

## ヒトプリオン病の遺伝子解析と VV2 プリオンの滅菌法開発

研究分担者：北本 哲之 東北大学大学院医学系研究科

### 研究要旨

平成 25 年 11 月 1 日から平成 26 年 10 月 30 日までの遺伝子検査の結果を報告する。遺伝子検査の症例数は、277 例であった。変異なし 222 例（129M/M, 219E/E 200 例、129M/V, 219E/E 9 例、129M/M, 219E/K 12 例、129V/V, 219E/E 1 例）変異あり 55 例（P102L 3 例、P105L 1 例、V180I 32 例、E200K 11 例、M232R 8 例）。

硬膜移植後 CJD の経験から、VV2 または MV2 プリオンが 129Met/Met のヒトに感染した場合、従来見られなかった MMiK(129Met/Met, intermediate type PrPres, kuru plaques)タイプのプリオンが見られるようになることが明らかとなった今、129Met/Met 遺伝子のヒトが、タイプ 2 以外の PrPres を持ちアミロイド斑陽性の症例が存在するのか文献的に検討すると、2 症例が sCJD として報告されていることが明らかとなった。今年度は、そのような報告例からの感染実験の結果、VV2 や dura-grafted CJD with MMiK と同様の感染性、ウエスタンプロットの結果を得ることになった。MMiK という診断基準は、従来 sCJD に分類されていた症例から獲得性プリオン病を見つけるのに役立ち、新しい感染経路解明に繋がることが予想される。

### A. 研究目的

我が国のヒトのプリオン蛋白多型性には、以下のような遺伝子型が存在する。コドン 129 に関しては、129M/M, 129M/V, 129V/V という遺伝子型があり、コドン 219 に関しては、219E/E, 219E/K, 219K/K がある。これらの多型性に加えて、プリオン蛋白変異も存在しそれらをサーベイランスに上がってくる症例で検討するのが本研究の主な目的である。

さらに、25 年度より新しい研究目的として、VV2 プリオンに対する滅菌法を開発することを加えた。

### B. 研究方法

#### 【材料】

平成 25 年 11 月 1 日から平成 26 年 10 月 30 日までの遺伝子検査の結果を報告する。

129Met/Met の遺伝子型を有し、異常プリオン蛋白がタイプ 1 かタイプ i と報告されている症例を文献的に検索し、その検索した症例の脳材料から感染実験を行った。

#### 【方法】

同意書のある遺伝子検査希望例を調査した。遺伝子変異は、すべて PCR で増幅後ダイレクトシーケンスを行い確認した。変異のあった症例は、その確認のため全て

制限酵素で切断し、その変異を確認した。変異や多型性が2つ以上ある症例では、PCR産物をプラスミドに入れてクローニングし、それぞれのアレルを確認した。

脳材料を手に入れた症例に関しては感染実験を行った。我が国例は、2003年にNeurologyで報告された症例（文献1）で脳外科手術後の症例であり、もう一例は米国例で、1981年にArchives of Neurologyに報告された脳外科医の発病症例である（文献2）。脳内接種したマウスは、一定の観察期間後に発病したマウスは、組織学的に検索し、またはウエスタンブロットで異常型プリオン蛋白の存在によって発病を確認した。

### C. 研究結果

（結果）症例277例である。前年度の報告と同様であるが、この症例数はCJDと確定した症例数ではなく、CJD疑い例としてサーベイランスの許可を得た症例数である。もちろん、最終的にCJDを否定された症例も含まれている。

変異なし 222例  
129M/M, 219E/E 200例  
129M/V, 219E/E 9例  
129V/V, 219E/E 1例  
129M/M, 219E/K 12例

変異あり 55例  
P102L 3例  
P105L 1例  
V180I 32例  
E200K 11例  
M232R 8例

感染実験は、我が国例に関しては、2次

感染実験まで、米国例では1次感染実験までほぼ終了した。脳内接種したKi-129Val/Valマウスは、最も短い潜伏期間を呈し、Ki-1129Met/Valのマウスが最も長い潜伏期間を呈した。これらの潜伏期間は、MV2、VV2の感染と同様の結果であり、また硬膜移植後CJDのMMiK症例とそっくりであった。2次感染実験に関しても、1次感染実験に使用したヒト型ノックインマウスの遺伝子型が129M/M, 129M/V, 129V/Vという遺伝子型に関わらずVV2プリオンの感染と潜伏期間が一致していた。

具体的な1次感染実験の潜伏期間は以下の通りである。

本邦例

Ki-129M/M, 590 ± 81 days (4/5)  
Ki-129M/V; 699 ± 75 days (5/5)  
Ki-129V/V, 296 ± 9 days (6/6)

