

第4部

プリオン病発症機序の解明

座長：岩手医科大学医歯薬総合研究所 超高磁場 MRI 診断・病態研究部門 教授 **佐々木 真理** 先生



「プリオン病におけるポストゴルジ小胞輸送障害」

坂口 末廣 先生

徳島大学疾患酵素学研究センター 神経変性疾患研究部門 教授

■ Profile

平成 元年 3月	長崎大学医学部卒業
平成 6年 3月	長崎大学大学院医学研究科博士課程修了
平成 6年 10月	長崎大学助手医学部（細菌学講座）
平成 7年 1月	ポスドク（スイス国チューリッヒ大学分子生物学研究所、チャールズ・ワイスマン教授、平成8年12月まで）
平成 11年 6月	長崎大学講師医学部（細菌学講座）
平成 12年 4月	長崎大学講師 大学院医学研究科（感染分子病態学講座）
平成 14年 4月	長崎大学講師 大学院医歯薬学総合研究科（感染分子病態学講座）
平成 14年 11月	科学技術振興機構 PRESTO さきがけ研究 21（平成 18年 3月まで兼務）
平成 17年 4月	長崎大学助教授 大学院医歯薬学総合研究科（感染分子病態学講座）
平成 18年 4月	徳島大学教授 分子酵素学研究センター分子細胞学部門
平成 19年 4月	徳島大学教授 疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門

■ 概要

プリオン病では、神経細胞の膜蛋白質である正常プリオン蛋白質（以下、正常プリオン）が蛋白質分解酵素抵抗性の異常プリオン蛋白質（以下、異常プリオン）に構造変化する。しかし、正常プリオンを欠損するマウスは、正常プリオンがないためにプリオンを感染させても異常プリオンを産生できず、プリオン病に罹らない。このことは、正常プリオンが異常プリオンに変換することがプリオン病の病態に必須であることを示している。しかし、神経変性に至る詳細なメカニズムは不明である。

我々は、最近、プリオンが感染すると、ある膜蛋白質群のポストゴルジ小胞輸送が障害され、その結果それらの細胞膜発現は低下し、その機能が障害されることを見出した。また、異常プリオンが小胞輸送に重要なエンドソーム分画、特にリサイクリングエンドソーム分画に蓄積していることも見出した。さらに、プリオン感染マウスモデルを解析した結果、プリオン感染によるポストゴルジ小胞輸送障害はプリオン病の症状が始まる前から観察された。以上の結果から、プリオンが感染すると、異常プリオンがエンドソーム分画、特にリサイクリングエンドソーム分画に蓄積し、膜蛋白質のポストゴルジ小胞輸送を障害し、膜蛋白質の膜発現を低下させ、その結果それらの膜蛋白質の機能は障害を受け、神経細胞は死に至るのではないかと考えられた。本シンポジウムでは、我々の最近の発見を報告するとともに、プリオン病の病態メカニズムについて議論したい。

プリオン病におけるポストゴルジ小胞輸送障害

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

1

nature COMMUNICATIONS

ARTICLE

Received 24 Sep 2012 | Accepted 16 Apr 2013 | Published 14 May 2013 | DOI: 10.1038/ncomms2873

Prions disturb post-Golgi trafficking of membrane proteins

Keiji Uchiyama¹, Naomi Muramatsu¹, Masashi Yano¹, Takeshi Usui^{1,2}, Hironori Miyata³ & Suehiro Sakaguchi¹

2

VSV-G transport assay

ER → Golgi → plasma membrane

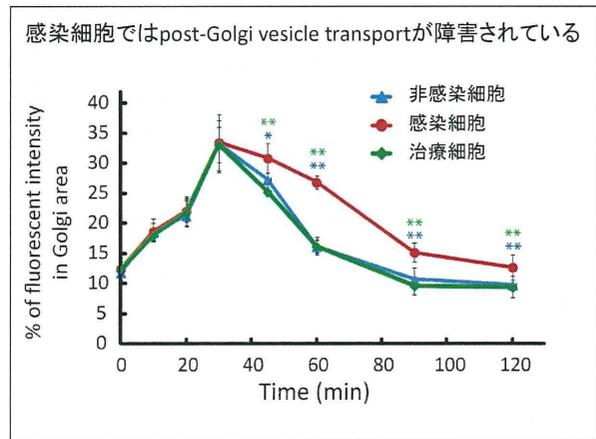
(HeLa cells)

温度感受性VSV-G(tsO45)-GFP (水痘性口内炎ウイルスG タンパク質)

39.5°C → 32°C

ERIに留まる。 → 輸送される。

3



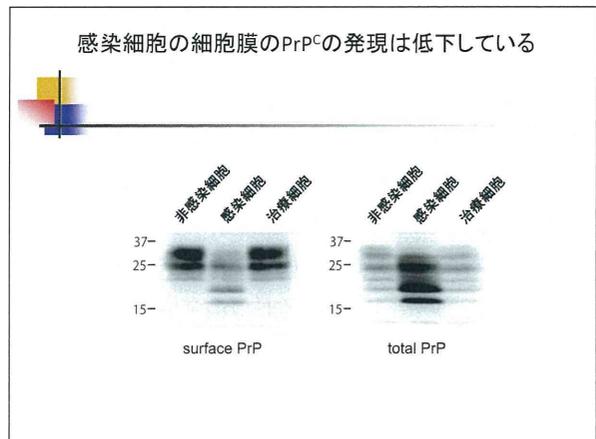
4

感染細胞内のPrP^Cは核の近傍に局在している

非感染細胞 感染細胞 治療細胞

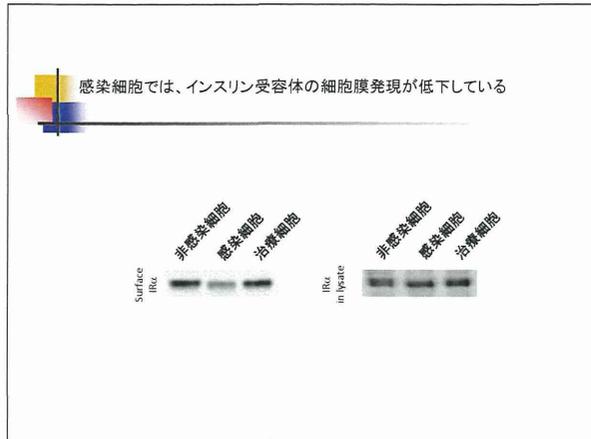
SAF83 anti-PrP

5

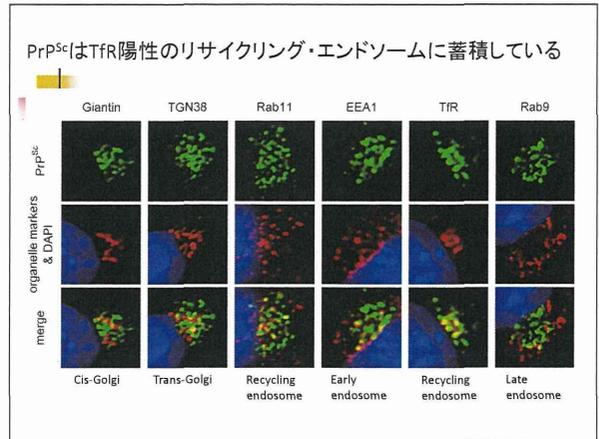


6

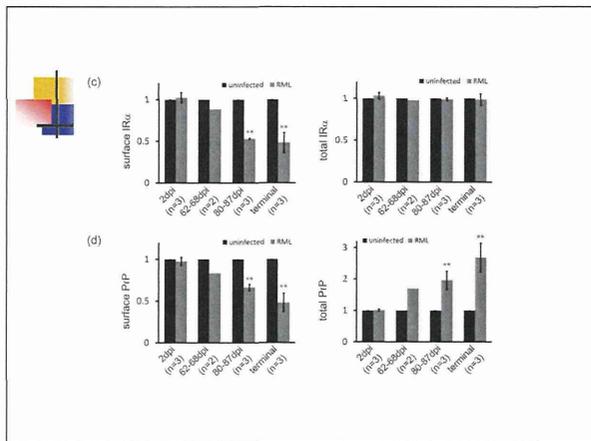
「プリオン病におけるポストゴルジ小胞輸送障害」 坂口 末廣 先生



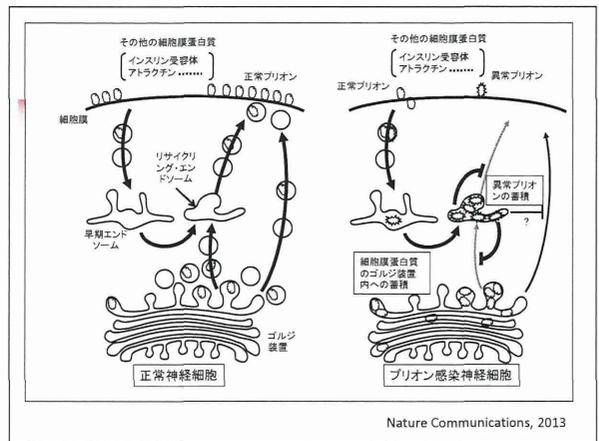
7



8



9



Nature Communications, 2013

10



「動物実験によるプリオン病の病態解析」

横山 隆 先生

農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所

Profile

1985年	日本獣医畜産大学獣医畜産学部獣医学研究科 修士課程修了
1985年～1991年	愛知県家畜保健衛生所に勤務
1991年～	農林水産省 家畜衛生試験場に勤務（現：動物衛生研究所）
2002年～2013年	動物衛生研究所プリオン病研究センター
2013年	インフルエンザ・プリオン病研究センター長
2014年～	動物衛生研究所 企画管理部長
2001年～	農林水産省プリオン小委員会・専門委員、厚生労働省牛海綿状脳症の検査に係る専門家会議委員
2003年～	OIE（国際獣疫事務局）BSE リファレンス研究所

概要

プリオン病は宿主の正常プリオン蛋白質が変化した異常プリオン蛋白質（PrP^{Sc}）が主要な構成成分となっている。しかし、伝達性に関わるPrP^{Sc}の構造は明らかにされていない。さらに、プリオンには生物学的性状の異なる「株」が存在する。プリオンの株は近交系マウスでの潜伏期、病変分布、PrP^{Sc}の分布などで区分されているが、株を規定するPrP^{Sc}の構造の違いも明らかではない。

感染するプリオンの株と宿主動物の組み合わせにより、プリオン病の病態は多様で複雑となっている。例えば、牛海綿状脳症（BSE）感染牛におけるPrP^{Sc}の蓄積は中枢神経系（脳、脊髄）にほぼ限局しているが、BSEを他の動物に伝達するとPrP^{Sc}は中枢神経系に加えてリンパ組織にも蓄積が認められる。ヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）でも孤発性CJDと変異型CJDではPrP^{Sc}の蓄積が異なっている。北米の野生鹿で感染が拡大している慢性消耗病（CWD）では、シカの唾液、尿、糞中からもプリオンが検出されている。

羊スクレイピーおよびBSEを実験動物へ伝達試験すると、新しいプリオン株の出現が認められる例がある。そのメカニズムとして、1) 感染動物の体内に存在する多様なプリオンからある種のプリオン株が選択、2) 動物での伝播に際してPrP^{Sc}の構造変異体が発現する、可能性が示唆されている。PrP^{Sc}に様々な構造体が存在することは、プリオン病の治療に際して考慮しておかなければならない問題であり、その詳細の解明が求められる。プリオン病の様々な病態を反映する動物実験モデルの確立は、プリオン病の治療研究に必要な情報を提供することが期待される。

動物実験によるプリオン病の病態解析

横山 隆
農研機構 動物衛生研究所

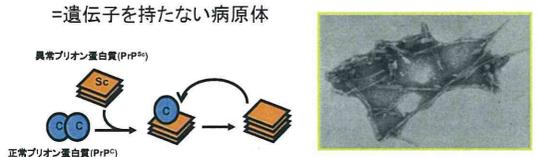
1

遺伝子を持たない病原体・プリオン

BSEの原因は**プリオン**と呼ばれる病原体：
異常タンパク質が主成分

この異常タンパクは動物の持つ正常タンパク質が異常化したもの
正常タンパク質は動物・人の遺伝子によって作られる：
正常タンパク質だけでは病気を起こさない

病気の原因には遺伝子の情報が関与しない
=遺伝子を持たない病原体



異常プリオン蛋白質(PrP^{Sc})
正常プリオン蛋白質(PrP^C)

2

スクレイピー

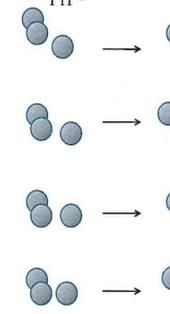
羊、山羊に発生。世界中で発生が認められる。250年以上前から報告
ほとんどの品種の羊で感染がおこる
2~5才以上の羊で好発
異常プリオン蛋白質(PrP^{Sc})は中枢神経系とリンパ組織に蓄積が認められる
多くの株が存在することが知られている。
プリオン株と宿主遺伝子型の組み合わせにより多様な病態を示す

BSE(牛海綿状脳症: Bovine Spongiform Encephalopathy)

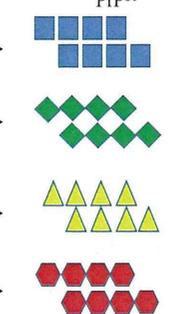
中枢神経系が冒されることによる神経症状(行動異常、不安、過敏症)
BSEプリオンに汚染した動物性蛋白質飼料(肉骨粉など)が汚染源
“牛のと殺前の検査法”はない
ヒトに感染して変異型CJDをひきおこす

3

正常たんぱく質
PrP^C



異常たんぱく質
PrP^{Sc}



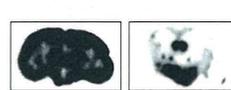
同じ材料(PrP^C)から異なるPrP^{Sc}を変換
→異なる病型

4

プリオンの多様性

羊スクレイピーには、多くの株が存在することが知られている。
株は、近交系マウスに馴化した際の潜伏期、病変の分布、PrP^{Sc}の分布などで分類されている
PrP^{Sc}の構造の違いによる、プリオン株の分類も試みられているが、生物学的性状との関連はまだ不明
プリオンの株を規定するメカニズム(構造?)の詳細も不明

PrP^{Sc}蓄積



潜伏期

130日 280日

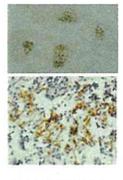
5

プリオンの病態は宿主によって異なる

	CJD		BSE		
	孤発性	変異型(ヒト)	マウス	羊	牛
中枢神経系	+	+	+	+	+
リンパ組織	-	+	+	+	-

プリオン株によって、
病態が違ふ

同じプリオン株でも、
宿主により病態が
違ふ



濾胞樹状細胞におけるPrP^{Sc}の蓄積 (vCJD)

6

「動物実験によるプリオン病の病態解析」 横山 隆 先生

新たなBSE (非定型BSE)の出現

2003年頃より、従来型とは異なるBSEが主に高齢牛で報告
 その後の調査で2001年頃には存在
 欧州、北米、日本などで約80例が認められている (50/190,000)
 ウェスタンブロット法によるPrP^{Sc}のパターンから2種類 (H型およびL型)に分類されている
 ヒトの孤発性CJDとの類似性も示唆されているが、起源は不明。

7

3種類のBSEプリオンの比較

病変
 PrP^{Sc}
 マウスでの潜伏期: 非定型L型BSE 198日, 従来型BSE 223日, 非定型H型BSE 316日
 ウェスタンブロット法によるPrP^{Sc}の解析
 病変の程度、PrP^{Sc}の蓄積、マウスへ伝播した時の潜伏期PrP^{Sc}の型別に違い
 ↓
 全く異なる「プリオン」

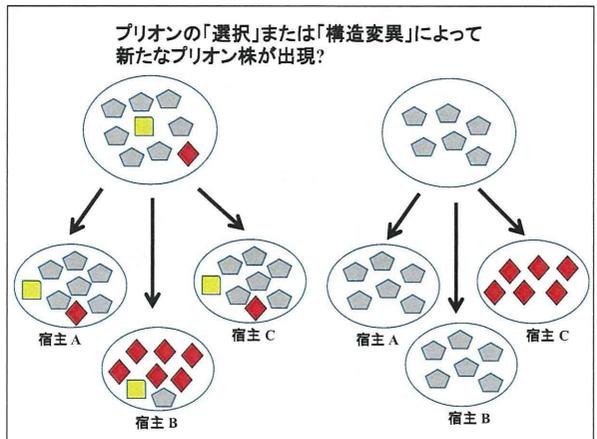
8

マウスへの伝達試験により、非定型BSEから表現型の異なるプリオンが出現する

接種材料	マウス	PrP ^{Sc} の表現型
C-BSE (従来型)	野生型マウス	C-BSE
	牛PrP ^{Sc} 過発現マウス	C-BSE
	ヒトPrP ^{Sc} 過発現マウス	C-BSE (1/6)
	羊PrP ^{Sc} 過発現マウス	C-BSE
L-BSE (非定型)	野生型マウス	伝達せず
	牛PrP ^{Sc} 過発現マウス	L-BSE
	ヒトPrP ^{Sc} 過発現マウス	L-BSE (9/9)
	羊PrP ^{Sc} 過発現マウス	C-BSE
H-BSE (非定型)	野生型マウス	H-BSE, C-BSE
	牛PrP ^{Sc} 過発現マウス	H-BSE, C-BSE
	ヒトPrP ^{Sc} 過発現マウス	H-BSE
	羊PrP ^{Sc} 過発現マウス	伝達せず

非定型BSEからC-BSEが出現する?

9



10

まとめ

プリオン病の病原体を構成するPrP^{Sc}は、宿主PrP^Cの構造異性体である
 PrP^{Sc}の構造の違いが、プリオン株の生物学的いと性状に關与する
 スクレイパーでは多様なPrP^{Sc}が混在する
 スクレイパーの実験感染では、プリオンの「選択」が生じる
 BSEでは、PrP^{Sc}の「構造変異」により、新たな株が出現

プリオンの株は、選択と構造変異によって出現する
 プリオン株を規定するPrP^{Sc}の構造の違いを明らかにすることが必要
 プリオンの株の問題は、治療法の開発に留意しなければならない
 動物実験に基づくプリオン病の病態解析は、プリオン病の治療のために必要な情報を提供

11

第5部

プリオン病治療の可能性

座長：岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 教授 **桑田 一夫** 先生

パネルディスカッション

パネラー : 桑田 一夫 先生、水澤 英洋 先生、西田 教行 先生、柴田 宏昭 先生
ディスカッションリーダー : 坂口 末廣 先生



プリオン感染サルを用いた抗プリオン治療薬の有効性・安全性評価

柴田 宏昭 先生

独立行政法人医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター

Profile

1994年 東京農工大学農学部卒業
1996年 筑波大学医科学修了
1996年 国立予防衛生研究所（現国立感染症研究所）筑波霊長類センター 非常勤研究員
2005年 自治医科大学医学部 助手
2007年 医薬基盤研究所 特任研究員
自治医科大学 客員研究員
2008年 医薬基盤研究所 プロジェクト研究員
現在に至る

概要

医薬品の研究開発において、基礎研究から臨床応用への橋渡しとして、実験動物を用いて有効性や安全性を確かめる前臨床試験がおこなわれている。このとき、マウスやラットといった小動物の疾患モデルでは好成績が得られたにもかかわらず、実際の患者では改善効果が見られないことが多い。この理由のひとつとして、使用されたモデル動物とヒトとの種差が大きいことが考えられる。そこで、ヒトにより近縁なサルを用いた疾患モデルで評価することが重要である。

クロイツフェルト・ヤコブ病などを含むプリオン病は、多くの治療研究がなされているが、未だ有効な治療法が確立されていない。そのような中、岐阜大学の桑田先生らが開発した抗プリオン治療薬をプリオン感染させたマウスに投与したところ、有意な寿命の延命効果が見られた。そこで、サルを用いたプリオン病モデルで評価をおこなうこととした。サルプリオン病モデルは、プリオン病のひとつである牛海綿状脳症（BSE）を発症した牛の脳乳剤をサルに脳内接種したところ、サルにプリオン病を発症させることが出来た。今回、更にこのプリオン病発症サルから安楽死後に脳乳剤を調製し、これを別のサルに2継代接種したプリオン病モデルを用いて、この抗プリオン治療薬の有効性と安全性を評価する実験を現在おこなっている。本公演では、新規治療薬を発症前に投与した群では、非投与群と比較して、発症時期が遅くなり、発症後に投薬を開始した群でも症状の進行が緩やかになる傾向がみられ、有望なプリオン病治療薬として期待が持てる結果を実験途中ではあるが紹介する。