の詳細なメカニズムはいまだ明らかとなっていない。ノーベル賞受賞者である Prusiner 博士が提唱するプリオン仮説によると、プリオン病の病原体であるプリオンは PrP^{Sc} から構成されている¹⁾。プリオンつまり PrP^{Sc} が感染すると、PrP^{Sc} が PrP^C に結合し PrP^C の構造を PrP^{Sc} のそれに変換させると考えられている¹⁾。

PrP^C は多くの正常組織に発現しているが、特に中枢神経系に最も強く発現している。プリオン病では、PrP^C から PrP^{Sc} への構造変換に伴う PrP^C の減少による PrP^C の機能障害、PrP^{Sc} による PrP^C の機能阻害、または両者がプリオン病の病態に関与していると考えられている。よって、PrP^C の生理機能を明らかにすることは、プリオン病の病態

を解明するばかりでなく、プリオン病の治療薬の開発にも貴重な知見を与えることができ、大変重要であると考えられる。しかし、その生理機能は十分に明らかとなっていない。我々は、PrP 欠損 (PrP^{-/-}) マウスを用いた一連の研究により、PrP 類似蛋白質 (PrPLP/Dpl) を発見し、PrP^C が PrPLP/Dpl の神経変性作用を機能的に拮抗し神経保護作用を示すことを明らかにしてきた。ここでは、PrP^C 及び PrPLP/Dpl に関する我々の最近の知見及び内外からの報告について概説したいと考えている。

II プリオン蛋白質 (PrP)

1. PrP の遺伝子構造と蛋白質構造

ヒトの PrP 遺伝子は第20番染色体上に存在し、2つのエクソンからなる。マウスの PrP 遺伝子は第2番目染色体上に存在し、3つのエクソンから構成されている。蛋白質翻訳領域は、1つのエクソン内に存在し、ヒトでは2番目のエクソン内に、マウスでは3番目のエクソン内に存在す

る。PrP 遺伝子の発現は、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓などの多くの臓器に認められるが、特に脳において高い。

PrP^C は、糖脂質であるグリコシル・フォスファチジル・イノシトール (GPI) にて細胞膜表面にアンカーされた分子量 33 ~ 37kDa の糖蛋白質である。254 個のアミノ酸から成り、N 末最初の 22 個のアミノ酸はシグナル・ペプチドとして蛋白質合成時に取り除かれる (図 1)。また、C 末最後の 23 個のアミノ酸は、GPI アンカー・シグナルとして機能し、GPI アンカー付加時に取り除かれる (図 1)。PrP^C の N 末領域は特別な構造を形成しておらずランダム構造である。この領域には、8 個のアミノ酸 (PHGGGWGQ [P: プロリン, H: ヒスチジン, G: グリシン, W: トリプトファン, Q: グルタミン]) が 5 回繰り返したオクタペプチド・リピート領域が存在する (図 1)。この領域は PrP に特異的に認められ、領域内に存在するヒスチジン (H) が銅イオンと結合し、酸化ストレスを緩和するのに関与していると考えられている。C 末領域は、2 つの短い β ・シート構造及び 3 つの α ・ヘリックス構造を持ち、球状構造をしている

(図 1)。2 番目と 3 番目の α ・ヘリックスはジスルフィド (S-S) 結合により連結されている (図 1)。また C 末領域には、N 型の糖鎖が付加できる領域が 2 カ所存在する (図 1)。

2. PrP 欠損 (PrP^{-/-}) マウスによる PrP の生理機能の解析

我々は、PrP^C の生理機能を解析するために、生まれながらに PrP^C を持たないプリオン蛋白質欠損 (PrP^{-/-}) マウスを作製した。興味深いことに、これらのマウスは正常に生まれて発育していたが、生後 1 年頃から失調性歩行を呈しはじめた²⁾。脳組織の病理学的検索を行うと、小脳は著明に萎縮し、プルキンエ細胞の変性脱落が認められた (図 2)²⁾。これらのマウスに PrP 遺伝子を再導入すると、プルキンエ細胞死はレスキューされた³⁾。また、若い PrP^{-/-} マウスではこのような異常は認められなかった²⁾。つまりこれらの結果は、PrP^C がプルキンエ細胞の長期生存に重要であることを示した。