米国例

Ki-129M/M, 663 ± 36 days (5/5)  
Ki-129M/V, 725 ± 39 days (4/5)  
Ki-129V/V, 313 ± 10 days (6/6)

### D. 考察

基本的に、遺伝子検索は例年通りの結果であった。

論文として調べた症例に関しては、MM1プリオンとは全く違い、VV2プリオンと同様の潜伏期間を示しつつある。これは、硬膜移植後のCJDのアミロイド斑陽性例と同様の結果を示しつつあるデータである。

### E. 結論

280例の遺伝子解析を行った。

## F. 健康危険情報

従来では孤発性 CJD とされていた症例の中に、新しい獲得性プリオン病の存在が明らかになった。今後のサーベイランス調査にて新しい感染経路の追及が必要である（論文は J. Virol.にて印刷中）。

### [参考文献]

#### [雑誌]

Ishida C, Kakishima A, Okino S, Furukawa Y, Kano M, Oda Y, Nakanishi I, Makifuchi T, Kitamoto T, Yamada M. Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with MM1-type prion protein and plaques. *Neurology*. 2003. 60:514-517.

#### [書籍]

Shoene WC, Masters CL, Gibbs CL Jr, Gajdusek DC, Tyler HR, Moore FD, Dammin GJ. Transmissible spongiform encephalopathy (Creutzfeldt-Jakob disease). Atypical clinical and pathological findings. *Arch Neurol* 1981.38:473-477.

## G. 研究発表 (2014/4/1~2015/3/31 発表)

### 1. 論文発表

- 1) Shirai T, Saito M, Kobayashi A, Asano M, Hizume M, Ikeda S, Teruya K, Morita M, Kitamoto T. Evaluating prion models on comprehensive mutation data of mouse PrP. *Structure*. 2014 ; 22 : 560-571.
- 2) Barria MA, Balachandran A, Morita M, Kitamoto T, Barron R, Manson J, Knight R, Ironside JW, Head MW. Molecular barriers to zoonotic transmission of prions. *Emerg Infect*

*Dis*. 2014 Jan;20(1):88-97.

- 3) Qina T, Sanjo N, Hizume M, Higuma M, Tomita M, Atarashi R, Satoh K, Nozaki I, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kobayashi A, Kitamoto T, Murayama S, Murai H, Yamada M, Mizusawa H. Clinical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation in the prion protein gene. *BMJ Open*. 2014 May 16;4(5):e004968. doi: 10.1136/bmjopen-2014-004968.
- 4) Iwasaki Y, Tatsumi S, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. Comparison of the clinical course of Japanese MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease between subacute spongiform encephalopathy and panencephalopathic-type. *Clin Neurol Neurosurg*. 2014 Jun;121:59-63.
- 5) Iwasaki Y, Tatsumi S, Mimuro M, Kitamoto T, Hashizume Y, Yoshida M. Relation between clinical findings and progression of cerebral cortical pathology in MM1-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: Proposed staging of cerebral cortical pathology. *J Neurol Sci*. 2014 Jun 15;341(1-2):97-104.
- 6) Kobayashi A, Matsuura Y, Mohri S, Kitamoto T. distinct origins of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: past and future problems. *Acta Neuropathol Commun*. 2014 Mar 31;2(1):32.
- 7) Tajima Y, Satoh C, Mito Y, Kitamoto T. Creutzfeldt-Jakob disease with a codon 210 mutation: first pathological observation in a Japanese patient.

*Intern Med.* 2014;53(5):483-7.

- 8) Araki K, Nakano Y, Kobayashi A, Matsudaira T, Sugiura A, Takao M, Kitamoto T, Murayama S, Obi T. Extensive cortical spongiform changes with cerebellar small amyloid plaques: The clinicopathological case of MV2K+C subtype in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology*. 2014 Dec;34(6):541-6. doi: 10.1111/neup.12133. Epub 2014 Jul 2.
- 9) Nakamura Y, Ae R, Takumi I, Sanjo N, Kitamoto T, Yamada M, Mizusawa H. Descriptive Epidemiology of Prion Disease in Japan: 1999-2012. *J Epidemiol*. 2014 Oct 4. [Epub ahead of print]
- 10) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, Nokura K, Tatsumi S, Mimuro M, Kitamoto T, Yoshida M. Gerstmann-Straeussler-Scheinker disease with P102L prion protein gene mutation presenting with rapidly progressive clinical course. *Clin Neuropathol*. 2014 Sep-Oct; 33(5):344-53. doi: 10.5414/NP300733.

- 11) Kobayashi A, Parchi P, Yamada M, Brown P, Saverioni D, Matsuura Y, Takeuchi A, Mohri S, Kitamoto T. Transmission properties of atypical Creutzfeldt-Jakob disease: a clue to disease etiology?. *J. Virol.* (in press)

## 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし