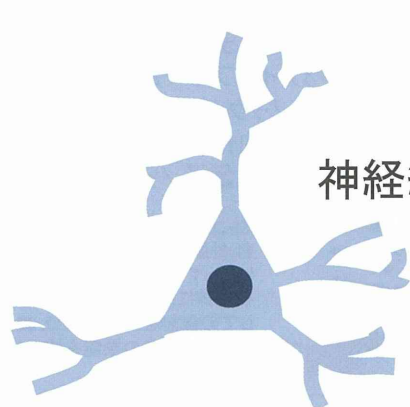


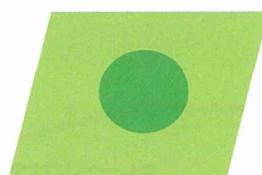
## プリオン蛋白質(PrP)非発現細胞を用いたPrPの機能解析

研究分担者:琉球大学医学部 作道章一

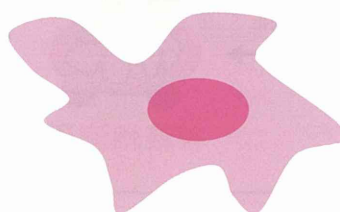
PrPを発現しない様々な細胞種の細胞株を作製



神経細胞

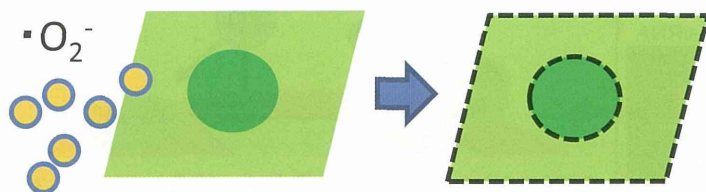


マクロファージ



グリア細胞

PrPがないと抗酸化ストレス能低下、細胞周期関連遺伝子変化

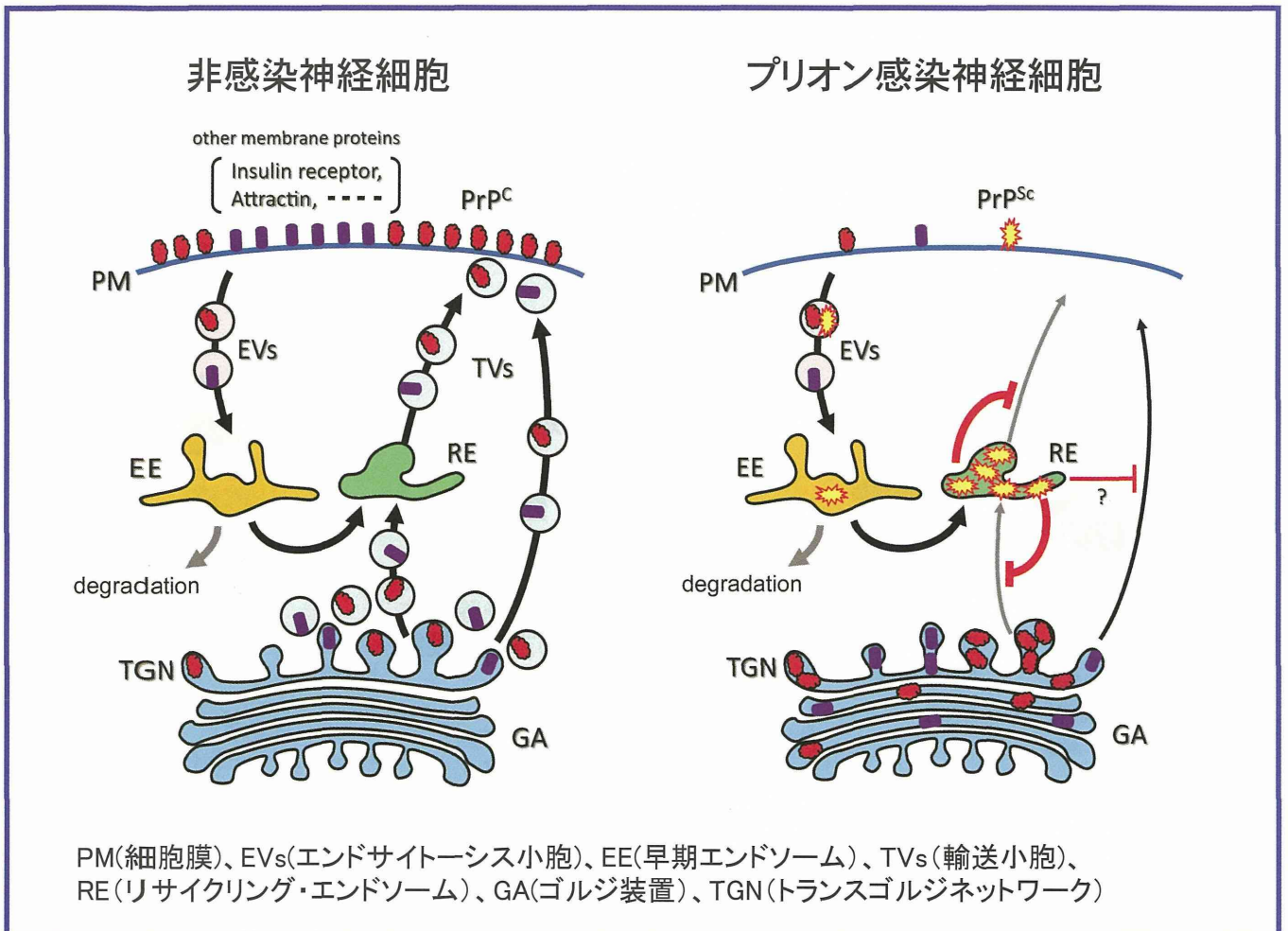


### 解説

1. 神経細胞、グリア細胞、マクロファージなど様々な細胞種のPrP遺伝子欠損細胞株を作製した。
2. これらの細胞株を用いて、PrP非発現細胞とPrP発現細胞を比較したところ、PrP非発現細胞は酸化ストレスに弱く、細胞周期関連遺伝子の発現に変化が見られた。

## プリオン感染は細胞膜蛋白質の小胞輸送を障害する

研究分担者: 徳島大学疾患酵素学研究中心 神経変性疾患研究部門 坂口末廣



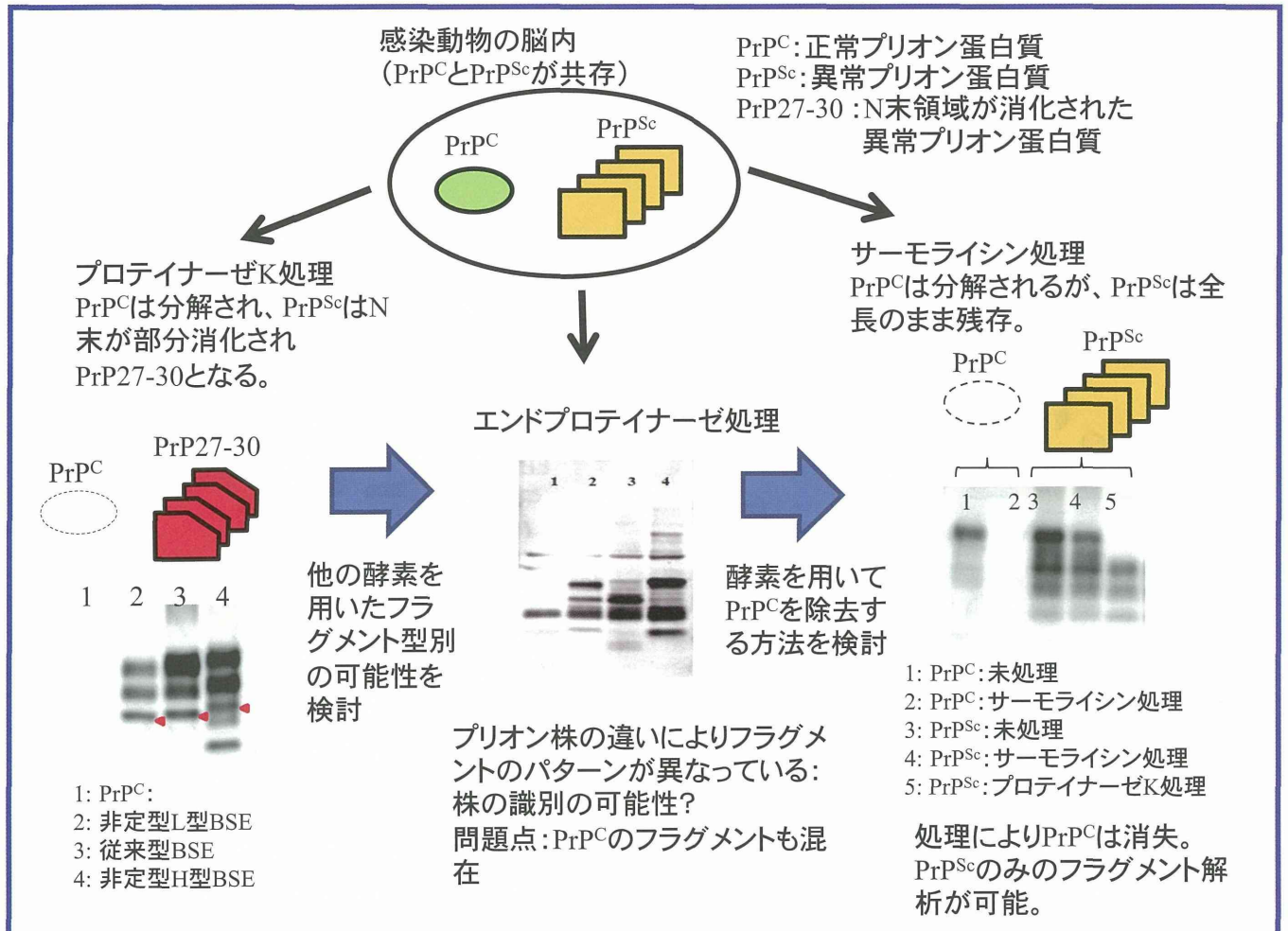
### 解説

1. 正常神経細胞では、細胞膜蛋白質は小胞体で合成された後、ゴルジ装置(GA)を経由して、リサイクリング・エンドソーム(RE)を介して細胞膜表面に運ばれる(上図、左)。
2. プリオンが感染すると、正常プリオン蛋白質(PrP<sup>C</sup>)が異常プリオン蛋白質(PrP<sup>Sc</sup>)に変換し、主にリサイクリング・エンドソーム(RE)に蓄積する。おそらくこの蓄積により、細胞膜蛋白質のゴルジ装置から細胞膜へ輸送が障害され、細胞膜蛋白質は細胞膜に発現できなくなり、機能不全に陥る(上図、右)。こうして、プリオンが感染すると細胞膜蛋白質の機能不全を引き起こし、神経細胞が死に至ると考えられる。

(Uchiyama et al. Nature Communications, 4: 1846, 2013)

## 異常プリオン蛋白質の性状解析に関する研究

研究分担者：動物衛生研究所インフルエンザ・プリオン病研究センター 横山 隆



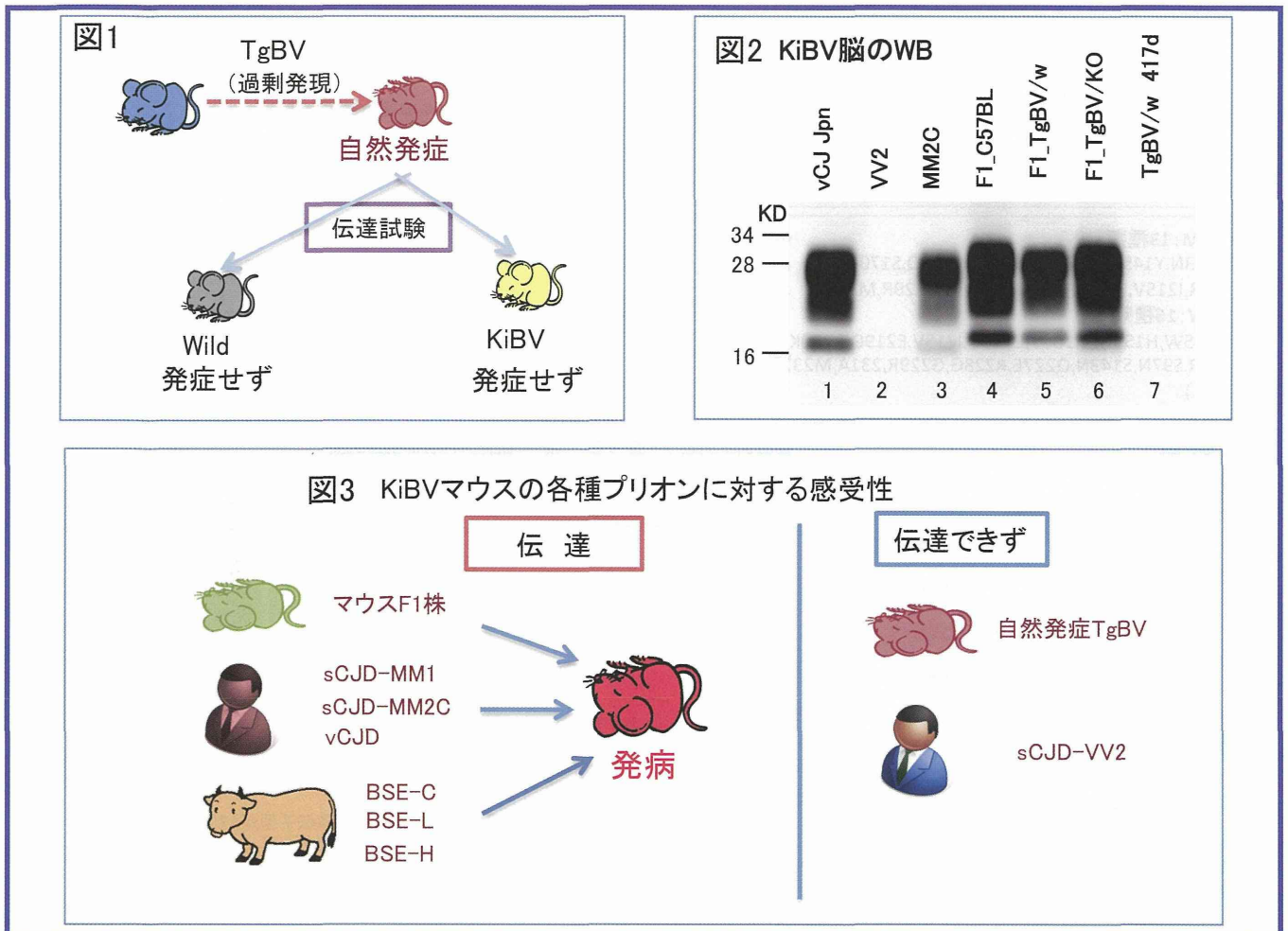
### 解説

- 一部のプリオン株はプロテイナーゼK消化によるフラグメントの違いによる識別が可能である(左)。
- しかし、多くのプリオン株は同じ大きさのフラグメント(PrP27-30)となるため、他の酵素を用いた型別の可能性を検討した。
- エンドプロテイナーゼ処理による新たな識別の可能性が示唆されたが、このバンドにはPrPCのフラグメントも混在する(中)。
- サーモライシン処理によりPrPCが分解され、PrP<sup>Sc</sup>のみの型別が可能となった(右)。
- PrP<sup>Sc</sup>の型別による脳内のプリオンの新たな分類の可能性が示された。
- スクレイピー羊の脾臓内には、複数のプリオンが共存するため、末梢組織から検出されるPrP<sup>Sc</sup>の性状は、分離されるプリオンの性状と必ずしも一致しない。



## 新たな自然発症及びCJD伝達モデルマウスの開発

研究分担者: 東北大学医学系研究科(前動物衛生研究所プリオン病研究センター) 毛利資郎



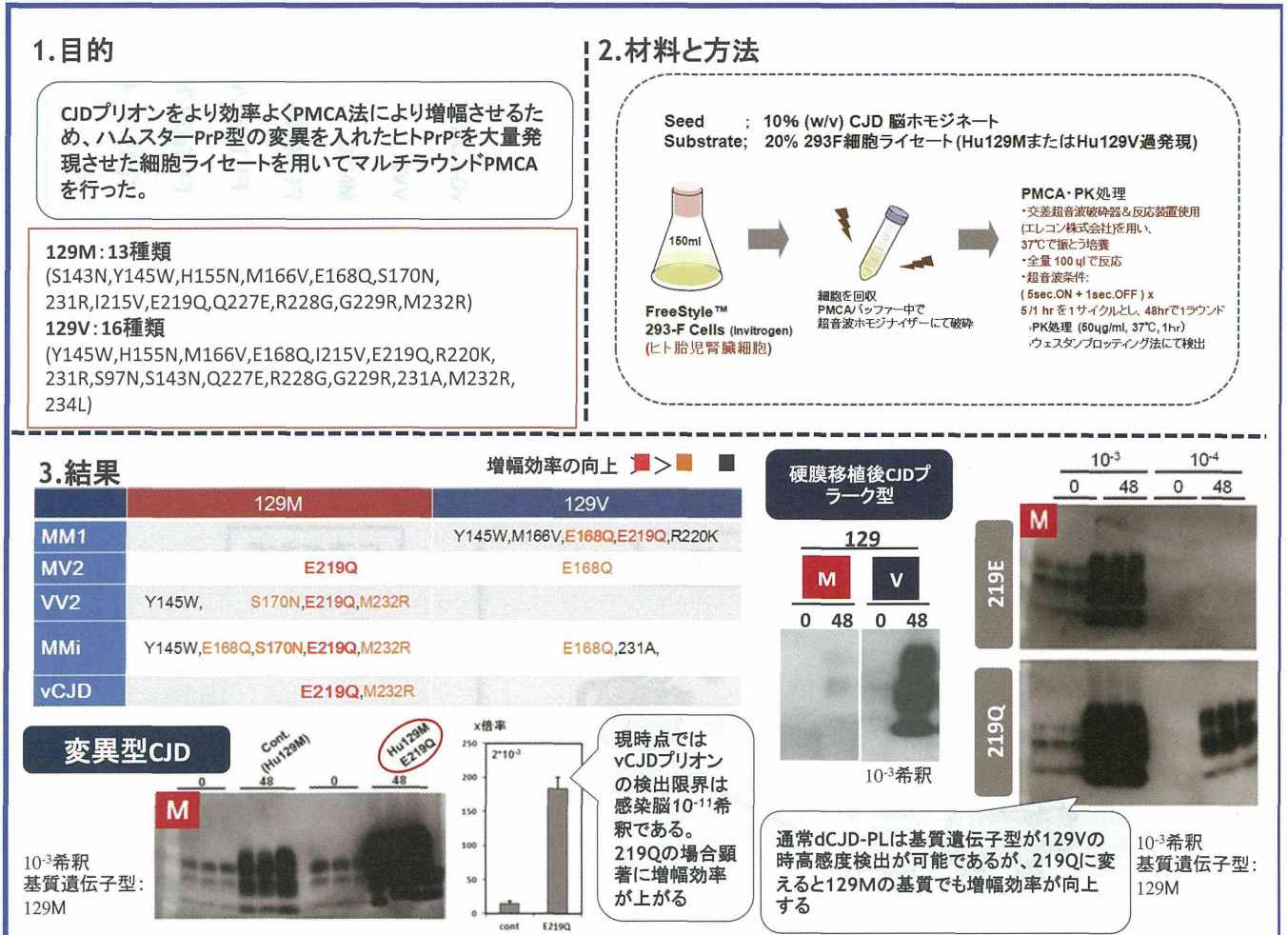
### 解説

伝達性海綿状脳症に広い感受性を有することが知られているハタネズミ(bank vole, *Myodes glareolus*)のプリオンたんぱく質遺伝子を発するトランスジェニック(TgBV)マウスとノックイン(KiBV)マウスを作成し、CJDの接種を行った。

1. 過剰発現系Tg-BVマウスは400~500日で自然発症し、脳に異常プリオンたんぱく質の蓄積PrPを認めた(図1)。しかし、継代接種では野生型マウスにも同じ遺伝子の自然発現系のKiBVにも伝達性が認められなかった。TgBVに蓄積する異常プリオンたんぱく質はPK感受性であった(図2、レーン7)
2. KiBVは伝達試験の結果、vCJD、MM2C、CJDF1株が伝達出来たが、VV2は伝達出来なかった。
3. 特に孤発性CJD-MM2 Cortical form (MM2C)は、これまで野生型マウスおよびヒト遺伝子導入マウスへ伝達出来なかったがこのマウスの開発により、初めて伝達可能となった。
4. KiBVマウスは種を超えた多くのプリオンが伝達可能であり、広範囲のプリオンに感受性を示した(図3)。

## Cell-PMCA法を用いたヒトプリオンの増幅

研究分担者：東北大学大学院医学系研究科病態神経学分野 竹内敦子



## 解説

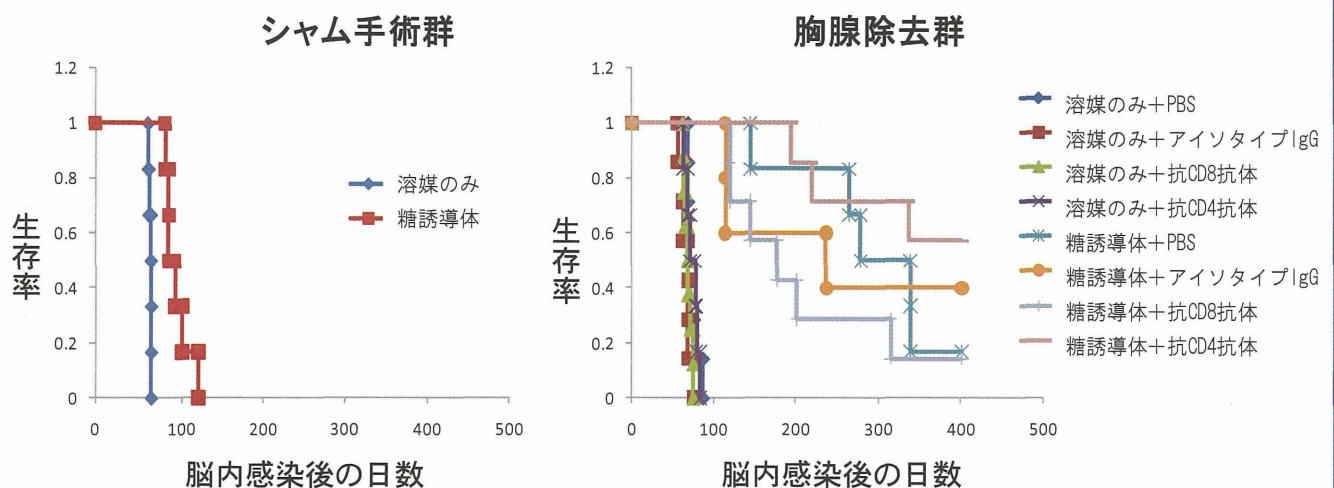
- 多くの変異導入は増幅効率を低下させる傾向があったが、変異型CJDプリオンの検出感度向上に貢献する可能性のある変異として219Qが見つかった。
- 硬膜移植後CJDプラーク型は129Mの基質では増幅効率が悪いが、219をEからQに変えた場合に増幅効率が向上することが分かった。



## プリオン病の治療予防に関する基礎研究

研究分担者: 東北大学大学院医学系研究科 堂浦克美

### 発症遅延効果を持つ糖誘導体の作用機序 — 胸腺の影響 —



### 解説

脳内感染においてさえも優れた発症遅延効果を持つ糖誘導体の作用機序に、胸腺の機能が関連することを示すデータである。

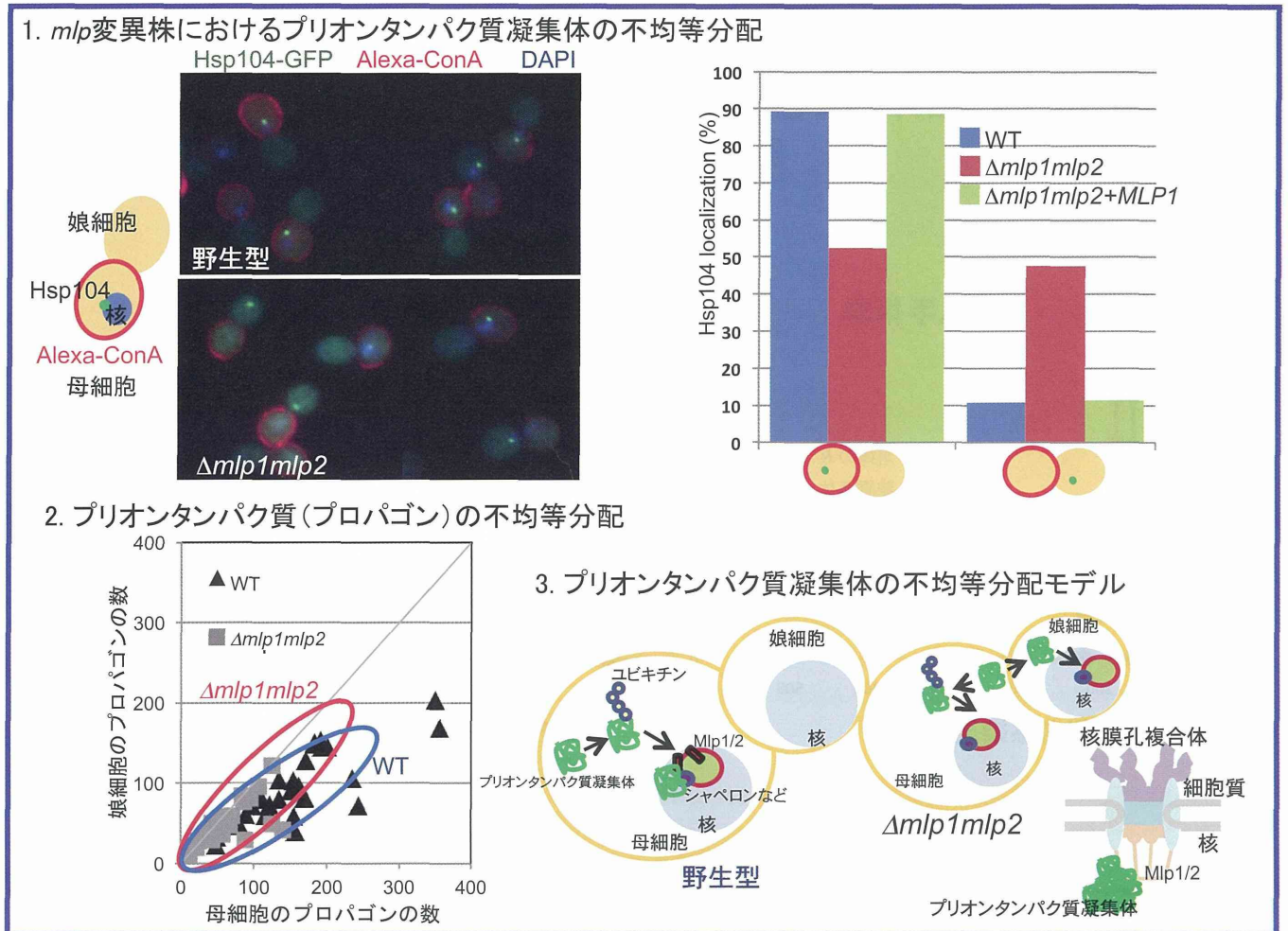
新生児期に胸腺を除去した胸腺除去群とシャム手術群（偽手術群）のマウスにおいて、成熟後に抗CD4抗体、抗CD8抗体、アイソタイプIgG、あるいはPBSの腹腔内投与を繰り返した後に、糖誘導体あるいは溶媒のみを単回だけ皮下に投与し、その後にプリオンを脳内感染させた。

（縦軸：生存率、横軸：脳内感染後の日数）

胸腺を除去することにより、単回投与した糖誘導体の効果が飛躍的に亢進しており、何らかの胸腺機能が糖誘導体の作用を抑えていることを示唆している。

## 酵母におけるプリオンタンパク質凝集体の不均等分配のメカニズム

研究分担者: 独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター 鈴木元治郎



### 解説

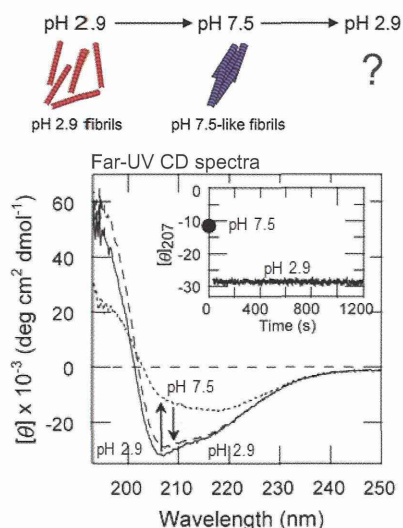
1. タンパク質凝集体のマーカであるHsp104の凝集体が母細胞と娘細胞のどちらに局在するか調べたところ、野生株(WT)では母細胞に不均等に局在するが、*mlp1mlp2*二重変異株ではランダムに局在していた。
2. 母細胞と娘細胞に含まれるプリオンタンパク質の凝集体(プロパゴン)を定量したところ、野生株では母細胞に多くのプロパゴンが含まれていたが(青)が *mlp1mlp2*二重変異株では同程度含まれていた(赤)。
3. プリオンタンパク質などの凝集体は核膜孔に存在するMlp1/Mlp2に保持されることによって母細胞に不均等に分配されると考えられる。



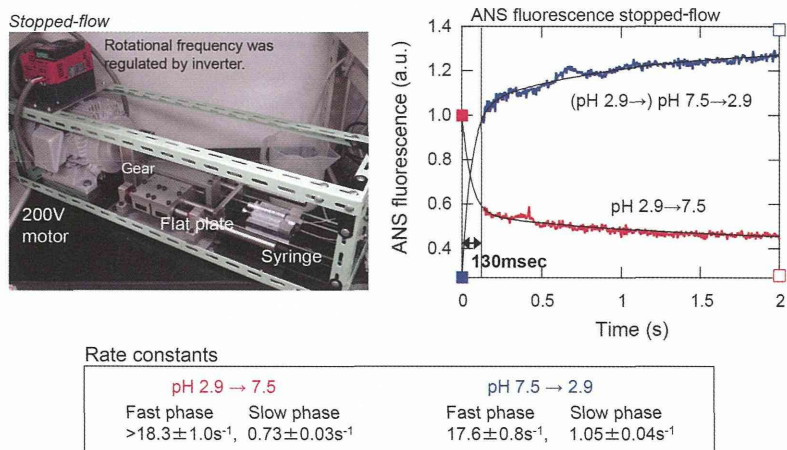
## プリオン蛋白質が形成するアミロイド線維の構造とダイナミクス

研究分担者: 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 桑田一夫

### 1 H2アミロイド線維のpHジャンプ実験

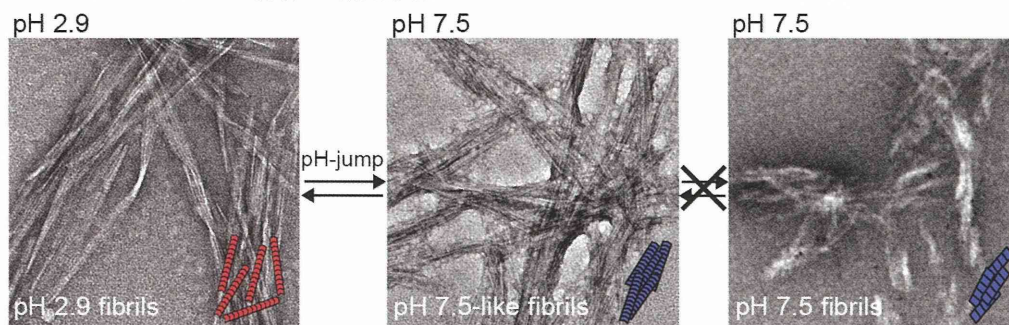


### 2 ストップドフローによるアミロイド線維の速度論的解析



pHジャンプによるアミロイド線維の構造変化は数秒以内に完了した。

### 3 pHジャンプによるH2アミロイド線維の構造変化



## 解説

1. プリオン蛋白質のH2部分ペプチドが形成するアミロイド線維は、pH 2.9→7.5へのpHジャンプにより、ほぼ可逆的に構造変化した。
2. CDとFT-IRスペクトル測定により、H2アミロイド線維はβターン(I)構造とβシート構造が部分的に変化したと考えられる。
3. 全長のプリオン蛋白質のアミロイド線維においても、溶媒条件によって構造が変化する可能性が高い。



## 認知症患者の血清H-FABPの有用性について

研究分担者: 広島大学大学院生物圏科学研究科 堀内浩幸

表1. 27例の神経変性疾患・認知症患者

	患者数
PDD/DLB	8
AD	4
sCJD	9
CBD	2
LCCA	2
healthy subject	6

表2. 各疾患別の血清H-FABP濃度

	mean ± SD (pg/mL)
PDD/DLB	6084 ± 2034
AD	2270.8 ± 761
sCJD	2934.7 ± 1173
CBD	1319
LCCA	1702
healthy subject	1047 ± 627