さらに我々は、これらの PrP^{-/-} マウスの脊髄及び末梢神経に著明な脱髄を見出した³⁾。この異常も、加齢とともに悪化した。この結果は、PrP^C

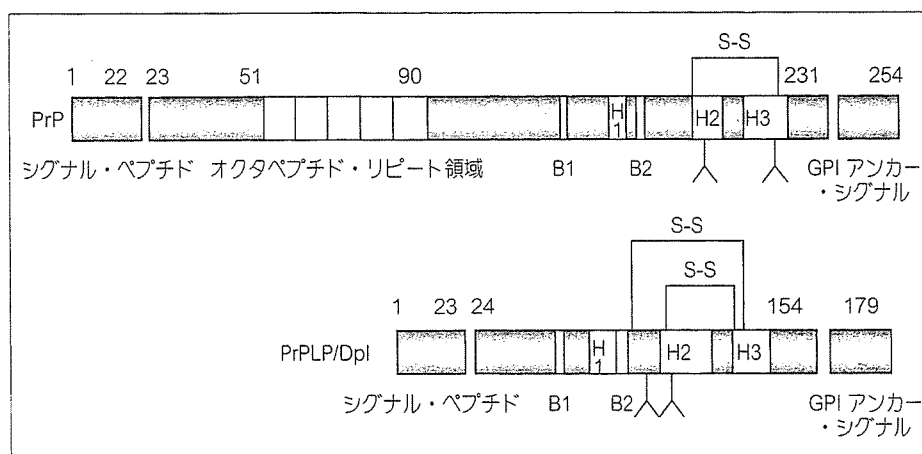


図 1 PrP と PrPLP/Dpl の蛋白高次構造

PrP は、254 個のアミノ酸から成る前駆体として翻訳される。N 末の 22 個のアミノ酸はシグナル・ペプチドとして働き、また C 末の 23 個のアミノ酸は GPI アンカー・シグナルとして作用し、PrP の生合成の過程で切断される。また、PrPLP/Dpl は、179 個のアミノ酸から成る前駆体として翻訳される。N 末の 23 個のアミノ酸はシグナル・ペプチドとして働き、また C 末の 25 個のアミノ酸は GPI アンカー・シグナルとして作用し、PrPLP/Dpl の生合成の過程で切断される。番号はスタートコドンからのアミノ酸番号を示している。B1 と B2 は 2 つの β シート構造領域を、H1, H2, H3 は 3 つの α ヘリックス構造領域を示している。S-S は S-S 結合を、Y は N 型糖鎖結合を表している。

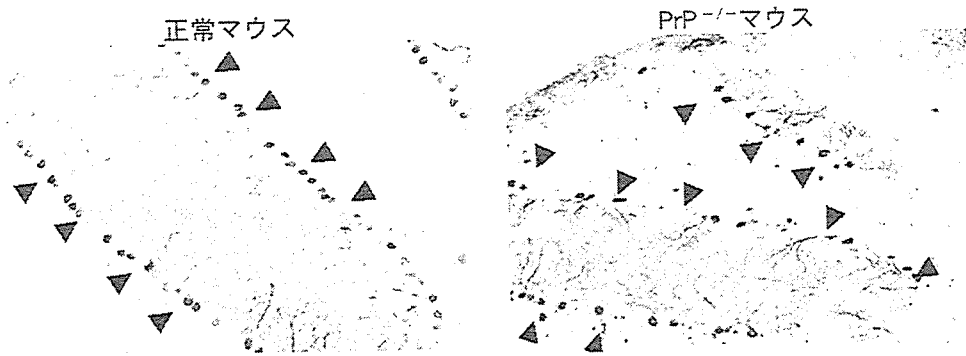


図2 PrP^{-/-}マウスにおけるプルキンエ細胞変性死

正常マウスの小脳では、抗カルビンディン抗体で染色される多数のプルキンエ細胞(矢頭にてプルキンエ細胞層を示している)が認められるが、PrP^{-/-}マウスではその数が著明に減少している。

が神経細胞だけでなく、オリゴデンドロサイトやシュワン細胞などのグリア細胞でも重要な機能を担っていることを示した。

また、脳の電気生理学的検索により、PrP^{-/-}マウスでは学習・記憶に関与すると考えられている長期増強(LTP)に異常が認められることが報告されている⁴⁾。また、行動学的研究により、PrP^{-/-}マウスでは日内リズムに異常があり正常の睡眠リズムが障害されていることも報告されている⁵⁾。つまり、PrP^Cは神経細胞やグリア細胞といった細胞レベルの機能に重要であるばかりでなく、学習・記憶及び睡眠といった高次の脳機能にも重要であることが明らかとなった。

Ⅲ PrP 類似蛋白質 (PrPLP/Dpl)

1. PrPLP/Dpl の遺伝子構造と蛋白質構造

PrPLP/Dpl をコードする遺伝子は、PrP 遺伝子の約 16kb 下流に存在する新規の遺伝子である。3つのエクソンからなり、第2番目のエクソンに蛋白質翻訳領域が存在する⁶⁾。マウスでの遺伝子発現は、精巣、心臓、骨格筋、脾臓に認められる。PrP と異なり、PrPLP/Dpl は構成的に脳内では発現しておらず、生後1週をピークに脳血管内皮細胞に発現が認められるのみである⁷⁾。このことは、PrPLP/Dpl が脳血管の形成または発達に関与していることを示唆しているが、詳細は不明である。

PrPLP/Dpl は、PrP と同様に、種を超えて非常に保存された GPI アンカー糖蛋白質である。

PrPLP/Dpl は、まず 179 個のアミノ酸から構成される前駆体蛋白質として翻訳される(図1)。その後、N末の 23 個のアミノ酸はシグナル・ペプチドとして、また C末の 25 個のアミノ酸は GPI アンカー・シグナルとして取り除かれ、細胞表面に発現する(図1)。PrPLP/Dpl は PrP の C末領域と非常に高い類似性を持ち、23%の同一アミノ酸を保有している。構造的にも非常に類似し、2つの短いβ・シート構造及び3つのα・ヘリックス構造を持ち、球状構造をしている(図1)。また、2つの S-S 結合と N型の糖鎖付加部位を保持している(図1)。PrPLP/Dpl と PrP の最も異なる点は、PrP の N末領域に存在するオクタペプチド・リピート領域を PrPLP/Dpl は欠損することである。この違いが、PrP と PrPLP/Dpl のそれぞれの生物学的特質を決定しているのかもしれない。

2. PrP 類似蛋白質欠損 (PrPLP/Dpl^{-/-}) マウスによる PrPLP/Dpl の生理機能の解析

PrPLP/Dpl の生理機能を解析するために、PrPLP/Dpl 欠損 (PrPLP/Dpl^{-/-}) マウスが作製された。興味深いことに、雌の PrPLP/Dpl^{-/-} マウスは正常に妊娠することができたが、雄の PrPLP/Dpl^{-/-} マウスは不妊であった⁸⁾。精巣は正常に形成されていたが、精子細胞から精子への分化が部分的に阻害されていて、精子の数が減少していた⁸⁾。また、産生された精子は、頭部の形態異常を示した⁸⁾。さらに、これらの精子は機能的にも異常を示し、卵を被っている透明体を通過することが出来なかった⁸⁾。PrPLP/Dpl は精子細胞

に強く発現している⁸⁾。これらの結果は、PrPLP/Dpl が精子の発達に関与していることを示した。

IV PrP と PrPLP/Dpl の機能的拮抗によるプルキンエ細胞変性死

1. プルキンエ細胞死を起こす PrP^{-/-}マウスと起こさない PrP^{0/0}マウス

我々が作製した PrP^{-/-}マウスはプルキンエ細胞の変性死を起こし、この細胞死は PrP 遺伝子を再導入すると正常に回復することから、PrP⁰ はプルキンエ細胞の生存維持に重要であることが明らかとなった²⁾。しかし、他の研究室で作製された PrP^{-/-}マウスでは、このようなプルキンエ細胞の変性死は認められないことが報告されていた⁹⁾。この奇妙な違いをどのように説明すればいいだろうか。プルキンエ細胞変性死には、PrP⁰ の機能消失以外に、もう1つ何らかの要因が必要であると

考えれば説明可能である。つまり、プルキンエ細胞死を示す PrP^{-/-}マウスでは PrP⁰ の機能消失以外に、もう1つの要因が異常になっていてプルキンエ細胞は変性死を起こす。しかし、プルキンエ細胞死を起こさない PrP^{-/-}マウスでは、もう1つの要因が正常であるためにプルキンエ細胞死は起こらない。

2. プルキンエ細胞死を起こす PrP^{-/-}マウスにおける PrPLP/Dpl の異所性過剰発現

我々とカナダのグループは、ほぼ同時期に、プルキンエ細胞死を示す PrP^{-/-}マウスの脳に特異的に PrPLP/Dpl が過剰発現していることを見出した^{6,10)}。プルキンエ細胞死を起こさない PrP^{-/-}マウスでは、このような異常は認められなかった。正常マウスでは、PrP 遺伝子のプロモーターから転写された pre-mRNA (前駆体メッセンジャーリボ核酸) は PrP 遺伝子の最後で切断されポリ A (ポリアデニル酸) が付加される (図3)。

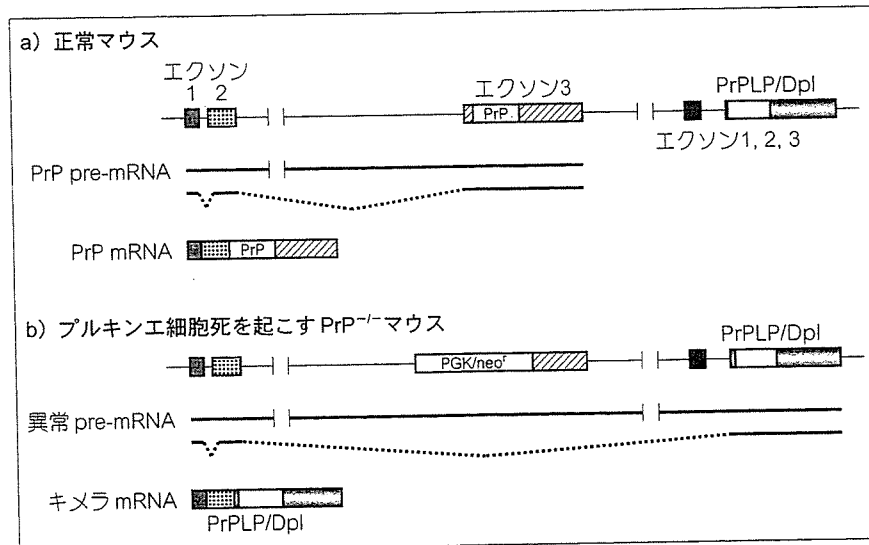


図3 プルキンエ細胞変性死を起こす PrP^{-/-}マウス脳における PrPLP/Dpl の過剰発現機構

a) 正常マウスでは、PrP 遺伝子エクソン1から転写された PrP pre-mRNA は、PrP 遺伝子エクソン3の終わりで切断され、ポリAが付加される。そしてその後スプライシングがおこり、正常 PrP mRNA が産生される。b) プルキンエ細胞変性死を起こす PrP^{-/-}マウスのターゲットされた PrP 遺伝子座では、イントロン2の一部とエクソン3の一部がネオマイシン耐性遺伝子 (PGK/neo^r) と置換されている。そのため、PrP 遺伝子エクソン1から転写された pre-mRNA は、PrP 遺伝子エクソン3の終わりで切断されず、PrPLP/Dpl 遺伝子の最終エクソンまで伸び、異常 pre-mRNA が産生される。その後、PrP 遺伝子エクソンと PrPLP/Dpl 遺伝子エクソンとの間で遺伝子間スプライシングがおこり、PrPLP/Dpl をコードする異常 mRNA が過剰に産生される。

特集◎プリオン病とBSE

プルキンエ細胞死を起こさない PrP^{-/-}マウスでも、残存する PrP 遺伝子のプロモーターから転写された pre-mRNA は同様に PrP 遺伝子の最後で切断され、ポリ A が付加されていた。しかし、プルキンエ細胞死を示す PrP^{-/-}マウスでは、PrP 遺伝子のプロモーターから転写された pre-mRNA は、何らかの理由で PrP 遺伝子の最後で切断されず、下流の PrPLP/Dpl 遺伝子まで伸びていた(図3)。そしてこの異常に伸びた pre-mRNA は、その後 PrP 遺伝子のエクソン2と PrPLP/Dpl 遺伝子のエクソンとの間で遺伝子間スプライシングを受け、PrPLP/Dpl をコードするキメラ mRNA が産生されていた(図3)。このため、プルキンエ細胞死を示す PrP^{-/-}マウスでは、PrPLP/Dpl が PrP 遺伝子のプロモーターに調節を受けようになり、PrP の発現する組織、特に脳に、異所性に過剰発現するようになっていた^{6, 10)}。

3. PrPLP/Dpl の神経変性作用と PrP の神経保護作用

我々は、PrPLP/Dpl の異所性過剰発現がプルキンエ細胞変性死に関与するもう1つの要因であるか調べるために、PrPLP/Dpl を神経細胞またはプルキンエ細胞に特異的に発現するトランスジェ

ニック (tg) マウスを作製した¹¹⁾。これらの tg マウスとプルキンエ細胞死を起こさない PrP^{-/-}マウスとを交配した結果、PrP^c欠損下に PrPLP/Dpl を発現する tg マウスでは、プルキンエ細胞が変性死することが分かった¹¹⁾。興味深いことに、プルキンエ細胞が死ぬまでの時間は、PrPLP/Dpl の発現量に逆比例して短縮した¹¹⁾。つまり、PrPLP/Dpl は発現量に比例して神経変性作用を示すことが明らかとなった。しかし一方、PrP^cを正常の半分発現するヘテロ欠損 (PrP^{+/-}) マウスでは、プルキンエ細胞死が遅れて出現し、PrP^cが正常に発現しているとの tg マウスのプルキンエ細胞にも異常は認められなかった¹¹⁾。これらの結果は、PrP^cはその発現量に比例して PrPLP/Dpl の神経変性作用に拮抗し、プルキンエ細胞死を抑制することを示した。また我々は、オクタペプチド・リピート領域を含むN末アミノ酸 23~88 を欠損する PrP には、このような神経細胞変性死を抑制する機能がないことも明らかにした¹²⁾。つまり、この領域に PrP^cの抗神経変性作用に重要な部位が存在することが明らかとなった。

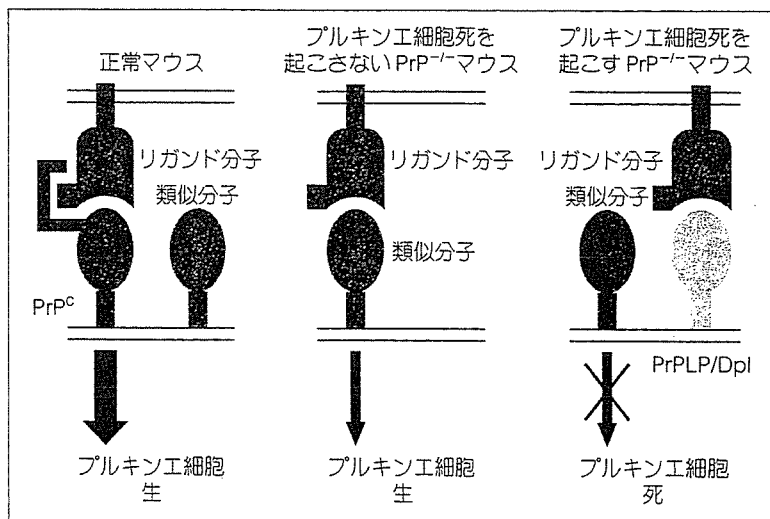


図4 プルキンエ細胞変性死の分子機構

正常マウスでは、PrP^cがそのリガンド分子と結合し、プルキンエ細胞生存に必要なシグナルを産生する。プルキンエ細胞死を起こさない PrP^{-/-}マウスでは、PrPLP/Dpl とは異なる PrP 類似分子が PrP^cのリガンド分子と結合しシグナルを産生する。プルキンエ細胞死を起こす PrP^{-/-}マウスでは、PrPLP/Dpl が類似分子とリガンド分子との結合を阻害し、シグナルの産生を抑制し、プルキンエ細胞変性死を起こす。

4. プルキンエ細胞変性死における PrP と PrPLP/Dpl の分子機能

どのようにしてプルキンエ細胞変性死が起こるのか不明である。これまでに様々な仮説が提唱されている。

Weissmanni と Aguzzi は、大変魅力的な仮説を提唱している (図4)¹³⁾。この中で、彼等は2つの未同定の分子を仮定している。1つは PrP^c に対するリガンド分子である。もう1つは、PrP^c と構造的に類似しリガンド分子と結合するが、PrPLP/Dpl とは異なる類似分子である。正常マウスでは、リガンド分子が PrP^c に高い親和性で結合しプルキンエ細胞生存のためのシグナルを産生する。プルキンエ細胞死を起こさない PrP^{-/-} マウスでは、リガンド分子は類似分子と弱いながらも結合し、プルキンエ細胞生存のためのシグナルを産生する。しかし、プルキンエ細胞死を示す PrP^{-/-} マウスでは、PrPLP/Dpl が神経細胞に異所性に発現しているため、リガンド分子と類似分子との結合を阻害し、プルキンエ細胞生存のためのシグナルの産生を抑制する。このため、プルキンエ細胞は変性死をきたすと提唱された。

また以下のような考えもある。PrP^c はオクタペプチド・リピート領域で銅イオンと結合し、結合した銅イオンを Cu/Zn 依存性スーパーオキシド・ジスムターゼ等の活性酸素不活化酵素に受け渡すことによりこれらの酵素を活性化させ、酸化ストレスを軽減すると考えられている。実際、PrP^{-/-} マウスの脳内の酸化ストレスが上昇していることが報告されている¹⁴⁾。また興味深いことに、PrPLP/Dpl を発現する PrP^{-/-} マウスの脳内の酸化ストレスは PrPLP/Dpl を発現しない PrP^{-/-} マウスのそれと比べて非常に高いという報告もある¹⁴⁾。つまりこれらの結果から、PrP^c が欠損すると酸化ストレスを緩和できなくなり、さらに PrPLP/Dpl が異所性に発現すると酸化ストレスが増強され、プルキンエ細胞が変性死を起こすのではないかと考えられている。

さらに、PrP^c が血清除去による培養神経細胞のアポトーシスを抑制することが報告されている¹⁵⁾。この結果から、PrP^c は抗アポトーシス分子として機能し、PrPLP/Dpl はアポトーシス分子と

5. プリオン蛋白質の生理機能として機能しているのではないかと考えられている。

V おわりに

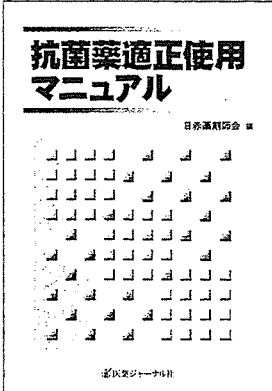
PrP^{-/-} マウスで認められた神経細胞死、脱髄、学習・記憶に重要な LTP の障害及び睡眠異常は、プリオン病にしばしばみられる病態である。このことは、PrP^c の機能消失がプリオン病の病態に関与していることを強く示唆している。しかし、PrP^c の機能消失だけではプルキンエ細胞は死なず、PrPLP/Dpl の異所性過剰発現を伴うことが必要である。PrPLP/Dpl の神経変性作用と PrP^c のそれとが、どのようなメカニズムであるか不明である。PrPLP/Dpl は PrP と異なり、異常 PrPLP/Dpl には構造変換せず感染性蛋白にも変化しない¹⁶⁾。しかし、PrP^{-/-} マウスに認められたプルキンエ細胞死の分子機構を解明することは、プリオン病の病態解明に貴重な知見を提供してくれるものと考えている。

文 献

- 1) Prusiner SB: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216: 136-144, 1982
- 2) Sakaguchi S, et al.: Loss of cerebellar Purkinje cells in aged mice homozygous for a disrupted PrP gene. *Nature* 380: 528-531, 1996
- 3) Nishida N, et al.: A mouse prion protein transgene rescues mice deficient for the prion protein gene from purkinje cell degeneration and demyelination. *Lab Invest* 79: 689-697, 1999
- 4) Collinge J, et al.: Prion protein is necessary for normal synaptic function. *Nature* 370: 295-297, 1994
- 5) Tobler I, et al.: Altered circadian activity rhythms and sleep in mice devoid of prion protein. *Nature* 380: 639-642, 1996
- 6) Moore RC, et al.: Ataxia in prion protein (PrP)-deficient mice is associated with upregulation of the novel PrP-like protein doppel. *J Mol Biol* 292: 797-817, 1999
- 7) Li A, et al.: Physiological expression of the gene for PrP-like protein, PrPLP/Dpl, by brain endothelial cells and its ectopic expression in neurons

特集◎プリオン病とBSE

- of PrP-deficient mice ataxic due to Purkinje cell degeneration. Am J Pathol 157 : 1447-1452, 2000
- 8) Behrens A, et al. : Absence of the prion protein homologue Doppel causes male sterility. Embo J 21 : 3652-3658, 2002
- 9) Bueler H, et al. : Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. Nature 356 : 577-582, 1992
- 10) Li A, et al. : Identification of a novel gene encoding a PrP-like protein expressed as chimeric transcripts fused to PrP exon 1/2 in ataxic mouse line with a disrupted PrP gene. Cell Mol Neurobiol 20 : 553-567, 2000
- 11) Yamaguchi N, et al. : Doppel-induced Purkinje cell death is stoichiometrically abrogated by prion protein. Biochem Biophys Res Commun 319 : 1247-1252, 2004
- 12) Atarashi R, et al. : Deletion of N-terminal residues 23-88 from prion protein(PrP)abrogates the potential to rescue PrP-deficient mice from PrP-like protein/doppel-induced neurodegeneration. J Biol Chem 278 : 28944-28949, 2003
- 13) Weissmann C, Aguzzi A : Perspectives : neurobiology. PrP's double causes trouble. Science 286 : 914-915, 1999
- 14) Wong BS, et al. : Induction of HO-1 and NOS in doppel-expressing mice devoid of PrP : implications for doppel function. Mol Cell Neurosci 17 : 768-775, 2001
- 15) Kuwahara C, et al. : Prions prevent neuronal cell-line death. Nature 400 : 225-226, 1999
- 16) Moore RC, et al. : Doppel-induced cerebellar degeneration in transgenic mice. Proc Natl Acad Sci USA 98 : 15288-15293, 2001



抗菌薬適正使用マニュアル

日赤薬剤師会 編

B 5 判 204頁 定価 3,675円(本体 3,500円+税 5%)送料実費

ISBN4-7532-1827-9 C3047

総論

- I. MRSAの誕生と抗菌薬
- II. 抗菌薬耐性化
- III. 院内感染と耐性ブドウ球菌の疫学
- IV. 耐性誘導
- V. β-ラクタマーゼによる耐性機序
- VI. 抗菌薬の選択と投与計画
- VII. 薬剤感受性試験とブレイクポイントの使い方

各論

1. 抗菌薬の特徴
2. Empiric therapy
3. 特殊病態での抗菌薬療法
4. 抗菌薬の副作用・その対策
5. 抗菌薬の相互作用
6. *Helicobacter pylori* とその除菌
- 7-a. 抗ウイルス剤
- b. HIV治療薬
8. 抗結核薬
9. 抗真菌薬
10. 抗菌薬投与における血中濃度モニタリング