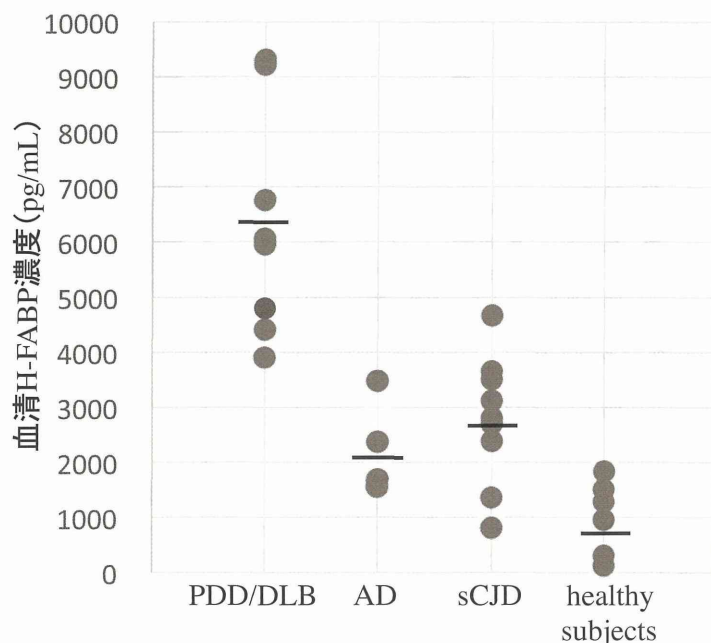


図1. 各種認知症患者の血清H-FABP濃度

### 解説

表1. 本研究に使用した健常人血清6検体を含む25例の神経変性疾患・認知症患者の内訳。

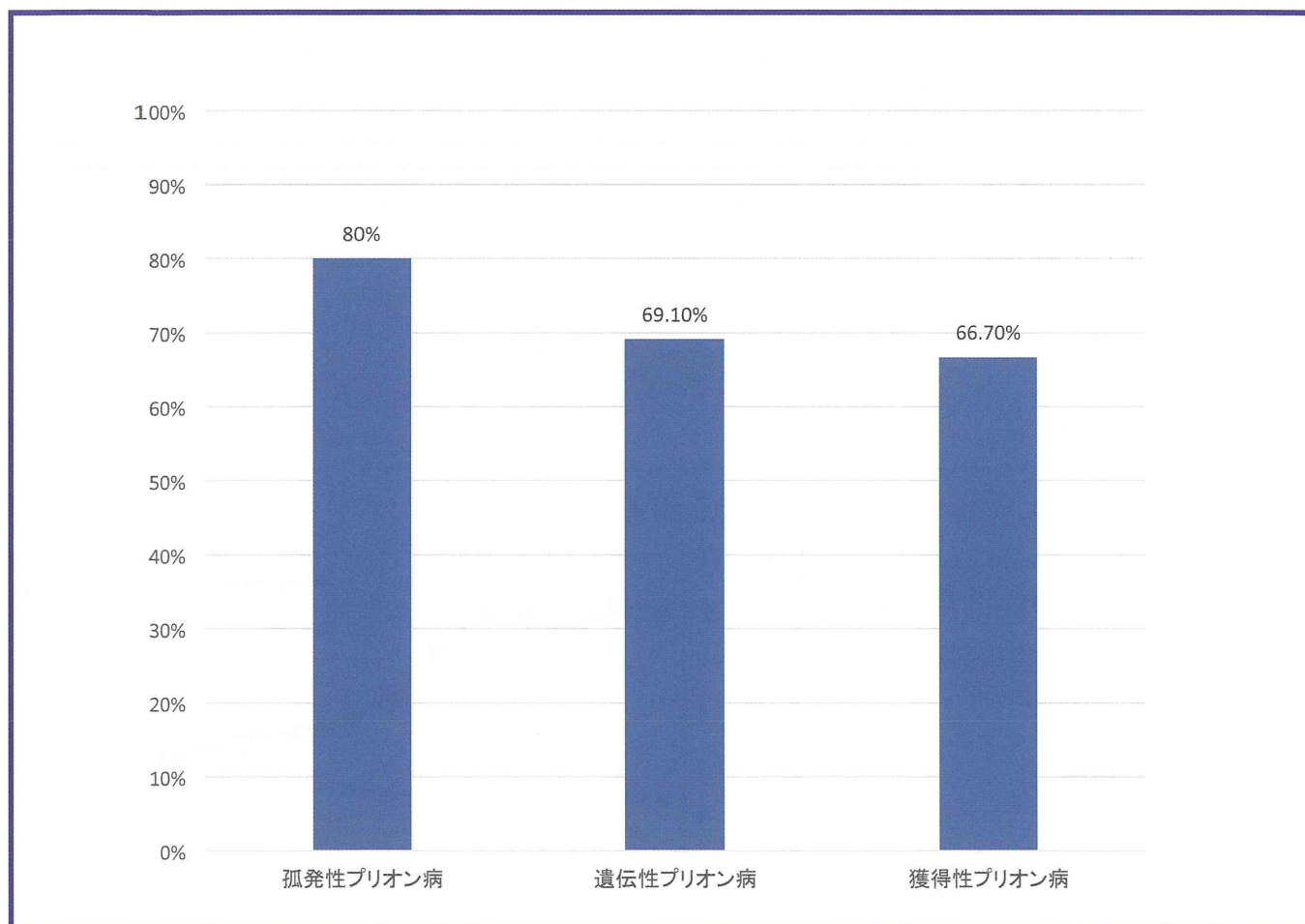
図1. 各種認知症患者血清中のH-FABP濃度は、健常人血清中濃度と比較して、いずれの場合も高値を示した。特にPDD/DLBでは顕著であった。

表2. 調査した各疾患別の血清H-FABP濃度を平均値と比較したところ、CBDとLCCAでは低値であり、その他の認知症患者で高値となった。

本研究は佐藤克也・西田教行(長崎大学)との共同研究成果である。

## RT-QUIC法による ヒトプリオン病の髄液中の異常プリオン蛋白の検出感度

研究分担者：長崎大学・感染分子解析学 西田教行



### 解 説

1. ヒト孤発性プリオン病患者における髄液中のバイオマーカーでは感度は76.2%、特異度は74.2%であった。遺伝性プリオンでは65.9%、獲得性プリオン病では66.7%であった。
2. ヒトプリオン病の患者における髄液中異常プリオン蛋白試験管内増幅法 (RT-QUIC法) の感度は、孤発性プリオン病では80%、遺伝性プリオン病では69.1%、獲得性プリオン病では66.7%、特異度は97.1%であった。